

MODELLVERBINDUNGEN DER ARCHAEBAKTERIENLIPIDE –  
SYNTHESE, CHARAKTERISIERUNG UND TESTUNG IN  
TRÄGERSYSTEMEN FÜR ARZNEISTOFFE

**D i s s e r t a t i o n**

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I  
Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von

Herrn Dipl. Pharm. Thomas Markowski

geboren am 25. März 1982 in Belzig

Gutachter

1. Prof. Dr. B. Dobner
2. Prof. Dr. P. Imming
3. Prof. Dr. G. Haufe

Halle (Saale), im Dezember 2010

verteidigt am 28.03.2011

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	III
<b>1 Einleitung und Aufgabenstellung</b>	<b>1</b>
<b>2 Theoretischer Teil</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Darstellung der symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphipile</b>	<b>4</b>
2.1.1 Ableitung der Zielstrukturen	4
2.1.2 Synthesestrategie	7
2.1.3 Endständig ungesättigte Alkylbromide	8
2.1.4 Gesättigte, methylverzweigte Alkylbromide	11
2.1.5 Erstalkylierung in <i>sn</i> -3-Position des Glycerols	13
2.1.6 Regioselektive Einführung von Schutzgruppen in <i>sn</i> -1-Position des Glycerols	14
2.1.7 Zweitalkylierung in <i>sn</i> -2-Position des Glycerols	16
2.1.8 Kupplung der Bolaamphiphile mittels Olefinmetathese	18
2.1.9 Symmetrische, methylverzweigte Bis(phosphocholine)	21
<b>2.2 Darstellung der unsymmetrischen Bolaamphipile</b>	<b>23</b>
2.2.1 Auswahl der Zielstrukturen	25
2.2.2 Endständig geschützte Hexadecyl- und Docosylbromide	26
2.2.3 Endständig geschützte Dotriacontanolderivate	28
2.2.4 $\omega$ -Hydroxyalkylamine und -ammoniumsalze mit Kettenlängen von 16 bzw. 22 Methyleneinheiten	31
2.2.5 32-Hydroxydotriacontanylammmoniumbromid und -phosphocholinderivate	34
2.2.6 Glycerolhaltige, zweikettige Bolaamphiphile	36
<b>2.3 Charakterisierung des Phasenverhaltens bolaamphiphiler Modelllipide</b>	<b>39</b>
2.3.1 Symmetrische, methylverzweigte Bolaamphiphile	39
2.3.2 Unsymmetrische, einkettige Bolaamphiphile	43
2.3.3 Unsymmetrische, zweikettige Bolaamphiphile	44
<b>2.4 Liposomale Gentransfektion mit Bolaamphiphilen</b>	<b>48</b>
2.4.1 Einkettige, unsymmetrische Bolaamphiphile als Cytosektine	50
2.4.2 Symmetrische, methylverzweigte Bolaamphiphile als Helferlipide	51
<b>2.5 Bolaamphiphile in liposomalen Formulierungen für die orale Applikation von Arzneistoffen</b>	<b>53</b>
2.5.1 In-vitro-Stabilität von Liposomen mit symmetrischen, methylverzweigten Tetraetherlipiden	54
2.5.2 In-vitro-Stabilität von Liposomen mit unsymmetrischen Bolaamphiphilen	56
<b>2.6 Zusammenfassung</b>	<b>58</b>

<b>3</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>61</b>
3.1	Chemikalien, Reagenzien und Analysemethoden	61
3.2	Physiko-chemische Methoden	65
3.3	Gentransfektion	66
3.4	Liposomenstabilität	67
3.5	Allgemeine Synthesevorschriften	67
3.6	Synthese der symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphiphile	71
3.6.1	Endständig ungesättigte Alkylbromide	71
3.6.2	Gesättigte, methylverzweigte Alkylbromide	79
3.6.3	3- <i>O</i> -Alkyl- <i>sn</i> -glycerolderivate	82
3.6.4	1- <i>O</i> -Benzyl- und 1- <i>O</i> -Trityl-3- <i>O</i> -Alkyl- <i>sn</i> -glycerolderivate	86
3.6.5	1- <i>O</i> -Benzyl- und 1- <i>O</i> -Trityl-2,3- <i>O</i> -dialkyl- <i>sn</i> -glycerolderivate	88
3.6.6	3,3'- <i>O</i> -(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis(2- <i>O</i> -hexadecyl- <i>sn</i> -glycerol)derivate	92
3.6.7	Symmetrische, methylverzweigte Bis(phosphocholine)	95
3.7	Synthese der unsymmetrischen Bolaamphiphile	99
3.7.1	Endständig geschützte Hexadecyl- und Docosylbromide	99
3.7.2	Endständig geschützte Dotriacontanolderivate	101
3.7.3	$\omega$ -Hydroxyalkylamine und -ammoniumsalze mit Kettenlängen von 16 bzw. 22 Methyleneinheiten	105
3.7.4	32-Hydroxydotriacontanylammioniumbromid und -phosphocholinderivate	113
3.7.5	Glycerolhaltige, zweikettige Bolaamphiphile	117
<b>4</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>125</b>
<b>5</b>	<b>Anhang</b>	<b>132</b>

## Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

$[\alpha]_D^{22}$	spezifische Drehung	FFEM	<i>freeze-fracture electron microscopy</i>
Å	1 Ångström = $10^{-10}$ Meter	$F_p$	Festpunkt, Schmelzpunkt
abs.	absolut	GC	Gaschromatographie
9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan	gef.	gefunden
b	breites Signal (NMR)	GDGT	Glycerol-dialkyl-glycerol-tetraether
ber.	berechnet	GDNT	Glycerol-dialkyl-nonitol-tetraether
Bn	Benzyl-	Gen.	Generation
Bu	Butyl-	ges.	gesättigt
bzw.	beziehungsweise	h	Stunde
°C	Grad Celsius	H <sub>II</sub> -Phase	invers hexagonale Phase
CF	5(6)-Carboxy-fluoresceinlösung	HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
CTAB <sup>®</sup>	Cetyltrimethylammonium-bromid	HR	<i>high resolution</i>
Cy	Cyclohexyl-	IP	Isopropyliden
$\delta$	chemische Verschiebung	Kap.	Kapitel
d	Dublett (NMR)	konz.	konzentriert
<i>d</i>	Netzebenenabstand (Röntgen)	K <sub>p</sub>	Kondensationspunkt, Siedepunkt
$\Delta H$	Umwandlungsenthalpie	L <sub><math>\alpha</math></sub> -Phase	lamellare, flüssig-kristalline Phase (fluide Alkylketten)
DC	Dünnschichtchromatographie	L <sub><math>\beta</math></sub> -Phase	lamellare Gelphase (geneigte, rigide Alkylketten)
dest.	destilliert	LM	Laufmittel
DHP	3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran	Lsg.	Lösung
DMAP	4-Dimethylaminopyridin	L <sub><math>\rho</math></sub> -Phase	lamellare Phase (kristalline Kettenpackung)
DMF	Dimethylformamid	M	Molarität (mol/l)
DMO	1,2-Dimethoxyethan	M	Molpeak (MS)
DNS	Desoxyribonukleinsäure	MeOH	Methanol
DPPC	1,2-Dipalmitoyl-phosphatidylcholin	Mes-, Mesyl-	Methansulfonsäure-
DSC	<i>differential scanning calorimetry</i>	max.	maximal
EA	Elementaranalyse	$\mu$ E	Mikroeinheiten (Enzymaktivität)
EI	<i>electron impact</i>		
EPC	Ei-Phosphatidylcholin		
ESI	<i>electro-spray ionisation</i>		
EtOAc	Ethylacetat		
EtOH	Ethanol		
Fa.	Firma		

MHz	Megahertz	s	Singulett (NMR)
min	Minute	s	reziproker Netzebenenabstand
mol %	prozentuales Stoffmengen- verhältnis	s	(Röntgenstreuung) Standardabweichung
MPLC	<i>medium pressure liquid chromatography</i>	SAXS	<i>small angle X-ray scattering</i>
M <sub>R</sub>	molare Masse	SC	Säulenchromatographie
MS	Massenspektrometrie	Susp.	Suspension
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyltetrazolium- bromid	t	Triplet (NMR)
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>	TEA	Triethylamin
ONPG	<i>o</i> -Nitrophenyl-β- galactopyranose	TEM	Transmissionselektronen- mikroskopie
org.	organisch	THF	Tetrahydrofuran
<i>p</i>	Irrtumswahrscheinlichkeit	THP	Tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>	<i>T<sub>m</sub></i>	Hauptphasenumwandlungs- temperatur
PCS	Photonenkorrelations- spektroskopie	TMPDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- propan-1,3-diamin
PDI	Polydispersitätsindex	Tos-, Tosyl- tr.	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure- trocken
Ph	Phenyl-	t <sub>R</sub>	Retentionszeit
<i>p</i> -TosOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure	Tr-, Trityl-	Triphenylmethan
q	Quartett (NMR)	u.a.	unter anderem
quint	Quintett (NMR)	USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
R <sub>F</sub>	Retentionsfaktor	UV	ultraviolett
RNS	Ribonukleinsäure	WAXS	<i>wide angle X-ray scattering</i>
RT	Raumtemperatur	$\bar{x}$	Mittelwert

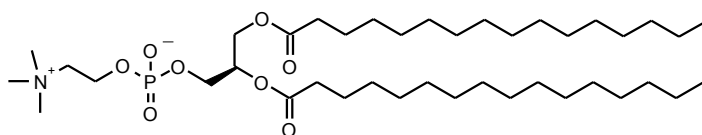
# 1 EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

Bei der Erforschung unseres Planeten ist die Wissenschaft in immer unwirtlichere und scheinbar lebensfeindliche Regionen vorgedrungen. Selbst an einigen der extremsten Orte wurde Leben gefunden, wie zum Beispiel an den Schwarzen Rauchern der Tiefsee, im Toten Meer, in Erdöllagerstätten oder in den heißen Quellen des *Yellowstone Nationalparks*.<sup>1</sup> Zu den Organismen, die sich an die dort vorherrschenden Umweltbedingungen angepasst haben, gehören die Archaeobakterien. Phylogenetisch bilden die *Archaea* neben den *Eukarya* und *Bacteria* eine eigene Domäne innerhalb der Lebewesen. Sie werden in die Stämme der *Euryarchaeota* und *Crenarchaeota* unterteilt.<sup>2</sup>

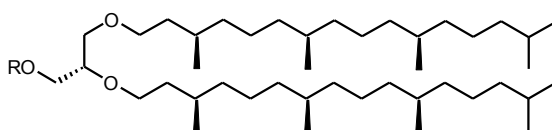
Von besonderem Interesse sind die extremophilen Archaeobakterien, die in beiden Stämmen zu finden sind. Entsprechend ihres Habitats oder Stoffwechsels werden sie unter anderem als *Halophile*, *Thermophile*, *Acidophile*, *Thermoacidophile* und *Methanogene* bezeichnet.<sup>3</sup>

Abgesehen von den außergewöhnlichen Lebensräumen unterscheiden sich die Archaeobakterien auch in vielen anderen Gesichtspunkten. So grenzen sie sich gegenüber den Bakterien und den Eukaryoten auch durch besondere Proteine,<sup>4,5</sup> Unterschiede in der Zellwandzusammensetzung<sup>6</sup> sowie in tRNS und rRNS<sup>7,8</sup> ab.

Eine weitere bedeutsame Anpassung an ihre Umwelt ist ihre einzigartige Zellmembran. Diese vermag es, das Zellinnere abzugrenzen, die Homöostase aufrechtzuerhalten und so das Ablaufen von biochemischen Prozessen auch unter extremen Bedingungen zu ermöglichen.<sup>9</sup> Diese Eigenschaft ist in der besonderen Struktur der Membranlipide begründet. Im Gegensatz zu gewöhnlichen Lipiden sind hier isoprenoid verzweigte und gesättigte Alkylketten nicht über Ester- sondern über Etherbindungen mit den hydrophilen Kopfgruppen verknüpft. Bezogen auf die *sn*-2-Position des Glycerols besitzen die Etherlipide die entgegengesetzte Konfiguration, wie am Beispiel des 2,3-*O*-Diphytanyl-*sn*-glycerols (Archaeol<sup>10</sup>) in Abb. 1 zu erkennen ist. Aus diesen Strukturmerkmalen resultiert eine große thermische, enzymatische und chemische Stabilität der Lipide. Die Hydroxylfunktion in *sn*-1-Position kann mit verschiedenen Phosphat- bzw. Zuckerderivaten verknüpft sein, wie z.B. Glukose, Galaktose, Phosphoethanolamin oder Phosphoserin.<sup>11,12</sup>



1,2-Dipalmitoylphosphatidylcholin/ **DPPC**

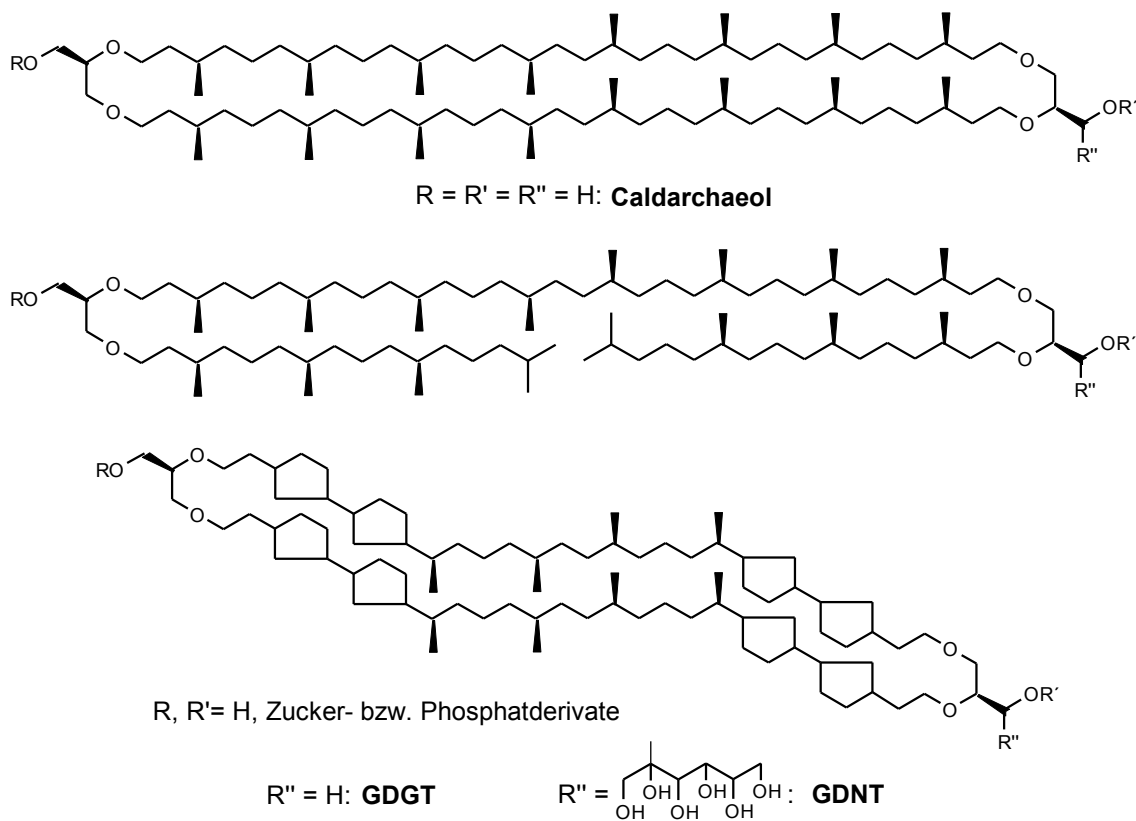


R = H, Zucker- bzw. Phosphatderivate

R = H: **Archaeol**

**Abb. 1:** Dietherlipide vom Archaeol-Typ<sup>11</sup> im Vergleich zum konventionellen Lipid 1,2-Dipalmitoylphosphatidylcholin

Noch ungewöhnlicher sind die archaebakteriellen Tetraetherlipide, die von LANGWORTHY<sup>13</sup> zuerst in *Thermoplasma acidophilum* gefunden wurden. Formal können sie als Dimere (Caldarchaeol-Typ<sup>10</sup>) der Dietherlipide (Archaeol-Typ<sup>10</sup>) betrachtet werden (siehe Abb. 2). Somit besitzen diese Lipide zwei hydrophile Kopfgruppen, die über lipophile, isoprenoid verzweigte Alkylketten miteinander verbunden sind. Die meisten Tetraetherlipide stellen einen Makrozyklus dar. Bei den Lipiden von *Sulfolobus solfataricus* wurde unter anderem auch eine ringoffene Form gefunden.<sup>14</sup> Außerdem können die Alkylketten eine variable Anzahl von Cyclopentanringen enthalten, die mit ansteigender Kultivierungstemperatur zunimmt.<sup>15</sup> In der Kopfgruppenstruktur kann ein Glycerol- durch einen Nonitolrest ersetzt sein. Folglich ergeben sich so symmetrische (Glycerol-dialkyl-glycerol-tetraether GDGT) und unsymmetrische Grundstrukturen (Glycerol-dialkyl-nonitol-tetraether GDNT). Auch hier ist eine Substitution mit verschiedenen Phosphat- und Zuckerderivaten wie bei den Dietherlipiden vorzufinden, die in der Regel unsymmetrisch erfolgt.<sup>11,16,17</sup>



**Abb. 2:** Strukturen archaebakterieller Tetraetherlipide vom Caldarchaeol-Typ<sup>11</sup>

Die besondere Struktur der Tetraetherlipide mit zwei hydrophilen Kopfgruppen, die über einen lipophilen Molekülteil verbunden sind, ist die Vorlage für eine ganze Stoffklasse. Solche Verbindungen werden als Bolaamphiphile oder Bolalipide bezeichnet. Das Vorbild für dieses Modell ist die als Bola bekannte Jagdwaffe, die in ihrer einfachsten Form aus einem Seil mit zwei Kugeln an jedem Ende besteht.

In der Zellmembran nehmen die Tetraetherlipide eine gestreckte Konformation ein. Das bedeutet, dass die Kopfgruppen der Einzelmoleküle zu beiden Seiten der Biomembran eingelagert sind und diese mit den durchspannenden Alkylketten wie Nieten stabilisieren.<sup>18,19</sup> Die größeren nonitol- und zuckerhaltigen Kopfgruppen sind dabei zur Zellaußenseite hin gerichtet.<sup>20</sup> Aus den Lipidextrakten und synthetischen Tetraetherlipiden kann man auf die gleiche Weise aufgebaute Monolayer erhalten.<sup>20,21,22</sup> Diese werden als *black lipid membranes* bezeichnet. Eine Anwendung dieser Lipidfilme ist insbesondere in der Biotechnologie und in der Technologie, zum Beispiel für membrangestützte Biosensoren oder monomolekulare Gleitfilme, möglich.<sup>23,24</sup>

Obwohl es sich bei den Tetraetherlipiden um langkettige, gesättigte Verbindungen handelt, weisen sie doch ungewöhnliche physiko-chemische Eigenschaften auf. Während die Umwandlung der Gelphase zur flüssig-kristallinen Phase von 1,2-Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) bei 41,6 °C liegt, erfolgt diese Phasenumwandlung bei Tetraetherlipiden mit wenigen oder gar keinen Cyclopentanringen zwischen -5 und -30 °C.<sup>11,25</sup> Dabei fungieren die Methylverzweigungen ähnlich wie Doppelbindungen als Störstellen bei der Molekülpackung.<sup>26,27</sup> In Anpassung an die vorherrschenden Umweltbedingungen kann die Phasenumwandlungstemperatur durch einen vermehrten Einbau von bis zu acht Cyclopentanringen wieder gesteigert werden.<sup>28</sup>

Bei symmetrischen GDGT-Derivaten ist das Phasenverhalten gut überschaubar, da es sich bei der Hauptumwandlung in der Regel um einen Phasenübergang zwischen zwei verschiedenen lamellaren Phasen handelt. Bei unsymmetrischen Tetraetherlipiden ist der lyotrope und thermotrope Polymorphismus viel deutlicher ausgeprägt. Mitunter werden mehrere Phasenübergänge detektiert, wobei sich die Überstruktur bei steigender Temperatur von lamellarer zu hexagonaler oder kubischer Anordnung ändert. Dabei kommt es zur Ausbildung metastabiler Phasen, die den für die optimale Membranfunktion notwendigen fluiden Zustand über große Temperaturbereiche beibehalten können.<sup>28,29,30</sup>

Resultierend aus der ungewöhnlichen Stabilität dieser Membranen und der daraus hergestellten Liposomen (Archaeosomen) ergeben sich auch pharmazeutische Anwendungsmöglichkeiten. Die Archaeosomen werden als Transporter für Antigene,<sup>31,32</sup> bisher nicht oral applizierbare Arzneistoffe<sup>33,34,35</sup> oder den liposomalen Gentransfer<sup>36,37</sup> untersucht. Dabei würden sich insbesondere die hohe thermische Beständigkeit der Vesikel,<sup>38,39,40</sup> die eine Hitzesterilisierung erlauben könnte, und die geringe Toxizität<sup>32,41,42</sup> als vorteilhaft erweisen.

Im Zentrum dieser Arbeit stand die Synthese von symmetrischen und unsymmetrischen Modellverbindungen der Archaeobakterienlipide. Anknüpfend an frühere Arbeiten in der AG DOBNER wurde von möglichst einfach aufgebauten Modellsubstanzen ausgegangen. Darüber hinaus sollten die physikochemischen Eigenschaften der synthetischen Bolaamphiphile ermittelt und erste Untersuchungen für die Anwendung in Arzneistoffträgersystemen durchgeführt werden.



## 2 THEORETISCHER TEIL

### 2.1 Darstellung der symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphipile

Neben der aufwendigen Kultivierung von Archaeobakterien und der anschließenden Isolierung ihrer Tetraetherlipide hat sich seit den 1980er Jahren auch die Synthese von Modellverbindungen etabliert. Die zahlreichen Arbeiten von FUHRHOP,<sup>43,44</sup> YAMAUCHI,<sup>45-47</sup> KAKINUMA,<sup>48-51</sup> THOMPSON,<sup>52-54</sup> BENVENU,<sup>35,36,55</sup> DOBNER,<sup>56-58</sup> und vielen weiteren<sup>59-61</sup> belegen, dass diese Thematik bis zum heutigen Tage Gegenstand intensiver Forschung ist. Einige für diese Dissertation grundlegende Erkenntnisse werden im folgenden Kapitel näher erläutert. Über andere geben einige Übersichtsartikel detaillierten Aufschluss.<sup>62-65</sup>

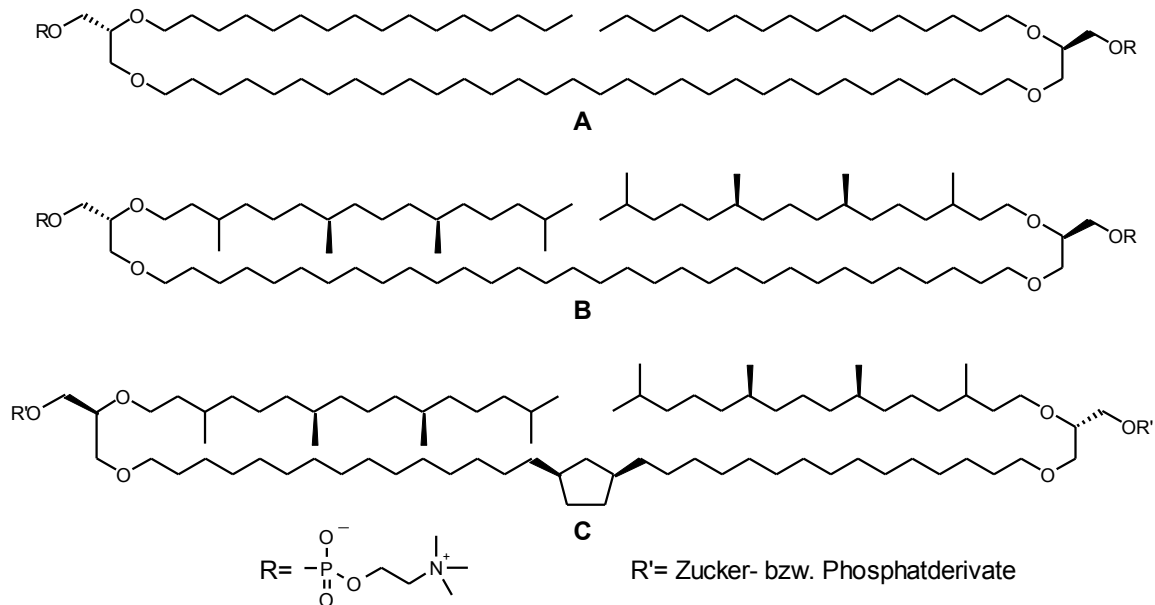
Die Zielstellung besteht darin, diese bolaamphiphilen Verbindungen mit weniger Aufwand und in größerer Menge bereitstellen zu können, um sie so einer pharmazeutischen oder technischen Anwendung zugänglich zu machen. Dafür ist es notwendig, die minimalen strukturellen Voraussetzungen auszuloten, die noch ein ausreichendes Maß der gewünschten Eigenschaften archaebakterieller Membranlipide gewährleisten. Des Weiteren ermöglicht die Synthese von Modellsubstanzen eine genaue Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen, wie sie bei den Extrakten nicht möglich ist, da es sich dabei stets um Stoffgemische handelt.

#### 2.1.1 Ableitung der Zielstrukturen

Das von YAMAUCHI<sup>46</sup> synthetisierte Lipid **A** (siehe Abb. 3) wies die Eigenschaften der natürlichen Tetraetherlipide nicht auf. Diese Verbindung bildete keine Vesikel, sondern lagerte sich in flächigen Aggregaten (*sheet-like-membranes*) zusammen. Die Phasenübergangstemperatur (Gel- zur flüssig-kristallinen Phase) von 61 °C befand sich auch deutlich über den Umwandlungstemperaturen natürlicher Lipidextrakte, die unter 0 °C liegen.<sup>25</sup> Da das von ihm gewählte Grundgerüst mit lediglich einer membrandurchspannenden Alkylkette auch bei einigen natürlichen Tetraetherlipiden vorliegt,<sup>14</sup> sind die Gründe für die abweichenden Eigenschaften im Fehlen jeglicher Methylverzweigungen zu suchen. Der Austausch der Hexadecylketten in *sn*-2-Position des Glycerols durch Phytanylreste<sup>66,67</sup> (Lipid **B**) senkte folglich die Phasenübergangstemperatur auf 8 °C und ermöglichte die Präparation stabiler Vesikel.<sup>47</sup>

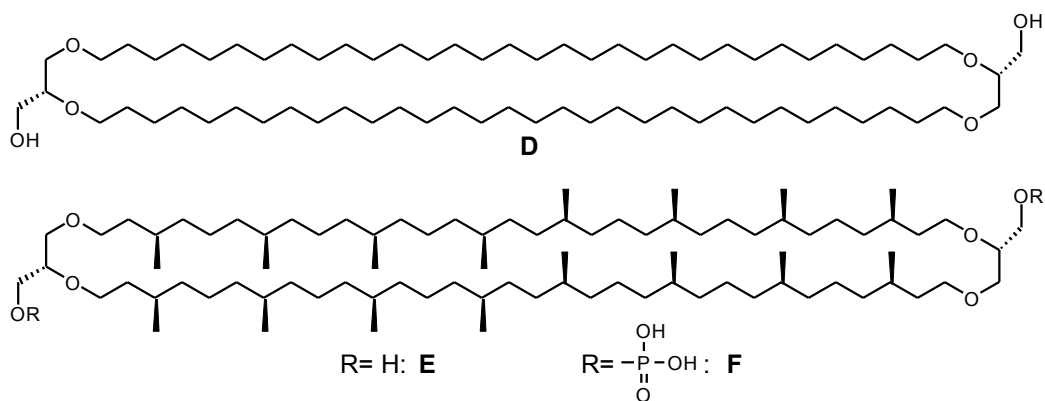
Auch BENVENU<sup>35,55</sup> nutzte in seinen Arbeiten erfolgreich diese Erkenntnis und verwendete Phytanylreste in seinen Lipiden (**C** siehe Abb. 3). In die durchspannende Alkylkette wurde außerdem ein Cyclopentanring eingeführt. Der Grund dafür ist neben dem Vorhandensein dieser Ringe in natürlichen Tetraetherlipiden vor allem in der ergiebigeren Synthese der

Alkylkette mittels einer doppelten WITTIG-Reaktion zu suchen. Aufgrund des fehlenden Ringschlusses bezeichnete BENVEGNI seine Bolaalipide als *hemimakrozyklische Tetraetherlipide*.



**Abb. 3:** Modelllipide nach YAMAUCHI<sup>46,47</sup> (A+B) und BENVEGNI<sup>35,55</sup> (C)

Der Herausforderung, einen bolaamphiphilen Makrozyklus darzustellen, widmete sich zunächst FUHRHOP,<sup>43</sup> der einen 36-gliedrigen Ring erhielt. Synthesen eines 72-gliedrigen Makrozyklus, wie er den meisten Membranlipiden der Archaeobakterien entspricht,<sup>17</sup> wurden 1996 von Arbeitsgruppen um MENGER<sup>59</sup> sowie KAKINUMA<sup>48</sup> (D siehe Abb. 4) beschrieben. Auch diese Verbindungen wurden zunächst ohne Methylverzweigungen hergestellt. Kurze Zeit später gelang KAKINUMA schließlich die Totalsynthese eines archaeobakteriellen Tetraetherlipids mit isoprenoidem Verzweigungsmuster in optisch reiner Konfiguration.<sup>49,50</sup> Die Phasenumwandlungstemperatur von  $-53\text{ }^\circ\text{C}$  von E<sup>49</sup> und die Fähigkeit der Verbindung F Vesikel zu bilden<sup>51</sup> entsprechen den natürlichen Vorbildern.



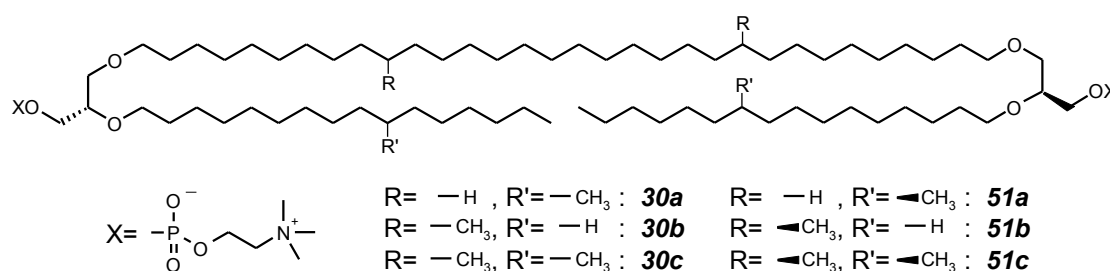
**Abb. 4:** Makrozyklen nach KAKINUMA (D<sup>48</sup>, E<sup>50</sup>, F<sup>51</sup>)

Um in Zukunft den enormen synthetischen Aufwand der Totalsynthese von KAKINUMA<sup>49,50</sup> für eine praktische Anwendung zu vermeiden, sollte im ersten Teil dieser Arbeit geklärt werden, ob und inwiefern einzelne Methylverzweigungen an definierten Positionen des lipophilen Grundgerüsts ausreichend sind. Eine weitere Fragestellung war, ob die methylverzweigten Alkylketten racemisch oder wie bei den Archaeobakterien enantiomerenrein vorliegen müssen.

Von NUHN<sup>26</sup> und MENGER<sup>68</sup> war bekannt, dass einzelne Methylverzweigungen die Kettenpackung von Phospholipiden am effektivsten stören und somit die Phasenumwandlungstemperatur von der Gel- zur fluiden Phase am stärksten senken, wenn sie sich in der Mitte der Alkylkette befinden, beziehungsweise diese in etwa gleich lange unverzweigte Abschnitte teilen. Deshalb sollten sich die Methylverzweigungen entweder:

- in 10-Position der kürzeren Ketten oder
- in 10,10'-Position der durchspannenden Kette bzw.
- an den genannten Positionen der kurzen sowie der durchspannenden Kette

befinden. Außerdem sollten die methylverzweigten Alkylketten sowohl in racemischer als auch enantiomerenreiner Form vorliegen (siehe Abb. 5).



**Abb. 5:** Zielstrukturen der symmetrischen, methylverzweigten Tetraetherlipide

Die Konfiguration des Glycerols wurde dagegen nicht variiert. Aufgrund der weniger aufwendigen Reaktionsführung wurde hier die ringoffene Form als Zielstruktur gewählt.

Von den Modelllipiden mit racemischen, methylverzweigten Alkylketten wurden **30b** und **30c** erstmalig im Rahmen der Dissertation HEISER<sup>69</sup> dargestellt, allerdings wurde nur **30b** physikochemisch untersucht.<sup>70</sup> Für eine bessere Vergleichbarkeit der homologen Verbindungen sollten diese auf einem neuen Weg nachsynthetisiert werden. Die Zielsetzung dieser Synthesestrategie lag darin, nach Bedarf racemische oder enantiomerenreine Endprodukte herstellen zu können.

Bei der gewählten Darstellungsweise der racemischen und enantiomerenreinen Alkylketten fungieren R- und R'- als Platzhalter für die entsprechenden chemischen Bindungen sowie Atome und Atomgruppen, die in der Legende ausgewiesen sind.

### 2.1.2 Synthesestrategie

Der Schlüsselschritt in der Synthese langkettiger Bolaamphiphile besteht in der Knüpfung der Alkylkette. Dafür sind bisher verschiedenste C-C-Kupplungsreaktionen bekannt. HEISER<sup>69,56</sup> nutzte die von CREGER<sup>71</sup> beschriebene  $\alpha$ -Alkylierung, übertrug sie auf langkettige  $\omega$ -Alkensäuren und setzte diese mit 1, $\omega$ -Dibromiden um. In wenigen Folgereaktionen waren so die verzweigten Alkylketten recht einfach zugänglich, allerdings entstanden ausschließlich Racemate. Stattdessen wurden im Rahmen dieser Arbeit methylverzweigte Ausgangsstoffe verwendet. Je nachdem, ob diese nun als Racemate oder optisch reine Verbindungen aus dem *chiralen Pool* vorlagen, konnten daraus die entsprechenden Endprodukte synthetisiert werden. Durch kupferkatalysierte GRIGNARD-Reaktionen wurden die benötigten Kettenlängen realisiert. Die Position der Verzweigung ließ sich durch gezielte Auswahl der zu kuppelnden Alkylbromide erreichen. Die bestehende Konfiguration des optisch aktiven Zentrums wurde nicht beeinflusst.

Die weitere Synthesekonzeption stellt im Prinzip eine Kombination zweier literaturbekannter Vorgehensweisen dar. Bei der Alkylierungsreihenfolge und Schutzgruppenstrategie wurde auf Erfahrungen von THOMPSON<sup>52</sup> zurückgegriffen. Die Verknüpfung der so erhaltenen monopolen Glycerolderivate zu Bolaamphiphilen beruht auf Arbeiten von KAKINUMA.<sup>50</sup> Zunächst wurde 1,2-isopropylidengeschütztes Glycerol (IP-Glycerol) mittels einer WILLIAMSON'schen Ethersynthese mit endständig ungesättigten Alkylbromiden verknüpft. Anschließend wurde die IP-Schutzgruppe abgespalten und die *sn*-1-Position mit einer weiteren Schutzgruppe selektiv blockiert. Die noch freie *sn*-2-Position stand danach für die Zweitalkylierung mit einem endständig gesättigten Bromid zur Verfügung. Zur Kupplung zweier Äquivalente dieser Zwischenstufe kam die Olefin-Metathese zum Einsatz. Eine katalytische Hydrierung lieferte im Anschluss die Dirole mit Tetraetherstruktur, die schließlich durch Phosphorylierung und Quarternierung in die gewünschten methylverzweigten Bis(phosphocholine) überführt wurden.

### 2.1.3 Endständig ungesättigte Alkylbromide

Da für die spätere Verknüpfung zu den Bolalipiden die Olefin-Metathese vorgesehen war, mussten für die moleküldurchspannenden Dotriacontanylketten Vorstufen mit einer endständigen Doppelbindung synthetisiert werden. Um die im Mechanismus der Metathesereaktion<sup>72</sup> begründete Abspaltung von einer Methyleneinheit je Olefinmolekül auszugleichen, wurden die Alkylbromide in einer Kettenlänge von 17 C-Atomen dargestellt. Für die Alkylierung am Glycerol wurde endständig ein Bromatom eingeführt. Als Vorstufe für die unverzweigte, durchspannende Kette ergab sich somit 17-Bromheptadec-1-en **4**.

FEBO-AYALA et al.<sup>53</sup> erhielten dieses Bromid, indem sie nach einer Vorschrift von PEANASKY et al.<sup>73</sup> 11-Bromundec-1-en in das GRIGNARD-Reagenz überführten und mit einer äquivalenten Menge 1,6-Dibromhexan kuppelten. Bei dieser Vorgehensweise entstand allerdings ein sehr heterogenes und schwer zu trennendes Produktgemisch, was sich auch in der niedrigen Ausbeute von 20 % widerspiegelte.<sup>73</sup>

Beruhend auf vielfältigen Erfahrungen in der AG DOBNER<sup>57,74</sup> auf dem Gebiet der GRIGNARD-Synthesen wurde 11-Bromundec-1-en **1** mit 6-Bromhexan-1-ol umgesetzt. Da aktive H-Atome die Reaktion stören, wurde die Tetrahydro-2*H*-pyran-Schutzgruppe (THP) verwendet. So wurde der Alkohol zunächst in den THP-Ether **2** überführt, säulenchromatographisch gereinigt und getrocknet.<sup>75</sup> Das GRIGNARD-Reagenz wurde aus 11-Bromundec-1-en **1** (1,5-facher Überschuss gegenüber **2**) in Tetrahydrofuran (THF) gebildet. Die Kupplung mit dem 6-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexan **2** erfolgte unter Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Katalyse<sup>76</sup> bei 0 bis -5 °C. Dies ergab eine zufriedenstellende Ausbeute von 73 % des THP-Ethers **3**.

Der Austausch der THP-Schutzgruppe gegen ein Bromatom nach SCHWARZ et al.<sup>77</sup> durch Umsetzung mit Triphenylphosphoniumdibromid ergab das gewünschte 17-Bromheptadec-1-en **4**. Da diese zweite Reaktion quantitativ (Ausbeute 99 %) ablief, blieb auch die Ausbeute über beide Stufen mit 72 % deutlich über der von PEANASKY et al.<sup>73</sup>

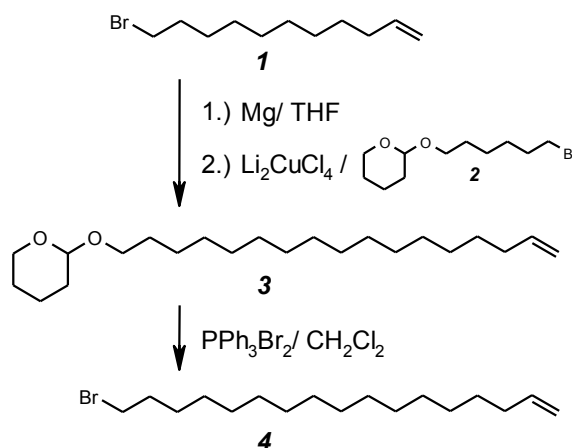


Abb. 6: Synthese von 17-Bromheptadec-1-en **4**

Als Vorstufen für die methylverzweigten C32-Ketten wurden sowohl das racemische 17-Brom-8-methylheptadec-1-en **14**, als auch das (*S*)-konfigurierte 17-Brom-8-methylheptadec-1-en **39** ausgewählt. Ausgangsstoffe bei diesen Synthesen waren die kommerziell erhältlichen Verbindungen (*RS*)-Citronellylbromid **5** und (*S*)-Citronellylbromid **31**.

Aufgrund der Entfernung des asymmetrischen Kohlenstoffatoms zu den Reaktionszentren ( $\gamma$ - bzw.  $\delta$ -ständig) war eine Racemisierung bei den folgenden Reaktionen nicht zu befürchten und wurde auch bei anderen Synthesen mit **31** als Edukt nicht beobachtet.<sup>78,79</sup> Experimente

mit ähnlichen Monoterpenen haben außerdem gezeigt, dass das optisch aktive C-Atom selbst bei Ozonierungen nicht beeinflusst wird.<sup>80</sup>

Bei der Ozonolyse der Olefine **5** und **31** im ersten Schritt verminderten die beiden Methylgruppen allerdings die Reaktivität der Doppelbindung durch sterische Hinderung. Vermutlich führten deshalb die Versuche einer Ozonierung mit reduktiver Aufarbeitung nicht zum gewünschten Ergebnis. In Anlehnung an Arbeiten von BAILEY<sup>81,82</sup> wurde nun bei -70 bis -80 °C in absolutem Methanol ozoniert. Für die oxidative Aufarbeitung wurden nacheinander 85%ige Ameisensäure sowie 35%ige Wasserstoffperoxidlösung hinzugegeben, vorsichtig erwärmt, für zwei Stunden am Rückfluss gehalten und somit zur Säure oxidiert.

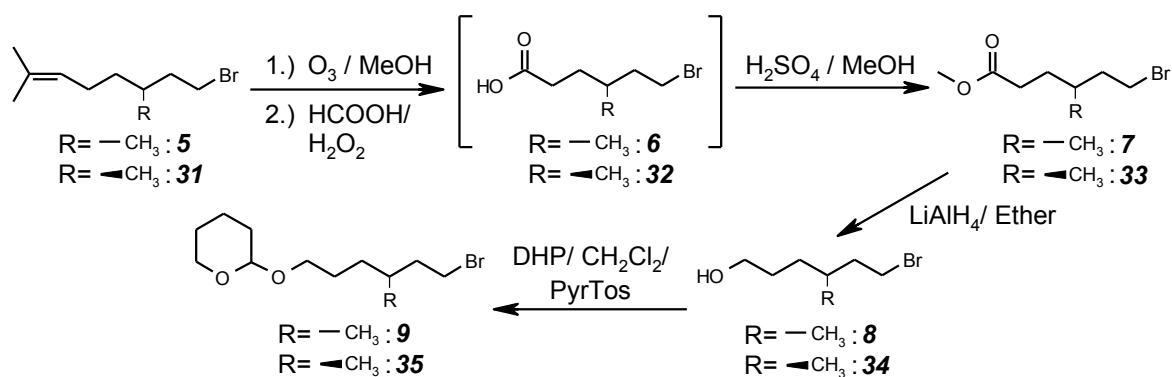


Abb. 7: Synthese von 6-Brom-4-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexan **9** und **35**

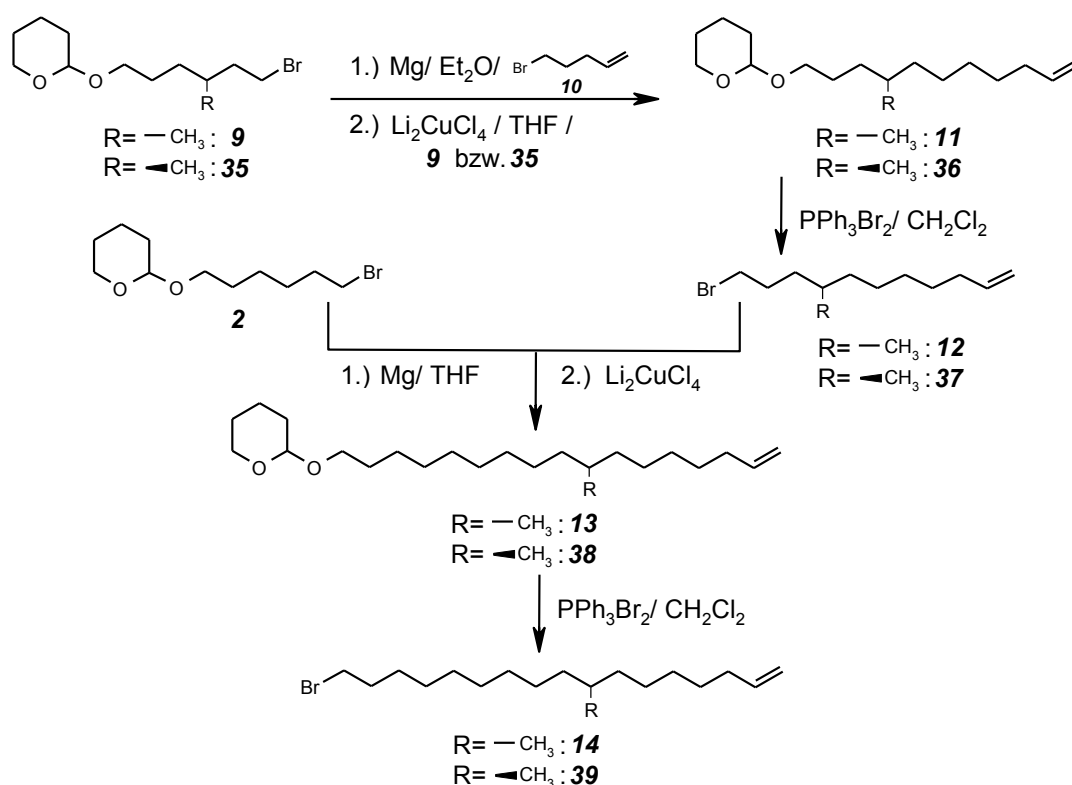
Um die Carbonylaktivität der zwischenzeitlich erhaltenen Carbonsäuren **6** und **32** für den folgenden Reduktionsschritt zu erhöhen, wurden diese mit Methanol und katalytischen Mengen Schwefelsäure in die Methylester **7** und **33** überführt. Die Reinigung erfolgte einerseits durch Destillation des racemischen Produkts **7** (77 %), andererseits durch Säulenchromatographie (SC) des enantiomerenreinen Esters **33** (62 % Ausbeute). Die Destillation stellte sich dementsprechend als Methode der Wahl heraus. Die deutlichen Unterschiede in den Ausbeuten lassen sich nicht durch die Konfiguration erklären, sondern durch die weniger geeignete Trennmethode.

Die Reduktion der beiden Ester **7** und **33** zu den Alkoholen (4*RS*)-6-Brom-4-methylhexan-1-ol **8** und (4*S*)-6-Brom-4-methylhexan-1-ol **34** wurde in absolutem Diethylether mit LiAlH<sub>4</sub> durchgeführt.<sup>83</sup> Um eine mögliche Bromabspaltung auf 1-2 % zu begrenzen, wurde die Reaktion bei 0 °C durchgeführt.<sup>84</sup> Dennoch liefen beide Umsetzungen quantitativ ab.

Wie schon bei der letzten Stufe bewirkte die säulenchromatographische Reinigung eine drastische Verminderung der Ausbeute an **34** und wurde bei **8** ausgespart, da diese Zwischenstufe ohnehin dünnschichtchromatographisch rein war. Für die folgenden Syntheseschritte wurden die freien Hydroxylfunktionen wiederum als THP-Ether geschützt. Die Wahl dieser Schutzgruppe erlaubte zum einen die problemlose Durchführung der GRIGNARD-Reaktion, zum anderen konnte durch den von SCHWARZ<sup>77</sup> beschriebenen Austausch der THP-Funktion gegen Brom gleich im Anschluss eine weitere Kettenverlängerung erfolgen. So war es prinzipiell möglich, durch alternierende Abfolge dieser beiden Reaktionen jede gewünschte

Konfiguration sowie Kettenlänge und Position der Methylverzweigung zu realisieren. Die säulenchromatographische Reinigung jeder Zwischenstufe bedeutete allerdings einen enormen Arbeitsaufwand.

Bei der ersten Kupplung (siehe Abb. 8) wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 5-Brompent-1-en **10** in absolutem Diethylether gebildet. Danach wurde der Ether abdestilliert und die Kupplung in abs. THF mit den Bromiden **9** bzw. **35** wiederum unter  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$ -Katalyse<sup>76</sup> bei 0 bis  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  durchgeführt. Diese etwas schonendere Vorgehensweise war bei dem temperaturempfindlicheren, kurzkettigen 5-Brompent-1-en **10** notwendig (siehe auch Synthese von **41**), stellte aber eine zusätzliche Fehlerquelle dar.



**Abb. 8:** Synthese von 17-Brom-8-methylheptadec-1-en **14** und **39**

Nach der Synthese der Bromide **12** und **37** konnte in einer zweiten GRIGNARD-Reaktion mit 6-Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexan **2** die benötigte Kettenlänge von 17 Methylenheiten erreicht werden.

Die Ausbeuten der GRIGNARD-Kupplungen lagen zwischen 69 % und 82 % (siehe Tab. 1) und waren im Falle der enantiomerenreinen Verbindungen deutlich höher, da hier ein größerer Überschuss eines Bromids (2,0-fach anstatt  $\sim 1,5$ -fach) als bei den racemischen Verbindungen eingesetzt wurde.

	racemisch	optisch rein
GRIGNARD I	69 % ( <b>11</b> )	77 % ( <b>36</b> )
GRIGNARD II	73 % ( <b>13</b> )	82 % ( <b>38</b> )
SCHWARZ I	83 % ( <b>12</b> )	98 % ( <b>37</b> )
SCHWARZ II	84 % ( <b>14</b> )	91 % ( <b>39</b> )

**Tab. 1:** Ausbeuten der GRIGNARD- und Bromierungsreaktionen nach SCHWARZ<sup>77</sup>

Im letzten Schritt wurden nun in bewährter Weise die Bromide **14** und **39** für die Alkylierungsreaktionen am Glycerol dargestellt.<sup>77</sup> Verminderungen der Ausbeuten bei diesen quantitativ ablaufenden Synthesen (siehe Tab. 1) resultierten aus einer zu geringen Beladung der Kieselgelsäulen. Als optimal hat sich ein Beladungsverhältnis von Edukt zu Kieselgel von 1:10 (m/m) bei trocken gepackten Säulen erwiesen.

### 2.1.4 Gesättigte, methylverzweigte Alkybromide

Bei der Synthese des racemischen Alkylbromids **21** für die kürzere Kette in *sn*-2-Position der Zielverbindungen wurde auf einen alternativen Syntheseweg zurückgegriffen. Es war zwar ebenfalls eine vielstufige Synthese, allerdings handelte es sich meist um relativ robuste Reaktionen mit sehr hohen Ausbeuten, so dass säulenchromatographische Reinigungsschritte erst ab dem Alkylbromid **18** notwendig waren. Wie von DOBNER<sup>85</sup> beschrieben, wurde der CH-acide Methylmalonsäurediethylester **15** mit NaH deprotoniert und mit Hexylbromid in abs. Toluol alkyliert. Nach der vollständigen Verseifung ließ sich die erhaltene  $\beta$ -Dicarbonsäure durch Umkristallisieren aus Heptan/Essigester reinigen und quantitativ bei 150-200 °C im Metallbad zur verzweigten Monosäure **17** decarboxylieren. Um daraus das Bromid **18** zu synthetisieren, wurde sauer katalysiert mit Methanol verestert und mit LiAlH<sub>4</sub> in Diethylether zum Alkohol reduziert. In tr. Pyridin wurde nun die Tosylfunktion als gute Abgangsgruppe eingeführt, bevor diese dann nucleophil gegen Bromid substituiert wurde (Abb. 9).

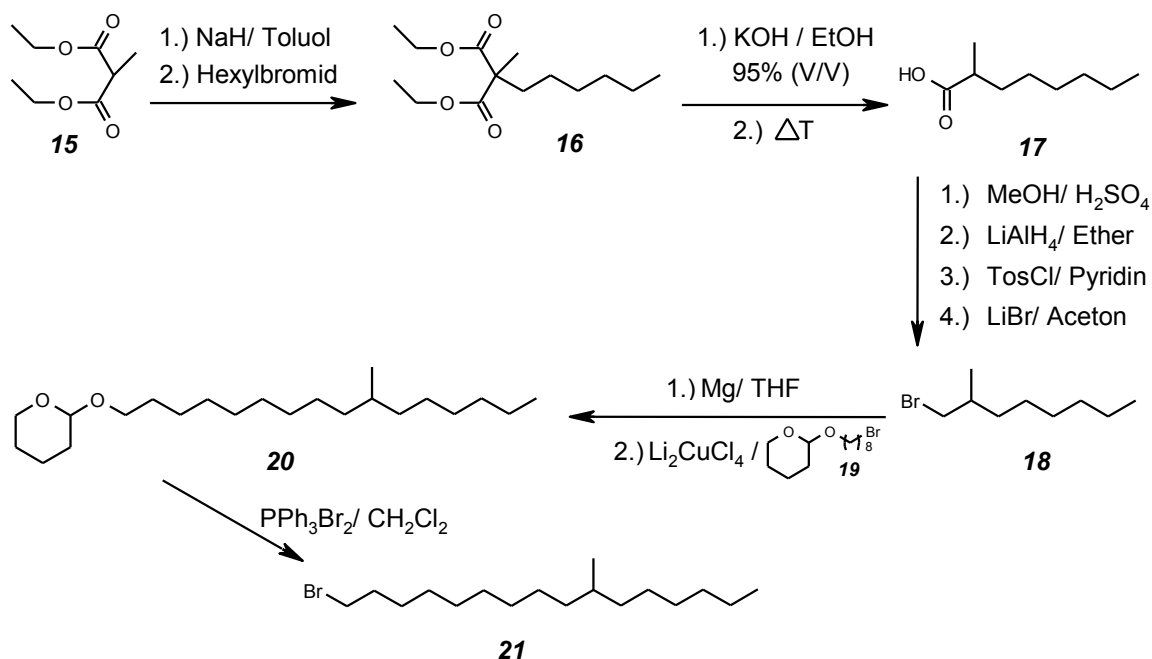


Abb. 9: Synthese von (10*RS*)-1-Brom-10-methylhexadecan **21**

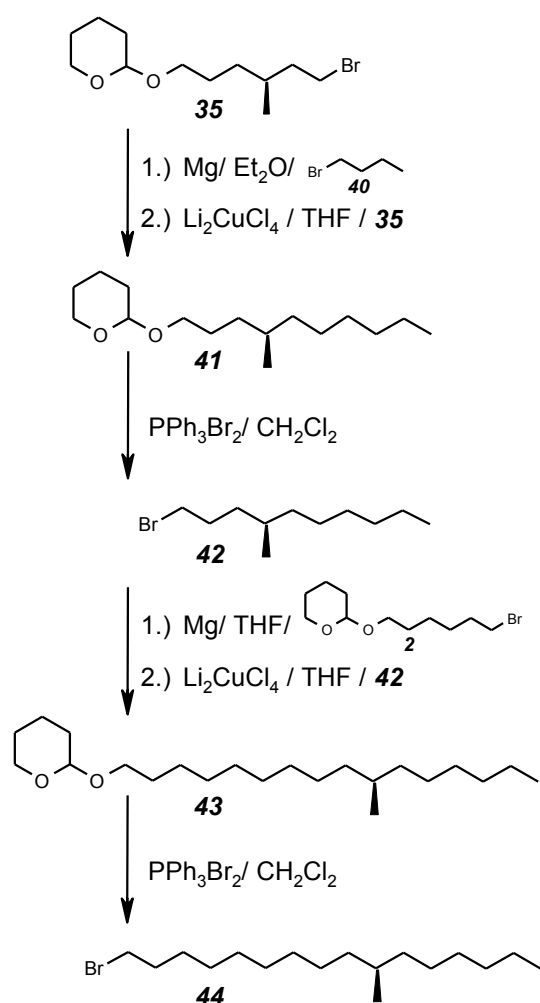
Zentraler Syntheseschritt zur Knüpfung der Hexadecylkette ist auch in diesem Fall eine GRIGNARD-Reaktion gewesen. Dazu mussten vorher, wie im letzten Kapitel erwähnt, freie



Hydroxylfunktionen als THP-Ether geschützt<sup>75</sup> sowie beide Ausgangsstoffe säulenchromatographisch gereinigt und getrocknet werden. Ein 1,5-facher Überschuss des 1-Brom-2-methyloctans **18** wurde in absolutem Diethylether in das entsprechende GRIGNARD-Reagenz überführt. Zur bewährten  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$ -katalysierten Kupplung<sup>76</sup> mit dem THP-geschützten 8-Bromooctan-1-ol **19** wurde das Lösungsmittel gegen getrocknetes Tetrahydrofuran ausgetauscht. Die Ausbeute von 76 % nach der Reinigung (SC) lag somit auf dem gleichen Niveau wie andere GRIGNARD-Kupplungen mit 1,5-fachem Überschuss eines Alkylbromids.

Am Ende wurde in der bereits beschriebenen Art und Weise die THP-Gruppe nach SCHWARZ<sup>77</sup> gegen ein Bromatom ersetzt. Wie viele andere Teilschritte dieser Synthese lief auch diese Reaktion nahezu quantitativ ab und ermöglichte so eine 40%ige Gesamtausbeute von (10*RS*)-1-Brom-10-methylhexadecan **21** über die insgesamt zehn Stufen.

Für das analoge, optisch reine (10*R*)-1-Brom-10-methylhexadecan **44** wurde wieder auf die Synthesekonzeption der abwechselnden GRIGNARD-Kupplung mit der von SCHWARZ<sup>77</sup>



**Abb. 10:** Synthese von (10*R*)-1-Brom-10-methylhexadecan **44**

beschriebenen THP-Substitution zurückgegriffen. Vorteilhaft an dieser Vorgehensweise war, dass hier die Zwischenstufe **35** verwendet werden konnte. Diese wurde ebenfalls für die Darstellung des  $\omega$ -ungesättigten Alkylbromids **39** (Kap. 2.1.3) benötigt und stand in ausreichender Menge zur Verfügung.

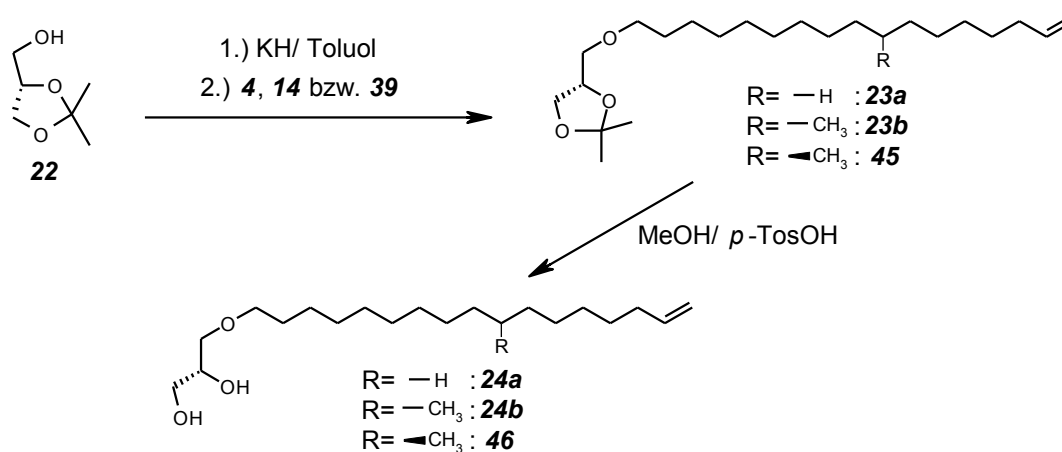
Das Butylmagnesiumbromid für die erste Kupplung wurde in Diethylether und das 6-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexylmagnesiumbromid für die zweite GRIGNARD-Reaktion in THF gebildet. Durch Verwendung von bis zu zweifachen Überschüssen dieser GRIGNARD-Reagenzien konnten Ausbeuten von 86 % bzw. 79 % gesichert werden. Die Synthesen der Bromide **42** und **44** liefen routinemäßig und problemlos ab (93 % und 95 %).

Ausgehend vom (*S*)-Citronellylbromid **31** lag die Gesamtausbeute bei 24 %. Berücksichtigt man die Reinigungsprobleme der Stufen **33** und **34**, so ist diese noch ausbaufähig. Damit stellt der vorgestellte Syntheseweg eine sinnvolle Alternative zur Malonsäurechemie dar.

## 2.1.5 Erstalkylierung in *sn*-3-Position des Glycerols

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, handelt es sich bei natürlichen Tetraetherlipiden um *sn*-2,3-alkylierte Glycerolderivate. Daraus ergab sich unter Berücksichtigung der erarbeiteten Synthesestrategie (*S*)-1,2-Isopropylidenglycerol **22** als Ausgangsstoff, um bei den geplanten Modellverbindungen die gleiche Konfiguration zu erhalten.

Somit konnte beim ersten Schritt im Sinne einer WILLIAMSON'schen Ethersynthese selektiv in *sn*-3-Position alkyliert werden. Zur Deprotonierung der Alkoholkomponente **22** wurde Kaliumhydrid verwendet, da es nach Angaben von ZIETHE<sup>86</sup> höhere Ausbeuten als das von THOMPSON<sup>52</sup> verwendete Natriumhydrid versprach. Zur Steigerung der Reaktivität des Kaliumhydrids wurde die käuflich erhältliche Suspension mehrfach mit absolutem Toluol unter Argonatmosphäre paraffinfrei gewaschen. Das starke Gasen beim Zutropfen des IP-Glycerols in Toluol war ein Beleg für die rasant ablaufende Deprotonierung. Dennoch wurden die Ansätze zusätzlich über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, um eine vollständige Alkoholatbildung zu gewährleisten. Es hatte sich gezeigt (siehe auch Kap. 2.2.6), dass die Umsetzungsraten merklich anstiegen, wenn ein Edukt im Überschuss vorlag. Da die Bromide **4**, **14** und **39** durch deren notwendige Synthese schwerer zugänglich waren, wurde mehr IP-Glycerol verwendet. Dabei genügte schon die 1,5-fache Menge. Nach dem Zutropfen der entsprechenden Bromide bildete sich nach ein bis zwei Stunden in der Siedehitze bereits ein Niederschlag, wobei es sich um das als Nebenprodukt anfallende Kaliumbromid handelte. Nach spätestens zehn Stunden wurde abgebrochen, da bei den Verlaufskontrollen kein weiteres Voranschreiten der Reaktionen mehr zu erkennen war.



**Abb. 11:** Synthese der  $\omega$ -ungesättigten 3-*O*-Alkyl-*sn*-glycerole **24a/b** und **46**

Zur Reinigung der Rohprodukte wurde die Säulenchromatographie herangezogen. Als Elutionsmittel hat sich ein Heptan/Diethylether-Gradient gegenüber einem Heptan/Chloroform-Gradienten als überlegen erwiesen. Die Produkte wurden zwar in beiden Fällen vollständig von den Verunreinigungen abgetrennt, aber bei den Heptan/Chloroform-Mischungen verzögerte starkes Tailing die Prozedur deutlich. Um eine unkontrollierte

Abspaltung der IP-Schutzgruppe zu verhindern, wurde den Laufmitteln jeweils etwas Triethylamin zugesetzt. Die Ausbeuten der insgesamt drei Erstalkylierungsreaktionen lagen sehr einheitlich zwischen 68 % und 72 %.

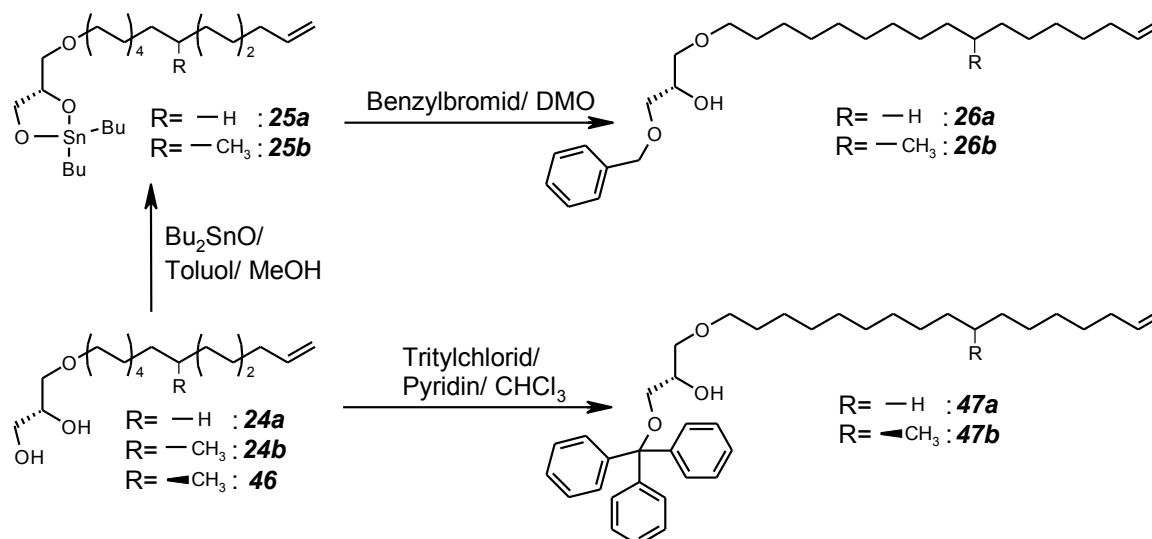
Da es sich bei der Isopropylidenfunktion um ein Acetal handelte, konnte diese Gruppe unter sauren Bedingungen abgespalten werden. Dieser Syntheseschritt wurde in Methanol mit der in organischen Reaktionsmedien löslichen *p*-Toluolsulfonsäure (*p*-TosOH) durchgeführt. Abweichend zur Vorschrift<sup>87</sup> musste allerdings die Reaktionszeit auf zehn Stunden verlängert und unter Rückfluss erhitzt werden. Das unverzweigte Lipid **24a** konnte in Heptan mit 85%iger Ausbeute umkristallisiert werden. Bei den verzweigten Verbindungen **24b** und **46** machte sich schon die für die Zielverbindungen geplante Fluidität bemerkbar. Sie lagen bei Raumtemperatur als ölige Flüssigkeiten vor und konnten somit auch nicht kristallisiert werden. Die Reinigung erfolgte chromatographisch mit Chloroform/Ether-Gradienten. Da bei dieser Vorgehensweise im Gegensatz zum Umkristallisieren kein Produkt in der Mutterlauge zurückblieb, lagen die Ausbeuten mit 91 % **24b** und 90 % **46** etwas höher.

### 2.1.6 Regioselektive Einführung von Schutzgruppen in *sn*-1-Position des Glycerols

Nach der Erstalkylierung und Abspaltung der IP-Schutzgruppen lagen die Glycerolderivate als vicinale Dirole vor. Für die Einführung einer zweiten Alkylkette in *sn*-2-Position war deshalb die regioselektive Kupplung einer Schutzgruppe in *sn*-1-Position unumgänglich. Aufgrund der möglichen sterischen Hinderung weiterer Reaktionsschritte sollte zunächst auf die häufig verwendete Tritylgruppe<sup>45,54,88,89</sup> verzichtet werden. Außerdem wurden bei den von FEBO-AYALA<sup>53</sup> und KAKINUMA<sup>50</sup> mit der Metathesereaktion durchgeführten Bolalipidsynthesen benzylierte Ausgangsstoffe verwendet.

Eine sehr elegante Lösung dieser Fragestellung versprach eine Vorschrift von LIEFLÄNDER et al.<sup>90</sup> in einer modifizierten Form.<sup>91</sup> Anstatt ein benzylgeschütztes Glycerol mit einem Alkylbromid zu verknüpfen, wurden die 3-*O*-Alkyl-*sn*-glycerole **24a** und **24b** mit Benzylbromid verethert. Dafür wurde zunächst unter streng wasserfreien Bedingungen mit Dibutylzinnoxid in Toluol/Methanol (10:1, V/V) aktiviert.<sup>90</sup> Die zwischenzeitlich erhaltenen 1,2-*O*-Dibutylstannyl-3-*O*-alkyl-*sn*-glycerolderivate **25a** und **25b** konnten anschließend mit einem 1,3-fachen Überschuss Benzylbromid in wasserfreiem 1,2-Dimethoxyethan (DMO) alkyliert werden. Es entstanden Produktgemische aus den 1,3-*O*- und den 2,3-*O*-Dialkylderivaten, wobei die gewünschten 1-*O*-Benzyl-3-*O*-alkyl-*sn*-glycerole **26a** und **26b** jeweils den Hauptanteil ausmachten. Die beiden Produkte konnten säulenchromatographisch bei einer Endpolarität von 93:7 (Heptan/Ether, V/V) vollständig von den Nebenprodukten abgetrennt werden. Die Ausbeuten lagen bei 59 % (**26a**) und 50 % (**26b**). Höhere Ausbeuten sind auch in Zukunft nicht zu erwarten, wenn man berücksichtigt, dass sich zusammen mit den angefallenen Nebenprodukten (10-15 %) für eine *O*-Alkylierung (siehe Kap. 2.1.5)

bzw. *O*-Benzylierung (siehe Kap. 2.2.3) gewohnte 65-70 % an Gesamtprodukten ergaben. Im Vergleich zu den in der Literatur beschriebenen Umsetzungsraten bei der Tritylierung<sup>45,89</sup> von bis zu 90 % waren 50-59 % der Benzylether **26a** und **26b** allerdings eher moderat. Deshalb wurde bei den enantiomerenreinen Verbindungen wieder auf die Tritylschutzgruppe zurückgegriffen. Mögliche Probleme bei der Zweitalkylierung wurden in Kauf genommen. Außerdem konnten durch die parallel verlaufenden Synthesen Vorteile und Nachteile beider Wege (Abb. 12) genau gegeneinander abgewogen werden.

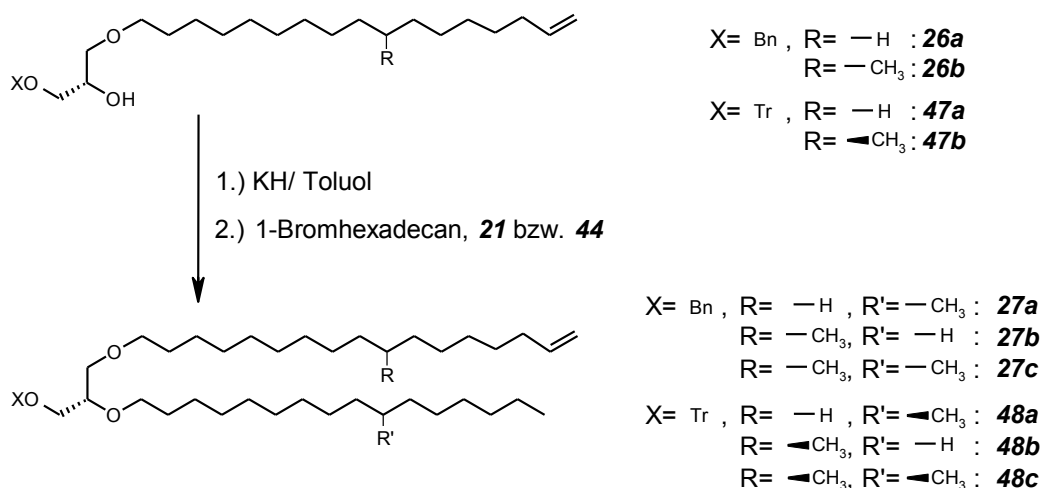


**Abb. 12:** Synthese der 1-*O*-Benzyl- bzw. 1-*O*-Trityl-3-*O*-alkyl-*sn*-glycerole **26a/b** und **47a/b**

Wie bei HERMETTER und PALTAUF<sup>92</sup> beschrieben, wurde die Tritylfunktion in wasserfreiem Pyridin selektiv in 1-*O*-Position eingeführt. Eine zusätzliche Hilfsbase zum Abfangen von während der Reaktion entstandener Salzsäure war somit nicht notwendig. Abweichend zur Vorschrift wurde dem Reaktionsmedium 50 % (V/V) Chloroform für eine bessere Löslichkeit der Edukte **24a** und **46** zugesetzt. Außerdem wurde der Überschuss an Tritylchlorid auf das 1,2-fache begrenzt. Damit sollte verhindert werden, dass bei der Aufarbeitung zu viel Tritylalkohol aus nicht umgesetztem Tritylchlorid gebildet wurde. Bei der chromatographischen Reinigung stellte sich das ähnliche Laufverhalten von den Produkten und dem Tritylalkohol als Problem heraus. War dieser Alkohol allerdings erst einmal mit Chloroform/Triethylamin (10 Tropfen TEA auf 100 ml) abgetrennt, dann konnten die Produkte durch Zusatz von 1 % (V/V) Diethylether zum Laufmittel in wenigen Fraktionen in reiner Form von der Säule eluiert werden. Im Falle des unverzweigten Lipids **47a** gelang dies sehr gut (97 % Ausbeute). Beim fluideren, methylverzweigten **47b** ist die Trennung auch nach mehrmaligem Säulen nicht vollständig gelungen. Dennoch ist hier mit 83 % eine deutliche Steigerung der Ausbeute im Vergleich zu den davor beschriebenen Benzylierungen zu verzeichnen.

### 2.1.7 Zweitalkylierung in *sn*-2-Position des Glycerols

Die zweite Alkylkette wurde wie die erste durch WILLIAMSON'sche Ethersynthese eingeführt. Dazu wurde zunächst ebenfalls mit Kaliumhydrid in wasserfreiem Toluol deprotoniert.<sup>86</sup> Obwohl dieses wie bei der Erstalkylierung paraffinfrei gewaschen wurde, war diesmal bei den Verbindungen **26a/b** eine weniger lebhaft Gasentwicklung zu beobachten und blieb bei den tritylgeschützten **47a/b** ganz aus. Die Ansätze wurden für eine vollständige Salzbildung wiederum über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Bei den benzylgeschützten Substanzen **26a/b** war danach kein Kaliumhydridbodensatz mehr zu erkennen. Aufgrund der sterischen Hinderung der Tritylfunktion war die Deprotonierung der Alkoholfunktion in Nachbarschaft zu dieser Schutzgruppe ungleich schwieriger. Im Falle der Verbindungen **47a** und **47b** ergab sich erst nach einstündigem Erhitzen auf 100 °C eine gelbliche bis orangefarbene Alkoholatlösung.



**Abb. 13:** Synthese der methylverzweigten 1-*O*-Benzyl- bzw. 1-*O*-Trityl-2-*O*-hexadecyl-3-*O*-heptadec-16-enyl-*sn*-glycerole **27a/b/c** und **48a/b/c**

Im zweiten Schritt der Ethersynthese wurden nun die Alkylbromide in Toluol gelöst und zutropft. Je nach vorgesehenem Methylierungsmuster der Zielverbindungen wurden dafür 1-Bromhexadecan sowie (10*RS*)-1-Brom-10-methylhexadecan **21** und (10*R*)-1-Brom-10-methylhexadecan **44** (Synthesen siehe Kap.2.1.4) in dreifachem Überschuss verwendet. Um die feuchtigkeitsempfindliche Reaktion nicht zu beeinträchtigen, wurde auch das kommerziell erhältliche 1-Bromhexadecan durch eine kurze Säulenchromatographie mit Heptan gereinigt und sorgfältig über Phosphorpentoxid getrocknet.

Beim anschließenden Erhitzen unter Rückfluss fiel nach spätestens drei Stunden erstes Kaliumbromid aus, was an einem leichten Salzrand im Kolben zu erkennen war. Nach zehnstündiger Reaktionsdauer waren die Umsetzungen auch bei der Zweitalkylierung abgeschlossen (DC-Kontrolle).

Für die Aufreinigung des Lipids **27b** wurde die *medium pressure liquid chromatography* (MPLC) als zeitsparende Alternative zur konventionellen Säulenchromatographie erprobt. Zur Elution wurde dabei ein Heptan/Chloroform-Gradient verwendet, wobei mit reinem Heptan begonnen und der Chloroformanteil in Zehnprozentsschritten diskontinuierlich erhöht wurde. Die Ausbeute an reinem Produkt blieb mit 39 % deutlich unter den Erwartungen, die schon aufgrund der dünnenschichtchromatographischen Verlaufskontrolle größer waren. Der Grund hierfür war in der zu geringen Beladung der MPLC-Säulen zu suchen. Es standen Kartuschen für 1 g und 5 g Rohprodukt zur Verfügung. Aufgrund der Masse an Rohprodukt von 3,3 g wurde zugunsten der größeren Säule entschieden, was zum bekannten Ergebnis führte.

Die restlichen Verbindungen wurden wieder durch schwerkraftgetriebene SC gereinigt. Dabei wurden die gleichen Laufmittel wie bei der MPLC verwendet. Um das Kieselgel zu phlegmatisieren, wurden bei den säurelabilen Triphenylmethanderivaten **48a/b/c** jeweils 10 Tropfen Triethylamin je 100 ml Laufmittel zugesetzt. Der Vorteil der konventionellen SC zeichnete sich insbesondere durch die individuell wählbare Säulengröße aus. Das in der AG DOBNER empirisch ermittelte Kieselgel/Substanz-Verhältnis von 10:1 (m/m) für trocken gepackte Säulen<sup>93</sup> hat sich in diesem Falle bewährt. Die Ausbeuten der übrigen Zweitalkylierungsreaktionen lagen mit 55-68 % (siehe Tab. 2) zwischen 5 und 15 % niedriger als bei den Erstalkylierungsreaktionen (68-72 %).

Verbindung	<b>27</b> (X = Bn)	<b>48</b> (X = Tr)
<b>a</b>	62 %	68 %
<b>b</b>	39 %*	55 %
<b>c</b>	67 %	59 %

**Tab. 2:** Ausbeuten der Zweitalkylierungsreaktionen,  
\* Reinigung mittels MPLC

Eine Systematik, die auf eine unterschiedliche Eignung der benzyl- oder tritylgekuppelten Ausgangsstoffe für die Gesamtsynthese hindeuten, war nicht zu erkennen. Die voneinander stärker abweichenden Umsetzungsraten resultieren wahrscheinlich aus der aufwendigeren und somit fehleranfälligeren Reaktionsführung bei der Alkoholatbildung. Die Verwendung der raumgreifenden Tritylschutzgruppe hat sich also nicht nachteilig auf die Zweitalkylierungsreaktionen ausgewirkt.

## 2.1.8 Kupplung der Bolaamphiphile mittels Olefinmetathese

Neben der GRIGNARD-Reaktion stellt die Olefinmetathese eine weitere Übergangsmetall-katalysierte Reaktion dar, bei der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen neu geknüpft werden. Schon seit den 1950er Jahren wird die Metathese industriell angewendet. Dabei handelt es sich z.B. um den *Phillips-Triolefin-Prozess*, den *Shell-Higher-Olefin-Prozess (SHOP)* oder das *Hüls-Vestenamer-Verfahren*.<sup>94</sup>

Der Reaktionsverlauf war allerdings lange unbekannt und wurde 1971 von CHAUVIN<sup>72</sup> über ein Metallacyclobutan beschrieben (siehe Abbildung 14).

Aufgrund der hohen Reaktionstemperaturen und der Empfindlichkeit der damals gebräuchlichen Katalysatoren gegen Feuchtigkeit, Sauerstoff und funktionelle Gruppen blieb die Olefinmetathese für die Synthesechemie lange Zeit unattraktiv. Erst die Entwicklung von Alkyldenmetallverbindungen als Katalysatoren von SCHROCK<sup>95,96</sup> und GRUBBS<sup>97</sup> änderte das (für Beispiele siehe Abb. 15). Während die Katalysatoren von SCHROCK eine extrem hohe Aktivität aufweisen, zeichnen sich die Ruthenium-Carben-Komplexe von GRUBBS vor allem durch ihre größere Toleranz gegenüber Feuchtigkeit, Sauerstoff und viele funktionelle Gruppen aus.<sup>94,98</sup>

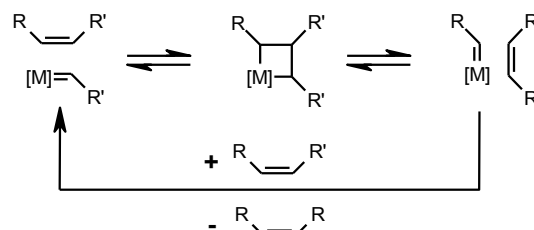
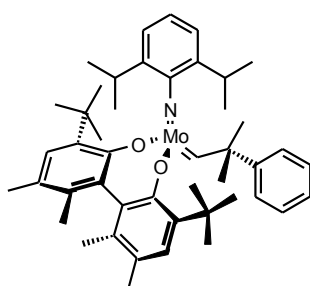
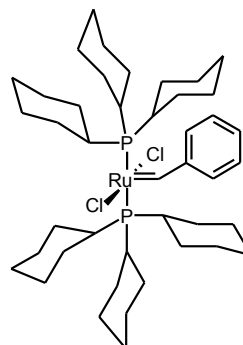


Abb. 14: CHAUVIN's Mechanismus der Metathesereaktion, vereinfacht nach SCHUSTER<sup>94</sup>



Katalysator nach SCHROCK<sup>96</sup>



GRUBBS Kat. 1<sup>st</sup> Gen.<sup>97</sup>

Abb. 15: Kommerziell erhältliche Katalysatoren der Olefinmetathese

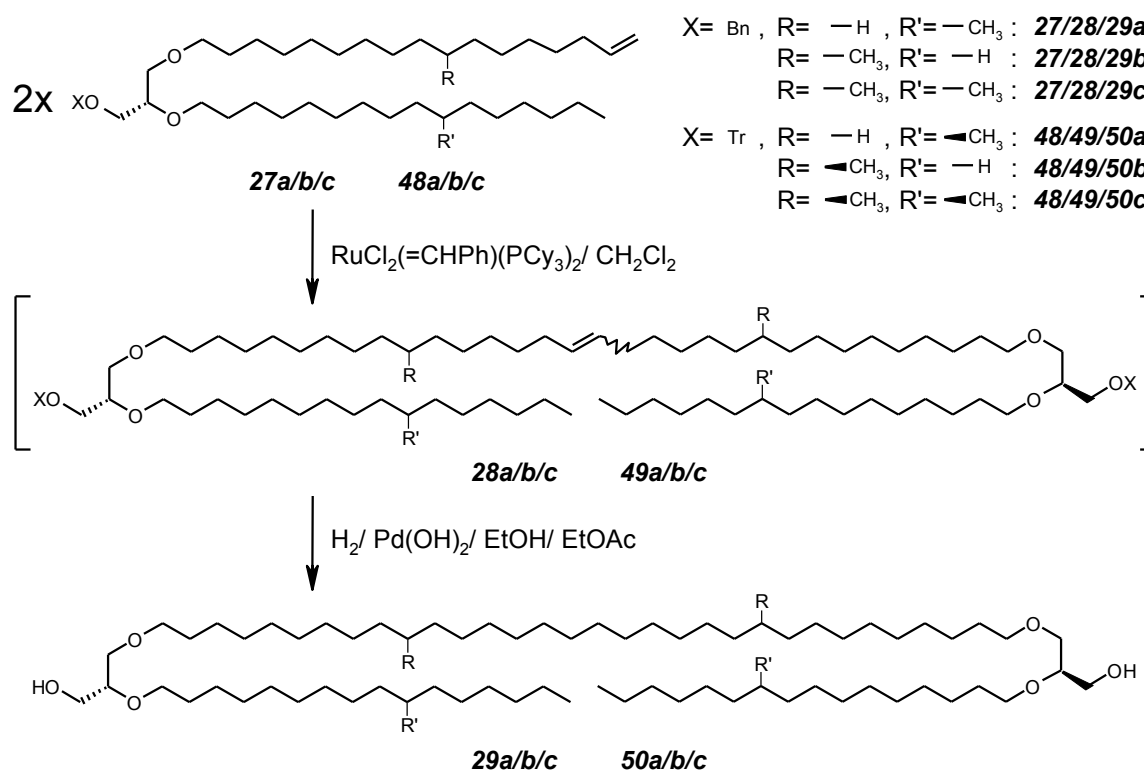
Durch die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten (z. B. *Ringöffnungspolymerisation ROMP* oder *Ringschlussmetathese RCM*) avancierte die Metathese zu einem wichtigen Werkzeug in der Polymersynthese, der Darstellung ringförmiger Moleküle und der Naturstoffsynthese.<sup>94,98</sup>

Für ihre Verdienste um die Olefinmetathese erhielten CHAUVIN, SCHROCK und GRUBBS gemeinsam den Nobelpreis für Chemie 2005.

Für die Kupplung zu den Bolaamphiphilen wurden die Olefine **27a/b/c** und **48a/b/c** eingesetzt. Da entsprechend des Mechanismus die Edukte an der Doppelbindung gespalten und neu verknüpft wurden, entstand durch die Verwendung dieser terminalen Olefine Ethen als Nebenprodukt (siehe Abb. 14 für R= H). Dieses Gas konnte aus dem Reaktionsmedium entweichen, so dass das Reaktionsgleichgewicht auf die Seite der Produkte verschoben wurde.

Durch Vorversuche mit tritylgekuppeltem Undec-10-en-1-ol wurde abgeklärt, ob und inwiefern die Metathese unter den von KAKINUMA beschriebenen Bedingungen<sup>50</sup> in Anwesenheit von Tritylschutzgruppen abläuft. Dies erschien sinnvoll, da dort ausschließlich benzylgeschützte Glycerolderivate verwendet wurden.

Die Verbindungen **27a/b/c** und **48a/b/c** wurden in getrocknetem Methylenchlorid gelöst, mit 29 mol % GRUBB's Katalysator 1<sup>st</sup> Gen. ( $\text{RuCl}_2(=\text{CHPh})(\text{PCy}_3)_2$ ) versetzt und unter Rückfluss erhitzt. Im Gegensatz zur Vorschrift<sup>50</sup> wurde jeweils nach 24 h abgebrochen, da die Reaktionen der Verlaufskontrolle (DC) zufolge abgeschlossen waren.



**Abb. 16:** Synthese der methylverzweigten 3,3'-O-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis(2-O-hexadecyl-*sn*-glycerole) **29a/b/c** und **50a/b/c**

Nach der Reinigung, die analog zu den zweitalkylierten Produkten (Kap. 2.1.7) erfolgte, waren Ausbeuten von 47-60 % zu verzeichnen. Bei Umsetzungen von rechromatographierten Ausgangsstoffen waren die Ausbeuten noch geringer. Damit entsprachen diese zwar nicht den von KAKINUMA<sup>50</sup> publizierten 79-85 % an gekuppelten Produkten, kommen den von FEBO-AYALA et al.<sup>53</sup> erhaltenen 62 % aber sehr nahe. Die Schwankungen sind wiederum unabhängig



von der verwendeten Schutzgruppe. Bei  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Untersuchungen wurde bei den bolaamphiphilen Olefinen **28a/b/c** und **49a/b/c** ein *E/Z*-Isomerengemisch im Verhältnis von etwa 1:9 detektiert. Diese Produkte wiesen eine leicht bräunliche Färbung auf, da nicht alle Katalysatorrückstände durch die SC vollständig abgetrennt werden konnten. Außerdem waren diese Verbindungen durch die Doppelbindung in der Kettenmitte oxidationsempfindlich. Deshalb wurden die Zwischenprodukte **28a/b/c** und **49a/b/c** zeitnah weiter umgesetzt. In einer geeigneten Apparatur wurden sie unter Wasserstoffatmosphäre mit 33 mol %  $\text{Pd}(\text{OH})_2$ -Katalysator (20 % auf Aktivkohle) hydriert.<sup>53</sup> Als Lösungsmittel hat sich eine Mischung aus jeweils HPLC-reinem Ethanol und Ethylacetat (1:1, V/V) als am geeignetsten erwiesen. Unter diesen Bedingungen wurden neben der Reduktion der Doppelbindung auch die Benzyl- und Tritylschutzgruppen hydrogenolytisch abgespalten. Der folgende Reinigungsschritt wurde nur mit der Hälfte der üblichen Menge Kieselgel (50:1 für eingeschwämmte Säulen) mit einem Chloroform/Ether-Gradienten steigender Polarität durchgeführt, da bei einer niedrigeren Beladung deutliche Verluste der relativ polaren Produkte festzustellen waren.

Über beide Synthesestufen lagen die Ausbeuten der methylverzweigten Diole mit racemischen Alkyketten **29a/b/c** von 36-44 % etwas höher als bei den enantiomerenreinen Diolen **50a/b/c** (27-35%). Bei der Durchführung einer Olefinmetathese mit GRUBB's Katalysator 1<sup>st</sup> Gen. und anschließender Hydrierung war die Benzylschutzgruppe der Tritylfunktion dementsprechend überlegen. Insgesamt hat sich allerdings die Verwendung der Tritylgruppe aufgrund ihrer effektiveren Einführung bewährt.

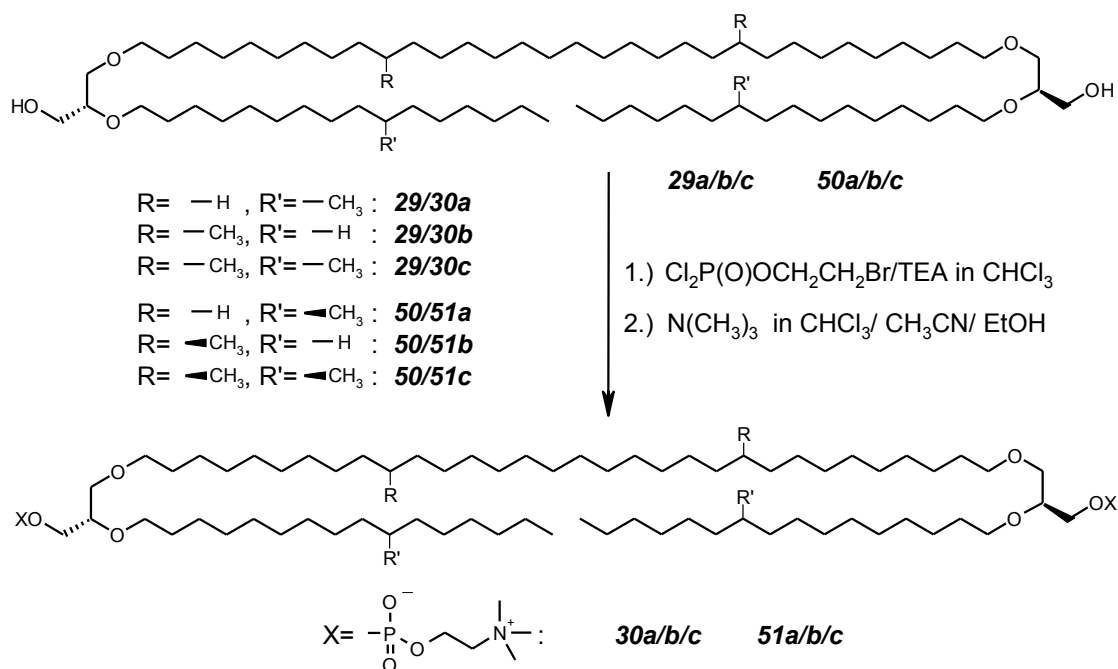
Die Metathese hat sich als unkomplizierte und unempfindliche Methode zur Kupplung von Bolaamphiphilen erwiesen. Als Nachteil erwies sich, dass die benötigten Katalysatoren relativ teuer waren und nicht zurückgewonnen werden konnten.

## 2.1.9 Symmetrische, methylverzweigte Bis(phosphocholine)

Bei der Synthese der Kopfgruppen wurden die schon von HEISER<sup>69</sup> favorisierten Methoden der Phosphorylierung nach HIRT und BERCHTOLD<sup>99</sup> sowie der Quarternierung in Acetonitril/Chloroform/Ethanol-Mischungen nach EIBL und NICKSCH<sup>100</sup> verwendet. Diese wurden in der Arbeitsgruppe im Laufe der Jahre für die Anwendung bei Bolalipidsynthesen angepasst und haben sich als zuverlässige Methoden erwiesen.<sup>69,86,101</sup> Versuche einer Phosphorylierung über ein 2-Oxo-1,3,2-dioxaphospholan als Zwischenprodukt nach EIBL<sup>102</sup> wurden auch deshalb unterlassen, weil nicht genügend Substanzmengen der Diole **29a/b/c** und **50a/b/c** zur Verfügung standen.

So wurde ein vierfacher Überschuss von frisch destilliertem 2-Bromethylphosphorsäuredichlorid unter Feuchtigkeitsausschluss in Chloroform gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit getrocknetem Triethylamin im Eisbad aktiviert. Die entsprechend ihrer Methylverzweigungsmuster noch festen bzw. schon zähflüssigen 3,3'-*O*-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis[2-*O*-hexadecyl-*sn*-glycerol]-derivate **29a/b/c** und **50a/b/c** wurden in tr. Chloroform gelöst und hinzugegeben.

Für die Hydrolyse überschüssiger Säurechloridfunktionen wurde bei der Aufarbeitung der Ansätze zunächst Eis hinzugefügt und ein bis zwei Stunden kräftig durchmischt. Die 2-Bromethylphosphorsäureester wurden extrahiert, eingengt, in einer Tetrahydrofuran/Wasser-Mischung (9:1 V/V) gelöst und für weitere ein bis zwei Stunden gerührt, um eine vollständige Hydrolyse aller Säurechloride sicherzustellen.



**Abb. 17:** Synthese der methylverzweigten 3,3'-*O*-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis[(2-*O*-hexadecyl-*sn*-glycer-1-yl)-2-(trimethylammonio)ethylphosphate] **30a/b/c** und **51a/b/c**

Bei der abschließenden Quarternierung wurden die zwischenzeitlich erhaltenen 2-Bromethylphosphorsäureester ohne vorherige chromatographische Reinigung in Chloroform/Acetonitril 1:1 (V/V) aufgenommen und mit einem zehnfachen Überschuss Trimethylamin in ethanolischer Lösung versetzt. Nach mehrstündigem Inkubieren bei 50 °C wurden die dicht verschlossenen Ansätze noch einige Tage bei RT stehen gelassen. Um einer Emulsionsbildung beim Ausschütteln mit Wasser oder wässrigen Lösungen aus dem Wege zu gehen, wurden die Reaktionsgemische lediglich vorsichtig am Vakuumrotationsverdampfer zur Trockne eingengt. Die anschließende chromatographische Reinigung stellte sich als problematisch heraus. Weder durch MPLC noch durch konventionelle, schwerkraftgetriebene Säulenchromatographie konnten die Phosphocholine beim ersten Versuch gereinigt werden. Erst nach einer zweiten SC konnten die 3,3'-*O*-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis[(2-*O*-hexadecyl-*sn*-glycer-1-yl)-2-(trimethylammonio)ethylphosphate] **30a/b/c** und **51a/b/c** als weiße, dünn-schichtchromatographisch reine Feststoffe isoliert werden. Als Elutionsmittel dienten jeweils Chloroform/Methanol/Wasser-Mischungen steigender Polarität mit bis zu 42 % (V/V) Methanol und 16 % (V/V) Wasser. Aufgrund der unvermeidlichen Verluste bei der Chromatographie solch polarer Verbindungen sanken die Ausbeuten durch die zweifache Reinigungsprozedur auf 28-44 %, die allerdings auch für ähnliche Verbindungen angegeben wurden.<sup>55</sup> Um das Ausmaß der noch enthaltenen Verunreinigungen für die physikochemischen Vergleichsuntersuchungen genau abzuschätzen, wurden alle sechs Produkte auch mittels HPLC charakterisiert. Die Reinheit der Produkte lag dabei relativ konstant zwischen 97,67 % und 99,17 % (siehe Tabelle 3).

	<b>30</b> (rac. Ketten)	Reinheit (%)	<b>51</b> (en-rein)	Reinheit (%)
<b>a</b>	41 %	98,98 %	43 %	99,02 %
<b>b</b>	28 %	99,17 %	33 %	98,76 %
<b>c</b>	38 %	97,69 %	44 %	98,76 %

**Tab. 3:** Ausbeuten und Reinheit der symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphiphile

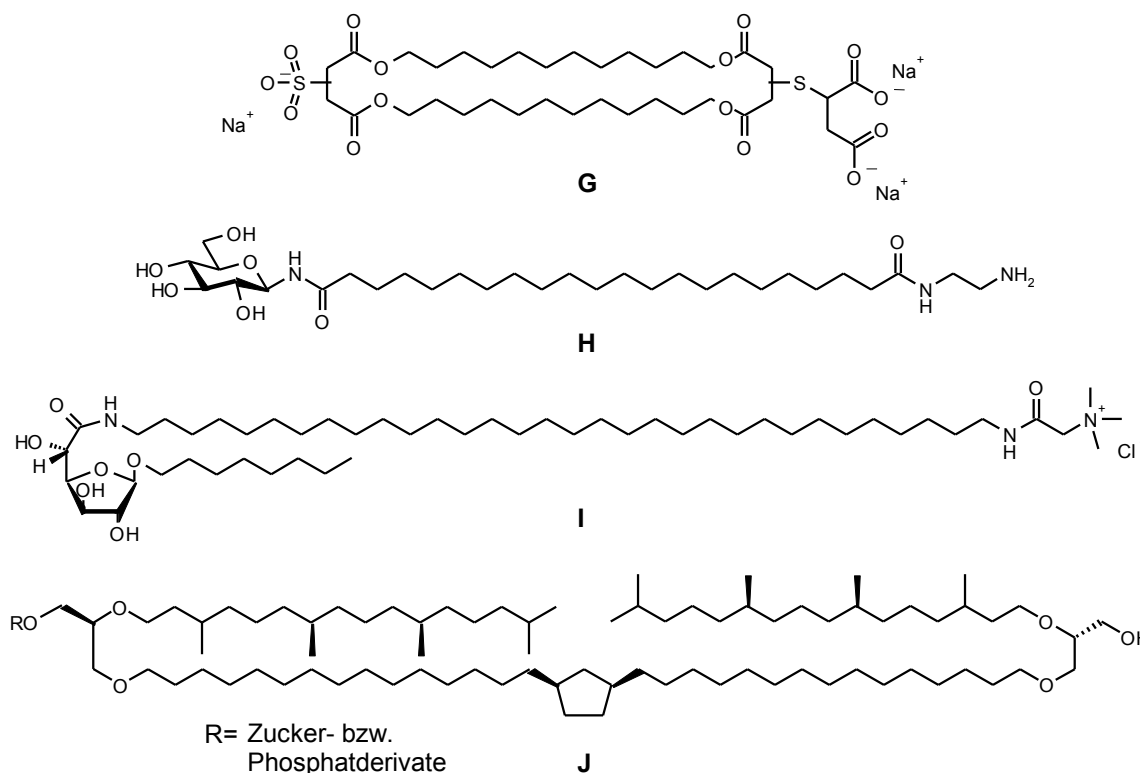
Weitere Probleme stellten die Elementaranalyse (EA) sowie die Bestimmung der spezifischen Drehwerte ( $[\alpha]_D^{22}$ ) dar. Als Alternative zur EA konnte die Identität der Produkte schließlich durch die hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS) abgesichert werden.

Für die Polarimetrie musste zunächst ein geeignetes Solvens gefunden werden, in dem die synthetisierten Lipide vollständig löslich sind. In Chloroform/Methanol/Wasser-Mischungen war dies nicht in ausreichendem Maße möglich. In getrocknetem Dimethylsulfoxid (DMSO) konnten Konzentrationen von 2 mg/ml erreicht werden. Mit dem zur Verfügung stehenden Messgerät (*Polartronic E* der Fa. *Schmidt und Haensch*) konnte allerdings nur ein minimales Messsignal aufgefangen werden. Es war deshalb nicht möglich, unterschiedliche spezifische Drehwerte für die drei racemisch methylverzweigten Bolaamphiphile **30a/b/c** sowie die drei enantiomerenreinen Bolaamphiphile **51a/b/c** zu ermitteln.

## 2.2 Darstellung der unsymmetrischen Bolaamphipile

Die lipophilen Grundgerüste der archaebakteriellen Membranlipide sind zwar oft symmetrisch aufgebaut (siehe Caldarchaeol Kap. 1), aber in der Regel sind sie unterschiedlich mit diversen Zuckern, Zuckeralkoholen und Phosphatderivaten verknüpft.<sup>11,16,17</sup> Diese Tetraetherlipide durchspannen die Zellmembran, wobei die zuckerhaltigen Kopfgruppen hauptsächlich nach außen gelagert vorliegen.<sup>20</sup>

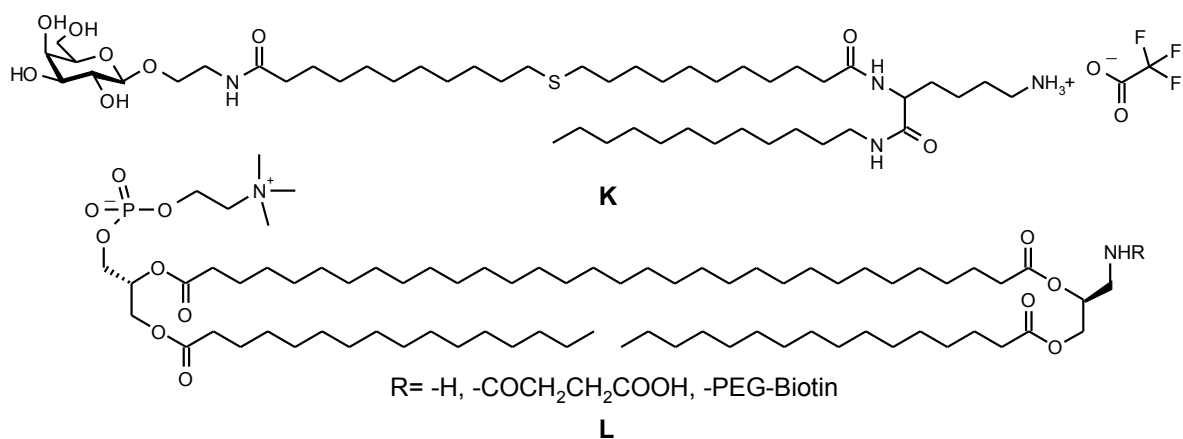
Die Synthese unsymmetrischer Bolaamphipile stellt allerdings eine gewisse Herausforderung dar, weil die unterschiedlich substituierten und langkettigen Alkylketten relativ schwer zugänglich sind. So behelfen sich einige Arbeitsgruppen, wie FUHRHOP,<sup>44,103</sup> SHIMIZU<sup>104-107</sup> und BENVEGNI<sup>35,55,108-111</sup> (Beispiele siehe Abb. 18), indem sie symmetrische Vorstufen bei Funktionalisierungsreaktionen im Überschuss einsetzen oder unvollständig umgesetzte Nebenprodukte der Synthesen symmetrischer Zielverbindungen isolierten.



**Abb. 18:** Unsymmetrische Modelllipide nach FUHRHOP<sup>44</sup> (**G**), SHIMIZU<sup>106</sup> (**H**) und BENVEGNI<sup>35,110</sup> (**I+J**)

Ein anderer Ansatz war die zielgerichtete Synthese unsymmetrischer Strukturen.<sup>22,37,112,113</sup> Dabei wurde von leicht erhältlichen, kürzerkettigen Verbindungen ausgegangen. Durch geeignete Schutzgruppenstrategien und Kupplungsreaktionen konnte die unsymmetrische Gestalt der Moleküle bei den Kettenverlängerungsreaktionen beibehalten werden. Beispielsweise erhielten CHAIKOF et al.<sup>113</sup> eine unterschiedlich substituierte Dotriacontanylketten ausgehend vom kommerziell erhältlichen 16-Hexadecanolid. Daraus

wurden zwei Carbonsäurederivate synthetisiert, von denen das eine als Orthoester und das andere mit einer Benzylgruppe geschützt wurde. Durch WITTIG-Reaktion wurde schließlich eine  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte C32-Kette gekuppelt, deren verschiedene Schutzgruppen unabhängig voneinander abspaltbar waren.



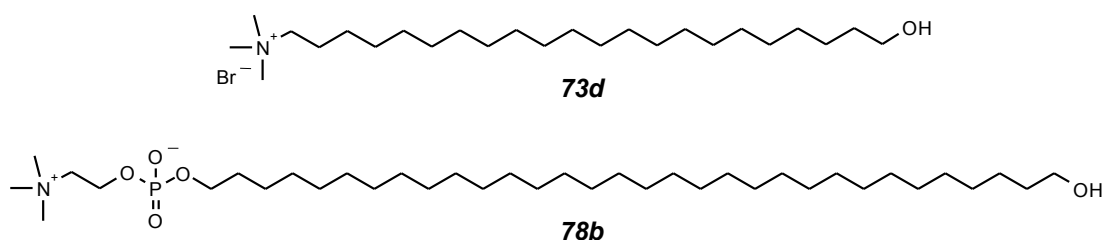
**Abb. 19:** Unsymmetrische Bolaamphiphile nach PUCCI<sup>37</sup> (**K**) und CHAIKOF<sup>22,113</sup> (**L**)

Auch in der AG DOBNER wurde bereits eine Strategie für die gezielte Synthese unsymmetrischer Bolaamphiphile entwickelt.<sup>74</sup> Dafür wurden  $\omega$ -Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)alkane mit  $\omega$ -Bromalk-1-enen in GRIGNARD-Reaktionen zu den gewünschten Kettenlängen gekuppelt. Die endständigen Doppelbindungen konnten anschließend durch Hydroborierung<sup>114</sup> in die primären Alkohole überführt werden.

Der hier gegebene Abriss ist wiederum auf einige wesentliche Arbeiten beschränkt. Einige weitere Bolaamphiphile, bei denen es sich auch um kürzerkettige oder mit Aromaten verknüpfte Verbindungen handelt, werden in entsprechenden Übersichtsartikeln<sup>62,63,115</sup> genauer beschrieben.

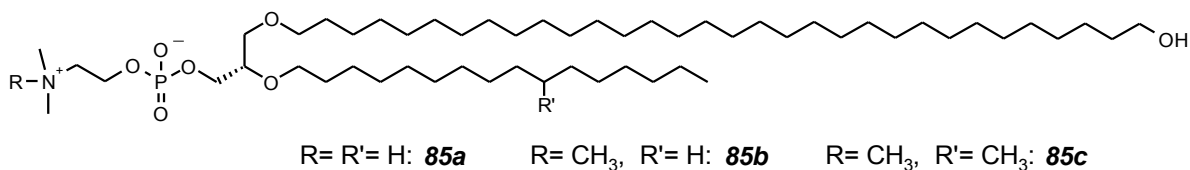
## 2.2.1 Auswahl der Zielstrukturen

In Fortsetzung bisheriger Forschungen leiten sich die Zielstrukturen direkt von den vorangegangenen Arbeiten von HEISER<sup>69</sup> und ZIETHE<sup>86</sup> ab (siehe Abb. 20). Aufgrund der Ähnlichkeit zum Gentransfektionslipid CTAB<sup>®</sup> sollten Variationen des Bolaamphiphils **73d** synthetisiert und einzelne Verbindungen hinsichtlich ihrer Transfektionseffizienz getestet werden. Es waren Kettenlängen von 16, 22 und 32 Methyleneinheiten sowie verschiedene Amin- und Ammoniumkopfgruppen geplant. Für die unterschiedlich funktionalisierte C32-Kette sollte außerdem ein alternativer Syntheseweg erarbeitet werden.



**Abb. 20:** Unsymmetrische Bolaamphiphile nach ZIETHE<sup>86</sup> (**73d**) und HEISER<sup>69</sup> (**78b**)

Für die Testung als potentielle Liposomenbildner waren auch einige Abkömmlinge der Verbindung **78b** sowie die neuartigen, zweikettigen Bolalipide **85a/b/c** mit keilartiger Form (siehe Abbildung 21) vorgesehen. Aufgrund des unterschiedlichen Raumbedarfs der beiden Kopfgruppen induzieren unsymmetrische Bolaamphiphile bei paralleler Anordnung eine Membrankrümmung, was zu besonders stabilen Vesikeln führen könnte. Um der von YAMAUCHI<sup>46</sup> beschriebenen Regidität von sehr langen Alkylketten entgegenzuwirken, war basierend auf den Erfahrungen bei den symmetrischen, methylverzweigten Verbindungen (siehe Kap. 2.3.1) auch die Einführung einer methylverzweigten Alkylkette vorgesehen.



**Abb. 21:** Zielstrukturen der unsymmetrischen, zweikettigen Bolaamphiphile

Als kleinere der beiden Kopfgruppen wurde die Hydroxylfunktion bei allen Zielfunktionen ausgewählt. Es hatte sich gezeigt, dass es bei der Anknüpfung größerer Kopfgruppen an einkettige Grundgerüste zu Packungsproblemen bei der Ausbildung einer für die Liposomenbildung notwendigen lamellaren Struktur kommen kann. In solchen Fällen traten unter anderem Aggregationsphänomene wie Faser<sup>116</sup>- oder Nanoröhrenbildung<sup>106</sup> auf.

## 2.2.2 Endständig geschützte Hexadecyl- und Docosylbromide

Als Ausgangsstoff für die Bolaamphiphile mit einer Kettenlänge von 16 Methyleneinheiten diente das häufig verwendete 16-Hexadecanolid **52**.<sup>57,113</sup> Dieses wurde über mehrere Zwischenstufen in das benötigte 16-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **57** überführt (siehe Abb. 22). Dazu wurde das Lacton **52** zunächst durch katalytische Mengen *p*-TosOH und zwanzigstündiges Erhitzen in Methanol geöffnet.<sup>117</sup> Bei dieser Umesterung wurde die moleküleigene ω-Hydroxygruppe in der Esterfunktion durch Methanol ersetzt. Nach dem Umkristallisieren aus Heptan wurde der Methylester **53** zu 87 % rein erhalten. Um die nun freie OH-Funktion für die Synthesen der Zielstrukturen mit einer Hexadecylkette zu konservieren beziehungsweise für GRIGNARD-Synthesen (siehe Kap. 2.2.3) zu blockieren, wurde die THP-Schutzgruppe eingeführt. Unter Berücksichtigung der niedrigeren Reaktivität von langkettigen Alkoholen wurde der Überschuss an 3,4-Dihydro-2*H*-pyran (DHP) auf das 1,7-fache gesteigert. Ansonsten lief die Reaktion wie von MIYASHITA<sup>75</sup> beschrieben in Methylchlorid mit Pyridiniumtosylat (PyrTos) als Katalysator ab. Aufgrund der quantitativen Umsetzung wurde das Rohprodukt **54** ohne weitere Reinigung zum Alkohol **55** reduziert. Hierfür hat sich die Verwendung komplexer Metallhydride wie Lithiumaluminiumhydrid bewährt (siehe Kap. 2.1.3).<sup>83</sup> Wie bei der vorherigen Reaktion konnte durch den Einsatz größerer Mengen der benötigten Reagenzien (Ester:LiAlH<sub>4</sub> 1:1, n/n) ebenfalls eine sehr hohe Ausbeute von 93 % erzielt werden. Um die Abspaltung der acetalischen THP-Schutzgruppe zu vermeiden, wurde bei der Aufarbeitung auf das Ansäuern verzichtet. Stattdessen wurde der entstandene Al(OH)<sub>3</sub>-Niederschlag mehrfach ausgeethert.

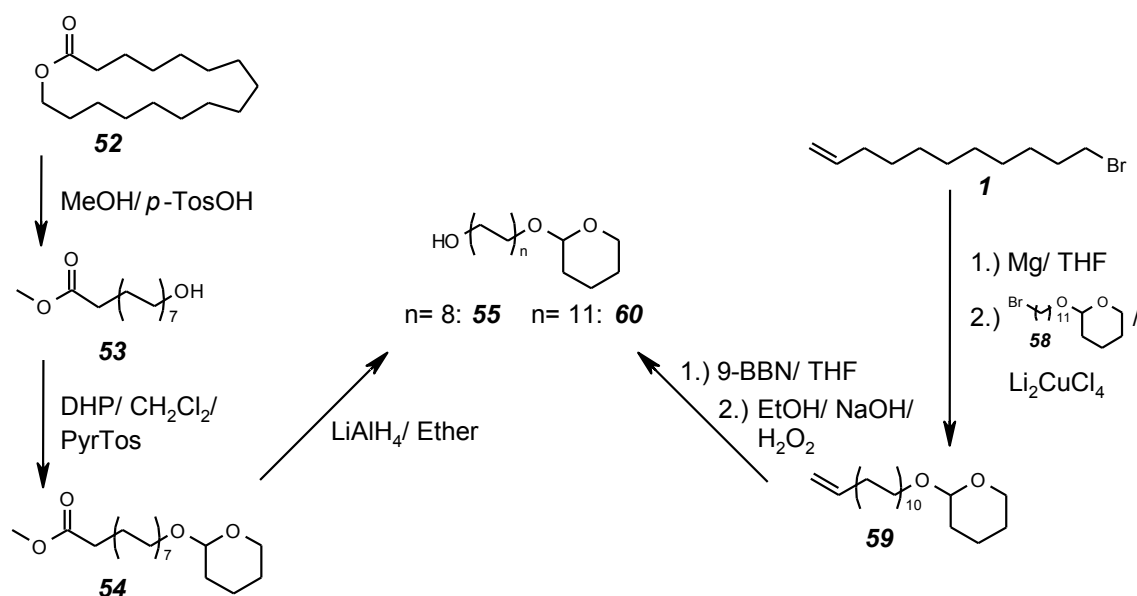
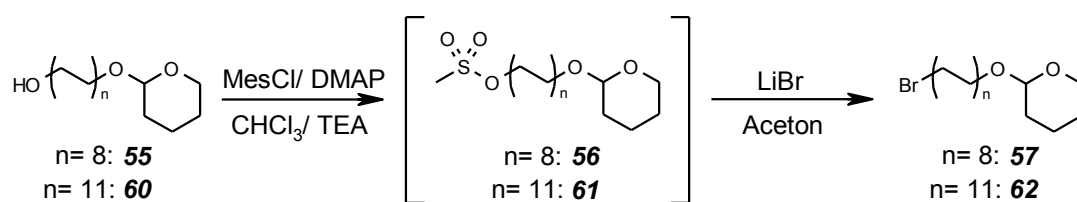


Abb. 22: Synthese der ω-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)alkan-1-ole **55** und **60**

Die Synthese des längerkettigen 22-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)docosans **62** verlief ebenfalls über die Zwischenstufe eines einseitig THP-gekuppelten Diols. Da es hierfür aber keine kommerziell erhältliche Vorstufe gab, musste die entsprechende Docosylkette zunächst durch GRIGNARD-Kupplung aufgebaut werden. Vor dieser Reaktion musste das verwendete 11-Bromundecan-1-ol allerdings noch als THP-Ether **58** geschützt,<sup>75</sup> chromatographisch gereinigt und getrocknet werden. Abweichend zu den Angaben von HEISER<sup>74</sup> wurde das GRIGNARD-Reagenz aus dem 11-Bromundec-1-en **1** mit Magnesium in THF und nicht in Diethylether gebildet. Da die eigentliche Kupplung der Kette auch in wasserfreiem THF stattfand, konnte somit der Lösungsmittelwechsel ausgespart werden. Die nach der Säulenchromatographie erhaltene Ausbeute betrug 89 %.

Die endständige Doppelbindung des THP-Ethers **59** stellte bereits eine latente funktionelle Gruppe dar, weil diese durch Addition von Wasser in einen Alkohol umgewandelt werden kann. Für die selektive Synthese des primären Alkohols **60**, also formal einer anti-MARKOWNIKOW-Addition von Wasser, wurde zunächst mit 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN) hydroboriert und anschließend oxidativ aufgearbeitet (siehe Abb. 22). Einer modifizierten Vorschrift nach BROWN<sup>114</sup> folgend wurde das Olefin vorgelegt und die 9-BBN-Lösung zugetropft.<sup>74</sup> Die Umsetzung wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und war nach einer auf 12 h verlängerten Reaktionszeit quantitativ abgelaufen. Durch Probleme bei der Reinigung (SC) blieb die Ausbeute allerdings bei 73 %.

Die beiden  $\omega$ -(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)alkan-1-ole **55** und **60** konnten schließlich in zweistufigen Reaktionen in die Bromide **57** und **62** überführt werden. Im ersten Schritt wurden die Alkoholfunktionen mit Methansulfonsäurechlorid und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) zu den Mesylaten **56** und **61** umgesetzt. Danach konnte die Mesylfunktion als gute Abgangsgruppe gegen das Bromid substituiert werden.<sup>118</sup>



**Abb. 23:** Synthese der  $\omega$ -Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)alkane **57** und **62**

Um die Verwendung von Pyridin zu vermeiden, wurde durch Abwandlung der Vorlage von MORI<sup>118</sup> Chloroform als Lösungsmittel verwendet. Die während der Reaktion entstehende Salzsäure wurde mit Triethylamin als Hilfsbase abgefangen. Bei der Aufarbeitung wurde ebenfalls bei basischem pH gearbeitet, um eine Abspaltung der säureempfindlichen THP-Schutzgruppen zu unterbinden. Nach der Substitution durch Bromid und der abschließenden SC ergaben sich Ausbeuten von 82 % **57** und 68 % des längerkettigen **62**.



### 2.2.3 Endständig geschützte Dotriacontanolderivate

Die Synthese von ungleich funktionalisierten C32-Ketten nach HEISER<sup>74</sup> war wegen der beiden vorgesehenen GRIGNARD-Kupplungen verhältnismäßig aufwendig und störanfällig. Deshalb sollte für diese Problemstellung eine einfachere Lösung gefunden werden. Den Ausgangspunkt stellte das 16-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **57** dar, welches DRESCHER<sup>57</sup> für die Darstellung langkettiger, symmetrischer Bis(phosphocholine) verwendete. Wie beschrieben,<sup>57</sup> wurde die Alkylkette mit 32 Methyleneinheiten also in einer einzigen GRIGNARD-Reaktion synthetisiert. Dazu wurde zunächst die Hälfte des Bromids **57** mit Magnesium in trockenem THF in das 16-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecylmagnesiumbromid überführt und danach mit dem Rest des Bromids unter Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Katalyse<sup>76</sup> verknüpft. Nach der Abspaltung der THP-Schutzgruppen wurde das Dotriacontan-1,32-diol **63** in 71%iger Ausbeute aus Heptan kristallisiert.

Die angestrebte Monobenzilylierung von **63** in trockenem THF mit Benzylbromid und katalytischen Mengen Tetrabutylammoniumiodid<sup>119</sup> gelang zunächst nicht. Die notwendige Alkoholatbildung mit Natriumhydrid war selbst in der Siedehitze nicht möglich. Durch den Austausch des Lösungsmittels gegen die höher siedenden Toluol (Variante A) und Xylol (Variante B) konnte dies allerdings umgangen werden. Ein weiteres Problem war, dass der gewünschte Monobenzylether **64** besser löslich als das Edukt war und so zum wertlosen, zweifach benzylierten Nebenprodukt weiterreagieren konnte. Aufgrund der geringen Reaktivität des langkettigen Alkohols und Alkoholats hat sich die Verwendung von einem Äquivalent Benzylbromid je Hydroxylfunktion bewährt. Auch durch die beschriebenen Abwandlungen der Reaktionsbedingungen konnten nicht mehr als 22 % (Variante A) bzw. 32 % (Variante B) des Produkts **64** isoliert werden.

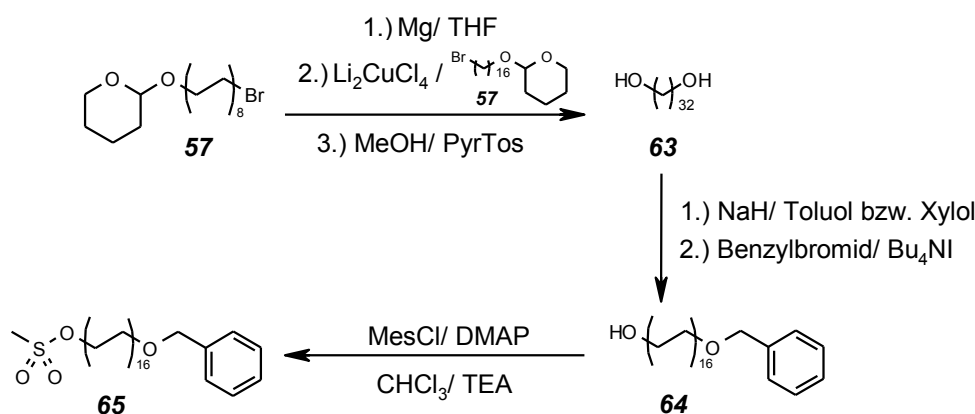


Abb. 24: Synthese der  $\omega$ -geschützten Dotriacontanderivate, Weg I

Da die verwendete Benzylfunktion UV-aktiv ist, bot es sich an, die Reinigung der Rohprodukte mit der MPLC durchzuführen, da diese mit einem entsprechenden Detektor ausgestattet ist. So konnte der Chromatographieverlauf besser beobachtet und folglich der Laufmittelgradient effektiver und schneller angepasst werden. Wie auch schon bei anderen

Alkoholen (siehe Kap. 2.1.6) konnte die Zielverbindung **64** nach Abtrennung der unpolaren Nebenprodukte mit reinem Chloroform durch Zusatz von 1 % (V/V) Diethylether zum Laufmittel in wenigen Fraktionen rein eluiert werden.

Um *O*-Alkylierungsreaktionen am Glycerol zu ermöglichen, wurde aus dem Alkohol **64** der Methansulfonsäureester **65** hergestellt. Eine anschließende Substitution der Mesylfunktion gegen Bromid war nicht notwendig, da auch Mesylate für die Synthese von Glycerylthern geeignet sind.<sup>49,120</sup> Zur Anwendung kam auch diesmal wieder die modifizierte Methode nach MORI<sup>118</sup> in Chloroform/Triethylamin. Aufgrund der schlechten Löslichkeit im Reaktionsmedium und der damit verbundenen geringen Reaktivität des langkettigen Alkohols **64** wurde das Methansulfonsäurechlorid in 3,6-fachem Überschuss eingesetzt. Zusätzlich wurde der Ansatz nach dem Zutropfen des Säurechlorids vorsichtig bis zum vollständigen Lösen des Edukts erwärmt und über Nacht gerührt. Durch die Anpassung der Reaktionsbedingungen konnte nach der SC mit einem Heptan/Chloroform-Gradienten eine Ausbeute von 92 % verzeichnet werden.

Die soeben beschriebene Synthesestrategie hat gezeigt, wie kompliziert und ineffektiv es sein kann, unsymmetrische Verbindungen aus langkettigen, symmetrischen Vorstufen darzustellen. Stattdessen ist es sinnvoller, die unsymmetrische Form der Edukte für die Produkte zu erhalten. Der Kerngedanke war, die Benzylschutzgruppe schon früher einzuführen, um bei der GRIGNARD-Reaktion ein benzylgeschütztes mit einem THP-geschützten 16-Bromhexadecan-1-ol zu verknüpfen.

Als eine Komponente stand wiederum das 16-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)-hexadecan **57** zur Verfügung. Für den Zugang zum 1-Benzyl-oxy-16-bromhexadecan **67** hat sich die Synthesestrategie für das Bromid **57** als vorteilhaft erwiesen. Zum einen konnte die Vorstufe 16-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecan-1-ol **55** und zum anderen das Bromid **57** selbst Verwendung finden. Im Sinne der WILLIAMSON'schen Ethersynthese wurden sie mit Benzylbromid bzw. Benzylalkohol verethert (siehe Abb. 25). Im Gegensatz zur Synthese des Monobenzylethers **64** (siehe S. 28) konnte die Reaktion auch in THF durchgeführt werden (Variante A: 54 %).<sup>119</sup> Durch den Austausch des Solvens gegen Toluol wurde auch hier die Ausbeute von 16-Benzyl-oxy-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)-hexadecan **66** gesteigert (Variante B: 70 %). Wurde der Alkohol **55** mit Natriumhydrid in das Alkoholat überführt und mit Benzylbromid umgesetzt, so sank die Ausbeute auf 58 % (Variante C). Die letztgenannte Vorgehensweise war den anderen beiden dennoch vorzuziehen, weil dabei zwei Synthesestufen eingespart werden konnten. Das beste Resultat bei der Reinigung wurde durch SC mit einem Heptan/Chloroform-Gradienten und Zusatz von TEA erreicht.

Die THP-Funktion der Verbindung **66** wurde schließlich mit Hilfe von Triphenylphosphoniumdibromid gegen ein Bromatom ausgetauscht,<sup>77</sup> so dass schließlich das 1-Benzyl-oxy-16-bromhexadecan **67** erhalten wurde. Obwohl sie ebenfalls ein Sauerstoffatom enthält, wurde die Benzyl-oxyfunktion unter den in der Literatur angegebenen Bedingungen nicht substituiert. Nach der SC ergab sich eine hervorragende Ausbeute von 99 %.

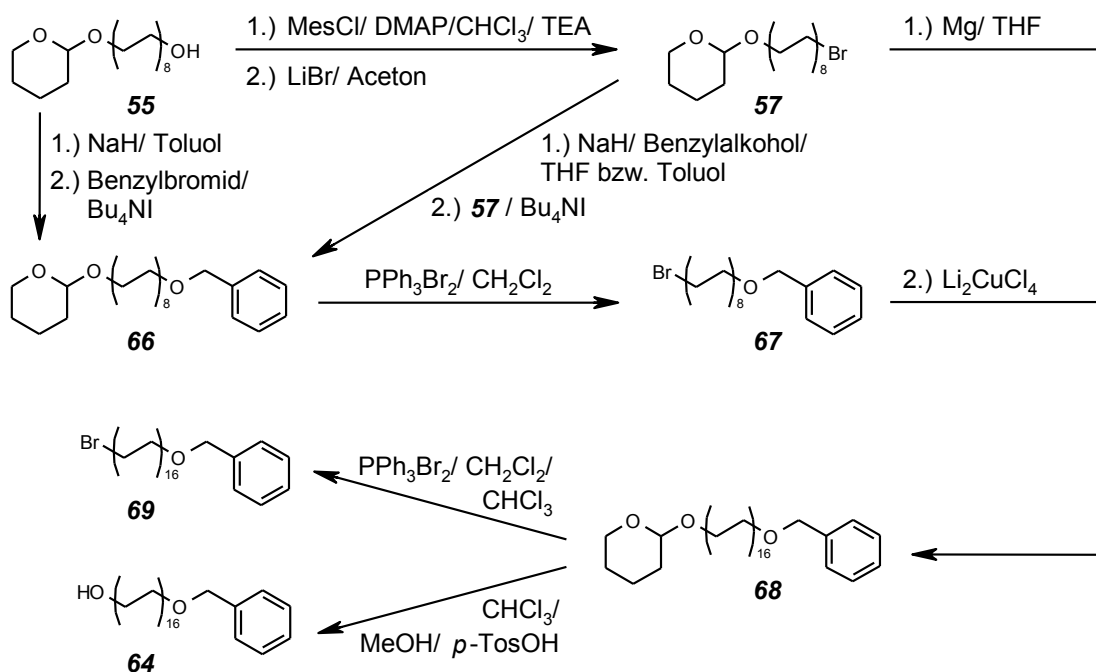


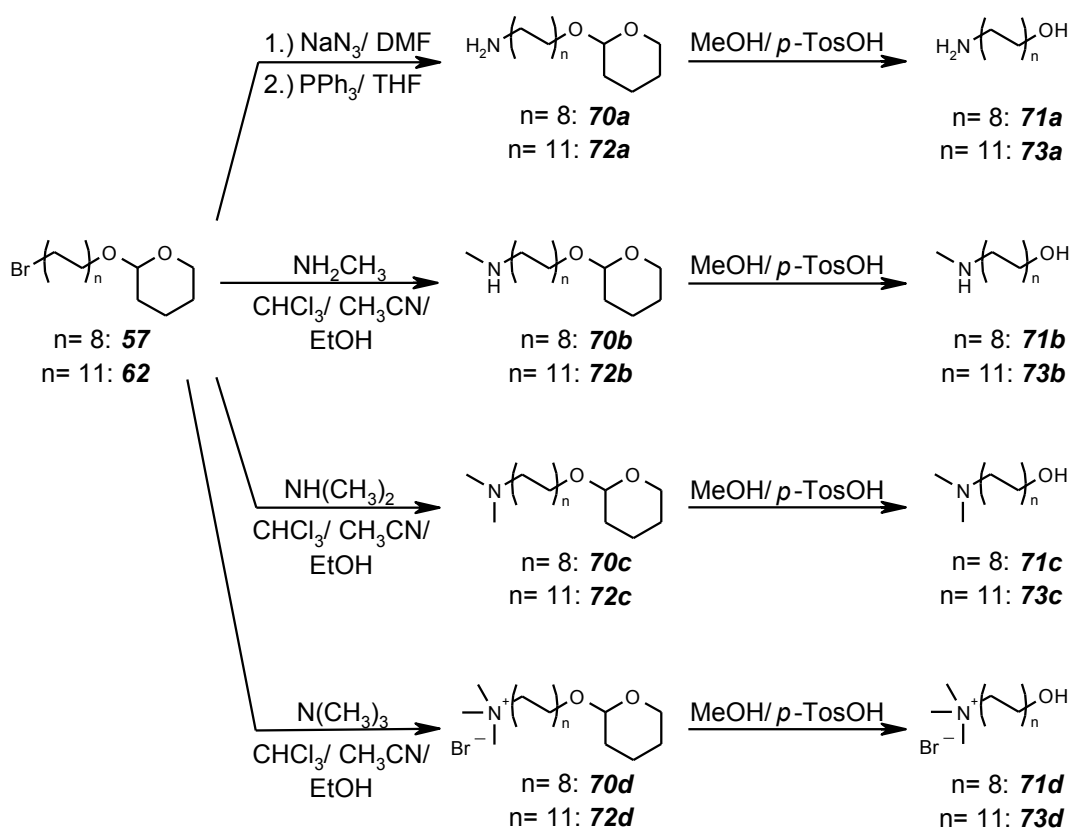
Abb. 25: Synthese der ω-geschützten Dotriacontanderivate, Weg II

Die GRIGNARD-Reaktion folgte der gleichen Prozedur wie die Synthese des Diols **63**,<sup>57</sup> nur dass im zweiten Schritt diesmal das 1-Benzyl-oxy-16-bromhexadecan **67** mit 16-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecylmagnesiumbromid zum unterschiedlich geschützten Diol **68** verknüpft wurde. Anzumerken bleibt noch, dass sich der Ansatz zum Ende der Reaktion nicht wie gewohnt rötlich, sondern schwarz verfärbte. Die Umkehrung der Reaktionsreihenfolge, also Bildung des GRIGNARD-Reagenz aus **67** und Kupplung mit **57**, brachte die gleichen Ergebnisse. In einem ersten Reinigungsschritt konnten die nicht gekuppelten Hexadecanderivate durch Umkristallisieren aus getrocknetem Aceton abgetrennt werden. Längerkettige Verunreinigungen, die aufgrund von Transmetallierungen<sup>76</sup> entstanden waren und abweichende Schutzgruppenkombinationen aufwiesen, wurden schließlich durch SC mit einem Heptan/Ether-Gradienten unter TEA-Zusatz abgetrennt. Die Ausbeute lag bei 57 %.

In nachfolgenden Reaktionen konnte nun die THP-Gruppe wahlweise gegen Brom ausgetauscht<sup>77</sup> oder mit *p*-Toluolsulfonsäure in Methanol<sup>121</sup> abgespalten werden. Wegen der schlechten Löslichkeit des Edukts **68** wurde den Reaktionsmedien jeweils 50 % (V/V) Chloroform zugesetzt. Bei der THP-Abspaltung war dreistündiges Erhitzen unter Rückfluss notwendig. Nach der SC mit für Alkoholen und Bromiden üblichen Laufmitteln waren Ausbeuten von 90 % des Bromids **69** bzw. 91 % des Alkohols **64** (Variante C) zu verzeichnen. Auch wenn die GRIGNARD-Kupplung zum unsymmetrischen Produkt **68** in geringerem Maße ablief, so konnte durch die sehr gut verlaufenden Folgereaktionen ein deutlich besserer Zugang zu den Vorstufen **64** und **69** gefunden werden. Diese standen nun in ausreichender Menge für Phosphorylierungs-, Alkylierungs- und Quarternierungsreaktionen zur Verfügung.

## 2.2.4 $\omega$ -Hydroxyalkylamine und -ammoniumsalze mit Kettenlängen von 16 bzw. 22 Methyleneinheiten

Die endständig funktionalisierten Alkylamine und -ammoniumsalze sollten größtenteils durch Quarternierungsreaktionen erhalten werden. Die Synthese der primären Amine **70a** und **72a** durch Umsetzung der  $\omega$ -Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)alkane **57** und **62** mit Ammoniak erschien allerdings wenig sinnvoll, da die Produkte mit den Alkylbromiden zu unerwünschten mehrfach alkylierten Aminen weiterreagieren würden. Damit entstünde ein schwer zu trennendes Produktgemisch, das wohl nur noch einen geringen Anteil der Zielverbindungen enthielte. Als Alternative diente eine Vorschrift von SCHULZE,<sup>122</sup> bei der auf die STAUDINGER-Reaktion zurückgegriffen wurde. Anstelle von Mesylaten wurden dazu die Bromide **57** und **62** zunächst durch nucleophile Substitution mit Natriumazid in trockenem Dimethylformamid (DMF) in die entsprechenden Azide überführt. Problematisch war lediglich, dass die Bromide von den Aziden bei der dünnschichtchromatographischen Verlaufskontrolle nur schwer zu unterscheiden waren. Bei der anschließenden STAUDINGER-Reaktion wurde schließlich die Azidfunktion zum primären Amin reduziert. Dabei bildeten sich zunächst unter Stickstoffabspaltung Iminophosphorane, die durch Wasserzugabe in die Amine **70a** und **72a** sowie Triphenylphosphinoxid hydrolysiert wurden.<sup>123</sup> Nach der Reinigung durch MPLC konnten Ausbeuten von 62 % (**70a**) und 84 % (**72a**) erzielt werden, die somit auch auf dem Niveau der Quarternierungen lagen (siehe Tab.4, S.33).



**Abb. 26:** Synthese der  $\omega$ -Hydroxyalkylamine und -ammoniumsalze **71a/b/c/d** und **73a/b/c/d**

Wie bereits erwähnt, wurden die restlichen  $\omega$ -(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)alkylamine und -ammoniumsalze **70b/c/d** und **72b/c/d** durch Quarternierung dargestellt. Zu diesem Zweck wurden die Alkylbromide **57** und **62** in dem von EIBL<sup>100</sup> beschriebenen Reaktionsmedium aus Chloroform/Acetonitril 1:1 (V/V) aufgenommen und mit einer ethanolischen Lösung des entsprechendenamins versetzt (siehe Abb. 26). Ein eventuell noch vorhandener Bodensatz der Edukte ging beim mehrstündigen Temperieren der Ansätze auf 50 °C in Lösung. Die Synthesen zu den tertiären Aminen **70c+72c** und den quartären Ammoniumsalzen **70d+72d** liefen laut DC-Kontrolle quantitativ ab. Bei den Umsetzungen mit Methylamin zu den sekundären Aminen **70b+72b** wurden trotz des zehnfachen Überschusses an Amin die zweifach alkylierten Methylamine zu 10-15% als Nebenprodukte gebildet. Diese konnten bei der säulenchromatographischen Reinigung problemlos abgetrennt werden.

Bei der Aufarbeitung hat sich das Waschen mit Wasser bzw. wässriger Kaliumhydroxidlösung insbesondere bei den Verbindungen **70d** und **72d**, als schwierig erwiesen. Während man die Amine **70b/c** und **72b/c** durch Deprotonierung noch in die organische Phase drängen konnte, war es bei den permanent geladenen quartären Ammoniumsalzen sehr mühsam, sie vollständig aus der wässrigen Phase zu extrahieren. Genau wie bei den symmetrischen Bis(phosphocholin) **30a/b/c** und **51a/b/c** (siehe Kap. 2.1.9) war es auch bei den Ammoniumsalzen **70d** und **72d** günstiger, den Waschschriff auszulassen und diese Produkte nach dem Einengen direkt durch Chromatographie zu reinigen. Bei der SC bzw. MPLC haben sich wiederum die hydrophilen Eigenschaften, insbesondere von **70d** und **72d**, als problematisch erwiesen. Ihre schlechte Löslichkeit in organischen Solventien sowie ihre mutmaßlich hohe Affinität zum Kieselgel sorgten für eine Peakverbreiterung mit Tailing und wahrscheinlich einem Verbleiben von Substanz auf der Säule. Trotz vollständiger Umsetzung laut DC-Kontrolle lagen die Ausbeuten von **70c/d** und **72c/d** nur zwischen 58 % und 90 %. Durch die Bildung eines Nebenproduktes lieferten die Synthesen für die sekundären Amine **70b** und **72b** mit 48 % und 58 % nochmals etwas weniger Produkt (Ausbeuten siehe Tab. 4).

Im letzten Schritt zur Synthese der  $\omega$ -Hydroxyalkylamine und -ammoniumsalze wurde schließlich die THP-Funktion abgespalten. Die vorliegende Acetalstruktur ist zwar im Basischen stabil, gegen Säuren hingegen ist sie leicht spaltbar. Durch Umacetalisierung wurde die THP-Schutzgruppe von der Alkylkette der Edukte auf das Methanol übertragen. Um das Reaktionsgleichgewicht auf die Seite der Produkte zu verschieben, wurde Methanol auch als Reaktionsmedium eingesetzt, worin die Ausgangsstoffe in der Siedehitze löslich waren. Als Katalysator wurde *p*-Toluolsulfonsäure verwendet,<sup>121</sup> das nur für die Abspaltungsreaktionen von **70d** und **72d** in katalytischen Mengen eingesetzt wurde. Die basischen Verbindungen **70a/b/c** und **72a/b/c** mussten mit einer äquimolaren Menge *p*-TosOH neutralisiert werden. Erst ein Überschuss konnte die Reaktion katalysieren. Abweichend von der Vorlage von SHENVI<sup>121</sup> mussten die Ansätze für drei Stunden unter Rückfluss gehalten werden. Danach waren jeweils die Produkte **71a/b/c/d** und **73a/b/c/d** ausgefallen und die Reaktionen abgeschlossen. Der Katalysator wurde mit 0,1 M KOH ausgewaschen. Wie bereits

bei den Quarternierungsreaktionen diskutiert, wurden die Ausbeuten trotz quantitativer Umsetzung abermals durch die chromatographische Reinigung geschmälert (siehe Tab. 4).

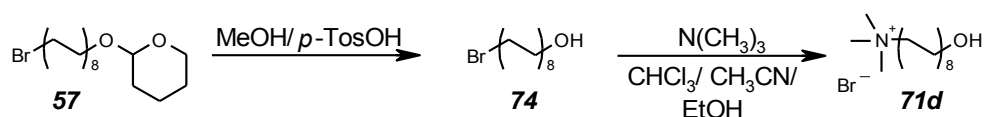
Verbindung	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
<b>70</b>	62 % <sup>a</sup>	48 % <sup>b</sup>	90 % <sup>b</sup>	87 % <sup>b</sup>
<b>72</b>	84 % <sup>a</sup>	58 % <sup>b</sup>	68 % <sup>b</sup>	58 % <sup>b</sup>
<b>71</b>	79 % <sup>c</sup>	85 % <sup>c</sup>	76 % <sup>c</sup>	68 % <sup>c</sup>
<b>73</b>	81 % <sup>c</sup>	80 % <sup>c</sup>	73 % <sup>c</sup>	58 % <sup>c</sup>

**Tab. 4:** Ausbeuten der Synthesen durch STAUDINGER-Reaktion,<sup>a</sup> Quarternierung<sup>b</sup> und THP-Abspaltung<sup>c</sup>

Bei den Reinigungsergebnissen erwiesen sich in diesem Fall SC und MPLC als ebenbürtig. Substanzverluste traten sowohl bei den THP-geschützten Verbindungen **70a/b/c/d** und **72a/b/c/d** sowie den Alkoholen **71a/b/c/d** und **73a/b/c/d** mit beiden Methoden gleichermaßen auf. Der Unterschied lag hier in der Geschwindigkeit. Besonders die Chromatographie der basischen Verbindungen konnte sehr effektiv gestaltet werden. Zunächst wurden die unpolaren Verunreinigungen mit Chloroform/Methanol-Mischungen abgetrennt, bevor dann durch Steigerung des Ammoniakanteils im Laufmittel die Produkte DC-rein eluiert werden konnten.

Da bei der Absicherung der Strukturen durch die übliche Analytik bei stickstoffhaltigen Verbindungen keine zutreffenden Elementaranalysen erhalten werden konnten, wurde die Verbindung **71d** auch auf einem alternativen Weg dargestellt.

Durch Umkehrung der bisherigen Reaktionsfolge wurde erst die THP-Schutzgruppe abgespalten<sup>121</sup> und danach mit Trimethylamin quarterniert<sup>100</sup> (siehe Abb. 27).



**Abbildung 27:** Synthese von 16-Hydroxyhexadecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid **71d** (Variante B)

Da bei diesem Weg die Zielstellung darin lag, Verunreinigungen möglichst sicher auszuschließen, wurde zunächst an der MPLC chromatographiert und anschließend noch umgefällt. Dazu wurde das Produkt in wenig Chloroform/Methanol 4:1 (V/V) gelöst, mit getrocknetem Ether gefällt und bei 4 °C zentrifugiert. Durch die aufwendige Reinigung sank die Ausbeute auf 27 %. Das DC-reine, weiße Produkt **71d** lieferte allerdings noch stärker abweichende Elementaranalysen. Aus diesem Grund wurde letztendlich die hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS) durchgeführt, wobei die Identität aller Produkte bestätigt werden konnte.

## 2.2.5 32-Hydroxydotriacontanylammoniumbromid und -phosphocholinderivate

Im Gegensatz zu den kürzeren Ammoniumsalzen **70d** und **72d** (siehe Kap. 2.2.4) wurde das korrespondierende Ammoniumsalz **76** mit einer Kettenlänge von 32 Methyleneinheiten aus dem benzylgeschützten Alkylbromid **69** synthetisiert. Die Verfahrensweise, zunächst das Bromid zu quarternieren und erst danach die Schutzgruppe abzuspalten, wurde beibehalten. Im ersten Schritt wurde das Edukt **69** wiederum in Chloroform/Acetonitril 1:1 (V/V)<sup>100</sup> suspendiert und nach Zugabe einer ethanolischen Trimethylaminlösung 10 h bei 50 °C inkubiert. Nach dem vorsichtigen Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt **75** durch SC mit Chloroform/Methanol 85:15 (V/V) gereinigt. Dabei erleichterte die UV-aktive Benzylschutzgruppe die Detektion. Die erzielte Ausbeute von 62 % entspricht dem Ergebnis des vergleichbaren Lipids **72d** mit Docosylgrundstruktur.

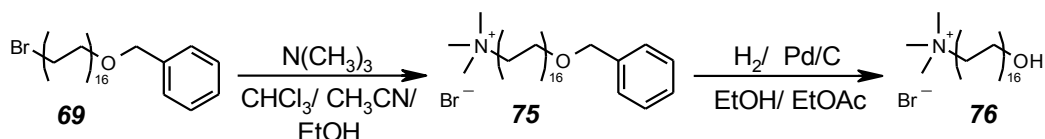
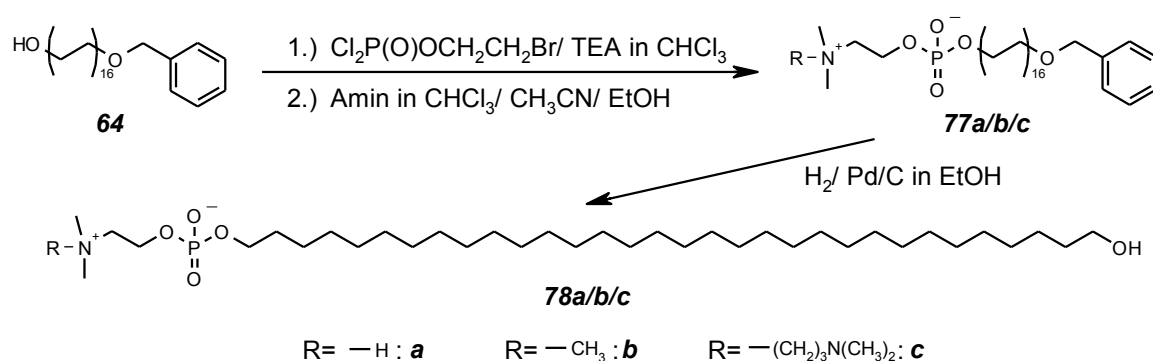


Abb. 28: Synthese von 32-Hydroxydotriacontanyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid **76**

Die Abspaltung der Benzylgruppe stellte aufgrund der geringen Löslichkeit des Ammoniumsalzes **75** in organischen Medien eine gewisse Herausforderung dar. Bei den von HEATHCOCK und RACLIFFE<sup>124</sup> beschriebenen Bedingungen für die hydrogenolytische Debenzylierung in Ethanol lief die Reaktion nicht ab. Erst in einer Mischung aus Ethylacetat und Ethanol von 1:1 (V/V) konnte bei 50 °C ein Teil des Benzylethers in Lösung gebracht werden. Die Reaktion wurde bei 5 bar Wasserdruck mit Palladium/Kohle-Katalysator 10 % durchgeführt und war nach 1 h vollständig abgelaufen. Zu Beginn der Umsetzung ungelöster Ausgangsstoff hatte sich sukzessiv im Solvens nachgelöst. Nach der Abtrennung des Katalysators durch eine kurze Säulenchromatographie ergab sich eine Ausbeute von 91 % des 32-Hydroxydotriacontanyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromids **76**. Auch hier resultierte die verminderte Ausbeute mutmaßlich aus der hohen Affinität polarer Produkte zum verwendeten Kieselgel.

Eine weitere Vergrößerung der ersten Kopfgruppe konnte durch die Einführung von Phosphocholinderivaten anstatt der Trimethylammoniumfunktion in die unsymmetrischen Bolaamphiphile erfolgen. Die Methode der Wahl war auch hier die Phosphorylierung mit 2-Bromethylphosphorsäuredichlorid,<sup>99</sup> die schon bei der Darstellung der symmetrischen Endprodukte Verwendung fand (siehe Kap. 2.1.9). Nach der Aktivierung des vierfachen Überschusses an Säurechlorid bei 0 °C mit Triethylamin wurde an dieser Stelle der Alkohol **64** in fester Form hinzugegeben und durch langsames Erwärmen auf 40 °C in Lösung gebracht. Anschließend wurde bei Raumtemperatur für 24 h gerührt und durch Hydrolyse der überzähligen Säurechloridfunktionen aufgearbeitet.

Durch Verwendung unterschiedlicher Amine bei der unmittelbar anschließenden Quarternierung wurden drei unsymmetrische Bolaamphiphile hergestellt. Der zwischenzeitlich erhaltene 2-Bromethylphosphorsäureester wurde wie üblich in Chloroform/Acetonitril 1:1 (V/V)<sup>100</sup> dispergiert und für die Synthesen der Phosphocholinderivate **77a** und **77b** mit ethanolischen Dimethyl- bzw. Trimethylaminlösungen versetzt. Für die Darstellung der 2-[*N,N*-Dimethyl-*N*-(2-dimethylaminopropyl)ammonio]ethylphosphatfunktion des Lipids **77c** wurde ein zwanzigfacher Überschuss *N,N,N',N'*-Tetramethylpropan-1,3-diamin (TMPDA) verwendet. Das war notwendig, da dieses Amin aufgrund sterischer Hinderung reaktionsträger als die anderen beschriebenen Amine ist und zum anderen eine Verbrückung zweier Bolaalipide durch Quarternierung an beiden Stickstoffatomen desamins vermieden werden sollte. Da das TMPDA als Reinstoff vorlag, wurde außerdem 1 ml Ethanol zugesetzt, um eine bessere Löslichkeit der Edukte zu ermöglichen. Nach Abschluss der Quarternierungen wurden die Ansätze am Vakuumrotationsverdampfer zur Trockne eingengt und mittels MPLC gereinigt. Das 2-(Dimethylammonio)ethylphosphat **77a** (62 %) und das Phosphocholin **77b** (60 %) konnten dabei gut von den Verunreinigungen und Nebenprodukten abgetrennt werden. Die Verbindung **77c** konnte nicht vollständig gereinigt werden, wurde aber massenspektrometrisch identifiziert. Wie sich aus der Masse des isolierten, gelblichen Feststoffs berechnen ließ, war die Umsetzung zu maximal 14 % erfolgreich abgelaufen.



**Abb. 29:** Synthese der unsymmetrischen, einkettigen Phosphocholinderivate **78a/b/c**

Im Vergleich zum Trimethylammoniumsalz **75** gestaltete sich die Abspaltung der Benzylschutzgruppe als problemlos. Die Benzylether **77a/b/c** wurden in Ethanol mit Palladium/Kohle-Katalysator 10 % hydriert.<sup>124</sup> Bei 50 °C und 5 bar Wasserstoffatmosphäre waren die Debenzylierungen in der Regel schon nach 15 min quantitativ abgelaufen. Weil die Produkte nach dem Abfiltrieren des Katalysators durch Aktivkohlereste leicht verfärbt waren, musste eine kurze SC bzw. MPLC angeschlossen werden. Dadurch sanken die Ausbeuten auf 70 % für das 32-Hydroxydotriacontanyl-2-(dimethylammonio)ethyl-phosphat **78a** und 90 % für 32-Hydroxydotriacontanyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphat **78b**. Die Ausbeute des Tetramethylpropan-1,3-diaminderivats **78c** war mit 36 % deutlich geringer, resultierte allerdings aus einem verunreinigten Ausgangsstoff.



Schlussfolgernd kann festgestellt werden, dass die Benzylschutzgruppe sehr gut für die Synthese von Bolaamphiphilen geeignet ist. Im Gegensatz zur THP-Schutzgruppe (zum Vergleich siehe Kap. 2.2.4) kann sie mit wenig Aufwand hydrogenolytisch abgespalten werden. Der bei polaren Substanzen ungünstige Waschschritt zum Abtrennen der katalysierenden Säure kann somit umgangen werden. Lediglich die Einführung der Benzylfunktion ist aufwendiger und sollte deshalb zu Beginn einer Mehrstufensynthese erfolgen.

## 2.2.6 Glycerolhaltige, zweikettige Bolaamphiphile

Die bisher beschriebenen *O*-Alkylierungen waren auf etwa 70 % Ausbeute limitiert. Für die Synthese der unsymmetrischen, glycerolhaltigen Modellverbindungen wurde deshalb eine alternative Variante erprobt, die nach Angaben von KAKINUMA<sup>49</sup> bis zu 86 % Produkt versprach. Dazu wurde das IP-Glycerol **22** in wasserfreiem DMSO mit paraffinfrei gewaschenem Natriumhydrid deprotoniert. Nach dem Zutropfen des Mesylats **65** sollte die Reaktion bei Raumtemperatur binnen 5 h abgelaufen sein. Da nach 24 h kein Stoffumsatz zu erkennen war (DC-Kontrolle), wurde der Versuch schließlich abgebrochen. Ein Grund für das Scheitern dieser Synthese ist sicherlich auch in der geringen Löslichkeit des Mesylats **65** in DMSO zu suchen. Allerdings hätte sich dann ungelöstes Edukt im Laufe der Reaktion nachlösen müssen. Es wurde also wieder auf die bewährte Methode mit Salzbildung durch Kaliumhydrid und Erwärmen unter Rückfluss zurückgegriffen (siehe Kap. 2.1.5). Dabei konnte das gewünschte 1,2-*O*-Isopropyliden-3-*O*-(32-benzyloxydotriacontanyl)-*sn*-glycerol **79** sowohl aus dem Mesylat **65** als auch aus dem Bromid **69** dargestellt werden. Durch die Verwendung von bis zu zwei Äquivalenten des IP-Glycerols **22** je Alkylbromidmolekül konnten Ausbeuten von 70 % realisiert werden. Aus dem Mesylat **65**, das allerdings nur mit äquimolaren Mengen der Alkoholatkomponente umgesetzt wurde, resultierten 44 % des Ethers **79**.

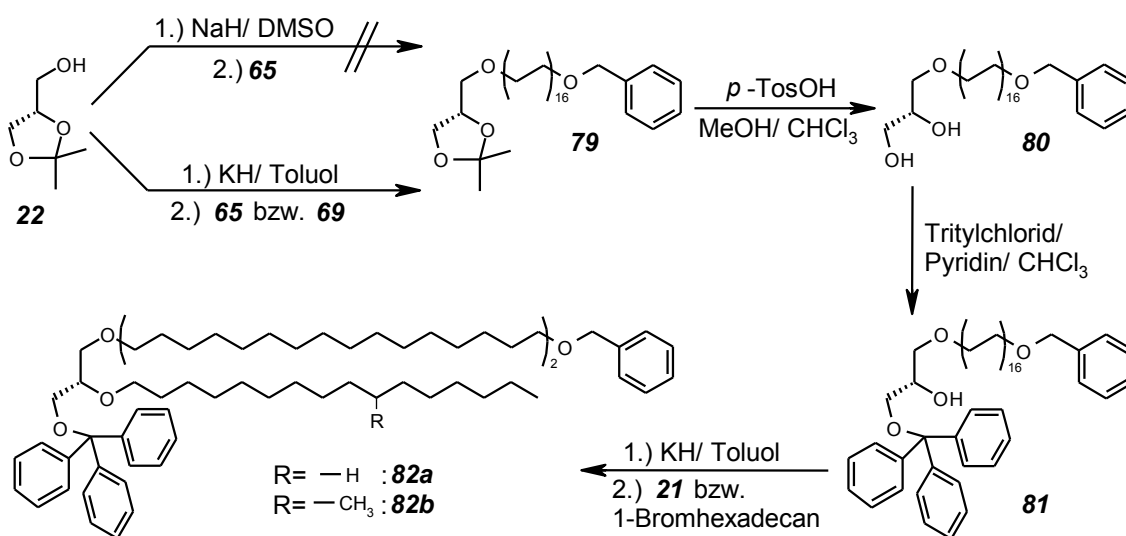
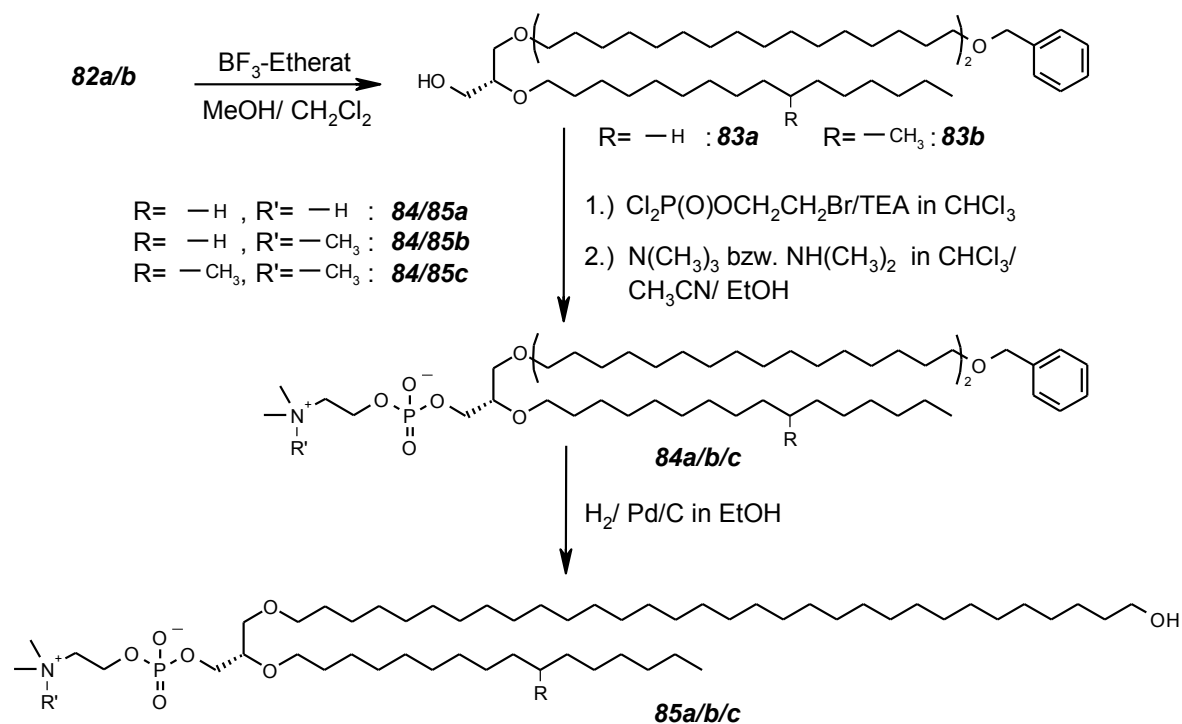


Abb. 30: Synthese der unsymmetrischen 1-*O*-Trityl-2,3-*O*-dialkylglycerole **82a** und **82b**

Die Abspaltung der Isopropylidenfunktion erfolgte mit *p*-Toluolsulfonsäure in Methanol.<sup>87</sup> Um eine vollständige Lösung des Acetals **79** in der Siedehitze zu ermöglichen, wurde etwas getrocknetes Chloroform im Verhältnis 5:1 (V/V) zum Methanol zugesetzt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und war nach 10 h abgeschlossen. Nach dem Umkristallisieren aus Heptan konnten 82 % des Diols **80** erhalten werden. Bevor die zweite Alkylkette in *sn*-2-Position eingeführt wurde, musste die *sn*-1-Position selektiv blockiert werden. Dafür wurde wiederum die Tritylfunktion ausgewählt, da sie sich einerseits sehr gut ins Molekül einführen lässt (siehe auch Kap. 2.1.6), andererseits aber auch unabhängig von der Benzylschutzgruppe am Kettenende mit Hilfe von Bortrifluorid abspaltbar ist.<sup>92</sup> Die Synthese erfolgte mit einem 1,2-fachen Überschuss Triphenylchlormethan (Tritylchlorid), wobei das vorgeschriebene Lösungsmittel Pyridin<sup>92</sup> zur Hälfte gegen lösungsvermittelndes Chloroform ersetzt wurde. Zusätzlich wurde der Ansatz initial für 1 h auf 50 °C erwärmt. Nicht umgesetztes Tritylchlorid wurde bei der Aufarbeitung durch zweistündiges Durchmischen mit Wasser zum Tritylalkohol hydrolysiert. Dieser konnte bei der anschließenden MPLC vollständig abgetrennt werden. Aufgrund der quantitativen Umsetzung und der effektiven Reinigung ergab sich eine Ausbeute von 96 % des 1-*O*-Trityl-3-*O*-(32-benzyloxydotriacontanyl)-*sn*-glycerols **81**.

Bei den Untersuchungen der symmetrischen, methylverzweigten Bolaalipide (siehe Kap. 2.3.1) hatte sich gezeigt, dass schon racemische, methylverzweigte und nicht membran-durchspannende Alkylketten deutliche Effekte auf die physiko-chemischen Eigenschaften aufwiesen. Um auch ein unsymmetrisches, zweikettiger Bolaamphiphil mit Methylverzweigung zu synthetisieren, wurden bei der Zweitalkylierung sowohl unverzweigtes 1-Bromhexadecan als auch das verzweigte (10*RS*)-1-Brom-10-methylhexadecan **21** verwendet. Die Syntheseführung folgte im Wesentlichen der Erstalkylierung. Für die vollständige Alkoholatbildung mit Kaliumhydrid war zusätzlich einstündiges Erhitzen auf 100 °C notwendig. Aufgrund der aufwendigeren Salzbildung und der sterischen Hinderung durch die raumgreifenden Substituenten in *sn*-1- und 3-Position des Glycerolgrundkörpers sanken die Ausbeuten im Vergleich zur Erstalkylierung auf 53 % (**82a**) und 65 % (**82b**). Auch hier war die konventionelle, schwerkraftgetriebene SC (für **82b**) der MPLC (für **82a**) wegen des frei wählbaren Beladungsverhältnisses überlegen.

Wie schon angedeutet, wurde nun selektiv die Tritylfunktion abgespalten. Da unter den Bedingungen der katalytischen Hydrierung mit Wasserstoff an Metalloberflächen auch die Benzylgruppe abgespalten wird, kam für die selektive Detritylierung eine Methode nach HERMETTER und PALTAUF<sup>92</sup> zum Einsatz. Demnach wurden die Glycerolderivate **82a** und **82b** in wasserfreiem Methylenchlorid gelöst und auf 0 °C heruntergekühlt. Nach Zugabe einer Lösung aus BF<sub>3</sub>-Etherat in trockenem Methanol (1:9, V/V) wurde für 1 h gerührt, bis die Reaktion abgeschlossen war. Die Ausbeuten nach der Chromatographie entsprachen mit 75 % des Lipids **83a** und 73 % des Lipids **83b** den Literaturangaben von 76 %.<sup>92</sup>



**Abb. 31:** Synthese der unsymmetrischen, zweikettigen Phosphocholinderivate **85a/b/c**

Bei den Phosphorylierungs-<sup>99</sup> und Quarternierungsreaktionen<sup>100</sup> wurden aus den freien Alkoholen **83a** und **83b** das 2-(Dimethylammonio)ethylphosphat **84a** sowie die Phosphocholine **84b** und **84c** dargestellt. Synthese und Reinigung erfolgten analog der einkettigen, unsymmetrischen Phosphocholine (siehe Kap. 2.2.5). Die Ausbeuten lagen mit 63 % (**84a**), 54 % (**84b**) und 56 % (**84c**) auf etwa dem selben Niveau.

Als letzte verbliebene Schutzgruppe wurde schließlich die Benzylfunktion in Ethanol am Palladium/Kohle-Kontakt abgespalten.<sup>124</sup> Die Debenzylierung gelang bei 50 °C und 5 bar Wasserstoffdruck laut DC-Kontrolle innerhalb von 15 min quantitativ. Rückstände des Katalysators konnten durch SC vollständig entfernt werden. Eine zu geringe Beladung der Säulen resultierte aber auch bei den unsymmetrischen, zweikettigen Bolaamphiphilen **85a/b/c** in einer deutlichen Verminderung der Ausbeuten.

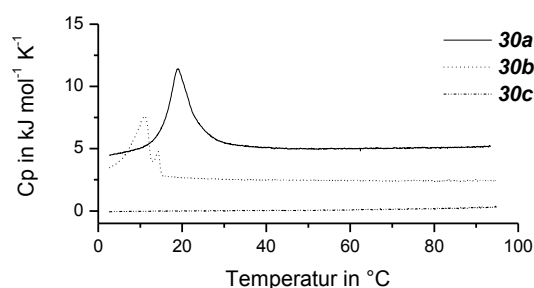
## 2.3 Charakterisierung des Phasenverhaltens bolaamphiphiler Modelllipide

Viele amphiphile Lipide aggregieren in wässrigen Systemen zu Strukturen wie Mizellen und flüssig-kristallinen Phasen oder bilden Monoschichten aus.<sup>125</sup> Ob und welche Überstrukturen auftreten können, hängt einerseits von Länge und Raumbedarf der lipophilen und hydrophilen Molekülteile ab.<sup>126</sup> Andererseits spielen auch Ladung, Hydratisierungsgrad und Temperatur eine wichtige Rolle.<sup>127</sup> Konventionelle Phospholipide, wie zum Beispiel Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC), bilden verschiedene lamellare Phasen, die temperaturabhängig ineinander umgewandelt werden können.<sup>128</sup> Auch die natürlichen Tetraetherlipide weisen einen lyotropen und thermotropen Polymorphismus auf. Aufgrund ihrer besonderen strukturellen Merkmale besitzen sie allerdings ein teilweise stark abweichendes Phasenverhalten (siehe Kapitel 1).

Da die Phasenübergänge in der Regel mit einer Wärmeaufnahme verbunden sind, eignen sich zu ihrer Detektion besonders kalorimetrische Verfahren.<sup>127</sup> Im Rahmen dieser Arbeit wurde dazu die *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) in wässriger Volumenphase angewendet. Vorteilhaft an dieser Methode ist, dass die Modellverbindungen (Übersicht siehe Kap. 5.1, S. 132) wie bei der angestrebten liposomalen Anwendung auch in einem Überschuss an Wasser vermessen wurden. Zur weiteren Aufklärung der Aggregationseigenschaften wurde die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) herangezogen, wobei die Proben entweder durch negative Kontrastierung oder die Gefrierbruchtechnik (*freeze-fracture electron microscopy*, FFEM) präpariert wurden. Sofern noch keine Erkenntnisse aus früheren Arbeiten oder von ähnlichen Verbindungen in der Literatur bekannt waren, wurden die vorliegenden flüssig-kristallinen Phasen zusätzlich mittels röntgenografischen Untersuchungen charakterisiert.

### 2.3.1 Symmetrische, methylverzweigte Bolaamphiphile

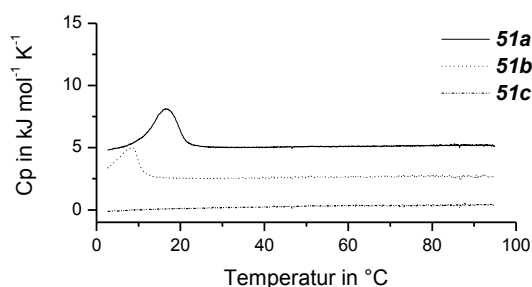
Die DSC-Messungen der symmetrischen Lipide **30a/b/c** und **51a/b/c** wurden bei Konzentrationen von 1 mg/ml in Wasser mit einer Heizrate von 20 K/h durchgeführt. In dem untersuchten Temperaturintervall zwischen 2 und 95 °C vollzog das Lipid **30a** mit den racemischen, methylverzweigten Hexadecylketten eine endotherme Phasenumwandlung bei 19,1 °C (Abb. 32). Befanden sich die Methylverzweigungen in der druckspannenden Kette (Lipid **30b**), so sank die Umwandlungstemperatur weiter auf 11,0 °C. Bei insgesamt



**Abb. 32:** DSC-Aufheizkurven der Lipide **30a/b/c** mit racemischen, methylverzweigten Alkylketten (20 K/h,  $c = 1$  mg/ml). Zur besseren Übersichtlichkeit sind die Thermogramme vertikal verschoben

vier Methylverzweigungen an allen 10- und 10'-Positionen der Alkylketten (**30c**) war kein Phasenübergang oberhalb von 2 °C mehr detektierbar. Diese Beobachtung lässt sich mit den Untersuchungen an Lipidextrakten des Archaeobakteriums *Thermoplasma acidophilum* vereinbaren, bei dem nur wenige oder gar keine Cyclopentanringe in den Alkylketten enthalten sind. Dort wurden die Phasenübergänge von der Gel- zur fluiden Phase zwischen -5 und -30 °C angegeben.<sup>25</sup>

Für die enantiomerenreinen, methylverzweigten Lipide **51a/b/c** ergab sich ein fast identisches Bild (siehe Abb. 33). Auch hier beeinflussen die längsten unverzweigten Kettenabschnitte das Phasenverhalten wesentlich. Bei der Verbindung **51a** findet man wie beim korrespondierenden **30a** neben der höchsten Umwandlungstemperatur auch den längsten unverzweigten Kettenabschnitt mit 32 Methyleneinheiten. Bei den Verbindungen **30b** und **51b** weisen die kürzeren Hexadecylreste die längsten unverzweigten Abschnitte auf. Bei den Lipiden **30c** und **51c** sind schließlich insgesamt vier Methylverzweigungen sehr gleichmäßig auf alle Alkylketten verteilt. Da die Methylverzweigungen ähnlich wie Doppelbindungen als Störstellen die Kettenpackung erschweren, sind auch die van-der-WAALS-Wechselwirkungen verringert.<sup>26,27</sup> Eine Abnahme dieser Wechselwirkungen führt zu niedrigeren Umwandlungstemperaturen ( $T_m$ ) und -enthalpien ( $\Delta H$ ), was sich in Tabelle 5 erkennen lässt.



**Abb. 33:** DSC-Aufheizkurven der optisch reinen Modellverbindungen **51a/b/c**. Die Thermogramme sind vertikal verschoben.

Verb.	<b>30</b> (rac. Ketten)		<b>51</b> (en-rein)	
	$T_m$ in °C	$\Delta H$ in kJ/mol	$T_m$ in °C	$\Delta H$ in kJ/mol
<b>a</b>	19,1	55,3	16,7	25,7
<b>b</b>	11,0	23,0	8,5	13,5
<b>c</b>	-	-	-	-

**Tabelle 5:** Phasenumwandlungstemperaturen ( $T_m$ ) und -enthalpien ( $\Delta H$ ) der symmetrischen, methylverzweigten Modelllipide **30a/b/c** und **51a/b/c**, (20 K/h, c = 1 mg/ml)

Wie schon von FUHRHOP<sup>129</sup> vermutet, konnte auch ein Unterschied zwischen den analogen racemischen und enantiomerenreinen **30a** und **51a** sowie **30b** und **51b** detektiert werden. Die Umwandlungsenthalpien und -temperaturen der enantiomerenreinen **51a+b** waren jeweils etwas niedriger als bei den korrespondierenden Verbindungen (siehe Tabelle 5). Auch dieser leichte Unterschied kann durch die van-der-WAALS-Wechselwirkungen erklärt werden. Durch die immer gleiche Ausrichtung der Methylverzweigungen bei den optisch reinen Lipiden könnte die Kettenpackung effektiver gestört werden, was schließlich zu einem weiteren Absinken der Kenngrößen  $T_m$  und  $\Delta H$  führt. Um auszuschließen, dass dieser Effekt auf Verunreinigungen der vermessenen Lipide beruht, wurde ihr Reinheitsgrad mittels HPLC bestimmt (siehe Tab. 3, S. 22). Die korrespondierenden Lipide **30a/51a** (98,98 %/ 99,02 %) und **30b/51b** (99,17 %/98,76 %) unterscheiden sich dabei nur wenig. Die Abweichungen im

Phasenverhalten sind aber in beiden Fällen sehr ähnlich, so dass der ermittelte Verunreinigungsgrad die DSC-Untersuchungen wahrscheinlich nicht beeinflusst hat.

Die Verbindung **30b** wurde bereits in früheren Arbeiten<sup>70</sup> untersucht und dabei mit einer Umwandlungstemperatur von 16,4 °C angegeben. Die Abweichung von 5,4 K kann darauf zurückgeführt werden, dass die Messung unter anderen Bedingungen durchgeführt wurde (Heizrate 5 K/min, 50 Gew.% Wasser). Röntgenographische Untersuchungen dieser Verbindung zeigten eine lamellare Schichtung in einer Gelphase mit *all-trans*-Konformation und hexagonaler Packung der Alkylketten unterhalb der Phasenumwandlung. Oberhalb von  $T_m$  lag die fluide  $L_\alpha$ -Phase vor.<sup>70</sup> Dieses Phasenverhalten wird auch für die übrigen symmetrischen Verbindungen angenommen, da die DSC-Ergebnisse insgesamt ein ähnliches Verhalten zeigen. Aufgrund des Trends zu kleineren  $T_m$  und  $\Delta H$  bei höherem Methylierungsgrad kann davon ausgegangen werden, dass die Phasenumwandlung der Lipide **30c** und **51c** unterhalb des DSC-Messbereichs liegt und sich diese Lipide oberhalb von 2 °C in der fluiden Phase befinden.

Im Vergleich zu den unverzweigten Modelllipiden von YAMAUCHI<sup>46</sup> fällt auf, dass schon zwei Methylverzweigungen genügen, um den Phasenübergang von der Gel- zur fluiden Phase von 61 °C auf 19 °C zu senken. Darüberhinaus scheinen zwei Methylgruppen in 10- und 10'-Position der durchspannenden Kette (**30b/51b**) genauso effektiv zu sein wie insgesamt acht Verzweigungen in den Phytanylresten der Modellverbindungen von YAMAUCHI<sup>47</sup> ( $T_m = 8$  °C) und THOMPSON<sup>53</sup> ( $T_m = 14$  °C). Diese Differenz zwischen den Umwandlungstemperaturen könnte darauf beruhen, dass der von THOMPSON<sup>53</sup> beschriebene Syntheseweg kein optisch reines Produkt lieferte. Außerdem ist der Reinheitsgrad von beiden Verbindungen nicht bekannt, weshalb Aussagen über den Einfluss der Chiralität spekulativ wären.

Um die Annahmen über das Phasenverhalten weiter abzusichern, wurden für die Produkte **30a/b/c** TEM-Aufnahmen angefertigt. Dafür wurden die bereits bei der DSC vermessenen Proben weiter auf eine Konzentration von 0,03 mg/ml oder 0,1 mg/ml verdünnt und mit Uranylacetat negativ kontrastiert. Für die Verbindungen **30a** und **30b** wurde das Präparieren und Trocknen der Proben sowohl bei Raumtemperatur als auch unterhalb der Phasenumwandlung bei 4 °C durchgeführt. Bei allen Substanzen und Präparationsbedingungen lagen aus lamellaren Schichten aufgebaute Liposomen vor (siehe Abb. 34).

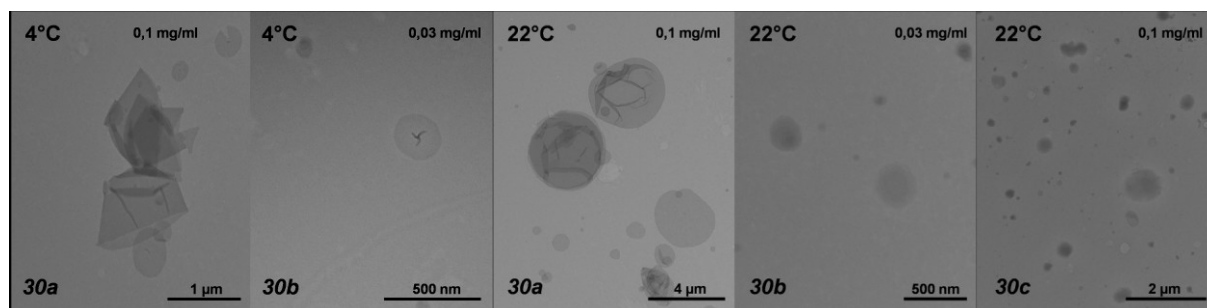


Abb. 34: TEM-Aufnahmen der Bolaamphiphile **30a/b/c**, negativ kontrastiert mit Uranylacetat

Es konnten Aggregate von unter 100 nm bis hin zu *giant vesicles* von bis zu 4  $\mu\text{m}$  Durchmesser gefunden werden, wie sie auch bei dem vollsynthetischen Tetraetherlipid **F** (siehe Kap. 2.1.1) von KAKINUMA<sup>51</sup> beschrieben wurden.

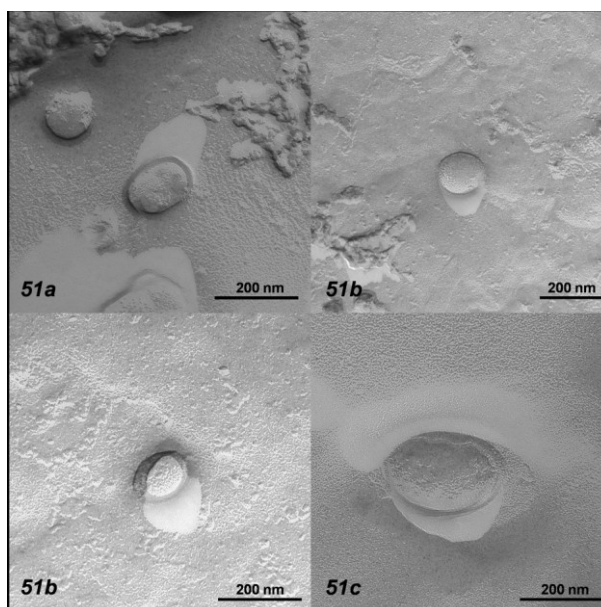
In der Gelphase unterhalb der Phasenumwandlung kam es bei der Präparation teilweise zu einem Reißen der Lipidfilme (wie bei Verb **30a**). In der fluiden  $L_{\alpha}$ -Phase war das nicht zu beobachten. Sogar die größeren Vesikel sind nach dem Trocknen der Proben noch als solche zu erkennen. Sie weisen zum Teil gefaltete Lipidschichten auf (siehe Abb. 34, **30a**, 22 °C).

Im Folgenden wurde die Fähigkeit Vesikel auszubilden für alle sechs methylverzweigten Phosphocholine genauer untersucht. Die Liposomen wurden entsprechend der Filmmethode nach BANGHAM<sup>130</sup> in Konzentrationen von 1 mg/ml hergestellt und danach durch eine Polycarbonatmembran (100 nm) extrudiert. Die Messungen mittels Photonenkorrelations-spektroskopie (PCS) ergaben mittlere hydrodynamische Durchmesser von 98-114 nm, die mit dem Porendurchmesser bei der Extrusion übereinstimmten. Die Polydispersitätsindices (PDI) lagen zwischen 0,06 und 0,21 (siehe Kap. 5.2), was für eine sehr enge Verteilung spricht.<sup>131</sup> Diese Ergebnisse zeigen somit eine gute Übereinstimmung mit dem zugrundeliegenden Modell der Messmethode, das von sphärischen Partikeln wie Liposomen ausgeht.

Die Anordnung der enantiomerenreinen Bolalipide in den Liposomenmembranen wurde durch Gefrierbrüchelektronenmikroskopie (FFEM) ermittelt. Um für diesen Zweck höher konzentrierte Proben zu erhalten, wurden jeweils 15-20 mg der Lipide **51a/b/c** je 1 ml Wasser zu Liposomen verarbeitet.<sup>130</sup> Die Verwendung von Membranen mit einem Porendurchmesser von 200 nm ermöglichte auch die Extrusion dieser relativ hoch konzentrierten Proben.

Bei der Anfertigung der Gefrierbrüche werden klassische Membranen in der Mitte der Bilschicht gespalten.<sup>18</sup> Bei den Vesikeln der synthetischen Bolalipide **51a/b/c** waren dagegen, wie bei den natürlichen Vorbildern, nur Querbrüche der gesamten Membran zu beobachten.<sup>18,19</sup> Zumindest ein Teil der Modellverbindungen nimmt also eine membrandurchspannende Anordnung ein.

Durch die Extrusion entstanden uni- (Abb. 35 oben rechts) und bilamellare Liposomen. Die Vermessung der gebrochenen Membran beim Lipid **51b** (Abb. 35 unten links) ergab jeweils eine Schichtdicke von etwa 4,4 nm und einen Zwischenraum von etwa 2,2 nm. Aufgrund des übereinstimmenden Verhaltens zu den Modellverbindungen **30a/b/c** bei der DSC und der Liposomenpräparation werden auch dort membrandurchspannende Anordnungen der Moleküle angenommen.



**Abb. 35:** FFEM-Bilder der enantiomerenreinen bis-Phosphocholine **51a/b/c**

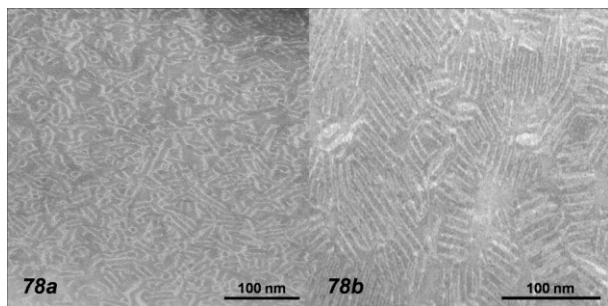
### 2.3.2 Unsymmetrische, einkettige Bolaamphiphile

Der erste Schritt bei der physiko-chemischen Untersuchung der unsymmetrischen Modellverbindungen war wiederum die Kalorimetrie in wässriger Volumenphase zwischen 2 und 95 °C. Allerdings ließen sich die einkettigen Bolalipide **78a** und **78b** bei den zuvor verwendeten Konzentrationen von 1 mg/ml in rein wässrigen Systemen nicht fein dispergieren. Für die Herstellung einer homogenen Suspension für die DSC-Messung war ein Zusatz von 25 % Ethanol (V/V) notwendig. Um eine vollständige Deprotonierung des 2-(Dimethylammonio)ethylphosphats **78a** zu gewährleisten, wurde das Wasser in diesem Fall durch Phosphatpuffer (pH 5, 10 mM) ersetzt.

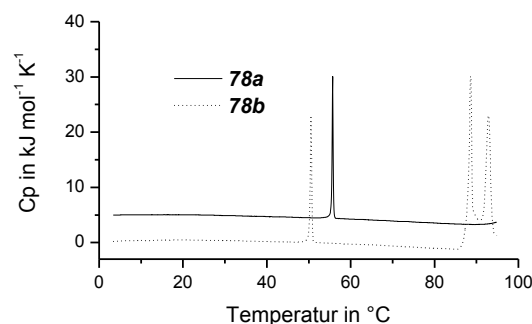
Es ist bekannt, dass Ethanol das Phasenverhalten von Phospholipiden beeinflussen kann.<sup>132</sup>

Um den störenden Einfluss abschätzen oder idealerweise ausschließen zu können, wurde die Verbindung **78b** als Referenz herangezogen. In früheren Untersuchungen von ZIMMERMANN<sup>133</sup> wurde ein Phasenübergang von der kristallinen Subgelphase  $L_{\rho}$  zur  $L_{\beta}$ -Gelphase detektiert ( $T_m = 51,2$  °C,  $\Delta H = 10,3$  kJ/mol). Dieser stimmt trotz der Ethanolzumischung mit der hier gefundenen Umwandlung bei  $T_{m1} = 50,5$  °C mit einer Umwandlungsenthalpie von 10,8 kJ/mol (siehe Abb. 36) sehr gut überein. Zusätzlich konnten weitere Phasenübergänge bei  $T_{m2} = 88,6$  °C und  $T_{m3} = 92,7$  °C mit einer Umwandlungsenthalpie von zusammen 67,7 kJ/mol ermittelt werden, die aufgrund ihrer Hochtemperaturlage nicht weiter untersucht wurden. Die beiden Hochtemperaturumwandlungen wurden von ZIMMERMANN<sup>133</sup> nicht beschrieben, da die Probe nur bis 86 °C aufgeheizt wurde.

Das 2-(Dimethylammonio)ethylphosphat **78a** zeigte im untersuchten Temperaturbereich eine Phasenumwandlung bei  $T_m = 55,8$  °C, die auch in Bezug auf ihre Umwandlungsenthalpie von



**Abb. 37:** TEM-Aufnahmen der einkettigen Bolalipide **78a** und **78b**, 0,03 mg/ml, 22 °C, negativ kontrastiert mit Uranylacetat



**Abb. 36:** DSC-Aufheizkurven von jeweils 1 mg/ml der Bolalipide **78a** in Puffer pH 5/EtOH (75:25 V/V) und **78b** in Wasser/ EtOH (75:25 V/V), Heizrate 20 K/h, Kurven vertikal verschoben

$\Delta H = 9,1$  kJ/mol mit der niedrigeren Umwandlung  $T_{m1}$  des Phosphocholins **78b** übereinstimmte und somit wohl auch einen sehr ähnlichen thermotropen Polymorphismus aufweist. Durch die Möglichkeit zur Ausbildung einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung in den 2-(Dimethylammonio)ethylphosphat-Kopfgruppen liegt die Phasenumwandlung allerdings um etwa 5 K höher. Die beim Lipid **78b** detektierten

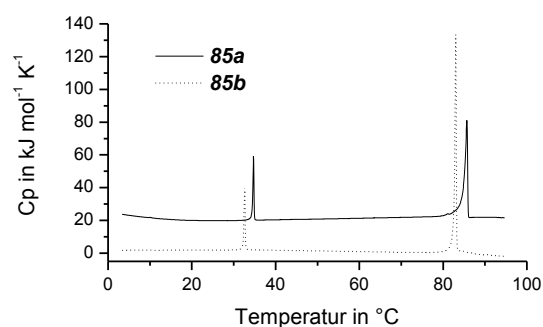


Umwandlungen  $T_{m2}$  und  $T_{m3}$  könnten wegen dieses Effekts bei **78a** auch oberhalb des untersuchten Temperaturintervalls liegen.

Was schon aufgrund der komplizierten Präparation zu vermuten war, erwies sich auch bei der Transmissionselektronenmikroskopie. Zumindest bei Raumtemperatur, also unterhalb der ersten Phasenumwandlung, zeigte sich kein Hinweis auf die Bildung von Liposomen. Es wurden ausschließlich geschichtete lamellare Strukturen beobachtet (siehe Abb. 37, S. 43).

### 2.3.3 Unsymmetrische, zweikettige Bolaamphiphile

Bei den Untersuchungen der glycerolhaltigen, zweikettigen Bolalipide traten zunächst die gleichen Löslichkeitsprobleme wie bei den einkettigen Modellverbindungen auf. Die DSC-Messungen wurden für die unverzweigten Lipide **85a** und **85b** deshalb wiederum in Wasser (**85b**) oder Phosphatpuffer (pH 5, 10 mM, für **85a**) mit einem Ethanolanteil von jeweils 25 % (V/V) durchgeführt. Es ergaben sich für beide Lipide hochkooperative Phasenübergänge zwischen 30 und 35 °C sowie zwischen 80 und 90 °C (siehe Abb. 38 und Tab. 6). Analog zu den einkettigen Verbindungen waren auch hier die Umwandlungstemperaturen des 2-(Dimethylammonio)-ethylphosphats **85a** wegen der Fähigkeit zur Ausbildung einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung etwas höher als beim Phosphocholin **85b**. Das weitere Phasenverhalten war identisch.



**Abb. 38:** DSC-Aufheizkurven von jeweils 1 mg/ml der Bolalipide **85a** in Puffer pH 5/EtOH (75:25, V/V) und **85b** in Wasser/EtOH (75:25, V/V), Heizrate 20 K/h, Kurven vertikal verschoben

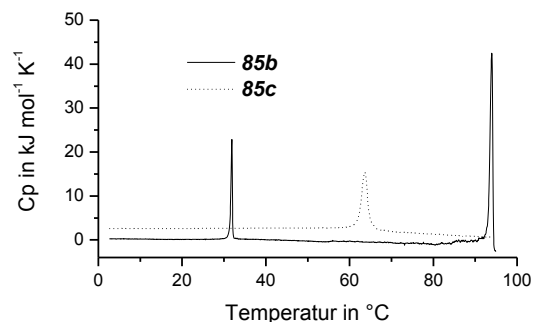
Aufbauend auf den Erkenntnissen bei den symmetrischen Modelllipiden wurde auch bei den unsymmetrischen Bolalipiden der Einfluss von Methylverzweigungen im lipophilen Grundgerüst ermittelt. Am Beispiel des Phosphocholins **85c** konnte gezeigt werden, dass schon eine Methylverzweigung genügt, um die physikochemischen Eigenschaften deutlich zu verändern. Durch den fluidisierenden Einfluss der verzweigten Alkylkette war nun auch die Präparation einer DSC-Probe in reinem Wasser problemlos möglich.

Durch die Einführung der (10*RS*)-10-Methylhexadecylkette in *sn*-2-Position war die tiefere Umwandlung  $T_{m1}$  des Lipids **85b** im untersuchten Temperaturintervall nicht mehr nachweisbar. Die höhere Umwandlung wurde um 19 K auf 63,6 °C gesenkt, und eine deutliche Peakverbreiterung war festzustellen (siehe Abb. 39 und Tab. 6, S. 45). Wie bei den symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphiphilen **30a/b/c** und **51a/b/c** war auch eine

Verringerung der Umwandlungsenthalpie zu beobachten, was wiederum auf eine Minderung der van-der-WAALS-Wechselwirkungen zurückgeführt werden kann.<sup>26,27</sup>

Verb.	$T_{m1}$	$T_{m2}$	$\Delta H_1$	$\Delta H_2$
	in °C		in kJ/mol	
<b>85a</b> <sup>a</sup>	34,7	85,9	14,8	64,1
<b>85b</b> <sup>b</sup>	32,6	83,0	14,4	65,2
<b>85b</b> <sup>c</sup>	31,9	93,9	*	*
<b>85c</b> <sup>c</sup>	/	63,6	/	29,1

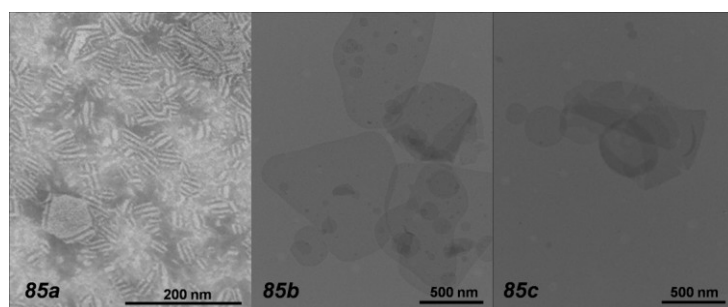
**Tabelle 6:** Phasenumwandlungstemperaturen ( $T_m$ ) und -enthalpien ( $\Delta H$ ) der unsymmetrischen, zweikettigen Bolalipide **85a/b/c** in Puffer pH 5/EtOH (75:25, V/V),<sup>a</sup> Wasser/EtOH (75:25, V/V)<sup>b</sup> oder Wasser<sup>c</sup>, (20 K/h, c = 1 mg/ml), \*nicht ermittelbar



**Abb. 39:** DSC- Aufheizkurven der unsymmetrischen Phosphocholine **85b** und **85c** in Wasser. Die Thermogramme sind vertikal verschoben.

Für einen genaueren Vergleich wurde auch vom korrespondierenden, unverzweigten Phosphocholin **85b** ein Thermogramm in reinem Wasser aufgezeichnet. Bei dieser Messung wurden Phasenübergangstemperaturen von  $T_{m1} = 31,9$  °C und  $T_{m2} = 93,9$  °C bestimmt. Die Umwandlungsenthalpien waren nicht quantifizierbar, da auch durch alternierendes Vortexen, Erhitzen und Beschallen keine homogene Suspension für die Messung hergestellt werden konnte. Die genaue Konzentration der vermessenen Probe war demzufolge nicht bekannt. Vergleicht man die DSC-Daten (Tab. 6) von **85b** im Wasser/Ethanol-Gemisch und in Wasser, so fällt auf, dass die Tieftemperaturumwandlung  $T_{m1}$  durch den Ethanolanteil kaum beeinflusst wurde. Die Hochtemperaturumwandlung  $T_{m2}$  wurde allerdings um über 11 K gesenkt.

Zur weiteren Aufklärung des Phasenverhaltens wurden elektronenmikroskopische Aufnahmen von Lipidproben angefertigt, die unterhalb der ersten Umwandlungstemperatur präpariert worden waren. Beim 2-(Dimethylammonio)ethylphosphat **85a** konnten wie bei den einkettigen, unsymmetrischen Bolalipiden kondensierte lamellare Schichten in Aufsicht und Seitenansicht beobachtet werden. Bei den Phosphocholinen **85b** und **85c** wurden flächige Strukturen gefunden, die auch schon für das unverzweigte Modelllipid von YAMAUCHI<sup>46</sup> beschrieben wurden. Daneben wurden auch runde Aggregate abgebildet. Allerdings kann bei getrockneten Proben nur schwer zwischen scheiben- und kugelartigen Formen unterschieden werden. Aus den Verbindungen **85b** und **85c** konnten durch die Filmbildungsmethode<sup>130</sup> und



**Abb. 40:** TEM-Aufnahmen der unsymmetrischen, zweikettigen Bolalipide **85a**, **85b** und **85c**, 0,03 mg/ml, 22 °C, negativ kontrastiert mit Uranylacetat

Extrusion (100 nm) keine stabilen Liposomen gebildet werden. Bereits nach 1 h wurden bei der PCS-Messung deutlich größere hydrodynamische Teilchendurchmesser (715 und 383 nm) und sehr breite Größenverteilungen<sup>131</sup> (PDI = 0,56 und 0,51, siehe Anhang 5.2) bestimmt. Das Vorliegen von Vesikeln bei den TEM-Aufnahmen ist dennoch möglich, da die Lipid-suspensionen wegen der schweren Dispergierbarkeit noch wenige Minuten vor der Präparation der TEM-Proben im Wasserbad mit Ultraschall behandelt wurden.

Das unverzweigte Phosphocholin **85b** und das verzweigte **85c** wurden röntgenographisch untersucht. Diese Methode erlaubt es, ebenso wie die DSC-Messung, im untersuchten Temperaturbereich die Phasenumwandlungen nachzuweisen. Darüber hinaus liefert diese Methode strukturelle Hinweise für die verschiedenen Phasenübergänge. Es können lamellare oder nichtlamellare flüssig-kristalline Strukturen unterschieden werden (Auswertung des Kleinwinkelbereichs). Außerdem kann die Kettenpackung in lamellaren Gelphasen oder das Schmelzen der Ketten identifiziert werden (Auswertung des Weitwinkelbereichs).

Die Lipide wurden jeweils in hydratisiertem Zustand mit 50 % Wasser (m/m) vermessen. Die experimentellen Daten sind als Kontur-Plots im Anhang (Kap. 5.2.1, S.134/135) zu finden.

Das Lipid **85b** zeigte im Kleinwinkelbereich lamellare Überstrukturen für das gesamte untersuchte Temperaturintervall von -55 bis 105 °C. Es wurden Wiederholabstände zwischen  $d = 5,00$  und  $6,80$  nm ermittelt. Man erkennt z.B. die Abnahme der Wiederholabstände  $d$  beim Ausfrieren des Wassers oder beim Schmelzen der Ketten. Diese Werte lassen sich allerdings nicht molekular interpretieren, da eine Schicht sowohl aus der Lipidmembran als auch einer variablen Wasserschicht besteht. Die hier ermittelte Größenordnung von  $d$  entspräche sowohl einer Bilschicht mit u-förmiger Konformation der Einzelmoleküle als auch einer Monoschicht mit membrandurchspannender Dotriacontanylkette (ohne Kopfgruppen etwa  $0,4$  nm lang<sup>134</sup>).

Genauere Informationen über die Kettenpackung lieferte die Weitwinkelstreuung im *Fingerprint*-Bereich von  $s = 2,3$  bis  $2,8$  nm<sup>-1</sup>. Unterhalb der ersten Phasenumwandlung (DSC:  $T_{m1} = 31,9$  °C) waren zwei scharfe Reflexe bei  $s = 2,4$  nm<sup>-1</sup> und  $s = 2,7$  nm<sup>-1</sup> zu erkennen, deren Lage sich stark mit der Temperatur änderte. Ihre Schärfe sowie das Auftreten weiterer Reflexe bei größeren  $s$ -Werten spricht für eine hoch geordnete Kettenpackung mit einer Subzelle vom *herringbone*-Typ.<sup>135,136</sup> Sie ist bei zweikettigen Phospholipiden bisher nicht beobachtet worden. Erst oberhalb der ersten Umwandlung (30°C) ist eine Gelphase vom Typ  $L_{\beta'}$  zu erkennen, die für Lipide typisch ist. Die langsam aufeinander zulaufenden Reflexe zwischen  $s = 2,3$  nm<sup>-1</sup> und  $s = 2,6$  nm<sup>-1</sup> können als eine orthorhombische Kettenpackung interpretiert werden, die in eine orthohexagonale Anordnung übergeht. Diese Gitterdeformation verlief zwischen etwa 35 und 50 °C und war mit der DSC-Messung nicht detektierbar. Oberhalb von 102 °C kam es zum Kettenschmelzen und zur Ausbildung einer fluiden  $L_{\alpha}$ -Phase. Die Diskrepanz zu den Ergebnissen der DSC ( $T_{m2} = 94,2$  °C) beruht möglicherweise auf den unterschiedlichen Wasserkonzentrationen bei den beiden Messverfahren.

Im Vergleich zum Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) fällt auf, dass der Phasenübergang von der Gel- zur fluiden  $L_{\alpha}$ -Phase von 41,6 auf 94,1 °C angestiegen ist, obwohl das DPPC

und das Bolaamphiphil **85b** einige Übereinstimmungen in der chemischen Struktur aufweisen. Der Austausch der Ester- gegen eine Etherfunktion hat jedenfalls kaum einen Einfluss auf das Phasenverhalten, denn der dem DPPC analoge Dialkylether besitzt eine Umwandlungstemperatur (von  $L_{\beta'}$  zu  $L_{\alpha}$ ) bei etwa 43 °C.<sup>128</sup>

Einen wichtigen Einfluss hat dagegen die lange Dotriacontanylkettenkette, da mit steigenden Kettenlängen auch die Umwandlungstemperaturen ansteigen.<sup>128</sup> Darüber hinaus kann die zusätzliche Hydroxylgruppe durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen benachbarten Molekülen für eine weitere Stabilisierung sorgen und somit die Phasenübergänge zu höheren Temperaturen verschieben. Die Beschreibung eines Modells der Molekülpackung ginge über die Fragestellung dieser Arbeit hinaus und bleibt weiterführenden Arbeiten vorbehalten.

Auch beim methylverzweigten Phosphocholin **85c** waren im Kleinwinkelbereich lamellare Überstrukturen mit Wiederholabständen zwischen 6,17 und 7,41 nm zu erkennen. Oberhalb der Hauptumwandlung war jedoch noch ein zusätzlicher Reflex bei  $s = 0,18 \text{ nm}^{-1}$ , der mit einer lamellaren Schichtung nicht vereinbar ist. In diesem Fall müssen alle Kleinwinkelreflexe in einem nichtlamellaren zweidimensionalen Gitter indiziert werden. Es gibt allerdings auch keine Übereinstimmung mit einer hexagonalen Überstruktur aus Zylindern, in denen die Lipidmoleküle gepackt sind, oder einer für Lecithine üblichen Rippenphase.<sup>137,138</sup>

Die Auswertung der Streukurven im Weitwinkelbereich bestätigte einige Annahmen aus der DSC-Messung (siehe S. 44/45). So wurde die Ausbildung einer kristallinen, lamellaren Phase, wie beim korrespondierenden unverzweigten Lipid **85b**, nicht mehr beobachtet. Es lag eine für Lipide typische Gelphase mit orthohexagonaler Kettenpackung vor, wie sie bei **85b** zwischen  $T_{m1}$  und  $T_{m2}$  zu beobachten war. In dem Temperaturintervall zwischen 50 und 85 °C trat partielles Kettenschmelzen auf: ein Nebeneinander von rigiden und fluiden Kettenbereichen in einem sehr breiten Entmischungsgebiet. Da es sich bei der flüssig-kristallinen Phase um eine nichtlamellare Phase handelt (s.o.), sind beim Schmelzen größere Platzwechselfvorgänge zu erwarten, die für die Breite des Zweiphasengebietes verantwortlich sein könnten. Das partielle Schmelzen führte beim Abkühlen ohne Hysterese aus der nichtlamellaren Phase wieder in die orthohexagonale Gelphase des Lipids.

Wie bei den natürlichen Bolalipiden<sup>28-30</sup> weisen auch bei den synthetischen Vertretern die unsymmetrischen Bolalipide einen stärker ausgeprägten thermotropen Polymorphismus auf als die symmetrischen Vertreter. Auch hier konnte aufgrund der Einführung der Methylverzweigung in 10-Position der Hexadecylkette eine deutlich niedrigere Umwandlungstemperatur (63,6 °C anstatt 93,9 °C) erhalten werden. Durch die Änderung der chemischen Struktur wurde das Phasenverhalten allerdings so stark verändert, dass oberhalb dieser Umwandlungstemperatur eine nichtlamellare flüssig-kristalline Phase auftrat. Auch bei natürlichen, unsymmetrisch aufgebauten Bolalipiden wurden nichtlamellare Phasen (z. B. hexagonal oder kubisch) detektiert.<sup>28-30</sup> Das Lipid **85c** stellt demzufolge zumindest den Ausgangspunkt für unsymmetrische Modellverbindungen der Archaeobakterienlipide dar.

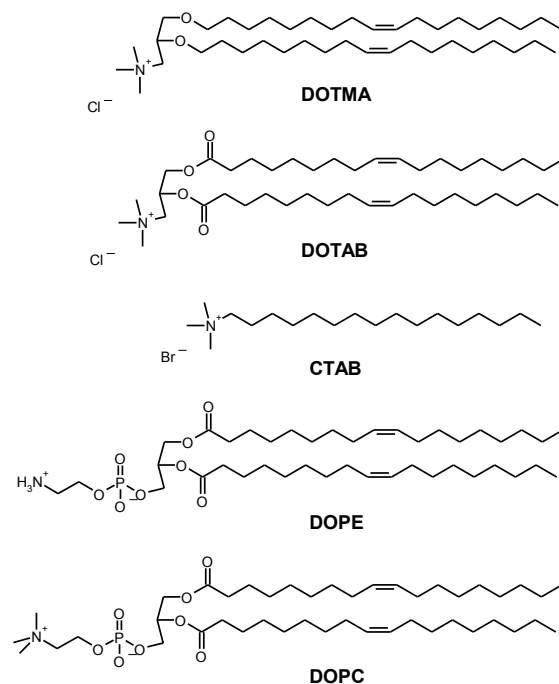
## 2.4 Liposomale Gentransfektion mit Bolaamphiphilen

Viele bekannte Erbkrankheiten beruhen auf einem Gendefekt. Dabei können bereits Punktmutationen auf einem oder mehreren Genen dazu führen, dass die kodierten Enzyme bzw. Proteine nicht, nur in unzureichender Menge oder mit zu geringer Aktivität zur Verfügung stehen. Monogene Defekte sind beispielsweise bei Mukoviszidose, Hämophilie A und B sowie dem schweren kombinierten Immundefizienzsyndrom (SCID) als Ursache der Erkrankung zu finden. Auch bei vielen Krebserkrankungen konnten teilweise erworbene Gendefekte wie am Beispiel des p53 identifiziert werden.<sup>139,140</sup>

Ein therapeutischer Ansatz für die Heilung dieser Krankheiten ist die somatische Gentherapie. Dabei sollen fremde Gene durch Gentransfektion in die Körperzellen eingeschleust werden, um die fehlerhaften Eigenschaften der Zielzellen zu verändern.<sup>140</sup> Die Vehikel oder Transporter, die Nukleinsäuren in die Zellen einbringen, werden als Gentransfersysteme oder Vektoren bezeichnet. Dabei kann man zwischen viralen und nicht-viralen Vektoren unterscheiden.<sup>141,142</sup>

Die viralen Vektoren basieren auf gentechnisch veränderten Viren, wie z.B. Adeno- oder Retroviren, die anstatt ihrer eigenen Erbinformationen fremde Nukleinsäuren transportieren. Diese Vektoren weisen eine sehr gute Transfektionseffizienz auf, da die Viren sehr leicht in die Wirtszellen eindringen und dort die transportierten Nukleinsäuren auch freisetzen sowie exprimieren können. Sogar eine gewisse Gewebe- oder Organspezifität ist durch die Wahl des Vektors möglich.<sup>142</sup> Problematisch ist allerdings das immunogene und onkogene Potential, das bereits zu einigen dramatischen Rückschlägen in klinischen Versuchen geführt hat.<sup>143</sup> Demgegenüber bieten nicht-virale Methoden wie Elektroporation, ballistische Geninjektion mittels Genpistole und die Lipofektion viele Vorteile. Sie sind nicht-immunogen, nicht-onkogen und können auch größere Gene transfizieren. Unvorteilhaft sind die geringere Effizienz und die oftmals höhere Toxizität.<sup>144-146</sup>

Auf dem Gebiet der Lipofektion waren FELGNER et al.<sup>147</sup> die ersten, die erfolgreich Liposomen auf Basis kationischer Lipide einsetzten. Die bei dieser Methode verwendeten kationischen Amphiphile werden als Cytofektine bezeichnet. Diese positiv geladenen Cytofektine können aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen Komplexe mit der



**Abbildung 41:** Auswahl einiger Cytofektine und Helferlipide<sup>144,148</sup>

negativ geladenen DNS oder RNS bilden. Zur Steigerung der Transfektinseffizienz werden die kationischen Lipide meist mit neutralen Helferlipiden kombiniert. Form und Größe der als Lipoplexe bezeichneten Aggregate sind variabel und hängen wesentlich von den verwendeten kationischen Lipiden und Helferlipiden ab.<sup>148</sup> Resultierend aus der großen Anzahl von bisher synthetisierten und getesteten Cytofektinen und Helferlipiden (Auswahl siehe Abb. 41, S. 48) wurden somit auch schon diverse Lipoplexformen, wie z.B. *sandwich*- oder *honeycomb*-Komplexe, beschrieben.<sup>149</sup>

Bis zur erfolgreichen Gentransfektion müssen einige Barrieren wie zum Beispiel die Zell-, die Endosomen- oder die Kernmembran überwunden und schließlich noch die transportierte DNS oder RNS freigesetzt werden.<sup>146</sup> Die genauen Mechanismen der liposomalen Gentransfektion sind allerdings nicht eindeutig geklärt und variieren zudem je nach Lipoplex- und Zelltyp.<sup>141,144,149,150</sup>

Die Selbstaggregations- und Liposomenbildungstendenz der Bolalipide könnte sich bei der Lipofektion als nützlich erweisen. In der Literatur sind auch bereits Untersuchungen mit kationischen Bolaamphiphilen bekannt.<sup>36,111,151</sup>

So sollten in Zusammenarbeit mit Mitarbeitern der AG LANGNER die Transfektionswirkungen einiger einkettiger, kationischer Bolalipide als Cytofektine (B. HEINKE) und eines symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphiphils als Helferlipid (N. ERDMANN) ermittelt werden (Übersicht siehe Kap. 5.1, S. 132).

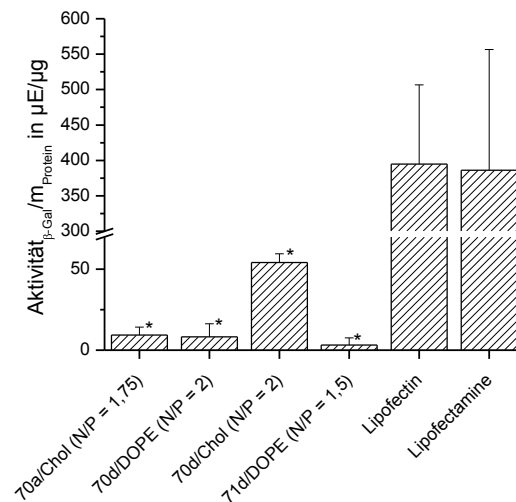
Die Experimente wurden an einer humanen Leberkarzinomzelllinie (HepG2) nach der von HEINZE<sup>152</sup> veröffentlichten Vorschrift durchgeführt. So wurden zunächst Liposomen aus den Transfektionslipiden und den Helferlipiden in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen mittels der Filmbildungsmethode hergestellt.<sup>153</sup> Daraus wurden die Lipoplexe mit der Plasmid-DNS pCMV Sport  $\beta$ -Gal (aus *E. coli*, Fa. *Invitrogen*) in definierten N/P-Verhältnissen gebildet. Nach erfolgreicher Transfektion wurde demzufolge  $\beta$ -Galaktosidase exprimiert, die beim verwendeten ONPG-Assay aus dem Substrat *o*-Nitrophenyl- $\beta$ -galactopyranose einen photometrisch quantifizierbaren Farbstoff bildet. Bei den Untersuchungen wurden die Zellen zunächst für 4 h serumfrei und danach in serumhaltigem Medium (10 % Endkonzentration) mit den Lipoplexen inkubiert. Nach insgesamt 48 h wurden die Zellen lysiert und der ONPG- bzw. der Bichinon-Säure-Assay durchgeführt. Die Aktivität des Reportergens  $\beta$ -Galactosidase wurde auf den Gesamtproteingehalt der transfizierten Zellen bezogen, der durch die Bichinon-Säure-Methode ermittelt wurde.<sup>152</sup> Zur Bestimmung der Toxizität wurde der MTT-Test nach 24 h herangezogen.<sup>154</sup> Als Vergleich dienten die kommerziell erhältlichen Formulierungen *Lipofectamine*<sup>™</sup> (DOSPA:DOPE 3:1, m/m) und im Falle der einkettigen Bolalipide zusätzlich *Lipofectin*<sup>®</sup> (DOTMA:DOPE 1:1, m/m) der Fa. *Invitrogen*.<sup>155</sup>

### 2.4.1 Einkettige, unsymmetrische Bolaamphiphile als Cytokine

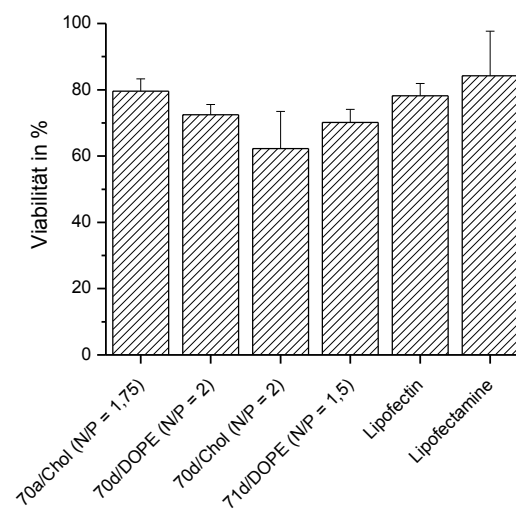
Wegen seiner großen strukturellen Ähnlichkeit zum kommerziell erhältlichen Cetyltrimethylammoniumbromid (*CTAB*<sup>®</sup>) wurde zunächst das 16-Hydroxyhexadecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid **71d** für die Transfektionsuntersuchungen ausgewählt. So konnte der Einfluss der endständigen Hydroxylgruppe auf die Transfektionsleistung sowie die Toxizität ermittelt werden. Darüber hinaus wurden zwei weitere Lipide getestet, die pH-sensitive Gruppen enthalten. Bei den im Endosom und später im Lysosom vorherrschenden sauren Bedingungen<sup>146</sup> könnte die Abspaltung der THP-Gruppe zu einer Destabilisierung des Lipoplexes sorgen und so eine Freisetzung aus dem Kompartiment bewirken. Es wurden das  $\omega$ -THP-geschützte, primäre Amin **70a** und das  $\omega$ -THP-geschützte, quartäre Ammoniumsalz **70d** untersucht. Die kationischen bzw. protonierbaren Lipide wurden mit den Helferlipiden DOPE und Cholesterol jeweils im Verhältnis 1:1 (n/n) verwendet. Das Ladungsverhältnis (N/P) von Transfektionslipid zu DNS wurde variiert. Die in Bezug auf Transfektionseffizienz und Streuung der Messwerte besten Formulierungen sind beispielhaft in Abbildung 42 dargestellt. Umfassendere Betrachtungen bleiben weiteren Arbeiten in der AG LANGNER vorbehalten.

Im Vergleich zu den Referenzexperimenten mit *Lipofectin*<sup>®</sup> und *Lipofectamine*<sup>™</sup> fällt deutlich auf, dass alle getesteten Lipide **70a**, **70d** und **71d** signifikant schlechtere Transfektionsleistungen aufweisen. Lediglich die Formulierung aus Cholesterol und dem THP-gekuppelten Lipid **70d** mit der quartären Trimethylammoniumkopfguppe unterscheidet sich tendenziell von den übrigen getesteten Lipoplexen mit Bolaamphiphilen. Diese liegt aber in der Transfektionseffizienz nur bei etwa einem Achtel der Referenzproben mit *Lipofectamine*<sup>™</sup> und *Lipofectin*<sup>®</sup>.

Beim anschließenden MTT-Test zeigten die getesteten bolaamphiphilen Cytokine die



**Abb. 42:** Transfektionsleistungen der Lipide **70a**, **70d** und **71d** in Mischung mit Helferlipiden 1:1 (n/n) nach ONPG-Assay, 0,3  $\mu\text{g}$  DNS/Well, n = 6, \* signifikante Abweichung zu *Lipofectin*<sup>®</sup> und *Lipofectamine*<sup>™</sup> (jeweils n = 3), p = 0,05



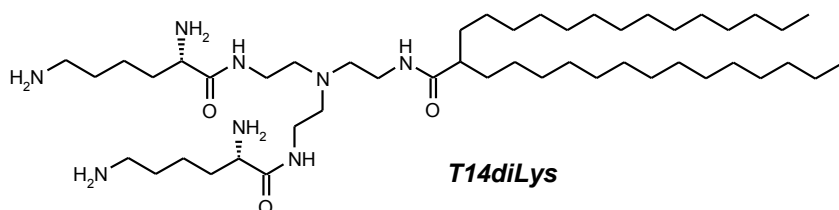
**Abb. 43:** MTT-Tests der Lipide **70a**, **70d** und **71d** in Mischung mit Helferlipiden 1:1 (n/n), 0,3  $\mu\text{g}$  DNS/Well, n = 3, Kontrolle wurde gleich 100 % gesetzt

gleiche toxische Wirkung wie die Referenzen *Lipofectamin*<sup>TM</sup> und *Lipofectin*<sup>®</sup>. Bei der wirksamsten Formulierung (**70d**:Chol 1:1, n/n, N/P = 2) war sogar eine Zunahme der Toxizität zu verzeichnen, die allerdings nicht signifikant ist.

Das Cytokofektin *CTAB*<sup>®</sup> weist gute Transfektionseigenschaften bei erhöhter Toxizität gegenüber *Lipofectin*<sup>®</sup> auf.<sup>156</sup> Die getesteten Bolalipide hingegen zeigen geringere bis keine Gentransfektion bei ähnlichen Viabilitätsdaten wie *Lipofectamin*<sup>TM</sup> und *Lipofectin*<sup>®</sup>. Die einkettigen, unsymmetrischen Bolalipide **70a**, **70d** und **71d** stellen also keine sinnvolle Alternative zu bereits vorhandenen Systemen dar. Möglicherweise waren die untersuchten Lipoplexe durch die vorhandene bzw. im sauren leicht entschützte Hydroxylfunktion zu stabil, so dass die DNS nicht freigesetzt werden konnte. Dafür spricht, dass gerade die Maskierung der Hydroxylfunktion als THP-Ether bei Verbindung **70d** zu einer Steigerung der Transfektionsrate führte. Die weitere Variation der Trimethylammoniumkopfgruppe hin zum primären Amin **70a** führte wieder zum Verlust der Transfektionseigenschaften.

## 2.4.2 Symmetrische, methylverzweigte Bolaamphiphile als Helferlipide

Eine weitere Fragestellung bei der Verwendung von Bolalipiden in der Gentransfektion war, ob diese durch Zumischung die Transfektionsleistung einer potenten Formulierung noch verbessern oder die Toxizität senken könnten. Die Grundlage bildete das polykationische Lipid *T14diLys* (siehe Abb. 44), das von N. ERDMANN in der AG LANGNER als sehr wirksames Cytokofektin identifiziert wurde.



**Abb. 44:** Struktur des Transfektionslipids 2-Tetradecylhexadecansäure-2-[bis(2-[(2*S*)-2,6-diamino-1-oxohexyl]amino)ethyl]amino]-ethylamid *T14diLys*

Als Vergleich diente eine Mischung aus *T14diLys* und DOPE 1:2 (n/n). Das neutral geladene, synthetische Tetraetherlipid **30a** wurde als zweites Helferlipid verwendet. Dabei wurde der Anteil des Bolalipids schrittweise von 0,1 auf eine äquimolare Menge, bezogen auf das *T14diLys*, erhöht.

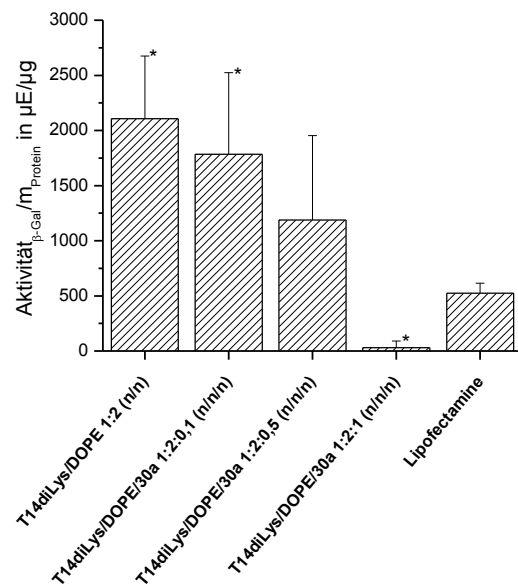
Beim ONPG-Assay (Abb. 45, S. 52) fällt auf, dass schon im Mischungsverhältnis von *T14diLys*/DOPE/**30a** 1:2:0,1 (n/n/n) eine Abnahme der Transfektionsleistung festzustellen ist. Bei einem Anteil von 0,5 Äquivalenten Bolalipid sinkt diese wiederum deutlich. Beim Mischungsverhältnis von *T14diLys*/DOPE/**30a** 1:2:1 (n/n/n) war kaum noch eine Transfektionsleistung zu detektieren, die somit auch signifikant schlechter als bei *T14diLys*/DOPE 1:2 (n/n) und *Lipofectamine*<sup>TM</sup> ist.



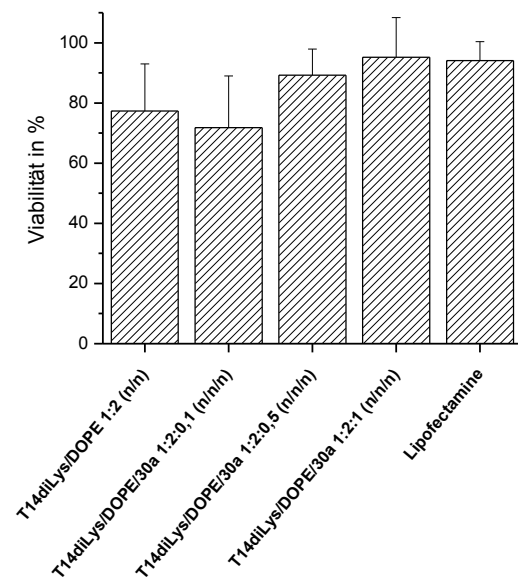
In der Literatur wird die Ausbildung einer invershexagonalen Phase ( $H_{II}$ -Phase) im Lipoplex als sehr vorteilhaft für den Transfektionsprozess beschrieben, weil es hier besser zur Fusion mit der Endosomenmembran und zur Freisetzung der transportierten Nukleinsäuren kommen kann. Lamellare oder hexagonal/lamellare Mischphasen sind dafür deutlich weniger geeignet.<sup>150,157-160</sup> Im Gegensatz zum Helferlipid DOPE neigt das Bolalipid **30a** nicht zur Induzierung einer invershexagonalen Phase, sondern bildet ausschließlich lamellare Phasen aus (siehe Kapitel 2.3.1). Die hier beobachtete Abnahme der Transfektionsleistung bei steigendem Bolalipidgehalt beruht somit möglicherweise auf einem erhöhten Anteil der lamellaren Phase im Lipoplex, so dass die DNS nicht mehr ausreichend freigesetzt wurde.

Der MTT-Test (Abb. 46) zeigte einen gegenläufigen Trend. Bei höheren Bolalipidanteilen stieg die Viabilität der getesteten Zellen leicht an. Bei der statistischen Auswertung ergaben sich allerdings keine signifikanten Unterschiede bei der Toxizität aller getesteten Formulierungen. Eine höhere Probenanzahl zur Absicherung dieses Trends wurde unterlassen, da mit der abnehmenden Toxizität auch ein erheblicher Wirkungsverlust einherging.

Zusammenfassend für alle hier gezeigten Transfektionsexperimente muss im Gegensatz zu Literaturangaben<sup>36,37,111,151</sup> festgestellt werden, dass zumindest die hier getesteten Bolalipide **70a**, **70d**, **71d** und **30a** bei der HepG2-Zelllinie nicht für den liposomalen Gentransfer geeignet sind.



**Abb. 45:** ONPG-Assays von *T14diLys* in Mischung mit DOPE und **30a**, N/P = 3,5, 0,15  $\mu$ g DNS/Well, n = 4, \* signifikante Abweichung zu *Lipofectamine*<sup>TM</sup>, p = 0,05



**Abb. 46:** MTT-Tests von *T14diLys* in Mischung mit DOPE und **30a**, N/P = 3,5, 0,15  $\mu$ g DNS/Well, n = 3, Kontrolle wurde gleich 100 % gesetzt

## 2.5 Bolaamphiphile in liposomalen Formulierungen für die orale Applikation von Arzneistoffen

Seit den 1970er Jahren wurden Liposomen als Arzneistofftransportsysteme untersucht. Mit Hilfe dieser Vehikel konnten einige Probleme wie schlechte Löslichkeit oder hohe Toxizität überwunden werden.<sup>161,162</sup> Beispiele für intravenös angewendete, liposomale Arzneistoffe sind das Zytostatikum Doxorubicin (*Doxil*<sup>®</sup>/*Myocet*<sup>®</sup>) und das Antimykotikum Amphotericin B (*AmBisome*<sup>®</sup>). Aber auch für die orale Applikation besitzen liposomale Arzneimittel einige wichtige Vorteile. So könnten peptidische Arzneistoffe in solchen Formulierungen vor Denaturierung durch die Magensäure und dem enzymatischen Abbau durch Proteasen bewahrt werden. Außerdem könnte die Bioverfügbarkeit von schwer resorbierbaren Arzneistoffen, wie Bisphosphonaten oder L-Thyroxin, gesteigert werden. Problematisch für eine derartige Anwendung ist allerdings die zu geringe Stabilität der klassischen aus Bischichten aufgebauten Liposomen.<sup>163</sup> Das beruht auch darauf, dass die dort verwendeten Lipide (z.B. Phosphatidylcholin) selbst einem enzymatischen Abbau bei der Verdauung unterworfen sind. Demgegenüber besitzen die Tetraetherlipide der Archaeobakterien einige Vorteile. Ihre chemische, enzymatische und thermische Beständigkeit (siehe Kap. 1) ermöglichte die Herstellung von Liposomen, den so genannten Archaeosomen, für die ebenfalls eine gewisse thermische Stabilität<sup>38</sup> und Unempfindlichkeit gegen künstliche Verdauungsmedien<sup>33</sup> gezeigt wurde.

Wie die natürlichen Tetraetherlipide sollten auch einige der hier vorgestellten, synthetischen Bolalipide in Liposomen untersucht werden. Die höhere Stabilität der Bolalipide, die sich bei den Gentransfektionsuntersuchungen noch nachteilig auswirkte (siehe Kap. 2.4), könnte sich hier als sehr nützlich erweisen. Die Stabilitätsuntersuchungen wurden im Rahmen des Dissertationsvorhabens von J. PARMENTIER in der AG FRICKER (Universität Heidelberg) durchgeführt. Aufgrund der Synthese sind die Bolaamphiphile im Vergleich zu herkömmlichen Hilfsstoffen für Liposomen relativ teuer. Deshalb wurde durch Mischung mit kommerziell erhältlichen Lipiden versucht, den benötigten Anteil an Bolalipiden in den Formulierungen so niedrig wie möglich zu halten. So wurden einige ausgewählte Verbindungen in verschiedenen Stoffmengenverhältnissen mit Cholesterol und Ei-Phosphatidylcholin (EPC) gemischt und nach der Filmmethode<sup>130</sup> zu Liposomen präpariert. Dazu wurden die Lipidfilme mit einer 50 mM 5(6)-Carboxyfluoresceinlösung (CF) in Phosphatpuffer (PBS, pH 7,4) hydratisiert und durch eine Polycarbonatmembran mit einer Porengröße von 200 nm 41x extrudiert. Nicht inkorporiertes CF wurde durch Größenausschlusschromatographie mit *Sephadex*<sup>®</sup>-G50 abgetrennt. Um die Bedingungen im Gastrointestinaltrakt zu simulieren, wurden die so erhaltenen Liposomen in verschiedenen Medien jeweils bei 37 °C getestet. Das saure Milieu des Magens wurde mit Tris-Puffer pH 2 für 60 min nachgeahmt. Als weitere künstliche Verdauungsmedien dienten Pankreatin

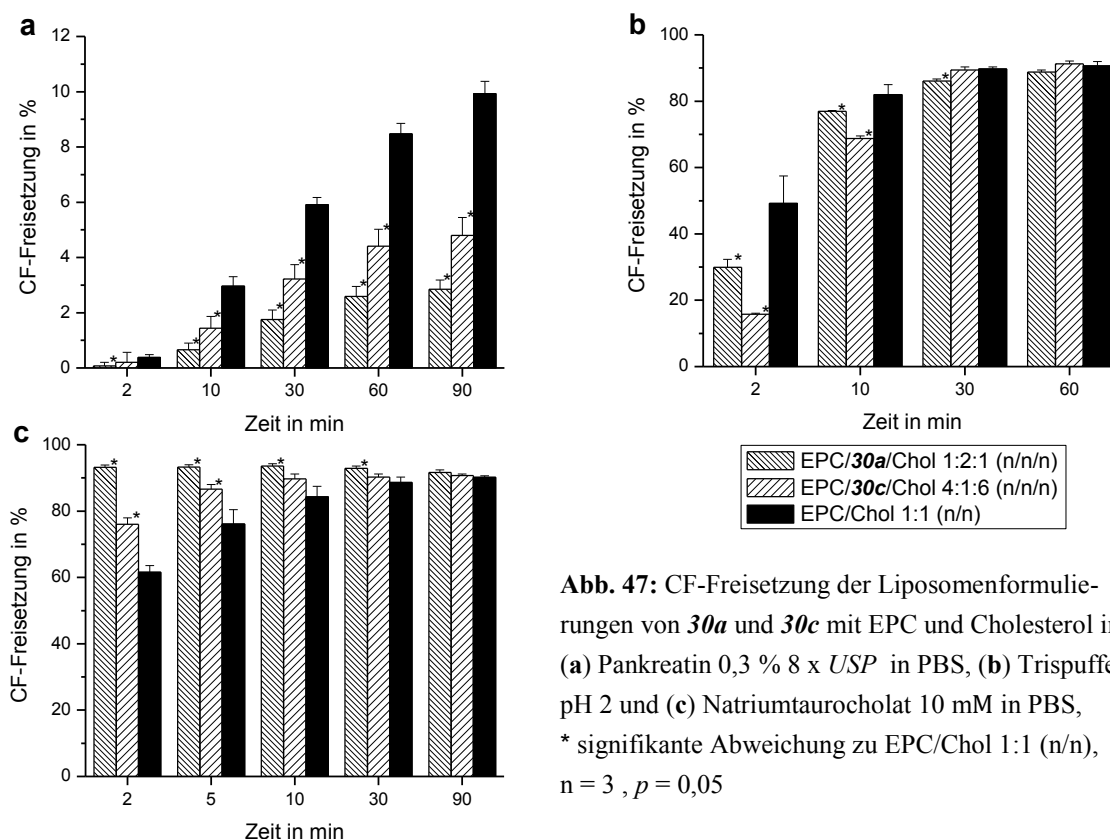
(isoliert aus Schweinepankreas, 0,3 %, achtfache Aktivität des *USP*-Standard<sup>164</sup> in PBS) und das Gallensalz Natriumtaurocholat (10 mM in PBS), in denen die Liposomen für je 90 min inkubiert wurden. Die CF-Freisetzung wurde fluorimetrisch bei einer Anregungswellenlänge von 485 nm und einer Emissionswellenlänge von 520 nm bestimmt und bezogen auf die Emissionsintensität der vollständig lysierten Proben (*Triton*<sup>®</sup> X, 1 %) in Prozent angegeben. Das Messverfahren beruht darauf, dass das CF bei den hohen Konzentrationen im Liposomeninneren durch Eigenlöschung nicht fluoresziert.<sup>165</sup> Erst nach dem Austritt aus den Vesikeln und der damit verbundenen Verdünnung im Medium wird es detektiert. Die insgesamt vielversprechendsten Formulierungen der jeweiligen Bolalipide werden im Folgenden vorgestellt. Da für Liposomen mit hohem Cholesterolanteil bereits eine gesteigerte Stabilität gegenüber Verdauungsmedien nachgewiesen wurden,<sup>166,167</sup> dienten als Referenz auf die gleiche Weise hergestellte Vesikel aus Ei-Phosphatidylcholin/Cholesterol 1:1 (n/n).

### 2.5.1 In-vitro-Stabilität von Liposomen mit symmetrischen, methylverzweigten Tetraetherlipiden

Von den synthetischen Tetraetherlipiden **30a/b/c** und **51a/b/c** wurde zunächst das Lipid **30a** mit den racemischen, methylverzweigten Hexadecylketten ausgewählt. Dieses hat die am einfachsten zugänglichen Vorstufen und wäre für weiterführende Untersuchungen somit auch am schnellsten in etwas größeren Mengen bereitzustellen. Daneben wurde auch das vierfach methylverzweigte Lipid **30c** getestet, weil es wie die natürlichen Vorbilder, die wenige oder keine Cyclopentanringe enthalten,<sup>25</sup> keinen Phasenübergang oberhalb von 2 °C aufweist.

Bei den Stabilitätstests gegenüber Pankreatin zeigten beide Formulierungen mit den synthetischen Bolalipiden signifikant niedrigere Freisetzungsraten (siehe Abb. 47a) als die Referenz (10 ± 0,5 % CF-Freisetzung nach 90 min). Die Mischungen aus EPC/**30a**/Cholesterol 1:2:1 (2,9 ± 0,3 % nach 90 min) und EPC/**30c**/Cholesterol 4:1:6 (4,8 ± 0,7 % nach 90 min) hatten sogar eine niedrigere Farbstofffreisetzung als Liposomen aus archaebakteriellen Membranlipiden, die bei Inkubation in pankreatischer Lipase im gleichen Zeitraum zwischen 12 und 27 % CF ins Medium abgaben.<sup>33</sup> Ein wichtiger Aspekt für die Beurteilung dieser Messergebnisse ist der hohe Cholesterolanteil, der Liposomen gegenüber Pankreatin stabilisieren kann,<sup>167</sup> aber bei den verwendeten Archaebakterienextrakten nicht enthalten ist.<sup>17</sup> Darüber hinaus können die eingesetzten Bolalipide **30a** und **30c** aufgrund ihrer Ether- anstatt Esterbindungen und der abweichenden *sn*-2,3-Alkylkonfiguration des Glycerols nicht von den verwendeten Lipasen gespalten werden.

Unter sauren Bedingungen (Abb. 47b) wiesen alle getesteten Liposomen geringe Stabilitäten auf. Bereits nach 10 min waren 77 ± 1 % (EPC/**30a**/Cholesterol 4:1:6), 69 ± 1 % (EPC/**30c**/Cholesterol 4:1:6) bzw. 82 ± 3 % (EPC/Cholesterol 1:1) des Fluoreszenzfarbstoffes freigesetzt. Nach 60 min Versuchsdauer waren noch 9-11 % des 5(6)-Carboxyfluoresceins in Liposomen eingeschlossen.



**Abb. 47:** CF-Freisetzung der Liposomenformulierungen von **30a** und **30c** mit EPC und Cholesterol in: (a) Pankreatin 0,3 % 8 x *USP* in PBS, (b) Trispuffer pH 2 und (c) Natriumtaurocholat 10 mM in PBS, \* signifikante Abweichung zu EPC/Chol 1:1 (n/n), n = 3 , p = 0,05

Bei Archaeosomen aus natürlichen oder synthetischen Tetraetherlipiden wurden ähnliche Beobachtungen gemacht. Bei sinkendem pH-Wert nahm die Stabilität bei multilamellaren Vesikeln, die aus den Membranlipiden von *Thermoplasma acidophilum* hergestellt wurden, von 95 % bei pH 6,2 auf 20 % bei pH 1,5 in einem Zeitraum von 90 min ab.<sup>33</sup> Das von BENVEGNUM dargestellte Bis(phosphocholin) **C** (siehe Kap. 2.1.1) bildete Liposomen mit einer CF-Freisetzung von unter 30 % nach 10 min.<sup>35</sup>

Gegenüber dem Gallensalz Natriumtaurocholat (Abb. 47c) waren die Liposomenstabilitäten ebenfalls sehr gering. Es kam schon initial zum Austritt großer Mengen des Farbstoffs. Bei der Formulierung EPC/30a/Cholesterol 1:2:1 waren nach 2 min bereits 93 ± 1 % CF freigesetzt. Auch die Liposomen mit dem vierfach methylverzweigten Bolalipid **30c** und die Referenzprobe erreichten annähernd dieses Niveau. Allerdings war das erst nach 10 min (EPC/30c/Cholesterol 4:1:6) bzw. nach 30 min (EPC/Cholesterol 1:1) der Fall. Es muss festgestellt werden, dass die Vesikel der symmetrischen Bolaamphiphile **30a** und **30c** somit eine geringere Stabilität aufweisen als die Referenz. Andere bisher getestete Bolalipid-vesikel<sup>33,35</sup> zeigten eine ähnlich hohe Empfindlichkeit gegenüber Gallensalzen.

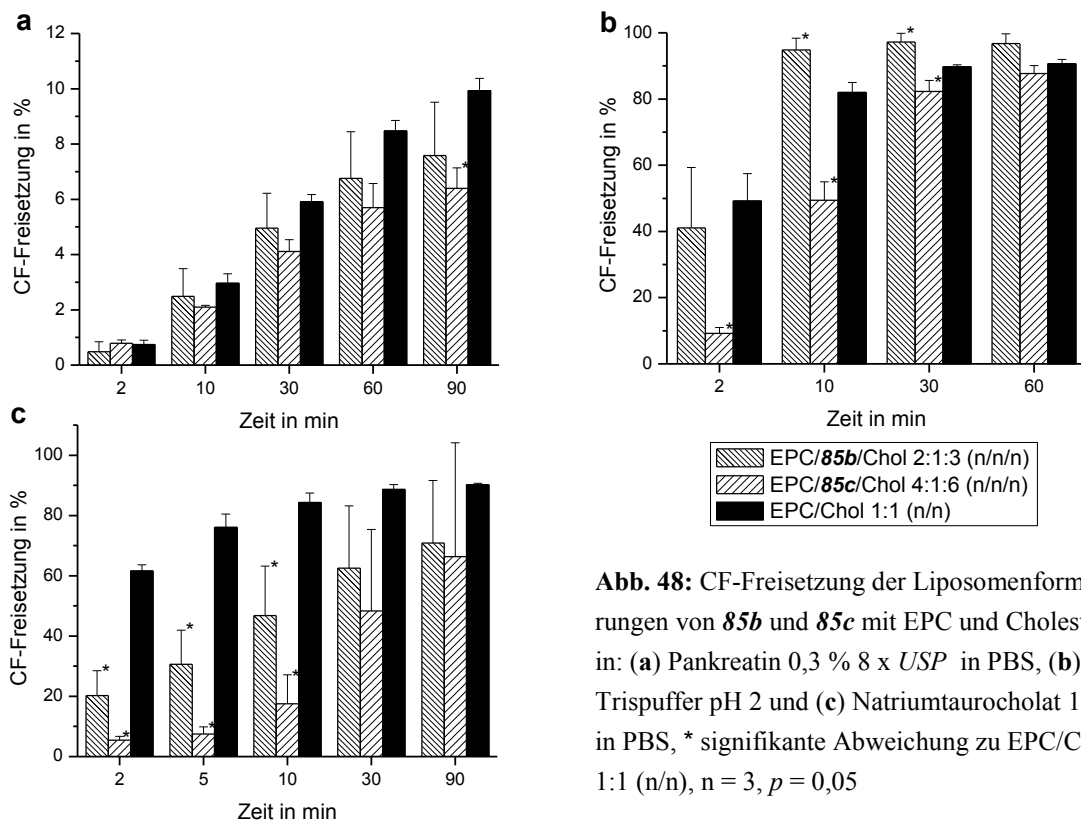
Neben einer deutlichen Stabilitätssteigerung gegenüber Pankreatin hatten die symmetrischen, methylverzweigten Tetraetherlipide **30a** und **30c** keinen positiven Einfluss auf die Liposomeneigenschaften. In saurem oder gallensalzhaltigem Medium waren die untersuchten Formulierungen den bolalipidfreien Vergleichsvesikeln maximal ebenbürtig oder sogar unterlegen.

## 2.5.2 In-vitro-Stabilität von Liposomen mit unsymmetrischen Bolaamphiphilen

Die Modelllipide **85b** und **85c** bildeten als Reinsubstanzen keine beständigen Vesikel (siehe Kap. 2.3.3). In Mischung mit Ei-Phosphatidylcholin und Cholesterol war dies möglich. Allerdings war die Präparation dieser Liposomen problematischer und schlechter reproduzierbar als bei den symmetrischen Bolalipiden,<sup>168</sup> was an den größeren Standardabweichungen zu erkennen ist (siehe Abb. 48). Das einkettige, unsymmetrische Phosphocholin **78b** (Übersicht siehe Kap. 5.1, S. 132) wurde ebenfalls getestet, aber aufgrund der mäßigen ersten Ergebnisse<sup>168</sup> nicht weiter untersucht.

Bei den Freisetzungssassays in Pankreatin (siehe Abb. 48a) ergab sich ein ähnliches Bild wie bei den symmetrischen Bolaamphiphilen. Beide bolalipidhaltige Formulierungen weisen eine höhere Stabilität als die EPC/Cholesterol-Liposomen auf. Durch die größere Schwankung der Messwerte ist nach 90 min nur die Mischung EPC/**85c**/Chol 4:1:6 mit  $7,6 \pm 1,9$  % CF-Freisetzung signifikant stabiler als die Vergleichsprobe. Somit sind sie gegenüber Pankreatin zwar etwas empfindlicher als die symmetrischen Modelllipide **30a** und **30c**, aber in diesem Medium waren die Freisetzungsraten mit unter 10 % schon auf einem sehr guten Niveau und auch niedriger als in der Literatur<sup>33</sup> beschrieben.

Unter sauren Bedingungen war ebenfalls die Formulierung EPC/**85c**/Chol 4:1:6 am vielversprechendsten. Nach 10 min waren noch  $50 \pm 6$  % des Fluoreszenzfarbstoffes in den Liposomen eingeschlossen. Nach 60 min hatten sich die Werte der Referenz so weit angenähert, dass keine statistisch sichere Abweichung mehr festzustellen war.



**Abb. 48:** CF-Freisetzung der Liposomenformulierungen von **85b** und **85c** mit EPC und Cholesterol in: (a) Pankreatin 0,3 % 8 x USP in PBS, (b) Trispuffer pH 2 und (c) Natriumtaurocholat 10 mM in PBS, \* signifikante Abweichung zu EPC/Chol 1:1 (n/n), n = 3, p = 0,05

Damit ist diese Formulierung Vesikeln aus natürlichen Archaeobakterienlipiden<sup>33</sup> (80 % nach 90 min) und dem synthetischen Bis(phosphocholin) C<sup>35</sup> (siehe Kap. 2.1.1, 70 % nach 10 min) unterlegen. Die Verwendung des unverzweigten Phosphocholins **85b** führte hier zu einer Destabilisierung der Liposomenmembranen. Die CF-Freisetzung erfolgte deutlich schneller und tendenziell auch in einem etwas höherem Ausmaß als in den anderen beiden Systemen. Den bedeutendsten Effekt bewirkten die unsymmetrischen Bolaamphiphile bei den Inkubationsversuchen in Natriumtaurocholat (siehe Abb. 48c). Nach 10 min Versuchsdauer lagen dort die Freisetzungsraten mit  $47 \pm 26$  % (EPC/**85b**/Chol 2:1:3) und  $18 \pm 10$  % (EPC/**85c**/Chol 4:1:6) im Vergleich zu  $84 \pm 3$  % (EPC/Cholesterol 1:1) auf einem signifikant niedrigeren Niveau. Nach 90 min blieben die Werte mit  $71 \pm 21$  % (EPC/**85b**/Chol 2:1:3) und  $76 \pm 38$  % (EPC/**85c**/Chol 4:1:6) zwar unter der Referenz ( $90 \pm 1$  %), waren aufgrund der hohen Varianz aber nicht mehr signifikant besser. Im Vergleich dazu wurden bei Verwendung der Membranlipide von *Methanobacterium espanolae* und *Thermoplasma acidophilum* im gleichen Zeitraum etwa 85 % des Markerfarbstoffes freigesetzt.<sup>33</sup> Vesikel mit einem 30%igen Anteil eines synthetischen Tetraetherdiols<sup>35</sup> in Ei-Phosphatidylcholin hatten schon nach 60 s zwischen 70 und 80 % CF verloren.

Es bleibt anzumerken, dass bei der Auseinandersetzung mit der Literatur die Formulierungen als Vergleiche herangezogen wurden, die im jeweiligen Medium die größte Stabilität zeigten. Bei den hier vorgestellten Ergebnissen wurde für jedes Lipid die gleiche Liposomenmischung betrachtet, auch wenn diese nicht in jedem Medium die höchste Stabilität aufwies. Außerdem wurde zugunsten der Formbarkeit der Vesikel eine geringe Abnahme der Liposomenstabilität in Kauf genommen.

Als insgesamt potenteste Formulierung hat sich EPC/**85c**/Chol 4:1:6 (n/n/n) erwiesen. Die Stabilität der Liposomen wurde in Pankreatin, Natriumtaurocholat und bei pH 2 über gewisse Zeiträume deutlich gesteigert.

Die Einführung einer fluidisierenden Methylverzweigung in die Hexadecylkette des Lipids **85b** und damit die Senkung der Hauptphasenumwandlungstemperatur von  $93,9$  °C (**85b**) auf  $63,6$  °C (**85c**) hat sich offensichtlich als vorteilhaft erwiesen. Im Gegensatz dazu haben Lipide mit zu niedrigen Umwandlungstemperaturen<sup>167</sup> (z.B. die Bolaamphiphile **30a** und **30c**) auch keinen positiven Effekt auf die Stabilität der Liposomen gegenüber Verdauungsmedien. Es bleibt weiteren Arbeiten vorbehalten, zu klären, ob die hier gefundenen Eigenschaften des Lipids **85c** auf der unsymmetrischen Gestalt, der Hydroxylkopfgruppe oder dem Phasenverhalten resultieren. Erst danach kann die Verbindung gezielt für eine mögliche Anwendung weiterentwickelt werden.

## 2.6 Zusammenfassung

Die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit lag in der Synthese von symmetrischen und unsymmetrischen Modellverbindungen archaebakterieller Membranlipide.

Für die Darstellung von methylverzweigten Alkylbromiden wurde eine neue Synthesekonzeption vorgestellt. Dabei konnten wahlweise racemische oder optisch reine Produkte erhalten werden, je nachdem ob (*RS*)-Citronellylbromid oder (*S*)-Citronellylbromid als Ausgangsstoff für die initiale Ozonolyse eingesetzt wurde. Durch alternierende GRIGNARD-Reaktion und THP-Substitution gegen ein Bromatom wurden endständig gesättigte bzw. einfach ungesättigte Alkylbromide mit der gewünschten Kettenlänge von 16 bzw. 17 Methylenheiten und einer Methylverzweigung in 10-Position der Alkylkette erhalten. Prinzipiell kann durch diese Vorgehensweise jede gewünschte Konfiguration, Kettenlänge sowie Position der Methylverzweigung realisiert werden.

Alternativ dazu wurde ein racemisches, methylverzweigtes Alkylbromid durch die bewährte Malonsäurechemie synthetisiert, was aber keinen entscheidenden Vorteil ergab.

Aus diesen Vorstufen konnten enantiomerenreine und aus racemischen Alkylketten aufgebaute Tetraetherlipide dargestellt werden. Ausgegangen wurde vom (*S*)-1,2-Isopropylidenglycerol, das mit den 17-Bromheptadec-1-enderivaten in *sn*-3-Position verethert wurde. Nach der Abspaltung der IP-Schutzgruppe wurde in *sn*-1-Position entweder eine Benzyl- oder Tritylschutzgruppe regioselektiv eingeführt. Die Tritylfunktion hat sich dabei als vorteilhaft erwiesen, da diese mit sehr hohen Ausbeuten gekuppelt werden konnte und nachfolgende Reaktionen im Wesentlichen nicht beeinflusste. Nach der Zweitalkylierung mit den gesättigten Hexadecylderivaten wurden die ringoffenen Tetraetherlipidgrundgerüste durch Olefinmethatase geknüpft und hydrogenolytisch in die bolaamphiphilen Diole überführt.

Die abschließenden Phosphorylierungs- und Quarternierungsreaktionen lieferten insgesamt 6 symmetrische, methylverzweigte Bis(phosphocholine). Die Verzweigungen befanden sich entweder in 10-Position der kürzeren Ketten, in 10,10'-Position der durchspannenden Kette oder in allen vier Positionen der kurzen sowie der durchspannenden Kette. Es wurden jeweils drei Modelllipide mit racemischen oder optisch reinen, methylverzweigten Alkylketten synthetisiert. Wie bei den natürlichen Tetraetherlipiden sind diese Alkylketten bei allen 6 Endprodukten in *sn*-2,3-Konfiguration mit den Glycerolfunktionen verknüpft.

Auf dem Gebiet der unsymmetrischen Bolalipide sollten zunächst einfacher aufgebaute, kurzkettige Verbindungen synthetisiert werden, um dann schrittweise zu komplexeren Strukturen überzugehen. Wie bei den symmetrischen Bolaamphiphilen mussten auch hier zunächst wichtige Vorstufen dargestellt werden.

Das THP-geschützte 16-Bromhexadecanol wurde in wenigen quantitativen Umsetzungen aus dem käuflich erhältlichen Hexadecanolid hergestellt. Für das analoge Bromid mit einer

Kettenlänge von 22 Methyleneinheiten wurde die Alkylkette durch GRIGNARD-Kupplung aufgebaut.

Die Synthese eines unterschiedlich funktionalisierten  $\alpha,\omega$ -Dotriacontans wurde zunächst durch Monobenzilylierung von Dotriacontan-1,32-diol realisiert. Aufgrund der geringen Ausbeuten wurde ein zweiter Syntheseweg erarbeitet. Es wurde ein benzylgeschütztes 16-Bromhexadecanol synthetisiert und mit dem korrespondierenden THP-geschützten Bromid in einer GRIGNARD-Reaktion zum unsymmetrischen, langkettigen Produkt gekuppelt. In einfachen Folgereaktionen konnten daraus der  $\omega$ -benzylgeschützte Alkohol und das entsprechende Bromid gewonnen werden.

Als potentielle Gentransfektionslipide wurden aus den THP-geschützten Alkylbromiden homologe Reihen vom primären Amin bis zum quartären Ammoniumsalz mit Kettenlängen von 16 und 22 Methyleneinheiten synthetisiert. Die endständige Hydroxylfunktion liegt dabei jeweils frei oder als THP-Ether vor.

Für die Synthese des 32-Hydroxydotriacontanyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromids wurde die benzylgeschützte Vorstufe verwendet. Durch Phosphorylierung und Quarternierung mit verschiedenen Aminen entstanden weitere drei unsymmetrische 32-Hydroxydotriacontanylphosphocholinderivate mit steigender Kopfgruppengröße.

Eine Erweiterung des lipophilen Molekülteils erfolgte bei den zweikettigen, glycerolhaltigen Bolaamphiphilen mit einer 32-Hydroxydotriacontanylkette in *sn*-3- und einer Hexadecylkette in *sn*-2-Position des Glycerols. An die dritte OH-Funktion des Glycerols wurde die Phosphocholinkopfgruppe geknüpft. Die Schutzgruppenstrategie und Alkylierungsreihenfolge der symmetrischen Lipide wurde übernommen und angepasst. So wurde eine Tritylgruppe in *sn*-1-Position verwendet und nach der Zweitalkylierung selektiv abgespalten, um die Phosphorylierungs- und Quarternierungsreaktionen nur an der Glycerolkopfgruppe zu erlauben. Im letzten Schritt wurde die Benzylschutzgruppe am Ende der Dotriacontankette hydrogenolytisch entfernt. Durch Variation der Kopfgruppe zum 2-(Dimethylammonio)-ethylphosphat und der Einführung einer methylverzweigten Alkylkette anstatt der Hexadecylfunktion wurden zwei weitere unsymmetrische, glycerolhaltige Bolaamphiphile dargestellt.

Bei den physikochemischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die symmetrischen, methylverzweigten Modellverbindungen in wesentlichen Eigenschaften mit ihren natürlichen Vorbildern übereinstimmen: Die Lipide bilden Liposomen aus, in denen die synthetischen Tetraetherlipide eine membrandurchspannende Anordnung einnehmen. Außerdem weisen sie relativ niedrige Phasenübergangstemperaturen von der Gel- zu flüssig-kristallinen Phase auf, obwohl es sich um langkettige, vollständig gesättigte Lipide handelt. Dabei genügen schon wenige Methylverzweigungen, um den natürlichen Tetraetherlipiden nahezukommen. Optisch reine, methylverzweigte Alkylketten senkten die Umwandlungstemperaturen zwar etwas stärker als racemische, aber dieser Effekt war relativ gering. Die Synthese enantiomerenreiner Verbindungen ist in diesem Fall folglich nicht notwendig.



Im Gegensatz dazu lagen die hier getesteten unsymmetrischen Modelllipide bei Raumtemperatur fast ausschließlich in hochgeordneten lamellaren Phasen vor. Die Einführung einer Methylverzweigung bei den zweikettigen, glycerolhaltigen Verbindungen sorgte auch hier für eine deutliche Fluidisierung. Die Herstellung von Liposomen war aus den Reinsubstanzen allerdings in keinem Fall möglich.

Für die liposomale Gentransfektion sind die untersuchten Bolalipide unbrauchbar. So hatten sie keinen wesentlichen Einfluss auf die Toxizität und führten sowohl als Cytofektine als auch als Helferlipide zu einem fast vollständigen Wirkungsverlust.

Aufgrund ihres Phasenverhaltens weisen die synthetisierten, symmetrischen Bolaamphiphile große Ähnlichkeit mit archaebakteriellen Membranlipiden auf. In Liposomenformulierungen mit konventionellen Lipiden haben sie gegenüber künstlichen Verdauungsmedien allerdings kaum einen stabilisierenden Einfluss. Lediglich in Pankreatin ergaben sich signifikant niedrigere Farbstofffreisetzungsraten.

Im Gegensatz zu den Reinsubstanzen konnten Vesikel aus den unsymmetrischen Bolaamphiphilen in Mischung mit anderen Lipiden gebildet werden. Die Formulierungen mit den zweikettigen, unsymmetrischen Phosphocholinen wiesen sowohl gegenüber Pankreatin als auch gegen Natriumtaurocholat eine erhöhte Stabilität auf. Von diesen beiden Verbindungen lieferte das methylverzweigte, zweikettige Phosphocholin jeweils die vielversprechenderen Ergebnisse. Sogar in saurem Medium konnte die Freisetzung des Fluoreszenzfarbstoffes deutlich verzögert werden.

Für eine Anwendung als Transportvehikel für Arzneistoffe müssen weiterhin Strukturvereinfachungen identifiziert werden, um diese Stoffe auf einfacherem und kostengünstigerem Weg gewinnen zu können. Ein wichtiger Beitrag dieser Arbeit ist dabei die Erkenntnis, dass racemische, verzweigte Alkylketten mit wenigen, gleichmäßig verteilten Methylverzweigungen für eine ausreichende Fluidität der Modellverbindungen genügen. Andererseits sind unsymmetrische den symmetrischen Strukturen anscheinend vorzuziehen. Für weitergehende Untersuchungen sollte deshalb die Verbindung {2-*O*-[(10*RS*)-10-Methylhexadecyl]-3-*O*-(32-hydroxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)-ethylphosphat den Ausgangspunkt bilden.

## 3 EXPERIMENTELLER TEIL

### 3.1 Chemikalien, Reagenzien und Analysemethoden

#### Kommerziell erworbene Chemikalien

Ameisensäure 85%ig (VEB Laborchemie Apolda)	Kaliumhydrid 30%ig in Paraffinöl (Aldrich)
9-BBN-Lösung in THF 0,5 M (Aldrich)	Kupfer(II)chlorid 99,999 % (Aldrich)
Benzylalkohol (VEB Laborchemie Apolda)	LiAlH <sub>4</sub> (Aldrich)
Benzylbromid (Aldrich)	Lithiumbromid (Aldrich)
Bortrifluorid-Diethylether-Komplex, gereinigt, redestilliert (Aldrich)	Lithiumchlorid 99,99 % (Aldrich)
Brom (Aldrich)	Magnesium-Drehspäne (Aldrich)
1-Brombutan (VEB Berlin-Chemie)	Methanol Rotisolv <sup>®</sup> HPLC (Roth)
2-Bromethanol (Fluka)	Methansulfonsäurechlorid (Aldrich)
1-Bromhexadecan (Acros Organics)	Methylamin-Lsg. 33 % in EtOH (Fluka)
1-Bromhexan (Merck-Schuchardt)	Methylmalonsäurediethylester (Aldrich)
6-Bromhexan-1-ol (Aldrich)	Natriumhydrid 60%ig in Paraffinöl (Aldrich)
8-Bromoctan-1-ol (Aldrich)	Palladium auf Aktivkohle 10 % (Aldrich)
5-Brompent-1-en (Aldrich)	Palladiumhydroxid auf Aktivkohle 20 % (Acros Organics)
11-Bromundecan-1-ol (Aldrich)	Phosphoroxychlorid (Aldrich)
11-Bromundec-1-en (Aldrich)	Pyridinium- <i>p</i> -toluensulfonat (Aldrich)
( <i>RS</i> )-Citronellylbromid (Aldrich)	Tetrabutylammoniumiodid (Merck-Schuchardt)
( <i>S</i> )-Citronellylbromid (Aldrich)	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylpropan-1,3-diamin 99+% (Aldrich)
Chloroform Rotisolv <sup>®</sup> HPLC (Roth)	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure (Ferak Berlin)
Dibutylzinnoxid (Aldrich)	Toluolsulfonsäurechlorid (Aldrich)
3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran (Aldrich)	Triethylamin (Aldrich)
Dimethylamin-Lsg. 33 % in EtOH (Fluka)	Trimethylamin-Lsg. 31-35 % in EtOH (Fluka)
4-Dimethylaminopyridin (Aldrich)	Triphenylphosphin (Aldrich)
Ethanol absolut G Chromasolv <sup>®</sup> (Aldrich)	Triphenylchlormethan 98% (Aldrich)
Ethylacetat Chromasolv <sup>®</sup> Plus (Aldrich)	Wasserstoffperoxidlsg. 35%ig (Degussa AG)
Grubb`s Katalysator 1 <sup>st</sup> Generation (Aldrich)	
16-Hexadecanolid 97 % (Aldrich)	
( <i>S</i> )-1,2-Isopropylidenglycerol 99% ee (Aldrich)	

## Aufbereitung der Lösungsmittel

Für die Synthesen, SC und MPLC wurden in der Regel wasserfreie Lösungsmittel verwendet, die nach den in der Literatur angegebenen Methoden getrocknet wurden.<sup>169</sup>

Aceton:	mehrere Stunden über CaCl <sub>2</sub> stehenlassen, Destillation
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , CHCl <sub>3</sub> :	Trocknen über P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 1 h zum Rückfluss erhitzen, Destillation
Diethylether, TEA:	Vortrocknen über KOH, über Natrium zum Rückfluss erhitzen, Blaufärbung durch den Indikator Benzophenon zeigt Abwesenheit von Wasser an (nicht bei TEA verwendet), Destillation
Dimethylformamid:	fraktionierte Destillation mit Benzol und Wasser
DMSO:	8 h über CaH <sub>2</sub> rühren (Schutzgasatmosphäre), Vakuumdestillation
Heptan, Pyridin:	Trocknen über KOH, 1 h zum Rückfluss erhitzen, Destillation
Methanol:	Zugabe von Magnesiumspänen, 2 h zum Rückfluss erhitzen, Destillation
Dimethoxyethan, THF, Toluol, Xylol:	über Natrium zum Rückfluss erhitzen, Blaufärbung durch den Indikator Benzophenon zeigt Abwesenheit von Wasser an, Destillation

## Dünnschichtchromatographie (DC)

Die DC diente zur Kontrolle des Reaktionsverlaufes, der Reinheitsprüfung von Zwischen- und Endprodukten sowie zur Orientierung bei der Auswahl der Elutionsmittel für die chromatographische Reinigung der Substanzen. Als stationäre Phase dienten DC-Platten der Firma *Merck*, Darmstadt Kieselgel 60 F<sub>254</sub> verschiedener Größe.

Die Substanzen wurden in einem Lösungsmittel gelöst, dünn aufgetragen und unter Kammer-sättigung in geeigneten Chromatographiekammern entwickelt. Als mobile Phasen wurden verschiedene Standardlaufmittelmischungen (V/V/V) verwendet:

LM1	Chloroform
LM2	Chloroform/Ether 8:2
LM3	Chloroform/Ether 1:1
LM4	Chloroform/Methanol 95:5
LM5	Chloroform/Methanol/Ammoniak-Lsg. 80:20:2
LM6	Chloroform/Methanol/Ammoniak-Lsg. 65:35:5
LM7	Chloroform/Methanol/Ammoniak-Lsg. 50:50:10
LM8	Chloroform/Heptan 6:4

Die ermittelten R<sub>F</sub>-Werte wurden nicht korrigiert.

## Detektionsreagenzien für Dünnschichtchromatographie

Da die synthetisierten Substanzen in der Regel nicht mit UV-Licht detektiert werden konnten, musste auf Bromthymolblau- bzw. Bromlösung zurückgegriffen werden.

Der Triphenylmethanfarbstoff Bromthymolblau<sup>170</sup> (3',3''-Dibromthymolsulfophthalein) lagert sich gut an lipophile Substanzen an. Zur Herstellung der Bromthymolblaulösung wurden

200 mg Bromthymolblau und 400 mg KOH in wenig Ethanol angelöst und in 1 Liter destilliertem Wasser aufgenommen. Zur Steigerung der Empfindlichkeit wurden die Chromatogramme mit Ammoniakdampf bedampft.

Die Bromlösung eignete sich zum Nachweis ungesättigter Verbindungen. Das Brom addiert sich an die Doppelbindung und zeigt entfärbte weiße Flecken auf der bräunlich gefärbten DC-Platte. Zur Herstellung der Bromlösung wurden 5 Tropfen Brom in 10 ml Methanol gelöst.

### **Säulenchromatographie (SC)**

Die Reinigung der synthetisierten Verbindungen wurde in der Regel mit Hilfe der Säulenchromatographie durchgeführt. Dafür wurde Kieselgel 60, Fa. *Merck* mit einer Korngröße von 0,063-0,200 mm benutzt, das im Verhältnis Kieselgel:Substanz von 10:1 (m/m) für trocken gepackte Säulen und 100:1 (m/m) für mit dem Laufmittel eingeschwemmte Säulen verwendet wurde. Als Elutionsmittel dienten verschiedene Lösungsmittelmischungen deren Polaritäten bei Bedarf diskontinuierlich erhöht wurden. Zur Phlegmatisierung der sauren Hydroxylgruppen des Kieselgels wurden gegebenenfalls 10 Tropfen Triethylamin je 100 ml Laufmittel zugesetzt. Dies war bei Zwischenstufen notwendig, die säurelabile Gruppen im Molekül enthielten.

### **MPLC**

Für die Reinigung der Substanzmengen von 0,1 g bis 5 g eignete sich ebenfalls die MPLC (*medium pressure liquid chromatography*) als eine zeitsparende Methode.

Als stationäre Phase diente Kieselgel 60, Fa. *Merck* mit einer Korngröße von 0,040-0,063 mm. Die Säulen wurden mit Hilfe des *Cartriger C-670* gepackt. Das Elutionsmittel wurde von einem *Pump Module C-601* mit *Pump Manager C-615* durch die Säule gepumpt und vom *Fraction Collector C-660* (alles Fa. *Büchi*) in verschiedenen Fraktionen gesammelt. Als Elutionsmittel dienten die gleichen Lösungsmittelmischungen wie zur konventionellen Säulenchromatographie.

### **HPLC**

Zur Ermittlung der Reinheit der symmetrischen, methylverzweigten Endprodukte wurde eine *PU 980 Intelligent HPLC-Pump* mit einer *LG-1580-02 Ternary Gradient Unit* und einer Säule *Kromasil Si 100 - 5 µm - 250 x 4,6 mm* (alles *Jasco*) verwendet. Von den Proben wurden 20 µl einer Lösung (1 mg/ml in CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 45:45:10, V/V/V) injiziert und mit einem Fluss von 1 ml/min sowie folgendem Gradienten eluiert: 5 min isokratisch CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 45:45:10 (V/V/V); 5 min kontinuierlich auf CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 42:42:16 (V/V/V) steigern; 10 min isokratisch bei CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 42:42:16 (V/V/V). Als Streulichtdetektor diente ein *SEDEX 55* (Fa. *S.E.D.E.R.E France*), der bei 2,0 bar, 61 °C und *Gain* = 8 arbeitete.

## NMR-Spektroskopie

Die  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden an einem *Varian Gemini 2000* bei Frequenzen von 400 MHz bzw. 100 MHz aufgezeichnet. Anstatt Trimethylsilan als inneren Standard zu verwenden, wurde auf das verwendete Lösungsmittel kalibriert. Die Proben wurden in Aceton- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  bzw. einer Mischung aus  $\text{CDCl}_3$  und Methanol- $d_4$  gelöst.

## Massenspektrometrie

EI-MS: Die Elektronen-Ionisations-Massenspektrometrie wurde an einem *AMD 402* (70 eV), Fa. *AMD Inteca GmbH*, Harpstedt durchgeführt.

ESI-MS: Alternativ dazu konnten polare bzw. gut polarisierbare Substanzen auch an einem *Finnigan MAT 710C* vermessen werden. Hierbei wurde die Probe in Chloroform/Methanol/Mischungen gelöst und über die Spritzenpumpe *Havard Apparatus 22* injiziert. Die Ionisation wurde im Elektrospray bei 4,5 kV positiv und negativ durchgeführt.

HR-MS<sup>1</sup>: Die hochauflösende (*high resolution*) Massenspektrometrie wurde bei den stickstoffhaltigen Verbindungen alternativ zur Elementaranalyse durchgeführt. Die Spektren wurden an einem *Q-TOF-2* (*Waters/Micromass*, Manchester, UK) aufgezeichnet. Eine Lösung aus Natrium- und Caesiumiodid diente als innerer Standard.

HR-MS<sup>2</sup>: Die hochaufgelösten Massenspektren für Verbindungen mit molaren Massen ab etwa 600 g/mol wurden an einem *LTQ-Orbitrap*-Massenspektrometer der Firma *Thermo Fisher Scientific* angefertigt. Dazu wurden die Substanzen in einem geeigneten Lösungsmittel aufgenommen und einer statischen Nanelektrospray-Ionisation unterzogen.

GC-MS: Die Proben wurden durch Kombination eines *HP 5890 II* mit einem *MS 5971 A* (beide *Hewlett-Packard*) gaschromatographisch getrennt und massenspektrometrisch vermessen. Es wurde eine Säule DB5 30 m×0,25 mm (Innendurchmesser) × 0,25  $\mu\text{m}$  (Innenbeschichtung) verwendet. Die Injektionstemperatur betrug 250 °C, die Temperatur am Detektor 280 °C.

## Polarimetrie

Die spezifischen Drehwerte der optisch aktiven Verbindungen wurden an einem *Polartronic E* der Fa. *Schmidt und Haensch* ermittelt und unkorrigiert angegeben.

## Elementaranalyse

Die Bestimmung des C-, H-, N- und S-Gehalts der Substanzen erfolgte an einem *CHNS-932* der Firma *LECO-Corporation*, St. Joseph, Michigan, USA im automatischen Mikroverfahren.

## Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mit einem *Boetius* Heitztischmikroskop. Die ermittelten Schmelzpunkte wurden nicht korrigiert.

## 3.2 Physiko-chemische Methoden

Für die physiko-chemischen Untersuchungen wurde deionisiertes Wasser aus einer *Milli<sup>®</sup> Q Advantage A10*-Anlage mit *Q-Pod<sup>®</sup>* (alles Fa. *Millipore*) verwendet.

### Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Die DSC-Kurven wurden an einem *MicroCal VP-DSC* (*MicroCal Inc.*, Northampton, MA, USA) aufgezeichnet. Die Lipide wurden jeweils in einer Konzentration von 1 mg/ml vorzugsweise in Wasser vermessen. Alternativ dazu wurden Wasser/Ethanol und Phosphatpuffer (pH 5, 10 mM)/Ethanol-Mischungen 75:25 (V/V) verwendet. Die Proben wurden durch alternierendes Erwärmen, Vortexen und Beschallen im wässrigen Medium dispergiert. Die Probe und die Referenz wurden für 10 min unter Rühren im Vakuum entgast. Bei einer Heizrate von 20 K/h wurden zwischen 2 und 95 °C drei aufeinander folgende Heiz- bzw. Kühlzyklen durchgeführt. Die DSC-Messungen wurden mit der *MicroCal Origin 7.0* Software entsprechend der Literatur<sup>171</sup> ausgewertet. Die Umwandlungsenthalpien  $\Delta H$  wurden durch Integration der Peaks unter Berücksichtigung der Basislinie bestimmt.

### Liposomenpräparation

Entsprechend der Filmmethode nach BANGHAM<sup>130</sup> wurden die Lipide (jeweils 1 mg bzw. 15-20 mg für FFEM) in Chloroform/Methanol gelöst, in einem Rundkolben vorsichtig eingeeengt und über Nacht im Vakuum getrocknet. Die Lipidfilme wurden 1 h mit je 1 ml Wasser bei 50 °C inkubiert, 30 min bei 50 °C beschallt (*TRANSSONIC DIGITAL S*, Fa. *Elma<sup>®</sup>*) und schließlich 41x durch eine Polycarbonatmembran (100 nm bzw. 200 nm für FFEM) extrudiert. Der Extruder, die Polycarbonatmembranen (Best.-Nr. 61003 und 61005) und Filter Supports (Best.-Nr. 610014) wurden von *Avanti<sup>®</sup> Polar Lipids Inc.* bezogen. Zur Temperierung des Extruders wurde eine *digital hotplate SD160* der Fa. *Stuart<sup>®</sup>* verwendet.

### Photonenkorrelationspektroskopie (PCS)

Die Partikelgrößenmessung der Liposomen erfolgte an einem *Malvern HPPS-ET* (*Malvern*, U.K.). Nach dem Prinzip der dynamischen Lichtstreuung wird aus der Änderung der Streulichtintensität, die durch die BROWNSche Bewegung der Teilchen in der lichtdurchstrahlten Probe hervorgerufen wird, der mittlere hydrodynamische Durchmesser (*z-Average*) sowie der Polydispersitätsindex (PDI) errechnet. Die dimensionslose Größe des PDI ist ein Maß für die Größenverteilung.<sup>131</sup>

Für die Bestimmung der Partikelgrößen wurden jeweils 50 µl Liposomenlösung mit 1 ml sterilfiltriertem Wasser gemischt. Die Messungen wurden bei 25 °C, einem Brechungsindex von 1,25 und einer Viskosität von 0,8872 Nsm<sup>-2</sup> realisiert. Um mögliche Messfehler durch Luftblasen oder Staubpartikel zu erkennen oder auszuschließen, wurden für jede Probe drei aufeinanderfolgende Messungen, bestehend aus 10 Einzelmessungen von 10 s Dauer, durchgeführt.

### **Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)**

Für die Präparation der Proben mit negativer Kontrastierung wurden die Lipidsuspensionen aus den DSC-Messungen mit den dort verwendeten Medien auf Konzentrationen von 0,03 und 0,1 mg/ml verdünnt. Von diesen Probelösungen wurden jeweils 5 µl auf ein mit Formvar-Film beschichtetes Nickelnetz aufgetragen. Nach einer Minute wurde die überschüssige Flüssigkeit mit einem Filterpapier vorsichtig am Rand abgesaugt. Zur negativen Kontrastierung wurden 5 µl einer 1%igen Uranylacetatlösung hinzugefügt und nach einer weiteren Minute auf dieselbe Weise entfernt. Diese Präparation und das anschließende Trocknen der Proben erfolgte bei RT (22 °C) oder im Kühlraum (4 °C), wobei alle verwendeten Lösungen und Geräte vorher entsprechend temperiert wurden.

Bei der Probenvorbereitung für die FFEM-Bilder (*freeze-fracture electron microscopy*) wurden, wie unter Liposomenpräparation (s.o.) beschrieben, die Vesikel der entsprechenden Lipide in Konzentrationen von 15-20 mg/ml mit einem Porendurchmesser der Polycarbonatmembranen von 200 nm präpariert. Die Gefrierbrüche wurden im Arbeitskreis von Dr. G. HAUSE (Biozentrum der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) angefertigt.

Die elektronenmikroskopischen Bilder wurden von Dr. G. HAUSE bzw. Dr. A. MEISTER (*HALOmem*) im Biozentrum der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg an einem *Zeiss EM 900* (80 kV) aufgenommen.

### **Röntgenographische Messungen**

Die röntgenographischen Untersuchungen im Kleinwinkelbereich (*small angle X-ray scattering*, SAXS) und im Weitwinkelbereich (*wide angle X-ray scattering*, WAXS) wurden von Dr. G. FÖRSTER in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. A. BLUME (Institut für Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) durchgeführt und ausgewertet.

## **3.3 Gentransfektion**

Die Experimente zum liposomalen Gentransfer wurden von B. HEINKE und N. ERDMANN in der Arbeitsgruppe Prof. Dr. A. LANGNER (Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) an der HepG2-Zelllinie entsprechend der Methode von HEINZE<sup>152</sup> durchgeführt. Es wurden die Mittelwerte  $\bar{x}$  mit den dazugehörigen Standard-

abweichungen  $s$  angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte durch Varianzanalyse (*One-way ANOVA*) und BONFERRONI's multiplen Vergleichstest bei einem Konfidenzintervall ( $1-p$ ) von 95 %.

### 3.4 Liposomenstabilität

Die Farbstofffreisetzungsversuche wurden von J. PARMENTIER in der Arbeitsgruppe Prof. Dr. G. FRICKER (Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg) durchgeführt. Die Präsentation der Daten und die statistische Auswertung erfolgte wie in Kapitel 3.3 Gentransfektion beschrieben.

### 3.5 Allgemeine Synthesevorschriften

#### Methode 1A (GRIGNARD-Kupplung)

Zur Bildung des GRIGNARD-Reagenz wurde in einem sekurierten Versuchsaufbau ein 1,2-facher Überschuss an Magnesiumspänen vorgelegt und das entsprechende Alkylbromid in trockenem Diethylether langsam zugetropft, so dass der Ether leicht siedete. Danach wurde der Ansatz 2 h zum Rückfluss erhitzt und langsam auf RT abgekühlt. Nach dem inertem Abdekantieren der Lösung von den Magnesiumrückständen in einen zweiten sekurierten Kolben wurde der Ether vorsichtig abdestilliert und durch etwa die doppelte Menge tr. THF ersetzt. Das Reaktionsgemisch wurde nun auf -5 bis -10 °C abgekühlt und nacheinander mit dem zweiten zu kuppelnden Alkylbromid in tr. THF und einer frisch hergestellten 0,1 M Lsg. von  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$  in tr. THF versetzt. Nun wurde 3 h bei 0 bis -5 °C gerührt bis eine leichte Rot- bzw. Schwarzfärbung das Ende der Reaktion anzeigte.

Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch je nach Ansatzgröße in 50-200 ml kalte, 5%ige  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lsg. gegossen und zwei- bis dreimal mit 100-200 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden nun mit 75-150 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und am Vakuumrotationsverdampfer eingeeengt. Soweit nicht anders angegeben, wurden die erhaltenen Rohprodukte durch SC mittels eines Heptan/Diethylether-Gradienten unter Zusatz von TEA gereinigt.

#### Methode 1B (GRIGNARD-Kupplung)

Anstatt in Ether wurde das GRIGNARD-Reagenz in tr. THF durch zweistündiges Erhitzen auf 50° C gebildet. Beim Abdekantieren von den Magnesiumrückständen wurde mit 10-20 ml tr. THF verdünnt. Im Übrigen gleicht die Reaktionsführung der Methode 1A.



### **Methode 2 (Bromierungs-Reaktion)**

Je 1 mmol umzusetzendem THP-Ether wurden 2,2 mmol (0,58 g) Triphenylphosphin in 5 ml getrocknetem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen. Der Ansatz wurde nun auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt und tropfenweise mit einer Lösung von 2,2 mmol (0,35 g; 0,11 ml) Brom in 2 ml tr.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  versetzt. Dabei durfte weder die Temperatur ansteigen, noch durfte die erhaltene Mischung eine Verfärbung durch Bromreste aufweisen. Anschließend wurde der jeweilige THP-Ether in 1-2 ml tr.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hinzugefügt und über Nacht bei RT gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz zweimal mit etwa dem halben Volumen Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und am Vakuumrotationsverdampfer eingengt.

Die Reinigung erfolgte durch SC mittels eines Heptan/Diethylether-Gradienten mit der zehnfachen Menge Kieselgel, bezogen auf die Einwaage des THP-Ethers. Dazu wurde das erhaltene Rohprodukt auf wenige Gramm Kieselgel präadsorbiert und auf die Säule gegeben.

### **Methode 3 (O-Alkylierung am Glycerol)**

Eine 30%ige KH-Suspension in Paraffinöl wurde zunächst unter Schutzgasatmosphäre mehrfach mit abs. Toluol gewaschen und in 5 ml abs. Toluol dispergiert. Dazu wurde vorsichtig eine Lösung des Alkohols in 15 ml abs. Toluol getropft und zur vollständigen Salzbildung für 18 h bei RT gerührt. Bei Vorhandensein einer Tritylschutzgruppe in Nachbarschaft der Hydroxylfunktion wurde zusätzlich für 1 h auf  $100^\circ\text{C}$  erwärmt.

Zur Alkylierung wurde nun das Bromid in 10 ml abs. Toluol hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 10 h unter ständigem Rühren zum Rückfluss erhitzt und der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt.

Nach Abschluss der Reaktion wurde für 15 min intensiv mit 30 ml Wasser gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mehrfach mit 100 ml  $\text{CHCl}_3$  extrahiert. Für eine bessere Phasentrennung wurden bei Bedarf 20 ml einer gesättigten  $\text{NaCl}$ -Lsg. hinzugefügt. Die vereinigten org. Phasen wurden nun wie üblich getrocknet ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtriert und eingengt (Vakuumrotationsverdampfer). Die Reinigung erfolgte durch SC oder MPLC mit Hilfe von Heptan/Diethylether-Gradienten bei den einfach alkylierten und mit Heptan/Chloroform-Gradienten bei den zweifach alkylierten Verbindungen, wenn notwendig mit Zusatz von TEA.

### **Methode 4 (Abspaltung der IP-Schutzgruppe)**

Die isopropylidengeschützten Glycerolderivate wurden in getrocknetem Methanol bzw. Methanol/Chloroform-Mischungen zusammen mit einer Spatelspitze *p*-Toluolsulfonsäure suspendiert und 10 h unter Rückfluss erhitzt.

Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel am Vakuumrotationsverdampfer abdestilliert und der Ansatz in 70 ml Chloroform aufgenommen. Anschließend wurde mit 70 ml Wasser gewaschen und mehrfach mit 70 ml Chloroform/Methanol 9:1 (V/V) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und im Vakuum zur

Trockne eingengt. Soweit nicht anders angegeben, erfolgte die Reinigung durch Umkristallisieren aus Heptan.

### **Methode 5 (Metathesereaktion und Reduktion)**

Unter Schutzgasatmosphäre wurden jeweils 0,6-1,3 mmol des Olefins in 15-40 ml getrocknetem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst. Dazu wurden langsam 29 mol % GRUBB's Katalysator 1<sup>st</sup> Gen. in 10-25 ml getrocknetem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  getropft und anschließend 24 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde das Reaktionsgemisch am Vakuumrotationsverdampfer zur Trockne eingengt und unter Verwendung eines Heptan/Chloroform-Gradienten säulenchromatographisch getrennt. Bei Vorliegen der säurelabilen Tritylgruppe wurden dem Elutionsgemisch geringe Mengen TEA (10 Tropfen je 100 ml) zugesetzt.

Zur Reduktion der Doppelbindung und der hydrogenolytischen Abspaltung der Schutzgruppen wurden die gereinigten Zwischenprodukte in 50 ml einer Mischung (1:1, V/V) aus reinem Ethanol und reinem Ethylacetat aufgenommen. In einer geeigneten Hydrierapparatur wurde nun nach Zugabe von 33 mol %  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  (20 % auf Aktivkohle) bei 2 bar  $\text{H}_2$ -Atmosphäre über Nacht gerührt. Nach Abschluss der Reaktion wurde der Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum eingengt und durch SC mit einem Chloroform/Diethylether-Gradienten gereinigt.

### **Methode 6 (Phosphorylierung)**

Zunächst wurde 2-Bromethylphosphorsäuredichlorid aus 2-Bromethanol und Phosphoroxychlorid entsprechend der Vorschrift von HIRT und BERCHTOLD<sup>99</sup> dargestellt und destilliert.

Für die Phosphorylierung von 0,20 mmol freier Hydroxylfunktionen wurden 0,80 mmol (0,19 g) 2-Bromethylphosphorsäuredichlorid unter Schutzgasatmosphäre in 5 ml abs.  $\text{CHCl}_3$  gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurden langsam 1,40 mmol (0,19 ml) getrocknetes TEA in 5 ml abs.  $\text{CHCl}_3$  getropft und weitere 15 min bei 0 °C gerührt. Der Alkohol wurde nun in fester Form, bzw. gelöst in wenig Chloroform, hinzugegeben. Bis zum vollständigen Lösen des Alkohols wurde der Ansatz vorsichtig erwärmt und anschließend 24 h bei RT gerührt.

Bei der Aufarbeitung wurde dieser mit dem zweifachen Volumen Eis versetzt und kräftig für 1-2 h gerührt. Nach dreimaliger Extraktion dieser Mischung mit 20 ml  $\text{CHCl}_3$  wurden die org. Phasen vereinigt und bei 30-40 °C am Vakuumrotationsverdampfer eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde nun für 1 h in 10 ml THF/Wasser 9:1 (V/V) hydrolysiert, mit 10 ml 5%iger  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lsg. versetzt, dreimal mit 25 ml  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1 (V/V) ausgeschüttelt und wie beschrieben zur Trockne eingengt. Die erhaltenen 2-Bromethylphosphorsäureester wurden ohne weitere Reinigung nach Methode 7 quarterniert.

### **Methode 7 (Quarternierung)**

Die Bromide wurden in 10-20 ml Chloroform/Acetonitril 1:1 (V/V) suspendiert und in der Regel mit dem zehnfachen Überschuss eines Amins in ethanolischer Lösung versetzt. Der

Kolben wurde dicht verschlossen, für 2-10 h auf 50 °C temperiert und danach noch mehrere Tage bei RT stehengelassen.

Nach Abschluss der Reaktion wurden das überschüssige Amin und das Lösungsmittel vorsichtig am Vakuumrotationsverdampfer abgezogen. Die einkettigen, basischen Alkylamine wurden in 50 ml CHCl<sub>3</sub>/MeOH-Mischungen aufgenommen und mit 20 ml 0,1 M KOH ausgeschüttelt. Aufgrund der guten Wasserlöslichkeit oder Emulsionsbildung wurde bei den übrigen Produkten von diesem Waschschrift abgesehen. Die erhaltenen Rohprodukte wurden durch SC oder MPLC unter Verwendung von Chloroform/Methanol/Wasser-Gradienten gereinigt. Bei Vorhandensein säureempfindlicher Gruppen (THP-Schutzgruppe) wurde dem Elutionsgemisch TEA hinzugefügt.

### **Methode 8 (Abspaltung der THP-Schutzgruppe)**

Zur Abspaltung der Tetrahydro-2-*H*-pyran-Schutzgruppe wurden die THP-Ether in tr. Methanol mit katalytischen Mengen an *p*-Toluolsulfonsäure (*p*TosOH) für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Bei Anwesenheit von basischen funktionellen Gruppen wurden etwas mehr als äquimolare Mengen *p*TosOH eingesetzt.

Nach Abschluss der Reaktion wurde das Lösungsmittel auf etwa die Hälfte eingeeengt und 20-50 ml Wasser, im Falle der basischen Produkte vorzugsweise 0,1 M KOH, hinzugefügt. Anschließend wurde dreimal mit 50-70 ml Chloroform bzw. Chloroform/Methanol-Mischungen extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden wie üblich getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und im Vakuum eingeeengt.

Die erhaltenen Produkte wurden durch SC oder MPLC mit einem Chloroform/Methanol/Ammoniak-Gradienten gereinigt.

### **Methode 9 (Hydrogenolytische Debenzylierung)**

Der jeweilige Benzylether wurde in 50 ml HPLC-reinem Ethanol dispergiert und mit 25 mg 10%igem Palladium/Kohle-Katalysator versetzt. Anschließend wurde bei 50 °C und 5 bar Wasserstoffdruck für 1 h hydriert. Der Ansatz wurde mit CHCl<sub>3</sub> verdünnt, durch Filtration grob vom Katalysator abgetrennt und im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Die endgültige Reinigung erfolgte durch SC bzw. MPLC mit Chloroform/Methanol/Wasser-Gradienten steigender Polarität.

### 3.6 Synthese der symmetrischen, methylverzweigten Bolaamphiphile

Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die Substituenten des Glycerols entsprechend der *sn*-Nomenklatur nicht alphabetisch, sondern nach 1-*O*, 2-*O* und 3-*O*-Position geordnet.

#### 3.6.1 Endständig ungesättigte Alkylbromide

##### 6-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexan **2**

Die Verbindung wurde nach MIYASHITA<sup>75</sup> aus 6-Bromhexan-1-ol synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten steigender Polarität unter Zusatz von TEA.

##### 1-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)heptadec-16-en **3**

Entsprechend der Methode 1B wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 30 mmol (7,0 g) 11-Bromundec-1-en **1** in 30 ml THF gebildet und mit 20 mmol (5,3 g) der Verbindung **2** in 10 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 5 ml 0,1 M Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Lsg. in THF.

Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 338,57

Ausbeute: 73 %

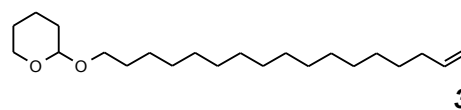
R<sub>F</sub>: 0,33 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

EI-MS (m/z): 337 4,3 % [M-H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(78,05), H(12,50)

gef.(%): C(77,98), H(12,67)



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,24-1,38 (m, 24H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=); 1,48-1,60 (m, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,67-1,72 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,79-1,84 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 2,00-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,34-3,38 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,46-3,50 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,68-3,73 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,83-3,87 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,55-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-); 4,89-4,99 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,75-5,83 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

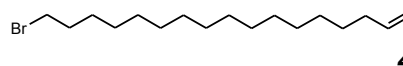
<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,86; 25,70; 26,40; 29,11; 29,29; 29,64-29,92; 30,96; 33,93; 62,39; 67,77; 98,86; 114,03; 139,19

##### 17-Bromheptadec-1-en **4**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 11,8 mmol (4,01 g) der Verbindung **3**.

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>Br

M<sub>R</sub> (g/mol): 317,35



Ausbeute:	99 %
R <sub>F</sub> :	0,68 (LM8)
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit
EI-MS (m/z):	316/318 10,0 % [M] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(64,34), H(10,48)
gef.(%):	C(64,55), H(10,67)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,24-1,43 (m, 24H, -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1,81-1,86 (quint, J = 7,0 Hz, 2H, Br-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2,00-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,37-3,40 (t, J = 7,0 Hz, 2H, Br-CH<sub>2</sub>-); 4,90-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,76-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,73; 26,95; 29,09; 29,54; 30,69; 32,35; 33,91; 34,38; 35,63; 36,93; 114,12; 139,10

### (4*RS*)-6-Brom-4-methylhexansäuremethylester **7**

Für die Ozonolyse wurden 0,10 mol (21,9 g) (*RS*)-Citronellylbromid **5** in 100 ml getrocknetem Methanol gelöst und auf -70 °C bis -80 °C abgekühlt. Beim anschließenden Einleiten des Ozons, das durch eine geeignete Apparatur generiert wurde, war ein Anstieg der Innentemperatur auf -65 °C zu beobachten. Das deutliche Absinken der Temperatur unter -70 °C zeigte ein Abklingen der exothermen Reaktion an. Im Folgenden wurde der Ozonstrom abgestellt und für 1 h bei -70 °C weitergerührt. Nacheinander wurden nun 75 ml 85%ige Ameisensäure (bei -65 °C) und 36 ml 35%ige H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung (bei -40 °C) zugetropft. Der Ansatz wurde für 2 h unter Rückfluss erhitzt und über Nacht bei RT gerührt.

Zur Aufarbeitung wurden 10 g wasserfreies Natriumacetat hinzugefügt und zweimal mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtriert und im Vakuum eingengt.

Im letzten Schritt wurde das Rohprodukt in 80 ml abs. MeOH gelöst und durch dreistündiges Sieden unter Rückfluss mit 3 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in den Methylester überführt. Um die Schwefelsäure auszuwaschen, wurde das Lösungsmittel gegen Diethylether ersetzt, mit 20 ml Wasser ausgeschüttelt und getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtriert sowie eingengt. Die Reinigung erfolgte durch Destillation (K<sub>p3(Torr)</sub> = 70-71 °C).

Summenformel: C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>Br

M<sub>R</sub> (g/mol): 223,11

Ausbeute: 77 %

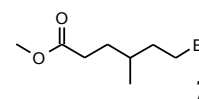
R<sub>F</sub>: 0,32 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

EI-MS (m/z): 223/225 0,2 % [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(43,07), H(6,78)

gef.(%): C(43,06), H(6,92)

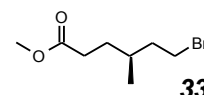


$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,89\text{-}0,90$  (d,  $J = 6,0$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,44-1,51 (m, 1H,  $-\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ); 1,61-1,72 (m, 3H,  $-\text{CHH-CH-CHH-CH}_2\text{-Br}$ ); 1,81-1,90 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Br}$ ); 2,24-2,39 (m, 2H,  $-\text{CO-CH}_2\text{-}$ ); 3,35-3,47 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Br}$ ); 3,65 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C-O-}$ )

### (4S)-6-Brom-4-methylhexansäuremethylester **33**

Die Reaktion erfolgte wie bei **7** beschrieben. Es wurden 86,6 mmol (18,99 g) (S)-Citronellylbromid **31** eingesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten gereinigt.

Summenformel:  $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_2\text{Br}$   
 $M_R$  (g/mol): 223,11  
 Ausbeute: 62%  
 $R_F$ : 0,34 (LM8)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit  
 $[\alpha]_D^{24}$ : +4,66  $c = 1,25$  g/ml (rein)  
 EI-MS (m/z): 223/225 0,3 %  $[\text{M}]^+$   
 EA: ber.(%): C(43,07), H(6,78)  
 gef.(%): C(42,94), H(7,02)



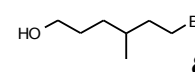
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,86\text{-}0,89$  (d,  $J = 6,2$  Hz, 3H,  $-\text{CH-CH}_3$ ); 1,37-1,44 (m, 1H,  $-\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ); 1,56-1,68 (m, 3H,  $-\text{CHH-CH-CHH-CH}_2\text{-Br}$ ); 1,77-1,86 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Br}$ ); 2,20-2,34 (m, 2H,  $-\text{CO-CH}_2\text{-}$ ); 3,31-3,43 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Br}$ ); 3,61 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C-O-}$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 18,59; 31,31; 31,37; 31,52; 31,66; 39,68; 51,56; 173,98$

### (4RS)-6-Brom-4-methylhexan-1-ol **8**

Einer im Eisbad gekühlten Suspension von 70 mmol (2,66 g)  $\text{LiAlH}_4$  in 90 ml trockenem Diethylether wurden 87 mmol (19,57 g) des Esters **7** in 50 ml trockenem Diethylether langsam zugetropft. Die Mischung wurde anschließend 4 h bei 0 °C gerührt, bis die Reaktion abgeschlossen war (DC-Kontrolle). Nun wurde überschüssiges  $\text{LiAlH}_4$  vorsichtig mit Wasser hydrolysiert und mit 10%iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  angesäuert, um den entstandenen Niederschlag aufzulösen. Anschließend wurde zweimal mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten etherischen Lösungen wurden mit 100 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, getrocknet ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) und eingeengt (Vakuummrotationsverdampfer). Das dünnschichtchromatographisch reine Rohprodukt wurde ohne zusätzliche Reinigungsschritte weiter umgesetzt.

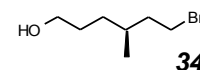
Summenformel:  $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{OBr}$   
 $M_R$  (g/mol): 195,10  
 Rohausbeute: >95 %  
 $R_F$ : 0,30 (LM2)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit



**(4S)-6-Brom-4-methylhexan-1-ol 34**

Die Synthese erfolgte analog er Substanz **8** aus 100 mmol (3,75 g) LiAlH<sub>4</sub> und 165 mmol (36,7 g) des Esters **33**. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten steigender Polarität.

Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> OBr	
M <sub>R</sub> (g/mol):	195,10	
Ausbeute:	70 %	
R <sub>F</sub> :	0,39 (LM2)	
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit	
[α] <sup>32</sup> <sub>D</sub> :	+7,40	c = 1,16 g/ml (rein)
GC-MS (t <sub>R</sub> ; Reinheit):	7,94 min;	>99,5 %
(m/z):	176/178	0,5 % [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(43,09), H(7,75)	
gef.(%):	C(43,15), H(7,72)	



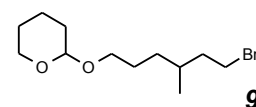
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,89-0,90 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,16-1,26 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 1,33-1,42 (m, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1,47-1,72 (m, 3H, -CHH-CH-CHH-CH<sub>2</sub>-Br); 1,82-1,91 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 3,35-3,48 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-Br); 3,60-3,63 (t, J = 6,6 Hz, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,04; 30,00; 31,58; 32,00; 32,55; 40,02; 63,29

**(4RS)-6-Brom-4-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexan 9**

Die Verbindung **9** wurde entsprechend der Literatur<sup>75</sup> aus dem Alkohol **8** synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten unter Zusatz von TEA.

Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> Br	
M <sub>R</sub> (g/mol):	279,21	
Ausbeute:	95 % (2 Stufen/ aus 7)	
R <sub>F</sub> :	0,24 (LM8)	
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit	
EI-MS (m/z):	277/279	5,0 % [M] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(51,62), H(8,30)	
gef.(%):	C(51,56), H(8,28)	



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,88-0,89 (d, J = 5,8 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,14-1,25 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 1,32-1,43 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 1,47-1,72 (m, 9H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-, -CH-CH<sub>3</sub>); 1,76-1,91 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 3,32-3,50 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-Br, 2×-CH-O-CHH-); 3,66-3,73 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,81-3,87 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,53-4,55 (m, 1H, -O-CH-O-)

**(4S)-6-Brom-4-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexan 35**

Die Verbindung **35** wurde entsprechend der Literatur<sup>75</sup> aus 87 mmol (17,9 g) des Alkohols **34** synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten unter Zusatz von TEA.

Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>O<sub>2</sub>Br

M<sub>R</sub> (g/mol): 279,21

Ausbeute: 94 %

R<sub>F</sub>: 0,26 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +3,26 c = 1,17 g/ml (rein)

GC-MS (t<sub>R</sub>; Reinheit): 13,42 min; >99,5 %

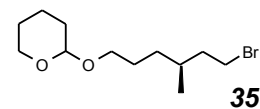
(m/z): 277/279 3,0 % [M-H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(51,62), H(8,30)

gef.(%): C(51,82), H(8,14)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,88-0,90 (d, J = 6,2 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,16-1,26 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 1,32-1,43 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 1,47-1,73 (m, 9H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-, -CH-CH<sub>3</sub>); 1,77-1,91 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Br); 3,33-3,50 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-Br, 2×-CH-O-CHH-); 3,67-3,73 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,82-3,87 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,54-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,04; 19,05; 19,87; 25,67; 27,19; 30,93; 31,65; 31,69; 32,07; 33,01; 33,04; 40,09; 40,11; 62,47; 67,79; 98,91; 98,96

**35****(4RS)-4-Methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)undec-10-en 11**

Entsprechend der Methode 1A wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 110 mmol (16,4 g) 5-Brompent-1-en **10** in 70 ml Diethylether gebildet und mit 77 mmol (21,5 g) der Verbindung **9** in 10 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 3,7 ml 0,1 M Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Lsg. in THF.

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 268,43

Ausbeute: 69 %

R<sub>F</sub>: 0,37 (LM8)

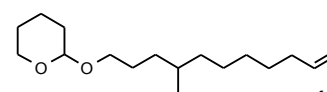
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

EI-MS (m/z): 367 1,1 % [M-H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(76,06), H(12,02)

gef.(%): C(76,06), H(12,17)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,84-0,85 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,07-1,40 (m, 11H, -CH<sub>2</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,47-1,62 (m, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,67-1,73 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,79-1,83 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,99-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,32-3,38 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,45-3,51 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,66-3,73

**11**



(m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,83-3,88 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,55-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

#### (4R)-4-Methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)undec-10-en **36**

Entsprechend der Methode 1A wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 50 mmol (7,47 g) 5-Brompent-1-en **10** in 45 ml Diethylether gebildet und mit 25 mmol (7,00 g) der Verbindung **35** in 50 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 10 ml 0,1 M Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Lsg. in THF.

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 268,43

Ausbeute: 77 %

R<sub>F</sub>: 0,37 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +0,27 c = 0,95 g/ml (rein)

GC-MS (t<sub>R</sub>; Reinheit): 14,89 min; 96,5 %

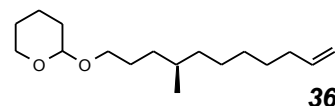
(m/z): 267 0,9 % [M-H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(76,06), H(12,02)

gef.(%): C(75,79), H(11,74)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,84-0,85 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,06-1,40 (m, 11H, -CH<sub>2</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,48-1,62 (m, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,67-1,73 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,77-1,85 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,99-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,32-3,38 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,45-3,51 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,66-3,73 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,83-3,88 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,55-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-); 4,89-4,99 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,78; 19,79; 19,87; 25,69; 27,01; 27,43; 27,45; 29,12; 29,59; 30,96; 32,76; 33,09; 33,51; 33,92; 37,02; 37,04; 62,41; 68,09; 68,12; 98,85; 98,89; 114,07; 139,14

**36**

#### (8RS)-11-Brom-8-methylundec-1-en **12**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 51,0 mmol (13,68 g) der Verbindung **11**.

Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>Br

M<sub>R</sub> (g/mol): 247,22

Ausbeute: 83 %

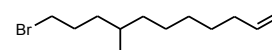
R<sub>F</sub>: 0,69 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

EI-MS (m/z): 246/248 0,4 % [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(58,30), H(9,38)

gef.(%): C(58,36), H(9,55)

**12**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,84\text{-}0,86$  (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,07-1,45 (m, 11H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ); 1,75-1,92 (m, 2H,  $\text{Br-CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,35-3,39 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{Br-CH}_2-$ ); 4,90-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,74-5,84 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )

### (8R)-11-Brom-8-methylundec-1-en 37

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 13,3 mmol (3,57 g) der Verbindung 36.

Summenformel:  $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{Br}$

$M_R$  (g/mol): 247,22

Ausbeute: 98 %

$R_F$ : 0,65 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

$[\alpha]_D^{22}$ : -2,06  $c = 0,98$  g/ml (rein)

GC-MS ( $t_R$ ; Reinheit): 10,78 min; 99,3 %

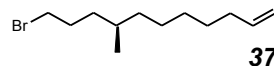
(m/z): 246/248 0,2 %  $[\text{M}]^+$

EA: ber.(%): C(58,30), H(9,38)

gef.(%): C(57,96), H(9,21)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,85\text{-}0,86$  (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,07-1,46 (m, 11H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ); 1,77-1,91 (m, 2H,  $\text{Br-CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,35-3,39 (m, 2H,  $\text{Br-CH}_2-$ ); 4,90-5,01 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,74-5,85 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 28,34; 28,91; 29,11; 29,29; 29,57\text{-}29,78; 33,01; 33,93; 34,05; 114,04; 139,19$



37

### (10RS)-10-Methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)heptadec-16-en 13

Entsprechend der Methode 1B wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 50 mmol (13,25 g) der Verbindung 2 in 100 ml THF gebildet und mit 34 mmol (8,35 g) der Verbindung 12 in 30 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 3,5 ml 0,1 M  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$ -Lsg. in THF.

Summenformel:  $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{O}_2$

$M_R$  (g/mol): 352,59

Ausbeute: 73 %

$R_F$ : 0,30 (LM8)

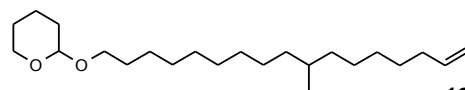
Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

EI-MS (m/z): 351 0,7 %  $[\text{M-H}]^+$

EA: ber.(%): C(78,35), H(12,58)

gef.(%): C(78,07), H(12,92)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,81\text{-}0,83$  (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,05-1,38 (m, 23H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ); 1,47-1,61 (m, 6H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-, -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ ); 1,67-



13

1,73 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,78-1,83 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 3,34-3,39 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,45-3,50 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,68-3,74 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,83-3,88 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 4,55-4,57 (m, 1H,  $-\text{O-CH-O-}$ ); 4,89-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH=CH}_2$ ); 5,74-5,85 (m, 1H,  $-\text{CH=CH}_2$ )

### (10*S*)-10-Methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)heptadec-16-en **38**

Entsprechend der Methode 1B wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 30 mmol (8,00 g) der Verbindung **2** in 40 ml THF gebildet und mit 15 mmol (3,65 g) der Verbindung **37** in 20 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 3 ml 0,1 M  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$ -Lsg. in THF.

Summenformel:  $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{O}_2$

$M_R$  (g/mol): 352,59

Ausbeute: 82 %

$R_F$ : 0,31 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

$[\alpha]_D^{22}$ : +0,08  $c = 0,88$  g/ml (rein)

GC-MS ( $t_R$ ; Reinheit): 20,71 min; 96,5 %

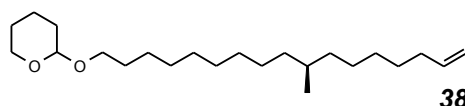
(m/z): 351 0,6 %  $[\text{M-H}]^+$

EA: ber.(%): C(78,35), H(12,58)

gef.(%): C(78,25), H(12,95)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,82 (d,  $J = 6,2$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,01-1,38 (m, 23H,  $-(\text{CH}_2)_7\text{-CH-(CH}_2)_4\text{-}$ ); 1,46-1,60 (m, 6H,  $2 \times -\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,65-1,73 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,78-1,85 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,99-2,04 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 3,33-3,39 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,45-3,50 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,67-3,73 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,82-3,87 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 4,54-4,56 (m, 1H,  $-\text{O-CH-O-}$ ); 4,89-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH=CH}_2$ ); 5,74-5,84 (m, 1H,  $-\text{CH=CH}_2$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 19,86; 25,70; 26,40; 27,05; 27,21; 29,14; 29,63-30,13; 30,96; 32,89; 33,93; 37,16; 37,22; 62,39; 67,77; 98,87; 114,03; 139,18

**38**

### (8*RS*)-17-Brom-8-methylheptadec-1-en **14**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 23,1 mmol (8,14 g) der Verbindung **13**.

Summenformel:  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{Br}$

$M_R$  (g/mol): 331,37

Ausbeute: 84 %

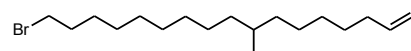
$R_F$ : 0,70 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

EI-MS (m/z): 330/332 2,4 %  $[\text{M}]^+$

EA: ber.(%): C(65,24), H(10,65)

gef.(%): C(64,91), H(10,76)

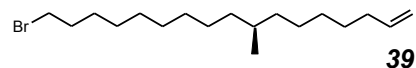
**14**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,81-0,83$  (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,03-1,43 (m, 23H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ); 1,80-1,87 (quint,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{Br-CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,37-3,41 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{Br-CH}_2-$ ); 4,90-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,75-5,85 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )

### (8S)-17-Brom-8-methylheptadec-1-en 39

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 11,2 mmol (3,95 g) der Verbindung **38**.

Summenformel:  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{Br}$   
 $M_R$  (g/mol): 331,37  
 Ausbeute: 91 %  
 $R_F$ : 0,68 (LM8)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit  
 $[\alpha]_D^{22}$ : +0,03  $c = 0,98$  g/ml (rein)  
 GC-MS ( $t_R$ ; Reinheit): 17,44 min; >99 %  
 (m/z): 330/332 1,8 %  $[\text{M}]^+$   
 EA: ber.(%): C(65,24), H(10,65)  
 gef.(%): C(65,41), H(10,80)



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,81-0,83$  (d,  $J = 6,7$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,05-1,42 (m, 23H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ); 1,81-1,86 (quint,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{Br-CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 2,00-2,04 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,37-3,40 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{Br-CH}_2-$ ); 4,90-4,99 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,76-5,84 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 19,86$ ; 27,05; 27,19; 28,34; 28,92; 29,14-30,09; 32,88; 33,01; 33,94; 34,06; 37,15; 37,20; 114,05; 139,19

## 3.6.2 Gesättigte, methylverzweigte Alkybromide

### (2RS)-1-Brom-2-methyloctan 18

Die Verbindung wurde nach DOBNER<sup>85</sup> aus Methylmalonsäurediethylester durch eine mehrstufige Synthese dargestellt und gereinigt.

### 8-Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)octan 19

Die Verbindung wurde nach MIYASHITA<sup>75</sup> aus 8-Bromoctan-1-ol synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten steigender Polarität unter Zusatz von TEA.

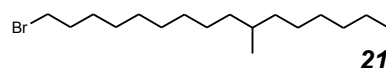
**(10*RS*)-10-Methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecan 20**

Entsprechend der Methode 1A wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 150 mmol (31,04 g) der Verbindung **18** in 180 ml Diethylether gebildet und mit 100 mmol (29,30 g) der Verbindung **19** in 450 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 6 ml 0,1 M Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Lsg. in THF. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>69</sup>

**(10*RS*)-1-Brom-10-methylhexadecan 21**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 51,0 mmol (13,68 g) der Verbindung **20**.

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>35</sub>Br  
 M<sub>R</sub> (g/mol): 319,36  
 Ausbeute: 97 % (aus **20**)  
 Gesamtausbeute: 40 % (aus **15**)  
 R<sub>F</sub>: 0,25 (LM8); 0,67 (LM2)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit  
 GC-MS (t<sub>R</sub>; Reinheit): 16,50 min; >99,50 %  
 (m/z): 318/320 0,2 % [M]<sup>+</sup>  
 EA: ber.(%): C(63,93), H(11,05)  
 gef.(%): C(64,13), H(11,18)

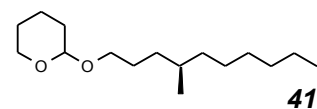


<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,88 (m, 6H, 2×-CH<sub>3</sub>); 1,03-1,42 (m, 25H, Br-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-); 1,80-1,87 (quint, J = 7,0 Hz, 2H, Br-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 3,37-3,41 (m, 2H, Br-CH<sub>2</sub>-)

**(4*R*)-4-Methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)decan 41**

Entsprechend der Methode 1A wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 60 mmol (8,22 g) 1-Brombutan **40** in 45 ml Diethylether gebildet und mit 30 mmol (8,26 g) der Verbindung **35** in 50 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 10 ml 0,1 M Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Lsg. in THF.

Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>  
 M<sub>R</sub> (g/mol): 256,42  
 Ausbeute: 86 %  
 R<sub>F</sub>: 0,28 (LM8)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit  
 [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +0,09 c = 0,88 g/ml (rein)  
 GC-MS (t<sub>R</sub>; Reinheit): 13,91 min; 96,6 %  
 (m/z): 255 1,4 % [M-H]<sup>+</sup>  
 EA: ber.(%): C(74,94), H(12,58)  
 gef.(%): C(74,67), H(12,80)



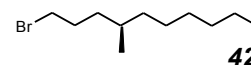
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,84-0,85 (d, J = 6,4 Hz, 3H, CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 6,8 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,08-1,38 (m, 13H, -CH<sub>2</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-); 1,48-1,61 (m, 6H, 2×-

$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,67-1,72 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,80-1,83 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 3,34-3,37 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,46-3,49 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,67-3,71 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 3,83-3,86 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2\text{-}$ ); 4,55-4,57 (m, 1H,  $-\text{O-CH-O-}$ )  
 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,23; 19,79; 19,80; 19,87; 22,81; 25,70; 27,15; 27,44; 27,46; 29,78; 30,96; 32,06; 32,78; 33,53; 37,10; 37,12; 62,41; 68,10; 68,13; 98,84; 98,89$

#### (4R)-1-Brom-4-methyldecan 42

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 16,5 mmol (4,38 g) der Verbindung 41.

Summenformel:  $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{Br}$   
 $M_R$  (g/mol): 235,20  
 Ausbeute: 93 %  
 $R_F$ : 0,63 (LM8)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit  
 $[\alpha]_D^{22}$ : -2,29  $c = 1,02$  g/ml (rein)  
 GC-MS ( $t_R$ ; Reinheit): 9,29 min; >99,5 %  
 (m/z): 234/236 0,2 %  $[\text{M}]^+$   
 EA: ber.(%): C(56,17), H(9,86)  
 gef.(%): C(56,38), H(9,96)

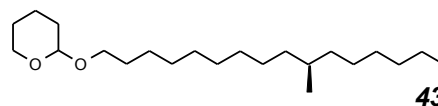


$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,84\text{-}0,88$  (m, 6H,  $2 \times -\text{CH}_3$ ); 1,06-1,44 (m, 13H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-(CH}_2\text{)}_5\text{-}$ ); 1,77-1,89 (m, 2H,  $\text{Br-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ); 3,35-3,39 (m, 2H,  $\text{Br-CH}_2\text{-}$ )  
 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,23; 19,74; 22,82; 27,09; 29,74; 30,71; 32,04; 32,38; 34,39; 35,66; 37,01$

#### (10R)-10-Methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan 43

Entsprechend der Methode 1B wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 26 mmol (7,00 g) der Verbindung 2 in 35 ml THF gebildet und mit 21 mmol (4,86 g) der Verbindung 42 in 35 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienen 5 ml 0,1 M  $\text{Li}_2\text{CuCl}_4$ -Lsg. in THF.

Summenformel:  $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_2$   
 $M_R$  (g/mol): 340,58  
 Ausbeute: 79 %  
 $R_F$ : 0,34 (LM8)  
 Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit  
 $[\alpha]_D^{22}$ : -0,12  $c = 0,84$  g/ml (rein)  
 GC-MS ( $t_R$ ; Reinheit): 21,02 min; >99,5 %  
 (m/z): 339 4,5 %  $[\text{M-H}]^+$   
 EA: ber.(%): C(77,58), H(13,02)  
 gef.(%): C(77,45), H(13,02)



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,81\text{-}0,82$  (d,  $J = 6,2$  Hz, 3H,  $-\text{CH}-\text{CH}_3$ );  $0,85\text{-}0,88$  (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ );  $1,02\text{-}1,35$  (m, 25H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-$ );  $1,48\text{-}1,73$  (m, 7H,  $2\times-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CHH}-\text{CH}-\text{O}-$ );  $1,77\text{-}1,85$  (m, 1H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ );  $3,33\text{-}3,39$  (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ );  $3,45\text{-}3,51$  (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ );  $3,68\text{-}3,74$  (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ );  $3,82\text{-}3,88$  (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ );  $4,55\text{-}4,56$  (m, 1H,  $-\text{O}-\text{CH}-\text{O}-$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,24$ ; 19,86; 19,87; 22,84; 25,70; 26,40; 27,19; 27,22; 29,64-30,96; 32,09; 32,91; 37,24; 62,39; 67,77; 98,86

### (10*R*)-1-Brom-10-methylhexadecan **44**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 13,8 mmol (4,70 g) der Verbindung **43**.

Summenformel:  $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{Br}$

$M_R$  (g/mol): 319,36

Ausbeute: 95 %

$R_F$ : 0,65 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

$[\alpha]_D^{22}$ : -0,19  $c = 0,94$  g/ml (rein)

GC-MS ( $t_R$ ; Reinheit): 16,80 min; >99,5 %

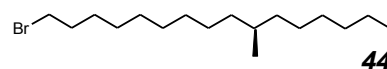
(m/z): 318/320 0,6 %  $[\text{M}]^+$

EA: ber.(%): C(63,93), H(11,05)

gef.(%): C(63,95), H(11,36)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,81\text{-}0,83$  (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}-\text{CH}_3$ );  $0,85\text{-}0,88$  (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ );  $1,05\text{-}1,42$  (m, 25H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-$ );  $1,80\text{-}1,87$  (quint,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{Br}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ );  $3,37\text{-}3,40$  (m, 2H,  $\text{Br}-\text{CH}_2-$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,25$ ; 19,87; 22,84; 27,19; 28,34; 28,92; 29,58-30,09; 32,09; 33,01; 34,06; 37,22; 37,24

**44**

## 3.6.3 3-*O*-Alkyl-*sn*-glycerolderivate

### 1,2-*O*-Isopropyliden-3-*O*-(heptadec-16-enyl)-*sn*-glycerol **23a**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 16,5 mmol (2,19 g) des IP-Glycerols **22** mit 16,5 mmol (1,9 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 11,0 mmol (3,50 g) des Alkylbromids **4** gelöst in 50 ml abs. Toluol.

Summenformel:  $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{O}_3$

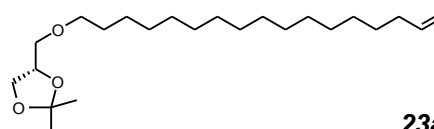
$M_R$  (g/mol): 368,59

Ausbeute: 72 %

$R_F$ : 0,16 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

$[\alpha]_D^{22}$ : +12,82  $c = 0,86$  g/ml (rein)

**23a**

EI-MS (m/z): 368 8,6 % [M]<sup>+</sup>  
 EA: ber.(%): C(74,95), H(12,03)  
 gef.(%): C(75,07), H(12,24)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,23-1,32 (m, 24H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-); 1,34 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,40 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,51-1,58 (quint, J = 7,0 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,37-3,51 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,68-3,72 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,01-4,05 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,20-4,26 (quint, J = 6,0 Hz, 1H, -CH-O-); 4,88-4,99 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 25,89; 26,22; 26,94; 29,10; 29,30; 29,60-29,80; 33,94; 67,07; 71,91; 71,96; 74,85; 109,32; 114,05; 139,18

### 1,2-O-Isopropyliden-3-O-[(10RS)-10-methylheptadec-16-enyl]-sn-glycerol **23b**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 30,0 mmol (3,96 g) des IP-Glycerols **22** mit 30,0 mmol (3,4 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 19,5 mmol (6,48 g) des Alkylbromids **14**. Aufgrund der deutlich höheren Einwaagen wurde jeweils die dreifache Menge Lösungsmittel verwendet.

Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 382,62

Ausbeute: 68 %

R<sub>F</sub>: 0,18 (LM8)

Aussehen: klare, farblose Flüssigkeit

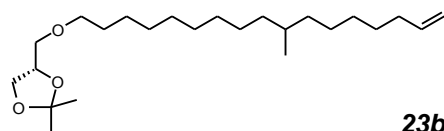
EI-MS (m/z): 382 4,3 % [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(75,34), H(12,12)

gef.(%): C(75,27), H(12,24)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 1,05-1,36 (m, 23H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,34 (s, 3H, -C-CH<sub>3</sub>); 1,40 (s, 3H, -C-CH<sub>3</sub>); 1,50-1,59 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,05 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,38-3,52 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,69-3,73 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,02-4,05 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,21-4,27 (m, 1H, -CH-O-); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,85 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,76; 25,49; 26,12; 26,83; 26,96; 27,12; 29,04; 29,52-29,69; 30,05; 32,79; 33,86; 37,07; 37,12; 67,01; 71,86; 71,91; 74,81; 109,32; 114,06; 139,19



**23b**

### 1,2-O-Isopropyliden-3-O-[(10S)-10-methylheptadec-16-enyl]-sn-glycerol **45**

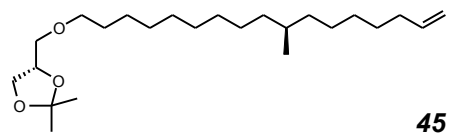
Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 14,7 mmol (1,94 g) des IP-Glycerols **22** mit 14,7 mmol (1,7 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 9,8 mmol (3,25 g) des Alkylbromids **39**, gelöst in 50 ml abs. Toluol.

Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 382,62



Ausbeute:	71 %
R <sub>F</sub> :	0,16 (LM8)
Aussehen:	klare, farblose Flüssigkeit
[α] <sup>22</sup> <sub>D</sub> :	+11,4      c = 0,84 g/ml (rein)
EI-MS (m/z):	382 5,0 % [M] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(75,34), H(12,12)
gef.(%):	C(75,25), H(12,20)



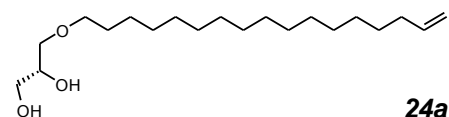
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,82 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 1,05-1,38 (m, 23H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,34 (s, 3H, -C-CH<sub>3</sub>); 1,40 (s, 3H, -C-CH<sub>3</sub>); 1,52-1,59 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,05 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,38-3,52 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,69-3,73 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,02-4,05 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,21-4,27 (quint, J = 6,2 Hz, 1H, -CH-O-); 4,89-4,99 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,77; 25,50; 26,13; 26,84; 26,97; 27,13; 29,05; 29,53-30,06; 31,93; 32,79; 33,87; 37,06; 37,12; 66,67; 71,82; 71,86; 74,75; 109,22; 113,96; 139,05

### 3-O-(Heptadec-16-enyl)-*sn*-glycerol **24a**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 4 durch Umsetzung von 6,70 mmol (2,47 g) der Verbindung **23a** in 40 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>
M <sub>R</sub> (g/mol):	328,53
Ausbeute:	85 %
R <sub>F</sub> :	0,19 (LM2)
F <sub>P</sub> :	56°C
Aussehen:	weißer Feststoff
[α] <sup>22</sup> <sub>D</sub> :	-0,6      c = 0,1 g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
EI-MS (m/z):	328 8,9 % [M] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(73,12), H(12,27)
gef.(%):	C(73,28), H(11,94)



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,19-1,37 (m, 24H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-); 1,52-1,59 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 2,29 (b, 2H, 2×-OH); 3,42-3,53 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,61-3,72 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH); 3,81-3,86 (m, 1H, -CH-OH); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 26,14; 29,01; 29,21; 29,52-29,71; 33,85; 64,27; 70,59; 71,88; 72,46; 114,05; 139,20

**3-O-[(10*RS*)-10-Methylheptadec-16-enyl]-*sn*-glycerol 24b**

Die Synthese erfolgte durch Umsetzung von 12,9 mmol (4,95 g) der Verbindung **23b** nach Methode 4 in 20 ml tr. Methanol. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch SC mit einem Chloroform/Diethylether-Gradienten gereinigt.

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 342,56

Ausbeute: 91 %

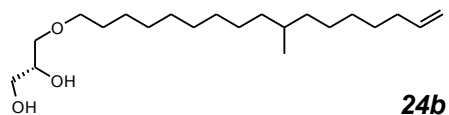
R<sub>F</sub>: 0,12 (LM3)

Aussehen: klares, farbloses Öl

ESI-MS (m/z): 365,4 [M+Na]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(73,63), H(12,36)

gef.(%): C(73,27), H(12,35)

**24b**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,80-0,82 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,04-1,37 (m, 23H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,51-1,58 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 2,52 (b, 2H, 2×-OH); 3,39-3,54 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,59-3,70 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH); 3,81-3,85 (m, 1H, -CH-OH); 4,88-4,99 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,75-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,76; 26,14; 26,96; 27,12; 29,04; 29,52-29,70; 30,05; 32,79; 33,86; 37,07; 37,13; 64,31; 70,52; 71,89; 72,51; 114,06; 139,21

**3-O-[(10*S*)-10-Methylheptadec-16-enyl]-*sn*-glycerol 46**

Die Synthese erfolgte durch Umsetzung von 5,92 mmol (2,27 g) der Verbindung **45** nach Methode 4 in 35 ml tr. Methanol. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch SC mit einem Chloroform/Diethylether-Gradienten gereinigt.

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 342,56

Ausbeute: 90 %

R<sub>F</sub>: 0,12 (LM3)

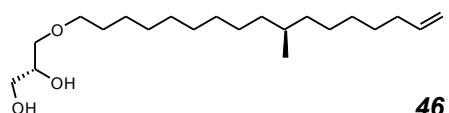
Aussehen: klares, farbloses Öl

[α]<sup>22</sup><sub>D</sub>: +0,2 c = 0,18 g/ml (rein)

EI-MS (m/z): 342 5,0 % [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(73,63), H(12,36)

gef.(%): C(73,41), H(12,69)

**46**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,80-0,82 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,02-1,37 (m, 23H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,51-1,58 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 2,30-2,51 (b, 2H, 2×-OH); 3,42-3,52 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,59-3,70 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH); 3,81-3,86 (m, 1H, -CH-OH); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,74-5,84 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 19,73; 26,11; 26,93; 27,09; 29,01; 29,48-29,66; 30,02; 32,76; 33,83; 37,04; 37,10; 64,29; 70,50; 71,86; 72,48; 114,03; 139,18$

### 3.6.4 1-O-Benzyl- und 1-O-Trityl-3-O-Alkyl-*sn*-glycerolderivate

#### 1-O-Benzyl-3-O-(heptadec-16-enyl)-*sn*-glycerol **26a**

Zunächst wurden 2,42 mmol (0,80 g) 3-O-(Heptadec-16-enyl)-*sn*-glycerol **24a** unter Schutzgasatmosphäre in 10 ml wasserfreiem Toluol/Methanol 10:1 (V/V) gelöst und mit 1 g fein gepulvertem Molsieb ( $3\text{\AA}$ ) sowie 2,81 mmol (0,70 g) Dibutylzinnoxid versetzt. Der Ansatz wurde nun für 1 h unter Rückfluss erwärmt und anschließend filtriert. Das Filtrat wurde am Vakuumrotationsverdampfer eingengt und in 10 ml tr. Dimethoxyethan suspendiert. Nach dem Zutropfen von 3,14 mmol (0,37 ml) Benzylbromid in 8 ml absolutem Dimethoxyethan wurde das Reaktionsgemisch für eine halbe Stunde bei RT gerührt. Danach wurde für 20 h unter Rückfluss erhitzt.

Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel gegen 15 ml tr. Toluol ausgetauscht und mit einem Gemisch aus Eis und 15 ml 0,5 M Puffer (pH = 5; 0,76 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  + 0,77 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in 20 ml Wasser) intensiv gerührt. Die Zugabe von weiterem Toluol erleichterte die Phasentrennung. Die organische Phase wurde über  $\text{K}_2\text{CO}_3$  getrocknet, filtriert und zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten, wobei das gewünschte Produkt bei einer Polarität von 93:7 (Heptan/Diethylether, V/V) eluiert wurde.

Summenformel:  $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_3$

$M_R$  (g/mol): 418,65

Ausbeute: 59 %

$R_F$ : 0,49 (LM2)

$F_P$ : 28-30°C

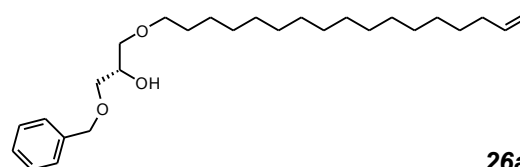
Aussehen: kristalliner Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : -1,5  $c = 0,10$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 436,9  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

EA: ber.(%): C(77,46), H(11,07)

gef.(%): C(77,08), H(11,18)



**26a**

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,25-1,38$  (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ); 1,52-1,57 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 2,45 (b, 1H,  $-\text{OH}$ ); 3,36-3,62 (m, 6H,  $3 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,94-3,99 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{OH}$ ); 4,54 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ ); 4,90-5,01 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,75-5,85 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 7,12-7,35 (m, 5H,  $-\text{C}_6\text{H}_5$ )

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 26,18; 29,03; 29,23; 29,55-29,74; 33,88; 69,60; 71,50; 71,73; 71,87; 73,49; 114,09; 127,70; 128,40; 138,08; 139,21$

**1-O-Benzyl-3-O-[(10*RS*)-10-methylheptadec-16-enyl]-*sn*-glycerol 26b**

**26b** wurde in gleicher Weise wie **26a** aus 12,7 mmol (4,34 g) 3-O-[(10*RS*)-10-Methylheptadec-16-enyl]-*sn*-glycerol **24b** synthetisiert und gereinigt.

Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 432,67

Ausbeute: 50 %

R<sub>F</sub>: 0,52 (LM2)

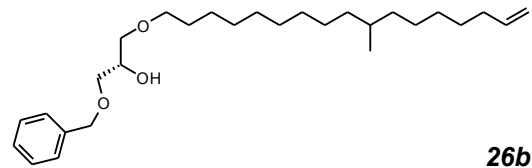
Aussehen: klares, gelbliches Öl

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: -2,0 c = 0,040 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

EI-MS (m/z): 432 2,1 % [M-H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(77,72), H(11,18)

gef.(%): C(77,39), H(11,28)

**26b**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,03-1,38 (m, 23H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-); 1,51-1,58 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,00-2,06 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 2,44-2,45 (d, J = 4,2 Hz, 1H, -OH); 3,41-3,56 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,94-4,00 (m, 1H, -CH-OH); 4,55 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,75-5,85 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>); 7,19-7,35 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 19,77; 26,17; 26,97; 27,13; 29,05; 29,55-29,71; 30,07; 32,81; 33,87; 37,08; 37,15; 69,61; 71,47; 71,74; 71,83; 73,50; 114,07; 127,69; 128,40; 138,07; 139,23

**1-O-Trityl-3-O-(heptadec-16-enyl)-*sn*-glycerol 47a**

In 30 ml einer Mischung aus tr. Chloroform und tr. Pyridin (1:1, V/V) wurden 3,04 mmol (1,0 g) des Alkohols **24a** und 3,65 mmol (1,02 g) Tritylchlorid gelöst. Der Ansatz wurde 16 h bei RT gerührt. Zur Hydrolyse des überschüssigen Tritylchlorids wurde anschließend mit 20 ml Wasser versetzt und 2 h lang intensiv durchmischt. Nun wurden weitere 20 ml Wasser ergänzt und mit 100 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die org. Phase wurde nochmals mit 50 ml Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Die abschließende Säulenchromatographie mit einem Chloroform/Diethylether-Gradienten und TEA-Zusatz lieferte das Produkt als weißen Feststoff.

Summenformel: C<sub>39</sub>H<sub>54</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 570,84

Ausbeute: 97 %

R<sub>F</sub>: 0,53 (LM1)

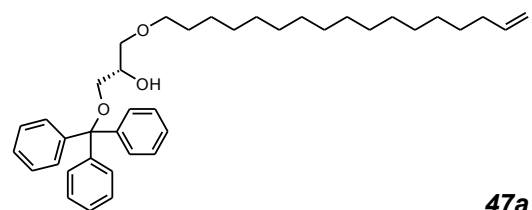
F<sub>P</sub>: 42-43 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger

Feststoff

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: -1,9 c = 0,064 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

ESI-MS (m/z): 593,6 [M+Na]<sup>+</sup>

**47a**

EA: ber.(%): C(82,06), H(9,53)

gef.(%): C(82,24), H(9,15)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,20-1,38 (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ); 1,48-1,56 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 2,39-2,40 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H,  $-\text{OH}$ ); 3,15-3,22 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ); 3,39-3,54 (m, 4H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,92-3,94 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{OH}$ ); 4,90-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,77-5,84 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 7,20-7,43 (m, 15H,  $-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 26,20; 29,04; 29,24; 29,59-29,75; 33,88; 64,69; 69,89; 71,66; 72,06; 86,64; 113,99; 126,94; 127,15; 127,71; 127,83; 128,59; 139,15; 143,79

### 1-O-Trytyl-3-O-[(10S)-10-methylheptadec-16-enyl]-sn-glycerol **47b**

Synthese und Reinigung wurden analog der Verbindung **47a** durchgeführt. Es wurden 3,68 mmol (1,26 g) **46** und 4,41 mmol (1,23 g) Trytylchlorid eingesetzt.

Summenformel:  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_3$

$M_R$  (g/mol): 584,87

Ausbeute: 83 %

$R_F$ : 0,65 (LM1)

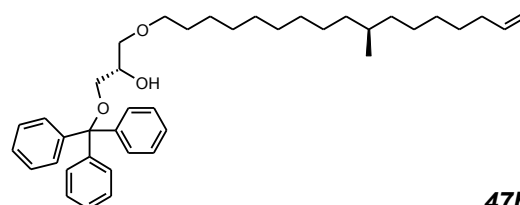
Aussehen: klares, farbloses Öl

$[\alpha]_D^{22}$ : -2,5  $c = 0,26$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 608,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

EA: ber.(%): C(82,14), H(9,65)

gef.(%): C(81,76), H(10,02)



**47b**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,82-0,83 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,04-1,39 (m, 23H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ); 1,51-1,57 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 1,99-2,04 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 2,38-2,39 (d,  $J = 3,7$  Hz, 1H,  $-\text{OH}$ ); 3,15-3,22 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ); 3,37-3,53 (m, 4H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,92 (b, 1H,  $-\text{CH}-\text{OH}$ ); 4,90-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,75-5,85 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 7,16-7,43 (m, 15H,  $-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 19,87; 26,27; 27,07; 27,23; 29,14; 29,65-29,82; 30,17; 32,89; 33,96; 37,17; 37,24; 64,77; 69,97; 71,73; 72,14; 86,71; 114,07; 127,01; 127,22; 127,78; 127,89; 128,67; 139,20; 143,86

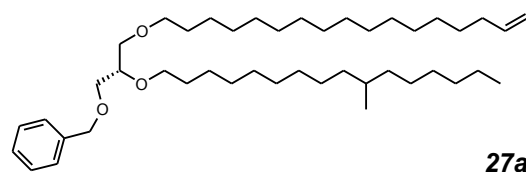
### 3.6.5 1-O-Benzyl- und 1-O-Trytyl-2,3-O-dialkyl-sn-glycerolderivate

#### 1-O-Benzyl-2-O-[(10RS)-10-methylhexadecyl]-3-O-(heptadec-16-enyl)-sn-glycerol **27a**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 1,22 mmol (0,51 g) des Alkohols **26a** mit 1,22 mmol (0,15 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 3,66 mmol (1,17 g) des Alkylbromids **21**.

Summenformel:  $\text{C}_{44}\text{H}_{80}\text{O}_3$

$M_R$ (g/mol):	657,10
Ausbeute:	62 %
$R_F$ :	0,27 (LM8)
Aussehen:	klares, farbloses Öl
EI-MS (m/z):	656 1,1 % $[M-H]^+$
$[\alpha]_D^{22}$ :	+0,4 c = 0,094 g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
EA: ber.(%):	C(80,42), H(12,27)
gef.(%):	C(80,29), H(12,11)

**27a**

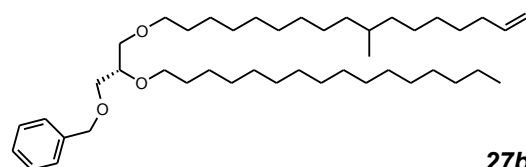
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 7,0 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,05-1,38 (m, 49H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-); 1,51-1,64 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,05 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,39-3,43 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-); 3,44-3,64 (m, 7H, 3×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 4,55 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,75-5,85 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>); 7,25-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,29; 19,89; 22,87; 26,29; 26,31; 27,22; 27,26; 29,13; 29,32; 29,68-29,85; 30,20; 30,29; 32,12; 32,93; 33,96; 37,27; 70,47; 70,70; 70,88; 71,75; 73,45; 78,05; 114,07; 127,45; 127,54; 128,26; 138,46; 139,17

### 1-O-Benzyl-2-O-hexadecyl-3-O-[(10RS)-10-methylheptadec-16-enyl]-sn-glycerol **27b**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 2,45 mmol (1,06 g) des Alkohols **26b** mit 2,45 mmol (0,3 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 7,59 mmol (2,32 g) 1-Bromhexadecan.

Summenformel:	C <sub>44</sub> H <sub>80</sub> O <sub>3</sub>
$M_R$ (g/mol):	657,10
Ausbeute:	39 %
$R_F$ :	0,38 (LM8)
Aussehen:	klares, gelbliches Öl
$[\alpha]_D^{22}$ :	+1,1 c = 0,070 g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
EI-MS (m/z):	656 2,1 % $[M-H]^+$
EA: ber.(%):	C(80,42), H(12,27)
gef.(%):	C(80,11), H(12,12)

**27b**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 7,0 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,05-1,38 (m, 49H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,51-1,59 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,99-2,03 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,39-3,43 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-); 3,47-3,59 (m, 7H, 3×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 4,54 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4,89-4,99 (m, 2H, =CH<sub>2</sub>); 5,75-5,85 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>); 7,24-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,26; 19,87; 22,84; 26,28; 26,31; 27,07; 27,25; 29,15; 29,51-29,85; 30,19; 30,29; 32,07; 32,90; 33,96; 37,17; 37,25; 70,49; 70,69; 70,89; 71,75; 73,45; 78,06; 114,07; 127,44; 127,53; 128,26; 138,48; 139,16

**1-O-Benzyl-2-O-[(10RS)-10-methylhexadecyl]-3-O-[(10RS)-10-methylheptadec-16-enyl]-sn-glycerol 27c**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 2,40 mmol (1,04 g) des Alkohols **26b** mit 2,40 mmol (0,3 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 7,50 mmol (2,38 g) des Alkylbromids **21**.

Summenformel: C<sub>45</sub>H<sub>82</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 671,13

Ausbeute: 67 %

R<sub>F</sub>: 0,32 (LM8)

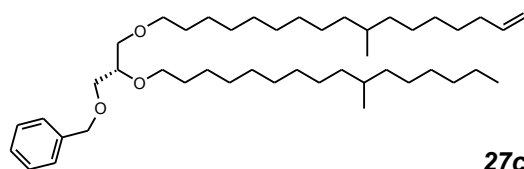
Aussehen: klares, farbloses Öl

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: -0,6 c = 0,1 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

EI-MS (m/z): 670 5,0 % [M-H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(80,53), H(12,32)

gef.(%): C(80,24), H(12,40)



**27c**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 6,8 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,05-1,38 (m, 48H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,51-1,63 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,00-2,05 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,39-3,43 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-); 3,44-3,61 (m, 7H, 3×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 4,54 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4,89-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,75-5,85 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>); 7,23-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 14,29; 19,88; 19,90; 22,87; 26,30; 26,32; 27,08; 27,23; 27,26; 29,16; 29,66-29,85; 30,20; 30,30; 32,12; 32,91; 32,93; 33,97; 37,19; 37,26; 37,28; 70,47; 70,70; 70,88; 71,76; 73,45; 78,06; 114,08; 127,45; 127,54; 128,27; 138,47; 139,17

**1-O-Trityl-2-O-[(10R)-10-methylhexadecyl]-3-O-(heptadec-16-enyl)-sn-glycerol 48a**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 2,07 mmol (1,18 g) des Alkohols **47a** mit 2,07 mmol (0,3 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 6,21 mmol (1,98 g) des Alkylbromids **44**.

Summenformel: C<sub>56</sub>H<sub>88</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 809,30

Ausbeute: 68 %

R<sub>F</sub>: 0,53 (LM8)

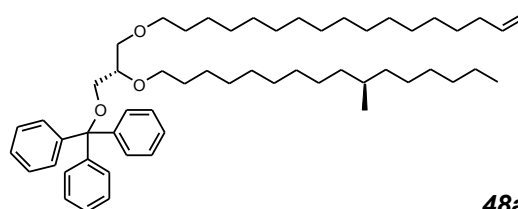
Aussehen: klares, farbloses Öl

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: -5,4 c = 0,14 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

ESI-MS (m/z): 831,9 [M+Na]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(83,11), H(10,96)

gef.(%): C(83,32), H(11,27)



**48a**

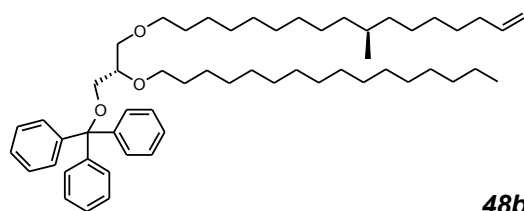
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,82-0,84 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $-\text{CH}-\text{CH}_3$ ); 0,86-0,89 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,08-1,35 (m, 49H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-$ ); 1,49-1,57 (m, 4H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 2,01-2,06 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,13-3,20 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ); 3,34-3,41 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,46-3,57 (m, 5H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}-\text{O}-$ ); 4,90-5,01 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,74-5,86 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 7,16-7,42 (m, 15H,  $-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,18; 19,80; 22,77; 26,20; 26,26; 27,13; 27,18; 29,04; 29,23; 29,59-29,77; 30,12; 30,24; 32,04; 32,85; 33,88; 37,20; 63,74; 70,75; 71,28; 71,67; 78,39; 86,57; 114,08; 126,87; 127,70; 128,78; 139,24; 144,20

### 1-*O*-Trityl-2-*O*-hexadecyl-3-*O*-[(10*S*)-10-methylheptadec-16-enyl]-*sn*-glycerol **48b**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 1,51 mmol (0,88 g) des Alkohols **47b** mit 1,51 mmol (0,2 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 4,51 mmol (1,37 g) 1-Bromhexadecan.

Summenformel:  $\text{C}_{56}\text{H}_{88}\text{O}_3$   
 $M_R$  (g/mol): 809,30  
 Ausbeute: 55 %  
 $R_F$ : 0,55 (LM8)  
 Aussehen: klares, farbloses Öl  
 $[\alpha]_D^{22}$ : -5,6  $c = 0,086$   
 g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )  
 ESI-MS (m/z): 832,7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   
 EA: ber.(%): C(83,11), H(10,96)  
 gef.(%): C(83,20), H(11,30)

**48b**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,82-0,84 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $-\text{CH}-\text{CH}_3$ ); 0,85-0,88 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,06-1,39 (m, 49H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-$ ,  $-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3$ ); 1,47-1,56 (m, 4H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 2,00-2,05 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 3,14-3,16 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ); 3,36-3,40 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,47-3,56 (m, 5H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}-\text{O}-$ ); 4,90-5,00 (m, 2H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5,75-5,83 (m, 1H,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 7,18-7,46 (m, 15H,  $-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,21; 19,81; 22,78; 26,21; 26,26; 27,01; 27,19; 29,08; 29,44-29,79; 30,13; 30,24; 32,01; 32,84; 33,90; 37,11; 37,19; 63,70; 70,72; 71,24; 71,64; 78,35; 86,52; 114,00; 126,78; 127,60; 128,68; 139,14; 144,08

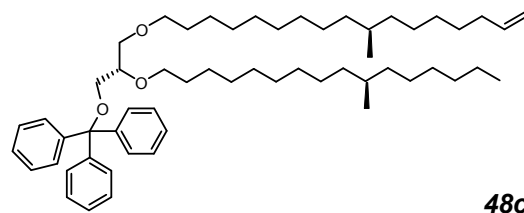
### 1-*O*-Trityl-2-*O*-[(10*R*)-10-methylhexadecyl]-3-*O*-[(10*S*)-10-methylheptadec-16-enyl]-*sn*-glycerol **48c**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 1,44 mmol (0,84 g) des Alkohols **47b** mit 1,44 mmol (0,2 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 4,32 mmol (1,38 g) des Alkylbromids **44**.

Summenformel:  $\text{C}_{57}\text{H}_{90}\text{O}_3$



$M_R$ (g/mol):	823,32
Ausbeute:	59 %
$R_F$ :	0,50 (LM8)
Aussehen:	klares, farbloses Öl
$[\alpha]_D^{22}$ :	-4,6 $c = 0,06$ g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
ESI-MS (m/z):	846,4 [M+Na] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(83,15), H(11,02)
gef.(%):	C(83,03), H(11,24)



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,82-0,84 (d, J = 6,6 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,86-0,89 (t, J = 6,8 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,06-1,39 (m, 48H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-); 1,48-1,57 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,01-2,04 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>); 3,15-3,17 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-C(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>); 3,37-3,40 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-); 3,47-3,55 (m, 5H, 2×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 4,90-5,00 (m, 2H, -CH=CH<sub>2</sub>); 5,77-5,81 (m, 1H, -CH=CH<sub>2</sub>); 7,18-7,46 (m, 15H, -C(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>)

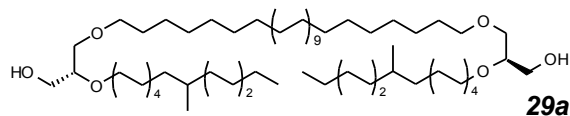
<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,21; 19,81; 19,82; 22,79; 22,97; 26,22; 26,28; 26,44; 26,53; 27,01; 27,15; 27,20; 29,09; 29,59-29,82; 30,14; 30,25; 31,04; 31,96; 32,04; 32,84; 32,87; 33,89; 35,52; 37,12; 37,20; 63,73; 70,73; 71,26; 71,64; 78,36; 86,53; 114,00; 126,78; 127,15; 127,60; 127,82; 128,69; 139,12; 144,09

### 3.6.6 3,3'-O-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis(2-O-hexadecyl-sn-glycerol)-devivate

#### 3,3'-O-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis{2-O-[(10RS)-10-methylhexadecyl]-sn-glycerol} 29a

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 5 aus 0,71 mmol (0,47 g) der Verbindung 27a.

Summenformel:	C <sub>72</sub> H <sub>146</sub> O <sub>6</sub>
$M_R$ (g/mol):	1107,93
Ausbeute:	44 %
$R_F$ :	0,40 (LM2)
$F_P$ :	49 °C
Aussehen:	weißer Feststoff
$[\alpha]_D^{22}$ :	+5,5 $c = 0,11$ g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
ESI-MS (m/z):	1130,3 [M+Na] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(78,05), H(13,28)
gef.(%):	C(78,34), H(13,26)



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,82 (d, J = 6,4 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,84-0,88 (t, J = 7,0 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,04-1,35 (m, 106H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-)

CH<sub>3</sub>); 1,50-1,57 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,14 (b, 2H, 2×-OH); 3,39-3,71 (m, 18H, 8×-CH<sub>2</sub>-O-, 2×-CH-O-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 14,12; 19,74; 22,72; 26,15; 27,08; 27,11; 29,50-29,73; 30,04; 30,13; 31,97; 32,79; 37,13; 63,10; 70,39; 70,92; 71,84; 78,32

### 3,3'-O-[(10*RS*,10'*RS*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis[2-O-hexadecyl-*sn*-glycerol] **29b**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 5 aus 0,61 mmol (0,40 g) der Verbindung **27b**.

Summenformel: C<sub>72</sub>H<sub>146</sub>O<sub>6</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 1107,93

Ausbeute: 41 %

R<sub>F</sub>: 0,53 (LM2)

F<sub>P</sub>: 25-26 °C

Aussehen: weißer Feststoff

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +7,2 c = 0,11 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

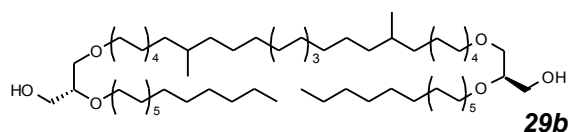
ESI-MS (m/z): 1130,6 [M+Na]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(78,05), H(13,28)

gef.(%): C(77,71), H(13,18)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 6,8 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,02-1,36 (m, 106H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,51-1,58 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,73 (b, 2H, 2×-OH); 3,40-3,73 (m, 18H, 8×-CH<sub>2</sub>-O-, -2×CH-O-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 14,26; 19,86; 22,84; 26,26; 27,25; 29,50-29,89; 30,17; 30,20; 30,24; 32,07; 32,92; 37,26; 63,16; 70,47; 70,99; 71,92; 78,40



### 3,3'-O-[(10*RS*,10'*RS*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis{2-O-[(10*RS*)-10-methylhexadecyl]-*sn*-glycerol} **29c**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 5 aus 0,75 mmol (0,50 g) der Verbindung **27c**.

Summenformel: C<sub>74</sub>H<sub>150</sub>O<sub>6</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 1135,98

Ausbeute: 36 %

R<sub>F</sub>: 0,42 (LM2)

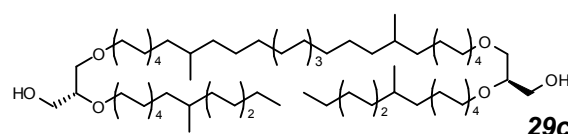
Aussehen: klares, farbloses Öl

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: +4,1 c = 0,025 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

ESI-MS (m/z): 1158,1 [M+Na]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(78,24), H(13,31)

gef.(%): C(78,01), H(13,08)



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,83 (d,  $J = 6,4$  Hz, 12H,  $4 \times -\text{CH}-\text{CH}_3$ ); 0,85-0,88 (t,  $J = 7,0$  Hz, 6H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,05-1,38 (m, 104H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-$ ,  $2 \times -(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ ); 1,52-1,57 (m, 8H,  $4 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,40-3,72 (m, 18H,  $8 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $2 \times -\text{CH}-\text{O}-$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,10; 19,71; 22,69; 26,12; 27,06; 27,10; 29,49; 29,63-30,10; 31,96; 32,77; 37,12; 63,01; 70,37; 70,88; 71,80; 78,36

### 3,3'-*O*-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis{2-*O*-[(10*R*)-10-methylhexadecyl]-*sn*-glycerol} 50a

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 5 aus 1,27 mmol (1,03 g) der Verbindung 48a.

Summenformel:  $\text{C}_{72}\text{H}_{146}\text{O}_6$

$M_R$  (g/mol): 1107,93

Ausbeute: 31 %

$R_F$ : 0,57 (LM2)

$F_P$ : 49 °C

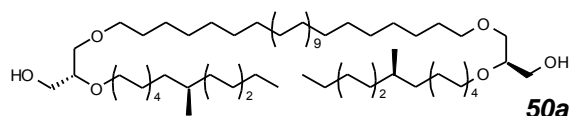
Aussehen: weißer Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : +10,7  $c = 0,023$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 1108,7  $[\text{M}+\text{H}]^+$

EA: ber.(%): C(78,05), H(13,28)

gef.(%): C(77,69), H(13,16)



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,82 (d,  $J = 6,4$  Hz, 6H,  $2 \times -\text{CH}-\text{CH}_3$ ); 0,84-0,88 (t,  $J = 6,8$  Hz, 6H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,02-1,32 (m, 106H,  $-(\text{CH}_2)_{28}-$ ,  $2 \times -(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ ); 1,50-1,57 (m, 8H,  $4 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 1,89 (b, 2H,  $2 \times -\text{OH}$ ); 3,40-3,72 (m, 18H,  $8 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $2 \times -\text{CH}-\text{O}-$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,17; 19,78; 22,75; 26,17; 27,11; 27,14; 29,54-29,77; 30,73; 30,16; 32,02; 32,83; 37,17; 63,17; 70,44; 70,97; 71,90; 78,31

### 3,3'-*O*-[(10*R*,10'*R*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis[2-*O*-hexadecyl-*sn*-glycerol] 50b

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 5 aus 0,78 mmol (0,63 g) der Verbindung 48b.

Summenformel:  $\text{C}_{72}\text{H}_{146}\text{O}_6$

$M_R$  (g/mol): 1107,93

Ausbeute: 27 %

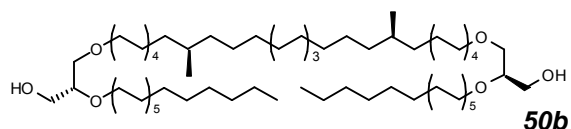
$R_F$ : 0,51 (LM2)

$F_P$ : 27 °C

Aussehen: weißer Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : +8,7  $c = 0,050$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 1108,0  $[\text{M}]^+$



EA: ber.(%): C(78,05), H(13,28)

gef.(%): C(77,71), H(13,34)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,80-0,82 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H,  $2\times-\text{CH-CH}_3$ ); 0,84-0,87 (t,  $J = 7,0$  Hz, 6H,  $2\times-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,02-1,35 (m, 106H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_{7-}$ ,  $2\times-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3$ ); 1,50-1,58 (m, 8H,  $4\times-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O-}$ ); 2,20 (b, 2H,  $2\times-\text{OH}$ ); 3,37-3,77 (m, 18H,  $8\times-\text{CH}_2-\text{O-}$ ,  $-2\times\text{CH-O-}$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,09; 19,69; 22,67; 26,09; 27,08; 27,09; 29,35-30,07; 30,42; 31,91; 32,76; 37,11; 44,06; 63,07; 70,39; 70,89; 71,84; 78,28

### 3,3'-O-[(10R,10'R)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis{2-O-[(10R)-10-methylhexadecyl]-sn-glycerol} 50c

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 5 aus 0,63 mmol (0,52 g) der Verbindung 48c.

Summenformel:  $\text{C}_{74}\text{H}_{150}\text{O}_6$

$M_R$  (g/mol): 1135,98

Ausbeute: 35 %

$R_F$ : 0,57 (LM2)

Aussehen: klares, farbloses Öl

$[\alpha]_D^{22}$ : +6,4  $c = 0,123$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

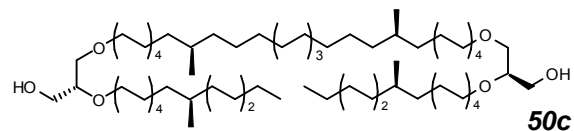
ESI-MS (m/z): 1136,1  $[\text{M}]^+$

EA: ber.(%): C(78,24), H(13,31)

gef.(%): C(78,53), H(13,15)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,80-0,82 (d,  $J = 6,4$  Hz, 12H,  $4\times-\text{CH-CH}_3$ ); 0,84-0,87 (t,  $J = 7,0$  Hz, 6H,  $2\times-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,05-1,38 (m, 104H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_{7-}$ ,  $2\times-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ ); 1,52-1,56 (m, 8H,  $4\times-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O-}$ ); 2,24 (b, 2H,  $2\times-\text{OH}$ ); 3,38-3,71 (m, 18H,  $8\times-\text{CH}_2-\text{O-}$ ,  $2\times-\text{CH-O-}$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,09; 19,68; 22,67; 25,74; 26,08; 27,03; 27,06; 27,07; 27,08; 29,34-30,06; 31,94; 32,73; 32,75; 37,09; 37,10; 63,03; 70,37; 70,87; 71,82; 78,29



### 3.6.7 Symmetrische, methylverzweigte Bis(phosphocholine)

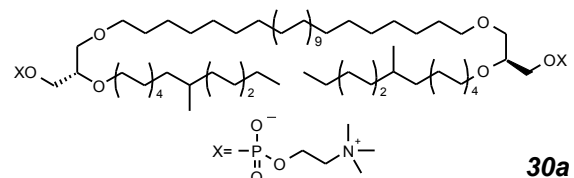
#### 3,3'-O-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis({2-O-[(10RS)-10-methylhexadecyl]-sn-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat) 30a

30a wurde aus 0,30 mmol (332 mg) des Diols 29a durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel:  $\text{C}_{82}\text{H}_{170}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{P}_2$

$M_R$  (g/mol): 1438,18

Ausbeute: 41 %



R <sub>F</sub> :	0,39 (LM7)	
F <sub>P</sub> :	217-219 °C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
[α] <sup>22</sup> <sub>D</sub> :	-10	c = 2 mg/ml (DMSO)
ESI-MS (m/z):	1460,9	[M+Na] <sup>+</sup>
	1438,0	[M] <sup>+</sup>
HR-MS <sup>2</sup> (m/z):	ber.: 741,6007 [M+2Na] <sup>2+</sup>	
	gef.: 741,6024	
HPLC (t <sub>R</sub> ; Reinheit):	3,92 min;	98,98 %
EA: ber.(%):	C(66,81), H(11,90), N(1,90) × 2H <sub>2</sub> O	
gef.(%):	C(66,47), H(11,91), N(1,89)	

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,78-0,79 (d, J = 6,6 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,81-0,85 (t, J = 7,0 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,00-1,33 (m, 106H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,45-1,52 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,21 (s, 18H, 2×-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,35-3,57 (m, 14H, 6×-CH<sub>2</sub>-O, 2×-CH-O-); 3,60-3,62 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,83-3,86 m, 4H, 2×-P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,18-4,25 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 14,15; 19,75; 22,74; 26,14; 27,10; 27,18; 29,52-29,77; 30,12; 30,20; 31,99; 32,82; 37,16; 37,17; 54,52; 59,11; 59,15; 65,16; 65,21; 66,54; 70,54; 71,73; 77,94; 78,02

### 3,3'-O-[(10*RS*,10'*RS*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis[(2-O-hexadecyl-*sn*-glycer-1-yl)-2-(trimethylammonio)ethylphosphat] **30b**

**30b** wurde aus 0,08 mmol (90 mg) des Diols **29b** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel: C<sub>82</sub>H<sub>170</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>P<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 1438,18

Ausbeute: 28 %

R<sub>F</sub>: 0,43 (LM7)

F<sub>P</sub>: 215-218 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

[α]<sup>22</sup><sub>D</sub>: -10 c = 2 mg/ml (DMSO)

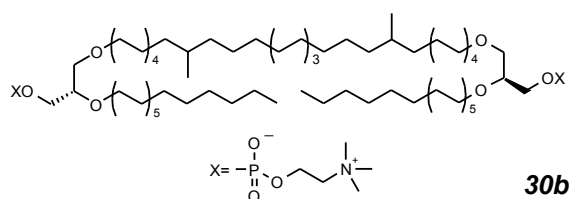
ESI-MS (m/z): 1438,1 [M]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 719,6187 [M+2H]<sup>2+</sup>

gef.: 719,6200

HPLC (t<sub>R</sub>; Reinheit): 3,92 min; 99,17 %

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 7,0 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,04-1,30 (m, 106H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,49-1,55 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,23 (s, 18H, 2×-



$N(\text{CH}_3)_3$ ; 3,37-3,65 (m, 18H,  $6 \times -\text{CH}_2-\text{O}$ ,  $2 \times -\text{CH}-\text{O}$ -,  $2 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$ -); 3,89-3,92 (m, 4H,  $2 \times -\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}$ -); 4,24-4,29 (m, 4H,  $2 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$ -)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,05; 19,74; 22,66; 26,08; 26,97; 27,05; 29,33; 29,54-30,08; 31,89; 32,67; 37,01; 54,38; 59,44; 65,42; 66,56; 70,40; 70,55; 71,70; 77,44

### 3,3'-O-[(10*RS*,10'*RS*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis({2-O-[(10*RS*)-10-methylhexadecyl]-*sn*-glycer-1-yl})-2-(trimethylammonio)ethylphosphat) **30c**

**30c** wurde aus 0,16 mmol (180 mg) des Diols **29c** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel:  $\text{C}_{84}\text{H}_{174}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{P}_2$

$M_R$  (g/mol): 1466,23

Ausbeute: 38 %

$R_F$ : 0,38 (LM7)

$F_P$ : 205-209 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : -10  $c = 2$  mg/ml (DMSO)

ESI-MS (m/z): 1466,3  $[\text{M}]^+$

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 733,6344  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$

gef.: 733,6358

HPLC ( $t_R$ ; Reinheit): 3,91 min; 97,69 %

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,81-0,83 (d,  $J = 6,4$  Hz, 12H,  $4 \times -\text{CH}-\text{CH}_3$ ); 0,85-0,88 (t,  $J = 7,0$  Hz, 6H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,02-1,34 (m, 104H,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-$ ,  $2 \times -(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ ); 1,49-1,55 (m, 8H,  $4 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ -); 3,23 (s, 18H,  $2 \times -\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ); 3,38-3,64 (m, 18H,  $6 \times -\text{CH}_2-\text{O}$ ,  $2 \times -\text{CH}-\text{O}$ -,  $2 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$ -); 3,87-3,89 (m, 4H,  $2 \times -\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}$ -); 4,22-4,26 (m, 4H,  $2 \times -\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$ -)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,09; 19,70; 19,76; 22,70; 26,09; 26,12; 27,03; 27,07; 27,09; 27,14; 29,56-30,15; 31,97; 32,73; 32,80; 37,05; 37,08; 37,14; 37,15; 54,47; 58,91; 58,96; 65,06; 65,11; 66,59; 70,58; 70,62; 71,76; 78,00; 78,08

### 3,3'-O-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis({2-O-[(10*R*)-10-methylhexadecyl]-*sn*-glycer-1-yl})-2-(trimethylammonio)ethylphosphat) **51a**

**51a** wurde aus 0,14 mmol (150 mg) des Diols **50a** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

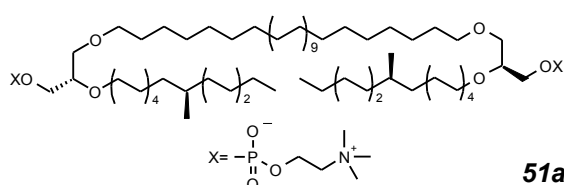
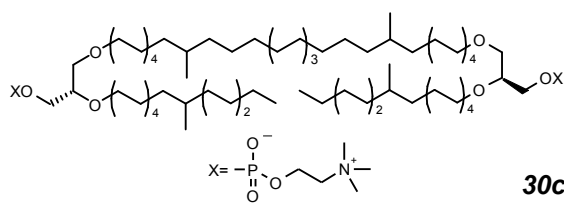
Summenformel:  $\text{C}_{82}\text{H}_{170}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{P}_2$

$M_R$  (g/mol): 1438,18

Ausbeute: 43 %

$R_F$ : 0,36 (LM7)

$F_P$ : 217-219 °C



Aussehen: weißer Feststoff  
 $[\alpha]_D^{22}$ : -10 c = 2 mg/ml (DMSO)  
 ESI-MS (m/z): 1437,8 [M]<sup>+</sup>  
 HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 719,6187 [M+2H]<sup>2+</sup>  
 gef.: 719,6200

HPLC (t<sub>R</sub>; Reinheit): 3,65 min; 99,02 %

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 6,9 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,03-1,31 (m, 106H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,48-1,55 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,26 (s, 18H, 2×-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,39-3,61 (m, 14H, 6×-CH<sub>2</sub>-O, 2×-CH-O-); 3,66-3,69 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,87-3,90 (m, 4H, 2×-P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,25-4,30 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 13,82; 19,45; 22,50; 25,89; 25,92; 26,86; 26,93; 29,36-29,90; 31,77; 32,59; 36,93; 54,01; 54,05; 54,09; 58,56; 58,62; 64,88; 64,93; 70,41; 71,53; 77,75; 77,83

### 3,3'-O-[(10R,10'R)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis[(2-O-hexadecyl-sn-glycer-1-yl)-2-(trimethylammonio)ethylphosphat] **51b**

**51b** wurde aus 0,08 mmol (90 mg) des Diols **50b** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel: C<sub>82</sub>H<sub>170</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>P<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 1438,18

Ausbeute: 33 %

R<sub>F</sub>: 0,32 (LM7)

F<sub>P</sub>: 212-214 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : -10 c = 2 mg/ml (DMSO)

ESI-MS (m/z): 1437,9 [M]

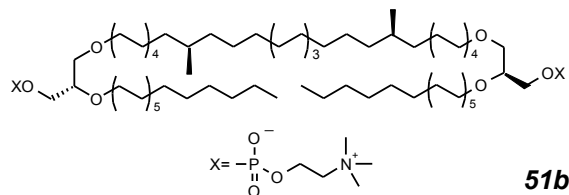
HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 719,6187 [M+2H]<sup>2+</sup>

gef.: 719,6201

HPLC (t<sub>R</sub>; Reinheit): 3,94 min; 98,76 %

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,80-0,82 (d, J = 6,6 Hz, 6H, 2×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,84-0,87 (t, J = 6,9 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,04-1,37 (m, 106H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,49-1,55 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,20 (s, 18H, 2×-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,35-3,56 (m, 14H, 6×-CH<sub>2</sub>-O, 2×-CH-O-); 3,58-3,61 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,87-3,91 (m, 4H, 2×-P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,22-4,27 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 14,02; 19,70; 22,64; 26,08; 27,01; 27,06; 29,32-30,10; 31,88; 32,71; 37,02; 54,39; 58,73; 64,99; 66,70; 70,60; 71,68; 79,98



**3,3'-O-[(10*R*,10'*R*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis({2-O-[(10*R*)-10-methylhexadecyl]-*sn*-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat) **51c****

**51c** wurde aus 0,08 mmol (90 mg) des Diols **50c** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel: C<sub>84</sub>H<sub>174</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>P<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 1466,23

Ausbeute: 44 %

R<sub>F</sub>: 0,30 (LM7)

F<sub>P</sub>: 195-200 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>: -10 c = 2 mg/ml (DMSO)

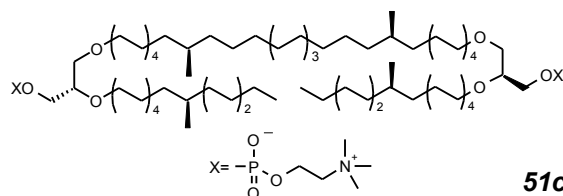
ESI-MS (m/z): 1466,0 [M]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 733,6344 [M+2H]<sup>2+</sup>  
gef.: 733,6355

HPLC (t<sub>R</sub>; Reinheit): 3,80 min; 98,76 %

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,4 Hz, 12H, 4×-CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 6,9 Hz, 6H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,07-1,25 (m, 104H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-, 2×-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,46-1,56 (m, 8H, 4×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,26 (s, 18H, 2×-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,38-3,60 (m, 14H, 6×-CH<sub>2</sub>-O, 2×-CH-O-); 3,68-3,71 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,89-3,91 (m, 4H, 2×-P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,28-4,32 (m, 4H, 2×-N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 14,11; 19,74; 19,77; 22,74; 26,13; 26,17; 27,12; 27,18; 29,61-30,15; 32,01; 32,82; 32,85; 37,19; 37,18; 54,43; 58,93; 65,18; 66,66; 70,58; 70,63; 71,79; 77,78



**51c**

### 3.7 Synthese der unsymmetrischen Bolaamphiphile

Die markierten Verbindungen\* wurden im Rahmen meiner Diplomarbeit<sup>172</sup> unter Betreuung von Prof. Dr. B. DOBNER im Zeitraum von Oktober 2006 bis März 2007 synthetisiert.

#### 3.7.1 Endständig geschützte Hexadecyl- und Docosylbromide

##### 16-Hydroxyhexadecansäuremethylester **53** \*

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift von CUNDY<sup>117</sup> aus 16-Hexadecanolid **52** synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus Heptan. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>86</sup>



**16-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecansäuremethylester 54 \***

Die Verbindung wurde nach MIYASHITA<sup>75</sup> aus dem Alkohol **53** synthetisiert. Das DC-reine Rohprodukt wurde ohne zusätzliche Reinigung weiter umgesetzt (EI-MS (m/z): 369 [M-H]<sup>+</sup>).

**16-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan-1-ol 55 \***

Die Verbindung wurde nach ORGANIKUM<sup>83</sup> aus dem Ester **54** dargestellt. Abweichend zur Vorschrift wurde die doppelte Menge an LiAlH<sub>4</sub> eingesetzt. Außerdem wurde bei der Aufarbeitung auf das Ansäuern verzichtet, um eine Abspaltung der THP-Schutzgruppe zu vermeiden. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne zusätzliche Reinigung weiter umgesetzt (EI-MS (m/z): 341 [M-H]<sup>+</sup>).

**11-Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)undecan 58 \***

Die Verbindung wurde nach MIYASHITA<sup>75</sup> aus 11-Bromdecan-1-ol synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan-Diethylether-Gradienten steigender Polarität unter Zusatz von TEA. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>173</sup>

**1-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)docos-21-en 59 \***

Entsprechend der Methode 1B wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 90 mmol (20,96 g) 11-Bromundec-1-en **1** in 180 ml THF gebildet und mit 59 mmol (19,85 g) der Verbindung **58** in 20 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 20 ml 0,1 M Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub>-Lsg. in THF. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>74</sup>

**22-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)docosan-1-ol 60 \***

Der Alkohol **60** wurde durch Hydroborierung<sup>74,114</sup> aus dem Olefin **59** dargestellt. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten steigender Polarität unter Zusatz von TEA. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>74</sup>

**16-Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan 57 \***

24 mmol (8,22 g) des Alkohols **55** wurden in 50 ml tr. Chloroform gelöst und mit 29 mmol (4,0 ml) Triethylamin sowie einer Spatelspitze DMAP versetzt. Die Lösung wurde im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Eine ebenfalls auf 0 °C gekühlte Lösung von 29 mmol (2,2 ml) Methansulfonsäurechlorid in 30 ml Chloroform wurde dem Ansatz unter Rühren langsam zugetropft, so dass die Temperatur nicht anstieg. Die resultierende Mischung wurde noch 1 h bei 0 °C und anschließend 3 h bei RT gerührt. Bei der Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 10 mmol (1,3 ml) Triethylamin in 20 ml dest. Wasser vermischt. Die org. Phase wurde abgetrennt, mit 20 ml Wasser gewaschen, zuerst mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und nach dem Filtrieren und Einengen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Vakuum getrocknet.

Der erhaltene Methansulfonsäureester wurde in 35 ml tr. Aceton dispergiert, und nach Zugabe von 70 mmol (6,08 g) LiBr für 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt.

Am Ende wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum etwa auf die Hälfte eingeeengt und mit 100 ml kaltem Wasser übergossen. Die Mischung wurde zweimal mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden nun mit 100 ml Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und am Vakuumrotationsverdampfer eingeeengt. Das Produkt wurde durch Säulenchromatographie mit einem Heptan/Diethylether-Gradienten unter Zusatz von etwas TEA gereinigt. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>174</sup>

### **22-Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)docosan 62 \***

Synthese und Reinigung erfolgten aus dem Alkohol **60** nach der gleichen Arbeitsvorschrift wie beim Alkylbromid **57**. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.<sup>86</sup>

## **3.7.2 Endständig geschützte Dotriacontanolderivate**

### **Dotriacontan-1,32-diol 63**

Die Verbindung wurde nach DRESCHER<sup>57</sup> aus 16-Brom-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **57** synthetisiert und gereinigt. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturangaben.

### **32-Benzyloxydotriacontan-1-ol 64**

Variante A:

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 1,04 mmol (0,50 g) des Diols **63** zusammen mit 2,08 mmol (0,083 g; 60%ig in Paraffin) NaH in 65 ml abs. Toluol dispergiert und zur Deprotonierung für 5 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurden 2,08 mmol (0,25 ml) Benzylbromid in 20 ml abs. Toluol zugetropft und eine Spatelspitze Tetrabutylammoniumiodid ergänzt. Zur Alkylierung wurde nun wiederum unter Rückfluss erwärmt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und nach 10 h abgebrochen, da kein weiterer Stoffumsatz mehr zu verzeichnen war.

Der Ansatz wurde mit 100 ml Wasser gewaschen und die wässrige Phase noch zweimal mit je 100 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) und eingeeengt (Vakuumrotationsverdampfer). Die Reinigung erfolgte durch MPLC mittels eines Chloroform/Ether-Gradienten.

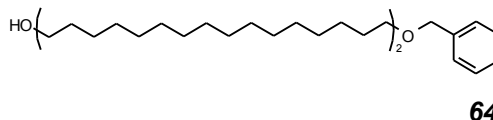
Variante B:

Die Reaktion erfolgte analog der Variante A. Lediglich das Lösungsmittel Toluol wurde durch abs. Xylol (50 ml zur Salzbildung + 10 ml zum Zutropfen des Bromids) ersetzt.

Variante C:

Abweichend zur Methode 8 wurden 3,80 mmol (2,50 g) der Verbindung **68** in 40 ml Chloroform/Methanol 1:1 (V/V) umgesetzt und mittels eines Chloroform/Diethylether-Gradienten gereinigt.

Summenformel:  $C_{39}H_{72}O_2$   
 $M_R$  (g/mol): 572,99  
 Ausbeuten: Variante A: 22 %  
 Variante B: 32 %  
 Variante C: 91 %



$R_F$ : 0,48 (LM2)  
 $F_P$ : 86-88 °C  
 Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff  
 EI-MS (m/z): 572 22,9 %  $[M-H]^+$   
 EA: ber.(%): C(81,75), H(12,67)  
 gef.(%): C(81,37), H(12,49)

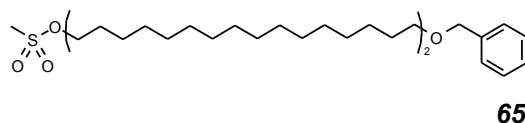
$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,19-1,32 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}$ ); 1,53-1,61 (m, 4H,  $2 \times -CH_2-CH_2-O-$ ); 3,43-3,46 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $-CH_2-O-$ ); 3,61-3,63 (m, 2H,  $-CH_2-O-$ ); 4,48 (s, 2H,  $-CH_2-C_6H_5$ ); 7,25-7,32 (m, 5H,  $-C_6H_5$ )

### 32-Benzoyloxydotriacontan-1-olmethansulfonat **65**

In 30 ml tr. Chloroform wurden 2,77 mmol (1,59 g) des Alkohols **64**, 10,0 mmol (1,38 ml) tr. TEA sowie eine katalytische Menge DMAP suspendiert. Diese Mischung wurde auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit 10,0 mmol (0,77 ml) Methansulfonsäurechlorid in 30 ml tr.  $CHCl_3$  versetzt, so dass die Temperatur nicht anstieg. Nun wurde für eine weitere Stunde auf 0 °C temperiert, bevor der Ansatz langsam bis zur vollständigen Lösung des Edukts erwärmt (31 °C) und über Nacht bei RT gerührt wurde.

Schließlich wurde das Reaktionsgemisch mit 50 ml 1 M  $H_2SO_4$  ausgeschüttelt und dreimal mit 50 ml  $CHCl_3$  extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit 50 ml Wasser gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingengt. Das Rohprodukt wurde mit einem Heptan/Chloroform-Gradienten chromatographiert.

Summenformel:  $C_{40}H_{74}O_4S$   
 $M_R$  (g/mol): 651,08  
 Ausbeute: 92 %



$R_F$ : 0,73 (LM2)  
 $F_P$ : 84-85 °C  
 Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff  
 EI-MS (m/z): 650 17,1 %  $[M-H]^+$   
 EA: ber.(%): C(73,79), H(11,46), S(4,93)  
 gef.(%): C(73,99), H(11,43), S(4,55)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,15-1,38 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}$ ); 1,56-1,63 (m, 2H,  $-CH_2-CH_2-O-CH_2-C_6H_5$ ); 1,69-1,76 (m, 2H,  $-CH_2-CH_2-O-SO_2-CH_3$ ); 2,98 (s, 3H,  $-O-SO_2-CH_3$ ); 3,43-3,46 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $-CH_2-O-CH_2-C_6H_5$ ); 4,18-4,22 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H,  $-CH_2-O-SO_2-CH_3$ ); 4,48 (s, 2H,  $-CH_2-C_6H_5$ ); 7,25-7,32 (m, 5H,  $-C_6H_5$ )

**16-Benzylloxy-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan 66**

Variante A:

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 25 mmol (1,0 g; 60%ig in Paraffin) NaH vorgelegt und in 60 ml abs. THF dispergiert. Dazu wurden innerhalb von 30 min 25 mmol (2,59 ml) frisch destillierter Benzylalkohol in 10 ml abs. THF getropft. Um eine vollständige Salzbildung zu gewährleisten, wurde dieses Gemisch für 18 h bei RT gerührt. Nach Zugabe von 10 mmol (4,0 g) **57** in 15 ml abs. THF und einer Spatelspitze Bu<sub>4</sub>NI wurde der Ansatz für 20 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde mit 100 ml ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. gewaschen und mehrfach mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die org. Phasen wurden vereinigt, getrocknet und eingengt. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Heptan/Chloroform-Gradienten und Zusatz von TEA zum Elutionsgemisch.

Variante B:

Abweichend zur Variante A kam abs. Toluol anstatt abs. THF als Reaktionsmedium zum Einsatz. Es wurden 80 mmol (3,2 g; 60%ig in Paraffin) NaH, 80 mmol (8,30 ml) dest. Benzylalkohol und 32 mmol (13,0 g) des Bromids **57** verwendet.

Variante C:

Die Umsetzung wurde in gleicher Weise wie Variante B in Toluol durchgeführt. Als Alkoholkomponente der Ethersynthese dienten 87,6 mmol (30,0 g) **55**. Nach der Salzbildung wurden 126 mmol (15,0 ml) Benzylbromid in 50 ml abs. Toluol hinzugefügt.

Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>M<sub>R</sub> (g/mol): 432,68

Ausbeuten: Variante A: 54 %

Variante B: 70 %

Variante C: 58 %

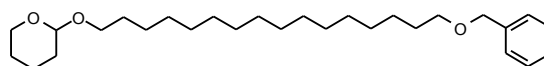
R<sub>F</sub>: 0,25 (LM8)F<sub>P</sub>: 31 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

EI-MS (m/z): 432 5,0% [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(77,72), H(11,18)

gef.(%): C(77,37), H(11,31)

**66**

<sup>1</sup>H-NMR (Aceton-d<sub>6</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,29-1,37 (m, 24H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-); 1,44-1,65 (m, 9H, 3×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CHH-CH-O-); 1,76-1,79 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 3,29-3,35 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,41-3,47 (m, 3H, -CH-O-CHH-, CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 3,63-3,69 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,78-3,81 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,47 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4,53-4,55 (m, 1H, -O-CH-O-); 7,25-7,33 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**1-Benzylloxy-16-bromhexadecan 67**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 50,0 mmol (21,6 g) der Verbindung **66**.

Summenformel:  $C_{23}H_{39}OBr$  $M_R$  (g/mol): 411,46

Ausbeute: 99 %

 $R_F$ : 0,55 (LM8) $F_P$ : 36 °C

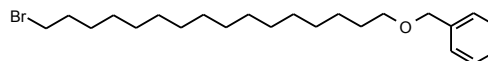
Aussehen: weißer Feststoff

EI-MS (m/z): 410/412 2,1 %  $[M]^+$ 

EA: ber.(%): C(67,14), H(9,55)

gef.(%): C(66,93), H(9,78)

$^1H$ -NMR (Aceton- $d_6$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,28-1,43 (m, 24H,  $-(CH_2)_{12}-$ ); 1,53-1,61 (m, 2H,  $-CH_2-CH_2-O-$ ); 1,78-1,87 (m, 2H,  $Br-CH_2-CH_2-$ ); 3,42-3,49 (m, 4H,  $-CH_2-CH_2-O-$ ,  $Br-CH_2-$ ); 4,45-4,47 (m, 2H,  $-CH_2-C_6H_5$ ); 7,22-7,33 (m, 5H,  $-C_6H_5$ )

**67**

### 32-Benzylloxy-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)dotriacontan **68**

Entsprechend der Methode 1B wurde das GRIGNARD-Reagenz aus 11,5 mmol (4,66 g) der Verbindung **57** in 15 ml THF gebildet und mit 11,5 mmol (4,72 g) der Verbindung **67** in 15 ml THF gekuppelt. Als Katalysator dienten 5 ml 0,1 M  $Li_2CuCl_4$ -Lsg. in THF. Vor der abschließenden SC wurde das Rohprodukt in 100 ml tr. Aceton umkristallisiert, um kurzkettige Verunreinigungen abzutrennen.

Summenformel:  $C_{44}H_{80}O_3$  $M_R$  (g/mol): 657,10

Ausbeute: 57 %

 $R_F$ : 0,22 (LM8) $F_P$ : 62-64 °C

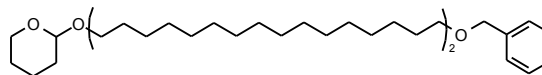
Aussehen: weißer Feststoff

EI-MS (m/z): 657 12,1 %  $[M]^+$ 

EA: ber.(%): C(80,42), H(12,27)

gef.(%): C(80,81), H(12,15)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,19-1,34 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}-$ ); 1,48-1,61 (m, 8H,  $3 \times -CH_2-CH_2-O-$ ,  $-CH_2-CH_2-CH-O-$ ); 1,67-1,73 (m, 1H,  $-CH_2-CH-O-$ ); 1,78-1,83 (m, 1H,  $-CH_2-CH-O-$ ); 3,34-3,39 (m, 1H,  $-CH-O-CH_2-$ ); 3,43-3,51 (m, 3H,  $-CH-O-CH_2-$ ,  $CH_2-O-CH_2-C_6H_5$ ); 3,68-3,74 (m, 1H,  $-CH-O-CH_2-$ ); 3,83-3,88 (m, 1H,  $-CH-O-CH_2-$ ); 4,48 (s, 2H,  $-CH_2-C_6H_5$ ); 4,55-4,57 (m, 1H,  $-O-CH-O-$ ); 7,25-7,33 (m, 5H,  $-C_6H_5$ )

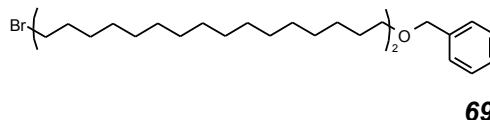
**68**

### 1-Benzylloxy-32-bromdotriacontan **69**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 2 durch Umsetzung von 2,77 mmol (1,82 g) der Verbindung **68**. Aufgrund der geringeren Löslichkeit der langkettigen Verbindungen wurde  $CHCl_3/CH_2Cl_2$  1:1 (V/V) anstatt reinem  $CH_2Cl_2$  als Lösungsmittel verwendet.

Summenformel:  $C_{39}H_{71}OBr$

$M_R$ (g/mol):	635,88
Ausbeute:	90 %
$R_F$ :	0,46 (LM8)
$F_P$ :	76-78 °C
Aussehen:	weißer Feststoff
EI-MS (m/z):	634/636 1,4 % $[M]^+$
EA: ber.(%):	C(73,66), H(11,25)
gef.(%):	C(73,75), H(11,61)



$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,21-1,43 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}-$ ); 1,54-1,63 (m, 2H,  $-CH_2-CH_2-O-$ ); 1,78-1,87 (m, 2H, Br- $CH_2-CH_2-$ ); 3,37-3,40 (t, J = 7,0 Hz, 2H, Br- $CH_2-$ ); 3,43-3,46 (t, J = 6,6 Hz, 2H,  $-CH_2-CH_2-O-$ ); 4,45-4,47 (m, 2H,  $-CH_2-C_6H_5$ ); 7,22-7,33 (m, 5H,  $-C_6H_5$ )

### 3.7.3 $\omega$ -Hydroxyalkylamine und -ammoniumsalze mit Kettenlängen von 16 bzw. 22 Methyleneinheiten

#### 16-Amino-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **70a** \*

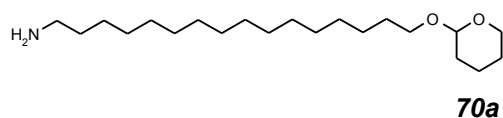
3,7 mmol (1,50 g) des Bromids **57** wurden in 25 ml abs. DMF gelöst, mit 7,7 mmol (0,50 g) Natriumazid versetzt und unter Rühren auf 90 °C erhitzt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und war nach 4 h abgeschlossen.

Der daraus resultierenden Mischung wurden nacheinander 50 ml dest. Wasser und 50 ml Chloroform hinzugegeben. Die org. Phase wurde zweimal mit 50 ml dest. Wasser und einmal mit 50 ml ges. Kochsalzlösung gewaschen. Anschließend wurde über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingengt.

Das flüssige, gelbliche Azid wurde in 20 ml THF aufgenommen und mit 14,8 mmol (3,88 g) Triphenylphosphin umgesetzt. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die Reaktion war abgeschlossen, als sich keine Gasbläschen mehr bildeten. Um das entstandene Iminophosphoran zum primären Amin zu hydrolysieren, wurde der Ansatz mit 4 ml dest. Wasser vermischt und für 3 h gerührt. Abschließend wurde der Ansatz mit weiteren 50 ml Wasser versetzt und zweimal mit Chloroform/Methanol 8:2 (V/V) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden wie üblich getrocknet ( $Na_2SO_4$ ) und im Vakuum eingengt.

Die Reinigung erfolgte durch MPLC mit einem Chloroform/Methanol/Ammoniak-Gradienten.

Summenformel:	$C_{21}H_{43}NO_2$
$M_R$ (g/mol):	341,57
Ausbeute:	62 %
$R_F$ :	0,66 (LM5)
$F_P$ :	56 °C
Aussehen:	weißer Feststoff
ESI-MS (m/z):	342,4 $[M+H]^+$



HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 341,3294 [M]<sup>+</sup>  
gef.: 341,3288

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,24-1,33 (m, 24H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-); 1,44-1,59 (m, 8H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>); 1,67-1,72 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,78-1,83 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 2,66-2,70 (t, J = 7,1 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>); 3,33-3,34 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,47-3,49 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,68-3,74 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,83-3,85 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,55-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-)

### 16-(N-Methylamino)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **70b** \*

Entsprechend Methode 7 wurde **70b** aus 0,62 mmol (0,25 g) des Alkylbromids **57** mit Methylaminlösung dargestellt.

Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 355,60

Ausbeute: 48 %

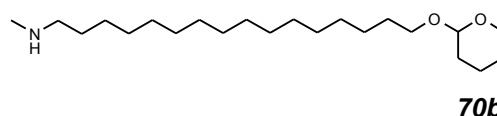
R<sub>F</sub>: 0,08 (LM4)

F<sub>P</sub>: 39-41 °C

Aussehen: weißer Feststoff

ESI-MS (m/z): 356,3 [M+H]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 355,3450 [M]<sup>+</sup>  
gef.: 355,3441



**70b**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,19-1,33 (m, 24H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-); 1,43-1,59 (m, 8H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-); 1,67-1,73 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 1,78-1,83 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 2,42 (s, 3H, -NH-CH<sub>3</sub>); 2,53-2,57 (t, J = 7,1 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-NH-); 3,33-3,39 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,45-3,50 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,68-3,73 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,82-3,88 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,53-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-)

### 16-(N,N-Dimethylamino)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **70c** \*

Entsprechend Methode 7 wurde **70c** aus 2,46 mmol (1,0 g) des Alkylbromids **57** mit Dimethylaminlösung dargestellt.

Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>2</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 369,62

Ausbeute: 90 %

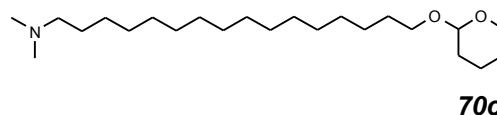
R<sub>F</sub>: 0,02-0,14 (LM4); 0,71 (LM5)

F<sub>P</sub>: < 25 °C

Aussehen: weiße, wachsartige Substanz

EI-MS (m/z): 368 1,4 % [M-H]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 369,3607 [M]<sup>+</sup>  
gef.: 369,3591



**70c**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,18-1,34$  (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ); 1,45-1,51 (m, 8H,  $2\times-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-$ ); 1,64-1,72 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ ); 1,77-1,84 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ ); 2,24-2,30 (m, 8H,  $-\text{CH}_2-\text{N}-(\text{CH}_3)_2$ ); 3,33-3,38 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 3,44-3,50 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 3,67-3,73 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 3,82-3,87 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 4,54-4,56 (m, 1H,  $-\text{O}-\text{CH}-\text{O}-$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 19,75; 25,58; 26,29; 26,63; 26,96; 27,40; 29,33-29,81; 30,85; 44,85; 59,54; 62,34; 67,71; 98,85$

### 16-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)hexadecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid **70d** \*

Entsprechend Methode 7 wurde **70d** aus 5,12 mmol (2,1 g) des Alkylbromids **57** mit Trimethylaminlösung dargestellt.

Summenformel:  $\text{C}_{24}\text{H}_{50}\text{NO}_2\text{Br}$

$M_R$  (g/mol): 464,56

Ausbeute: 87 %

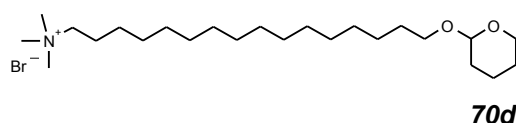
$R_F$ : 0,06-0,2 (LM6)

$F_P$ : 217-220 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 384,5  $[\text{M}-\text{Br}]^+$

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 384,3842  $[\text{M}-\text{Br}]^+$   
gef.: 384,3836



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,16-1,34$  (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ); 1,50-1,56 (m, 6H,  $2\times-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ ); 1,67-1,71 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{O}-$ ); 3,12 (s, 9H,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ); 3,27-3,38 (m, 3H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{N}-$ ); 3,45-3,48 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 3,65-3,69 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 3,80-3,84 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ); 4,52-4,54 (m, 1H,  $-\text{O}-\text{CH}-\text{O}-$ )

### 16-Aminohexadecan-1-ol **71a** \*

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 1,00 mmol (0,34 g) der Verbindung **70a** mit 1,92 mmol (0,33 g) *p*TosOH in 20 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:  $\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{NO}$

$M_R$  (g/mol): 257,46

Ausbeute: 79 %

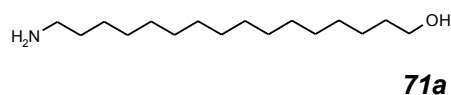
$R_F$ : 0,51 (LM5)

$F_P$ : 88-89 °C

Aussehen: weißer Feststoff

ESI-MS (m/z): 258,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 257,2719  $[\text{M}]^+$   
gef.: 257,2728





$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,24\text{-}1,42$  (m, 26H,  $-(\text{CH}_2)_{13}-$ );  $1,51\text{-}1,58$  (m, 2H,  $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2-$ );  $2,64\text{-}2,67$  (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ );  $3,60\text{-}3,63$  (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{HO-CH}_2-$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 25,73$ ;  $26,80$ ;  $29,37\text{-}29,57$ ;  $32,58$ ;  $33,02$ ;  $41,60$ ;  $62,54$

### 16-(*N*-Methylamino)hexadecan-1-ol **71b** \*

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,18 mmol (0,063 g) der Verbindung **70b** mit 0,20 mmol (0,035 g) *p*TosOH in 5 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:  $\text{C}_{17}\text{H}_{37}\text{NO}$

$M_R$  (g/mol): 271,48

Ausbeute: 85 %

$R_F$ : 0,55 (LM5)

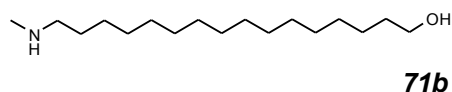
$F_P$ : 72-73 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 272,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 271,2875  $[\text{M}]^+$

gef.: 271,2877



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,25\text{-}1,36$  (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ );  $1,44\text{-}1,58$  (m, 4H,  $-\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$ );  $2,41$  (s, 3H,  $-\text{NH-CH}_3$ );  $2,52\text{-}2,56$  (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-NH-}$ );  $3,60\text{-}3,63$  (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{HO-CH}_2-$ )

### 16-(*N,N*-Dimethylamino)hexadecan-1-ol **71c** \*

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,94 mmol (0,35 g) der Verbindung **70c** mit 1,16 mmol (0,20 g) *p*TosOH in 10 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:  $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{NO}$

$M_R$  (g/mol): 285,51

Ausbeute: 76 %

$R_F$ : 0,39 (LM5)

$F_P$ : 51 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

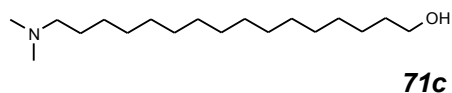
EI-MS (m/z): 285 4,6 %  $[\text{M}-\text{H}]^+$

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 285,3032  $[\text{M}]^+$

gef.: 285,3032

EA: ber.(%): C(75,72), H(13,77), N(4,91)

gef.(%): C(75,37), H(13,34), N(4,81)



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,17\text{-}1,32$  (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ); 1,43-1,46 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$ ); 1,51-1,58 (m, 2H,  $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ); 2,21 (s, 6H,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 2,22-2,26 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ); 3,60-3,63 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{HO-CH}_2\text{-}$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 25,81$ ; 27,53; 27,59; 29,47-29,64; 32,90; 45,36; 59,92; 63,01

### 16-Hydroxyhexadecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid **71d**\*

Variante A:

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,86 mmol (0,40 g) der Verbindung **70d** mit katalytischen Mengen *p*TosOH in 10 ml getrocknetem Methanol.

Variante B:

Entsprechend Methode 7 wurde **71d** aus 2,27 mmol (0,73 g) des Alkylbromids **74** mit Trimethylaminlösung dargestellt. Zusätzlich zur MPLC wurde das Produkt durch Umfällen gereinigt. Dazu wurden 350 mg in 10 ml  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  4:1 (V/V) gelöst, mit 4 ml tr. Ether gefällt und bei 4 °C abzentrifugiert.

Summenformel:  $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{NOBr}$

$M_R$  (g/mol): 380,44

Ausbeute: Variante A: 68 %

Variante B: 27 %

$R_F$ : 0,06 (LM6)

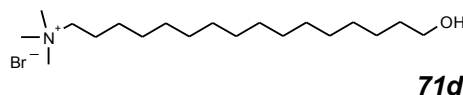
$F_P$ : 225,5-226 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 300,6  $[\text{M-Br}]^+$

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 300.3266  $[\text{M-Br}]^+$   
gef.: 300.3264

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,99\text{-}1,18$  (m, 24H,  $-(\text{CH}_2)_{12}-$ ); 1,31-1,35 (m, 2H,  $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ); 1,54-1,57 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$ ); 2,96 (s, 9H,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ); 3,11-3,18 (m, 3H,  $\text{HO-CH}_2\text{-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-N-}$ ); 3,33-3,37 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{HO-CH}_2\text{-}$ )



**71d**

### 22-Amino-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)docosan **72a**

Synthese und Reinigung erfolgten analog der Substanz **70a** aus 1,61 mmol (0,79 g) **62**.

Summenformel:  $\text{C}_{27}\text{H}_{55}\text{NO}_2$

$M_R$  (g/mol): 425,73

Ausbeute: 84 %

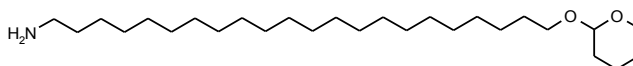
$R_F$ : 0,69

$F_P$ : 65 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 426,3  $[\text{M+H}]^+$

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 426,4311  $[\text{M+H}]^+$



**72a**

gef.: 426,4319

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,19\text{-}1,35$  (m, 36H,  $-(\text{CH}_2)_{18}$ -); 1,52-1,59 (m, 8H,  $2\times\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ ); 1,67-1,72 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,80-1,83 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 2,71-2,75 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ); 3,33-3,39 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 3,47-3,49 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 3,67-3,74 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 3,83-3,85 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 4,55-4,56 (m, 1H,  $-\text{O-CH-O-}$ )

### 22-(*N*-Methylamino)-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)docosan **72b**

Entsprechend Methode 7 wurde **72b** aus 2,04 mmol (1,0 g) des Alkylbromids **62** mit Methylaminlösung dargestellt.

Summenformel:  $\text{C}_{28}\text{H}_{57}\text{NO}_2$  $M_R$  (g/mol): 439,76

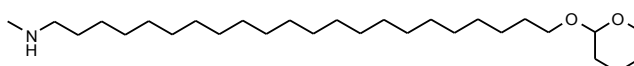
Ausbeute: 58 %

 $R_F$ : 0,42 (LM5) $F_P$ : 50-52 °C

Aussehen: weißer Feststoff

ESI-MS (m/z): 440,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 440,4468  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 

gef.: 440,4467

**72b**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,16\text{-}1,32$  (m, 36H,  $-(\text{CH}_2)_{18}$ -); 1,44-1,56 (m, 8H,  $2\times\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-}$ ); 1,63-1,71 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,75-1,82 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 2,42 (s, 3H,  $-\text{NH-CH}_3$ ); 2,57-2,61 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-NH-}$ ); 3,31-3,38 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 3,43-3,49 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 3,64-3,77 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 3,80-3,86 (m, 1H,  $-\text{CH-O-CH}_2$ -); 4,52-4,54 (m, 1H,  $-\text{O-CH-O-}$ )

### 22-(*N,N*-Dimethylamino)-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)docosan **72c** \*

Entsprechend Methode 7 wurde **72c** aus 1,63 mmol (0,80 g) des Alkylbromids **62** mit Dimethylaminlösung dargestellt.

Summenformel:  $\text{C}_{29}\text{H}_{59}\text{NO}_2$  $M_R$  (g/mol): 453,78

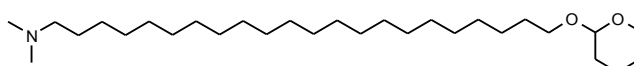
Ausbeute: 69 %

 $R_F$ : 0,83 (LM5); 0,11 (Chloroform/Methanol 9:1) $F_P$ : 95-96 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 454,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 453,4546  $[\text{M}]^+$ 

gef.: 453,4536

**72c**

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,19\text{-}1,33$  (m, 36H,  $-(\text{CH}_2)_{18}$ -); 1,48-1,59 (m, 8H,  $2\times\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-O-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$ ); 1,67-1,73 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{-CH-O-}$ ); 1,78-

1,83 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-CH-O-); 2,42 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 2,50-2,53 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N-); 3,33-3,39 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,47-3,49 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,68-3,74 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,83-3,85 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,55-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-)

### 22-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl-oxy)docosyl-N,N,N-trimethylammoniumbromid **72d** \*

Entsprechend Methode 7 wurde **72d** aus 1,23 mmol (0,60 g) des Alkylbromids **62** mit Trimethylaminlösung dargestellt.

Summenformel: C<sub>30</sub>H<sub>62</sub>NO<sub>2</sub>Br

M<sub>R</sub> (g/mol): 548,72

Ausbeute: 58 %

R<sub>F</sub>: 0,1-0,3 (LM6)

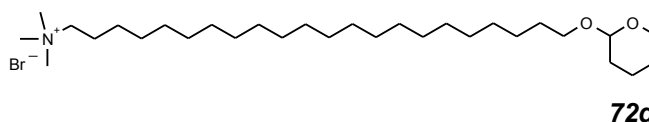
F<sub>P</sub>: 160-162 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 468,7 [M-Br]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 468,4781 [M-Br]<sup>+</sup>

gef.: 468,4759



**72d**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 1,18-1,34 (m, 36H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>-); 1,48-1,81 (m, 10H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 3,33-3,39 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,45 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,48-3,55 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>- und 2H, -CH<sub>2</sub>-N-); 3,68-3,73 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 3,82-3,85 (m, 1H, -CH-O-CH<sub>2</sub>-); 4,54-4,56 (m, 1H, -O-CH-O-)

### 22-Aminodocosan-1-ol **73a**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,62 mmol (0,26 g) der Verbindung **72a** mit 0,81 mmol (0,14 g) *p*TosOH in 30 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>47</sub>NO

M<sub>R</sub> (g/mol): 341,61

Ausbeute: 81 %

R<sub>F</sub>: 0,57 (LM5)

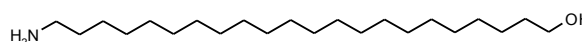
F<sub>P</sub>: 95 °C

Aussehen: weißer Feststoff

ESI-MS (m/z): 342,3 [M+H]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 342,3736 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 342,3741

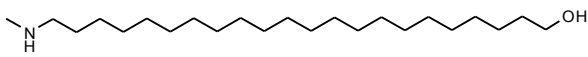


**73a**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,19-1,33 (m, 36H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>-); 1,40-1,47 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>); 1,49-1,56 (m, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2,62-2,66 (t, J = 7,5 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>); 3,55-3,58 (t, J = 6,6 Hz, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-)

**22-(*N*-Methylamino)docosan-1-ol 73b**

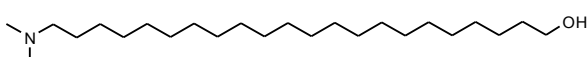
Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,91 mmol (0,40 g) der Verbindung **72b** mit 1,84 mmol (0,32 g) *p*TosOH in 30 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:	C <sub>23</sub> H <sub>49</sub> NO		
M <sub>R</sub> (g/mol):	355,64		<b>73b</b>
Ausbeute:	80 %		
R <sub>F</sub> :	0,63 (LM5)		
F <sub>P</sub> :	82-83 °C		
Aussehen:	weißer Feststoff		
ESI-MS (m/z):	356,4	[M+H] <sup>+</sup>	
HR-MS <sup>2</sup> (m/z):	ber.: 356,3892	[M+H] <sup>+</sup>	
	gef.: 356,3887		

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,22-1,35 (m, 36H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>-); 1,44-1,54 (m, 4H, -HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 2,39 (s, 3H, -NH-CH<sub>3</sub>); 2,51-2,55 (t, J = 7,5 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-NH-); 3,56-3,60 (m, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-)

**22-(*N,N*-Dimethylamino)docosan-1-ol 73c \***

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,44 mmol (0,20 g) der Verbindung **72c** mit 0,45 mmol (0,077 g) *p*TosOH in 15 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:	C <sub>24</sub> H <sub>51</sub> NO		
M <sub>R</sub> (g/mol):	369,67		<b>73c</b>
Ausbeute:	73 %		
R <sub>F</sub> :	0,74 (LM5)		
F <sub>P</sub> :	71 °C		
Aussehen:	weißer, kristalliner Feststoff		
ESI-MS (m/z):	370,4	[M+H] <sup>+</sup>	
HR-MS <sup>1</sup> (m/z):	ber.: 369,3971	[M] <sup>+</sup>	
	gef.: 369,3990		
EA: ber.(%):	C(77,98), H(13,91), N(3,79)		
gef.(%):	C(77,77), H(13,49), N(3,68)		

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,24-1,34 (m, 36H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>-); 1,43-1,46 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 1,51-1,58 (m, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2,21 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 2,22-2,26 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,60-3,63 (t, J = 6,6 Hz, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 25,74; 27,07; 27,46; 29,43-29,63; 32,59; 44,87; 59,71; 62,54

**22-Hydroxydocosyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid 73d \***

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 8 durch Umsetzung von 0,37 mmol (0,20 g) der Verbindung **72d** mit katalytischen Mengen *p*TosOH in 20 ml getrocknetem Methanol.

Summenformel:  $C_{25}H_{54}NOBr$

$M_R$  (g/mol): 464,60

Ausbeute: 58 %

$R_F$ : 0,15 (LM6)

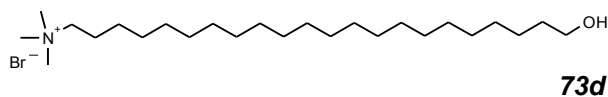
$F_P$ : 154-157 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 384,6  $[M-Br]^+$

HR-MS<sup>1</sup> (m/z): ber.: 384,4205  $[M-Br]^+$

gef.: 384,4195



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,97-1,16 (m, 36H,  $-(CH_2)_{18}-$ ); 1,29-1,32 (m, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1,50-1,56 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 2,92 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,07-3,12 (m, 3H, HO-CH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,31-3,35 (t, J = 6,6 Hz, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-)

### 16-Bromhexadecan-1-ol **74** \*

Der Alkohol **74** wurde nach Methode 8 aus 16-Brom-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)-hexadecan **57** erhalten. Die Reinigung erfolgte durch SC mit einem Chloroform/Diethylether-Gradienten (EI-MS (m/z): 302/304  $[M-H_2O]^+$ ).

## 3.7.4 32-Hydroxydotriacontanylammmoniumbromid und -phosphocholinderivate

### 32-Benzyloxydotriacontanyl-*N,N,N*-trimethylammmoniumbromid **75**

Entsprechend Methode 7 wurde **75** aus 0,47 mmol (300 mg) des Alkylbromids **69** mit Trimethylaminlösung dargestellt.

Summenformel:  $C_{42}H_{80}NOBr$

$M_R$  (g/mol): 694,99

Ausbeute: 62 %

$R_F$ : 0,12 (LM6)

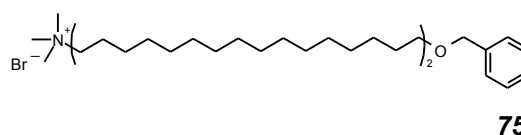
$F_P$ : 139-141 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 614,7  $[M-Br]^+$

EA: ber.(%): C(71,65), H(11,60), N(1,99)  $\times 0,5 H_2O$

gef.(%): C(71,41), H(11,40), N(2,02)



<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,18-1,39 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}-$ ); 1,55-1,60 (m, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1,68-1,74 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 3,21 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,32-3,37 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,43-3,46 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-); 4,48 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,25-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**32-Hydroxydotriacontanyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid 76**

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,181 mmol (126 mg) der Verbindung **75** eingesetzt. Abweichend zu Vorschrift dienten 50 ml einer Mischung (1:1, V/V) aus reinem Ethanol und reinem Ethylacetat als Lösungsmittel.

Summenformel:  $C_{35}H_{74}NOBr$

$M_R$  (g/mol): 604,87

Ausbeute: 91 %

$R_F$ : 0,13 (LM7)

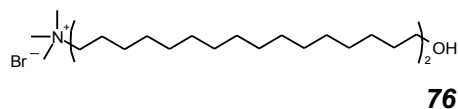
$F_P$ : 189-191 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 525,1  $[M-Br]^+$

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 524,5770  $[M-Br]^+$

gef.: 524,5791

**76**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,00-1,20 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}$ -); 1,30-1,36 (m, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1,51-1,59 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 2,93 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,07-3,12 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,33-3,37 (t, J = 6,6 Hz, 2H, HO-CH<sub>2</sub>-)

**32-Benzyloxydotriacontanyl-2-(dimethylammonio)ethylphosphat 77a**

**77a** wurde aus 0,33 mmol (190 mg) des Alkohols **64** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Dimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel:  $C_{43}H_{82}NO_5P$

$M_R$  (g/mol): 724,09

Ausbeute: 62 %

$R_F$ : 0,52 (LM6)

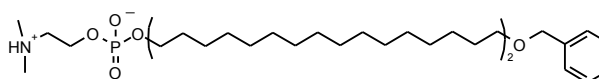
$F_P$ : 100-104 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 746,6  $[M+Na]^+$

EA: ber.(%): C(69,59), H(11,41), N(1,89)  $\times 1 H_2O$

gef.(%): C(69,99), H(11,16), N(2,05)

**77a**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,18-1,33 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}$ -); 1,56-1,65 (m, 4H,  $2 \times -CH_2-CH_2-CH_2-O-$ ); 2,83 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,14-3,16 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,43-3,46 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 3,87-3,92 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>31</sub>-); 4,20-4,24 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 4,48 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,25-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 25,91; 26,28; 29,47-29,85; 30,88; 30,95; 44,05; 58,50; 58,57; 59,88; 59,93; 66,07; 66,13; 70,56; 72,83; 127,30; 127,47; 128,19; 138,68

**32-Benzyloxydotriacontanyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphat 77b**

**77b** wurde aus 0,33 mmol (190 mg) des Alkohols **64** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel: C<sub>44</sub>H<sub>84</sub>NO<sub>5</sub>PM<sub>R</sub> (g/mol): 738,11

Ausbeute: 60 %

R<sub>F</sub>: 0,17 (LM6)F<sub>P</sub>: 96-99 °C

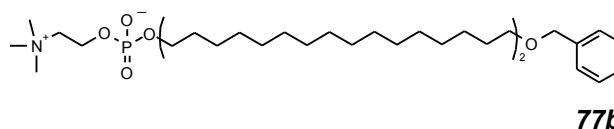
Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 760,5 [M+Na]<sup>+</sup>EA: ber.(%): C(66,71), H(11,45), N(1,77) ×3 H<sub>2</sub>O

gef.(%): C(66,31), H(11,17), N(1,73)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,20-1,26 (m, 56H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-); 1,52-1,59 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,21 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,37-3,43 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 3,60-3,62 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,77-3,82 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>31</sub>-); 4,17-4,23 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 4,45 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,25-7,29 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 25,70; 26,01; 29,33-29,61; 30,67; 30,75; 54,12; 54,16; 54,19; 58,69; 58,73; 65,78; 65,84; 66,50; 70,47; 72,75; 127,40; 127,55; 128,18; 138,29

**77b**

### 32-Benzyloxydotriacontyl-2-[N,N-dimethyl-N-(3-dimethylaminopropyl)ammonio]ethylphosphat **77c**

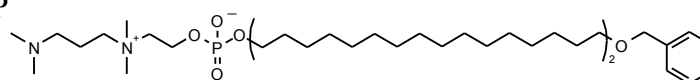
**77c** wurde aus 0,52 mmol (300 mg) des Alkohols **64** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit 10,0 mmol (1,75 ml) TMPDA synthetisiert. Dem Reaktionsgemisch wurde 1 ml abs. Ethanol zugesetzt. Durch die MPLC wurde die Verbindung **77c** nicht dünnschichtchromatographisch rein erhalten und lediglich massenspektrometrisch nachgewiesen. Das Produktgemisch wurde ohne zusätzliche Reinigungsschritte weiter umgesetzt.

Summenformel: C<sub>48</sub>H<sub>93</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>PM<sub>R</sub> (g/mol): 809,24

Ausbeute: max. 14 %

R<sub>F</sub>: 0,31 (LM7)

Aussehen: gelblicher Feststoff

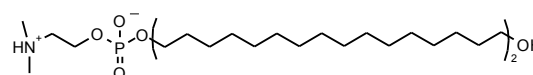
ESI-MS (m/z): 809,6 [M]<sup>+</sup>**77c**

### 32-Hydroxydotriacontanyl-2-(dimethylammonio)ethylphosphat **78a**

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,138 mmol (100 mg) der Verbindung **77a** eingesetzt.

Summenformel: C<sub>36</sub>H<sub>76</sub>NO<sub>5</sub>PM<sub>R</sub> (g/mol): 633,97

Ausbeute: 70 %

R<sub>F</sub>: 0,43 (LM7)F<sub>P</sub>: 129-131 °C**78a**



Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

ESI-MS (m/z): 634,4 [M+H]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 634,5534 [M+H]<sup>+</sup>  
gef.: 634,5535

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 1,16-1,32 (m, 56H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-); 1,46-1,52 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,55-1,62 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,83 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,23-3,26 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,50-3,53 (t, J = 7,0 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH); 3,84-3,89 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>31</sub>-); 4,10-4,15 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 25,55; 25,66; 29,19-29,52; 32,48; 43,19; 59,08; 62,38; 66,66

### 32-Hydroxydotriacontanyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphat **78b**

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,137 mmol (101 mg) der Verbindung **77b** eingesetzt.

Summenformel: C<sub>37</sub>H<sub>78</sub>NO<sub>5</sub>P

M<sub>R</sub> (g/mol): 647,99

Ausbeute: 90 %

R<sub>F</sub>: 0,07 (LM7)

F<sub>P</sub>: 171-173 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

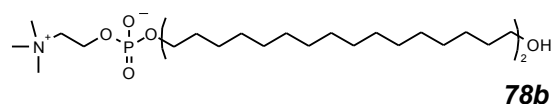
ESI-MS (m/z): 648,5 [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(64,97), H(12,08), N(2,05) × 2 H<sub>2</sub>O

gef.(%): C(65,19), H(11,86), N(2,23)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 1,16-1,29 (m, 56H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-); 1,45-1,52 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,54-1,59 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,15 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,50-3,53 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-OH, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,78-3,83 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>31</sub>-); 4,13-4,18 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 25,52; 29,13-29,39; 30,52; 32,27; 53,95; 58,49; 62,11; 65,77



**78b**

### 32-Hydroxydotriacontanyl-2-[N,N-dimethyl-N-(3-dimethylaminopropyl)ammonio]-ethylphosphat **78c**

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,062 mmol (50 mg) der Verbindung **77c** eingesetzt.

Summenformel: C<sub>41</sub>H<sub>87</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>P

M<sub>R</sub> (g/mol): 719,11

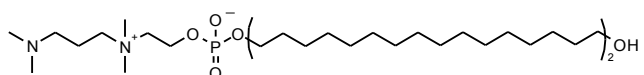
Ausbeute: 36 %

R<sub>F</sub>: 0,25 (LM7)

F<sub>P</sub>: 115-118 °C

Aussehen: weißer Feststoff

ESI-MS (m/z): 720,6 [M+H]<sup>+</sup>



**78c**

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 719,6431 [M+H]<sup>+</sup>  
gef.: 719,6455

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 1,25-1,30 (m, 56H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-); 1,43-1,49 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,51-1,57 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,13-2,21 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 2,68 (s, 6H, (H<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>N-); 2,93-2,97 (t, J = 7,5 Hz, 2H, (H<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-); 3,12 (s, 6H, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 3,28-3,29 (m, 2H, (H<sub>3</sub>C)<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-); 3,48-3,51 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-OH, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,74-3,79 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>31</sub>-); 4,10-4,16 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

### 3.7.5 Glycerolhaltige, zweikettige Bolaamphiphile

Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die Substituenten des Glycerols entsprechend der *sn*-Nomenklatur nicht alphabetisch, sondern nach 1-*O*, 2-*O* und 3-*O*-Position geordnet.

#### 1,2-*O*-Isopropyliden-3-*O*-(32-benzyloxydotriacontanyl)-*sn*-glycerol **79**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von

Variante A: 4,72 mmol (0,62 g) des IP-Glycerols **22** mit 4,72 mmol (0,8 ml Susp.) KH und Alkylierung mittels 2,36 mmol (1,50 g) des Alkylbromids **69** oder

Variante B: 1,66 mmol (0,22 g) des IP-Glycerols **22** mit 1,66 mmol (0,3 ml Susp.) KH und Alkylierung mittels 1,66 mmol (1,08 g) des Methansulfonsäureesters **65**.

Summenformel: C<sub>45</sub>H<sub>82</sub>O<sub>4</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 687,13

Ausbeuten: Variante A: 70 %

Variante B: 44 %

R<sub>F</sub>: 0,17 (LM)

F<sub>P</sub>: 69-71 °C

Aussehen: weißer Feststoff

[α]<sub>D</sub><sup>22</sup> +2,6 c = 0,086 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

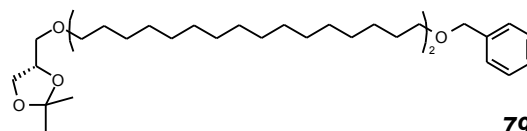
EI-MS (m/z): 687 10,7 % [M]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(78,66), H(12,03)

gef.(%): C(78,83), H(11,74)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 1,24-1,32 (m, 56H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-); 1,35 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,40 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,53-1,63 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,38-3,52 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,69-3,73 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,02-4,06 (m, 1H, -CHH-O-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-O-); 4,21-4,26 (m, 1H, -CH-O-); 4,48 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,25-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 25,54; 26,17; 26,30; 26,87; 29,54-29,88; 67,04; 70,58; 71,87; 71,91; 72,86; 74,81; 109,26; 127,32; 127,48; 128,21; 138,70



**79**

**3-O-(32-Benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycerol 80**

Synthese und Reinigung erfolgten nach Methode 4 durch Umsetzung von 1,77 mmol (1,22 g) der Verbindung **79** in 60 ml Methanol/Chloroform 5:1 (V/V).

Summenformel:  $C_{42}H_{78}O_4$

$M_R$  (g/mol): 647,07

Ausbeute: 82 %

$R_F$ : 0,11 (LM2)

$F_P$ : 93-94 °C

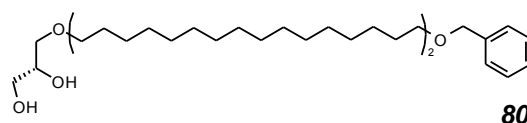
Aussehen: weißer Feststoff

$[\alpha]_D^{40}$  -10,2  $c = 0,012$  g/ml ( $CHCl_3$ )

EI-MS (m/z): 647 0,4 %  $[M]^+$

EA: ber.(%): C(77,96), H(12,15)

gef.(%): C(78,32), H(11,76)

**80**

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 1,13-1,40 (m, 56H,  $-(CH_2)_{28}-$ ); 1,53-1,63 (m, 4H,  $2 \times -CH_2-CH_2-O-$ ); 2,10 (b, 1H,  $-CH_2-OH$ ); 2,54 (b, 1H,  $-CH-OH$ ); 3,41-3,53 (m, 6H,  $3 \times -CH_2-O-$ ); 3,56-3,71 (m, 2H,  $-CH_2-OH$ ); 3,81-3,86 (m, 1H,  $-CH-OH$ ); 4,48 (s, 2H,  $-CH_2-C_6H_5$ ); 7,26-7,32 (m, 5H,  $-C_6H_5$ )

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 26,13; 26,25; 29,47-29,82; 64,35; 70,53; 70,60; 71,88; 72,52; 72,86; 127,35; 128,25; 138,84

**1-O-Trityl-3-O-(32-benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycerol 81**

1,93 mmol (1,25 g) des Alkohols **80** und 2,31 mmol (0,64 g) Tritylchlorid wurden in 40 ml tr. Chloroform/Pyridin 1:1 (V/V) dispergiert. Der Ansatz wurde für 1 h auf 50 °C erwärmt, damit das Edukt vollständig in Lösung ging. Anschließend wurde für zwei Tage bei RT gerührt bis die dünnschichtchromatographische Verlaufskontrolle eine vollständige Umsetzung anzeigte. Zur Hydrolyse von überschüssigem Tritylchlorid wurde für 2 h kräftig mit 20 ml Wasser durchgemischt. Es wurde nun mit 100 ml Chloroform verdünnt und mit 100 ml Wasser ausgeschüttelt. Die Chloroformphase wurde ein weiteres Mal mit Wasser gewaschen, getrocknet ( $Na_2SO_4$ ) und im Vakuum zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte durch MPLC mit einem Chloroform/Diethylether-Gradienten und TEA-Zusatz.

Summenformel:  $C_{61}H_{92}O_4$

$M_R$  (g/mol): 889,38

Ausbeute: 96 %

$R_F$ : 0,38 (LM1)

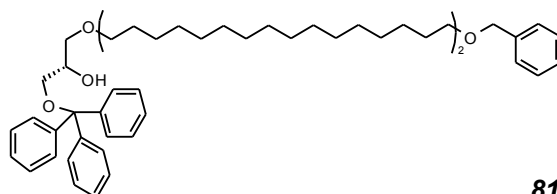
$F_P$ : 59-60 °C

Aussehen: weißer Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$  -4,2  $c = 0,038$  g/ml ( $CHCl_3$ )

ESI-MS (m/z): 911,7  $[M+Na]^+$

EA: ber.(%): C(82,38), H(10,43)

**81**

gef.(%): C(82,27), H(10,50)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 1,19\text{-}1,36$  (m, 56H,  $-(\text{CH}_2)_{28}$ -); 1,52-1,63 (m, 4H,  $2\times\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ -); 2,40-2,41 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H,  $-\text{OH}$ ); 3,14-3,21 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O-C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ); 3,39-3,53 (m, 6H,  $3\times\text{-CH}_2\text{-O}$ -); 3,91-3,95 (m, 1H,  $-\text{CH-OH}$ ); 4,48 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ); 7,19-7,47 (m, 20H,  $4\times\text{-C}_6\text{H}_5$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 26,27$ ; 26,36; 29,64-29,94; 64,83; 69,98; 70,64; 71,73; 72,16; 72,92; 86,74; 127,00; 127,20; 127,38; 127,55; 127,77; 127,87; 127,91; 128,27; 128,68; 138,78; 143,90

### 1-O-Trityl-2-O-hexadecyl-3-O-(32-benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycerol **82a**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 1,36 mmol (1,21 g) des Alkohols **81** mit 1,36 mmol (0,2 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 4,08 mmol (1,25 g) 1-Bromhexadecan.

Summenformel:  $\text{C}_{77}\text{H}_{124}\text{O}_4$

$M_R$  (g/mol): 113,81

Ausbeute: 53 %

$R_F$ : 0,49 (LM8)

$F_P$ : 40-41 °C

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : -4,7  $c = 0,02$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 1136,0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

EA: ber.(%): C(83,00), H(11,18)

gef.(%): C(83,11), H(11,14)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,84\text{-}0,88$  (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 1,08-1,30 (m, 82H,  $-(\text{CH}_2)_{28}$ -,  $-(\text{CH}_2)_{13}\text{-CH}_3$ ); 1,47-1,63 (m, 6H,  $3\times\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ -); 3,14-3,20 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O-C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ ); 3,36-3,39 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-O}$ -); 3,43-3,55 (m, 7H,  $3\times\text{-CH}_2\text{-O}$ -,  $-\text{CH-O}$ -); 4,48 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ); 7,18-7,50 (m, 20H,  $4\times\text{-C}_6\text{H}_5$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,27$ ; 22,85; 26,28; 26,33; 26,36; 29,51-29,94; 30,32; 32,07; 70,64; 70,79; 71,32; 71,71; 78,42; 86,58; 126,84; 127,23; 127,40; 127,57; 127,66; 127,90; 128,75; 138,61; 144,15

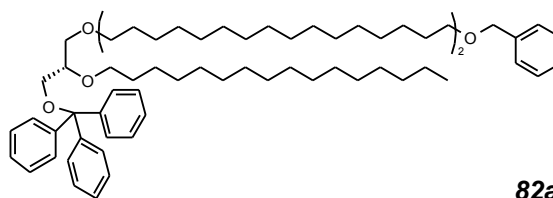
### 1-O-Trityl-2-O-[(10RS)-10-methylhexadecyl]-3-O-(32-benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycerol **82b**

Synthese und Reinigung erfolgten gemäß Methode 3 durch Deprotonierung von 0,68 mmol (0,60 g) des Alkohols **81** mit 0,68 mmol (0,1 ml Suspension) KH und Alkylierung mittels 2,03 mmol (0,65 g) des Alkylbromids **21**.

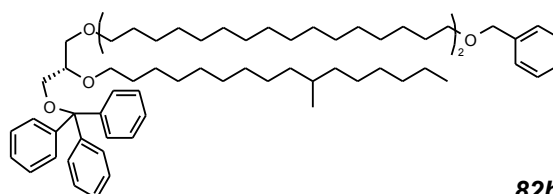
Summenformel:  $\text{C}_{78}\text{H}_{126}\text{O}_4$

$M_R$  (g/mol): 1127,83

Ausbeute: 65 %



**82a**



**82b**

R <sub>F</sub> :	0,47 (LM8)	
F <sub>P</sub> :	34 °C	
Aussehen:	weißer, wachsartiger Feststoff	
[α] <sup>22</sup> <sub>D</sub> :	-5,8	c = 0,02 g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
ESI-MS (m/z):	1149,7	[M+Na] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(83,07), H(11,26)	
gef.(%):	C(83,09), H(11,27)	

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,82-0,84 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 0,86-0,89 (t, J = 7,1 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,03-1,39 (m, 81H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,46-1,64 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,15-3,17 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-C(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>); 3,37-3,40 (t, J = 6,6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-O-); 3,43-3,64 (m, 7H, 3×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 4,49 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,18-7,46 (m, 20H, 4×-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz): δ[ppm] = 14,22; 19,82; 22,79; 25,84; 26,21; 26,27; 26,30; 27,15; 27,20; 29,53-29,87; 30,09; 30,14; 30,25; 32,04; 32,86; 32,92; 37,20; 70,57; 70,72; 71,24; 71,63; 72,86; 78,35; 86,51; 126,77; 127,15; 127,33; 127,50; 127,60; 127,82; 127,84; 128,22; 128,67; 138,67; 144,08

### 2-O-Hexadecyl-3-O-(32-benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycerol **83a**

Die tritylgeschützte Substanz **82a** (0,64 mmol; 0,72 g) wurde in 30 ml abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurde eine Lösung von 0,79 mmol (0,10 ml) BF<sub>3</sub>-Etherat in 0,90 ml tr. Methanol gegeben und anschließend für 1 h gerührt. Danach wurde der Ansatz mit 15 ml tr. Chloroform verdünnt und dreimal mit 20 ml kaltem Wasser gewaschen. Die org. Phase wurde getrocknet, filtriert und im Vakuum zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels MPLC und einem Chloroform/Diethylether-Gradienten.

Summenformel: C<sub>58</sub>H<sub>110</sub>O<sub>4</sub>

M<sub>R</sub> (g/mol): 871,49

Ausbeute: 75 %

R<sub>F</sub>: 0,34 (LM1)

F<sub>P</sub>: 69-71 °C

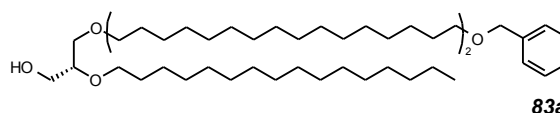
Aussehen: weißer Feststoff

[α]<sup>22</sup><sub>D</sub>: +2,9 c = 0,007 g/ml (CHCl<sub>3</sub>)

ESI-MS (m/z): 893,8 [M+Na]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(79,93), H(12,72)

gef.(%): C(80,19), H(12,82)



**83a**

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ[ppm] = 0,85-0,88 (t, J = 7,1 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>); 1,24-1,35 (m, 82H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,50-1,61 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,14 (b, 1H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,40-3,62 (m, 10H, 5×-CH<sub>2</sub>-O-); 3,69-3,72 (m, 1H, -CH-O-); 4,48 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,24-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,24; 22,83; 26,27; 26,36; 29,49-29,93; 30,26; 32,06; 63,22; 70,48; 70,63; 71,04; 71,93; 72,92; 78,39; 127,37; 127,54; 128,26; 138,50$

### 2-O-[(10RS)-10-methylhexadecyl]-3-O-(32-benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycerol **83b**

**83b** wurde in gleicher Weise wie **83a** aus 0,28 mmol (0,31 g) **82b** synthetisiert. Die Reinigung erfolgte durch SC mit tr. Chloroform als Elutionsmittel.

Summenformel:  $\text{C}_{59}\text{H}_{112}\text{O}_4$

$M_R$  (g/mol): 885,52

Ausbeute: 73 %

$R_F$ : 0,42 (LM1)

$F_P$ : 55-56 °C

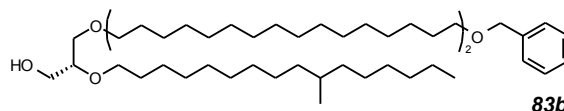
Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : +3,4  $c = 0,088$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 885,5  $[\text{M}]^+$

EA: ber.(%): C(80,02), H(12,75)

gef.(%): C(80,02), H(12,72)



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 0,81-0,82$  (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}-\text{CH}_3$ );  $0,85-0,88$  (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ );  $1,03-1,38$  (m, 81H,  $-(\text{CH}_2)_{28}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ );  $1,50-1,63$  (m, 6H,  $3 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ );  $3,40-3,62$  (m, 10H,  $5 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ );  $3,68-3,72$  (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{O}-$ );  $4,48$  (s, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ );  $7,23-7,33$  (m, 5H,  $-\text{C}_6\text{H}_5$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta[\text{ppm}] = 14,21; 19,82; 22,79; 26,21; 26,30; 27,14; 27,17; 29,58-29,87; 30,10; 30,19; 32,04; 32,85; 37,19; 63,16; 70,42; 70,57; 70,96; 71,88; 72,86; 78,28; 127,34; 127,50; 128,22; 138,67$

### [2-O-Hexadecyl-3-O-(32-benzyloxydotriacontanyl)-sn-glycer-1-yl]-

### 2-(dimethylammonio)ethylphosphat **84a**

**84a** wurde aus 0,21 mmol (180 mg) des Alkohols **83a** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Dimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel:  $\text{C}_{62}\text{H}_{120}\text{NO}_7\text{P}$

$M_R$  (g/mol): 1022,59

Ausbeute: 63 %

$R_F$ : 0,30 (LM5)

$F_P$ : 73-75 °C

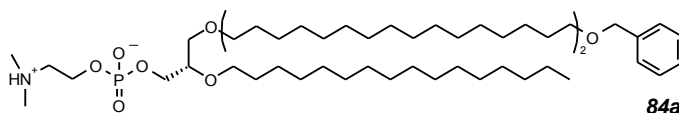
Aussehen: weißer Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : +1,3  $c = 0,016$  g/ml ( $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  1:1, V/V)

ESI-MS (m/z): 1044,9  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 1022,8881  $[\text{M}+\text{H}]^+$

gef.: 1022,8927



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,84-0,87 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,08-1,35 (m, 82H,  $-(\text{CH}_2)_{28}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3$ ); 1,50-1,55 (m, 4H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 1,57-1,60 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 2,93 (s, 6H,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 3,37-3,57 (m, 11H,  $4 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}-\text{O}-$ ,  $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-$ ); 3,86-3,95 (m, 2H,  $-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}-$ ); 4,27-4,30 (m, 2H,  $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-$ ); 4,47 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,24-7,31 (m, 5H,  $-\text{C}_6\text{H}_5$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,25; 22,83; 26,30; 26,32; 26,35; 29,50-29,88; 30,38; 32,07; 43,92; 58,02; 58,08; 59,90; 65,90; 70,43; 70,60; 70,63; 71,86; 72,91; 77,82; 77,89; 127,38; 127,55; 128,27; 138,74

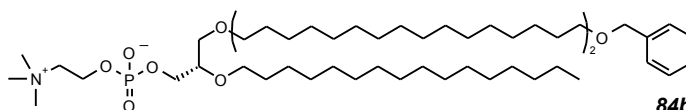
**[2-*O*-Hexadecyl-3-*O*-(32-benzyloxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl]-2-(trimethylammonio)ethylphosphat **84b****

**84b** wurde aus 0,23 mmol (200 mg) des Alkohols **83a** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel:  $\text{C}_{63}\text{H}_{122}\text{NO}_7\text{P}$

$M_R$  (g/mol): 1036,62

Ausbeute: 54 %



**84b**

$R_F$ : 0,65 (LM7)

$F_P$ : 75-77 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

$[\alpha]_D^{22}$ : +2,9  $c = 0,007$  g/ml ( $\text{CHCl}_3$ )

ESI-MS (m/z): 1058,8  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

EA: ber.(%): C(67,16), H(11,81), N(1,24)  $\times 5 \text{H}_2\text{O}$

gef.(%): C(67,11), H(11,41), N(1,45)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$ [ppm] = 0,84-0,88 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 1,19-1,33 (m, 82H,  $-(\text{CH}_2)_{28}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3$ ); 1,49-1,52 (m, 4H,  $2 \times -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 1,57-1,61 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); 3,36 (s, 9H,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ); 3,39-3,58 (m, 9H,  $4 \times -\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $-\text{CH}-\text{O}-$ ); 3,78-3,81 (m, 2H,  $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-$ ); 3,85-3,87 (m, 2H,  $-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}-$ ); 4,28-4,32 (m, 2H,  $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-$ ); 4,48 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7,26-7,32 (m, 5H,  $-\text{C}_6\text{H}_5$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz):  $\delta$ [ppm] = 14,10; 22,70; 26,17; 26,22; 29,39-29,85; 30,27; 31,95; 54,49; 59,33; 65,12; 66,44; 70,49; 70,56; 70,83; 71,74; 72,84; 78,07; 78,15; 127,36; 127,52; 128,25; 138,74

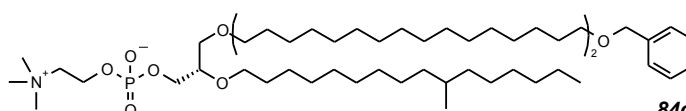
**{2-*O*-[(10*RS*)-10-Methylhexadecyl]-3-*O*-(32-benzyloxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat **84c****

**84c** wurde aus 0,19 mmol (169 mg) des Alkohols **83b** durch Phosphorylierung (Methode 6) und Quarternierung (Methode 7) mit Trimethylaminlösung synthetisiert.

Summenformel:  $\text{C}_{64}\text{H}_{124}\text{NO}_7\text{P}$

$M_R$  (g/mol): 1050,65

Ausbeute: 56 %



**84c**

R <sub>F</sub> :	0,41 (LM6)	
F <sub>P</sub> :	53-58 °C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
[α] <sup>22</sup> <sub>D</sub> :	+1,4	c = 0,04 g/ml (CHCl <sub>3</sub> )
ESI-MS (m/z):	1072,6	[M+Na] <sup>+</sup>
EA: ber.(%):	C(70,74), H(11,87), N(1,29) × 2 H <sub>2</sub> O	
gef.(%):	C(70,85), H(11,61), N(1,48)	

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500MHz): δ[ppm] = 0,81-0,82 (d, J = 6,4 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,87 (t, J = 7,0 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,04-1,37 (m, 81H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,47-1,54 (m, 4H, 2×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 1,56-1,62 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,35 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,37-3,57 (m, 9H, 4×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 3,78-3,80 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,82-3,84 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,27-4,31 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 4,48 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7,24-7,32 (m, 5H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125MHz): δ[ppm] = 14,11; 19,69; 22,69; 26,13; 26,16; 26,19; 27,06; 27,15; 29,48-29,78; 30,10; 30,23; 31,96; 32,79; 37,14; 37,16; 54,50; 59,26; 59,29; 65,04; 65,08; 66,39; 66,44; 70,48; 70,54; 70,74; 71,73; 72,83; 78,02; 78,08; 127,42; 127,58; 128,31; 138,73

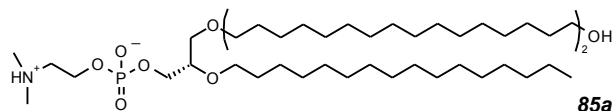
**[2-*O*-Hexadecyl-3-*O*-(32-hydroxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl]-2-(dimethylammonio)ethylphosphat **85a****

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,071 mmol (72 mg) der Verbindung **84a** eingesetzt.

Summenformel: C<sub>55</sub>H<sub>114</sub>NO<sub>7</sub>P

M<sub>R</sub> (g/mol): 932,47

Ausbeute: 76 %



R<sub>F</sub>: 0,18 (LM5)

F<sub>P</sub>: 100-101 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

[α]<sup>22</sup><sub>D</sub>: -3,4 c = 0,006 g/ml (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 1:1, V/V)

ESI-MS (m/z): 932,7 [M]<sup>+</sup>

HR-MS<sup>2</sup> (m/z): ber.: 954,8231 [M+Na]<sup>+</sup>  
gef.: 954,8255

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,85-0,88 (t, J = 7,0 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,19-1,35 (m, 82H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,48-1,57 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 2,88 (s, 6H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,27-3,31 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,40-3,63 (m, 9H, 4×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-); 3,87-3,91 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,13-4,18 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

**[2-*O*-Hexadecyl-3-*O*-(32-hydroxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl]-2-(trimethylammonio)ethylphosphat **85b****

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,096 mmol (100 mg) der Verbindung **84b** eingesetzt.



Summenformel: C<sub>56</sub>H<sub>116</sub>NO<sub>7</sub>P

M<sub>R</sub> (g/mol): 946,50

Ausbeute: 84 %

R<sub>F</sub>: 0,37 (LM7)

F<sub>P</sub>: 111-114 °C

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

[α]<sup>22</sup><sub>D</sub>: -3,6 c = 0,011 g/ml (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 1:1, V/V)

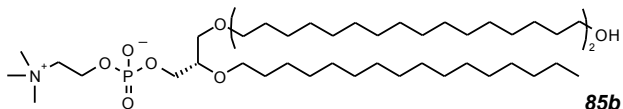
ESI-MS (m/z): 969,7 [M+Na]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(67,22), H(12,29), N(1,40) × 3 H<sub>2</sub>O

gef.(%): C(67,31), H(12,44), N(1,57)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,85-0,88 (t, J = 6,8 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,20-1,33 (m, 82H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,48-1,57 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,19 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,35-3,62 (m, 11H, 4×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,86-3,90 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,20-4,24 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 14,24; 22,96; 26,12; 26,38; 26,41; 29,65-30,00; 30,39; 32,22; 32,86; 54,42; 54,46; 54,49; 59,09; 59,14; 62,60; 65,37; 65,42; 66,87; 70,90; 72,01; 78,26; 78,35



85b

**{2-O-[(10RS)-10-Methylhexadecyl]-3-O-(32-hydroxydotriacontanyl)-sn-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat 85c**

Zur Reaktion nach Methode 9 wurden 0,088 mmol (92 mg) der Verbindung **84c** eingesetzt.

Summenformel: C<sub>57</sub>H<sub>118</sub>NO<sub>7</sub>P

M<sub>R</sub> (g/mol): 960,52

Ausbeute: 93 %

R<sub>F</sub>: 0,31 (LM6)

F<sub>P</sub>: 86-88 °C

Aussehen: weißer Feststoff

[α]<sup>22</sup><sub>D</sub>: -2,1 c = 0,03 g/ml (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 1:1, V/V)

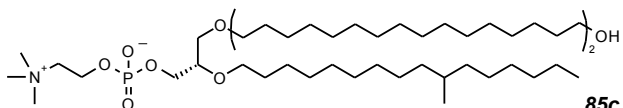
ESI-MS (m/z): 960,9 [M+H]<sup>+</sup>

EA: ber.(%): C(69,96), H(12,36), N(1,43) × 1 H<sub>2</sub>O

gef.(%): C(70,02), H(12,28), N(1,29)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ[ppm] = 0,81-0,83 (d, J = 6,6 Hz, 3H, -CH-CH<sub>3</sub>); 0,85-0,88 (t, J = 6,6 Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,03-1,33 (m, 81H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,49-1,57 (m, 6H, 3×-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 3,21 (s, 9H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 3,36-3,62 (m, 11H, 4×-CH<sub>2</sub>-O-, -CH-O-, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-); 3,84-3,89 (m, 2H, -P-O-CH<sub>2</sub>-CH-); 4,20-4,28 (m, 2H, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P-)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD, 100MHz): δ[ppm] = 14,08; 19,67; 22,68; 25,78; 26,05; 26,08; 27,04; 27,12; 29,46-29,72; 30,04; 30,06; 31,94; 32,65; 32,77; 37,11; 37,12; 54,32; 58,95; 59,00; 62,62; 65,06; 65,11; 66,46; 70,37; 70,57; 71,74; 77,84; 77,92



85c

## 4 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 B. Chaban, S. Y. M. Ng, K. F. Jarrell; *Can. J. Microbiol.*, 52, **2006**, 73-116
- 2 N. A. Campbell, J. B. Reece; *Biologie*, Pearson Studium, 8., aktualisierte Auflage, **2009**, 740-763
- 3 T. Allers, M. Mevarech; *Nat. Rev. Genet.*, 6, **2005**, 58-73
- 4 P. Koch, P. Zabłowski, A. Spreinat, G. Antranikran; *FEMS Microbiol. Lett.*, 71, **1990**, 21-26
- 5 K. Lewalter, V. Müller; *Biochim. Biophys. Acta*, 1756, **2006**, 437-445
- 6 W. Baumeister, G. Lembecke; *J. of Bioenerg. and Biomembr.*; 24, **1992**, 567-575
- 7 C. R. Woese, L. J. Magrum, G. E. Fox; *J. Mol. Evol.*, 11, **1978**, 245-252
- 8 C. R. Woese, G. E. Fox; *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74, **1977**, 5088-5090
- 9 D. L. Valentine; *Nat. Rev. Microbiol.*, 5, **2007**, 316-323
- 10 M. Nishihara, H. Morii, Y. Koga; *J. Biochem.*, 101, **1987**, 1007-1015
- 11 M. De Rosa, A. Gambacorta, A. Gliozzi; *Microbiol. Rev.*, 50, **1986**, 70-80
- 12 M. Kates, D. J. Kushner, A. T. Matheson; *The Biochemistry of Archaea*, Elsevier Amsterdam, **1993**, 261-293
- 13 T. A. Langworthy; *Biochim. Biophys. Acta*; 487, **1977**, 37-50
- 14 M. De Rosa, A. Gambacorta, B. Nicolaus, B. Chappe, P. Albrecht; *Biochim. Biophys. Acta*, 753, **1983**, 249-256
- 15 M. De Rosa, E. Esposito, A. Gambacorta, B. Nicolaus, J. D. Bu'lock; *Phytochemistry*, 19, **1980**, 827-831
- 16 M. De Rosa, A. Gambacorta; *Prog. Lipid Res.*, 27, **1988**, 153-175
- 17 G. D. Sprott; *J. of Bioenerg. and Biomembr.*; 24, **1992**, 555-566
- 18 M. G. L. Elferink, J. G. de Wit, R. Demel, A. J. M. Driessen, W. N. Konings; *J. Biol. Chem.*, 267, **1992**, 1375-1381
- 19 S.-L. Lo, E. L. Chang; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 167, **1990**, 238-243
- 20 A. Gliozzi, R. Rolandi, M. De Rosa, A. Gambacorta; *J. Membrane Biol.*, 75, **1983**, 45-56
- 21 U. Bakowsky, U. Rothe, E. Antonopoulos, T. Martini, L. Henkel, H.-J. Freisleben; *Chem. Phys. Lipids*, 105, **2000**, 31-42
- 22 X.-L. Sun, N. Biswas, T. Kai, Z. Dai, R. A. Dluhy, E. L. Chaikof; *Langmuir*, 22, **2006**, 1201-1208
- 23 B. A. Cornall, V. L. B. Braach-Maksvytis, L. G. King, P. D. J. Osman, B. Raguse, L. Wiczorek, R. J. Pace; *Nature*, 387, **1997**, 580-583
- 24 E. Antonopoulos, H.-J. Freisleben, G. Zimmer, U. Rothe, U. Bakowsky; *GIT Labor-Fachzeitschrift*, 7/1997, 687-680

- 25 D. Blöcher, R. Gutermann, B. Henkel, K. Ring; *Biochim. Biophys. Acta*, 778, **1984**, 74-80
- 26 P. Nuhn, G. Brezesinski, B. Dobner, G. Förster, M. Gutheil, H.-D. Dörfler; *Chem. Phys. Lipids*, 39, **1986**, 221-236
- 27 F. M. Menger, X. Y. Chen, S. Brocchini, H. P. Hopkins, D. Hamilton; *J. Am. Chem. Soc.*, 115, **1993**, 6600-6608
- 28 A. Gliozzi, G. Paoli, M. De Rosa, A. Gambacorta; *Biochim. Biophys. Acta*, 735, **1983**, 234-242
- 29 A. Gulik, V. Luzzati, M. De Rosa, A. Gambacorta; *J. Mol. Biol.*, 182, **1985**, 131-149
- 30 A. Gulik, V. Luzzati, M. De Rosa, A. Gambacorta; *J. Mol. Biol.*, 201, **1988**, 429-435
- 31 G. D. Sprott, D. L. Tolson, G. B. Patel; *FEMS Microbiol. Lett.*, 157, **1997**, 17-22
- 32 G. B. Patel, A. Ponce, H. Zhou, W. Chen; *Int. J. Toxicology*, 27, **2008**, 329-339
- 33 G. B. Patel, B. J. Agnew, L. Deschatelets, L. P. Fleming, G. D. Sprott; *Int. J. Pharm.*, 194, **2000**, 39-49
- 34 C. Kühl, B. Tewes, M. Hagen, F. Gropp, R. Littger, U. Marx; *PCT Int. Appl.*, **2002**, WO 02/053554
- 35 T. Benvegnu, G. Réthoré, M. Brard, W. Richter, D. Plusquellec; *Chem. Commun.*, **2005**, 5536-5538
- 36 G. Réthoré, T. Montier, T. Le Gall, P. Deléphine, S. Cammas-Marion, L. Lemiègre, P. Lehn, T. Benvegnu; *Chem. Commun.*, **2007**, 2054-2056
- 37 S. Denoyelle, A. Palidori, M. Brunelle, P. Y. Vuillaume, S. Laurent, Y. ElAzhary, B. Pucci; *New J. Chem.*, 30, **2006**, 629-646
- 38 E. L. Chang; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 202, **1994**, 673-679
- 39 D. A. Brown, B. Venegas, P. H. Cooke, V. English, P. L.-G. Chong; *Chem. Phys. Lipids*, 159, **2009**, 95-103
- 40 K. Yamauchi, Y. Yoshida, T. Moriya, K. Togawa, M. Kinoshita; *Biochim. Biophys. Acta*, 1193, **1994**, 41-47
- 41 H.-J. Freisleben, C. Neisser, M. Hartmann, P. Rudolph, P. Geck, K. Ring, W. E. G. Müller; *J. Liposome Res.*, 3, **1993**, 817-833
- 42 H.-J. Freisleben, J. Bormann, D. C. Litzinger, F. Lehr, P. Rudolph, W. Schatton, L. Huang; *J. Liposome Res.*, 5, **1995**, 215-223
- 43 J.-H. Fuhrhop, K. Ellermann, H. H. David, J. Mathieu; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 21, **1982**, 440-441
- 44 J.-H. Fuhrhop, H.-H. David, J. Mathieu, U. Liman, H.-J. Winter, E. Boekema; *J. Am. Chem. Soc.*, 108, **1986**, 1785-1791
- 45 K. Yamauchi, M. Hihara, M. Kinoshita, M. Watanabe, T. Kondo, S. Kuwahara; *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 62, **1989**, 969-971
- 46 K. Yamauchi, A. Moriya, M. Kinoshita; *Biochim. Biophys. Acta*, 1003, **1989**, 151-160

- 47 K. Yamauchi, Y Sakamoto, A. Moriya, K. Yamada, T. Hosokawa, T. Higuchi, M. Kinoshita; *J. Am. Chem. Soc.*, 112, **1990**, 3188-3191
- 48 T. Eguchi, H. Kano, K. Kakinuma; *Chem. Commun.*, **1996**, 365-366
- 49 T. Eguchi, K. Ibaragi, K. Kakinuma; *J. Org. Chem.*, 63, **1998**, 2689-2698
- 50 K. Arakawa, T. Eguchi, K. Kakinuma; *J. Org. Chem.*, 63, **1998**, 4741-4745
- 51 T. Eguchi, K. Arakawa, K. Kakinuma, G. Rapp, S. Gosh, Y. Nakatani, G. Ourisson; *Chem. Eur. J.*, 6, **2000**, 3351-3358
- 52 J.- M. Kim, D. H. Thompson; *Langmuir*, 8, **1992**, 637-644
- 53 W. Febo-Ayala, S. L. Morera-Félix, C. A. Hrycyna, D. H. Thompson; *Biochemistry*, 46, **2006**, 14683-14694
- 54 J.- M. Kim, A. Patwardhan, A. Bott, D. H. Thompson; *Biochim. Biophys. Acta*, 1617, **2003**, 10-21
- 55 M. Brard, C. Lainé, G. Réthoré, I. Laurant, C. Neveu, L. Lemiègre, T. Benvegnu; *J. Org. Chem.*, 72, **2007**, 8267-8279
- 56 U. F. Heiser, R. Wolf, B. Dobner; *Chem. Phys. Lipids*, 90, **1997**, 25-30
- 57 S. Drescher, A. Meister, A. Blume, G. Karlsson, M. Almgren, B. Dobner; *Chem. Eur. J.*, 13, **2007**, 5300-5307
- 58 S. Drescher, G. Graf, G. Hause, B. Dobner, A. Meister; *Biophys. Chem.*, 150, **2010**, 136-143
- 59 F. M. Menger, X. Y. Chen; *Tetrahedron Lett.*, 37, **1996**, 323-326
- 60 C. Kühn, R. Littger; *PCT Int. Appl.*, **2003**, WO 03/064360 A1
- 61 S. Grinberg, V. Kolot, C. Linder, E. Shaubi, V. Kas'yanov, D. J. Deckelbaum, E. Heldman; *Chem. Phys. Lipids*, 153, **2008**, 85-97
- 62 J.-H. Fuhrhop, T. Wang; *Chem. Rev.*, 104, **2004**, 2901-2937
- 63 T. Benvegnu, M. Brard, D. Plusquellec; *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 8, **2004**, 469-479
- 64 A. Meister, A. Blume; *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 12, **2007**, 138-147
- 65 Y. Yan, T. Lu, J. Huang; *J. Colloid Interf. Sci.*, 337, **2009**, 1-10
- 66 K. Yamauchi, K. Doi, M. Kinoshita, F. Kii, H. Fukuda; *Biochim. Biophys. Acta*, 1110, **1992**, 171-177
- 67 K. Yamauchi, K. Doi, Y. Yoshida, M. Kinoshita; *Biochim. Biophys. Acta*; 1146, **1993**, 178-182
- 68 F. M. Menger, M. G. Wood Jr., Q. Z. Zhou, H. P. Hopkins, J. Fumero; *J. Am. Chem. Soc.*, 110, **1988**, 6804-6810
- 69 U. F. Heiser; *Dissertation*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **1998**
- 70 T. Reihls; *Dissertation*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **2002**
- 71 P. L. Creger; *J. Am. Chem. Soc.*, 92, **1970**, 1397-1398
- 72 J.-L. Hérisson, Y. Chavin; *Makromolekulare Chemie*, 141, **1971**, 161-176
- 73 J. Peanasky, H. M. Scheider, S. Granick, C. R. Kessel; *Langmuir*, 11, **1995**, 953-962

- 74 U. F. Heiser, B. Dobner; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 809-815
- 75 M. Miyashita, A. Yoshikoshi, P. A. Greco; *J. Org. Chem.*, **42**, **1977**, 3772-3774
- 76 M. Tamura, J. Kochi; *Synthesis*, **1971**, 303-305
- 77 M. Schwarz, J. E. Oliver, P. E. Sonnet; *J. Org. Chem.*, **40**, **1975**, 2410-2411
- 78 D. F. Taber, K. J. Frankowski; *J. Org. Chem.*, **70**, **2005**, 6417-6421
- 79 E. Gomar-Nadal, C. Rovira, D. B. Amabilino; *Tetrahedron*, **62**, **2006**, 3370-3379
- 80 V. Dimitrov, K. Kostova, M. Hesse; *Tetrahedron-Asymmet.*, **5**, **1994**, 1891-1894
- 81 P. S. Bailey; *Chem. Rev.*, **58**, **1958**, 925-1010
- 82 P. S. Bailey; *J. Org. Chem.*, **22**, **1957**, 1548-1551
- 83 *Organikum*, Autorenkollektiv, Wiley-VCH-Verlag Weinheim, 21. Auflage,
- 84 F. Salmon-Legagneur, C. Neveu; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1965**, 2270-2275  
**2001**, 568-570
- 85 B. Dobner; *Dissertation B*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **1990**
- 86 F. Ziethe; *Dissertation*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **2002**
- 87 A. Ichihara, M. Ubukata, S. Sakamura; *Tetrahedron Lett.*, **39**, **1977**, 3473-3476
- 88 H. Eibl; *Angew. Chemie*, **96**, **1984**, 247-262
- 89 H. Prinz, L. Six, K.-P. Rueß, M. Liefländer; *Liebigs Ann. Chem.*, **1985**, 217-225
- 90 F. Bauer, K.-P. Rueß, M. Liefländer; *Liebigs Ann. Chem.*, **1992**, 47-50
- 91 A. Eidam; *Dipomarbeit*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **2001**
- 92 A. Hermetter, P. Paltauf; *Chem. Phys. Lipids*, **29**, **1981**, 191-195
- 93 B. Dobner; Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, *persönliche Mitteilung*
- 94 M. Schuster, S. Blechert; *Angew. Chemie*, **109**, **1997**, 2124-2144
- 95 R. R. Schrock; *Acc. Chem. Res.*, **23**, **1990**, 158-165
- 96 S. L. Aeilts, D. R. Cefalo, P. J. Bonitatebus Jr., J. H. Hauser, A. H. Hoveyda, R. R. Schrock; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, **2001**, 1452-1456
- 97 P. Schwab, M. B. France, J. W. Ziller, R. H. Grubbs; *Angew. Chemie*, **107**, **1995**, 2179-2181
- 98 D. Astruc; *New. J. Chem.*, **29**, **2005**, 42-56
- 99 R. Hirt, R. Berhtold; *Pharm. Acta Helv.*, **33**, **1958**, 349-356
- 100 H. Eibl, A. Nicksch; *Ger. Offen.*, **1973**, 2345 059
- 101 S. Drescher; *Dissertation*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **2008**
- 102 H. Eibl; *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, **1978**, 4074-4077
- 103 J.-H. Fuhrhop, J. Mathieu; *Chem. Commun.*, **1983**, 144-145
- 104 M. Masuda, T. Shimizu; *Chem. Commun.*, **2001**, 2442-2443
- 105 M. Masuda, T. Shimizu; *Langmuir*, **20**, **2004**, 5969-5977
- 106 N. Kameta, M. Masuda, H. Minamikawa, T. Shimizu; *Langmuir*, **23**, **2007**, 4634-4641
- 107 N. Kameta, K. Yoshida, M. Masuda, T. Shimizu; *Chem. Mater.*, **21**, **2009**, 5892-5898

- 108 G. Lecollinet, A. Gulik, G. Mackenzie, J. W. Goodby, T. Benvegno, D. Plusquellec; *Chem. Eur. J.*, 8, **2002**, 585-593
- 109 M. Berchel, L. Lemiègre, J. Jeftic, T. Benvegno; *Tetrahedron Lett.*, 49, **2008**, 4690-4692
- 110 M. Berchel, L. Lemiègre, S. Trépout, O. Lambert, J. Jeftic, T. Benvegno; *Tetrahedron Lett.*, 49, **2008**, 7419-7422
- 111 C. Lainé, E. Mornet, L. Lemiègre, T. Montier, S. Cammas-Marion, C. Neveu, N. Carmoy, P. Lehn, T. Benvegno; *Chem. Eur. J.*, 14, **2008**, 8330-8340
- 112 M. Halter, Y. Nogata, O. Dannenberger, T. Sasaki, V. Vogel; *Langmuir*, 20, **2004**, 2416-2423
- 113 T. Kai, X.-L. Sun, K. M. Faucher, R. P. Apkarian, E. L. Chaikof; *J. Org. Chem.*, 70, **2005**, 2606-2615
- 114 H. C. Brown, E. F. Knights, C. G. Scouten; *J. Am. Chem. Soc.*, 96, **1974**, 7765-7770
- 115 T. Benvegno, L. Lemiègre, S. Cammas-Marion; *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 4725-4744
- 116 K. Köhler, G. Förster, A. Hauser, B. Dobner, U. F. Heiser, F. Ziethe, W. Richter, F. Steininger, M. Drechsler, H. Stettin, A. Blume; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43, **2004**, 245-247
- 117 D. J. Cundy, P. A. Gurr; *Organic Prep. Proc. Int.*, 32, **2000**, 461-468
- 118 K. Mori, M. Ohki, A. Sato, M. Matsui; *Tetrahedron*, 28, **1972**, 3739-3745
- 119 S. Czernecki, C. Georgoulis, C. Provelenghiou; *Tetrahedron Lett.*, 39, **1976**, 3535-3536
- 120 W. J. Baumann, H. K. Mangold; *J. Org. Chem.*, 29, **1964**, 3055-3057
- 121 A. Shenvi, H. Gerlach; *Helv. Chim. Acta*, 63, **1980**, 2426-2433
- 122 C. I. Schulze, *Dissertation*, **2006**, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 108-109
- 123 M. Vaultier, N. Knouzi, R. Carrié; *Tetrahedron Lett.*, 24, **1983**, 763-764
- 124 C. H. Heatcock, R. Radcliffe; *J. Am. Chem. Soc.*, 93, **1971**, 1746-1757
- 125 D. M. Small; *J. of the American Oil Chemist's Society*; 45, **1968**, 108-119
- 126 L. N. Israelachvili; *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press Limited, London, 2. ed., H. B. Jovanovich, Ed., **1994**
- 127 G. Cevc; *Phospholipids handbook*, Marcel Decker Inc., New York, **1993**
- 128 D. Marsh; *CRS-Handbook of lipid bilayers*, CRS Press, **1990**, 136 u. 149
- 129 J.-H. Fuhrhop, D. Fritsch; *Acc. Chem. Res.*, 19, **1986**, 130-137
- 130 A. D. Bangham, M. M. Standish, J. C. Watkins; *J. Mol. Biol.*, 13, **1965**, 238-252
- 131 R. Nitzsche; *CLB Chemie in Labors und Biotechnik*, 48, **1997**, 422-427
- 132 K. Ohki, K. Tamura, I. Hatta; *Biochim. Biophys. Acta*, 1028, **1990**, 215-222
- 133 I. Zimmermann; *Dissertation*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **1997**
- 134 H. Hauser; *Chimia*, 39, **1985**, 252-264

- 135 G. Förster, A. Meister, A. Blume; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2, **2000**, 4503-4508
- 136 G. Förster, A. Meister, A. Blume; *Curr. Opin. Colloid Interface Sci*, 6, **2001**, 294-302
- 137 A. Tardieu, V. Luzzati; *J. Mol. Biol.*, 75, **1973**, 711-733
- 138 D. C. Wack, W. W. Webb; *Physical Review A*, 40, **1989**, 2712-2730
- 139 E. Mutschler, G. Geisslinger, Heyo K. Kroemer, M. Schäfer-Korting; *Mutschler Arzneimittelwirkungen*, WVG Stuttgart, 8., völlig neu bearbeitete Auflage, **2001**, 109
- 140 W. Müller-Esterl; *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag München, **2004**, 330-331
- 141 A. D. Miller, *Angew. Chemie*, 110, **1998**, 1862-1880
- 142 V. Gieselmann, *Naturwiss. Rundschau*, 10, **2001**, 513-518
- 143 G. J. Nabel; *Nat. Med.*, 10, **2004**, 135-141
- 144 S. Zhang, Y. Xu, B. Wang, W. Qiao; *J. Control Release*, 100, **2004**, 165-180
- 145 H. Lv, S. Zhang, B. Wang, S. Cui, J. Yan; *J. Control Release*, 114, **2006**, 100-109
- 146 A. Pathak, S. Patniak, K. C. Gupta; *Biotechnol. J.*, 4, **2009**, 1559-1572
- 147 P. L. Felgner, G.M. Ringold; *Nature*, 337, **1989**, 387-388
- 148 S. Bhattacharya, A. Bajaj; *Chem. Commun.*, **2009**, 4632-4656
- 149 S. May, A. Ben-Shaul; *Curr. Med. Chem.*, 11, **2004**, 151-167
- 150 B. Ma, S. Zhang, H. Jiang, B. Zhao, H. Lv; *J. Control Release*, 123, **2007**, 184-194
- 151 N. Jain, Y. Arntz, V. Goldschmidt, G. Duportail, Y. Mély, A. S. Klymchenko; *Bioconjugate Chem.*, 21, **2010**, 2110-2118
- 152 M. Heinze, G. Brezesinski, B. Dobner, A. Langner; *Bioconjugate Chem.*, 21, **2010**, 696-708
- 153 R. R. New; *Liposomes: a practical approach*, Oxford Univ. Press, **1994**
- 154 T. Mosmann; *J. Immunol. Methods*, **1983**, 55-63
- 155 www.invitrogen.com 27.07.2010 17:05  
[http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/lipofectamine\\_man.pdf](http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/lipofectamine_man.pdf)  
[http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/lipofectin\\_man.pdf](http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/lipofectin_man.pdf)
- 156 P. Pinnaduwege, L. Schmitt, L. Huang; *Biochem. Biophys. Acta*, 985, **1989**, 33-37
- 157 I. S. Zuhorn, V. Oberle, W. H. Visser, J. B. F. N. Engberts, U. Bakowsky, E. Polushkin, D. Hoekstra; *Biophys. J.*, 83, **2002**, 2096-2108
- 158 I. Koltover, T. Salditt, J. O. Rädler, C. R. Safinya; *Science*, 281, **1998**, 78-81
- 159 D. Simberg, D. Danino, Y. Talmon, A. Minsky, M. E. Ferrari, C. J. Wheeler, Y. Barenholz; *J. Biol. Chem.*, 276, **2001**, 47453-47459
- 160 I. S. Zuhorn, U. Bakowsky, E. Polushkin, W. H. Visser, M. C. A. Stuart, J. B. F. N. Engberts, D. Hoekstra; *Mol. Ther.*, 11, **2005**, 801-810
- 161 P. Goyal, K. Goyal, S. G. V. Kumar, A. Singh, O. P. Katare, D. N. Mishra; *Acta Pharm.*, 55, **2005**, 1-25
- 162 A. Chonn, P. R. Cullis; *Curr. Opin. in Biotechnol.*, 6, **1995**, 698-708

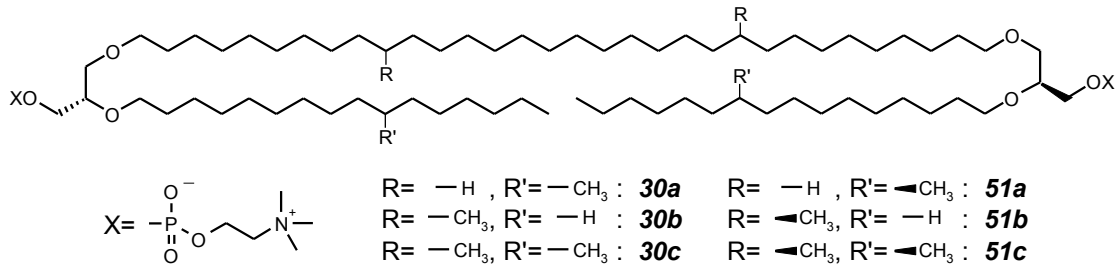
- 163 V. P. Torchilin; *Nat. Rev. Drug Discov.*, 4, **2005**, 145-160
- 164 *United States Pharmacopeia 32/ NF 27*, **2009**, 3194-3195
- 165 J. N. Weinstein, S. Yoshimaki, P. Henkart, R. Blumenthal, W. A. Hagins; *Science*, 195, **1977**, 489-492
- 166 R. Schubert, K.-H. Schmidt; *Biochemistry*, 27, **1988**, 8787-8794
- 167 Y. Aramaki, H. Tomizawa, T. Hara, K. Yachi, H. Kikuchi, S. Tsuchiya; *Pharmaceutical Research*, 10, **1993**, 1228-1231
- 168 J. Parmentier, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, *persönliche Mitteilung*
- 169 *Organikum*, Autorenkollektiv, Wiley-VCH-Verlag Weinheim, 21. Auflage, **2001**, 741-762
- 170 H. Jatzkewitz, E. Mehl; *Z. Physiol. Chem.*, 320, **1961**, 251-257
- 171 A. Blume; *Biochemistry*, 22, **1983**, 5436-5442
- 172 Th. Markowski; Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **2008**
- 173 A. Grube, Ch. Timm, M. Köck; *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 1285-1295
- 174 K. Hatamo, K. Ito, T. Ido; *J. Labelled Cpd. Radiopharm*, 42, **1999**, 245-253



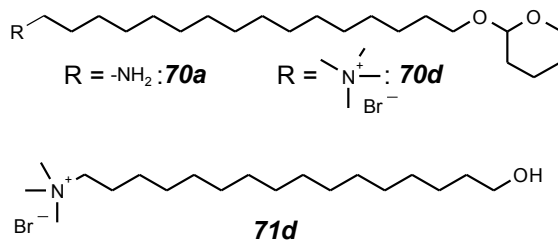
## 5 ANHANG

### 5.1 Übersicht der getesteten Bolalipide

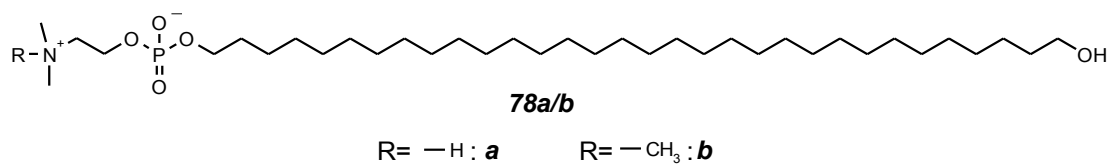
#### Symmetrische, methylverzweigte Bis(phosphocholine)



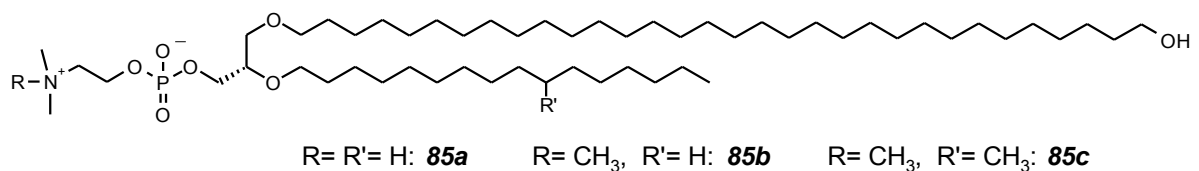
#### Unsymmetrische Bolaamphiphile zur Gentransfektion



#### Unsymmetrische, einkettige Phosphocholinderivate



#### Unsymmetrische, zweikettige Phosphocholinderivate



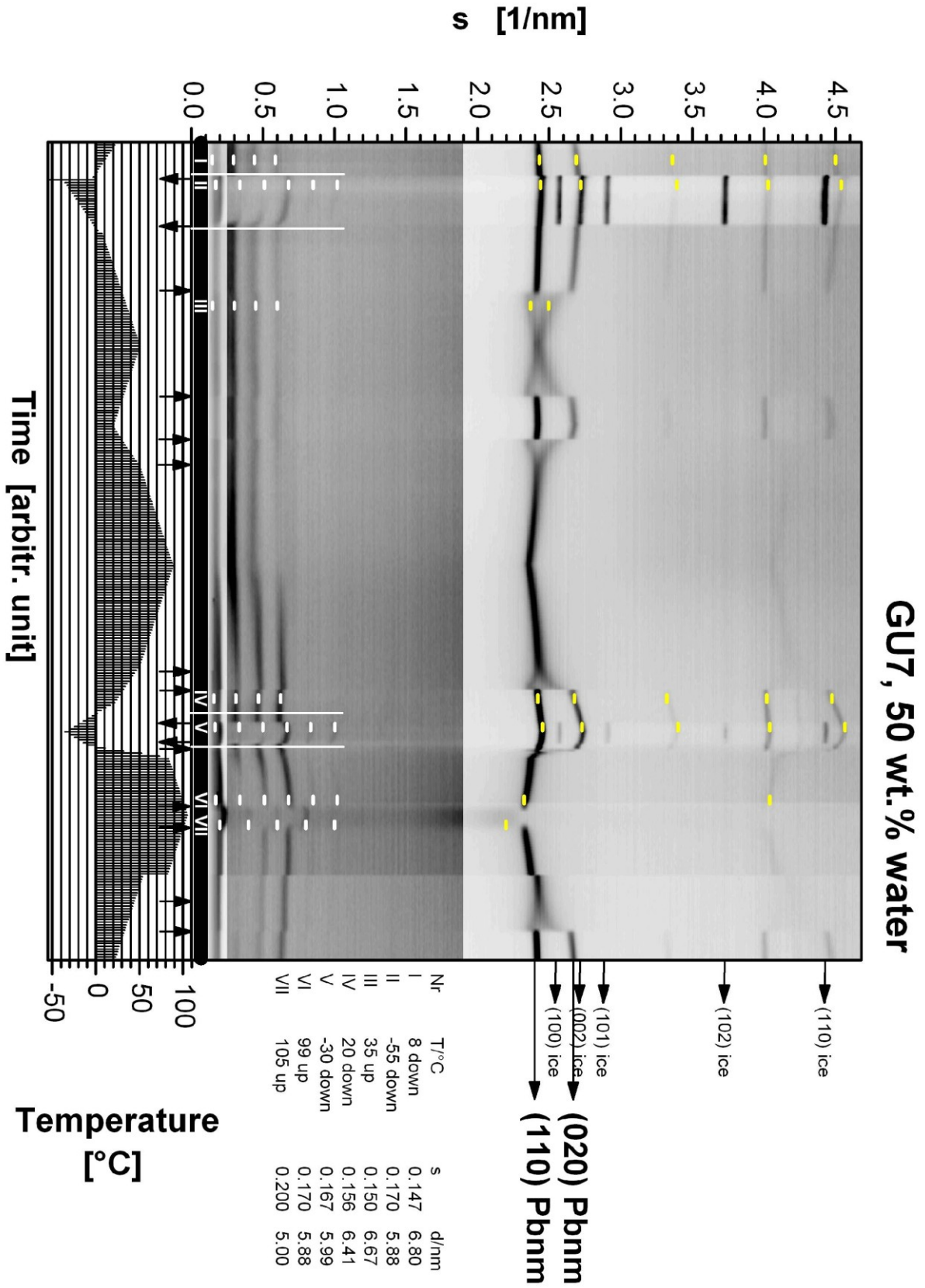
## 5.2 Testungsdaten

### 5.2.1 Physiko-chemische Untersuchungen

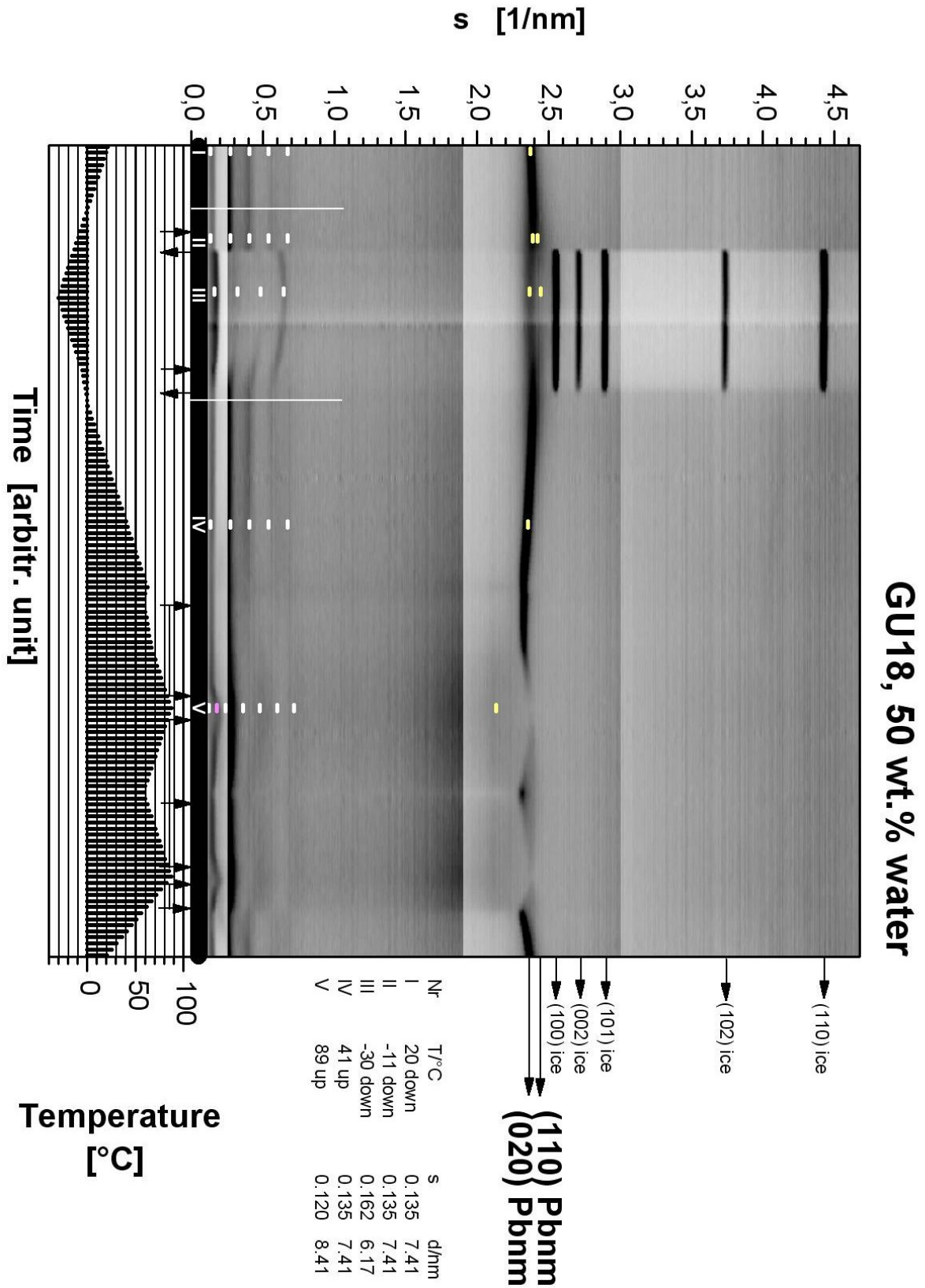
#### PCS-Messungen der Liposomenpräparationen

Verbindung	z-Average in nm		PDI	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
<b>30a</b>	111,3	0,6	0,09	0,01
<b>30b</b>	105,0	0,0	0,08	0,02
<b>30c</b>	97,7	1,2	0,10	0,03
<b>51a</b>	99,4	0,5	0,11	0,01
<b>51b</b>	108,7	1,5	0,06	0,02
<b>51c</b>	114,0	1,0	0,21	0,02
<b>85b</b>	714,7	135,1	0,56	0,06
<b>85c</b>	383,3	20,0	0,51	0,02

**Kontur-Plot der Röntgensteuungs-Experimente von 2-O-Hexadecyl-3-O-(32-hydroxydotriacontanyl)-sn-glycer-1-yl]-2-(trimethylammonio)ethylphosphat 85b**



**Kontur-Plot der Röntgensteuungs-Experimente von {2-O-[(10*RS*)-10-Methylhexadecyl]-3-O-(32-hydroxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat 85*c***



## 5.2.2 Liposomale Gentransfektion

### Unsymmetrische Bolaamphiphile als Cytofektine

Formulierung (n/n)	Aktivität $_{\beta\text{-Gal}}$ /m $_{\text{Protein}}$ in $\mu\text{E}/\mu\text{g}$		Viabilität in %	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
<b>70a</b> /Chol 1:1 (N/P = 1,75)	9,3	4,9	79,58	3,71
<b>70d</b> /DOPE 1:1 (N/P = 2)	8,2	8,2	72,45	3,13
<b>70d</b> /Chol 1:1 (N/P = 2)	54,1	5,5	62,23	11,22
<b>71d</b> /DOPE 1:1 (N/P = 1,5)	3,2	4,4	70,14	3,94
<i>Lipofectin</i> <sup>®</sup>	394,8	112,0	78,19	3,71
<i>Lipofectamine</i> <sup>™</sup>	386,3	170,2	84,24	13,41

### Symmetrische Bolaamphiphile als Helferlipide

Formulierung (n/n/n)	Aktivität $_{\beta\text{-Gal}}$ /m $_{\text{Protein}}$ in $\mu\text{E}/\mu\text{g}$		Viabilität in %	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
<b>T14diLys</b> /DOPE 1:2 (N/P = 3,5)	2107	569	77,29	15,69
<b>T14diLys</b> /DOPE/ <b>30a</b> 1:2:0,1 (N/P = 3,5)	1785	739	71,81	17,15
<b>T14diLys</b> /DOPE/ <b>30a</b> 1:2:0,5 (N/P = 3,5)	1189	765	89,20	8,68
<b>T14diLys</b> /DOPE/ <b>30a</b> 1:2:1 (N/P = 3,5)	31	59	95,19	13,19
<i>Lipofectamine</i> <sup>™</sup>	525	91	94,11	6,26

### 5.2.3 In-vitro-Stabilität von Liposomen

#### EPC/30a/Chol 1:2:1 (n/n/n)

Zeit in min	CF-Freisetzung in %					
	Pankreatin		pH 2		Na-Taurocholat	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
2	0,07	0,13	29,90	2,43	93,16	0,73
5					93,26	0,74
10	0,66	0,24	76,93	0,23	93,58	0,68
30	1,75	0,35	86,05	0,67	92,85	0,72
60	2,59	0,36	88,80	0,57		
90	2,85	0,33			91,62	0,80

#### EPC/30c/Chol 4:1:6 (n/n/n)

Zeit in min	CF-Freisetzung in %					
	Pankreatin		pH 2		Na-Taurocholat	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
2	0,20	0,37	15,78	0,31	76,02	1,90
5					86,6	1,38
10	1,44	0,43	68,79	0,75	89,69	1,48
30	3,22	0,52	89,41	0,93	90,27	0,89
60	4,41	0,61	91,23	0,91		
90	4,80	0,65			90,73	0,43

#### EPC/85b/Chol 2:1:3 (n/n/n)

Zeit in min	CF-Freisetzung in %					
	Pankreatin		pH 2		Na-Taurocholat	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
2	0,48	0,36	41,03	18,32	20,27	8,26
5					30,63	11,34
10	2,49	1,00	94,78	3,61	46,75	16,48
30	4,96	1,26	97,24	2,57	62,55	20,61
60	6,76	1,69	96,73	2,95		
90	7,58	1,93			70,83	20,77

**EPC/85c/Chol 4:1:6 (n/n/n)**

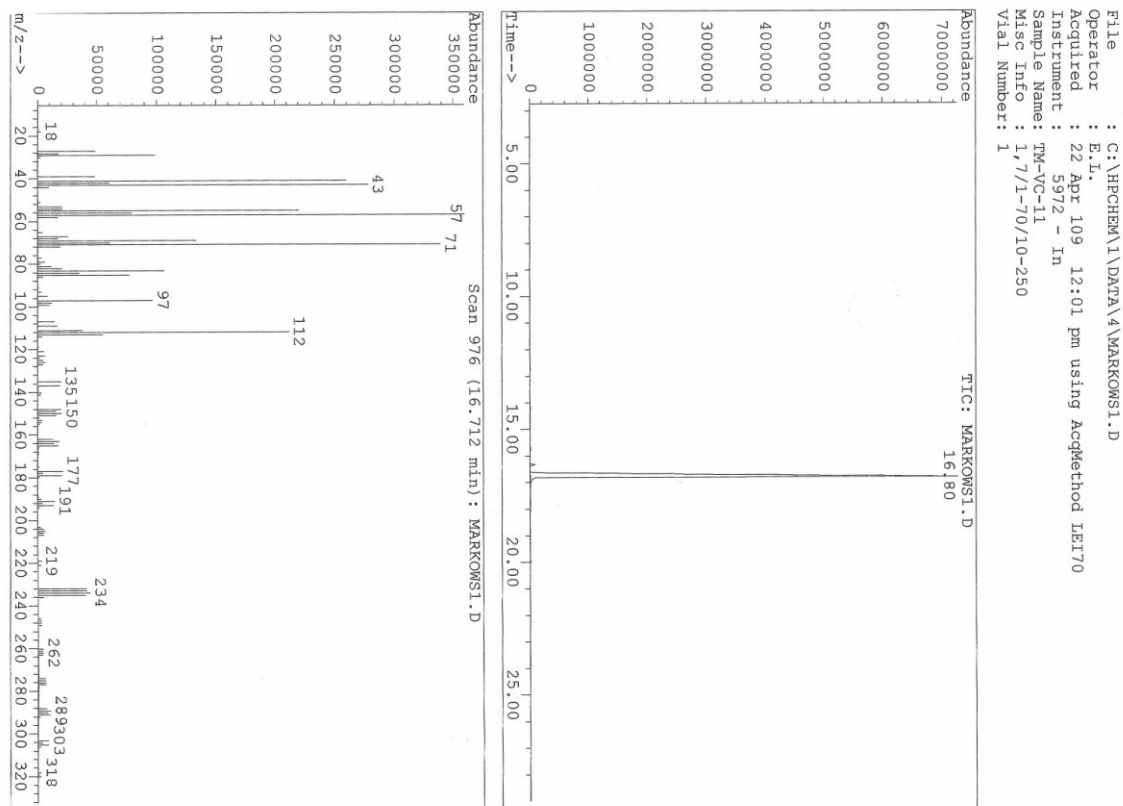
Zeit in min	CF-Freisetzung in %					
	Pankreatin		pH 2		Na-Taurocholat	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
2	0,79	0,13	9,24	1,74	5,45	1,29
5					7,44	2,44
10	2,09	0,07	49,44	5,57	17,52	9,59
30	4,11	0,43	82,29	3,34	48,36	27,04
60	5,70	0,87	87,71	2,38		
90	6,39	0,74			66,35	37,75

**EPC/Chol 1:1 (n/n)**

Zeit in min	CF-Freisetzung in %					
	Pankreatin		pH 2		Na-Taurocholat	
	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$	$\bar{x}$	$s$
2	0,74	0,16	49,16	8,29	61,56	2,05
5					76,09	4,38
10	2,96	0,34	82,00	2,97	84,32	3,16
30	5,91	0,26	89,70	0,67	88,61	1,63
60	8,47	0,38	90,68	1,30		
90	9,93	0,45			90,16	0,50

## 5.3 Spektren ausgewählter Verbindungen

### (10*R*)-1-Brom-10-methylhexadecan 44

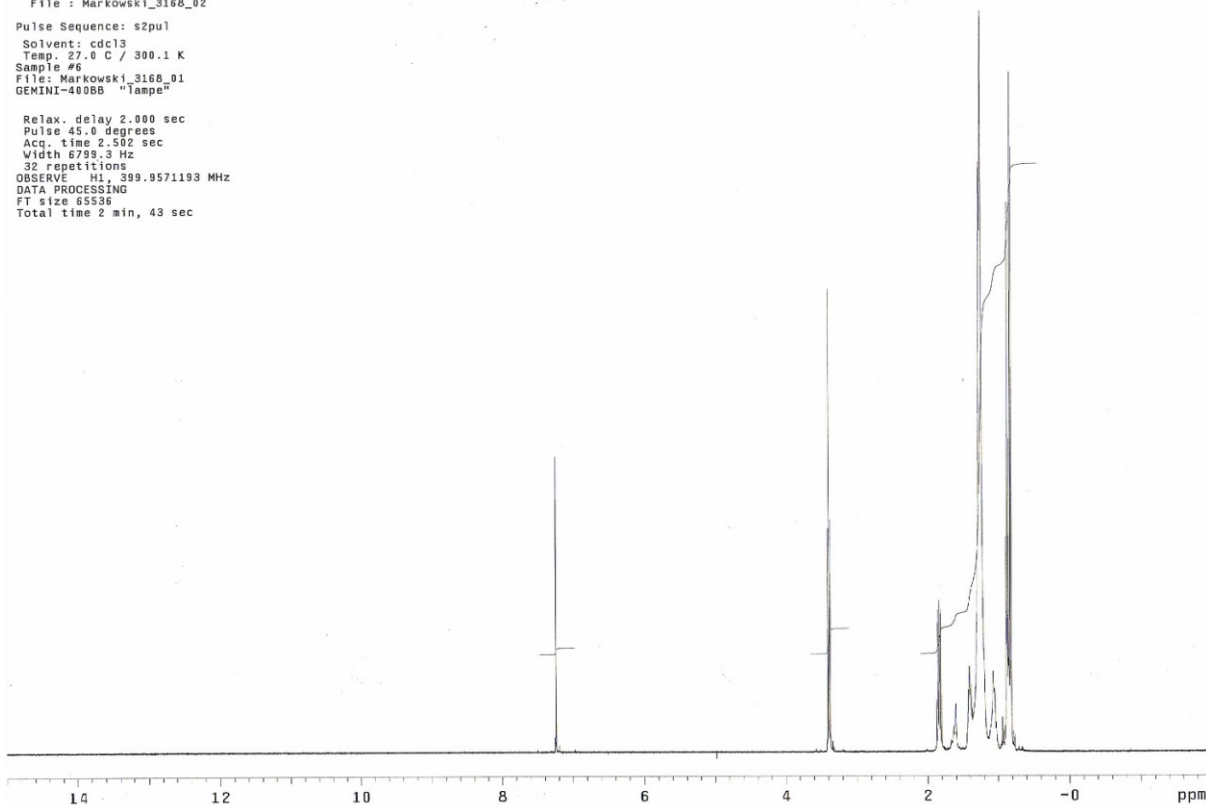


Markowski\_3168\_TM-VC-11 Markowski\_3168\_TM-VC-11 Markowski\_3168\_TM-VC-11 Markowski\_3168\_TM-VC-11

Automation directory: /export/home/vnmr1/auto/rt4/15  
 File: Markowski\_3168\_02

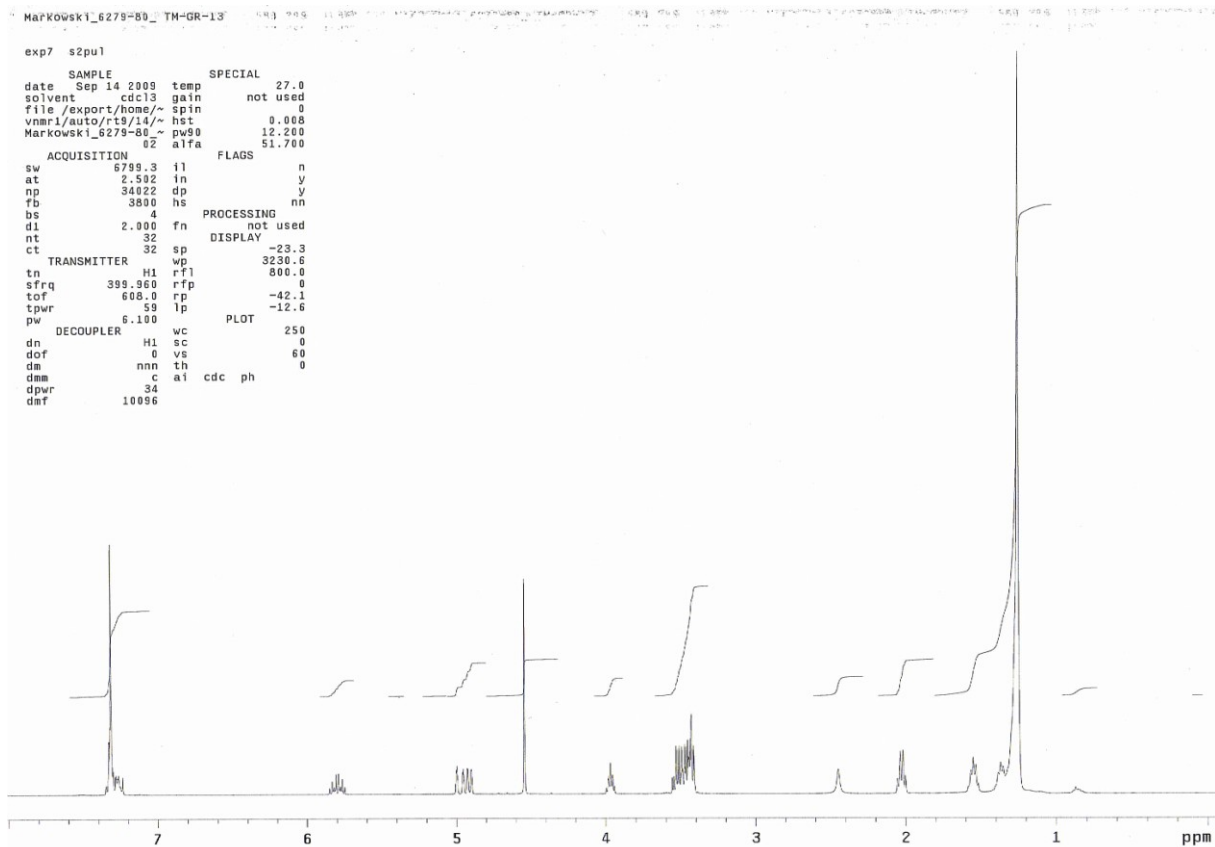
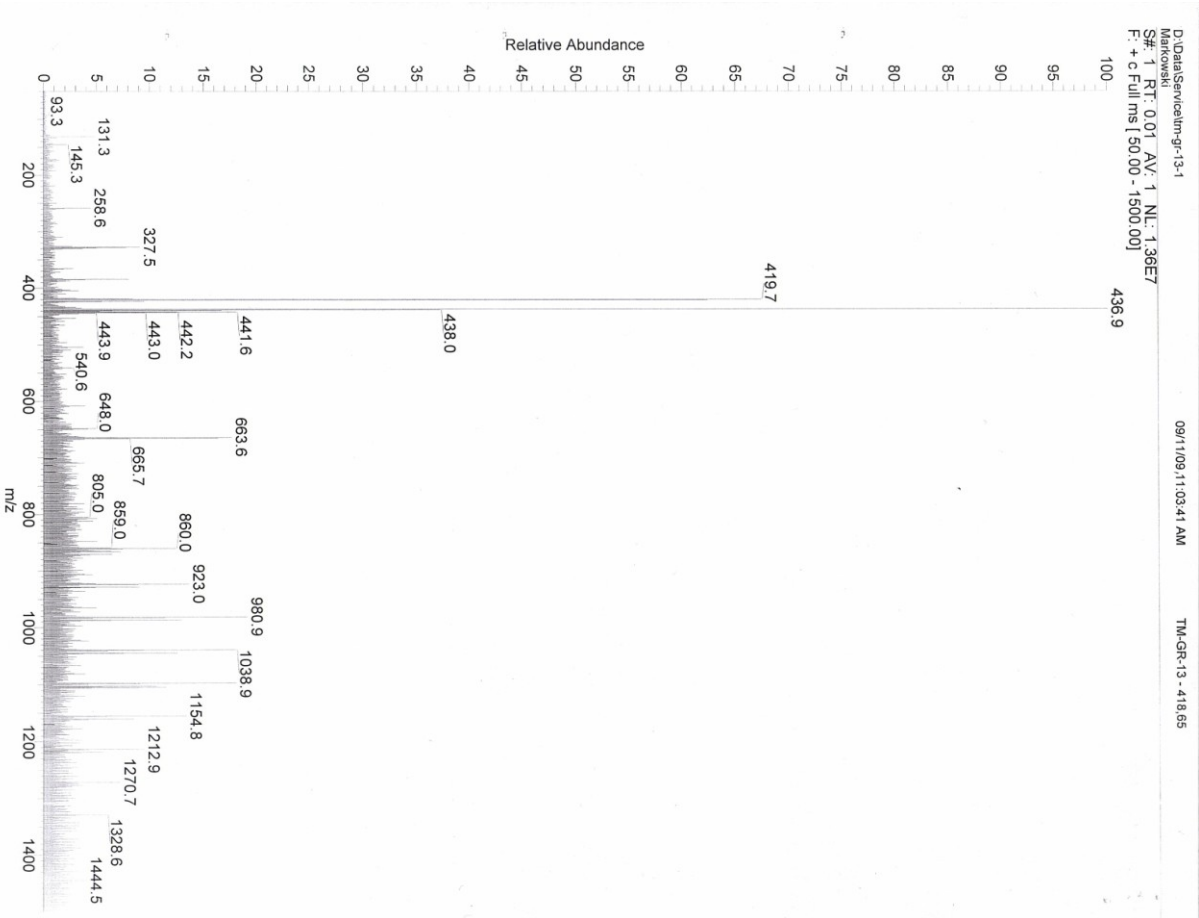
Pulse Sequence: s2pu1  
 Solvent: cdcl3  
 Temp: 27.0 C / 300.1 K  
 Sample #6  
 File: Markowski\_3168\_01  
 GEMINI-400BB "Tampe"

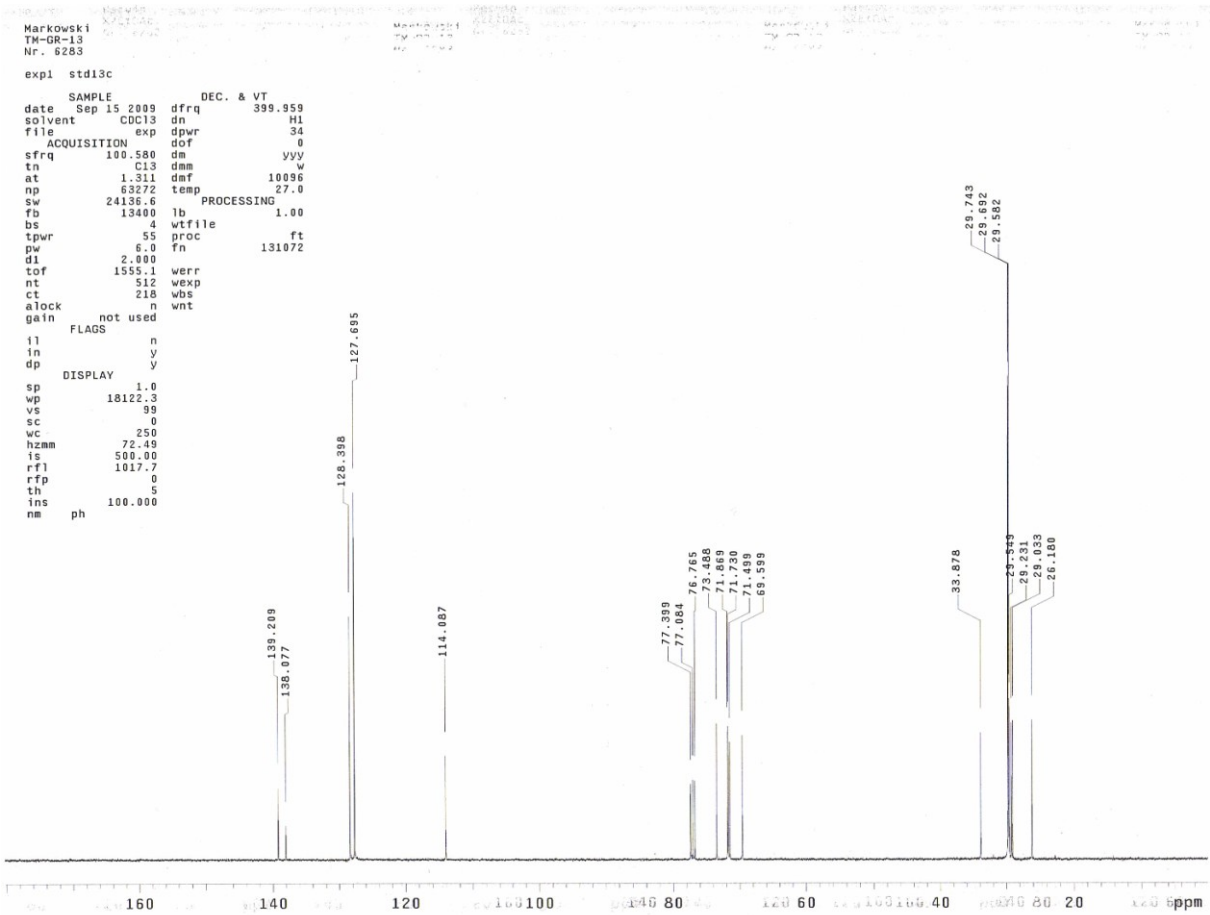
Relax. delay 2.000 sec  
 Pulse 45.0 degrees  
 Acq. time 2.502 sec  
 Width 6799.3 Hz  
 32 repetitions  
 OBSERVE H1, 399.9571193 MHz  
 DATA PROCESSING  
 FT size 65536  
 Total time 2 min, 43 sec

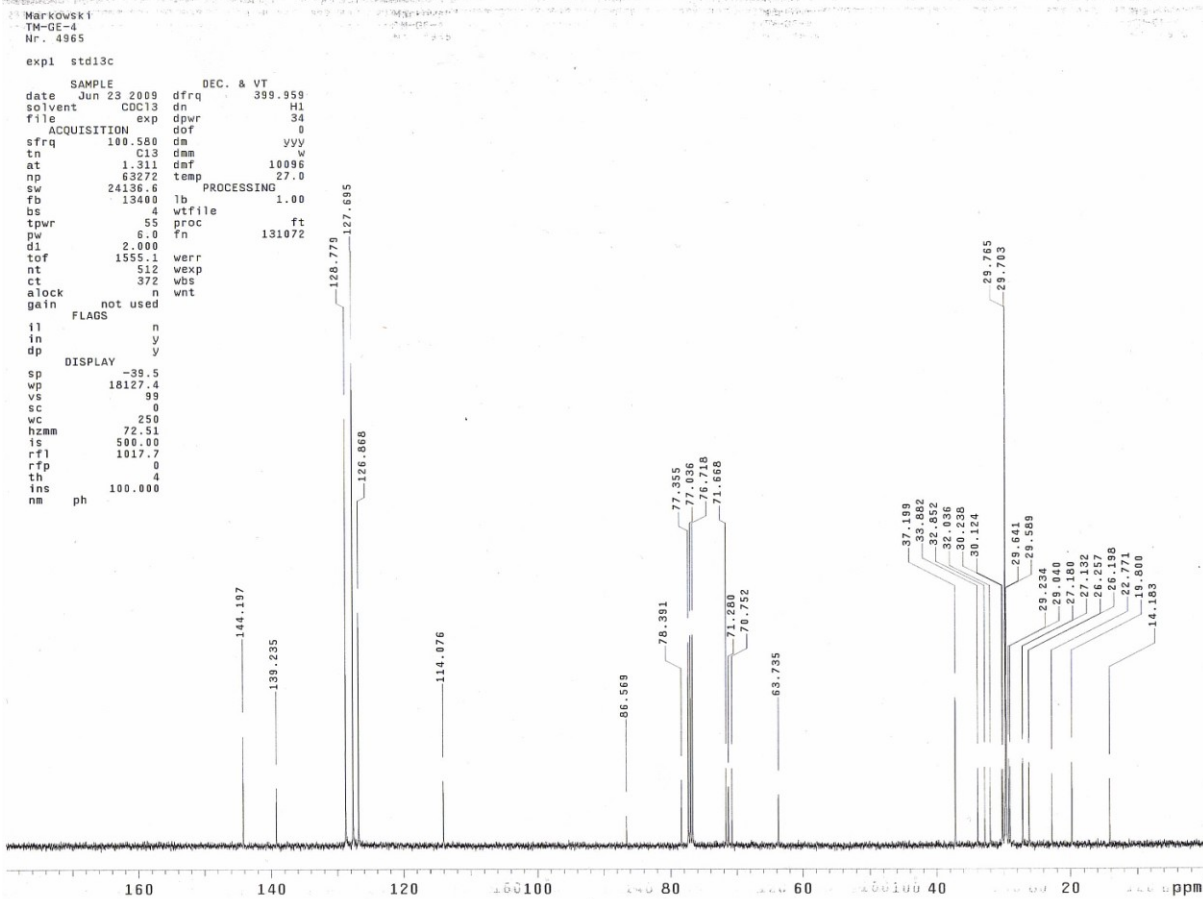
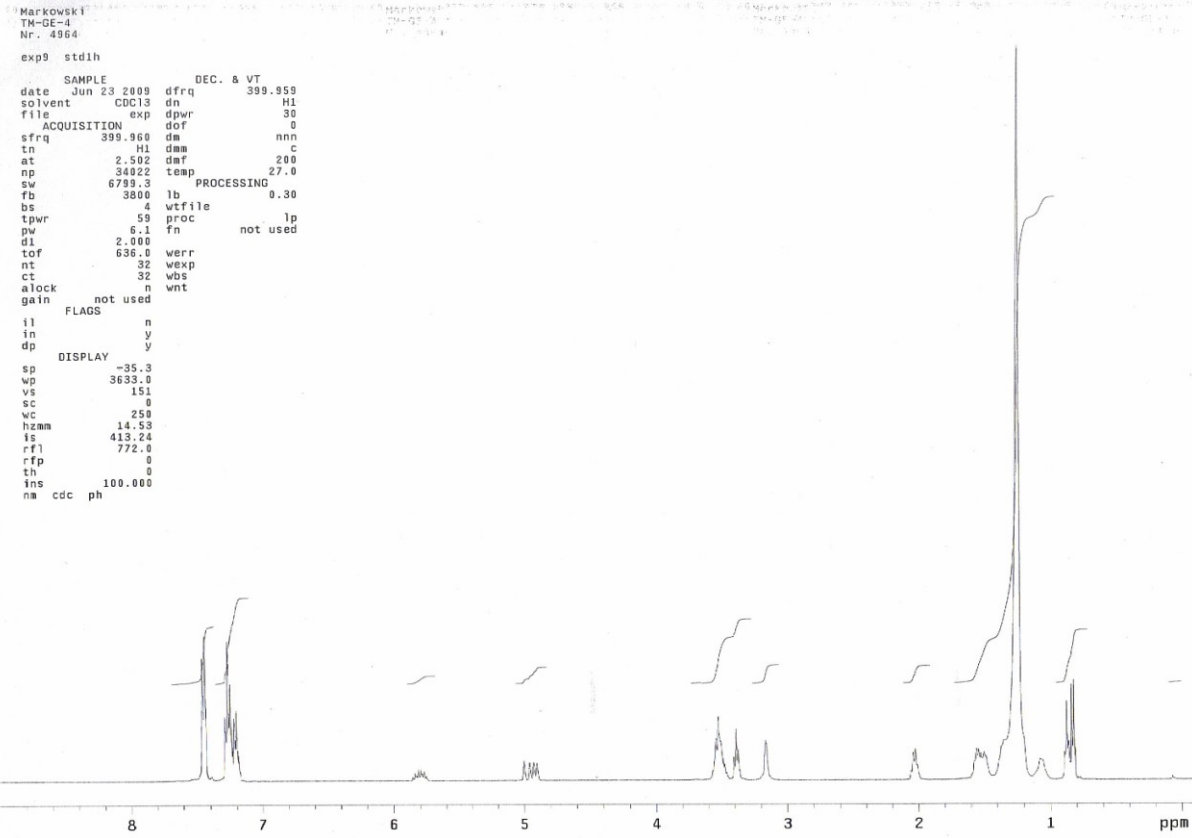




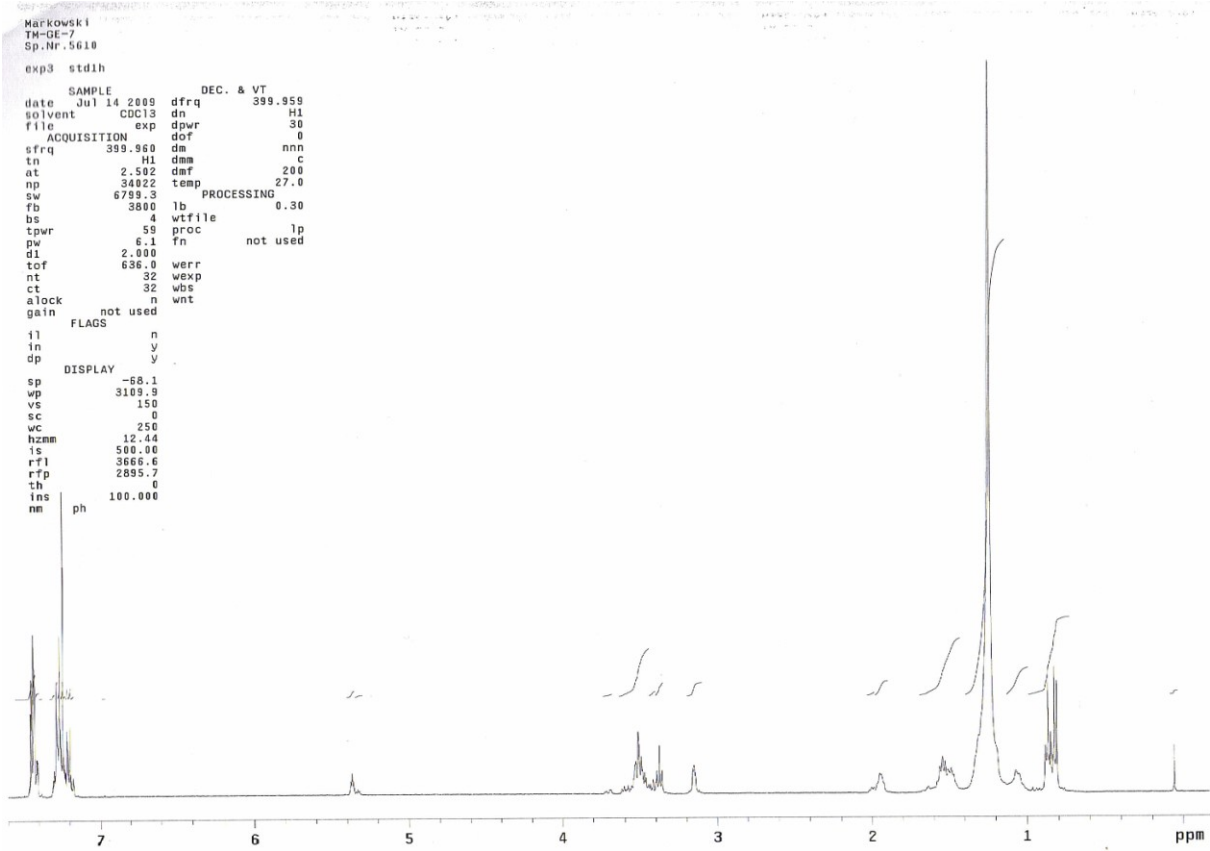
1-O-Benzyl-3-O-(heptadec-16-enyl)-sn-glycerol 26a



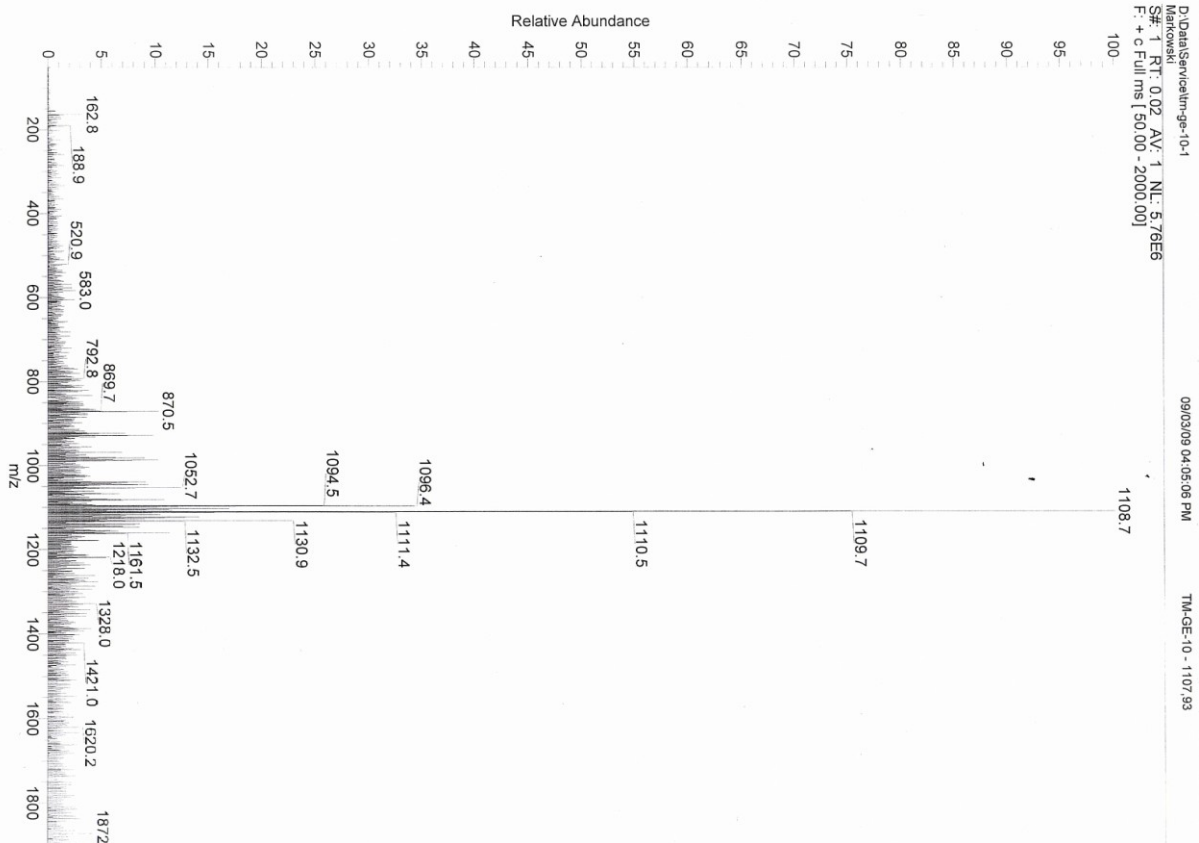


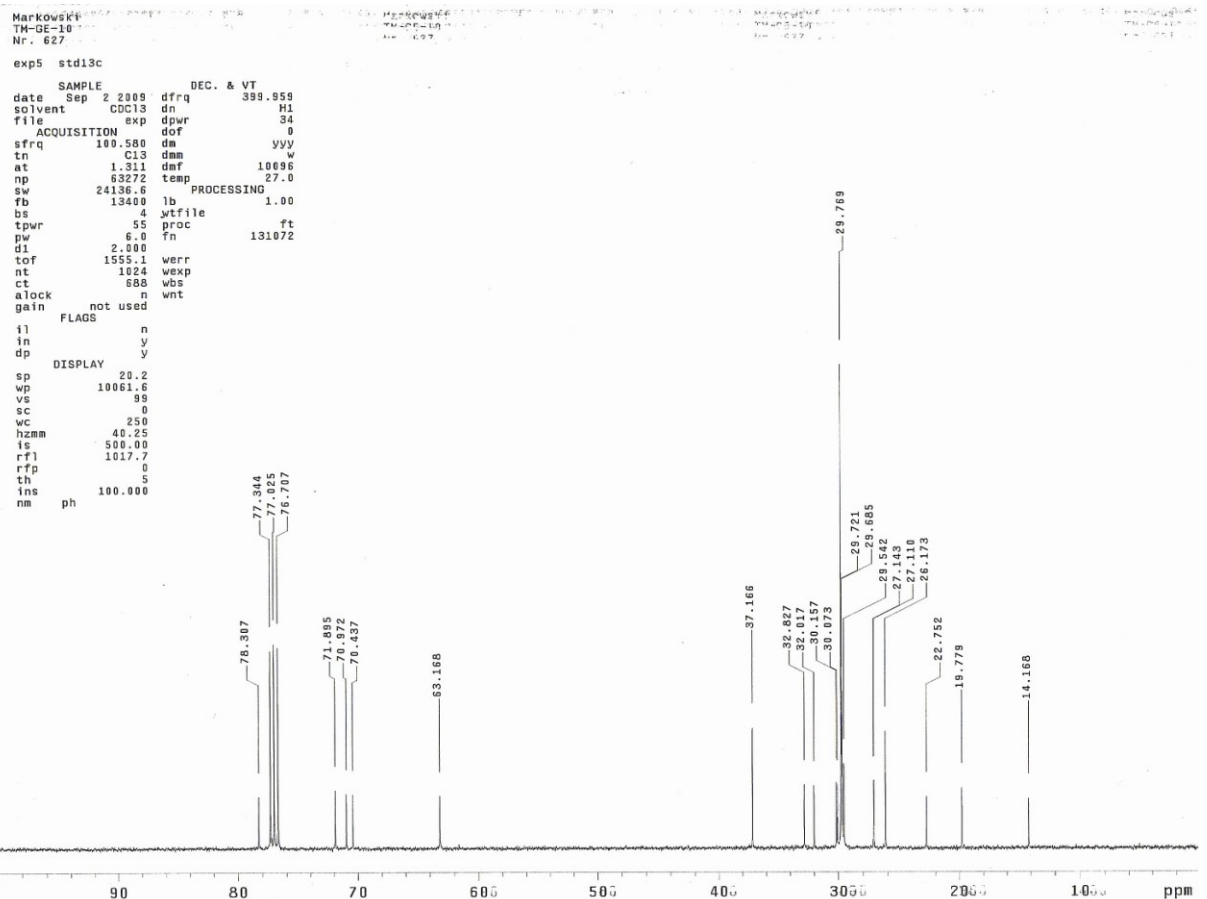
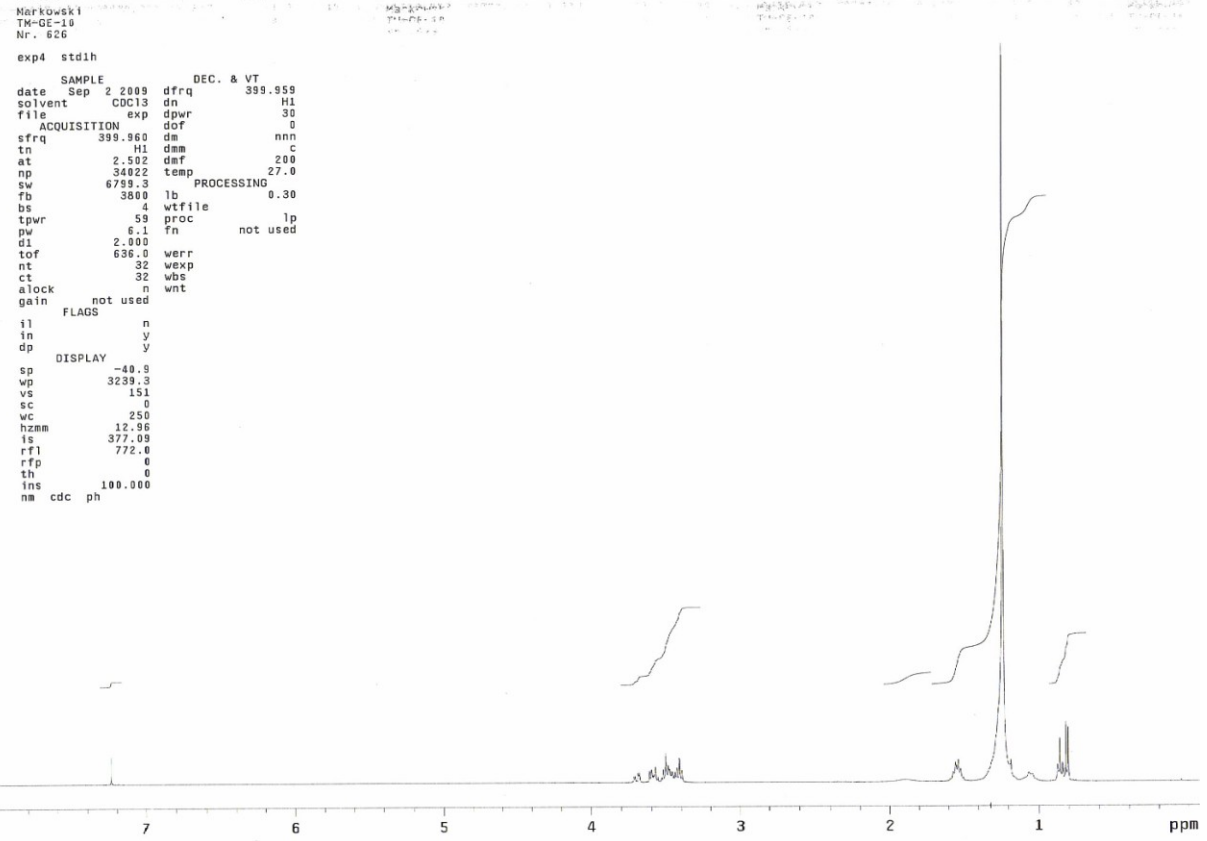


**3,3'-O-(Dotriacont-16-en-1,1'-diyl)-bis{1-O-Trityl-2-O-[(10R)-10-methylhexadecyl]-sn-glycerol} 49a**

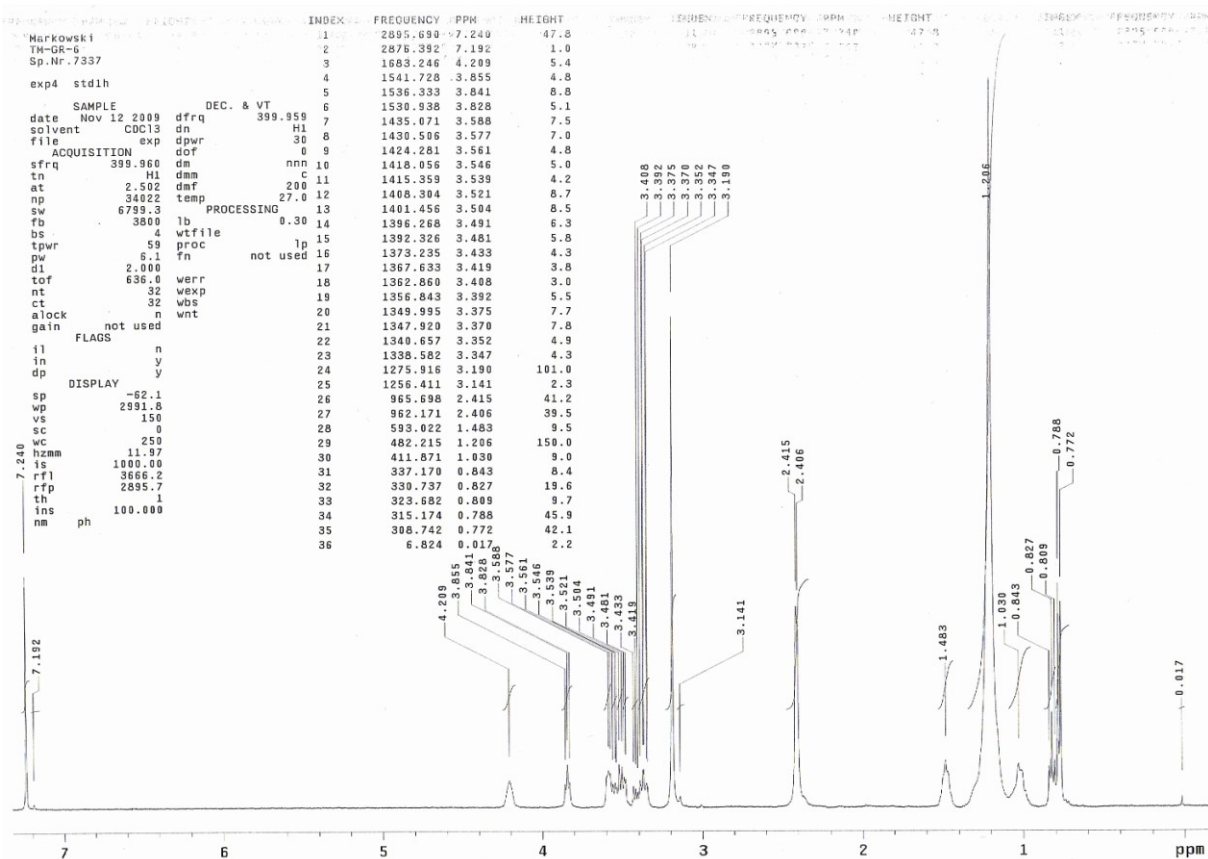
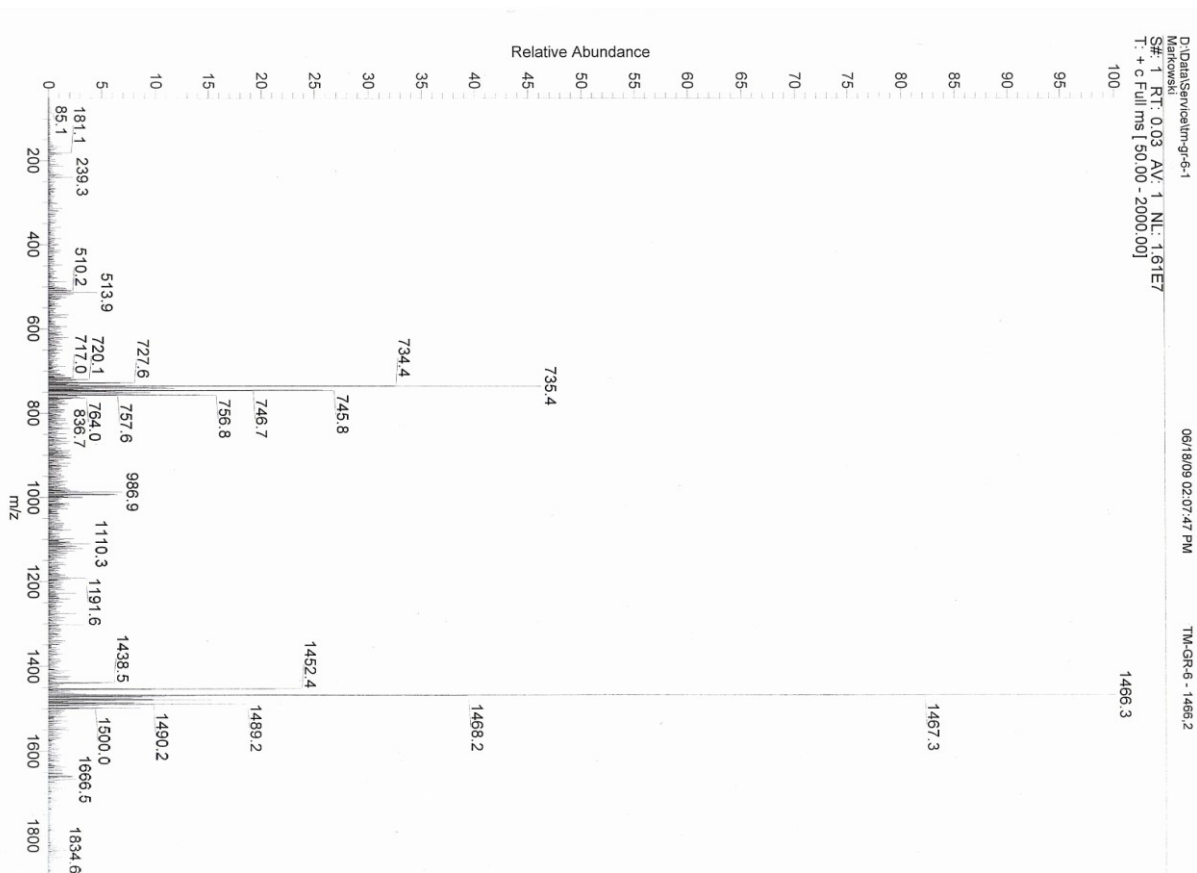


**3,3'-O-(Dotriacontan-1,1'-diyl)-bis{2-O-[(10R)-10-methylhexadecyl]-sn-glycerol} 50a**



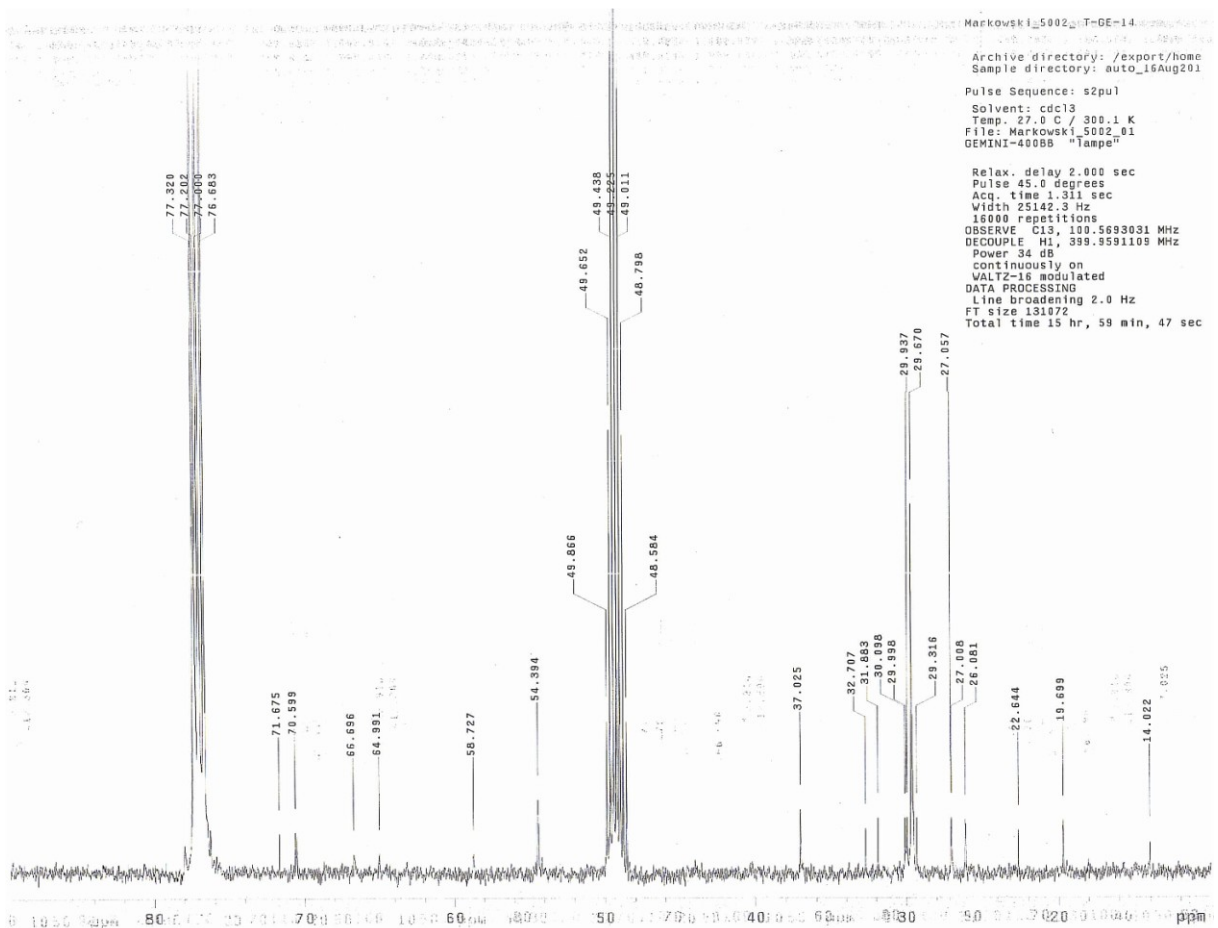
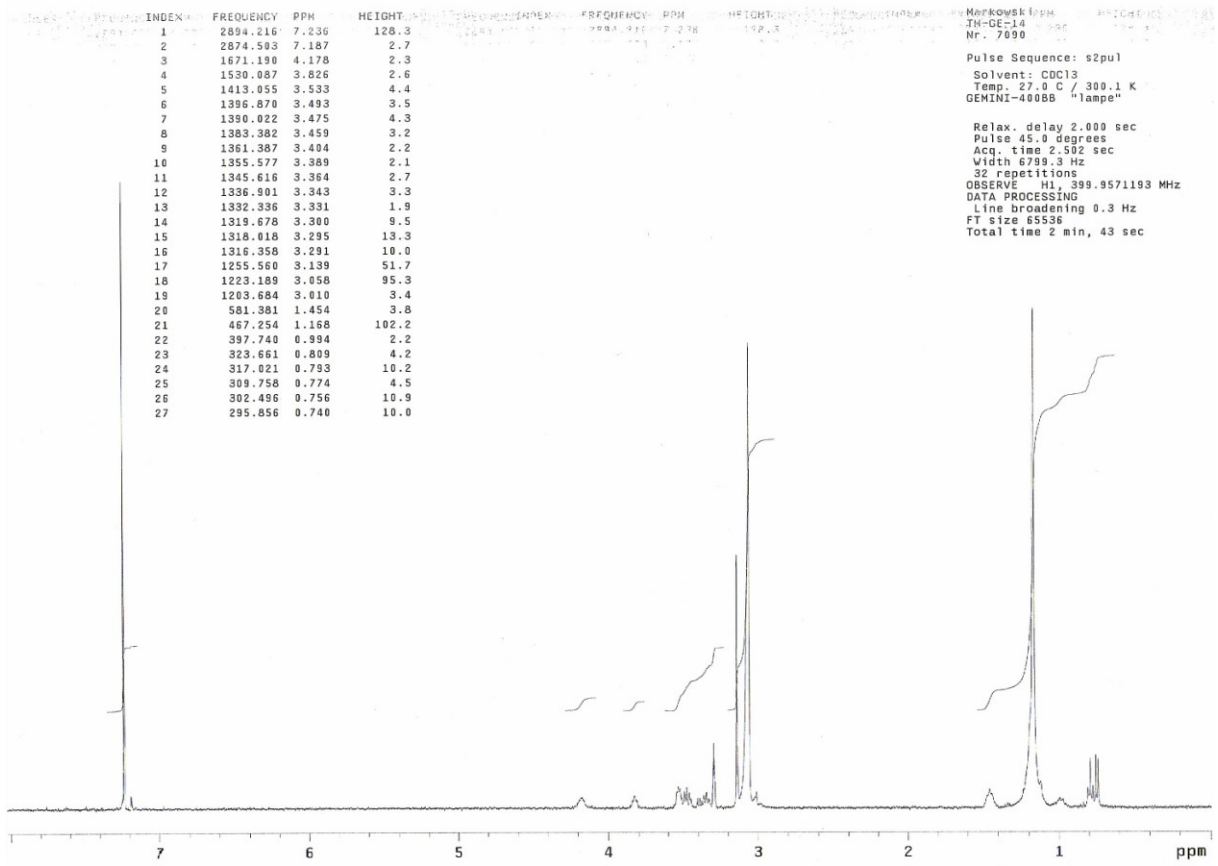


### 3,3'-O-[(10*RS*,10'*RS*)-10,10'-Dimethyldotriacontan-1,1'-diyl]-bis({2-O-[(10*RS*)-10-methylhexadecyl]-*sn*-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat) 30c





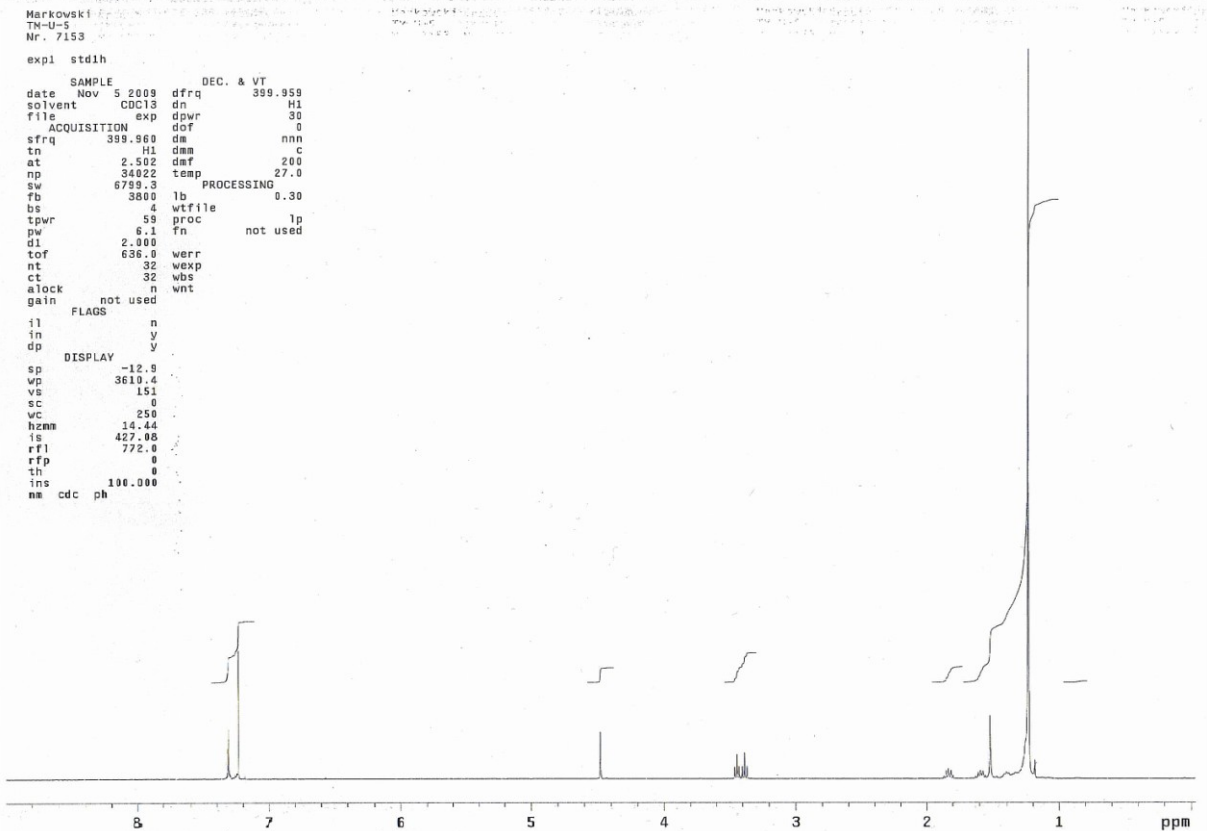
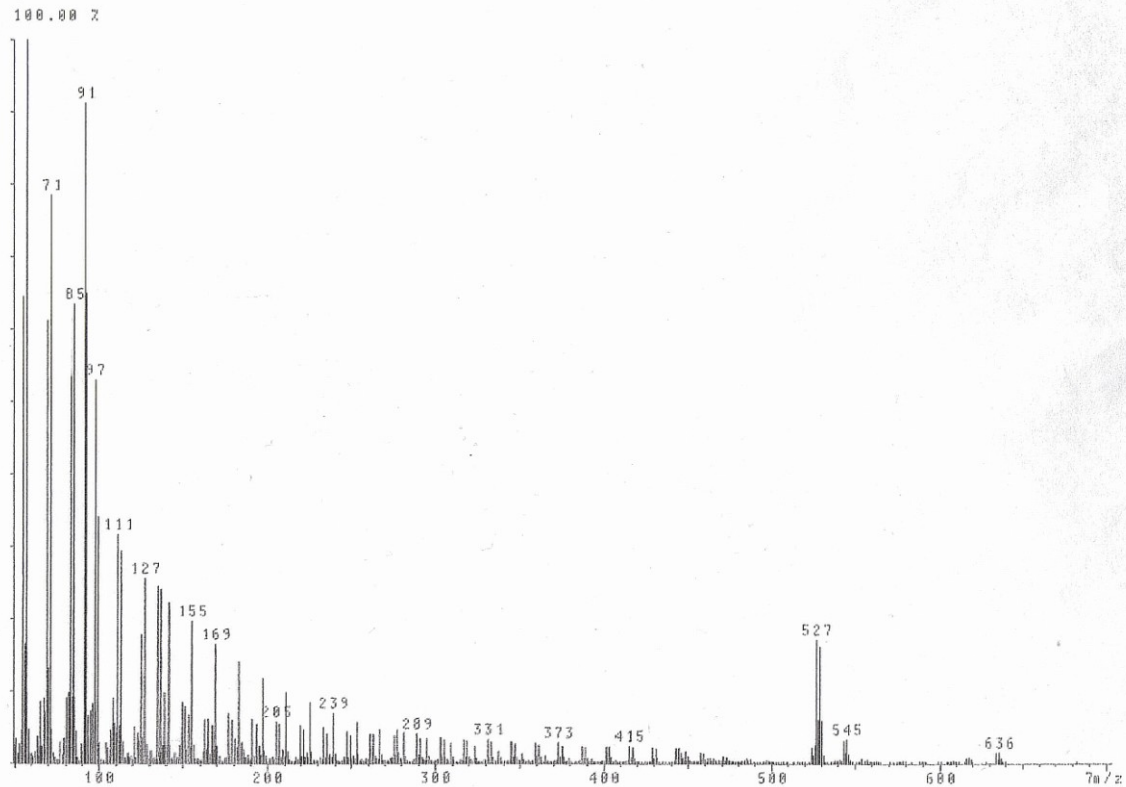




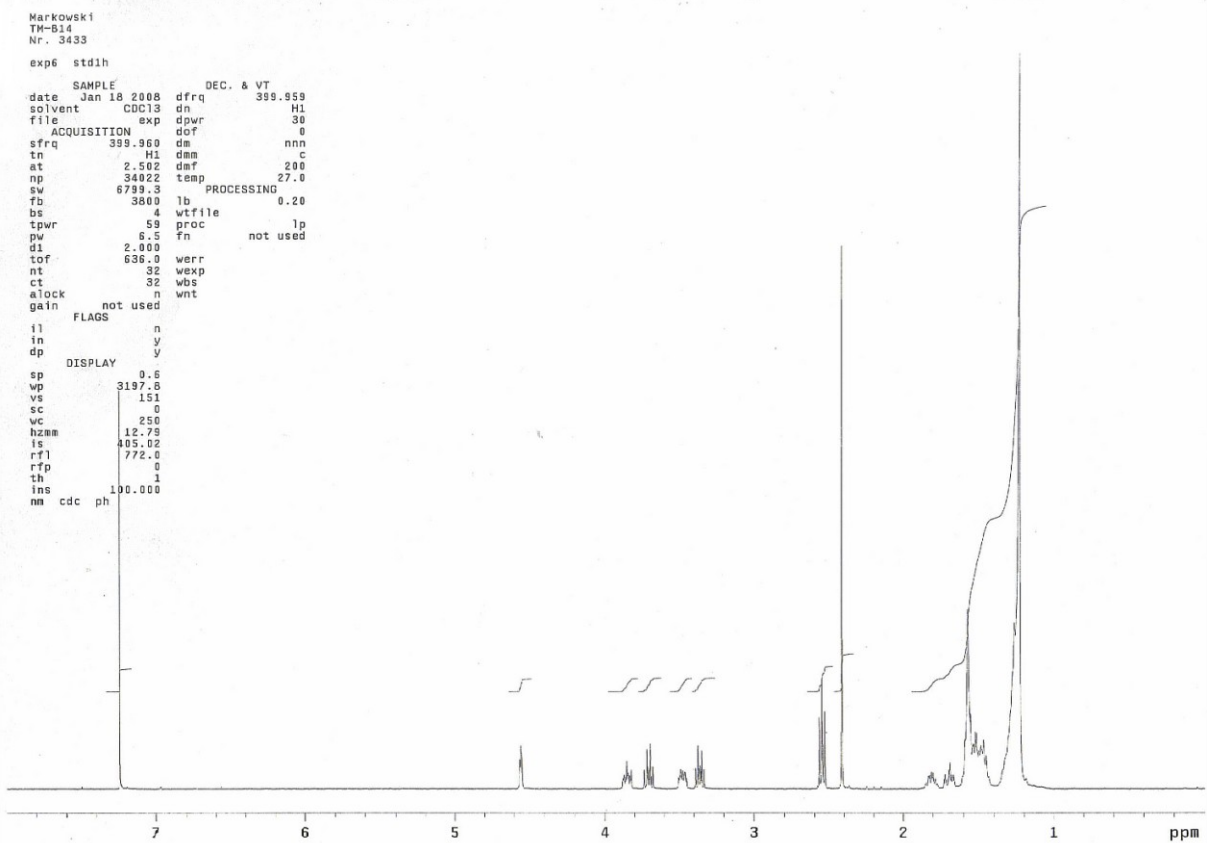
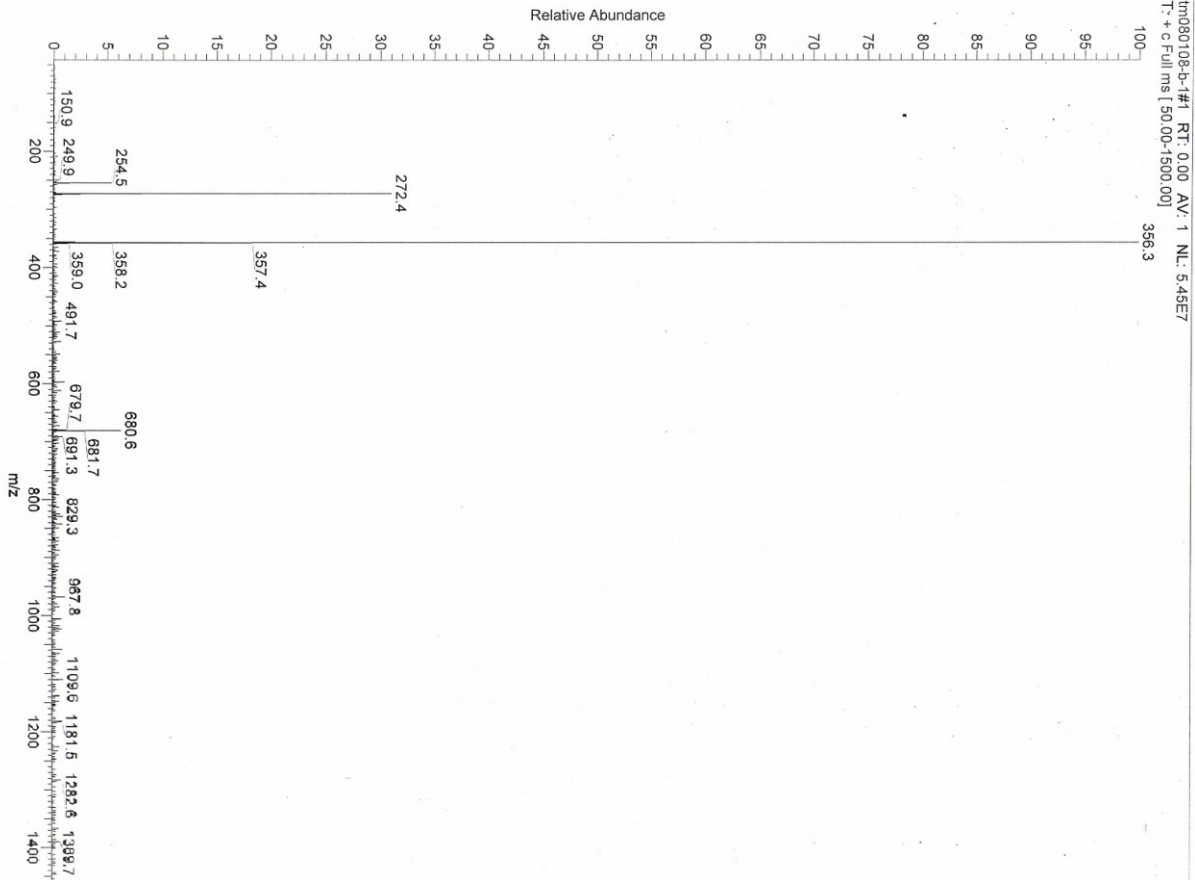


## 1-Benzyloxy-32-bromdotriacontan 69

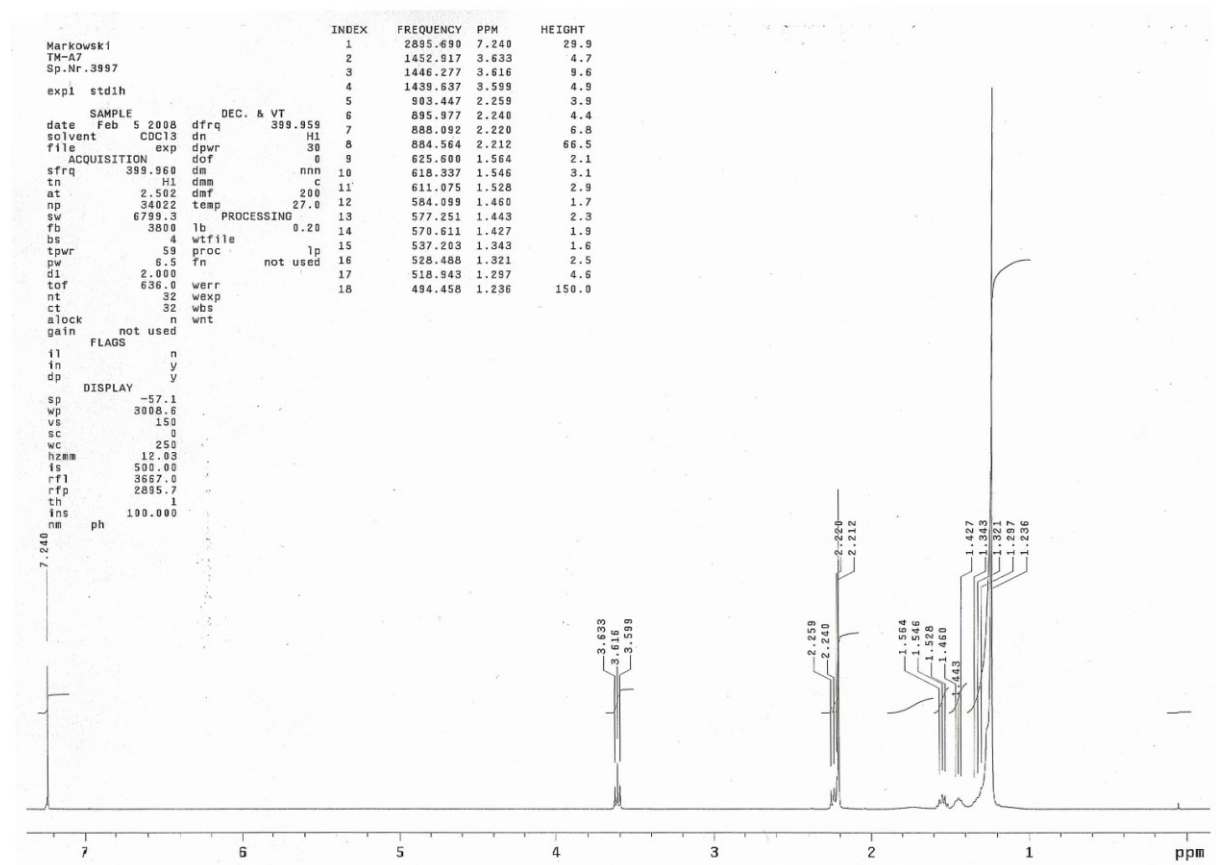
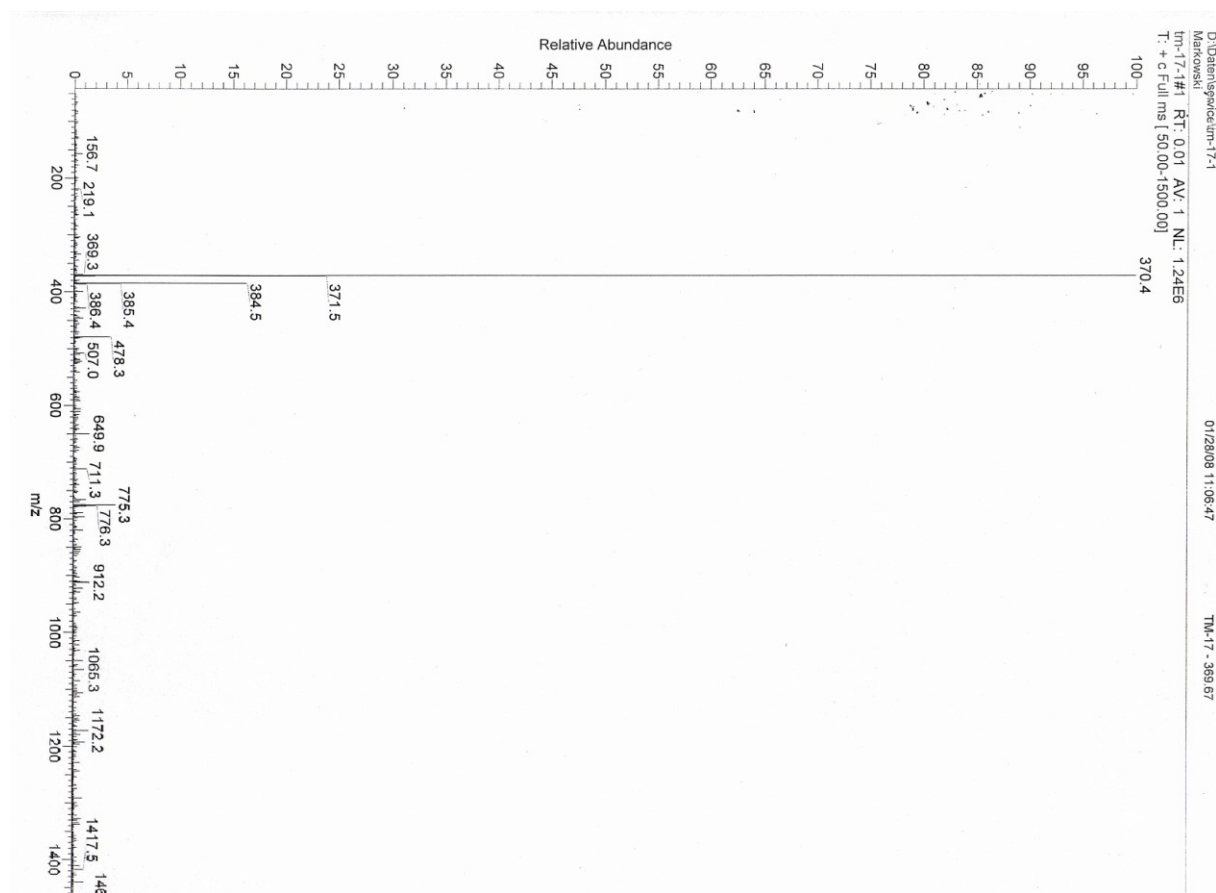
File : MARKOWSKI17, Vers. 1  
 of Fr. 24.02.1996, 00:53 h  
 Spectrum 11  
 Comment: TN-U5  
 Commission: AMD 402  
 <n> = basepeak  
 /PHARM. CHEM. PROF. DOBNER  
 BEARBEITER: LEISSRING  
 <g> = 1.00 <d> = user

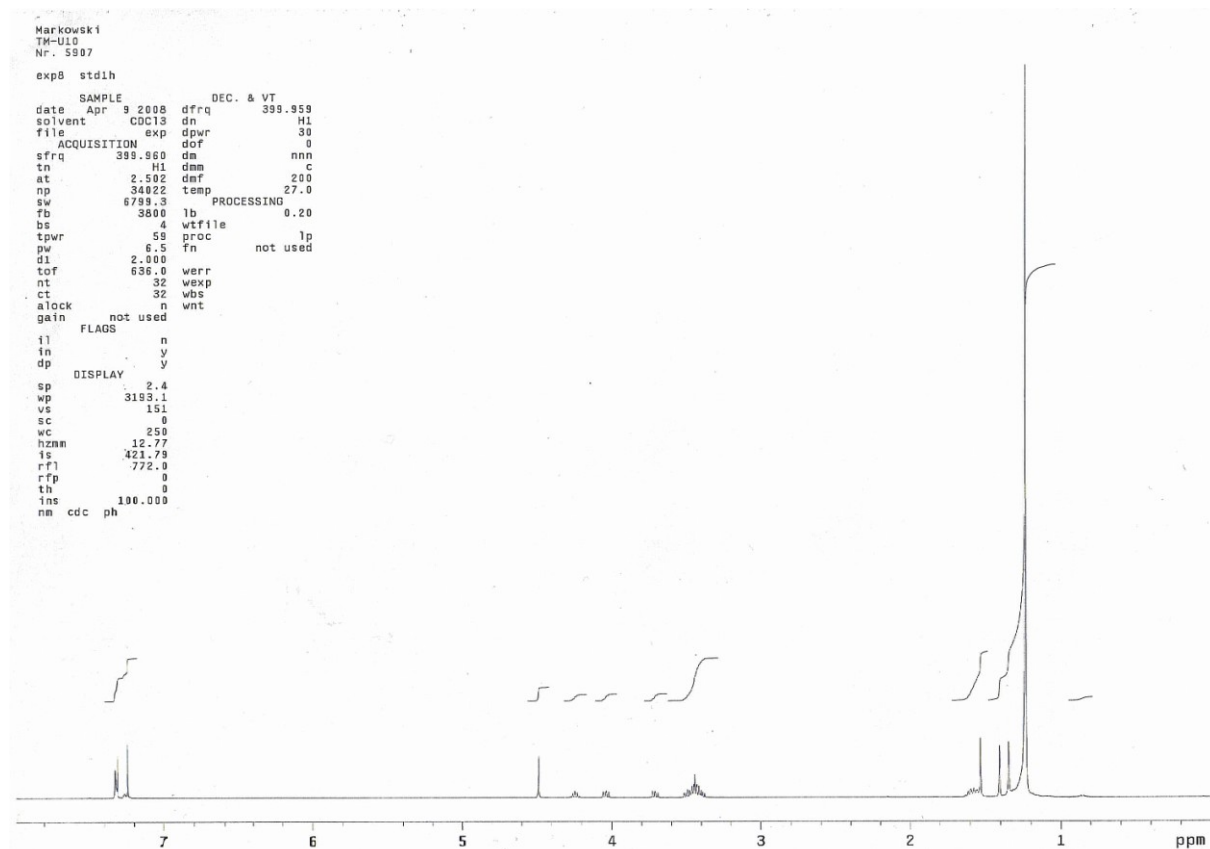
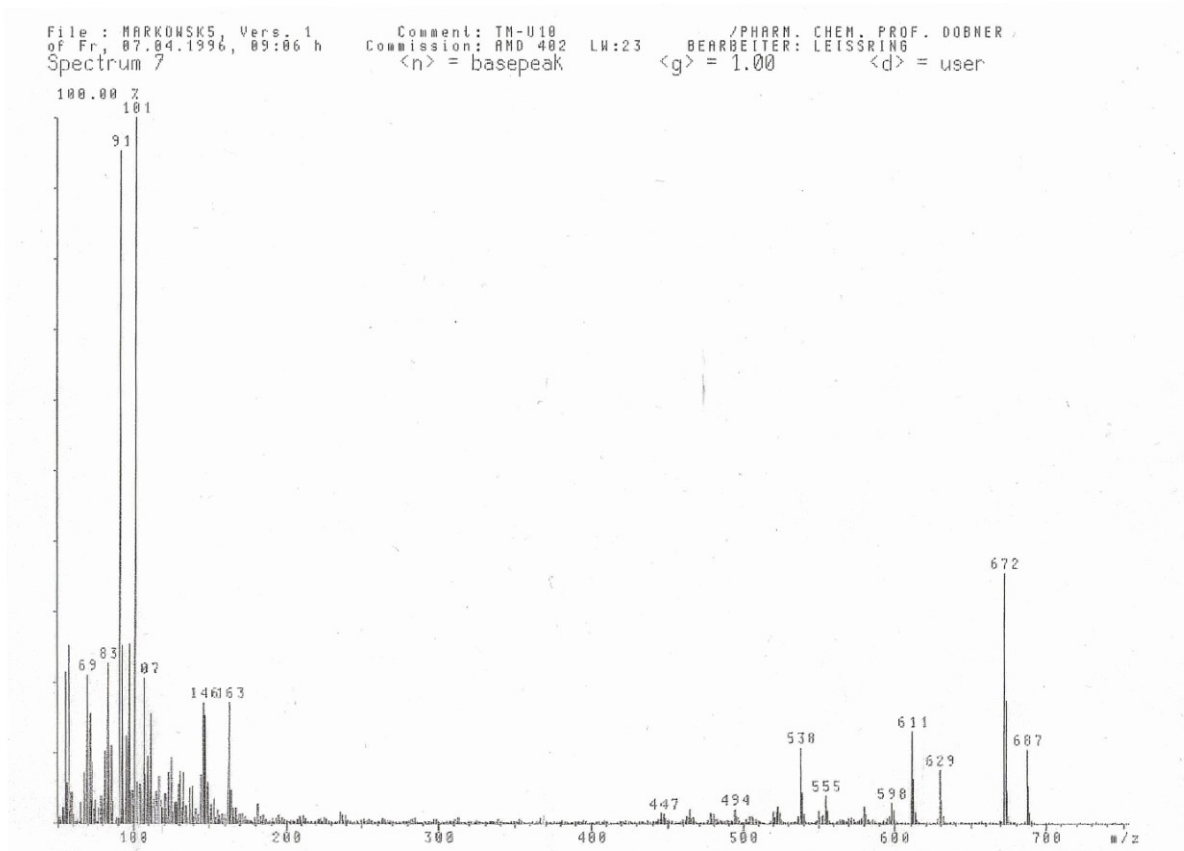


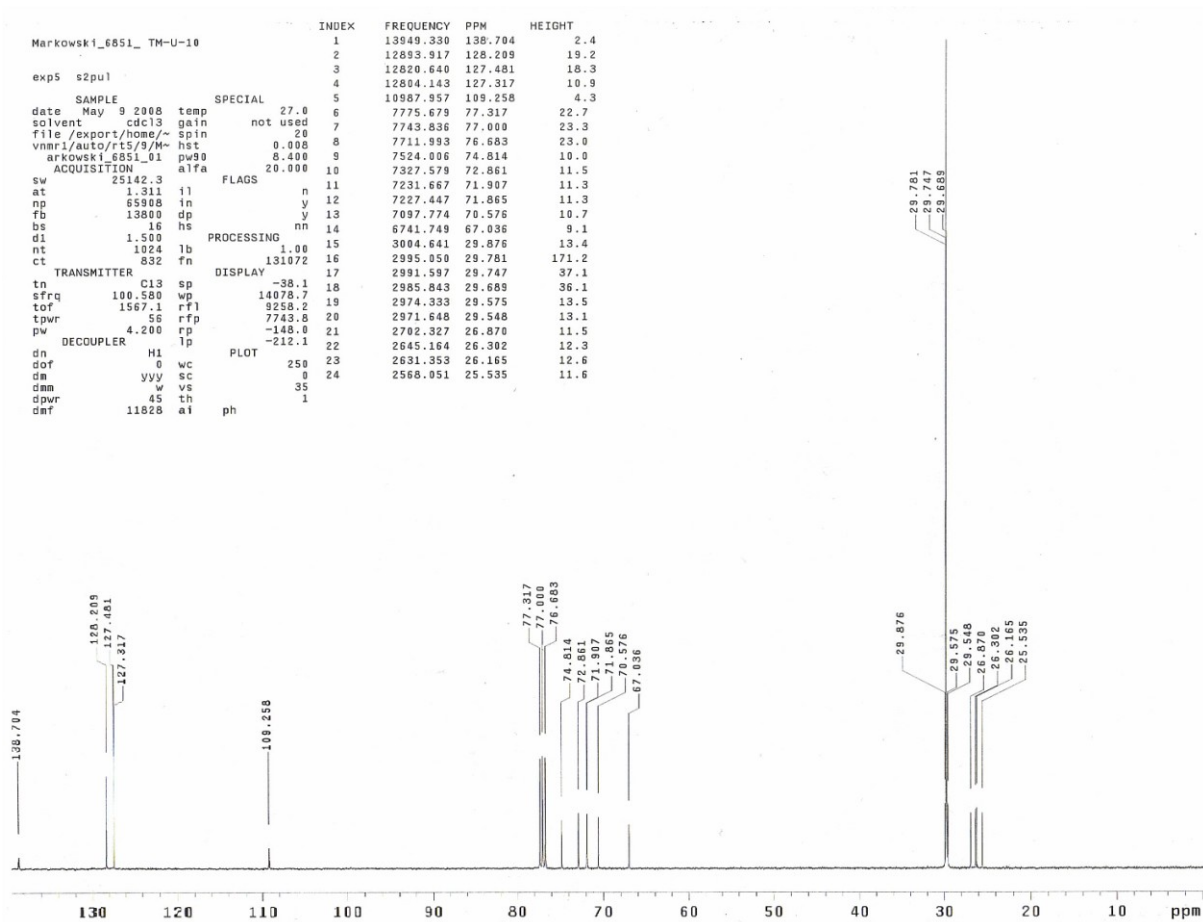
16-(*N*-Methylamino)-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl-oxy)hexadecan **70b** \*



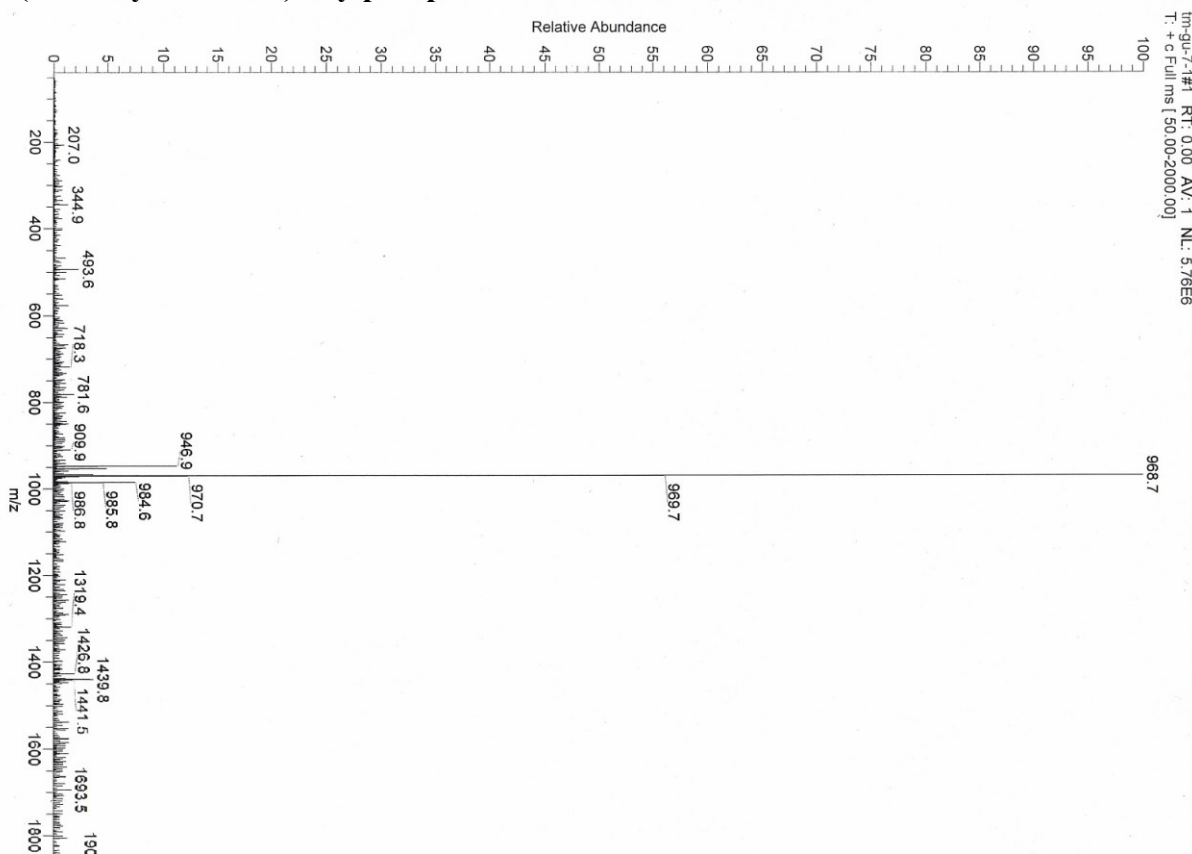
22-(N,N-Dimethylamino)docosan-1-ol 73c \*

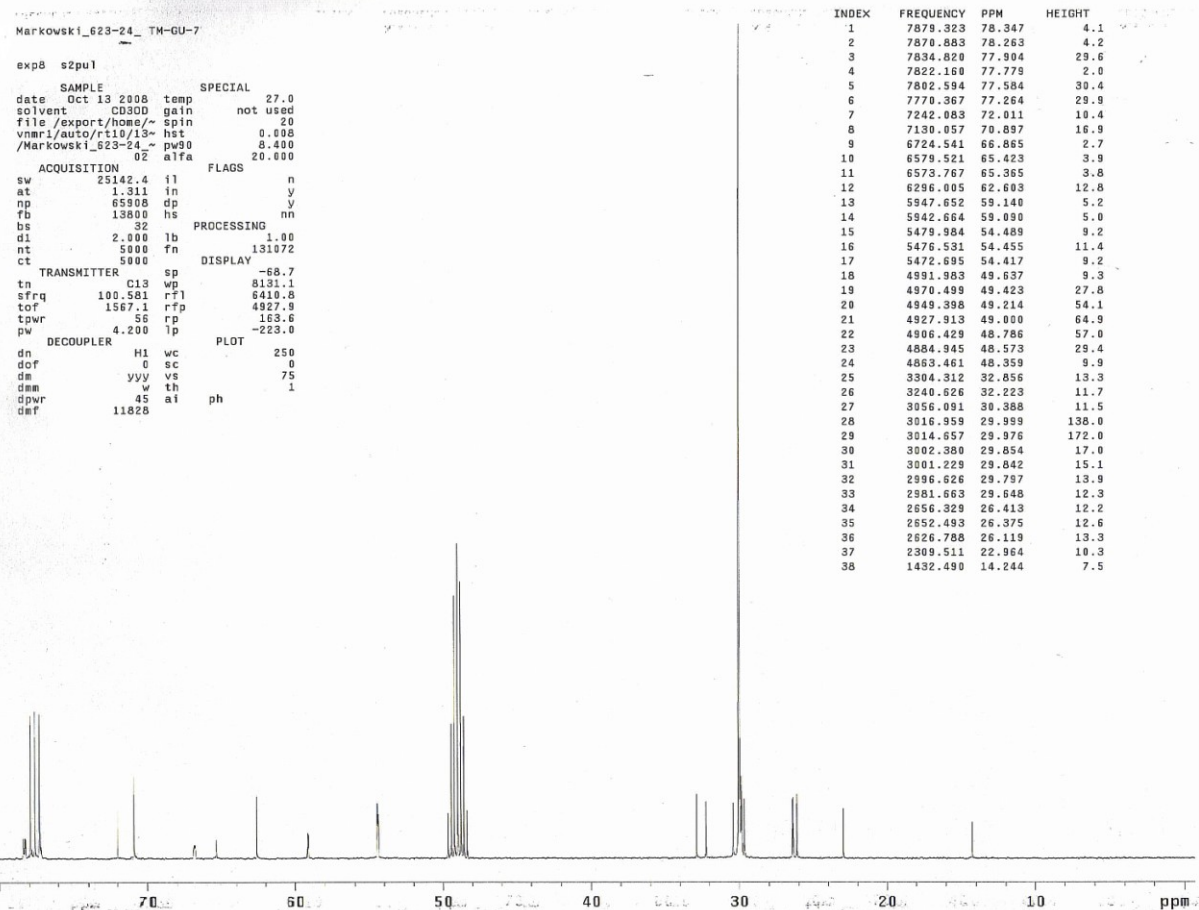
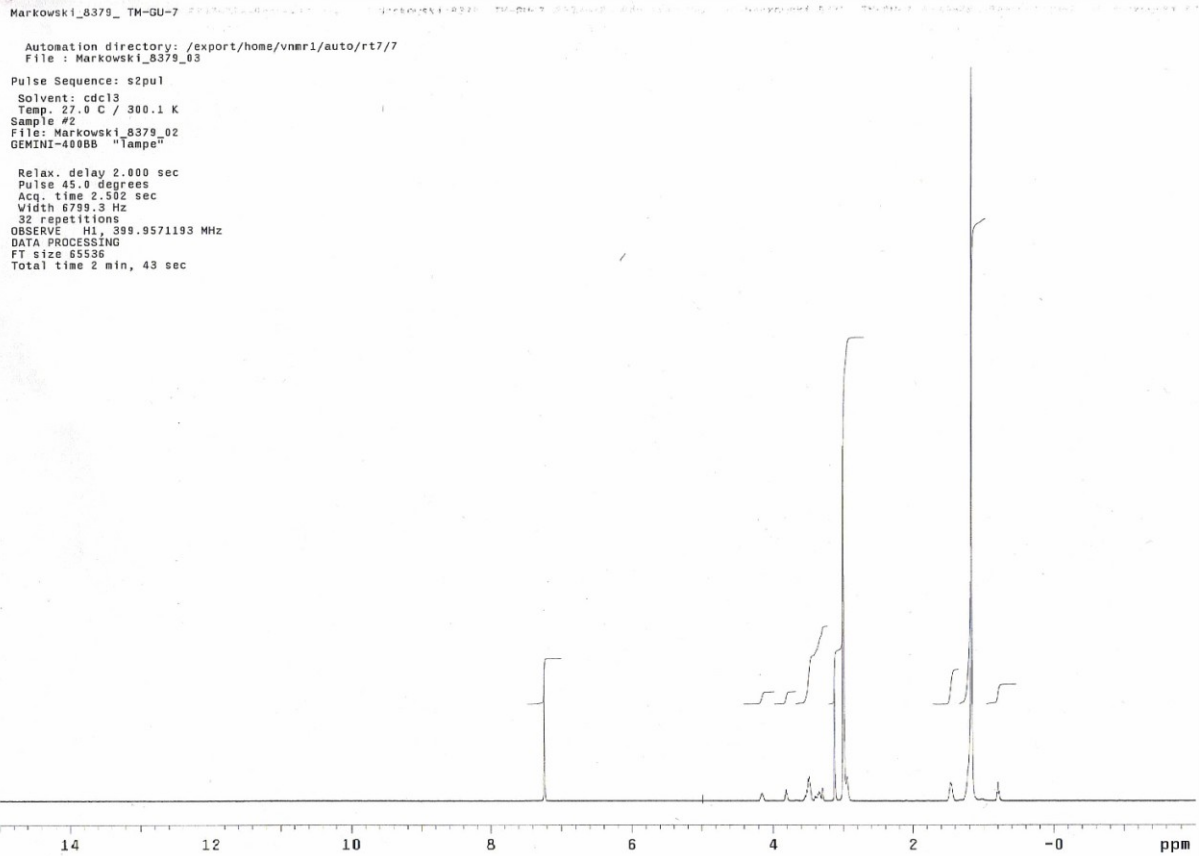


1,2-*O*-Isopropyliden-3-*O*-(32-benzyloxydotriacontanyl)-*sn*-glycerol 79



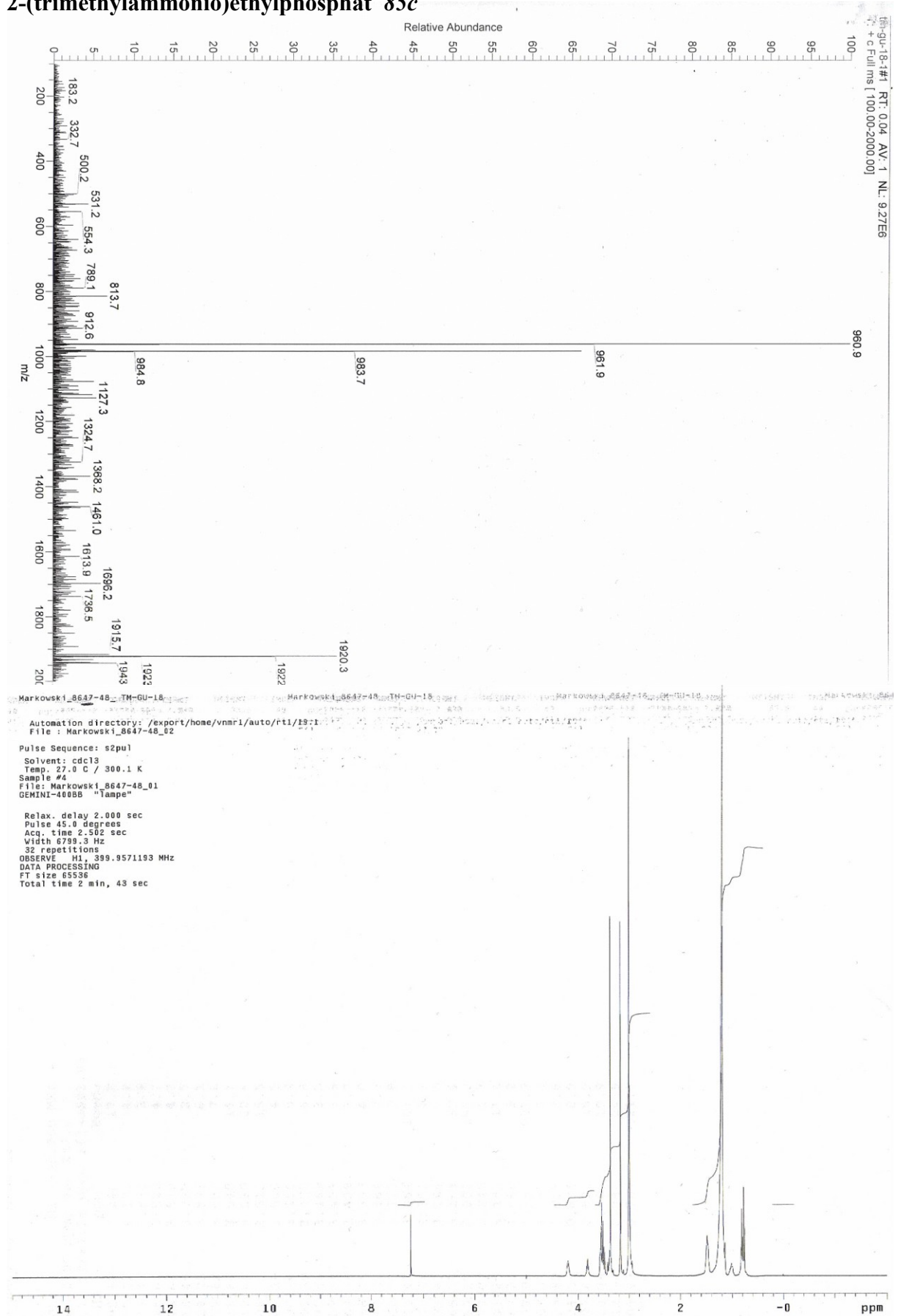
**[2-O-Hexadecyl-3-O-(32-hydroxydotriacontanyl)-sn-glycer-1-yl]-2-(trimethylammonio)ethylphosphat 85b**

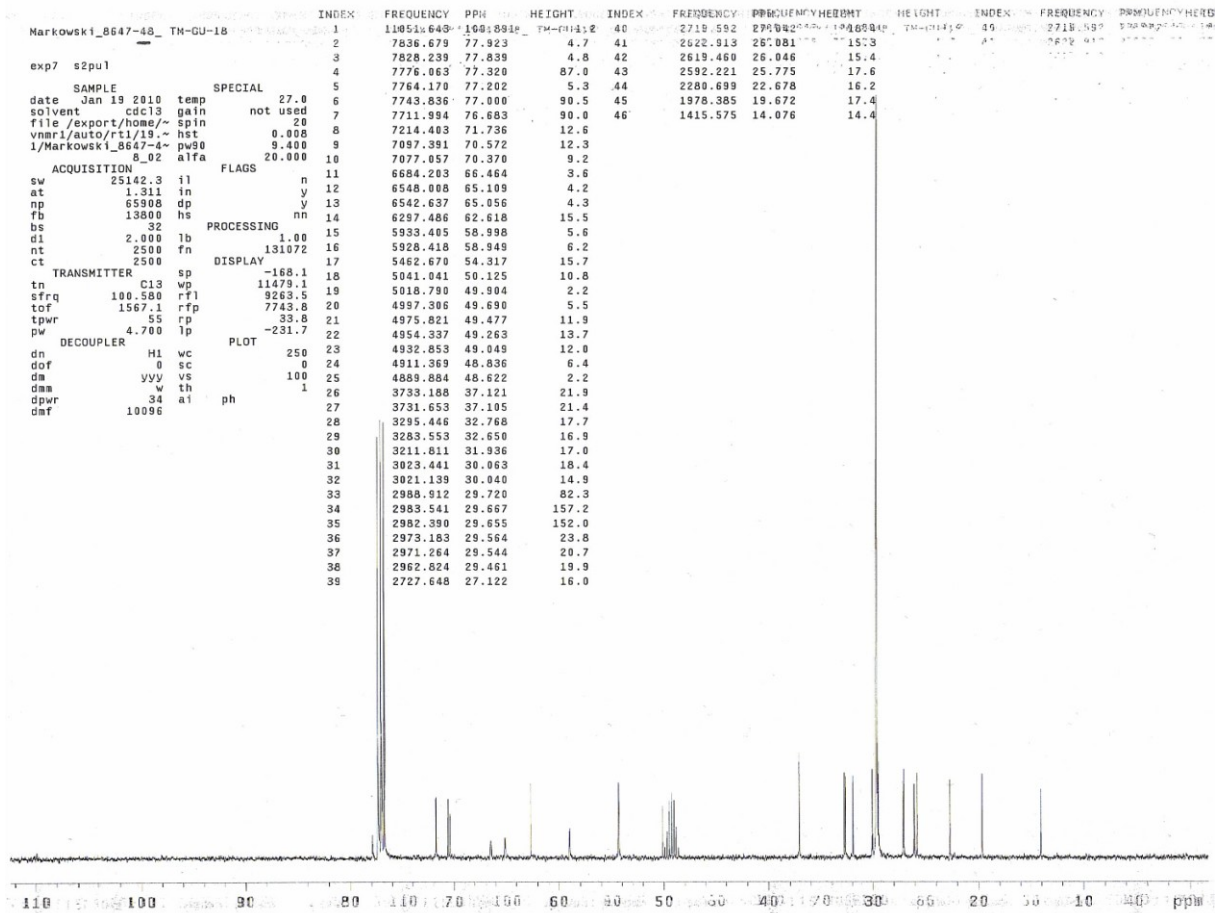






**{2-O-[(10*RS*)-10-Methylhexadecyl]-3-O-(32-hydroxydotriacontanyl)-*sn*-glycer-1-yl}-2-(trimethylammonio)ethylphosphat 85c**







## 5.4 Veröffentlichungen

Th. Markowski, J. Parmentier, A. Meister, A. Blume, G. Fricker and B. Dobner  
*Synthesis of Methyl-branched Tetraether Lipids for Liposomal Drug Delivery*  
DPhG-Tagung - Jena 2009 (Poster)

Th. Markowski, J. Parmentier, A. Meister, G. Hause, A. Blume, G. Fricker and B. Dobner  
*Unsymmetrical, Long-chain Bolaamphiphiles for Oral Drug Delivery – Synthesis, Characterisation and In-vitro Stability of Liposomes*  
Phospholipidsymposium - Heidelberg 2009 (Poster)

Th. Markowski, A. Meister, G. Hause, A. Blume and B. Dobner  
*Synthesis and Characterisation of Unsymmetrical, Long-chain Bolaamphiphiles*  
Bunsentagung - Köln 2009 (Poster)

Th. Markowski and B. Dobner  
*Synthesis of Unsymmetrical, Long-chain Bolaamphiphiles*  
DPhG-Tagung - Bonn 2008 (Poster)

## 5.5 Danksagung

Herrn Prof. Dr. B. Dobner danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, die Einführung in die organische Synthese und die ständige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft.

Für die finanzielle Unterstützung während meiner Promotionszeit möchte ich mich bei der Graduiertenförderung des Landes Sachsen-Anhalt, dem Institut für angewandte Dermatopharmazie, dem Allgemeinen Stiftungsfond der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie Herrn Prof. Dr. Dr. R. Neubert für die kurzfristige Bereitstellung danken.

Außerdem danke ich Frau Dr. habil. Annette Meister und Frau Dipl. Chem. Gesche Graf für die Einarbeitung in die physiko-chemischen Mess- und Präparationsmethoden sowie Herrn Dr. G. Förster für die Durchführung und Auswertung der röntgenographischen Untersuchungen. Herrn Dr. G. Hause und Frau Dr. habil. A. Meister sei an dieser Stelle auch für die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen gedankt.

Für die Testung der Bolalipide beim liposomalen Gentransfer möchte ich mich bei den Apothekerinnen B. Heinke sowie N. Erdmann und für die Stabilitätsuntersuchungen in künstlichen Verdauungsmedien bei Herrn Apotheker J. Parmentier bedanken.

Des Weiteren danke ich Frau Brandt, Frau Leissring, Frau Woigk und der Arbeitsgruppe um Herrn Dr. Ströhl für die Anfertigung der Elementaranalysen und der zahlreichen Spektren. Herrn Dr. Christian Schmelzer und Herrn Dr. Christian Ihling bin ich für die hochauflösende Massenspektrometrie der finalen Verbindungen sehr dankbar.

An dieser Stelle möchte ich meine Verbundenheit mit Frau Christa Troitzsch, Herrn Apotheker Björn Arbter und Herrn Dipl. Pharm. Christian Wölk, mit denen ich das Labor teilen durfte, nicht unerwähnt lassen. Herrn Dr. Simon Drescher danke ich für die fachlichen Gespräche und die Verbesserungsvorschläge für diese Arbeit sowie allen weiteren Mitarbeitern der Abteilung Biochemische Pharmazie und der Mittagsrunde für die gute Arbeitsatmosphäre.

Nicht zuletzt gilt mein Dank auch meiner Familie und meinen Freunden. Insbesondere bei Frau Studienrätin Annegret Markowski, Frau Elfriede Paul und Frau Apothekerin Polina Mattis möchte ich mich von ganzem Herzen bedanken.

## 5.6 Lebenslauf

### Persönliche Angaben

Familienname: Markowski  
 Vornamen: Thomas Walter  
 Akad. Grad: Diplompharmazeut (Dipl. Pharm.)  
 Geburtsdatum: 25.03.1982  
 Geburtsort: Belzig  
 Staatsangehörigkeit: deutsch  
 Familienstand: ledig  
 Anschrift: Willy-Lohmann-Str. 36  
 06844 Dessau-Roßlau

### Berufstätigkeit

seit 11/2010 Mitarbeiter der Krankenhausapotheke des Städtischen Klinikums Dessau

### Hochschulbildung

10/2007 - 10/2010 Promotionsstudium, Abt. Biochemische Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
 12/2007 Approbation als Apotheker  
 11/2007 Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung  
 04/2007 - 10/2007 Pharmaziepraktikum, Linden-Apotheke in Werder (Havel)  
 10/2006 - 03/2007 Pharmaziepraktikum, Abt. Biochemische Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diplom  
 09/2006 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung  
 08/2004 Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung  
 10/2002 - 09/2006 Studium der Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

### Zivildienst

07/2001 – 04/2002 Kreiskrankenhaus Belzig

### Schulbildung

08/1994 – 06/2001 Fläming-Gymnasium Belzig, Abitur  
 09/1988 – 07/1994 Karl-Liebknecht-Grundschule Belzig

## **5.7 Erklärung**

Hiermit erkläre ich gemäß § 5 (2) b der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Die entsprechenden Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde in dieser oder ähnlicher Form an keiner anderen Institution eingereicht.

Halle (Saale), im Dezember 2010