

Synthese von spezifisch deuterierten und komplexen (dimeren) Ceramiden des Sphingosins und des Phytosphingosins

Dissertation

Zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Der
Naturwissenschaftlichen Fakultät I
Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Herrn Dipl. Pharm. Stefan Sonnenberger
geboren am 27.08.1984 in Wolfen

Gutachter:

1. Prof. Dr. Bodo Dobner
2. Prof. Dr. Dariush Hinderberger
3. Prof. Dr. Daniel B. Werz

Halle (Saale) im März 2020

verteidigt am: 23.09.2020

Stefan Sonnenberger

Synthese von spezifisch deuterierten und komplexen (dimeren) Ceramiden des Sphingosins
und des Phytosphingosins

Dissertation, 2020

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Pharmazie,
Institutsbereich Pharmazeutische Chemie und Klinische Pharmazie,
Abteilung für Biochemische Pharmazie

128 Seiten, 36 Abbildungen

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
1 Einleitung und Zielstellung	1
1.1 Die menschliche Haut.....	1
1.2 Das Stratum corneum.....	2
1.3 Neutronendiffraktion.....	6
1.4 Zielstellung der Arbeit	9
2 Synthetisch-präparative Arbeiten.....	10
2.1 Synthesekonzept	10
2.1.1 Einführung der Deuterierung	10
2.1.2 Amidbindung.....	11
2.2 Nomenklatur	12
2.3 Synthese der deuterierten Ceramide [NS] und [NP].....	13
2.3.1 Synthese der Vorstufen	13
2.3.2 Synthese der endständig deuterierten Fettsäuren und Kupplung der endständig deuterierten Ceramide vom Typ [NS] und [NP].....	16
2.4 Synthese der deuterierten Ceramide [AS] und [AP].....	19
2.4.1 Synthese der endständig deuterierten Alkylbromide	20
2.4.2 Synthese der (RS)- ω,ω,ω -D ₃ -2-Hydroxyalkansäuren	21
2.4.3 Kupplung der endständig deuterierten Ceramide vom Typ [AS] und [AP] als Diastereomergemisch.....	22
2.4.4 Reinigung der endständig deuterierten Ceramide [AP] und [AS] und Diastereomeren-trennung.....	24
2.5 Synthese der methylverzweigten Ceramide vom Typ [mEOS] und [mEOP]...26	
2.5.1 Synthese der verzweigten 10-Methylhexadecansäuren.....	27
2.5.2 Synthese der langkettigen ω -Acylfettsäuren und Kupplung zu den entsprechenden Ceramiden vom Typ [mEOS] und [mEOP].....	31
2.6 Synthese der komplexen (dimeren) Ceramide.....	33
2.6.1 Untersuchungen zur Synthese von dimeren Ceramiden mit Etherbrücke	34
2.6.2 Synthese des dimeren Ceramids mit zwei Thioethergruppen.....	36
3 Biophysikalische Untersuchungen	41
3.1 Neutronendiffraktionsexperimente an Modellmembranen mit deuterierten Ceramid [AP]	41

3.2	Neutronendiffraktion an Modellmembranen mit Ceramid [mEOS]	44
4	Zusammenfassung und Ausblick	46
5	Experimenteller Teil	49
5.1	Verwendete Chemikalien	49
5.2	Analysenmethoden	50
5.2.1	Chromatographie	50
5.2.2	Elementaranalyse (EA)	51
5.2.3	Kernspinresonanzspektroskopie – Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR)	51
5.2.4	Massenspektrometrie (MS).....	52
5.2.5	Schmelzpunktbestimmung.....	52
5.2.6	Neutronendiffraktion	53
5.3	Allgemeine Synthesevorschriften	54
5.4	Synthese der deuterierten Ceramide [NS] und [NP]	56
5.4.1	Darstellung des 9,9,9-D ₃ -1-Bromnonans.....	56
5.4.2	Darstellung des 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2H-pyran.....	60
5.4.3	Darstellung des 2-(13-Bromtridecyloxy)tetrahydro-2H-pyran	61
5.4.4	Darstellung des 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran.....	62
5.4.5	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -Alkan-1-ole	63
5.4.6	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -Alkansäuren.....	65
5.4.7	Darstellung der Ceramide [NS]- ω,ω,ω -D ₃	66
5.4.8	Darstellung der Ceramide [NP]- ω,ω,ω -D ₃	68
5.5	Synthese der deuterierten Ceramide [AS] und [AP]	71
5.5.1	Darstellung von 16,16,16-D ₃ -1-Bromhexadecan	71
5.5.2	Darstellung von 22,22,22-D ₃ -1-Bromdocosan	73
5.5.3	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -(2RS)-2-Aminoalkansäure	74
5.5.4	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -(2RS)-2-Hydroxyalkansäuremethylester	74
5.5.5	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -(2RS)-2-Hydroxyalkansäure	76
5.5.6	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -(2RS)-2-Acetoxyalkansäure	77
5.5.7	Darstellung der Essigsäure-[ω,ω,ω -D ₃ -(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3R,4E)-1,3-di-hydroxyoctadec-4-en-2-yl]amino}alkan-2-yl]ester	78
5.5.8	Darstellung des Ceramides [AS]-18,18,18-D ₃ (Diastereomerengemisch)	80
5.5.9	Darstellung und Trennung der Diastereomeren der Ceramide [AS]- ω,ω,ω -D ₃	80
5.5.10	Darstellung der Essigsäure-[ω,ω,ω -D ₃ -(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3S,4R)-1,3,4-tri-hydroxyoctadec-2-yl]amino}alk-2-yl]ester	84
5.5.11	Darstellung des Ceramides [AP]-18,18,18-D ₃ (Diastereomerengemisch)	85
5.5.12	Darstellung und Trennung der Diastereomeren der Ceramide [AP]- ω,ω,ω -D ₃	86
5.6	Synthese der methylverzweigten ω-Acylceramide [mEOS] und [mEOP]	89
5.6.1	Darstellung der Hexylmalonsäurediethylester	89
5.6.2	Darstellung der Hexyl-9-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonylmalonsäurediethylester	90
5.6.3	Darstellung der (2RS)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester	91

5.6.4	Darstellung der 2-[(10RS)-10-Methylhexadecyloxy]tetrahydro-2H-pyrane	93
5.6.5	Darstellung der (10RS)-10-Methylhexadecanole	96
5.6.6	Darstellung der (10RS)-10-Methylhexadecansäuren	98
5.6.7	Darstellung des Triacontan-1,30-diol – (91)	99
5.6.8	Darstellung der (10RS)-10-Methylhexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)ester..	100
5.6.9	Darstellung der 30-{{[(10RS)-10-Methylhexadecanoyl]oxy}triacontansäuren	102
5.6.10	Darstellung der methylverzweigten Ceramide [EOS]	104
5.6.11	Darstellung der methylverzweigten Ceramide [EOP]	108
5.7	Darstellung des 16-Oxountriacontan-1,31-diols	112
5.7.1	Methansulfonsäure-15-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecylester – (108)	112
5.7.2	2,2'-(16-Oxountriacont-1,31-diyl)bis(terahydro-2H-pyran) – (109)	112
5.7.3	16-Oxohentriacontan-1,31-diol – (110).....	113
5.8	Darstellung der dimeren Dithia-Ceramide.....	114
5.8.1	Darstellung der 12,21-Dithiadotriacontandisäure	114
5.8.2	Darstellung der deuterierten 12,21-Dithiadotriacontandisäure	115
5.8.3	Darstellung der dimeren Dithia-Ceramide [NSS].....	118
5.8.4	Darstellung der dimeren Dithia-Ceramide [NPP].....	120
6	Literaturverzeichnis.....	122
7	Anhang.....	i

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

Å	Ångström = 10^{-10} Meter
abs.	absolut
b	breites Signal (NMR)
b_{coh}	kohärente Streulänge
ber.	Berechnet (theoretischer Wert für EA)
Cer	Ceramid
CHOL	Cholesterol
d	Dublett (NMR)
	lamellarer Wiederholabstand
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Duplett vom Duplett (NMR)
DHP	3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
EA	Elementaranalyse
EI	Electron Ionization
ESI	Electro Spray Ionization
EtOH	Ethanol
EtoNa	Natriumethanolat
Fp.	Schmelztemperatur
GC	Gaschromatographie
gef.	Gefunden (gemessene Werte für EA)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LM	Laufmittel
LPP	long-periodicity phase
M	Multiplett (NMR)
m/z	Massezahl pro Ladung (EA)
M ⁺	Molpeak (MS)
MesCl	Methansulfonsäurechlorid (Mesylchlorid)
MeOH	Methanol
M _G	Molekulargewicht
MPLC	Middle Pressure Liquid Chromatography (Mitteldruck- Flüssigchromatographie)
MS	Massenspektrum
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernmagnetresonanz)
PPh ₃	Triphenylphosphin
ppm	parts per million
PyBOP [®]	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidonophosphoniumhexafluorophosphat
PyrTos	Pyridiniumtosylat
q	Quartett (NMR)

R _f	Retention factor
RT	Raumtemperatur
RH	Relative humidity, Relative Luftfeuchtigkeit, %
s	Singulett (NMR)
SC	Stratum corneum
SCh	Säulenchromatographie
SPP	Small-periodicity Phase
t	Triplett (NMR)
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran
TosCl	<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid (Tosylchlorid)
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
(V/V)	Volumenverhältnis (V/V)
δ	Chemische Verschiebung (NMR)
θ	Streuwinkel

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Senkrechter Schnitt durch die Haut ⁵	2
Abb. 2:	„Brick and Mortar“ Modell; Abbildung nach LANDMANN ²⁰	2
Abb. 3:	Darstellung des menschlichen Stratum corneum mit transepidermalem Permeationsweg, Abbildung entnommen aus EL MAGHRABY et al. ²⁸	3
Abb. 4:	Darstellung möglicher Konformationen nach KISELEV et al. ⁵³	4
Abb. 5:	Schematischer Darstellung des Sandwich Modells, modifizierte Abbildung entnommen aus Kessner et al. ⁶⁴	5
Abb. 6:	Schematische Darstellung eines Streuprozesses. Einfallende Strahlung wird unter dem Streuwinkel 2θ gestreut. Die resultierende Richtungsänderung aus der Differenz des gestreuten Wellenvektors $\mathbf{k1}$ und dem einfallenden Wellenvektors $\mathbf{k0}$ wird mit dem Streuvektor \mathbf{Q} angeben. $E0$ und $E1$ sind dabei die Energie des einfallenden Strahls, bzw. der gestreuten Strahls. ⁹⁷	7
Abb. 7:	Neutronenstreuprozess entsprechend der BRAGG'schen Gleichung ⁹⁷	8
Abb. 8:	schematischer Aufbau eines Ceramids: eine Fettsäure (rot) und eine Sphingoidbase (blau) sind über eine Amidbindung (schwarz) miteinander verbunden	10
Abb. 9:	Darstellung des 9,9,9-D ₃ -1-Bromnonans (10) ausgehend von Azelainsäure (1)	14
Abb. 10:	Darstellung der 2-(ω -Bromalkyloxy)tetrahydro-2H-pyrane 15 und 16 ausgehend von 15-Pentadecanolid (5) und 9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester (8).....	15
Abb. 11:	Darstellung der 2-(ω -Bromalkyloxy)tetrahydro-2H-pyrane 15 und 20 ausgehend von 1,9-Nonandiol (2) und Ethylenbrassyilat (3).....	16
Abb. 12:	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -Alkanole 24-26	17
Abb. 13:	Darstellung der Ceramide [NS] 32-34 und Ceramide [NP] 35-37	18
Abb. 14:	Darstellung des 2-(16,16,16-D ₃ -Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran (41) ausgehend von 16-Hexadecanolid (38)	20
Abb. 15:	Darstellung des 2-(22,22,2-D ₃ -Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran (23) ausgehend von 16,16,16-D ₃ -Hexadecanol (41) und Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -1-Bromalkanole 42,43	21
Abb. 16:	Darstellung der ω,ω,ω -D ₃ -2-Hydroxyalkansäuren 49,50 ausgehend von entsprechenden endständig deuterierten Alkylbromiden 42,43.....	22
Abb. 17:	Darstellung der acetylierten Ceramide [AS] 54,55 und Ceramide [AP] 56,57	23
Abb. 18:	Darstellung der endständig deuterierten Ceramide [AS] 57 und Ceramide [AP] 58.....	24
Abb. 19:	Diastereomerentrennung der Ceramide [AP] und [AS] in L-Form und D-Form ausgehend von den acetylierten Ceramiden 53-56	25
Abb. 20:	Chemische Struktur von natürlichem CER [EOS] und methylverzweigten CER [mEOS]	27
Abb. 21:	Darstellung der (2RS)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäure (68) ausgehend von Octansäure (67)	28
Abb. 22:	Darstellung des 6,6,6-D ₃ -1-Bromhexans (70) ausgehend von 6-Bromhexansäuremethylester (69) und Darstellung des endständig undeuterierten und deuterierten 2-Hexyl-11[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäuremethylesters 77,78	29
Abb. 23:	Darstellung der endständig undeuterierten bzw. deuterierten 2-[(10RS)-10-Methylhexadecyloxy]tetrahydro-2H-pyrane mit protonierter bzw. deuterierter Methylverzweigung 79-82	30

Abb. 24: Darstellung der vollständig undeuterten als auch partiell deuterierten 10-Methylhexadecansäuren 87-90	31
Abb. 25: Darstellung des 1,30-Triacontandiols 91 ausgehend von 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran 16	31
Abb. 26: Darstellung der Ceramide [mEOS] 100-103 und Ceramide [mEOP] 104-107	33
Abb. 27: <i>N,N'</i> -Bis[(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-16-oxountriacontandiamid	34
Abb. 28: Darstellung des 16-Oxohentriacontan-1,31-diol (110) und Oxidation zur 16-Oxohentriacontan-1,31-disäure (111)	35
Abb. 29: Darstellung der 12,21-Dithiadotriacontandisäure (117) durch Bis-Alkylierung von Octan-1,8-dithiolat (114)	37
Abb. 30: Darstellung der 12,21-Dithiadotriacontandisäure (117) durch Kupplung der zweifach deprotonierten 11-Mercaptoundecansäure (119) und 1,8-Dibromoctan (112)	38
Abb. 31: Darstellung von 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D ₁₂ -1,8-Dibromoctan (124)	39
Abb. 32: Darstellung der 14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D ₁₂ -12,21-Dithiadotriacontandisäure (125)	39
Abb. 33: Darstellung der dimeren Ceramide dCER [NSS] 126,127 und dCER [NPP] 128,129	40
Abb. 34: Neutronstrelängendichteprofil der Modellmembran mit Ceramid [AP] bei 57% relativer Luftfeuchtigkeit und 32 °C bei drei H ₂ O/D ₂ O Kontrasten und der Wasserverteilungsfunktion aus der Differenz von <i>ρ_{sx}100%D2O</i> und <i>ρ_{sx}8%D2O</i> ; Abbildung entnommen aus SONNENBERGER et al. ⁹⁹	42
Abb. 35: Neutronenstrelängendichteprofile <i>ρ_{diffx}</i> als Differenz aus <i>ρ_{deutx}</i> und <i>ρ_{protx}</i> , gemessen bei 57% relativer Luftfeuchtigkeit und 8% D ₂ O; Ceramid [AP] in der möglichen <i>Haarnadel</i> und <i>V-förmige</i> Konformationen abgebildet; Abbildung entnommen aus SONNENBERGER et al. ⁹⁹	43
Abb. 36: Neutronenstrelängendichteprofil im Vergleich zu den deuterierten Ceramiden a) CER [mEOS] t-D ₃ b) CER [mEOS] m-D ₃ c) CER [NS] 18,18,18-D ₃ . Das CER [mEOS] ist zweigeteilt dargestellt, um das Vorliegen des ω-Acylrestes in der angrenzenden lamellaren Einheit zu demonstrieren. Modifizierte Abbildung aus SONNENBERGER et al. ¹⁷⁶	45

1 Einleitung und Zielstellung

1.1 Die menschliche Haut

Die Haut ist mit einer ungefähren Fläche von 1,5 – 2 m² beim Erwachsenen und einer Masse von ca. 10% des Gesamtkörpergewichts das größte Organ des Menschen. Sie hat dabei als äußere Abgrenzung des Organismus gegenüber der Umwelt eine lebenswichtige Funktion.¹ Beispielsweise werden durch die Durchblutung und Transpiration der Haut der Wasserhaushalt und die Temperatur reguliert.² Des Weiteren schützt sie den Organismus von außerhalb einwirkenden mechanischen (Druck), chemischen (Säuren und Basen), physikalischen (UV-Strahlung) und biologischen Einflüssen. Durch die in der Haut vorhandene Schmerz-, Druck- und Temperatursensoren ist es möglich, Signale die von der Umwelt auf den Organismus einwirken, zu verarbeiten und entsprechend auf diese zu reagieren.³⁻⁵ Krankheiten wie Psoriasis,⁶⁻⁸ atopische Dermatitis⁹⁻¹¹ oder lamelläre Ichthyose^{12,13} verursachen Störungen innerhalb der Haut und beeinträchtigen damit ihre Funktionen.

Die Haut wird in drei große aufeinanderfolgende Schichten unterteilt (siehe Abb. 1): die Subcutis (Unterhaut), die Dermis (Korium, Lederhaut) und die Epidermis (Oberhaut).⁵

Die Subcutis ist ein lockeres, lamellär gebundenes Bindegewebe und beinhaltet das subkutane Fettgewebe, das sowohl als Kälteschutz und gleichzeitig auch als Energiereserve dient. Innerhalb dieser Schicht befinden sich daneben noch die größeren Blutgefäße,^{5,14} von denen einzelne in die angrenzende Dermis aufsteigen. Die Dermis ist die größte Schicht und wird von Kollagenfaserbündeln und elastischen Fasern aus Elastin und Mikrofibrillen durchzogen,^{5,15} wodurch der Haut Festigkeit und gleichzeitig Elastizität verliehen wird.^{16,17} Ebenfalls in der Dermis lokalisiert sind Fibrinoblasten, Haarfollikel, Schweiß- bzw. Talgdrüsen und Nervenfasern.^{5,15} An die Dermis schließt sich die gefäßlose Epidermis als äußerste Schicht an. Die Versorgung erfolgt dabei durch Diffusion aus der Dermis heraus. Die Epidermis ist gekennzeichnet durch Keratinozyten, Melanin-produzierenden Melanocyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen.⁵ Die Epidermis wird von innen nach außen in das Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum und in das Stratum corneum weiter unterteilt.⁵

Die Keratinozyten unterliegen in der Epidermis einem Differenzierungsprozess. Die Entwicklung beginnt im Stratum basale, wo die Zellen noch in zylindrischer Form vorliegen. Im Stratum spinosum sind die Zellen bereits geschrumpft und über Desmosomen miteinander verbunden. Tonofilamente verfestigen den Zellverband.⁵ Zusätzlich finden sich membranumschlossene Lamellengranula in dieser Schicht. Diese werden Odland bodies genannt und enthalten spezielle Lipide, Glykoproteine und hydrolytische Enzyme, die bei der Ausbildung der äußersten Schicht von wesentlicher Bedeutung sind.¹⁸⁻²⁰ Im Stratum granulosum sind die Keratinozyten bereits stark abgeflacht und beginnen zu verhornen. Mit Erreichen der äußersten Schicht sind die Zellen abgestorben und liegen vollständig verhornt als Korneozyten vor, die von einer multilamellaren Lipidschicht umgeben sind. Die Schicht bildet sich aus dem exozytotisch freigesetzten Inhalt der Odland Bodies.^{5,20} Eine genauere Beschreibung des Stratum corneums erfolgt im nachfolgenden Kapitel.

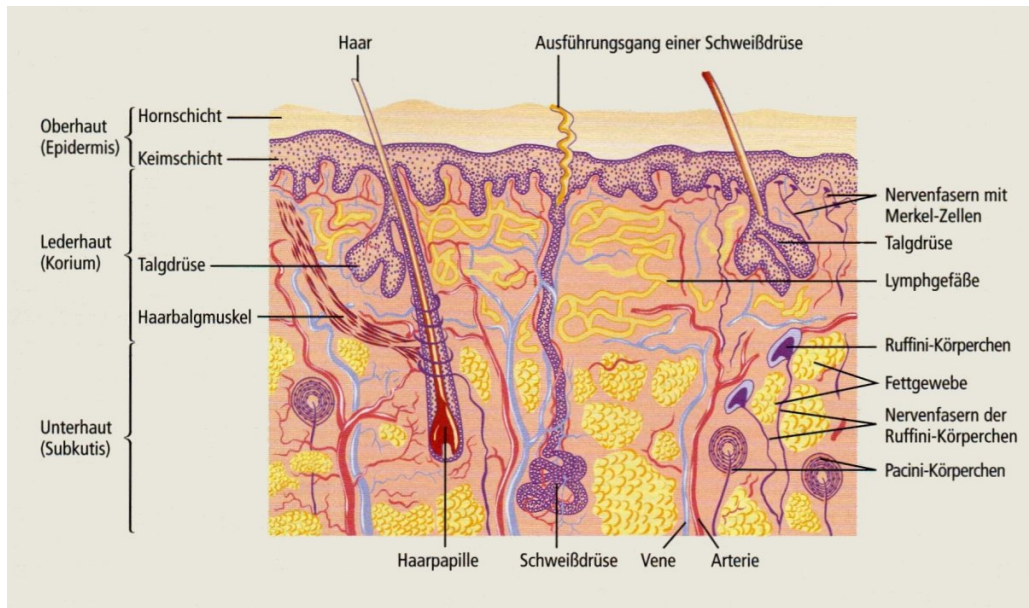


Abb. 1: Senkrechter Schnitt durch die Haut⁵

1.2 Das Stratum corneum

Das Stratum corneum ist die äußerste Schicht der Epidermis. Obwohl sie dabei nur ca. 15-30 Zellschichten und ein ungefähre durchschnittliche Dicke um 10 μm aufweist,²¹⁻²³ stellt diese Schicht die wichtigste Barriere gegen exogene Einflüsse der Haut dar.²⁴ Der Wassergehalt im Stratum corneum hat einen Gradienten von außen nach innen von ca. 15% bis zu den 70% des Stratum granulosum. Zwischen den äußeren Zellen dieser Schicht und der Umgebungsluft besteht ein Gleichgewicht. Durch den niedrigen Wassergehalt der äußersten Zellschichten ergibt sich eine Art einer Barriere, durch die der Wasserverlust an die Umgebung limitiert wird. Der Verlust wird als transepidermaler Wasserverlust beschrieben.^{25,26}

Die von einer Hornhülle, dem cornified envelope, umgebenen Korneozyten sind von einer multilamellaren Lipidmatrix geordneter Struktur umschlossen. Der Aufbau wird dabei häufig mit dem „Brick and Mortar“ Modell beschrieben (siehe Abb. 2).²⁷ Die Korneozyten entsprechen den Backsteinen und verleihen der „Mauer“ mechanische Stabilität. Die interzelluläre Lipidmatrix entspricht dem Mörtel und ist verantwortlich für die Barriereigenschaften.

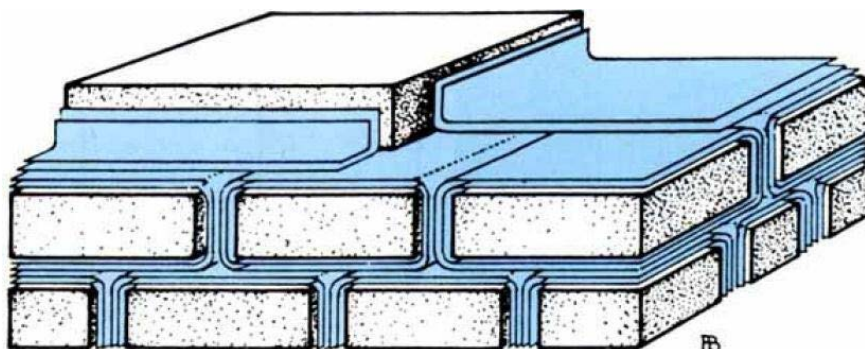


Abb. 2: „Brick and Mortar“ Modell; Abbildung nach LANDMANN²⁰

Für das Durchdringen von exogenen Stoffen, beispielsweise Arzneistoffen durch das Stratum corneum, werden zwei Wege beschrieben: transepidermal und transappendageal.²⁸ Die Permeation über den transappendagealen Weg erfolgt durch Hautöffnungen von Drüsen und Haarfollikel.²⁸ Diesem Weg kann eine untergeordnete Bedeutung beigemessen werden, da der Flächenanteil der Follikel und Drüsen in Bezug zur Gesamtfläche der Haut sehr gering ist.²⁹ Der transepidermale Weg wird in den transzellulären und den interzellulären Weg unterschieden (siehe Abb. 3).^{30,31} Der transzelluläre Weg wird durch den stetigen Wechsel von Lipidmatrix und Korneozyten erschwert, daher erscheint der interzelluläre Weg als der bevorzugte.^{30,32,33}

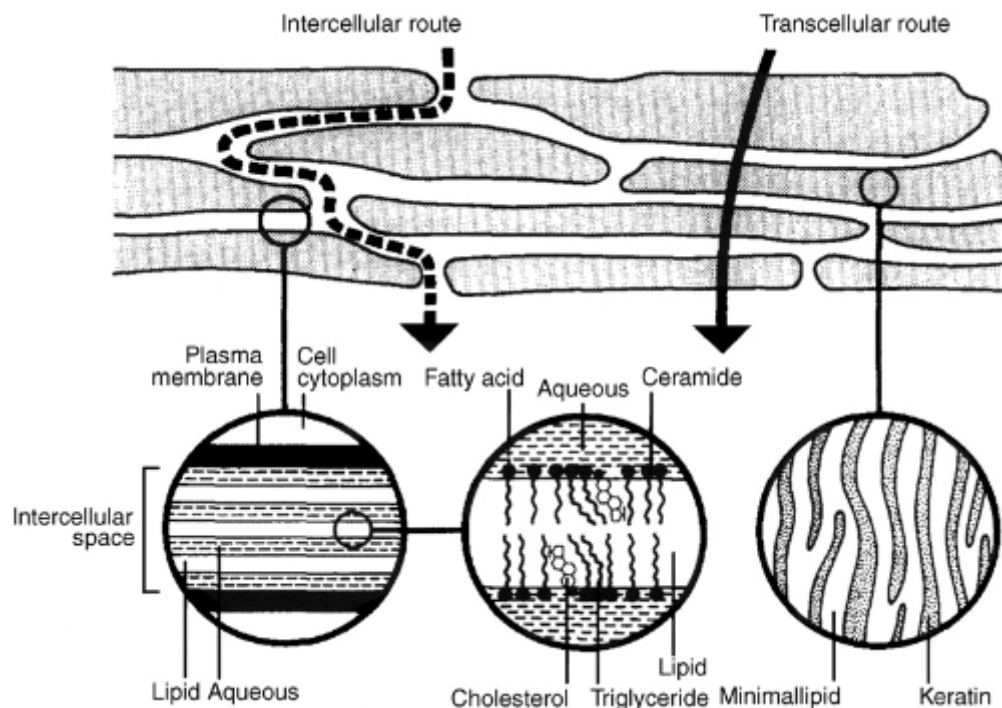


Abb. 3: Darstellung des menschlichen Stratum corneum mit transepidermalem Permeationsweg, Abbildung entnommen aus EL MAGHRABY et al.²⁸

Untersuchungen zur Zusammensetzung der Lipidmatrix des Stratum corneum ergaben, dass diese aus Cholesterol, freien Fettsäuren und Ceramiden, eine sehr heterogene Gruppe von Sphingolipiden, besteht.³³⁻³⁶ Außerdem sind noch Sterole und Wachsester zu einem geringen Anteil enthalten.³⁷ Phospholipide als typischer Bestandteil von Biomembranen fehlen dagegen fast vollständig.³⁸ Den Hauptbestandteil bilden mit ca. 40% die Ceramide,^{1,33,37,39} Cholesterol und freie Fettsäuren machen jeweils 25% aus.^{33,40} Die Zusammensetzung der Lipidmatrix ist inter- und intraindividuell verschieden.^{41,42}

Die freien Fettsäuren sind meist unverzweigte, gesättigte Carbonsäuren mit mehr als 18 Kohlenstoffatomen,⁴³ jedoch hauptsächlich zwischen 22 und 28 Atomen.^{39,44-46} Neben dem Cholesterol sind noch dessen Sulfate und dessen Ester-Derivate in der Lipidmatrix vorhanden.⁴⁷ Die Ceramide bestehen aus einer Fettsäure, die über eine Amidbindung mit Aminoalkohole verbunden sind, dabei sind verschiedene Subspezies bekannt.^{40,45,48,49}

Für die Einteilung der Ceramide wurde anfangs ein Zahlensystem verwendet, das auf dem chromatographischen Laufverhalten basierte und nachfolgend durch die chronologische Rei-

henfolge ihrer Publikation erweitert wurde.^{50,51} MOTTA et.al entwickelte ein kombinatorisches buchstabenbasiertes Nomenklatursystem, dass später von verschiedenen Autoren weiterentwickelt wurde.^{8,45,49,52} Grundlage der Einteilung bildet die chemische Struktur der beiden Ceramidbestandteile, anhand derer ein aus mindestens zwei Buchstaben bestehender Code verwendet wird. Der erste Teil beschreibt die gebundene Fettsäure: **A** steht für α -Hydroxyfettsäuren, **N** für non-Hydroxyfettsäuren, **O** für ω -Hydroxyfettsäuren. Die ω -Hydroxy-Gruppe kann dabei an die Strukturproteine des cornified envelope gebunden sein bzw. mit einer weiteren Fettsäure verestert sein (**EO**). Der zweite Teil des Buchstaben Codes repräsentiert den Aminoalkohol: **P** für Phytosphingosin, **S** für Sphingosin, **H** für 6-Hydroxysphingosin, **DS** für Dihydrosphingosin und **T** für Dihydroxy-dihydrosphingosin, wobei die genaue Position der beiden zusätzlichen Hydroxy-Gruppen bisher nicht exakt bekannt ist.⁴⁵

Die Kettenlänge der im Ceramid gebundenen Fettsäuren variiert zwischen 18 und 26 Kohlenstoffatomen.^{35,46} Längere Ketten finden sich in den veresterten ω -Hydroxyfettsäuren.^{35,46,48} Es werden drei mögliche Konformationen beschrieben, die die Ceramide aufgrund der zwei Alkylketten im Molekül annehmen können: die Haarnadel-Konformation (*Hairpin*), bei der beide Alkylketten parallel zu einander in dieselbe Richtung zeigen, die full extended, bei der beide Ketten in entgegengesätzliche Richtungen zeigen und die V-förmige Konformation, bei der ein Winkel zwischen beiden Ketten besteht (siehe Abb. 4).⁵³

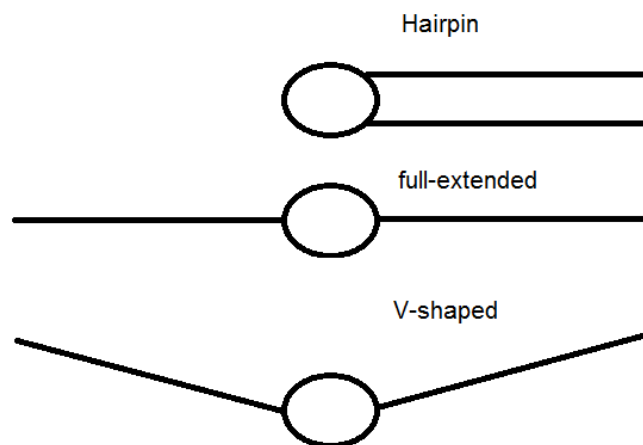


Abb. 4: Darstellung möglicher Konformationen nach KISELEV et al.⁵³

BREATHNACH et al. konnten 1973 mittels Gefrierbruchmikroskopie zeigen, dass die Lipidmatrix ein hochgeordnetes multilamellares System ist.⁵⁴ Madison et al. konnten mit neuer Fixierungstechnik einen Wiederholabstand von 130 Å bestimmen.⁵⁵ Durchgeführte Röntgenuntersuchungen bestätigten diese Ergebnisse.⁵⁶⁻⁵⁹ Untersuchungen von BOUWSTRA et al. an menschlicher Haut führten zur Beschreibung zwei co-existierender lamellarer Phasen mit den ungefähren Wiederholabständen von 60 Å (*short-periodicity Phase*) und 130 Å (*long-periodicity Phase*).^{57,60}

Den Aufbau der *long-periodicity Phase (LPP)* skizzieren BOUWSTRA et al. als trilamellare Einheit, die über polare Kopfgruppen-Bereiche mit einander verbunden sind.⁶¹ Die beiden äußeren lamellaren Bereiche werden als vorwiegend kristallin skizziert, während der innere Be-

reich als eher fluid dargestellt wird.⁶² In der Literatur wird dieses Modell als Sandwich-Modell geführt (siehe Abb. 5).⁶¹⁻⁶³

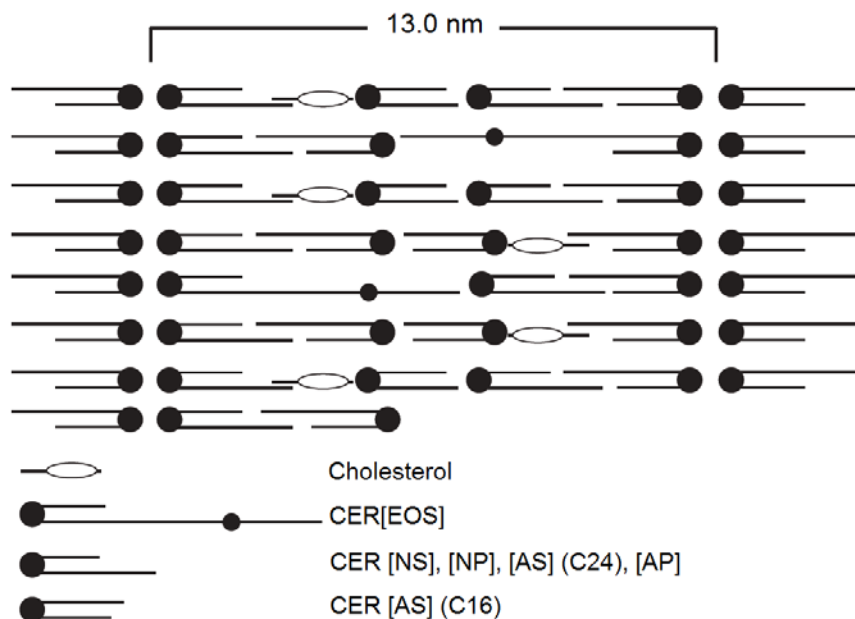


Abb. 5: Schematische Darstellung des Sandwich Modells, modifizierte Abbildung entnommen aus Kessner et al.⁶⁴

Neben den Untersuchungen an Proben menschlicher Haut⁵⁷ beschränkten sich weitere Studien auf die Auswahl bestimmter Stratum corneum Ceramide, um deren speziellen Einfluss auf die Membran zu untersuchen. So konnte beispielsweise der Einfluss der ω -Acylceramiden auf die Ausbildung der LPP, sowie der Barrierefunktion bewiesen werden.⁶⁵⁻⁶⁷ Zusätzlich konnte eine Abhängigkeit des natürlichen ω -Acylceramids vom Sphingosin-Typ an die Ausbildung der LPP gezeigt werden,^{68,69} während in Vergleichsuntersuchungen mit ω -Acylceramiden des Phytosphingosins dies nicht gezeigt werden konnte.^{70,71}

In der Literatur finden sich weitere Modelle die den Aufbau der Lipidmatrix beschreiben, beispielsweise das Stacked Monolayer Model von SWARTZENDRUBER et al.,⁵⁵ das Domain Mosaic Model von FORSLIND et al.⁷² und das Singel Gel Phase Model von NORLEN,⁷³ auf die an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden soll.

Aufgrund der inter- und intra-individuellen Unterschiede in der Zusammensetzung des Stratum corneums rückte die Verwendung von synthetisch hergestellten Ceramiden mit definierter Kettenlänge und Kopfgruppenstruktur anstelle nativen Materials in den Blickwinkel der Forschung.^{74,75} Es konnte gezeigt werden, dass die Anordnung in Modellmembranen mit synthetischen Ceramiden sehr ähnlich zur natürlichen Membran ist.⁷¹ ENGELBRECHT et al. verwendeten für ihre Untersuchungen ein ω -Acylceramid-Analogon. Anstelle der Linolsäure ist in ω -Position eine Palmitinsäure mit Methylverzweigung verestert. Das Derivat weist dabei ein vergleichbares thermotropes Phasenverhalten wie das natürliche Ceramid auf.⁷⁶ In den durchgeführten Neutronendiffraktionsexperimenten konnte für die Modellmembran nur die Ausbildung der *short-periodicity Phase* (SPP) und nicht die der LPP beobachtet werden. Interessant sind die methylverzweigten ω -Acylceramid-Derivate dahingehend, dass durch das

Vorliegen gesättigter Strukturen sie gegen oxidativen Stress unempfindlicher und in der Darstellung einfacher als das natürliche Analogon sind.⁷⁶

Während für die *short-periodicity Phase* ein Wiederholabstand von 60 Å in menschlichen Stratum corneum Proben bestimmt wurde,⁷⁷ konnte in Experimenten an Modellmembranen mit synthetischen Ceramiden in Abhängigkeit der verwendeten Kettenlängen unterschiedliche Abstände zwischen 40 und 65 Å gemessen werden.⁷⁸⁻⁸¹ Diese Differenz kann durch das unterschiedliche Phasenverhalten von kurzkettigen symmetrischen Ceramiden, bei denen die Ketten zwischen 16 und 18 Kohlenstoffatomen aufweisen, und längeren unsymmetrischen Ceramiden, bei denen beide Ketten unterschiedliche Kettenlängen haben, hervorgerufen werden.^{82,83} Mehrere Studien legen dabei nahe, dass die Ceramide in der *Haarnadel* Konformation vorliegen.^{78,80,84,85} NORLEN beschreibt, dass die Konformation der Ceramide zwischen den typischen Anordnungen wechseln kann.⁷³ KISELEV et al. postulieren, dass dieser Wechsel (*chain-flip*) abhängig vom Wassergehalt ist.⁸⁶ Die Untersuchungen an Modellmembranen mit dem Ceramid AP zeigten, dass bei Vorliegen eines niedrigen Wassergehaltes in der Membran das Ceramid in *full extended* Konformation und bei hohem Wassergehalt in der *Haarnadel*-Konformation vorliegt. Dieses Modell wird als *armature reinforcement* Modell bezeichnet.⁸⁶

Mit der Patentanmeldung durch WOLF im Jahr 2009 wurde eine neue Ceramidklasse eingeführt.⁸⁷ Durch kovalente Bindung zweier Ceramid-Moleküle wird ein Ceramid-Dimer gebildet. Die Verknüpfung erfolgt über einen Spacer, der die Alkylketten der Fettsäure, des Aminoalkohols oder einer Kombination von beiden verbindet. Die Patentschrift beinhaltet, dass der Spacer aus mindestens einem Atom Sauerstoff, Stickstoff, Kohlenstoff oder Kombinationen dieser besteht, wobei das Hauptaugenmerk auf dem Sauerstoffatom liegt. Durch die dimere Struktur soll die Grundstruktur so erhalten bleiben, dass eine Metabolisierung nur im geringeren Umfang erfolgt und gleichzeitig der Um- und Abbau zu solchen Substanzen führt, die den körpereigenen Ceramiden sehr nahe kommen. Als möglicher Verwendungszweck wird die Herstellung von Arzneimitteln postuliert, um beispielsweise den krankheitsbedingten Verlust von Stratum corneum-Ceramiden und dem damit einhergehenden geringeren Wasserbindungsvermögen und transepidermalen Wasserverlust entgegenzuwirken.⁸⁷

1.3 Neutronendiffraktion

Neutronen sind mit Ausnahme des Wasserstoffs Bestandteile von allen Atomen.⁸⁸ Sie sind neutral geladen und haben eine Atommasse von 1,00866492 Da.⁸⁹ Die Energie der Neutronen wird dabei durch ihre Geschwindigkeit bestimmt.⁹⁰ Durch ihren neutralen Charakter können Neutronen tief in kondensierte Materie eindringen, wirken dabei aber nicht zerstörend auf diese ein.⁹¹ Während Röntgenstrahlen mit Elektronen von Atomen wechselwirken, werden Neutronen am Atomkern gebeugt. Die Streulänge b kennzeichnet dabei die Stärke der Streuung und steht in Abhängigkeit von der Tiefe und dem Radius des Kernpotentials, so dass sich die Streulängen abhängig vom Atomkern deutlich unterscheiden.⁹² Aufgrund der unterschiedlichen Atommasse von Isotopen desselben Elements ist es daher auch möglich, zwischen diesen zu unterscheiden, beispielsweise weist Wasserstoff eine Streulänge von $^1\text{H } b_{\text{coh}} = -0,374 \times 10^{-12} \text{ cm}$ auf, während Deuterium als Wasserstoffisotop eine Streulänge von $^2\text{H } b_{\text{coh}} = 0,667 \times 10^{-12} \text{ cm}$ hat.⁹³ Da Wasserstoff ein wesentlicher Bestandteil von biologischen

Materialien ist, zeigt sich hier der entscheidende Vorteil von Neutronenstreuung gegenüber Röntgenstreuung, für die Wasserstoff nahezu nicht sichtbar ist.^{91,94} Zusätzlich ergibt sich die Möglichkeit, durch gezielte Deuteriummarkierung von einzelnen Molekülgruppen bzw. Molekülbestandteilen diese in der räumlichen Lage zu bestimmen.^{95,96}

Im Allgemeinen tritt *Streuung* dann auf, wenn Strahlung auf Materie trifft und diese nicht absorbiert wird. Hat die Materie dabei keine höhere Ordnung, können über die Streudaten Informationen über Größe und Form der Moleküle sowie über intermolekulare Wechselwirkungen erhalten werden. Weist die Materie eine geordnete Struktur beispielsweise eines Kristallgitters auf, so wird die eintreffende Strahlung der Proben in einem speziellen Winkel gestreut (siehe Abb. 6).⁹⁷ Diese Spezialform der *Streuung* wird auch als *Diffraction* bezeichnet und folgt der BRAGG'schen Gleichung.⁹⁷

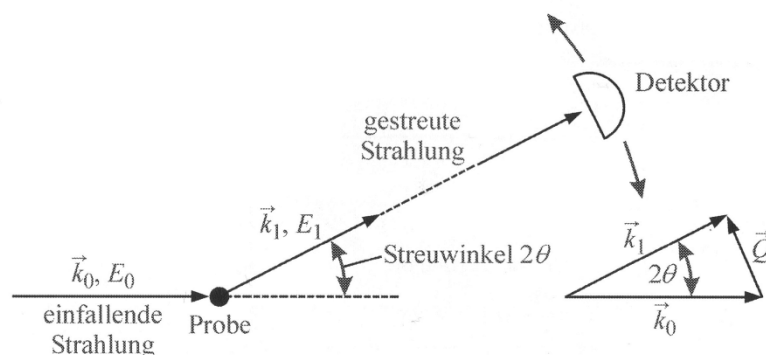


Abb. 6: Schematische Darstellung eines Streuprozesses. Einfallende Strahlung wird unter dem Streuwinkel 2θ gestreut. Die resultierende Richtungsänderung aus der Differenz des gestreuten Wellenvektors \vec{k}_1 und dem einfallenden Wellenvektors \vec{k}_0 wird mit dem Streuvektor \vec{Q} angegeben. E_0 und E_1 sind dabei die Energie des einfallenden Strahls, bzw. der gestreuten Strahls.⁹⁷

Die BRAGG'sche Gleichung beschreibt, wann es durch gestreute Strahlung an verschiedenen parallelen Netzebenen eines Gitters zur konstruktiven Interferenz kommt.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Gleichung 1}$$

λ entspricht der Wellenlänge des verwendeten monochromatischen Neutronenstrahls, d gibt den Abstand der Netzebenen an, der Einfallswinkel bzw. Ausfallswinkel der Strahlung wird mit θ angegeben.

Dem BRAGG'schen Gesetz folgend, wird die einfallende Strahlung an den Netzebenen unter einem Streuwinkel von 2θ gestreut. Die entsprechende Richtungsänderung des einfallenden zum gestreuten Strahl wird als Streuvektor \vec{Q} bezeichnet. Unter der Bedingung, dass es sich um elastisch gestreute Strahlung ($\Delta E = 0$) handelt, ergibt sich für den Betrag des Streuvektors:⁹⁷

$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta \quad \text{Gleichung 2}$$

Kommt es der BRAGG'schen Gleichung zur Überlagerung von gestreuter Strahlung, sodass die Wegdifferenz zwischen zwei benachbarten Ebenen dem ganzzahligen Vielfachen der

Wellenlängen entspricht, treten Beugungsmaxima auf. Entsprechend kann ein Diffraktionspeak detektiert werden (siehe Abb. 7).

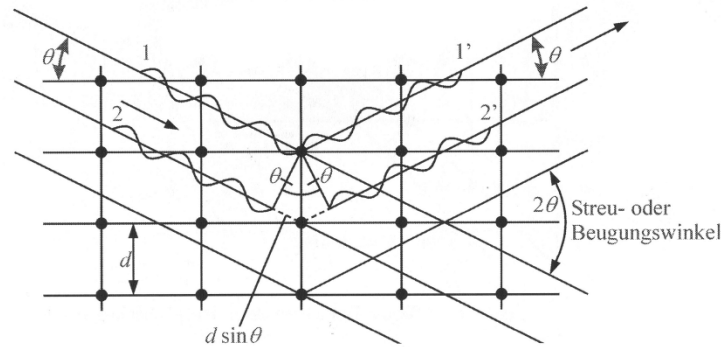


Abb. 7: Neutronenstreuprozess entsprechend der BRAGG'schen Gleichung⁹⁷

Aus den experimentell bestimmten Diffraktionspeaks kann mittels der BRAGG'schen Gleichung der Abstand der parallelen Netzebenen bestimmt werden. Dieser wird für Lipid-Biomembranen auch als *lamellarer Wiederholabstand* d bezeichnet. Der Abstand d entspricht der Dicke der Lipid-Doppelschicht und einer anhaftenden (interlamellaren) Wasserschicht und stellt eine wichtige zu erfassende Größe bei Diffraktionsstudien dar.⁹³

Die Intensitäten der Beugungsreflexe können mittels Fourier-Synthese in die entsprechenden Neutronenstreulängendichteprofile umgerechnet werden. Mit dem Profil können Rückschlüsse auf den molekularen Aufbau der Membran gezogen werden.⁹⁷

$$\rho_s(x) = a + b \frac{2}{d} \sum_{h=1}^{h_{max}} F_h \cos\left(\frac{2\pi hx}{d}\right) \quad \text{Gleichung 3}$$

a und b entsprechen Koeffizienten für die relative Normierung von $\rho_s(x)$, die Diffraktionsordnung wird durch h angegeben und F_h ist der Strukturfaktor.⁹⁸

Die Berechnung des Strukturfaktors erfolgt nach folgender Formel:⁹⁹

$$|F_h| = \sqrt{C_h * A_h * I_h} \quad \text{Gleichung 4}$$

C_h entspricht dem LORENTZ Faktor, A_h der Absorptionskorrektur und I_h der Intensität der jeweiligen Diffraktionsordnung.¹⁰⁰

Der Strukturfaktor gibt die statistische Verteilung der Neutronen an und kann nur als absoluter Wert berechnet werden. Aus den Intensitätsmessungen können nur die Amplituden erhalten werden, die Phase und damit das Vorzeichen wird nicht erhalten. Für zentrosymmetrische Bilayer kann die Phase nur Werte von „+1“ oder „-1“ annehmen. Das Phasenproblem kann durch Kontrastvariation gelöst werden. Aufgrund des großen Unterschiedes zwischen der Streulänge von Wasserstoff und Deuterium bewirkt der Austausch bzw. das Mischen von H_2O gegen D_2O eine Kontrastvariation der Komponenten, sodass der Phasenwechsel bestimmter Reflexe beobachtet werden kann, sowie Rückschlüsse auf die Wasserverteilung der Probe gezogen werden.^{97,101,102}

Durch selektiven Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium in definierten Molekülbereichen kann dieser Effekt auch gezielt für Neutronendiffraktionsexperimente genutzt werden. Untersuchungen zeigten, dass ein Austausch der Wasserstoffatome gegen Deuteriumatome im endständigen Bereich der Fettsäurekette bei den Ceramiden den größten Nutzen hat.⁹³ Zusätzlich ist möglich, daraus Rückschlüsse auf die entsprechende Lokalisierung des deuteriummarkierten Molekülbereichs zu ziehen.^{96,103}

1.4 Zielstellung der Arbeit

Die vorliegende Dissertation hat die Synthese von spezifisch deuterierten und komplexen (dimeren) Ceramiden des Sphingosins und des Phytosphingosins zum Ziel. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf folgenden Punkten:

- Es sollen die Ceramide vom non-hydroxy Typ synthetisiert werden, bei denen die Fettsäure endständig deuteriert ist und eine Kohlenstoffanzahl von 18, 22 bzw. 24 Atomen aufweist (siehe Kapitel 2.3).
- Des Weiteren sollen endständig deuterierte α -hydroxy Fettsäuren mit einer Kohlenstoffanzahl von 18 bzw. 24 Atomen synthetisiert werden und anschließend zu den entsprechenden Ceramiden umgesetzt werden. Zusätzlich soll dazu die Möglichkeit der Diastereomerentrennung der erhaltenen Ceramidgemische untersucht werden (siehe Kapitel 2.4).
- Weiterhin sollen methylverzweigte Hexadecansäuren mit unterschiedlichen Deuterierungsvarianten synthetisiert werden, die nachfolgend zu den entsprechenden ω -veresterten Ceramidtypen des Sphingosin und Phytosphingosin umgesetzt werden (siehe Kapitel 2.5).
- Ferner soll die Substanzklasse der Ceramid-Dimere synthetisch zugänglich gemacht werden, wobei nachfolgend die Einführung von Deuteriumatomen in die Dicarbonsäurekette untersucht werden soll (siehe Kapitel 2.6).

Die synthetisierten Ceramide sollen nachfolgend der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Dr. R.H.H. NEUBERT, Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg und Institut für angewandte Dermatopharmazie, für Neutronendiffraktionsuntersuchungen zur Verfügung gestellt werden. Ziel der Untersuchungen ist es dabei, den Einfluss der synthetisierten Ceramide auf den molekularen Aufbau ausgewählter Stratum corneum Modellmembranen besser zu verstehen. Aufgrund der Vielzahl an synthetisierten Ceramiden und daraus resultierenden verschiedensten Zusammensetzungsmöglichkeiten der Modellmembran kann an dieser Stelle nur eine sehr eingeschränkte Auswahl präsentiert werden. Die ausführliche Beschreibung der Ergebnisse bleibt den entsprechenden durchführenden Personen vorbehalten.

2 Synthetisch-präparative Arbeiten

2.1 Synthesekonzept

Carbonsäuren und Sphingoidbasen bilden die beiden Bestandteile der Ceramide. Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Sphingoidbasen Sphingosin und Phytosphingosin wurden von *Evonik* (Essen, Deutschland) bereitgestellt. Beide wiesen eine Kettenlänge von 18 Kohlenstoffatomen auf und wurden vor Verwendung chromatographisch gereinigt. Die Carbonsäuren wurden aus entsprechenden Ausgangsverbindungen dargestellt. Zwei Synthesen waren von wesentlicher Bedeutung für die Darstellung der unterschiedlichen Ceramide: zum einen die Einführung der Deuteriumatome in die Carbonsäurekomponente und zum anderen die Amidbildung zwischen der jeweiligen Fettsäure und Sphingoidbase.

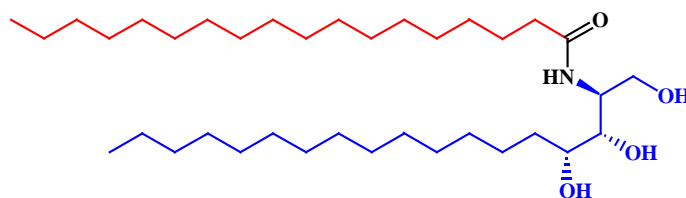


Abb. 8: schematischer Aufbau eines Ceramids: eine Fettsäure (rot) und eine Sphingoidbase (blau) sind über eine Amidbindung (schwarz) miteinander verbunden

2.1.1 Einführung der Deuterierung

Erste Studien zur Deuteriumchemie zum Ende der 30er Jahre und zu Beginn der 40er Jahre des vorhergehenden Jahrhunderts beinhalteten kinetische Untersuchungen zum Wasserstoff-Deuterium-Austausch. Sowohl IVES und KERLOGUE als auch BONHOEFFER et al. benutzten dazu Deuteriumoxid und Alkalideuteroxid-Basen, wobei allerdings die genaue Lokalisierung des Austausches nicht bestimmt wurde.^{104,105} Diese Methode wurde 1974 von ATKINSON et al. aufgegriffen und für den Deuterium-Austausch an Carboxylaten in α -Position bzw. konjugierten Gruppen beschrieben.¹⁰⁶ Durch Temperaturen von bis zu 150 °C und durch mehrmaliges Wiederholen konnte ein Isotopengehalt von mehr als 98% erhalten werden. Eine weitere Möglichkeiten der Deuterierung-Einführung beschreiben DELLA und PATNEY in der Addition von Deuterium an eine Mehrfachbindung, um zur deuterierten Bernsteinsäure zu gelangen. Neben Deuteriumgas wird 5% Palladium auf Aktivkohle als Katalysator verwendet.¹⁰⁷ Vergleichbar dazu verwenden TASHIRO et al. unterschiedliche Nickel-Katalysatoren, um deuterierte Bernsteinsäure zu erhalten.¹⁰⁸

1974 beschreiben HSIAO et al. ebenfalls die Verwendung von Deuteriumgas und Palladium/Kohlenstoff-Katalysatoren um Fettsäuren mit 6-14 Kohlenstoffatomen vollständig zu deuterieren. Aufgrund der unterschiedlichen Austauschraten in Abhängigkeit der Position im Molekül betrug die Reaktionszeit mehrere Tage. Beispielsweise konnte unter den beschriebenen Bedingungen bei Caprylsäure und Myristinsäure ein Austausch von $\geq 95\%$ nach 113 Stunden festgestellt werden.¹⁰⁹ Bereits 1970 berichten AASEN et al. die Verwendung von Natrium und Methanol-D₁ für den Deuterium-Wasserstoff-Austausch in α -Position einer Me-

thylsterfunktion. Vorteilhaft ist hierbei die nur kurze Reaktionszeit. Allerdings ist hierbei eine mehrfache Wiederholung durch Abziehen des vorhandenen Methanol-D₁ sowie Hinzu-geben von weiteren Methanol-D₁ nötig.¹¹⁰ LAUER et al. realisieren den Deuteriumaustausch von Wasserstoffatomen an einer Doppelbindung durch Verwendung von Hydrazin-D₄ dar.¹¹¹ 2008 beschreiben KURITA et al. die Palladium/Kohlenstoff katalysierte reduktive Deuterierung von verschiedenen funktionellen Gruppen und die chemoselektive Deuterium-Addition an Olefinen und Acetylene durch Verwendung von Deuteriumoxid in der Gegenwart von kleinen Mengen Wasserstoff bei Raumtemperatur.¹¹² Neben den beschriebenen Methoden des Wasserstoff-Deuterium-Austausches sind auch Beispiele in der Literatur vorhanden, bei denen durch Einbau von deuterierten Zwischenverbindungen größere Moleküle dargestellt wurden. Mit der Verwendung von Paraformaldehyd-D₂ bei der Synthese von ungesättigten Fettsäuren gelangen beispielsweise HILL et al., Linolsäure mit einer deuterierten Methyleneinheit zwischen den Doppelbindungen zu erhalten.¹¹³ Zur Einführung einer endständigen CD₃-Gruppe berichten ISABELLE und LEITCH zwei Methoden: Zum einen wird durch Reaktion von Silberacetylid mit Methyljodid-D₃ die direkte Einführung einer CD₃-Gruppe beschrieben und zum anderen wird beschrieben, dass die Chloratome einer endständigen CCl₃-Gruppe durch Reaktion mit Zinkstaub und einem Dioxan/Deuterium-Gemisch mit Deuteriumatomen substituiert werden können.¹¹⁴ Anstelle der endständigen CCl₃-Gruppe geht TULLOCH von Estergruppen aus.¹¹⁵ Diese werden in einer dreistufigen Reaktion zur endständigen CD₃-Gruppe umgesetzt. Im ersten Reaktionsschritt erfolgt die Reduktion des Esters mit Lithiumaluminiumdeuterid zum zweifach deuterierten Alkohol. Dieser wird nachfolgend als Methansulfonsäureester aktiviert und im dritten Reaktionsschritt erneut mit LiAlD₄ reduziert. Aufgrund der Erfahrungen in der Arbeitsgruppe mit diesem Reaktionsablauf,^{116,117} sowie der guten Zugänglichkeit zu den entsprechenden Estern wurde der von TULLOCH beschriebene Reaktionsablauf für das Synthesekonzept der vorliegenden Arbeit ausgewählt.

2.1.2 Amidbindung

Im Ceramidmolekül sind die Fettsäure und der Aminoalkohol über eine Amidbindung miteinander verbunden. Für die Kupplung bedarf es allerdings eine Aktivierung der Säure, da andernfalls im Sinne einer Säure-Base-Reaktion es zur Salzbildung kommt und damit die Amid-Bildung erschwert ist.¹¹⁸ An den freien Hydroxyl-Gruppen der Aminoalkohole können Nebenreaktion ablaufen, so kann es beispielsweise zur Esterbildung kommen. Dies kann aber durch die Verwendung von Schutzgruppen oder durch die Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen verhindert werden.¹¹⁸

Es finden sich verschiedene Arten der Amid-Bildung in der Literatur. So beschreiben WILD und SCHMIDT für die Kupplung von Behensäure mit Phytosphingosin, dass zunächst die Säure zum entsprechenden Säurechlorid umgewandelt wurde und nachfolgend mit Phytosphingosin in einer Mischung aus THF und wässriger Natriumacetat-Lösung (50%) zur Reaktion gebracht wird.¹¹⁹ Bereits 1972 haben ONG und BRADY den N-Hydroxysuccinimid-Ester von Palmitinsäure verwendet und diesen mit Sphingosin zur Reaktion gebracht, um das entsprechende Ceramid zu erhalten.¹²⁰ OPÁLKA et al. benutzten den Succinimid-Ester sogar für die Synthese von ω -Acylceramiden. Dabei wurde der Ester sowohl als Schutzgruppe, als auch als aktivierter Ester für die Amid-Bildung verwendet.¹²¹ ŠKOLOVÁ et al. benutzen EDC, um die

Säure als O-Acylisoharnstoff zu aktivieren, der dem Säureanhydrid vergleichbare Reaktivität aufweist.¹²² Anwendung findet ebenfalls das Kupplungsreagenz EEDQ. Durch Überführung der Säure in ein Anhydrid erfolgt in diesem Fall die Aktivierung.^{123,124} Erfahrungen zu Ceramidsynthese mit EEDQ wurde in der Arbeitsgruppe bereits gesammelt.¹²⁵ In der Literatur werden die Kupplungsreagenzien BOP[®] und PyBOP[®] bei der Peptidsynthese verwendet.¹²⁶ Innerhalb der Arbeitsgruppe konnte das Kupplungsreagenz PyBOP[®] bereits bei der Malonsäureamid-Synthese erfolgreich angewendet werden.^{127,128} Da diese Methode zuvor noch nicht in der Ceramid-Synthese angewendet wurde, entstand die Überlegung, diese Reaktion auch auf die Ceramid-Synthese zu übertragen und damit eine einfache und effiziente Methode der Amid-Bildung zu etablieren.

2.2 Nomenklatur

Für die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Ceramide musste die Nomenklatur von MOTTA et al. erweitert werden,⁸ um zum einen die Einführung der spezifischen Deuterierung anzugeben als auch um den molekularen Aufbau für die komplexen dimeren Ceramide näher zu beschreiben.

Innerhalb der Arbeitsgruppe wurde von LANGE eine Nomenklatur für nicht hydroxylierte endständig deuterierte Ceramide eingeführt.¹¹⁷ Hierbei wird dem Ceramid-Namen gemäß der Nomenklatur von MOTTA et al. ein **D** für Deuterium nachgestellt. Die nachfolgende tiefgestellte Zahl beschreibt die Anzahl der Atome. Die vorangestellten Zahlen geben die Positionen der Deuteriumatome in der Fettsäurekette an. Da die Deuteriumatome endständig eingeführt wurden, kann aus den vorangestellten Zahlen die Kettenlänge der Fettsäurekette abgelesen werden. Die verwendeten Sphingoidbasen wiesen gleichbleibend eine Kohlenstoffanzahl von 18 Atomen auf und wurden im Rahmen der Nomenklatur nicht näher beschrieben. Daraus ergibt sich, dass ein Ceramid, das aus einer endständig deuterierten Fettsäure mit 18 Kohlenstoffatomen und Sphingosin besteht, die Bezeichnung CER [NS] 18,18,18-D₃ erhält.

Diese Nomenklatur wurde für die dargestellten nicht-hydroxylierten und alpha-hydroxylierten Ceramide übernommen.

Für die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten langkettigen methylverzweigten ω -Acylceramide wurde dem Buchstabencode ein **m** vorangestellt, um die in ω -Position veresterte methylverzweigte Fettsäure im Vergleich zum natürlichen Ceramid anzuzeigen. Für die Positionsbeschreibung der Deuteriumatome wurde dem **D** ein **m** für die Deuterierung der verzweigten Methylgruppe und ein **e** für die Deuterierung der endständigen Methylgruppe vorangestellt. Das methylverzweigte Ceramidanalogen des [EOS] mit methylverzweigter Deuterierung wird durch folgenden Buchstabencode beschrieben: CER[mEOS]-m-D₃.

Zur Beschreibung der synthetisierten dimeren Ceramide geht dem Buchstabencode ein **d** voraus. Die zweite Sphingoidbase wird durch Angabe eines entsprechend zweiten Buchstaben gemäß Sphingoidbasen-Code angezeigt. Für die deuterierten dimeren Analoga wurde um den Code einfach zu halten, auf die vorangestellten Zahlen zur Positionsangabe verzichtet und nur die Anzahl an Deuteriumatomen angegeben, beispielsweise dCER[NSS]-D₁₂.

2.3 Synthese der deuterierten Ceramide [NS] und [NP]

Für die Synthese der deuterierten Ceramide [NS] und [NP] 18:18, 22:18 bzw. 24:18 wurden neben dem jeweiligen Aminoalkohol Sphingosin bzw. Phytosphingosin die endständig deuterierten Fettsäuren der jeweiligen Kettenlänge benötigt. Für die Synthese der endständig deuterierten Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 18, 22 bzw. 24 Kohlenstoffatomen wurden aufbauend auf den Erfahrungen der Arbeitsgruppe, bei der zwei funktionalisierte Intermediate mittels GRIGNARD-Reaktion zur benötigten Kettenlänge der Fettsäuren gekuppelt wurden,^{93,117} ein baukastenartiges Konzept entwickelt. Es wurde zum einen endständig deuteriertes Nonylbromid synthetisiert, das mit THP-geschützten Bromalkoholen mit definierter Kettenlänge gekuppelt wurde, um die entsprechende Kettenlänge der Fettsäuren zu erhalten.

2.3.1 Synthese der Vorstufen

Als Ausgangsverbindungen dienten kommerziell erhältliche Azelainsäure (**1**) und Nonan-1,9-diol (**2**) für die funktionalisierten Vorstufen mit 9 Kohlenstoffatomen, kommerziell erhältliches Ethylenbrassylat (**3**) für das THP-geschützte Bromtridecanol **20** und kommerziell erhältliches 15-Pentadecanolid (**4**) für den THP-geschützten Brompentadecanol **16**.

Für die Synthese des endständig dreifach deuterierten Nonylbromids (**10**) wurde ausgehend von Azelainsäure (**1**) diese zunächst durch säurekatalysiertes Erhitzen mit Methanol in Dichlormethan am Wasserabscheider zum Nonandisäuredimethylester (**5**) umgesetzt. Die Verseifung zum Monoester **6** erfolgte nach einer Vorschrift von STÄLLBERG-STENHAGEN.¹²⁹ Hierbei wurde durch Hinzufügen einer methanolischen Bariumhydroxidlösung zu einer methanolischen Diesterlösung **5** die Estergruppe verseift und die freie Carboxylatgruppe als Bariumsalz gefällt. Im Rahmen der Isolierung konnte nicht umgesetzter Diester **5** durch Waschen mit Diethylether, sowie die zweifach verseifte Disäure **1** nach Ansäuern und Aufnahme in Ether durch Waschen mit 5%iger Kaliumcarbonatlösung entfernt werden. Beide abgetrennte Verbindungen konnten durch die Rückgewinnung einer erneuten Umsetzung zugeführt werden. Für die Umsetzung des Nonandisäuremonomethylesters (**6**) zum 9-Hydroxynonansäuremethylesters (**7**) wurde eine selektive Reduktion der freien Säuregruppe unter Erhaltung der Estergruppe benötigt. Versuche mit dem Boran/Dimethylsulfid-Komplex führten zwar zum Hydroxyester **7**,¹³⁰ nachteilig erwies sich neben dem Dimethylsulfid-Geruch die Bildung weiterer Nebenprodukte. Als eine weitere Möglichkeit zur selektiven Reduktion wurde die freie Säuregruppe zunächst durch Reaktion mit Ethylchloroformiat aktiviert und anschließend wurde das entstandene gemischte Anhydrid mit Natriumborhydrid in abs. Methanol reduziert.¹³¹ Hierdurch konnte eine Ausbeutensteigerung auf 81% erreicht werden. Für die Einführung der THP-Schutzgruppe an die freie Hydroxygruppe des 9-Hydroxynonansäuremethylesters (**7**) wurde eine Vorschrift nach MIYASHITA et al. verwendet,¹³² wobei die Umsetzung durch 24 stündiges Rühren bei Raumtemperatur mit 3,4-Dihydro-2H-pyran in Methylchlorid unter Zusatz von katalytischen Mengen an Pyridiniumtosylat (PyrTos, PPTS) erfolgte. Die Esterfunktion des erhaltenen 9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester (**8**) wurde in einer dreistufigen Synthese in Anlehnung an eine Vorschrift von TULLOCH zur endständigen CD₃-Gruppe reduziert,¹¹⁵ um das 2-(9,9,9-D₃-Nonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**9**) zu erhalten. Zunächst erfolgte im ersten Reaktionsschritt die Reduktion mit LiAlD₄ in abs. Diethylether zum zweifach deuterierten Alkohol. Nach Vollständiger Um-

setzung wurde zur hydrolytischen Spaltung des intermediär gebildeten komplexen Lithiumaluminiumalkoholates und zur Zersetzung des Lithiumaluminiumdeuteridüberschusses Deuteriumoxid hinzugegeben. Anschließend konnte der Niederschlag mittels Fritte abgetrennt werden. Der im Filtrat enthaltene zweifach deuterierte Alkohol wurde nach Aufarbeitung und Trocknung ohne weitere Reinigung durch Reaktion mit Methansulfonsäurechlorid (MesCl) in Chloroform aktiviert. Dabei wurde ein zusätzliches Moläquivalent Triethylamin als Hilfsbase hinzugefügt, um eine Abspaltung der säurelabilen THP-Schutzgruppe zu vermeiden.¹³³ Zur Aufarbeitung wurde Eiswasser hinzugefügt und nachfolgend mit Chloroform extrahiert. Es zeigte sich, dass hier durch einen Wechsel des Lösungsmittels hin zu Heptan zur weiteren Aufarbeitung beim nachfolgenden Schritt erhöhte Ausbeuten erzielt werden konnten. Im dritten Reaktionsschritt wurde der Methansulfonsäureesters mit LiAlD_4 reduziert, sodass das dritte Deuteriumatom eingeführt wurde. Zur Aufarbeitung wurde Aqua dest. anstelle von Deuteriumoxid verwendet, da die Bildung der CD_3 -Gruppe während der Reaktion erfolgte und unabhängig von der hydrolytischen Spaltung des Alkoholates bzw. der Zersetzung des Deuterid-Überschusses war. Auch hier konnte der gebildete Niederschlag mittels Fritte abgetrennt werden, um so den (9,9,9- D_3 -Nonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**9**) zu erhalten. Anschließend wurde die THP-Schutzgruppe nach einer Vorschrift von SCHWARZ et al. durch Reaktion mit Triphenylphosphindibromid zum 9,9,9- D_3 -1-Bromnonan (**10**) umgesetzt (siehe Abb. 8).¹³⁴

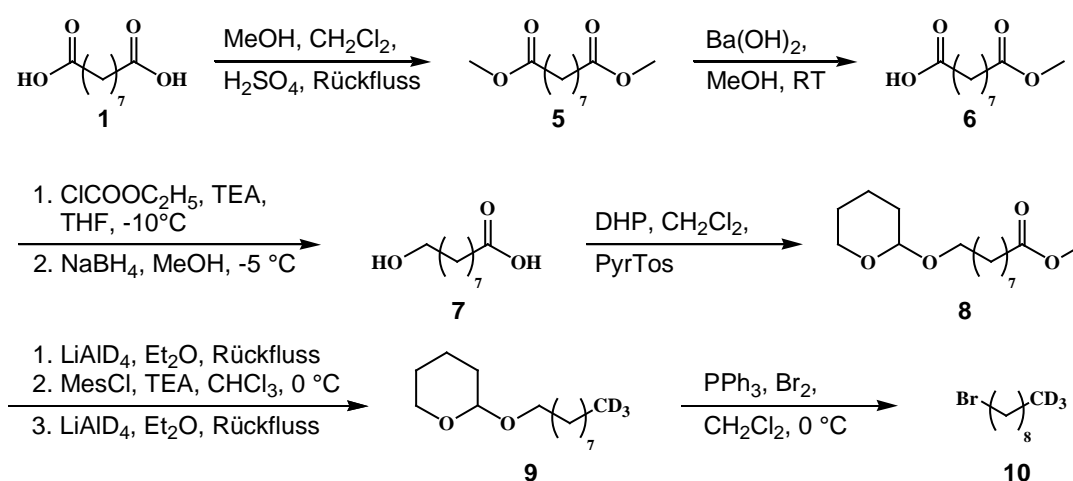


Abb. 9: Darstellung des 9,9,9- D_3 -1-Bromnonans (**10**) ausgehend von Azelainsäure (**1**)

Die Synthese der THP-geschützten ω -Bromalkohole mit 9 bzw. 15 Kohlenstoffatomen erfolgte über die entsprechenden THP-geschützten ω -Hydroxyalkansäuremethylester **8** und **12**. Der 9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester (**8**) wurde als Zwischenprodukt bei der Synthese des 9,9,9- D_3 -1-Bromnonans (**10**) erhalten. Der 15-Hydroxypentadecansäuremethylester (**11**) wurde ausgehend vom entsprechenden ω -Pentadecanolid (**4**) nach einer Vorschrift von CUNDY und GURR durch 24 stündiges Erhitzen in Methanol unter Zusatz von katalytischen Mengen an *p*-Toluolsulfonsäure erhalten.¹³⁵ Für die Einführung der THP-Schutzgruppe an die freie Hydroxygruppe **11** wurde die schon beschriebene Vorschrift von MIYASHITA et al. verwendet.¹³² Die THP-Ester **8** und **12** wurden durch Reduktion mit LiAlH_4 in abs. Diethylether zu den THP-Alkoholen **13** und **14** umgesetzt.¹¹⁸ Im Gegensatz zur Vorschrift¹¹⁸ musste auf eine saure Aufarbeitung zur Zersetzung des Aluminiumhydroxidniederschlags verzichtet werden, da dieses aufgrund der Säurelabilität der THP-

Schutzgruppe nicht möglich war. Um das intermediär entstandene komplexe Lithiumaluminiumalkoholat, sowie den Lithiumaluminiumhydridüberschuss hydrolytisch zu zersetzen, wurde eine ausreichende Menge an Aqua dest. hinzugegeben, der Niederschlag mittels Fritte abgesaugt (wie oben schon beschrieben) und mehrfach mit Ether gewaschen. Die freie Hydroxygruppe der erhaltenen mono THP-geschützten Diole **13** und **14** wurde anschließend in einer zweistufigen Reaktion nach einer Vorschrift von MORI et al.,¹³⁶ modifiziert nach DRESCHER,¹³⁷ zum 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**15**) und 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**16**) umgesetzt (siehe Abb. 9). Im ersten Reaktionsschritt erfolgte die Aktivierung mit Methansulfonsäurechlorid in Chloroform. Zur Vermeidung der Abspaltung der säurelabilen THP-Schutzgruppe wurde ein zusätzliches Moläquivalent Triethylamin als Hilfsbase hinzugegeben.¹³³ Auf einen Wechsel des Lösungsmittels während der Aufarbeitung wurde verzichtet, da im nachfolgenden Reaktionsschritt ein Überschuss des benötigten Reaktanten verwendet wurde. Der erhaltene Methansulfonsäureester wurde im zweiten Reaktionsschritt im Sinne einer FINKELSTEIN-Reaktion durch Reaktion mit Lithiumbromid gegen Bromid substituiert.¹¹⁸

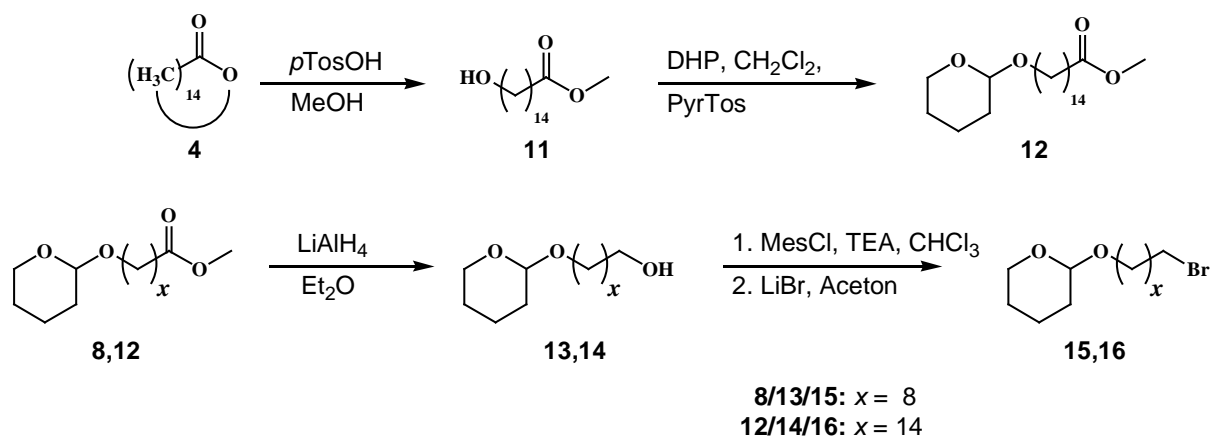


Abb. 10: Darstellung der 2-(ω -Bromalkyloxy)tetrahydro-2*H*-pyrane **15** und **16** ausgehend von 15-Pentadecanolid (**5**) und 9-[(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester (**8**)

Die Synthese von größeren Mengen an 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**15**) konnte ausgehend vom kommerziell erhältlichen Nonan-1,9-diol (**2**) realisiert werden. Zusätzlich konnte der THP-geschützte 13-Bromtridecanol (**20**) mittels dieser Synthese-strategie über das Tridecan-1,13-diol (**17**) erhalten werden.

Für die Synthese des Tridecan-1,13-diols (**17**) wurde kommerziell erhältliches Ethylenbrassyilat (**3**) verwendet, welches mittels Lithiumaluminiumhydrid in abs. Ether reduziert wurde.¹¹⁸ Die 1, ω -Dirole **2** und **17** wurden mit Bromwasserstoff in Toulol am Wasserabscheider erhitzt, um die ω -Bromalkohole **18** und **19** zu erhalten.¹³⁸ Eine zu lange Reaktionsdauer begünstigte dabei die Zweitsubstitution zu den entsprechenden 1, ω -Dibromiden, sodass die Reaktionen vorzeitig abgebrochen wurden. Während 9-Bromnonanol (**18**) mittels Vakuumdestillation gereinigt werden konnte, war dies für den 13-Bromalkohol **18** aufgrund der Kettenlänge und der damit verbundenen höheren Siedetemperatur nicht möglich. Der 13-Bromalkohol **18** wurde daher ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Anschließend wurde die THP-Schutzgruppe nach der schon beschriebenen Methode nach MIYASHITA et al. eingeführt, um 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**15**) bzw. 2-(13-Bromtridecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**20**) zu

erhalten (siehe Abb. 10).¹³² Noch enthaltenes 1, ω -Dibromid bzw. weitere Ausgangsstoffe wurden mittels Säulenchromatographie entfernt.

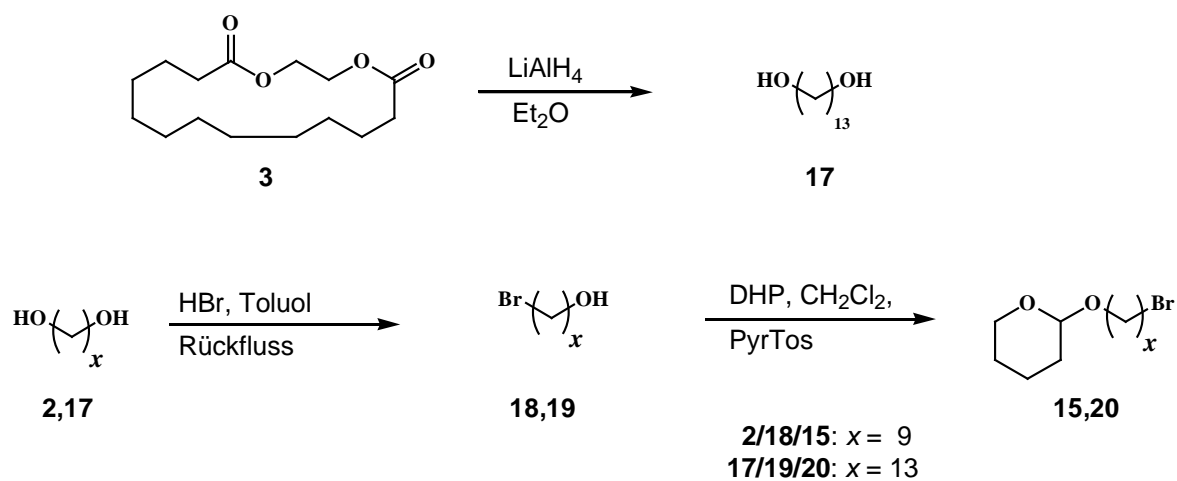


Abb. 11: Darstellung der 2-(ω -Bromalkoxy)tetrahydro-2H-pyrane **15** und **20** ausgehend von 1,9-Nonandiol (**2**) und Ethylenbrassylat (**3**)

2.3.2 Synthese der endständig deuterierten Fettsäuren und Kupplung der endständig deuterierten Ceramide vom Typ [NS] und [NP]

Für die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Kupplung zur Kettenverlängerung der THP-geschützten Bromalkohole **15**, **16** und **20** wurde die in der Literatur beschriebene kupferkatalysierte GRIGNARD-Reaktion mit Alkylhalogeniden verwendet,¹³⁹ die innerhalb der Arbeitsgruppe schon erfolgreich angewendet wurde.^{140,141} Dazu wurden die 2-(ω -Bromalkoxy)tetrahydro-2H-pyrane **15**, **16** und **20** in abs. THF gelöst und unter Argonatmosphäre zu Magnesiumspänen hinzugegossen. Während der Zugabe konnte ein Anstieg der Temperatur des Reaktionsgemisches beobachtet werden. Nach vollständiger Zugabe wurde der Ansatz für 3 Stunden auf 50 °C erwärmt. Die Magnesiumspäne wurden anschließend abgetrennt. Durch eine Umsetzung von über 90% zum GRIGNARD-Reagenz wurde für die nachfolgende Kupplung weniger 9,9,9- D_3 -1-Bromnonan (**10**) verwendet, um so den Verbrauch des deuterierten Eduktes zu minimieren. Zum gekühlten Ansatz wurde zunächst eine 0,1 M Katalysatorlösung an Dilithiumtetrachlorocuprat (II) in THF hinzugegeben, bevor das deuterierte Nonylbromid **10** hinzugefügt wurde. Nach mehrstündigem Rühren wurde die Reaktion abgebrochen. Für die nachfolgende THP-Schutzgruppenentfernung wurde der kettenverlängerte (ω,ω,ω - D_3 -Alkylalkoxy)tetrahydro-2H-pyran **21-23** mit katalytischen Mengen an Pyridiniumtosylat in Methanol erhitzt.¹⁴² Für eine vollständige Kristallisation der ω,ω,ω - D_3 -Alkanole **24-26** im Methanol wurde der Ansatz abgekühlt, bevor diese abfiltriert wurden (siehe Abb. 11).

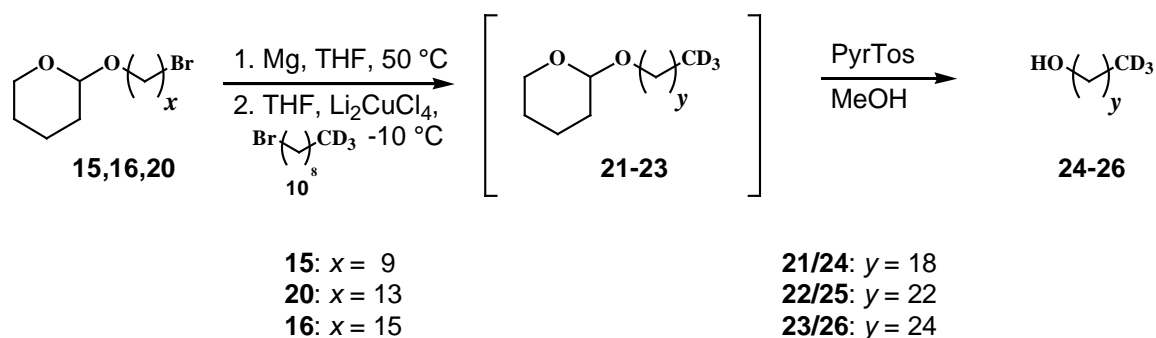


Abb. 12: Darstellung der ω,ω,ω -D₃-Alkanole **24-26**

Die erhaltenen Alkohole **24-26** wurden ohne weitere Reinigung zu den endständig deuterierten Fettsäuren **27-29** oxidiert. Die in der Literatur beschriebene Oxidation mittels Pyridiniumdichromat (PDC) erschien eine milde Methode der Oxidation zu sein¹⁴³ und wurde aufgrund der Erfahrungen der Arbeitsgruppe angewendet.^{93,117} Für die Oxidation des Alkohols zur Carbonsäure wurde ein Überschuss an PDC verwendet, dazu wurde aufbauend auf den Erfahrungen der Arbeitsgruppe ein Gemisch aus Chloroform und Dimethylformamid benutzt, um einen Mittelweg zwischen Löslichkeit des PDC als auch des Alkohols zu erhalten. Aufgenommene Massenspektren mittels Elektronen Spray Ionisation (ESI) zeigten zusätzliche Peaks, die vermuten ließen, dass es im Verlauf der Reaktion aufgrund von α -Oxidation zum Verlust einer CH_2 -Gruppe gekommen war. Diese Nebenreaktion trat insbesondere auf, wenn Chloroform im Überschuss verwendet wurde. Ein Verzicht auf Chloroform war nicht möglich, um Probleme beim Lösen der Alkohole zu vermeiden. Als weitere Möglichkeit wurde die JONES-Oxidation nach einer Vorschrift von DOBNER und NUHN untersucht.¹¹⁶ Es zeigte sich allerdings, dass hierbei das Lösungsvermögen von Aceton nicht ausreichte, um die Alkohole in Lösung zu halten. In der Literatur beschreibt LI für die Durchführung der Oxidation ein Gemisch aus Chloroform und Aceton zum Lösen.¹⁴⁴ Diese Modifizierung wurde für die Oxidation der endständig deuterierten Alkohole **24-26** übernommen, wodurch die Alkohole in Lösung gehalten wurden, und die Oxidation zu den kettenreinen deuterierten Fettsäuren **27-29** erfolgte (siehe Abb. 12).

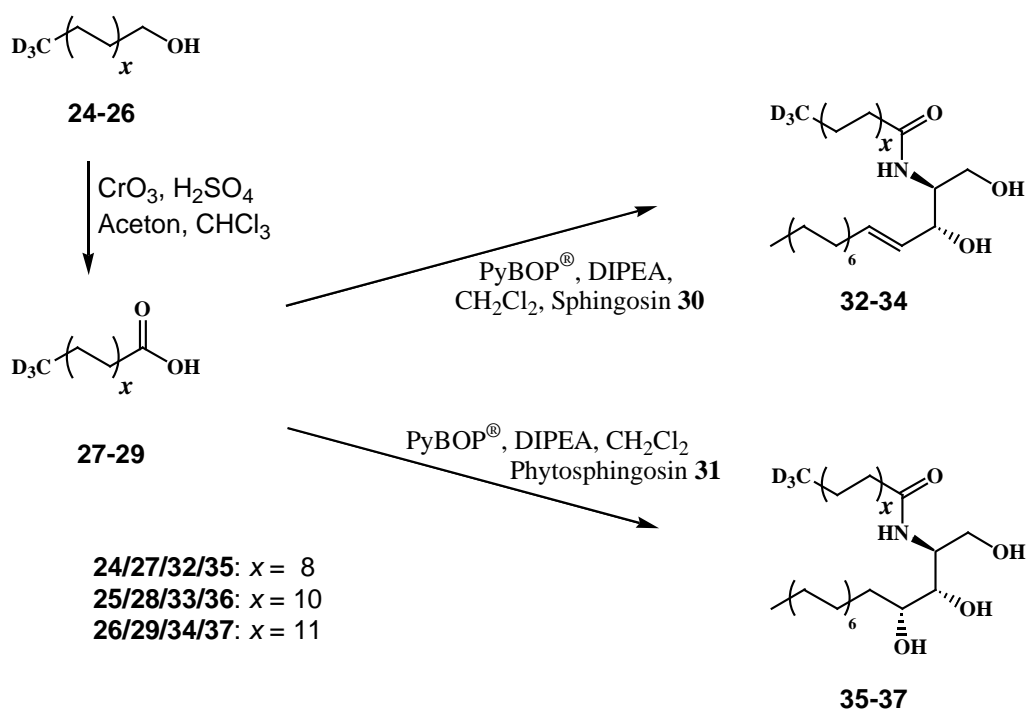


Abb. 13: Darstellung der Ceramide [NS] **32-34** und Ceramide [NP] **35-37**

Für die Knüpfung der Amid-Bindung zwischen den deuterierten Fettsäuren **27-29** mit dem jeweiligen Aminoalkohol Sphingosin (**30**) bzw. Phytosphingosin (**31**) wurde das Kupplungsreagenz PyBOP[®] verwendet.¹²⁶ Dazu wurden die deuterierten Fettsäuren **27-29** zunächst mit PyBOP[®] und Hünig-Base in Dichlormethan aktiviert. KIM beschreibt dabei die Bildung eines Phosphonium-Intermediats, dass durch 15 minütiges Rühren bei Raumtemperatur zu einem unreaktiveren Benzotriazolylester reagiert.¹⁴⁵ KIM und PATEL beschreiben ebenfalls, dass eine Reaktion dieses Esters mit Hydroxyl-Gruppen nicht mehr erfolgt, eine Umsetzung mit Aminen aber noch möglich ist.¹⁴⁵ Nach dem 15 minütigen Rühren wurde der Aminoalkohol zur Bildung des jeweiligen Ceramidtyps hinzugegeben und der Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.

Durch Kopplung der deuterierten Fettsäuren **27-29** mit Sphingosin (**30**) konnten die endständig deuterierten Ceramide des Sphingosintyps *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18- D_3 -octadecanamid (**32**) (CER [NS] 18,18,18- D_3), *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-22,22,22- D_3 -docosanamid (**33**) (CER [NS] 22,22,22- D_3) bzw. *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-24,24,24- D_3 -tetracosanamid (**34**) (CER [NS] 24,24,24- D_3) erhalten werden (siehe Abb. 12). Nach der Umsetzung zum Ceramid blieb der Ansatz klar und wurde zunächst ohne weitere Aufarbeitung zur Trockne eingengt. Mittels Dünnschichtchromatographie konnte oberhalb des Ceramid-Fleckes ein „weißer Schatten“ detektiert werden, der bei der anschließenden Reinigung mittels Säulenchromatographie (SCh) unter den gewählten Bedingungen nicht vollständig abgetrennt werden konnte. Sowohl im Massenspektrum als auch in den NMR Spektren konnten charakteristische Peaks des Nebenproduktes identifiziert werden. Nachfolgend wurde untersucht, in wie weit durch eine Abwandlung der Aufarbeitung ein Abtrennen des Nebenproduktes schon vor der Chromatographie möglich ist. Dazu wurde nach erfolgter Umsetzung zum Ceramid der Ansatz nicht eingengt, sondern durch Hinzufügen von Heptan das Lösungsvermögen soweit ver-

ändert, dass das gelöste Ceramid gefällt wurde und durch einfache Filtration abgetrennt werden konnte. DC Untersuchungen zeigten, dass das Nebenprodukt dabei in Lösung verblieb. Mitgefällte nicht umgesetzte Edukte wurden anschließend mittels Sch abgetrennt.

Die Kopplung der endständig deuterierten Fettsäuren **27-29** mit Phytosphingosin (**31**) führte zu den Ceramiden des Phytosphingosintyps *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18- D_3 -octadecanamid (**35**) (CER [NP] 18,18,18- D_3), *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-22,22,22- D_3 -docosanamid (**36**) (CER [NP] 22,22,22- D_3) bzw. *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-24,24,24- D_3 -tetracosanamid (**37**) (CER [NP] 24,24,24- D_3) (siehe Abb. 12). Die Synthese erfolgte analog zur Umsetzung mit Sphingosin. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz zur Trockne eingeeengt und anschließend mittels Sch gereinigt. Das bei der Synthese der Ceramide des Sphingosintyps aufgetretene Nebenprodukt wurde hier ebenfalls mittels Dünnschichtchromatographie detektiert, konnte jedoch aufgrund der höheren Polarität der Ceramide des Phytosphingosintyps abgetrennt werden.

2.4 Synthese der deuterierten Ceramide [AS] und [AP]

Neben einem Aminoalkohol enthalten die Ceramide vom Typ [AS] und [AP] eine in 2-Position hydroxylierte Fettsäure. PASCHER und KARLSSON konnten mit ihren Untersuchungen zeigen, dass dabei in der Natur nur die D-Konfiguration bei den α -Hydroxyfettsäureceramiden vorkommt.¹⁴⁶⁻¹⁴⁸ Zusätzlich zeigte sich in diesen durchgeführten DC Studien, dass die Racemate der L und D konfigurierten Diastereomeren sich chromatographischen im Laufverhalten unterschieden, wobei das L-Diastereomer einen größeren R_f Wert aufwies.¹⁴⁸ PASCHER führte dies auf die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zurück, sodass die Kopfgruppe der L-Form eine geringere Hydrophilie als die D-Form aufweist.¹⁴⁹ RAUDENKOLB et al. konnte diesen Unterschied im chromatographischen Laufverhalten nutzen, um eine Methode zur Trennung des Diastereomergemisch an DL-CER [AP] zu entwickeln.¹⁵⁰

KARLSSON und PASCHER synthetisierten α -Hydroxyfettsäuren ausgehend von den korrespondierenden non-Hydroxyfettsäuren. Durch Bromierung in α -Position, Substitution zum 2-Acetoxyderivat und anschließender Hydrolyse konnte das Racemat der 2-Hydroxyfettsäuren erhalten werden. Die Trennung des Racemates erfolgte durch Zugabe eines enantiomerenreinen Hilfstoffs, der zur selektiven Salzfällung eines der beiden Enantiomere führte.¹⁴⁷ MORI und FUNAKI beschreiben sowohl für die Synthese, als auch für die Racemattrennung einen weiteren Weg. Durch Alkylierung von Acetamidomalonsäurediethylester mit einem Alkylbromid, Spaltung des entsprechenden Esters und nachfolgender Decarboxylierung konnte die racemische Aminosäure erhalten werden. Mithilfe eines Enzyms konnte ein Enantiomer eines Aminosäurederivats gespalten werden, während das andere Enantiomer nicht umgesetzt wurde. Dies ermöglichte nachfolgend die Trennung des Gemisches. Durch Substitution der freien Amino-Gruppe konnte die enantiomerenreine 2-Hydroxyfettsäure erhalten werden, wobei es trotz der gewählten Reaktionsbedingungen zur geringfügigen Bildung des anderen Enantiomers kam.¹⁵¹

Für die Synthese der Ceramide [AS] und [AP] wurde neben den Aminoalkoholen Sphingosin und Phytosphingosin 2-Hydroxyalkansäuren mit einer Kettenlänge von 18 und 24 Kohlenstoffatomen benötigt. Das Konzept von MORI und FUNAKI wurde dahingehend übernommen, dass ein endständiges deuteriertes Alkylbromid mit einer Kettenlänge von 16 und 22 Kohlen-

stoffatomen mit Acetamidomalonsäurediethylester zur jeweiligen Aminosäure gekuppelt wurde und zur racemischen 2-Hydroxyfettsäure umgesetzt wurde. Auf die Trennung der enantiomeren 2-Hydroxyfettsäuren wurde verzichtet, stattdessen erfolgte die Trennung der Diastereomeren auf der Stufe des Ceramids.

2.4.1 Synthese der endständig deuterierten Alkylbromide

Das endständig deuterierte Hexadecylbromid, obwohl kommerziell erhältlich, wurde aufgrund der benötigten Mengen vom kommerziell erhältlichen 16-Hexadecanolid (**38**) synthetisiert. Für die Synthese des endständig deuterierten Docosylbromids konnte das in Kapitel 2.3.2 beschriebene Docosanol **26** verwendet werden.

Das 16-Hexadecanolid (**38**) wurde durch 24 stündiges Erhitzen in Methanol unter Zusatz von katalytischen Mengen an *p*-Toluolsulfonsäure zum 16-Hydroxyhexadecansäuremethylester (**39**) umgesetzt.¹³⁵ Anschließend wurde die THP-Schutzgruppe an die freie Hydroxygruppe nach einer Vorschrift von MIYASHITA et al. eingeführt.¹³² Nachfolgend wurde die Esterfunktion des 16-[(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]hexadecansäuremethylester (**40**), wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben, in einer dreistufigen Synthese in Anlehnung an eine Vorschrift von TULLOCH zur endständigen CD₃-Gruppe reduziert, um den endständig deuterierten, THP-geschützten Hexadecanol **41** zu erhalten (siehe Abb. 13).¹¹⁵

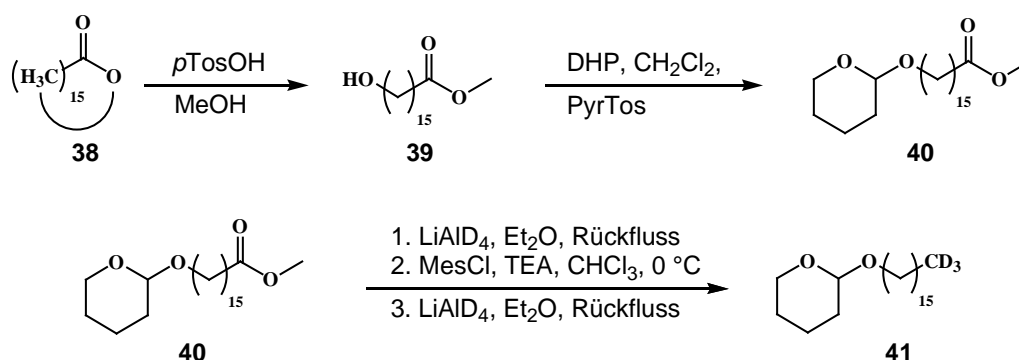


Abb. 14: Darstellung des 2-(16,16,16-D₃-Hexadecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**41**) ausgehend von 16-Hexadecanolid (**38**)

Für die Synthese des 2-(22,22,22-D₃-Docosyloxy)tetrahydro-2*H*-pyrans (**23**) wurde das in Kapitel 2.3.2 dargestellte 22,22,22-D₃-Docosanol (**26**) verwendet. Die Umsetzung erfolgte wiederum nach der Vorschrift von MIYASHITA et al. durch 24 stündiges Rühren mit 3,4-Dihydro-2*H*-pyran in Methylenechlorid unter PyrTos Katalyse.¹³²

Die beiden THP-geschützten ω,ω,ω-D₃-Alkanole **23,41** wurden dann nach einer Vorschrift von SCHWARZ et al. zum entsprechenden ω,ω,ω-D₃-1-Bromalkan **42,43** umgesetzt (siehe Abb. 14).¹³⁴ Zur Substitution wurde Triphenylphosphindibromid in Methylenechlorid verwendet.

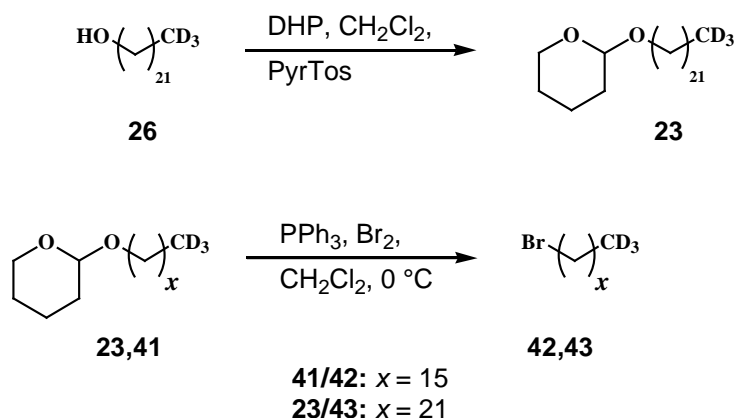


Abb. 15: Darstellung des 2-(22,22,2-D₃-Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**23**) ausgehend von 16,16,16-D₃-Hexadecanol (**41**) und Darstellung der ω,ω,ω-D₃-1-Bromalkanole **42,43**

2.4.2 Synthese der (RS)-ω,ω,ω-D₃-2-Hydroxyalkansäuren

Durch Alkylierung von Acetamidomalonsäurediethylester (**44**) mit den endständig deuterierten Alkylbromiden **42,43** konnten die entsprechenden Aminosäuren **45,46** erhalten werden (siehe Abb. 15). Die Darstellung erfolgte dabei in Anlehnung an die Vorschrift von MORI und FUNAKI.¹⁵¹ Dazu wurde zunächst das α-acide Proton des Malonsäurederivats **44** durch zuvor eingestellte Natriumethanolat-Lösung deprotoniert. Im Anschluss wurde das entsprechende Alkylbromid hinzugegeben und für mehrere Stunden unter Rückfluss erhitzt, um den entsprechenden Acetamidoalkylmalonsäurediethylester als Intermediat zu erhalten. Für die Hydrolyse zu den Aminosäuren wurde sowohl die basische als auch die saure Hydrolyse untersucht.

Versuche durch basische Hydrolyse führten zur Spaltung der Ester, allerdings konnte trotz mehrstündigen Erhitzens unter Rückfluss die Amid-Bindung nicht gespalten werden. Vergleichbare Beobachtungen finden sich in der Literatur.¹⁵² LANGE arbeitete im Unterschied zu MORI und FUNAKI nur mit konzentrierter Salzsäure bei der sauren Hydrolyse.^{151,153} Die von MORI und FUNAKI beschriebene Ausbeute konnte jedoch nicht erreicht werden. Andere Autoren beschreiben die Verwendung eines Gemisches aus konzentrierter Salzsäure und DMF (9/1 V/V) für die saure Hydrolyse,¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ wobei GIBBONS et al. die gute Ausbeute für längerkettenige Aminosäuren auf die verbesserte Löslichkeit der Synthesewegzwischenprodukte zurückführt.¹⁵⁶ Für die Umsetzung der deuterierten Acetamidoalkylmalonsäurediethylester zu den entsprechenden Aminosäuren **45,46** wurde daher ein Gemisch aus Salzsäure und DMF verwendet. Der Ansatz wurde für 24 Stunden in dem Gemisch aus Salzsäure und Dimethylformamid erhitzt. Die Neutralisation der Salzsäure mittels Ammoniak führte zum Ausfallen der Aminosäuren **45,46**, sodass diese abgetrennt werden konnten.

Die Substitutionen zu den entsprechenden 2-Hydroxyalkansäuren **49,50** erfolgte durch Reaktion mit der unbeständigen salpetriger Säure.¹¹⁸ Dazu wurden die Aminosäuren **45,46** in verdünnter Schwefelsäure suspendiert und durch Hinzugabe einer natriumnitrithaltigen Lösung zur entsprechenden 2-Hydroxyalkansäure **49,50** umgesetzt (siehe Abb. 15).

MORI und FUNAKI beschreiben, dass für die Umsetzung einer nahezu enantiomerenreinen 2-Aminosäure zur Vermeidung der Racemisierung der Ansatz für 2 Stunden auf 80 °C erwärmt wurde, um eine homogene Lösung zu erhalten, und nachfolgend der Ansatz für 18 Stunden

bei Raumtemperatur gerührt wurde.¹⁵¹ Allerdings tritt auch bei diesen Reaktionsbedingungen eine geringfügige Racemisierung auf. Bei der Umsetzung der endständig deuterierten 2-Aminosäuren **45,46** wurden Racemate verwendet, sodass der Ansatz länger auf 80 °C erwärmt werden konnte.

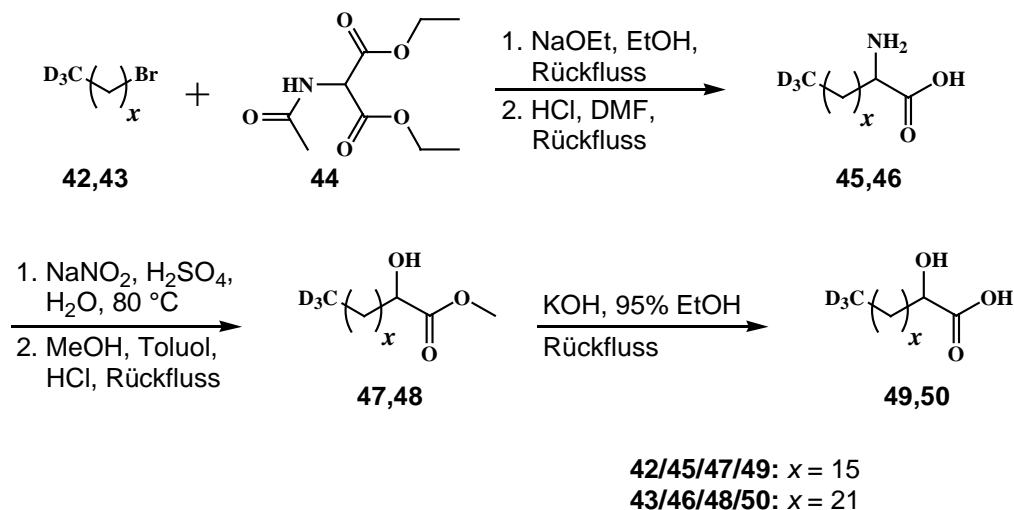


Abb. 16: Darstellung der ω,ω,ω -D₃-2-Hydroxyalkansäuren **49,50** ausgehend von entsprechenden endständig deuterierten Alkylbromiden **42,43**

Versuche die erhaltenen Rohprodukte an endständig deuterierten 2-Hydroxyalkansäuren **49,50** durch Umkristallisieren zu reinigen, sowie Versuche der Reinigung mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Chloroform/Ether-Eluenten, blieben ohne Erfolg. Daher wurde das Rohprodukt der deuterierten 2-Hydroxysäuren **49,50** zunächst ohne weitere Reinigung in die entsprechenden Ester überführt. Die Veresterung wurde durchgeführt, um eine Reinigung mit einer im Vergleich zur Säure unpolaren Verbindung durchzuführen. In einer säurekatalysierten Reaktion mit Methanol in Toluol erfolgte die Umsetzung zu den entsprechenden ω,ω,ω -D₃-2-Hydroxyalkansäuremethylestern **47,48**. Die endständig deuterierten Hydroxyester **47,48** konnten dann mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines geeigneten Heptan/Ether-Eluenten gereinigt werden. Anschließend wurden sie wieder zu den ω,ω,ω -D₃-2-Hydroxyalkansäuren **49,50** unter Verwendung von ethanolischer Kaliumhydroxidlösung verseift (siehe Abb. 15).

2.4.3 Kupplung der endständig deuterierten Ceramide vom Typ [AS] und [AP] als Diastereomergemisch

Für die Umsetzung der ω,ω,ω -D₃-2-Hydroxyalkansäuren **49,50** zu den entsprechenden Ceramiden [AS] und [AP] wurde zunächst die freie Hydroxygruppe der deuterierten Säuren **49,50** als Acetatester geschützt. Dazu wurden die Hydroxysäure **49,50**, Acetanhydrid und Pyridin zur Reaktion gebracht.¹⁵⁷ Die erhaltenen endständig deuterierten 2-Acetoxyalkansäuren **51,52** wurden ohne weitere Reinigung direkt mit PyBOP® und Hünig-Base in Dichlormethan aktiviert und mit der jeweiligen Sphingoidbase Sphingosin **30** oder Phytosphingosin **31** zur Reaktion gebracht (siehe Abb. 16).¹²⁶

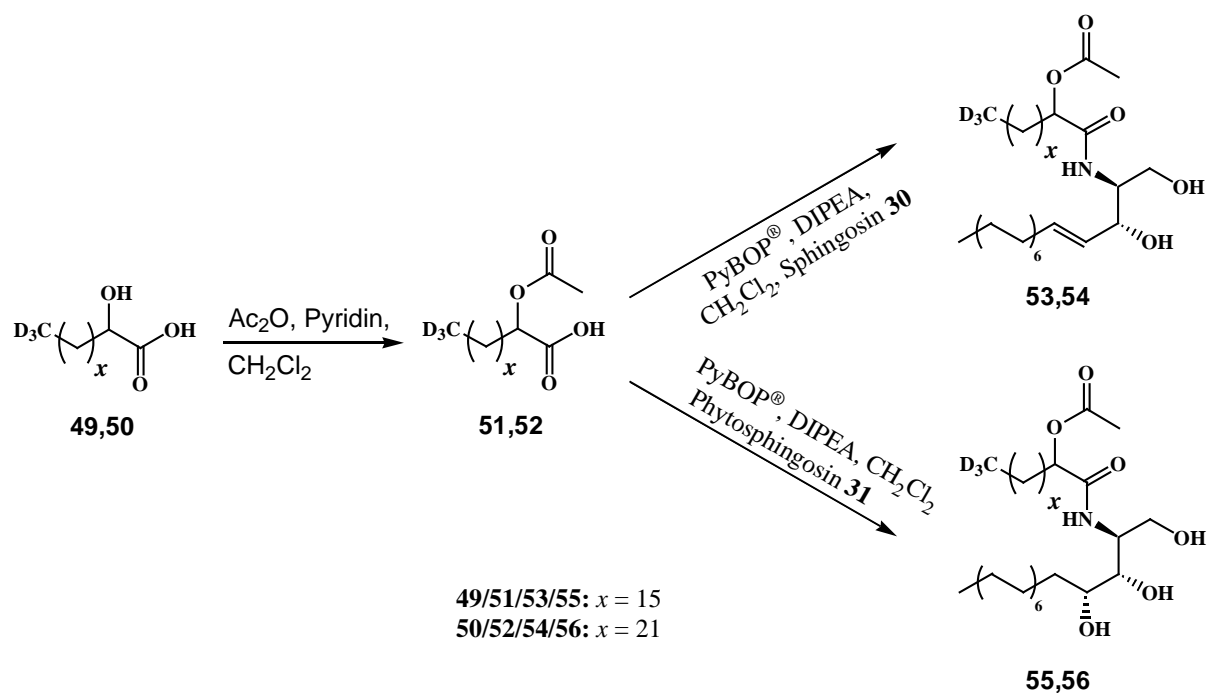


Abb. 17: Darstellung der acetylierten Ceramide [AS] **54,55** und Ceramide [AP] **56,57**

Für die Deacetylierung und für die nachfolgende Reinigung wurden zunächst nur die Ceramide benutzt, bei der die Fettsäurekette aus 18 Kohlenstoffatome bestand. Dazu wurden die acetylierten Ceramide vom Typ [AP] und [AS] **53,55** in einer Mischung von Chloroform und Methanol (8/2 V/V) aufgenommen und mit katalytischen Mengen an Kaliumcarbonat und 5 Tropfen Wasser versetzt, um die Acetylschutzgruppe zu entfernen. Nach 2 Stunden rühren bei Raumtemperatur wurde mittels Dünnschichtchromatographie eine quantitative Umsetzung beobachtet und die Bildung von Produkten, die dem Laufverhalten der beiden L- und D-Diastereomeren entsprachen.¹⁵⁷ Die Aufarbeitung beschränkte sich auf das Einengen zur Trockne. Auf diese Weise konnten die Rohprodukte des Diastereomerengemisches an endständig deuterierten Ceramiden (2SR)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid (**57**) (DL-CER [AS] 18 18 D₃) und (2SR)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid (**58**) (DL-CER [AP] 18 18 D₃) erhalten werden (siehe Abb. 17).

Bei dem Versuch das Ceramid des Phytosphingosintyps (DL-CER [AP] 18 18 D₃ **58**) durch direkte Kupplung der 2-Hydroxyoktadecansäure **49** mit Phytosphingosin **31** mittels PyBOP® zu erhalten, wurde neben der Bildung der beiden Diastereomeren die Bildung eines weiteren geringfügig unpolaren Produktes auf der DC-Platte beobachtet. Versuche dieses Produkt mittels Säulenchromatographie abzutrennen, blieben erfolglos. Es wird angenommen, dass das von KIM beschriebene Phosphonium-Intermediat, bevor es zum unreaktiveren Benzotriazolester reagierte, schon mit der freien Hydroxygruppe der 2-Hydroxysäure **49** zu einem Ester reagierte. Daher wurde dieser Syntheseweg verworfen.

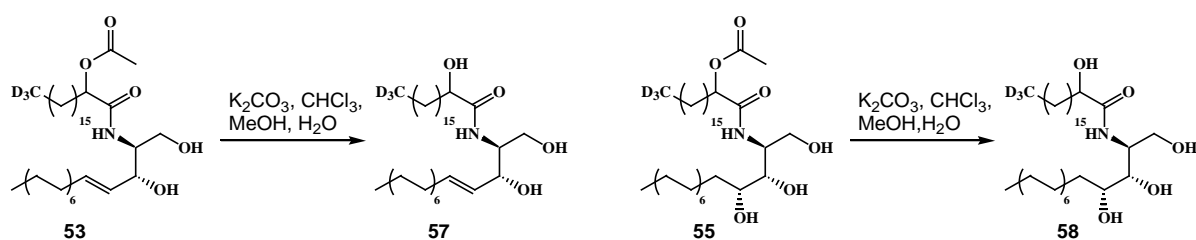


Abb. 18: Darstellung der endständig deuterierten Ceramide [AS] **57** und Ceramide [AP] **58**

2.4.4 Reinigung der endständig deuterierten Ceramide [AP] und [AS] und Diastereomerentrennung

Die Reinigung des Diastereomerengemisches des Ceramids DL-CER [AP] 18 18 D₃ **58** erfolgte mittels Säulenchromatographie. Ziel war dabei neben der Reinigung auch, inwieweit eine Diastereomerentrennung mittels Chromatographie unter den gewählten Bedingungen möglich ist. Als vorteilhaft für die benötigte Menge an Kieselgel für die Reinigung erwies es sich, wenn auf der Stufe der acetylierten Ceramide eine Reinigung anstelle der sofortigen Umsetzung durchgeführt wurde, wodurch weniger Kieselgel für die Endproduktreinigung benötigt wurde.

Für die Säulenchromatographie des Diastereomerengemisches an DL-CER [AP] 18 18 D₃ **58** wurde eine konditionierte Säule mit Chloroform als Lösungsmittel gepackt und mit einer dünnen Schicht Seesand bedeckt. Aufgrund der beobachteten geringen Löslichkeit in reinem Chloroform wurde das Ceramid **58** in einer Mischung aus Chloroform und Methanol (8/2 V/V) aufgenommen und auf Kieselgel adsorbiert. Das Kieselgel-Ceramid-Gemisch wurde vorsichtig auf die Seesand-Schicht der Säule aufgebracht. Ausgehend von reinem Chloroform als Eluenten wurde diskontinuierlich der Anteil an Methanol in 0,5% (V/V)-Schritten erhöht. Zusätzlich wurde mit beginnender Methanolzugabe 0,5% (V/V) konzentrierter Ammoniak zum Laufmittel hinzugefügt. Ab einem Gradienten von Chloroform/Methanol von 96/4 (V/V) mit 0,5% (V/V) konzentrierten Ammoniakzusatz wurde zunächst eine wenig frühzeitigere Elution der unpolaren L-Form vor der polaren D-Form¹⁴⁸ beobachtet, jedoch nicht ausreichend für eine Diastereomerentrennung. HPLC-Auswertungen des gereinigten Diastereomerengemisches ergaben eine Zusammensetzung von 56% L-CER [AP] 18 18 D₃ und 44% D-CER [AP] 18 18 D₃. Es wird vermutet, dass durch das extrem langsame Auslaufen der polaren D-Form, die Chromatographie vor vollständiger Elution beendet wurde, sodass eine Restmenge auf der Säule verblieb und das Verhältnis von 1:1 der D-Form zur L-Form nicht erreicht werden konnte.

Für die Diastereomerentrennung der D- und L-Form des CER [AP] bestand die Überlegung, durch Änderung von 2 Parametern eine Trennung zu ermöglichen: Zum einen sollte anstelle von 100 g Kieselgel pro 1 g Rohprodukt 200 g Kieselgel verwendet und zusätzlich sollte die verwendete Gradientenelution durch eine isokratische Elution mit Chloroform/Methanol/-Ammoniak 96/4/0,5 (V/V/V) ersetzt werden.

Vor der Diastereomerentrennung wurde ausgehend von dem gereinigten acetylierten Ceramid [AP] 18 18 D₃ **55** die Deacetylierung mittels Kaliumcarbonat durchgeführt (siehe Abb. 18). Das erhaltene Rohprodukt wurde auf Kieselgel aufgezogen und mit den oben beschriebenen Anpassungen mittels Säulenchromatographie gereinigt. Dabei konnten die Diastere-

reinen Fraktionen verzichtet. Die Analyse der Zusammensetzung des Racemates mittels HPLC ergab, dass das Gemisch des DL-CER [AS] 18 18 D₃ **57** zu 70% L-Form und 30% D-Form enthielt. Auch hier bestand die Vermutung, dass aufgrund des langen Auslaufens der D-Form die Chromatographie zu zeitig abgebrochen wurde, sodass das zur L-Form verschobene Gleichgewicht gemessen wurde.

Für die Diastereomerentrennung der Ceramide [AS] wurde wieder die Kieselmengenge pro 1 g Rohprodukt auf 200 g erhöht und eine isokratische Elution mit Chloroform/Methanol/Ammoniak 98/2/0,5 (V/V/V) verwendet.

Ausgehend von den gereinigten acetylierten Ceramiden [AS] **53,54** erfolgte die Deacetylierung mittels Kaliumcarbonat. Die so erhaltenen Ceramide wurden mit den beschriebenen Adaptionen chromatographiert, sodass die diastereomerenreinen L-Formen **63,65** und D-Formen **64,66** in hoher Reinheit von 99% erhalten wurden.

2.5 Synthese der methylverzweigten Ceramide vom Typ [mEOS] und [mEOP]

Die methylverzweigten Ceramide vom Typ [mEOS] und [mEOP] stellen Derivate der natürlich vorkommenden langkettigen Ceramide vom Typ [EOS] und [EOP] dar.^{45,76} Während bei den natürlichen Vertretern die an den Aminoalkohol gebundene langkettige ω -Hydroxyalkansäure mit einer Kettenlänge von 28 bis 36 Kohlenstoffatomen mit Linolsäure verestert ist,^{65,158} ist an Stelle der zweifach ungesättigten Fettsäure eine gesättigte 10-Methylhexadecansäure im Derivat gebunden.⁷⁶

Untersuchungen von ENGELBRECHT et al. zeigten, dass das methylverzweigte Derivat des natürlichen CER [EOS] ein vergleichbares thermotropes Phasenverhalten wie der natürliche Vertreter aufwies (siehe Abb. 19).⁷⁶ Die Einführung der gesättigten methylverzweigten Palmitinsäure anstelle der Linolsäure führte nicht zu einer erhöhten Phasenübergangstemperatur und es wurde dadurch vermutet, dass die ω -Acylketten beider Ceramide das Packungsverhalten der Alkylketten in ähnlicher Weise beeinflussen.⁷⁶ In der Literatur werden vergleichbare Effekte schon für Phospholipide beschrieben, wodurch die Einführung einer Methylverzweigung in die Mitte einer Alkylkette zu einem Absinken der Enthalpien und Phasenübergangstemperaturen führt.¹⁵⁹⁻¹⁶¹ Der gleiche Effekt von methylverzweigten Lipiden konnte auch bei der Synthese und Untersuchung von Lipidmodellmembranen von Archaeobakterien gezeigt werden.^{162,163}

In den durchgeführten Studien von ENGELBRECHT et al. konnte ebenfalls gezeigt werden, dass das methylverzweigte Derivat sich als Ersatz für das natürliche Ceramid in den genutzten quartären Modellmembranen eignet und zu einer äquivalenten Ausbildung der Lipiddoppelschicht führt.⁷⁶

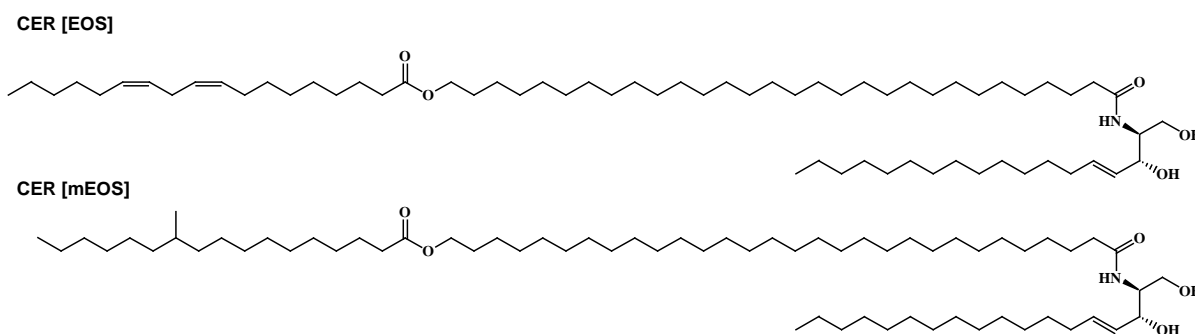


Abb. 20: Chemische Struktur von natürlichem CER [EOS] und methylverzweigten CER [mEOS]

Für die Synthese des auf dem CER [EOS] basierenden Cerebrosids geht MORI und MATSUDA von zwei C-15 funktionalisierten Intermediaten aus, die mittels Wittig-Reaktion zur 30-Hydroxytriacontansäure gekoppelt werden. Die freie Säuregruppe wurde als *p*-Nitrophenylester geschützt bevor die Linolsäure in Form des Säurehalogenids an die freie ω -Hydroxygruppe gebunden wurde. Der durch die Nitrophenylgruppe aktivierte Ester wurde anschließend direkt mit dem Aminoalkohol umgesetzt.¹⁶⁴ Einen ähnlichen Weg beschreiben OPÁLKA et al., anstelle des Nitrophenylesters wird ein anderer aktivierter Ester für die Umsetzung verwendet.¹²¹

Das von Engelbrecht et al. verwendete methylverzweigte Ceramid wurde von SÜSS synthetisiert.¹⁶⁵ Für die Darstellung wurde die methylverzweigte Säure an eine freie Hydroxy-Gruppe eines 1,30-Triacontandiols verestert und nachfolgend die andere freie Hydroxy-Gruppe des Diols zur Säure oxidiert. Die Kupplung zum Ceramid erfolgte unter Verwendung des Kupplungsreagenzes BOP.¹⁶⁵ Durch Verwendung einer gesättigten methylverzweigten Palmitinsäure anstelle der ungesättigten Linolsäure ergibt sich neben den identischen physikochemischen Eigenschaften in Bezug auf das natürliche Ceramidanalogen eine höhere Beständigkeit gegenüber Hitze und oxidativen Stress, insbesondere bei den physikochemischen Untersuchungen.⁷⁶ Der synthetische Vorteil liegt in dem geringeren Aufwand durch verminderte Verwendung von Schutzgruppen.

Für die Synthese der methylverzweigten Ceramide wurde das Konzept von SÜSS übernommen, wobei neben der undeuterierten 10-Methylhexadecansäure noch verzweigte Säuren mit endständiger (terminaler) Deuterierung, mit Deuterierung der Methylverzweigung und Deuterierung der terminalen als auch der verzweigten Methylgruppe verwendet wurden.

2.5.1 Synthese der verzweigten 10-Methylhexadecansäuren

Für die Synthese der 10-Methylhexadecansäuren wurden zwei verschiedene Synthesewege genutzt: Zum einen ein kürzerer jedoch vom synthetischen Aufwand intensiverer Reaktionsweg über eine α -Alkylierung von einem Dianion einer Säure und zum anderen ein klassischer Weg über Dialkylierung von Malonsäureester.^{166,167} Ziel war bei beiden Strategien ein Intermediat zu synthetisieren, das die Möglichkeit bot, die verzweigte deuterierte Methylgruppe einzuführen.

Für die α -Alkylierung wurde von kommerziell erhältlicher Octansäure (**67**) und 9-(Bromnonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**15**) ausgegangen. Die Synthese des THP-geschützten 9-Bromnonan-1-ols **15** ist in Kap. 2.3.1 beschrieben.

Die Säure **67** wurde durch doppelte Deprotonierung in das Dianion überführt. Grundlage dafür war eine modifizierte Reaktion nach CREGER.¹⁶⁷ Zunächst wurde die Säure **67** in das Natriumsalz durch Reaktion mit Natriumhydrid überführt. Als Lösungsmittel diente THF und als Base Diisopropylamin. Nachdem die Wasserstoffentwicklung abgeschlossen war, erfolgte die Zugabe von *n*-Butyllithium. In situ führte dies zur Bildung von Lithiumdiisopropylamid durch Reaktion mit dem Diisopropylamin und schließlich zur zweiten Deprotonierung der Säure **67**. Anschließend wurde das THP-geschützte 9-Bromnonan-1-ol **15** hinzugefügt. Nach Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt (2*RS*)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäure (**68**) mittels Säulenchromatographie gereinigt. Aufgrund der THP-Schutzgruppe wurde für die Chromatographie Triethylamin hinzugegeben, um die sauren Silanolgruppen des Kieselgels abzupuffern. In diesem Fall bewirkte dies, dass die freie Säuregruppe in das entsprechende Salz überführt wurde und die Säure **67** unter Verwendung des Eluenten Chloroform auf der stationären Phase zurückgehalten wurde. Gleichzeitig konnten so die Nebenprodukte abgetrennt werden und die Säure **68** nachfolgend unter Verwendung eines Chloroform/Methanol-Eluenten (9/1 V/V) von der Säule eluiert werden (siehe Abb. 20).

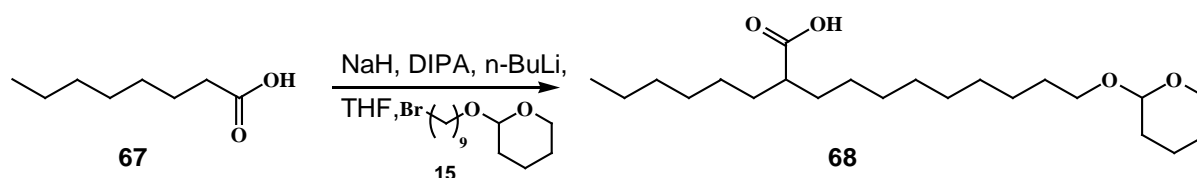


Abb. 21: Darstellung der (2*RS*)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäure (**68**) ausgehend von Octansäure (**67**)

Der zweite Syntheseweg, der zusätzlich für die Darstellung von terminal deuterierten 10-Hexadecansäuren genutzt wurde, erfolgte über eine stufenweise Dialkylierung von Malonsäureester. Als Ausgangsstoffe dienten neben kommerziell erhältlichen Malonsäurediethylester (**72**) 9-(Bromnonyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**15**) (Synthese siehe Kap. 2.3.1) und kommerziell erhältliches Hexylbromid (**71**). Zusätzlich wurde endständig deuteriertes Hexylbromid benötigt. Obwohl kommerziell erhältlich, wurde aufgrund der benötigten Mengen dieses ausgehend von kommerziell verfügbaren 6-Bromhexansäuremethylester (**69**) synthetisiert.

Die Esterfunktion des 6-Bromhexansäuremethylesters (**69**) wurde in einer dreistufigen Synthese in Anlehnung an eine Vorschrift von TULLOCH, wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben, zur endständigen CD₃-Gruppe reduziert.¹¹⁵ Wie bereits beschrieben erfolgte im ersten Reaktionsschritt die Reduktion mit Lithiumaluminiumdeuterid zum zweifach deuterierten Alkohol. Um eine reduktive Bromabspaltung dabei zu vermeiden, erfolgte die Reduktion bei 0 °C.¹⁶⁸ Der zweifach deuterierte Alkohol wurde mit Methansulfonsäurechlorid zum Methansulfonsäureester umgesetzt und nachfolgend erneut mit LiAlD₄ reduziert. Diese zweite Reduktion erfolgte ebenfalls bei 0 °C, um eine reduktive Bromabspaltung zu vermeiden¹⁶⁸ und um das endständig deuterierte Hexylbromid **70** zu erhalten (siehe Abb. 21). Die Reinigung erfolgte durch Destillation unter reduziertem Druck.

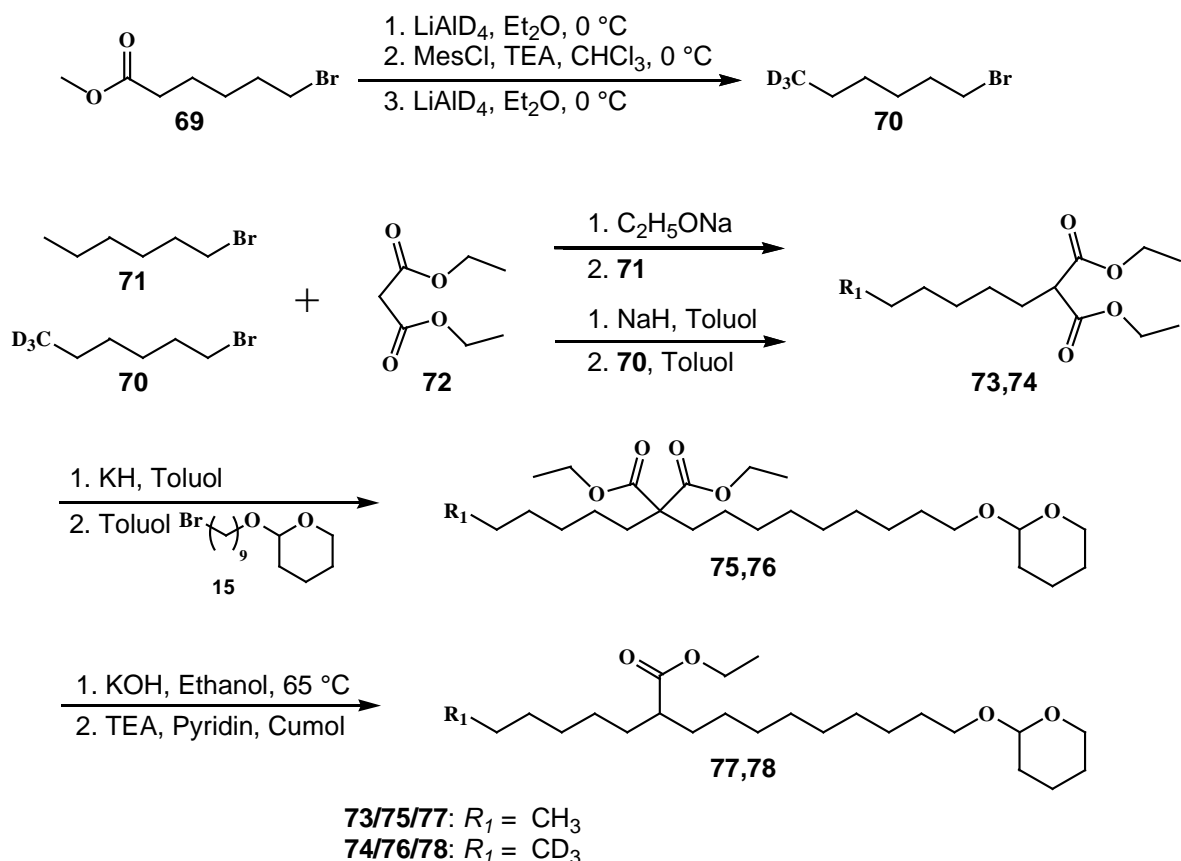


Abb. 22: Darstellung des 6,6,6-D₃-1-Bromhexans (**70**) ausgehend von 6-Bromhexansäuremethylester (**69**) und Darstellung des endständig undeuterierten und deuterierten 2-Hexyl-11[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]-undecansäuremethylesters **77,78**

Für die Darstellung der methylverzweigten Säuren durch Dialkylierung von Malonsäureester wurde das von DOBNER und NUHN beschriebene Konzept teilweise übernommen und adaptiert.¹¹⁶ Malonsäurediethylester (**72**) wurde aufgrund der CH-aziden Eigenschaften der Methyleneneinheit als Ausgangsstoff für die Alkylierungen verwendet (siehe Abb. 21). Zunächst erfolgte die Deprotonierung des Malonsäureesters (**72**). Um endständig undeuterierte 10-Methylhexadecansäuren zu erhalten, wurde Hexylbromid (**71**) verwendet, für die Synthese der endständig deuterierten methylverzweigten Säuren wurde 6,6,6-D₃-1-Bromhexan (**70**) verwendet. Im Falle der Monoalkylierung mit undeuterierten Hexylbromid (**71**) wurde Natriumethanolat zur Deprotonierung verwendet. Um einen möglichen Deuteriumaustausch bei der Alkylierung mit 6,6,6-D₃-1-Bromhexan (**70**) zu vermeiden, wurde aufbauend auf den Erfahrungen der Arbeitsgruppe Natriumhydrid in Toluol für die Deprotonierung verwendet.¹⁶⁹⁻¹⁷¹ Für die Alkylierung mit dem deuterierten Hexylbromid (**70**) wurde der Malonester (**72**) im Gegensatz zur Reaktion mit dem undeuterierten Hexylbromid (**71**) im Überschuss verwendet. Die Reinigung des undeuterierten Hexylmalonsäureesters (**73**) erfolgte mittels Vakuumdestillation, die des deuterierten Hexylmalonsäureesters **74** erfolgte mittels Säulenchromatographie, um den Verlust an Rohprodukt möglichst gering zu halten. Für die Zweitalkylierung wurde der Hexylmalonsäureester **73,74** mit Kaliumhydrid in Toluol deprotoniert und anschließend mit 2-(9-Bromonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**15**) zweitalkyliert. Durch die Alkylierung wurde dabei die Kettenlänge von 16 Kohlenstoffatomen erhalten, wobei eine der zwei Carbonsäureestergruppen die latente Methylverzweigung darstellt. Für die Entfernung der

zweiten Carbonsäureestergruppe wurden die Hexyl-9-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]nonylmalonsäurediethylester **75,76** nach einer Vorschrift von BRESLOW monoverseift¹⁷² und anschließend decarboxyliert, um die 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester **77,78** zu erhalten. Es zeigte sich dabei, wenn die beiden Reaktionen nacheinander ohne Reinigung des Verseifungsproduktes durchgeführt wurden, dass noch enthaltener, nicht umgesetzter Malonsäurediester **75,76** vom gewünschten Undecansäureester **77,78** nicht getrennt werden konnte und ein untrennbares Gemisch nach der Reinigung vorlag. Daher war es nach der Verseifung nötig, nicht umgesetzten Dialkylmalonsäurediester von dem erhaltenen Dialkylmalonsäuremonoethylester zu trennen. Dies erfolgte mittels Säulenchromatographie vergleichbar zur 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäure (**68**). Um den spaltenden Effekt der sauren Silanolgruppen des Kieselgel auf die THP-Schutzgruppe abzupuffern, wurde TEA hinzugeben. Die freie Säure wurde dabei in das entsprechende Triethylammoniumsalz überführt und auf der Säule beim gewählten Elutionsmittel zurückgehalten. Nachdem der deutlich unpolarere Dialkylmalonsäurediester vollständig von der Säule eluiert war, wurde das Salz des Dialkylmalonsäuremonoethylester mit einem Gemisch aus Chloroform und Methanol von der Säule eluiert und anschließend durch Erhitzen in siedendem Cumol decarboxyliert. Die Reaktion wurde durch Hinzufügen von Pyridin katalysiert.¹¹⁸ Es wurde der 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester (**77**) bzw. der 2-(6,6,6-D₃-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester (**78**) erhalten (siehe Abb. 21).

Anschließend konnte sowohl die Säure-Gruppe der bei der α -Alkylierung des Dianions der Octansäure erhaltene 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäure (**68**) als auch die Ester-Gruppe vom endständig undeuterten und endständig deuterierten 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester **77,78** vom Malonsäureesterweg zur Methylgruppe umgesetzt werden. Die Umsetzung zu den THP-geschützten 10-Methylhexadecanolen **79-82** erfolgte wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben in einer dreistufigen Synthese. Zunächst erfolgte die Reduktion zum Alkohol, wobei für die Umsetzung der Säure mehr Reduktionsmittel als bei der Umsetzung des Esters benötigt wurde. Nach Überführung des Alkohols in den entsprechenden Methansulfonsäureester konnte durch eine zweite Reduktion die verzweigte Methylgruppe erhalten werden. Für die Verbindungen **79,80** mit undeuterteter Methylverzweigung wurde in beiden Reduktionen Lithiumaluminiumhydrid als Reduktionsmittel verwendet. Um die Verbindungen **81,82** mit deuterierter Methylverzweigung zu erhalten, wurde Lithiumaluminiumdeuterid verwendet (siehe Abb. 22).

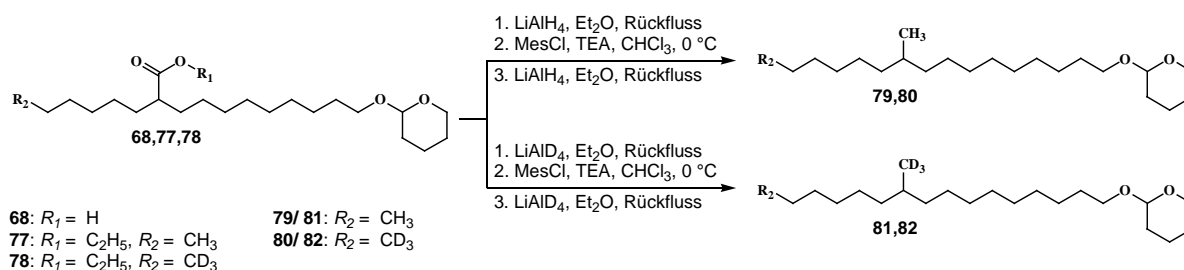


Abb. 23: Darstellung der endständig undeuterten bzw. deuterierten 2-[(10*RS*)-10-Methylhexadecyloxy]tetrahydro-2*H*-pyrane mit protonierter bzw. deuterierter Methylverzweigung **79-82**

Um die THP-Schutzgruppe der 2-(10-Methylhexadecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyrane **79-82** zu entfernen, wurden diese in Methanol gelöst und unter Pyridiniumtosylat Katalyse für 4 Stunden unter Rückfluss erhitzt.¹³² Da die erhaltenen 10-Methylhexadecanole **83-86** nach dem Abkühlen in Lösung verblieben, wurde zur Aufarbeitung und Reinigung der Alkohole **83-86** der Ansatz zur Trockne eingengt und anschließend durch Säulenchromatographie gereinigt (siehe Abb. 23).

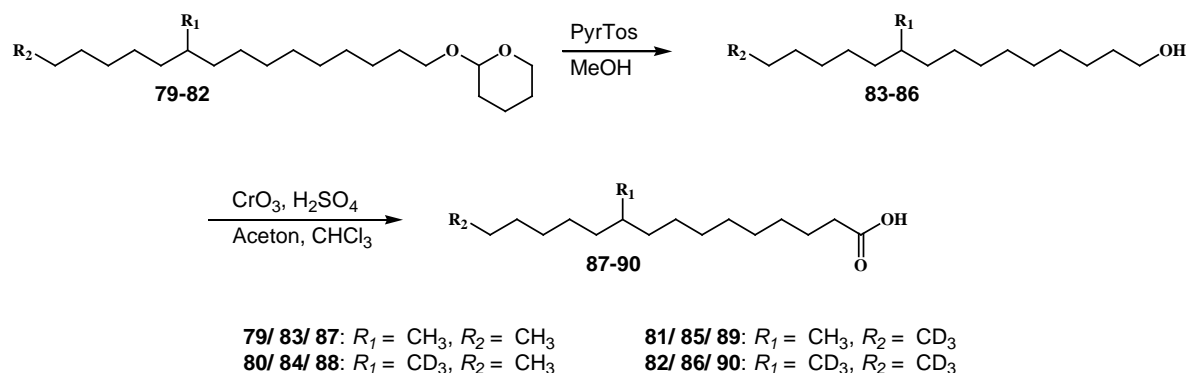


Abb. 24: Darstellung der vollständig undeutierten als auch partiell deuterierten 10-Methylhexadecansäuren **87-90**

Die Oxidation der 10-Methylhexadecanole **83-86** zu den entsprechenden methylverzweigten Säuren **87-90** erfolgte mittels JONES-Oxidation nach einer Vorschrift von DOBNER und NUHN (siehe Abb. 23).¹¹⁶

2.5.2 Synthese der langkettigen ω -Acylfettsäuren und Kupplung zu den entsprechenden Ceramiden vom Typ [mEOS] und [mEOP]

Für die Darstellung der langkettigen ω -Acylfettsäuren wurde neben den verzweigten Methylhexadecansäuren **87-90** eine weitere langkettige Verbindung benötigt. Der Vorschrift von SÜSS folgend, wurde dazu 1,30-Triacontandiol **91** synthetisiert.¹⁶⁵ Die Synthese erfolgte nach einer Vorschrift von DRESCHER et al.. Ausgehend vom bereits beschriebenen 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran **16** (siehe Kapitel 2.3.1) wurde mittels GRINGARD-Kupplung, anschließender THP-Schutzgruppenabspaltung und nachfolgender Umkristallisation des 1,30-Triacontandiol **91** erhalten (siehe Abb. 24).¹⁴⁰

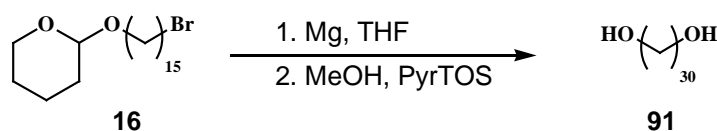


Abb. 25: Darstellung des 1,30-Triacontandiols **91** ausgehend von 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran **16**

Zunächst erfolgte, der Vorschrift von Süss folgend, die Veresterung der 10-Methylhexadecansäuren **87-90** mit dem 1,30-Triacontandiol **91**.¹⁶⁵ Für die notwendige Aktivierung der methylverzweigten Säuren wurden die 16-Methylhexadecansäuren **87-90** durch Reaktion mit Thionylchlorid in die korrespondierenden Säurechloride überführt. Als Hindernis für die

Veresterung erwies sich die schlechte Löslichkeit des Triacontandiols **91**. Daher wurde für die Veresterung ein Überschuss des Diols **91** (3 Äquivalente) in siedendem Chloroform gelöst und anschließend das Säurechlorid für die Veresterung langsam hinzugegeben.⁷⁶ Nicht umgesetztes Diol **91** konnte nach dem Abkühlen durch Filtration und anschließender Umkristallisation zurückgewonnen werden. Der Überschuss wurde allerdings benötigt, um eine Bisveresterung des Diols **91** zu vermeiden. Für die Reinigung des gewünschten 10-Methylhexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)esters **92-95** wurde Triethylamin dem Elutionsmittel hinzugefügt, um die sauren Silanolgruppen des Esters abzupuffern.

Versuche, die Reaktion bei niedrigeren Temperaturen und mit Hilfsbasen durchzuführen, führten im Wesentlichen nur zur Bildung des Diesters. Ursächlich dafür scheint, dass der während der Reaktion gebildete Monoester eine bessere Löslichkeit in Chloroform als das Triacontandiol **91** aufweist und dadurch größere Mengen des bereits monoveresterten Diols für eine Weiterreaktion zur Verfügung standen.

Für die Oxidation zur langkettigen ω -veresterten Hydroxytriacontansäure wurde der Vorschrift von SÜSS folgend Pyridiniumdichromat in Methylenchlorid verwendet.¹⁶⁵ Aufgenommene Massenspektren mittels Elektronen Spray Ionisation (ESI) wiesen neben dem Hauptpeak, der dem gewünschten Säureprodukt entsprach, weitere Peaks auf. Diese lassen vermuten, dass es bei der Oxidation zur α -Oxidation kam und dadurch zum Verlust von CH_2 -Gruppen (siehe Kapitel 2.3.2). Für die Durchführung der JONES-Oxidation erwies sich die unzureichende Löslichkeit der Alkohole **92-95** in reinem Aceton als problematisch. Durch Verwendung eines Gemisches aus Chloroform und Aceton konnte der Alkohol in Lösung gehalten werden¹⁴⁴ und zum JONES-Reagenz getropft werden. In den aufgenommenen Massenspektren der langkettigen ω -veresterten Säuren **96-99** wurden dann keine Nebenpeaks mehr beobachtet, die auf einen Verlust einer CH_2 -Gruppe durch α -Oxidation schließen lassen.

Für die Kupplung der langkettigen Säuren **96-99** mit den Sphingoid-Basen Sphingosin (**30**) und Phytosphingosin (**31**) wurde als Kupplungsreagenz PyBOP[®] verwendet.¹²⁶ Die langkettigen Säuren **96-99** wurden mit ByBOP[®] und Hünig-Base aktiviert, bevor die Zugabe der jeweiligen Sphingoid-Base erfolgte, um die jeweiligen Ceramide zu erhalten (siehe Abb. 25).

Für die Aufarbeitung der Ceramide vom Sphingosintyp wurde der klare Ansatz zur Trockne eingengt und anschließend mittels Säulenchromatographie gereinigt. Für die Abtrennung des bereits beschriebenen Nebenproduktes (siehe Kapitel 2.3.2) wurde bei der Chromatographie Chloroform und Methanol verwendet und auf die Zugabe von Ammoniak verzichtet, da dies nur zum gleichzeitigen Eluieren von Ceramid und Nebenprodukt führte.

Es wurden die methylverzweigten Ceramide vom Typ [mEOS]¹⁾ *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[(1*OR*S)-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamid (**100**) (CER [mEOS]), *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[(1*OR*S)-10-(methyl- D_3)-hexadecanoyl]oxy]triacontanamid (**101**) (CER[mEOS] m- D_3), *N*-[(2*S*, 3*R*, 4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(1*OR*S)-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamid (**102**) (CER[mEOS] e- D_3 und *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(1*OR*S)-10-(methyl- D_3)hexadecanoyl]oxy]triacontanamid (**103**) (CER[mEOS] e,m- D_6) erhalten.

¹ Abweichend zur IUPAC Nomenklatur wurde die Benennung auf die ceramidtypische Amidbindung bezogen

Im Gegensatz dazu verblieben die Ceramide vom Phytosphingosintyp nach der Reaktion nicht in Lösung, wodurch diese durch Filtration abgetrennt werden konnten, während das Nebenprodukt in Lösung verblieb. Die anschließende Säulenchromatographie diente dazu den Überschuss an Phytosphingosin abzutrennen. Es wurden die methylverzweigten Ceramide vom Typ [mEOP]¹⁾ *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[10*RS*]-10-methylhexadecanoyl]oxytriacontanamid (**104**) (CER[mEOP]), *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[10*RS*]-10-(methyl-D₃)hexadecanoyl]oxytriacontanamid (**105**) (CER[mEOP] m-D₃), *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(methyl)hexadecanoyl]oxytriacontanamid (**106**) (CER[mEOP] e-D₃) und *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(methyl-D₃)hexadecanoyl]oxytriacontanamid (**107**) (CER[mEOP] e,m-D₃) erhalten.

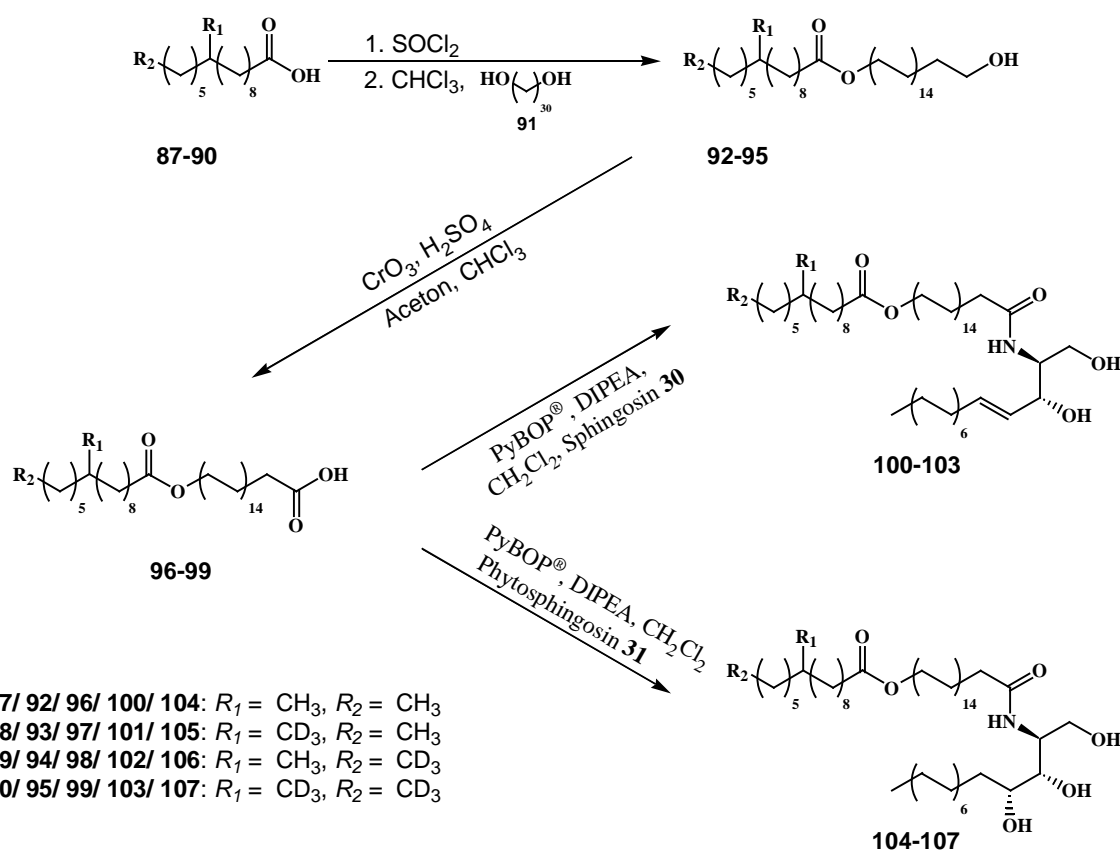


Abb. 26: Darstellung der Ceramide [mEOS] **100-103** und Ceramide [mEOP] **104-107**

2.6 Synthese der komplexen (dimeren) Ceramide

Im Jahr 2009 meldete WOLF ein Patent an, dass eine neue Klasse von Ceramiden beschreibt.⁸⁷ Zwei Ceramid-Moleküle sind dabei an ihrem lipophilen Ende kovalent über ein Sauerstoffatom verbrückt. Zum einen soll durch die Molekülvergrößerung der enzymatische Abbau verlangsamt werden und zum anderen sollen durch die entstehenden Abbauprodukte Verbindungen erhalten werden, die den Ausgangsverbindungen der monomeren Ceramide sehr ähnlich sind.⁸⁷

Die dimeren Ceramide sollen zu einer Stabilisierung von biologischen Membranen führen, die Wasserbindefähigkeit der verschiedenen Hautschichten erhöhen und den transepidermalen Wasserverlust der Haut vermindern.⁸⁷

2.6.1 Untersuchungen zur Synthese von dimeren Ceramiden mit Etherbrücke

Im Patent von WOLF ist keine Synthesevorschrift angegeben, um das dimere Ceramid zu erhalten.⁸⁷ Wird das dimere Ceramid durch retrosynthetische Analyse zerlegt, besteht es aus einer langkettigen Dicarbonsäure mit einer Etherbrücke, die mit 2 Sphingoidbasen über jeweils eine Amidbindung verknüpft ist.

Zunächst sollte aufgrund der bereits verfügbaren Verbindungen mit 15 Kohlenstoffatomen (siehe Kapitel 2.3.2) mit *N,N'*-Bis[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-16-oxohentriacontandiamid ein dimeres Ceramid dargestellt werden (siehe Abb. 26), um so einen möglichen Syntheseweg zu etablieren.

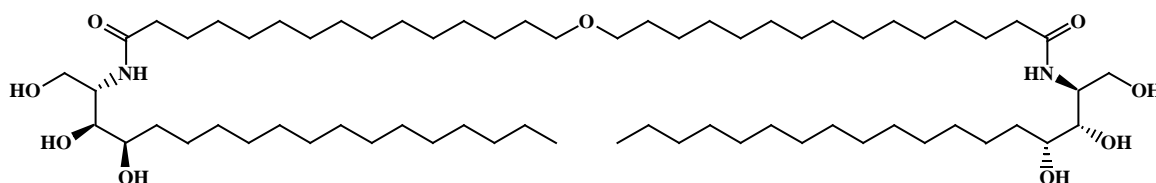


Abb. 27: *N,N'*-Bis[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-16-oxountriacontandiamid

Die Darstellung der 16-Oxohentriacontandisäure sollte durch Kupplung zweier unterschiedlich funktionalisierter Pentadecanverbindungen erfolgen, um das entsprechenden 16-Oxohentriacontan-1,31-diol zu erhalten, welches nachfolgend durch Oxidation zur benötigten Dicarbonsäure umgesetzt werden sollte.

Zunächst wurde die Möglichkeit untersucht, das bereits beschriebene 15-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]pentadecanol (**14**) (siehe Kapitel 2.3.2) mit dem Methansulfonsäureester des 15-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]pentadecanols **108** zur Reaktion zu bringen. Das für die Kupplung benötigte Intermediat wurde ausgehend vom 15-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]pentadecanol (**14**) (siehe Kapitel 2.3.2) durch Reaktion mit Methansulfonsäurechlorid in Chloroform erhalten.^{136,137} Um die säurelabile THP-Schutzgruppe zu schützen, wurde ein zusätzliches Moläquivalent Triethylamin als Hilfsbase hinzugegeben. Nach erfolgter Aufarbeitung wurde der erhaltene Methansulfonsäureester **108** ohne weitere Reinigung verwendet. Für die Kupplungsreaktion wurde die Substanz bis zur absoluten Trockne über Phosphorpentoxid getrocknet.

In einem erstem Kupplungsversuch wurde der 15-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]pentadecanol (**14**) mittels Natriumhydrid in Toluol unter Argonatmosphäre deprotoniert. Der Ansatz wurde dazu bei Raumtemperatur für 12 Stunden gerührt. Anschließend wurde der getrocknete Methansulfonsäureester in Toluol gelöst und hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 12 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Mittels Dünnschichtchromatographie wurde der Reaktionsverlauf kontrolliert. Nach Aufarbeitung und Reinigung mittels Säulenchromatographie konnte das Bis-THP-geschützte Diol **109** in nur unzureichender Ausbeute von 6% Ausbeute erhalten werden. In einem zweiten Versuch wurde für die Deprotonierung des 15-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]pentadecanol (**14**) die stärkere Base Kaliumhydrid verwendet. Zusätzlich wur-

de die Lösung des Methansulfonsäureesters **108** bei 50 °C hinzugetropft. Dadurch konnte die Ausbeute auf 38% gesteigert werden. In einem dritten Kupplungsversuch erfolgte die Deprotonierung des Alkohols **14** ebenfalls mit Kaliumhydrid, allerdings wurde im Sinne einer WILLIAMSON-Ethersynthese 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**16**) als zu kupplende Verbindung verwendet. Die Ausbeute konnte nach Reinigung auf 60% gesteigert werden.

Die THP-Schutzgruppenspaltung erfolgte nach einer Vorschrift von MIYASHITA in Methanol unter Pyridiniumtosylat Katalyse.¹³² Der gebildete Niederschlag wurde abgetrennt und mittels Umkristallisation gereinigt, um das 16-Oxohentriacontan-1,31-diol (**110**) zu erhalten (siehe Abb. 27).

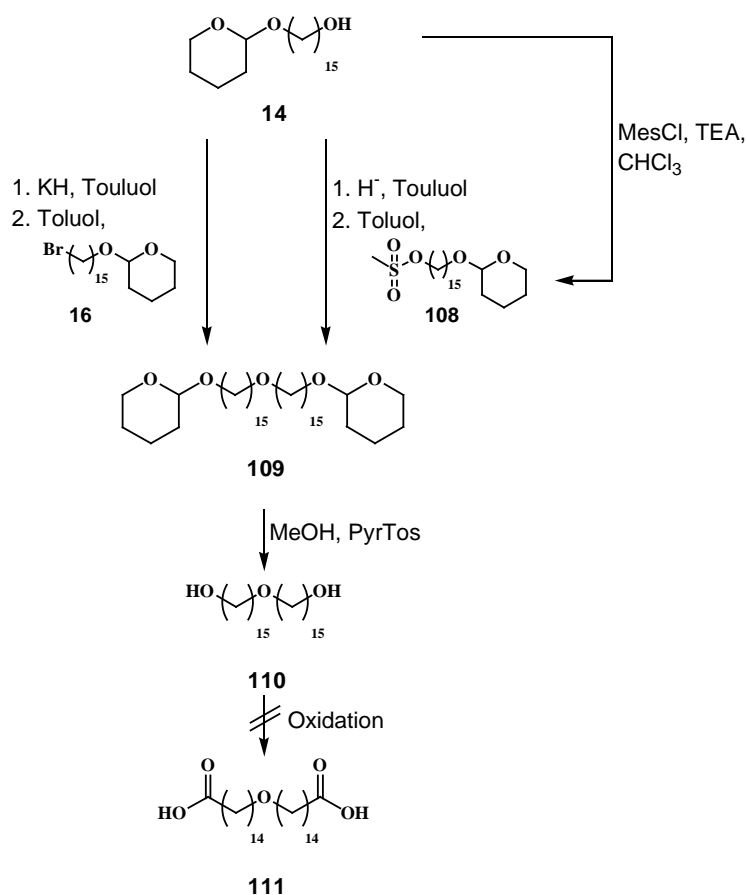


Abb. 28: Darstellung des 16-Oxohentriacontan-1,31-diol (**110**) und Oxidation zur 16-Oxohentriacontan-1,31-disäure (**111**)

Für die Oxidation des 16-Oxohentriacontan-1,31-diols (**110**) zur Dicarbonsäure **111** wurde zunächst die Möglichkeit der Oxidation mit einem Überschuss an Pyridiniumdichromat untersucht. Als Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus Chloroform und DMF verwendet. Aufgrund der unzureichenden Löslichkeit löste sich nur ein Teil des Diols **110**, während der andere Teil nur suspendiert vorlag. Die Überlegung bestand darin, dass mit zunehmender Zeit und Reaktionsdauer stetig Diol nach gelöst wird und so der Oxidation zur Verfügung steht. Mittels Dünnschichtchromatographie wurde der Reaktionsverlauf beobachtet, wobei die Bildung eines Fleckes beobachtet wurde, der auf die Bildung der Dicarbonsäure schließen ließ. Obwohl mit zunehmender Reaktionsdauer die Größe des Fleckes zunahm, wurde mittels aufgenommener Massenspektren unter ESI-Ionisierung auch die Zunahme von zusätzlichen Peaks beobachtet, die auf eine abgelaufene α -Oxidation und damit einen CH₂-Gruppen-

Verlust andeutete. In einem weiteren Versuch wurde die modifizierte JONES-Oxidation verwendet.¹⁴⁴ Als problematisch erwies sich hier ebenfalls die unzureichende Löslichkeit in Chloroform. Es konnte zwar die Bildung einer Säure mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet werden. Allerdings wurde in den aufgenommenen Massenspektren nur ein Peak detektiert, der nicht der gewünschten Dicarbonsäure **111** entsprach. Des Weiteren wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von ZHAO eine mögliche Oxidation mit 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl (TEMPO) untersucht.¹⁷³ Dabei werden zu einer wässrigen Lösung von TEMPO simultan eine Lösung von Natriumhypochlorit und eine Lösung von Natriumchlorit getropft. Da das Diol **110** praktisch unlöslich in Wasser ist, wurde das Diol **110** in Chloroform vorgelegt und zusätzlich Tetrabutylammoniumbromid hinzugegeben, sodass die Oxidation unter Phasen-Transfer-Katalyse ablaufen sollte.¹⁷⁴ Bei der Nachverfolgung des Reaktionsverlaufs mittels Dünnschichtchromatographie wurde die Bildung eines Produktes beobachtet, das ein vergleichbares Laufverhalten wie eine Säure aufwies. Allerdings konnte in den aufgenommenen Massenspektren die gewünschte Dicarbonsäure nicht detektiert werden, stattdessen wurde vergleichbar zur modifizierten JONES-Oxidation ein Peak mit einer deutlich niedrigeren Massezahl je Ladung detektiert, die der Dicarbonsäure nicht zugeordnet werden kann und auf Spaltprodukte schließen ließ. Da aufgrund der schlechten Löslichkeit des Diols **110** in den gängigen Lösungsmitteln, als auch der Ergebnisse der durchgeführten Oxidationen kein Erfolg hinsichtlich der gewünschten Produktbildung der Disäure **111** erzielt wurden, wurde der gewählte Reaktionsweg mangels Erfolgsaussichten nicht weiter verfolgt, zumal der Zugang zu den dimeren Verbindungen einfach und effektiv sein sollte.

2.6.2 Synthese des dimeren Ceramids mit zwei Thioethergruppen

Alternativ zu den Syntheseversuchen des dimeren Ceramids mit Ether Verbindung wurde die Möglichkeit untersucht, durch zweifache Alkylierung eines endständigen Dithiols Zugang zu der beschriebenen neuen Substanzklasse der dimeren Ceramiden zu erlangen.

Als Ausgangsverbindungen dienten kommerziell erhältliches 1,8-Dibromoctan und 11-Bromundecansäure. Zunächst wurde das 1,8-Dibromoctan (**112**) durch Erhitzen mit Thioharnstoff in Ethanol in das Bis-Thioroniumsalz überführt. Anschließend wurde durch Zugabe einer wässrigen Natriumhydroxidlösung und Erhitzen unter Rückfluss das Octan-1,8-dithiol (**113**) erhalten.¹¹⁸ Das Dithiol **113** wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet. In Anlehnung an eine Vorschrift von DRESCHER et al. wurde das Dithiol **113** mittels Kalium-*tert*-butanolat in abs. Ethanol zum Dithiolat (**114**) deprotoniert.¹⁴² Für die Alkylierung wurde die dreifachmolare Menge an 11-Bromundecansäure (**115**) durch Zugabe von einer äquivalenten Menge Natriumhydroxid zur Säure in abs. Methanol in das entsprechende Salz **116** überführt. Das Methanol wurde evaporiert. Der Salzurückstand wurde in abs. Ethanol aufgenommen und auf 50 °C erwärmt, bevor eine ethanolische Dithiolat **114** hinzuge tropft wurde. Die Reaktion wurde nachfolgend unter Rückfluss erhitzt, bis keine weitere Umsetzung mittels Dünnschichtchromatographie mehr beobachtet wurde. Zur Aufarbeitung wurde mit 2 N Salzsäure angesäuert und mit Chloroform extrahiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Heptan umkristallisiert. Die 12,21-Dithiadotriacontandisäure (**117**) konnte in guter Ausbeute (69%) erhalten werden (siehe Abb. 28). Mittels Dünnschichtchromatographie (Chloroform/Ether/Essigsäure 50/50/1 V/V/V) wurde keine weitere Verunreinigung detektiert. Bei der nachfolgenden Bis-

Kupplung mit Phytosphingosin unter Verwendung des Kupplungsreagenzes ByPOP[®] wurde allerdings neben dem gewünschten Kupplungsprodukt ein nicht abtrennbares Nebenprodukt erhalten. Das Nebenprodukt weist einen geringfügig größeren R_f -Wert auf, wodurch ausgeschlossen wurde, dass es sich bei diesem um Mono-Kupplungsprodukt handelt. Da das Auftreten dieses Nebenproduktes bei keinen anderen PyBOP[®] Kupplungen beobachtet wurde, entstand die Vermutung, dass es sich um eine Verunreinigung der Säure handeln könnte. Die Synthese der Disäure wurde mit verschiedenen Modifikationen wiederholt, wobei das Auftreten des Bis-Kupplungsnebenproduktes nicht verhindert werden konnte.

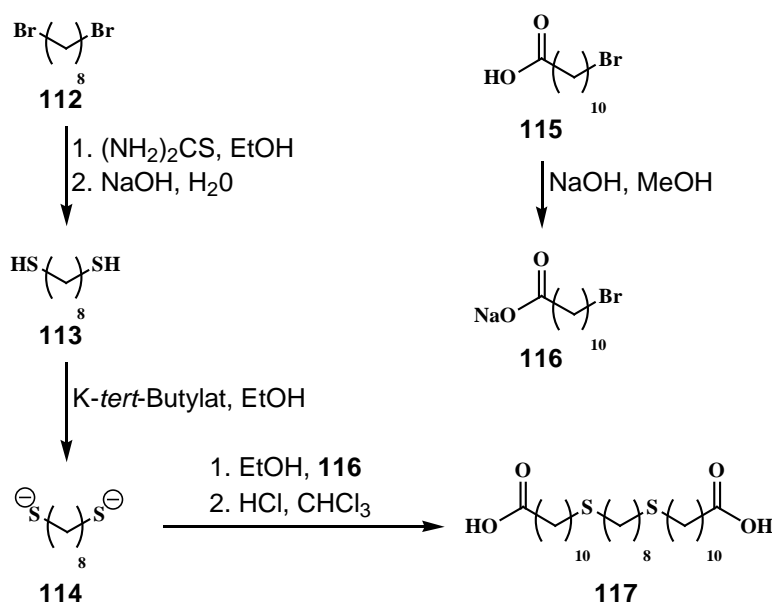


Abb. 29: Darstellung der 12,21-Dithiadotriacontandisäure (**117**) durch Bis-Alkylierung von Octan-1,8-dithiolat (**114**)

Im weiteren wurde überlegt, die Disäuresynthese dahingehend zu modifizieren, dass stattdessen die Bromsäure **115** in die entsprechende Mercaptosäure umgewandelt wird und anschließend mit dem Dibromid **112** umgesetzt wird.

Die 11-Bromundecansäure (**115**) wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von LIVNI durch Reaktion mit Thioharnstoff in siedendem Ethanol in das Thioniumsalz überführt. Durch Zugabe einer wässrigen Natriumhydroxidlösung und Erhitzen unter Rückfluss wurde die 11-Mercaptoundecansäure (**118**) erhalten.¹⁷⁵ Zur Deprotonierung der Mercapto-Gruppe wurde anstelle von Kalium-*tert*-butanolat eine 1 molare Methanolat-Lösung¹¹⁸ verwendet. Dazu wurde die 11-Mercaptoundecansäure (**118**) in Methanol vorgelegt und 2 Äquivalente Natriummethanolat hinzugegeben, um sowohl die Mercapto-Gruppe als auch die Säure-Gruppe zu deprotonieren. Anschließend wurde der Ansatz auf 50 °C erwärmt und eine methanolische Lösung an 1,8-Dibromooctan (**112**) hinzugegeben. Zur besseren Umsetzung wurde der Ansatz unter Rückfluss erwärmt, bis keine weitere Umsetzung mehr mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet wurde. Zur Aufarbeitung wurde wässrige Kaliumhydroxid-Lösung hinzugegeben und erwärmt, um das Natriumsalz der Dicarbonsäure in das Kaliumsalz zu überführen. Nach dem Abkühlen wurde der Niederschlag des Kaliumsalzes der Disäure abfiltriert. Für die Überführung in die protonierte Form musste das Salz in einem Gemisch aus verdünnter Schwefelsäure und Chloroform gegeben werden und zusätzlich

erwärmt werden. Das nach Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde aus Ethylacetat umkristallisiert (siehe Abb. 29). Im Vergleich zur ersten Synthesevariante konnte die Ausbeute auf 85% gesteigert werden. Mittels Dünnschichtchromatographie (Chloroform/Ether/Essigsäure 50/50/1 V/V/V) konnte ebenfalls keine weitere Verunreinigung detektiert werden. In einem Testversuch zur dimeren Ceramid-Kupplung mit Phytosphingosin wurde das oben beschriebene Bis-kupplungsNebenprodukt nicht beobachtet.

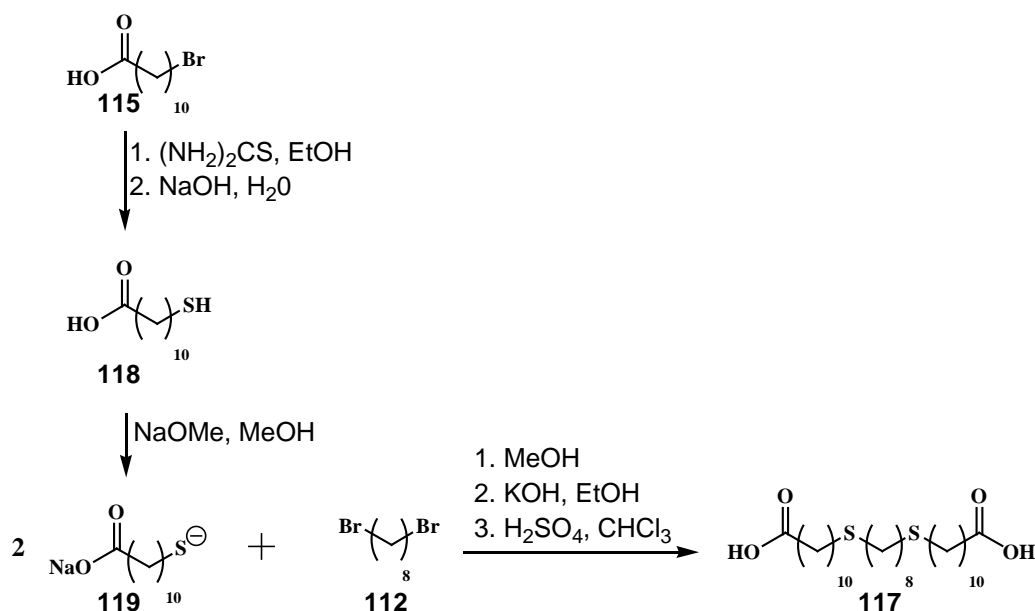


Abb. 30: Darstellung der 12,21-Dithiadotriacontandisäure (**117**) durch Kupplung der zweifach deprotonierten 11-Mercaptoundecansäure (**119**) und 1,8-Dibromooctan (**112**)

Da eine endständige Deuterierung vergleichbar zu den bereits beschriebenen Ceramiden (siehe Kapitel 2.3, 2.4 und 2.5) nicht möglich war, entstand die Überlegung das für die Synthese der Dicarbonsäure benötigte Mittelstück zu deuterieren.

Um Zugang zum deuterierten 1,8-Dibromooctan zu erhalten, konnte im Gegensatz zu den endständig deuterierten Ceramiden nicht auf die dreistufige Reduzierung eines Esters zurückgegriffen werden. Stattdessen wurde ausgehend von kommerziell erhältlicher Octandisäure (**120**) nach einer modifizierten Vorschrift von HSIAO et al. alle Wasserstoffatome durch Deuteriumatome ersetzt.¹⁰⁹ Der Deuteriumaustausch erfolgte in einer Hydrierapparatur bei 180 °C und 9,5 bar in Deuteriumoxid unter Verwendung von Kaliumhydroxid und einem Palladium/Kohlenstoffkatalysator bei einer Reaktionszeit von 80 Stunden. Vergleichend zu den 3 Deuteriumatomen der endständig deuterierten Ceramide wurde die Deuteriumatomanzahl von 12 bei dem dimeren Ceramid als ausreichend für die Neutronendiffraktionsexperimente erachtet. Daher wurde für die anschließende Reduzierung Lithiumaluminiumhydrid verwendet. Als Lösungsmittel wurde aufgrund der Löslichkeit von der deuterierten 1,8-Octandisäure ein Gemisch aus Diethylether und Tetrahydrofuran verwendet, um das 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-Octan-1,8-diol (**122**) zu erhalten. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in schon beschriebener Weise mit 3,4-Dihydro-2H-pyran zum Bis-THP-geschützten Diol **123** umgesetzt.¹³² Die THP-Schutzgruppe wurde durch Reaktion mit Triphenylphosphindibromid in das Dibromid umgewandelt und somit das 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-1,8-Dibromooctan (**124**) zu erhalten (siehe Abb. 30).¹³⁴

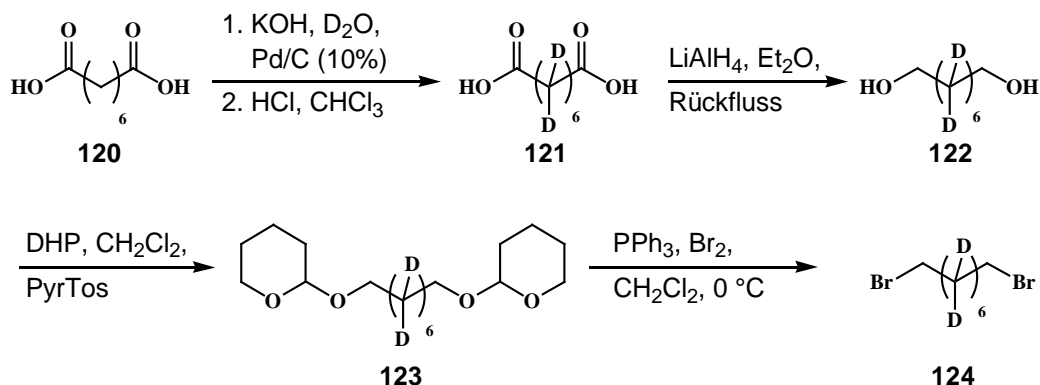


Abb. 31: Darstellung von 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-1,8-Dibromooctan (124)

Die Synthese der deuterierten Dithiadicarbonsäure **125** erfolgte in Analogie zur undeuterierten Disäure **117** (siehe Abb. 31).

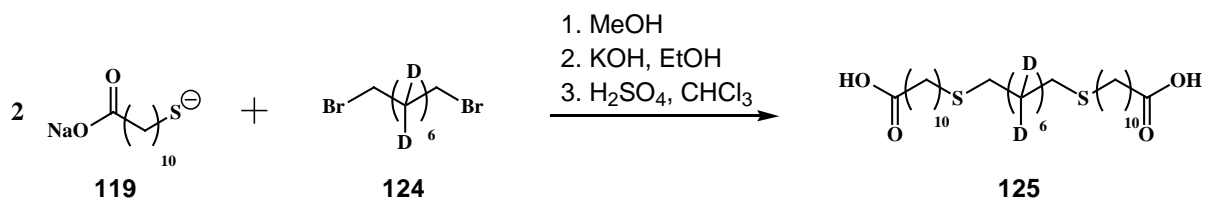


Abb. 32: Darstellung der 14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-Dithiadotriacontandisäure (125)

Die Biskupplung der Disäure **117,125** mit den Sphingoid-Basen Sphingosin (**30**) und Phytosphingosin (**31**) erfolgte in schon beschriebener Weise mit dem Kupplungsreagenz PyBOP[®].¹²⁶ Zunächst wurden die Säuren **117,125** mit ByBOP[®] und Hünig-Base aktiviert, vor der Zugabe der jeweiligen Sphingoid-Base, um die jeweiligen Ceramide zu erhalten (siehe Abb. 18).

Für die Aufarbeitung wurde der jeweilige Ansatz zur Trockne eingeeengt und aufgrund der Löslichkeit für die Reinigung mittels Säulenchromatographie auf Kieselgel aufgezogen.

Die Ausbeuten der Ceramide vom Sphingosintyp waren trotz der sehr guten Ausbeuten allgemein höher als bei den Ceramiden vom Phytosphingosintyp. Dies ist vermutlich auf die lange Eluationszeit bei der Säulenchromatographie zurückzuführen. Es wurden die Ceramide dCER [NSS] **126** und dCER [NSS]-D₁₂ **127** in Ausbeuten von mehr als 90% erhalten, während die Ceramide dCER [NPP] **128** und dCER [NPP]-D₁₂ **129** um die 80% lagen.

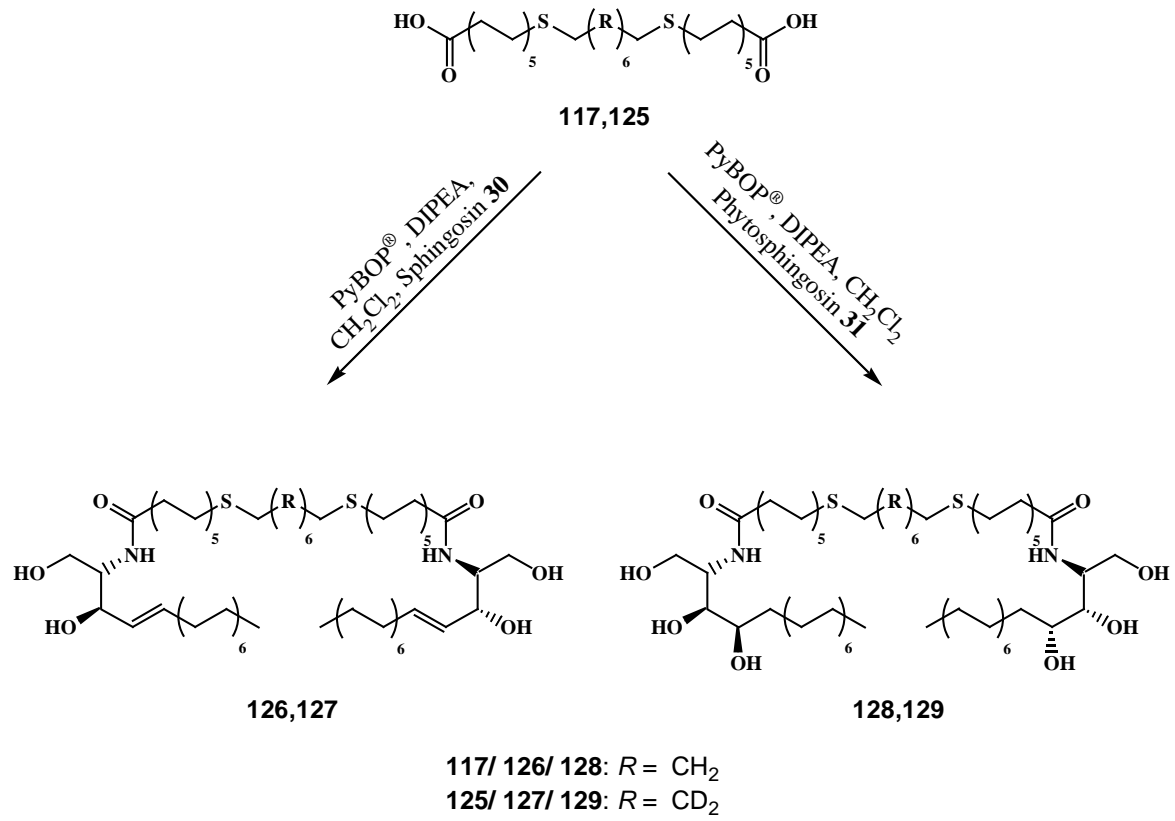


Abb. 33: Darstellung der dimeren Ceramide dCER [NSS] **126,127** und dCER [NPP] **128,129**

3 Biophysikalische Untersuchungen

Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Ceramide wurden für Experimente, insbesondere Neutronendiffraktionsuntersuchungen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Dr. R.H.H. NEUBERT, Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg und Institut für angewandte Dermatopharmazie, zur Verfügung gestellt. Zusätzlich konnten die dimeren Ceramide für Festkörper-NMR Untersuchungen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. D. HUSTER, Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Universität Leipzig, bereitgestellt werden.

Da die Ceramide als Grundlage weiterführender Arbeiten verwendet werden, bleibt die Veröffentlichung der jeweiligen Ergebnisse den entsprechenden durchführenden Personen vorbehalten. An dieser Stelle beschränkt sich daher die Auswahl auf die Ergebnisse der Untersuchungen zu den Ceramiden [AP] (Diastereomergemisch) und [mEOS] veröffentlicht in SONNENBERGER et al.^{99,176}. Da zunächst die Verwendung der deuterierten Ceramide nur für Neutronendiffraktionsexperimente vorgesehen war, beschränkt sich die Auswahl auch nur auf diese Untersuchungen. Für Ergebnisse im Bereich von Festkörper-NMR Untersuchungen sei auf die Arbeiten von STAHLBERG et al. verwiesen.¹⁷⁷

3.1 Neutronendiffraktionsexperimente an Modellmembranen mit deuterierten Ceramid [AP]

Das Ceramid [AP] ist aufgrund seines hohen Anteils an den Ceramiden des Stratum corneums von großem Interesse für Strukturuntersuchungen hinsichtlich des Einflusses auf den molekularen Aufbau der SC Lipidmatrix.^{53,86,150,178} Vom natürlichen Ceramid [AP] sind Moleküle mit unterschiedlicher Kettenlänge bekannt und variieren zwischen einer Kohlenstoffanzahl von 32 und 52 Atomen.⁴⁵ RÜTTINGER et al.⁷⁹ bzw. SCHRÖTER et al.¹⁷⁹ benutzten jeweils das Diastereomergemisch vom Ceramid [AP]. Das Ceramid hatte dabei eine Gesamtkohlenstoffanzahl von 36 Atomen, wobei beide Ketten jeweils 18 Kohlenstoffatome aufwiesen. Diese wurden als Bestandteile einer Modellmembran benutzt, die nachfolgend mittels Neutronendiffraktion untersucht wurde. Es konnte dabei gezeigt werden, dass das Diastereomergemisch des Ceramids [AP] für die Ausbildung der Modellmembran von großer Bedeutung ist. Des Weiteren beschreiben RÜTTINGER et al. die Ausbildung von zwei coexistierenden lamellaren Phasen mit dem Wiederholabstand von 46,3 Å und 45,3 Å. Beide werden der *short-periodicity Phase* (SSP) zugeordnet. Die Modellmembran bestand aus den beiden Diastereomeren des CER [AP] mit jeweils 18 Kohlenstoffatomen in den beiden Ketten, Cholesterol, Stearinsäure und Cholesterolsulfat mit einem Massenverhältnis [%] von 55/25/15/5.

Aus den Ergebnissen wurde die Vermutung abgeleitet, dass das Ceramid [AP] in der *Haarnadel* Konformation vorliegt.⁷⁹ Um diese Annahme zu überprüfen, wurde das Experiment mit identischer Zusammensetzung mit dem deuterierten Diastereomergemisch an Ceramid [AP] wiederholt. Zum einen sollte dabei die Struktur der lamellaren Phase bestimmt werden und zum anderen die Lage der Deuteriummarkierung.

Es wurden zwei Modellmembranen präpariert. Eine mit deuteriertem und eine mit undeuteriertem Ceramid [AP]. Für beide Proben konnten hoch geordnete Systeme bis zur 5. Diffrakti-

onsordnung gemessen werden, der lamellare Wiederholabstand betrug 43,9 Å. Aus den Ordnungen konnte der Strukturfaktor berechnet werden. Zusätzlich wurde ein Überschuss an kristallinen Cholesterol erfasst, der nicht in der Lipidmembran enthalten war, diese aber auch nicht beeinflusst.^{71,180} Anschließend konnte mit Fourier Transformation das Neutronenstreu-
 längendichteprofil $\rho_s(x)$ für die unterschiedlichen D₂O-Kontraste erhalten werden (siehe Abb. 33). Die Neutronenstreu-
 längendichteprofile $\rho_s(x)$ der Modellmembran mit deuteriertem Ce-
 ramid weisen in der Mitte einen vergleichbaren Bereich auf, der den Alkylketten von den Lipi-
 den zugeordnet wird. Ein bei undeuterierten Proben zu erwartendes Minimum bei $x = 0$ Å ist
 nicht vorhanden und wird auf die vorhandenen Deuteriumatome des spezifisch deuterierten
 Ceramid [AP] zurückgeführt. An den Rändern unterscheiden sich die Neutronenstreu-
 längendichteprofile der unterschiedlichen H₂O/D₂O Mischungen deutlicher. Mit höherem D₂O-
 Gehalt der verwendeten H₂O/D₂O Mischung steigt auch der Peak im Neutronenstreu-
 längendichteprofil an. Hervorgerufen wird dies durch den H₂O/D₂O Austausch der vorhandenen
 H₂O Moleküle in der Probenmatrix gegen das D₂O der Mischung. Die Wasserverteilungskur-
 ve als Differenz der $\rho_s(x)_{100\%D_2O}$ und $\rho_s(x)_{8\%D_2O}$ hat in diesen Bereichen ihr Maximum. KIE-
 SELEV et al. beschreiben für diesen Bereich das Vorhandensein der Lipidkopfgruppen.⁵³ Zu-
 sätzlich legen KIESLEV et al. für die Maxima bei ± 12 Å im hydrophoben Bereich nahe, dass
 es sich hierbei um das Steroidgerüst des Cholesterols handelt, der in der Ceramidhaltige
 Lipidmembran eingebunden ist.⁵³ Basierend auf den Daten kann für den hydrophoben Be-
 reich eine Dicke von 32,6 Å und für den jeweiligen polaren Bereich von 5,7 Å bestimmt wer-
 den.

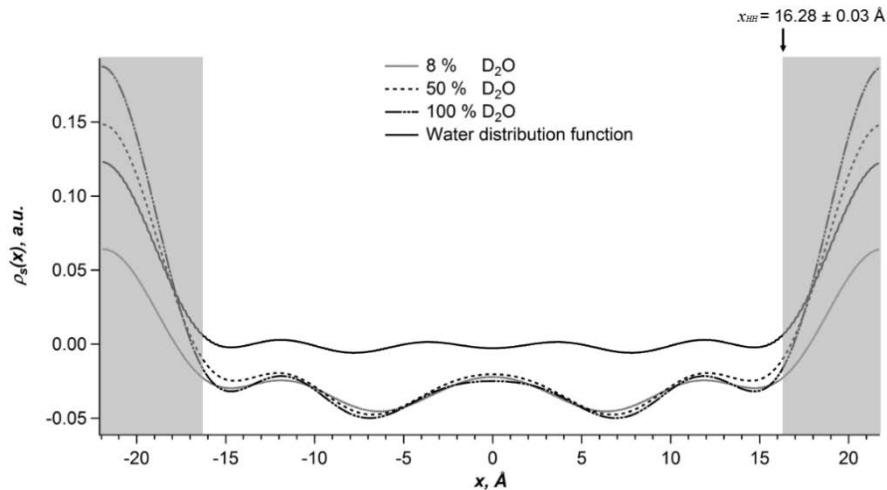


Abb. 34: Neutronenstreu-
 längendichteprofil der Modellmembran mit Ceramid [AP] bei 57% relativer Luftfeuchtigkeit
 und 32 °C bei drei H₂O/D₂O Kontrasten und der Wasserverteilungsfunktion aus der Differenz von
 $\rho_s(x)_{100\%D_2O}$ und $\rho_s(x)_{8\%D_2O}$; Abbildung entnommen aus SONNENBERGER et al.⁹⁹

Obwohl kein Ceramid-Gemisch verwendet wurde, sondern nur das kettenreine Ceramid
 [AP], konnte die Ausbildung einer SPP beobachtet werden. Mit dem lamellaren Wiederhol-
 abstand von 43,9 Å ist die Lipidmembran kleiner als die von RÜTTINGER et al. angegebenen
 Abstände von 45,3 Å und 46,3 Å.⁷⁹ bzw. als der von BOUWSTRA et al angegebene Abstand von
 60 Å für natives Ceramidmaterial.⁵⁷ Anzumerken ist dabei jedoch, dass das native Material
 eine größere Komplexität durch unterschiedliche Kettenlängen im Vergleich zu Modellmem-

branen mit Ceramiden definierten Kettenlänge aufweist. Dies führte auch schon in in anderen Untersuchungen dazu, dass kürzere Wiederholabstände im Vergleich zur natürlichen Lipidmembran bestimmt wurden.^{53,78,79,178}

Für die Bestimmung der Lage der Deuteriumatome in der Modellmembran wurde die Differenz aus den Neutronenstreulängendichteprofil der Probe mit deuteriertem Ceramid [AP] und der Probe mit undeuteriertem Ceramid [AP] berechnet (siehe Abb. 34). Während die undeuterierte Probe bei $x = 0 \text{ \AA}$ ein Minimum aufweist, das auf die CH_3 -Gruppen der Alkylketten zurückzuführen ist,⁵³ enthält die deuterierte Probe ein lokales Maximum. In der Differenzkurve ist an dieser Stelle das absolute Maximum vorhanden. Aufgrund der Differenz der Streulängen zwischen Wasserstoff und Deuterium folgt, dass an dieser Stelle eine hohe Dichte an Deuteriumatomen vorhanden ist, welche durch die endständige CD_3 -Gruppe des markierten Ceramids erklärt werden kann.

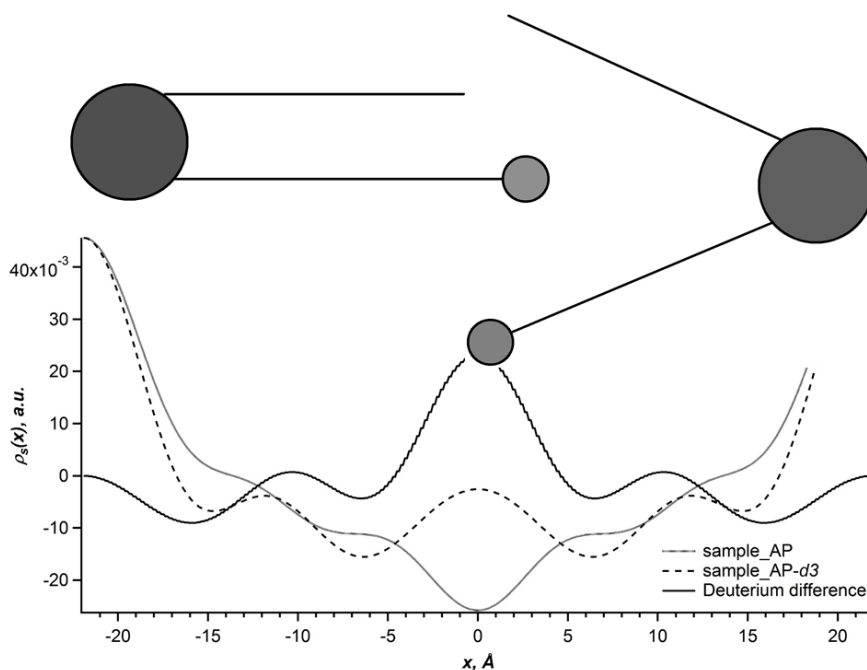


Abb. 35: Neutronenstreulängendichteprofile $\rho_{diff}(x)$ als Differenz aus $\rho_{deut}(x)$ und $\rho_{prot}(x)$, gemessen bei 57% relativer Luftfeuchtigkeit und 8% D_2O ; Ceramid [AP] in der möglichen *Haarnadel* und *V-förmige* Konformationen abgebildet; Abbildung entnommen aus SONNENBERGER et al.⁹⁹

Wie bereits beschrieben, befinden sich im Neutronenstreulängendichteprofil die polaren Kopfgruppen im Randbereich. Die Alkylketten sind auf das Membranzentrum ausgerichtet. Aus dem all-trans-C-C Bindungsabstand von $1,27 \text{ \AA}$ kann für das verwendete Ceramid [AP] eine maximale Kettenlänge von $22,9 \text{ \AA}$ errechnet werden,^{181,182} bzw. für zwei sich gegenüberliegende Ketten ungefähr 46 \AA . Unter Einbeziehung der beiden zusätzlichen Kopfgruppenbereiche kann der gemessene Abstand von ca. 44 \AA beispielsweise durch ein Ineinandergreifen der CD_3 -Gruppen im Membranzentrum erklärt werden. Allerdings kann die Konformation des Ceramids daraus nicht abgeleitet werden. Die *Haarnadel*-Konformation wird als die energetisch stabilere Variante beschrieben,⁸⁶ jedoch wurde für das Experiment das Diastereomergemisch des Ceramid [AP] verwendet. RAUDENKOLB et al. beschreiben das bevorzugte Vorliegen der *extended* Konformation mit größeren Wiederholabständen für das D-Ceramid [AP] und für das L-Ceramid [AP] die *V-förmige* Konformation mit kleineren Wie-

derholabständen. Ein Vorliegen eines *tilt*, und damit das Vorliegen eines gewissen Neigungswinkels der Alkylketten kann auch den gemessenen Abstand von 44 Å erklären.

3.2 Neutronendiffraktion an Modellmembranen mit Ceramid [mEOS]

Das natürliche Ceramid [EOS] ist mit einem Anteil von ungefähr 6,5% an den Ceramiden des menschlichen Stratum corneums der häufigste Vertreter der ω -Acylceramide.⁴⁵ Es besteht aus Sphingosin und einer langkettigen ω -Hydroxyfettsäure, die mit einer weiteren Fettsäure (hauptsächlich Linolsäure) verestert ist. Das Ceramid [EOS] ist wesentlich an der Lipidorganisation des Stratum corneums und damit sowohl am Aufbau der Haut, als auch an der Ausbildung der Barrierefunktion beteiligt.^{66,183-185} Die Lipidmatrix im menschlichen Stratum corneum wurde von BOUWSTRA et al. durch das Vorhandensein von zwei co-existierenden lamellaren Phasen beschrieben. Zusätzlich zu der mit ca 60 Å dicken *short-periodicity Phase* (SPP) wird noch eine *long-periodicity Phase* (LPP) mit einem Wiederholabstand von ungefähr 130 Å angegeben.^{57,61} In Bezug auf die SPP wird für das Ceramid [EOS] ein Durchspannen der Doppelmembran bzw. ein Eindringen in angrenzende Membranschichten diskutiert, sodass damit eine Stabilisierung der lamellaren Schichten erreicht wird.^{179,186} Für die Ausbildung der LPP geben sowohl BOUWSTRA et al. als auch weitere Autoren an, dass dabei dem Ceramid [EOS] eine Schlüsselrolle zukommt.^{65,67,187-189} Allerdings liegen in der Literatur auch Ergebnisse einer Studie vor, bei der das Auftreten der LPP ohne langkettige ω -Acylceramide gezeigt wurde. Anstelle dieser treten dabei Ceramide vom Typ des 6-Hydroxy-sphingosins auf.¹⁹⁰

Für das Neutronendiffraktionsexperiment wurde eine Modellmembran bestehend aus einem langkettigen ω -Acylceramid, Ceramid [NS], Cholesterol und Stearinsäure mit einem Stoffmengenverhältnis [%] von 7/30/26/37 verwendet. Aufgrund eines vergleichbaren thermotropen Phasenverhaltens wurde anstelle des natürlichen Ceramids [EOS] das methylverzweigte Analogon verwendet (siehe Kapitel 2.5).⁷⁶ Beim Ceramid [NS] wiesen beide Alkylketten eine Kohlenstoffanzahl von jeweils 18 Atomen auf. Neben einer Modellmembran mit undeuterten Substanzen, wurde bei einer zusätzlichen Probe anstelle des undeuterten Ceramid [NS] das endständig deuterierte Ceramid [NS] 18,18,18-D₃ verwendet. In zwei weiteren Proben wurde das undeuterte Ceramid [mEOS] durch zum einen das endständig deuterierte Ceramid [mEOS] t-D₃ und zum anderen durch das in der Methylverzweigung deuterierten Ceramid [mEOS] m-D₃ ersetzt. Durch den Vergleich der deuteriummarkierten Probe mit der undeuterten Probe kann die Position der Markierung innerhalb der Membran bestimmt werden. Die insgesamt 4 Modellmembranen wurden bei 32 °C und 98% relativer Luftfeuchtigkeit bei den drei unterschiedlichen H₂O/D₂O-Kontrasten vermessen. Kessner et al. beschreiben, dass die Ausbildung der LPP für das Ceramid [EOS] von dem Vorhandensein von Wasser abhängt.⁷⁰

Für die vier vermessenen Proben konnte jeweils nur eine Phase beobachtet werden. Diese hatten jeweils einen lamellaren Wiederholabstand von 39 Å ± 1 Å und wird damit nicht der LPP zugeordnet. Der zu erwartende Abstand für die SPP mit 2 sich gegenüberliegende Ceramid [NS] Molekülen beträgt 44,2 Å und ist damit größer als der gemessene Abstand von 39,4 Å.¹⁹¹ Da die Differenz nicht mit ineinandergreifenden Alkylketten oder der Temperatur

erklärt werden kann, ist eine leicht geneigte Anordnung der Alkylketten in der lamellaren Phase anzunehmen. Unter Einbeziehung reiner geometrischer Faktoren ergibt sich ein *tilt* von ungefähr 26° , um den gemessenen lamellaren Wiederholabstand zu erklären.

Nach Berechnung der Neutronenstrelängendichteprofile $\rho_s(x)$ wurde, um die Lage der Deuteriumatome in der Modellmembran zu bestimmen, jeweils die Differenz aus den Neutronenstrelängendichteprofil der Probe mit dem entsprechenden deuterierten Ceramid und der Probe mit den undeuterten Ceramiden berechnet (siehe Abb. 35). Dabei wurde ein Unterschied zwischen dem Ceramid [mEOS] mit endständiger Deuterierung und Methyldeuterierung erkennbar. Für die endständige Deuterierung ist die Differenz kleiner und wurde bei allen drei Kontrastvariationen beobachtet. Die Maxima der Differenzkurven, die das erhöhte Auftreten von Deuteriumatomen kennzeichnen und damit die Position der Deuteriummarkierung repräsentieren, unterstützen die Vermutung eines vorliegenden *tilts* der Ceramidalkylketten. Eine mögliche Anordnung der Ceramide ist in Abb. 35 gezeigt. Hierbei wurde das ω -Acylceramid in zwei Teile getrennt, da aufgrund der Länge des Ceramids dieses höchstwahrscheinlich in die angrenzende lamellare Phase hineinreicht. Dies führt dazu, dass die ω -Acylkopfgruppe im Kopfgruppenbereich der benachbarten Zelle sich befindet und der ω -Acylrest sich parallel zu den Alkylketten der Nachbarphase anordnet.

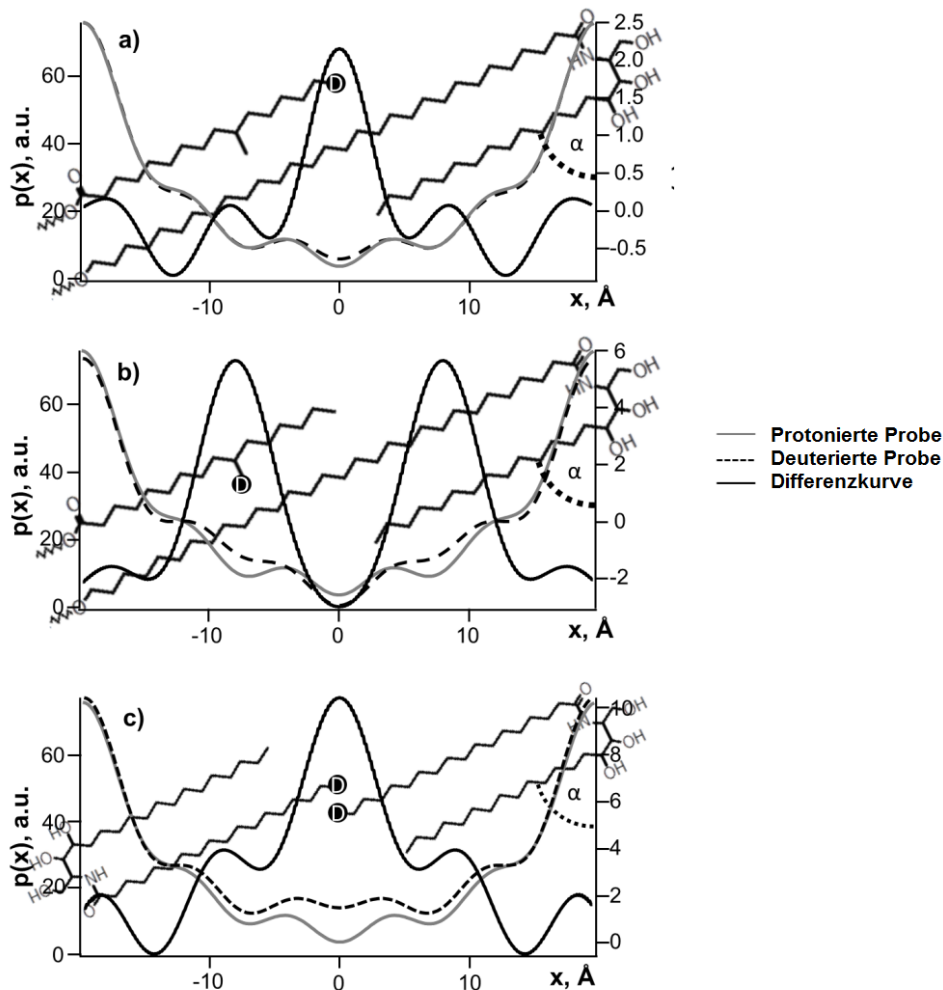


Abb. 36: Neutronenstrelängendichteprofil im Vergleich zu den deuterierten Ceramiden a) CER [mEOS] t-D₃ b) CER [mEOS] m-D₃ c) CER [NS] 18,18,18-D₃. Das CER [mEOS] ist zweigeteilt dargestellt, um das Vorliegen des ω -Acylrestes in der angrenzenden lamellaren Einheit zu demonstrieren. Modifizierte Abbildung aus SONNENBERGER et al.¹⁷⁶

4 Zusammenfassung und Ausblick

Die Haut als größtes Organ übernimmt verschiedene lebenswichtige Funktionen des menschlichen Organismus. Dabei hat die äußerste Hautschicht, das Stratum corneum, als Barriere gegen exogene Einflüsse eine besondere Bedeutung. Entscheidend für diese Barrierefunktion ist die Lipidmatrix innerhalb dieser Schicht. Ein wesentlicher Bestandteil sind die Ceramide. Gleichzeitig haben sie auch die größte Bedeutung. Verschiedene Subspezies sind an der Ausbildung der lamellaren Organisation beteiligt. Um ihre Funktion zu verstehen und einen Einblick in die Membranstruktur zu erhalten, können Modellmembranen mittels Neutronendiffraktion untersucht werden. Die Zusammensetzung orientiert sich an den natürlichen Verhältnissen und beschränkt sich auf nur wenige Ceramide neben freien Fettsäuren und Cholesterol. Die Verwendung von synthetisch hergestellten Ceramiden mit definierten Kettenlängen hat sich hierbei als Vorteil gegenüber der Verwendung von komplex zusammengesetzten nativem Material erwiesen. Durch Verwendung von Ceramiden mit Deuteriummarkierung und Vergleich dieser mit undeuterten Proben identischer Zusammensetzung können Rückschlüsse auf die genaue Lage der Deuteriumatome und auf die Lage der Moleküle innerhalb der Membran bzw. auf den Aufbau gezogen werden. Ein erstes Ziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese von spezifisch endständig deuterierten Ceramiden des Sphingosins und Phytosphingosin-Typs, um diese für Neutronendiffraktionsexperimente der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. R.H.H. Neubert zugänglich zu machen. Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Synthese von komplexen, in diesem Fall dimeren Ceramiden, behandelt. Es galt dabei, den jeweiligen Syntheseweg ausführlich zu beschreiben und die Zwischen- und Endprodukte analytisch zu charakterisieren. Zwei wesentliche Teile dieser Arbeit bilden dabei die Synthese der zugrundeliegenden Fettsäuren und die nachfolgende Amidbildung zum Ceramid.

Für den non-hydroxylierten Ceramidtyp wurden drei endständig deuterierte Fettsäuren mit 18, 22 bzw. 24 Kohlenstoffatomen dargestellt. Ausgangspunkt war dabei ein kurzkettiges endständig deuteriertes Alkylbromid, das in Abhängigkeit der gewünschten Kettenlänge mit einem weiteren funktionalisierten Intermediat durch GRIGNARD-Reaktion kettenverlängert wurde. Nach Umwandlung in die entsprechende Säure konnte unter Verwendung des Kupplungsreagenzes PyBOP[®] eine neue Variante der Amidbindung für die Ceramidsynthese etabliert werden.

Für den alpha-hydroxylierten Ceramidtyp konnte über Alkylierung von Acetamidomalonsäurediethylester mit den entsprechenden endständig deuterierten Alkylbromiden Aminosäuren mit 18 und 24 Kohlenstoffatomen erhalten werden. Durch Umwandlung in die korrespondierenden 2-Hydroxysäuren und Kupplung mit den Aminoalkoholen Phytosphingosin und Sphingosin wurden die Ceramide [AP] und [AS] erhalten. Zunächst synthesebedingt als Diastereomerenmischung vorliegend, erfolgte durch einfache Säulenchromatographie die Trennung dieser. Zum einen wurde dadurch die aufwendige Synthese von optisch reinen Fettsäuren umgangen, bzw. durch Etablierung der Säulenchromatographie die Substanzmengenbeschränkung der präparativen Dünnschichtchromatographie umgangen werden. Die erhaltene D-Form entspricht dem natürlich vorkommenden Ceramid. Vor diesem Hintergrund ergeben

sich interessante Ansatzpunkte für die Neutronendiffraktionsexperimente der getrennten Diastereomeren sowohl vom Ceramid [AP] als auch vom Ceramid [AS].

Für den in ω -Position veresterten langkettigen Ceramidtyp wurden in Anlehnung an die natürlichen Ceramide [EOS] und [EOP] verschiedene Derivate synthetisiert. Anstelle der ω -veresterten Linolsäure wurde dazu 10-Methylpalmitinsäure verwendet. Neben der undeuterten Form wiesen die Analoga entweder eine deuterierte Methylverzweigung, eine endständige CD_3 -Gruppe oder eine Deuteriummarkierung in beiden beschriebenen Positionen auf. Dadurch ergeben sich Möglichkeiten sowohl die mögliche Ausbildung der *long-periodicity Phase* zu untersuchen, als auch die Lage der Markierungen zu bestimmen.

Durch die Synthese der 12-21-Dithiadotriacontandisäure und nachfolgender Amidkupplung mit den entsprechenden Aminoalkoholen konnte der Zugang zu einer neuen Ceramid-Klasse ermöglicht werden und in einer Patentschrift festgehalten werden. Durch Verwendung eines zuvor synthetisierten 12fach deuterierten Mittelstücks wurde sowohl für Neutronendiffraktionsexperimente, als auch für Festkörper NMR Untersuchungen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. D. Huster Material zur Verfügung gestellt. Gerade in Hinblick des auf die dimeren Ceramide bestehen Vermutungen, dass durch ein Durchspannen der Doppelmembran diese stabilisiert werden kann.

Durch die baukastenartigen Synthesestrategien konnten insgesamt 26 Ceramide sowohl mit als auch ohne Deuterierung der Testung zugeführt werden. Das Baukastenprinzip ermöglicht dabei verschiedene weitere Abwandlungen. So kann durch Verwendung anderer Kupplungsintermediate der Zugang zu anderen Kettenlängen bei den non- und alpha-hydroxylierten Fettsäuren realisiert werden. Vergleichbar kann bei der dimeren Ceramid-Synthese durch Verwendung anderer Intermediate die Position bzw. die Anzahl der Schwefelatome sowie die Länge variiert werden und für die Testung zur Verfügung gestellt werden. Auch bleibt die Synthese weiterer dimerer Ceramide mit anderen Heteroatomen oder enthaltenen funktionellen Gruppen zukünftigen Arbeiten vorbehalten. Obwohl die methylverzweigten ω -Acylceramide ein vergleichbares thermotropes Phasenverhalten aufweisen, bleibt der Zugang zum deuterierten natürlichen ω -Acylceramide auch weiterhin ein interessanter Ansatzpunkt. Des Weiteren wurden in der vorliegenden Arbeit nur die Kupplung mit den beiden undeuterten Aminoalkoholen Sphingosin und Phytosphingosin durchgeführt. Ein weiterer Ansatzpunkt für nachfolgende Arbeiten, insbesondere in Hinsicht auf die Lage der Aminoalkohole in der Membran, kann die Synthese und Verwendung von deuterierten Aminoalkoholen in Neutronendiffraktionsexperimenten sein.

Die im Rahmen dieser Arbeit präsentierten Neutronendiffraktionsergebnisse beschränken sich auf eine kleine Auswahl von durchgeführten Studien und verdeutlichen nur die Möglichkeiten, die sich ergeben, um einen Einblick in den molekularen Aufbau der Membran zu erhalten, insbesondere durch den Vergleich von undeuterten und vergleichbaren deuterierten Probenmaterial. Für die Neutronendiffraktionsexperimente werden Modellmembranen generiert, die nur wenige Ceramide in vergleichbar geringen Mengen beinhalten. Durch die Vielzahl der im Rahmen dieser Arbeit zur Verfügung gestellten Ceramide unterschiedlicher Subspezies ergibt sich eine beträchtliche Anzahl an Untersuchungsmöglichkeiten für unterschiedlichste Experimente, die auch noch zukünftige Arbeiten ermöglichen werden. Zusätzlich ergeben sich in Hinsicht auf den Einfluss von Enhancern unterschiedliche Ansatzpunkte.

Abschließend lässt sich festhalten, dass neben der Vielzahl an synthetisierten Ceramiden, Ansatzpunkte für weitere Synthesen auch in methodischer Hinsicht geliefert wurden und verschiedenste Neutronendiffraktionsexperimente ermöglicht wurden, um so den molekularen Aufbau der Haut besser zu verstehen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Verwendete Chemikalien

Die verwendeten Lösungsmittel für die Reaktionen und Chromatographien wurden entsprechend den Angaben in der Literatur gereinigt, getrocknet und vor Gebrauch frisch destilliert.¹¹⁸

Kommerziell erworbene Substanzen

Falls nicht anders angegeben, wurden die folgenden Chemikalien von *Sigma-Aldrich* (Deutschland) bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet.

Acetamidomalonsäurediethylester	Ace-	Lithiumchlorid, 99,99%
tanhydrid		Magnesiumspäne
Ammoniak, konz.		Malonsäurediethylester (Laborchemie
Ammoniumchlorid		Apolda)
Azelainsäure		Methansulfonsäurechlorid
Bariumhydroxid Octahydrat (Fluka)		Natrium
Brom (Laborchemie Apolda)		Natriumborhydrid
1-Bromhexan		Natriumnitrit
6-Bromhexansäuremethylester		Natriumsulfat
11-Bromundecansäure		Natriumchlorid
Bromwasserstoffsäure		Natriumhydrid, 60%, in Paraffin
<i>n</i> -Butyllithium		Natriumhydrogencarbonat
Chlorameisensäureethylester		Natriumhydrogensulfat
Chrom(III)oxid		Natriumhydroxid
Cumol		1,9-Nonandiol (Fluka)
Deuteriumoxid (Armar AG)		Octansäure
1,8-Dibromoctan		Octandisäure (Merck)
Diisopropylamin		Palladium/Kohlenstoff (10%)
Diisopropylethylamin		15-Pentadecanolid, 98%
3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran		Phosphorpentoxid
Dimethylsulfid-Boran-Komplex		Phytosphingosin (Evonik)
Ethanol, 96%		PyBOP [®]
Ethylenbrassylat		Pyridin
16-Hexadecanolid		Pyridiniumdichromat
Kaliumhydrid, 30% Suspension in Paraffin		Pyridiniumtosylat, 98%
Kaliumcarbonat		Salzsäure, konz.
Kupfer(II)chlorid, 99,999%		Schwefelsäure, konz.
Kaliumhydroxid		Sphingosin (Evonik)
Lithiumaluminiumdeuterid (Armar AG)		Thioharnstoff
Lithiumaluminiumhydrid		Thionylchlorid
Lithiumbromid, 99+%		<i>p</i> -Toluolsulfonsäure

p-Toluolsulfonsäurechlorid
Triethylamin

Triphenylphosphin (Fluka)

5.2 Analysenmethoden

5.2.1 Chromatographie

- Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Dünnschichtchromatographie wurde zur Kontrolle von Reaktionsverläufen, Reinheitsprüfungen isolierter Zwischen- und Endprodukten sowie zur Bestimmung unkorrigierter R_f -Werte verwendet. Hierfür wurden beschichtete Aluminiumplatten unterschiedlicher Größe der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland) sowie von *Macherey-Nagel* (Düren, Deutschland) verwendet. Die stationäre Phase bestand aus Kieselgel 60 F₂₅₄.

Die zu analysierende Probensubstanz wurde in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und durch Verwendung einer Kapillare 10 μ L mit Ringmarke der Firma *Diaglobal* (Berlin, Deutschland), dünn auf die Fertigplatten aufgetragen. Anschließend wurden die Platten in einer Chromatographiekammer unter Kammersättigung entwickelt. Als mobile Phase dienten verschiedene Mischungen organischer Lösungsmittel folgender Zusammensetzung (V/V).

LM 1	Heptan	
LM 2	Heptan/Diethylether	8/2
LM 3	Chloroform/Heptan	4/6
LM 4	Chloroform/Heptan	6/4
LM 5	Chloroform	
LM 6	Chloroform/Diethylether	8/2
LM 7	Chloroform/Diethylether	1/1
LM 8	Chloroform/Methanol	95/5
LM 9	Chloroform/Methanol/Ammoniak	95/5/1
LM 10	Chloroform/Methanol	9/1
LM 11	Chloroform/Methanol/Ammoniak	90/10/1
LM 12	Chloroform/Ethylacetat/Essigsäure	50/50/1
LM 13	Heptan/Ethylacetat	1/1

Für die Detektion wurden aufgrund des Fehlens von chromophoren Systemen innerhalb der synthetisierten Substanzen nasschemische Detektionsmöglichkeiten verwendet. Eine Lösung des Triphenylfarbstoffs Bromthymolblau wurde für die Detektion verwendet. Dieser lagert sich an lipophile Strukturen an, wodurch die Analysesubstanzen als gelbe Flecken auf hellgelben Untergrund sichtbar werden. Zusätzlich kann durch eine Bedampfung mit Ammoniak die Empfindlichkeit dahingehend gesteigert werden, wobei die Substanzflecken dunkelblau auf hellblauen Grund hervortreten.

Für die Bromthymolblaulösung wurden 200 mg Bromthymolblau und 400 mg Kaliumhydroxid in einer geringen Menge Ethanol angelöst und mit destilliertem Wasser auf 1 Liter verdünnt.

- Säulenchromatographie (SCh)

Mittels Säulenchromatographie wurden die Zwischen- und Endprodukte aufgereinigt und getrennt. Kieselgel 60 der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland) mit einer Korngröße von 0,063 – 0,200 mm wurde als stationäre Phase verwendet. Die Kieselgelmenge, die für die Chromatographie benötigt wurde, berechnete sich anhand der Masse der zu reinigenden Substanz bzw. Substanzmischung. Für die Verwendung von trocken gepackten Säulen wurde ein Verhältnis Kieselgel zu Substanz von 10:1 (m/m) verwendet, bei nass eingeschwemmten (konditionierten) Säulen ein Verhältnis von 100:1 (m/m). Trocken gepackte Säulenchromatographie wurde für Zwischenprodukte und vorzugsweise große Substanzmenge, die zu reinigen sind, angewendet. Nass konditionierte Säulen wurden für die Reinigung von Endprodukten bzw. kleinen Substanzmengen angewendet.

Als Elutionsmittel sind verschiedene Lösungsmittel und Lösungsmittelmischungen verwendet worden, wobei die Zusammensetzung zur Polaritätserhöhung je nach Bedarf diskontinuierlich verändert wurde. Bei der Chromatographie von Substanzen mit säurelabilen funktionellen Gruppen, sowie bestimmter Schutzgruppen wurden die sauren Silanolgruppen des Kieselgels durch Zusatz von TEA (10 Tropfen je 100 ml Elutionsmittel) abgepuffert.

Die Detektion der einzelnen Fraktionen erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie.

- High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Die Reinheit der Endprodukte wurde an einem *HP 1100 Agilent* Gerät der Firma *Agilent Technologies* (Waldbronn, Deutschland) bestimmt. Als Säule wurde eine *Nucleodur 100-5 125 x 2* Säule der Firma *Macherey-Nagel* (Düren, Deutschland) verwendet und als Detektor diente ein *ELSD 2000 Alltech* Lichtstreuendetektor der Firma *Grace Davison* (Columbia, Maryland, USA). Die Proben wurden in einer $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ Mischung gelöst. Die erhaltene Stammlösung wurde auf die benötigte Konzentration verdünnt und das entsprechende Probenvolumen in die HPLC-Anlage injiziert. Die erhaltenen Chromatogramme wurden mit der Software *MicroCal Origin 8.0* ausgewertet.

5.2.2 Elementaranalyse (EA)

Die Elementaranalyse der synthetisierten Substanzen auf enthaltenen Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel wurden im automatischen Mikroverfahren an einem *CHNS-932* Gerät der Firma *Leco-Corporation* (St. Joseph, Michigan, USA) durchgeführt.

5.2.3 Kernspinresonanzspektroskopie – Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR)

Die ^1H -NMR und ^{13}C -NMR Spektren wurden an einem *Varian Gemini 2000* bzw. an einem *Varian Inova 500* aufgenommen. Dabei erfolgten die Aufnahmen der ^1H -NMR Spektren bei 400 MHz bzw. 500 MHz, die der ^{13}C -NMR Spektren bei 100 MHz bzw. 125 MHz. Die zu analysierende Probe wurde je nach Löslichkeit entweder in CDCl_3 , THF-D_8 , DMSO-D_6 oder Mischungen aus CDCl_3 und CD_3OD unterschiedlicher Zusammensetzung gelöst. Das verwendete Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch, sowie eine von 27 °C abweichende Mess-temperatur sind in der Auswertung der experimentellen Daten angegeben.

Die verwendeten deuterierten Lösungsmittel wurden zusätzlich als interner Standard verwendet. Die angegebenen chemischen Verschiebungen δ in ppm beziehen sich bei Signalen mit definierter Multiplizitäten (d – Duplett, t – Triplet) auf deren Symmetrieachse mit Angabe der Kopplungskonstante J in Hz. Für das Vorliegen von Multipletts (m) werden die Bereiche der Signale angegeben. Wenn möglich erfolgt eine Angabe von Kombinationen von Multiplizitäten wie dt (Dublett vom Triplet). Unscharfe Signale, die anscheinend eine geringere Multiplizität aufweisen, sind in Anführungszeichen angegeben.

5.2.4 Massenspektrometrie (MS)

- Elektronenstoß-Ionisation (EI-MS)

Für die Aufnahme der Massenspektren, deren Ionisation durch Elektronenstoß-Ionisation erzeugt wurde, ist ein *AMD 402* (70 eV) Gerät der Firma *AMD Intecta GmbH* (Harpstedt, Deutschland) verwendet worden.

- Elektronenspray-Ionisation (ESI-MS)

Die Analysenprobe wurde unter Verwendung geeigneter Lösungsmittel gelöst und mittels Spritzpumpe *Harvard Apparatus 22* (Holliston, Massachusetts, USA) injiziert und im Elektronenspray bei 4,5 kV positiv und negativ ionisiert. Die Aufnahme der Spektren erfolgte am Ionenfallen-Massenspektrometer *Finnigan Mat SSQ 710* (Ringoos, New York, USA).

- Gaschromatographie-gekoppelte Massenspektrometrie (GC-MS)

Die Proben wurden zunächst gaschromatographisch am Gerät *HP 5890 II* getrennt und gleich anschließend am Gerät *MS 5971 A* massenspektrometrisch vermessen (beide Geräte der Firma *Hewlett-Packard*, Palo Alto, Kalifornien, USA). Zur chromatographischen Trennung wurde eine Säule mit DB5 30m × 0,25 mm (Innendurchmesser) × 0,25 μ m (Innenbeschichtung) verwendet. Die Temperatur am Injektor betrug 250 °C und am Detektor 280 °C.

- Hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS)

Die Identitätsbestimmung der teildeuterierten Endprodukte mittels hochauflösender (high resolution) Massenspektrometrie wurde an einem *LTQ-Orbitrap*-Massenspektrometer der Firma *Thermo Fisher Scientific* (Bremen, Deutschland) durchgeführt. Die Ionisation der in $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ gelösten Probe erfolgte mittels *Proxeon-Nano-ESI-Quelle* der Firma *Thermo Fisher Scientific* (Bremen, Deutschland).

5.2.5 Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzbereiche wurde an einem *Boetius* Heiztischmikroskop durchgeführt. Die erhaltenen Werte wurden nicht korrigiert.

5.2.6 Neutronendiffraktion

Die Untersuchungen mittels Neutronenstreuung wurden am Membrandiffraktometer V1 am Helmholtz-Zentrum (HZB, Berlin, Deutschland) durchgeführt. Durch den Monochromator wurde die Wellenlänge der Neutronen auf $\lambda = 4,57 \text{ \AA}$ eingestellt. Der Abstand zwischen Probe und zwei-dimensionalem positionssensitiven ^3He -Detektor (Fläche: 20 cm x 20 cm, räumliche Auflösung 1,5 mm x 1,5 mm) variierte. Für die ausgewählten Beispiele betrug sie 101,81 cm bzw. 102,24 cm. Die Aufnahme der ausgewählten Beugungsmuster erfolgte entweder als kontinuierlicher θ - 2θ Scan oder als *rocking scan*. Eine ausführliche Beschreibung ist in RÜTTINGER et al. angegeben.⁷⁹

Für die Messungen wurden Proben mit multilamellaren Modellmembranen aus einem oder zwei Ceramiden, Fettsäuren und Cholesterol bzw. Cholesterolsulfat hergestellt. Die Zusammensetzung orientierte sich dabei an bereits durchgeführten Studien von ENGELBRECHT et al. und SCHROETER et al.^{76,192} Neben der Probe mit dem deuterierten Ceramid wurde für die Vergleichbarkeit eine Referenzprobe mit identischer Zusammensetzung unter Verwendung des undeuterierten Analogons vorbereitet.

Die Modellmembranen wurden nach einer bereits beschriebenen Prozedur von SEUL und SAMMON präpariert.¹⁹³ Dazu wurden die Bestandteile unabhängig voneinander in einem Chloroform/Methanol Gemisch (2:1 V/V) aufgenommen und nachfolgend zusammengegeben, um eine Stammlösung mit einer Konzentration von 10 mg/ml zu erhalten. Anschließend wurden 1200 μl des Lösungsgemisches auf eine vorgewärmte Quartzplatte mittels Hamillton-Pipette oder mittels Airbrush (Harder & Steenbeck, Norderstedt, Deutschland) aufgebracht. Das Lösungsmittel wurde anschließend über 12 Stunden im Vakuum abgezogen. Um einen höheren Ordnungszustand der Lipidmembran zu erhalten, wurden die Proben nachfolgend Annealing-Zyklen unterzogen. Bei dieser Methode wird durch mehrfaches Erwärmen auf 75 bis 80 °C bei 100% relativer Luftfeuchte und Abkühlen auf 25 °C für definierte Zeiträume die Lipidorientierung innerhalb der Membran erhöht, um hochgeordnete multilamellare Schichten zu erhalten.^{102,194}

Die verwendeten Ceramide, soweit diese nicht innerhalb der Arbeitsgruppe synthetisiert wurden, wurden von *Evonik* (Essen, Deutschland) zur Verfügung gestellt und vor Verwendung mittels Säulenchromatographie gereinigt. Stearinsäure, Cholesterol und Cholesterolsulfat wurden käuflich bei *Sigma Aldrich* (Deutschland) erworben.

Für die Messungen wurden die Quartzplatten in Aluminiumkammern eingespannt. Diese können durch externe Wärmezufuhr auf eine konstante Temperatur eingestellt werden. Durch wässrige Salzlösungen im inneren der Kammer kann die relative Luftfeuchtigkeit reguliert werden. Um *in-vivo* Bedingungen abzubilden, wurde die Temperatur bei konstant 32 °C gehalten und die relative Luftfeuchtigkeit mittels gesättigter Natriumbromid-Lösung auf 57% reguliert. Um die Wahrscheinlichkeit des Auftretens bestimmter Membranstrukturen zu erhöhen, wurde außerdem mittels gesättigter Kaliumsulfat-Lösung eine relative Luftfeuchtigkeit von 98% eingestellt.^{70,195-197} Für jede relative Luftfeuchtigkeit wurden drei Salzlösungen mit unterschiedlicher $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ Zusammensetzung (0/100; 50/50; 92/8 V/V) hergestellt und separat voneinander vermessen. Jeder Kontrastwechsel bedingte dabei eine Equilibrierungszeit der Probe von 6 bis 8 Stunden.¹⁹⁸

5.3 Allgemeine Synthesevorschriften

Methode 1A: Reduktion zur deuterierten CD₃-Gruppe

Eine Lösung der zu reduzierenden Verbindung in abs. Diethylether (12 ml je 10 mmol umzusetzender Estergruppe) wurde tropfenweise zu einer Suspension von LiAlD₄ (0,6 Moläquivalente je umzusetzender Estergruppe) in abs. Diethylether (15 ml je 10 mmol LiAlD₄) gegeben. Die Reaktion wurde unter Rückfluss erhitzt bis keine weitere Umsetzung mittels DC beobachtet wurde. Zum Reaktionsabbruch wurde tropfenweise D₂O (1,5 ml je 10 mmol LiAlD₄) unter Eiskühlung hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 2 h gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde mittels Fritte abgesaugt. Die Fritte wurde dreimal mit abs. Ether gewaschen. Die vereinigten org. Phasen wurden mit Wasser und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt, über P₂O₅ getrocknet und ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Zu einer Lösung des getrockneten Rohprodukts und TEA (2,1 Moläquivalente zur ursprünglich eingesetzten Estergruppe) in CHCl₃ (100 ml je 50 mmol ursprünglich eingesetzter Estergruppe) wurde tropfenweise eine Lösung von Methansulfonsäurechlorid (1,1 Moläquivalente zur ursprünglich eingesetzter Estergruppe) in CHCl₃ (50 ml je 50 mmol ursprüngliche eingesetzter Estergruppe) unter Eiskühlung hinzugegeben. Der Ansatz wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 12 h weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurde Eiswasser (halbes Volumen an CHCl₃) hinzugegeben und der Ansatz für 2 Stunden gerührt. Die org. Phase wurde abgetrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden eingeengt. Der Rückstand wurde in Heptan aufgenommen und mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt und über P₂O₅ getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Eine Lösung des getrockneten Mesylats in abs. Diethylether (12 ml je 10 mmol der ursprünglich eingesetzten Estergruppe) wurde tropfenweise zu einer Suspension von LiAlD₄ (0,5 Moläquivalente je ursprünglich eingesetzter Estergruppe) in abs. Diethylether (15 ml je 10 mmol LiAlD₄) gegeben. Die Reaktion wurde unter Rückfluss erhitzt bis keine weitere Umsetzung mittels DC beobachtet wurde. Durch tropfenweises Hinzugeben von Wasser unter Eiskühlung wurde die Reaktion abgebrochen. Der Ansatz wurde für 60 min gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde mittels Fritte abgesaugt. Die Fritte wurde dreimal mit abs. Ether gewaschen. Die vereinigten org. Phasen wurden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA für den Fall, dass säurelabile Gruppen im Molekül enthalten sind.

Methode 1B: Reduktion zu Alkanolen

Eine Lösung der zu reduzierenden Verbindung wurde in abs. Diethylether (150 ml je 0,05 ml zu reduzierender Verbindung) tropfenweise zu einer Suspension von LiAlH₄ (1 Moläquivalente je umzusetzender funktioneller Gruppe) in abs. Diethylether (100 ml je 0,05 mol LiAlH₄) gegeben. Die Reaktion wurde unter Rückfluss erhitzt bis keine weitere Umsetzung mittels DC mehr beobachtet wurde. Zum Reaktionsabbruch wurde tropfenweise Wasser unter Eiskühlung hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 2 h gerührt. Die org. Phase wurde abgetrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden

mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA, für den Fall, dass säurelabile Gruppen im Molekül enthalten sind.

Methode 2: Bromsubstitution nach SCHWARZ et al.¹³⁴

Triphenylphosphin (2,2 Moläquivalente je THP-geschützten Alkohol) wurde in CH₂Cl₂ (5 ml je 1 mmol THP-geschützten Alkohol) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Tropfenweise wurde eine Lösung von Brom (2,2 Moläquivalente je THP-geschützten Alkohol) in CH₂Cl₂ (2 ml je 1 mmol THP-geschützten Alkohol) hinzugefügt. Während des Zutropfens ist ein Anstieg der Temperatur zu vermeiden, sowie eine Verfärbung durch Bromreste nach Abschluss des Zutropfens. Im Anschluss wurde eine Lösung des entsprechenden THP-geschützten Alkohols in CH₂Cl₂ (bis zu 2 ml je 1 mmol THP-geschützten Alkohol) auf einmal hinzugegeben. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde anschließend zweimal mit Wasser gewaschen. Die org. Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Methode 3: modifizierte JONES-Oxidation zur Oxidation der Alkohole

Zu einem Eis gekühlten Gemisch von CrO₃ (2,2 Moläquivalente je umzusetzenden Alkohol) und 10 N H₂SO₄ (1,1 ml je 1 mmol umzusetzenden Alkohol) wird tropfenweise über 90 min eine Lösung des entsprechenden Alkohols in einer Mischung aus Aceton und CHCl₃ hinzugegeben. Anschließend wurde der Ansatz für weitere 60 min bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde ein Gemisch von gesättigter NaCl-Lösung und Wasser (1/1 V/V) hinzugegeben. Der Ansatz wurde dreimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/CHCl₃/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Methode 4A: Synthese der Ceramide des Sphingosintyps

Die Synthese erfolgte an Anlehnung an die von COSTE et al beschriebene Vorschrift.¹²⁶ Zu einer Suspension der umzusetzenden Molmenge der entsprechenden Säure und PyBOP[®] (1,1 Moläquivalente je Carboxygruppe) in CH₂Cl₂ (10 ml je 1 mmol Carboxygruppe) wurde Diisopropylethylamin (2 Moläquivalente je Carboxygruppe) hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Sphingosin **30** (1,1 Moläquivalente je Carboxygruppe) hinzugegeben und der Ansatz für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz entweder filtriert oder eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/MeOH-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V).

Methode 4B: Synthese der Ceramide des Phytosphingosintyps

Anstelle des Sphingosins wurde als Aminoalkohol Phytosphingosin **31** (1,1 Moläquivalente je Carboxygruppe) verwendet. Die übrige Reaktionsführung erfolgte entsprechend Methode 4a.

Methode 5: Abspaltung Acetylenschutzgruppe

Die Synthese erfolgte an Anlehnung an die von WISSE et al. beschriebene Vorschrift.¹⁵⁷ Das entsprechende acetylierte Ceramid wurde in einer Mischung aus CHCl_3 und Methanol (10 ml 4/1 V/V je 50 mg acetyliertes Ceramid) gelöst. Der Lösung wurden 5 Tropfen Aqua dest. und katalytische Mengen an Kaliumcarbonat zugesetzt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.

5.4 Synthese der deuterierten Ceramide [NS] und [NP]**5.4.1 Darstellung des 9,9,9- D_3 -1-Bromnonans****Nonandisäuredimethylester – (5)**

Für die Bis-Veresterung wurde Azelainsäure (1) (106,7 g, 0,57 mol), Methanol (85,2 ml, 2,1 mol), konz. Schwefelsäure (5 ml) und Dichlormethan (100 ml) am Wasserabscheider gekocht bis kein Wasser mehr abgeschieden wurde. Anschließend wurde das Dichlormethan unter reduziertem Druck am Rotationsvakuumverdampfer abgezogen. Der erhaltene Rückstand wurde in Diethylether (500 ml) aufgenommen. Die org. Phase wurde mit Wasser (100 ml), verdünnter KOH-Lösung (5%, 100 ml) und gesättigter NaCl-Lösung (100 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4$ M_G (g/mol): 216,27

Ausbeute: 95% (116,60 g)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

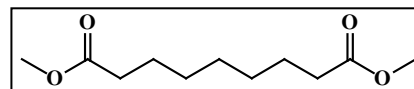
 R_f : LM 5: 0,50EI-MS (m/z): 217 [1%, M^+], 185 [11%, $\text{M}-\text{OCH}_3^+$]

EA: ber.(%): C 61,09, H 9,32

gef.(%): C 60,93, H 9,26

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,28-1,32 (m, 6 H, $-(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_2-$), 1,56-1,64 (m, 4 H, $2 \times -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}-$), 2,28 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 4 H, $2 \times -\text{CH}_2\text{COO}-$), 3,65 (s, 6 H, $2 \times -\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 24,98 ($2 \times -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}-$), 28,99 ($-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3-$), 29,05 ($2 \times -\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{COO}-$), 34,16 ($2 \times -\text{CH}_2\text{COO}-$), 51,56 ($2 \times -\text{CH}_3$) 174,33 ($2 \times -\text{COO}-$)

**Nonandisäuremonomethylester – (6)**

Nonandisäuremonomethylester (5) (116,6 g, 0,54 mol) wurde in abs. Methanol (300 ml) gelöst. Unter starken Rühren wurde eine Lösung von $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (85 g, 0,27 mol) in abs. Methanol (500 ml) hinzugegeben. Das Gemisch wurde für 12 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend wurde der sich gebildete Niederschlag mittels Fritte abgesaugt und dreimal mit Ether (150 ml) gewaschen. Der Rückstand wurde in verdünnter HCl-Lösung (20%, 500 ml) aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ether (250 ml) extrahiert. Die vereinigt-

ten Etherphasen wurden zweimal mit verdünnter K_2CO_3 -Lösung (5%, 150 ml), einmal mit Wasser (150 ml) und gesättigter NH_4Cl -Lösung (150 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Chloroform/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Summenformel: $C_{10}H_{18}O_4$

M_G (g/mol): 202,24

Ausbeute: 59% (64,36 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f : LM 6: 0,

F_P : 23 °C

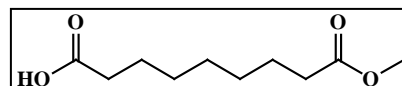
ESI-MS (m/z): positiv: 203,0 $[M + H]^+$
negativ: 201,2 $[M - H]^-$, 187,3 $[M - CH_3]^-$

EA: ber.(%): C 59,38, H 8,97

gef.(%): C 59,33, H 8,98

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$: δ [ppm] = 1,24-1,36 (m, 6 H, $-(CH_2)_2(CH_2)_3(CH_2)_2-$), 1,54-1,66 (m, 4 H, $2 \times -CH_2CH_2COO-$), 2,28 (t, $^3J_{H,H} = 7,6$ Hz, 2 H, $-CH_2COOCH_3$), 2,31 (t, $^3J_{H,H} = 7,6$ Hz, 2 H, $-CH_2COOH$), 3,64 (s, 3 H, $2 \times -CH_3$)

^{13}C -NMR: 100 MHz, $CDCl_3$: δ [ppm] = 24,66 ($-CH_2CH_2COOH$), 24,92 ($-CH_2CH_2COOCH_3$), 28,91, 28,93, 28,98 ($-(CH_2)_2(CH_2)_3(CH_2)_2-$), 34,11 ($2 \times -CH_2COO-$), 51,57 ($-CH_3$), 174,42 ($-COOCH_3$), 180,14 ($-COOH$)



9-Hydroxynonansäuremethylester – (7)

Methode A: Nonandisäuremonomethylester (**6**) (22,6 g, 0,11 mol) wurden in abs. THF (60 ml) gelöst und die Lösung auf -20 °C abgekühlt. Anschließend wurde Dimethylsulfid-Boran Komplex (10,4 ml, 0,11 mol) in abs. THF (100 ml) tropfenweise unter starken Rühren über 30 Minuten hinzugefügt. Das Gemisch wurde für 4 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurde Aqua dest. (200 ml) über 10 Minuten hinzugetropft und K_2CO_3 (26,2 g, 0,19 mol) hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ether (200 ml, 2×150 ml) extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden mit gesättigter $NaCl$ -Lösung (200 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Chloroform/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Methode B: Nonandisäuremonomethylester (**6**) (20,73 g, 0,1 mol) und TEA (14,3 ml, 0,1 mol) wurden in abs. THF (150 ml) gelöst und auf -10 °C gekühlt. Chlorarmeisensäureethylester (9,8 ml, 0,1 mol) wurde langsam über 45 min zu der gekühlten Lösung getropft, anschließend wurde für 30 Minuten bei -10 °C weitergerührt. Der gebildete Niederschlag wurde inert filtriert und der Rückstand zweimal mit abs. THF (30 ml) gewaschen. Zu den vereinigten THF-Phasen wurde bei -5 °C $NaBH_4$ (14,73 g, 0,39 mol) hinzugegeben. Anschließend wurde sehr langsam abs. Methanol (61,5 ml, 1,5 mol) über 2 h hinzugetropft. Der Ansatz wurde für 1 h bei -5 °C weitergerührt und danach für 12 h bei Raumtemperatur. Zur Aufarbeitung wur-

den 5 N HCl (100 ml) hinzugetropft und Wasser (100 ml) hinzugegeben. Das Gemisch wurde dreimal mit Chloroform (200 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit verdünnter KOH-Lösung (5%, 100 ml), mit Wasser (100 ml) und mit gesättigter NaCl-Lösung (100 ml) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Chloroform/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Summenformel: C₁₀H₂₀O₃

M_G (g/mol): 188,26

Ausbeute: Methode A: 48% (10,1 g); Methode B: 81% (15,7 g)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

R_f: LM 6: 0,32

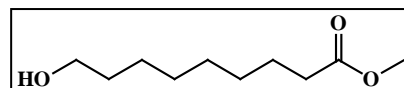
ESI-MS (m/z): positiv: 189,0 [M + H]⁺

EA: ber.(%): C 63,80, H 10,71

gef.(%): C 63,59, H 10,72

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,21-1,32 (m, 8 H, -(CH₂)₂(CH₂)₄(CH₂)₂-), 1,48-1,60 (m, 4 H, HOCH₂CH₂-, -CH₂CH₂COO-), 2,26 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COOCH₃), 3,58 (t, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, 2 H, HOCH₂-), 3,63 (s, 3 H, -CH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 24,97 (-CH₂CH₂COOCH₃), 25,74 (-CH₂(CH₂)₂OH), 29,11, 29,25, 29,26 (-CH₂)₃(CH₂)₂COO-, 32,79 (-CH₂CH₂OH), 34,14 (-CH₂COO-), 51,51 (-CH₃), 62,94 (-CH₂OH), 174,42 (-COOCH₃)



9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester – (8)

Die Verbindung wurde entsprechend MIYASHITA¹³² aus 9-Hydroxynonansäuremethylester (7) (24,5 g, 0,13 mol) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₁₅H₂₈O₄

M_G (g/mol): 272,37

Ausbeute: 99% (35,1 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 6: 0,41

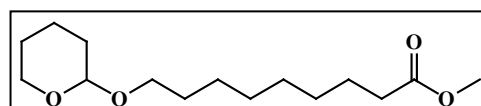
ESI-MS (m/z): positiv: 295,1 [M + Na]⁺

EA: ber.(%): C 66,14, H 10,36

gef.(%): C 66,14, H 10,64

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,26-1,36 (m, 8 H, -(CH₂)₂(CH₂)₄(CH₂)₂-), 1,48-1,63 (m, 8 H, -OCH₂CH₂(CH₂)₆-, -CH₂CH₂COO-, -OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,74 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,78-1,88 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 2,29 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,37 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -OCHH'(CH₂)₆-), 3,46-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'-), 3,66 (s, 3 H, -CH₃), 3,71 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -OCHH'(CH₂)₆-), 3,83-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'-), 4,55-4,57 (m, 1 H, -OCH-O-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,85 (-OCH-CH₂CH₂-), 25,08 (-CH₂CH₂COO-), 25,66 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,32, 29,23, 29,33, 29,41, 29,87

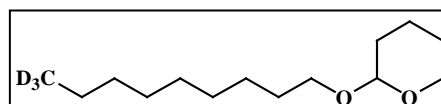


(-(CH₂)₅(CH₂)₂COO-), 30,94 (-OCH-CH₂-), 34,24 (-CH₂COO-), 51,56 (-CH₃), 62,49 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,78 (-OCH₂(CH₂)₇-), 99,00 (-OCH-O-), 174,42 (-COO-)

2-(9,9-D₃-Nonyloxy)tetrahydro-2H-pyran – (9)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1A aus 9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester (**8**) (15,62 g, 0,057 mol). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₁₄H₂₅D₃O₂
 M_G (g/mol): 231,88
 Ausbeute: 64% (8,83 g) (dreistufige Reaktion)
 Aussehen: farblose Flüssigkeit
 R_f: LM 5: 0,61
 ESI-MS (m/z): positiv: 254,2 [M + Na]⁺
 GC-MS Reinheit: t_R = 12,19 min; >99,5%
 (m/z): 230 [10%, M-H⁺]

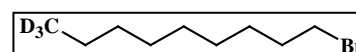


¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,22-1,36 (m, 12 H, D₃C(CH₂)₆-), 1,48-1,62 (m, 6 H, -(CH₂)₆CH₂CH₂O-, -OCH-CH₂(CH₂)₂CH₂O-), 1,67-1,74 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,78-1,86 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 3,37 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH₂)₇CHH'O-), 3,46-3,54 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 3,72 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH₂)₇CHH'O-), 3,83-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 4,55-4,57 (m, 1 H, -OCH-O-)
¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,83 (-OCH-CH₂CH₂-), 22,54 (D₃CCH₂-), 25,67 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,39, 29,43, 29,64, 29,70, 29,91 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₅-), 30,94 (-OCH-CH₂-), 31,94 (D₃CCH₂CH₂-), 62,43 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,82 (-CH₂)₇CH₂O-), 98,96 (-OCH-O-)

9,9-D₃-1-Bromnonan – (10)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 2. Dazu wurde 2-(9,9,9-D₃-Nonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**9**) (8,83 g, 0,038 mol) mit der entsprechenden Menge Triphenylphosphindibromid zur Reaktion gebracht.

Summenformel: C₉H₁₆D₃Br
 M_G (g/mol): 210,16
 Ausbeute: 89% (8,02 g)
 Aussehen: farblose Flüssigkeit
 R_f: LM 3: 0,60
 GC-MS Reinheit: t_R = 7,50 min; >99,5%
 (m/z): 209/211 [1%, M⁺], 135/137 [1%, C₄H₈Br⁺]



¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,27- 1,32 (m, 10 H, D₃C(CH₂)₅-), 1,39-1,44 (m, 2 H, -CH₂(CH₂)₂Br), 1,82-1,89 (m, 2 H, -CH₂CH₂Br), 3,40 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 2 H, -CH₂Br)

^{13}C -NMR: 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 22,54 (D_3CCH_2 -), 28,34, 28,94, 29,38, 29,56 ($-(\text{CH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{Br}$), 31,91 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2$ -), 33,02 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 34,15 ($-\text{CH}_2\text{Br}$)

5.4.2 Darstellung des 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2H-pyran

9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonan-1-ol – (13)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1B aus 9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonansäuremethylester (**8**) (13,62 g, 0,05 mol). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_3$

M_G (g/mol): 244,36

Ausbeute: 92% (11,2 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f : LM 6: 0,36

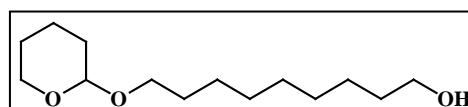
ESI-MS (m/z): positiv: 267,1 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$

EA: ber.(%): C 68,81, H 11,55

gef.(%): C 68,69, H 11,56

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,30-1,35 (m, 10 H, $\text{HO}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5$ -), 1,48-1,61 (m, 8 H, HOCH_2CH_2 -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ -), 1,67-1,73 (m, 1 H, $-\text{OCH}-\text{CHH}'$ -), 1,77-1,88 (m, 1 H, $-\text{OCH}-\text{CHH}'$ -), 3,37 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6$ Hz $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8\text{CHH}'\text{O}$ -), 3,46-3,52 (m, 1 H, $-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_3\text{CHH}'$ -), 3,61 (t, 3 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, HOCH_2 -), 3,71 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6$ Hz $^3J_{\text{H,H}} = 6,9$ Hz, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8\text{CHH}'\text{O}$ -), 3,83-3,88 (m, 1 H, $-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_3\text{CHH}'$ -), 4,55-4,57 (m, 1 H, $-\text{OCH}-\text{O}$ -)

^{13}C -NMR: 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 19,82 ($-\text{OCH}-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 25,64 ($-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ -), 25,85 ($\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ -), 26,34, 29,48, 29,52, 29,64, 29,86 ($\text{HO}(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_5$ -), 30,91 ($-\text{OCH}-\text{CH}_2$ -), 32,91 (HOCH_2CH_2 -), 62,46 ($-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$ -), 63,13 (HOCH_2 -), 67,79 ($-(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{O}$ -), 98,97 ($-\text{OCH}-\text{O}$ -)



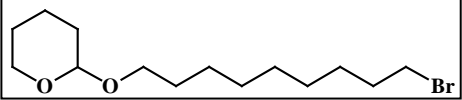
9-Bromnonan-1-ol – (18)

Die Verbindung wurde entsprechend KANG¹³⁸ aus Nonan-1,9-diol (**2**) dargestellt. Das Rohprodukt wurde durch Vakuumdestillation gereinigt und ohne weitere Charakterisierung weiterverwendet.

2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2H-pyran – (15)

Methode C: Die Verbindung wurde entsprechend DRESCHER et al¹⁴⁰ aus 9-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-oxy]nonan-1-ol (**13**) (10,5 g, 43 mmol) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Methode D: Die Verbindung wurde entsprechend MIYASHITA et al.¹³² aus 9-Bromnonan-1-ol (**18**) (33,64 g, 0,144 mol) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel:	C ₁₄ H ₂₇ BrO ₂	
M _G (g/mol):	307,25	
Ausbeute:	Methode C: 80% (10,58 g); Methode D: 98% (43,44 g)	
Aussehen:	klare farblose Flüssigkeit	
R _f :	LM 2: 0,45 LM 4: 0,47	
EI-MS (m/z):	305 [5%, M-H ⁺], 85 [100%, C ₅ H ₉ O ⁺], 307/309 [5%, M-H ⁺ Isotopenpeak]	
GC-MS	Reinheit: t _R = 16,30 min; >99,5% (m/z): 305/307 [5%, M-H ⁺]	
EA: ber.(%):	C 54,72, H 8,86	
gef.(%):	C 54,91, H 9,06	
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,30-1,43 (m, 10 H, Br(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₅ -), 1,50-1,61 (m, 6 H, -CH ₂ CH ₂ OCH-CH ₂ (CH ₂) ₂ -), 1,68-1,74 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,78-1,88 (m, 3 H, BrCH ₂ CH ₂ -, -OCH-CHH'-), 3,35-3,41 (m, 3 H, BrCH ₂ (CH ₂) ₇ CHH'-), 3,47-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH ₂) ₃ CHH'-), 3,72 (dt, ² J _{H,H} = 9,5 Hz ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, Br(CH ₂) ₈ CHH'-), 3,84-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH ₂) ₃ CHH'-), 4,56-4,57 (m, 1 H, -OCH-O-)	
¹³ C-NMR:	100 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 19,86 (-OCH-CH ₂ CH ₂ -), 25,66 (-OCH-(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 26,34 (Br(CH ₂) ₆ CH ₂ -), 28,29, 28,34, 29,50 (Br(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₃ -), 29,88 (Br(CH ₂) ₇ CH ₂ -), 30,94 (-OCH-CH ₂ -), 32,97 (BrCH ₂ CH ₂ -), 34,13 (BrCH ₂ -), 62,50 (-OCH-(CH ₂) ₃ CH ₂ -), 67,79 (Br(CH ₂) ₈ CH ₂ -), 99,00 (-O CH-O-)	

5.4.3 Darstellung des 2-(13-Bromtridecyloxy)tetrahydro-2H-pyran

Tridecan-1,13-diol – (17)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1B aus Ethylenbrassyolat (**3**). Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit verdünnter H₂SO₄ angesäuert. Tridecan-1,13-diol (**17**) wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung verwendet.

13-Bromtridecan-1-ol – (19)

Die Verbindung wurde entsprechend KANG et al.¹³⁸ aus Tridecan-1,13-diol (**17**) dargestellt. 13-Bromtridecan-1-ol (**19**) wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung verwendet.

2-(13-Bromtridecyloxy)tetrahydro-2H-pyran – (20)

Die Verbindung wurde entsprechend MIYASHITA et al.¹³² aus 13-Bromtridecan-1-ol (**19**) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.¹⁹⁹

5.4.4 Darstellung des 2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran

15-Hydroxypentadecansäuremethylester – (11)

Die Darstellung der Verbindung erfolgte ausgehend vom 15-Pentadecanolid (4) nach einer Vorschrift von CUNDY und CURR¹³⁵. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation in Heptan gereinigt und ohne weitere Charakterisierung verwendet.

15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecansäuremethylester – (12)

Die Verbindung wurde entsprechend MIYASHITA et al.¹³² aus 15-Hydroxypentadecansäuremethylester (11) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₂₁H₄₀O₄

M_G (g/mol): 356,53

Ausbeute: 97% (103,58 g)

Aussehen: klare farblose Flüssigkeit

R_f: LM 5: 0,43

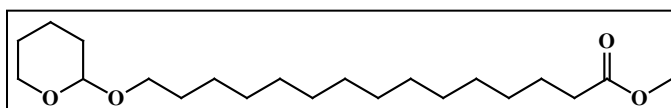
ESI-MS (m/z): positiv: 379,2 [M + Na]⁺

EA: ber.(%): C 70,74, H 11,31

gef.(%): C 70,78, H 11,43

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,23-1,34 (m, 20 H, -(CH₂)₂(CH₂)₁₀(CH₂)₂-), 1,48-1,63 (m, 8 H, -(CH₂)₂CH₂CH-OCH₂CH₂(CH₂)₁₂-, -CH₂CH₂COO-), 1,66-1,72 (m, 1 H, -CHH'CH-O-), 1,77-1,85 (m, 1 H, -CHHCH-O-), 2,28 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,36 (dt, ²J_{H,H} = 9,4 Hz ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH₂)₁₃CHH'O-), 3,45-3,50 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CH-), 3,64 (s, 3 H, -CH₃), 3,70 (dt, ²J_{H,H} = 9,3 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH₂)₁₃CHO-), 3,82-3,87 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH-), 4,54-4,56 (m, 1 H, -OCH-O-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,81 (-OCH-CH₂CH₂-), 25,07 (-CH₂CH₂COO-), 25,64 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,36, 29,26, 29,36, 29,55, 29,60, 29,69, 29,70, 29,71, 29,73, 29,74, 29,88, (-OCH₂(CH₂)₁₁-), 30,91 (-OCH-CH₂-), 34,22 (-CH₂COO-), 51,49 (-CH₃), 62,40 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,79 (-OCH₂(CH₂)₁₃-), 98,92 (-OCH-O-), 174,38 (-COO-)



15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecan-1-ol – (14)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1B aus 15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecansäuremethylester (12) (17,83 g 0,05 mol). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Chloroform-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₂₀H₄₀O₃

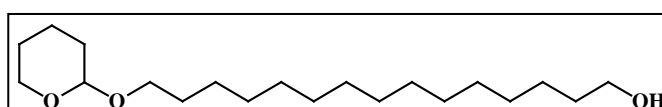
M_G (g/mol): 328,52

Ausbeute: 88% (14,46 g)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

R_f: LM 6: 0,38

ESI-MS (m/z): positiv: 351,2 [M + Na]⁺



EA: ber.(%):	C 73,12, H 12,27
gef.(%):	C 73,11, H 12,54
$^1\text{H-NMR}$:	400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,26-1,38 (m, 22 H, $\text{HO}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{11}$ -), 1,48-1,62 (m, 8 H, HOCH_2CH_2 -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH-CH}_2(\text{CH}_2)_2$ -), 1,68-1,74 (m, 1 H, $-\text{OCH-CHH}'$ -), 1,80-1,87 (m, 1 H, $-\text{OCH-CHH}'$ -), 3,38 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6$ Hz $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 1 H, $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CHH}'\text{O}$ -), 3,47-3,52 (m, 1 H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3\text{CHH}'$ -), 3,64 (t, 2 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, HOCH_2 -), 3,72 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6$ Hz $^3J_{\text{H,H}} = 6,9$ Hz, 1 H, $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CHH}'\text{O}$ -), 3,85-3,89 (m, 1 H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3\text{CHH}'$ -), 4,57-4,58 (m, 1 H, $-\text{OCH-O}$ -)
$^{13}\text{C-NMR}$:	100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 19,86 ($-\text{OCH-CH}_2\text{CH}_2$ -), 25,68 ($-\text{OCH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ -), 25,90 ($\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ -), 26,40, 29,58, 29,64, 29,71, 29,73, 29,74, 29,75, 29,79, 29,81, 29,92 ($\text{HO}(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_{11}$ -), 30,96 ($-\text{OCH-CH}_2$ -), 32,98 (HOCH_2CH_2 -), 62,49 ($-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$ -), 63,25 (HOCH_2 -), 67,86 ($-(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{O}$ -), 99,00 ($-\text{OCH-O}$ -)

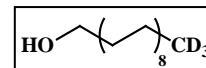
2-(15-Brompentadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran – (16)

Die Verbindung wurde entsprechend DRESCHER et al.¹⁴⁰ aus 15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-oxy]pentadecan-1-ol (14) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.²⁰⁰

5.4.5 Darstellung der ω,ω,ω -D₃-Alkan-1-ole

Zur Generierung des GRIGNARD-Reagenzes wurde unter Argonatmosphäre eine Lösung des THP-geschützten Bromalkanols (8 mmol) **15,16,20** in abs THF (20 ml) langsam unter kräftigem Rühren zu Magnesiumspänen (0,40 g, 16,4 mmol) hinzugegeben. Anschließend wurde der Ansatz für 3 h auf 50 °C erwärmt. Nachdem der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde der Magnesiumüberschuss durch inertes Abdekantieren entfernt und zur Bestimmung der Umsetzung zum GRIGNARD-Reagenz verwendet. Die Lösung des GRIGNARD-Reagenzes wurde auf -5 °C abgekühlt, bevor unter starken Rühren eine Lösung von 9,9,9-D₃-1-Bromnonan (**10**) (1,47 g, 7 mmol) in abs. THF (50 ml) und zur Katalyse eine frisch hergestellte Lösung von $\text{Li}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_4$ in THF (1,4 ml, 0,1 M), die aus Lithiumchlorid und Kupfer(I)chlorid hergestellt wurde, hinzugegeben wurden. Der Reaktionsansatz wurde für 3 h bei -10 °C weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurde eine kaltgesättigte NH_4Cl -Lösung (50 ml) hinzugegeben. Das Gemisch wurde dreimal mit Diethylether (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung (50 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt.

Um die THP-Schutzgruppe abzuspalten, wurde zum Rückstand abs. Methanol (30 ml) und katalytische Mengen an Pyridiniumtosylat gegeben. Der Ansatz wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend heiß filtriert, um mögliche Nebenprodukte zu entfernen. Das Filtrat wurde für eine vollständige Kristallisation auf -20 °C abgekühlt. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und mit wenig kaltem abs. Methanol gewaschen.

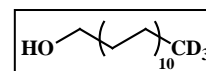
18,18,18-D₃-Octadecan-1-ol – (24)Summenformel: C₁₈H₃₅D₃OM_G (g/mol): 273,50

Ausbeute: 55% (1,05 g) (zweistufige Reaktion)

Aussehen: weißer kristalliner Feststoff

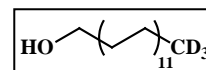
R_f: LM 5: 0,27

LM 6: 0,52

F_P: 54 °CGC-MS Reinheit: t_R = 17,24 min; >99,5%(m/z): 273 [1%, M]⁺, 227 [5%, M-C₃H₄D₃]⁺¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,26-1,43 (m, 30 H, D₃C(CH₂)₁₅-), 1,53-1,60 (m, 2 H, -CH₂CH₂OH), 3,44 (t, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, 2 H, -CH₂OH)¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 22,58 (D₃CCH₂-), 25,90 (-CH₂(CH₂)₂OH), 29,54, 29,60, 29,76, 29,77, 29,82, 29,84, 29,86 (-(CH₂)₁₂(CH₂)₃OH), 32,00 (D₃CCH₂CH₂-), 32,99 (-CH₂CH₂OH), 63,28 (-CH₂OH)**22,22,22-D₃-Docosan-1-ol – (25)**Summenformel: C₂₂H₄₃D₃OM_G (g/mol): 329,61

Ausbeute: 48% (1,11 g) (zweistufige Reaktion)

Aussehen: weißer kristalliner Feststoff

R_f: LM 5: 0,37F_P: 67-68 °CGC-MS Reinheit: t_R = 17,03 min; >95%(m/z): 328 [2%, M-H]⁺¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,26-1,45 (m, 38 H, D₃C(CH₂)₁₉-), 1,53-1,60 (m, 2 H, -CH₂CH₂OH), 3,64 (t, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, 2 H, -CH₂OH)¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 22,58 (D₃CCH₂-), 25,90 (-CH₂(CH₂)₂OH), 29,54, 29,60, 29,76, 29,77, 29,82, 29,86 (-(CH₂)₁₆(CH₂)₃OH), 32,00 (D₃CCH₂CH₂-), 32,99 (-CH₂CH₂OH), 63,28 (-CH₂OH)**24,24,24-D₃-Tetracosan-1-ol – (26)**Summenformel: C₂₄H₄₇D₃OM_G (g/mol): 357,66

Ausbeute: 51% (1,28 g) (zweistufige Reaktion)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

R_f: LM 5: 0,29

LM 6: 0,49

F_P: 72-73 °CESI-MS (m/z): positiv: 735,7 [2M + Na]⁺¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,26-1,43 (m, 42 H, D₃C(CH₂)₂₁-), 1,53-1,60 (m, 2 H, -CH₂CH₂OH), 3,64 (t, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, 2 H, -CH₂OH)

^{13}C -NMR: 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 22,58 (D_3CCH_2^-), 25,90 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OH}$), 29,54, 29,60, 29,76, 29,78, 29,82, 29,86 ($-(\text{CH}_2)_{18}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$), 32,00 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 32,98 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 63,28 ($-\text{CH}_2\text{OH}$)

5.4.6 Darstellung der ω,ω,ω - D_3 -Alkansäuren

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 3. Dazu wurden die ω,ω,ω - D_3 -Alkan-1-ole **24-26** (2 mmol) in einer Mischung aus Aceton (50 ml) und CHCl_3 (30 ml) zu einer gekühlten Suspension von CrO_3 (0,44 g, 4,4 mmol) in 10 N H_2SO_4 getropft.

18,18,18- D_3 -Octadecansäure – (27)

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{D}_3\text{O}_2$

M_G (g/mol): 287,48

Ausbeute: 81% (0,47 g)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

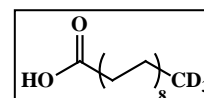
R_f : LM 6: 0,34

F_P : 66-67 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 286,6 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$, 573,3 [$2\text{M} - \text{H}$] $^-$, 595,7 [$2\text{M} - 2\text{H} + \text{Na}$] $^-$

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,26-1,35 (m, 28 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{14}$ -), 1,60-1,67 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,35 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$)

^{13}C -NMR: 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 22,58 (D_3CCH_2^-), 24,85 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 29,22, 29,40, 29,54, 29,59, 29,75, 29,80, 29,83, 29,85 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{12}$ -), 32,01 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 34,09 ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), 179,55 ($-\text{COOH}$)



22,22,22- D_3 -Docosansäure – (28)

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{D}_3\text{O}_2$

M_G (g/mol): 343,59

Ausbeute: 79% (0,54 g)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

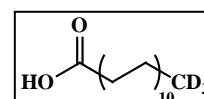
R_f : LM 6: 0,51

F_P : 75-76 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 685,4 [$2\text{M} - \text{H}$] $^-$

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,26-1,35 (m, 36 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{18}$ -), 1,61-1,66 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,35 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$)

^{13}C -NMR: 100 MHz, THF-D_8 : δ [ppm] = 23,46 (D_3CCH_2^-), 26,04 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 30,31, 30,49, 30,51, 30,66, 30,77, 30,77, 30,81 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{16}$ -), 32,96 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 34,43 ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), 174,58 ($-\text{COOH}$)



24,24,24- D_3 -Tetracosansäure (29)

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{D}_3\text{O}_2$

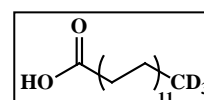
M_G (g/mol): 371,64

Ausbeute: 84% (0,60 g)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

R_f : LM 6: 0,51

F_P : 79-80,5 °C



ESI-MS (m/z):	negativ: 370,8 [M – H] ⁻ , 763,9 [2M + Na – 2H] ⁻
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,26-1,36 (m, 40 H, D ₃ C(CH ₂) ₂₀ -), 1,60-1,67 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ COOH), 2,35 (t, ³ J _{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH ₂ COOH)
¹³ C-NMR:	100 MHz, THF-D ₈ : δ[ppm] = 23,46 (D ₃ CCH ₂ -), 26,04 (-CH ₂ CH ₂ COOH), 30,31, 30,49, 30,51, 30,66, 30,77, 30,81 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₈ -), 32,96 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 34,43 (-CH ₂ COOH), 174,58 (-COOH)

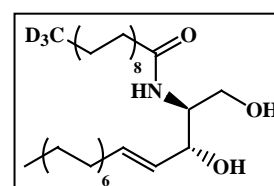
5.4.7 Darstellung der Ceramide [NS]-ω,ω,ω-D₃

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4A. Zur Aufarbeitung wurde Heptan (doppelte Menge an vorgelegtem CH₂Cl₂) zugesetzt und der Niederschlag wurde abfiltriert. Der Filtrückstand wurde mit wenig Heptan gewaschen und mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V) gereinigt.

N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid –CER[NS]-18,18,18-D₃ – (32)

Die Darstellung erfolgte aus 18,18,18-D₃-Octadecansäure (27) (200 mg, 0,70 mmol), Py-BOP[®] (398 mg, 0,77 mmol), Diisopropylethylamin (237 μl, 1,34 mmol) und Sphingosin 30 (229 mg, 0,77 mmol) in CH₂Cl₂ (7 ml).

Summenformel:	C ₃₆ H ₆₈ D ₃ NO ₃
M _G (g/mol):	568,95
Ausbeute:	81% (0,32 g)
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff
R _f :	LM 9: 0,27
F _P :	97-98 °C



ESI-MS (m/z):	positiv: 591,6 [M + Na] ⁺ , 1159,4 [2M + Na] ⁺ negativ: 567,7 [M – H] ⁻
HR-MS:	ber.: 569,5695 Da (C ₃₆ H ₆₉ D ₃ NO ₃ [M + H] ⁺) gef.: 569,5696 Da
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,88 (t, ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, -CH ₃), 1,26-1,39 (m, 50 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₄ -), H ₃ C(CH ₂) ₁₁ -), 1,61-1,67 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ CONH-), 2,04-2,08 (m, 2 H, -CH ₂ CH=CH-), 2,23 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, -CH ₂ CONH-), 3,71 (dd, ² J _{H,H} = 11,3 Hz, ³ J _{H,H} = 3,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,89-3,93 (m, 1 H, -CH-CH ₂ OH), 3,96 (dd, ² J _{H,H} = 11,2 Hz, ³ J _{H,H} = 3,8 Hz, 1 H, -CHHOH), 4,31-4,33 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,53 (dd, ³ J _{H,H} = 15,4 Hz, ³ J _{H,H} = 6,4 Hz, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,76-5,82 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 6,22 (d, ³ J _{H,H} = 7,3 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 14,27 (-CH ₃), 22,58 (D ₃ CCH ₂ -), 22,85 (H ₃ CCH ₂ -), 25,92 (-CH ₂ CH ₂ CONH-), 29,28, 29,38, 29,45, 29,52, 29,53, 29,54, 29,65, 29,67, 29,78, 29,80, 29,82, 29,84, 29,86 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₂ -), H ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₉ -), 32,00 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,09 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,44 (-CH ₂ CH=CH-), 37,01 (-CH ₂ CONH-), 54,67 (-CH-CH ₂ OH), 62,71

(-CH₂OH), 74,90 (-CH=CHCHOH-), 128,98 (-CH=CHCHOH-), 134,49 (-CH=CHCHOH-), 174,02 (-CONH-)

HPLC: Reinheit: t_R = 3,92 min; >99,5%

***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-22,22,22-D₃-docosanamid –CER[NS]-22,22,22-D₃ – (33)**

Die Darstellung erfolgte aus 22,22,22-D₃-Docosansäure (**28**) (200 mg, 0,58 mmol), PyBOP[®] (333 mg, 0,64 mmol), Diisopropylethylamin (198 µl, 1,16 mmol) und Sphingosin **30** (192 mg, 0,64 mmol) in CH₂Cl₂ (5,8 ml).

Summenformel: C₄₀H₇₆D₃NO₃

M_G (g/mol): 625,05

Ausbeute: 83% (0,30 g)

Aussehen: weißer wachsartiger Feststoff

R_f: LM 9: 0,31

F_P: 95-97 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 623,8 [M – H]⁻

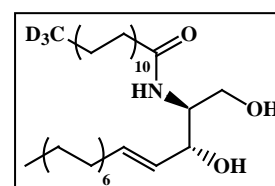
HR-MS: ber.: 625,6321 Da (C₄₀H₇₇D₃NO₃ [M + H]⁺)

gef.: 625,6353 Da

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, -CH₃), 1,10-1,39 (m, 58 H, D₃C(CH₂)₁₈-, H₃C(CH₂)₁₁-), 1,60-1,68 (m, 2 H, -CH₂CH₂CONH-), 2,03-2,09 (m, 2 H, -CH₂CH=CH-), 2,23 (t, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, -CH₂CONH-), 3,71 (dd, ²J_{H,H} = 11,1 Hz, ³J_{H,H} = 3,1 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,89-3,93 (m, 1 H, -CH-CH₂OH), 3,96 (dd, ²J_{H,H} = 11,2 Hz, ³J_{H,H} = 3,8 Hz, 1 H, -CH-CHH'OH), 4,31-4,34 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,53 (dd, ³J_{H,H} = 15,4 Hz, ³J_{H,H} = 6,4 Hz, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,75-5,82 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 6,22 (d, ³J_{H,H} = 7,1 Hz, 1 H, -CONH-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃, 40 °C: δ[ppm] = 14,23 (-CH₃), 22,57 (D₃CCH₂-), 22,84 (H₃CCH₂-), 25,93 (-CH₂CH₂CONH-), 29,31, 29,39, 29,47, 29,51, 29,53, 29,65, 29,68, 29,79, 29,82, 29,87 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₆-, H₃C(CH₂)₂(CH₂)₉-), 32,00 (D₃CCH₂CH₂-), 32,09 (H₃CCH₂CH₂-), 32,44 (-CH₂CH=CH-), 37,03 (-CH₂CONH-), 54,83 (-CH-CH₂OH), 62,72 (-CH₂OH), 74,84 (-CH=CHCHOH-), 129,10 (-CH=CHCHOH-), 134,46 (-CH=CHCHOH-), 173,99 (-CONH-)

HPLC: Reinheit: t_R = 3,83 min; >99,5%

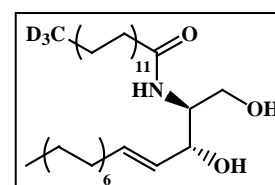


***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-24,24,24-D₃-teracosanamid –CER[NS]-24,24,24-D₃ – (34)**

Die Darstellung erfolgte aus 24,24,24-D₃-Docosansäure (**29**) (200 mg, 0,54 mmol), PyBOP[®] (308 mg, 0,59 mmol), Diisopropylethylamin (183 µl, 1,08 mmol), Sphingosin **30** (177 mg, 0,59 mmol) in CH₂Cl₂ (5,4 ml).

Summenformel: C₄₂H₈₀D₃NO₃

M_G (g/mol): 653,11



Ausbeute:	77% (0,27 g)
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff
R _f :	LM 9: 0,34
F _p :	94,5-95,5 °C
ESI-MS (m/z):	negativ: 651,8 [M – H] ⁻
HR-MS:	ber.: 653,6644 Da (C ₄₂ H ₈₁ D ₃ NO ₃ [M + H] ⁺) gef.: 653,6634 Da
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,88 (t, ³ J _{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, -CH ₃), 1,26-1,39 (m, 60 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₉ ⁻ , H ₃ C(CH ₂) ₁₁ ⁻), 1,61-1,67 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ CONH-), 2,04-2,08 (m, 2 H, -CH ₂ CH=CH-), 2,23 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, -CH ₂ CONH-), 3,71 (dd, ² J _{H,H} = 11,2 Hz, ³ J _{H,H} = 3,4 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,89-3,93 (m, 1 H, -CH-CH ₂ OH), 3,96 (dd, ² J _{H,H} = 11,3 Hz, ³ J _{H,H} = 3,8 Hz, 1 H, -CH-CHH'OH), 4,31-4,34 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,54 (dd, ³ J _{H,H} = 15,4 Hz, ³ J _{H,H} = 6,5 Hz, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,76-5,82 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 6,20 (d, ³ J _{H,H} = 7,1 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ , 40 °C: δ[ppm] = 14,23 (-CH ₃), 22,58 (D ₃ CCH ₂ -), 22,84 (H ₃ CCH ₂ -), 25,93 (-CH ₂ CH ₂ CONH-), 29,31, 29,38, 29,47, 29,51, 29,53, 29,65, 29,68, 29,79, 29,81, 29,82, 29,84, 29,85, 29,87 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₈ ⁻ , H ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₉ ⁻), 32,02 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,10 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,43 (-CH ₂ CH=CH-), 37,04 (-CH ₂ CONH-), 54,83 (-CH-CH ₂ OH), 62,75 (-CH ₂ OH), 74,88 (-CH=CHCHOH-), 129,11 (-CH=CHCHOH-), 134,49 (-CH=CHCHOH-), 173,97 (-CONH-)
HPLC:	Reinheit: t _R = 3,83 min; >98%

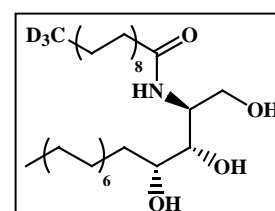
5.4.8 Darstellung der Ceramide [NP]-ω,ω,ω-D₃

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4B. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingengt und der Rückstand auf Kieselgel adsorbiert. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V).

N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid – CER[NP]-18,18,18-D₃ – (35)

Die Darstellung erfolgte aus 18,18,18-D₃-Octadecansäure (**27**) (200 mg, 0,70 mmol), Py-BOP® (398 mg, 0,77 mmol), Diisopropylethylamin (237 µl, 1,34 mmol) und Phytosphingosin 31 (243 mg, 0,77 mmol) in CH₂Cl₂ (7,0 ml).

Summenformel:	C ₃₆ H ₇₀ D ₃ NO ₄
M _G (g/mol):	586,97
Ausbeute:	85% (0,35 g)
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff
R _f :	LM 9: 0,13
F _p :	124,5-125,5 °C
ESI-MS (m/z):	positiv: 609,5 [M + Na] ⁺

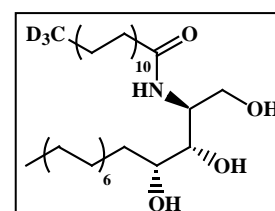


	negativ: 585,6 [M – H] ⁻ , 621,5/623,3 [M + Cl] ⁻
HR-MS:	ber.: 587,5801 Da (C ₃₆ H ₇₁ D ₃ NO ₄ [M + H] ⁺) gef.: 587,5790 Da ber.: 609,5620 Da (C ₃₆ H ₇₀ D ₃ NO ₄ Na [M + Na] ⁺) gef.: 609,5606 Da
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ , 40 °C: δ[ppm] = 0,89 (t, ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, -CH ₃), 1,14-1,32 (m, 52 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₄ ⁻ , H ₃ C(CH ₂) ₁₂ ⁻), 1,45-1,52 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 1,61-1,67 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ CONH-), 1,76-1,82 (m, 1 H, -CHH'CHOH-, von H ₂ O überlagert), 2,24 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, -CH ₂ CONH-), 3,58 (dd, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, ³ J _{H,H} = 2,9 Hz, 1 H, -CH ₂ CHOHCHOH-), 3,61-3,65 (m, 1 H, -CH ₂ CHOH-), 3,75 (dd, ² J _{H,H} = 11,6 Hz, ³ J _{H,H} = 5,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,94 (dd, ² J _{H,H} = 11,5 Hz, ³ J _{H,H} = 2,4 Hz, 1 H, -CHH'OH), 4,12-4,16 (m, 1 H, -CH-CH ₂ OH), 6,30 (d, ³ J _{H,H} = 7,2 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD, 45 °C: δ[ppm] = 13,59 (-CH ₃), 22,13 (D ₃ CCH ₂ -), 22,37 (H ₃ CCH ₂ -), 25,60, 29,08, 29,14, 29,28, 29,44 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₃ ⁻ , H ₃ CCH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₀ ⁻), 31,60 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 31,68 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,77 (-CH ₂ CHOH-), 36,32 (-CH ₂ CONH-), 51,93 (-CH-CH ₂ OH), 61,11 (-CH ₂ OH), 72,38 (-CH ₂ CHOH-), 75,48 (-CH ₂ CHOHCHOH-), 174,52 (-CONH-)
HPLC:	Reinheit: t _R = 4,88 min; >99,5%

N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-22,22,22-D₃-docosanamid – CER[NP]-22,22,22-D₃ – (36)

Die Darstellung erfolgte aus 22,22,22-D₃-Docosansäure (**28**) (200 mg, 0,58 mmol), PyBOP[®] (333 mg, 0,64 mmol), Diisopropylethylamin (198 µl, 1,16 mmol) und Phytosphingosin **31** (203 mg, 0,64 mmol) in CH₂Cl₂ (5,8 ml).

Summenformel:	C ₄₀ H ₇₈ D ₃ NO ₄
M _G (g/mol):	643,07
Ausbeute:	91% (0,34 g)
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff
R _f :	LM 9: 0,14
F _p :	119-120 °C
ESI-MS (m/z):	positiv: 665,6 [M + Na] ⁺ negativ: 641,7 [M – H] ⁻



HR-MS:	ber.: 643,6427 Da (C ₄₀ H ₇₉ D ₃ NO ₄ [M + H] ⁺) gef.: 643,6401 Da
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ , 40 °C: δ[ppm] = 0,89 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 3 H, -CH ₃), 1,27-1,35 (m, 60 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₈ ⁻ , H ₃ C(CH ₂) ₁₂ ⁻), 1,48-1,53 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 1,61-1,67 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ CONH-), 1,75-1,87 (m, 1 H, -CHH'CHOH-, von H ₂ O überlagert), 2,24 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, -CH ₂ CONH-), 3,59 (dd, ³ J _{H,H} = 6,8 Hz, ³ J _{H,H} = 2,8 Hz, 1 H, -CH ₂ CHOHCHOH-), 3,62-3,66 (m, 1 H, -CH ₂ CHOH-), 3,76 (dd, ² J _{H,H} = 11,5 Hz, ³ J _{H,H} = 4,9 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,94 (dd, ² J _{H,H} = 11,4 Hz, ³ J _{H,H} = 2,0 Hz, 1 H, -CHH'OH), 4,12-4,16 (m, 1 H, -CH-CH ₂ OH), 6,32 (d, ³ J _{H,H} = 5,9 Hz, 1 H, -CONH-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 45 °C: δ[ppm] = 13,83 (-CH₃), 22,30 (D₃CCH₂-), 22,57 (H₃CCH₂-), 25,72, 25,78, 29,24, 29,27, 29,30, 29,30, 29,45, 29,57, 29,57, 29,61, 29,65 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₇-), H₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₀-), 31,76 (D₃CCH₂CH₂-), 31,84 (H₃CCH₂CH₂-), 33,02 (-CH₂CHOH-), 36,50 (-CH₂CONH-), 52,03 (-CH-CH₂OH), 61,22 (-CH₂OH), 72,53 (-CH₂CHOH-), 75,70 (-CH₂CHOHCHOH-), 174,57 (-CONH-)

HPLC: Reinheit: t_R = 4,78 min; >99,5%

N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-24,24,24-D₃-teracosamid –CER[NP]-24,24,24-D₃ – (37)

Die Darstellung erfolgte aus 24,24,24-D₃-Docosansäure (**29**) (200 mg, 0,54 mmol), PyBOP[®] (308 mg, 0,59 mmol), Diisopropylethylamin (183 µl, 1,08 mmol) und Phytosphingosin **31** (188 mg, 0,59 mmol) in CH₂Cl₂ (5,4 ml).

Summenformel: C₄₂H₈₂D₃NO₄

M_G (g/mol): 671,12

Ausbeute: 89% (0,32 g)

Aussehen: weißer wachsartiger Feststoff

R_f: LM 9: 0,15

F_P: 113-114 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 693,7 [M + Na]⁺

negativ: 669,8 [M – H]⁻

HR-MS: ber.: 671,6740 Da

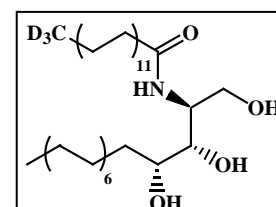
(C₄₂H₈₃D₃NO₄ [M + H]⁺)

gef.: 671,6733 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 40 °C: δ[ppm] = 0,89 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, -CH₃), 1,14-1,32 (m, 64 H, D₃C(CH₂)₂₀-, H₃C(CH₂)₁₂-), 1,44-1,56 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 1,61-1,67 (m, 2 H, -CH₂CH₂CONH-), 1,76-1,82 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 2,34 (t, ³J_{H,H} = 7,4 Hz, -CH₂CONH-), 3,58 (dd, ³J_{H,H} = 7,0 Hz, ³J_{H,H} = 2,6 Hz, 1 H, -CH₂CHOHCHOH-), 3,61-3,65 (m, 1 H, -CH₂CHOH-), 3,76 (dd, ²J_{H,H} = 11,5 Hz, ³J_{H,H} = 5,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,95 (dd, ²J_{H,H} = 11,6 Hz, ³J_{H,H} = 2,5 Hz, 1 H, -CHH'OH), 4,12-4,16 (m, 1 H, -CH-CH₂OH), 6,29 (d, ³J_{H,H} = 5,7 Hz, 1 H, -CONH-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 40 °C: δ[ppm] = 13,62 (-CH₃), 22,18 (D₃CCH₂-), 22,45 (H₃CCH₂-), 25,64, 25,67, 29,13, 29,14, 29,20, 29,34, 29,49, 29,55 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₉-), H₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₀-), 31,54 (D₃CCH₂CH₂-), 31,73 (H₃CCH₂CH₂-), 32,71 (-CH₂CHOH-), 36,32 (-CH₂CONH-), 51,92 (-CH-CH₂OH), 61,11 (-CH₂OH), 72,37 (-CH₂CHOH-), 75,42 (-CH₂CHOHCHOH-), 174,56 (-CONH-)

HPLC: Reinheit: t_R = 4,75 min; >99,5%



5.5 Synthese der deuterierten Ceramide [AS] und [AP]

5.5.1 Darstellung von 16,16,16-*D*₃-1-Bromhexadecan

16-Hydroxyhexadecansäuremethylester – (39)

Die Darstellung der Verbindung erfolgte ausgehend vom 16-Hexadecanolid (**38**) (53,7 g, 0,21 mol) nach einer Vorschrift von CUNDY und CURR¹³⁵. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus Heptan gereinigt.

Summenformel: C₁₇H₃₄O₃

M_G (g/mol): 286,44

Ausbeute: 94% (56,8 g)

Aussehen: weißer, feinpulvriger Feststoff

R_f: LM 6: 0,41

F_p: 52-53 °C

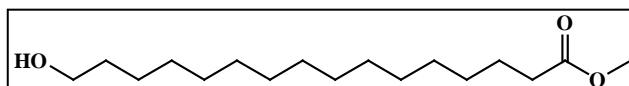
ESI-MS (m/z): positiv: 287,2 [M + H]⁺, 309,3 [M + Na]⁺

EA: ber.(%): C 71,28, H 11,96

gef.(%): C 71,23, H 11,89

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,25-1,40 (m, 22 H, HO(CH₂)₂(CH₂)₁₁-), 1,53-1,65 (m, 2 H, HOCH₂CH₂-), 2,30 (t, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,63 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, HOCH₂), 3,66 (s, 3 H, -CH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 25,11 (-CH₂CH₂COO-), 25,89 (HO(CH₂)₂CH₂-), 29,30, 29,40, 29,58, 29,72, 29,75, 29,76, 29,78 (HO(CH₂)₃(CH₂)₁₀-), 32,97 (HOCH₂CH₂-), 34,27 (-CH₂COO-), 51,57 (-CH₃), 63,24 (HOCH₂-), 174,50 (-COO-)



16-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]hexadecansäuremethylester – (40)

Die Verbindung wurde entsprechend MIYASHITA¹³² aus 16-Hydroxyhexadecansäuremethylester (**39**) (55 g, 0,19 mol) dargestellt. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus wenig Heptan gereinigt.

Summenformel: C₂₂H₄₂O₄

M_G (g/mol): 370,55

Ausbeute: 87% (61,8 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 5: 0,48

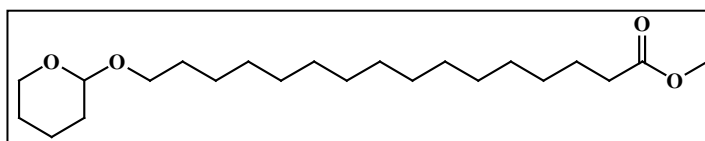
F_p: 38-40 °C

EI-MS (m/z): 369 [1%, M⁺ - H], 101 [100%, C₅H₉O₂⁺], 85 [100%, C₅H₉O⁺]

EA: ber.(%): C 71,30, H 11,43

gef.(%): C 71,39, H 11,65

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,25-1,37 (m, 22 H, -(CH₂)₁₁(CH₂)₂COO-), 1,49-1,63 (m, 8 H, -OCH₂CH₂(CH₂)₁₁CH₂CH₂COO-, -(CH₂)₂CH₂CH-O-), 1,69-1,75 (m, 1 H, -CHH'CH-O-), 1,79-1,90 (m, 1 H, -CHH'CH-O-), 2,30 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,38 (dt, ²J_{H,H} = 9,5 Hz, ³J_{H,H} = 6,7 Hz,



1 H, -OCHH'(CH₂)₁₄-), 3,47-3,52 (m, 1 H, -CHH'(CH₂)₃CH-O-), 3,68 (s, 3 H, -CH₃), 3,73 (dt, ²J_{H,H} = 9,5 Hz, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -OCHH'(CH₂)₁₄-), 3,85-3,90 (m, 1 H, -CHH'(CH₂)₃CH-O-), 4,57-4,58 (m, 1 H, -OCH-O-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,87 (-CH₂CH₂CH-O-), 25,13 (-CH₂CH₂COO-), 25,69 (-CH₂(CH₂)₂CH-O-), 26,41 (-O(CH₂)₂CH₂(CH₂)₁₃-), 29,32, 29,41, 29,61, 29,66, 29,75, 29,76, 29,77, 29,80, 29,81, 29,93 (-OCH₂CH₂CH₂(CH₂)₁₀-), 30,97 (-CH₂CH-O-), 34,29 (-CH₂COO-), 51,57 (-CH₃), 62,50 (-CH₂(CH₂)₃CH-O-), 67,86 (-OCH₂(CH₂)₁₄-), 99,00 (-OCH-O-), 174,48 (-COO-)

2-(16,16,16-D₃-Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran – (41)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1A aus 16-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]hexadecansäuremethylester (**40**) (26,0 g, 0,07 mol). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₂₁H₃₉D₃O₂

M_G (g/mol): 329,56

Ausbeute: 61% (14,2 g)

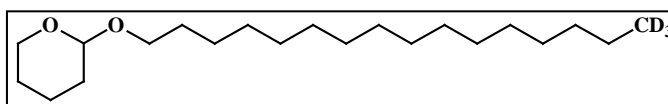
Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 3: 0,43

ESI-MS (m/z): positiv: 352,3 [M + Na]⁺

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,25-1,35 (m, 26 H, -(CH₂)₁₃CD₃), 1,49-1,61 (m, 6 H, -OCH₂CH₂(CH₂)₁₃-; -(CH₂)₂CH₂CH-O-), 1,68-1,73 (m, 1 H, -CHH'CH-O-), 1,79-1,86 (m, 1 H, -CHH'CH-O-), 3,37 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -OCHH'(CH₂)₁₄-), 3,47-3,51 (m, 1 H, -CHH'(CH₂)₃CH-O-), 3,72 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -OCHH'(CH₂)₁₄-), 3,84-3,89 (m, 1 H, -CHH'(CH₂)₃CH-O-), 4,56-4,58 (m, 1 H, -OCH-O-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,85 (-CH₂CH₂CH-O-), 22,27 (-CH₂CD₃), 25,68 (-CH₂(CH₂)₂CH-O-), 26,40 (-O(CH₂)₂CH₂(CH₂)₁₃-), 29,53, 29,65, 29,76, 29,77, 29,81, 29,83, 29,85, 29,92 (-OCH₂CH₂CH₂(CH₂)₁₀-), 30,95 (-CH₂CH-O-), 32,00 (-CH₂CH₂CD₃), 62,45 (-CH₂(CH₂)₃CH-O-), 67,84 (-OCH₂(CH₂)₁₄-), 98,97 (-OCH-O-)



16,16,16-D₃-1-Bromhexadecan – (42)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 2. Dazu wurde 2-(16,16,16-D₃-Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**41**) (17,31 g, 0,066 mol) mit der entsprechenden Menge Triphenylphosphindibromid zur Reaktion gebracht.

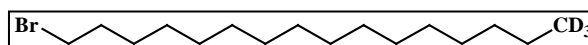
Summenformel: C₁₆H₃₀D₃Br

M_G (g/mol): 308,34

Ausbeute: 90% (8,37 g)

Aussehen: ölige, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 3: 0,74



EI-MS (m/z):	307 [5%, M ⁺], 307/309 [5%, M ⁺ Isotopenpeak]
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,26-1,32 (m, 24 H, -(CH ₂) ₁₂ CD ₃), 1,39-1,46 (m, 2 H, Br(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 1,82-1,89 (m, 2 H, BrCH ₂ CH ₂ -), 3,40 (t, ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 2 H, BrCH ₂ -)
¹³ C-NMR:	100 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 13,35 (h, J = 19,0 Hz, -CD ₃), 22,59 (-CH ₂ CD ₃), 28,36, 28,95, 29,55, 29,62, 29,72, 29,79 (-(CH ₂) ₁₁ (CH ₂) ₂ CD ₃), 32,01 (-CH ₂ CH ₂ CD ₃), 33,03 (BrCH ₂ CH ₂ -), 34,04 (BrCH ₂ -)

5.5.2 Darstellung von 22,22,22-D₃-1-Bromdocosan

2-(22,22,22-D₃-Docosanyloxy)tetrahydro-2H-pyran – (23)

Für die Darstellung wurde 22,22,22-D₃-Docosanol (**26**) nach den Methoden aus Kapitel 5.4.5 synthetisiert. Die Darstellung des 2-(22,22,22-D₃-Docosanyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**23**) erfolgte entsprechend MIYASHITA et al.¹³² aus 22,22,22-D₃-Docosanol (**26**) (2,72 g, 8 mol). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₂₇H₅₁D₃O₂

M_G (g/mol): 413,72

Ausbeute: 99% (3,39 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

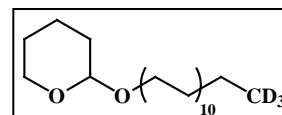
R_f: LM 4: 0,57

F_p: 36 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 436,6 [M+Na]⁺, 849,5 [2M+Na]⁺

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,26-1,38 (m, 38 H, D₃C(CH₂)₁₉-), 1,48-1,62 (m, 6 H, -CH₂CH₂OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,74 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,80-1,87 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 3,38 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH₂)₂₀CHH'O-), 3,48-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 3,73 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH₂)₂₀CHH'O-), 3,85-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 4,57-4,58 (m, 1 H, -OCH-O-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,87 (-OCH-CH₂CH₂-), 22,58 (D₃CCH₂-), 25,69 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,41, 29,54, 29,66, 29,77, 29,78, 29,82, 29,83, 29,86, 29,93 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₈-), 30,96 (-OCH-CH₂-), 32,00 (D₃CCH₂CH₂-), 62,49 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,86 (-(CH₂)₇CH₂O-), 99,00 (-OCH-O-)



22,22,22-D₃-1-Bromdocosan – (43)

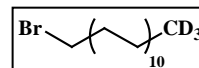
Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 2. Dazu wurde 2-(22,22,22-D₃-Docosyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**26**) (3,39 g, 8 mol) mit der entsprechenden Menge Triphenylphosphindibromid zur Reaktion gebracht.

Summenformel: C₂₂H₄₂D₃Br

M_G (g/mol): 392,50

Ausbeute: 89% (2,87 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff



R _f :	LM 4: 0,72
F _p :	36 °C
GC-MS	Reinheit: t _R = 22,25 min; 85% (m/z): 312 [5%, M - Br ⁺], 135/137 [100%, C ₄ H ₈ Br] ⁺
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,26-1,32 (m, 36 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₈ -), 1,39-1,46 (m, 2 H, -CH ₂ (CH ₂) ₂ Br), 1,82-1,89 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ Br), 3,40 (t, ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 2 H, -CH ₂ Br)
¹³ C-NMR:	100 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 22,59 (D ₃ CCH ₂ -), 28,36, 28,94, 29,54, 29,71, 29,78, 29,82, 29,84, 29,86 (-(CH ₂) ₁₇ (CH ₂) ₂ Br), 32,01 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 33,02 (-CH ₂ CH ₂ Br), 34,17 (-CH ₂ Br)

5.5.3 Darstellung der ω,ω,ω-D₃-(2RS)-2-Aminoalkansäure

Je umzusetzender Molmenge Alkylbromid wurde eine Lösung einer äquimolaren Menge Acetamidomalonsäurediethylester (**44**) in abs. Ethanol (5 ml je 10 mmol Acetamidomalonsäurediethylester) mit einer frisch hergestellten äquimolaren 2 molaren Ethanolatlösung versetzt. Nachdem der Ansatz für 30 min gerührt wurde, wurde die entsprechende Menge an ω,ω,ω-D₃-Alkylbromid **42,43** in abs. Ethanol (4 ml je 10 mmol Alkylbromid) zugegeben. Der Ansatz wurde für 18 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde Wasser hinzugegeben und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeengt. Der Rückstand wurde ohne Reinigung in einer Mischung aus konz. HCl und DMF (9/1 V/V) (15 ml je 10 mmol eingesetztem Alkylbromid) suspendiert. Der Ansatz wurde für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde eine zur Salzsäure äquimolare Menge an 32% Ammoniak vorsichtig hinzugegeben und der Ansatz für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde mittels Fritte abgesaugt und mit wenig Wasser, Methanol und Ether gewaschen. Die erhaltenen ω,ω,ω-D₃-(2RS)-2-Aminoalkansäuren wurden ohne weitere Reinigung und Charakterisierung weiterverwendet.

18,18,18-D₃-(2RS)-2-Aminooctadecansäure – (45)

Die Darstellung erfolgte aus 16,16,16-D₃-1-Bromhexadecan (**42**) (8,14 g, 37,5 mmol), um 7,14 g 18,18,18-D₃-(2RS)-2-Aminooctadecansäure (**45**) (Ausbeute an Rohprodukt: 95%) zu erhalten.

24,24,24-D₃-(2RS)-2-Aminotetracosansäure – (46)

Die Darstellung erfolgte aus 22,22,22-D₃-1-Bromdocosan (**43**) (2,87 g, 7,3 mmol), um 2,52 g 24,24,24-D₃-(2RS)-2-Aminotetracosansäure (**46**) (Ausbeute an Rohprodukt: 89%) zu erhalten.

5.5.4 Darstellung der ω,ω,ω-D₃-(2RS)-2-Hydroxyalkansäuremethylester

Zu einer Suspension der umzusetzenden Molmenge ω,ω,ω-D₃-2-Aminoalkansäure **45,46** in 2 molarer Schwefelsäure (4,3 Moläquivalente je 2-Aminoalkansäure) wurde bei 80 °C eine Lösung von NaNO₂ (2,3 Moläquivalente je 2-Aminoalkansäure) in Aqua dest. (0,8 ml je 1

mmol NaNO₂) über 1 h hinzugetropft und für 8 h bei 80 °C weitergerührt. Anschließend wurde der abgekühlte Ansatz dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Zu dem Rückstand wurde abs. Methanol (4 ml je 1 mmol 2-Aminoalkansäure), abs. Toluol (6 ml je 1 mmol 2-Aminoalkansäure) und konz. HCl (3 Tropfen) hinzugegeben und der Ansatz für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde gesättigte NaCl-Lösung hinzugegeben und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität.

18,18,18-D₃-(2RS)-2-Hydroxyoctadecansäuremethylester – (47)

Die Darstellung erfolgte aus 18,18,18-D₃-(2RS)-2-Aminooctadecansäure (45) (5,00 g, 16,5 mmol).

Summenformel: C₁₉H₃₅D₃O₃

M_G (g/mol): 317,51

Ausbeute: 44% (2,33 g)

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

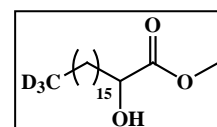
R_f: LM 5: 0,43

F_p: 57-58,5 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 340,3 [M + Na]⁺, 657,1 [2M + Na]⁺

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,26-1,48 (m, 28 H, D₃C(CH₂)₁₄-), 1,59-1,67 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 1,75-1,81 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 3,79 (s, 3 H, -CH₃), 4,18 (dd, ³J_{H,H} = 7,4 Hz, ³J_{H,H} = 4,2 Hz, -CHOHCOO-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 22,58 (D₃CCH₂-), 24,90 (-CH₂CH₂CHOH-), 29,47, 29,53, 29,62, 29,71, 29,79, 29,82, 29,84, 29,85, 29,86 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₁-), 32,00 (D₃CCH₂CH₂-), 34,60 (-CH₂CHOH-), 52,60 (-CH₃), 70,64 (-CHOHCOO-), 176,01 (-COO-)



24,24,24-D₃-(2RS)-2-Hydroxytetracosansäuremethylester – (48)

Die Darstellung erfolgte aus 24,24,24-D₃-(2RS)-2-Aminotetracosansäure (46) (2,62 g, 6,8 mmol).

Summenformel: C₂₅H₄₇D₃O₃

M_G (g/mol): 401,67

Ausbeute: 44% (1,15 g)

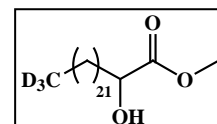
Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 5: 0,50

F_p: 68-70 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 424,5 [M + Na]⁺

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,13-1,48 (m, 4 H, D₃C(CH₂)₁₄-), 1,59-1,66 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 1,75-1,81 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 3,79 (s, 3 H, -CH₃), 4,17-4,20 (m, H, -CHOHCOO-)



^{13}C -NMR: 125 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 22,58 (D_3CCH_2^-), 24,90 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 29,47, 29,54, 29,62, 29,71, 29,79, 29,82, 29,86 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{17}-$), 32,00 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 34,60 ($-\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 52,60 ($-\text{CH}_3$), 70,64 ($-\text{CHOHCOO}-$), 176,01 ($-\text{COO}-$)

5.5.5 Darstellung der ω,ω,ω - D_3 -(2RS)-2-Hydroxyalkansäure

Eine Lösung der umzusetzenden Molmenge ω,ω,ω - D_3 -2-Hydroxyalkansäuremethylester **47,48** und KOH (1,5 Moläquivalente je Ester) in 96% Ethanol (10 ml je 1 mmol Ester) wurde für 2 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in 2 molarer HCl (5 ml je 1 mmol Ester) aufgenommen und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation in einer Mischung aus Heptan und Aceton (8/1 V/V) gereinigt.

18,18,18- D_3 -(2RS)-2-Hydroxyoctadecansäure – (49)

Die Darstellung erfolgte aus 18,18,18- D_3 -(2RS)-2-Hydroxyoctadecansäuremethylester (**47**) (2,26 g, 7,1 mmol).

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{D}_3\text{O}_3$

M_G (g/mol): 303,48

Ausbeute: 93% (2,00 g)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

R_f : LM 6: 0,08

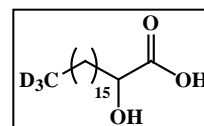
LM 10: 0,26

F_p : 86-87 °C

ESI-MS (m/z): negativ 302,8 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,11-1,35 (m, 26 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{13}-$), 1,40-1,52 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 1,66-1,75 (m, 1 H, $-\text{CHH}'\text{CHOH}-$), 1,82-1,90 (m, 1 H, $-\text{CHH}'\text{CHOH}-$), 4,28 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4,2$ Hz, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CHOH}-$)

^{13}C -NMR: 125 MHz, THF-D_8 : δ [ppm] = 23,46 (D_3CCH_2^-), 26,19 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 30,49, 30,59, 30,72, 30,76, 30,77, 30,80, 30,81 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{11}-$), 32,95 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 35,68 ($-\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 71,00 ($-\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 176,74 ($-\text{COOH}$)



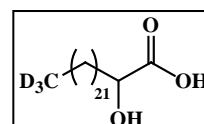
24,24,24- D_3 -(2RS)-2-Hydroxytetracosansäure – (50)

Die Darstellung erfolgte aus 24,24,24- D_3 -(2RS)-2-Hydroxytetracosansäuremethylester (**48**) (1,09 g, 2,7 mmol).

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{D}_3\text{O}_3$

M_G (g/mol): 387,64

Ausbeute: 96% (1,01 g)



Aussehen:	weißer kristalliner Feststoff
R _f :	LM 10: 0,09
F _p :	98-99 °C
ESI-MS (m/z):	negativ 386,6 [M – H] ⁻
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,27-1,31 (m, 38 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₉ -), 1,41-1,51 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ CHOH-), 1,67-1,76 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 1,83-1,91 (m, 1 H, -CHH'CHOH-), 4,28 (dd, ³ J _{H,H} = 7,5 Hz, ³ J _{H,H} = 4,3 Hz, 1 H, -CH ₂ CHOH-)
¹³ C-NMR:	100 MHz, THF-D ₈ : δ[ppm] = 23,47 (D ₃ CCH ₂ -), 26,20 (-CH ₂ CH ₂ CHOH-), 30,50, 30,61, 30,73, 30,78, 30,82 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₁ -), 32,97 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 35,69 (-CH ₂ CHOH-), 71,01 (-CH ₂ CHOH-), 176,75 (-COOH)

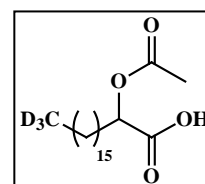
5.5.6 Darstellung der ω,ω,ω-D₃-(2RS)-2-Acetoxyalkansäure

Zu einer Lösung der umzusetzenden Molmenge ω,ω,ω-D₃-(2RS)-2-Hydroxyalkansäure **49,50** in abs. CH₂Cl₂ (15 ml je 1 mmol Säure) wurden Acetanhydrid (16 Moläquivalente je Säure) und Pyridin (31 Moläquivalente je Säure) hinzugegeben und der Ansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde gesättigte NaHCO₃-Lösung (15 ml je 1 mmol Säure) hinzugegeben. Anschließend wurde der Ansatz dreimal mit CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit 0,5 molarer NaHSO₄-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die 2-Acetyloxysäure **51,52** wurde ohne Reinigung weiterverwendet.

18,18,18-D₃-(2RS)-2-Acetoxyoctadecansäure – (51)

Die Darstellung erfolgte aus 18,18,18-D₃-(2RS)-2-Hydroxyoctadecansäure (**49**) (0,30 g, 1 mmol).

Summenformel:	C ₂₀ H ₃₅ D ₃ O ₃
M _G (g/mol):	345,52
Ausbeute:	94% (0,32 g)
Aussehen:	weißer bis leicht gelber Feststoff
R _f :	LM 6: 0,22
F _p :	58-63 °C
ESI-MS (m/z):	negativ 344,5 [M – H] ⁻ , 689,4 [2M – H] ⁻
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,25-1,35 (m, 26 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₃ -), 1,39-1,46 (m, 2 H, -CH ₂ CH ₂ CH-O-), 1,82-1,89 (m, 2 H, -CH ₂ CH-O-), 2,14 (s, 3 H, -OOCCH ₃), 5,01 (dd, ³ J _{H,H} = 7,3 Hz, ³ J _{H,H} = 5,4 Hz, 1 H, -CHO-COOH)
¹³ C-NMR:	100 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 20,75 (H ₃ CCOO-), 22,58 (D ₃ CCH ₂ -), 25,26 (-CH ₂ CH ₂ CH-O-), 29,27, 29,50, 29,53, 29,68, 29,77, 29,81, 29,85, 29,86 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₁ -), 31,13 (-CH ₂ CH-O-), 32,00 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 72,01 (-CH-O-), 170,77 (H ₃ CCOO-), 174,96 (-COOH)



24,24,24-D₃-(2RS)-2-Acetoxytetracosansäure – (52)

Die Darstellung erfolgte aus 24,24,24-D₃-(2RS)-2-Hydroxytetracosansäure (**50**) (0,31 g, 0,8 mmol).

Summenformel: C₂₆H₄₇D₃O₃

M_G (g/mol): 429,67

Ausbeute: 99% (0,34 g)

Aussehen: weißer Feststoff

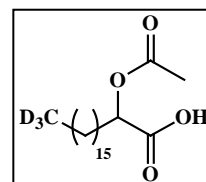
R_f: LM 6: 0,17

F_P: 60-61,5 °C

ESI-MS (m/z): negativ 428,3 [M – H]⁻, 857,1 [2M – H]⁻

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,25-1,34 (m, 38 H, D₃C(CH₂)₁₉-), 1,40-1,46 (m, 2 H, -CH₂CH₂CH-O-), 1,84-1,89 (m, 2 H, -CH₂CH-O-), 2,14 (s, 3 H, -OOCCH₃), 5,01 (dd, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, ³J_{H,H} = 5,5 Hz, 1 H, -CHO-COOH)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 20,74 (H₃CCOO-), 22,58 (D₃CCH₂-), 25,26 (-CH₂CH₂CH-O-), 29,27, 29,50, 29,54, 29,69, 29,77, 29,82, 29,86 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₇-), 31,10 (-CH₂CH-O-), 32,00 (D₃CCH₂CH₂-), 71,97 (-CH-O-), 170,78 (H₃CCOO-), 175,73 (-COOH)

**5.5.7 Darstellung der Essigsäure-[ω,ω,ω-D₃-(2RS)-1-oxo-1-(((2S,3R,4E)-1,3-dihydroxyoctadec-4-en-2-yl)amino)alkan-2-yl]ester**

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4A. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität.

Essigsäure-[18,18,18-D₃-(2RS)-1-oxo-1-(((2S,3R,4E)-1,3-dihydroxyoctadec-4-en-2-yl)amino)octadecan-2-yl]ester – CER[AS]Ac-18,18,18-D₃ – (53)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4A aus 18,18,18-D₃-(2RS)-2-Acetyloxyoctadecansäure (**51**) (0,32 g, 0,9 mmol).

Summenformel: C₃₈H₇₀D₃NO₅

M_G (g/mol): 626,98

Ausbeute: 73% (0,42 g)

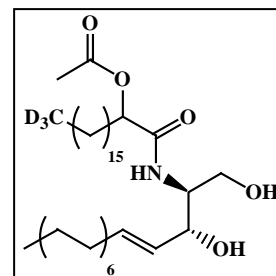
Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 9: 0,47

F_P: 76-79 °C

ESI-MS (m/z): positiv 649,7 [M + Na]⁺
negativ 625,7 [M – H]⁻, 671,5 [M + Cl]⁻, 1251,4 [2M – H]⁻,

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, H₃CCH₂-), 1,10-1,37 (m, 56 H, D₃C(CH₂)₁₄-, H₃C(CH₂)₁₁-), 1,77-1,91 (m, 2 H, -CH₂CH-CONH-), 2,03-2,08 (m, 2 H, -CH₂CH=CH-), 2,13 (s) und 2,15 (s, 3 H, -OOCCH₃), 3,67-3,73 (m, 1 H, -CHH'OH), 3,84-3,89 (m, 1 H, -CH-CH₂OH), 3,96-4,00 (m, 1 H, -CHHOH), 4,32-4,35 (m, 1 H, -CHOHCH-CH₂OH),

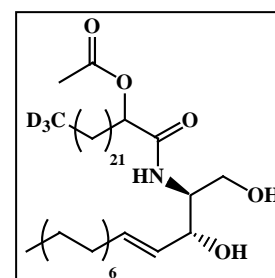


^{13}C -NMR: 5,07-5,11 (m, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH-CO-}$), 5,48-5,55 (m, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 5,75-5,84 (m, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 6,75-6,79 (m, 1 H, $-\text{CONH-}$)
 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 14,26 (H_3CCH_2^-), 21,09 und 21,11 ($-\text{OOCCH}_3$), 22,57 (D_3CCH_2^-), 22,84 (H_3CCH_2^-), 25,02 und 25,05 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH-O-}$), 29,25, 29,25, 29,37, 29,40, 29,41, 29,43, 29,51, 29,53, 29,57, 29,58, 29,64, 29,65, 29,71, 29,72, 29,78, 29,81, 29,84, 29,85, 32,00, 32,02, 32,08 ($\text{D}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CH}_2^-$, $\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_{10}^-$), 32,42 und 32,44 ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-}$), 54,27 und 54,29 ($-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 62,11 und 62,19 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 74,43 und 74,44 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 74,64 und 74,68 ($-\text{CH}_2\text{CH-O-}$), 128,70 und 128,71 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 134,50 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 170,27, 170,32, 170,62 und 170,63 (2x $-\text{CO-}$)

Essigsäure-[24,24,24- D_3 -(2RS)-1-oxo-1-[[[(2S,3R,4E)-1,3-dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]amino]tetracosan-2-yl]ester – CER[AS]Ac-24,24,24- D_3 – (54)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4A aus 24,24,24- D_3 -(2RS)-2-Acetyloxytetracosansäure (**52**) (0,34 g, 0,8 mmol).

Summenformel: $\text{C}_{44}\text{H}_{82}\text{D}_3\text{NO}_5$
 M_G (g/mol): 711,14
 Ausbeute: 68% (0,35 g)
 Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff
 R_f : LM 9: 0,48
 F_P : 76-78 °C
 ESI-MS (m/z): positiv 734,3 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺
 negativ 710,0 [$\text{M} - \text{H}$]⁻



^1H -NMR: 500 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 0,88 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,0$ Hz, 3 H, H_3CCH_2^-), 1,13-1,37 (m, 56 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{20}^-$, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{11}^-$), 1,78-1,90 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH-CONH-}$), 2,03-2,08 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-}$), 2,15 (s) und 2,16 (s, 3 H, $-\text{OOCCH}_3$), 3,67-3,73 (m, 1 H, $-\text{CHH}'\text{OH}$), 3,84-3,88 (m, 1 H, $-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 3,97-4,00 (m, 1 H, $-\text{CHH}\text{OH}$), 4,33-4,35 (m, 1 H, $-\text{CHOHCH-CH}_2\text{OH}$), 5,07-5,11 (m, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH-CO-}$), 5,50-5,55 (m, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 5,76-5,83 (m, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 6,76-6,79 (m, 1 H, $-\text{CONH-}$)
 ^{13}C -NMR: 125 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 14,28 (H_3CCH_2^-), 21,11 und 21,12 ($-\text{OOCCH}_3$), 22,58 (D_3CCH_2^-), 22,85 (H_3CCH_2^-), 25,01 und 25,03 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH-O-}$), 29,24, 29,37, 29,40, 29,41, 29,43, 29,52, 29,54, 29,58, 29,59, 29,64, 29,65, 29,72, 29,73, 29,78, 29,79, 29,82, 29,84, 29,86, 31,99, 32,02, 32,08 ($\text{D}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}_2\text{CH}_2^-$, $\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_{10}^-$), 32,43 und 32,45 ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-}$), 54,20 und 54,22 ($-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 62,12 und 62,20 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 74,49 und 74,52 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 74,63 und 74,67 ($-\text{CH}_2\text{CH-O-}$), 128,67 und 128,69 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 134,52 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH-}$), 170,61 und 170,62 (2x $-\text{CO-}$)

5.5.8 Darstellung des Ceramides [AS]-18,18,18-D₃ (Dieastereomeregemisch)

(2SR)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecan-amid – DL-CER[AS]-18,18,18-D₃ – (57)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 5. Dazu wurde der Essigsäure-[18,18,18-D₃-(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3R,4E)-1,3-dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]amino]-octadecan-2-yl]ester (**53**) (0,42 g, 0,7 mmol) deacetyliert. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V).

Summenformel: C₃₆H₆₈D₃NO₄

M_G (g/mol): 584,95

Ausbeute: 92% (0,41 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 11: L-Form: 0,62
D-Form: 0,51

F_P: 97-101 °C

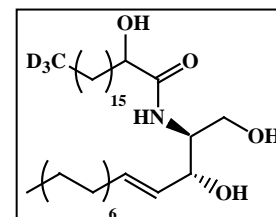
ESI-MS (m/z): positiv: 608,4 [M + Na]⁺
negativ: 584,0 [M – H]⁻

HR-MS: ber.: 607,5464 Da (C₃₆H₆₈D₃NO₄Na [M + Na]⁺)
gef.: 607,5463 Da
ber.: 619,5255 Da (C₃₆H₆₈D₃NO₄Cl [M + Cl]⁻)
gef.: 619,5271 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, **H**₃CCH₂-), 1,13-1,46 (m, 50 H, D₃C(CH₂)₁₄-, H₃C(CH₂)₁₁-), 1,60-1,68 (m, 1 H, -**CHH'**CHO HCO-), 1,80-1,87 (m, 1 H, -**CHH'**CHOHCO-), 2,04-2,08 (m, 2 H, -**CH**₂CH=CH-), 3,60-3,74 (m, 1 H, -**CHH'**OH), 3,88-3,99 (m, 2 H, -**CH**-**CHH'**OH), 4,12-4,15 (m, 1 H, -**CHOH**CO-), 4,31-4,35 (m, 1 H, -**CH=CH**CHOH-), 5,51-5,56 (m, 1 H, -**CH=CH**CHOH-), 5,77-5,83 (m, 1 H, -**CH=CH**CHOH-), 7,09-7,13 (m, 1 H, -**CONH**-)

¹³C-NMR: 125 MHz, THF-D₈: δ[ppm] = 14,61 (H₃**C**CH₂-), 23,46 (D₃**C**CH₂-), 23,73 (H₃**C**CH₂-), 26,26 und 26,29 (-**CH**₂CH₂CHOH-), 30,39, 30,46, 30,49, 30,49, 30,53, 30,72, 30,73, 30,78, 30,79, 30,81, 30,83, 30,84 (D₃C(CH₂)₂(**CH**₂)₁₁-, H₃C(CH₂)₂(**CH**₂)₈-), 32,96 (D₃**C**CH₂**CH**₂-), 33,05 (H₃**C**CH₂**CH**₂-), 33,43 (-**CH**₂CH₂CH=CH-), 36,13 (-**CH**₂CHOHCONH-), 56,27 und 56,50 (-**CH**-CH₂OH), 62,63 und 62,73 (-**CH**₂OH), 72,78 und 72,92 (-**CHOH**CONH-), 73,78 und 73,93 (-**CH=CH**CHOH-), 132,14 und 132,28 (-**CH=CH**CHOH-), 132,57 und 132,59 (-**CH=CH**CHOH-), 175,08 und 175,10 (-**CONH**-)

HPLC: L-Form: Reinheit: t_R = 4,02 min; 70%
D-Form: Reinheit: t_R = 5,12 min; 30%



5.5.9 Darstellung und Trennung der Diastereomeren der Ceramide [AS]-ω,ω,ω-D₃

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 5 aus den acetylierten Ceramiden **53,54**. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulen-

chromatographie, wobei eine nass konditionierte Säule im Verhältnis von 200:1 (m/m) mit Kieselgel befüllt wurde. Als Elutionsmittel wurde $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ 98/2/0,5 (V/V/V) verwendet, bis die L-Form vollständig eluiert war. Anschließend wurde die Polarität diskontinuierlich erhöht.

Für die Darstellung und Diastereomerentrennung des Ceramids [AS] 18,18,18- D_3 wurde Essigsäure-[18,18,18- D_3 -(2*RS*)-1-oxo-1-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]amino]-octadecan-2-yl]ester (**53**) (0,42 g, 0,7 mmol) deacetyliert und anschließend chromatographiert.

(2*R*)-*N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18- D_3 -octadecanamid – D-CER[AS]-18,18,18- D_3 – (64**)**

Summenformel: $\text{C}_{36}\text{H}_{68}\text{D}_3\text{NO}_4$

M_G (g/mol): 584,95

Ausbeute: 42% (0,16 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f : LM 11: D-Form: 0,51

F_P : 101-104 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 608,4 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺

negativ: 584,0 [$\text{M} - \text{H}$]⁻

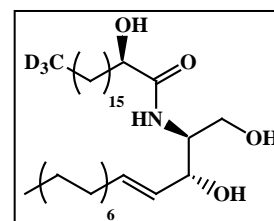
HR-MS: ber.: 619,5255 Da ($\text{C}_{36}\text{H}_{68}\text{D}_3\text{NO}_4\text{Cl}$ [$\text{M} + \text{Cl}$]⁻)

gef.: 619,5261 Da

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 0,88 (t, ³ $J_{\text{H,H}}$ = 6,8 Hz, 3 H, H_3CCH_2 -), 1,26-1,85 (m, 52 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{15}$ -, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{11}$ -, von H_2O überlagert), 2,03-2,09 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$), 3,74 (dd, ² $J_{\text{H,H}}$ = 11,2 Hz, ³ $J_{\text{H,H}}$ = 3,4 Hz, 1 H, $-\text{CHH}'\text{OH}$), 3,89-3,94 (m, 1 H, $-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$), 3,98 (dd, ² $J_{\text{H,H}}$ = 11,1 Hz, ³ $J_{\text{H,H}}$ = 3,9 Hz, 1 H, $-\text{CHH}\text{OH}$) 4,08-4,17 (m, 1 H, $-\text{CHOHCO}-$), 4,31-4,34 (m, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH}-$), 5,53 (dd, ³ $J_{\text{H,H}}$ = 15,5 Hz, ³ $J_{\text{H,H}}$ = 6,6 Hz, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH}-$), 5,76-5,84 (m, 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCHOH}-$), 7,11 (d, ³ $J_{\text{H,H}}$ = 7,4 Hz, 1 H, $-\text{CONH}-$)

¹³C-NMR: 100 MHz, THF-D_8 : δ [ppm] = 14,61 (H_3CCH_2 -), 23,47 (D_3CCH_2 -), 23,74 (H_3CCH_2 -), 26,30 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOH}-$), 30,46, 30,51, 30,74, 30,79, 30,80, 30,82, 30,85, 30,87 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{11}$ -, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_8$ -), 32,97 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2$ -), 33,06 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2$ -), 34,44 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$), 36,15 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCONH}-$), 56,29 ($-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$), 62,66 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 72,92 ($-\text{CHOHCONH}-$), 73,95 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH}-$), 132,31 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH}-$), 132,58 ($-\text{CH}=\text{CHCHOH}-$), 175,01 ($-\text{CONH}-$)

HPLC: D-Form: Reinheit: t_R = 5,12 min; >99,5%



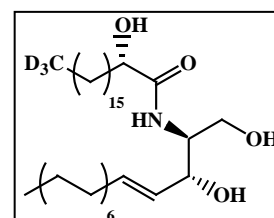
(2*S*)-*N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18- D_3 -octadecanamid – L-CER[AS]-18,18,18- D_3 – (63**)**

Summenformel: $\text{C}_{36}\text{H}_{68}\text{D}_3\text{NO}_4$

M_G (g/mol): 584,95

Ausbeute: 46% (0,18 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff



R _f :	LM 11: L-Form:	0,62
F _P :	96-99 °C	
ESI-MS (m/z):	positiv:	608,4 [M + Na] ⁺
	negativ:	583,9 [M – H] [–]
HR-MS:	ber.: 567,5567 Da	(C ₃₆ H ₆₇ D ₃ NO ₃ [M – H ₂ O + H] ⁺)
	gef.: 567,5549 Da	
	ber.: 583,5517 Da	(C ₃₆ H ₆₇ D ₃ NO ₄ [M – H] [–])
	gef.: 583,5501 Da	
	ber.: 619,5255 Da	(C ₃₆ H ₆₈ D ₃ NO ₄ Cl [M + Cl] [–])
	gef.: 619,5267 Da	
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,88 (t, ³ J _{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, H ₃ CCH ₂ -), 1,12-1,46 (m, 50 H, D ₃ C(CH ₂) ₁₄ -, H ₃ C(CH ₂) ₁₁ -), 1,60-1,68 (m, 1 H, - CHH' CHO HCO-), 1,80-1,87 (m, 1 H, - CHH' CHOHCO-), 2,04-2,08 (m, 2 H, - CH ₂ CH=CH-), 3,70-3,75 (m, 1 H, - CHH' OH), 3,88-3,92 (m, 1 H, - CH -CH ₂ OH), 3,97 (dd, ² J _{H,H} = 11,1 Hz, ³ J _{H,H} = 3,2 Hz, 1 H, - CHH' OH), 4,13-4,15 (m, 1 H, - CHOH CO-), 4,34-4,35 (m, 1 H, -CH=CH CHOH -), 5,53 (dd, ³ J _{H,H} = 15,4 Hz, ³ J _{H,H} = 6,5 Hz, 1 H, -CH=CH CHOH -), 5,77-5,83 (m, 1 H, - CH =CHCHOH-), 7,11 (d, ³ J _{H,H} = 7,5 Hz, 1 H, -CON H -)	
¹³ C-NMR:	125 MHz, THF-D ₈ : δ[ppm] = 14,60 (H ₃ C CH ₂ -), 23,46 (D ₃ C CH ₂ -), 23,73 (H ₃ C CH ₂ -), 26,26 (- CH ₂ CH ₂ CHOH-), 30,39, 30,48, 30,49, 30,53, 30,72, 30,78, 30,79, 30,79, 30,83, 30,84 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₁ -, H ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₈ -), 32,95 (D ₃ C CH ₂ CH ₂ -), 33,05 (H ₃ C CH ₂ CH ₂ -), 33,43 (- CH ₂ CH ₂ CH=CH-), 36,13 (- CH ₂ CHOHCONH-), 56,51 (- CH -CH ₂ OH), 62,72 (- CH ₂ OH), 72,77 (- CHOH CONH-), 73,78 (-CH=CH CHOH -), 132,14 (-CH= CH CHOH-), 132,58 (- CH =CHCHOH-), 175,13 (-CON H -)	
HPLC:	L-Form:	Reinheit: t _R = 4,02 min; >99,5%

Für die Darstellung und Diastereomerentrennung des Ceramids [AS] 24,24,24-D₃ wurde Essigsäure-[24,24,24-D₃-(2*RS*)-1-oxo-1-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]amino}tetracosan-2-yl]ester (**54**) (0,35 g, 0,5 mmol) deacetyliert und anschließend chromatographiert.

(2*R*)-*N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – D-CER[AS]-24,24,24-D₃ – (66**)**

Summenformel: C₄₂H₈₀D₃NO₄

M_G (g/mol): 669,11

Ausbeute: 43% (0,14 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 11: D-Form: 0,49

F_P: 95-96 °C

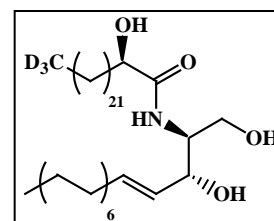
ESI-MS (m/z): positiv: 692,0 [M + Na]⁺

negativ: 668,0 [M – H][–]

HR-MS: ber.: 691,6403 Da

(C₄₂H₈₀D₃NO₄Na [M + Na]⁺)

gef.: 691,6400 Da



¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, **H**₃CCH₂-), 1,10-1,85 (m, 64 H, D₃C(**CH**₂)₂₁-, H₃C(**CH**₂)₁₁-, von H₂O überlagert), 2,03-2,10 (m, 2 H, -**CH**₂CH=CH-), 3,74 (dd, ²J_{H,H} = 11,2 Hz, ³J_{H,H} = 3,5 Hz, 1 H, -**CHH'**OH), 3,89-3,94 (m, 1 H, -**CH**-CH₂OH), 3,98 (dd, ²J_{H,H} = 11,4 Hz, ³J_{H,H} = 4,2 Hz, 1 H, -**CHH'**OH) 4,08-4,17 (m, 1 H, -**CHOH**CO-), 4,31-4,34 (m, 1 H, -CH=CH**CHOH**-), 5,53 (dd, ³J_{H,H} = 15,6 Hz, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -CH=CH**CHOH**-), 5,76-5,84 (m, 1 H, -**CH**=CH**CHOH**-), 7,12 (d, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, 1 H, -CON**H**)

¹³C-NMR: 100 MHz, THF-D₈: δ[ppm] = 14,61 (H₃**C**CH₂-), 23,46 (D₃**C**CH₂-), 23,74 (H₃**C**CH₂-), 26,30 (-**CH**₂CH₂**CHOH**-), 30,46, 30,49, 30,51, 30,74, 30,77, 30,81, 30,84, 30,87 (D₃C(CH₂)₂(**CH**₂)₁₇-, H₃C(CH₂)₂(**CH**₂)₈-), 32,96 (D₃CCH₂**CH**₂-), 33,05 (H₃CCH₂**CH**₂-), 33,44 (-**CH**₂CH₂CH=CH-), 36,14 (-**CH**₂**CHOH**CONH-), 56,30 (-**CH**-CH₂OH), 62,65 (-**CH**₂OH), 72,92 (-**CHOH**CONH-), 73,94 (-CH=CH **CHOH**-), 132,29 (-CH=CH**CHOH**-), 132,58 (-**CH**=CH**CHOH**-), 175,07 (-CON**H**-)

HPLC: D-Form: Reinheit: t_R = 4,92 min; >99,5%

(2S)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – L-CER[AS]-24,24,24-D₃ – (65)

Summenformel: C₄₂H₈₀D₃NO₄

M_G (g/mol): 669,11

Ausbeute: 44% (0,14 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 11: L-Form: 0,60

F_p: 93-94 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 692,1 [M + Na]⁺
negativ: 668,3 [M – H]⁻

HR-MS: ber.: 651,6478 Da (C₄₂H₇₉D₃NO₃ [M – H₂O + H]⁺)

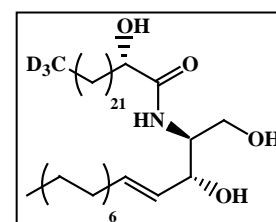
gef.: 651,6476 Da

ber.: 703,6194 Da (C₄₂H₈₀D₃NO₄Cl [M + Cl]⁻)

gef.: 703,6203 Da

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, **H**₃CCH₂-), 1,11-1,45 (m, 62 H, D₃C(**CH**₂)₂₀-, H₃C(**CH**₂)₁₁-), 1,60-1,69 (m, 1 H, -**CHH'**CHOHCO-), 1,79-1,88 (m, 1 H, -**CHH'**CHOHCO-), 2,03-2,09 (m, 2 H, -**CH**₂CH=CH-), 3,73 (dd, ²J_{H,H} = 11,4 Hz, ³J_{H,H} = 3,1 Hz, 1 H, -**CHH'**OH), 3,89-3,93 (m, 1 H, -**CH**-CH₂OH), 3,97 (dd, ²J_{H,H} = 11,4 Hz, ³J_{H,H} = 3,9 Hz, 1 H, -**CHH'**OH) 4,14-4,17 (m, 1 H, -**CHOH**CO-), 4,34-4,36 (m, 1 H, -CH=CH**CHOH**-), 5,53 (dd, ³J_{H,H} = 15,4 Hz, ³J_{H,H} = 6,3 Hz, 1 H, -CH=CH**CHOH**-), 5,77-5,84 (m, 1 H, -**CH**=CH**CHOH**-), 7,12 (d, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -CON**H**-)

¹³C-NMR: 100 MHz, THF-D₈: δ[ppm] = 14,61 (H₃**C**CH₂-), 23,47 (D₃**C**CH₂-), 23,74 (H₃**C**CH₂-), 26,27 (-**CH**₂CH₂**CHOH**-), 30,40, 30,49, 30,54, 30,72, 30,78, 30,82, 30,84, 30,86 (D₃C(CH₂)₂(**CH**₂)₁₇-, H₃C(CH₂)₂(**CH**₂)₈-), 32,96 (D₃CCH₂**CH**₂-), 33,05 (H₃CCH₂**CH**₂-), 33,43 (-**CH**₂CH₂CH=CH-), 36,14 (-**CH**₂**CHOH**CONH-), 56,52 (-**CH**-CH₂OH), 62,74 (-**CH**₂OH), 72,78 (-**CHOH**CONH-)



CONH-), 73,80 (-CH=CHCHOH-), 132,16 (-CH=CHCHOH-), 132,57 (-CH=CHCHOH-), 175,11 (-CONH-)
 HPLC: L-Form: Reinheit: $t_R = 3,87$ min; >99,5%

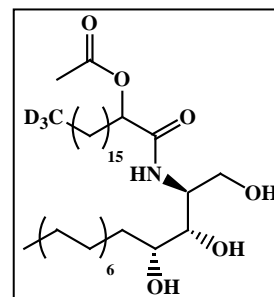
5.5.10 Darstellung der Essigsäure-[ω,ω,ω -D₃-(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3S,4R)-1,3,4-trihydroxyoctadec-2-yl]amino]alk-2-yl]ester

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4B. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität.

Essigsäure-[18,18,18-D₃-(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3S,4R)-1,3,4-trihydroxyoctadec-2-yl]amino]octadecan-2-yl]ester – CER[AP]Ac-18,18,18-D₃ – (55)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4B aus 18,18,18-D₃-(2RS)-2-Acetyloxyoctadecansäure (51) (0,32 g, 0,9 mmol).

Summenformel: C₃₈H₇₂D₃NO₆
 M_G (g/mol): 645,00
 Ausbeute: 73% (0,44 g)
 Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff
 R_f: LM 9: 0,30
 F_p: 96-98 °C
 ESI-MS (m/z): negativ 643,6 [M - H]⁻, 679,6 [M + Cl]⁻, 1288,3 [2M - H]⁻,



¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,86 (t, ³J_{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, H₃CCH₂-), 1,24-1,84 (m, 56 H, D₃C(CH₂)₁₅-, H₃C(CH₂)₁₃-), 2,13 (s, 3 H, -OOCCH₃), 3,58-3,66 (m, 3 H, -CHOHCHOHCH-CHH'OH), 3,88 (dd, ²J_{H,H} = 11,6 Hz, ³J_{H,H} = 2,7 Hz, 1 H, -CHH'OH), 4,05-4,10 (m, 1 H, -CH-CH₂OH), 5,08 (dt, ³J_{H,H} = 7,2 Hz, ³J_{H,H} = 4,9 Hz, 1 H, -CH-CO-), 6,86-6,88 (m, 1 H, -CONH-)
¹³C-NMR: 100 MHz, THF-D₈: δ[ppm] = 14,60 (H₃CCH₂-), 20,76 (-OOCCH₃), 23,46 (D₃CCH₂-), 23,73 (H₃CCH₂-), 26,07 (-CH₂CH₂CH-O-), 26,93 (-CH₂CH₂CHOH-), 30,48, 30,49, 30,52, 30,63, 30,75, 30,77, 30,78, 30,80, 30,82, 30,83, 30,85, 30,86, 30,93, 32,95, 33,05 (D₃CCH₂(CH₂)₁₄-, H₃CCH₂(CH₂)₁₀-), 34,43 (-CH₂CHOH-), 53,49 (-CH-CH₂OH), 62,29 (-CH₂OH), 73,41 (-CH₂CHOH-), 74,89 (-CH-CH₂OH), 76,90 (-CH₂CHOHCHOH-), 170,20 und 170,32 (2x -CO-)

Essigsäure-[24,24,24-D₃-(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3S,4R)-1,3,4-trihydroxyoctadec-2-yl]amino]tetracosan-2-yl]ester – CER[AP]Ac-24,24,24-D₃ – (56)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4B aus 24,24,24-D₃-(2RS)-2-Acetyloxytetracosansäure (52) (0,34 g, 0,8 mmol).

Summenformel: C₄₄H₇₂D₃NO₆M_G (g/mol): 729,16

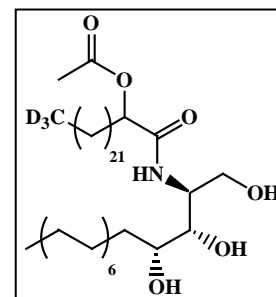
Ausbeute: 76% (0,44 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f: LM 9: 0,24F_P: 90-95 °CESI-MS (m/z): negativ 727,9 [M – H]⁻

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, **H₃CCH₂-**), 1,25-1,86 (m, 68 H, D₃C(**CH₂**)₂₁-, H₃C(**CH₂**)₁₃-), 2,15 (s, 3 H, -OOC**CH₃**), 3,59-3,74 (m, 3 H, -**CHOHCHOHCH-CHH'**OH), 3,93 (dd, ²J_{H,H} = 11,7 Hz, ³J_{H,H} = 2,8 Hz, 1 H, -**CHH**OH), 4,08-4,14 (m, 1 H, -**CH-CH₂**OH), 5,08-5,11 (m, 1 H, -**CH-CO-**), 6,81-6,85 (m, 1 H, -CON**H-**)

¹³C-NMR: 100 MHz, THF-D₈: δ[ppm] = 14,61 (H₃**CCH₂-**), 20,78 (-OOC**CH₃**), 23,46 (D₃**CCH₂-**), 23,73 (H₃**CCH₂-**), 26,09 und 26,12 (-**CH₂CH₂CH-O-**), 26,97 und 27,00 (-**CH₂CH₂CHOH-**), 30,49, 30,54, 30,65, 30,77, 30,79, 30,82, 30,84, 30,87, 30,89, 30,95, 30,97, 31,04, 32,96, 33,05, 33,07 (D₃**CCH₂(CH₂)₂₀-**, H₃**CCH₂(CH₂)₁₀-**), 34,23 und 34,37 (-**CH₂CHOH-**), 53,52 und 53,60 (-**CH-CH₂**OH), 62,29 und 62,34(-**CH₂**OH), 73,30 und 73,39 (-**CH₂CHOH-**), 74,91 und 74,94 (-**CH-O-**), 76,80 und 76,88 (-**CH₂CHOHCHOH-**), 170,19, 170,27 und 170,31 (2x -**CO-**)



5.5.11 Darstellung des Ceramides [AP]-18,18,18-D₃ (Diastereomeregemisch)

(2SR)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid – DL-CER[AP]-18,18,18-D₃ – (58)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 5. Dazu wurde Essigsäure-[18,18,18-D₃-(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3S,4R)-1,3,4-trihydroxyoctadec-2-yl]amino]octadecan-2-yl]ester (55) (0,44 g, 0,7 mmol) deacetyliert. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V).

Summenformel: C₃₆H₇₀D₃NO₅M_G (g/mol): 602,96

Ausbeute: 92% (0,37 g)

Aussehen: weißer Feststoff

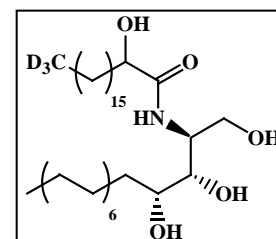
R_f: LM 11: L-Form: 0,39

D-Form: 0,22

F_P: 128-132 °CESI-MS (m/z): positiv: 625,5 [M + Na]⁺negativ: 601,6 [M – H]⁻HR-MS: ber.: 603,5750 Da (C₃₆H₇₁D₃NO₅ [M + H]⁺)

gef.: 603,5750 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, **H₃CCH₂-**), 1,26-1,85 (m, 56 H, D₃C(**CH₂**)₁₅-, H₃C(**CH₂**)₁₃-, von H₂O überlagert), 3,61-3,66



	(m, 2 H, -CH ₂ CHOHCHOH-), 3,79 (dd, ² J _{H,H} = 11,5 Hz, ³ J _{H,H} = 5,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,93-3,97 (m, 1 H, -CHH'OH), 4,12-4,17 (m, 2 H, -CHOH CONHCH-CH ₂ OH), 7,22 (d, ³ J _{H,H} = 7,4 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, THF-D ₈ : δ[ppm] = 14,60 (H ₃ CCH ₂ -), 23,46 (D ₃ CCH ₂ -), 23,73 (H ₃ CCH ₂ -), 26,23 und 26,29 (-CH ₂ CH ₂ CHOHCONH-), 26,95 und 26,97 (-CH ₂ CH ₂ CHOHCHOH-), 30,49, 30,75, 30,78, 30,80, 30,83, 30,84, 30,86, 30,87, 30,88, 30,93, 30,96, 31,04 (D ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₁ -, H ₃ C(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₉ -), 32,95 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 33,04 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 34,44 und 34,61 (-CH ₂ CHOHCHOH-), 36,05 und 36,07 (-CH ₂ CHOHCONH-), 53,32 und 53,37 (-CH-CH ₂ OH), 62,47 und 62,50 (-CH ₂ OH), 72,81 und 72,87 (-CHOHCONH-), 73,22 und 73,32 (-CH ₂ CHOHCHOH-), 77,32 und 77,34 (-CH ₂ CHOHCHOH-), 175,08 und 175,14 (-CONH-)
HPLC:	L-Form: Reinheit: t _R = 5,92 min; 56%
	D-Form: Reinheit: t _R = 7,27 min; 44%

5.5.12 Darstellung und Trennung der Diastereomeren der Ceramide [AP]-ω,ω,ω-D₃

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 5 aus den acetylierten Ceramiden **55,56**. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie, wobei eine nass konditionierte Säule im Verhältnis von 200:1 (m/m) mit Kieselgel befüllt wurde. Als Elutionsmittel wurde CHCl₃/MeOH/NH₃ 96/4/0,5 (V/V/V) verwendet, bis die L-Form vollständig eluiert war. Anschließend wurde die Polarität diskontinuierlich erhöht.

Für die Darstellung und Diastereomerentrennung des Ceramids [AP] 18,18,18-D₃ wurde Essigsäure-[18,18,18-D₃-(2*RS*)-1-oxo-1-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-trihydroxyoctadec-2-yl]amino]octadecan-2-yl]ester (**55**) (0,43 g, 0,7 mmol) umgesetzt und anschließend chromatographiert.

(2*R*)-*N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid – D-CER[AP]-18,18,18-D₃ – (**60**)

Summenformel: C₃₆H₇₀D₃NO₅

M_G (g/mol): 602,96

Ausbeute: 41% (0,17 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 11: D-Form: 0,22

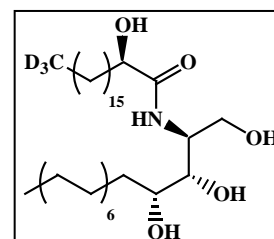
F_P: 141-143 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 601,8 [M – H]⁻

HR-MS: ber.: 601,5593 Da (C₃₆H₆₉D₃NO₅ [M – H]⁻)

gef.: 601,5608 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 35 °C: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, H₃CCH₂-), 1,26-1,86 (m, 56 H, D₃C(CH₂)₁₅-, H₃C(CH₂)₁₃-, von H₂O überlagert), 3,62-3,67 (m, 2 H, -CH₂CHOHCHOH-), 3,80 (dd, ²J_{H,H} = 11,6 Hz, ³J_{H,H} = 5,2 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,96 (dd, ²J_{H,H} = 11,7 Hz, ³J_{H,H} = 2,5 Hz, 1 H, -CHH'OH),



4,10-4,17 (m, 2 H, $-\text{CHOHCONHCH-CH}_2\text{OH}$), 7,19 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 7,2 \text{ Hz}$, 1 H, $-\text{CONH-}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 125 MHz, THF- D_3 : $\delta[\text{ppm}] = 14,60 (\text{H}_3\text{CCH}_2^-)$, 23,46 (D_3CCH_2^-), 23,73 (H_3CCH_2^-), 26,28 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOHCONH-}$), 26,97 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 30,49, 30,50, 30,78, 30,79, 30,82, 30,83, 30,85, 30,88, 30,96, 31,04 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{11^-}$, $\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_9^-$), 32,96 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 33,05 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 34,46 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 36,10 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCONH-}$), 53,41 ($-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 62,53 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 72,87 ($-\text{CHOHCONH-}$), 73,23 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 77,36 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 175,05 ($-\text{CONH-}$)

HPLC: D-Form: Reinheit: $t_{\text{R}} = 5,92 \text{ min}$; >99,5%

(2S)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid – L-CER[AP]-18,18,18-D₃ – (59)

Summenformel: $\text{C}_{36}\text{H}_{70}\text{D}_3\text{NO}_5$

M_{G} (g/mol): 602,96

Ausbeute: 45% (0,19 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f : LM 11: L-Form: 0,39

F_p : 124-126 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 601,8 [M – H]⁻

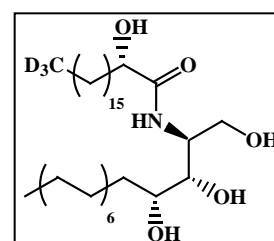
HR-MS: ber.: 601,5593 Da ($\text{C}_{36}\text{H}_{69}\text{D}_3\text{NO}_5$ [M – H]⁻)

gef.: 601,5593 Da

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, CDCl_3 , 40 °C: $\delta[\text{ppm}] = 0,89 (\text{t}, ^3J_{\text{H,H}} = 6,9 \text{ Hz}$, 3 H, H_3CCH_2^-), 1,27-1,88 (m, 56 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{15^-}$, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{13^-}$, von H_2O überlagert), 3,66-3,70 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 3,81 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 11,5 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 4,8 \text{ Hz}$, 1 H, $-\text{CHH}'\text{OH}$), 3,97 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 11,8 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 1,9 \text{ Hz}$, 1 H, $-\text{CHH}\text{OH}$), 4,13-4,17 (m, 2 H, $-\text{CHOHCONHCH-CH}_2\text{OH}$), 7,19 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5,7 \text{ Hz}$, 1 H, $-\text{CONH-}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 125 MHz, THF- D_3 : $\delta[\text{ppm}] = 14,60 (\text{H}_3\text{CCH}_2^-)$, 23,46 (D_3CCH_2^-), 23,73 (H_3CCH_2^-), 26,22 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOHCONH-}$), 26,94 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 30,48, 30,49, 30,75, 30,78, 30,78, 30,80, 30,82, 30,84, 30,86, 30,86, 30,93, 31,05 ($\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{11^-}$, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_9^-$), 32,96 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 33,05 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 34,62 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 36,08 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCONH-}$), 53,35 ($-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 62,50 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 72,81 ($-\text{CHOHCONH-}$), 73,33 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 77,38 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 174,99 ($-\text{CONH-}$)

HPLC: L-Form: Reinheit: $t_{\text{R}} = 5,75 \text{ min}$; >99,5%



Für die Darstellung und Diastereomerentrennung des Ceramids [AP] 24,24,24- D_3 wurde Essigsäure-[24,24,24- D_3 -(2RS)-1-oxo-1-[(2S,3S,4R)-1,3,4-trihydroxyoctadec-2-yl]amino]-tetracosan-2-yl]ester (**56**) (0,42 g, 0,6 mmol) umgesetzt und anschließend chromatografiert.

(2R)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – D-CER[AP]-24,24,24-D₃ – (62)Summenformel: C₄₂H₈₂D₃NO₅M_G (g/mol): 687,12

Ausbeute: 44% (0,18 g)

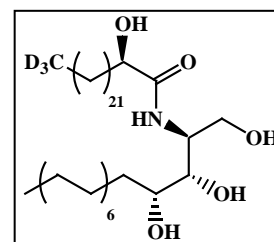
Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 11: D-Form: 0,31F_P: 135-140 °CESI-MS (m/z): negativ: 685,8 [M – H]⁻HR-MS: ber.: 721,6299 Da (C₄₂H₈₂D₃NO₅Cl [M + Cl]⁻)

gef.: 721,6304 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 40 °C: δ[ppm] = 0,89 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, H₃CCH₂-), 1,13-1,87 (m, 68 H, D₃C(CH₂)₂₁-, H₃C(CH₂)₁₃-, von H₂O überlagert), 3,65-3,69 (m, 2 H, -CH₂CHOHCHOH-), 3,82 (dd, ²J_{H,H} = 11,3 Hz, ³J_{H,H} = 4,9 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,96 (dd, ²J_{H,H} = 11,0 Hz, ³J_{H,H} = 2,7 Hz, 1 H, -CHH'OH), 4,13-4,17 (m, 2 H, -CHOHCONHCH-CH₂OH), 7,21 (d, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -CONH-)

¹³C-NMR: 125 MHz, THF-D₈: δ[ppm] = 14,60 (H₃CCH₂-), 23,46 (D₃CCH₂-), 23,73 (H₃CCH₂-), 26,29 (-CH₂CH₂CHOHCONH-), 26,97 (-CH₂CH₂CHOHCHOH-), 30,49, 30,77, 30,79, 30,81, 30,85, 30,85, 30,87, 30,88, 30,96, 31,04 (D₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₇-, H₃C(CH₂)₂(CH₂)₉-), 32,96 (D₃CCH₂CH₂-), 33,05 (H₃CCH₂CH₂-), 34,46 (-CH₂CHOHCHOH-), 36,09 (-CH₂CHOHCONH-), 53,40 (-CH-CH₂OH), 62,54 (-CH₂OH), 72,87 (-CHOHCONH-), 73,23 (-CH₂CHOHCHOH-), 77,35 (-CH₂CHOHCHOH-), 175,08 (-CONH-)

HPLC: D-Form: Reinheit: t_R = 5,73 min; >99,5%**(2S)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – L-CER[AP]-24,24,24-D₃ – (61)**Summenformel: C₄₂H₈₂D₃NO₅M_G (g/mol): 687,12

Ausbeute: 46% (0,19 g)

Aussehen: weißer Feststoff

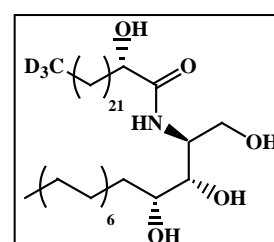
R_f: LM 11: L-Form: 0,43F_P: 119-124 °CESI-MS (m/z): negativ: 685,8 [M – H]⁻HR-MS: ber.: 687,6689 Da (C₄₂H₈₃D₃NO₅ [M + H]⁺)

gef.: 687,6690 Da

ber.: 721,6299 Da (C₄₂H₈₂D₃NO₅Cl [M + Cl]⁻)

gef.: 721,6294 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 35 °C: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, H₃CCH₂-), 1,14-1,85 (m, 68 H, D₃C(CH₂)₂₁-, H₃C(CH₂)₁₃-, von H₂O überlagert), 3,64-3,67 (m, 2 H, -CH₂CHOHCHOH-), 3,80 (dd, ²J_{H,H} = 12,2 Hz, ³J_{H,H} = 3,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,96 (dd, ²J_{H,H} = 12,2 Hz, ³J_{H,H} = 2,3 Hz, 1 H, -CHH'OH),



	4,12-4,16 (m, 2 H, - CHOHCONHCH -CH ₂ OH), 7,20 (d, ³ J _{H,H} = 6,5 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, THF-D ₈ : δ[ppm] = 14,60 (H ₃ C CH ₂ -), 23,46 (D ₃ C CH ₂ -), 23,73 (H ₃ C CH ₂ -), 26,22 (- CH ₂ CH ₂ CHOHCONH-), 26,94 (- CH ₂ CH ₂ CHOHCHOH-), 30,49, 30,76, 30,77, 30,79, 30,81, 30,84, 30,85, 30,86, 30,93, 31,05 (D ₃ C (CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₇ -), H ₃ C (CH ₂) ₂ (CH ₂) ₉ -), 32,96 (D ₃ C CH ₂ CH ₂ -), 33,05 (H ₃ C CH ₂ CH ₂ -), 34,62 (- CH ₂ CHOHCHOH-), 36,08 (- CH ₂ CHOHCONH-), 53,36 (- CH -CH ₂ OH), 62,50 (- CH ₂ OH), 72,81 (- CHOH CONH-), 73,33 (- CH ₂ CHOH CHOH-), 77,39 (-CH ₂ CHOH CHOH -), 174,98 (-CONH-)
HPLC:	L-Form: Reinheit: t _R = 4,68 min; >99,5%

5.6 Synthese der methylverzweigten ω-Acylceramide [mEOS] und [mEOP]

5.6.1 Darstellung der Hexylmalonsäurediethylester

6,6,6-D₃-1-Bromhexan – (70)

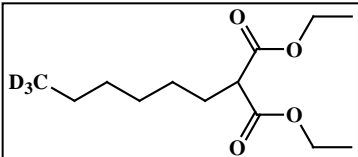
Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1B aus 6-Bromhexansäuremethylester (**69**) (25,1 g, 120 mmol). Abweichend zur beschriebenen Methode wurden zur Vermeidung der reaktiven Bromabspaltung die Reduktionen bei -10 °C durchgeführt. Die Reinigung erfolgte durch Vakuumdestillation (Ausbeute 15,58 g, 77%). Das erhaltene 6,6,6-D₃-1-Bromhexan (**70**) wurde ohne weitere Charakterisierung weiterverwendet.

Hexylmalonsäurediethylester – (73)

Zu einer Natriumethanolatlösung (2,30 g, 100 mmol Natrium in 50 ml abs. Ethanol) wurde bei mäßiger Siedehitze Malonsäurediethylester (**72**) (16,02 g, 100 mmol) und 1-Bromhexan (**71**) (17,33 g, 105 mmol) hinzugefügt. Das Gemisch wurde für 12 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Ethanol unter reduziertem Druck abgezogen, zur Aufarbeitung wurde Eiswasser hinzugefügt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ether (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Vakuumdestillation (Ausbeute 18,75 g, 77%). Der erhaltene Hexylmalonsäurediethylester (**73**) wurde ohne weitere Charakterisierung verwendet.

6,6,6-D₃-Hexylmalonsäurediethylester – (74)

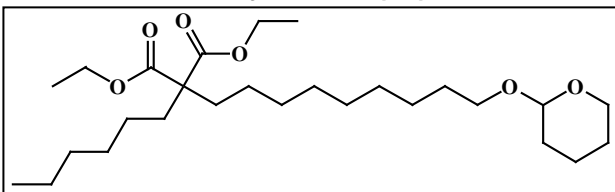
Zu einer gerührten Suspension von NaH (60% in Paraffin, 5,45 g, 136 mmol) in abs. Toluol (280 ml) wurde unter Argonatmosphäre eine Lösung von Malonsäurediethylester (**72**) (21,83 g, 136 mmol) in abs. Toluol (120 ml) hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 2 bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von 6,6,6-D₃-1-Bromhexan (**70**) (15,0 g, 0,09 mmol) in abs. Toluol (60 ml) hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde Wasser (50 ml) hinzugegeben und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ether (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Summenformel:	$C_{13}H_{21}D_3O_4$	
M_G (g/mol):	247,34	
Ausbeute:	56% (12,36 g)	
Aussehen:	farblose Flüssigkeit	
R_f :	LM 4: 0,40	
ESI-MS (m/z):	positiv: 248,1 $[M + H]^+$, 270,0 $[M + Na]^+$, 516,8 $[2M + Na]^+$	
1H -NMR:	400 MHz, $CDCl_3$: δ [ppm] = 1,26 (t, $^3J_{H,H} = 7,1$ Hz, 6 H, $2 \times -OCH_2CH_3$), 1,29-1,32 (m, 8 H, $D_3C(CH_2)_4-$), 1,85-1,91 (m, 2 H, $D_3C(CH_2)_4CH_2-$), 3,30 (t, $^3J_{H,H} = 7,5$ Hz, 1 H, $-CH(COO-)_2$), 4,19 (q, $^3J_{H,H} = 7,1$ Hz, 4 H, $2 \times -OCH_2CH_3$)	
^{13}C -NMR:	100 MHz, $CDCl_3$: δ [ppm] = 14,24 ($2 \times -OCH_2CH_3$), 22,40 (D_3CCH_2-), 27,43, 28,90, 29,03, 31,57 ($D_3CCH_2(CH_2)_4-$), 52,25 ($-CH(COO-)_2$), 61,37 ($2 \times -OCH_2CH_3$), 169,75 ($2 \times -COO-$)	

5.6.2 Darstellung der Hexyl-9-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonylmalonsäurediethylester

Zu einer Suspension von KH (30% in Paraffin, 6,03 g, 45 mmol) in abs. Toluol (50 ml) wurde tropfenweise unter Argonatmosphäre eine Lösung des Hexylmalonsäureesters **73,74** (10,0 g, 0,04 mol) in abs. Toluol (40 ml) hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 12 h bei Raumtemperatur gerührt, auf 50 °C erwärmt, eine Lösung von 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**15**) (15,75 g, 51,25 mmol) in abs. Toluol (60 ml) langsam hinzugegeben und für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde Eiswasser (50 ml) hinzugegeben und für 2 h gerührt. Zusätzlich wurde gesättigte NH_4Cl -Lösung (50 ml) hinzugegeben und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Ether (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter $NaCl$ -Lösung (50 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Hexyl-9-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonylmalonsäurediethylester – (75)

Summenformel:	$C_{27}H_{50}O_6$	
M_G (g/mol):	470,66	
Ausbeute:	85% (16,37 g)	
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit	
R_f :	LM 4: 0,34	
ESI-MS (m/z):	positiv: 493,3 $[M + Na]^+$	
EA: ber.(%):	C 68,90, H 10,71	
gef.(%):	C 68,81, H 10,83	
1H -NMR:	400 MHz, $CDCl_3$: δ [ppm] = 0,86 (t, $^3J_{H,H} = 6,6$ Hz, 3 H, $-(CH_2)_5CH_3$), 1,09-1,15 (m, 4 H, $(-OOC)_2C(CH_2CH_2)_2$), 1,21-1,38 (m, 16 H, $-(CH_2)_3CH_3$, $-O(CH_2)_2(CH_2)_5-$), 1,23 (t, $^3J_{H,H} = 7,1$ Hz, 6 H, $2 \times -OCH_2CH_3$), 1,49-1,62 (m, 6 H, $-(CH_2)_7CH_2CH_2OCH-CH_2(CH_2)_2CH_2-$), 1,67-1,74 (m, 1 H, $-OCH-$)	

$^1\text{H-NMR}$: 1,78-1,86 (m, 5 H, $-\text{OCH-CHH}'-$, $(-\text{OOC})_2\text{C}(\text{CH}_2)_2$), 3,37 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,5 \text{ Hz}$ $^3J_{\text{H,H}} = 6,7 \text{ Hz}$, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8 \text{CHH}'\text{O-}$), 3,46-3,51 (m, 1 H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3 \text{CHH}'\text{O-}$), 3,71 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,4 \text{ Hz}$ $^3J_{\text{H,H}} = 6,9 \text{ Hz}$, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8 \text{CHH}'\text{O-}$), 3,82-3,89 (m, 1 H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3 \text{CHH}'\text{O-}$), 4,16 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 7,1 \text{ Hz}$, 4 H, $2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4,55-4,57 (m, 1 H, $-\text{OCH-O-}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 14,16$ ($\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5-$), 14,25 ($2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 19,84 ($-\text{OCH-CH}_2\text{CH}_2-$), 22,69 ($\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4-$), 24,01 und 24,05 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH-CH}_2\text{CH}_2-$), 25,66 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH-O-}$), 26,38 ($-(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O-}$), 29,43, 29,59, 29,62, 29,65, 29,90, 29,99 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 30,94 ($-\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH-O-}$), 31,66 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 32,28 ($-\text{CH}_2\text{CH-CH}_2-$), 57,69 ($>\text{C}(\text{COO-})_2$), 61,02 ($2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 62,47 ($-\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH-O-}$), 67,80 ($-(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{O-}$), 98,98 ($-\text{OCH-O-}$), 172,16 ($2 \times -\text{COO-}$)

6,6,6- D_3 -Hexyl-9-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]nonylmalonsäurediethylester – (76)

Summenformel: $\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{D}_3\text{O}_6$

M_G (g/mol): 473,68

Ausbeute: 83% (15,90 g)

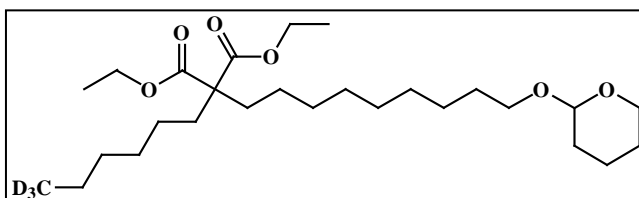
Aussehen: klare farblose Flüssigkeit

R_f : LM 4: 0,40

ESI-MS (m/z): positiv: 444,2 [$\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5$] $^+$, 496,3 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 1,09$ -1,16 (m, 4 H, $2 \times (-\text{OOC})_2\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$), 1,21-1,35 (m, 16 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_3-$, $-(\text{CH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{O-}$), 1,23 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,1 \text{ Hz}$, 6 H, $2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1,48-1,62 (m, 6 H, $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH-CH}_2(\text{CH}_2)_2-$), 1,68-1,74 (m, 1 H, $-\text{OCH-CHH}'-$), 1,79-1,87 (m, 5 H, $-\text{OCH-CHH}'-$, $(-\text{OOC})_2\text{C}(\text{CH}_2)_2$), 3,37 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6 \text{ Hz}$ $^3J_{\text{H,H}} = 6,7 \text{ Hz}$, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8 \text{CHH}'\text{O-}$), 3,46-3,52 (m, 1 H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3 \text{CHH}'\text{O-}$), 3,71 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6 \text{ Hz}$ $^3J_{\text{H,H}} = 6,9 \text{ Hz}$, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8 \text{CHH}'\text{O-}$), 3,83-3,89 (m, 1 H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3 \text{CHH}'\text{O-}$), 4,16 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 7,1 \text{ Hz}$, 4 H, $2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4,55-4,57 (m, 1 H, $-\text{OCH-O-}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 14,25$ ($2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 19,84 ($-\text{OCH-CH}_2\text{CH}_2-$), 22,42 ($\text{D}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4-$), 24,01 und 24,05 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH-CH}_2\text{CH}_2-$), 25,66 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH-O-}$), 26,38 ($-(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O-}$), 29,43, 29,59, 29,62, 29,67, 29,90, 29,99 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 30,94 ($-\text{OCH-CH}_2-$), 31,58 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 32,27 ($-\text{CH}_2\text{CH-CH}_2-$), 57,69 ($>\text{C}(\text{COO-})_2$), 61,02 ($2 \times -\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 62,47 ($-\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH-O-}$), 67,80 ($-(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{O-}$), 98,98 ($-\text{OCH-O-}$), 172,16 ($2 \times -\text{COO-}$)



5.6.3 Darstellung der (2RS)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester

Zu einer Lösung von Dialkylmalonsäureester **75,76** (15,0 g, 32 mmol) in 96% Ethanol (80 ml) wurde KOH (2,53 g, 38,4 mmol) hinzugegeben und für 24 h bei 65 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde gesättigte NH_4Cl -Lösung (80 ml) hinzugegeben und der Ansatz dreimal mit Ether

(80 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (50 ml) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie. Dabei wurden zunächst mit Hilfe von CHCl₃ und TEA (99/1 V/V) die Nebenprodukte abgetrennt, bevor mit einem Gemisch aus CHCl₃ und MeOH (9/1 V/V) die Monosäure eluiert wurde. Die Monosäure wurde mit TEA (4,44 ml, 32 mmol) und Pyridin (1 Tropfen) in Cumol (160 ml) für 2 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsvakuumverdampfer abgezogen. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

(2RS)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester – (77)

Summenformel: C₂₄H₄₆O₄

M_G (g/mol): 398,60

Ausbeute: 74% (9,40 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 4: 0,44

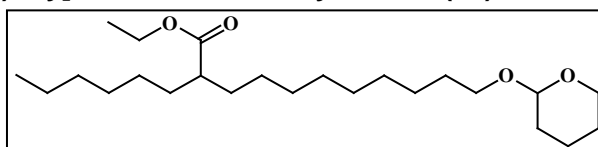
ESI-MS (m/z): positiv: 421,3 [M + Na]⁺

EA: ber.(%): C 72,31, H 11,63

gef.(%): C 72,41, H 11,92

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,87 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, H₃C(CH₂)₅-), 1,23-1,45 (m, 22 H, H₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₆-), 1,25 (t, ³J_{H,H} = 7,1 Hz, 3 H, -OCH₂CH₃), 1,50-1,62 (m, 8 H, -CHH'CH-CHH'(CH₂)₆CH₂CH₂OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,73 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,79-1,86 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 2,26-2,32 (m, 1 H, -CH₂CH-CH₂-), 3,37 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH₂)₈CHH'O-), 3,47-3,51 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 3,72 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH₂)₈CHH'O-), 3,84-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 4,13 (q, ³J_{H,H} = 7,1 Hz, 2 H, -OCH₂CH₃), 4,56-4,57 (m, 1 H, -OCH-O-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,19 (H₃C(CH₂)₅-), 14,50 (-OCH₂CH₃), 19,86 (-OCH-CH₂CH₂-), 22,72 (H₃CCH₂(CH₂)₄-), 25,67 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,38 (-(CH₂)₆CH₂(CH₂)₂O-), 27,54 und 27,58 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,36, 29,57, 29,60, 29,65, 29,69, 29,91 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄CH₂CH₂-), 30,95 (-OCH-CH₂-), 31,83 (H₃CCH₂CH₂-), 32,67 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 45,93 (-CH₂CH-CH₂-), 60,05 (-OCH₂CH₃), 62,48 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,83 (-(CH₂)₈CH₂O-), 98,99 (-OCH-O-), 176,74 (-COO-)



(2RS)-2-(6,6,6-D₃-Hexyl)-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäureethylester – (78)

Summenformel: C₂₄H₄₃D₃O₄

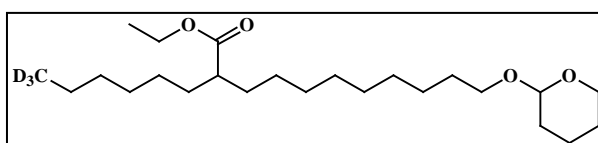
M_G (g/mol): 401,62

Ausbeute: 83% (10,56 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 4: 0,34

ESI-MS (m/z): positiv: 424,3 [M + Na]⁺



$^1\text{H-NMR}$:	400 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 1,23-1,45 (m, 22 H, $\text{D}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{CHH}'\text{CH}-\text{CHH}'(\text{CH}_2)_6-$), 1,24 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,1$ Hz, 3 H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1,48-1,61 (m, 8 H, $-\text{CHH}'\text{CH}-\text{CHH}'(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2-$), 1,68-1,74 (m, 1 H, $-\text{OCH}-\text{CHH}'-$), 1,78-1,86 (m, 1 H, $-\text{OCH}-\text{CHH}'-$), 2,25-2,32 (m, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2-$), 3,37 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6$ Hz $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8\text{CHH}'\text{O}-$), 3,46-3,52 (m, 1 H, $-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_3\text{CHH}'\text{O}-$), 3,71 (dt, $^2J_{\text{H,H}} = 9,6$ Hz $^3J_{\text{H,H}} = 6,9$ Hz, 1 H, $-(\text{CH}_2)_8\text{CHH}'\text{O}-$), 3,83-3,89 (m, 1 H, $-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_3\text{CHH}'\text{O}-$), 4,12 (q, $^3J_{\text{H,H}} = 7,1$ Hz, 2 H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 4,55-4,57 (m, 1 H, $-\text{OCH}-\text{O}-$)
$^{13}\text{C-NMR}$:	100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 14,50 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 19,85 ($-\text{OCH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 22,45 ($\text{D}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4-$), 25,67 ($-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2-$), 26,37 ($-(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}-$), 27,53 und 27,57 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 29,37, 29,56, 29,59, 29,65, 29,68, 29,90 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}-(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 30,94 ($-\text{OCH}-\text{CH}_2-$), 31,75 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 32,66 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 45,92 ($-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2-$), 60,04 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 62,47 ($-\text{OCH}-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2-$), 67,82 ($-(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{O}-$), 98,98 ($-\text{OCH}-\text{O}-$), 176,73 ($-\text{COO}-$)

5.6.4 Darstellung der 2-[(10RS)-10-Methylhexadecyloxy]tetrahydro-2H-pyran

(2RS)-2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäure – (68)

Zu einer gerührten Suspension von NaH (60% in Paraffin, 0,90 g, 22,5 mmol) und Diisopropylamin (3,16 ml, 22,5 mmol) in abs. THF (22 ml) wurde unter Argonatmosphäre bei 0 °C eine Lösung von Octansäure (**67**) (3,24 g, 22,5 mmol) in abs. THF (8 ml) hinzuge tropft. Der Ansatz wurde auf 60 °C bis zum vollständigen Abschluss der Gasentwicklung erwärmt und anschließend auf -10 °C abgekühlt. Eine Lösung von n-Butyllithium (2,5 M in Hexan, 9 ml, 22,5 mmol) wurde hinzugegeben. Der Ansatz wurde innerhalb von 45 min auf 28 °C erwärmt, anschließend für 3 min bei 30 °C gerührt und für weitere 30 min bei 28 °C gerührt. Eine Lösung von 2-(9-Bromnonyloxy)tetrahydro-2H-pyran (**15**) (4,61 g, 15 mmol) in abs. THF (8 ml) wurde hinzugegeben und für weitere 12 h bei 28 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz auf 0 °C gekühlt und kalt gesättigte NH_4Cl -Lösung (40 ml) wurde hinzugegeben. Der Ansatz wurde dreimal mit Ether (45 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (50 ml) und gesättigter NaCl-Lösung (50 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingedunstet. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie. Dabei wurden zunächst mittels CHCl_3 und TEA (99/1 V/V) die Nebenprodukte abgetrennt, bevor mittels CHCl_3 und MeOH (9/1 V/V) die Säure eluiert wurde.

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_4$

M_G (g/mol): 370,55

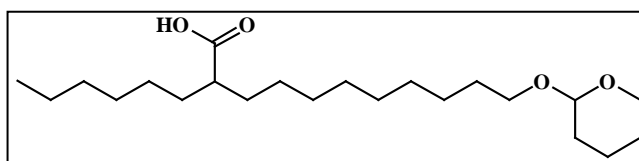
Ausbeute: 51% (2,82 g)

Aussehen: zähflüssige Substanz

R_f : LM 5: 0,13

LM 6: 0,55

ESI-MS (m/z): negativ: 369,5 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 739,3 $[2\text{M} - \text{H}]^-$



- ¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,87 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, H₃C(CH₂)₅-), 1,27-1,35 (m, 20 H, H₃C(CH₂)₄CH₂CH-CH₂(CH₂)₆-), 1,40-1,45 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,49-1,62 (m, 8 H, -CHH'CH-CHH'(CH₂)₆CH₂CH₂OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,74 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,79-1,86 (m, 1 H, -OCH-CHH-), 2,27-2,32 (m, 1 H, -CH₂CH-CH₂-), 3,38 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -CHH'OCH-O-), 3,48-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 3,72 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -CHHOCH-O-), 3,85-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHHO-), 4,57-4,59 (m, 1 H, -OCH-O-); zusätzlich vom TEA 1,23 (t, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, [HN(CH₂C₃)₃]⁺), 3,00 (q, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, [HN(CH₂C₃)₃]⁺)
- ¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,19 (H₃C-), 19,77 (-OCH-CH₂CH₂-), 22,74 (H₃CCH₂-), 25,64 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,35 (-(CH₂)₆CH₂(CH₂)₂O-), 27,59 und 27,61 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,43, 29,56, 29,56, 29,65, 29,73, 29,86 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄CH₂CH₂-), 30,90 (-OCH-CH₂-), 31,85 (H₃CCH₂CH₂-), 32,57 und 32,58 (-CH₂CH-CH₂-), 44,82 (-CH₂CH-CH₂-), 62,40 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,81 (-(CH₂)₈CH₂O-), 98,83 (-OCH-O-), 181,91 (-COOH); zusätzlich vom TEA 8,59 ([HN(CH₂C₃)₃]⁺), 46,19 ([HN(CH₂C₃)₃]⁺)

Methode E: Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1A aus den 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäureestern **77,78** (4,50 g, 11 mmol). Für die Verbindungen **79,81** wurde mit LiAlH₄ reduziert und für die Verbindungen **80,82** mit LiAlD₄. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Methode F: Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1A aus den 2-Hexyl-11-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]undecansäure (**68**) (1,11 g, 3 mmol). Abweichend zur Vorschrift wurde für die erste Reduktionsreaktion 0,9 Äquivalente des Reduktionsmittels verwendet. Für die Verbindung **79** wurde mit LiAlH₄ reduziert und für die Verbindungen **80** mit LiAlD₄. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

2-[(10RS)-10-Methylhexadecyloxy]tetrahydro-2H-pyran – (79)

Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.¹⁶³

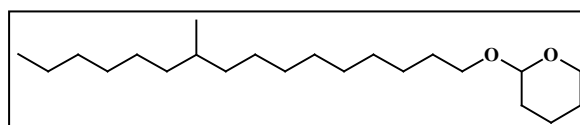
Summenformel: C₂₂H₄₄O₂

M_G (g/mol): 340,57

Ausbeute: Methode E: 75% (2,88 g);

Methode F: 42% (0,43 g)

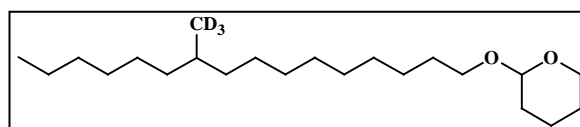
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit



2-[(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecyloxy]tetrahydro-2H-pyran – (80)

Summenformel: C₂₂H₄₁D₃O₂

M_G (g/mol): 343,59



Ausbeute:	Methode E: 70% (2,69 g); Methode F: 39% (0,40 g)
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit
R _f :	LM 4: 0,43
ESI-MS (m/z):	366,2 [M + Na] ⁺
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,87 (t, ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 3 H, H ₃ C(CH ₂) ₅ -), 1,04-1,08 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,21-1,38 (m, 23 H, H ₃ C(CH ₂) ₄ CHH'CH-CHH'(CH ₂) ₆ -), 1,48-1,62 (m, 6 H, -(CH ₂) ₆ CH ₂ CH ₂ OCH-CH ₂ (CH ₂) ₂ -), 1,68-1,74 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,80-1,86 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 3,38 (dt, ² J _{H,H} = 9,6 Hz ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH ₂) ₈ CHH'O-), 3,47-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH ₂) ₃ CHH'O-), 3,73 (dt, ² J _{H,H} = 9,6 Hz ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH ₂) ₈ CHH'O-), 3,85-3,89 (m, 1 H, -OCH-(CH ₂) ₃ CHH'O-), 4,56-4,58 (m, 1 H, -OCH-O-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 14,27 (H ₃ C(CH ₂) ₅ -), 19,86 (-OCH-CH ₂ CH ₂ -), 22,85 (H ₃ CCH ₂ (CH ₂) ₄ -), 25,69 (-OCH-(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 26,41 (-(CH ₂) ₆ CH ₂ (CH ₂) ₂ O-), 27,21 und 27,24 (-CH ₂ CH ₂ CH-CH ₂ CH ₂ -), 29,66, 29,77, 29,82, 29,86, 29,93, 30,17 (-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH-(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₄ CH ₂ CH ₂ -), 30,96 (-OCH-CH ₂ -), 32,12 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,68 (-CH-CD ₃), 37,20 (-CH ₂ CH-CH ₂ -), 62,48 (-OCH-(CH ₂) ₃ CH ₂ -), 67,86 (-(CH ₂) ₈ CH ₂ O-), 98,99 (-OCH-O-)

2-[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-Methylhexadecyloxy]tetrahydro-2*H*-pyran – (81)

Summenformel: C₂₂H₄₁D₃O₂

M_G (g/mol): 343,59

Ausbeute: Methode E: 79% (3,04 g)

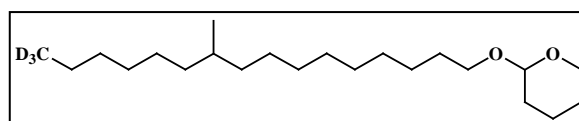
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 4: 0,38

ESI-MS (m/z): 366,2 [M + Na]⁺, 709,0 [2M + Na]⁺

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,83 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 1,04-1,11 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,26-1,36 (m, 23 H, D₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₆-), 1,50-1,63 (m, 6 H, -(CH₂)₆CH₂CH₂OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,75 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 1,79-1,87 (m, 1 H, -OCH-CHH'-), 3,38 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH₂)₈CHH'O-), 3,47-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 3,73 (dt, ²J_{H,H} = 9,6 Hz ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH₂)₈CHH'O-), 3,84-3,90 (m, 1 H, -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 4,56-4,57 (m, 1 H, -OCH-O-)

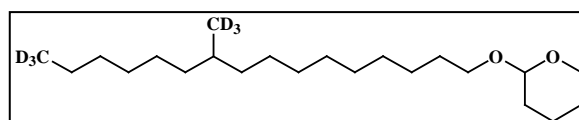
¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,86 (-OCH-CH₂CH₂-), 19,88 (-CH-CH₃), 22,85 (D₃CCH₂-), 25,69 (-OCH-(CH₂)₂CH₂-), 26,41 (-(CH₂)₆CH₂(CH₂)₂O-), 27,21 und 27,24 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,66, 29,77, 29,82, 29,87, 29,93, 30,17 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄CH₂CH₂-), 30,96 (-OCH-CH₂-), 32,04 (D₃CCH₂CH₂-), 32,92 (-CH-CH₃), 37,26 und 37,27 (-CH₂CH-CH₂-), 62,48 (-OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,86 (-(CH₂)₈CH₂O-), 98,99 (-OCH-O-)



2-[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(Methyl-D₃)hexadecyloxy]tetrahydro-2*H*-pyran – (82)

Summenformel: C₂₂H₃₈D₆O₂

M_G (g/mol): 346,61



Ausbeute:	Methode E: 72% (2,80 g)
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit
R _f :	LM 4: 0,35
ESI-MS (m/z):	369,9 [M + Na] ⁺ , 715,6 [2M + Na] ⁺
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,04-1,08 (m, 2 H, - CHH' CH- CHH' -), 1,26-1,36 (m, 23 H, D ₃ C(CH ₂) ₄ CHHCH-CHH(CH ₂) ₆ -), 1,49-1,63 (m, 6 H, -(CH ₂) ₆ CH ₂ CH ₂ OCH-CH ₂ (CH ₂) ₂ -), 1,68-1,75 (m, 1 H, -OCH- CHH' -), 1,79-1,87 (m, 1 H, -OCH- CHH' -), 3,38 (dt, ² J _{H,H} = 9,6 Hz ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 1 H, -(CH ₂) ₈ CHH'O -), 3,47-3,52 (m, 1 H, -OCH-(CH ₂) ₃ CHH'O -), 3,73 (dt, ² J _{H,H} = 9,6 Hz ³ J _{H,H} = 6,9 Hz, 1 H, -(CH ₂) ₈ CHH'O -), 3,84-3,90 (m, 1 H, -OCH-(CH ₂) ₃ CHH'O -), 4,56-4,58 (m, 1 H, -OCH-O-)
¹³ C-NMR:	100 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 19,87 (-OCH-CH ₂ CH ₂ -), 22,59 (D ₃ CCH ₂ -), 25,69 (-OCH-(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 26,41 (-(CH ₂) ₆ CH ₂ (CH ₂) ₂ O-), 27,21 und 27,24 (-CH ₂ CH ₂ CH-CH ₂ CH ₂ -), 29,66, 29,77, 29,82, 29,88, 29,93, 30,17 (-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH-(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₄ CH ₂ CH ₂ -), 30,96 (-OCH-CH ₂ -), 32,04 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,68 (-CH-CD ₃), 37,20 (-CH ₂ CH-CH ₂ -), 62,48 (-OCH-(CH ₂) ₃ CH ₂ -), 67,86 (-(CH ₂) ₈ CH ₂ O-), 99,00 (-OCH-O-)

5.6.5 Darstellung der (10RS)-10-Methylhexadecanole

Zur THP-Schutzgruppenabspaltung wurden die THP-geschützten Alkohole **79-82** (6 mmol) und katalytische Mengen von Pyridiniumtosylat in abs. Methanol (120 ml) für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Ansatz eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/CHCl₃-Gradienten steigender Polarität gereinigt.

(10RS)-10-Methylhexadecanol – (83)

Summenformel: C₁₇H₃₆O

M_G (g/mol): 256,46

Ausbeute: 97% (1,53 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 5: 0,27

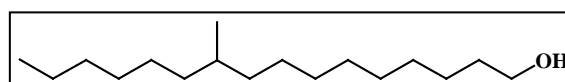
EI-MS (m/z): 256 [1%, M⁺], 238 [4%, M-H₂O⁺]

EA: ber.(%): C 79,61, H 14,15

gef.(%): C 79,54, H 14,14

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,83 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-**CH**₃), 0,87 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, **H**₃C(CH₂)₅-), 1,03-1,08 (m, 2 H, -**CHH'**CH-**CHH'**-), 1,20-1,35 (m, 23 H, H₃C(**CH**₂)₄**CHHCH-CHH(CH**₂)₆-), 1,52-1,59 (m, 2 H, -(CH₂)₆**CH**₂CH₂OH), 3,62 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -**CH**₂OH)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,24 (H₃C(CH₂)₅-), 19,84 (-CH-**CH**₃), 22,84 (H₃CCH₂(CH₂)₄-), 25,90 (-CH₂(CH₂)₂OH), 27,19 und 27,22 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,60, 29,78, 29,79, 29,79, 29,84, 30,15 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄-), 32,10 (H₃CCH₂CH₂-), 32,90 (-CH-CH₃), 32,92 (-CH₂CH₂OH), 37,24 und 37,25 (-CH₂CH-CH₂-), 63,14 (-CH₂OH)

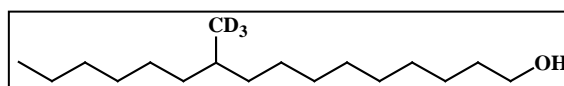


(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecanol – (84)Summenformel: C₁₇H₃₃D₃OM_G (g/mol): 259,48

Ausbeute: 96% (1,52 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

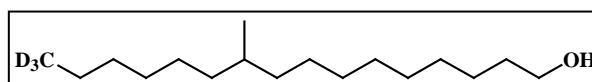
R_f: LM 5: 0,28
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 3 H, H₃C(CH₂)₅-), 1,04-1,11 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,21-1,40 (m, 23 H, H₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₆-), 1,53-1,60 (m, 2 H, -(CH₂)₆CH₂CH₂OH), 3,64 (t, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, 2 H, -CH₂OH)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,27 (H₃C(CH₂)₅-), 22,85 (H₃CCH₂-), 25,90 (-CH₂(CH₂)₂OH), 27,21 und 27,23 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,60, 29,78, 29,79, 29,86, 30,16 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄-), 32,10 (H₃CCH₂CH₂-), 32,67 (-CH-CD₃), 32,98 (-CH₂CH₂OH), 37,19 (-CH₂CH-CH₂-), 63,25 (-CH₂OH)
**16,16,16-D₃-(10RS)-10-Methylhexadecanol – (85)**Summenformel: C₁₇H₃₃D₃OM_G (g/mol): 259,48

Ausbeute: 97% (1,53 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

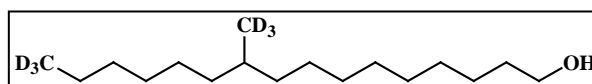
R_f: LM 5: 0,33
¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,83 (d, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 1,03-1,11 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,20-1,38 (m, 23 H, D₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₆-), 1,54-1,59 (m, 2 H, -CH₂CH₂OH), 3,64 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -CH₂OH)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,87 (-CH-CH₃), 22,58 (D₃CCH₂(CH₂)₄-), 25,90 (-CH₂(CH₂)₂OH), 27,21 und 27,23 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,60, 29,78, 29,79, 29,87, 30,16 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄-), 32,03 (D₃CCH₂CH₂-), 32,91 (-CH-CH₃), 32,98 (-CH₂CH₂OH), 37,25 und 37,26 (-CH₂CH-CH₂-), 63,25 (-CH₂OH)
**16,16,16-D₃-(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecanol – (86)**Summenformel: C₁₇H₃₀D₆OM_G (g/mol): 262,49

Ausbeute: 97% (1,54 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 5: 0,30
¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,04-1,08 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,21-1,36 (m, 23 H, D₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₆-), 1,53-1,59 (m, 2 H, -CH₂CH₂OH), 3,63 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -CH₂OH)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 22,58 (D₃CCH₂(CH₂)₄-), 25,90 (-CH₂(CH₂)₂OH), 27,21 und 27,23 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,60, 29,78, 29,79,


29,87, 30,16 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₄-), 32,03 (D₃CCH₂CH₂-), 32,67 (-CH-CD₃), 32,92 (-CH₂CH₂OH), 37,19 (-CH₂CH-CH₂-), 63,20 (-CH₂OH)

5.6.6 Darstellung der (10RS)-10-Methylhexadecansäuren

Die Darstellung erfolgte entsprechend DOBNER¹¹⁶, dazu wurden die Alkohole **83-86** (5,8 mmol) in Aceton (65 ml) zu einer gekühlten Suspension von CrO₃ (1,45 g, 14,5 mmol) in 10 N H₂SO₄ (7,25 ml) getropft. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Ether-Gradienten steigender Polarität gereinigt.

(10RS)-10-Methylhexadecansäure – (87)

Summenformel: C₁₇H₃₄O₂

M_G (g/mol): 270,44

Ausbeute: 69% (1,05 g)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 6: 0,31

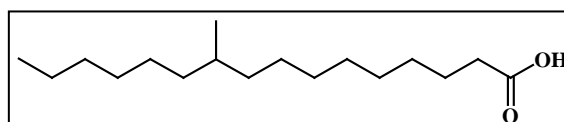
ESI-MS (m/z): 269,4 [M - H]⁻, 539,0 [2M - H]⁻

EA: ber.(%): C 75,50, H 12,67

gef.(%): C 75,49, H 12,67

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,84 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, H₃C(CH₂)₅-), 1,09-1,11 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,21-1,36 (m, 21 H, H₃C(CH₂)₄CHHCH-CHH(CH₂)₅-), 1,60-1,67 (m, 2 H, -CH₂CH₂COOH), 2,35 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COOH)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,27 (H₃C(CH₂)₅-), 19,87 (-CH-CH₃), 22,86 (H₃CCH₂(CH₂)₄-), 24,85 (-CH₂CH₂COOH), 27,20 und 27,21 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,23, 29,41, 29,63, 29,86, 30,09 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-), 32,12 (H₃CCH₂CH₂-), 32,91 (-CH-CH₃), 34,15 (-CH₂COOH), 37,23 und 37,26 (-CH₂CH-CH₂-), 179,93 (-COOH)



(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecansäure – (88)

Summenformel: C₁₇H₃₁D₃O₂

M_G (g/mol): 273,46

Ausbeute: 70% (1,11 g)

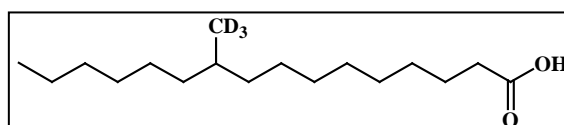
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 6: 0,42

ESI-MS (m/z): 272,5 [M - H]⁻, 545,1 [2M - H]⁻

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, H₃C(CH₂)₅-), 1,04-1,09 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,22-1,36 (m, 21 H, H₃C(CH₂)₄CHHCH-CHH(CH₂)₅-), 1,60-1,67 (m, 2 H, -CH₂CH₂COOH), 2,35 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COOH)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,27 (H₃C(CH₂)₅-), 22,86 (H₃CCH₂-), 24,85 (-CH₂CH₂COOH), 27,20 und 27,21 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,23, 29,41, 29,63, 29,86, 30,09 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-), 32,12 (H₃CCH₂CH₂-),



32,67 (-CH-CD₃), 34,21 (-CH₂COOH), 37,17 und 37,19 (-CH₂CH-CH₂-), 180,18 (-COOH)

16,16,16-D₃-(10RS)-10-Methylhexadecansäure – (89)

Summenformel: C₁₇H₃₁D₃O₂

M_G (g/mol): 273,46

Ausbeute: 72% (1,14 g)

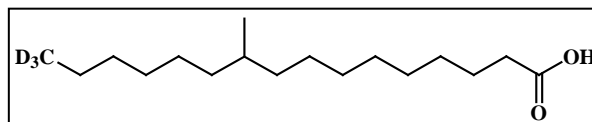
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 6: 0,59

ESI-MS (m/z): 272,9 [M - H]⁻, 545,5 [2M - H]⁻

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,84 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 1,02-1,09 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,26-1,36 (m, 21 H, D₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₅-), 1,60-1,67 (m, 2 H, -CH₂CH₂COOH), 2,35 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COOH)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,87 (-CH-CH₃), 22,59 (D₃CCH₂(CH₂)₄-), 24,84 (-CH₂CH₂COOH), 27,20 und 27,21 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,23, 29,41, 29,63, 29,87, 30,09 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-), 32,04 (D₃CCH₂CH₂-), 32,91 (-CH-CH₃), 34,18 (-CH₂COOH), 37,23 und 37,26 (-CH₂CH-CH₂-), 179,95 (-COOH)



16,16,16-D₃-(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecansäure – (90)

Summenformel: C₁₇H₂₈D₆O₂

M_G (g/mol): 276,48

Ausbeute: 74% (1,18 g)

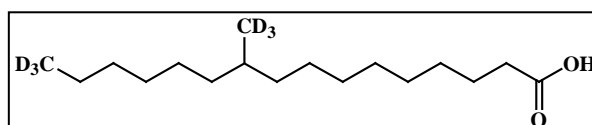
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

R_f: LM 6: 0,53

ESI-MS (m/z): 275,7 [M - H]⁻

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,04-1,08 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,26-1,34 (m, 21 H, D₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₅-), 1,60-1,66 (m, 2 H, -CH₂CH₂COOH), 2,35 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COOH)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 22,59 (D₃CCH₂(CH₂)₄-), 24,85 (-CH₂CH₂COOH), 27,20 und 27,21 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 29,23, 29,41, 29,63, 29,88, 30,09 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-), 32,04 (D₃CCH₂CH₂-), 32,67 (-CH-CD₃), 34,16 (-CH₂COOH), 37,17 und 37,20 (-CH₂CH-CH₂-), 179,89 (-COOH)



5.6.7 Darstellung des Triacontan-1,30-diol – (91)

Die Verbindung wurde entsprechend DRESCHER et al.¹⁴⁰ aus 2-(15-Brompentadecyloxy)-tetrahydro-2H-pyran (**16**) dargestellt. Die analytischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁴⁰

5.6.8 Darstellung der (10RS)-10-Methylhexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)ester

Ein Gemisch aus 10-Methylhexadecansäure **87-90** (2,3 mmol) und frisch destilliertem Thionylchlorid (1,67 ml, 23 mmol) wurde für 4 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend für 12 h unter Argonatmosphäre weitergerührt. Der Überschuss an Thionylchlorid wurde unter reduziertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde über KOH getrocknet, in CHCl_3 (20 ml) aufgenommen und tropfenweise über 90 min zu einer siedenden Lösung von Triacontan-1,30-diol (**91**) (3,14 g, 6,9 mmol) in CHCl_3 (140 ml) hinzugegeben. Die Lösung wurde für 6 h weiter unter Rückfluss erhitzt. Für eine vollständige Kristallisation des überschüssigen Diols **91** wurde der Ansatz für 3 h bei Raumtemperatur stehen gelassen und der gebildete Niederschlag abfiltriert. Der Filter wurde dreimal mit CHCl_3 (20 ml) gewaschen. Das Filtrat wurde am Rotationsvakuumverdampfer eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/ CHCl_3 -Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

(10RS)-10-Methylhexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)ester – (92)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{94}\text{O}_3$

M_G (g/mol): 707,22

Ausbeute: 82% (1,34 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f : LM 4: 0,15

LM 5: 0,33

F_p : 70,5-71 °C

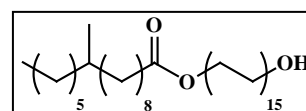
ESI-MS (m/z): 707,4 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 729,6 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1435,6 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$

EA: ber.(%): C 79,82, H 13,40

gef.(%): C 79,51, H 13,55

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 0,83 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6,6$ Hz, 3 H, $-\text{CH}-\text{CH}_3$), 0,88 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,9$ Hz, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5-$), 1,04-1,44 (m, 75 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{CH}(\text{CH}_2)_6-$, $-(\text{CH}_2)_{26}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$), 1,54-1,64 (m, 6 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2,29 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COO}-$), 3,64 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,6$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 4,05 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 2 H, $-\text{COOCH}_2-$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : δ [ppm] = 14,27 ($\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5-$), 19,87 ($-\text{CH}-\text{CH}_3$), 22,86 ($\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4-$), 25,20 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}-$), 25,91 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OH}$), 26,10 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2-$), 27,21 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 28,83, 29,34, 29,42, 29,45, 29,60, 29,67, 29,69, 29,74, 29,76, 29,78, 29,81, 29,82, 29,84, 29,86, 30,11 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$), 32,12 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 32,91 ($-\text{CH}-\text{CH}_3$), 32,99 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 34,59 ($-\text{CH}_2\text{COO}-$), 37,25 und 37,27 ($-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2-$), 63,27 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 64,56 ($-\text{COOCH}_2-$), 174,16 ($-\text{COO}-$)

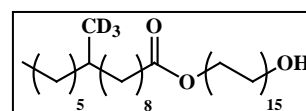


(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)ester – (93)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{91}\text{D}_3\text{O}_3$

M_G (g/mol): 710,24

Ausbeute: 83% (1,36 g)



Aussehen:	weißer Feststoff
R _f :	LM 4: 0,20 LM 5: 0,37
F _p :	70-70,5 °C
EI-MS (m/z):	710 [5%, M ⁺]
ESI-MS (m/z):	732,8 [M + Na] ⁺
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,88 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 3 H, H ₃ C(CH ₂) ₅ -), 1,04-1,43 (m, 75 H, H ₃ C(CH ₂) ₅ CH-(CH ₂) ₆ -, -(CH ₂) ₂₆ (CH ₂) ₂ OH), 1,53-1,64 (m, 6 H, -CH ₂ CH ₂ COOCH ₂ CH ₂ -, -CH ₂ CH ₂ OH), 2,28 (t, ³ J _{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH ₂ COO-), 3,64 (t, ³ J _{H,H} = 6,6 Hz, 2 H, -CH ₂ OH), 4,05 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COOCH ₂ -)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 14,27 (H ₃ C(CH ₂) ₅ -), 22,85 (H ₃ CCH ₂ (CH ₂) ₄ -), 25,20 (-CH ₂ CH ₂ COO-), 25,90 (-CH ₂ (CH ₂) ₂ OH), 26,10 (-COO(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 27,21 (-CH ₂ CH ₂ CH-CH ₂ CH ₂ -), 28,82, 29,33, 29,41, 29,44, 29,59, 29,67, 29,69, 29,74, 29,76, 29,77, 29,81, 29,82, 29,84, 29,86, 30,11 (-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH-(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₅ -, -CH ₂ CH ₂ (CH ₂) ₂₄ (CH ₂) ₃ OH), 32,12 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 32,68 (-CH-CD ₃), 32,98 (-CH ₂ CH ₂ OH), 34,58 (-CH ₂ COO-), 37,18 und 37,20 (-CH ₂ CH-CH ₂ -), 63,24 (-CH ₂ OH), 64,55 (-COOCH ₂ -), 174,16 (-COO-)

16,16,16-D₃-(10RS)-10-Methylhexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)- ester – (94)

Summenformel: C₄₇H₉₁D₃O₃

M_G (g/mol): 710,24

Ausbeute: 84% (1,38 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 4: 0,20

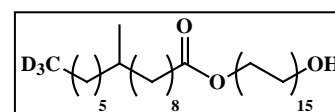
LM 5: 0,35

F_p: 70-70,5 °C

ESI-MS (m/z): 711,0 [M + H]⁺, 732,8 [M + Na]⁺

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,83 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 1,04-1,44 (m, 75 H, D₃C(CH₂)₅CH-(CH₂)₆-, -(CH₂)₂₆(CH₂)₂OH), 1,53-1,65 (m, 6 H, -CH₂CH₂COOCH₂CH₂-, -CH₂CH₂OH), 2,29 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,64 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -CH₂OH), 4,05 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COOCH₂-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,87 (-CH-CH₃), 22,59 (D₃CCH₂(CH₂)₄-), 25,20 (-CH₂CH₂COO-), 25,91 (-CH₂(CH₂)₂OH), 26,11 (-COO(CH₂)₂CH₂-), 27,21 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 28,83, 29,34, 29,42, 29,45, 29,60, 29,68, 29,69, 29,74, 29,76, 29,78, 29,82, 29,86, 30,11 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-, -CH₂CH₂(CH₂)₂₄(CH₂)₃OH), 32,03 (D₃CCH₂CH₂-), 32,92 (-CH-CH₃), 32,99 (-CH₂CH₂OH), 34,59 (-CH₂COO-), 37,25 und 37,27 (-CH₂CH-CH₂-), 63,27 (-CH₂OH), 64,56 (-COOCH₂-), 174,16 (-COO-)



16,16,16-D₃-(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecansäure-(30-hydroxytriacontan-1-yl)-ester – (95)
Summenformel: C₄₇H₈₈D₆O₃M_G (g/mol): 713,26

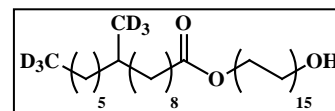
Ausbeute: 82% (1,34 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 4: 0,09

LM 5: 0,33

F_p: 69-70,5 °CESI-MS (m/z): 713,7 [M + H]⁺, 735,8 [M + Na]⁺, 1447,4 [2M + Na]⁺
¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,04-1,08 (m, 2 H, -CHH'CH-CHH'-), 1,25-1,43 (m, 73 H, D₃C(CH₂)₄CHH'CH-CHH'(CH₂)₅-, -(CH₂)₂₆(CH₂)₂OH), 1,54-1,64 (m, 6 H, -CH₂CH₂COOCH₂CH₂-, -CH₂CH₂OH), 2,29 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,64 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -CH₂OH), 4,05 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COOCH₂-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 22,59 (D₃CCH₂(CH₂)₄-), 25,20 (-CH₂CH₂COO-), 25,91 (-CH₂(CH₂)₂OH), 26,11 (-COO(CH₂)₂CH₂-), 27,22 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 28,83, 29,34, 29,42, 29,45, 29,60, 29,68, 29,69, 29,74, 29,76, 29,78, 29,81, 29,82, 29,84, 29,87, 30,12 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-, -CH₂CH₂(CH₂)₂₄(CH₂)₃OH), 32,04 (D₃C CH₂CH₂-), 32,68 (-CH-CD₃), 32,99 (-CH₂CH₂OH), 34,59 (-CH₂COO-), 37,18 und 37,20 (-CH₂CH-CH₂-), 63,27 (-CH₂OH), 64,55 (-COOCH₂-), 174,16 (-COO-)

5.6.9 Darstellung der 30-[[[(10RS)-10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäuren

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 3, dazu wurden die ω-veresterten Alkohole **92-95** (1,7 mmol) in einer Mischung aus Aceton (20 ml) und CHCl₃ (35 ml) zu einer gekühlten Suspension von CrO₃ (0,37 g, 3,7 mmol) in 10 N H₂SO₄ (1,90 ml) getropft. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/CHCl₃/Ether-Gradienten steigender Polarität.

30-[[[(10RS)-10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäure – (96)
Summenformel: C₄₇H₉₂O₄M_G (g/mol): 721,20

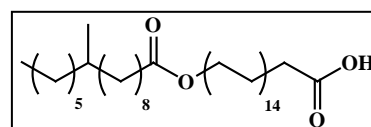
Ausbeute: 70% (0,86 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 5: 0,10F_p: 77-78 °CESI-MS (m/z): 719,7 [M - H]⁻

EA: ber.(%): C 78,27, H 12,86

gef.(%): C 78,09, H 12,61

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,83 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, H₃C(CH₂)₅-), 1,04-1,35 (m, 73 H, H₃C(CH₂)₅CH-(CH₂)₆-, -(CH₂)₂₅(CH₂)₂COOH), 1,58-1,67 (m, 6 H, -CH₂CH₂COOCH₂CH₂-,


$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 14,28$ ($\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5^-$), 19,87 ($-\text{CH}-\text{CH}_3$), 22,86 ($\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4^-$), 24,86 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 25,20 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2^-$), 26,10 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2^-$), 27,21 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2^-$), 28,82, 29,23, 29,33, 29,40, 29,42, 29,45, 29,60, 29,68, 29,69, 29,74, 29,80, 29,81, 29,84, 29,87, 30,12 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}-(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5^-$), $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 32,12 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 32,92 ($-\text{CH}-\text{CH}_3$), 33,92 ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), 34,60 ($-\text{CH}_2\text{COOCH}_2^-$), 37,25 und 37,27 ($-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2^-$), 64,58 ($-\text{COOCH}_2^-$), 174,21 ($-\text{COO}^-$), 178,58 ($-\text{COOH}$)

30- $\{[(10\text{RS})-10-(\text{Methyl-D}_3)\text{hexadecanoyl}]\text{oxy}\}$ triacontansäure – (97)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{89}\text{D}_3\text{O}_4$

M_G (g/mol): 724,22

Ausbeute: 68% (0,83 g)

Aussehen: weißer Feststoff

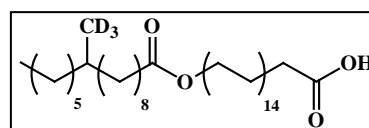
R_f : LM 5: 0,09

F_p : 76,5-77 °C

ESI-MS (m/z): 722,7 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 0,88$ (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,9$ Hz, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5^-$), 1,04-1,08 (m, 2 H, $-\text{CHH}'\text{CH}-\text{CHH}'-$), 1,25-1,35 (m, 71 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{CHH}'\text{CH}-\text{CHH}'(\text{CH}_2)_5^-$), $-(\text{CH}_2)_{25}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 1,59-1,66 (m, 6 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2^-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,29 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_2^-$), 2,35 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$), 4,06 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 2 H, $-\text{COOCH}_2^-$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 14,24$ ($\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5^-$), 22,83 ($\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4^-$), 24,84 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 25,17 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2^-$), 26,07 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2^-$), 27,19 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2^-$), 28,79, 29,20, 29,30, 29,38, 29,57, 29,65, 29,72, 29,84, 30,10 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}-(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5^-$), $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 32,10 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2^-$), 32,66 ($-\text{CH}-\text{CD}_3$), 34,14 ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), 34,56 ($-\text{CH}_2\text{COOCH}_2^-$), 37,17 ($-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2^-$), 64,54 ($-\text{COOCH}_2^-$), 174,18 ($-\text{COO}^-$), 179,39 ($-\text{COOH}$)



30- $\{[16,16,16\text{-D}_3-(10\text{RS})-10\text{-Methylhexadecanoyl}]\text{oxy}\}$ triacontansäure – (98)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{89}\text{D}_3\text{O}_4$

M_G (g/mol): 724,22

Ausbeute: 64% (0,78 g)

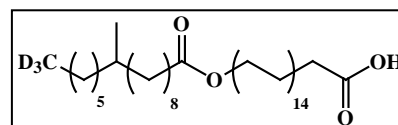
Aussehen: weißer Feststoff

R_f : LM 5: 0,14

F_p : 76-78 °C

ESI-MS (m/z): 746,8 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 722,8 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 0,83$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6,6$ Hz, 3 H, $-\text{CH}-\text{CH}_3$), 1,04-1,08 (m, 2 H, $-\text{CHH}'\text{CH}-\text{CHH}'-$), 1,25-1,35 (m, 71 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{CHH}'\text{CH}-\text{CHH}'(\text{CH}_2)_5^-$), $-(\text{CH}_2)_{25}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 1,58-1,66 (m, 6 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2$



$^{13}\text{C-NMR}$: CH_2 -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,29 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_2$ -), 2,35 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$), 4,05 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 2 H, $-\text{COOCH}_2$ -) 100 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 19,87$ ($-\text{CH}-\text{CH}_3$), 22,59 ($\text{D}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4$ -), 24,86 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 25,20 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2$ -), 26,10 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ -), 27,21 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 28,83, 29,23, 29,34, 29,40, 29,42, 29,45, 29,60, 29,68, 29,69, 29,74, 29,75, 29,81, 29,87, 30,11 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5$ -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 32,04 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2$ -), 32,92 ($-\text{CH}-\text{CH}_3$), 34,04 ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), 34,59 ($-\text{CH}_2\text{COOCH}_2$ -), 37,25 und 37,27 ($-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2$ -), 64,57 ($-\text{COOCH}_2$ -), 174,20 ($-\text{COO}$ -), 179,14 ($-\text{COOH}$)

30- $\{[16,16,16\text{-D}_3\text{-}(10\text{RS})\text{-}10\text{-}(\text{Methyl-D}_3)\text{hexadecanoyl}]\text{oxy}\}$ triacontansäure – (99)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{86}\text{D}_6\text{O}_4$

M_G (g/mol): 727,24

Ausbeute: 71% (0,87 g)

Aussehen: weißer Feststoff

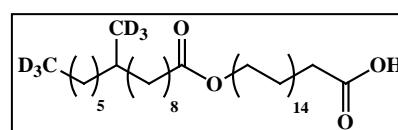
R_f : LM 5: 0,13

F_p : 76-78,5 °C

ESI-MS (m/z): 727,2 [M - H]⁻

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 1,04\text{-}1,08$ (m, 2 H, $-\text{CHHCH}-\text{CHH}'$ -), 1,25-1,35 (m, 71 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{CHHCH}-\text{CHH}(\text{CH}_2)_5$ -, $-(\text{CH}_2)_{25}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 1,58-1,67 (m, 6 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,29 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_2$ -), 2,35 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$), 4,06 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,7$ Hz, 2 H, $-\text{COOCH}_2$ -)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, CDCl_3 : $\delta[\text{ppm}] = 22,59$ ($\text{D}_3\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_4$ -), 24,86 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 25,20 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2$ -), 26,10 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ -), 27,21 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 28,83, 29,23, 29,34, 29,40, 29,42, 29,45, 29,60, 29,68, 29,69, 29,74, 29,75, 29,81, 29,82, 29,84, 29,87, 30,12 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5$ -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), 32,04 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2$ -), 32,68 ($-\text{CH}-\text{CD}_3$), 34,03 ($-\text{CH}_2\text{COOH}$), 34,60 ($-\text{CH}_2\text{COOCH}_2$ -), 37,20 ($-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2$ -), 64,58 ($-\text{COOCH}_2$ -), 174,20 ($-\text{COO}$ -), 178,96 ($-\text{COOH}$)



5.6.10 Darstellung der methylverzweigten Ceramide [EOS]

Abweichend zur IUPAC-Nomenklatur wurde die Benennung analog zu den Ceramiden [NS] und [AS] auf die Amid-Bindung der Ceramide bezogen.

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4a. Anschließend wurde der Ansatz zur Trockne eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl_3 /Methanol-Gradienten steigender Polarität

***N*-[*(2S,3R,4E)*-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[*(10RS)*-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOS] – (100)**

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[*(10RS)*-10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäure (**96**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel: C₆₅H₁₂₇NO₅

M_G (g/mol): 1002,67

Ausbeute: 88% (245 mg)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 8: 0,42

F_p: 84,5-86 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 1025,0 [M + Na]⁺, 984,9 [M - H₂O + H]⁺
negativ: 1001,0 [M - H]⁻

HR-MS: ber.: 1024,9606 Da (C₆₅H₁₂₇NO₅Na [M + Na]⁺)
gef.: 1024,9588 Da

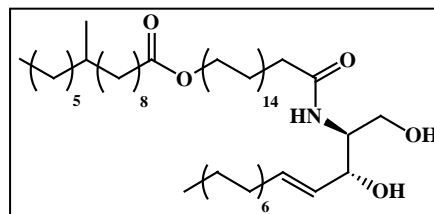
EA: ber.(%): C 77,86, H 12,77, N 1,40

gef.(%): C 77,90, H 13,09, N 1,50

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,83 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH₃), 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 6 H, 2x H₃CCH₂-), 1,04-1,38 (m, 95 H, H₃C(CH₂)₅CH-(CH₂)₆-, -(CH₂)₂₅(CH₂)₂CONH-, -(CH₂)₁₁CH₂CH=CH-), 1,57-1,64 (m, 6 H, -CH₂CH₂COOCH₂CH₂-, -CH₂CH₂CONH-), 2,02-2,07 (m, 2 H, -CH₂CH=CH-), 2,22 (t, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, -CH₂CONH-), 2,28 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COO-), 3,69 (dd, ²J_{H,H} = 10,6 Hz ³J_{H,H} = 2,5 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,88-3,95 (m, 2 H, -CH-CHH'OH), 4,05 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COOCH₂-), 4,28-4,31 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,52 (dd, ³J_{H,H} = 15,4 Hz ³J_{H,H} = 6,4 Hz, 1 H, -CH₂CH=CH-), 5,74-5,81 (m, 1 H, -CH₂CH=CH-), 6,28 (d, ³J_{H,H} = 7,2 Hz, 1 H, -CONH-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,26 (2x H₃CCH₂-), 19,85 (-CH-CH₃), 22,84 (2x H₃CCH₂-), 25,19 (-CH₂CH₂COO-), 25,92 (-CH₂CH₂CONH-), 26,10 (-COO(CH₂)₂CH₂-), 27,21 (-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-), 28,80, 29,30, 29,32, 29,39, 29,40, 29,43, 29,45, 29,51, 29,54, 29,66, 29,68, 29,73, 29,78, 29,81, 29,84, 29,86, 30,10 (-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-, -CH₂CH₂(CH₂)₂₄(CH₂)₂CONH-, -(CH₂)₉CH₂CH=), 32,07 und 32,11 (2x H₃CCH₂CH₂-), 32,44 (-CH₂CH=CH-), 32,90 (-CH-CH₃), 34,58 (-CH₂COO-), 36,99 (-CH₂CONH-), 37,23 und 37,25 (-CH₂CH-CH₂-), 54,73 (-CH-CH₂OH), 62,60 (-CH₂OH), 64,57 (-COOCH₂-), 74,65 (-CH=CHCHOH-), 128,97 (-CH₂CH=CH-), 134,32 (-CH₂CH=CH-), 174,11 (-CONH-), 174,21 (-COO-)

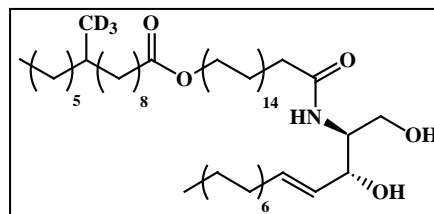
HPLC: Reinheit: t_R = 3,42 min; >99,5%



***N*-[*(2S,3R,4E)*-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[*(10RS)*-10-(methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOS] m-D₃ – (101)**

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[*(10RS)*-10-(Methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy]triacontansäure (**97**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel: $C_{65}H_{124}D_3NO_5$
 M_G (g/mol): 1005,69
 Ausbeute: 84% (233 mg)
 Aussehen: weißer Feststoff
 R_f : LM 8: 0,46
 F_p : 83-84 °C
 ESI-MS (m/z): positiv: 1027,9 [M + Na]⁺
 negativ: 1003,8 [M - H]⁻



HR-MS: ber.: 1027,9795 Da ($C_{65}H_{124}D_3NO_5Na$ [M + Na]⁺)
 gef.: 1027,9777 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 0,87-0,89 (m, 6 H, 2x H_3CCH_2 -), 1,04-1,08 (m, 2 H, $-CHH'CH-CHH'$ -), 1,25-1,38 (m, 93 H, $-(CH_2)_4CHH'CH-CHH'(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_{25}(CH_2)_2CONH-$, $-(CH_2)_{11}CH_2CH=CH-$), 1,58-1,67 (m, 6 H, $-CH_2CH_2COOCH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CONH-$), 2,04-2,08 (m, 2 H, $-CH_2CH=CH-$), 2,23 (t, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, $-CH_2CONH-$), 2,29 (t, ³J_{H,H} = 7,4 Hz, 2 H, $-CH_2COO-$), 3,71 (dd, ²J_{H,H} = 11,2 Hz ³J_{H,H} = 3,3 Hz, 1 H, $-CHH'OH$), 3,91 (dt, 2 H, ³J_{H,H} = 11,2 Hz ³J_{H,H} = 3,7 Hz, 1 H, $-CH-CH_2OH$), 3,96 (dd, 2 H, ²J_{H,H} = 11,2 Hz ³J_{H,H} = 3,8 Hz, 1 H $-CHHOH$), 4,05 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, $-COOCH_2-$), 4,31-4,33 (m, 1 H, $-CH=CHCHOH-$), 5,53 (dd, ³J_{H,H} = 15,5 Hz ³J_{H,H} = 6,4 Hz, 1 H, $-CH_2CH=CH-$), 5,76-5,81 (m, 1 H, $-CH_2CH=CH-$), 6,23 (d, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, 1 H, $-CONH-$)

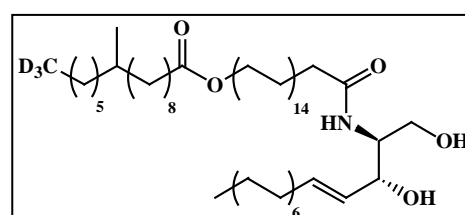
¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 14,27 (2x H_3CCH_2 -), 22,85 und 22,86 (2x H_3CCH_2 -), 25,20 ($-CH_2CH_2COO-$), 25,92 ($-CH_2CH_2CONH-$), 26,11 ($-COO(CH_2)_2CH_2-$), 27,22 ($-CH_2CH_2CH-CH_2CH_2-$), 28,83, 29,28, 29,34, 29,38, 29,42, 29,45, 29,52, 29,54, 29,65, 29,68, 29,69, 29,74, 29,78, 29,82, 29,85, 29,88, 30,12 ($-CH_2(CH_2)_2CH-(CH_2)_2(CH_2)_5-$, $-CH_2CH_2(CH_2)_{24}(CH_2)_2CONH-$, $-(CH_2)_9CH_2CH=CH-$), 32,09 und 32,12 (2x $H_3CCH_2CH_2-$), 32,44 ($-CH_2CH=CH-$), 32,68 ($-CH-CD_3$), 34,60 ($-CH_2COO-$), 37,02 ($-CH_2CONH-$), 37,18 und 37,20 ($-CH_2CH-CH_2-$), 54,69 ($-CH-CH_2OH$), 62,71 ($-CH_2OH$), 64,57 ($-COOCH_2-$), 74,87 ($-CH=CHCHOH-$), 128,98 ($-CH_2CH=CH-$), 134,47 ($-CH_2CH=CH-$), 174,03 ($-CONH-$), 174,19 ($-COO-$)

HPLC: Reinheit: t_R = 3,40 min; >98,5%

***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[16,16,16-*D*₃-(10*RS*)-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOS] e-*D*₃ – (102)**

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[16,16,16-*D*₃-(10*RS*)-10-(Methyl-*D*₃)hexadecanoyl]oxy]triacontansäure (**98**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel: $C_{65}H_{124}D_3NO_5$
 M_G (g/mol): 1005,69
 Ausbeute: 84% (235 mg)
 Aussehen: weißer Feststoff
 R_f : LM 8: 0,53
 F_p : 82,5-84 °C

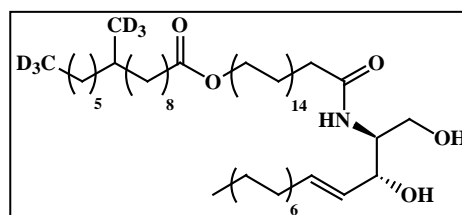


ESI-MS (m/z):	positiv: 1027,9 [M + Na] ⁺ negativ: 1003,7 [M - H] ⁻
HR-MS:	ber.: 987,9875 Da (C ₆₅ H ₁₂₃ D ₃ NO ₄ [M - H ₂ O + H] ⁺) gef.: 987,9852 Da ber.: 1027,9795 Da (C ₆₅ H ₁₂₄ D ₃ NO ₅ Na [M + Na] ⁺) gef.: 1027,9779 Da
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,83 (d, ³ J _{H,H} = 6,6 Hz, 3 H, -CH-CH ₃), 0,88 (t, ³ J _{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, H ₃ CCH ₂ -), 1,04-1,38 (m, 95 H, -(CH ₂) ₅ CH-(CH ₂) ₆ -, -(CH ₂) ₂₅ (CH ₂) ₂ CONH-, -(CH ₂) ₁₁ CH ₂ CH=CH-), 1,58-1,67 (m, 6 H, -CH ₂ CH ₂ COOCH ₂ CH ₂ -, -CH ₂ CH ₂ CONH-), 2,03-2,07 (m, 2 H, -CH ₂ CH=CH-), 2,23 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, -CH ₂ CONH-), 2,28 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, -CH ₂ COO-), 3,70 (dd, ² J _{H,H} = 11,7 Hz ³ J _{H,H} = 3,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,90 (dt, 2 H, ³ J _{H,H} = 11,3 Hz ³ J _{H,H} = 3,7 Hz, 1 H, -CH-CH ₂ OH), 3,96 (dd, 2 H, ² J _{H,H} = 11,2 Hz ³ J _{H,H} = 3,5 Hz, 1 H -CHH'OH), 4,05 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COOCH ₂ -, 4,30-4,32 (m, 1 H, -CH=CHCHOH-), 5,53 (dd, ³ J _{H,H} = 15,5 Hz ³ J _{H,H} = 6,3 Hz, 1 H, -CH ₂ CH=CH-), 5,75-5,81 (m, 1 H, -CH ₂ CH=CH-), 6,33 (d, ³ J _{H,H} = 4,5 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 14,28 (H ₃ CCH ₂ -), 19,87 (-CH-CH ₃), 22,59 (D ₃ CCH ₂ -), 22,85 (H ₃ CCH ₂ -), 25,20 (-CH ₂ CH ₂ COO-), 25,92 (-CH ₂ CH ₂ CONH-), 26,10 (-COO(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 27,21 (-CH ₂ CH ₂ CH-CH ₂ CH ₂ -), 28,81, 29,29, 29,33, 29,39, 29,42, 29,45, 29,47, 29,52, 29,55, 29,66, 29,68, 29,69, 29,74, 29,78, 29,82, 29,85, 29,87, 30,11 (-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH-(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₅ -, -CH ₂ CH ₂ (CH ₂) ₂₄ (CH ₂) ₂ CONH-, -(CH ₂) ₉ CH ₂ CH=CH-), 32,03 (D ₃ CCH ₂ CH ₂ -, 32,08 (H ₃ CCH ₂ CH ₂ -, 32,45 (-CH ₂ CH=CH-), 32,91 (-CH-CH ₃), 34,59 (-CH ₂ COO-), 37,00 (-CH ₂ CONH-), 37,24 und 37,26 (-CH ₂ CH-CH ₂ -), 54,69 (-CH-CH ₂ OH), 62,67 (-CH ₂ OH), 64,57 (-COOCH ₂ -), 74,82 (-CH=CHCHOH-), 129,03 (-CH ₂ CH=CH-), 134,31 (-CH ₂ CH=CH-), 174,01 (-CONH-), 174,20 (-COO-)
HPLC:	Reinheit: t _R = 2,63 min; >99,5%

***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(methyl-D₃)-hexadecanoyl]oxy}triacontanamid – CER[mEOS] e,m-D₆ – (103)**

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(Methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy}-triacontansäure (**99**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel:	C ₆₅ H ₁₂₁ D ₆ NO ₅
M _G (g/mol):	1008,70
Ausbeute:	93% (257 mg)
Aussehen:	weißer Feststoff
R _f :	LM 8: 0,52
F _p :	84-85,5 °C
ESI-MS (m/z):	positiv: 1030,8 [M + Na] ⁺ negativ: 1006,6 [M - H] ⁻



HR-MS:	ber.: 1030,9983 Da	(C ₆₅ H ₁₂₁ D ₆ NO ₅ Na [M + Na] ⁺)
	gef.: 1030,9970 Da	
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 0,88 (t, ³ J _{H,H} = 7,0 Hz, 3 H, H ₃ CCH ₂ -), 1,04-1,38 (m, 95 H, -(CH ₂) ₅ CH (CH ₂) ₆ -, -(CH ₂) ₂₅ (CH ₂) ₂ CONH-, -(CH ₂) ₁₁ CH ₂ CH=CH-), 1,58-1,66 (m, 6 H, - CH ₂ CH ₂ COOCH ₂ CH ₂ -, - CH ₂ CH ₂ CONH-), 2,03-2,07 (m, 2 H, - CH ₂ CH=CH-), 2,22 (t, ³ J _{H,H} = 7,7 Hz, 2 H, - CH ₂ CONH-), 2,28 (t, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, - CH ₂ COO-), 3,70 (dd, ² J _{H,H} = 11,2 Hz ³ J _{H,H} = 3,3 Hz, 1 H, - CH H'OH), 3,90 (dt, 2 H, ³ J _{H,H} = 11,2 Hz ³ J _{H,H} = 3,6 Hz, 1 H, - CH -CH ₂ OH), 3,95 (dd, 2 H, ² J _{H,H} = 11,2 Hz ³ J _{H,H} = 3,8 Hz, 1 H - CH H'OH), 4,05 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COO CH ₂ -), 4,30-4,32 (m, 1 H, -CH=CH CH OH-), 5,53 (dd, ³ J _{H,H} = 15,4 Hz ³ J _{H,H} = 6,4 Hz, 1 H, -CH ₂ CH=CH-), 5,75-5,81 (m, 1 H, -CH ₂ CH =CH-), 6,33 (d, ³ J _{H,H} = 7,1 Hz, 1 H, -CON H -)	
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 14,27 (H ₃ C CH ₂ -), 22,59 (D ₃ C CH ₂ -), 22,85 (H ₃ C CH ₂ -), 25,19 (- CH ₂ CH ₂ COO-), 25,92 (- CH ₂ CH ₂ CONH-), 26,09 (-COO(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 27,21 (- CH ₂ CH ₂ CH-CH ₂ CH ₂ -), 28,80, 29,28, 29,32, 29,38, 29,41, 29,44, 29,45, 29,52, 29,54, 29,65, 29,67, 29,69, 29,74, 29,78, 29,81, 29,84, 29,87, 30,11 (- CH ₂ (CH ₂) ₂ CH-(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₅ -, - CH ₂ CH ₂ (CH ₂) ₂₄ (CH ₂) ₂ CONH-, (- CH ₂) ₉ CH ₂ CH=CH-), 32,03 (D ₃ C CH ₂ CH ₂ -), 32,08 (H ₃ C CH ₂ CH ₂ -), 32,44 (- CH ₂ CH=CH-), 32,66 (- CH -CD ₃), 34,58 (- CH ₂ COO-), 37,00 (- CH ₂ CONH-), 37,17 und 37,19 (- CH ₂ CH- CH ₂ -), 54,64 (- CH -CH ₂ OH), 62,66 (-CH ₂ OH), 64,57 (-COO CH ₂ -), 74,81 (-CH=CH CH OH-), 128,95 (-CH ₂ CH =CH-), 134,40 (-CH ₂ CH=CH-), 174,05 (-CON H -), 174,21 (-COO-)	
HPLC:	Reinheit: t _R = 2,63 min; >99,5%	

5.6.11 Darstellung der methylverzweigten Ceramide [EOP]

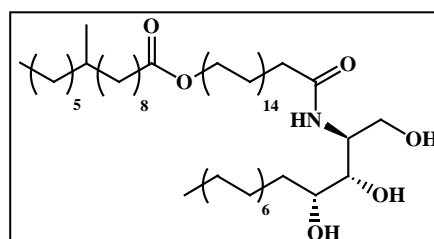
Abweichend zur IUPAC-Nomenklatur wurde die Benennung analog zu den Ceramiden [NP] und [AP] auf die Amid-Bindung der Ceramide bezogen.

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4B. Anschließend wurde der Ansatz filtriert, der Rückstand wurde zweimal mit wenig CH₂Cl₂ gewaschen und auf Kieselgel adsorbiert. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V).

N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[(10R)-10-methylhexadecanoyl]oxy]-triacontanamid – CER[mEOP] – (104)

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[(10R)-10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäure (**96**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel:	C ₆₅ H ₁₂₉ NO ₆
M _G (g/mol):	1020,68
Ausbeute:	80% (227 mg)
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff

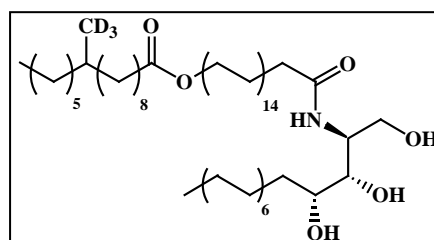


R _f :	LM 9: 0,21
F _p :	102-103 °C
ESI-MS (m/z):	positiv: 1042,7 [M + Na] ⁺ negativ: 1018,6 [M - H] ⁻
HR-MS:	ber.: 1042,9712 Da (C ₆₅ H ₁₂₉ NO ₆ Na [M + Na] ⁺) gef.: 1042,9694 Da
EA: ber.(%):	C 75,16, H 12,71, N 1,35 (+ 1 H ₂ O)
gef.(%):	C 75,02, H 12,63, N 1,51
¹ H-NMR:	400 MHz, CDCl ₃ , 40 °C: δ[ppm] = 0,84 (d, ³ J _{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, -CH-CH ₃), 0,89 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 6 H, 2x H ₃ CCH ₂ -), 1,05-1,36 (m, 97 H, H ₃ C(CH ₂) ₅ CH-(CH ₂) ₆ -, -(CH ₂) ₂₅ (CH ₂) ₂ CONH-, -(CH ₂) ₁₂ CH ₂ CHOH-), 1,48-1,78 (m, 8 H, -CH ₂ CH ₂ COOCH ₂ CH ₂ -, -CH ₂ CH ₂ CONH-, -CH ₂ CHOH-), 2,24 (t, ³ J _{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH ₂ CONH-), 2,29 (t, ³ J _{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH ₂ COO-), 3,58-3,68 (m, 2 H, -CH ₂ CHOHCHOH-), 3,76 (dd, ² J _{H,H} = 11,6 Hz ³ J _{H,H} = 5,3 Hz, 1 H, -CHH'OH), 3,95 (dd, ² J _{H,H} = 11,6 Hz ³ J _{H,H} = 2,7 Hz, 1 H, -CHH'OH), 4,06 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 2 H, -COOCH ₂ -), 4,12-4,16 (m, 1 H, -CH-CH ₂ OH), 6,32 (d, ³ J _{H,H} = 7,6 Hz, 1 H, -CONH-)
¹³ C-NMR:	100 MHz, THF-D ₈ , 40 °C: δ[ppm] = 14,56 (2x H ₃ CCH ₂ -), 20,26 (-CH-CH ₃), 23,70 (2x H ₃ CCH ₂ -), 26,80 (-CH ₂ CH ₂ COO-), 26,94 (-CH ₂ CH ₂ CONH-), 27,09 (-COO(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 28,14 und 28,15 (-CH ₂ CH ₂ CH-CH ₂ CH ₂ -, -CH ₂ CH ₂ CHOH-), 29,89, 30,24, 30,39, 30,42, 30,45, 30,50, 30,63, 30,66, 30,70, 30,72, 30,76, 30,80, 30,89, 31,00, 31,06 (-CH ₂ (CH ₂) ₂ CH-(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₅ -, -CH ₂ CH ₂ (CH ₂) ₂₄ (CH ₂) ₂ CONH-, -(CH ₂) ₉ (CH ₂) ₂ CHOH-), 33,02 und 33,04 (2x H ₃ CCH ₂ CH ₂ -), 33,95 (-CH-CH ₃), 34,46 (-CH ₂ COO-), 34,88 (-CH ₂ CHOH-), 37,00 (-CH ₂ CONH-), 38,22 (-CH ₂ CH-CH ₂ -), 54,04 (-CH-CH ₂ OH), 62,73 (-CH ₂ OH), 64,71 (-COOCH ₂ -), 73,43 (-CH ₂ CHOH-), 77,40 (-CH ₂ CHOHCHOH-), 173,39 (-COO-, -CONH-)
HPLC:	Reinheit: t _R = 4,30 min; >99,5%

N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-{[(10RS)-10-(methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy}triacontanamid – CER[mEOP] m-D₃ – (105)

Die Darstellung erfolgte aus 30-{[(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy}triacontansäure (**97**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel:	C ₆₅ H ₁₂₆ D ₃ NO ₆
M _G (g/mol):	1023,70
Ausbeute:	79% (223 mg)
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff
R _f :	LM 9: 0,25
F _p :	101-103 °C
ESI-MS (m/z):	positiv: 1045,8 [M + Na] ⁺ negativ: 1021,7 [M - H] ⁻
HR-MS:	ber.: 1045,9900 Da (C ₆₅ H ₁₂₆ D ₃ NO ₆ Na [M + Na] ⁺) gef.: 1045,9892 Da



¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, 40 °C: δ[ppm] = 0,89 (t, ³J_{H,H} = 6,7 Hz, 6 H, 2x **H₃C**-), 1,05-1,36 (m, 97 H, **H₃C(CH₂)₅CH-(CH₂)₆-**, **-(CH₂)₂₅(CH₂)₂CONH-**, **-(CH₂)₁₂CH₂CHOH-**), 1,45-1,53 (m, 1 H, **-CHH'CHOH-**), 1,58-1,66 (m, 6 H, **-CH₂CH₂COOCH₂CH₂-**, **-CH₂CH₂CONH-**), 1,75-1,82 (m, 1 H, **-CHH'CHOH-**), 2,24 (t, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, 2 H, **-CH₂CONH-**), 2,29 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, **-CH₂COO-**), 3,59-3,67 (m, 2 H, **-CH₂CHOHCHOH-**), 3,76 (dd, ²J_{H,H} = 11,3 Hz ³J_{H,H} = 5,4 Hz, 1 H, **-CHH'OH**), 3,95 (dd, ²J_{H,H} = 11,4 Hz ³J_{H,H} = 2,2 Hz, 1 H, **-CHH'OH**), 4,06 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 2 H, **-COOCH₂-**), 4,13-4,17 (m, 1 H, **-CH-CH₂OH**), 6,32 (d, ³J_{H,H} = 7,8 Hz, 1 H, **-CONH-**)

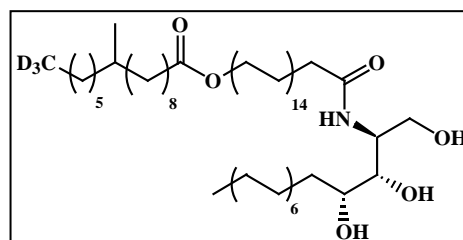
¹³C-NMR: 100 MHz, THF-D₈, 40 °C: δ[ppm] = 14,57 (2x **H₃CCH₂-**), 23,70 (2x **H₃CCH₂-**), 26,80 (**-CH₂CH₂COO-**), 26,95 (**-CH₂CH₂CONH-**), 27,09 (**-COO(CH₂)₂CH₂-**), 28,14 und 28,16 (**-CH₂CH₂CH-CH₂CH₂-**, **-CH₂CH₂CHOH-**), 29,90, 30,24, 30,39, 30,42, 30,45, 30,50, 30,63, 30,66, 30,69, 30,72, 30,76, 30,80, 30,81, 30,84, 30,90, 31,01, 31,07 (**-CH₂(CH₂)₂CH-(CH₂)₂(CH₂)₅-**, **-CH₂CH₂(CH₂)₂₄(CH₂)₂CONH-**, **-(CH₂)₉(CH₂)₂CHOH-**), 33,02 und 33,04 (2x **H₃CCH₂CH₂-**), 33,71 (**-CH-CD₃**), 34,47 (**-CH₂COO-**), 34,89 (**-CH₂CHOH-**), 37,00 (**-CH₂CONH-**), 38,16 (**-CH₂CH-CH₂-**), 54,07 (**-CH-CH₂OH**), 62,70 (**-CH₂OH**), 64,71 (**-COOCH₂-**), 73,43 (**-CH₂CHOH-**), 77,41 (**-CH₂CHOHCHOH-**), 173,38 und 173,40 (**-COO-**, **-CONH-**)

HPLC: Reinheit: t_R = 4,30 min; >99,5%

***N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(methyl)hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOP] e-D₃ – (106)**

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[16,16,16-D₃-(10*RS*)-10-(Methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy]triacontansäure (**98**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel: C₆₅H₁₂₆D₃NO₆
M_G (g/mol): 1023,70
Ausbeute: 76% (215 mg)
Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff
R_f: LM 9: 0,22
F_p: 103-105 °C
ESI-MS (m/z): negativ: 1022,4 [M - H]⁻
HR-MS: ber.: 1024,0081 Da (C₆₅H₁₂₇D₃NO₆ [M + H]⁺)
gef.: 1024,0099 Da



¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, 40 °C: δ[ppm] = 0,84 (d, ³J_{H,H} = 6,5 Hz, 3 H, **-CH-CH₃**), 0,89 (t, ³J_{H,H} = 6,8 Hz, 3 H, **H₃CCH₂-**), 1,05-1,37 (m, 97 H, **H₃C(CH₂)₅CH-(CH₂)₆-**, **-(CH₂)₂₅(CH₂)₂CONH-**, **-(CH₂)₁₂CH₂CHOH-**), 1,44-1,55 (m, 1 H, **-CHH'CHOH-**), 1,58-1,68 (m, 6 H, **-CH₂CH₂COOCH₂CH₂-**, **-CH₂CH₂CONH-**), 1,75-1,81 (m, 1 H, **-CHH'CHOH-**), 2,24 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, **-CH₂CONH-**), 2,29 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, **-CH₂COO-**), 3,58-3,67 (m, 2 H, **-CH₂CHOHCHOH-**), 3,77 (dd, ²J_{H,H} = 11,2 Hz ³J_{H,H} = 5,3 Hz, 1 H, **-CHH'OH**), 3,96 (dd, ²J_{H,H} = 11,2 Hz ³J_{H,H} = 1,9 Hz, 1 H, **-CHH'OH**), 4,06 (t,

$^3J_{H,H} = 6,7$ Hz, 2 H, $-\text{COOCH}_2-$), 4,12-4,16 (m, 1 H, $-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 6,32 (d, $^3J_{H,H} = 7,3$ Hz, 1 H, $-\text{CONH-}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, THF- D_8 , 40 °C: $\delta[\text{ppm}] = 14,57$ (H_3CCH_2-), 20,26 ($-\text{CH-CH}_3$), 23,45 (D_3CCH_2-), 23,70 (H_3CCH_2-), 26,81 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO-}$), 26,95 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH-}$), 27,10 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2-$), 28,16 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH-CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOH-}$), 29,90, 30,25, 30,40, 30,43, 30,45, 30,51, 30,64, 30,67, 30,70, 30,73, 30,77, 30,81, 30,90, 31,01, 31,07 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH-}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_2\text{CONH-}$, $-(\text{CH}_2)_9(\text{CH}_2)_2\text{CHOH-}$), 32,97 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 33,03 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 33,95 ($-\text{CH-CH}_3$), 34,46 ($-\text{CH}_2\text{COO-}$), 34,89 ($-\text{CH}_2\text{CHOH-}$), 37,01 ($-\text{CH}_2\text{CONH-}$), 38,23 ($-\text{CH}_2\text{CH-CH}_2-$), 54,03 ($-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 62,73 ($-\text{CH}_2\text{OH}$), 64,72 ($-\text{COOCH}_2-$), 73,44 ($-\text{CH}_2\text{CHOH-}$), 77,39 ($-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 173,40 ($-\text{COO-}$, $-\text{CONH-}$)

HPLC: Reinheit: $t_R = 4,30$ min; >99,5%

***N*-[*(2S,3S,4R)*-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(*10RS*)-10-(methyl- D_3)-hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOP] e,m- D_3 – (107)**

Die Darstellung erfolgte aus 30-[[16,16,16- D_3 -(*10RS*)-10-(Methyl- D_3)hexadecanoyl]oxy]triacontansäure (**99**) (200 mg, 0,28 mmol).

Summenformel: $\text{C}_{65}\text{H}_{123}\text{D}_6\text{NO}_6$

M_G (g/mol): 1026,72

Ausbeute: 77% (217 mg)

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

R_f : LM 9: 0,18

F_p : 100-103 °C

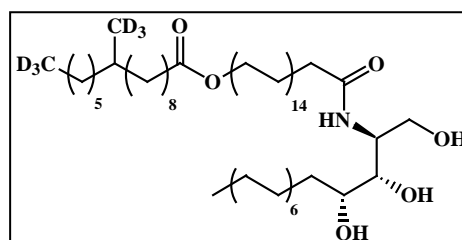
ESI-MS (m/z): negativ: 1024,7 [M - H]⁻

HR-MS: ber.: 1027,0269 Da ($\text{C}_{65}\text{H}_{124}\text{D}_6\text{NO}_6$ [M + H]⁺)

gef.: 1027,0261 Da

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 , 40 °C: $\delta[\text{ppm}] = 0,89$ (t, $^3J_{H,H} = 6,9$ Hz, 3 H, H_3CCH_2-), 1,05-1,36 (m, 97 H, $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{CH-}(\text{CH}_2)_6-$, $-(\text{CH}_2)_{25}(\text{CH}_2)_2\text{CONH-}$, $-(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CHOH-}$), 1,47-1,53 (m, 1 H, $-\text{CHH}'\text{CHOH-}$), 1,58-1,68 (m, 6 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH-}$), 1,75-1,82 (m, 1 H, $-\text{CHH}'\text{CHOH-}$), 2,24 (t, $^3J_{H,H} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CONH-}$), 2,29 (t, $^3J_{H,H} = 7,5$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2\text{COO-}$), 3,58-3,67 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CHOHCHOH-}$), 3,76 (dd, $^2J_{H,H} = 11,5$ Hz $^3J_{H,H} = 5,6$ Hz, 1 H, $-\text{CHH}'\text{OH}$), 3,95 (dd, $^2J_{H,H} = 11,5$ Hz $^3J_{H,H} = 2,4$ Hz, 1 H, $-\text{CHH}'\text{OH}$), 4,06 (t, $^3J_{H,H} = 6,7$ Hz, 2 H, $-\text{COOCH}_2-$), 4,12-4,16 (m, 1 H, $-\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 6,32 (d, $^3J_{H,H} = 7,3$ Hz, 1 H, $-\text{CONH-}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, THF- D_8 , 40 °C: $\delta[\text{ppm}] = 14,57$ (H_3CCH_2-), 23,44 (D_3CCH_2-), 23,70 (H_3CCH_2-), 26,80 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO-}$), 26,94 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH-}$), 27,09 ($-\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2-$), 28,14 und 28,16 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH-CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHOH-}$), 29,89, 30,24, 30,39, 30,42, 30,45, 30,50, 30,63, 30,66, 30,70, 30,72, 30,76, 30,80, 30,81, 30,84, 30,90, 31,00, 31,07 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH-}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_5-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{24}(\text{CH}_2)_2\text{CONH-}$, $-(\text{CH}_2)_9(\text{CH}_2)_2\text{CHOH-}$), 32,96 ($\text{D}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 33,03 ($\text{H}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2-$), 33,71 ($-\text{CH-CD}_3$), 34,46 ($-\text{CH}_2\text{COO-}$), 34,88 ($-\text{CH}_2\text{CHOH-}$), 37,00 ($-\text{CH}_2\text{CONH-}$), 38,16 ($-\text{CH}_2\text{CH-CH}_2-$), 54,04



(-CH-CH₂OH), 62,72 (-CH₂OH), 64,71 (-COOCH₂-), 73,43 (-CH₂CHOH-),
77,40 (-CH₂CHOHCHOH-), 173,39 (-COO-, -CONH-)

HPLC: Reinheit: t_R = 3,53 min; >99,5%

5.7 Darstellung des 16-Oxountriacontan-1,31-diols

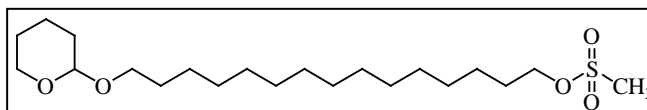
5.7.1 Methansulfonsäure-15-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecylester – (108)

Zu einer Lösung von 15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecan-1-ol (**14**) (3,61 g, 11 mmol) und TEA (3,19 ml, 23 mmol) in abs. CHCl₃ (30 ml) wurde unter Eiskühlung eine Lösung von Methansulfonsäurechlorid (0,89 ml, 23 mmol) in CHCl₃ (7,5 ml) hinzugegotropft. Der Ansatz wurde für 2 h unter Eiskühlung und dann für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde TEA (3,19 ml, 23 mmol), ein Eis-Wasser-Gemisch (50 ml) hinzugegeben und für 1 h gerührt. Zur besseren Phasenseparation wurde ges. NaCl-Lösung (40 ml) hinzugegeben. Die CHCl₃-Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase wurde zweimal mit CHCl₃ (50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Der erhaltene Methansulfonsäureester (**108**) wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung weiterverwendet.

Summenformel: C₂₁H₄₂O₅S

M_G (g/mol): 406,60

R_f: LM 5: 0,58



5.7.2 2,2'-(16-Oxountriacont-1,31-diyl)bis(terahydro-2H-pyran) – (109)

Methode G: Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von 15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecan-1-ol (**14**) (3,74 g, 11,4 mmol) in abs. Toluol (20 ml) zu einer Suspension von NaH (0,455 g, 11,4 mmol) in abs. Toluol (20 ml) hinzugegotropft. Der Ansatz wurde für 12 h weitergerührt. Anschließend wurde eine Lösung von Methansulfonsäure-15-[(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecylester (**108**) (4,21 g, 10,4 mmol) in abs. Toluol (8 ml) und für 12 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde ges. NH₄Cl-Lösung (50 ml) hinzugegeben und für 1 h weitergerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ether (75 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Methode H: Die Reaktion wurde analog Methode G durchgeführt, wobei anstelle von 1 Äquivalent NaH 1,1 Äquivalente KH verwendet wurden. Außerdem erfolgte die Zugabe der Lösung des Methansulfonesters (**108**) bei 50 °C.

Methode I: Eine Lösung von 15-[(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy]pentadecan-1-ol (**14**) (6,57 g, 20 mmol) in abs. Toluol (20 ml) wurde zu einer gerührten Suspension von KH (2,7 ml, 20 mmol) in abs. Toluol (40 ml) unter Argonatmosphäre hinzugegotropft und für 12 h gerührt. Anschließend wurde der Ansatz auf 50 °C erwärmt, eine Lösung von 2-(15-

Brompentadecyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (**16**) (5,00 g, 12,8 mmol) in abs. Toluol (20 ml) hinzugegropft und für 12 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde ges. NH₄Cl-Lösung (100 ml) hinzugegeben und für 1 h weitergerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Ether (100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: C₄₀H₇₈O₅

M_G (g/mol): 639,02

Ausbeute: Methode H: 6% (0,41 g);
Methode G: 38% (2,54 g);
Methode I: 60% (4,91 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 5: 0,25

F_p: 50 °C

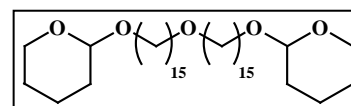
ESI-MS (m/z): positiv: 661,6 [M + Na]⁺

EA: ber.(%): C 75,18, H 12,30

gef.(%): C 75,21, H 12,57

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,25-1,38 (m, 44 H, 2x -(CH₂)₂(CH₂)₁₁(CH₂)₂-), 1,49-1,62 (m, 16 H, 2x -CH₂CH₂(CH₂)₁₁CH₂CH₂-), 2x -OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,74 (m, 2 H, 2x -CHH'CH-O-), 1,79-1,87 (m, 2 H, 2x -CHH'CH-O-), 3,35-3,40 (m, 6 H, 2x -OCH₂(CH₂)₁₃CHH'OCH<), 3,47-3,52 (m, 2 H, 2x -OCH-(CH₂)₃CHH'O-), 3,72 (dt, ²J_{H,H} = 9,2 Hz ³J_{H,H} = 7,0 Hz, 2 H, 2x -(CH₂)₁₄CHHOCH<), 3,84-3,90 (m, 2 H, -OCH-(CH₂)₃CHHO-), 4,56-4,58 (m, 2 H, 2x -OCH-O-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,86 (2x -CH₂CH₂CH-O-), 25,68 (2x -CH₂(CH₂)₂CH-O-); 26,37 (2x >CHO(CH₂)₂CH₂(CH₂)₁₂-), 26,41 (2x -(CH₂)₁₂CH₂(CH₂)₂O(CH₂)₂CH₂(CH₂)₁₂-), 29,66, 29,67, 29,76, 29,78, 29,82, 29,93, 29,95 (2x -CH₂CH₂CH₂(CH₂)₉CH₂CH₂CH₂-), 30,96 (2x -CH₂CH-O-), 62,48 (2x -OCH-(CH₂)₃CH₂O-), 67,85 (2x -(CH₂)₁₄CH₂OCH<), 71,13 (-(CH₂)₁₄CH₂OCH₂(CH₂)₁₄-), 98,99 (2x -OCH-O-)



5.7.3 16-Oxohentriacontan-1,31-diol – (110)

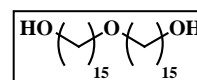
Zur THP-Schutzgruppenabspaltung wurde 2,2'-(16-Oxountriacont-1,31-diyl)bis(tetrahydro-2*H*-pyran) (**109**) (1,56 g, 2,4 mmol) und katalytische Mengen an Pyridiniumtosylat in abs. Methanol (100 ml) für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Der gebildete Niederschlag wurde heiß abfiltriert und aus Heptan umkristallisiert.

Summenformel: C₃₀H₆₂O₃

M_G (g/mol): 470,79

Ausbeute: 93% (1,14 g)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff



R _f :	LM 7: 0,23
F _P :	91 °C
ESI-MS (m/z):	positiv: 493,4 [M + Na] ⁺
EA: ber.(%):	C 76,53, H 13,28
gef.(%):	C 76,62, H 13,34
¹ H-NMR:	500 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 1,23-1,35 (m, 44 H, 2x -(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₁₁ (CH ₂) ₂ -), 1,51-1,57 (m, 8 H, 2x -CH ₂ CH ₂ (CH ₂) ₁₁ CH ₂ CH ₂ OH), 3,37 (d, ³ J _{H,H} = 6,8 Hz, 4 H, -CH ₂ OCH ₂ -), 3,59 (t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, 4 H, 2x -CH ₂ OH)
¹³ C-NMR:	125 MHz, CDCl ₃ : δ[ppm] = 25,85 (2x HO(CH ₂) ₂ CH ₂ -), 26,27 (-CH ₂ CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ CH ₂ -), 29,54, 29,60, 29,70, 29,71, 29,75, 29,83 (2x HO(CH ₂) ₃ (CH ₂) ₉ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -), 32,82 (2x HOCH ₂ CH ₂ -), 62,97 (2x HOCH ₂ -), 71,09 (-CH ₂ OCH ₂ -)

5.8 Darstellung der dimeren Dithia-Ceramide

5.8.1 Darstellung der 12,21-Dithiadotriacontandisäure

11-Mercaptoundecansäure – (118)

Zu einer Lösung von Thioharnstoff (2,28 g, 30,0 mmol) in abs. Ethanol (100 ml) wurde 11-Bromundecansäure (115) (7,5 g, 28,3 mmol) für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde eine wässrige NaOH-Lösung (2,83 g, 70,7 mmol in 20 ml Aqua dest.) hinzugegeben und für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde 100 ml Wasser hinzugegeben, der Ansatz mit konz. HCl vorsichtig angesäuert und die wässrige Phase dreimal mit Ether (100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit Wasser (100 ml) gewaschen und auf Volumen von ca. 50 ml eingengt. Für eine vollständige Kristallisation wurde die org. Phase auf 0 °C abgekühlt und stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt und das gewonnene Rohprodukt durch Umkristallisation in Heptan gereinigt.

Summenformel: C₁₁H₂₂O₂S

M_G (g/mol): 218,34

Ausbeute: 91% (5,65 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 6: 0,48

F_P: 45-47 °C

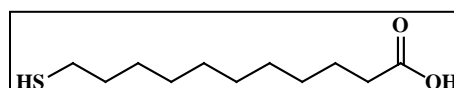
ESI-MS (m/z): negativ: 217,5 [M - H]⁻; 433,5 [2M - H]⁻

EA: ber.(%): C 60,51 H 10,16

gef.(%): C 60,54, H 10,08

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,28-1,41 (m, 12 H, HS(CH₂)₂(CH₂)₆-), 1,57-1,67 (m, 4 H, HSCH₂CH₂-, -CH₂CH₂COOH), 2,35 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 2 H, -CH₂COOH), 2,49-2,65 (m, 2 H, HSCH₂-)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 24,80 und 24,82 (HSCH₂-; -CH₂CH₂COOH), 28,51, 29,18, 29,34, 29,48, 29,57 (HS(CH₂)₂(CH₂)₆-), 34,04 und 34,18 (HSCH₂CH₂-, -CH₂COOH)



12,21-Dithiadotriacontandisäure – (117)

Methode J: Zu einer Lösung von 11-Mercaptoundecansäure (**118**) (5,65 g, 25,9 mmol) in abs. Methanol (80 ml) wurde unter Argonatmosphäre eine 1 M methanolische Natriummethanolat-Lösung (52 ml, 52 mmol) innerhalb von 30 min hinzugegeben. Der Ansatz wurde 30 min weitergerührt und anschließend auf 50 °C erwärmt. Zu dem Ansatz wurde eine Lösung von 1,8-Dibromoctan (**112**) (2,93 g, 10,8 mmol) in abs. Methanol (20 ml) tropfenweise hinzugegeben. Anschließend wurde der Ansatz für 10 h unter Rückfluss erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde KOH (3,62 g, 64,7 mmol) zugegeben und der Ansatz für 30 min unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Niederschlag abgesaugt und dreimal mit Ethanol (20 mL) und einmal mit Wasser (20 ml) gewaschen. Der Niederschlag wurde in 2 M H₂SO₄ (100 ml) und Chloroform (150 ml) suspendiert und für 30 min bei 50 °C erwärmt. Die warme org. Phase wurde abgetrennt. Zweimal wurde die wässrige Phase mit Chloroform (100 ml) versetzt, für 10 min auf 50 °C erwärmt und die warme organische Phase abgetrennt. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 2 M H₂SO₄ (100 ml) versetzt, auf 50 °C erwärmt und die warme organische Phase abgetrennt. Die org. Phase wurde eingeeengt und das Rohprodukt im Anschluss durch Umkristallisation in Ethylacetat gereinigt.

Summenformel: C₃₀H₅₈O₄S₂M_G (g/mol): 546,88

Ausbeute: Methode J: 85% (5,02 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f: LM 7: 0,16

LM 12: 0,48

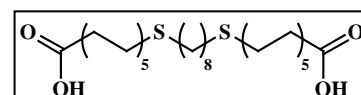
F_p: 101-103 °CESI-MS (m/z): negativ: 545,6 [M – H]⁻

EA: ber.(%): C 65,88 H 10,69 S 11,73

gef.(%): C 65,73, H 10,65 S 11,53

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-D₆: δ[ppm] = 1,24-1,35 (m, 32 H, 2x -(CH₂)₆(CH₂)₂COOH, -S(CH₂)₂(CH₂)₄(CH₂)₂S-), 1,45-1,52 (m, 12 H, 2x -CH₂CH₂SCH₂CH₂-, 2x -CH₂CH₂COOH), 2,18 (t, ³J_{H,H} = 7,4 Hz, 4 H, 2x -CH₂COOH), 2,45 (t, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, 8 H, -CH₂SCH₂-)

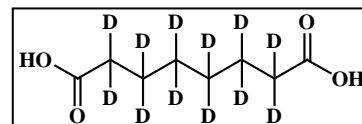
¹³C-NMR: 125 MHz, DMSO-D₆: δ[ppm] = 24,46 (2x -CH₂CH₂COOH), 28,05, 28,15, 28,42, 28,52, 28,54, 28,69, 28,81, 28,86, 29,06, 29,11 (-(CH₂)₇CH₂SCH₂(CH₂)₆CH₂SCH₂(CH₂)₇-), 31,08 (2x -CH₂SCH₂-), 33,63 (2x -CH₂COOH), 174,41 (2x -COOH)

**5.8.2 Darstellung der deuterierten 12,21-Dithiadotriacontandisäure****Octandisäure-D₁₂ – (121)**

Die Darstellung erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von HSIAO et al.¹⁰⁹ In einer geeigneten Hydrierapparatur wurde KOH (3,37 g, 60 mmol) in D₂O (80 ml) unter Argonatmosphäre gelöst. Anschließend wurde Octandisäure (**120**) (5,23 g, 30 mmol) und Pd/C (10%) Katalysator (1 g) zugegeben. Der Ansatz wurde für 80 h bei 9,5 bar und 180 °C gerührt. Nach Abschluss der Reaktion wurde konz. HCl (8 ml) und CHCl₃ (100 ml) zugegeben. Anschließend

wurde der Katalysator abfiltriert. Der Filter wurde dreimal mit einer warmen Mischung von Chloroform/Methanol (9/1 V/V) (100 ml) gewaschen. Die vereinigten org. Phasen wurden eingengt. Der Rückstand wurde in Chloroform (300 ml) aufgenommen und mit ges. NaCl-Lösung gewaschen (50 ml). Die org. Phase wurde eingengt und das Rohprodukt ohne weitere Charakterisierung und Reinigung weiterverwendet.

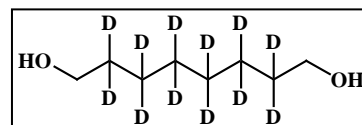
Summenformel: $C_8H_2D_{12}O_4$
 M_G (g/mol): 186,26
 Ausbeute: 85% (4,76 g)
 Aussehen weißer Feststoff
 R_f : LM 6: 0,14
 ESI-MS (m/z): positiv: 185,4 [M - H]⁻



2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-Octan-1,8-diol – (122)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 1B aus Octandisäure-D₁₂ (121) (4,76 g, 25,6 mmol). Abweichend zur Methode wurde 1 Moläquivalent LiAlH₄ je Säurefunktion verwendet, sowie eine Mischung aus abs. Diethylether und abs. THF (2/1 V/V) verwendet. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie. Als Elutionsmittel wurde ein Heptan/Ethylacetat (1/1 V/V) Gemisch verwendet.

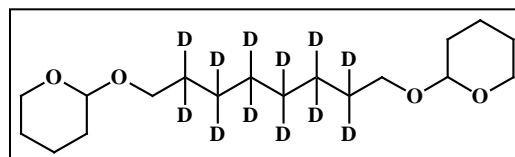
Summenformel: $C_8H_6D_{12}O_2$
 M_G (g/mol): 158,29
 Ausbeute: 90% (3,67 g)
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 R_f : LM 13: 0,11
 F_p : 56-57,5 °C
 ESI-MS (m/z): positiv: 181,22 [M + Na]⁺
¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 3,63 (s, 4 H, 2x -CH₂OH)
¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 63,09 (2x -CH₂OH)



2,2'-(2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-Oct-1,8-diyl)bis(terahydro-2H-pyran) – (123)

Die Verbindung wurde entsprechend MIYASHITA¹³² aus 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-Octan-1,8-diol (122) (3,57 g, 22,6 mmol) dargestellt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von TEA.

Summenformel: $C_{18}H_{22}D_{12}O_4$
 M_G (g/mol): 326,52
 Ausbeute: 95% (7,03 g)
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit
 R_f : LM 4: 0,14
 ESI-MS (m/z): positiv: 349,4 [M + Na]⁺
¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 1,48-1,61 (m, 8 H, 2x -OCH-CH₂(CH₂)₂-), 1,68-1,74 (m, 2 H, 2x -OCH-CHHⁱ-), 1,78-1,89 (m, 2 H, -OCH-CHHⁱ-), 3,36 (d,



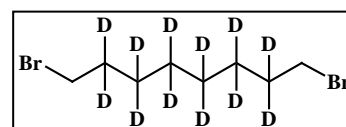
$^2J_{H,H} = 9,6 \text{ Hz}$, 2 H, 2x -OCHH'(CD₂-), 3,46-3,52 (m, 2 H, 2x -OCH-(CH₂)₃CHH'-), 3,70 (d, $^2J_{H,H} = 9,6 \text{ Hz}$, 2 H, 2x -OCHH'(CD₂)₆-), 3,83-3,89 (m, 2 H, 2x -OCH-(CH₂)₃CHH'-), 4,55-4,57 (m, 2 H, 2x -OCH-O-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 19,85 (2x -OCH-CH₂CH₂-), 25,66 (2x -OCH-(CH₂)₂CH₂-), 30,94 (-OCH-CH₂-), 62,47 (2x -OCH-(CH₂)₃CH₂-), 67,68 (2x -CD₂CH₂O-), 98,99 (2x -OCH-O-)

2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-1,8-Dibromooctan – (124)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 2, dazu wurde 2,2'-(2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-Oct-1,8-diyl)bis(terahydro-2H-pyran) (**123**) (3,70 g, 11,3 mmol) mit der entsprechenden Menge Triphenylphosphindibromid zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität.

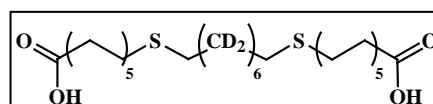
Summenformel: C₈H₄D₁₂Br
 M_G (g/mol): 284,08
 Ausbeute: 87% (2,80 g)
 Aussehen: klare farblose Flüssigkeit
 R_f: LM 1: 0,34
 GC-MS: Reinheit: t_R = 10,03 min; >99,5%
 (m/z): 203 [5%, M-Br⁺]
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 3,39 (s, 4 H, 2x -CH₂Br)
¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃: δ[ppm] = 33,86 (2x -CH₂Br)



14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-Dithiadotriacontandisäure – (125)

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode J aus 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-D₁₂-1,8-Dibromooctan (**124**) (0,85 g, 3 mmol) und zweifach deprotonierter 11-Mercaptoundecansäure (**119**) (1,57 g, 7,2 mmol).

Summenformel: C₃₀H₄₆D₁₂O₄S₂
 M_G (g/mol): 558,95
 Ausbeute: 65% (1,08 g)
 Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff
 R_f: LM 7: 0,24
 LM 12: 0,48
 F_p: 104-106 °C
 ESI-MS (m/z): negativ: 557,6 [M - H]⁻
 HR-MS: ber.: 557,4474 Da (C₃₀H₄₅D₁₂O₄S₂ [M - H]⁻)
 gef.: 557,4460 Da
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-D₆, 45 °C: δ[ppm] = 1,25-1,35 (m, 24 H, 2x -(CH₂)₆(CH₂)₂COOH), 1,47-1,54 (m, 8 H, 2x -CH₂CH₂SCH₂CD₂-, 2x -CH₂CH₂COOH), 2,18 (t, $^3J_{H,H} = 7,3 \text{ Hz}$, 4 H, 2x -CH₂COOH), 2,44-2,48 (m, 8 H, -CH₂SCH₂-)
¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO-D₆, 45 °C: δ[ppm] = 24,33 (2x -CH₂CH₂COOH), 28,00, 28,38, 28,51, 28,64, 28,69, 29,02 (2x -(CH₂)₇(CH₂)₂COOH), 30,86 (2x



-CD₂CH₂S-, 31,07 (2x -CH₂CH₂S-), 33,53 (2x -CH₂COOH), 174,15 (2x -COOH)

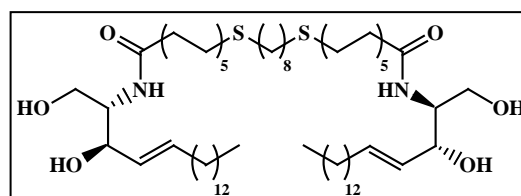
5.8.3 Darstellung der dimeren Dithia-Ceramide [NSS]

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4A. Der Ansatz wurde anschließend zur Trockne eingengt und der Rückstand auf Kieselgel adsorbiert. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl₃/Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH₃ (0,5% V/V).

N,N'-Bis[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-12,21-dithiadotriacontandi-amid – dCer[NSS] – (126)

12,21-Dithiadotriacontandisäure (117) (164 mg, 0,3 mmol) wurde mit PyBOP[®] (344 mg, 0,66 mmol) und Diisopropylethylamin (204 µl, 1,2 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) aktiviert und mit Sphingosin (30) (198 mg, 0,66 mmol) umgesetzt.

Summenformel: C₆₆H₁₂₈N₂O₆S₂
 M_G (g/mol): 1109,81
 Ausbeute: 94% (0,31 g)
 Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff
 R_f: LM 11: 0,57
 F_p: 93-94 °C



ESI-MS (m/z): positiv: 1131,9 [M + Na]⁺
 negativ: 1107,8 [M - H]⁻

HR-MS: ber.: 1091,9181 Da (C₆₆H₁₂₇N₂O₅S₂ [M - H₂O + H]⁺)
 gef.: 1091,9172 Da
 ber.: 1143,8908 Da (C₆₆H₁₂₈N₂O₆S₂Cl [M + Cl]⁺)
 gef.: 1143,8889 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 35 °C: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,4 Hz, 6 H, 2x -CH₃), 1,13-1,36 (m, 76 H, -(CH₂)₆(CH₂)₂S(CH₂)₂(CH₂)₄(CH₂)₂S(CH₂)₂(CH₂)₆-, 2x H₃C(CH₂)₁₁-), 1,55-1,62 (m, 12 H, 2x -CH₂CH₂SCH₂CH₂-, 2x -CH₂CONH-), 2,02-2,07 (m, 4 H, 2x -CH₂CH=CH-), 2,21 (t, ³J_{H,H} = 7,2 Hz, 4 H, 2x -CH₂CONH-), 2,49 (t, ³J_{H,H} = 7,1 Hz, 8 H, 2x -CH₂SCH₂-), 3,68-3,69 (m, 2 H, 2x -CHH'OH), 3,90-3,93 (m, 4 H, 2x -CH-CHH'OH), 4,27-4,30 (m, 2 H, 2x -CH=CHCHOH-), 5,52 (dd, ³J_{H,H} = 15,2 Hz, ³J_{H,H} = 5,3 Hz, 2 H, 2x -CH=CHCHOH-), 5,74-5,80 (m, 2 H, 2x -CH=CHCHOH-), 6,29 (d, ³J_{H,H} = 6,4 Hz, 2 H, 2x -CONH-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃, 35 °C: δ[ppm] = 14,22 (2x -CH₃), 22,82 (2x CH₃CH₂-), 25,89 (2x -CH₂CH₂CONH-), 28,97, 29,07, 29,23, 29,31, 29,37, 29,39, 29,41, 29,47, 29,49, 29,56, 29,61, 29,65, 29,77, 29,80, 29,83, 29,90 (2x H₃C(CH₂)₂(CH₂)₉-, -(CH₂)₈CH₂SCH₂(CH₂)₆CH₂SCH₂(CH₂)₈-), 32,06 (2x CH₃CH₂CH₂-), 32,36 und 32,39 (2x -CH₂SCH₂-), 32,44 (2x -CH₂CH=CH-), 36,97 (2x -CH₂CONH-), 54,82 (2x -CH-CH₂OH), 62,56 (2x -CH₂OH),

74,57 (2x -CH=CHCHOH-), 129,03 (2x -CH=CHCHOH-), 134,28 (2x -CH=CHCHOH-), 174,10 (2x -CONH-)

HPLC: Reinheit: $t_R = 4,75$ min; >99,5%

***N,N'*-Bis[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-dithiadotriacontandiamid – dCer[NSS]-D₁₂ – (127)**

14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-Dithiadotriacontandisäure (125) (164 mg, 0,3 mmol) wurde mit PyBOP® (344 mg, 0,66 mmol) und Diisopropylethylamin (204 µl, 1,2 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) aktiviert und mit Sphingosin (30) (198 mg, 0,66 mmol) umgesetzt.

Summenformel: C₆₆H₁₁₆D₁₂N₂O₆S₂

M_G (g/mol): 1121,88

Ausbeute: 97% (0,32 g)

Aussehen: weißer, wachsartiger
Feststoff

R_f: LM 9: 0,38

F_p: 92-94 °C

ESI-MS (m/z): positiv: 1144,1 [M + Na]⁺

negativ: 1120,2 [M – H]⁻

HR-MS: ber.: 1103,9934 Da (C₆₆H₁₁₅D₁₂N₂O₅S₂ [M – H₂O + H]⁺)

gef.: 1103,9929 Da

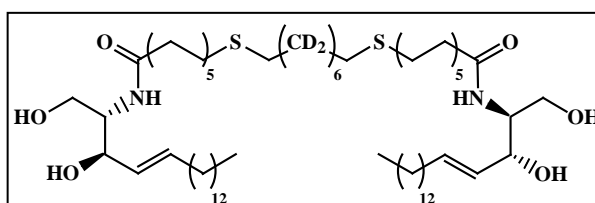
ber.: 1155,9661 Da (C₆₆H₁₁₆D₁₂N₂O₆S₂Cl [M + Cl]⁻)

gef.: 1155,9611 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 35 °C: δ[ppm] = 0,88 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 6 H, 2x -CH₃), 1,25-1,38 (m, 68 H, -(CH₂)₆(CH₂)₂SCH₂(CD₂)₆CH₂S(CH₂)₂(CH₂)₆-, 2x H₃C(CH₂)₁₁-), 1,51-1,67 (m, 12 H, 2x -CH₂CH₂SCH₂CD₂-, 2x -CH₂CONH-), 2,02-2,06 (m, 4 H, 2x -CH₂CH=CH-), 2,23 (t, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, 4 H, 2x -CH₂CONH-), 2,47-2,50 (m, 8 H, 2x -CH₂SCH₂-), 3,63-3,72 (m, 2 H, 2x -CHH'OH), 3,88-3,96 (m, 4 H, 2x -CH-CHH'OH), 4,28-4,32 (m, 2 H, 2x -CH=CHCHOH-), 5,52 (dd, ³J_{H,H} = 15,4 Hz, ³J_{H,H} = 6,3 Hz, 2 H, 2x -CH=CHCHOH-), 5,73-5,79 (m, 2 H, 2x -CH=CHCHOH-), 6,42 (d, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, 2 H, 2x -CONH-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃, 35 °C: δ[ppm] = 14,23 (2x -CH₃), 22,82 (2x CH₃CH₂-), 25,90 (2x -CH₂CH₂CONH-), 29,09, 29,33, 29,37, 29,39, 29,43, 29,49, 29,56, 29,62, 29,65, 29,77, 29,80, 29,83, 29,91 (2x H₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₀-, -(CH₂)₈CH₂SCH₂(CD₂)₆CH₂SCH₂(CH₂)₈-), 32,07 (2x CH₃CH₂CH₂-), 32,16 (2x -CH₂SCH₂CD₂-), 32,40 (2x -CH₂CH₂SCH₂-), 32,45 (2x -CH₂CH=CH-), 36,95 (2x -CH₂CONH-), 54,98 (2x -CH-CH₂OH), 62,59 (2x -CH₂OH), 74,57 (2x -CH=CHCHOH-), 129,20 (2x -CH=CHCHOH-), 134,02 (2x -CH=CHCHOH-), 174,07 (2x -CONH-)

HPLC: Reinheit: $t_R = 5,10$ min; >99,5%



5.8.4 Darstellung der dimeren Dithia-Ceramide [NPP]

Die Darstellung erfolgte entsprechend Methode 4B. Der Ansatz wurde anschließend filtriert, der Rückstand wurde zweimal mit wenig CH_2Cl_2 gewaschen und auf Kieselgel adsorbiert. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung eines CHCl_3 /Methanol-Gradienten steigender Polarität mit einem Zusatz von NH_3 (0,5% V/V).

***N,N'*-Bis[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-12,21-dithiadotriacontandi-amid dCer[NPP] – (128)**

12,21-Dithiadotriacontandisäure (**117**) (164 mg, 0,3 mmol) wurde mit PyBOP[®] (344 mg, 0,66 mmol) und Diisopropylethylamin (204 μl , 1,2 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) aktiviert und mit Phytosphingosin (**31**) (198 mg, 0,66 mmol) umgesetzt.

Summenformel: $\text{C}_{66}\text{H}_{132}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$

M_G (g/mol): 1145,84

Ausbeute: 76% (6,09 g)

Aussehen: weißer Feststoff

R_f : LM 11: 0,22

F_p : 132-135 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 1144,2 [M – H]⁻

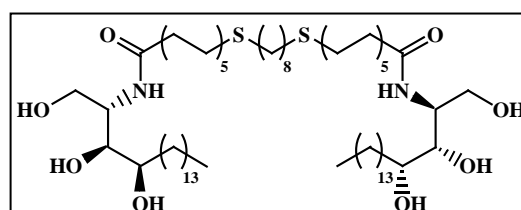
HR-MS: ber.: 1145,9498 Da ($\text{C}_{66}\text{H}_{133}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$ [M + H]⁺)

gef.: 1145,9488 Da

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl_3 , 40 °C: δ [ppm] = 0,89 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,84$ Hz, 6 H, 2x - CH_3), 1,27-1,39 (m, 80 H, -(CH_2)₆(CH_2)₂S(CH_2)₂(CH_2)₄(CH_2)₂S(CH_2)₂(CH_2)₆-), 2x $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{12}$ -), 1,51-1,71 (m, 16 H, 2x - CH_2CHOH -, 2x - $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2$ -, 2x - CH_2CONH -, von H_2O überlagert), 2,25 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,6$ Hz, 4 H, 2x - CH_2CONH -), 2,51 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7,4$ Hz, 4 H, 2x - CH_2SCH_2 -), 3,60 (m, 4 H, 2x - $\text{CH}_2\text{CHOHCHOH}$ -), 3,73-3,78 (m, 2 H, 2x - $\text{CHH}'\text{OH}$), 3,90-3,95 (m, 2 H, 2x - $\text{CHH}'\text{OH}$), 4,13-4,17 (m, 2 H, 2x - $\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 6,42-6,47 (m, 2 H, 2x - CONH -)

¹³C-NMR: 125 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 35 °C: δ [ppm] = 13,66 (2x - CH_3), 22,42 (2x CH_3CH_2 -), 25,60, 25,63, 28,61, 28,71, 28,89, 29,03, 29,08, 29,11, 29,14, 29,23, 29,29, 29,42, 29,46, 29,51, 29,52 (2x $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{10}$ -), -(CH_2)₈ $\text{CH}_2\text{SCH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{SCH}_2(\text{CH}_2)_8$ -), 31,70 (2x $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 31,95 und 31,97 (2x - CH_2SCH_2 -), 32,76 (2x - CH_2CHOH -), 36,30 (2x - CH_2CONH -), 51,83 (2x - $\text{CH-CH}_2\text{OH}$), 61,01 (2x - CH_2OH), 72,32 (2x - CH_2CHOH -), 75,44 (2x - $\text{CH}_2\text{CHOHCHOH}$ -), 174,49 (2x - CONH -)

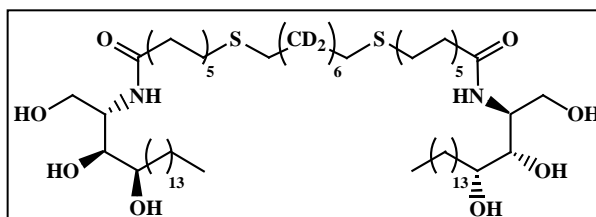
HPLC: Reinheit: $t_R = 6,02$ min; >99,5%



***N,N'*-Bis[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-dithiadotriacontandiamid – dCer[NPP]-D₁₂ – (129)**

14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-Dithiadotriacontandisäure (**125**) (280 mg, 0,5 mmol) wurde mit PyBOP[®] (572 mg, 1,1 mmol) und Diisopropylethylamin (340 μl , 2 mmol) in CH_2Cl_2 (7 ml) aktiviert und mit Phytosphingosin (**31**) (349 mg, 1,1 mmol) umgesetzt.

Summenformel: $C_{66}H_{120}D_{12}N_2O_8S_2$
 M_G (g/mol): 1157,91
 Ausbeute: 81% (0,50 g)
 Aussehen: weißer wachsartiger
 Feststoff



R_f : LM 11: 0,30

F_p : 133-136 °C

ESI-MS (m/z): negativ: 1156,9 [M - H]⁻

HR-MS: ber.: 1158,0251 Da ($C_{66}H_{121}D_{12}N_2O_8S_2$ [M + H]⁺)

gef.: 1158,0303 Da

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃, 40 °C: δ [ppm] = 0,89 (t, ³J_{H,H} = 6,9 Hz, 6 H, 2x -CH₃), 1,27-1,87 (m, 84 H, 2x-CH₂(CH₂)₈CH₂S-, 2x H₃C(CH₂)₁₂-), 2,23 (t, ³J_{H,H} = 7,5 Hz, 4 H, 2x -CH₂CONH-), 2,48-2,51 (m, 8 H, 2x -CH₂SCH₂-), 3,59-3,67 (m, 4 H, 2x -CH₂CHOHCHOH-), 3,72-3,77 (m, 2 H, 2x -CHH'OH), 3,85-3,93 (m, 2 H, 2x -CHH'OH), 4,08-4,16 (m, 2 H, 2x -CH-CH₂OH), 6,36-6,39 (m, 2 H, 2x -CONH-)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃/CD₃OD, 35 °C: δ [ppm] = 13,69 (2x -CH₃), 22,44 (2x CH₃CH₂-), 25,61, 25,65, 28,73, 29,05, 29,10, 29,13, 29,15, 29,25, 29,31, 29,42, 29,43, 29,48 29,53, 29,54 (2x H₃C(CH₂)₂(CH₂)₁₀-, -(CH₂)₈CH₂SCH₂(CD₂)₆CH₂SCH₂(CH₂)₈-), 31,71 (2x CH₃CH₂CH₂-), 31,76 (2x -CH₂SCH₂CD₂-), 31,99 (2x -CH₂CH₂SCH₂-), 32,76 (2x -CH₂CHOH-), 36,32 (2x -CH₂CONH-), 51,84 (2x -CH-CH₂OH), 61,02 (2x -CH₂OH), 72,33 (2x -CH₂CHOH-), 75,44 (2x -CH₂CHOHCHOH-), 174,50 (2x -CONH-)

HPLC: Reinheit: t_R = 6,30 min; >99,5%

6 Literaturverzeichnis

- (1) Wertz, P. W.; van den Bergh, B. *Chem. Phys. Lipids* **1998**, *91*, 85-96.
- (2) Rushmer, R. F.; Buettner, K. J. K.; Short, J. M.; Odland, G. F. *Science* **1966**, *154*, 343.
- (3) Chuong, C. M.; Nickoloff, B. J.; Elias, P. M.; Goldsmith, L. A.; Macher, E.; Maderson, P. A.; Sundberg, J. P.; Tagami, H.; Plonka, P. M.; Thestrup-Pedersen, K.; Bernard, B. A.; Schröder, J. M.; Dotto, P.; Chang, C. H.; Williams, M. L.; Feingold, K. R.; King, L. E.; Kligman, A. M.; Rees, J. L.; Christophers, E. *Exp. Dermatol.* **2002**, *11*, 159-187.
- (4) Tortora, G. J.; Derrickson, B. H.; Pries, A. R. *Grundlagen der Anatomie und Physiologie*; Wiley, 2006.
- (5) Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1999.
- (6) Bernard, G.; Auger, M.; Soucy, J.; Pouliot, R. *BBA-Gen. Subjects* **2007**, *1770*, 1317-1323.
- (7) Farwanah, H.; Raith, K.; Neubert, R. H. H.; Wohlrab, J. *Arch. Dermatol. Res.* **2005**, *296*, 514-521.
- (8) Motta, S.; Monti, M.; Sesana, S.; Caputo, R.; Carelli, S.; Ghidoni, R. *BBA-Mol. Basis Dis.* **1993**, *1182*, 147-151.
- (9) Joo, K.-M.; Hwang, J.-H.; Bae, S.; Nahm, D.-H.; Park, H.-S.; Ye, Y.-M.; Lim, K.-M. *J. Dermatol. Sci.* **2015**, *77*, 71-74.
- (10) Paslin, D.; Wertz, P. *Int. J. Dermatol.* **2006**, *45*, 352-356.
- (11) Sator, P.-G.; Schmidt, J. B.; Hönigsmann, H. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2003**, *48*, 352-358.
- (12) Lavrijsen, A. P. M.; Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; Weerheim, A.; Boddé, H. E.; Ponc, M. *J. Invest. Dermatol.* **1995**, *105*, 619-624.
- (13) Pilgram, G. S. K.; Vissers, D. C. J.; van der Meulen, H.; Koerten, H. K.; Pavel, S.; Lavrijsen, S. P. M.; Bouwstra, J. A. *J. Invest. Dermatol.* **2001**, *117*, 710-717.
- (14) Kanitakis, J. *Eur. J. Dermatol.* **2002**, *12*, 390-401.
- (15) Smith, L. T.; Holbrook, K. A.; Byers, P. H. *J. Invest. Dermatol.* **1982**, *79*, 93-104.
- (16) Kielty, C. M.; Shuttleworth, C. A. *Microsc. Res. Techniq.* **1997**, *38*, 413-427.
- (17) Silver, F. H.; Freeman, J. W.; DeVore, D. *Skin Res. Technol.* **2001**, *7*, 18-23.
- (18) Odland, G. F. *J. Invest. Dermatol.* **1960**, *34*, 11-15.
- (19) Elias, P. M. *Int. J. Dermatol.* **1981**, *20*, 1-19.
- (20) Landmann, L. *Pharmazie in unserer Zeit* **1991**, *20*, 155-163.
- (21) Loomans, M. E.; Hannon, D. P. *J. Invest. Dermatol.* **1970**, *55*, 101-114.
- (22) Holbrook, K. A.; Odland, G. F. *J. Invest. Dermatol.* **1974**, *62*, 415-422.
- (23) Grove, G.; M Kligman, A. *Grove GL & Kligman AM. Age-associated changes in human epidermal cell renewal. J Gerontol* **38**: 137-142, 1983; Vol. 38.
- (24) Scheuplein, R. J. *J. Invest. Dermatol.* **1976**, *67*, 672-676.
- (25) Alonso, A.; Meirelles, N. C.; Yushmanov, V. E.; Tabak, M. *J. Invest. Dermatol.* **1996**, *106*, 1058-1063.
- (26) Warner, R. R.; Myers, M. C.; Taylor, D. A. *J. Invest. Dermatol.* **1988**, *90*, 218-224.
- (27) Elias, P. M. *J. Invest. Dermatol.* **1983**, *80*, 44s-49s.

-
- (28) El Maghraby, G. M.; Barry, B. W.; Williams, A. C. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2008**, *34*, 203-222.
- (29) Tregear, R. T. *J. Physiol.* **1961**, *156*, 307-313.
- (30) Elias, P. M.; Friend, D. S. *J. Cell. Biol.* **1975**, *65*, 180-191.
- (31) Elias, P. M.; McNutt, N. S.; Friend, D. S. *Anat. Rec.* **1977**, *189*, 577-593.
- (32) Landmann, L. *Anat. Embryol.* **1988**, *178*, 1-13.
- (33) Ponec, M.; Weerheim, A.; Lankhorst, P.; Wertz, P. *J. Invest. Dermatol.* **2003**, *120*, 581-588.
- (34) Coderch, L.; López, O.; de la Maza, A.; Parra, J. L. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2003**, *4*, 107-129.
- (35) Wertz, P. W.; Miethke, M. C.; Long, S. A.; Strauss, J. S.; Downing, D. T. *J. Invest. Dermatol.* **1985**, *84*, 410-412.
- (36) Grubauer, G.; Feingold, K. R.; Harris, R. M.; Elias, P. M. *J. Lipid Res.* **1989**, *30*, 89-96.
- (37) Lampe, M. A.; Burlingame, A. L.; Whitney, J.; Williams, M. L.; Brown, B. E.; Roitman, E.; Elias, P. M. *J. Lipid Res.* **1983**, *24*, 120-130.
- (38) Gray, G. M.; Yardley, H. J. *J. Lipid Res.* **1975**, *16*, 441-447.
- (39) Weerheim, A.; Ponec, M. *Arch. Dermatol. Res.* **2001**, *293*, 191-199.
- (40) van Smeden, J.; Hoppel, L.; van der Heijden, R.; Hankemeier, T.; Vreeken, R. J.; Bouwstra, J. A. *J. Lipid Res.* **2011**, *52*, 1211-1221.
- (41) Lampe, M. A.; Burlingame, A. L.; Whitney, J.; Williams, M. L.; Brown, B. E.; Roitman, E.; Elias, P. M. *J. Lipid Res.* **1983**, *24*, 120-130.
- (42) Nicolaidis, N. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1965**, *42*, 691-702.
- (43) Wertz, P. W.; Schwartzendruber, D. C.; Madison, K. C.; Downing, D. T. *J. Invest. Dermatol.* **1987**, *89*, 419-425.
- (44) Norlén, L.; Nicander, I.; Lundsjö, A.; Cronholm, T.; Forslind, B. *Arch. Dermatol. Res.* **1998**, *290*, 508-516.
- (45) t'Kindt, R.; Jorge, L.; Dumont, E.; Couturon, P.; David, F.; Sandra, P.; Sandra, K. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 403-411.
- (46) van Smeden, J.; Boiten, W. A.; Hankemeier, T.; Rissmann, R.; Bouwstra, J. A.; Vreeken, R. J. *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, *1841*, 70-79.
- (47) Wertz, P. W. *Adv. Drug Deliver. Rev.* **1996**, *18*, 283-294.
- (48) Masukawa, Y.; Narita, H.; Shimizu, E.; Kondo, N.; Sugai, Y.; Oba, T.; Homma, R.; Ishikawa, J.; Takagi, Y.; Kitahara, T.; Takema, Y.; Kita, K. *J. Lipid Res.* **2008**, *49*, 1466-1476.
- (49) Rabionet, M.; Gorgas, K.; Sandhoff, R. *BBA-Mol. Cell Biol. L.* **2014**, *1841*, 422-434.
- (50) Wertz, P. W.; Downing, D. T. *J. Lipid Res.* **1983**, *24*, 759-765.
- (51) Breiden, B.; Sandhoff, K. *BBA-Mol. Cell Biol. L.* **2014**, *1841*, 441-452.
- (52) Robson, K. J.; Stewart, M. E.; Michelsen, S.; Lazo, N. D.; Downing, D. T. *J. Lipid Res.* **1994**, *35*, 2060-2068.
- (53) Kiselev, M. A.; Ryabova, N. Y.; Balagurov, A. M.; Dante, S.; Hauss, T.; Zbytovska, J.; Wartewig, S.; Neubert, R. H. H. *Eur. Biophys. J.* **2005**, *34*, 1030-1040.
- (54) Breathnach, A. S.; Goodman, T.; Stolinski, C.; Gross, M. *J. Anat.* **1973**, *114*, 65-81.
- (55) Swartzendruber, D. C.; Wertz, P. W.; Kitko, D. J.; Madison, K. C.; Downing, D. T. *J. Invest. Dermatol.* **1989**, *92*, 251-257.
- (56) White, S. H.; Mirejovsky, D.; King, G. I. *Biochemistry* **1988**, *27*, 3725-3732.
- (57) Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; van der Spek, J. A.; Bras, W. *J. Invest. Dermatol.* **1991**, *97*, 1005-1012.

-
- (58) Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; Bras, W.; Downing, D. T. *J. Lipid Res.* **1995**, *36*, 685-695.
- (59) Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; van der Spek, J. A.; Lavrijsen, S.; Bras, W. *BBA-Lipid. Lipid Met.* **1994**, *1212*, 183-192.
- (60) Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; Cheng, K.; Weerheim, A.; Bras, W.; Ponec, M. *J. Lipid Res.* **1996**, *37*, 999-1011.
- (61) Bouwstra, J. A.; Dubbelaar, F. E. R.; Gooris, G. S.; Ponec, M. *Acta Derm.-Venereol.* **2000**, *80*, 23-30.
- (62) Bouwstra, J.; Gooris, G.; Ponec, M. *J. Biol. Phys.* **2002**, *28*, 211-223.
- (63) Bouwstra, J.; Pilgram, G.; Gooris, G.; Koerten, H.; Ponec, M. *Skin Pharmacol. Physi.* **2001**, *14(suppl 1)*, 52-62.
- (64) Kessner, D.; Ruettinger, A.; Kiselev, M. A.; Wartewig, S.; Neubert, R. H. H. *Skin Pharmacol. Physi.* **2008**, *21*, 58-74.
- (65) Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; Dubbelaar, F. E. R.; Ponec, M. *J. Invest. Dermatol.* **2002**, *118*, 606-617.
- (66) Bouwstra, J. A.; Gooris, G. S.; Dubbelaar, F. E. R.; Weerheim, A. M.; Ijzerman, A. P.; Ponec, M. *J. Lipid Res.* **1998**, *39*, 186-196.
- (67) McIntosh, T. J.; Stewart, M. E.; Downing, D. T. *Biochemistry* **1996**, *35*, 3649-3653.
- (68) Bouwstra, J. A.; Dubbelaar, F. E. R.; Gooris, G. S.; Weerheim, A. M.; Ponec, M. *BBA-Biomembranes* **1999**, *1419*, 127-136.
- (69) Opálka, L.; Kováčik, A.; Maixner, J.; Vávrová, K. *Langmuir* **2016**, *32*, 12894-12904.
- (70) Kessner, D.; Brezesinski, G.; Funari, S. S.; Dobner, B.; Neubert, R. H. H. *Chem. Phys. Lipids* **2010**, *163*, 42-50.
- (71) de Jager, M. W.; Gooris, G. S.; Ponec, M.; Bouwstra, J. A. *J. Lipid Res.* **2005**, *46*, 2649-2656.
- (72) Forslind, B. *Acta dermato-venereologica* **1994**, *74*, 1-6.
- (73) Norlén, L. *J. Invest. Dermatol.* **2001**, *117*, 830-836.
- (74) Norlén, L.; Forslind, B.; Nicander, I.; Rozell, B. L.; Ollmar, S. *J. Invest. Dermatol.* **1999**, *112*, 72-77.
- (75) de Jager, M. W.; Gooris, G. S.; Dolbnya, I. P.; Bras, W.; Ponec, M.; Bouwstra, J. A. *J. Lipid Res.* **2004**, *45*, 923-932.
- (76) Engelbrecht, T.; Hau; Suess, K.; Vogel, A.; Roark, M.; Feller, S. E.; Neubert, R. H. H.; Dobner, B. *Soft Matter* **2011**, *7*, 8998-9011.
- (77) Madison, K. C.; Swartzendruber, D. C.; Wertz, P. W.; Downing, D. T. *J. Invest. Dermatol.* **1987**, *88*, 714-718.
- (78) Kessner, D.; Kiselev, M. A.; Hauß, T.; Dante, S.; Wartewig, S.; Neubert, R. H. H. *Eur. Biophys. J.* **2008**, *37*, 1051-1057.
- (79) Ruettinger, A.; Kiselev, M. A.; Hauss, T.; Dante, S.; Balagurov, A. M.; Neubert, R. H. H. *Eur. Biophys. J.* **2008**, *37*, 759-771.
- (80) Mojumdar, E. H.; Groen, D.; Gooris, G. S.; Barlow, D. J.; Lawrence, M. J.; Demé, B.; Bouwstra, J. A. *Biophys. J.* **2013**, *105*, 911-918.
- (81) Iwai, I.; Han, H.; Hollander, L. d.; Svensson, S.; Öfverstedt, L.-G.; Anwar, J.; Brewer, J.; Bloksgaard, M.; Laloeuf, A.; Nosek, D.; Masich, S.; Bagatolli, L. A.; Skoglund, U.; Norlén, L. *J. Invest. Dermatol.* **2012**, *132*, 2215-2225.
- (82) Školová, B.; Janůšová, B.; Zbytovská, J.; Gooris, G.; Bouwstra, J.; Slepíčka, P.; Berka, P.; Roh, J.; Palát, K.; Hrabálek, A.; Vávrová, K. *Langmuir* **2013**, *29*, 15624-15633.
- (83) Sparr, E.; Eriksson, L.; Bouwstra, J. A.; Ekelund, K. *Langmuir* **2001**, *17*, 164-172.

-
- (84) Groen, D.; Gooris, G. S.; Barlow, D. J.; Lawrence, M. J.; van Mechelen, J. B.; Deme, B.; Bouwstra, J. A. *Biophys. J.* **2011**, *100*, 1481-1489.
- (85) Kessner, D.; Kiselev, M.; Dante, S.; Hauß, T.; Lersch, P.; Wartewig, S.; Neubert, R. H. H. *Eur. Biophys. J.* **2008**, *37*, 989-999.
- (86) Kiselev, M. A., Ermakova, E. V., Gruzinov, A. Yu., Zabelin, A. V. *Crystallography Rep.* **2007**, *52*, 525-528.
- (87) Wolf, H. U., inventor; Ceramid-Dimere und ihr Verwendung als Arzneimittel oder kosmetische Zubereitung, EP 2 266 950 A1, **2009**.
- (88) Ehlers, E. *Chemie: Kurzlehrbuch allgemeine und anorganische Chemie : mit 106 Tabellen. 1*; Dt. Apotheker-Verlag, 2003.
- (89) Olive, K. A. *Chinese Phys. C* **2014**, *38*, 1-1676.
- (90) Reimers, W.; Kaysser-Pyzalla, A.; Schreyer, A. K.; Clemens, H. *Neutrons and Synchrotron Radiation in Engineering Materials Science: From Fundamentals to Material and Component Characterization*; Wiley-VCH, 2008.
- (91) *Neutron Scattering for Biology*, Harroun, T. A.; Wignall, G. D.; Katsaras, J., Fitter, J., Gutberlet, T., Katsaras, J., Eds., Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006.
- (92) Schatz, G.; Weidinger, A.; Deicher, M. *Nukleare Festkörperphysik: Kernphysikalische Messmethoden und ihre Anwendungen*; Vieweg+Teubner Verlag, 2010.
- (93) Kessner, D. *Dissertation 2008*, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (94) Schoenborn, B. P.; Nunes, A. C. *Annu. Rev. Biophys. Bio.* **1972**, *1*, 529-552.
- (95) Hauss, T.; Büldt, G.; Heyn, M. P.; Dencher, N. A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 11854-11858.
- (96) Dante, S.; Hauss, T.; Dencher, N. A. *Biochemistry* **2003**, *42*, 13667-13672.
- (97) Winter, R.; Noll, F.; Czeslik, C. *Methoden der Biophysikalischen Chemie*; 2 ed.; Teubner B.G. GmbH, 2011.
- (98) Eichner, A.; Stahlberg, S.; Sonnenberger, S.; Lange, S.; Dobner, B.; Ostermann, A.; Schrader, T. E.; Hauß, T.; Schroeter, A.; Huster, D.; Neubert, R. H. H. *BBA-Biomembranes* **2017**, *1859*, 745-755.
- (99) Sonnenberger, S.; Eichner, A.; Hauß, T.; Schroeter, A.; Neubert, R. H. H.; Dobner, B. *Chem. Phys. Lipids* **2017**, *204*, 15-24.
- (100) Cser, F. *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *80*, 2300-2308.
- (101) Nagle, J. F.; Tristram-Nagle, S. *BBA-Rev. Biomembranes* **2000**, *1469*, 159-195.
- (102) Wiener, M. C., White, S. H. *Biophys. J.* **1991**, *59*, 174-185.
- (103) Schoenborn, B. P. *BBA-Rev. Biomembranes* **1976**, *457*, 41-55.
- (104) Ives, D. J. G.; Kerlogue, R. H. *J. Chem. Soc.* **1940**, 1362-1370.
- (105) Bonhoeffer, K. F.; Geib, K. H.; Reitz, O. *J. Chem. Phys.* **1939**, *7*, 664-670.
- (106) Atkinson, J. G.; Csakvary, J. J.; Herbert, G. T.; Stuart, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 498-499.
- (107) Della, E. W.; Patney, H. K. *J. Labelled. Compd. Rad.* **1973**, *9*, 651-659.
- (108) Tashiro, M.; Tsuzuki, H.; Isobe, S.-I.; Goto, H.; Ogasahara, S.; Mataka, S.; Yonemitsu, T. *J. Labelled. Compd. Rad.* **1991**, *29*, 405-414.
- (109) Hsiao, C. Y. Y.; Ottaway, C. A.; Wetlaufer, D. B. *Lipids* **1974**, *9*, 913-915.
- (110) Aasen, A. J.; Lauer, W. M.; Holman, R. T. *Lipids* **1970**, *5*, 869-877.
- (111) Lauer, W. M.; Aasen, A. J.; Graff, G.; Holman, R. T. *Lipids* **1970**, *5*, 861-868.
- (112) Kurita, T.; Aoki, F.; Mizumoto, T.; Maejima, T.; Esaki, H.; Maegawa, T.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 3371-3379.

- (113) Hill, S.; Hirano, K.; Shmanai, V. V.; Marbois, B. N.; Vidovic, D.; Bekish, A. V.; Kay, B.; Tse, V.; Fine, J.; Clarke, C. F.; Shchepinov, M. S. *Free Radical Bio. Med.* **2011**, *50*, 130-138.
- (114) Isabelle, M. E.; Leitch, L. C. *Can. J. Chem.* **1958**, *36*, 440-448.
- (115) Tulloch, A. P. *Chem. Phys. Lipids* **1977**, *18*, 1-6.
- (116) Dobner, B.; Nuhn, P. *Chem. Phys. Lipids* **1991**, *60*, 21-28.
- (117) Lange, S. *Bachelor-Thesis* **2011**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (118) *Organikum*, Autorenkollektiv, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004, 22. Auflage.
- (119) Wild, R.; Schmidt, R. R. *Tetrahedron-Asymmetr.* **1994**, *5*, 2195-2208.
- (120) Ong, D. E.; Brady, R. N. *J. Lipid Res.* **1972**, *13*, 819-822.
- (121) Opálka, L.; Kováčik, A.; Sochorová, M.; Roh, J.; Kuneš, J.; Lenčo, J.; Vávrová, K. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5456-5459.
- (122) Skolova, B.; Hudska, K.; Pullmannova, P.; Kovacik, A.; Palat, K.; Roh, J.; Fleddermann, J.; Estrela-Lopis, I.; Vavrova, K. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 10460-10470.
- (123) Wisse, P.; de Geus, M. A. R.; Cross, G.; van den Nieuwendijk, A. M. C. H.; van Rooden, E. J.; van den Berg, R. J. B. H. N.; Aerts, J. M. F. G.; van der Marel, G. A.; Codée, J. D. C.; Overkleeft, H. S. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7258-7265.
- (124) Nishimura, S.-I.; Yamada, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10555-10556.
- (125) Sahle, F. F.; Lange, S.; Dobner, B.; Wohlrab, J.; Neubert, R. H. H. *J. Pharmaceut. Biomed.* **2012**, *60*, 7-13.
- (126) Coste, J.; Le-Nguyen, D.; Castro, B. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 205-208.
- (127) Wölk, C.; Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A.; Langner, A.; Dobner, B. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 12824-12838.
- (128) Wölk, C.; Heinze, M.; Kreideweiß, P.; Dittrich, M.; Brezesinski, G.; Langner, A.; Dobner, B. *Int. J. Pharm.* **2011**, *409*, 46-56.
- (129) Stallberg-Stenhagen, S. *Ark. Kemi* **1951**, *3*, 517-524.
- (130) Gorczynski, M. J.; Huang, J.; King, S. B. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2305-2308.
- (131) Soai, K.; Yokoyama, S.; Mochida, K. *Synthesis* **1987**, 647-648.
- (132) Miyashita, N.; Yoshikoshi, A.; Grieco, P. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3772-3774.
- (133) Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*; 4th ed.; John Wiley & Sons, Inc., 2006.
- (134) Schwarz, M.; Oliver, J. E.; Sonnet, P. E. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 2410-2411.
- (135) Cundy, D. J.; Gurr, P. A. *Org. Prep. Procced. Int.* **2000**, *32*, 461-468.
- (136) Mori, K.; Ohki, M.; Sato, A.; Matsui, M. *Tetrahedron* **1972**, *28*, 3739-3745.
- (137) Drescher, S. *Dissertation* **2008**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (138) Kang, S.-K.; Kim, W.-S.; Moon, B.-H. *Synthesis* **1985**, *1985*, 1161-1162.
- (139) Tamura, M.; Kochi, J. *Synthesis* **1971**, *6*, 303-305.
- (140) Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A.; Karlsson, G.; Almgren, M.; Dobner, B. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5300-5307.
- (141) Drescher, S.; Sonnenberger, S.; Meister, A.; Blume, A.; Dobner, B. *Monatsh. Chem.* **2012**, *143*, 1533-1543.
- (142) Drescher, S.; Meister, A.; Graf, G.; Hause, G.; Blume, A.; Dobner, B. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6796-6804.
- (143) Abad, J.-L.; Villorbina, G.; Fabrias, G.; Camps, F. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7108-7113.
- (144) Li, J.-F.; Zhao, Y.; Cai, M.-M.; Li, X.-F.; Li, J.-X. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2796-2806.
- (145) Kim, M. H.; Patel, D. V. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5603-5606.

- (146) Pascher, I. *Chem. Phys. Lipids* **1974**, *12*, 303-315.
- (147) Karlsson, K. A.; Pascher, I. *Chem. Phys. Lipids* **1974**, *12*, 65-74.
- (148) Karlsson, K.-A.; Pascher, I. *J. Lipid Res.* **1971**, *12*, 466-472.
- (149) Pascher, I. *BBA-Biomembranes* **1976**, *455*, 433-451.
- (150) Raudenkolb, S.; Wartewig, S.; Neubert, R. H. H. *Chem. Phys. Lipids* **2005**, *133*, 89-102.
- (151) Mori, K.; Funaki, Y. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 2369-2377.
- (152) Snyder, H. R.; Smith, C. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 350-351.
- (153) Lange, S. *Master-Thesis* **2012**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (154) Blanchfield, J. T.; Dutton, J. L.; Hogg, R. C.; Gallagher, O. P.; Craik, D. J.; Jones, A.; Adams, D. J.; Lewis, R. J.; Alewood, P. F.; Toth, I. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1266-1272.
- (155) Culbertson, S. M.; Porter, N. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4032-4038.
- (156) Gibbons William, A.; Hughes Richard, A.; Charalambous, M.; Christodoulou, M.; Szeto, A.; Aulabaugh Anne, E.; Mascagni, P.; Toth, I. *Liebigs Ann. Chem.* **2006**, *1990*, 1175-1183.
- (157) Wisse, P.; de Geus, M. A. R.; Cross, G.; van den Nieuwendijk, A. M. C. H.; van Rooden, E. J.; van den Berg, R. J. B. H. N.; Aerts, J. M. F. G.; van der Marel, G. A.; Codee, J. D. C.; Overkleeft, H. S. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7258-7265.
- (158) Doering, T.; Holleran, W. M.; Potratz, A.; Vielhaber, G.; Elias, P. M.; Suzuki, K.; Sandhoff, K. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 11038-11045.
- (159) Nuhn, P.; Brezesinski, G.; Dobner, B.; Förster, G.; Gutheil, M.; Dörfler, H.-D. *Chem. Phys. Lipids* **1986**, *39*, 221-236.
- (160) Brezesinski, G.; Dobner, B.; Dörfler, H.-D.; Fischer, M.; Haas, S.; Nuhn, P. *Chem. Phys. Lipids* **1987**, *43*, 257-264.
- (161) Menger, F. M.; Wood, M. G.; Zhou, Q. Z.; Hopkins, H. P.; Fumero, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6804-6810.
- (162) Markowski, T.; Drescher, S.; Meister, A.; Hause, G.; Blume, A.; Dobner, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 5894-5904.
- (163) Markowski, T.; Drescher, S.; Meister, A.; Blume, A.; Dobner, B. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 3649-3662.
- (164) Mori, K.; Matsuda, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 529-535.
- (165) Süß, K. *Diplomarbeit* **2015**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (166) Heiser, U. F.; Wolf, R.; Dobner, B. *Chem. Phys. Lipids* **1997**, *90*, 25-30.
- (167) Creger, P. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2500-2501.
- (168) Salmon-Legagneur, F.; Neveu, C. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1965**, *8*, 2270-2275.
- (169) Wölk, C. *Diplomarbeit* **2010**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (170) Wölk, C. *Dissertation* **2014**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (171) Schulze, I. *Dissertation* **2006**, MLU-Halle/Wittenberg, Halle (Saale).
- (172) Breslow, D. S.; Baumgarten, E.; Hauser, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 1286-1288.
- (173) Zhao, M.; Li, J.; Mano, E.; Song, Z.; Tschaen, D. M.; Grabowski, E. J. J.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2564-2566.
- (174) Lucio Anelli, P.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2559-2562.
- (175) Livni, E.; Davis, M. A.; Warner, V. D. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 580-583.
- (176) Sonnenberger, S.; Eichner, A.; Schmitt, T.; Hauß, T.; Lange, S.; Langner, A.; Neubert, R. H. H.; Dobner, B. *J. Labelled. Compd. Rad.* **2017**, *60*, 316-330.

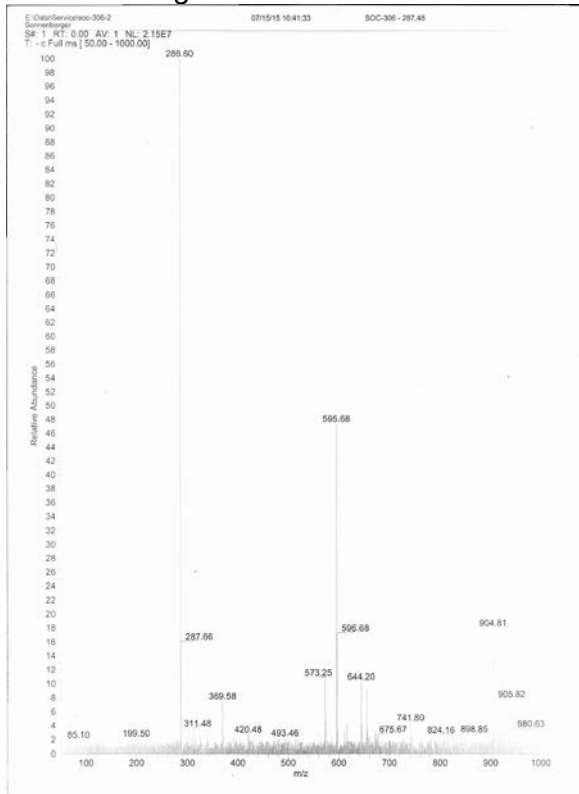
-
- (177) Stahlberg, S.; Eichner, A.; Sonnenberger, S.; Kováčik, A.; Lange, S.; Schmitt, T.; Demé, B.; Hauß, T.; Dobner, B.; Neubert, R. H. H.; Huster, D. *Langmuir* **2017**, *33*, 9211-9221.
- (178) Gruzinov, A. Y.; Zabelin, A. V.; Kiselev, M. A. *Chem. Phys. Lipids* **2017**, *202*, 1-5.
- (179) Schroeter, A.; Kessner, D.; Kiselev, M. A.; Hauß, T.; Dante, S.; Neubert, R. H. H. *Biophys. J.* **2009**, *97*, 1104-1114.
- (180) Ali, M. R., Cheng, K.H., Huang, J. *Biochemistry* **2006**, *45*, 12629-12638.
- (181) Petrache, H. I., Dodd, S. W., Brown, M. F. *Biophys. J.* **2000**, *79*, 3172-3192.
- (182) Small, D. M. *The physical chemistry of lipids*; Plenum Press: New York, 1986.
- (183) de Jager, M.; Gooris, G.; Ponec, M.; Bouwstra, J. *J. Invest. Dermatol.* **2004**, *123*, 911-916.
- (184) Wartewig, S.; Neubert, R. H. H. *Skin Pharmacol. Physiol.* **2007**, *20*, 220-229.
- (185) Schreiner, V.; Pfeiffer, S.; Lanzendörfer, G.; Wenck, H.; Diembeck, W.; Gooris, G. S.; Proksch, E.; Bouwstra, J. *J. Invest. Dermatol.* **2000**, *114*, 654-660.
- (186) Hill, J. R.; Wertz, P. W. *BBA-Biomembranes* **2003**, *1616*, 121-126.
- (187) Kiselev, M. A.; Ermakova, E. V.; Gruzinov, A. Y.; Zabelin, A. V. *Crystallography Rep.* **2014**, *59*, 112-116.
- (188) Mojumdar, Enamul H.; Gooris, Gert S.; Barlow, David J.; Lawrence, M. J.; Deme, B.; Bouwstra, Joke A. *Biophys. J.* **2015**, *108*, 2670-2679.
- (189) Mojumdar, E. H.; Gooris, G. S.; Groen, D.; Barlow, D. J.; Lawrence, M. J.; Demé, B.; Bouwstra, J. A. *BBA-Biomembranes* **2016**, *1858*, 1926-1934.
- (190) Kováčik, A.; Opálka, L.; Šilarová, M.; Roh, J.; Vávrová, K. *RSC Advances* **2016**, *6*, 73343-73350.
- (191) Dahlén, B.; Pascher, I. *Acta Crystallogr. B* **1972**, *28*, 2396-2404.
- (192) Schroeter, A.; Kiselev, M. A.; Hauß, T.; Dante, S.; Neubert, R. H. H. *BBA-Biomembranes* **2009**, *1788*, 2194-2203.
- (193) Seul, M., Sammon, M.J. *Thin Solid Films* **1990**, *185*, 287-305.
- (194) Worcester, D. L.; Franks, N. P. *J. Mol. Biol.* **1976**, *100*, 359-378.
- (195) Young, J. F. *J. Appl. Chem.* **1967**, *17*, 241-245.
- (196) Brien, F. E. M. O. *J. Sci. Instrum.* **1948**, *25*, 73.
- (197) Winston, P. W.; Bates, D. H. *Ecology* **1960**, *41*, 232-237.
- (198) Engelbrecht, T. N., Schroeter, A., Hauß, T., Demé, B., Scheidt, H. A., Huster, D., Neubert, R. H. H. *Soft Matter* **2012**, *8*, 6599-6607.
- (199) Grube, A.; Timm, C.; Köck, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 1285-1295.
- (200) le Bars, D.; Apparü, M.; Léo, P. M.; Vidal, M.; Luu-Duc, C. *J. Labelled. Compd. Rad.* **1985**, *22*, 903-907.

7 Anhang

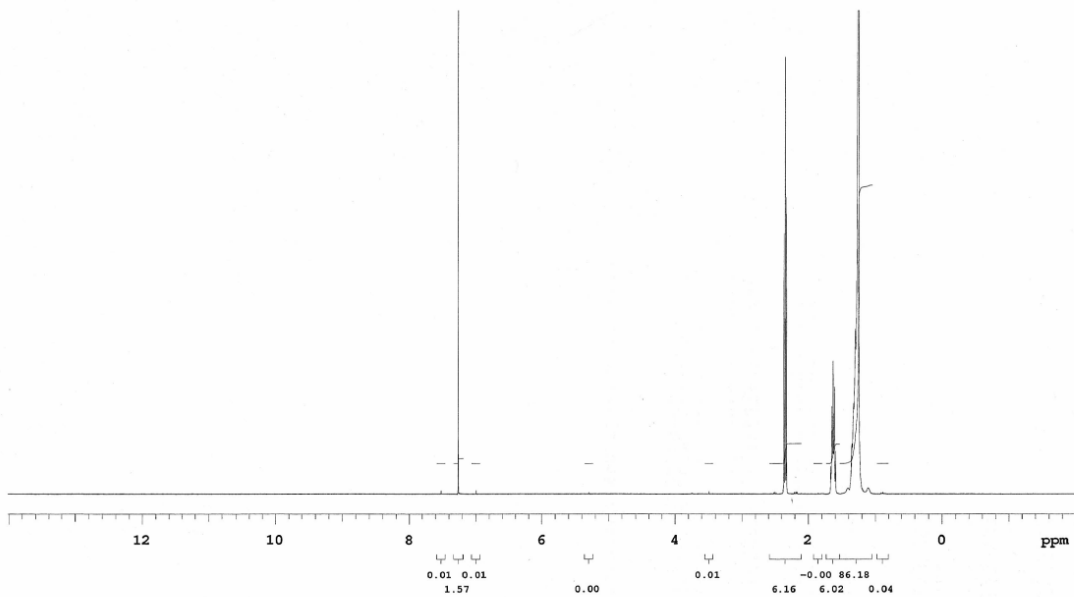
Spektren und Chromatogramme ausgewählter Verbindungen

18,18,18-D₃-Octadecansäure – (27) (M_G = 287,48 g/mol)

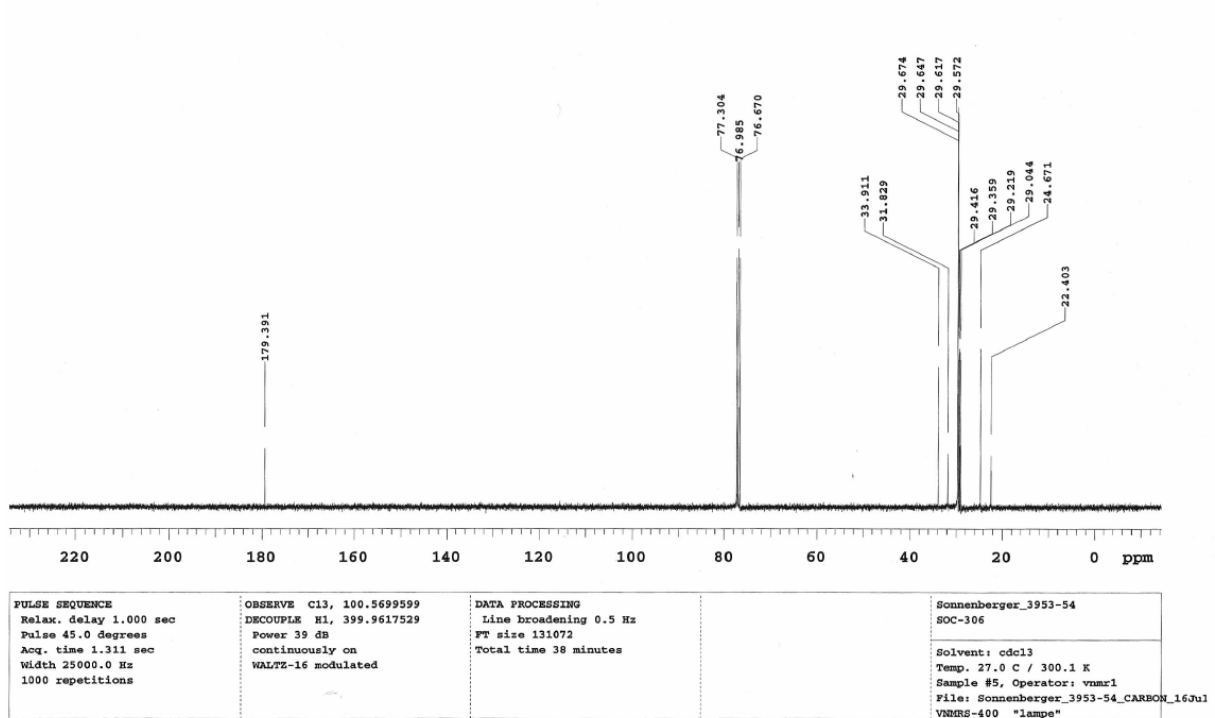
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

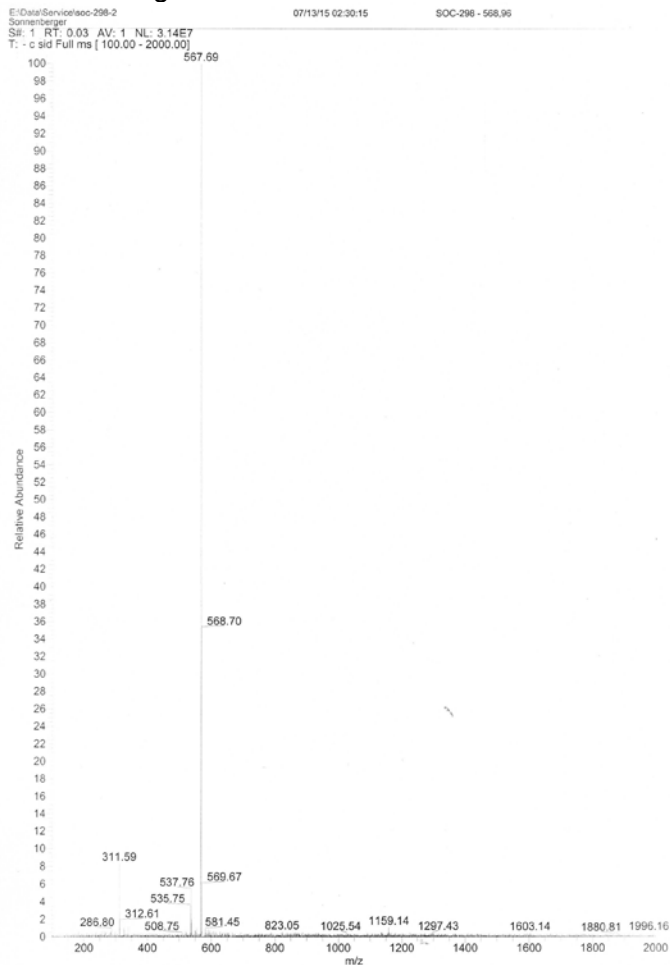


PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 5.112 sec Width 6410.3 Hz 16 repetitions	OBSERVE H1, 399.9597531	DATA PROCESSING FT size 131072 Total time 1 minutes	Sonnenberger_3953-54 SOC-306 Solvent: cdcl3 Temp. 27.0 C / 300.1 K Sample #5, Operator: vnmr1 File: Sonnenberger_3953-54_PROTON 16Jul12 VNMR5-400 "lampe"
---	--------------------------------	--	---

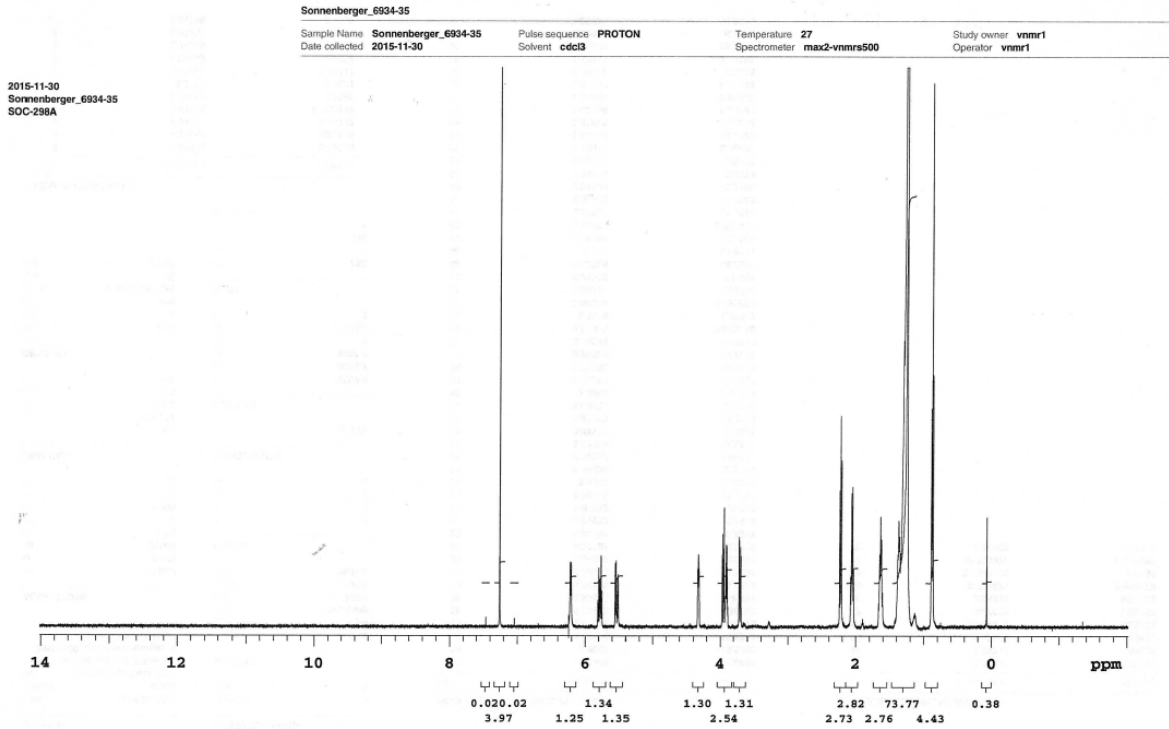
¹³C-NMR:

**N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid –
CER[NS]-18,18,18-D₃ – (32) (M_G = 568,95 g/mol)**

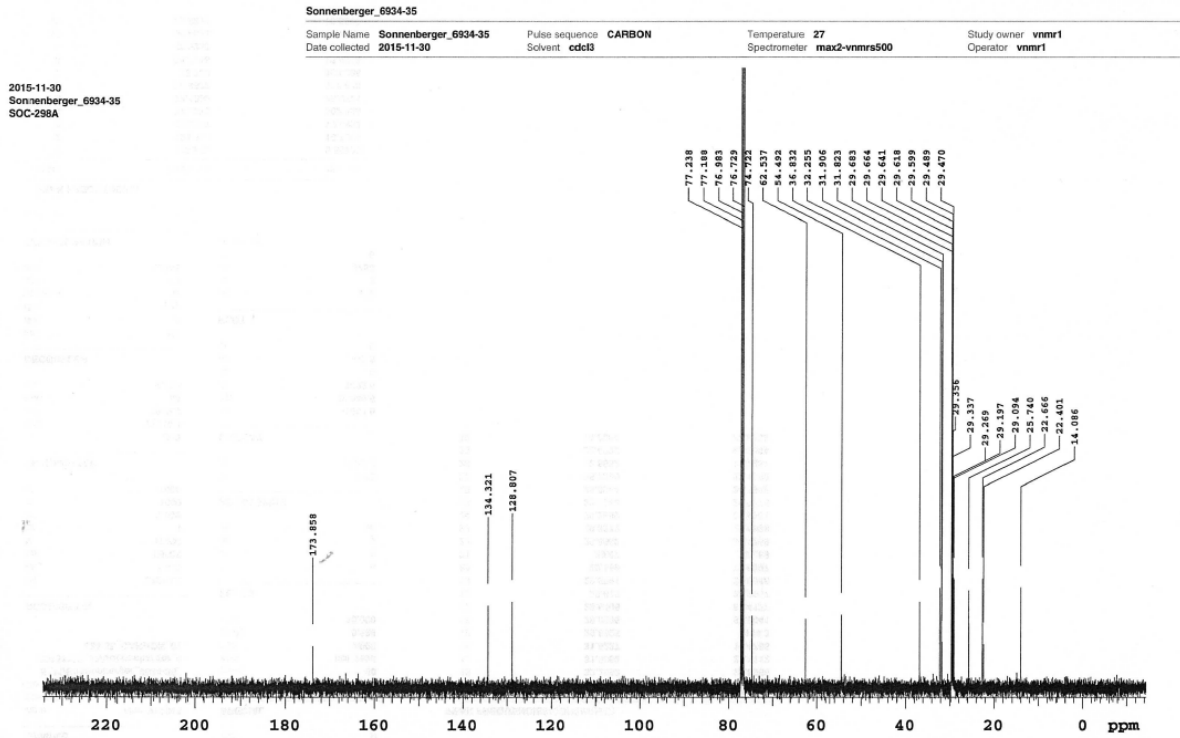
ESI-MS – negativ Modus:



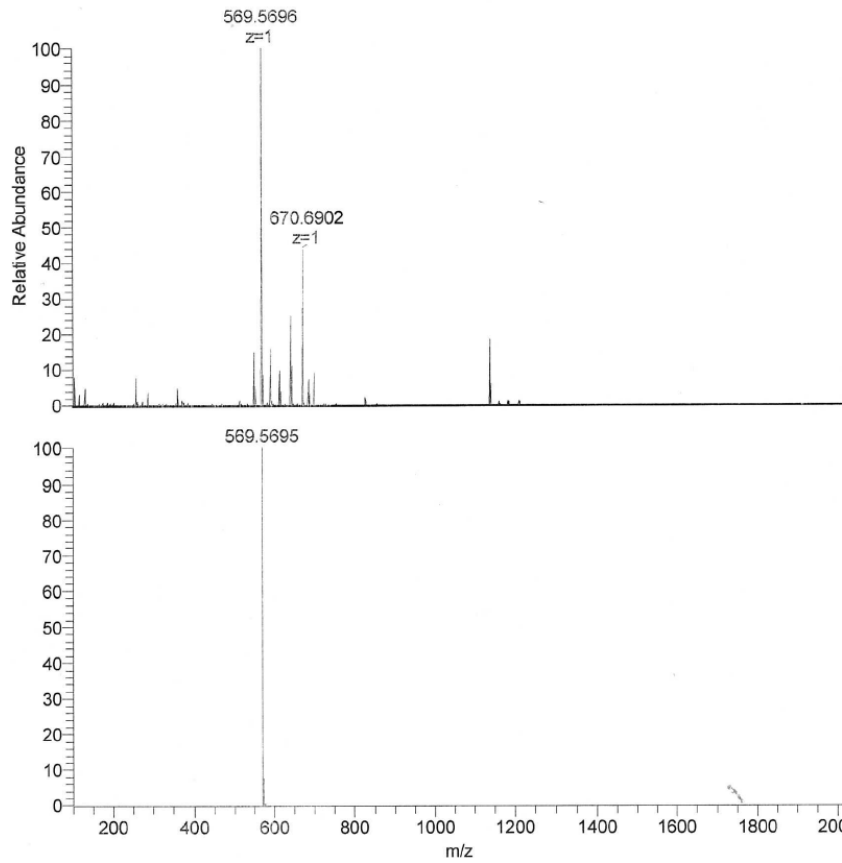
¹H-NMR:



¹³C-NMR:

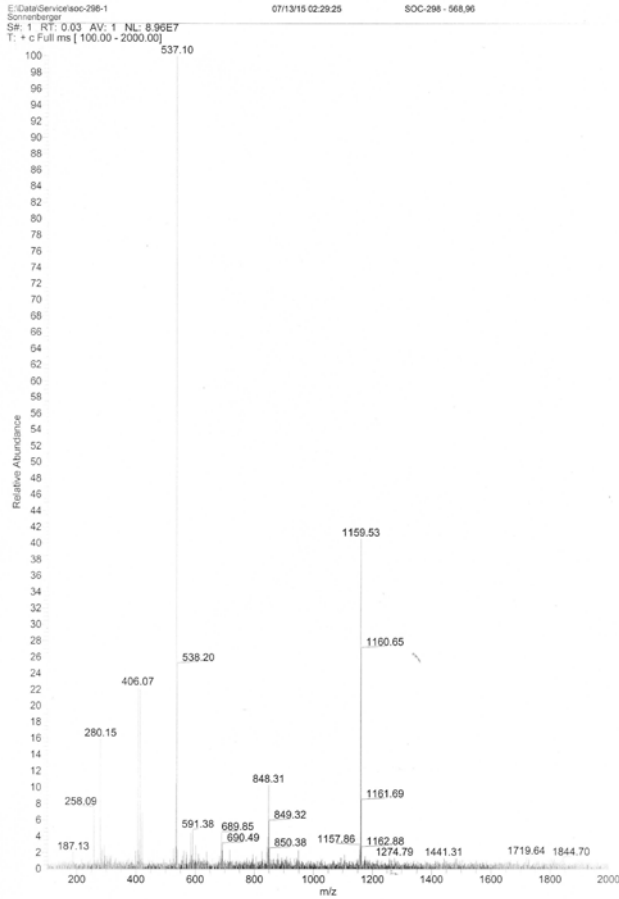


HR-MS:



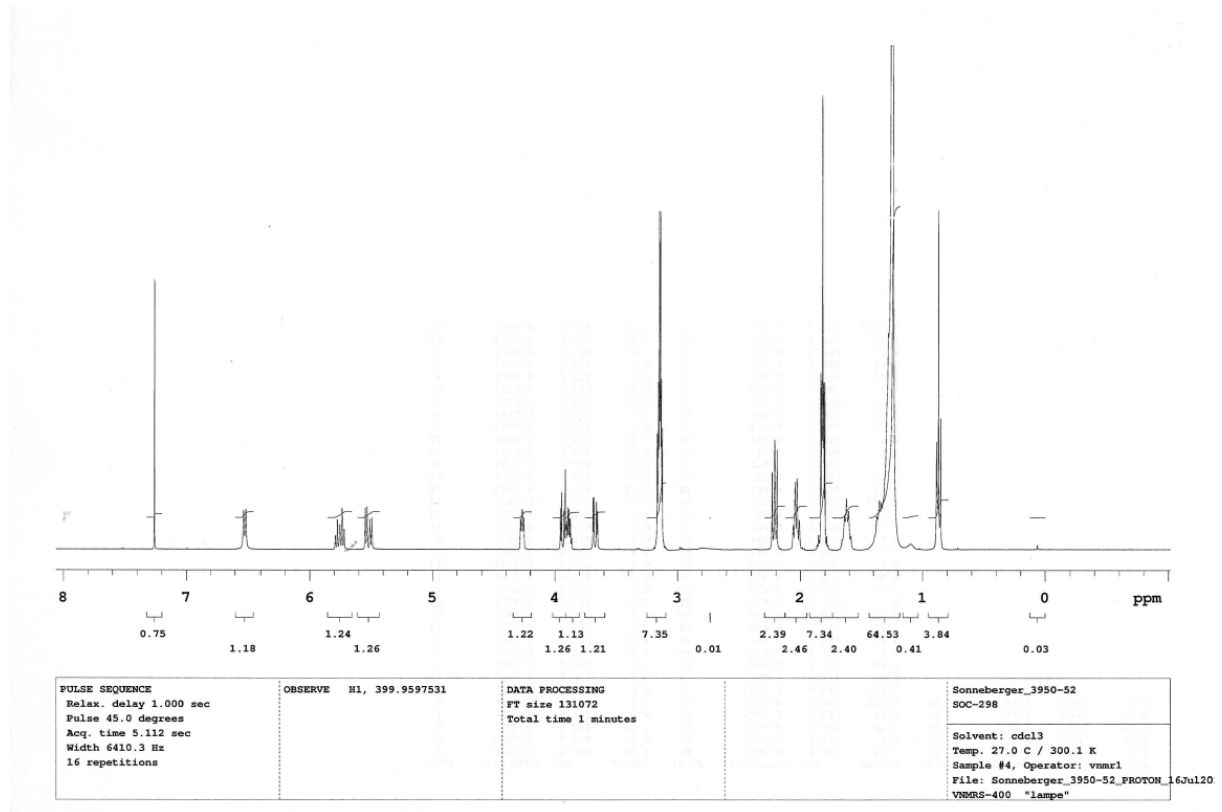
NL:
1.05E7
SOC_298a_2015122111
1843#9-65 RT:
0.06-0.41 AV: 57 T:
FTMS + p NSI Full ms
[100.0000-2000.0000]

NL:
6.66E5
C₃₆H₆₈D₃NO₃+H:
C₃₆H₆₉D₃N₁O₃
pa Chrg 1

ESI-MS – positiv Modus: PyBOP®-Nebenprodukt ($M_G = 537,1$ m/z)

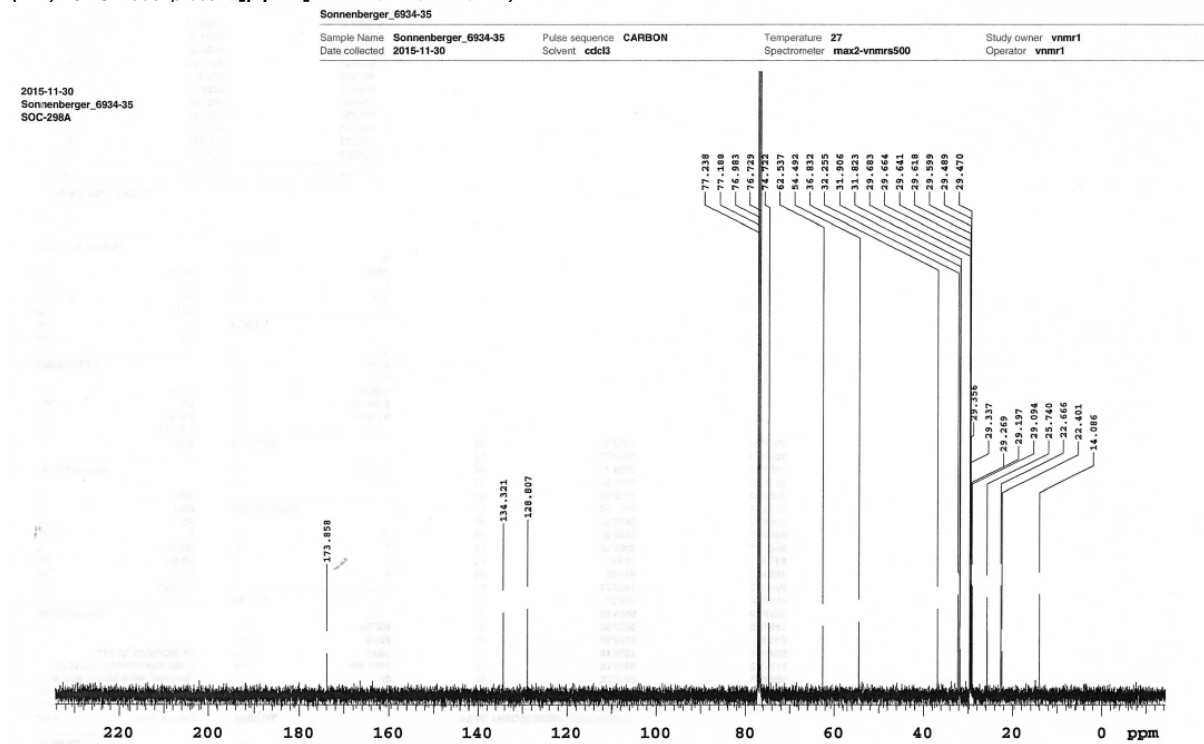
¹H-NMR: CER[NS] 18,18,18-D₃ mit PyBOP®-Nebenprodukt

($\delta_{\text{PyBOP}^{\circledR}\text{-Nebenprodukt}}$ [ppm] = 1,79-1,85 (m), 3,12-3,17 (m))



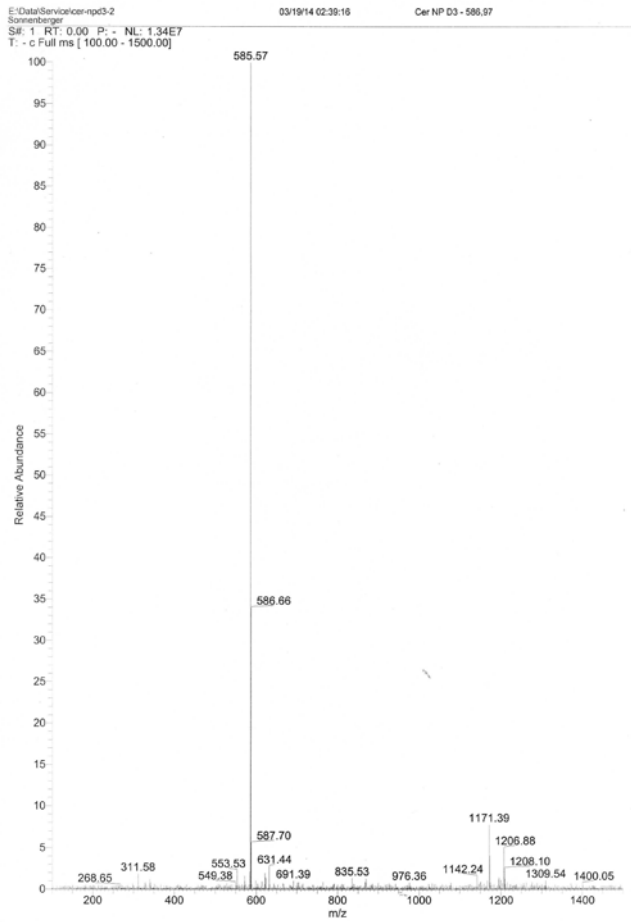
¹³C-NMR: CER[NS] 18,18,18-D₃ mit PyBOP®-Nebenprodukt:

($\delta_{\text{PyBOP}^{\circledR}\text{-Nebenprodukt}}$ [ppm] = 26,50, 26,58)

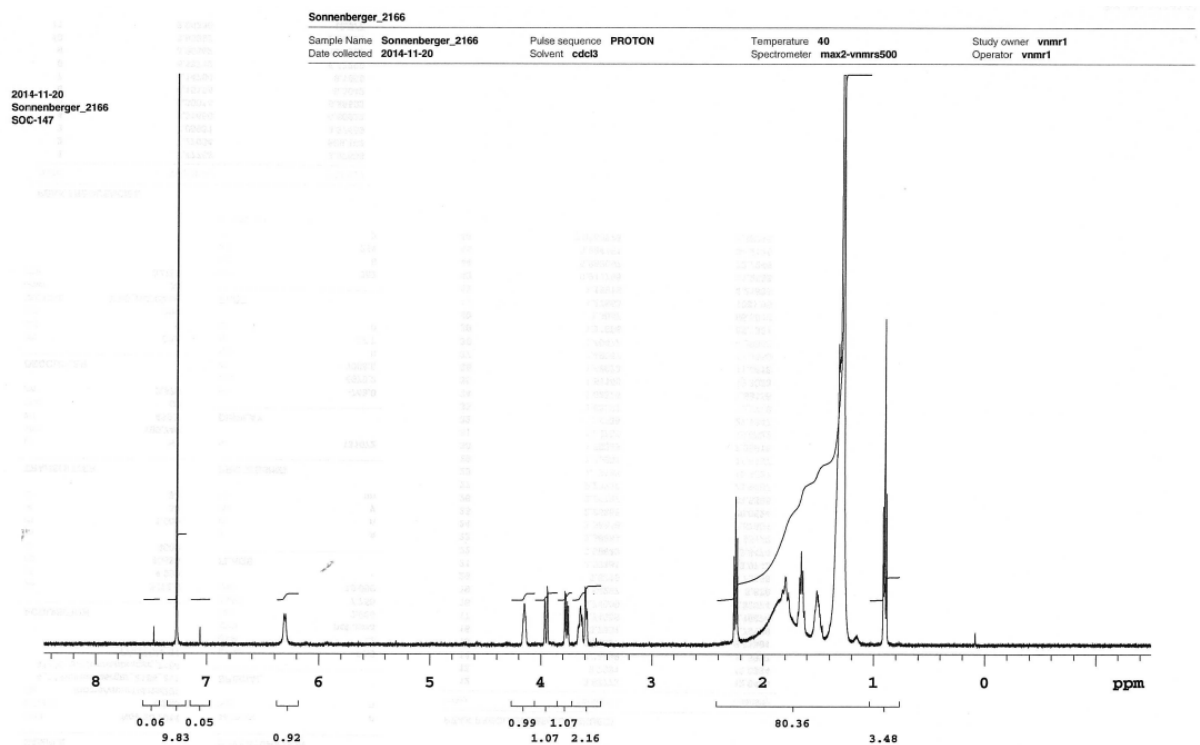


***N*-[*(2S,3S,4R)*-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-*D*₃-octadecanamid –
CER[NP]-18,18,18-*D*₃ – (35) ($M_G = 586,97$ g/mol)**

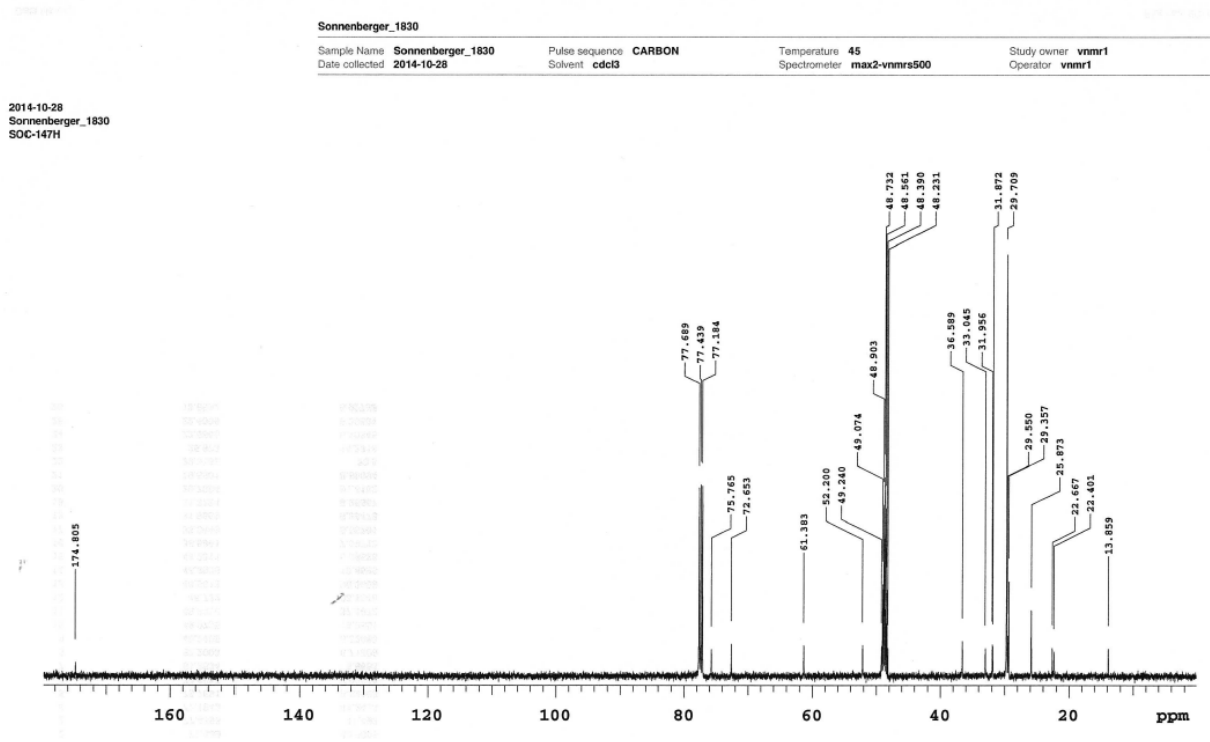
ESI-MS – negativ Modus:



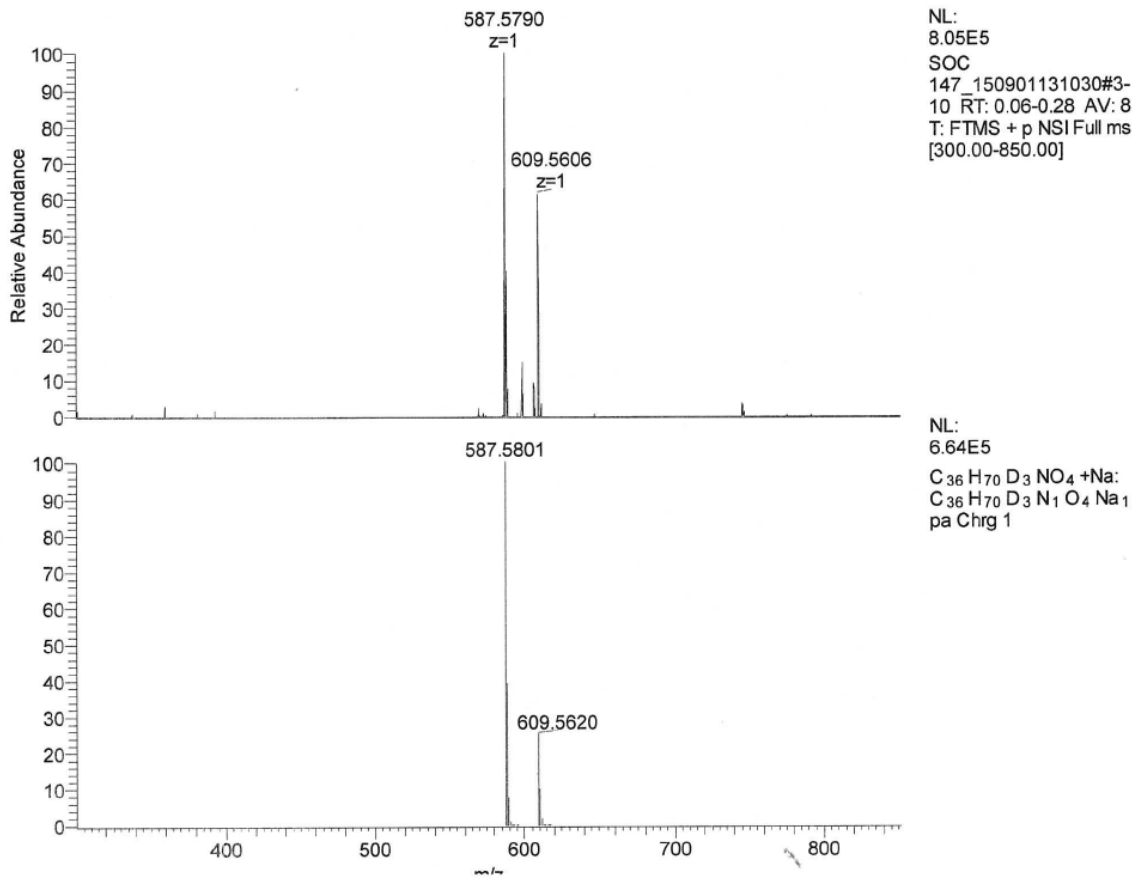
¹H-NMR:



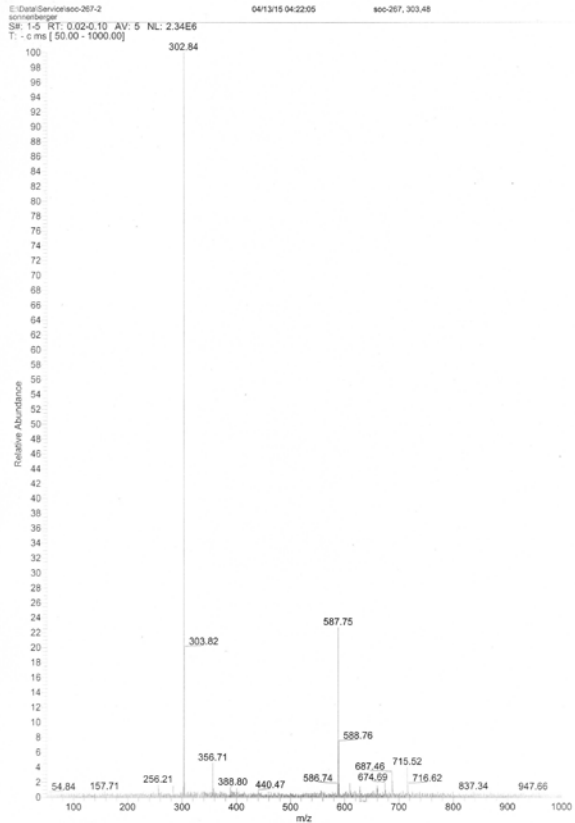
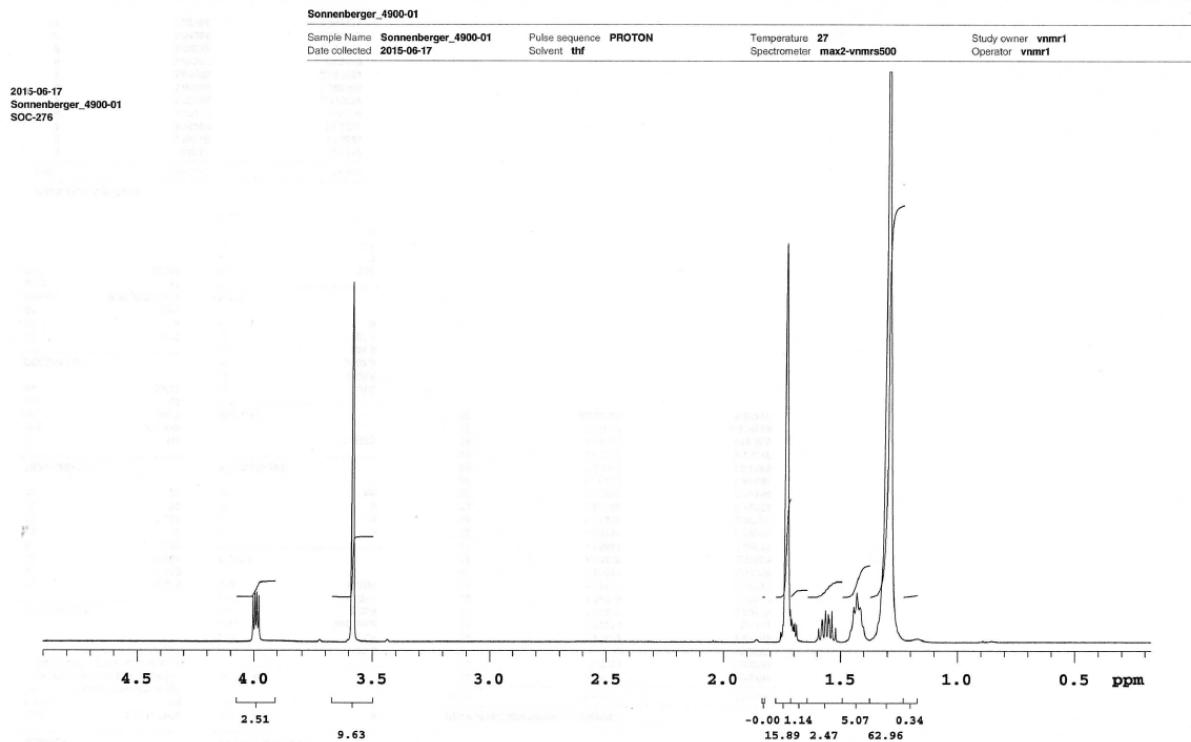
¹³C-NMR:

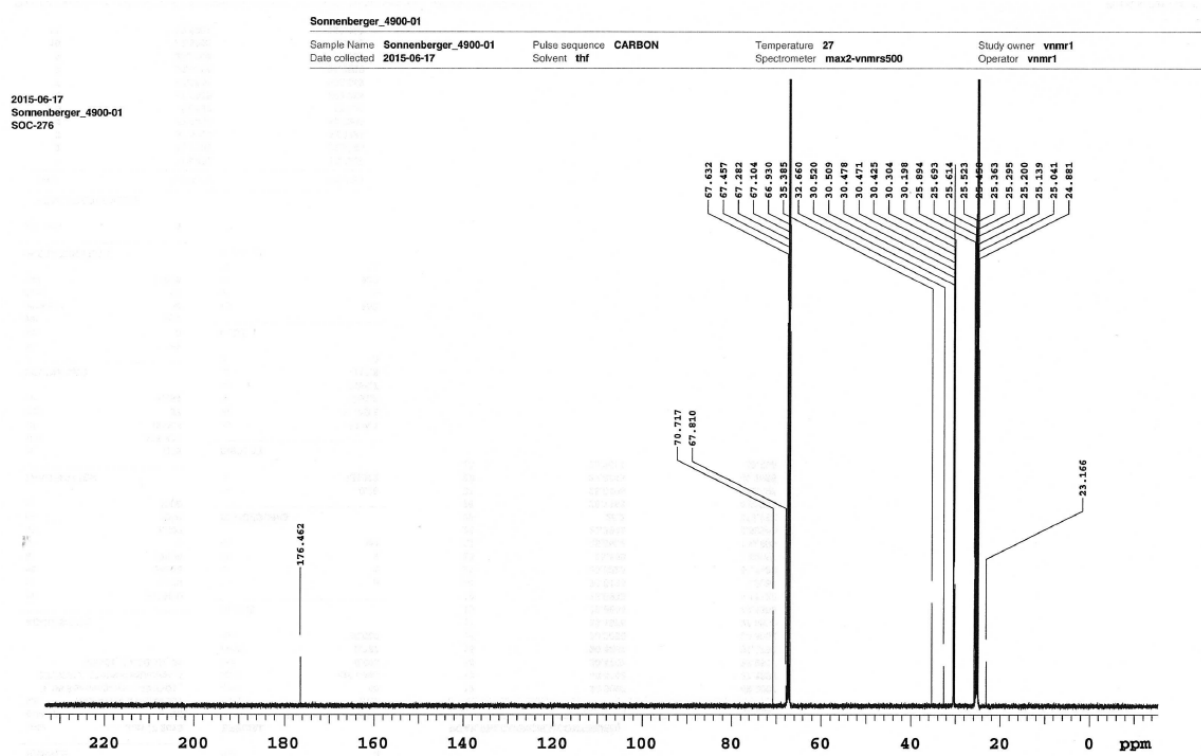


HR-MS:



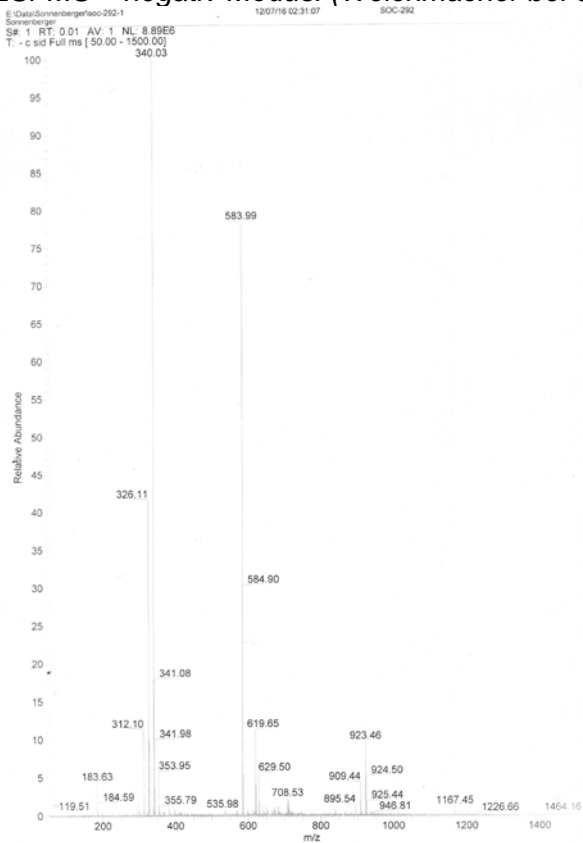
18,18,18-D₃-(2*RS*)-2-Acetoxyoctadecansäure – (51) ($M_G = 303,48$ g/mol)

ESI-MS – negativ Modus:

¹H-NMR:


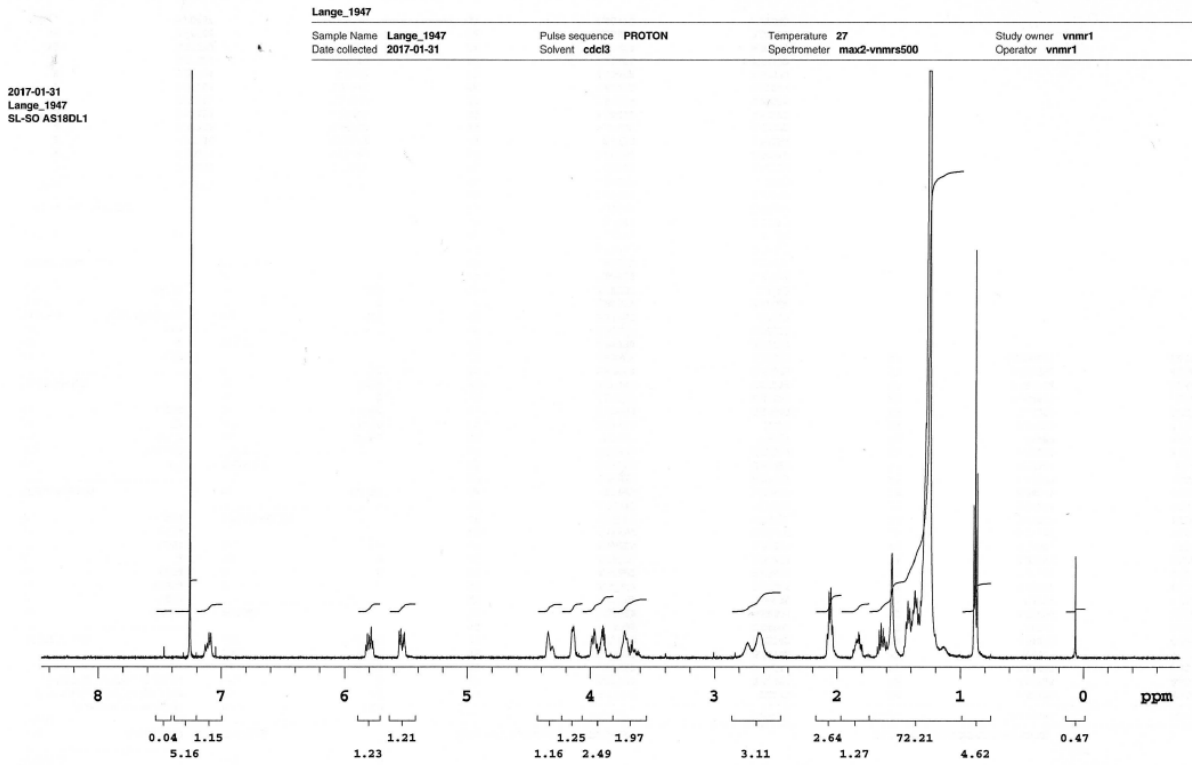
^{13}C -NMR:

(2SR)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecan-amid – DL-CER[AS]-18,18,18-D₃ – (57) (M_G = 584,95 g/mol)

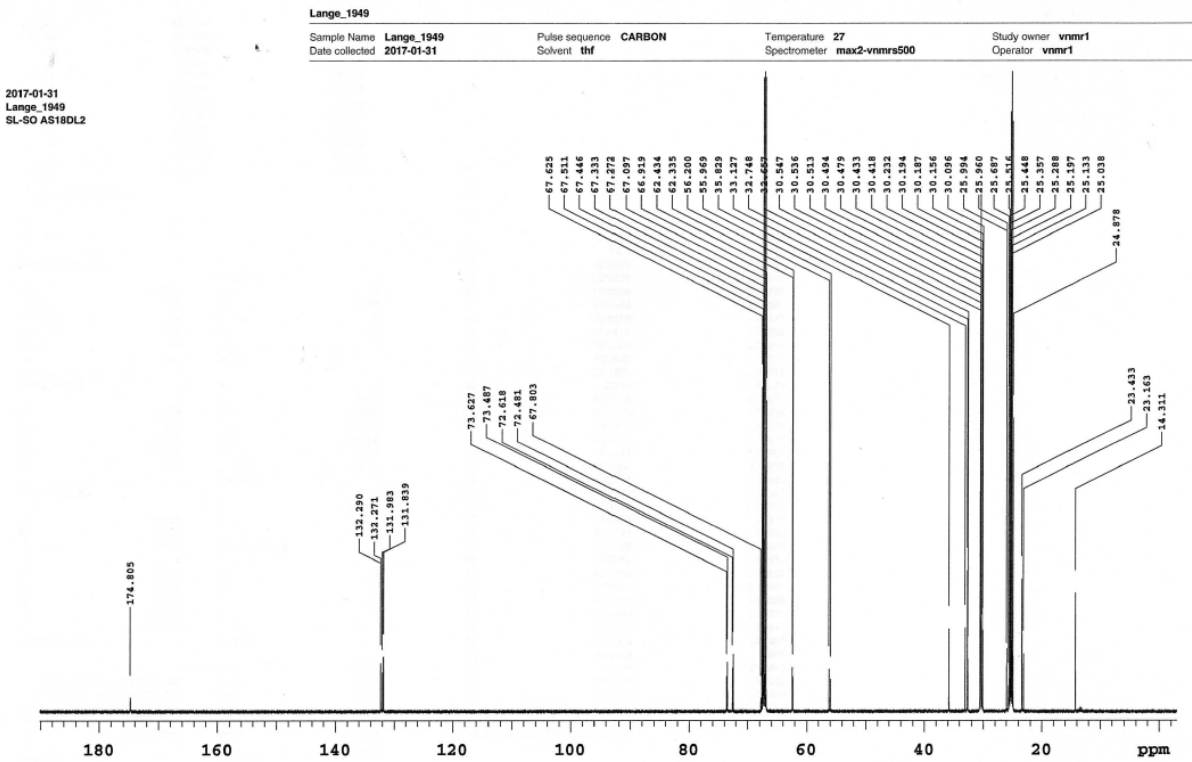
ESI-MS – negativ Modus: (Weichmacher bei 312,1 m/z, 326,1 m/z, 340,0 m/z)



¹H-NMR:

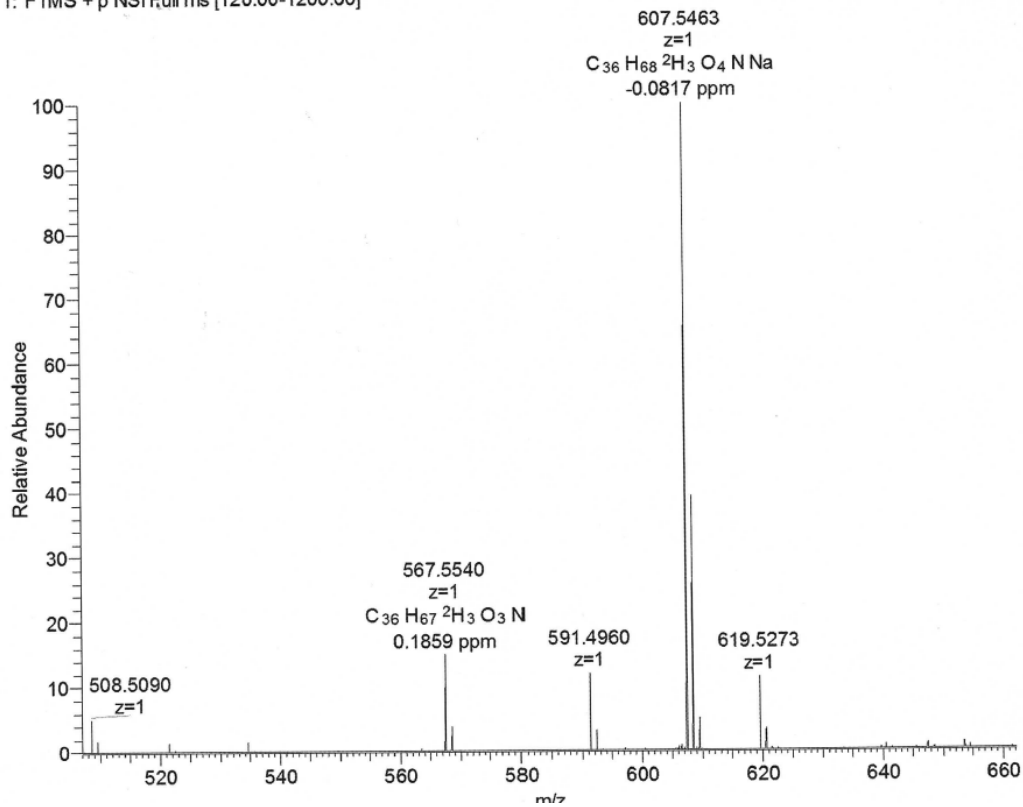


¹³C-NMR:



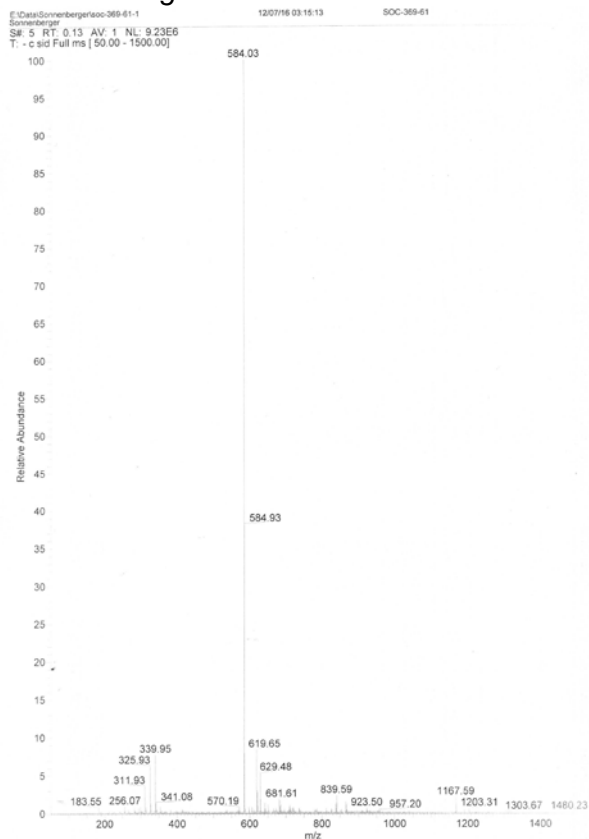
HR-MS:

SOC292_pos #2 RT: 0.05 AV: 1 NL: 2.51E7
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-1200.00]

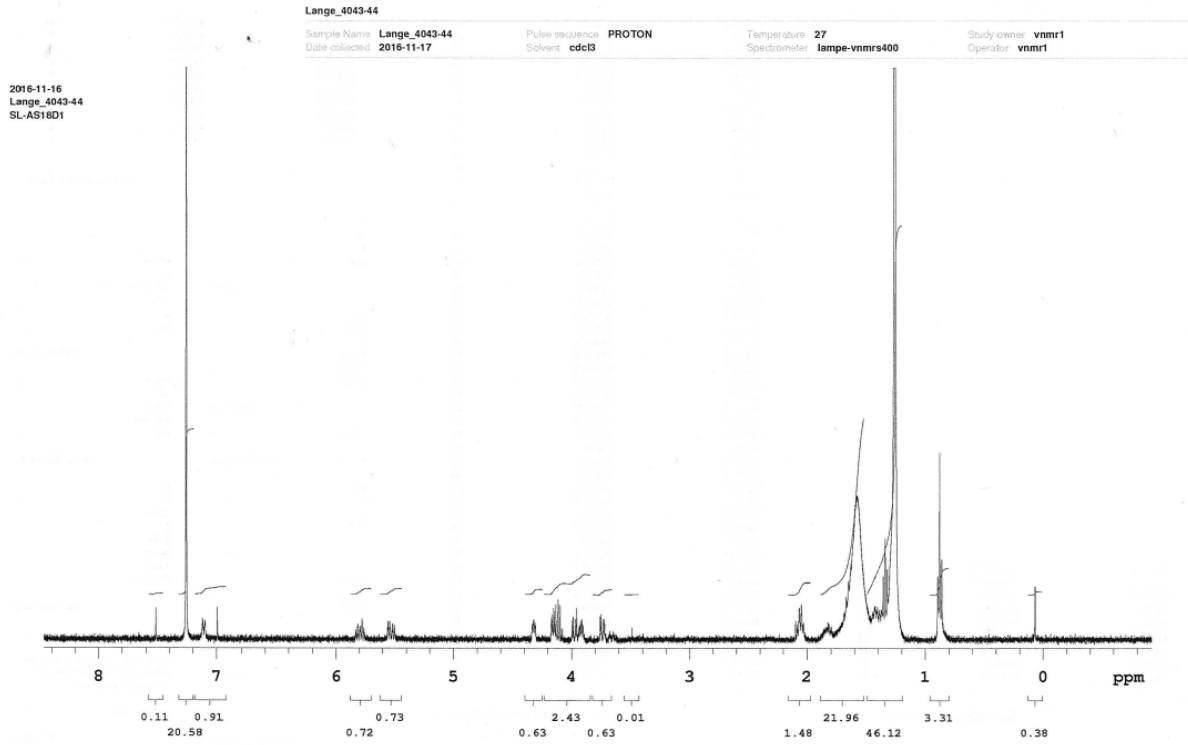


(2R)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecan-amid – D-CER[AS]-18,18,18-D₃ – (64) (M_G = 584,95 g/mol)

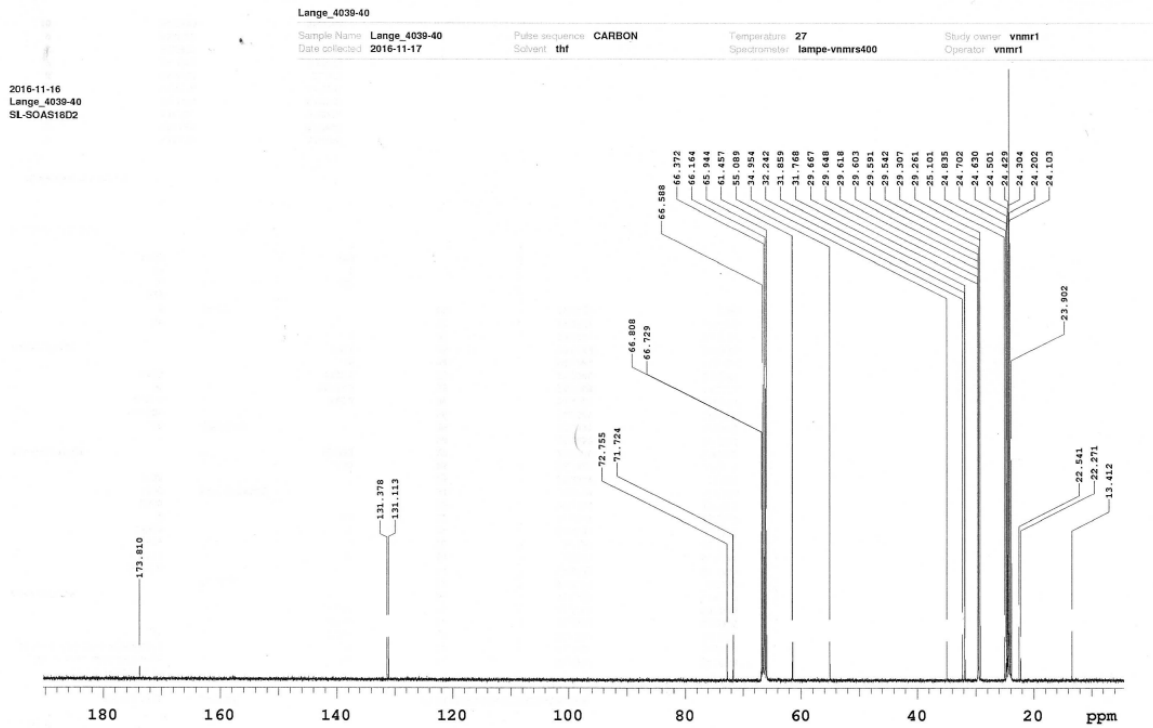
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

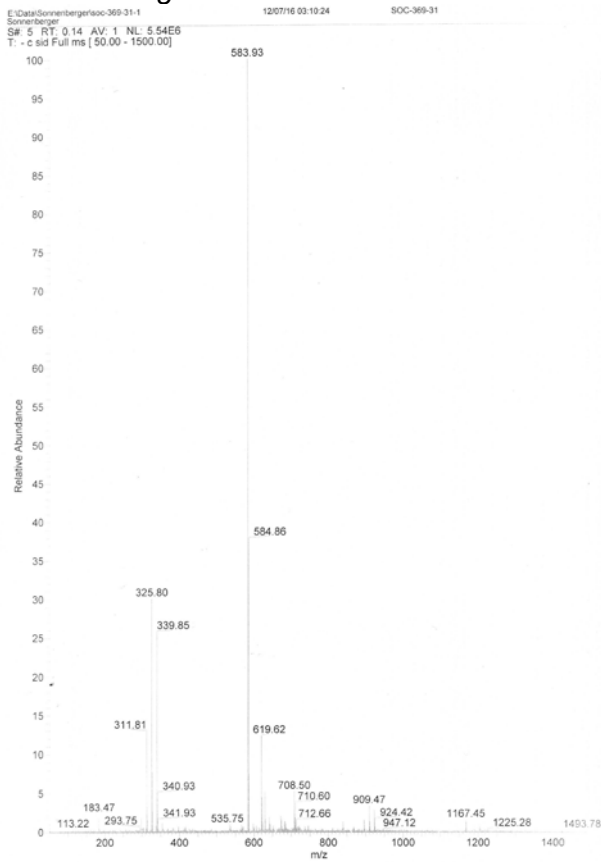


¹³C-NMR:

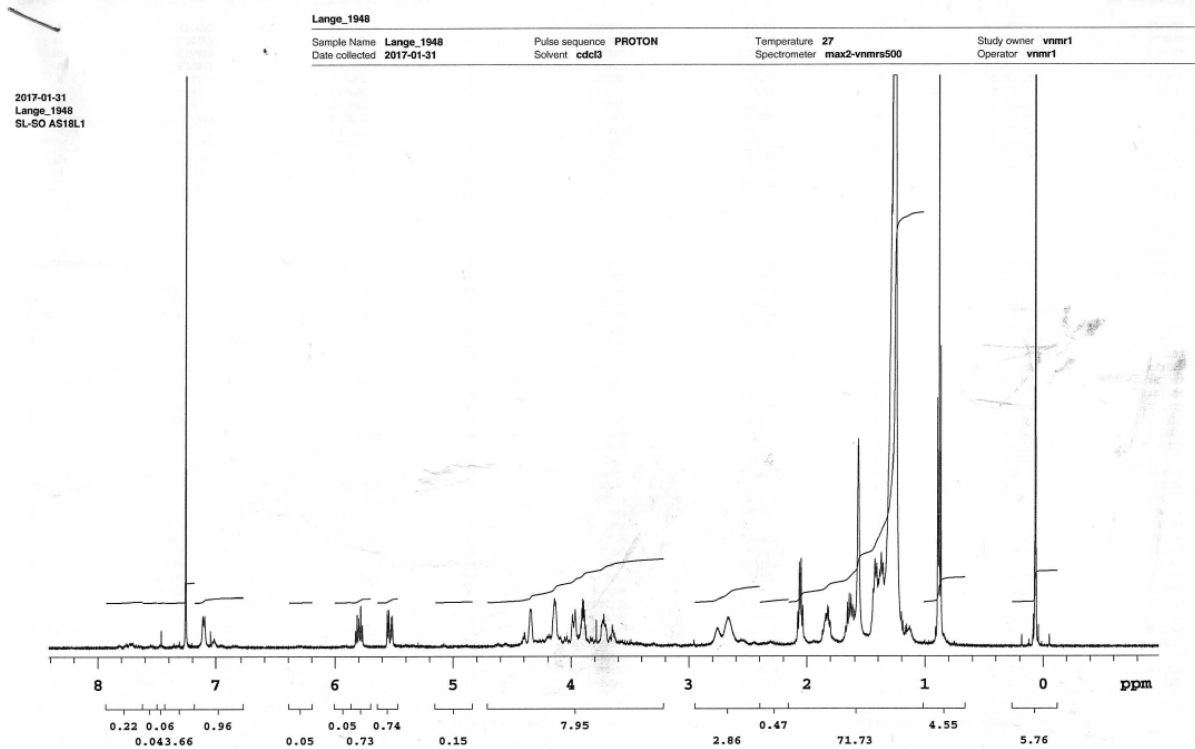


(2S)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecan-amid – L-CER[AS]-18,18,18-D₃ – (63) (M_G = 584,95 g/mol)

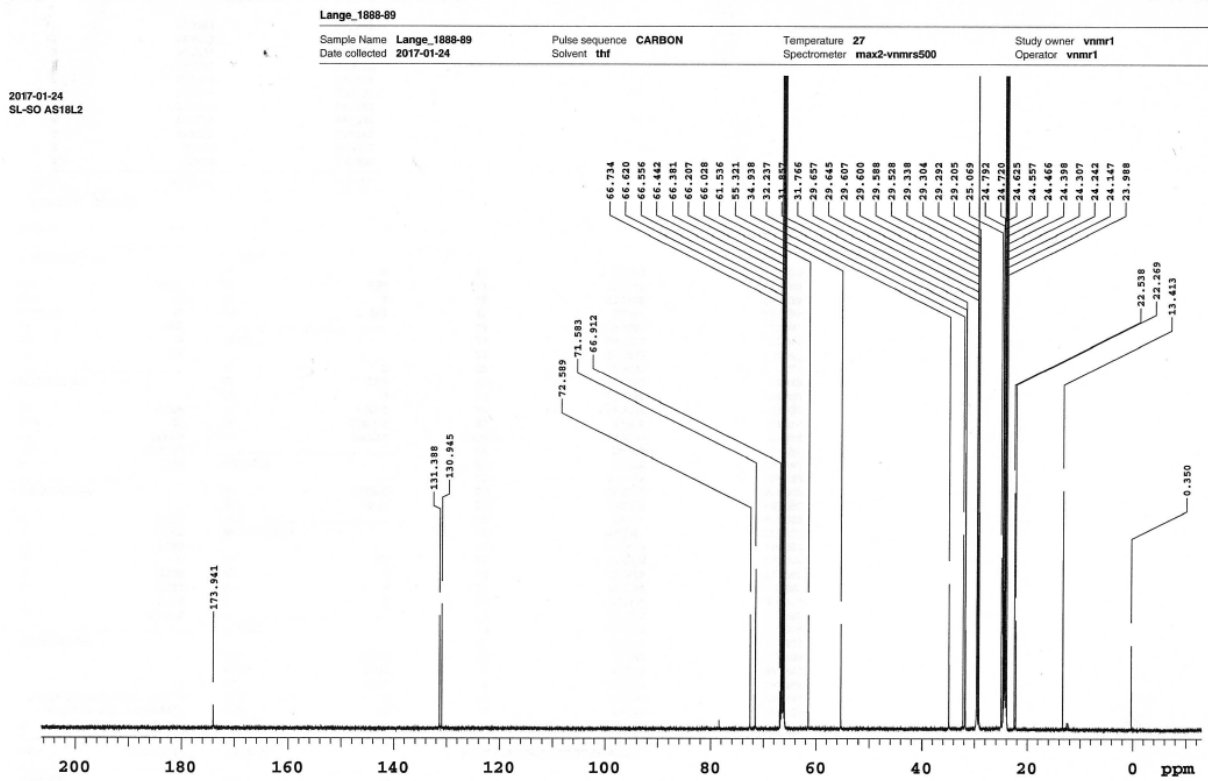
ESI-MS – negativ Modus:



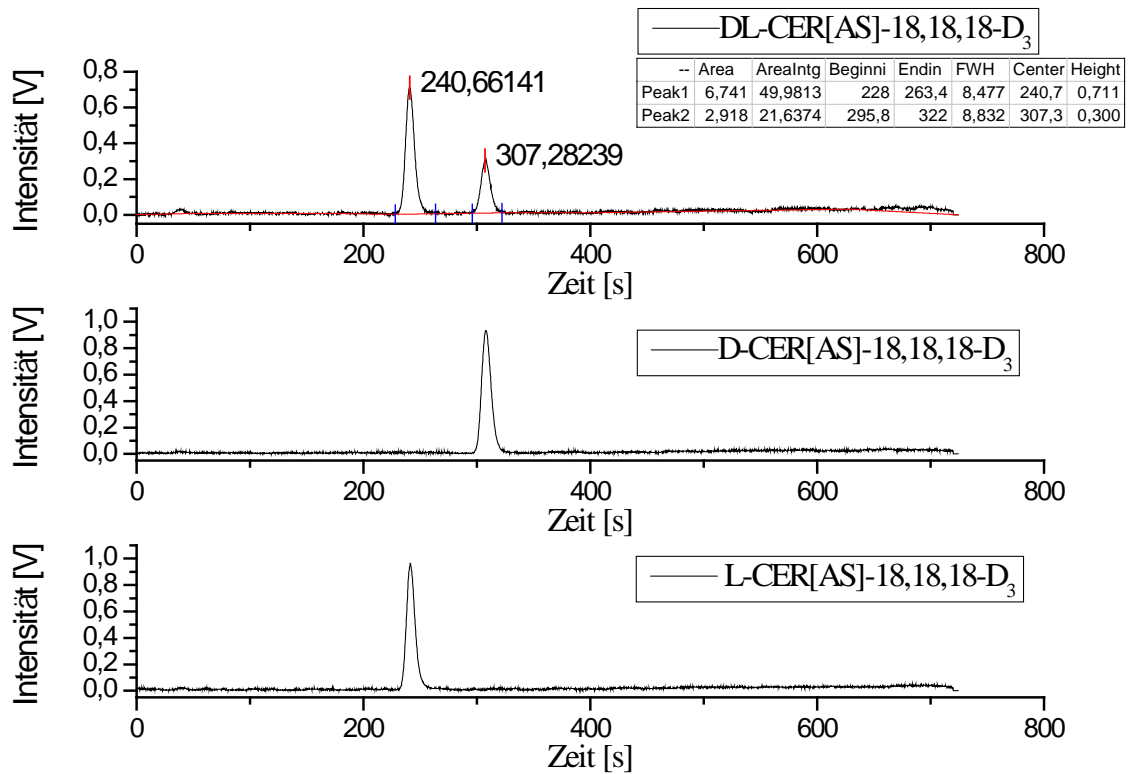
¹H-NMR:



¹³C-NMR:

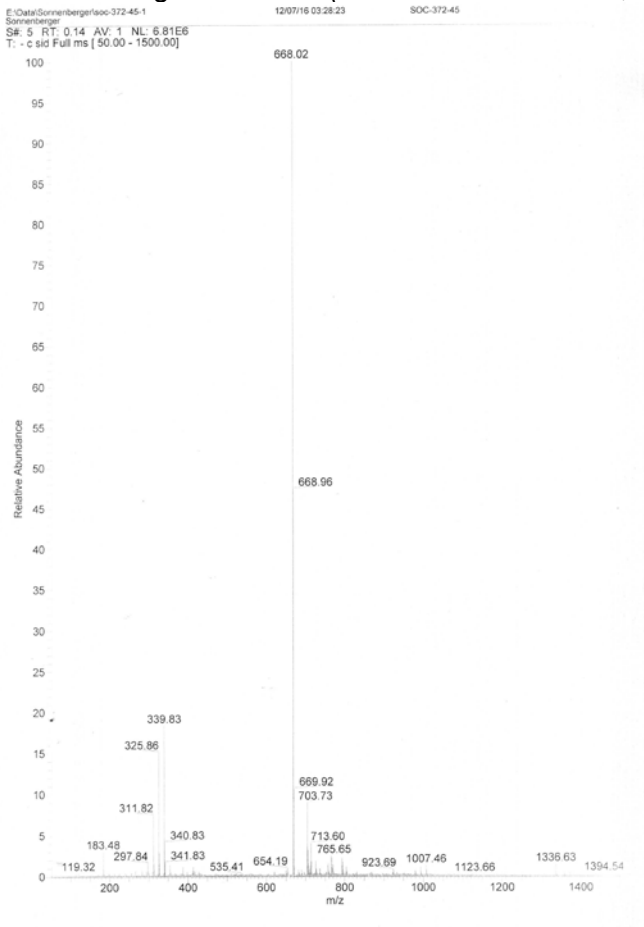


HPLC

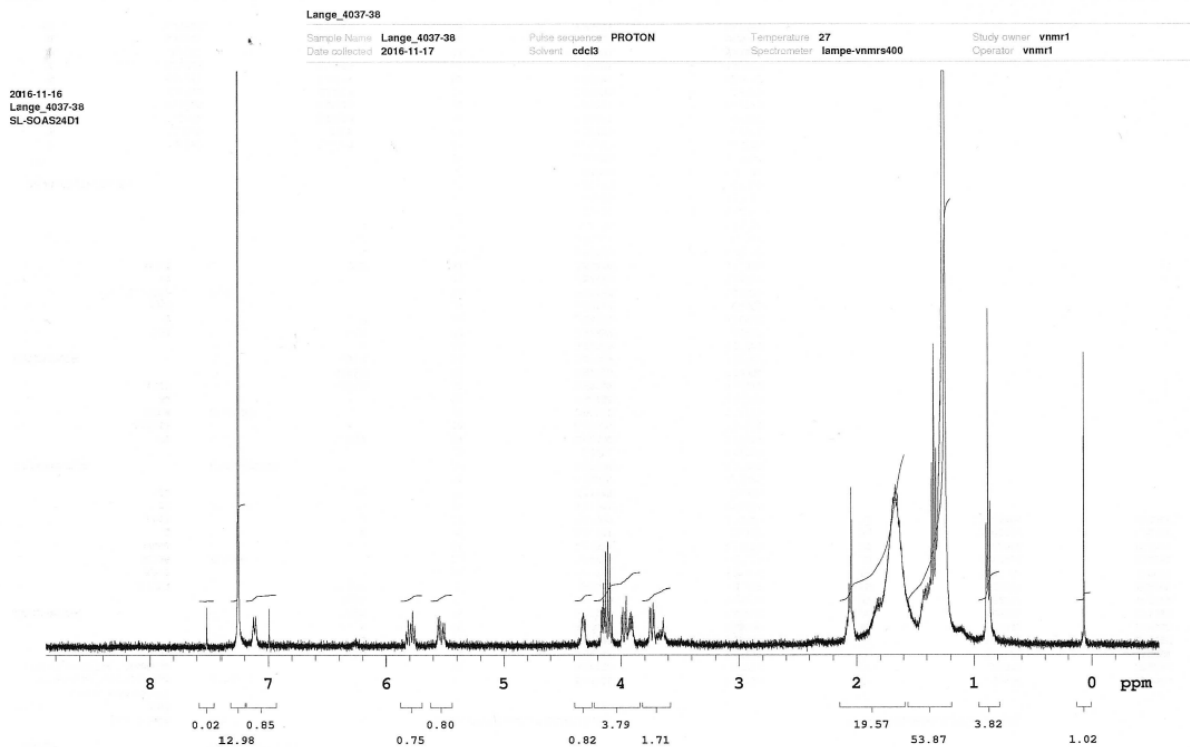


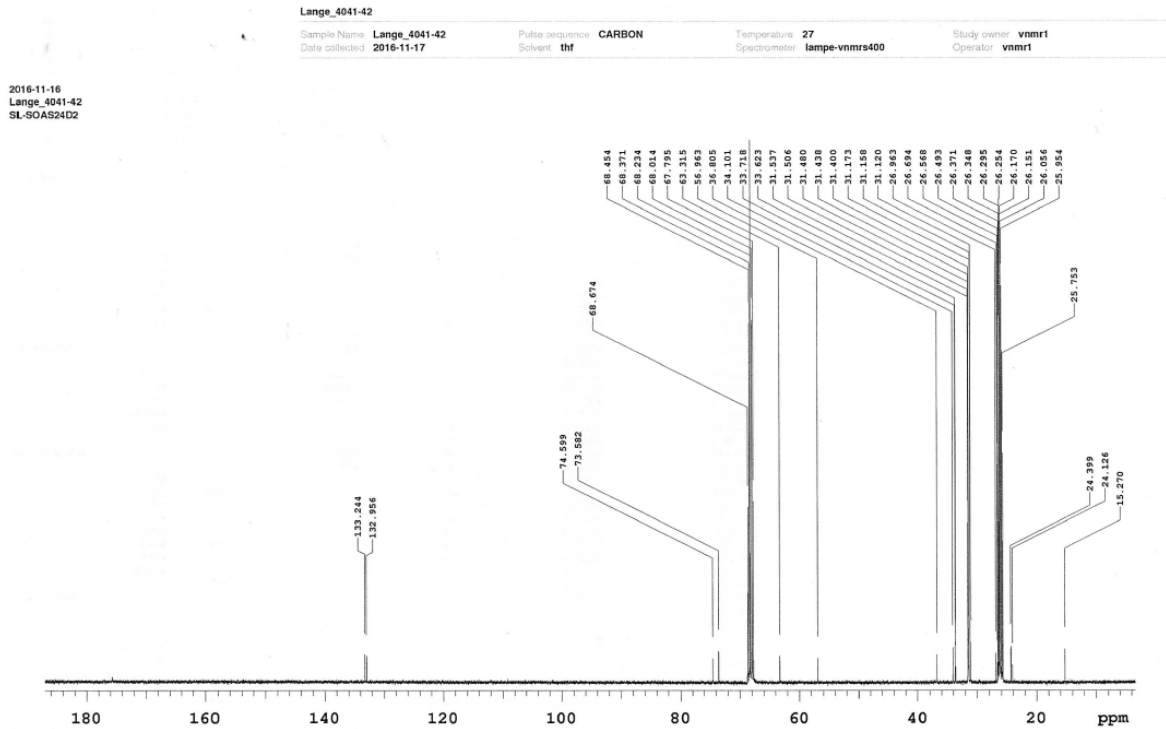
**(2R)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosamid –
D-CER[AS]-24,24,24-D₃ – (66) (M_G = 669,11 g/mol)**

ESI-MS – negativ Modus: (Weichmacher bei 311,8 m/z, 325,9 m/z, 339,8 m/z)



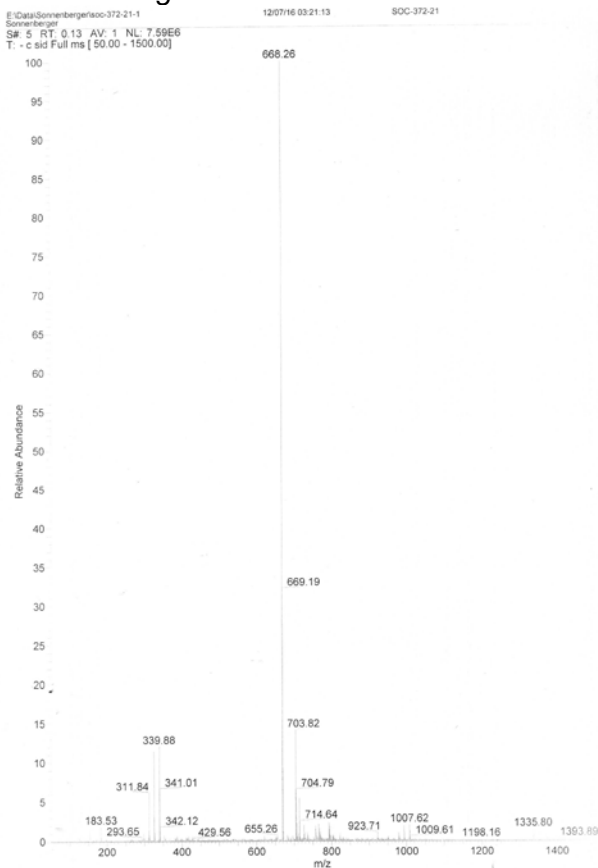
¹H-NMR:



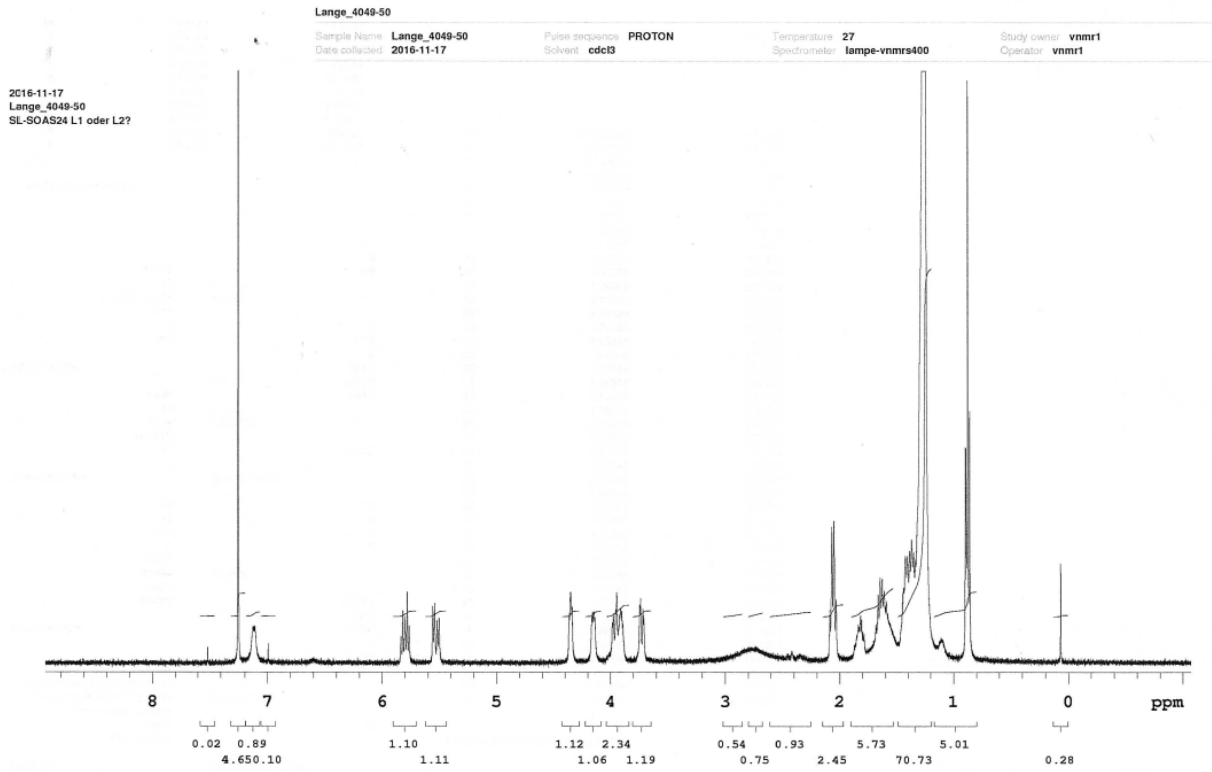
^{13}C -NMR:

(2S)-N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – L-CER[AS]-24,24,24-D₃ – (65) (M_G = 669,11 g/mol)

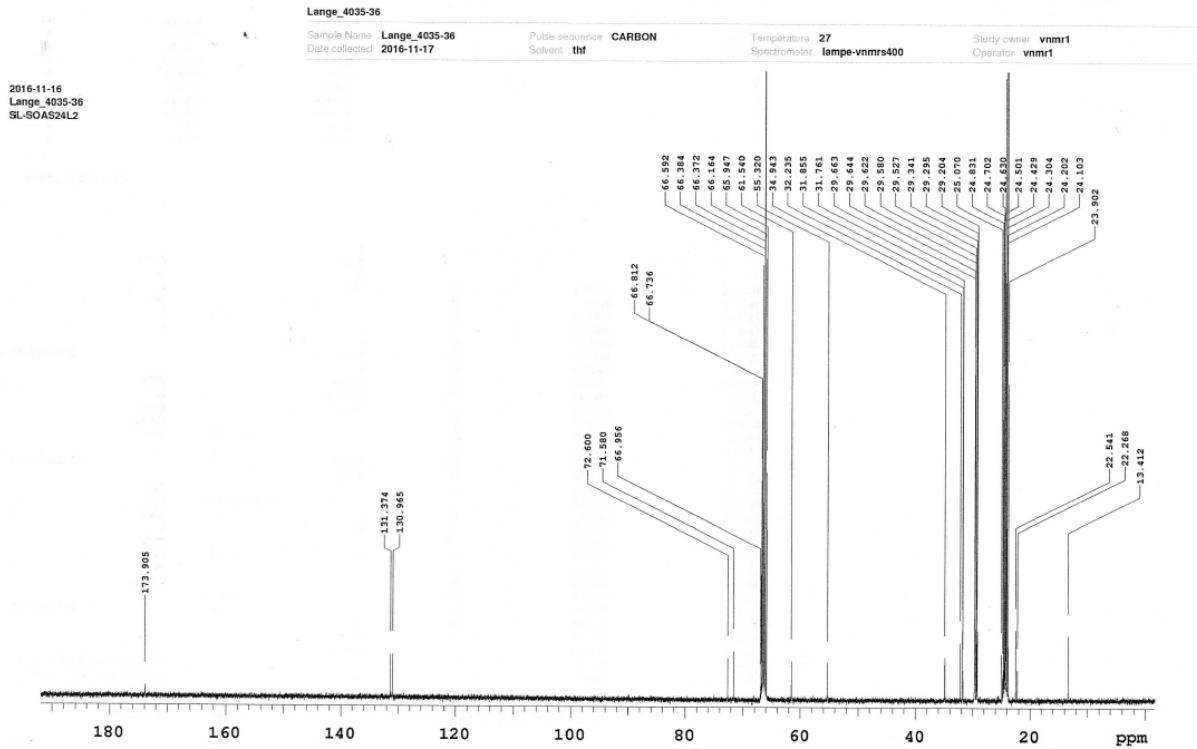
ESI-MS – negativ Modus:



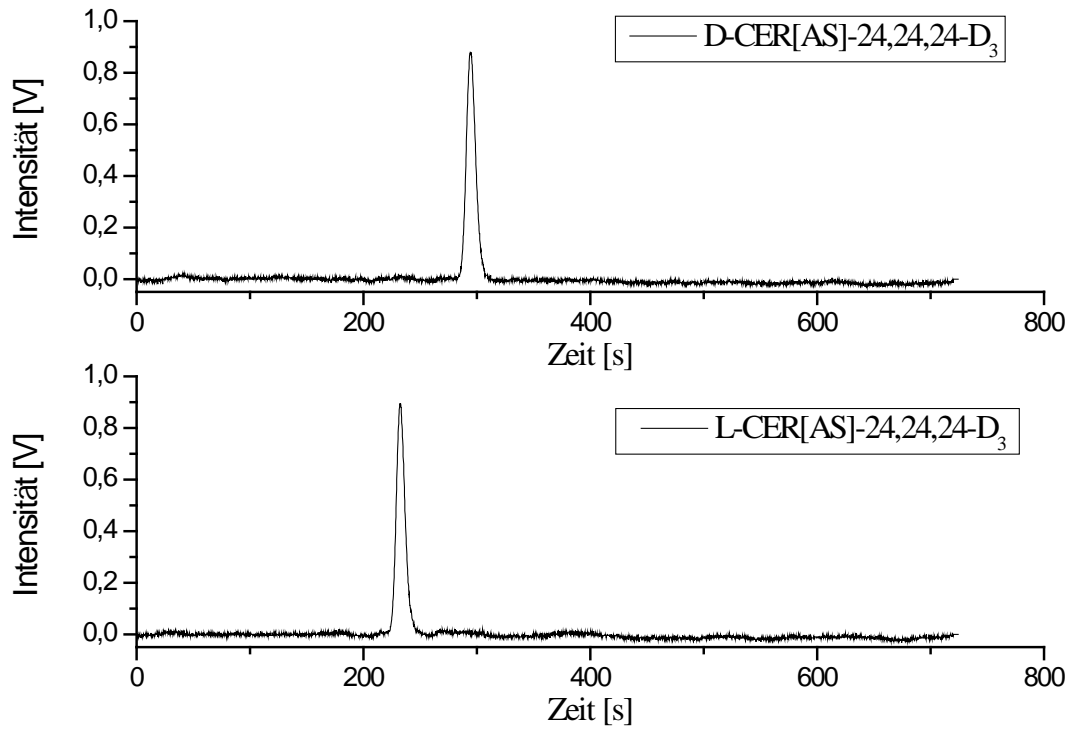
¹H-NMR:



¹³C-NMR:

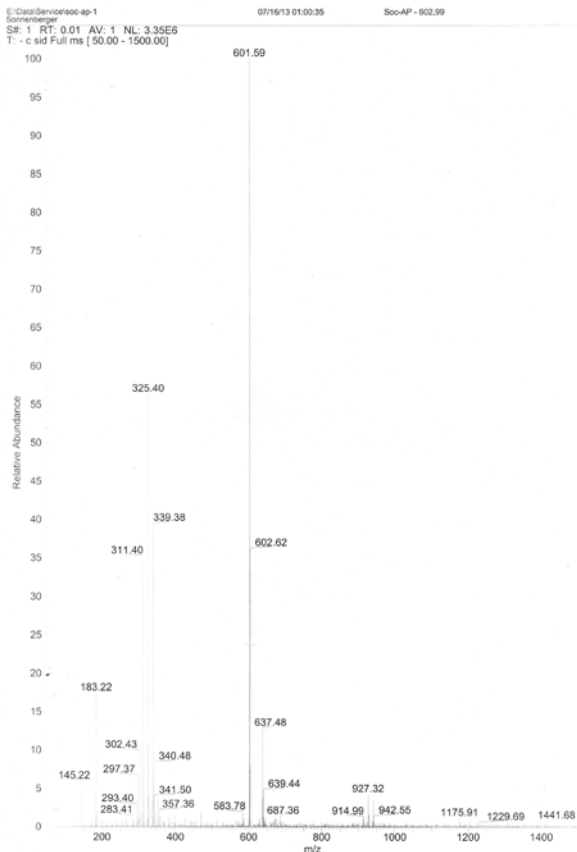


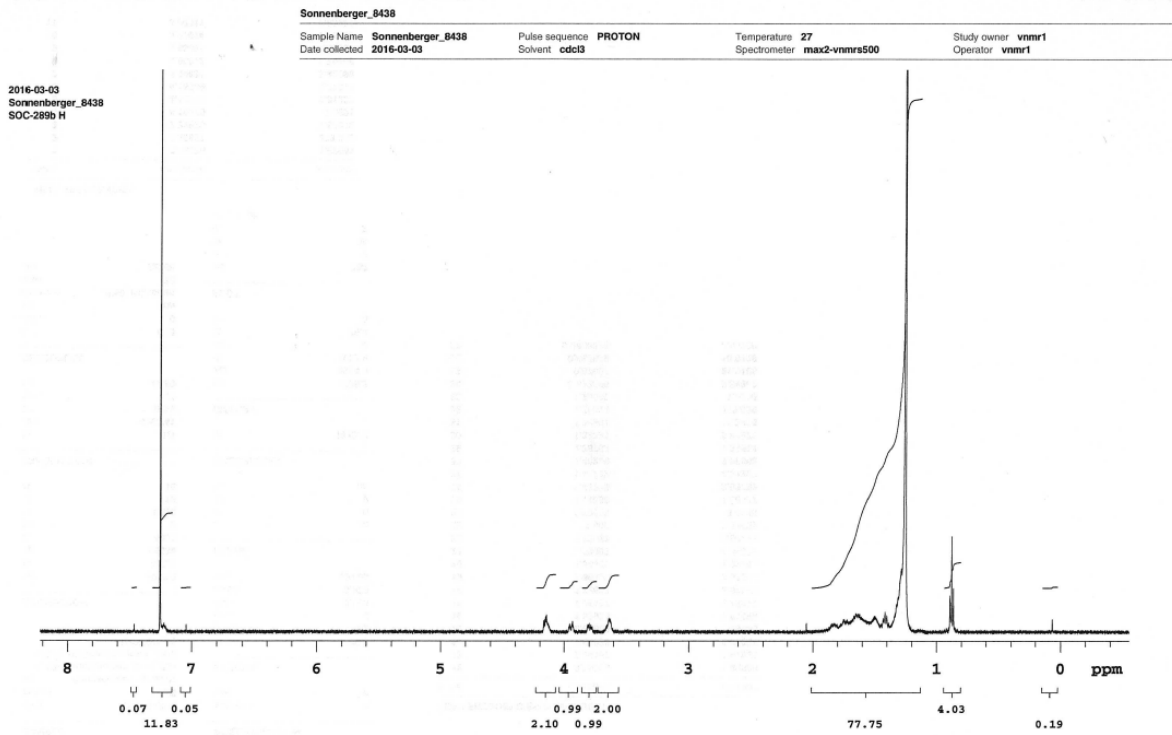
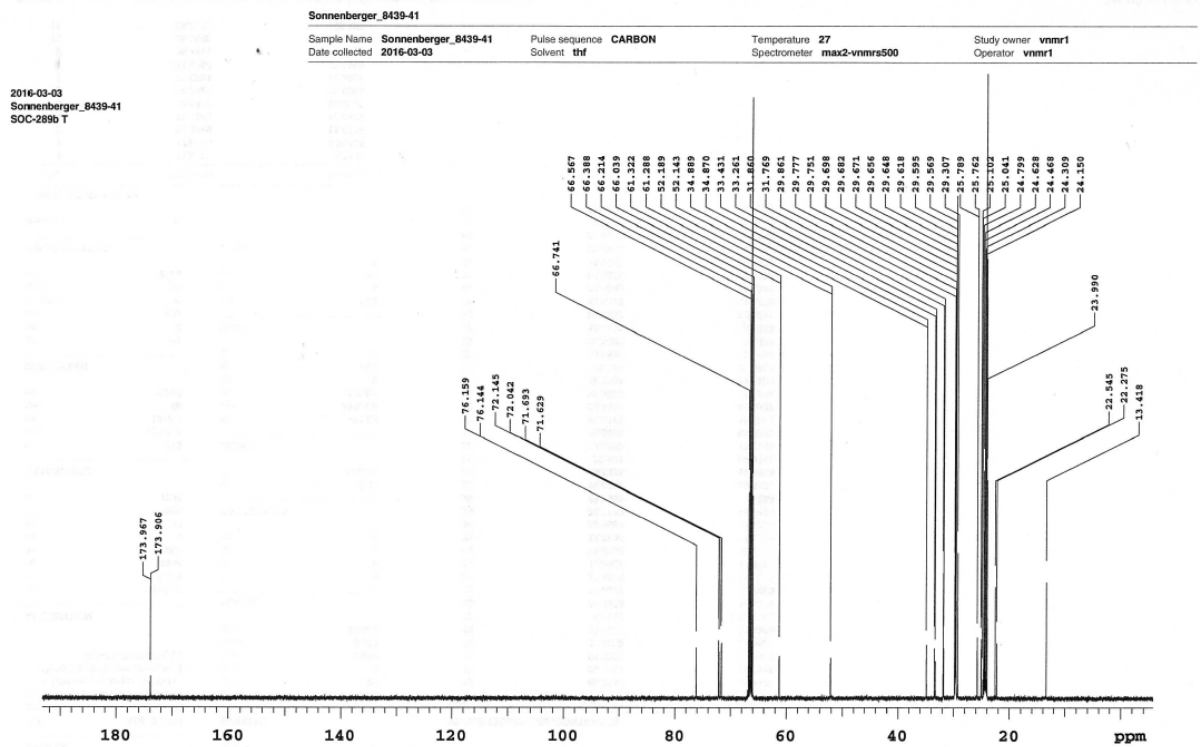
HPLC:



(2*SR*)-*N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid – DL-CER[AP]-18,18,18-D₃ – (58) (M_G = 602,96 g/mol)

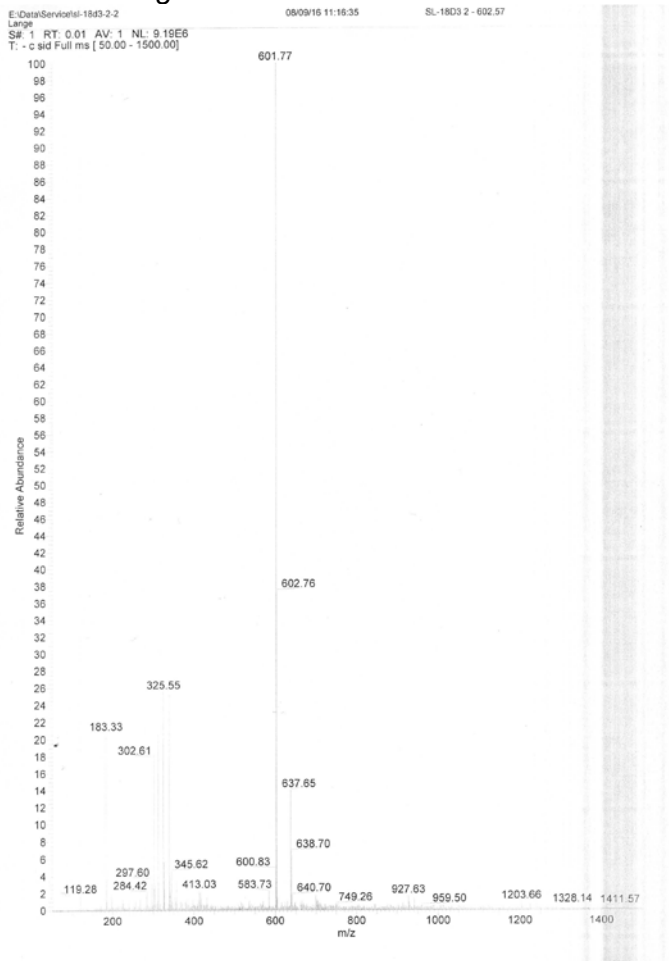
ESI-MS – negativ Modus: (Weichmacher bei 311,4 m/z, 325,4 m/z, 339,4 m/z)



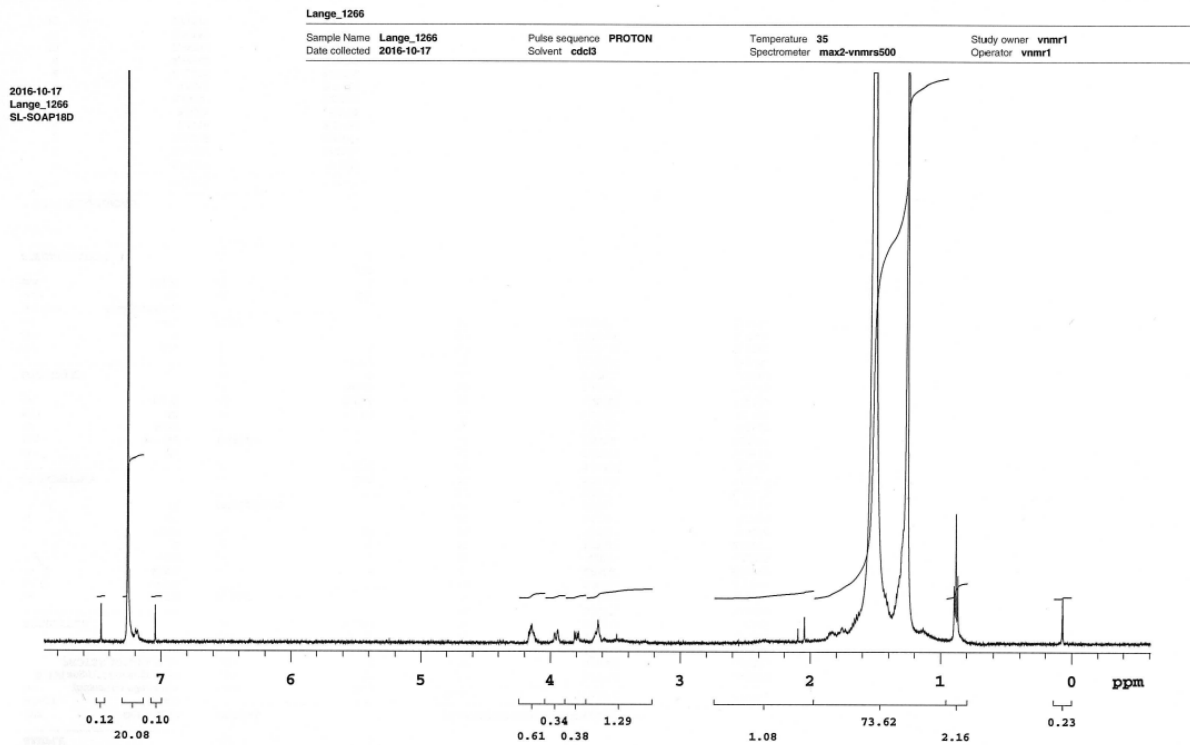
¹H-NMR:¹³C-NMR:

**(2R)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid –
D-CER[AP]-18,18,18-D₃ – (60) (M_G = 602,96 g/mol)**

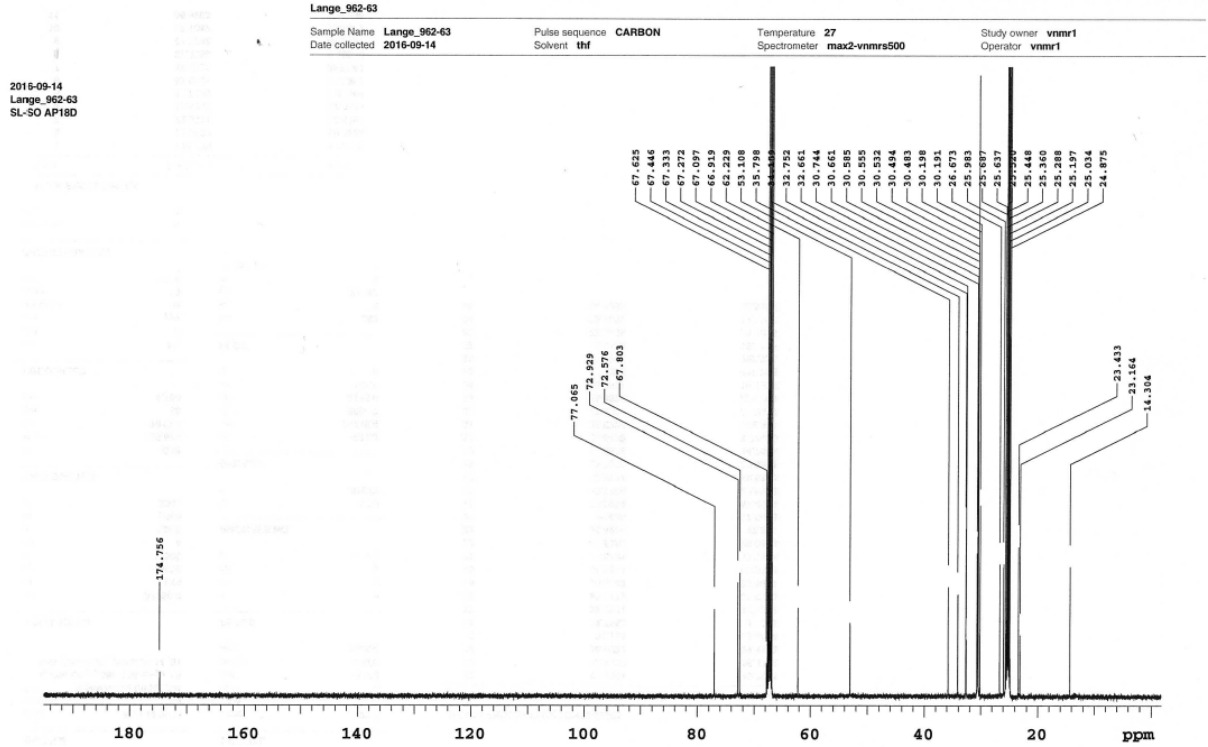
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

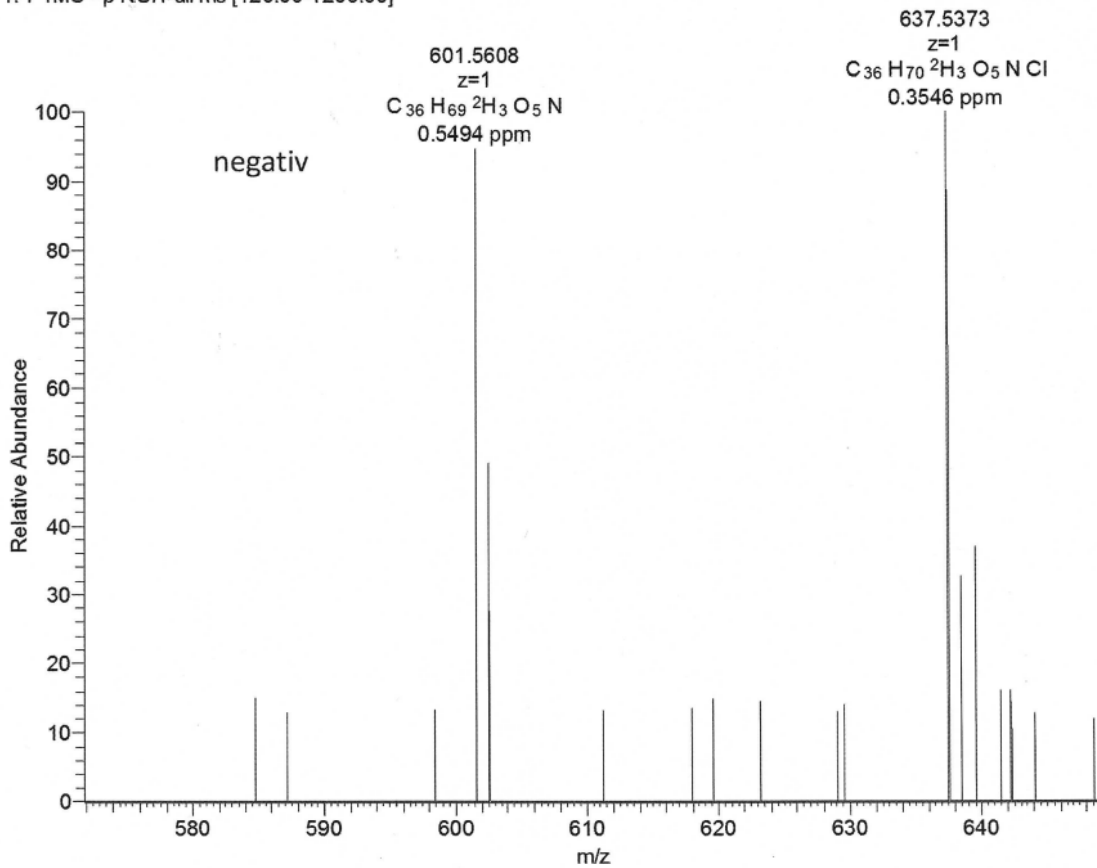


¹³C-NMR:



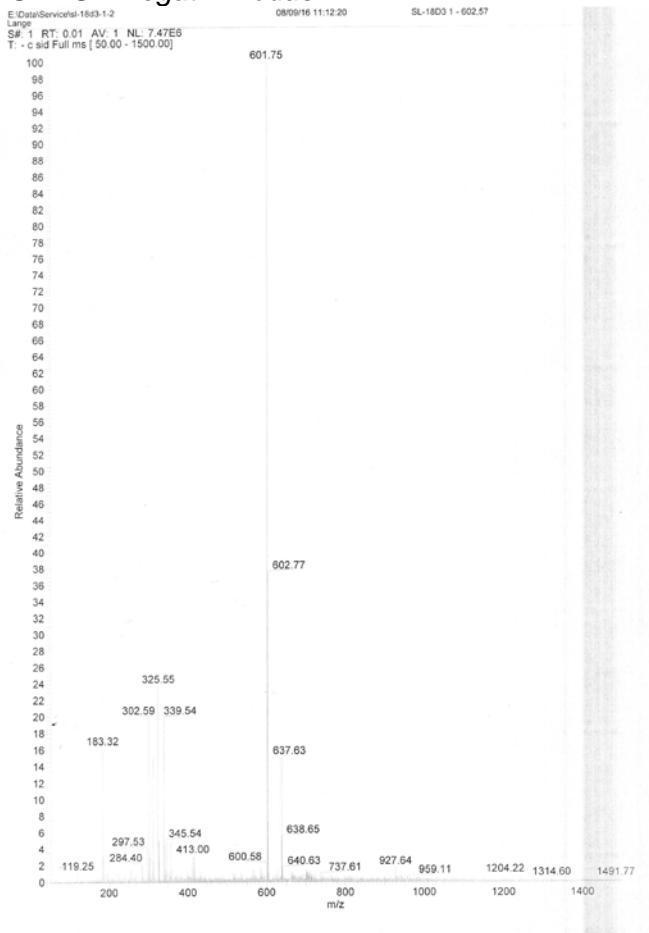
HR-MS:

SL_SOAP 18D_neg #4 RT: 0.10 AV: 1 NL: 6.01E4
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

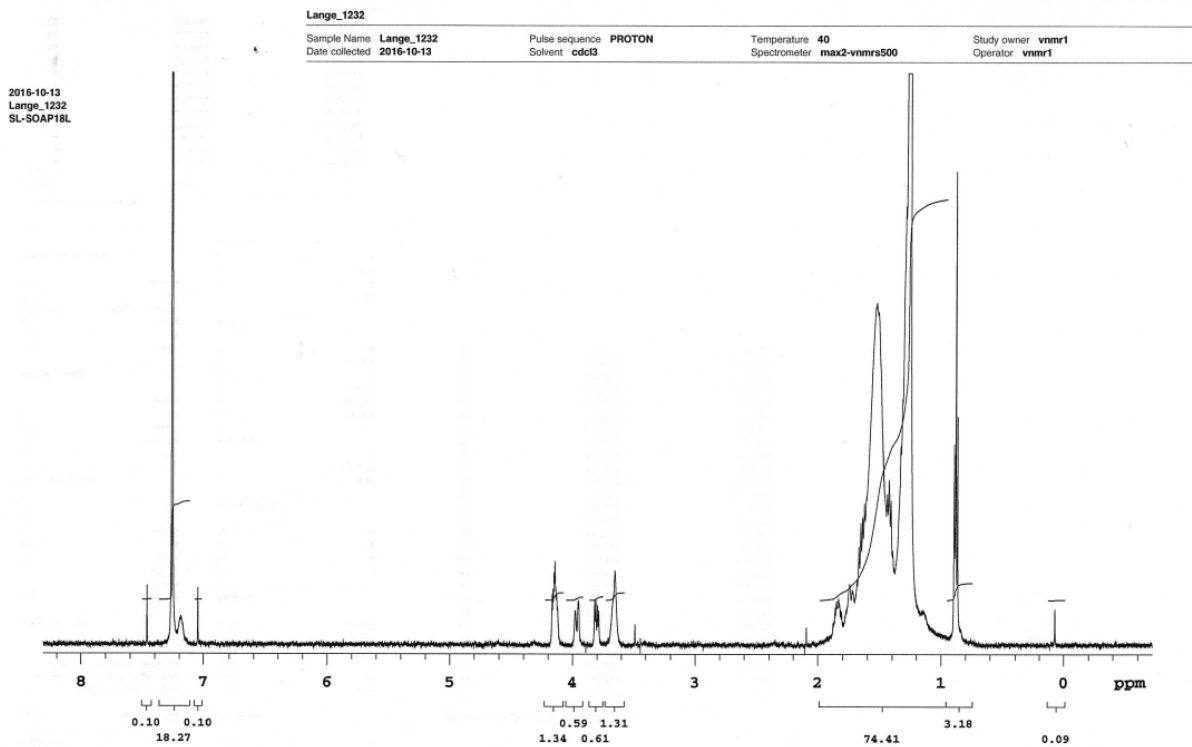


(2S)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-18,18,18-D₃-octadecanamid – L-CER[AP]-18,18,18-D₃ – (59) (M_G = 602,96 g/mol)

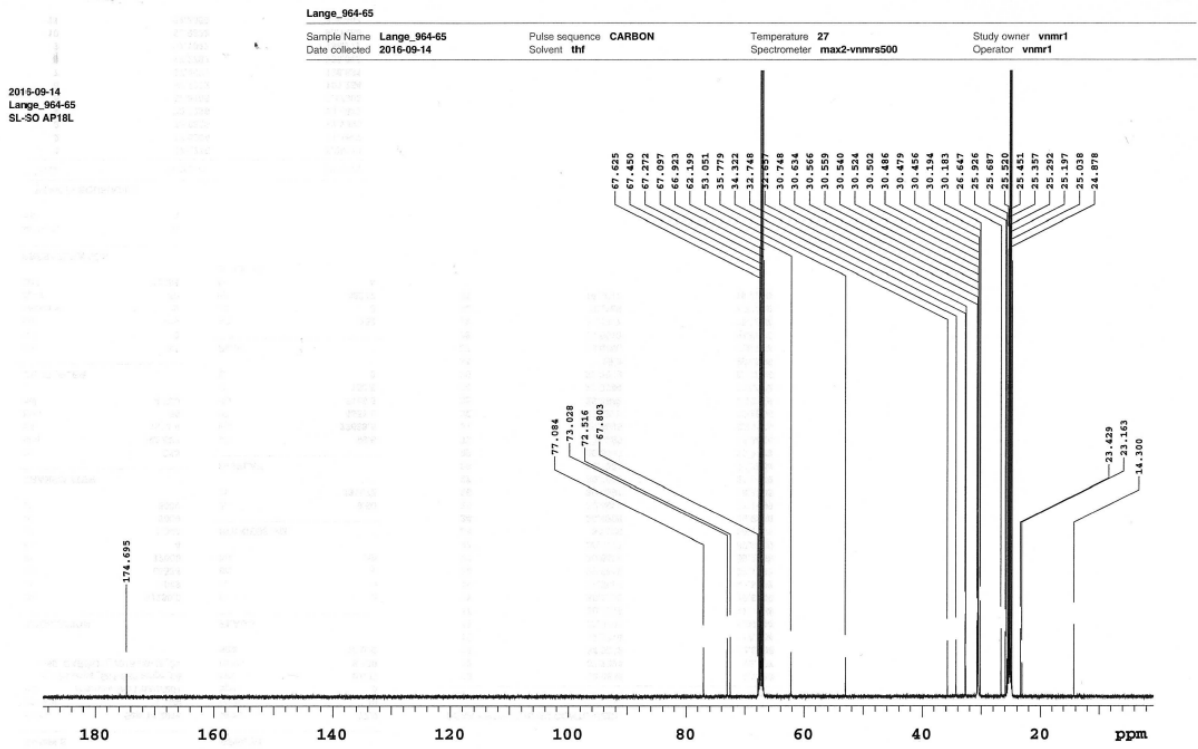
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

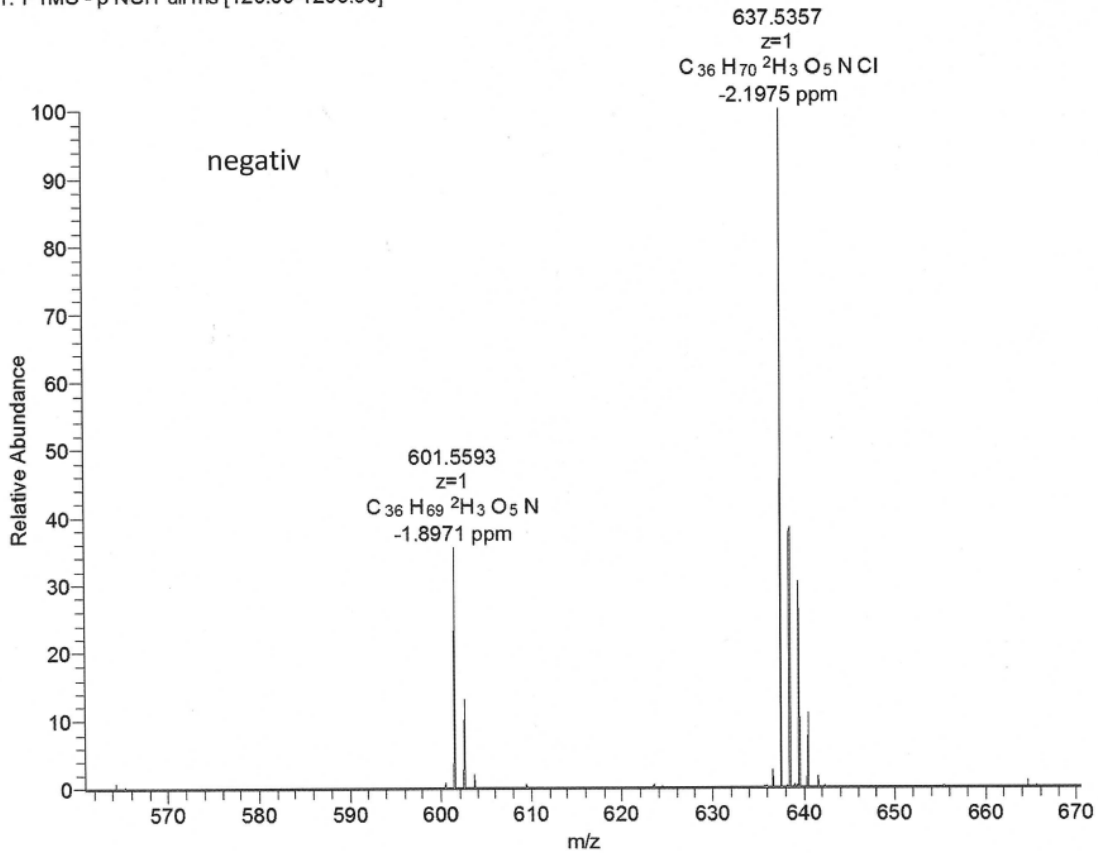


¹³C-NMR:

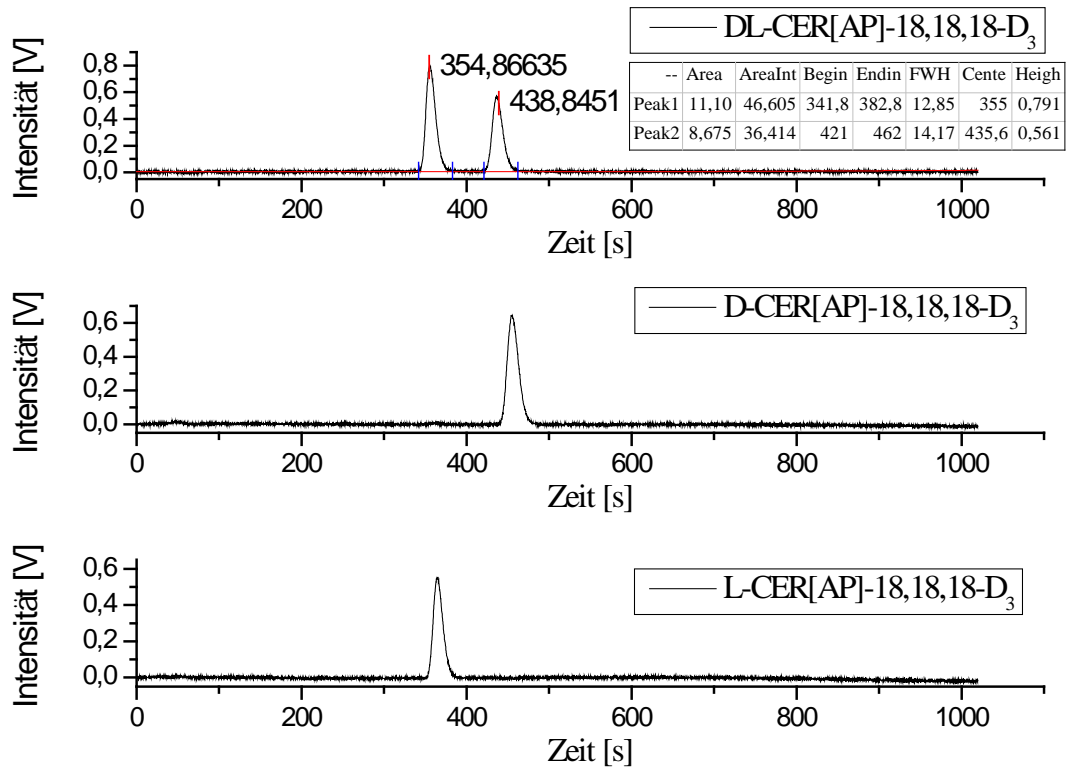


HR-MS:

SL_SOAP 18L_n_160928112626 #2-10 RT: 0.04-0.26 AV: 9 NL: 9.54E6
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

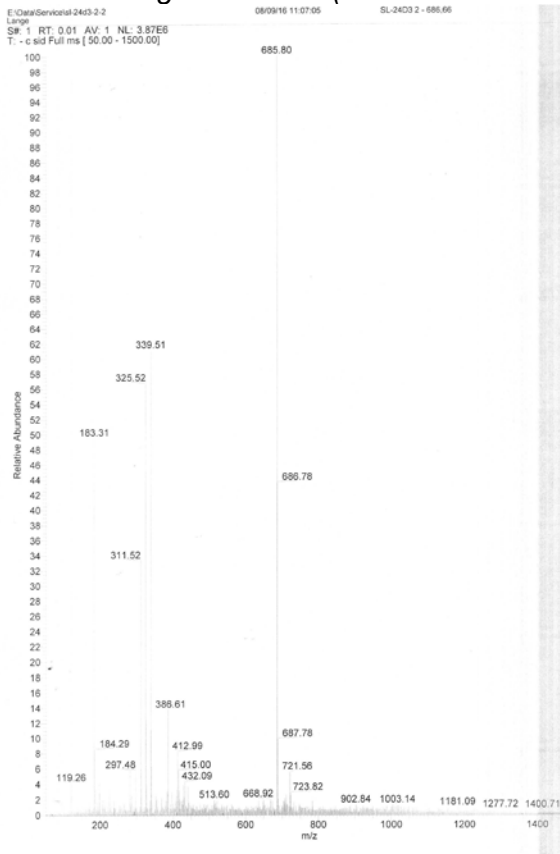


HPLC:

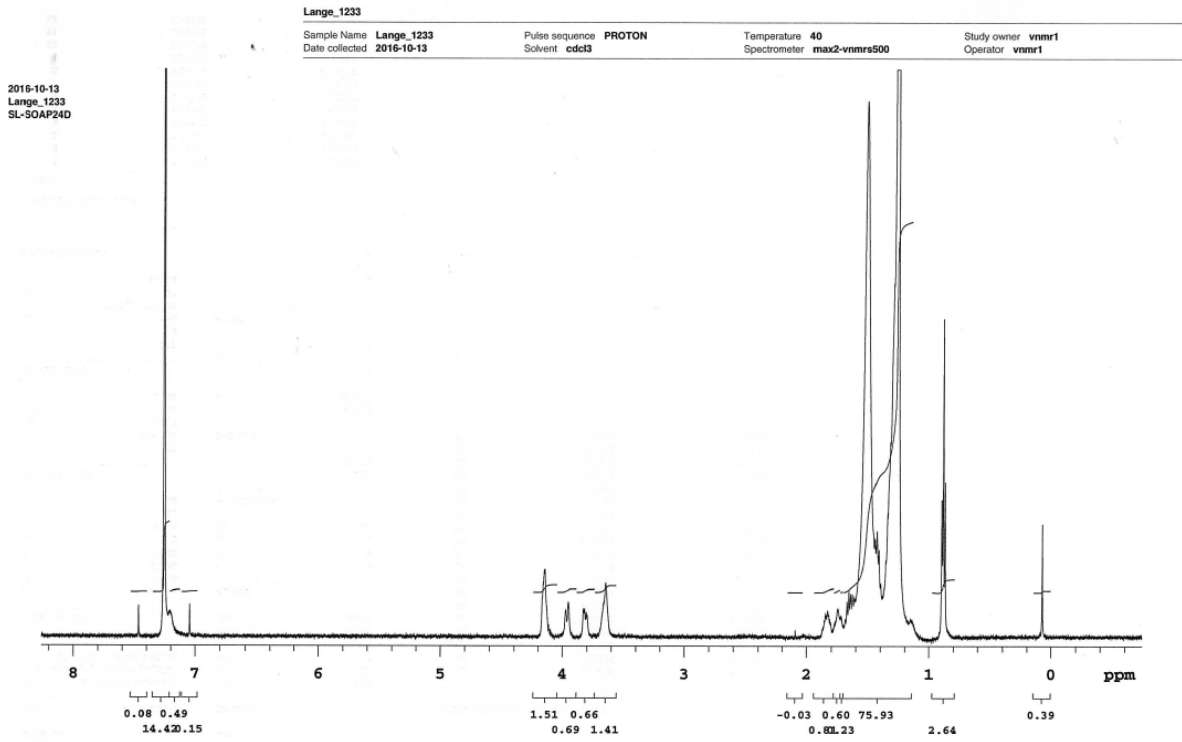


(2R)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – D-CER[AP]-24,24,24-D₃ – (62) (M_G = 687,12 g/mol)

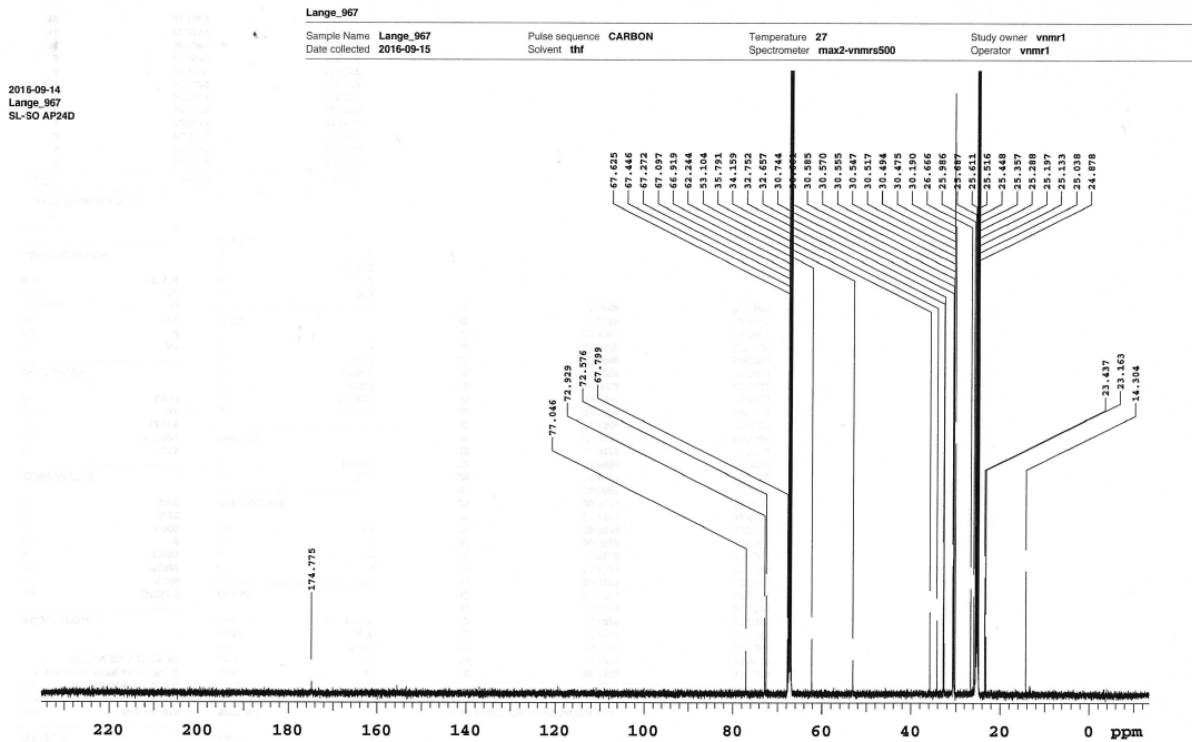
ESI-MS – negativ Modus: (Weichmacher bei 311,5 m/z, 325,5 m/z, 339,5 m/z)



¹H-NMR:

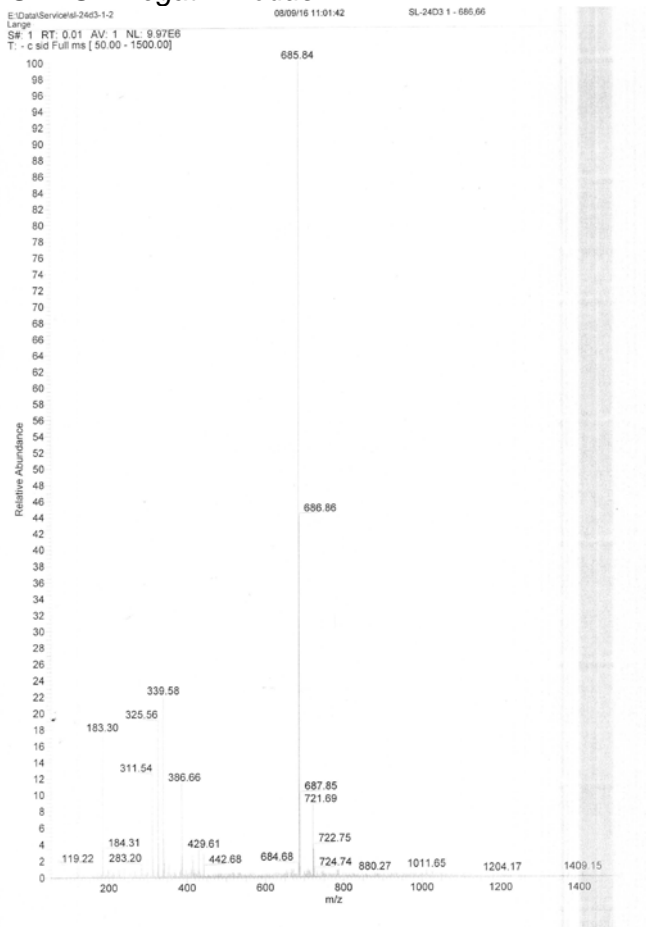


¹³C-NMR:

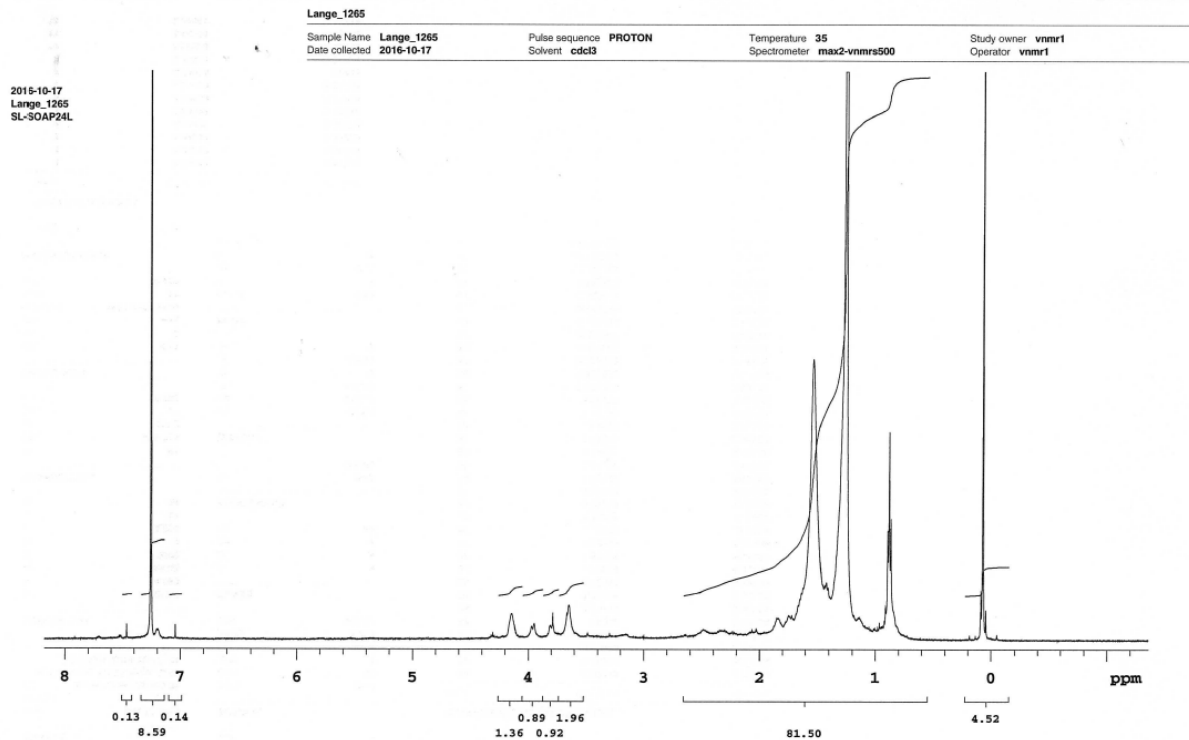


(2S)-N-[(2S,3S,4R)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-24,24,24-D₃-tetracosanamid – L-CER[AP]-24,24,24-D₃ – (61) (M_G = 687,12 g/mol)

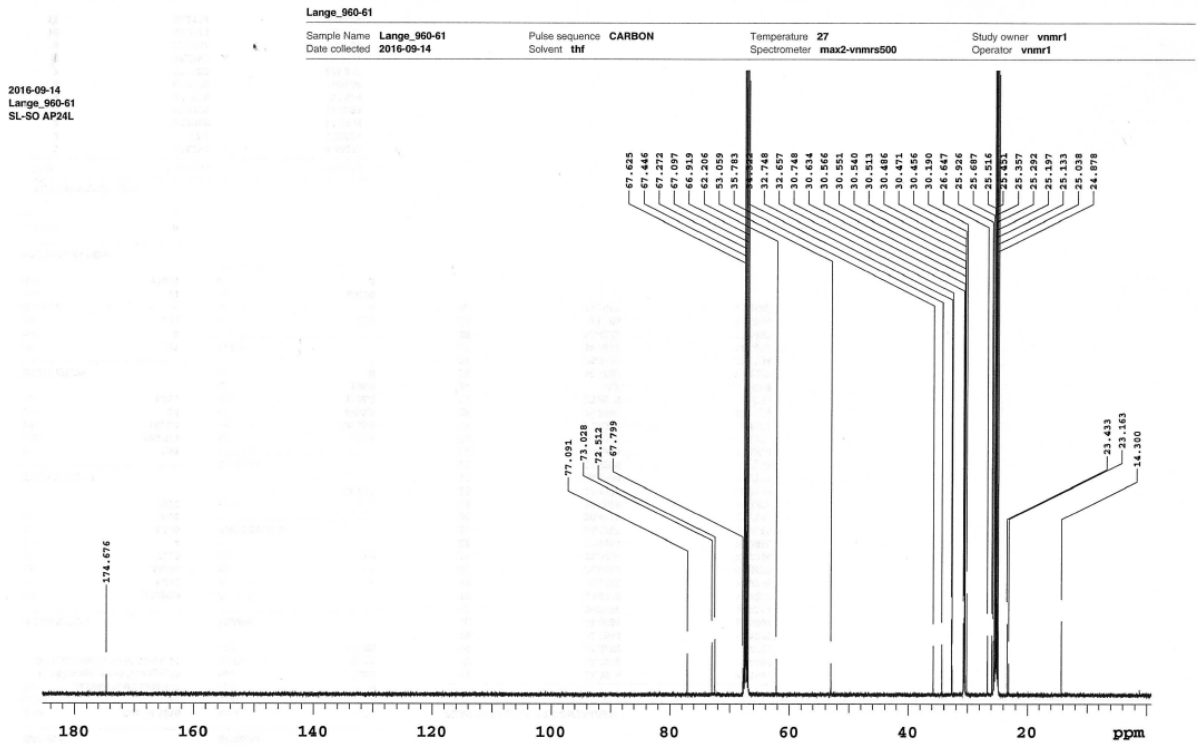
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

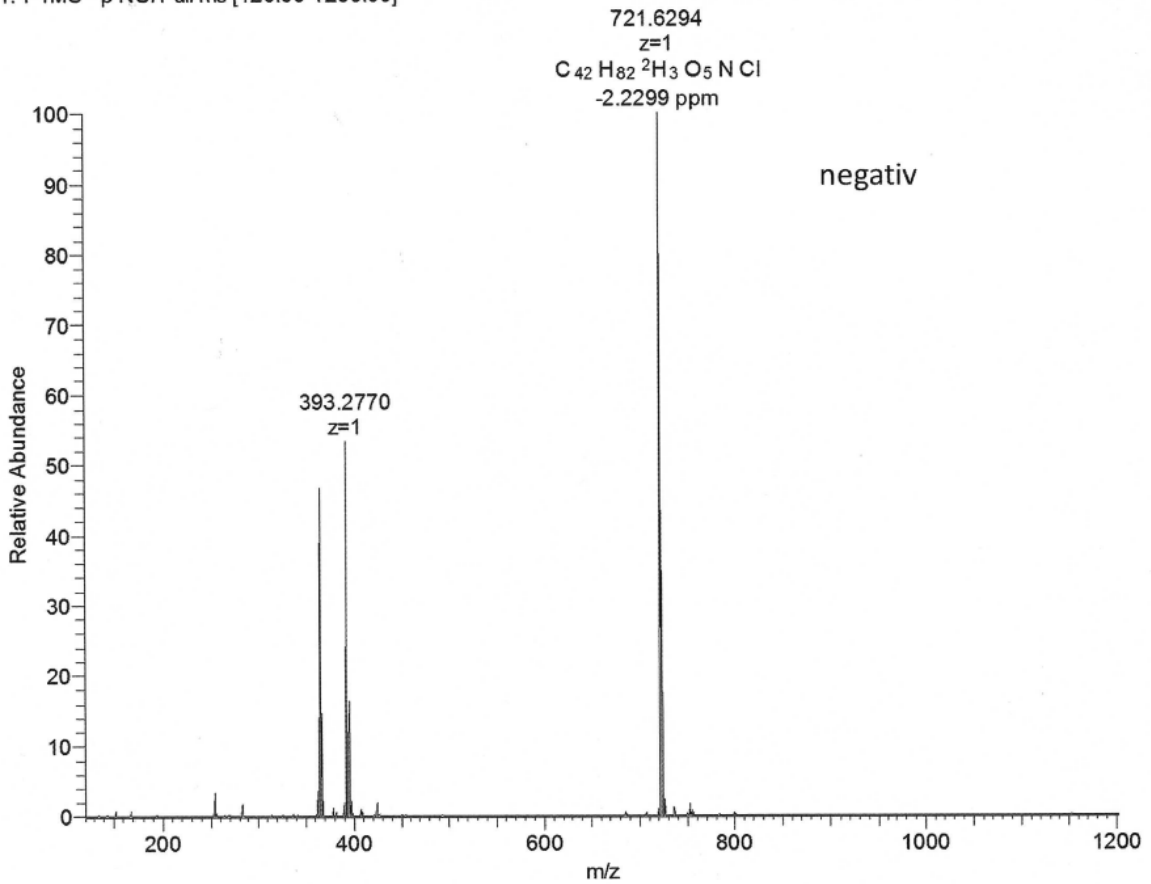


¹³C-NMR:

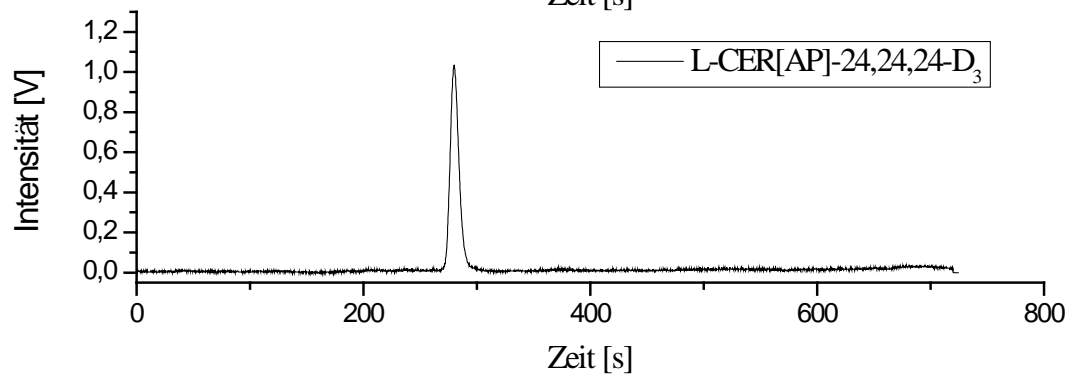
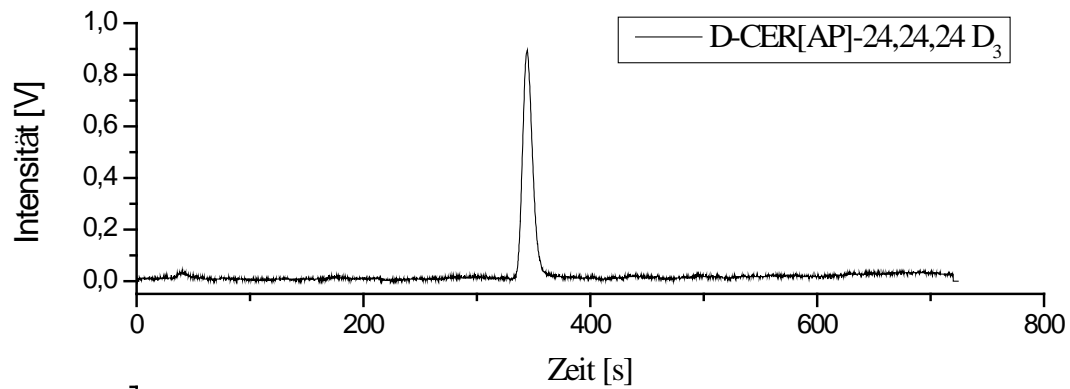


HR-MS:

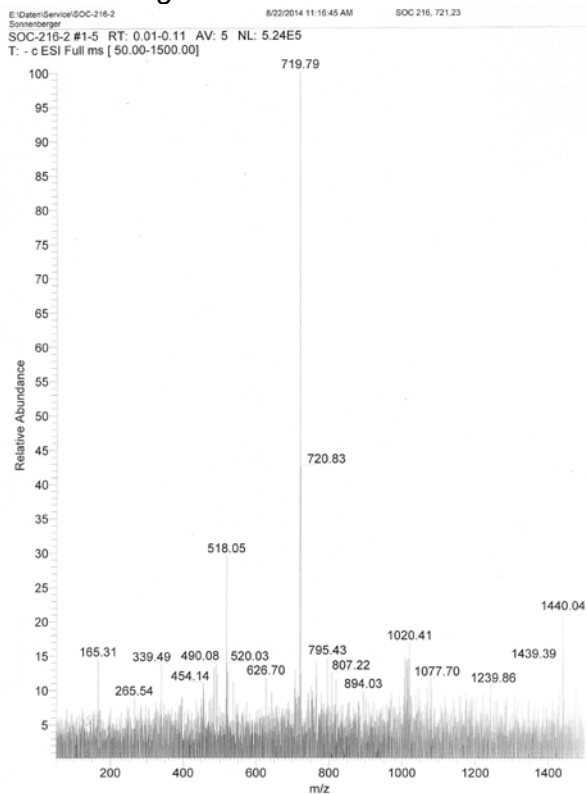
SL_SOAP_24L_n_160928125727 #2-9 RT: 0.05-0.25 AV: 8 NL: 8.64E6
T: FTMS - p NSIFull ms [120.00-1200.00]



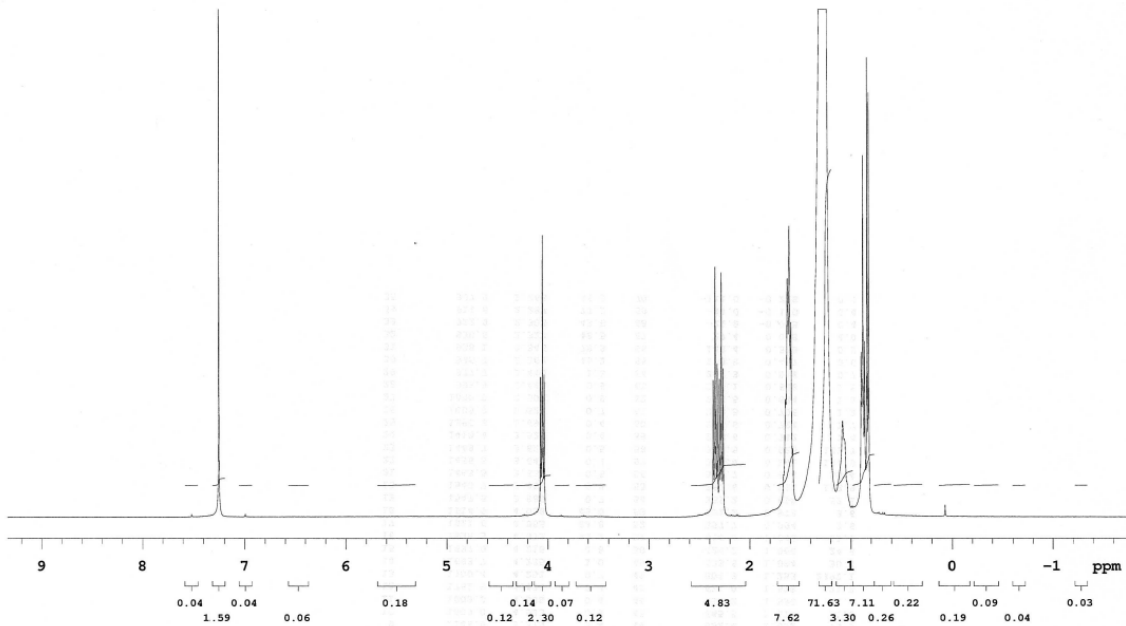
HPLC:

**30-[[(10R)-10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäure – (96)**(M_G = 721,20 g/mol)

ESI-MS – negativ Modus:

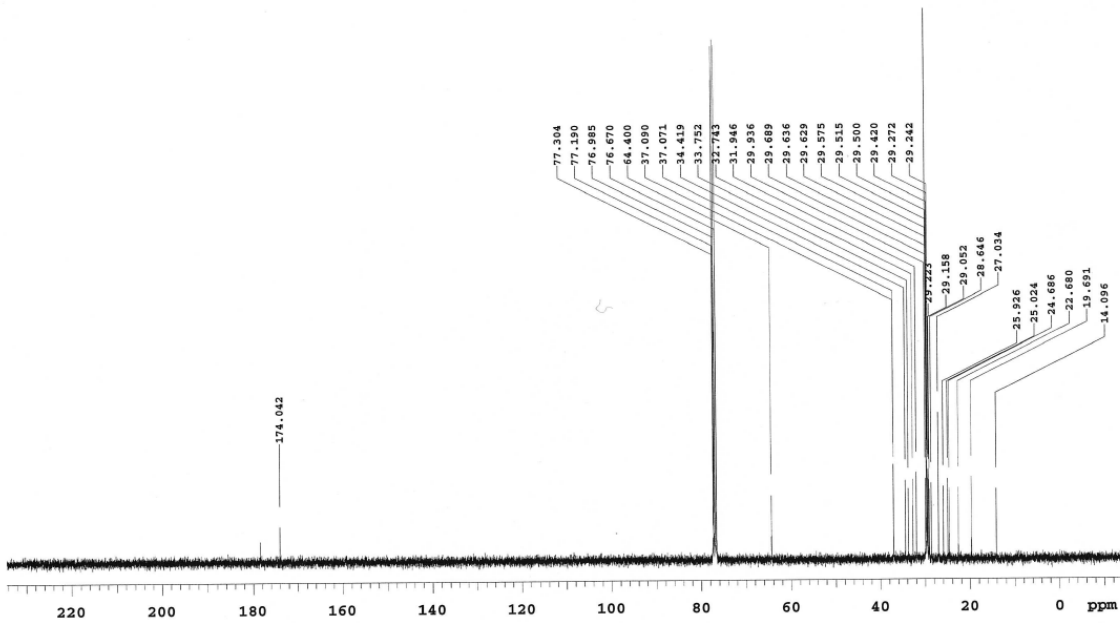


¹H-NMR:



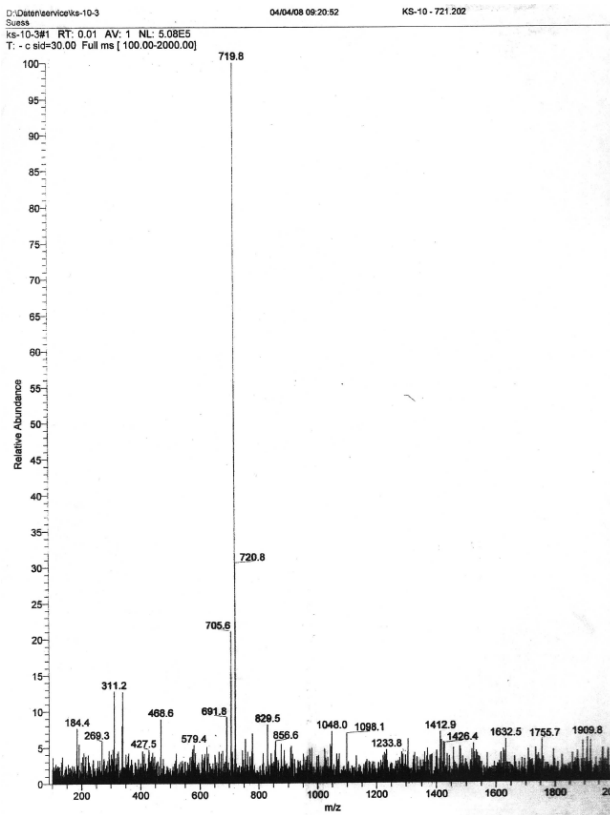
PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 5.112 sec Width 6410.3 Hz 16 repetitions	OBSERVE H1, 399.9597531	DATA PROCESSING Line broadening 0.5 Hz FT size 131072 Total time 1 minutes	Sonnenberger_7599-7600 SOC-219 A Solvent: cdcl3 Temp. 27.0 C / 300.1 K Sample #9, Operator: vmmr1 File: Sonnenberger_7599-7600_PROTON_29Se VNMR5-400 "lampe"
---	--------------------------------	--	--

¹³C-NMR:



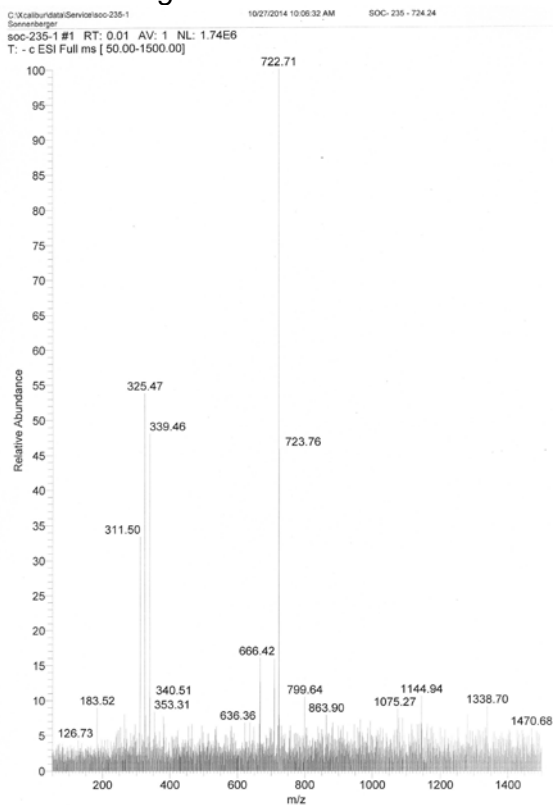
PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 1.311 sec Width 25000.0 Hz 1000 repetitions	OBSERVE C13, 100.5699599 DECOUPLE H1, 399.9617529 Power 39 dB continuously on WALTZ-16 modulated	DATA PROCESSING Line broadening 0.5 Hz FT size 131072 Total time 38 minutes	Sonnenberger_7599-7600 SOC-219 A Solvent: cdcl3 Temp. 27.0 C / 300.1 K Sample #9, Operator: vmmr1 File: Sonnenberger_7599-7600_CARBON_29e VNMR5-400 "lampe"
--	--	---	---

ESI-MS (negativ Modus) vom Reaktionsansatz mit PDC in Dichlormethan gemäß ENGELBRECHT et al.⁷⁶; Nebenpeaks (705,6 g/mol und 691,8 g/mol) deuten CH_2 -Gruppenverlust bei Oxidationsreaktion an.

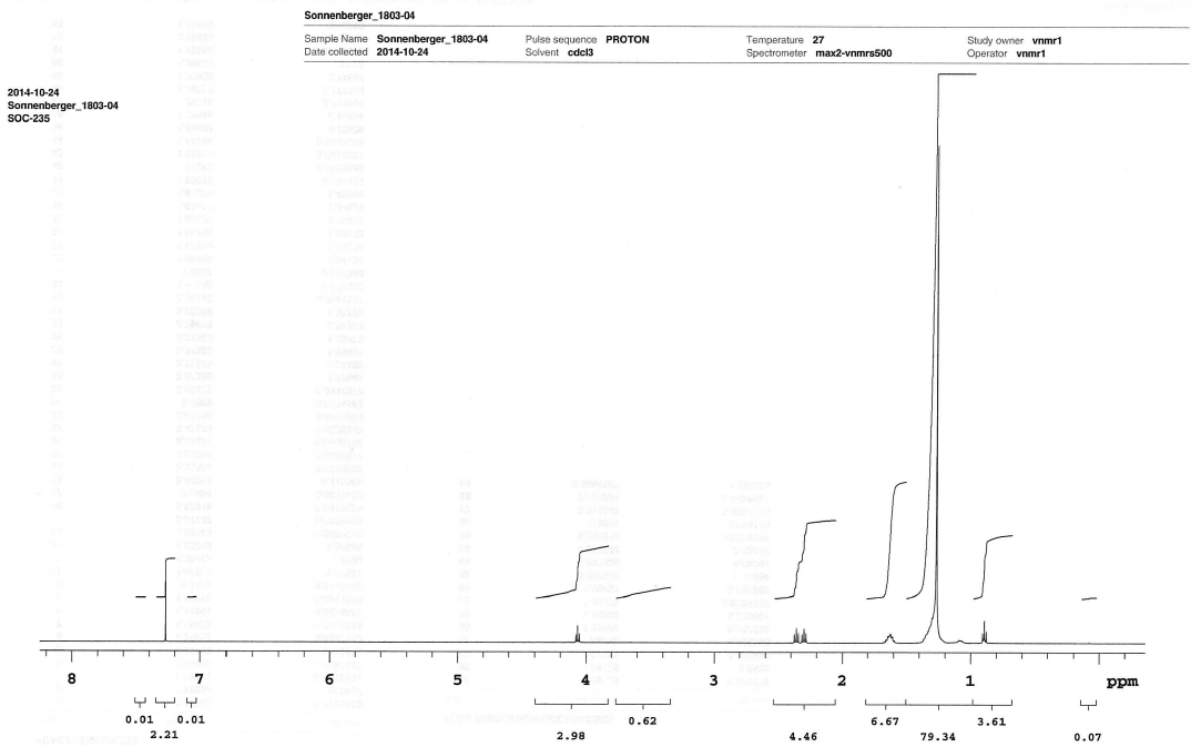


30-[[(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy]triacontansäure – (97)
($M_G = 724,22$ g/mol)

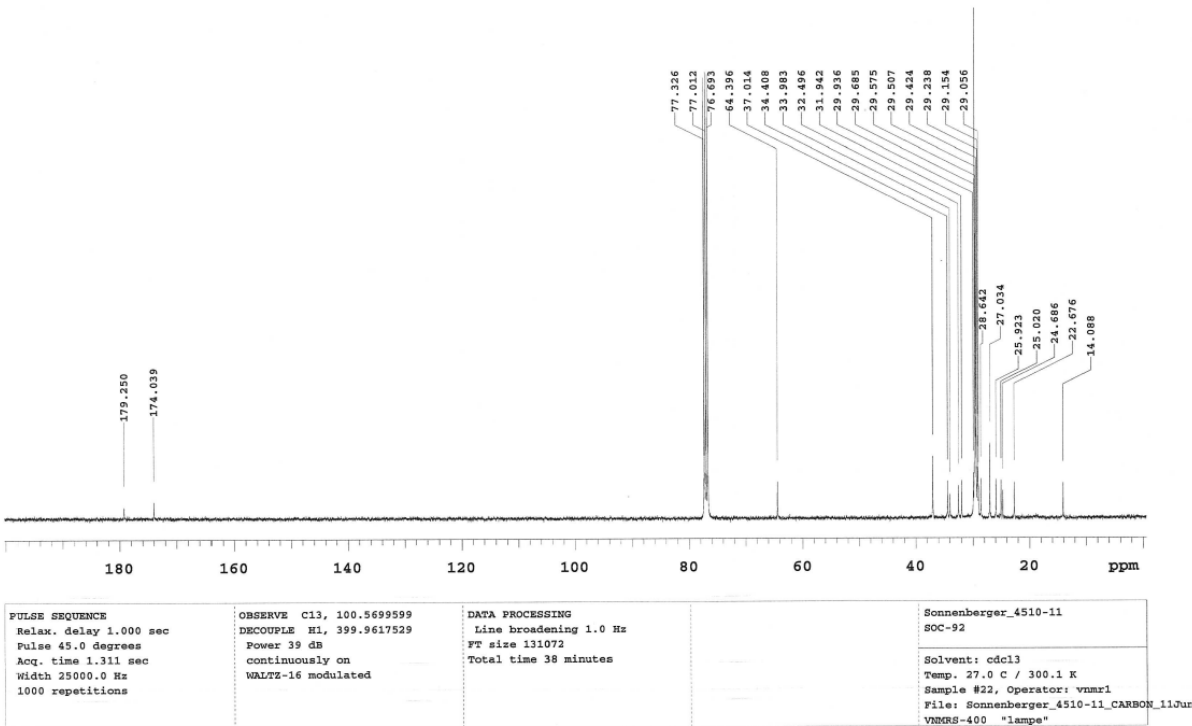
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:



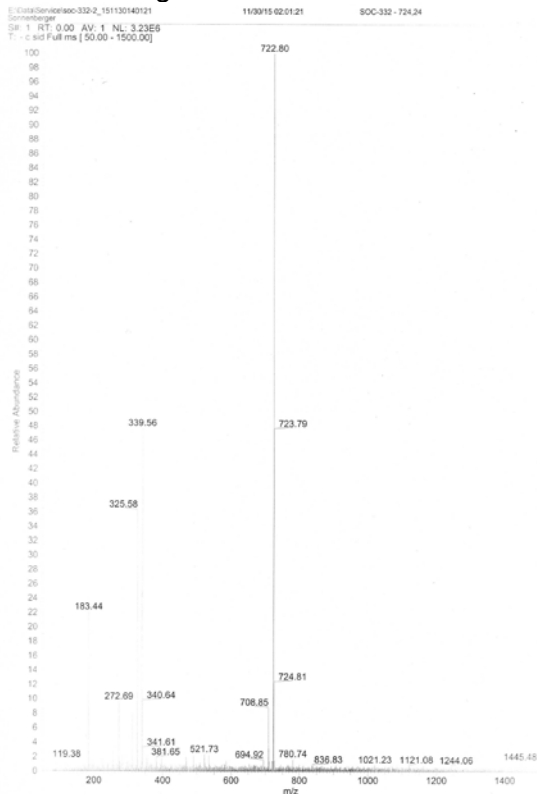
¹³C-NMR:



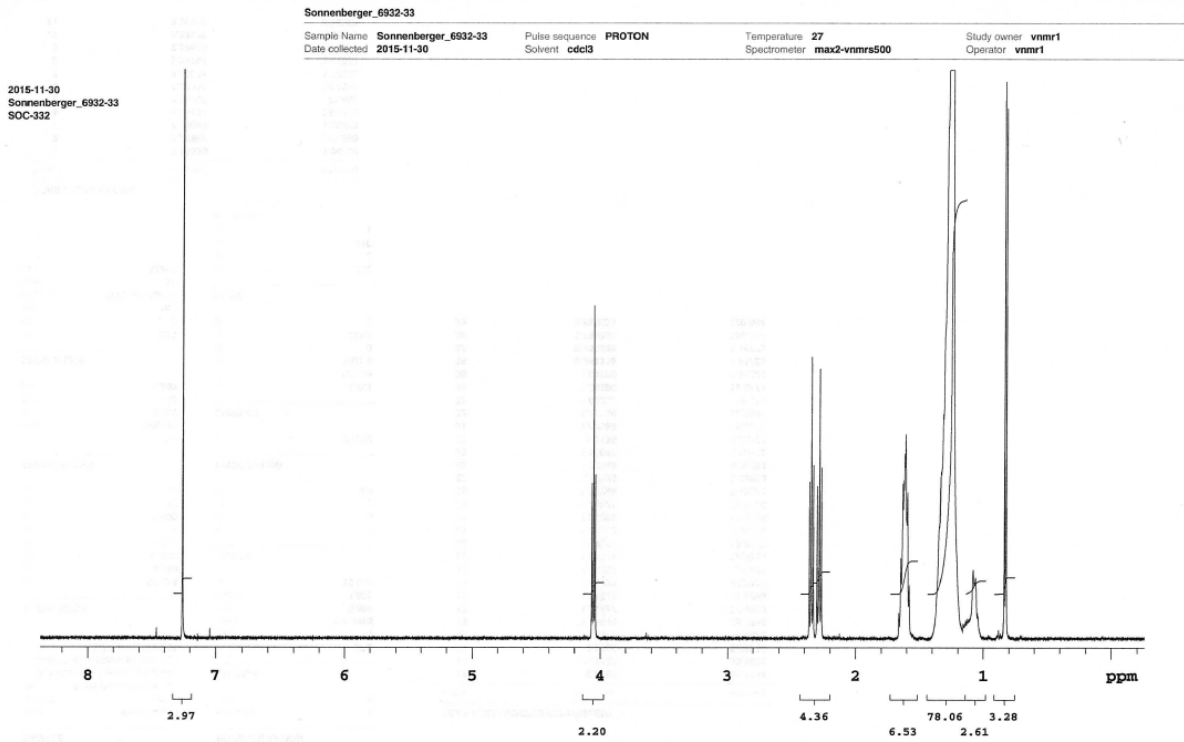
30- $\{[16,16,16\text{-D}_3\text{-}(10R\text{S})\text{-}10\text{-Methylhexadecanoyl}]\text{oxy}\}$ triacontansäure – (98)

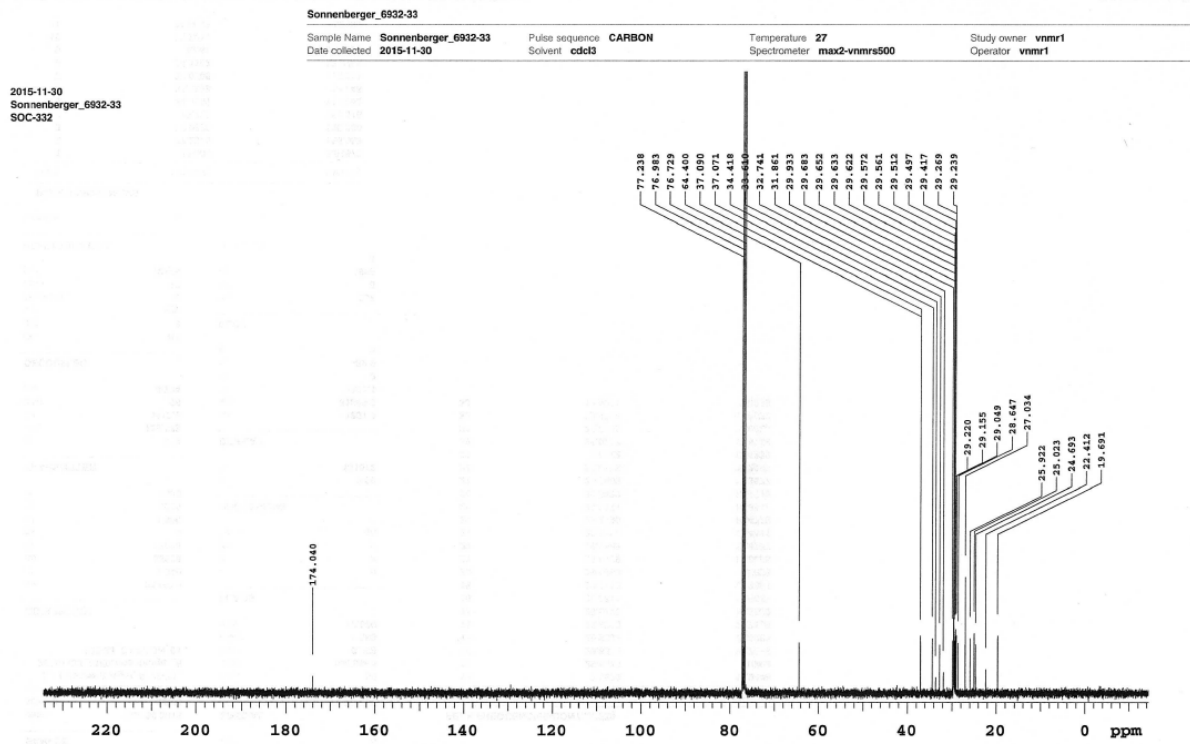
($M_G = 724,22 \text{ g/mol}$)

ESI-MS – negativ Modus:

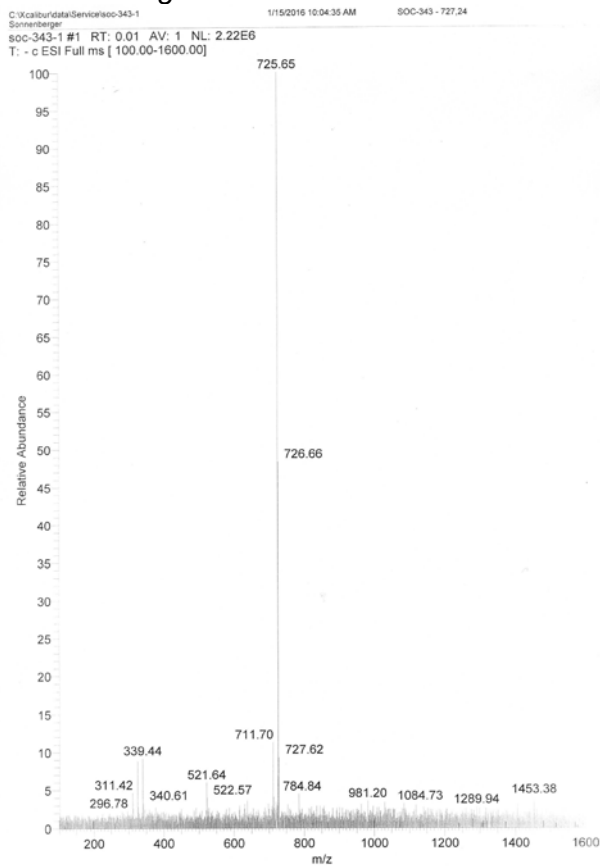


$^1\text{H-NMR}$:

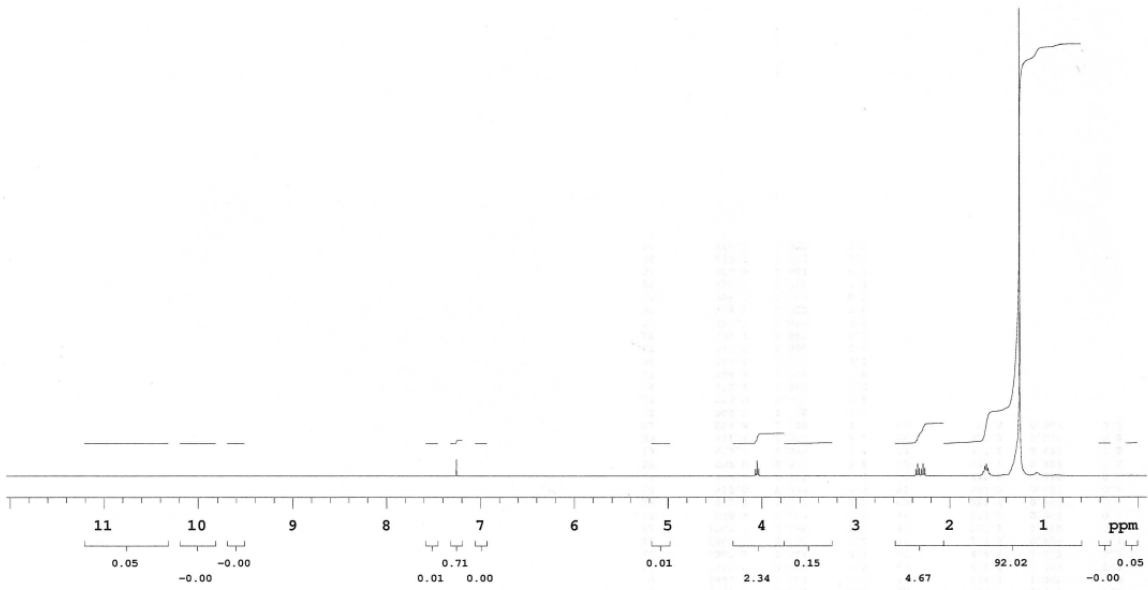


^{13}C -NMR:**30-[[16,16,16-D₃-(10RS)-10-(Methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy}triacontansäure – (99)** $(M_G = 727,24 \text{ g/mol})$

ESI-MS – negativ Modus:

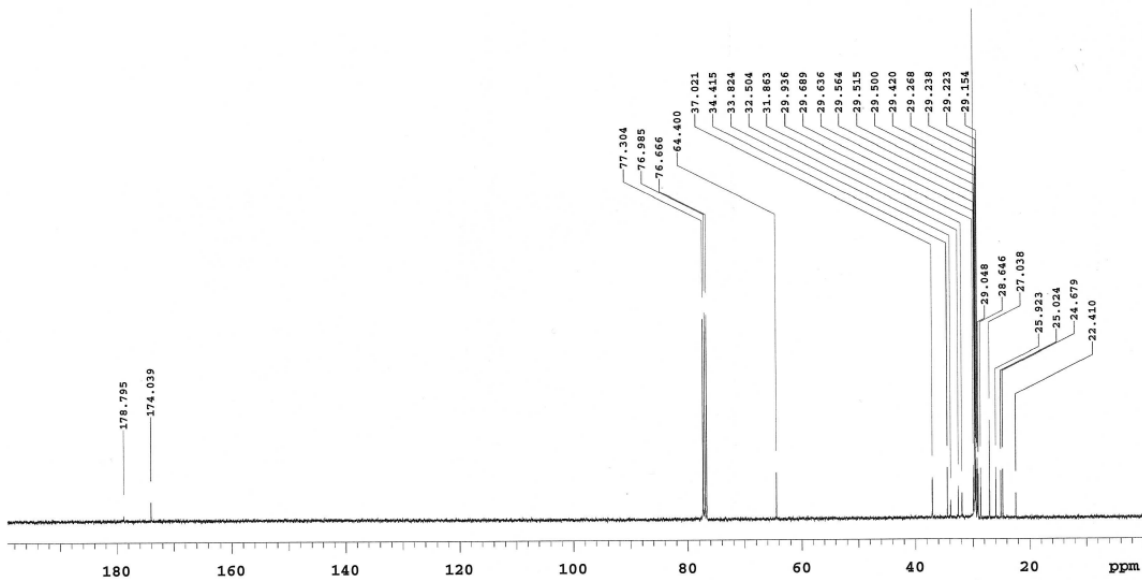


¹H-NMR:



PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 5.112 sec Width 6410.3 Hz 16 repetitions	OBSERVE H1, 399.9597531	DATA PROCESSING FT size 131072 Total time 1 minutes	Sonnenberger_8002-03 SOC-343 Solvent: cdcl3 Temp. 27.0 C / 300.1 K Sample #19, Operator: vnmr1 File: Sonnenberger_8002-03_PROTON_02Mar2 VNMR5-400 "lampe"
---	--------------------------------	--	---

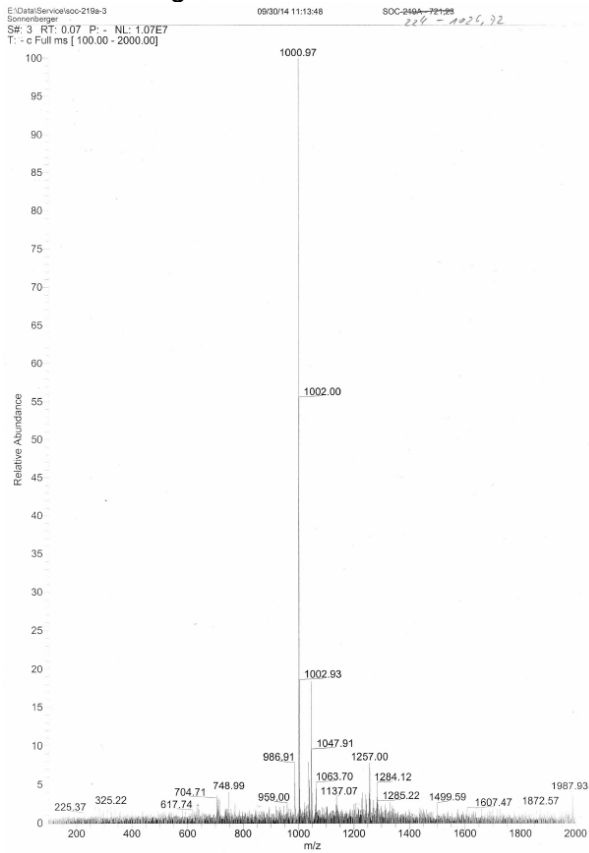
¹³C-NMR:



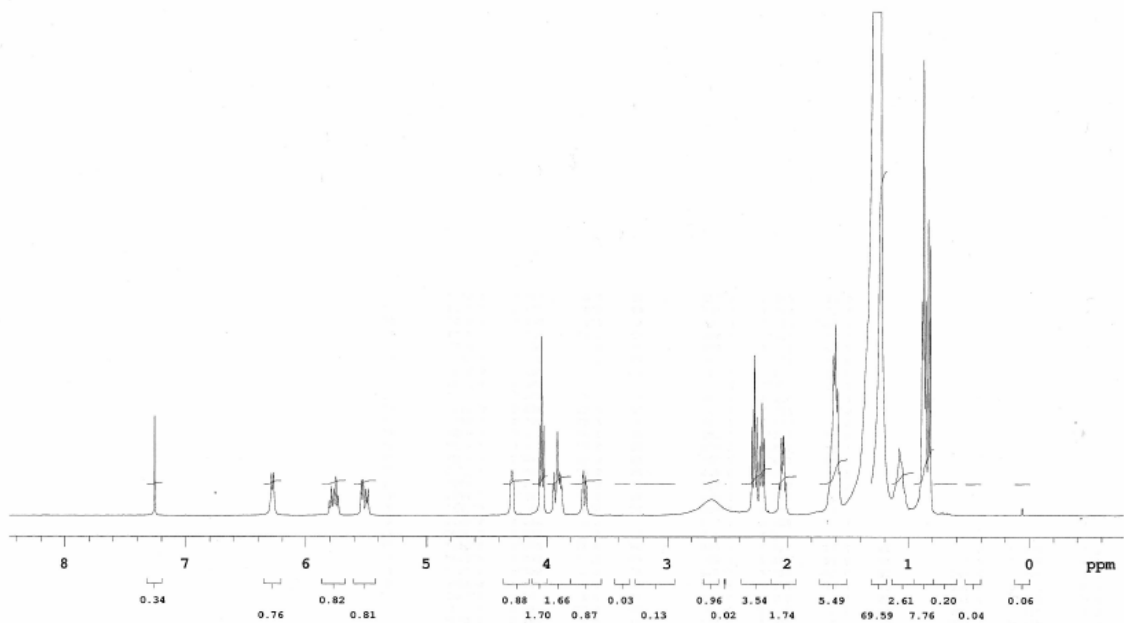
PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 1.311 sec Width 25000.0 Hz 1000 repetitions	OBSERVE C13, 100.5699599 DECOUPLE H1, 399.9617529 Power 40 dB continuously on WALTZ-16 modulated	DATA PROCESSING Line broadening 1.0 Hz FT size 131072 Total time 38 minutes	Sonnenberger_8002-03 SOC-343 Solvent: cdcl3 Temp. 27.0 C / 300.1 K Sample #19, Operator: vnmr1 File: Sonnenberger_8002-03_CARBON_02Mar2 VNMR5-400 "lampe"
--	--	---	---

***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[*(10R*)-10-methylhexadecanoyl]-oxy]triacontanamid – CER[mEOS] – (100) ($M_G = 1002,67$ g/mol)**

ESI-MS – negativ Modus:

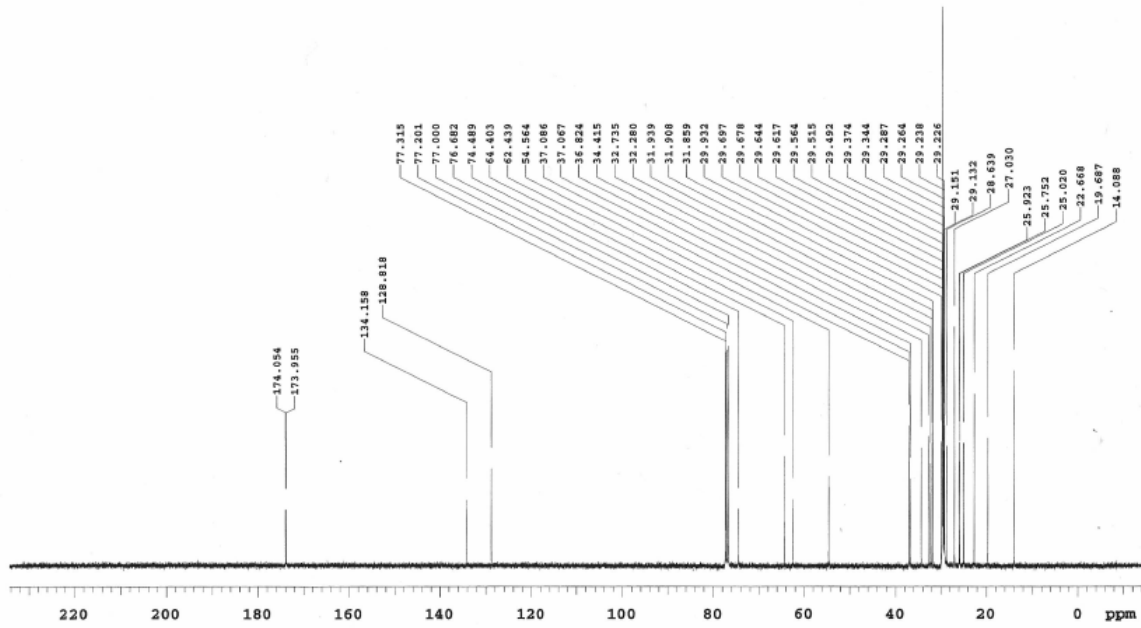


¹H-NMR:



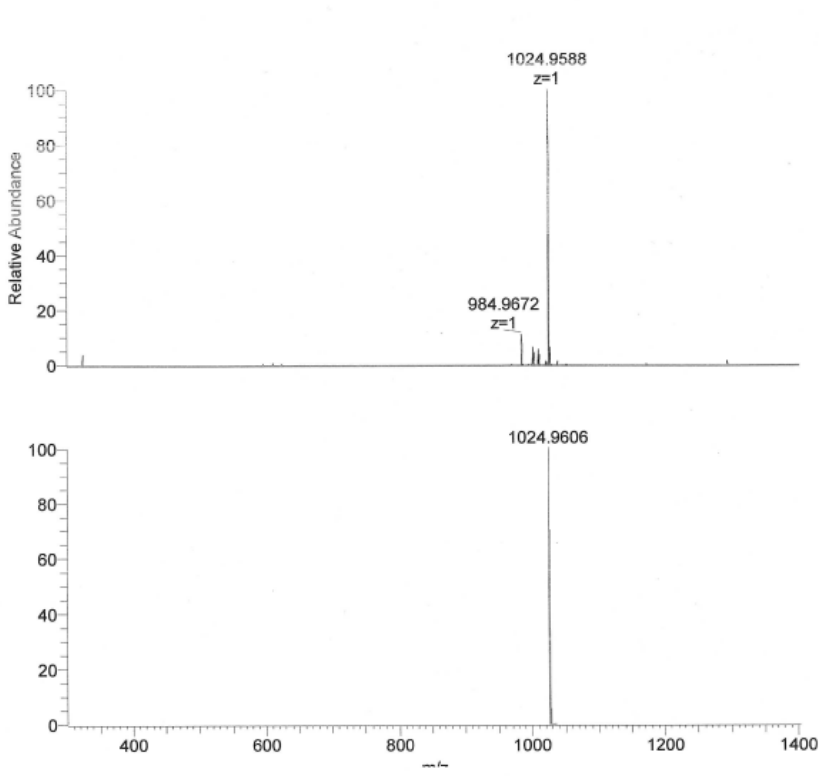
PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 5.112 sec Width 6410.3 Hz 16 repetitions	OBSERVE H1, 399.9597531	DATA PROCESSING Line broadening 0.5 Hz FT size 131072 Total time 1 minutes	Sonnenberger_7597-98 SOC-224 Solvent: cdcl3 Temp: 27.0 C / 300.1 K Sample #0, Operator: vnmcl File: Sonnenberger_7597-98_PROTON_29Sep2 VNMR5-400 "lampe"
---	--------------------------------	--	--

¹³C-NMR:



<p>PULSE SEQUENCE Relax. Delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 1.311 sec Width 25000.0 Hz 1000 repetitions</p>	<p>OBSERVE C13, 100.5699599 DECOUPLE H1, 399.9617529 Power 39 dB continuously on WALTZ-16 modulated</p>	<p>DATA PROCESSING Line broadening 0.5 Hz FT size 131072 Total time 38 minutes</p>	<p>Sonnenberger_7597-98 SOC-224 Solvent: cdcl3 Temp. 27.0 C / 300.1 K Sample #8, Operator: vnmr1 File: Sonnenberger_7597-98_CARBON_29Seq VNMRS-400 "Lampe"</p>
---	---	--	--

HR-MS:

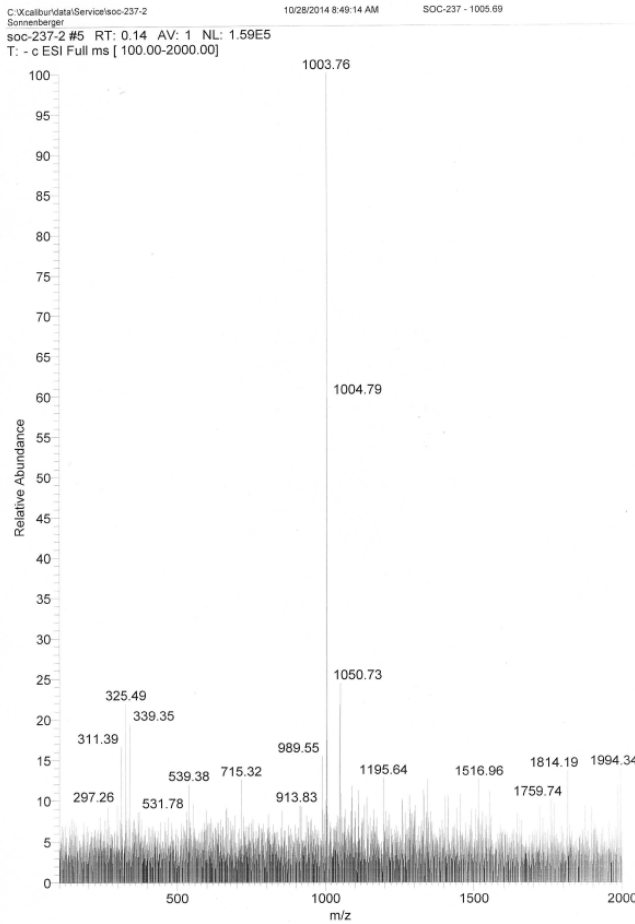


NL:
 1.06E7
 SOC
 224_2_150901092910
 #3-10 RT: 0.07-0.27
 AV: 8 T: FTMS + p NSI
 Full ms
 [300.00-1400.00]

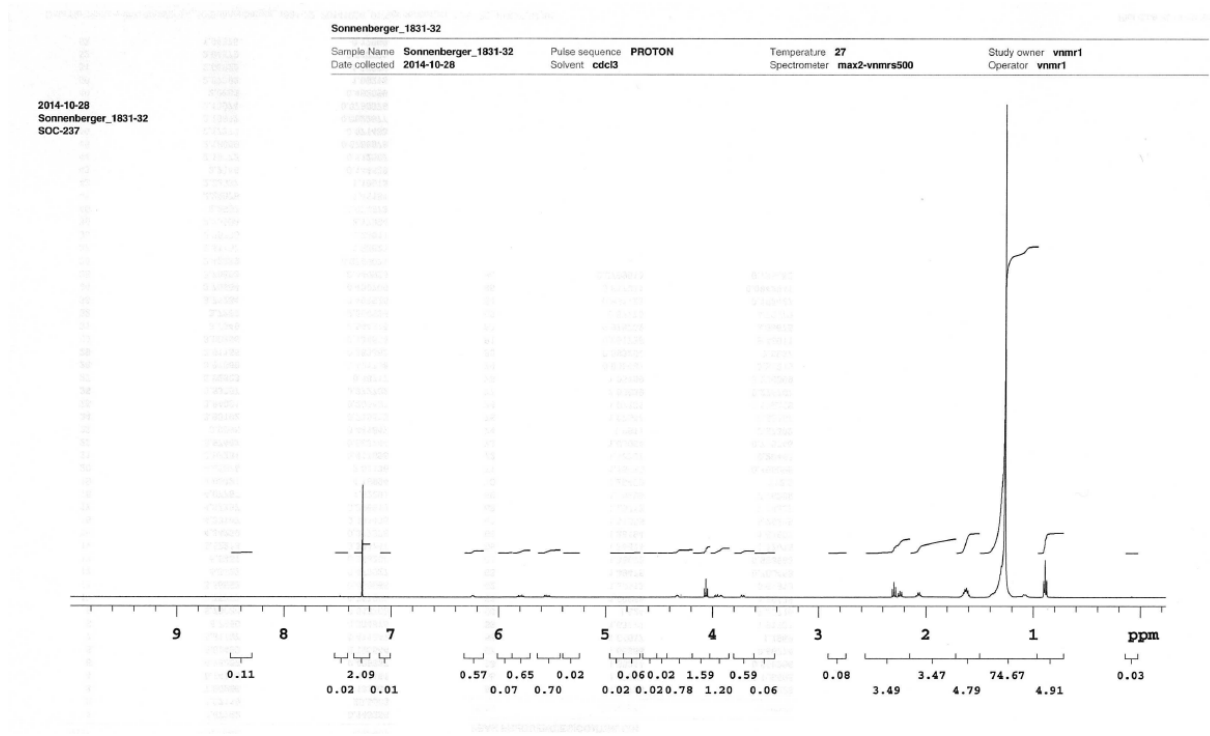
NL:
 4.82E5
 C₆₅H₁₂₇NO₅+Na:
 C₆₅H₁₂₇N₁O₅Na₁
 pa Chrg 1

N-[(2S,3R,4E)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[[(10RS)-10-(methyl-D₃)hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOS] m-D₃ – (101) (M_G = 1005,69 g/mol)

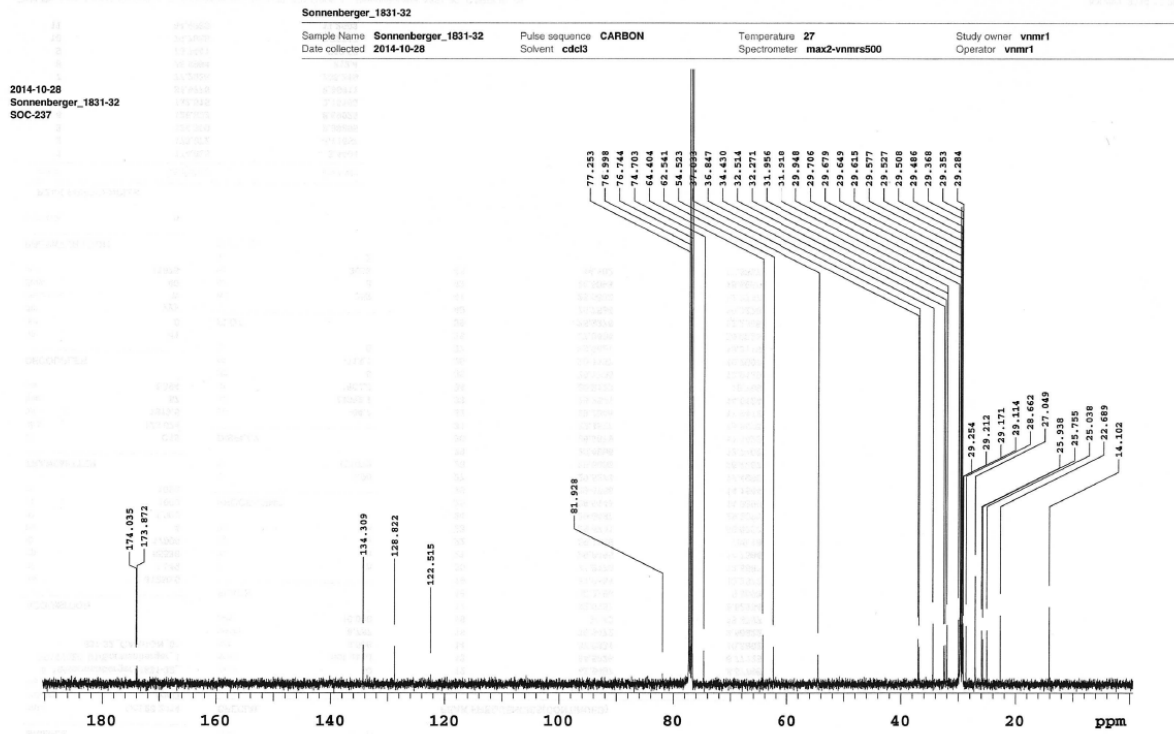
ESI-MS – negativ Modus:



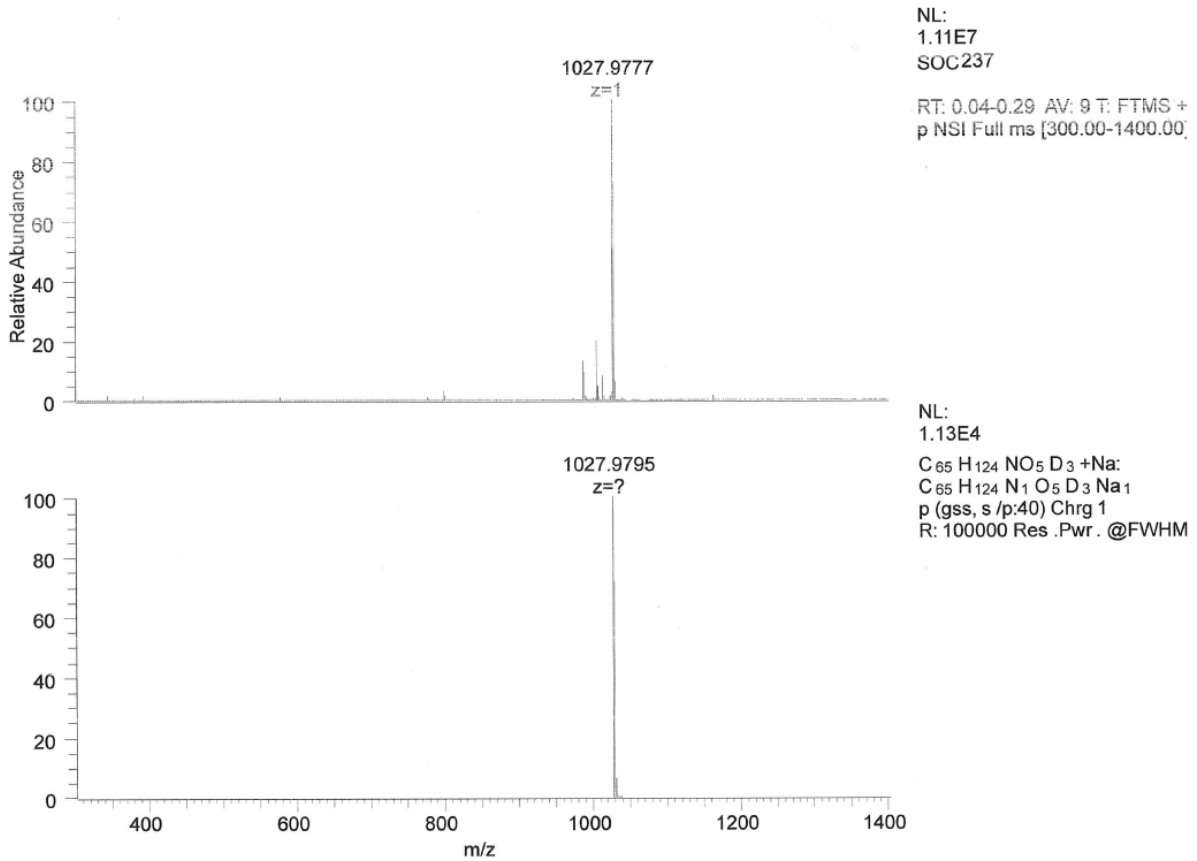
¹H-NMR:



¹³C-NMR:

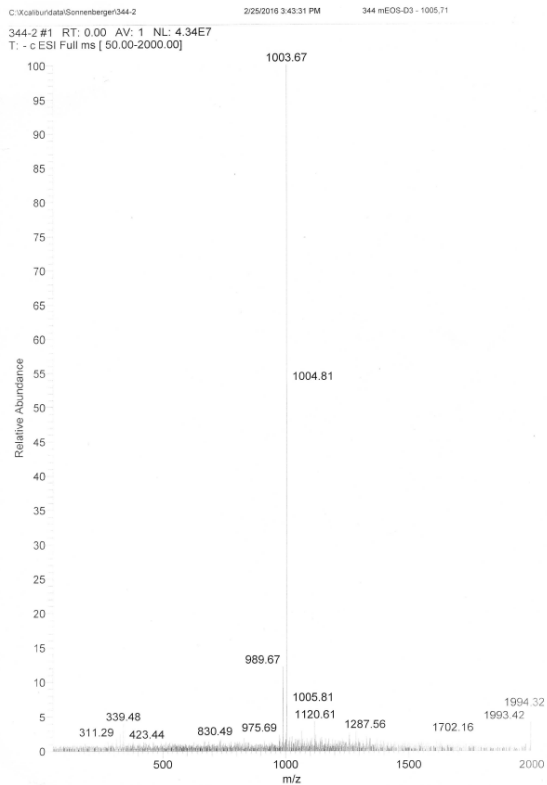


HR-MS:

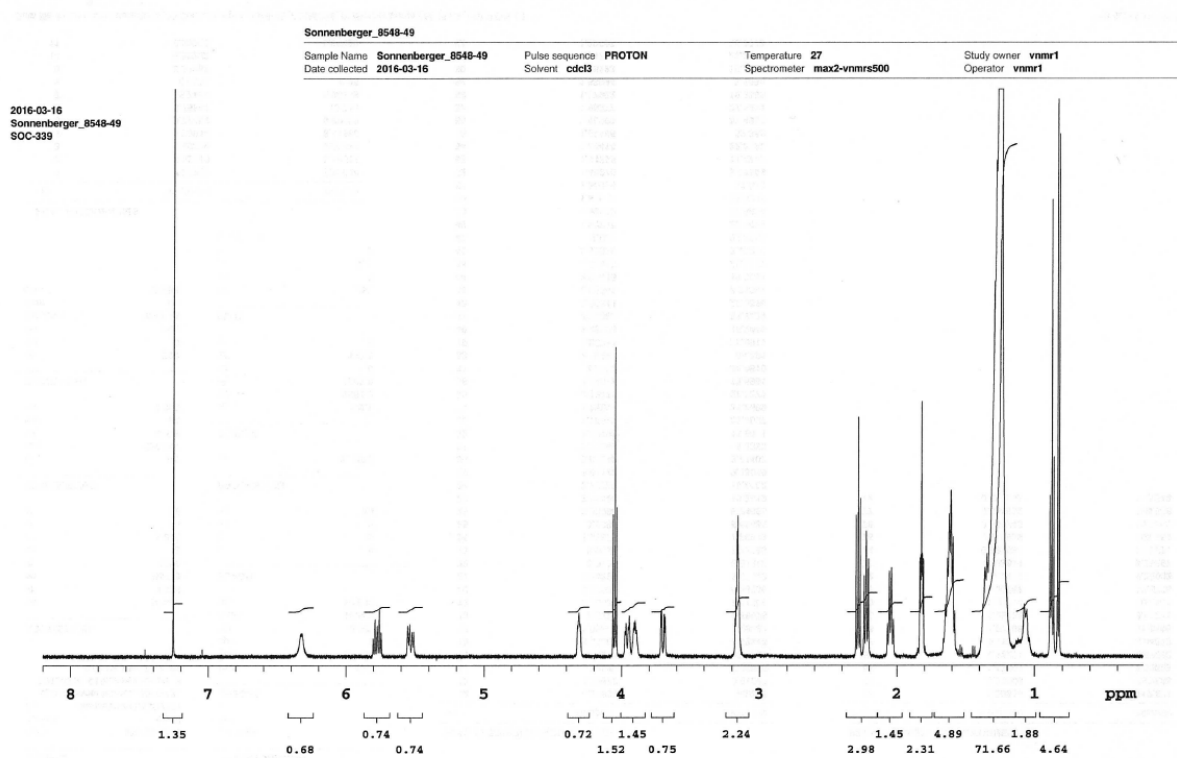


***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(10*R**S*)-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOS] e- D_3 – (102) ($M_G = 1005,69$ g/mol)**

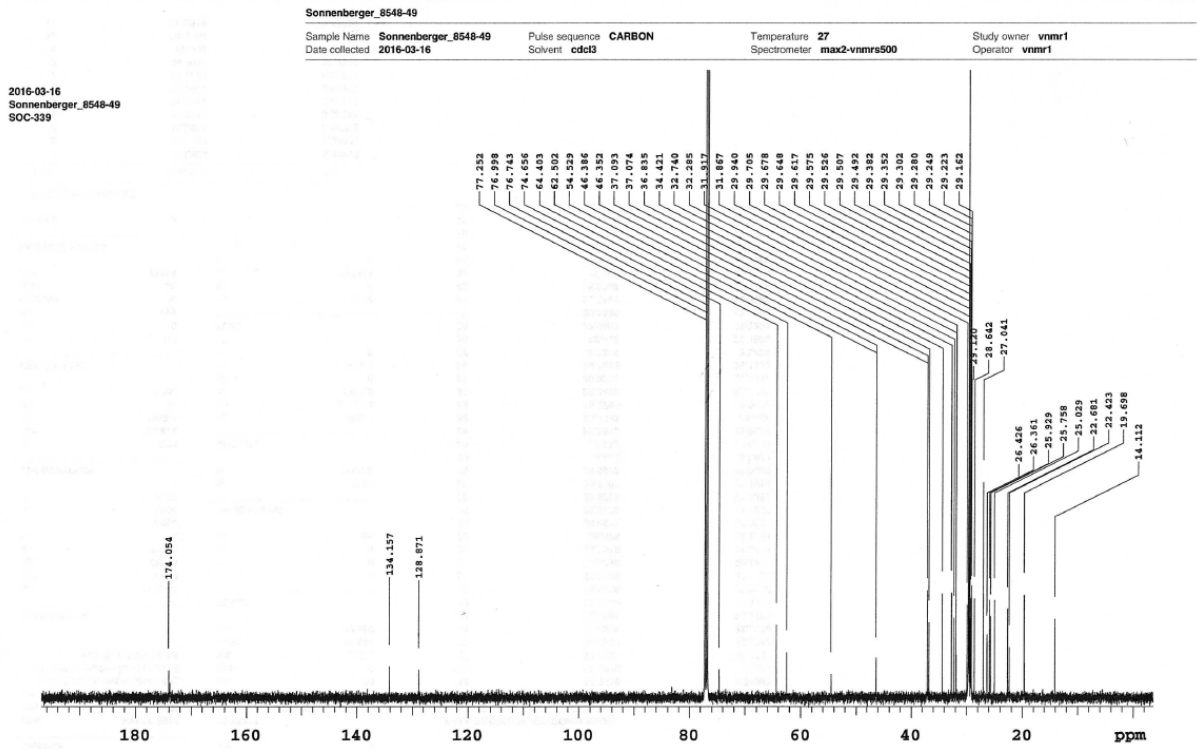
ESI-MS – negativ Modus:



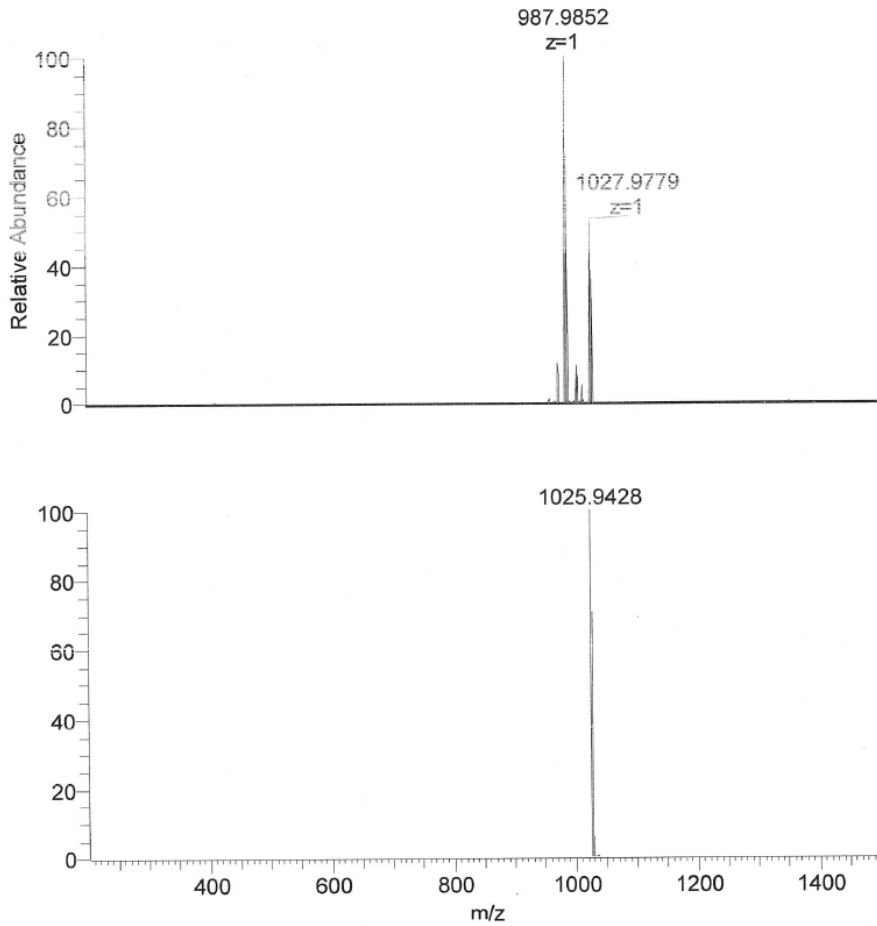
¹H-NMR:



¹³C-NMR:



HR-MS:

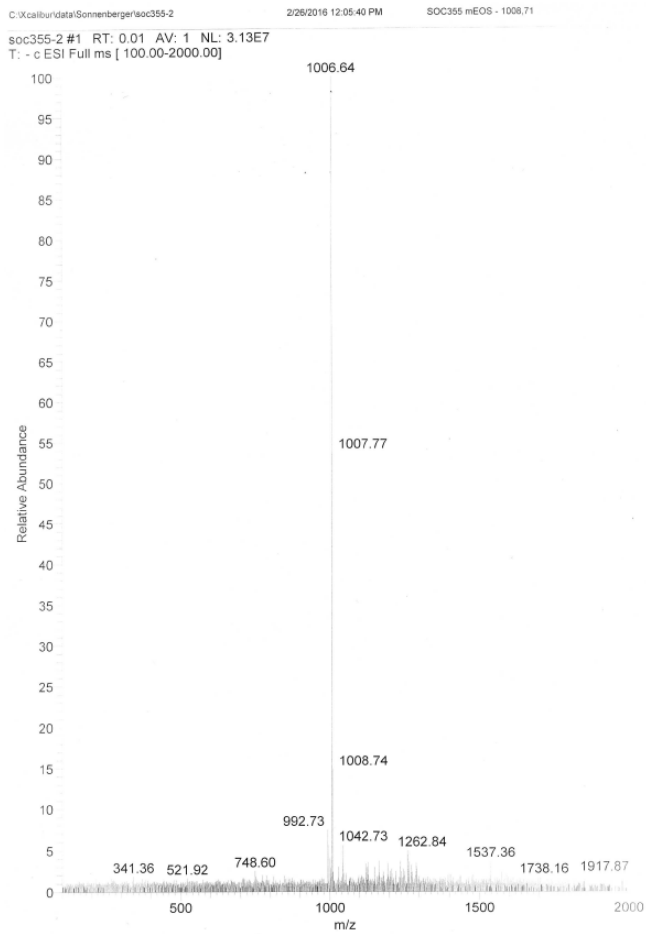


NL:
5.60E5
SOC344#2-15 RT:
0.04-0.48 AV: 14 T:
FTMS + p NSi Full ms
[200.00-1500.00]

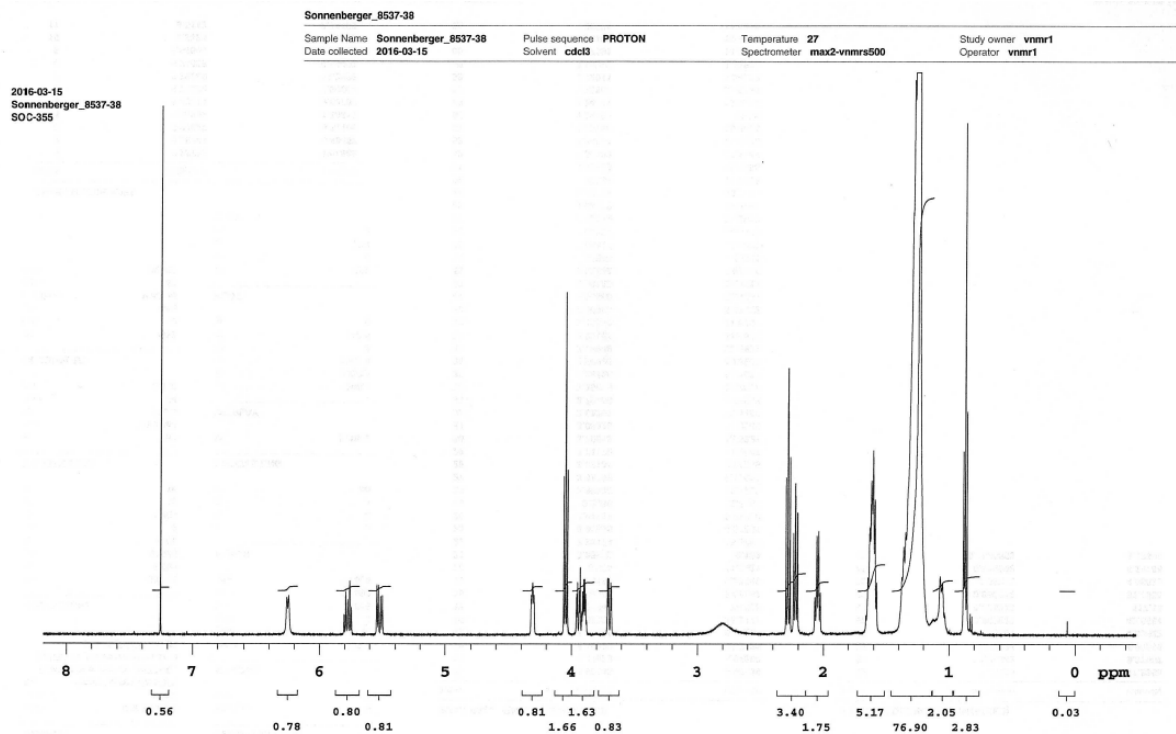
NL:
4.51E5
C₆₅ H₁₂₂ D₃ NO₄ +K:
C₆₅ H₁₂₂ D₃ N₁ O₄ K₁
pa Chrg 1

***N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(10*RS*)-10-(methyl- D_3)-hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOS] e,m- D_6 – (103) ($M_G = 1008,70$ g/mol)**

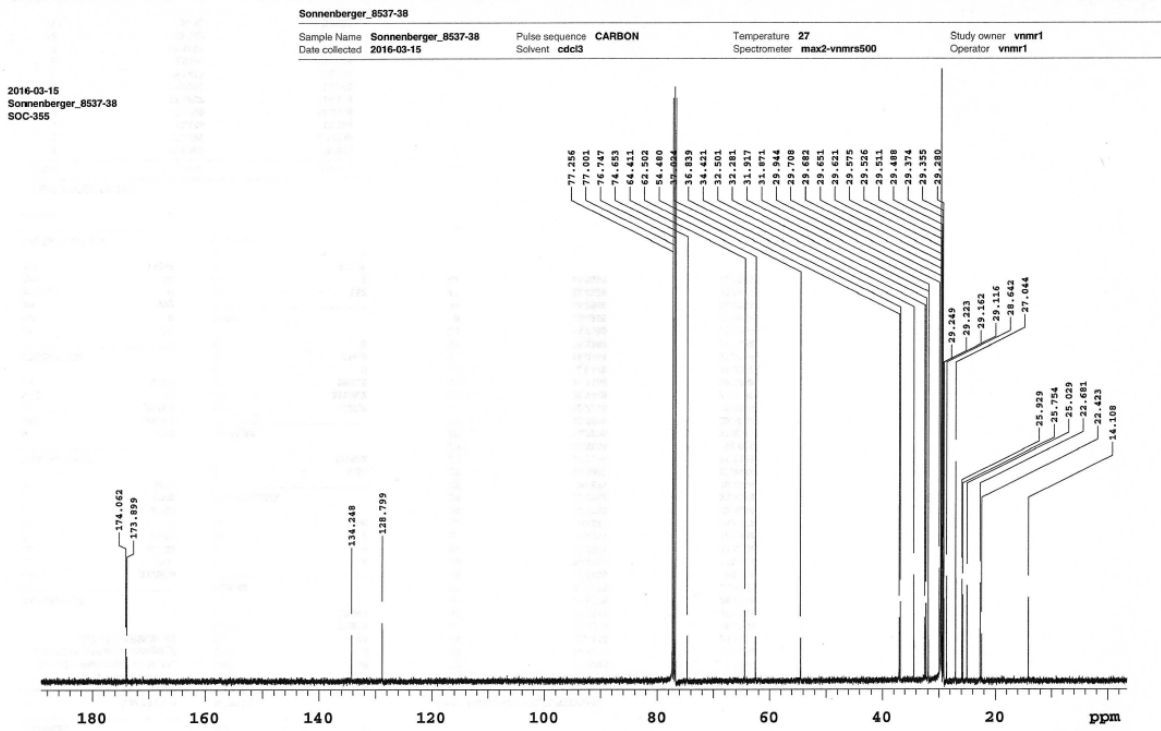
ESI-MS – negativ Modus:



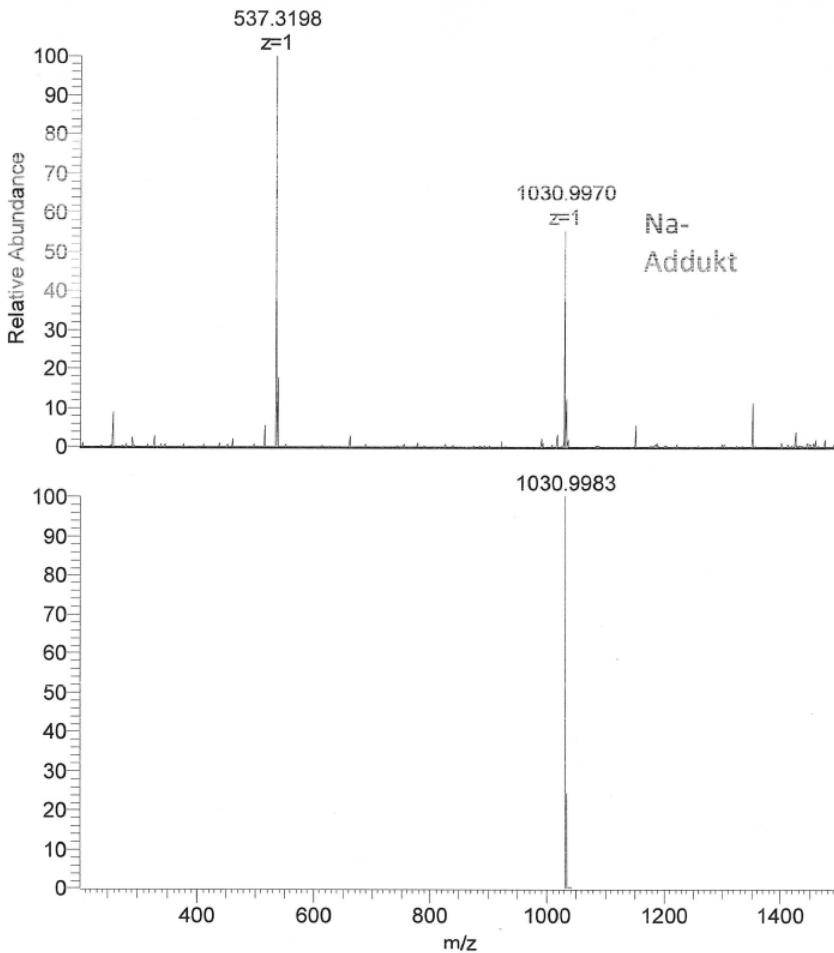
¹H-NMR:



¹³C-NMR:



HR-MS:

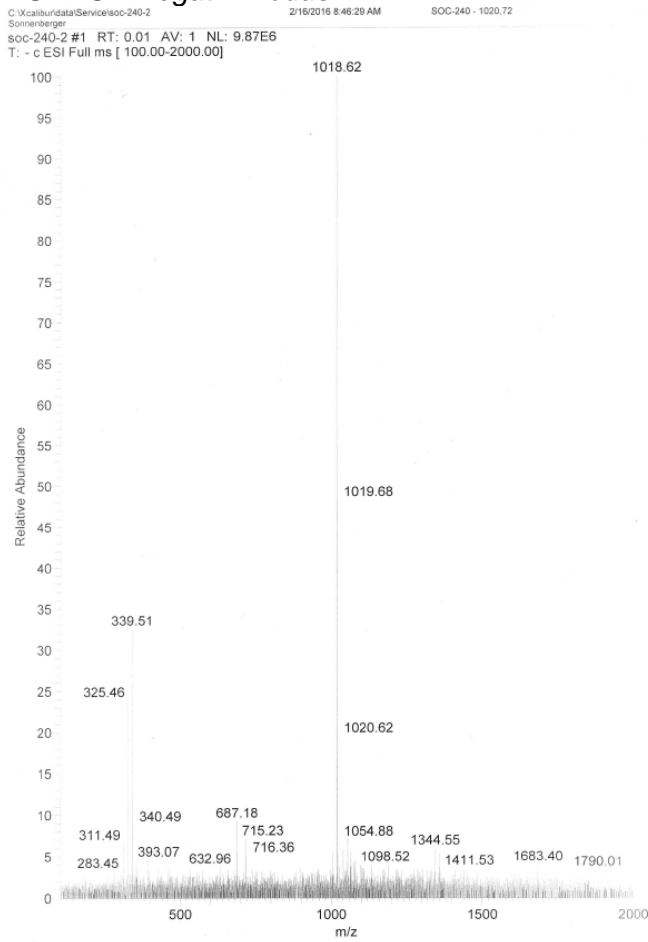


NL:
1.09E4
SOC355_160322123338
#2-14 RT: 0.04-0.47
AV: 13 T: FTMS + p NSI
Full ms [200.00-1500.00]

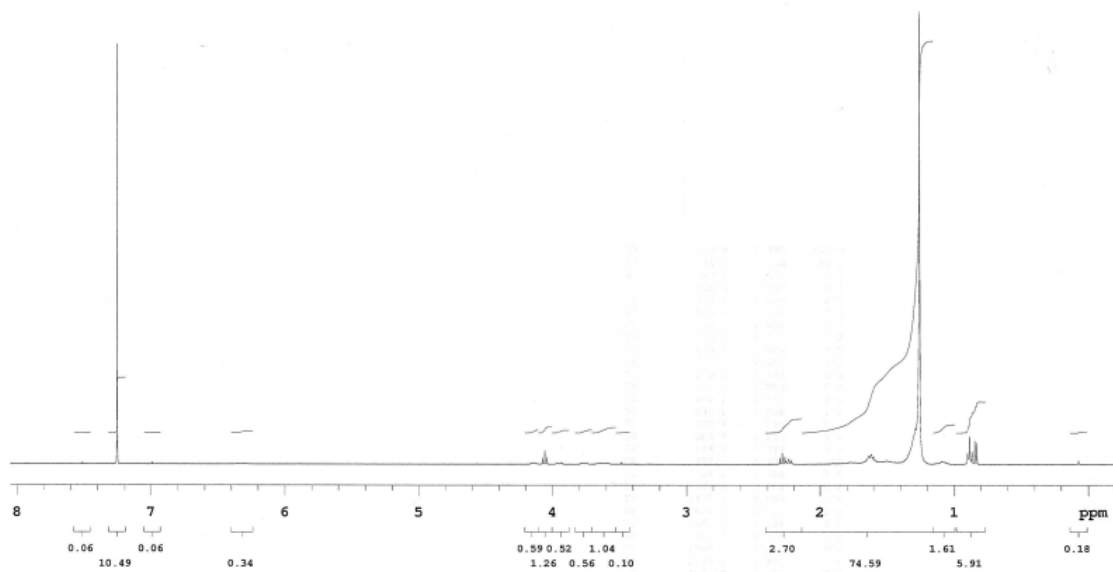
NL:
4.82E5
C₆₅ H₁₂₁ D₆ NO₅ +Na:
C₆₅ H₁₂₁ D₆ N₁ O₅ Na₁
pa Chrg 1

***N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[*(10R*)-10-methylhexadecanoyl]oxy]-triacontanamid – CER[mEOP] – (104) ($M_G = 1020,68$ g/mol)**

ESI-MS – negativ Modus:

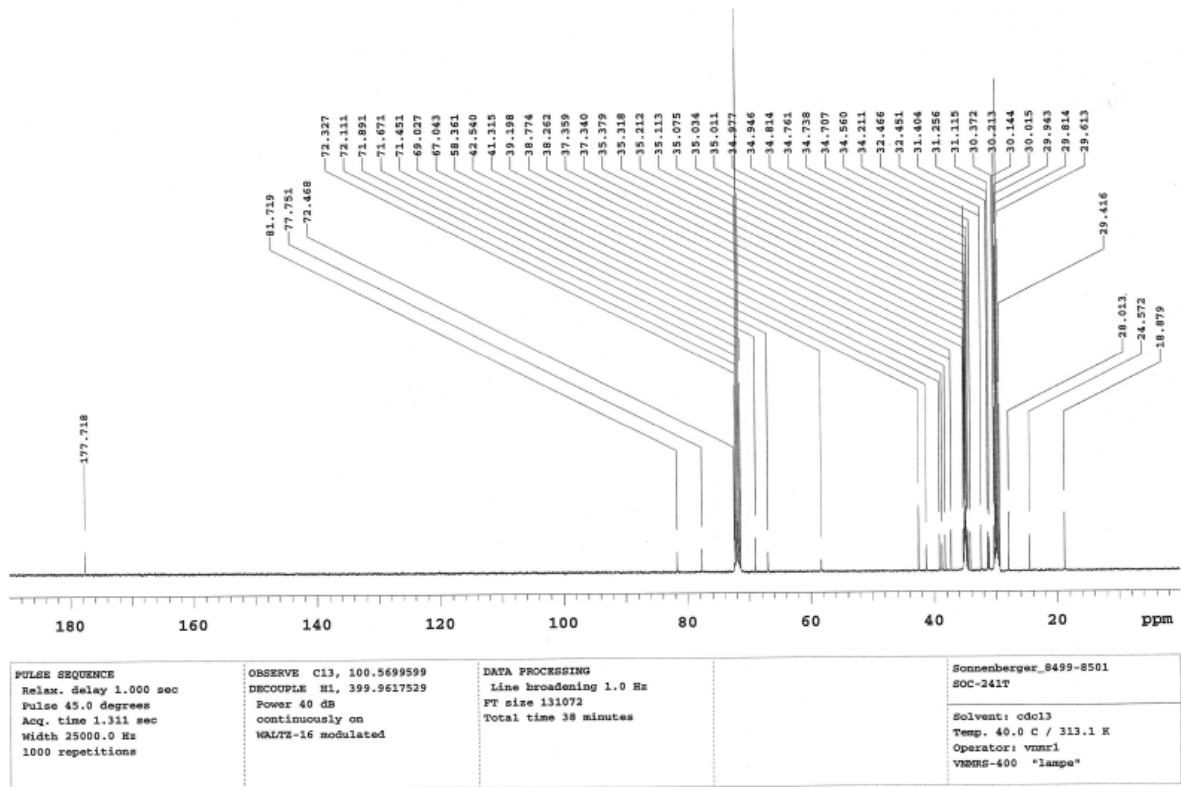


¹H-NMR:

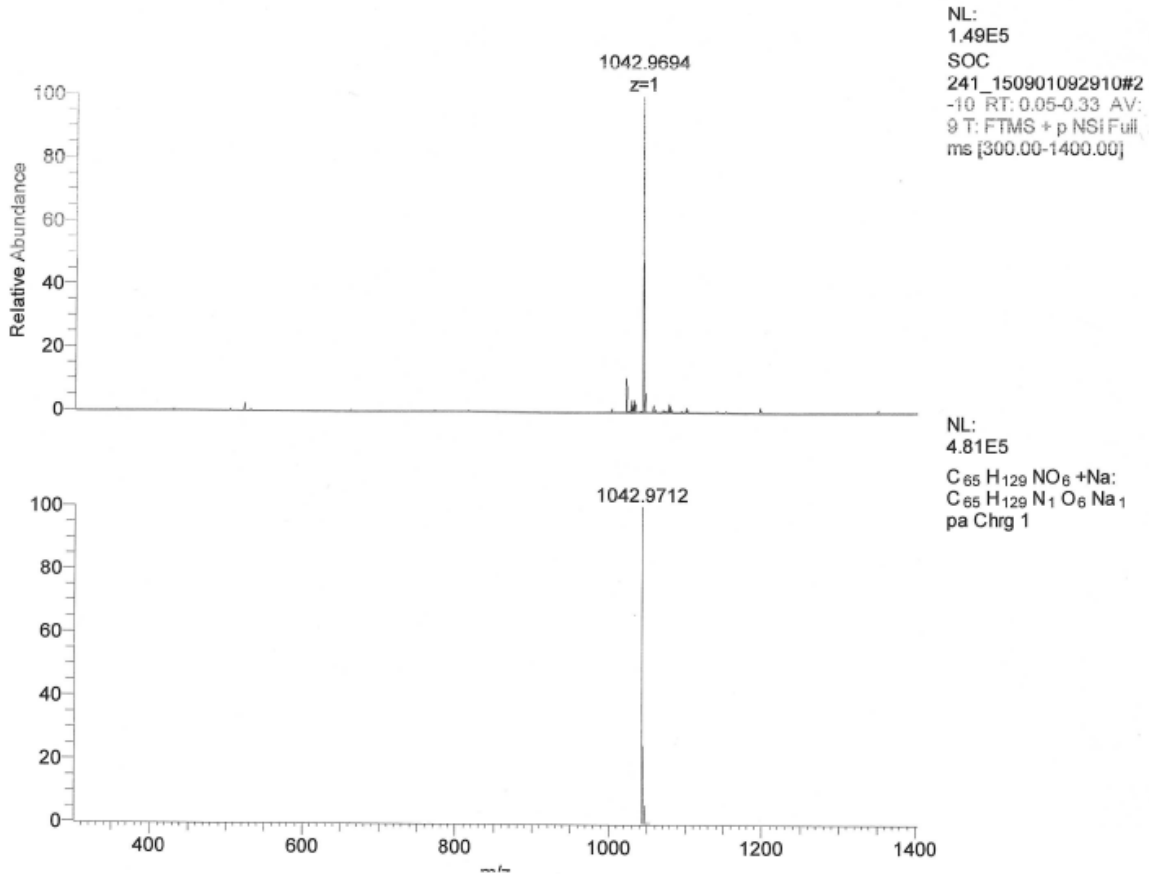


PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 5.112 sec Width 6410.3 Hz 16 repetitions	OBSERVE H1, 399.9597531	DATA PROCESSING FT size 131072 Total time 1 minutes	Sonnenberger_S498 SOC-241 Solvent: cdcl3 Temp. 40.0 C / 313.1 K Operator: vmm1 File: Sonnenberger_S498_PROTON_16Mar2016 VNMR-400 "lampe"
---	--------------------------------	--	--

¹³C-NMR:

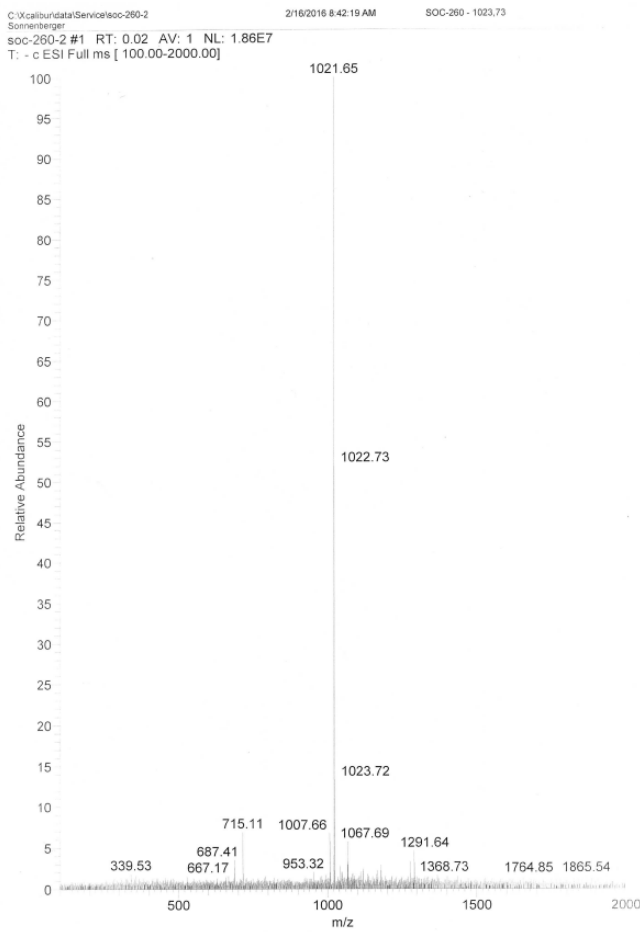


HR-MS:

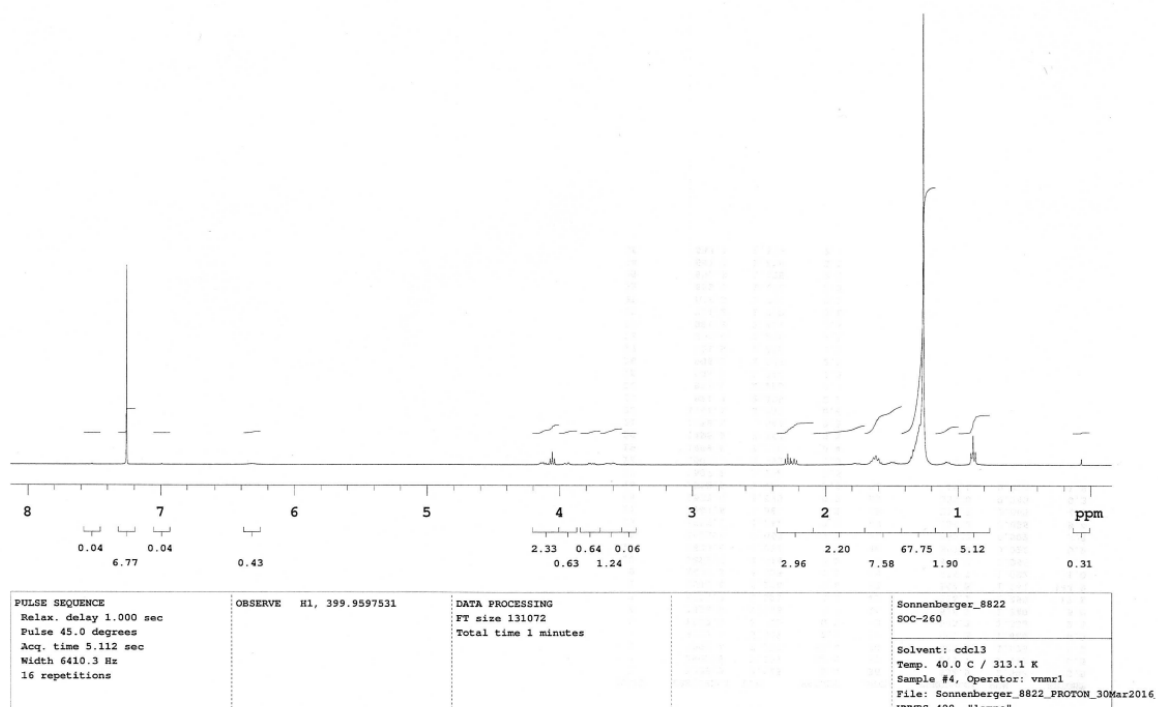


***N*-[*(2S,3S,4R)*-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[*(10RS)*-10-(methyl- D_3)hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOP] m- D_3 – (105) ($M_G = 1023,70$ g/mol)**

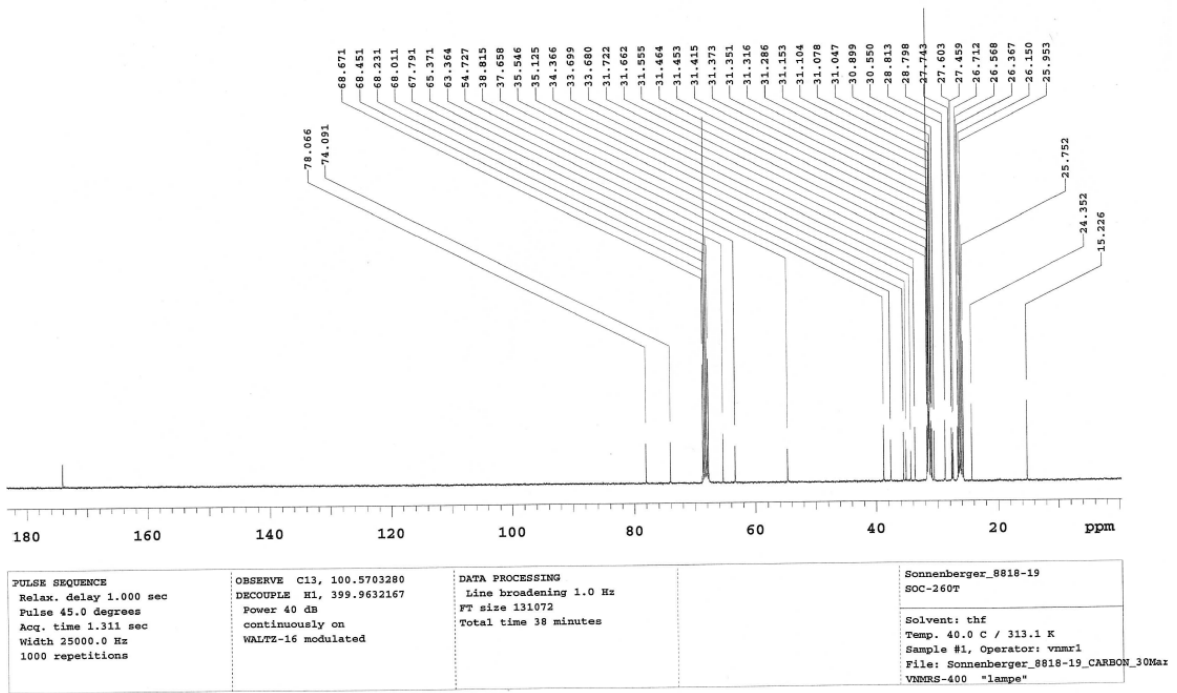
ESI-MS – negativ Modus:



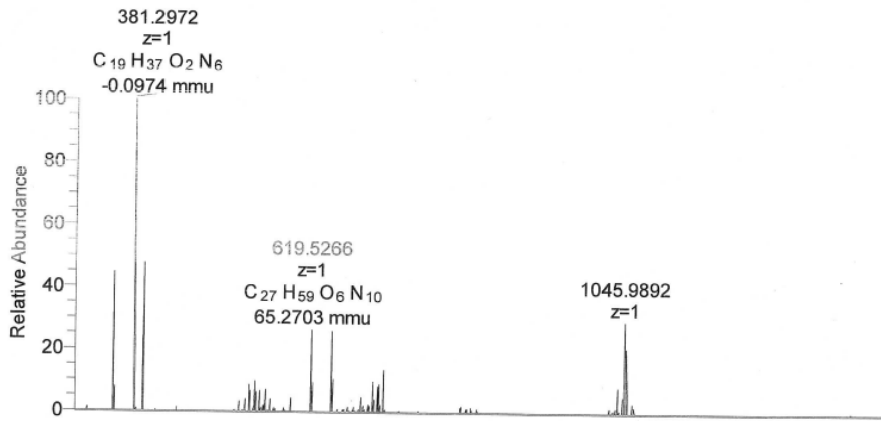
1H -NMR:



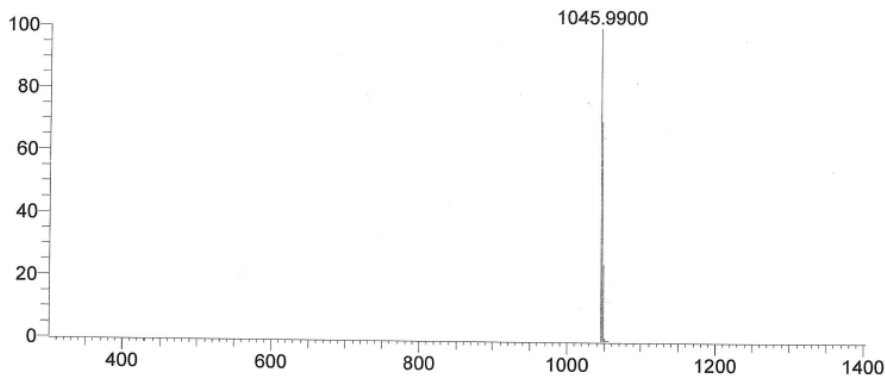
¹³C-NMR:



HR-MS:

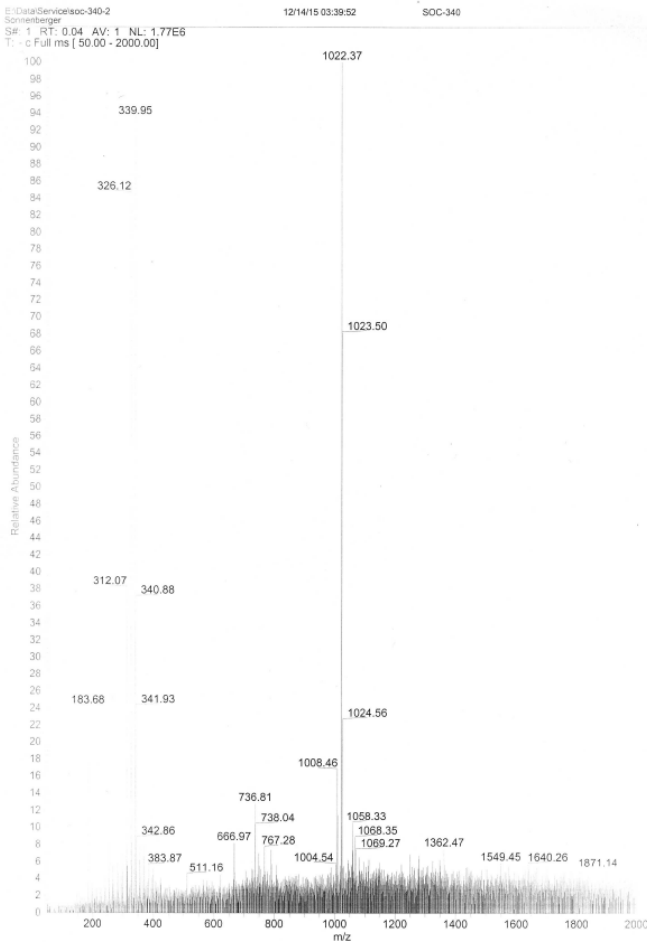


NL:
 5.50E6
 SOC
 260_150901133510#5-
 8 RT: 0.14-0.22 AV: 4
 T: FTMS + p NSI Full ms
 [300.00-1400.00]

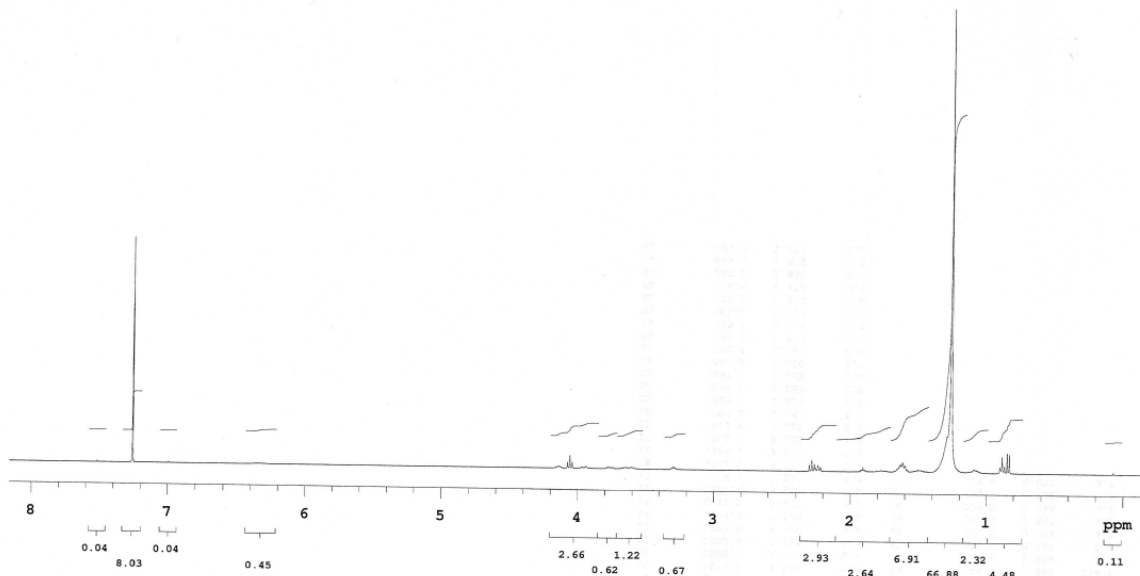


NL:
 4.81E5
 C₆₅H₁₂₆D₃NO₆+Na:
 C₆₅H₁₂₆D₃N₁O₆Na₁
 pa Chrg 1

***N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(10*RS*)-10-(methyl)hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOP] e- D_3 – (106) ($M_G = 1023,70$ g/mol)
ESI-MS – negativ Modus: (Weichmacher bei 312,1 m/z, 326,1 m/z, 340,0 m/z)**

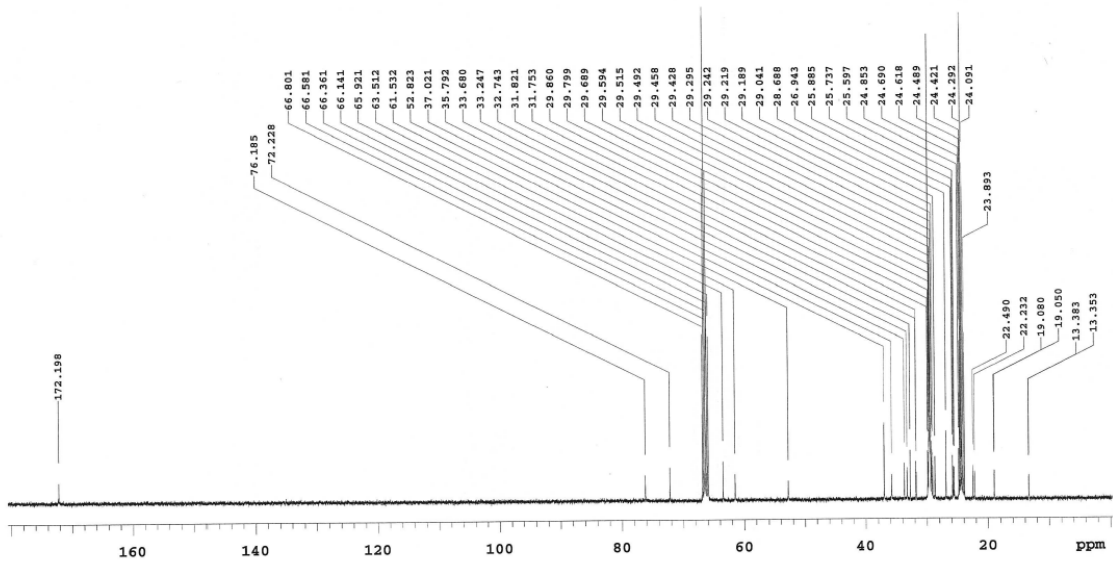


¹H-NMR:



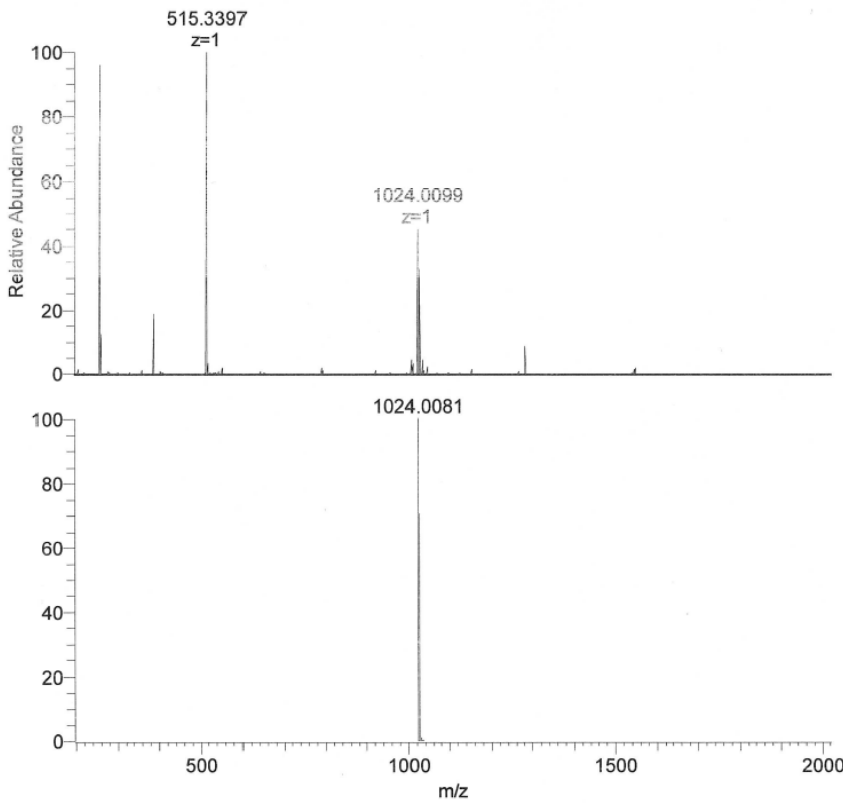
PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 5.112 sec Width 6410.3 Hz 16 repetitions	OBSERVE HI, 399.9597531	DATA PROCESSING FT size 131072 Total time 1 minutes	Sonnenberger_8820 SOC-340 Solvent: cdc13 Temp. 40.0 C / 313.1 K Sample #2, Operator: vmmrl File: Sonnenberger_8820_PROTON_10Mar2016 VNMR5-400 "lampe"
---	--------------------------------	--	---

¹³C-NMR:



<p>PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 1.311 sec Width 25000.0 Hz 1000 repetitions</p>	<p>OBSERVE C13, 100.5703280 DECOUPLE H1, 399.9632167 Power 40 dB continuously on WALTZ-16 modulated</p>	<p>DATA PROCESSING Line broadening 0.5 Hz FT size 131072 Total time 38 minutes</p>	<p>Sonnenberger_8918-19 SOC-340T Solvent: thf Temp. 40.0 C / 313.1 K Sample #1, Operator: vmr1 File: Sonnenberger_8918-19_CARBOON_01Apr VNMR5-400 "lampe"</p>
--	---	---	---

HR-MS:

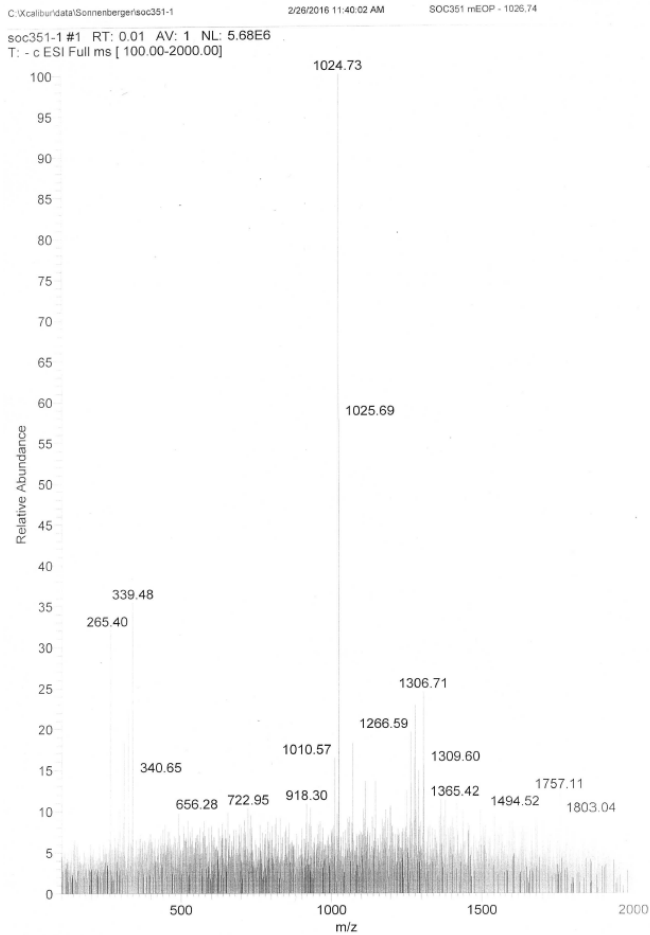


NL:
1.06E8
SOC_340b#10-41
RT: 0.06-0.23 AV: 32
T: FTMS + p NSI Full
ms
[197.0777-2000.0000]

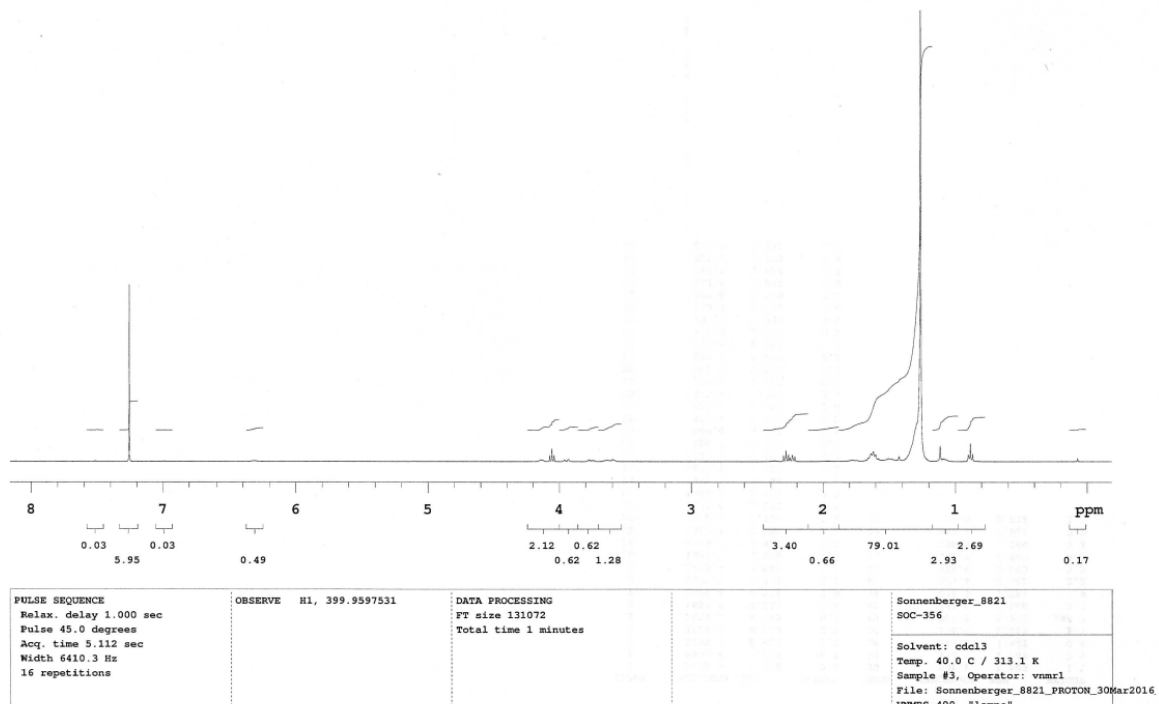
NL:
4.81E5
C₆₅H₁₂₆D₃NO₆+H:
C₆₅H₁₂₇D₃N₁O₆
pa Chrg 1

***N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[16,16,16- D_3 -(10*RS*)-10-(methyl- D_3)-hexadecanoyl]oxy]triacontanamid – CER[mEOP] e,m- D_3 – (107) ($M_G = 1026,72$ g/mol)**

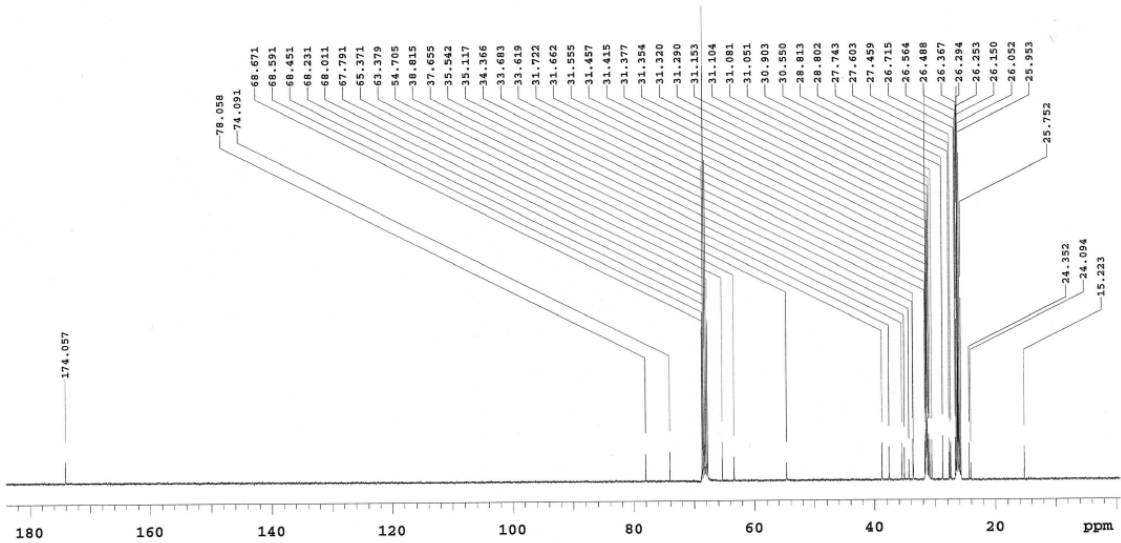
ESI-MS – negativ Modus:



1H -NMR:

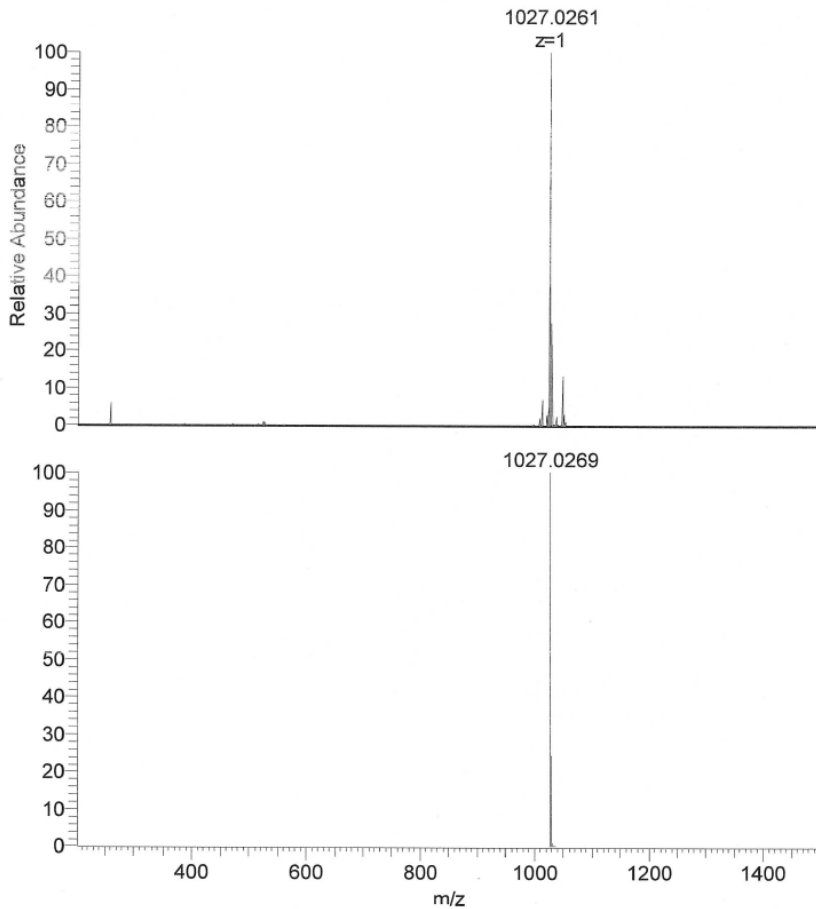


¹³C-NMR:



PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 1.311 sec Width 25000.0 Hz 1000 repetitions	OBSERVE C13, 100.5703280 DECOUPLE H1, 399.9632167 Power 40 dB continuously on WALTZ-16 modulated	DATA PROCESSING Line broadening 1.0 Hz FT size 131072 Total time 38 minutes	Sonnenberger_8920-21 SOC-356T Solvent: thf Temp. 40.0 C / 313.1 K Sample #2, Operator: vmmr1 File: Sonnenberger_8920-21_CARBON_01Apr VNMR5-400 "lampe"
--	---	---	--

HR-MS:

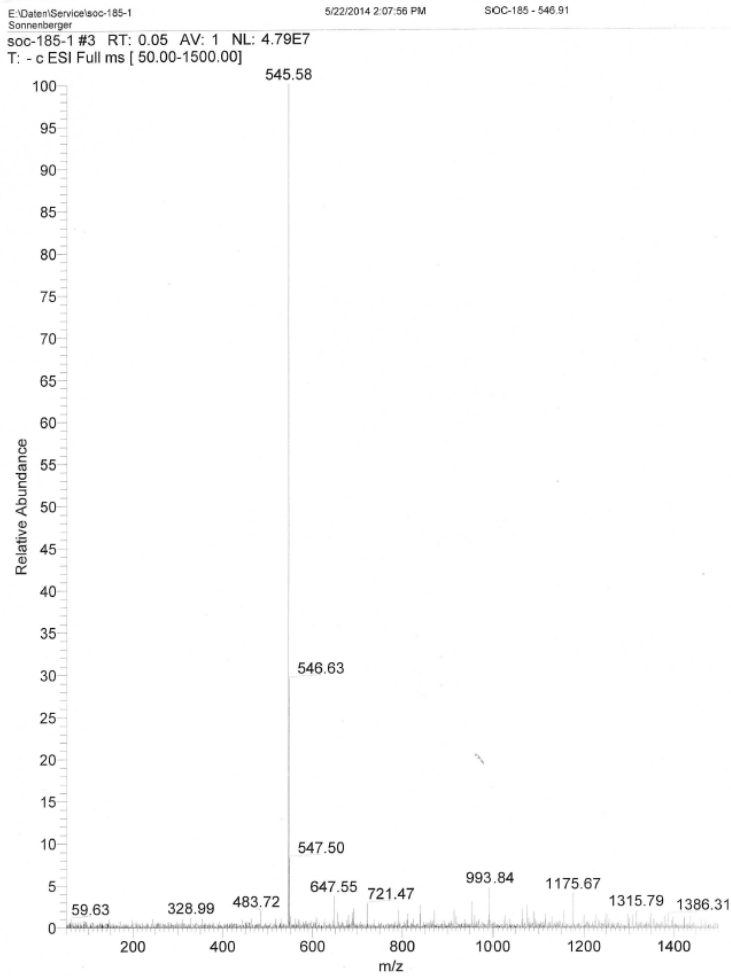


NL:
 1.81E7
 SOC351#2-14 RT:
 0.04-0.37 AV: 13 T:
 FTMS + p NSi Full ms
 [200.00-1500.00]

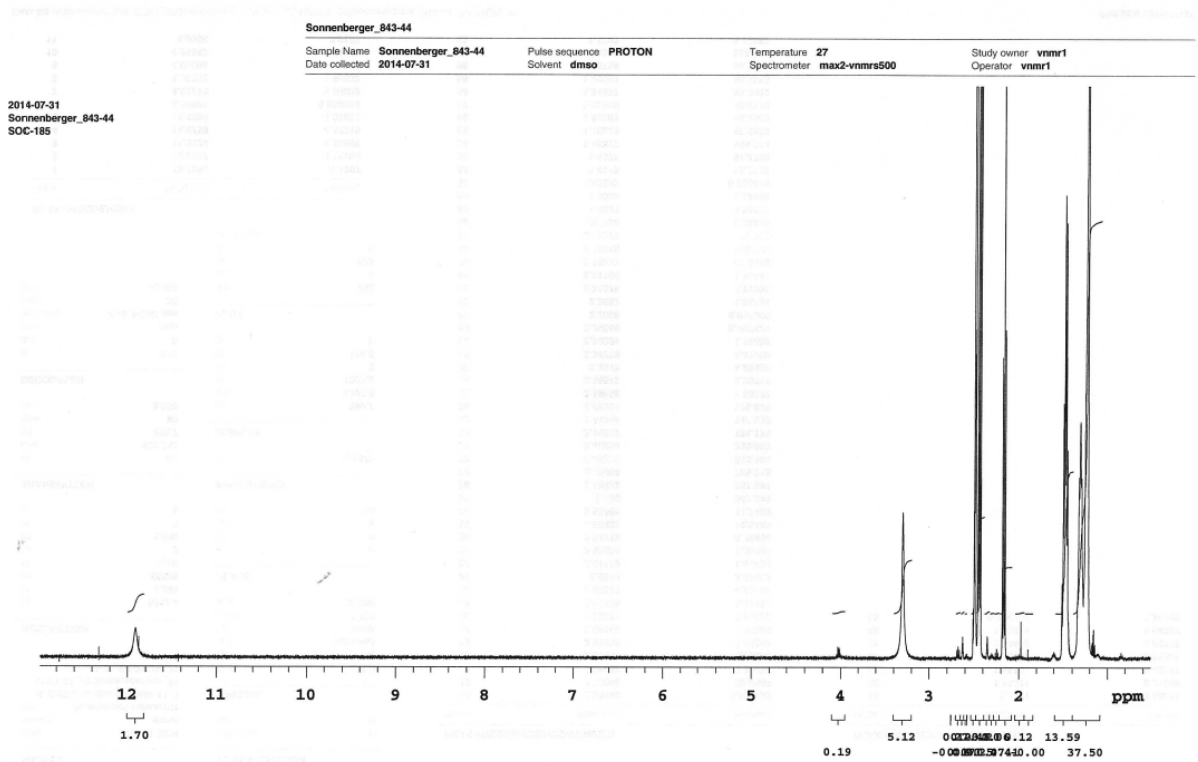
NL:
 4.81E5
C65H123D6NO6+H
C65H124D6N1O6
 pa Chrg 1

12,21-Dithiadotriacontandisäure – (117) ($M_G = 546,88 \text{ g/mol}$)

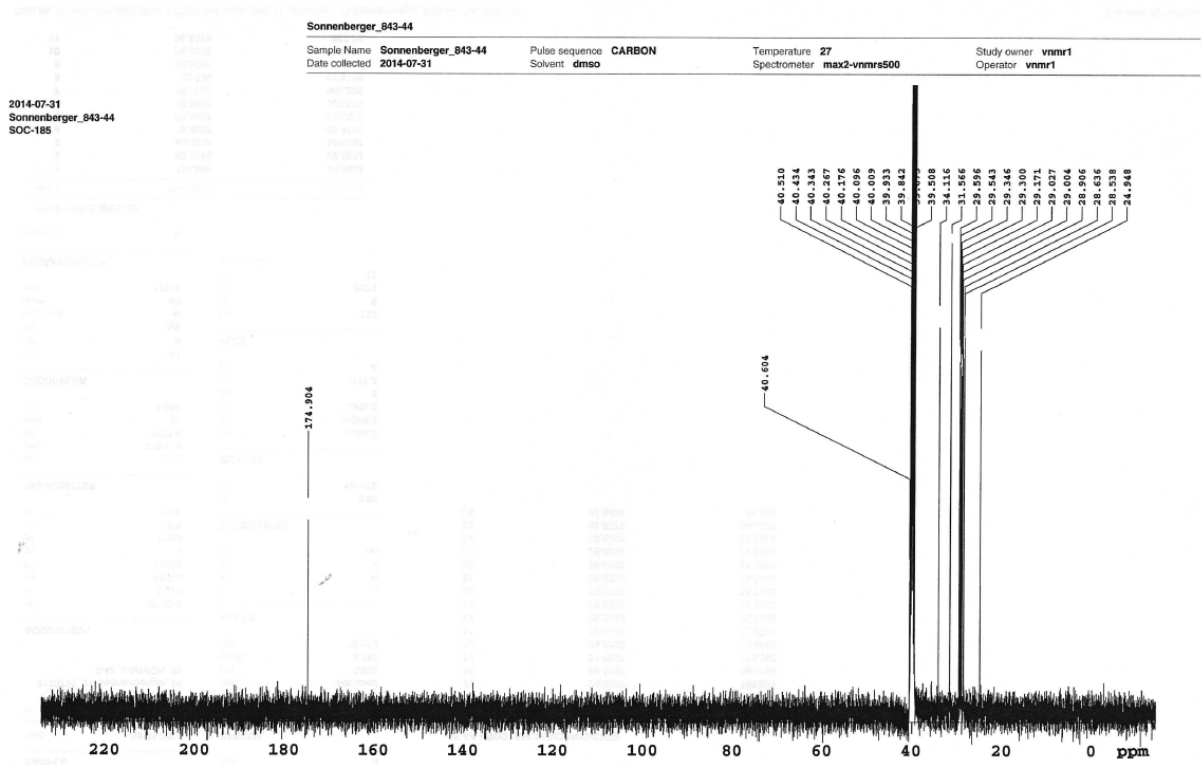
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

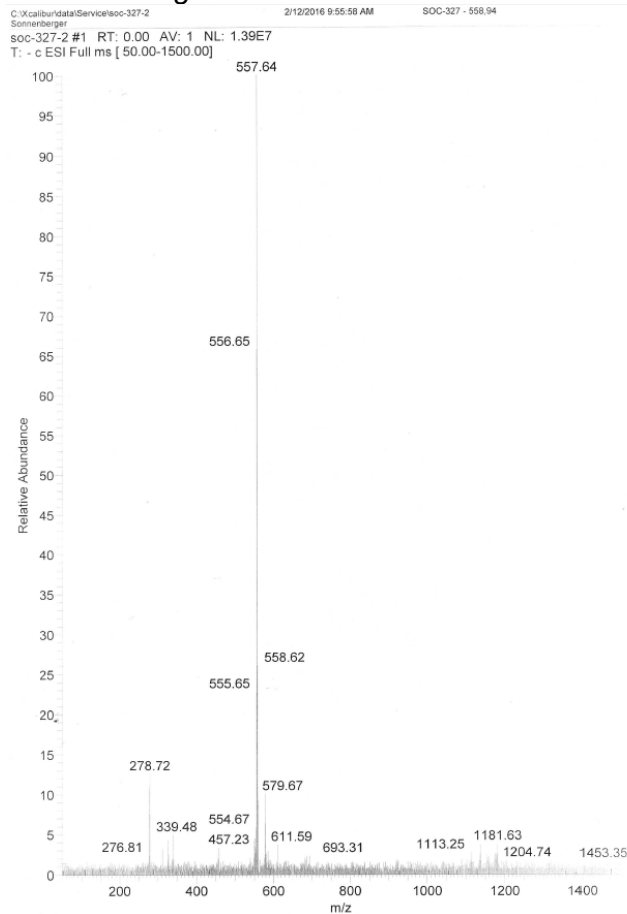


¹³C-NMR:

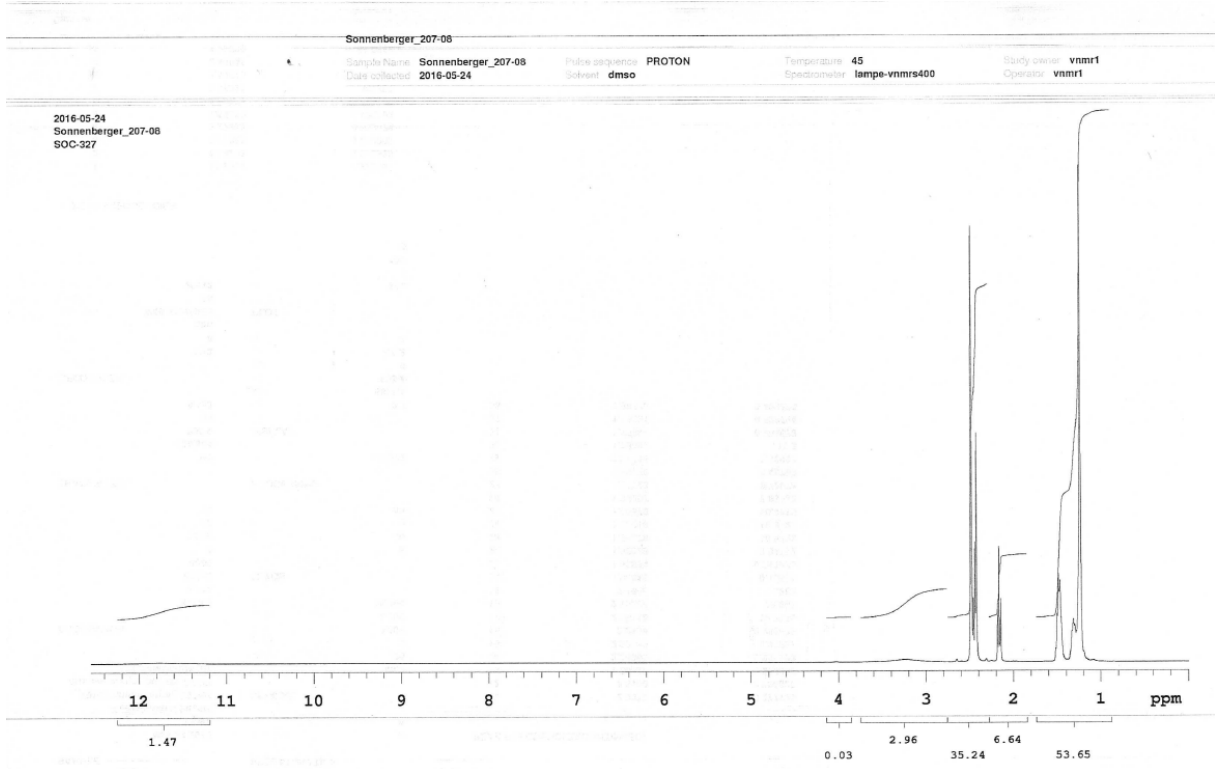


14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-Dithiadotriacontandisäure – (125)
(M_G = 558,95 g/mol)

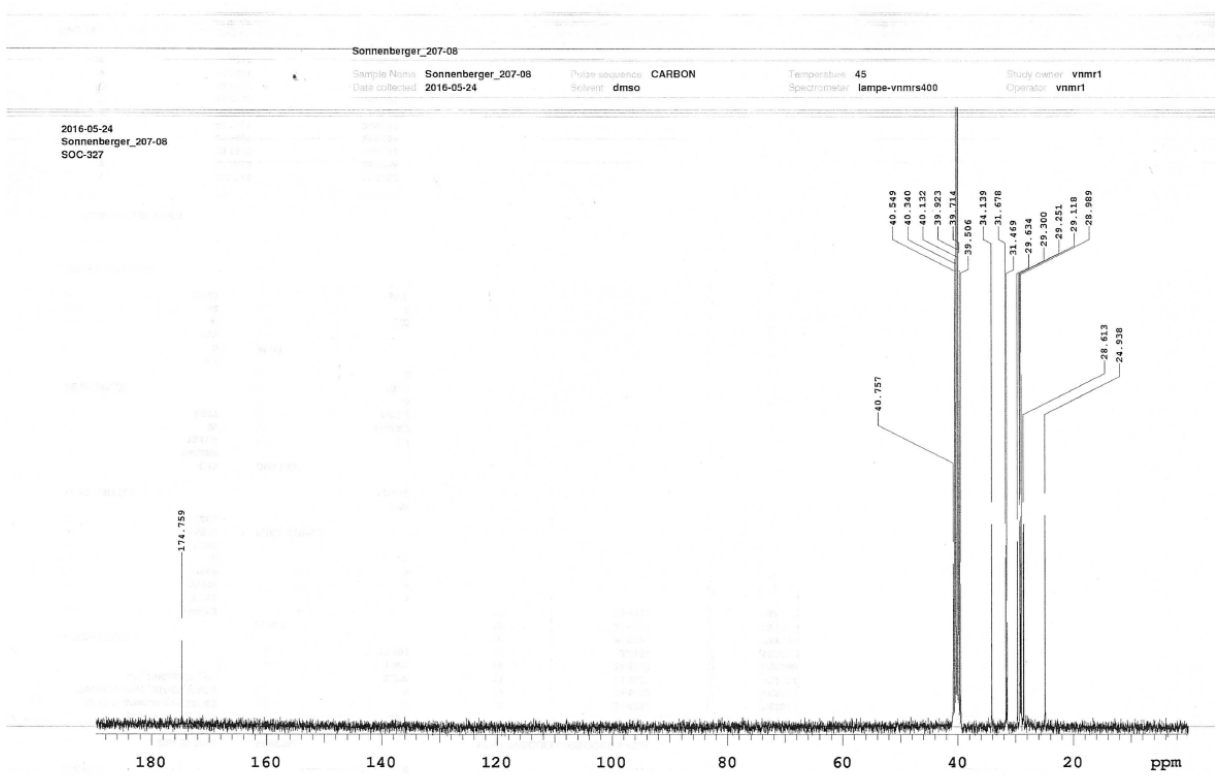
ESI-MS – negativ Modus:



¹H-NMR:

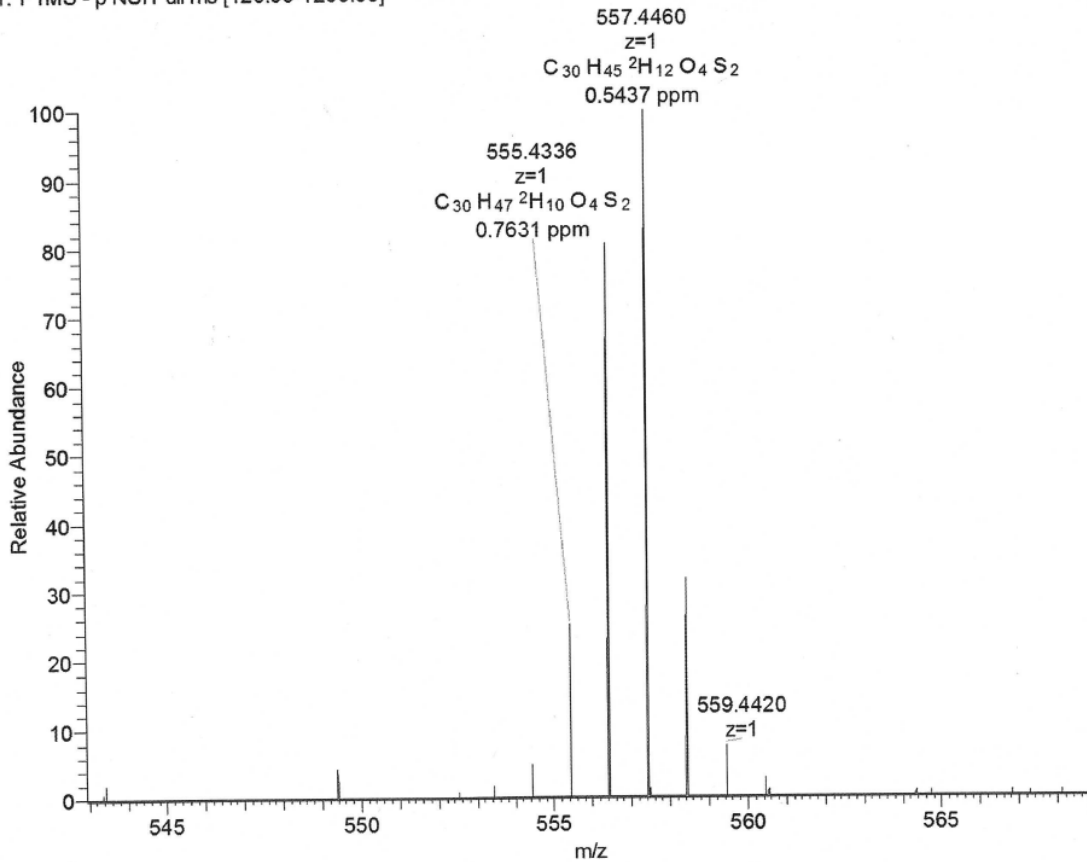


¹³C-NMR:



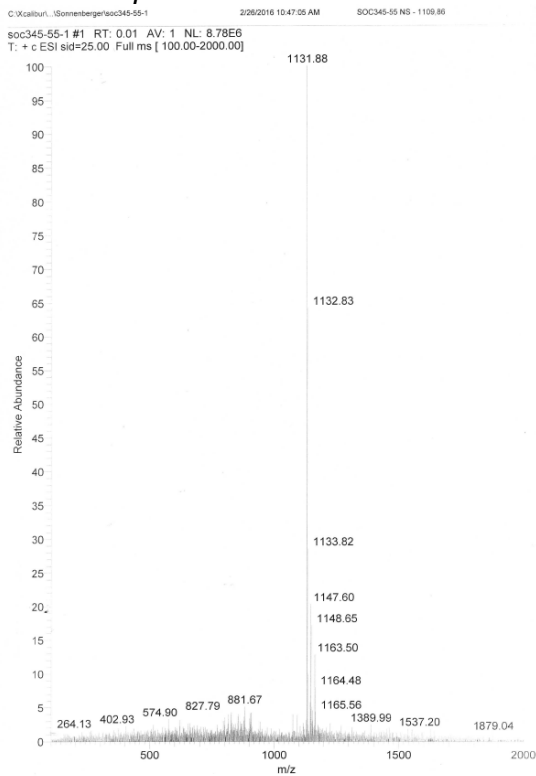
HR-MS:

SOC327_neg #9 RT: 0.24 AV: 1 NL: 9.79E5
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

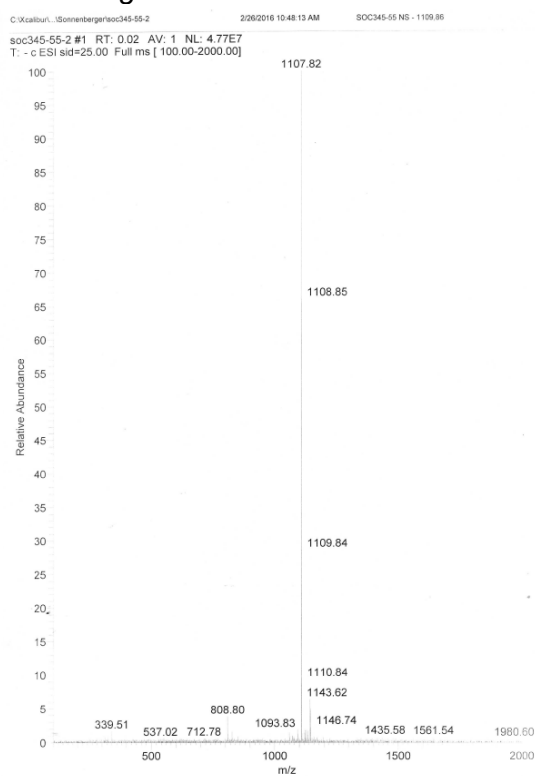


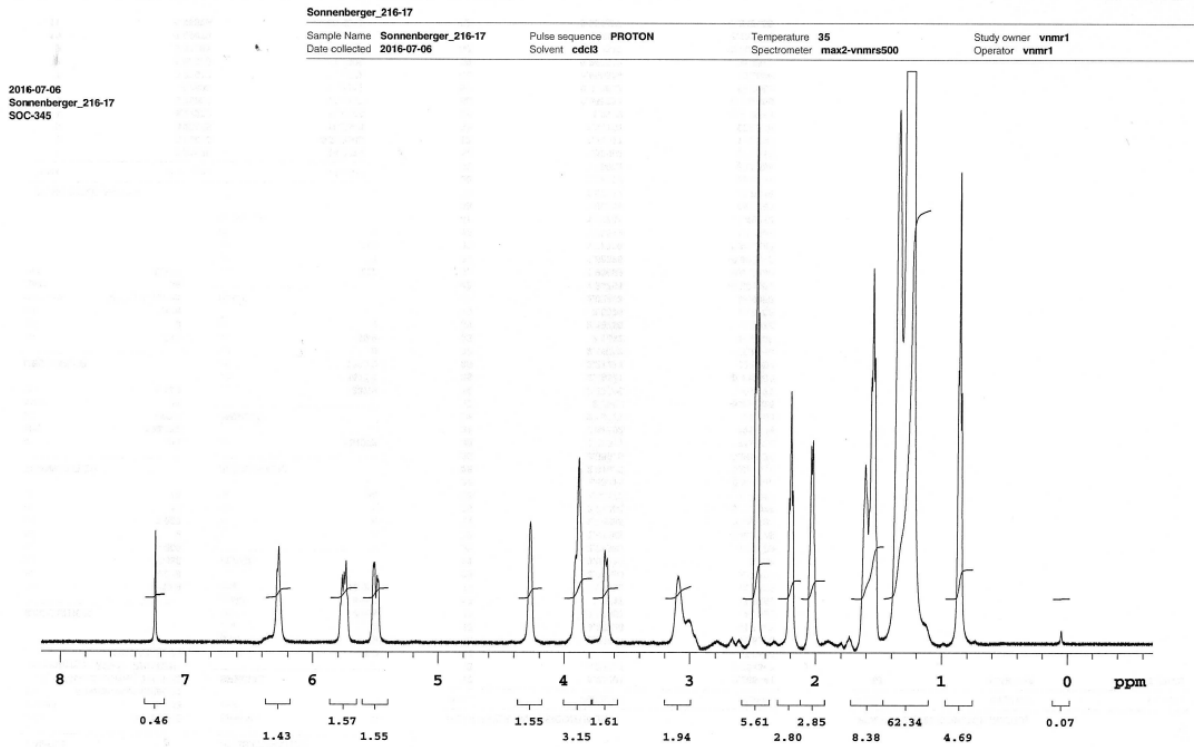
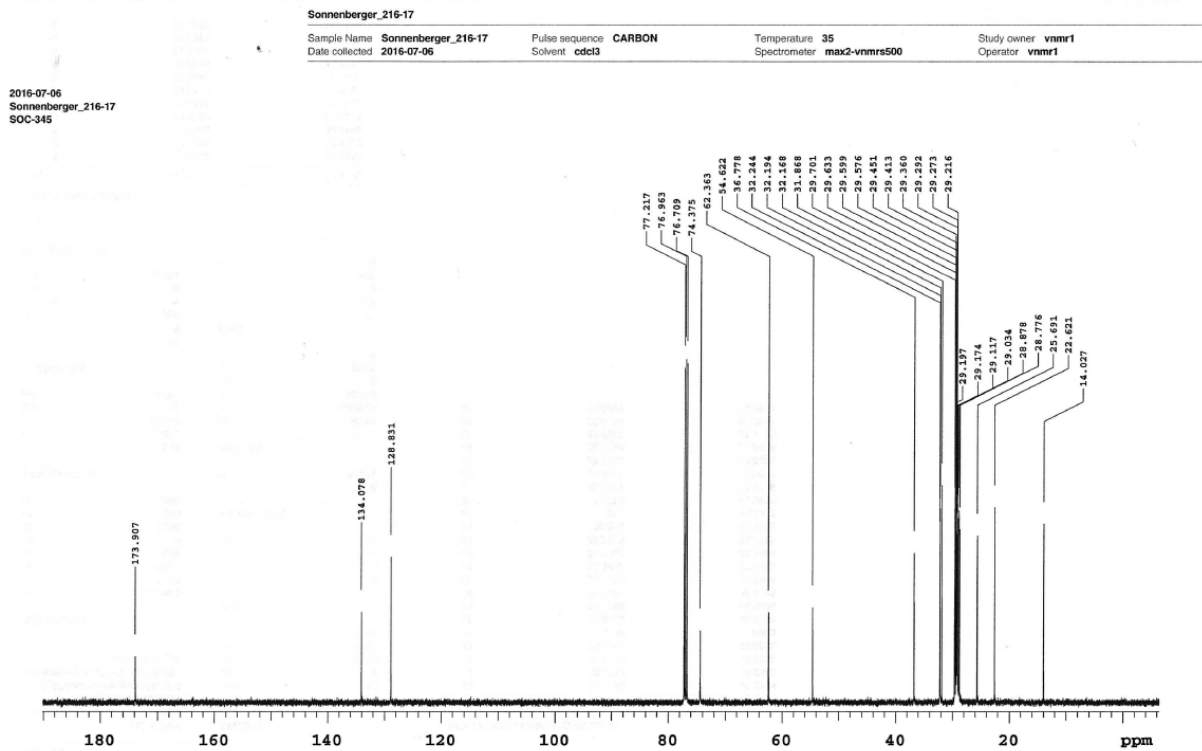
***N,N'*-Bis[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-12,21-dithiadotriacontandi-amid – dCer[NSS] – (126) (M_G = 1109,81 g/mol)**

ESI-MS – positiv Modus:



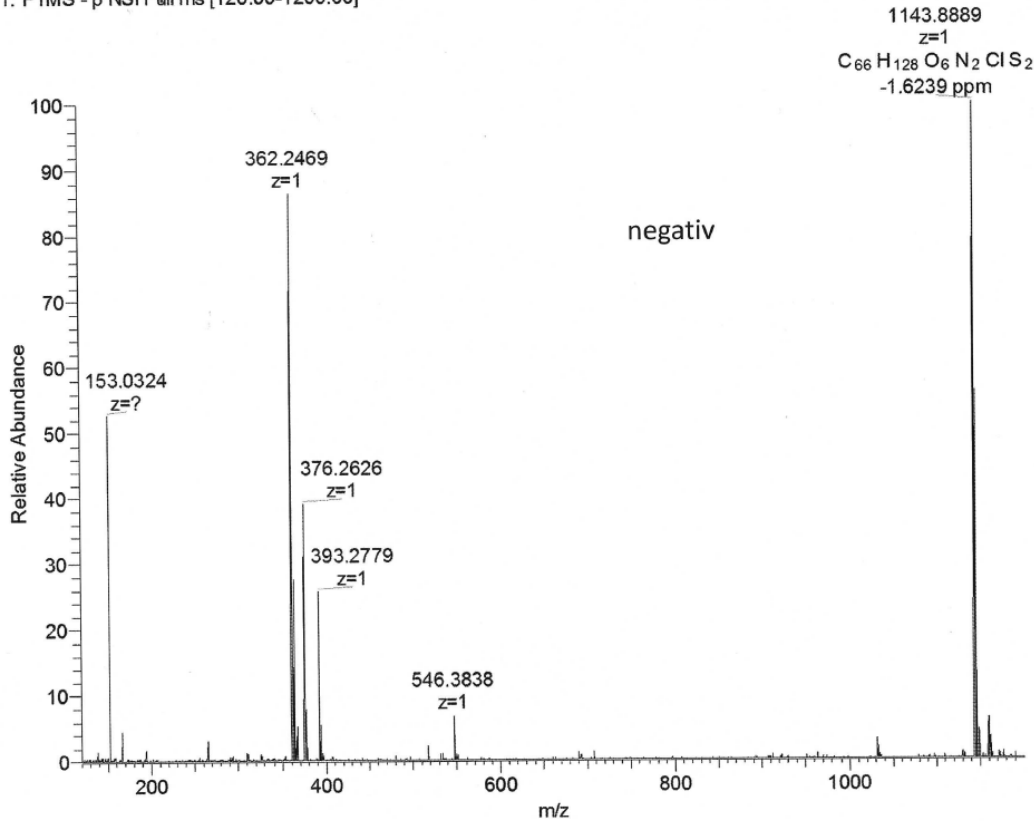
negative Modus:



¹H-NMR:¹³C-NMR:

HR-MS:

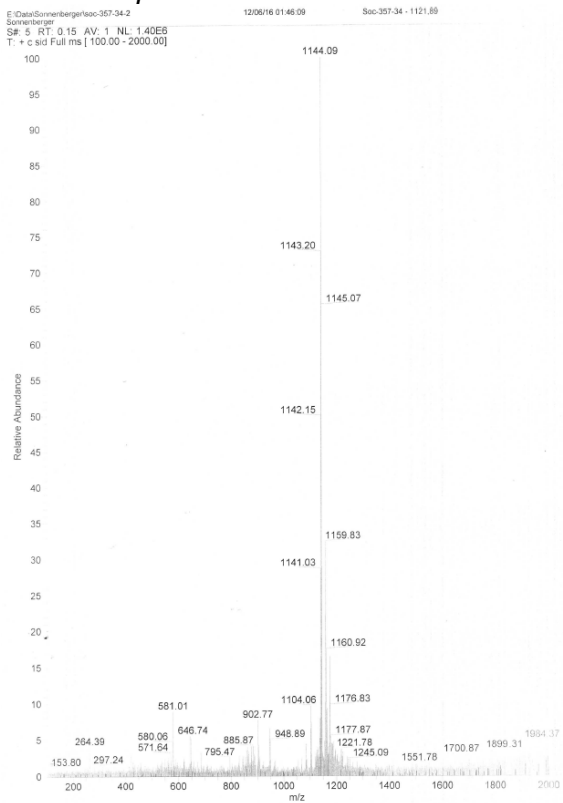
SOC345_63_neg #11 RT: 0.31 AV: 1 NL: 3.42E6
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]



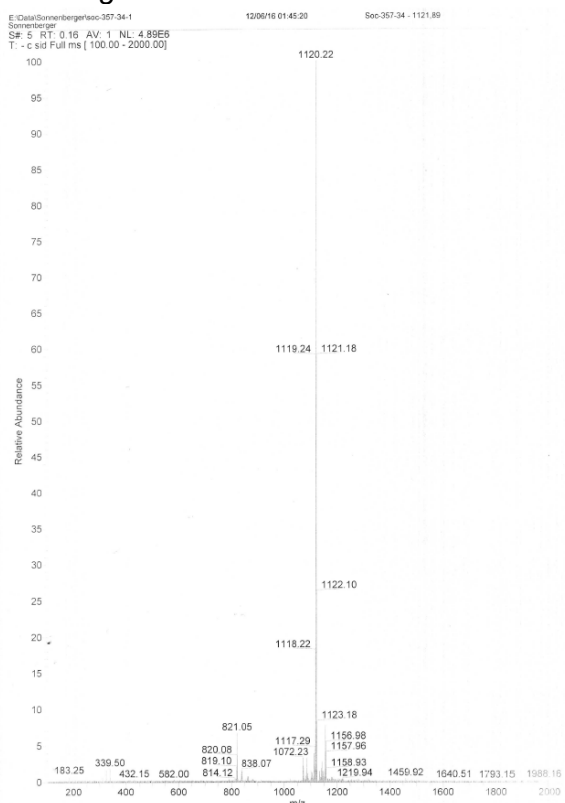
***N,N'*-Bis[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-dithiadotriacontandiamid – dCer[NSS]-D₁₂ – (127)**

(M_G = 1121,88 g/mol)

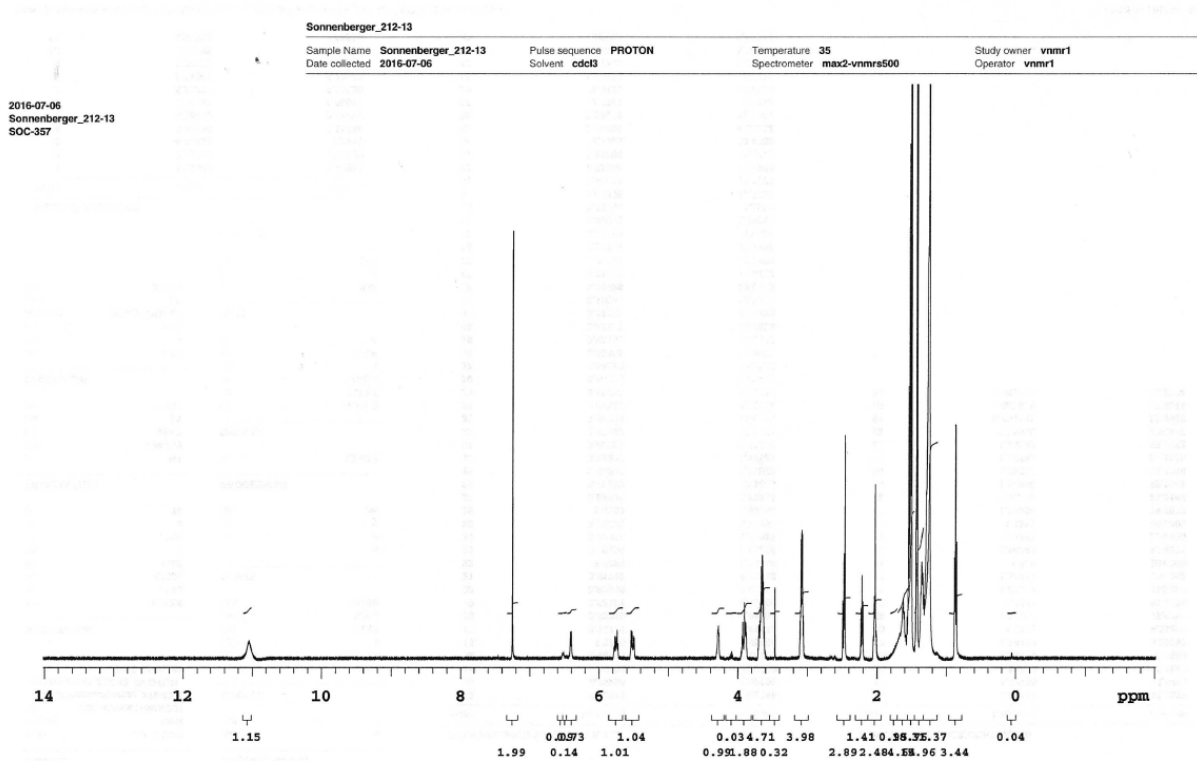
ESI-MS – positiv Modus:



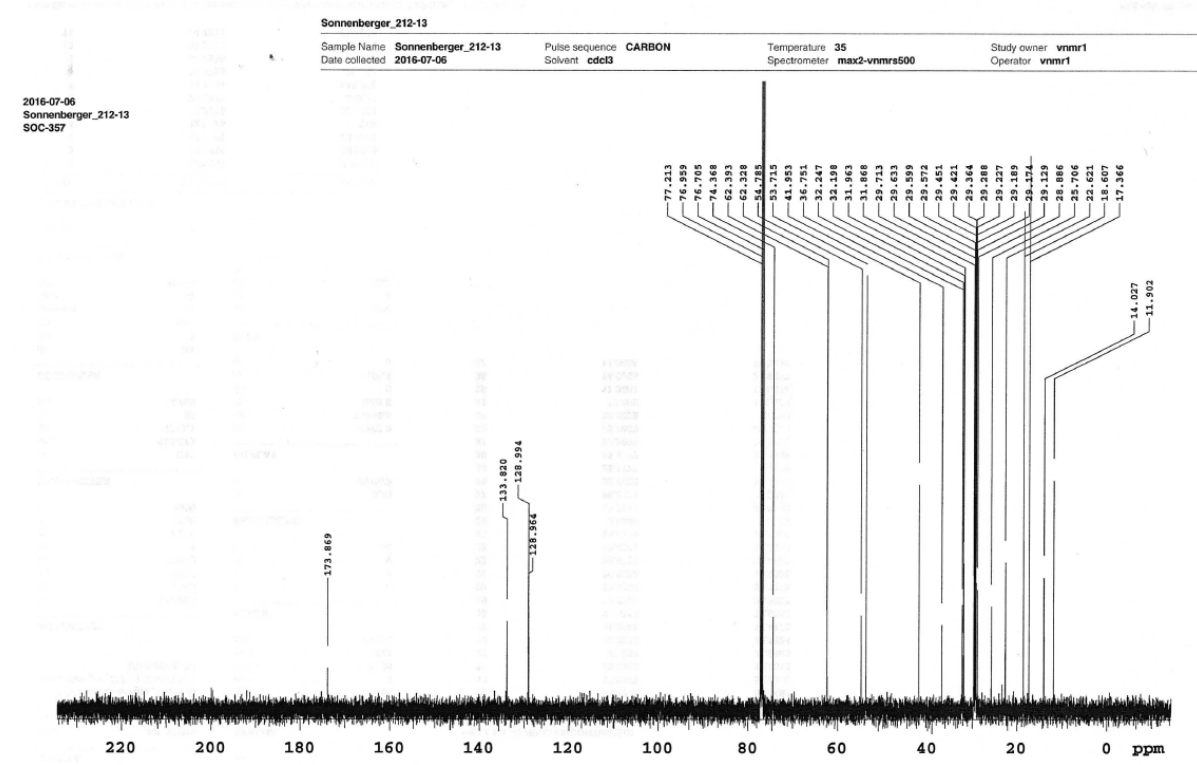
negative Modus:



¹H-NMR:

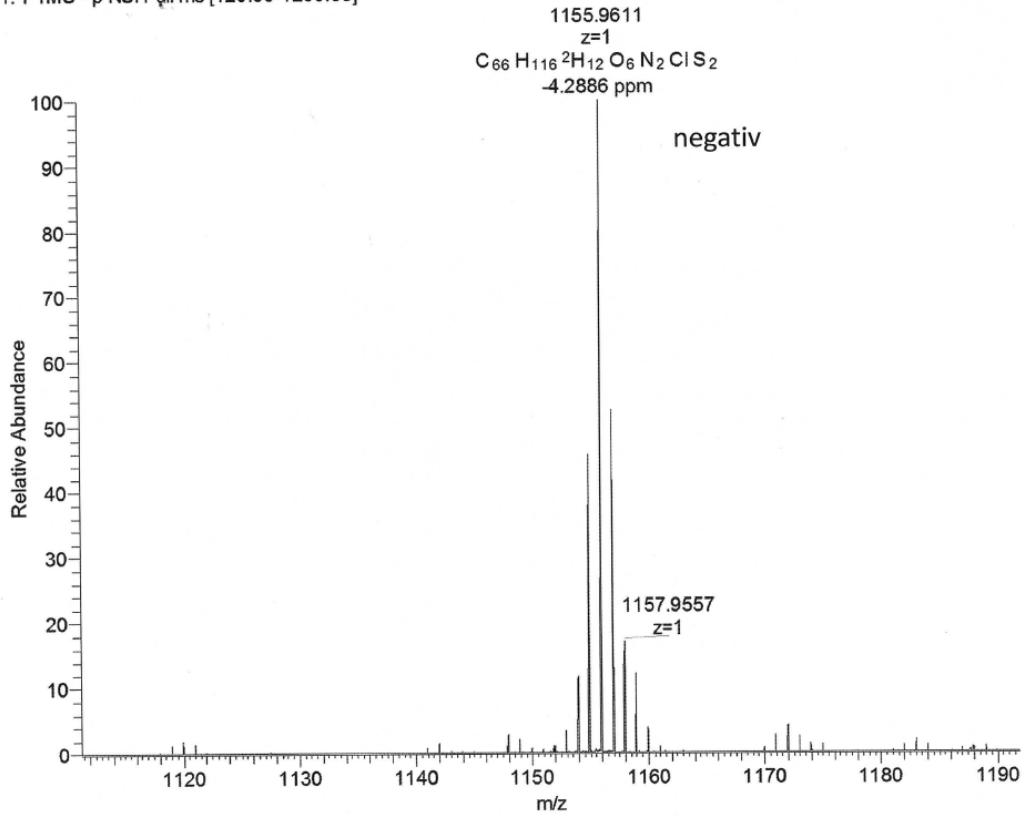


¹³C-NMR:



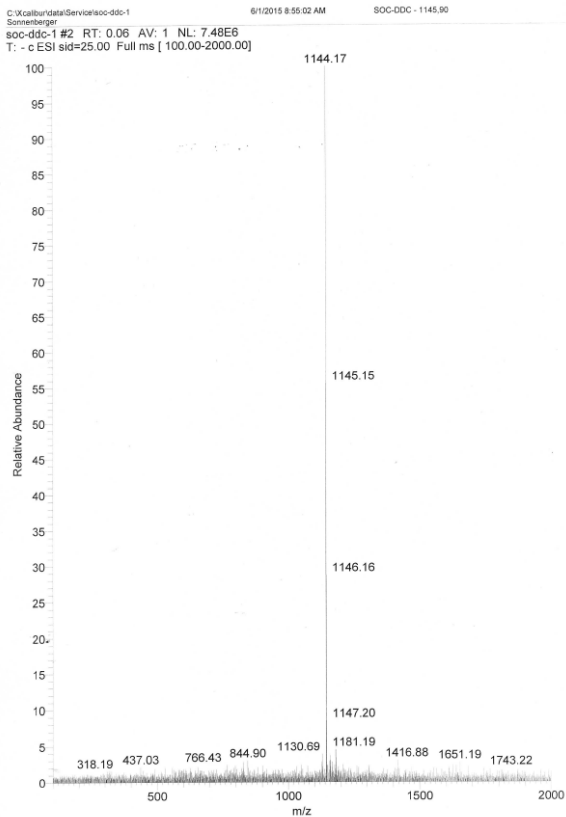
HR-MS:

SOC357_37_n_160928130824 #10-12 RT: 0.28-0.34 AV: 3 NL: 1.98E6
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

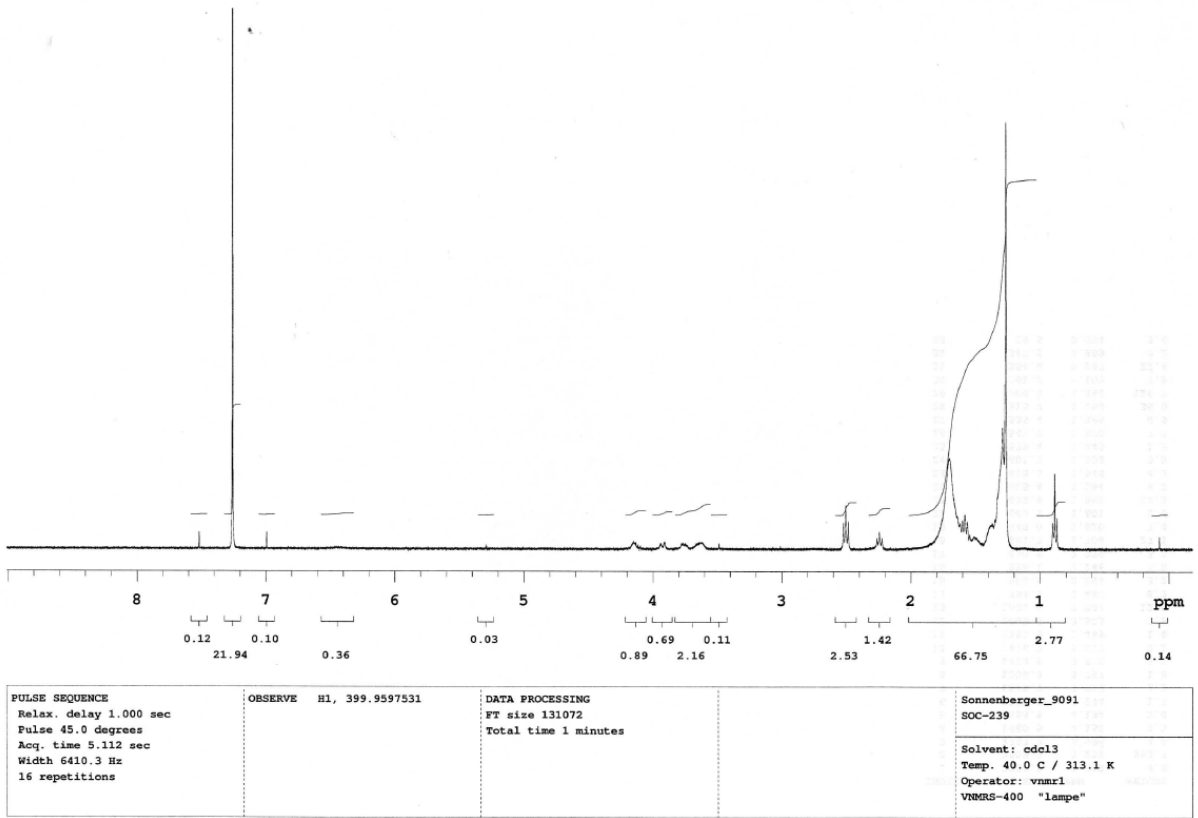


***N,N'*-Bis[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-12,21-dithiadotriacontandi-amid
dCer[NPP] – (128) (M_G = 1145,84 g/mol)**

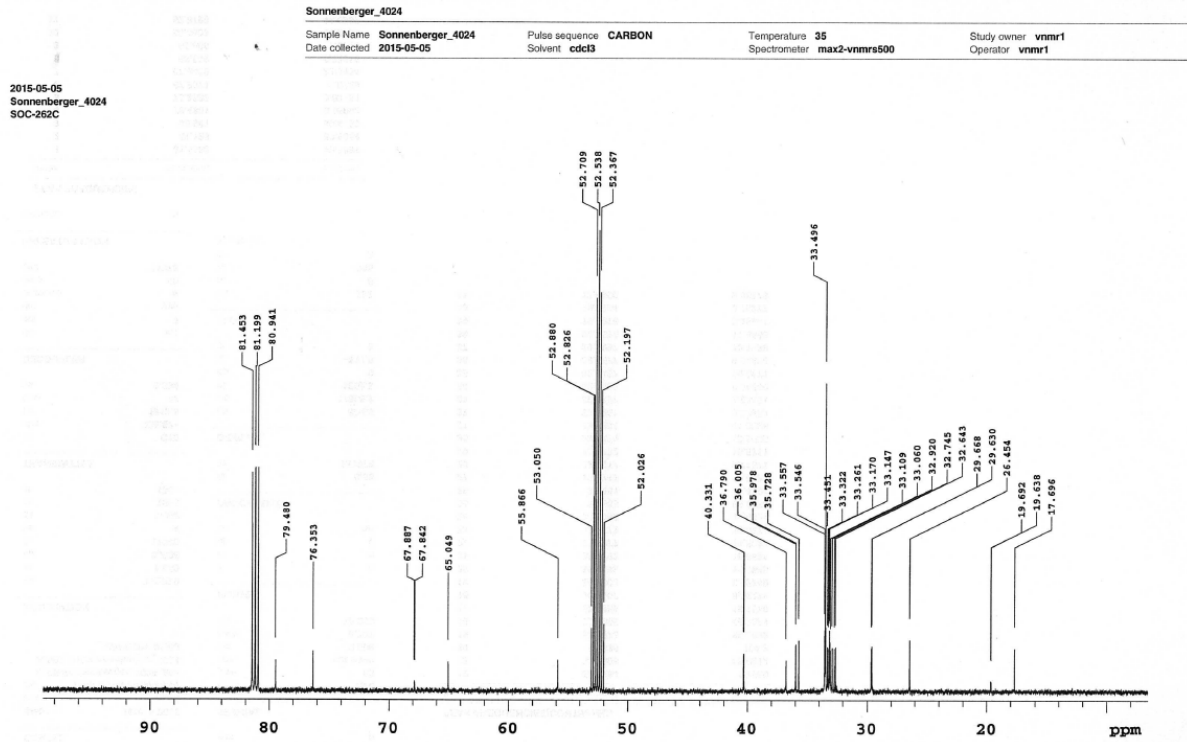
ESI-MS –negative Modus:



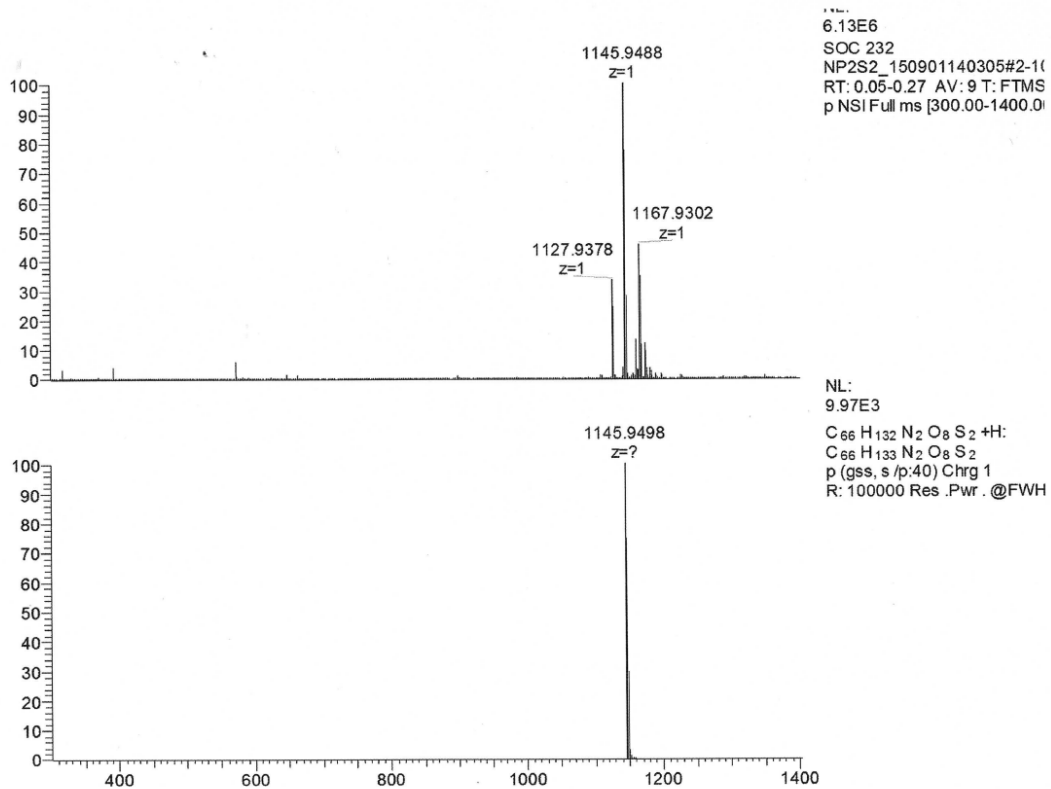
¹H-NMR:



¹³C-NMR:

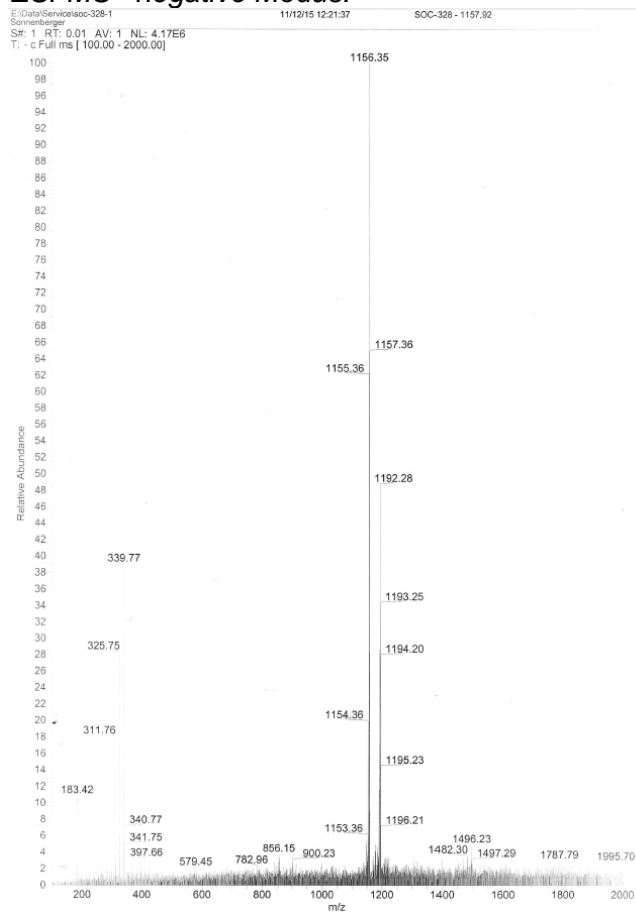


HR-MS:

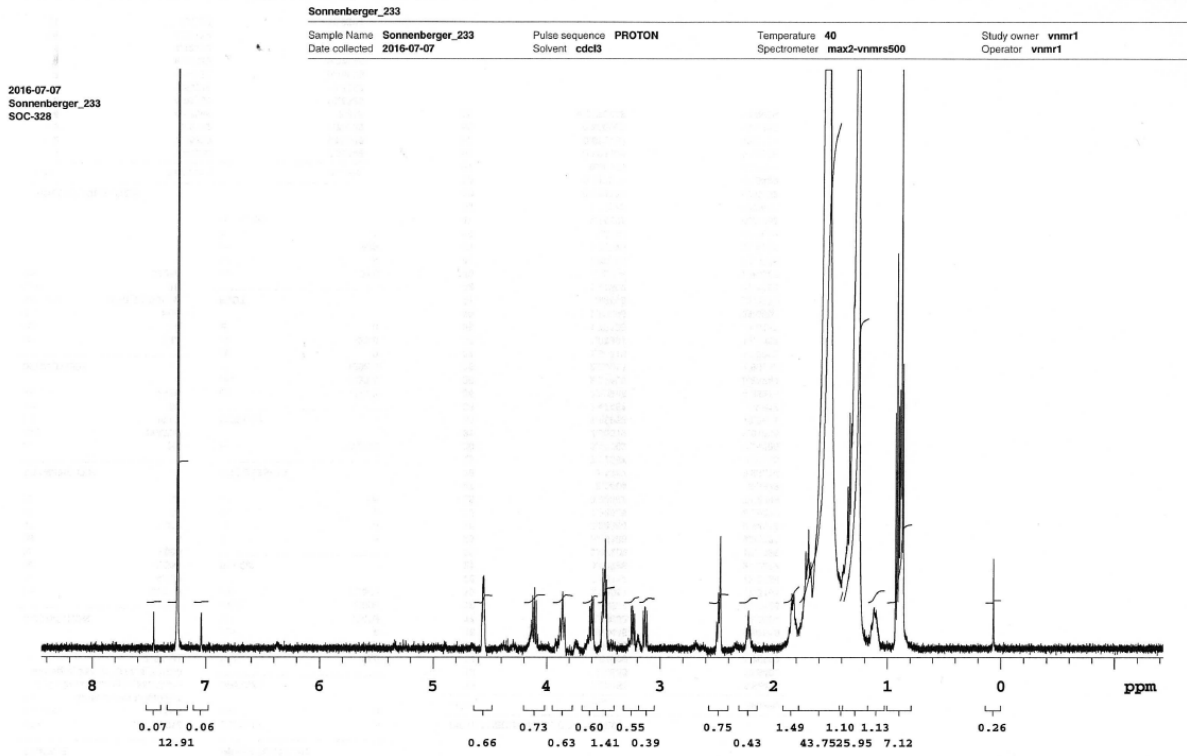


***N,N'*-Bis[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-14,14,15,15,16,16,17,17,18,18,19,19-D₁₂-12,21-dithiadotriacontandiamid – dCer[NPP]-D₁₂ – (129) (M_G = 1157,91 g/mol)**

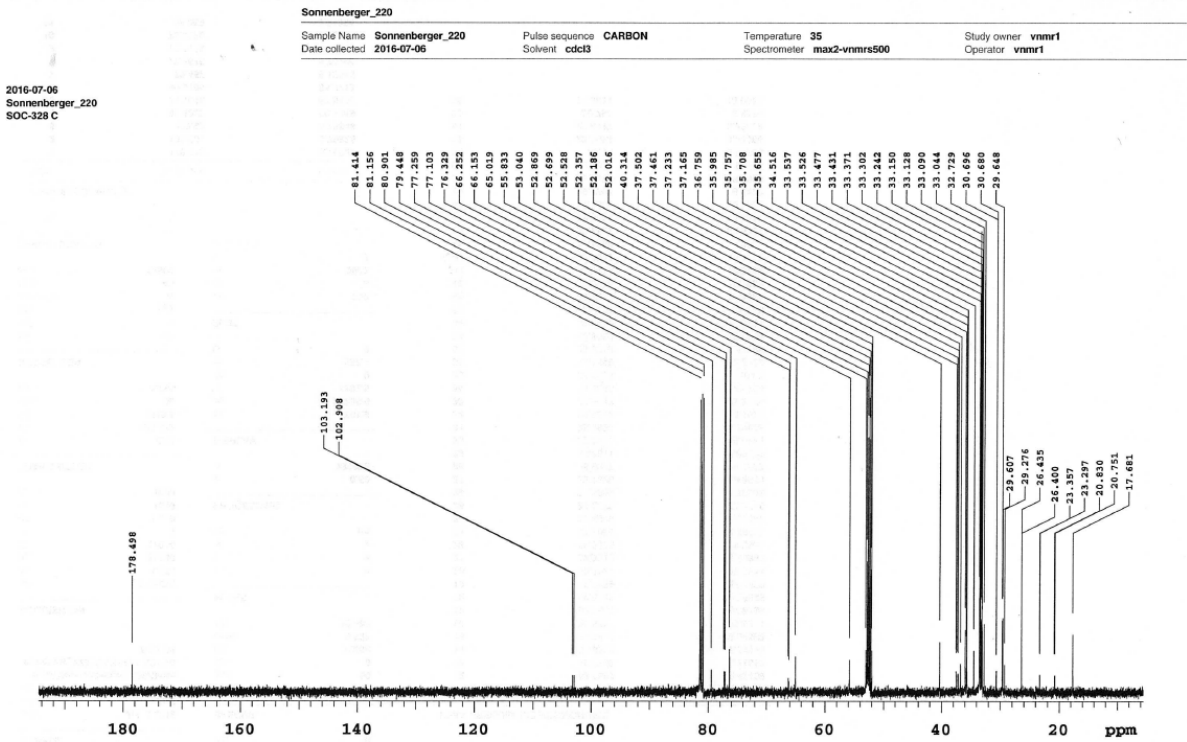
ESI-MS –negative Modus:



¹H-NMR:

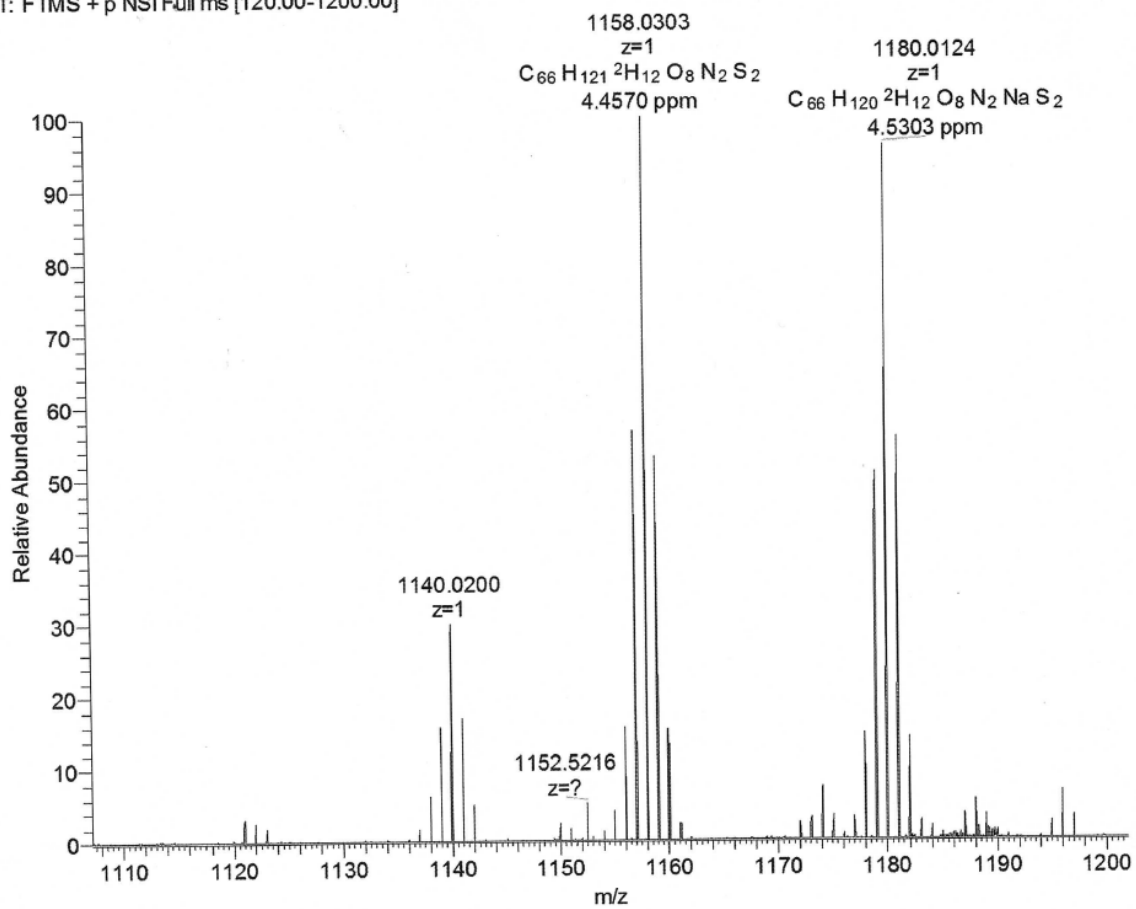


¹³C-NMR:



HR-MS:

SOC328_p_160928144016 #4-14 RT: 0.11-0.39 AV: 11 NL: 7.10E5
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-1200.00]



Liste der Veröffentlichungen

Patente:

Ceramid-Dimer, Verfahren zu dessen Herstellung und dessen Verwendung,
Erfinder: S. Sonnenberger; Anmelder: Patentportfolio 2 Sarl
DE 10 2015 214 295.7 28.07.2015:
WO/2017/017104 02.02.2017

Publikationen:

T. Schmitt¹, S. Lange¹, S. Sonnenberger, B. Dobner, B. Demé, A. Langner, and R.H.H. Neubert: The long periodicity phase (LPP) controversy part I: The influence of a natural-like ratio of the CER[EOS] analogue [EOS]-br in a CER[NP]/[AP] based stratum corneum modelling system: A neutron diffraction study.
BBA Biomembran, **2019**, 1861(1), 306-315
DOI: 10.1016/j.bbamem.2018.06.008

T. Schmitt, R. Gupta, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauß, and R.H.H. Neubert: Impact of the ceramide subspecies on the nanostructure of stratum corneum lipids using neutron scattering and molecular dynamics simulations. Part I: impact of CER[NS].
Chem. Phys. Lipids, **2018**, 214, 58-68.
DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2018.05.006

T. Schmitt, S. Lange, B. Dobner, S. Sonnenberger, T. Hauß, and R.H.H. Neubert: Investigation of a CER [NP]- and [AP]-Based StratumCorneum Modeling Membrane System: Using Specifically Deuterated CER Together with a Neutron Diffraction Approach.
Langmuir, **2018**, 34(4), 1742–1749
DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01848

T. Schmitt¹, S. Lange¹, S. Sonnenberger, B. Dobner, B. Demé, R.H.H. Neubert, G. Gooris, and J. Bouwstra: Determination of the influence of C24 D/(2R)- and L/(2S)-isomers of the CER[AP] on the lamellar structure of stratum corneum model systems using neutron diffraction.
Chem. Phys. Lipids, **2017**, 209, 29-36.
DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2017.11.001

S. Stahlberg¹, A. Eichner¹, S. Sonnenberger¹, A. Kováčik, S. Lange, T. Schmitt, B. Demé, B. Dobner, R.H.H. Neubert, and D. Huster: *The Influence of a Novel Dimeric Ceramide Molecule on the Nanostructure and the Thermotropic Phase Behaviour of a Stratum Corneum Model Mixture.*
Langmuir, **2017**, 33(36), 9211-9221
DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01227

S. Sonnenberger, A. Eichner, T. Schmitt, T. Hauß, S. Lange, A. Langner, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of specific deuterated Derivatives of the long chained Stratum corneum lipids EOS and EOP and characterization using neutron scattering.
J. Labelled Compd. Rad., **2017**, 60(7), 316-330.
DOI: 10.1002/jlcr.3504

A. Schröter, S. Stahlberg, B. Školova, S. Sonnenberger, A. Eichner, D. Huster, K. Vávrová, T. Hauß, B. Dobner, R.H.H. Neubert, and A. Vogel: Phase separation in Stratum corneum lipid model membranes based on Ceramide [NP]: Neutron diffraction and solid-state NMR. *Soft Matter*, **2017**, 13(10), 2107-2119.
DOI: 10.1039/c6sm02356h

S. Sonnenberger¹, A. Eichner¹, T. Hauß, A. Schröter, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of specifically deuterated ceramide [AP]-C18 and its biophysical characterization using neutron diffraction. *Chem. Phys. Lipids*, **2017**, 204, 15-24.
DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2017.02.001

A. Eichner¹, S. Stahlberg¹, S. Sonnenberger¹, S. Lange, B. Dobner, A. Ostermann, T.E. Schrader, T. Hauß, A. Schröter, D. Huster, R.H.H. Neubert: Influence of the penetration enhancer isopropyl myristate on stratum corneum lipid model membranes revealed by neutron diffraction and ²H NMR experiments. *BBA-Biomembranes*, **2017**, 1859(5), 745-755
DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.01.029

S. Sonnenberger, S. Lange, A. Langner, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of Ceramides NS and NP with perdeuterated and specifically ω -deuterated N-acyl residues. *J. Labelled Compd. Rad.* **2016**, 59(12), 531-542.
DOI: 10.1002/jlcr.3443

A. Eichner, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauss, A. Schröter, and R.H.H. Neubert: Localization of methyl-branched ceramide [EOS] species within the long-periodicity phase in stratum corneum lipid model membranes: A neutron diffraction study. *BBA-Biomembranes* **2016**, 1858(11), 2911-2922.
DOI: 10.1016/j.bbamem.2016.09.002

R.H.H. Neubert, S. Sonnenberger, B. Dobner, C. Gray Jr., K.N. Barger, K. Sevi-Maxwell, E. Sommer, and J. Wohlrab: Controlled Penetration of Novel Dimeric Ceramide into and across the Stratum Corneum Using Microemulsions and Various Types of Semisolid Formulations. *Skin Pharmacol. Phys.* **2016**, 29(3), 130-134.
DOI: 10.1159/000445776

R.H.H. Neubert, O. Bayrak, S. Steinbach, S. Sonnenberger, and B. Dobner: Development and Validation of Analytical Methods for the Detection and Quantification of a novel Dimeric ceramide in Stratum Corneum and Other Layers of the Skin *Chromatographia* **2016**, 79(23), 1615-1624.
DOI: 10.1007/s10337-016-3187-9

S. Drescher, S. Sonnenberger, A. Meister, A. Blume, and B. Dobner: Synthesis of symmetrical, single-chain, phenylene/biphenylene-modified bolaamphiphiles. *Monatsh. Chemie* **2012**, 143(11), 1533-1543.
DOI: 10.1007/s00706-012-0833-2

Posterbeiträge:

T. Schmitt, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauss, R.H.H. Neubert: Investigation of a CER[NP] and [AP] based stratum corneum modelling membrane system: using specifically deuterated CER together with a neutron diffraction approach.

Gordon Research Conference **2017** (Poster)

S. Stahlberg¹, A. Eichner¹, S. Sonnenberger¹, S. Lange, T. Schmitt, B. Demé, T. Hauss, B. Dobner, R.H.H. Neubert, and D. Huster: The Influence of a Novel Dimeric Ceramide Molecule on the Nanostructure and the Thermotropic Phase Behaviour of a Stratum Corneum Model Mixture.

Gordon Research Conference **2017** (Poster)

S. Sonnenberger, A. Eichner, S. Lange, A. Langner, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of a modified deuterated ω -Acyl Ceramide [EOS] Species and the Impact to the Nanostructure of Stratum Corneum Lipid Model Membranes.

DPhG-Tagung - Düsseldorf **2015** (Poster)

S. Lange, S. Sonnenberger, A. Eichner, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of specific deuterated ceramide species [NP] and [NS] with different chain lengths.

DPhG-Tagung - Düsseldorf **2015** (Poster)

A. Eichner, S. Sonnenberger, B. Dobner, A. Ostermann, T.E. Schrader, T. Hauß, R.H.H. Neubert, and A. Schroeter: Presentation of a new application for biological investigations: Introducing BIODIFF for Stratum corneum structure determination.

MLZ User Meeting - Ismaning **2015** (Poster)

S. Sonnenberger, S. Drescher, and B. Dobner: Synthesis of Phenylene-Modified Single-Chain Bolaamphiphiles.

DPhG-Tagung - Innsbruck **2011** (Poster)

S. Drescher, A. Meister, S. Sonnenberger, S. Becker, G. Hause, B. Dobner and A. Blume: The Synthesis of Novel Phenylene-Modified Bolaamphiphiles: How does the Substitution Pattern Influence the Aggregation Behaviour and the Miscibility with Phospholipids?

39. Arbeitstagung Flüssigkristalle - Hamburg **2011** (Poster)

S. Drescher, A. Meister, S. Sonnenberger, S. Becker, G. Hause, B. Dobner and A. Blume: Phenylene-Modified Bolaamphiphiles: Synthesis, Aggregation Behaviour, and Miscibility with Conventional Phospholipids.

110. Bunsentagung (Hauptversammlung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie e.V.) - Berlin **2011** (Poster)

Danksagung

Hiermit möchte ich mich recht herzlich bei allen Personen bedanken, die mich in bei der Erstellung dieser Promotionsschrift unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt dabei Herrn Prof. Dr. Dr. Reinhard Neubert und Herrn Prof. Dr. Bodo Dobner für das Überlassen des interessanten Themas und damit für die Möglichkeit der Erstellung dieser Schrift. Zusätzlich möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Bodo Dobner für die fortwährende, fachliche Betreuung während der Ceramidsynthese bedanken, aber auch für die freundliche Zusammenarbeit, für die vielen Ratschläge und Tipps, sowie für die vielen Gespräche und Diskussionen, auch privater Natur.

Herrn Prof. Dr. Andreas Langer und dessen Mitarbeitern möchte ich für die Zurverfügungstellung des Laborplatzes danken, um die praktischen Tätigkeiten durchführen zu können, sowie für das freundliche Arbeitsklima. Ein besonderer Dank gilt dabei Frau Munk für ihre Unterstützung in organisatorischen Angelegenheiten und Herrn Dr. Christian Wölk für seine Hinweise zur Lösung von synthetischen Problemstellungen.

Weiterhin möchte ich mich bei meinem Masterstudenten und späteren Promotions- und Arbeitskollegen Herrn M. Sc. Stefan Lange bedanken. Teile seines synthetischen Arbeitens fanden Eingang in diese Schrift und bildeten aber auch die Grundlage von weiterführenden Überlegungen und Synthesen. Zusätzlich bedanke ich mich für die freundschaftliche und sehr vertrauensvolle Zusammenarbeit.

Herrn PD Dr. Simon Drescher danke ich für die Unterstützung, insbesondere bei der Diskussion von analytischen Problemstellungen.

Der gesamten Forschungsgruppe im Rahmen des Ceramid Projektes danke ich für die interessanten Diskussionen. Dabei gilt ein besonderer Dank Frau Dr. Adina Eicher und Herrn Dr. Thomas Schmidt für die ausgiebige Testung der synthetisierten Ceramide. Ebenfalls danke ich für die Möglichkeit an Forschungsreisen zum Helmholtz-Zentrum Berlin und zum Institut-Laue-Langevin, Grenoble teilnehmen zu dürfen und um so auch die Gerätschaften der Neutronstreuexperimente selber sehen und benutzen zu dürfen. Herrn Dr. Thomas Hauß und Frau Dr. Annett Schröter danke ich für die ausgiebigen Erläuterungen und interessanten Gespräche und Diskussionen während dieser Reisen.

Für die Anfertigung der verschiedenen analytischen Daten, wie Massenspektren, NMR-Spektren, Elementaranalysen und HPLC Testungen danke ich den entsprechenden Mitarbeitern und Kollegen herzlich, sowie den entsprechenden Leitern der Arbeitsgruppe für die Nutzung der entsprechenden Gerätschaften.

Der Firma Evonik danke ich für die Zurverfügungstellung der Spingoidbasen Phytosphingosin und Sphingosin.

Dem Insitut für angewandte Dermatopharmazie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Abschließend möchte ich mich bei bei meiner Ehefrau Lena für ihre Geduld, die sie mir entgegengebracht hat, um diese Schrift verwirklichen zu können, als auch für ihre Unterstützung insbesondere bei der Betreuung unseres Sohnes Julian bedanken. Für selbiges bedanke ich mich auch bei meinen Eltern, meiner Schwiegermutter als auch meiner gesamten Familie. Leider war es meiner Mama nicht vergönnt, die Fertigstellung dieser Arbeit mitzerleben, und ich möchte an dieser Stelle einem letzten Dank für all ihre fortwährende Unterstützung aussprechen, auch als die Dunklen Wolken am Horizint begannen aufzuziehen.

Vielen Dank auch all denen, die mich unterstützt haben, aber nicht namentlich erwähnt wurden.

Lebenslauf

Beruflicher Werdegang

Seit 12/2019	Sachkundige Person Bayer Bitterfeld GmbH
04/2017 – 11/2019	Qualified Person, Project Manager Quality Control Quality Control, Merz Pharma GmbH & Co. KGaA
04/2017 – 03/2019	Scientific Expert, Quality Control, Merz Pharma GmbH & Co. KGaA
07/2016 – 03/2017	GMP-Referent Quality Assurance / Compliance, Merz Pharma GmbH & Co. KGaA
05/2011 – 05/2016	Wissenschaftlicher Mitarbeiter Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
11/2010 – 04/2011	Apotheker Marien-Apotheke

Hochschulbildung:

11/2010	Approbation als Apotheker
05/2010 – 11/2010	Pharmazeut im Praktikum Marien-Apotheke Sandersdorf
10/2009 – 04/2010	Wissenschaftliche Hilfskraft mit Abschluss Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Thema: Synthese und physikochemische Charakterisierung von langkettigen, symmetrischen Bolaamphiphilen mit mittelständigen Phenylringen Abschluss Diplom-Pharmazeut
10/2005 – 10/2009	Studium der Pharmazie Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Abschluss: 2. Staatsexamen

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertationsarbeit gemäß Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg selbstständig und nur durch Zuhilfenahme der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.

Diese Dissertationsarbeit wurde nur der Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegt und an keiner anderen Universität in dieser oder ähnlicher Form eingereicht oder veröffentlicht.

Sandersdorf,

Stefan Sonnenberger