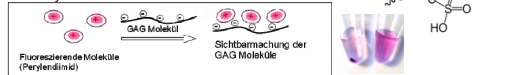




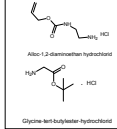
## Problemstellung/ Hintergründe:

Fluoreszierende Markierung von Heparin (Glykosaminoglykan GAG) zur besseren Detektion im Blut! Heparine sind therapeutisch eingesetzte Substanzen zur Blutgerinnungshemmung. Chemisch gesehen handelt es sich um Polysaccharide (Glykosaminoglykane), bestehend aus einer variablen Anzahl von Aminozuckern. Angestrebte Änderungen durch das asymmetrische Perylendiimid:

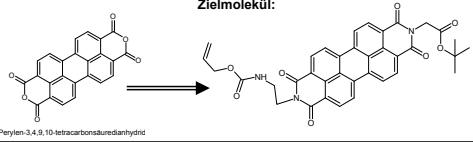


Addition der zu substituierenden Aminosäuregruppen an die GAG-Moleküle  
Herstellung einer Perylendiimidaminosäure durch Einfügen von geschützten Aminosäuren.

### Ausgangsstoffe:



### Zielmolekül:



## Lösungsstrategie zur Herstellung von Alloc-Py-Boc

- Überprüfung der Reaktionsselektivität/-reaktivität der Alloc- bzw. Boc-Aminosäure an das Perylen
- Überprüfung analog einer Synthesevorschrift aus der Doktorarbeit von Fritz Thomas Wetzel aus Freising. Überprüfung über 3 Reaktionswege:

Perylen	Boc-Py-Boc-Syn		Alloc-Py-Boc-Syn		Alloc-Py-Alloc-Syn	
	Yield (%)	Time (h)	Yield (%)	Time (h)	Yield (%)	Time (h)
2,2-Telle Alloc	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Perylen	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Alloc	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Perylen	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Alloc	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Perylen	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Alloc	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Perylen	100	1	100	1	100	1
1,0-Telle Alloc	100	1	100	1	100	1

## Durchgeführte Arbeitsschritte:

- Sammeln von Informationen zur Vorgehensweise (Internetrecherche)
- Erstellen der Reaktionsgleichung und der stöchiometrischen Berechnungen
- Ermittlung von Eigenschaften der Edukte: (Sicherheitshinweise usw.)

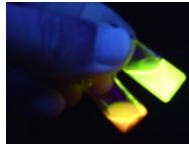


- Perylen
- Alloc-Schutzgruppe
- Boc-Schutzgruppe
- Imidazol
- benötigte Lösemittel

- Erstellen der Synthesevorschriften
- Bestellen der Chemikalien und Laborgeräte
- Durchführung der Reaktion unter Einhaltung der Sicherheits- und Gefahrenhinweise
- Aufarbeitung mit einer Kieselgelsäule
- MS-Analytik- und Auswertung
- Dokumentation der Ergebnisse

## Schlussfolgerungen:

- durch MS-Strukturaufklärung gelang der Nachweis von Boc-Py-Boc und von Alloc-Py-Boc.

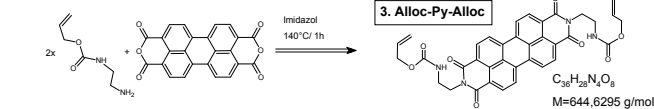
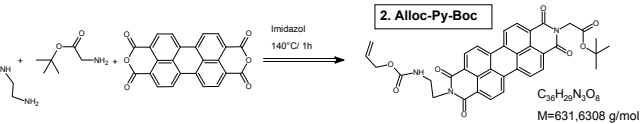
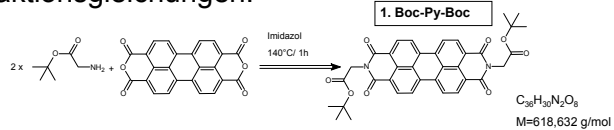


- I.) Die Synthese von reinem Boc-Py-Boc war erfolgreich!
- II.) Die Synthese von reinem Alloc-Py-Alloc ist nicht möglich!
- III.) Die Synthese eines Boc-Py-Boc und Alloc-Py-Boc-Gemisches war erfolgreich!

- Die Trennung der beiden Substanzen aus III.) gelang über die verwendete Kieselgel 60 Säule nicht vollständig.

- IV.) möglicherweise vollständige Trennung durch ein anderes Laufmittel oder ein anderes Säulenmaterial.

## Reaktionsgleichungen:



MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:20

keine Reaktion

Alloc Py Alloc

Boc Py Boc

Alloc Py Alloc Ansatz

Boc Py Boc Ansatz

Boc Py Boc Ansatz

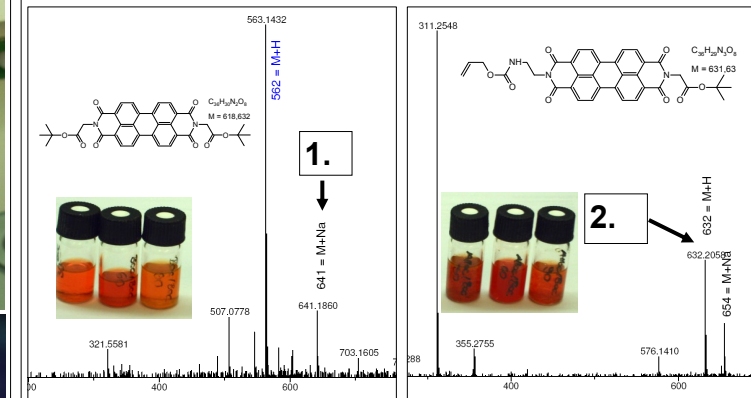
Boc Py Boc Ansatz

nach 30 min 60 min 90 min

Boc Py Alloc Ansatz

## Analytik:

LC: Dionex Ultimate 3000RS UHPLC  
Säule: Phenomenex Kinetex C18, 2.1x100mm, 1.7µ  
Laufmittel: A= H<sub>2</sub>O + 0,1% Ameisensäure, B= ACN + 0,09% Ameisensäure  
Fluss: 0,550ml/min  
Temp: 40°C  
Gradient: 0 min A 100% B 0%, 22min A 5% B 95%, 27min A 5% B 95%  
UV: 200-500 nm  
MS: Bruker micrOTOF II  
Methode: ESI +  
Massen: 70-1600



## Synthesevorschrift Alloc-Perylen-Boc:

- Zu 4 g bei 110°C geschmolzenen Imidazol gibt man 195,4mg Perylen und rührt bis eine Suspension entsteht. Dann gibt man (0,6mmol) 100mg G-Boc und (0,6mmol) 108mg D-Alloc zu, erwärmt die Suspension bis 140°C. DCs zur Reaktionsverfolgung (Dichlormethan/Methanol 20:1).  
Nach 90min wird die Reaktion abgebrochen, auf RT abgekühlt, das feste Reaktionsprodukt in 40 ml Dichlormethan aufgenommen und die Suspension im Ultraschallbad gerührt und dann filtriert. Das Filtrat 2x mit je 40 ml einer Lösung von NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10g in 120ml H<sub>2</sub>O) im Scheidetrichter auswaschen. Das Produkt löst sich in der organischen Phase. Zwischen den Phasengrenzen bildet sich ein roter Schlamm, welcher mit der organischen Phase rausgespült wird. Die organische Phase wird 3x mit 20ml Wasser gewaschen. Ohne den Schlamm wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Dichlormethan am Rotationsverdampfer bei 50°C ohne Vakuum bis zur Trockene eingengt
- Lösen des Feststoffes in Dichlormethan und aufgeben auf eine mit Kieselgel 60 gefüllte Säule. Laufmittelmisch (80:1 Dichlormethan : Methanol). Die Produkte erscheinen als zwei rote Banden, wobei die Boc-Py-Boc Substanz ganz oben, darunter die Boc-Py-Alloc Substanz auf der DC-Platte laufen. Bei den einzelnen Elutionen wird das Lösungsmittel abrotiert und die verschiedenen Produkte im Vakuum getrocknet!

## Synthesevorschrift Boc-Perylen-Boc:

- Einwaage: 50 mg (0,3mmol) Glycine-tert.-butylester hydrochlorid (G-Boc)  
Einwaage: 45,24 mg (0,12 mmol) Perylen zu 1 g bei 110°C geschmolzenen Imidazol in 25ml Spitzkolben.  
Rühren des Gemischs bis eine gleichmäßige Lösung/Suspension entsteht. Zugabe von D-Alloc unter Rühren bei vorliegender Temperatur und erwärmen bis 140°C. Reaktionsüberprüfung per DC nach 30, 60 und 90 min (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 20:1). Reaktionsabbruch nach 90 min.  
Abkühlen auf RT und Zugabe von 40ml Dichlormethan unter Rühren der Suspension. Zugabe von NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10g in 120ml H<sub>2</sub>O) und Extraktion im Scheidetrichter. Das Produkt ist in der organischen Phase und das Imidazol in der wässrigen Phase gelöst. Waschen der organischen Phase dreimal mit je 20 ml Wasser; trocken über Natriumsulfat. Filtration und anschließendes Einengen der organischen Phase bis zur Trockne am Rotationsverdampfer (ohne Vakuum bei 45°C Badtemperatur).
- Lösen des Feststoffes in Dichlormethan. Aufgabe auf eine mit Kieselgel 60 gefüllte Stummelsäule.  
Reinigung der Probe von den Nebenprodukten (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 80:1). Qualitative Überprüfung per DC: Produkte ergeben rote Banden.

## Literatur:

- <http://www.sigmaaldrich.com/safety-center.html>
- [http://www.chemiedidaktik.uni-wuppertal.de/alte\\_seite\\_du/material/milchweiss/aminosauren.pdf](http://www.chemiedidaktik.uni-wuppertal.de/alte_seite_du/material/milchweiss/aminosauren.pdf)
- Langhals, Heinz; Jona, Wolfgang: Synthese für substituierte Perylene. Universität München 1997
- Langhals, Heinz; Jona, Wolfgang: The synthesis of perylenebisimide monocarboxylic acids. European Journal of Organic Chemistry (1998), (5), 847-851.
- Büttner, Jörn: Neue Synthesewege zu NIR-Farbstoffen auf Basis der Quaterrylenbisimid. Universität München 2006
- Wetzel, Fritz Thomas: Synthese von neuen Verbindungen auf Basis der Perylen-3,4,9,10-bis(dicarboximide) für Anwendungen im Flüssigkristall-Bereich und als optische Schalter. Universität München 2003
- Onken, Kristian: Synthese und Charakterisierung neuartiger, ambipolarer organischer Halbleiter, basierend auf Perylen-carboximid-Systemen kombiniert mit funktionalisierten Spirofluoreneinheiten. Universität Kassel 2007
- Kampner, Michaela: Schulversuche mit Milch und Einsatzmöglichkeiten im Chemieunterricht. Universität Wuppertal 2005
- Kuhn, Isabelle: Verbesserung: DC-Trennung von Aminosäuren. Philipps-Universität Marburg 2006
- Krämer, Prof. R.: Mix-and-measure fluorescence assays for the selective detection of glycosaminoglycans. Universität Heidelberg Gesetze/ Schlußordnung der Georg von Langen BBS