

- 1.087 Mg m⁻³, $F(000) = 1836$, $\lambda = 71.073$ pm, $T = -120^\circ\text{C}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 1.165$ mm⁻¹, Kristallabmessungen: $0.5 \times 0.5 \times 0.3$ mm, $8^\circ \leq 2\theta \leq 55^\circ$; von den 3513 gesammelten Reflexen waren 1339 unabhängig und wurden zur Verfeinerung benutzt; größte Restelektronendichte: 550 e nm⁻³, $R1(F > 4\sigma(F)) = 0.028$ und $wR2 = 0.066$ (alle Daten) mit $R1 = \Sigma|F_o - F_c|/\Sigma F_o$ und $wR2 = (\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2/\Sigma w(F_c^2)^2)^{0.5}$; 2: $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{LiO}_6\text{Si}_3\text{Ge}$, $M = 651.5$, monoklin, Raumgruppe $P2_1/m$, $a = 939.4(1)$, $b = 1433.5(2)$, $c = 1395.7(3)$ pm, $\beta = 104.56(1)^\circ$, $V = 1.819$ nm³, $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.189$ Mg m⁻³, $F(000) = 700$, $\lambda = 71.073$ pm, $T = -80^\circ\text{C}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.978$ mm⁻¹, Kristallabmessungen: $0.5 \times 0.4 \times 0.4$, $8^\circ \leq 2\theta \leq 55^\circ$; von den 7864 gesammelten Reflexen waren 4370 unabhängig und wurden zur Verfeinerung benutzt; größte Restelektronendichte: 310 e nm⁻³, $R1(F > 4\sigma(F)) = 0.040$ und $wR2 = 0.095$ (alle Daten); R -Werte wie zuvor definiert. Die Daten beider Strukturen wurden auf einem Stoe-Siemens-AED-Diffraktometer gesammelt. Die Intensitätsmessungen wurden an einem schockgekühlten Kristall im Öltropfen [27] nach der $2\theta/\omega$ -Abtastung durchgeführt. Beide Strukturen wurden durch Direkte Methoden gelöst (SHELXS-90) [28] und nach dem Kleinst-Fehlerquadrat-Verfahren gegenüber F^2 verfeinert [29]. Die symmetriebedingte Silicium/Germanium-Fehlordnung bei 1 konnte aufgelöst werden. Bei der Verfeinerung der Besetzung der zentralen Siliciumatome und des Germaniumatoms ergab sich eine Besetzung von 2/3 bzw. 1/3. Die Verfeinerung in der Raumgruppe $C2/c$ lieferte kein besseres Ergebnis. Wegen der Fehlordnung des Kronenethermoleküls durch die vorhandene Spiegelebene wurden zwei Kronenethermoleküle mit jeweiliger Besetzung von 1/2 verfeinert. Die 1-2- und 1-3-Abstände chemisch äquivalenter Bindungen wurden mit Abstandsbeschränkungen verfeinert. Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, GB-Cambridge CB21EZ, unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.
- [20] A. G. Brook, F. Abdesaken, H. Söllradl, *J. Organomet. Chem.* **1986**, *299*, 9.
 [21] J. Arnold, D. M. Roddick, T. D. Tilley, A. C. Rheingold, S. J. Geib, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 3510.
 [22] G. Becker, H.-M. Hartmann, A. Münch, H. Riffel, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1985**, *530*, 29.
 [23] D. Reed, D. Stalke, D. S. Wright, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1539; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1459.
 [24] D. R. Armstrong, M. G. Davidson, D. Moncrieff, D. Stalke, D. S. Wright, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1413.
 [25] A. Heine, D. Stalke, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 90; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 121.
 [26] A. Steiner, D. Stalke, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, im Druck.
 [27] T. Kottke, D. Stalke, *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, *26*, 615.
 [28] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, *46*, 467.
 [29] G. M. Sheldrick, *SHELXL-93*, Universität Göttingen. **1993**.

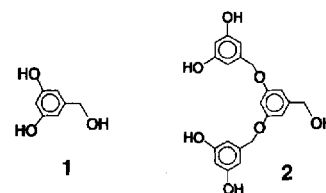
Verzweigte Monomere als Quelle für einen schnelleren Zugang zu Dendrimeren**

Karen L. Wooley, Craig J. Hawker
und Jean M. J. Fréchet*

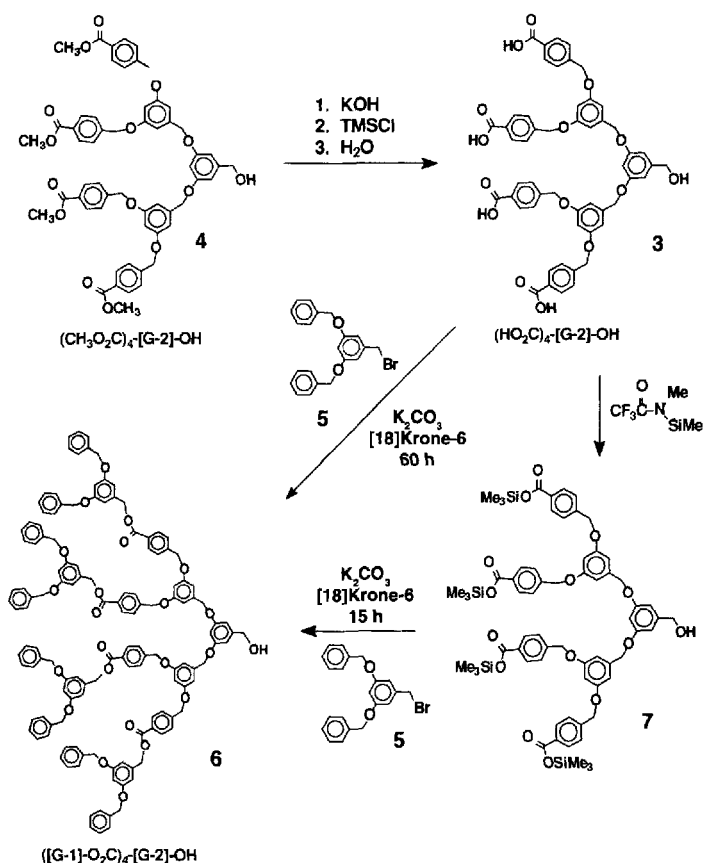
Untersuchungen zu Reaktivität^[1] und Eigenschaften^[2] dendritischer Makromoleküle (Dendrimere) werden derzeit aus wissenschaftlicher Neugier, aber auch mit dem Blick auf mögliche industrielle Anwendungen vorgenommen. Wichtig sind deshalb effiziente Synthesewege für Dendrimere. Die zur Synthese von „perfekten“ Dendrimeren angewendeten divergenten^[3] und konvergenten^[4] Methoden beinhalten jedoch schrittweise durchzuführende, aufwendige und zeitraubende Syntheseoperationen. Verbesserungen der konvergenten Methode konnten durch einen beschleunigten, zweistufigen Prozeß^[5] erreicht werden. Dabei ermöglichte die Verwendung großer dendritischer

„Kernzellen“ (Hyperkernen) die Eliminierung mehrerer Wachstumsschritte und die Herstellung von Verbindungen hoher Molekülmasse. Eine andere Möglichkeit^[6] bietet der Einsatz von zwei Monomeren, wobei ein Zwei-Generationen-Wachstum in einer Eintopfreaktion ohne Reinigungsschritte erreicht wird. Hier berichten wir über die „Schnelldarstellung“ von Dendrimeren durch Verwendung hochfunktionalisierter, „verzweigter Monomere“ in einer konvergenten Synthese.

Das Konzept ist, im konvergenten Wachstumsprozeß die einfachste Repetiereinheit (oder „fraktale Komponente“) durch eine größere fraktale Komponente der nächsten Generation zu ersetzen. Statt eines klassischen AB₂-Monomers, z.B. **1**, findet also ein größeres AB₄-Monomer, z.B. **2**, der nächsthöheren Generation Verwendung. Durch den Einsatz des größeren Mono-



mers wird das Konzept des konvergenten Wachstums mit einer einzigen reaktiven Gruppe (der benzylichen Hydroxygruppe) am zentralen Punkt beibehalten. Unter Bewahrung des Verzweigungsmusters und der Flexibilität des Ziel-Dendrimers wird jedoch die zum Erreichen höherer Generationen notwendige Zahl der Syntheseschritte reduziert. Angesichts der Schwierigkeiten



Schema 1. Herstellung der verzweigten Monomere **3** und **7** und deren Verwendung zur Synthese eines Dendrimers der dritten Generation.

[*] Prof. Dr. J. M. J. Fréchet, Dr. K. L. Wooley, Dr. C. J. Hawker
Baker Laboratory, Department of Chemistry
Cornell University
Ithaca, NY 14853-1301 (USA)
Telefax: Int. + 607/255-4137

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation (Grant DMR-9224421 und DMR-9121654) gefördert. K. W. wurde durch ein Stipendium des US Department of Education, C. H. durch ein Stipendium des Australian Research Council unterstützt.

bei der Herstellung von **2** in hoher Ausbeute, wurde das verzweigte Monomer **3** als Ausgangsverbindung gewählt.

Die Darstellung von **3** gelang über den Schutz der Carboxygruppen als Methylester. Die Hydrolyse von $(\text{CH}_3\text{O}_2\text{C})_4\text{[G-2]-OH}$ **4**^[7] mit Kaliumhydroxid unter Rückfluß in Wasser/Ethanol/1,4-Dioxan führte bei vollständiger Umsetzung zum Tetracarboxylat. Bei der Neutralisation mit Eisessig fiel eine in organischen Lösungsmitteln unlösliche, partiell protonierte Spezies aus. Auf Zugabe von Chlortrimethylsilan zu einer Suspension des Niederschlags in THF hin konnte **7**, der lösliche Trimethylsilylester von **3**, erhalten werden. Wiederausfällung dieser Zwischenstufe in Wasser gab die gewünschte Tetracarbonsäure **3** (Schema 1).

Der Benzylether **6** – ein Dendrimer der dritten Generation mit vier Esterbindungen im Innern des Moleküls – konnte durch Reaktion des verzweigten Monomers **3** mit dem Bromid **5**, einem Dendrimer der ersten Generation, in Gegenwart von Kaliumcarbonat erhalten werden (85% Ausbeute nach Blitzchromatographie). Da die Generationszahl der Anzahl der Schichten von Monomereinheiten entspricht, führt jeder einzelne Wachstumsschritt unter Verwendung des verzweigten Monomers **3** der zweiten Generation auch zu einem Größenwachstum um zwei Generationen. Der Alkohol **6** kann als dendritisches Dreischichten-Blockcopolymer bezeichnet werden, da eine äußere, konzentrische Schicht von Ethergruppen eine innere Schicht von Estergruppen und diese wiederum zwei Schichten mit Etherverknüpfungen umschließt. Für hohe Ausbeuten ist die Reinheit des verzweigten Monomers von ausschlaggebender Bedeutung.

Die Reaktion von **3** mit **5** ist langsam: für einen Umsatz von über 90% wurden etwa 60 h benötigt. Vermutlich ist dies Folge der geringen Löslichkeit von **3** in der basischen Reaktionsmischung und eventueller Aggregation durch Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen. Um die Effizienz der Synthese zu erhöhen und die Reaktionszeit zu verkürzen, wurde die Tetracarbonsäure **3** mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid zu dem verzweigten Tetrakis(trimethylsilyl)-Monomer **7** umgesetzt, das nicht isoliert, sondern in situ in Gegenwart von Kaliumcarbonat und [18]Krone-6 mit dem Bromid **5** umgesetzt wurde (Schema 1). Auf diese Weise konnten 90% Umsatz zu dem gewünschten Alkohol **6** bereits nach 15 h Erhitzen unter Rückfluß erreicht werden. Sowohl das ¹H- als auch das ¹³C-NMR-Spektrum von **6** lassen aufgrund ihrer extrem guten Auflösung die Identifikation und Zuordnung aller Protonen und Kohlenstoffatome zu (Abb. 1).

Die Aktivierung der zentralen OH-Gruppe in **6** gelang durch Umsetzung des Benzylalkohols mit Tetrabrommethan und Triphenylphosphan zum Benzylbromid **8** in 91% Ausbeute. Die Kupplung des Dendrimers **8** der dritten Generation mit dem in situ erzeugten, verzweigten Monomer **7** zu dem Dendrimer **9** der fünften Generation (Schema 2) konnte durch Gelpermeationschromatographie (GPC) verfolgt werden. Nach 17 h betrug der Umsatz dabei ca. 40%. Die Ausbeute an **9** ließ sich unter den gewählten Bedingungen nicht verbessern. Dieses Absinken der Ausbeute für höhere Generationen, das zuvor schon bei der Herstellung eines Dendrimers der sechsten Generation nach der konvergenten Methode beobachtet wurde^[4], ist vermutlich teils durch sterische Effekte, teils durch mangelnde Effizienz der Kupplungsmethode bedingt. Trotz dieses Mangels wird die Effizienz der Dendrimersynthese mit verzweigten Monomeren an der Synthese des dendritischen Blockcopolymers **9** deutlich. Mit einer Molekülmasse von 9371 und acht Schichten von Phenylringen ist **9** in nur drei Stufen ausgehend von dem Bromid **5** der ersten Generation mit zwei Schichten von Phenylringen und einer Molekülmasse von nur 383 in einer

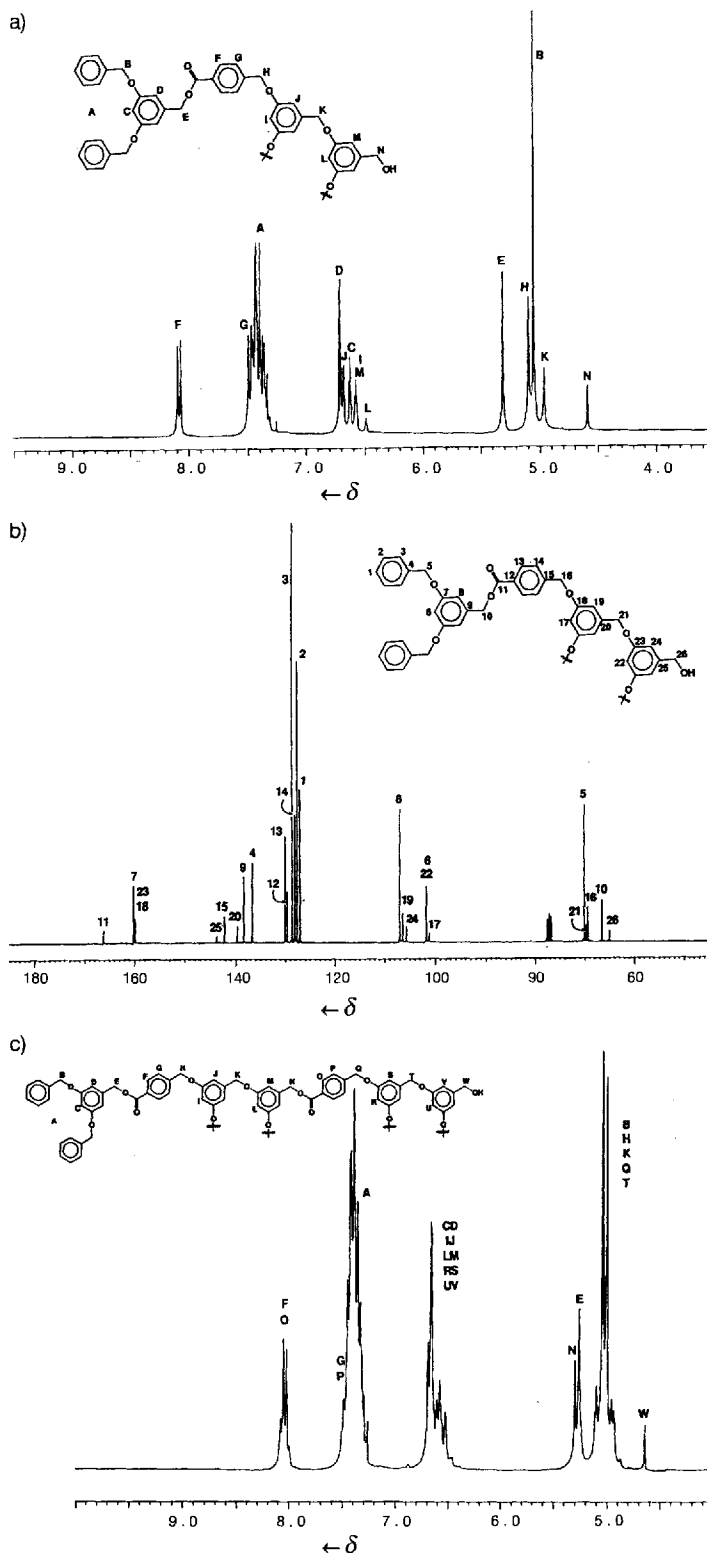
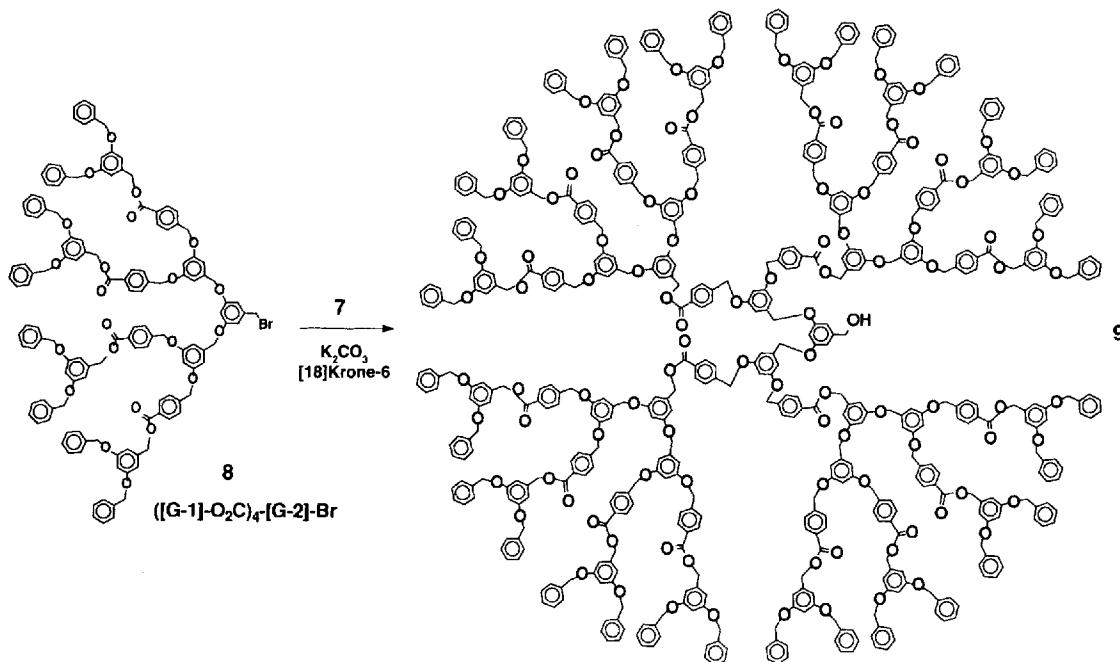


Abb. 1. a) und b) ¹H- bzw. ¹³C-NMR-Spektrum (300 bzw. 75 MHz, CDCl₃) von **6**; c) ¹H-NMR-Spektrum (300 MHz, CDCl₃) von **9**.

Gesamtausbeute von 31% zugänglich. Unter Anwendung der herkömmlichen, konvergenten Wachstumsmethode mit 3,5-Dihydroxybenzylalkohol als Monomer^[4] und einer verbesserten, an Williamson-Synthesen orientierten Kupplungsmethode, konnte zwar eine Gesamtausbeute von 50% für [G-5]-OH ausgehend von [G-1]-Br erzielt werden, jedoch benötigte die Synthese sieben Stufen!



Schema 2. Herstellung eines Dendrimers der fünften Generation.

Wie Abbildung 1c erkennen läßt, sind die Signale im ^1H -NMR-Spektrum von **9** im Vergleich zu denen von **6** verbreitert. Wenn auch ein großer Teil der Feinstruktur verloren gegangen ist, lassen sich doch zur Charakterisierung wichtige Informationen ablesen. Insbesondere eine Hälfte des AB_q -Quartetts der *p*-substituierten aromatischen Ringe der verzweigten Monomereinheiten bei $\delta = 7.9\text{--}8.1$, zwei Resonanzen bei $\delta = 5.25$ und 5.29 für die Methylengruppen der beiden Schichten von Benzylestern und die Resonanz des benzylichen Alkohols der zentralen Gruppe bei $\delta = 4.63$ sind zu nennen.

Die effiziente Synthese dendritischer Poly(ether/ester)-Schicht-Blockcopolymer gelang durch eine neuartige, schnelle Methode unter Verwendung verzweigter Monomere. Diese Dendrimere sind deshalb interessant, weil sie hydrolysierbare Esterbindungen in definierten Schichten im Inneren der Struktur enthalten und so die Möglichkeit zur Spaltung und zum Abbau des Dendrimers unter Entstehung wasserlöslicher Fragmente besteht. Durch geschickte Wahl der Startverbindung und des verzweigten Monomers bieten sich Zugangsmöglichkeiten zu einer Vielzahl funktionalisierter dendritischer Makromoleküle und Blockcopolymere.

Arbeitsvorschriften

(HO₂C)₄[G-2]-OH 3: Zu einer Lösung von **4** [7] (1.27 g, 1.3 mmol) in 1,4-Dioxan (30 mL) wurde wäßrige KOH (1.10 g, 19.6 mmol, in 12 mL H₂O) gegeben. Nach Kochen der Mischung unter Rückfluß wurden Ethanol (15 mL, 95%) und 18 mL H₂O zugegeben, um eine homogene Reaktionsmischung zu erhalten, die weitere 20 h erhitzt wurde. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 5 mL Eisessig zugefügt und der Niederschlag durch Vakuumfiltration isoliert. Zugabe von Trimethylsilylchlorid zu einer Suspension des partiell protonierten Produktes in THF führte zur Bildung der Trimethylsilylester und Auflösung des Produktes. Nach 20 min bei Raumtemperatur wurde die Mischung im Vakuum konzentriert. Bei Zugabe von H₂O fiel das vollständig protonierte Produkt aus. Vakuumfiltration des Niederschlags. Auflösen in THF, Filtration und Wiedereindampfung ergaben die Tetracarbonsäure **3** als weißen Feststoff, der sich bei Aufbewahrung innerhalb einiger Wochen gelb färbte. Ausbeute 96%. $T_g = 89^\circ\text{C}$; Schmp. $203\text{--}205^\circ\text{C}$; ^1H -NMR ($[\text{D}_8]\text{THF}$): $\delta = 4.18$ (br, 1H; CH₂OH), 4.46 (s, 2H; CH₂OH), 4.96 (s, 4H; ArCH₂O), 5.10 (s, 8H; HO₂CPhCH₂), 6.45 (t, 1H, $J = 2$ Hz; ArH), 6.56 (d, 2H, $J = 2$ Hz; ArH), 6.58 (t, 2H, $J = 2$ Hz; ArH), 6.70 (d, 4H, $J = 2$ Hz; ArH), 7.47,

7.97 (AB_q, 16H, $J = 8$ Hz; HO₂CPhH); IR: $\tilde{\nu} = 3500\text{--}2400$, 1693, 1597, 1450, 1423, 1373, 1317, 1292, 1160, 1051, 1020 cm^{-1} .

[(G-1)-O₂C]₄[G-2]-OH 6: Zu einer Lösung von **3** (0.20 g, 0.22 mmol, 1.0 Äquiv.) in THF (25 mL) unter Stickstoff bei Raumtemperatur wurde *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (0.25 mL, 0.27 g, 1.3 mmol, 5.9 Äquiv.) gegeben. Nach 30 min wurde die THF-Lösung unter Rückfluß gekocht und anschließend **5** (0.42 g, 1.1 mmol, 5 Äquiv.), Kaliumcarbonat (0.30 g, 2.2 mmol, 10 Äquiv.) und [18]Krone-6 (0.03 g, 0.11 mmol, 0.5 Äquiv.) zugegeben. Der Verlauf der Reaktion wurde durch GPC verfolgt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Reaktionsmischung unter Vakuum eingedampft und der Rest mit Wasser und Dichlormethan aufgenommen. Die wäßrige Phase wurde dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert, die Extrakte vereint, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde durch Blitzchromatographie gereinigt (CH₃OH/CH₃COOH/CH₂Cl₂, 2:1:97) und **6** als farblose, glasige Masse erhalten. Ausbeute 85%; $T_g = 34^\circ\text{C}$; ^1H -NMR (CDCl₃): vgl. Abb. 1a; IR: $\tilde{\nu} = 3550\text{--}3350$, 3200–2800, 1719, 1597, 1497, 1453, 1416, 1375, 1343, 1319, 1273, 1215, 1161, 1105, 1061, 1030, 1020 cm^{-1} .

[(G-1)-O₂C]₄[G-2]-Br 8: Zu einer Lösung von **6** (0.43 g, 0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) in THF (20 mL) wurden Tetrabrommethan (0.13 g, 0.4 mmol, 2 Äquiv.) und Triphenylphosphan (0.10 g, 0.4 mmol, 2 Äquiv.) gegeben und die Mischung bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnsschichtchromatographisch verfolgt. Zugabe von Wasser und CH₂Cl₂ stoppte die Reaktion. Die wäßrige Phase wurde dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert, die CH₂Cl₂-Extrakte über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde durch Ausfällung in Ether und Blitzchromatographie (Ether 2%/CH₂Cl₂) gereinigt und **8** als farblose, glasige Masse erhalten. Ausbeute 91%; $T_g = 34^\circ\text{C}$; ^1H -NMR (CDCl₃): $\delta = 4.35$ (s, 2H; CH₂Br), 4.94 (s, 4H; ArCH₂O), 5.03 (s, 16H; PhCH₂), 5.09 (s, 8H; RO₂CPhCH₂), 5.28 (s, 8H; ArCH₂O₂C), 6.4–6.8 (m, 21H; ArH), 7.2–7.6 (m, 40H; PhH), 7.46, 8.05 (AB_q, 16H, $J = 8$ Hz, RO₂CPhH); IR: $\tilde{\nu} = 3200\text{--}2800$, 1719, 1597, 1499, 1453, 1416, 1373, 1343, 1321, 1273, 1215, 1160, 1105, 1061, 1019 cm^{-1} .

([(G-1)-O₂C]₄[G-2])₄[G-2]-OH 9: Es wurde die gleiche Prozedur wie zur Synthese von **6**, jedoch unter Verwendung von **8** anstelle von **5** durchgeführt. Das Rohprodukt wurde durch Blitzchromatographie (Methanol/CH₂Cl₂, 3:97) gereinigt und **9** als farblose, glasige Masse erhalten. $T_g = 38^\circ\text{C}$; ^1H -NMR (CDCl₃): vgl. Abb. 1c; IR: $\tilde{\nu} = 3600\text{--}3400$, 3000–2800, 1719, 1597, 1497, 1453, 1416, 1373, 1343, 1273, 1215, 1159, 1105, 1061, 1019 cm^{-1} .

Eingegangen am 15. Juli 1993 [Z 6215]

- [1] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 2459; G. R. Newkome, C. N. Moorefield, *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.* **1993**, 34, 75; L. Lochmann, K. L. Wooley, P. T. Ivanova, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7043.
- [2] T. H. Mourey, S. R. Turner, M. Rubinstein, J. M. J. Fréchet, C. J. Hawker, K. L. Wooley, *Macromolecules* **1992**, 25, 2401; K. L. Wooley, C. J. Hawker, J. M.

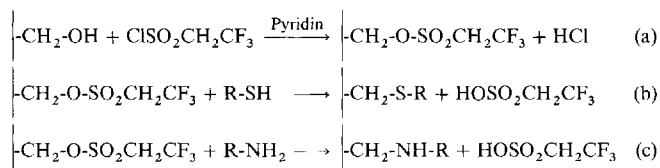
- Pochan, J. M. J. Fréchet, *ibid.* **1993**, 26, 1514; G. R. Newkome, J. K. Young, G. R. Baker, R. L. Potter, L. Audoly, D. Cooper, C. D. Weis, K. Morris, C. S. Johnson, *ibid.* **1993**, 26, 2394; Y. Guo, K. H. Langley, F. E. Karasz, *ibid.* **1992**, 25, 4902; C. J. Hawker, K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4375; P. M. Saville, J. W. White, C. J. Hawker, K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 293; N. J. Turro, J. K. Barton, D. A. Tomalia, *Acc. Chem. Res.* **1991**, 24, 332.
- [3] G. R. Newkome, C. N. Moorefield, *Adv. Dendritic Macromol.* **1993**, 1, 1; H. Meikelburger, W. Jaworek, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 1609; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 1571; H. B. Meikelburger, K. Rissanen, F. Vögtle, *Chem. Ber.* **1993**, 126, 1161; D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard III, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 119; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 138.
- [4] C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1010; C. J. Hawker, J. M. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7638.
- [5] K. L. Wooley, C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4252.
- [6] R. Spindler, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 913.
- [7] C. J. Hawker, K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 1287.

Ein neuer Reaktionsmechanismus für die Kupplung von Nucleophilen an Agarose mit 2,2,2-Trifluorethansulfonylchlorid**

Anastasios Demiroglou, Cornelia Bandel-Schleßelmann und Herbert P. Jennissen*

Sulfonylchloride wie Tosylchlorid und 2,2,2-Trifluoroethansulfonylchlorid (Tresylchlorid^[1]) gehören zu den am weitesten verbreiteten Reagentien für nucleophile Reaktionen. Vor über zehn Jahren wurde die Tresylchloridmethode zur Synthese von Trägermaterialien zur Affinitätschromatographie eingeführt^[2]. Heute wird Tresylchlorid in vielen Bereichen zur Aktivierung

fester Phasen mit primären Hydroxygruppen und anschließender Kupplung mit primären Aminen oder Thiolen eingesetzt^[3–14]. Gleichung (a) beschreibt die „Tresylierung“ einer festen Phase, z.B. des Polysaccharids Agarose (Tresyl-Agarose, Tresyl-Sepharose)^[12]. Man nahm bisher an^[2], daß die anschließende Kupplung von Thiolen und Aminen nach Gleichung (b) bzw. (c) abläuft.



Der in den Gleichungen (a)–(c) implizierte Mechanismus wurde jedoch nie bewiesen^[2–5,10]. Die unerwarteten Proteinbindungseigenschaften der mit Tresylchlorid hergestellten Alkylthioagarosen^[14–16] veranlaßten uns, den Reaktionsmechanismus durch systematische Elementaranalysen der Endprodukte zu überprüfen. Die Elementaranalysen der Kupplungsprodukte von Tresylagarose stehen im Widerspruch zu den Gleichungen (b) und (c)^[16], die, wie sich im Verlauf der Arbeiten herausstellte, falsch sind.

Eine typische Analyse der Kupplungsprodukte, die nach Tresylchlorid-Aktivierung von Sepharose 4B erhalten werden, ist in Tabelle 1 gezeigt. In den Experimenten 1–5 kann die kovalente Tresylierung der Sepharose leicht anhand der Schwefelanalyse verfolgt werden. Diese Befunde stehen in Einklang mit denen von Mosbach und Nilsson^[2]. Durch SIMS-Analysen (Exp. 1 und 2) kann ein dem Fluor des Tresylrestes entsprechendes Signal an Tresyl-Sepharose nachgewiesen werden. Eine Kupp-

Tabelle 1. Analyse der Produkte der Kupplung von Tresylchlorid-aktivierter Sepharose mit Butanthiol und Butylamin [a].

Experiment	Ausgangsmaterial Tresyl-Sepharose			Reaktion mit	Produkt				
	Schwefel- analyse [µg-Atom/g trockenes Gel]	SIMS-Analyse [b] F ⁻ -Intensität	F ⁻ /CH ₂		Elementaranalysen		eingebaute Butyl- reste, ¹⁴ C-Analyse [µmol/g trockenes Gel]	SIMS-Analyse [b] F ⁻ -Intensität F ⁻ /CH ₂	
					Schwefel [µg-Atom/g trockenes Gel]	Stickstoff			
1	328	2070	0.487	Butanthiol	697	0	426	46	0.006
2	863	3874	NB	Butanthiol	1628	0	604	382	NB
3	251	NB	NB	Butanthiol	488	0	328	NB	NB
				Butylamin	NB	NB	342	NB	NB
4	906	NB	NB	Butanthiol	1933	0	1073	NB	NB
				Butylamin	850	814	871	NB	NB
5	992	NB	NB	Butanthiol	2023	0	1151	NB	NB
				Butylamin	907	1000	957	NB	NB

[a] Die Aktivierung von Sepharose 4B mit Tresylchlorid und die Kupplung mit Butylthiol oder -amin sind in Lit. [14] und im Text beschrieben. Zu den Elementaranalysen (S, N) siehe Experimentelles und zur ¹⁴C-Traceranalyse siehe Lit. [22]. Für weitere Einzelheiten siehe Experimentelles und Text. NB: nicht bestimmt. [b] SIMS-Analyse: Die Kontrollwerte für unsubstituierte Sepharose 4B (siehe Tabelle 2, Exp. 1) wurden subtrahiert.

[*] Prof. Dr. H. P. Jennissen, A. Demiroglou, C. Bandel-Schleßelmann
Institut für Physiologische Chemie der Universität-Gesamthochschule
Hufelandstraße 55, D-45122 Essen
Telefax: Int. + 201/723-4694

[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie (Förderkennzeichen: 07024610) und von der Europäischen Gemeinschaft (EC Joint Research Project C11*-CT91-0888) gefördert. Wir danken Dipl.-Ing. H. Bandmann (Institut für Organische Chemie der Universität-Gesamthochschule Essen) für die Messung der ¹H-NMR- und ¹⁹F-NMR-Spektren, Dr. M. K. Otto und Prof. Dr. J. Wissler (Fraunhofer-Institut für Grenzflächen und Bioverfahrenstechnik, Stuttgart) für die Bestimmung von Fluorid, Dr. C. Plog (Dornier GmbH, Friedrichshafen) für die Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS)-Messungen, G. Brauner und V. Hiltenkamp (Institut für Mikroanalytik der Universität-Gesamthochschule Essen) für die Elementaranalysen von Stickstoff und Schwefel und Dr. E. Logemann (Freiburg) für Diskussionen.

lung mit Butanthiol (Exp. 1–5) führt zu einer Abnahme des SIMS-Fluorsignals um den Faktor 45 in Experiment 1 und um den Faktor 10 in Experiment 2, was in beiden Fällen in Einklang mit der Freisetzung des 2,2,2-Trifluorethansulfonsäurerestes steht. Die weitere Produktanalyse (Tabelle 1) zeigt jedoch, daß der Schwefelgehalt nach der Kupplung nicht wie erwartet konstant geblieben, sondern in allen Experimenten um den Faktor zwei angestiegen ist. Der Anstieg im Schwefelgehalt des Gels entspricht genau der Menge kovalent eingebauter ¹⁴C-Butylthioester, was auf ein 1:1-Verhältnis von ursprünglich vorhandenem Tresylchloridschwefel zu Alkylthioschwefel hinweist. Ein sehr ähnliches Ergebnis erhält man, wenn Butylamin an Tresyl-Sepharose (Exp. 3–5) gekuppelt wird. In diesen Fällen