

Synthese von spezifisch deuterierten und undeuterierten Ceramiden des Dihydrosphingosins, Sphingosins und Phytosphingosins sowie eines spezifisch deuterierten Isopropylmyristats

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Naturwissenschaftlichen Fakultät I
Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg,

vorgelegt.

Eingereicht von: M. Sc. Stefan, Lange
Geboren am: 23.01.1986 in Köthen
Gutachter: 1. Prof. Dr. Bodo Dobner
2. Prof. Dr. Peter Imming
3. Prof. Dr. Michael Gütschow

Halle (Saale) im Oktober 2021

verteidigt am 13. April 2022

I. Inhaltsverzeichnis

I.	Inhaltsverzeichnis.....	I
II.	Abkürzungsverzeichnis.....	IV
III.	Abbildungsverzeichnis.....	VI
1.	<u>Einleitung</u>	1
1.1	Funktion der menschlichen Haut.....	1
1.2	Aufbau der menschlichen Haut.....	1
1.3	Das Stratum Corneum.....	3
1.4	Stofftransport in und durch das Stratum Corneum.....	3
1.5	Die Lipidmatrix des Stratum Corneum und die Bedeutung der Ceramide.....	5
1.5.1	Ceramide - Aufbau und Nomenklatur.....	5
1.5.2	Die Lipidmatrix des Stratum Corneum.....	7
1.6	Physikochemische Untersuchungsmethoden.....	11
1.6.1	Neutronendiffraktion.....	11
1.6.2	Deuterium-Festkörper-NMR Spektroskopie.....	13
2.	<u>Zielstellung der Arbeit</u>	17
3.	<u>Synthetisch präparative Arbeiten</u>	18
3.1	Synthese des Isopropyl-D ₂₅ -myristats.....	18
3.2	Synthese des Dihydrosphingosins.....	18
3.3	Synthese der deuterierten und undeuterierten Fettsäuren.....	19
3.3.1	α -Hydroxyfettsäuren nach MORI.....	19
3.3.2	30-[[[(10R <i>S</i>)-D ₃₃ -10-Methylhexadecanoyl]oxy}triacontansäure.....	21
3.3.3	30-Linoleoyloxytriacontansäure und 30,30-D ₂ -30-Linoleoyloxytriacontansäure.....	22
3.4	Synthesekonzept der Ceramide.....	28
3.4.1	Perdeuterierte Fettsäuren.....	28
3.4.2	α -Hydroxyfettsäuren - alternativer Weg über die Zwischenstufe der α -Bromsäuren.....	30
3.4.3	Amidknüpfung.....	32
3.4.4	Diastereomerentrennung bei racemischen Ceramiden.....	35
4.	<u>Zusammenfassung und Ausblick</u>	39
5.	<u>Experimenteller Teil</u>	42

5.1	Reinigung von Chemikalien, Lösungsmittel sowie Zwischen- und Endverbindungen	42
5.1.1	Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel.....	42
5.1.2	Vorbehandlung von Chemikalien und Trocknung von Lösungsmitteln.....	43
5.1.3	Säulenchromatographie.....	44
5.1.4	Reinigung von Zwischen- und Endverbindungen.....	44
5.1.5	Reinigung der CER vom Typ CER[EOS], CER[NDS] und CER[NS].....	45
5.1.6	Reinigung der CER vom Typ CER[EOP] und CER[NP].....	45
5.1.7	Reinigung und Diastereomerenentrennung der CER vom Typ CER[ADS], CER[AP] und CER[AS].....	46
5.2	Analytische Methoden	46
5.2.1	Elementaranalyse (EA).....	46
5.2.2	Schmelzpunktbestimmung.....	46
5.2.3	Dünnschichtchromatographie.....	47
5.2.4	High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	47
5.2.5	Massenspektrometrie.....	47
5.2.6	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) – ¹ H- und ¹³ C-NMR.....	48
5.3	Synthesevorschriften	48
5.3.1	Synthese des Isopropyl-D ₂₅ -myristats (6).....	49
5.3.2	Synthese des Dihydrosphingosins (9).....	51
5.3.3	Synthese der (2 <i>RS</i>)-2-Hydroxy-D ₃₃ -octadecansäure (26) bzw. der (2 <i>RS</i>)-2-Hydroxy-D ₄₅ -tetracosansäure (27) nach MORI.....	51
5.3.4	Synthese der 30-[[<i>(10RS)</i> -D ₃₃ -10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäure (35).....	58
5.3.5	Synthese der 30-Linoleoyloxytriacontansäure (36) und 30,30-D ₂ -30-Linoleoyloxytriacontansäure (37).....	60
5.3.5.1	Synthese des 15-Brompentadecyl(<i>p</i> -methoxybenzyl)ethers (38), Methode 1.....	60
5.3.5.2	Synthese des 15-Brompentadecyl(<i>p</i> -methoxybenzyl)ethers (38), Methode 2.....	63
5.3.5.3	Synthese des 15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (39) und 1,1-D ₂ -15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (40).....	66
5.3.5.4	Synthese der Linoleoyloxyalkansäuretrichlorethylester 65 und 66	70

5.3.5.5	Synthese der 30-(Linoleoyloxy)triacontansäure (36) und 30,30-D ₂ -30-(Linoleoyloxy)triacontansäure (37).....	78
5.3.6	Allgemeine Synthesemethoden zur Darstellung von Ceramiden.....	80
5.3.6.1	Darstellung von perdeutერიerten Fettsäuren.....	80
5.3.6.2	Synthese der (2 <i>RS</i>)-2-Hydroxyfettsäuren über die Zwischenstufe der (2 <i>RS</i>)-2-Bromsäuren.....	80
5.3.6.3	Allgemeine Methode zur Darstellung der CER vom Typ CER[EOP], CER[EOS], CER[NDS], CER[NP] und CER[NS].....	82
5.3.6.4	Allgemeine Methode zur Darstellung der CER vom Typ CER[ADS], CER[AP] und CER[AS].....	83
5.3.7	Synthese der Ceramide.....	84
5.3.7.1	Synthese der Ceramide vom Typ CER[NDS].....	84
5.3.7.2	Synthese der Ceramide vom Typ CER[NP].....	85
5.3.7.3	Synthese der Ceramide vom Typ CER[NS].....	86
5.3.7.4	Synthese der Ceramide vom Typ CER[EO].....	88
5.3.7.5	Synthese der Ceramide vom Typ CER[ADS].....	90
5.3.7.6	Synthese der Ceramide vom Typ CER[AP].....	92
5.3.7.7	Synthese der Ceramide vom Typ CER[AS].....	95
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	99
7.	<u>Anhang</u>	i

II. Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut
ber.	berechnet
BOP [®]	(Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat
CER	Ceramid(e)
d	Duplett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Duplett vom Duplett
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DHP	3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	Dimethylformamid
dt	Duplett vom Triplet
EA	Elementaranalyse
e.e.	Enantiomerenüberschuss
EEDQ	2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin
ESI	Electro Spray Ionization
EtOH	Ethanol
Fp	Schmelzpunkt/ -bereich
gef.	gefunden
ges.	gesättigt(e)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
IPM	Isopropylmyristat
konz	konzentriert(e)
LPP	Long Periodicity Phase
m	Multiplet
M+ / M-	Molpeak (MS, HRMS)
MeOH	Methanol
MP	mobile Phase

NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PyrTos	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
PyBOP [®]	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidonophosphoniumhexafluorophosphat
R _f	Retention Factor (DC)
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SC	Stratum Corneum
SCh	Säulenchromatographie
SPP	Short Periodicity Phase
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran

III. Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1	Senkrechter Schnitt durch die Haut ^[14]	1
Abbildung 2	„Brick and Mortar“ Modell nach LANDMANN ^[21]	3
Abbildung 3	Schematische Darstellung des SC und mögliche transepidermale Penetrationswege sowie makroskopische und molekulare Domänen nach BARRY ^[37] , bearbeitet und übersetzt durch LANGE.....	4
Abbildung 4	Schematische Darstellung von DL-CER[AP18].....	5
Abbildung 5	Übersicht zur chemischen Struktur und Nomenklatur der CER nach MOTTA et al. ^[74] , in Großbuchstaben und in Klammern die Benennung anhand ihrer chromatographischen Laufeigenschaften (es ist zu beachten, dass die Ceramide mit Dihydrosphingosin nicht nach ihren chromatographischen Eigenschaften eingeteilt wurden).....	6
Abbildung 6	Übersicht zur erweiterten Nomenklatur.....	7
Abbildung 7	CER-Konformationen nach KISELEV et al. ^[90]	8
Abbildung 8	Sandwich-Modell nach KESSNER et al. ^[118] , bearbeitet und übersetzt durch LANGE.....	10
Abbildung 9	Schematischer Aufbau eines Streuexperiments nach WINTER et al. ^[137] , bearbeitet durch LANGE.....	11
Abbildung 10	Neutronenstreuprozess gemäß BRAGG'scher Gleichung nach WINTER et al. ^[137] , bearbeitet durch LANGE.....	12
Abbildung 11	Aufbau MAS-Experiment nach WINTER et al. ^[137] , bearbeitet durch LANGE.....	14
Abbildung 12	Vereinfachte Darstellung zur Auswertung von CER-Festkörper-NMR-Spektren in Anlehnung an STAHLBERG et al. ^[169-171]	16
Abbildung 13	Darstellung des deuterierten Isopropylmyristats 6	18
Abbildung 14	Darstellung des Dihydrosphingosins (9).....	18
Abbildung 15	Umsetzung der Säuren 11 und 12 in die Bromalkane 19 und 20	19
Abbildung 16	Umsetzung der Bromalkane 19 und 20 in die α -Hydroxyfettsäuren 26 und 27	20

*

Abbildungen, die durch mich bearbeitet sind und hierdurch von der Originalquelle abweichen, wurden entsprechend gekennzeichnet. Bei Abbildungen mit der Bemerkung „bearbeitet durch LANGE“ erfolgte eine Anpassung der Originalschriftart in Times New Roman. Bei Abbildungen mit dem Vermerk „bearbeitet und übersetzt durch LANGE“ wurden die englischen Begriffe durch die deutschen Übersetzungen ausgetauscht. Eine inhaltliche Änderung der Abbildungen im Vergleich zur angegebenen Quelle erfolgte nicht.

Abbildung 17	Synthese der Methylhexadecanoyltriacontansäure 35 ausgehend von der Methylhexadecansäure 30	21
Abbildung 18	Syntheschema zur Darstellung der Grundkörper 38 , 39 und 40 ausgehend vom Lacton 44	22
Abbildung 19	Syntheschema zur Darstellung der Linoleoyloxytriacontansäuretrichlor-ethylester 65 und 66	24
Abbildung 20	Umsetzung der geschützten Säuren 65 und 66 in die freien Säuren 36 und 37 bzw. zum CER[EOS]-D ₂ 67	26
Abbildung 21	Darstellung der α -Hydroxyfettsäuren 75-77 über die Zwischenstufe der α -Bromsäuren 72-74	31
Abbildung 22	Darstellung der deuterierten α -Hydroxyfettsäuren 25 und 27 über die Zwischenstufe der α -Bromsäuren 69 und 78	31
Abbildung 23	Syntheschema der dargestellten CER vom Typ CER[EO], CER[NDS], CER[NP] und CER[NS].....	33
Abbildung 24	Syntheschema der dargestellten DL-CER vom Typ CER[ADS], CER[AP] und CER[AS].....	34
Abbildung 25	Räumliche Ausrichtung der Diastereomere von CER[AP] nach PASCHER mit Wasserstoffbrückenbindungen, ^[285] bearbeitet und übersetzt durch LANGE	37
Abbildung 26	Übersicht der erhaltenen L- und D-Diastereomere, ausgehend vom entsprechenden DL-CER	38

1. Einleitung

1.1 Funktion der menschlichen Haut

Die Haut bildet die äußere Körperoberfläche von höher differenzierten Organismen und dient der Abgrenzung gegenüber der Umwelt. Beim erwachsenen Menschen nimmt sie etwa eine Fläche von 1.7-2.3 m² ein.^[1-2]

Durch eingelagerte Sinneszellen, genannt seien hier Merkel-Zellen oder Meißner-Tastkörperchen sowie freie Nervenendigungen, wie beispielsweise Mechano-, Schmerz-, Druck- und Temperaturrezeptoren, ist sie ein wichtiges Sinnesorgan.^[2-3] Neben diesen Sinnesfunktionen erfüllt die Haut noch weitere bedeutende Aufgaben. Hierzu zählt etwa die Regulierung des Wasser- und Temperaturhaushaltes des Körpers.^[2-3] Ebenso ist sie an verschiedenen Immunreaktionen beteiligt und dient der Kommunikation mit anderen Individuen.^[2-3] Aufgrund ihres vielschichtigen Aufbaus schützt sie den Körper gleichzeitig vor mechanischen, thermischen und chemischen Einflüssen.^[2-3] Eine Beeinflussung dieser Funktionen kann durch Krankheiten erfolgen, als Beispiele seien an dieser Stelle atopische Dermatitis^[4-6], Psoriasis^[7-8] sowie die verschiedenen Formen der Akne^[9-10] genannt. Eine weitere bedeutsame Aufgabe ist die körpereigene Biosynthese von Vitamin D₃, einer Vorstufe des für den Calcium-Haushalt essentiell wichtigen Hormons Calcitriol, welches unter Einfluss von UV-Licht in den Keratinozyten aus 7-Dehydrocholesterol gebildet wird.^[10-11] Ein Mangel von Vitamin D₃ kann zu einer gestörten Mineralisierung der Knochen führen, was sich bei Kindern in Form einer Rachitis bzw. bei Erwachsenen als Osteomalazie manifestieren kann.^[10-13]

1.2 Aufbau der menschlichen Haut

Die menschliche Haut, deren Aufbau schematisch in Abbildung 1 dargestellt ist, besteht aus zwei Hauptschichten, der inneren Subcutis, auch Unterhaut genannt, sowie der äußeren Cutis. Letztere wird noch einmal in Dermis (Lederhaut bzw. Korium) und Epidermis (Oberhaut) unterteilt.^[2, 10] An die Epidermis schließen sich dann Hautanhangsgebilde wie verschiedene Hautdrüsen, Haare und Nägel an.^[2, 10]

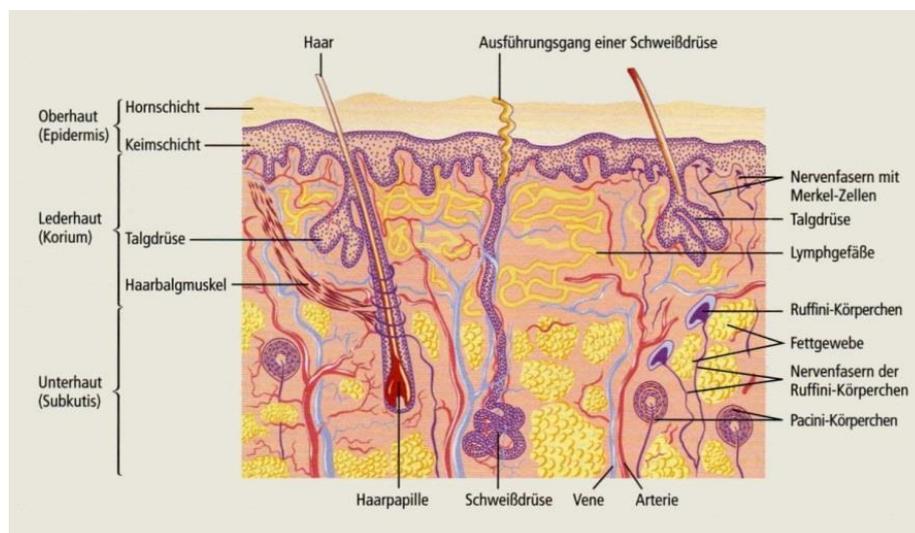


Abbildung 1 Senkrechter Schnitt durch die Haut^[14]

Die einzelnen Hautschichten sollen nun gesondert und vertiefend betrachtet werden, beginnend mit der Subcutis. Sie ist die unterste Schicht der Haut und besteht zum größten Teil aus lockerem, fettgewebsreichem Bindegewebe.^[2] Dieser spezielle Aufbau ermöglicht die Beweglichkeit und Elastizität der Haut.^[2, 15-16] Das eingelagerte Fett schützt den Organismus vor mechanischen sowie thermischen Einflüssen und dient gleichzeitig als Energiereserve, wobei die Fetteinlagerung individuell und regional unterschiedlich stark ausgebildet ist.^[2]

An die Subcutis schließt sich die Dermis an. Bedingt durch ihr dichtes Geflecht aus kollagenen und elastischen Fasern gewährleistet sie die mechanische Belastbarkeit der Haut, wie beispielsweise deren Verformbarkeit und Reißfestigkeit.^[2] Neben Lymphgefäßen ist sie auch von feinen Blutkapillaren durchzogen, welche der Versorgung der Grenzzone zur Epidermis dienen. Letztere haben in Zusammenarbeit mit der ebenso vorkommenden glatten Muskulatur außerdem eine wichtige Rolle bei der Thermoregulation des Körpers.^[2, 17]

Die anschließende Epidermis besitzt je nach Körperregion eine Dicke von 0.1-1.5 mm.^[2] Sie wird noch einmal in folgende Schichten von innen nach außen unterteilt: Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum und Stratum Corneum (SC).^[2] Innerhalb des Epithelverbandes der Epidermis sind verschiedene Zellarten eingelagert, wie beispielsweise die bereits erwähnten Merkel-Zellen, Langerhans-Zellen oder Melanozyten. Letztere sind an der Biosynthese und Einlagerung von Melanin in der Haut unter Einfluss von UV-Licht beteiligt.^[2, 18] Die am häufigsten vorkommenden Zellen in der Epidermis sind die Keratinozyten. Gebildet werden sie durch Mitose aus epidermalen Stammzellen im Stratum basale, wobei eine Schwesterzelle in das Stratum spinosum wandert und die Verbliebene sich erneut teilt. Auf diese Weise werden die Keratinozyten durch nachfolgende Zellen in Richtung Hautoberfläche geschoben. Währenddessen kommt es zur Differenzierung der Keratinozyten hin zu Korneozyten. Teil dieses Prozesses ist eine fortwährende Bildung und Einlagerung von Keratin, woraufhin eine Verhornung der Zelle stattfindet. Dieser Keratinisierung genannte Prozess führt allmählich zu einer Veränderung der ursprünglich zylindrischen Form und die Zellen flachen im Verlauf immer weiter ab. Parallel dazu läuft ein definiertes Apoptoseprogramm ab, indem sämtliche Zellorganellen im Laufe der Differenzierung verstoffwechselt werden. Durch die Ausbildung von Corneodesmosomen und Tonofilamenten im nun folgenden Stratum spinosum wird der zuvor lockere Zellverband dann verfestigt.^[3, 10, 19] Im anschließenden Stratum granulosum sind die sogenannten Odland Bodies zu finden, hierbei handelt es sich um membranumschlossene Lamellengranula.^[10, 20] Neben Glykoproteinen und Enzymen enthalten diese eine große Anzahl an verschiedenen Lipiden. Letztere besitzen eine bedeutende Rolle bei der Ausbildung der Lipidmatrix (LM) des angrenzenden SC.^[20-22] In dieser letzten Schicht ist die Umwandlung der Keratinozyten hin zu Korneozyten vollständig abgeschlossen. Auf die Bedeutung und den speziellen Aufbau dieser Schicht wird im nächsten Teil der Arbeit genauer eingegangen. Auf dem SC befindet sich das Stratum disjunctum. Eine dünne undifferenzierte Schicht von beschädigten Korneozyten, welche ihre Integrität sowie Funktion verloren haben und aus dem Zellverbund teilweise bzw. ganz herausgelöst sind. Aufgrund dessen sie von selbst oder durch Einwirkung von äußeren physikalischen Kräften abschilfern.^[23]

1.3 Das Stratum Corneum

Wie bereits im vorangegangenen Teil der Arbeit erwähnt, ist das SC die äußerste Schicht der Epidermis. Sie besteht aus 15-30 Zellschichten und hat je nach Region am Organismus eine Dicke von ca. 9-20 μm .^[24-29] Der pH-Wert in den obersten Schichten von ca. 5.5 ist wichtig für die bakterielle sowie fungale Mikroflora der Haut.^[10, 30] Weiterhin ist er für die Regulation der Enzymaktivität von großer Bedeutung, so beeinflusst der pH-Wert die Keratinisierung der Keratinozyten und hierdurch auch indirekt die Regeneration des SC.^[30] Aufgrund ihrer Lage und ihres besonderen Aufbaus ist das SC zugleich Speichersystem als auch Barriersystem der Haut in einem.^[10, 31] Durch den vergleichsweise geringen Wassergehalt (18 bis 58 %^[32]) und der miteinhergehenden verminderten Wasserdurchlässigkeit schützt sie den Körper zum einen vor exogenen invasiven sowie irritierenden Einflüssen und zum anderen verhindert sie das Austrocknen des Körpers durch übermäßigen transepidermalen Wasserverlust.^[32-33]

Eine der ältesten und einfachsten Darstellungen zum Aufbau des SC ist das sogenannte „Brick and Mortar“ Modell, siehe Abbildung 2.^[21, 34] Die Korneozyten nehmen in diesem Modell die Rolle der Backsteine („brick“) ein, welche der Mauer ihre mechanische Stabilität verleihen. Diese wird zusätzlich durch die Vernetzung der Korneozyten untereinander mithilfe von

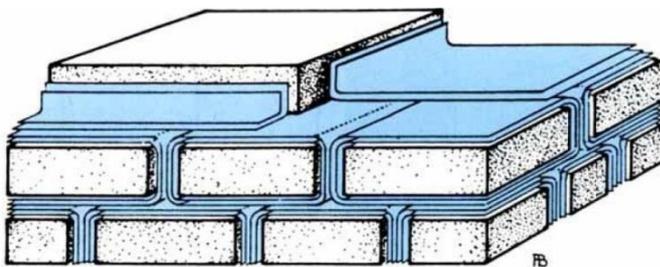


Abbildung 2 „Brick and Mortar“ Modell nach LANDMANN^[21]

Korneodesmosomen erhöht.^[19] Die Mörtelschicht („mortar“) dazwischen ist die Lipidmatrix, welche wiederum für die Barriereigenschaften verantwortlich ist. Der Aufbau dieser Matrix des SC und die Bedeutung der enthaltenen Ceramide (CER) ist Gegenstand der Betrachtungen im Kapitel 1.5. Neuere Modelle zum

Aufbau des SC gehen dagegen eher von einer kubischen Geometrie bzw. einer Grundstruktur ähnlich eines Dodekaeders aus.^[35-36]

1.4 Stofftransport in und durch das Stratum Corneum

Für das Durchdringen von exogenen Stoffen, beispielhaft seien hier Arzneistoffe genannt, durch das SC auf dem transepidermalen Weg werden folgende Penetrationswege postuliert: der interzelluläre Weg zwischen den Korneozyten und der direktere transzelluläre Weg, siehe hierzu auch Abbildung 3. Aufgrund des stetigen Wechsels von lipophiler und hydrophiler Schicht wird Letzterer allerdings als äußerst unwahrscheinlich angesehen.

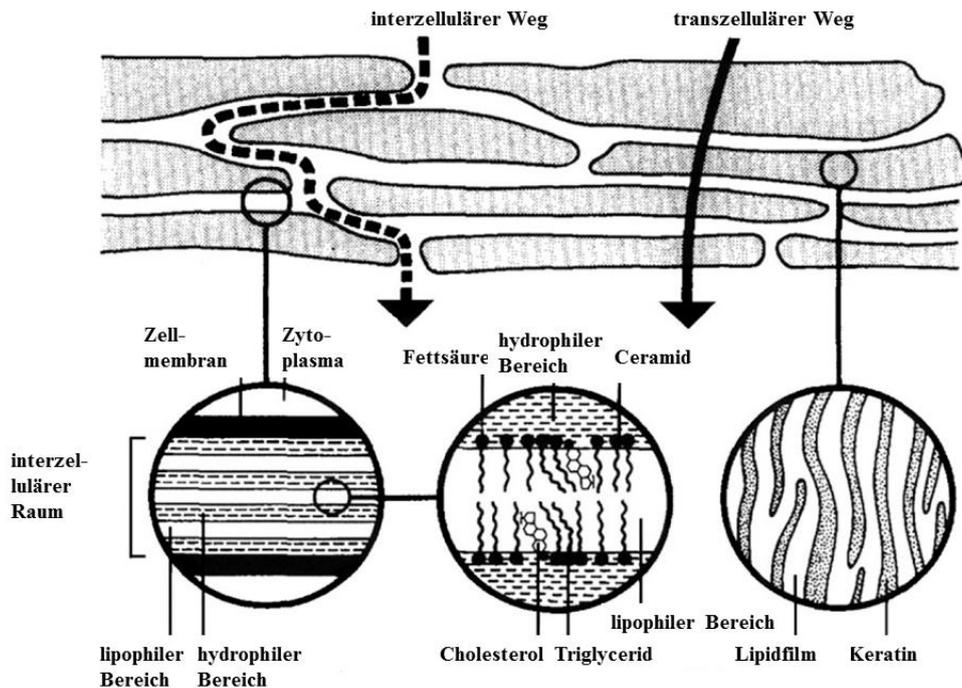


Abbildung 3 Schematische Darstellung des SC und mögliche transepidermale Penetrationswege sowie makroskopische und molekulare Domänen nach BARRY^[37], bearbeitet und übersetzt durch LANGE

Die perkutane Resorption über den interzellulären Weg wird weitestgehend von den physikochemischen Eigenschaften der Stoffe bestimmt.^[38] Die 500 Dalton-Regel, welche besagt, dass Substanzen mit einem Molekulargewicht größer 500 Dalton die Haut nicht penetrieren können^[39], wurde durch neuere Untersuchungen mit größeren Hautsensibilisatoren nahezu gänzlich widerlegt.^[40] Jedoch ist generell zu beachten, dass die Bioverfügbarkeit von topisch applizierten Verbindungen bisher für gewöhnlich sehr gering ist.^[41] Um diese zu erhöhen gibt es in der Wissenschaft verschiedene Ansätze für dermale und transdermale Drug Delivery Systeme. Ein aussichtsreicher Kandidat hierfür sind sogenannte Microemulsionen.^[42-44] Diese transparenten, thermodynamisch stabilen, kolloidalen Dispersionen zeichnen sich durch ihre äußerst geringe Viskosität aus.^[45-46] Bestandteile sind neben Wasser und Öl stets ein Tensid in Kombination mit einem weiteren Co-Tensid.^[45-46] Sie sind durch ihren Aufbau in der Lage die Penetration von hydrophilen, lipophilen und amphiphilen Substanzen signifikant zu steigern. Es gibt unterschiedliche Ansätze die Bioverfügbarkeit von verschiedenen Stoffen wie CER[NP]^[47], Theophyllin^[46], Finasteride^[48] oder Lidocain^[49] zu erhöhen. Eine weitere vielversprechende Möglichkeit zur Verbesserung der Wirkstoffverfügbarkeit sind sogenannte Enhancer. Dies sind Stoffe, die durch Interaktion mit der LM bzw. mit den Proteinen des SC die Absorption von Arzneimitteln erleichtern sollen. Zwar ist die Wirkungsweise auf molekularer Ebene noch nicht vollständig aufgeklärt, jedoch werden verschiedene Modelle diskutiert.^[50] Zum einen wird diskutiert, dass Enhancer eine fluidisierende Wirkung auf die LM des SC haben, und zum anderen, dass sie eine Phasentrennung innerhalb der LM hervorrufen können.^[50-52] Ein häufig in halbfesten und flüssigen Arzneiformen sowie Kosmetikprodukten verwendeter Enhancer ist das Isopropylmyristat (IPM), welches die Resorption verschiedener Stoffe durch die Haut verbessern soll. Dieser Effekt kann durch Kombination mit anderen Enhancern noch gesteigert werden.^[53] Weitere Vorteile dieses natürlich vorkommenden Isopropylesters der

Myristinsäure sind seine Hautverträglichkeit, toxikologische Unbedenklichkeit und das gute Spreitungsvermögen.^[54] Zudem dient es als Lösungsvermittler bzw. Lösungsmittel für lipophile Steroidhormone, Antibiotika oder Vitamine in Salben und Emulsionen.^[54] In Experimenten konnten ENGELBRECHT et al. und SCHRÖTER et al. aufzeigen, dass das IPM komplett in die Lipiddoppelschicht der dort verwendeten Modellmembranen eingebaut wurde und hierdurch im Vergleich zum Modellsystem die Ausbildung von zwei unterschiedlichen Phasen beobachtet werden konnte.^[55-56] In weiteren Versuchen unter Anwendung von Neutronendiffraktion und Deuterium Festkörper-NMR konnten EICHNER et al zeigen, dass der Einsatz von IPM zu einer Reduktion der Ordnung in der lamellaren Lipidstruktur führte und so die Barriereigenschaften der Modellmembran verringerte.^[57]

Ein anderer Ansatz für die Penetration von exogenen Stoffen durch das SC besteht über die Ausführungsgänge von Haarfollikeln (follikulärer Weg) und über die Talg- bzw. Schweißdrüsen (transglandulärer Weg).^[58] Aufgrund des geringen Flächenanteils im Verhältnis zur Gesamtoberfläche der Haut wurde diesen in der Vergangenheit eine untergeordnete Bedeutung zugesprochen. Neuere Ansätze mit Nanopartikeln als Drug Delivery System nutzen die hier vorkommenden anatomischen Besonderheiten aus und lassen so dem follikulären Weg in letzter Zeit eine verstärkte Relevanz zukommen.^[38, 59-61]

1.5 Die Lipidmatrix des Stratum Corneum und die Bedeutung der Ceramide

1.5.1 Ceramide - Aufbau und Nomenklatur

Wie bereits im vorigen Abschnitt erwähnt, sind CER ein Hauptbestandteil der Lipidmatrix des SC. Der Aufbau ist am Beispiel von DL-CER[AP18] in Abbildung 4 schematisch dargestellt. Die Grundstruktur der CER besteht aus einer Fettsäure (rot) und einer Sphingoidbase (schwarz), welche über eine Säure-Amidbindung (grün) miteinander verbunden sind. Die meisten CER haben einen asymmetrischen Aufbau, die Anzahl der Kohlenstoffatome ist in



Abbildung 4 Schematische Darstellung von DL-CER[AP18]

der Fettsäure höher als in der Sphingoidbase. Die Anzahl an Kohlenstoffatomen in den Fettsäuren variiert meistens zwischen 16 und 26^[62-64], wobei Lignocerinsäure hier die am häufigsten vorkommende ist.^[65-66] Lediglich bei den ω -Hydroxyfettsäuren sind Fettsäuren mit einer höheren Anzahl an Kohlenstoffatomen zu finden.^[62-63, 67] Die Säuren der CER weisen eine

unterschiedliche Anzahl an OH-Gruppen auf. Neben den unsubstituierten Säuren besitzen über 40 % eine in α -Position und etwa 9 % eine in ω -Position, wobei letztere meist mit Linolsäure verestert sind.^[62-63, 65, 67] Lediglich bei einem sehr geringen Anteil ist dies nicht der Fall.^[65] Generell sind ca. 5-6 % der enthaltenen Fettsäuren in CER entweder einfach oder zweifach ungesättigt.^[65]

Bei den Sphingoidbasen sind Kettenlängen mit 18, 20 und 22 Kohlenstoffatomen am häufigsten vertreten.^[62, 67] Weiterhin unterscheiden sie sich in ihrer chemischen Struktur anhand der Anzahl und jeweiligen Position sowie der An- oder Abwesenheit einer

Doppelbindung. Die OH-Gruppen sind, soweit bekannt, immer an Position C1 und C3 sowie optional an C4 oder C6 zu finden, während die mögliche Doppelbindung zwischen C4 und C5 liegt. Eine Veröffentlichung aus dem Jahre 2012 von KINDT et al. postulierte zudem erstmalig ein CER mit vier OH-Gruppen in der Sphingoidbase, die Bestimmung der chemischen Struktur gelang jedoch nicht.^[65] Im Jahr 2013 wurde zudem erstmalig auch von CER im SC mit einer Veresterung der OH-Gruppe in α -Position der Sphingoidbase berichtet.^[68-69] Verschiedene Untersuchungen an CER zeigten außerdem, dass eine ungerade Anzahl an Kohlenstoffatomen zwar vorkommt, jedoch sehr selten ist.^[67, 70-71] Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die CER des SC eine inhomogene und strukturell hoch komplexe Substanzklasse sind.

Aus diesem Grund werden sie in mehrere Subspezies unterteilt. Ein hierfür anfänglich verwendetes Zahlensystem zur Einteilung der CER beruhte auf ihren chromatographischen Laufeigenschaften und der Reihenfolge ihrer Entdeckung.^[62, 72-73] Jenes wurde jedoch, auch aufgrund der hohen Komplexität der CER, in der gegenwärtigen Literatur weitestgehend durch ein kombinatorisches Buchstabensystem nach MOTTA et al. abgelöst.^[74] Im Laufe der Jahre wurde dieses dann durch verschiedene Arbeitsgruppen weiterentwickelt und verfeinert.^[65, 69, 75] Das System basiert auf der in diesem Abschnitt bereits einleitend beschriebenen Grundstruktur der CER, der vordere Teil beschreibt dabei die Fettsäure und der hintere Teil des Buchstabensystems die Sphingoidbase. Beide Varianten der Nomenklatur sind für die 12 am häufigsten vorkommenden CER im SC noch einmal in der Abbildung 5 gegenübergestellt.^[76]

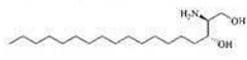
Fettsäure \ Sphingoidbase	Non-Hydroxyfettsäure [N]	α -Hydroxyfettsäure [A]	veresterte ω -Hydroxyfettsäure [EO]
Dihydrosphingosin [DS] 	CER[NDS]	CER[ADS]	CER[EODS]
Sphingosin [S] 	CER[NS] (CER 2)	CER[AS] (CER 5)	CER[EOS] (CER 1)
Phytosphingosin [P] 	CER[NP] (CER 3)	CER[AP] (CER 6)	CER[EOP] (CER 9)
6-Hydroxysphingosin [H] 	CER[NH] (CER 8)	CER[AH] (CER 7)	CER[EOH] (CER 4)

Abbildung 5 Übersicht zur chemischen Struktur und Nomenklatur der CER nach MOTTA et al.^[74], in Großbuchstaben und in Klammern die Benennung anhand ihrer chromatographischen Laufeigenschaften (es ist zu beachten, dass die Ceramide mit Dihydrosphingosin nicht nach ihren chromatographischen Eigenschaften eingeteilt wurden)

Das System von MOTTA et al.^[74] musste für die dargestellten CER in dieser Arbeit entsprechend Abbildung 6 erweitert werden. Bei CER, die racemische Gemische sind, wird dem Namen an Position **x** ein **DL-** vorangestellt bzw. dann ein **L-** oder **D-** für das jeweilige reine Diastereomer. Bei den methylverzweigten ω -Acylceramiden wird der eigentlichen

x-CER[myyzz]-D_a

x: Angabe von Diastereomer/ -gemisch
m: methylverzweigte Säure enthalten
y: Buchstabencode nach MOTTA et al.
z: Anzahl Kohlenstoffatome Säure
D_a: Anzahl Deuteriumatome Säure

Abbildung 6 Übersicht zur erweiterten Nomenklatur

Nomenklatur ein **m** vorangestellt. Hierbei handelt es sich jeweils um ein Analogon zum CER[EOS] bzw. CER[EOP], wo die Linolsäure gegen eine methylverzweigte Hexadecansäure ausgetauscht wurde. An Position **yy** erfolgt die Bestimmung der Grundstruktur nach MOTTA et al.^[74] Die Zahl an Position **zz** im Namen bezieht sich immer auf die Anzahl der Kohlenstoffatome der enthaltenen Fettsäure, bei den Sphingoidbasen ist diese in der vorliegenden Arbeit dagegen konstant 18. Bei deuterierten

Verbindungen wird dem Namen ein **D_a** nachgestellt. Das **D** steht dabei für das eingebaute Deuterium und das tiefgestellte **a** gibt die exakte Anzahl an Deuteriumatomen in der Verbindung an. Die Angabe von zwei Deuteriumatomen bezieht sich stets auf die ω -Position der veresterten ω -Hydroxyfettsäure, wogegen die Angabe von drei Deuteriumatomen sich auf die endständige Methylgruppe der jeweils enthaltenen Fettsäure bezieht. Bei der Nennung von einer größeren Anzahl als drei wird immer beginnend von der ω -Position der Säure bzw. methylverzweigten Säure aus gezählt. Dieses System wurde ebenso für das deuterierte IPM übernommen.

1.5.2 Die Lipidmatrix des Stratum Corneum

Im Vergleich zu anderen Lipidsystemen wie Zell- oder Zellkernmembranen hat die LM des SC eine einzigartige Zusammensetzung, welche inter- und intraindividuell unterschiedlich ist.^[28, 77] Hauptbestandteile der LM bezogen auf die Masse sind CER (ca. 46 %), Cholesterol (ca. 27 %) und freie gesättigte Fettsäuren (ca. 27 %) mit einer Kettenlänge von ≥ 20 Kohlenstoffatomen.^[65-66, 73, 78] Das prozentuale Molverhältnis zwischen diesen drei Gruppen ist ca. 31:33:36.^[63] Weiterhin kommen Cholesterolsulfate und -ester sowie ungesättigte Fettsäuren in einem geringen Anteil vor.^[63, 79] Phospholipide, welche sonst ubiquitär in Biomembranen vorkommen und dort eine elementare Bedeutung an deren Aufbau sowie Funktionsweise haben^[11, 80], fehlen nahezu komplett.^[81-82] Zwar sind diese noch in größerer Anzahl in tieferen Schichten der Epidermis in den Keratinozyten vorhanden, jedoch nimmt ihre Häufigkeit im Laufe derer Differenzierung hin zum Korneozyten immer weiter ab.^[83] Die komplexeste Gruppe aller Bestandteile sind die CER, auf deren Aufbau und Nomenklatur bereits im vorigen Abschnitt eingegangen wurde. Sie sind maßgeblich an Aufbau und Funktionsweise der LM beteiligt. Eine Übersicht zur typischen Verteilung der am häufigsten vorkommenden CER ist in der nachfolgenden Tabelle gegeben. Eine geringe alters- oder jahreszeitlich bedingte Variation der Zusammensetzung ist zwar prinzipiell möglich^[84-85], eine Änderung führt jedoch in der Regel zur Beeinträchtigung von Struktur sowie Barrierefunktion der LM und äußert sich häufig in Form einer Vielzahl von unterschiedlichen Krankheiten. Genannt seien an dieser Stelle beispielsweise verschiedene Formen der Ichthyose^[86-87] oder atopischen Dermatitis^[4, 86, 88]. Von SCHRÖTER et al. wurde 2009 postuliert, dass der

strukturelle Aufbau der LM im SC hauptsächlich durch CER bestimmt wird.^[89] Aufgrund ihres amphiphilen Aufbaus mit der hydrophilen Kopfgruppe sowie den lipophilen, rigiden Seitenketten sind sie in der Lage hochgeordnete lamellare Systeme zu bilden, die flexibel und gleichzeitig aber auch mechanisch belastbar sowie für Makromoleküle bzw. polare Moleküle nahezu undurchdringbar sind. Aufgrund des Aufbaus mit zwei Alkylketten werden in der Literatur drei mögliche Konformationen diskutiert: zum einen die Haarnadelkonformation (Alkylketten parallel zueinander, $\alpha=0^\circ$) und zum anderen die V-förmige ($0^\circ < \alpha < 180^\circ$) sowie die voll ausgestreckte (Alkylketten zeigen in entgegengesetzte Richtung, $\alpha=180^\circ$) Konformation.^[90-91] Alle drei Formen sind noch einmal in Abbildung 7 gegenübergestellt. Bis heute konnte nicht eindeutig geklärt werden, welche der drei möglichen Ceramidkonformationen in der natürlichen LM vorkommt. Verschiedene Modellsysteme legen jedoch nahe, dass die Haarnadelkonformation die bevorzugte ist.^[92-94]

Tabelle Übersicht zur Verteilung der CER in der LM des SC

CER	Verhältnis nach MASUKAWA et al. ^[66]		Verhältnis nach KINDT et al. ^[65]		Verhältnis nach SMEDEN et al. ^[63]	
	[% _{m/m}]	[% _{mol}]	[% _{m/m}]	[% _{mol}]	[% _{m/m}]	[% _{mol}]
AH	15.73	15.42	10.77	11.01	12.59	15.73
AP	16.11	15.48	8.78	8.95	13.6	16.11
AS	3.56	3.41	9.58	10.02	3.86	3.56
EOS	4.28	6.07	6.48	4.58	5.48	4.28
NDS	5.95	5.59	9.83	10.49	8.73	5.95
NH	22.58	21.64	14.51	15.17	12.59	22.58
NP	21.31	20.48	22.10	23.04	26.19	21.31
NS	6.35	5.95	7.44	7.96	6.8	6.35
Rest*	4.13	5.96	10.51	8.78	10.16	4.13

*nicht berücksichtigt sind EOH, ADS und EOP sowie für KINDT et al.^[65] zusätzlich EODS, NT, OH, OP und OS da nur hier erwähnt

Eine weitere Möglichkeit ist, dass die CER ihre Konformation in Abhängigkeit von äußeren Bedingungen ändern können.^[95-96] Im Armature-Reinforcement Modell nach KISELEV

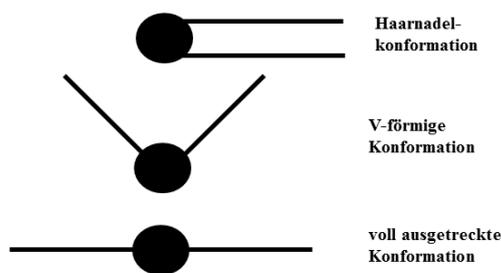


Abbildung 7 CER-Konformationen nach KISELEV et al.^[90]

wechselt CER[AP] beispielsweise in Abhängigkeit vom Wassergehalt die Konformation: bei niedrigem Wassergehalt liegt es in der gestreckten Konformation vor, wogegen es bei hohem Wassergehalt die Haarnadelkonformation einnimmt.^[96] Für die seitliche Ausrichtung wird in der Literatur eine orthorhombische oder hexagonale Ausrichtung der Seitenketten diskutiert, in Abhängigkeit von der Zusammensetzung und Interaktion der CER mit anderen Lipiden der LM.^[97]

Mithilfe der Gefrierbruchelektronenmikroskopie wurde 1973 erstmalig der multilamellare Aufbau der LM nachgewiesen.^[98] Die häufigsten beobachteten Muster sind drei, sechs oder neun übereinandergestapelte Schichten.^[99] Die Ausrichtung ist hierbei annähernd parallel zur Zelloberfläche, dies konnte durch spätere Untersuchungen der Seitenkettenregion unter Verwendung von RuO₄ als Kontrastmittel gezeigt werden.^[83, 100-102] Erstmals wurde durch Gefrierbruchelektronenmikroskopie auch die sogenannte Short-Periodicity-Phase (SPP) bei Untersuchungen an Haut von Mäusen^[100] und Menschen^[102] beobachtet. Sie wird heute gemeinhin verwendet, um die Basisstruktur der LM zu beschreiben. Bei der SPP handelt es sich um mehrfach gestapelte Lamellen^[100], welche eine unterschiedliche Dicke von 4.5-6.5 nm besitzen können.^[91] Als Ursache für die asymmetrische Nanostruktur der SPP werden in der Literatur zwei verschiedene Möglichkeiten diskutiert. Zum einen basierend auf der voll ausgestreckten Konformation der CER, wobei die meist unterschiedlich langen Seitenketten in verschiedenen Doppelschichten angeordnet sind.^[91] Zum anderen auf die ungleichmäßige Verteilung von kurzkettingen symmetrischen CER und langkettigen unsymmetrischen CER in den Lamellen, aufgrund ihres unterschiedlichen Mischverhaltens.^[103] Unter Verwendung von RuO₄ konnte in späteren Untersuchungen auch die 12-14 nm dicke Long-Periodicity-Phase (LPP) nachgewiesen werden, deren größter Unterschied zur SPP die Anordnung der lipophilen Seitenketten ist.^[100, 104] Bis heute wird die LPP in der Literatur kontrovers diskutiert. In den ursprünglichen mit RuO₄ gefärbten Aufnahmen wird ein Wiederholabstand von 5-3-5 nm für die Kopfgruppen- und Seitenkettenregion beschrieben.^[100] Eine Untersuchung von 2003 postuliert dagegen einen gleichmäßigen Wiederholabstand von 4.3-4.3-4.3 nm.^[105] Die LPP wurde lange Zeit als experimentelles Artefakt angesehen. So wurde beispielsweise vermutet, dass sie einzig und allein auf die oxidierenden Eigenschaften des verwendeten RuO₄ zurückzuführen sei.^[106] Verschiedene Studien mithilfe von X-Ray und Neutronendiffraktion beobachteten jedoch ebenfalls einen Wiederholabstand von 12-13 nm^[107-112], was wiederum für die Existenz der LPP spricht. Es ist allerdings zu beachten, dass in diesen Experimenten ein höherer molare Anteil an veresterten ω -CER als in der natürlichen LM vorkommend verwendet wurde. JAGER et al. konnten jedoch die LPP in ihren Untersuchungen auch mit einem molaren Anteil an ω -CER ähnlich der natürlichen LM nachweisen.^[113] Neben den veresterten ω -CER, hier ist vor allem CER[EOS] zu nennen^[114-115], scheint Cholesterol ein weiterer Faktor für die Ausbildung der LPP zu sein.^[116] Untersuchungen von BOUWSTRA et al. an menschlicher Haut zeigten die Koexistenz von SPP und LPP^[108, 117], dass hieraus entwickelte Modell wird gemeinhin als Sandwich-Modell bezeichnet und ist noch einmal schematisch in Abbildung 8 dargestellt.^[118-120] In diesem wird die LPP als trilamellare Einheit beschrieben. Der innere Bereich wird als fluid und die beiden äußeren als kristallin charakterisiert.^[120] Verbunden sind sie miteinander über die Kopfgruppen der enthaltenen CER.^[108]

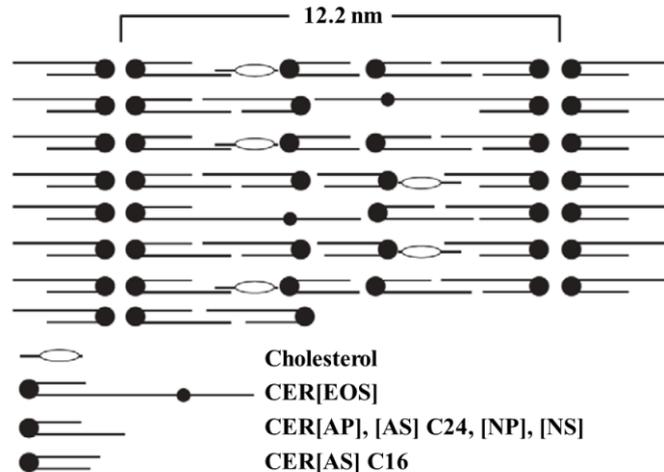


Abbildung 8 Sandwich-Modell nach KESSNER et al.^[118], bearbeitet und übersetzt durch LANGE

Neben den bereits genannten Modellen gibt es noch weitere, die versuchen den Aufbau der LM näher zu beschreiben. Genannt seien hier exemplarisch noch das Domain-Mosaic Modell nach FORSLIND^[121] und das Single-Gel-Phase Modell nach NORLEN^[95]. Auf beide wird in dieser Arbeit aber nicht detaillierter eingegangen.

Zur Bestimmung der Nanostruktur der LM, welche Grundlage für die makroskopische Anordnung der einzelnen Schichten ist, wurden anfänglich komplette Schnitte der natürlichen Epidermis oder Modellsysteme basierend auf isolierten natürlichen CER verwendet. Ein großer Nachteil dieser Isolate ist ihre hohe Komplexität bedingt durch die Gesamtanzahl an enthaltenen Ceramidspezies, der unterschiedlichen Kettenlängen innerhalb einer Spezies und weiterer Verunreinigungen wie beispielsweise Fettsäuren.^[108, 122] Aufgrund dessen sind Aussagen zur Bedeutung einzelner Ceramidspezies für den Aufbau der LM und auf die Funktionsweise nur sehr schwer möglich. Um diese Problematik zu umgehen, werden in der Wissenschaft heute Modellmembranen mit einer vergleichsweise geringen Anzahl an synthetisch hergestellten CER und Fettsäuren mit definierten Kettenlängen verwendet.^[123] Diese Einfachheit erlaubt es, detaillierte Informationen über die Nanostruktur sowie den biophysikalischen Eigenschaften des verwendeten Systems bzw. einzelner enthaltener Bestandteile zu erhalten. Durch Erhöhung der Komplexität, beispielsweise durch Kombination verschiedener Ceramidspezies oder Zugabe von Cholesterol bzw. verschiedener Fettsäuren, werden Rückschlüsse auf die natürliche LM und die Bedeutung einzelner Ceramidspezies für die Nanostruktur der Matrix sowie deren makroskopische Wechselwirkungen ermöglicht.^[92, 105, 124-125] In Modellmembranen werden zum Teil auch Verbindungen eingesetzt, die den natürlich vorkommenden CER nachempfunden sind. So verwendeten zum Beispiel EICHNER et al.^[126] und SCHMITT et al.^[127] für ihre Untersuchungen ein CER[EOS]-Analogon, bei dem die Linolsäure gegen eine methylverzweigte Palmitinsäure ausgetauscht wurde. Das Analogon weißt dabei ein ähnliches thermotropes Phasenverhalten wie das natürliche CER[EOS] auf.^[128] Neben Modellmembranen werden in den letzten Jahren verstärkt auch Computersimulationen für die Erforschung der Molekularstruktur und des thermotropen Verhaltens der LM sowie ihrer Barrierefunktion in der Hautforschung verwendet.^[129-131]

1.6 Physikochemische Untersuchungsmethoden

1.6.1 Neutronendiffraktion

Wie bereits einleitend erwähnt, ist die Neutronendiffraktion eine häufig angewandte Methode bei Forschungsarbeiten zur Nanostruktur des SC. Ein großer Vorteil dieser Methode gegenüber Röntgenstrahlen ist die Kombination aus hoher Eindringtiefe in kondensierte Proben und ihr nicht zerstörender Charakter aufgrund der vergleichsweise geringen Energiedichte der eingesetzten Neutronenstrahlen.^[132]

Grundlage der Neutronendiffraktion sind die namensgebenden Neutronen. Diese sind neutral geladene Baryonen mit einer Atommasse von 1.00866492 Da, die in nahezu jedem Atom vorkommen.^[133] Eine Ausnahme ist das Wasserstoffatom.^[134] Neutronen werden für entsprechende Experimente entweder mithilfe von Kernreaktoren, Teilchenbeschleunigern oder Spallation erzeugt und dann gebündelt in eine Richtung gelenkt.^[135] Die Energiedichte der so erzeugten Neutronenstrahlen ist abhängig von der Neutronengeschwindigkeit.^[136] Diffraktion wiederum ist eine Spezialform der Streuung. Letztere tritt immer dann auf, wenn Strahlen auf Materie treffen und diese hierbei nicht absorbiert werden. Die gestreute Strahlung kann im Anschluss durch einen Detektor gemessen und anschließend ausgewertet werden; der Aufbau eines typischen Neutronenstreuexperimentes ist schematisch in Abbildung 9 dargestellt.^[137] Trifft die Strahlung auf Probenmaterial mit einer niedrigen Ordnung, so wird diese gestreut. Die so erhaltenen Streudaten geben zum Beispiel Auskunft über Größe und Form von enthaltenen Molekülen sowie über die vorherrschenden intermolekularen Wechselwirkungen.^[137] Trifft der Neutronenstrahl dagegen auf Material mit einer höheren Ordnung, mit einer Gitterstruktur beispielsweise, dann erfolgt die Streuung des Strahls in einem bestimmten Winkel gemäß BRAGG'scher Gleichung, der sogenannten Diffraktion.^[137]

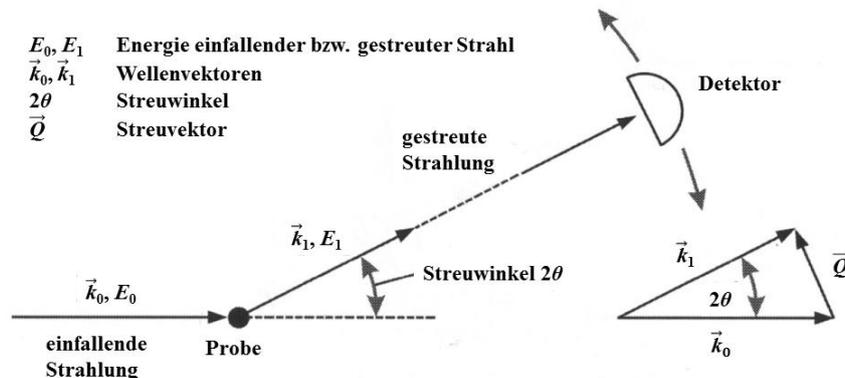


Abbildung 9 Schematischer Aufbau eines Streuexperimentes nach WINTER et al.^[137], bearbeitet durch LANGE

Die BRAGG'sche Gleichung beschreibt, wann es an parallelen Gitternetzebenen durch die gestreute Strahlung zur Interferenz kommt. Gemäß diesem, erfolgt die Streuung des einfallenden Strahls im Streuwinkel 2θ . Der Streuvektor \vec{Q} ist die Richtungsänderung der gestreuten im Vergleich zur einfallenden Strahlung. Der Abstand zwischen den parallelen Ebenen, welcher bei Biomembranen auch als lamellarer Wiederholabstand d bezeichnet wird,^[138] kann mittels BRAGG'scher Gleichung und den experimentell ermittelten Diffraktionspeaks berechnet werden, siehe hierzu auch Abbildung 10. Letztere können detektiert werden, wenn Beugungsmaxima auftreten. Voraussetzung hierfür ist die

Überlagerung von gestreuter Strahlung, wobei die Wegdifferenz zwischen zwei Ebenen in direkter Nachbarschaft dem ganzzahligen Vielfachen der Wellenlänge entspricht.^[137] Bei Diffraktionsstudien hat der ermittelte Abstand d eine große Bedeutung, da er der Dicke einer Lipiddoppelschicht plus interlamellarer Wasserschicht entspricht.^[138]

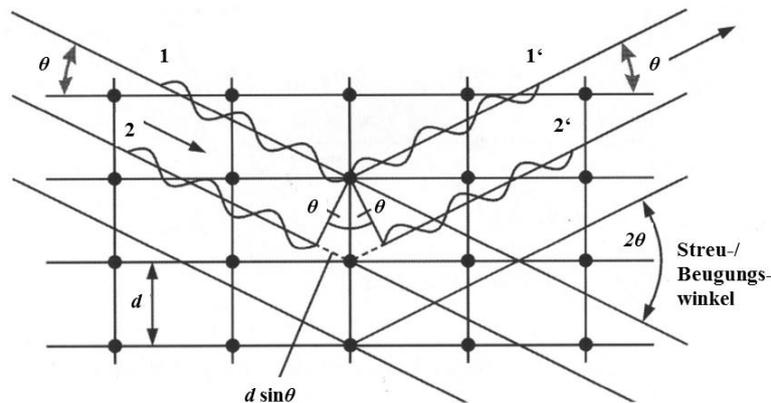


Abbildung 10 Neutronenstreuprozess gemäß BRAGG'scher Gleichung nach WINTER et al.^[137], bearbeitet durch LANGE

Weitere Informationen zum molekularen Aufbau der jeweiligen Membran können aus dem Neutronenstrelängedichteprofil erhalten werden, welches man durch Umrechnung der Intensitäten der Beugungsreflexe durch eine FOURIER-Synthese erhält.^[138] Eine weitere wichtige Größe die bestimmt werden kann, ist der sogenannte Strukturfaktor. Dieser gibt die statistische Verteilung der Neutronen an und kann nur als absoluter Wert angegeben werden.^[57, 139-140] Nachteilig ist hierbei, dass so aus den Intensitätsmessungen nur die Amplituden erhalten werden und nicht die Phase samt Vorzeichen. Für zentrosymmetrische Bilayer kann dieser daher auch nur den Wert +1 oder -1 annehmen.^[137]

Ein weiterer Vorteil der Neutronenstreuung gegenüber der Röntgenstreuung ist die gute Sichtbarkeit von Wasserstoff, einem der Hauptbestandteile organischer Materialien.^[132, 141] Weiterhin werden Neutronenstrahlen aufgrund ihrer geringen Energiedichte nur am Atomkern gebeugt.^[137] Aufgrund der hohen Energiedichte bei Röntgenstrahlen beispielsweise treten dort Wechselwirkungen mit den Hüllelektronen von Atomkernen auf, wodurch diese zur Oszillation gezwungen werden.^[137] Dies wiederum bedingt die Ausbildung von elektromagnetischen Wellen, welche die Berechnung der Intensität der Beugung des Röntgenstrahls im Vergleich zum Neutronenstrahl erheblich erschwert.^[137] Die Stärke der Neutronenbeugung dagegen ist abhängig vom Radius und der Tiefe des Kernpotentials. Unterschiedliche Atomkerne erzeugen hierdurch verschiedene Streulängen.^[135] Dies gilt ebenso für Isotope eines Elements, die unterschiedliche Atommassen haben. Aufgrund ihrer Streulänge können diese dann voneinander unterschieden werden (Wasserstoff: -0.374×10^{-12} cm, Deuterium: 0.677×10^{-12} cm).^[138] Dieser Effekt kann durch den gezielten Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium an spezifischen Stellen im Molekül genutzt werden, um deren räumliche Lage in der entsprechenden Membran näher zu bestimmen.^[142-144] Untersuchungen mit spezifisch deuterierten CER zeigten, dass der Austausch am Ende der Fettsäurekette den größtmöglichen Nutzen bei Neutronendiffraktionsexperimenten hat.^[138]

Weiterhin kann so durch Kontrastvariation der Komponenten das bereits erwähnte Phasenproblem umgangen werden. Dies erfolgt durch Austausch oder Mischen von H_2O und D_2O im Lösungsmittel bzw. -gemisch.^[137, 144-146] Hierdurch ist zum einen die Beobachtung von Phasenwechseln bei bestimmten Reflexen möglich und zum anderen erhält man so

gleichzeitig Informationen zur Wasserverteilung innerhalb der Probe.^[137, 144-146] Weiter soll in dieser Arbeit jedoch nicht auf die Theorie und Hintergründe zur Neutronendiffraktion und ihrer Anwendung in der Erforschung des SC eingegangen werden. Für tiefergreifendere Abhandlungen sei hier beispielsweise auf die Arbeiten von EICHNER^[147] und SCHMITT^[148] verwiesen.

1.6.2 Deuterium-Festkörper-NMR Spektroskopie

Neben der schon genannten Neutronendiffraktion haben andere biophysikalische Methoden wie Untersuchungen mittels Röntgenstrahlen^[87, 117, 149-150] sowie die Fourier-Transformations-Spektroskopie^[151-155] und Raman-Spektroskopie^[156-158] bei Forschungsarbeiten zum strukturellen Aufbau des SC einen großen Stellenwert. Im Vergleich hierzu spielt die Festkörper-NMR Spektroskopie bisher eine eher untergeordnete Rolle, obwohl dieser Technik in den letzten Jahren bei Untersuchungen zum Aufbau von Biomembranen^[159] immer mehr Bedeutung zugemessen wird und erste Veröffentlichungen von ABRAHAM und DOWNING zum SC schon 1991^[160] und 1992^[161] veröffentlicht wurden. Die Grundlagen für die magnetische Kernresonanz (Nuclear Magnetic Resonance, kurz NMR) wurden bereits im Jahr 1946 durch die späteren Nobelpreisträger Felix Bloch und Edward Mills Purcell unabhängig voneinander entdeckt. Sie ist dadurch die älteste nukleare Methode mit Anwendung in der Festkörperphysik.^[135] Grundgedanke der Methodik ist, dass durch Anlegen eines Magnetfeldes die Dipolmomente von Kernen ausgerichtet werden können, ausgehend vom ungeordneten Grundzustand. Die so gebildete Magnetisierung kann anschließend durch Hochfrequenz beeinflusst werden, wobei die zu wählende Frequenz immer kernabhängig ist.^[135, 162] Im Vergleich zu NMR-Spektren von flüssigen bzw. gelösten Proben sind Spektren von Festkörpern aufgrund ihrer schlechten Auflösung, bedingt durch die Breite der Absorptionsbanden, schwerer auszuwerten.^[137] Die Breite der Banden ist dabei von verschiedenen Einflussfaktoren wie der magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung abhängig, welche sich bei Festkörpern im Vergleich zu Flüssigkeiten nicht herausmittelt.^[137] Zum einen führt dies zur Ausbildung unterschiedlicher lokaler Felder und zum anderen zu einer sehr kurzen Relaxationszeit bedingt durch die starken dipolaren Kopplungen, die gemäß HEISENBERG-scher Unschärferelation zur Anhebung der Linienbreite führen.^[137] Neben der Dipol-Dipol-Wechselwirkung spielen bei der Linienverbreiterung beispielsweise noch die Anisotropie der chemischen Verschiebung und Quadrupolwechselwirkungen bei Quadrupolkernen eine gewichtige Rolle.^[137, 162] Durch die Kombination verschiedener Methoden kann jedoch die Auflösung stark verbessert werden und die dadurch erhaltenen hochauflösenden Festkörperspektren lassen dann Rückschlüsse auf strukturelle Informationen zu, welche zum Beispiel im flüssigen Zustand der Probe herausgemittelt werden. Eine Methode, die häufig zur Verbesserung der Signalqualität angewendet wird, ist die sogenannte Magic-Angle-Spinning-Technik (MAS), siehe hierzu auch Abbildung 11.

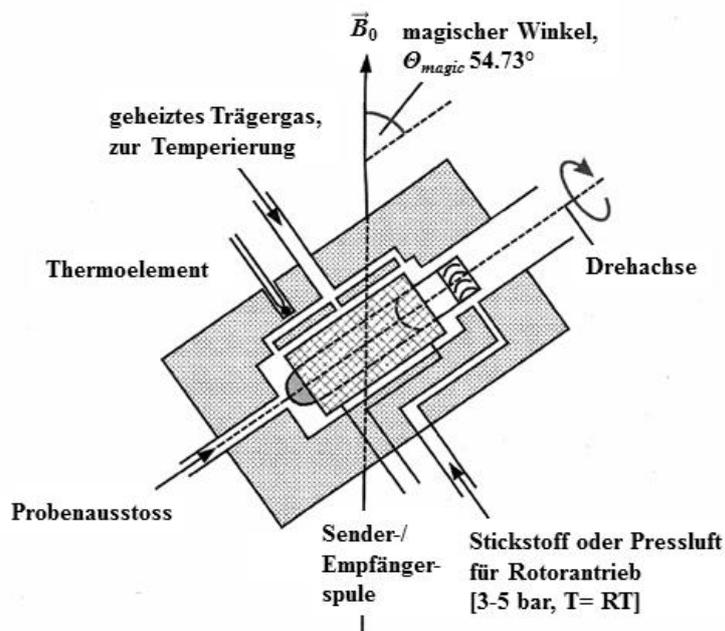


Abbildung 11 Aufbau MAS-Experiment nach WINTER et al.^[137], bearbeitet durch LANGE

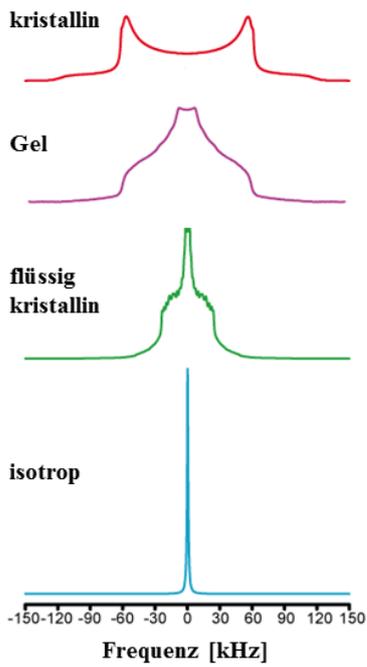
Hierbei wird die Probe im Winkel von 54.73° , dem sogenannten magischen Winkel, zum Magnetfeld mit einer hohen Geschwindigkeit um die eigene Achse gedreht, wodurch die Anisotropie der chemischen Verbindung und Teile der dipolaren Kopplungen aufgehoben werden.^[137] Das so erhaltene Festkörperspektrum ist hinsichtlich der Auflösung mit einem Flüssigspektrum vergleichbar.^[137, 162] Aufgrund der hohen Rotationsgeschwindigkeit kommt es im Spektrum jedoch häufig zur Ausbildung sogenannter Rotationsseitenbanden im kHz-Bereich, diese lassen sich aber durch entsprechende Pulsverfahren unterbinden.^[137] Weiterhin ist sowohl die Separierung als auch die Zuordnung der Resonanzlinien aufgrund der Linienbreite des Festkörpers und der oftmals hohen Anzahl an Protonen im Makromolekül erschwert.^[137] Eine Möglichkeit um hier Abhilfe zu schaffen, ist die selektive Einführung von Kernen mit einer geringen natürlichen Häufigkeit, wie beispielsweise Deuterium oder ^{13}C , wodurch gleichzeitig auch das Problem der Überlappung und Zuordnung gelöst wird.^[137] Weitere Möglichkeiten zur Vergrößerung der Sensitivität sind zum Beispiel die Kreuzpolarisation zur Erhöhung der Relaxation und die Verwendung spezieller Pulsfolgen zur Rückgewinnung von geometrischen Abstandsinformationen über die dipolare Kopplung, welche jedoch unter Anwendung der MAS-Technik verloren gehen.^[137]

Aufbauend auf diesen Techniken wurde eine Vielzahl experimenteller Methoden entwickelt, die mithilfe von Deuterium-Festkörper-NMR Einblicke in die strukturellen und dynamischen Prozesse flüssigkristalliner Systeme ermöglichen.^[159, 163-165] Die so entstandenen Messverfahren vereinen verschiedene Vorteile. Zum einen sind die einzelnen elektronischen Interaktionen sehr dominant, wodurch die Auswertung des Spektrums samt zugehöriger Relaxation verhältnismäßig einfach ist.^[159, 163-165] Hierdurch ist beispielsweise die Analyse von hochkomplexen Membransystemen möglich. Zum anderen sind die quadrupolaren Kopplungen der Membranlipide im Vergleich zu den bewegungsgemittelten dipolaren Kopplungen und chemischen Verschiebungen groß, dies ermöglicht wiederum die gezielte Identifikation und Beobachtung bestimmter Molekülbereiche.^[159, 163-165] Der wohl größte

Vorteil jedoch ist, dass die bei Biomaterialien angewandten NMR-Magnetfeldstärken äußerst sensibel auf Molekularbewegungen reagieren. In der Festkörper-NMR-Spektroskopie entspricht hierdurch die Linienform des jeweiligen Systems den vorherrschenden Gleichgewichtseigenschaften des Systems auf molekularer Ebene.^[159, 163-166] Gleichzeitig sind die dynamischen Eigenschaften durch die verwendeten Relaxationsraten und den damit verbundenen spektralen Bewegungsdichten zugänglich. Durch Kombination von Ergebnissen aus Studien zur Linienform und Relaxation kann so eine Tiefe von Erkenntnissen zur funktionellen Dynamik samt Gleichgewichtseigenschaften des Systems gewonnen werden, wie sonst mit keiner anderen biophysikalischen Messmethode.^[159] Um solche Informationen von nicht-kristallinen amorphen oder flüssigkristallinen Systemen zu erhalten, benötigt man neben einem für Hochfrequenzleistungsstudien an festkörperähnlichen Materialien ausgestatteten NMR-Spektrometer noch speziell deuterierte Modellverbindungen, welche den natürlichen Substanzen samt den darin vorkommenden C-H-Bindungen entsprechen.^[57, 167-170]

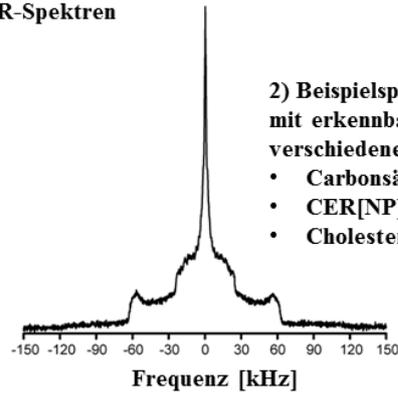
Die Aufspaltungen im Festkörper-NMR Spektrum lassen generell Rückschlüsse auf die Ordnung des Systems zu, da die Kopplungen der einzelnen Bestandteile untereinander empfindlich auf deren Orientierung und Abstände reagieren.^[159] Gleichzeitig sind über die aufgenommenen Relaxationsparameter die Bewegungen der einzelnen Moleküle zugänglich.^[159] Zusätzlich werden bei Deuterium-Festkörper-NMR Experimenten mit biologischen Modellen die Relaxationszeiten und Linienform aufgenommen, dies ermöglicht Rückschlüsse auf die Strukturodynamik im System.^[159] Die Relaxationszeiten lassen mithilfe mathematischer Modelle Schlussfolgerungen auf die vorherrschenden intra- und intermolekularen Wechselwirkungen im System zu.^[159] Die im System vorherrschende Ordnung wiederum lässt sich anhand der Linienform herleiten.^[159] Durch die Deuterierung der Verbindungen können den einzelnen Aufspaltungen bzw. Peaks im aufgenommenen Spektrum zunächst die entsprechenden Molekülstellen oder -bereiche zugeordnet werden. Unter Berücksichtigung mit entsprechend skalierten Ordnungsparametern für die Deuterium-Pake-Dubletts und einer isotropen Linie, welche typisch für CER-Mischungen ist, erfolgt anschließend eine Simulation des jeweils aufgenommenen Spektrums mittels geeigneter Software.^[57, 169-172] Da in der Regel mehrere Phasen im System parallel vorliegen und sich im Spektrum gegenseitig überlagern, wird mittels sogenanntem FIT versucht das Originalspektrum 1:1 nachzubilden. Basierend auf der Simulation kann dann ein Ordnungsparameterprofil für das System erstellt und jedem Kohlenstoffatom ein Ordnungsparameter zugeordnet werden. Letzterer ist ein Maß für die Beweglichkeit des jeweiligen Kohlenstoffatoms im Molekül oder des Moleküls in der Modellmembran. Bei den verwendeten CER-Systemen erfolgte dies unter Berücksichtigung eines entsprechenden Korrekturfaktors, da hier teilweise eine feldinduzierte Orientierung im System beobachtet wurde.^[169, 171, 173] Anhand der simulierten Linienform kann dann der prozentuale Anteil der jeweils vorkommenden Phasen im System bestimmt werden.^[57, 169-171] In der nachfolgenden Abbildung 12 ist die Auswertung noch einmal vereinfacht zusammengefasst.

1) Typisierung der Deuterium-NMR-Spektren



2) Beispielspektrum einer Modellmembran mit erkennbarer „Überlagerung“ verschiedener Phasen bestehend aus:

- Carbonsäure
- CER[NP]
- Cholesterol



3) Zunächst Erstellung eines „FIT“ durch Simulation des aufgenommenen Spektrums, anschließend Bestimmung der Anteile [%]:

- kristallin 40 %
- Gel 0 %
- flüssig kristallin 55 %
- isotrop 5 %

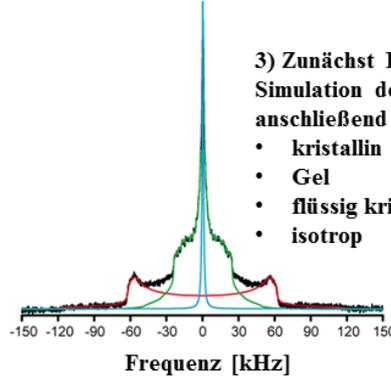


Abbildung 12 Vereinfachte Darstellung zur Auswertung von CER-Festkörper-NMR-Spektren in Anlehnung an STAHLBERG et al.^[169-171]

2. Zielstellung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit hat die Synthese von spezifisch deuterierten und undeuterierten Verbindungen für die Erforschung des Stratum Corneum zum Ziel. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf folgenden Punkten:

- Neben einem deuterierten Isopropylmyristat soll zunächst weiterhin das Dihydrosphingosins synthetisiert werden (siehe Abschnitt 3.1 und 3.2)
- Des Weiteren sollen aus entsprechenden Grundkörpern spezifisch deuterierte und undeuterierte Fettsäuren mit unterschiedlicher Grundstruktur und Kettenlänge als Ausgangsverbindungen für die spätere Ceramidsynthese dargestellt werden (siehe Abschnitt 3.3)
- Ferner soll ein modulares Synthesekonzept zur Darstellung von unterschiedlichen Ceramiden des Dihydrosphingosin-, Sphingosin- und Phytosphingosintyps erarbeitet werden. Schwerpunkte sind hierbei unter anderem die Entwicklung einer Methode zur Darstellung von perdeuterierten Carbonsäuren, die selektive Amidknüpfung der synthetisierten Fettsäuren mit der jeweiligen Sphingoidbase und die Darstellung von diastereomerenreinen Ceramiden der Typen CER[ADS], CER[AS] und CER[AP] (siehe Abschnitt 3.4)

Die entsprechend darzustellenden Verbindungen werden bzw. wurden nachfolgenden Arbeitsgruppen für Strukturuntersuchungen an Stratum Corneum Modellmembranen unter Anwendung von verschiedenen biophysikalischen Messmethoden zur Verfügung gestellt:

- Der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. R.H.H. Neubert, Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg und Institut für angewandte Dermatopharmazie, Halle für verschiedene Neutronen-Diffraktionsuntersuchungen
- Der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. G. Brezesinski, Max-Planck-Institute für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Potsdam für Untersuchungen mithilfe von Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie und Röntgenstrahlen
- Der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. D. Huster, Institut für Medizinische Physik und Biophysik der Universität Leipzig, Leipzig für Experimente unter Anwendung von Festkörper-NMR-Spektroskopie

Ziel dieser Untersuchungen ist es, die Auswirkungen der synthetisierten Ceramide auf den strukturellen Aufbau der Membranen zu erforschen und so Rückschlüsse auf das natürliche Stratum Corneum zu ermöglichen. Aufgrund der Menge an synthetisierten Ceramiden und daraus resultierenden Möglichkeiten zur Zusammensetzung der Modellmembranen sowie an Experimenten, kann in dieser Arbeit nur ein sehr kleiner Auszug der Ergebnisse aus den physikalischen Untersuchungen präsentiert werden. Die umfängliche Beschreibung der einzelnen Experimente samt ihren Resultaten bleibt daher den durchführenden Personen vorbehalten.

3. Synthetisch präparative Arbeiten

3.1 Synthese des Isopropyl-D₂₅-myristats

Als Ausgangsverbindung diente der CH-azide Malonsäureester **1** der zunächst in das Natriumsalz überführt wurde (siehe Abbildung 13). Basierend auf den Erfahrungen der Arbeitsgruppe wurde für die Deprotonierung nicht wie üblich Natriummethanolat sondern NaH als Base verwendet.^[174-176] Die anschließende Alkylierung erfolgte mit kommerziell erhältlichem perdeuteriertem Bromdodecan **2**. Zur Erhöhung der Reaktivität und der Ausbeute wurde dem Ansatz hierbei im Sinne einer FINKELSTEIN-Reaktion Tetrabutylammoniumjodid zugesetzt.^[177] Der so erhaltene Dodecylmalonsäureester **3** wurde dann unter Verwendung von KOH zur freien Dodecylmalonsäure **4** verseift. Die anschließende Decarboxylierung zur Tetradecensäure **5** erfolgte bei 140 °C und reduziertem Druck. Zur Darstellung des Myristinsäureesters **6** wurde die Säure **5** zunächst mittels Thionylchlorid in das entsprechende Säurechlorid überführt^[177] und dann unter Zugabe von Isopropanol sowie Pyridin zum Myristinsäureester **6** umgesetzt. Das zugesetzte Pyridin fungiert als Base zur Bindung der freigesetzten HCl und verschiebt so das Reaktionsgleichgewicht in Richtung des Produktes **6**.

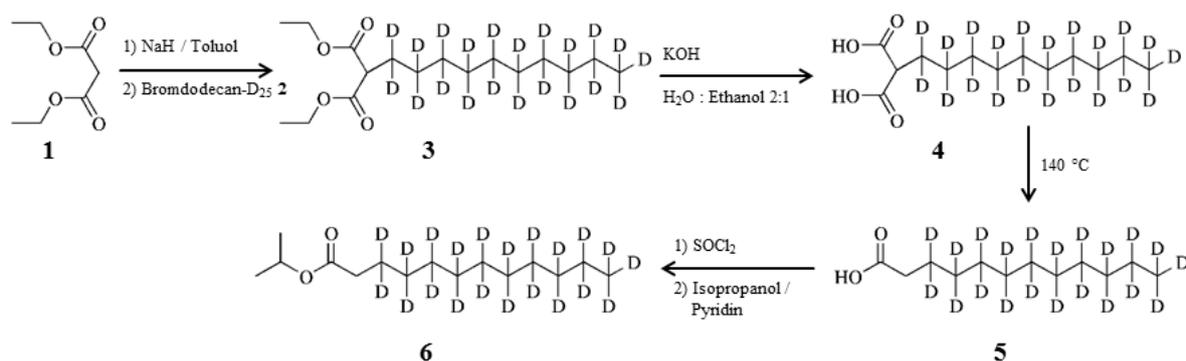


Abbildung 13 Darstellung des deuterierten Isopropylmyristats **6**

3.2 Synthese des Dihydrospingosins

Wie bereits im Kapitel 1.5.1 einleitend erwähnt, sind die Sphingoidbasen ein elementarer Bestandteil der Ceramide. Evonik Industries AG (Essen, Deutschland) stellte die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Sphingoidbasen Phytosphingosin (**7**) und Sphingosin (**8**) mit der jeweiligen Kettenlänge von 18 Kohlenstoffatomen zur Verfügung. Beide wurden vor Verwendung in der Synthese mittels Säulenchromatographie (SCh) gereinigt. Das Sphingosin (**8**) wurde weiterhin durch Hydrierung unter Zuhilfenahme von Pd/C (10 %) nach einer Vorschrift von ZHUKOVA et al. zum Dihydrospingosin (**9**) umgesetzt (siehe Abbildung 14).^[178]

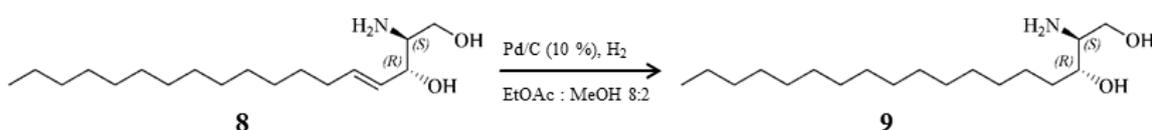


Abbildung 14 Darstellung des Dihydrospingosins (**9**)

3.3 Synthese der deuterierten und undeuterierten Fettsäuren

3.3.1 α -Hydroxyfettsäuren nach MORI

Entsprechend Abbildung 15 erfolgte zunächst die Deuterierung der Säure **10** unter Verwendung von Pd/C (10 %), D₂O und KOH in einer Hydrierapparatur. Die deuterierten Säuren **11** und **12** wurden anschließend unter Verwendung von konz. H₂SO₄ als Katalysator und Methanol nach ORGANIKUM in die Säuremethylester **13** und **14** überführt.^[177] Methanol wurde hierbei im Überschuss eingesetzt, um das Reaktionsgleichgewicht in Richtung der gebildeten Ester **13** und **14** zu verschieben.^[179] Die Synthese der Alkohole **15** und **16** erfolgte im Anschluss durch Reduktion der Säureester **13** und **14** mit LiAlD₄ analog der Vorschrift mit LiAlH₄ nach ORGANIKUM in abs. Ether.^[177] Im nächsten Schritt erfolgte dann die säurekatalysierte Einführung der THP-Schutzgruppe nach einer modifizierten Variante von MIYASHITA et al.^[180] Im Gegensatz zur Originalvorschrift wurde zum einen DHP im Überschuss verwendet und zum anderen die Reaktionszeit erhöht. Die so erhaltenen geschützten Alkohole **17** und **18** wurden dann nach einer Vorschrift von SCHWARZ et al. zu den Bromiden **19** und **20** umgesetzt.^[181] Hierfür wurde zunächst in CH₂Cl₂ gelöstes elementares Brom zu einer Lösung aus Triphenylphosphin in CH₂Cl₂ getropft. Das so gebildete Triphenylphosphoniumdibromid ist ein sehr gut geeignetes Reagenz für die Substitution der THP-Schutzgruppe gegen Brom unter neutralen Bedingungen.^[182] Die Schwarzfärbung des Ansatzes resultiert aus der Anwesenheit von Sauerstoff und hat keinen negativen Einfluss auf die Ausbeute.

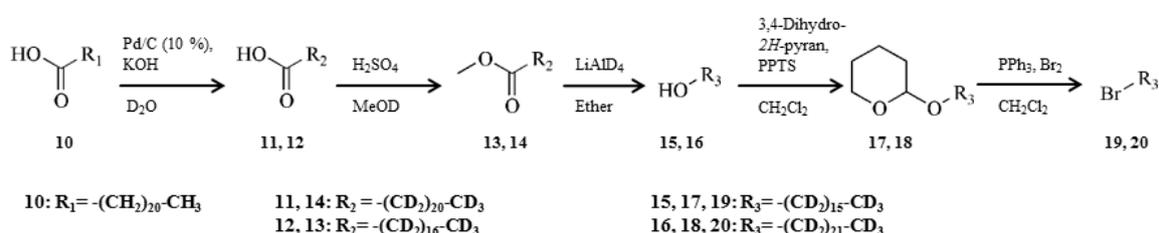


Abbildung 15 Umsetzung der Säuren **11** und **12** in die Bromalkane **19** und **20**

Für die Alkylierung des Acetamidmalonsäureesters **21** mit dem Bromid **19** oder **20** wurde dieser zunächst unter Zuhilfenahme von Natriumethanolat am α -aciden Proton deprotoniert und in das entsprechende Natriumsalz überführt. Nach Zugabe des entsprechenden Alkylbromids **19** oder **20** wurde der Ansatz unter Rückfluss erhitzt. Im Vergleich zur Originalvorschrift von MORI und FUNAKI wurde die Reaktionszeit aufgrund der erhöhten Kettenlänge verlängert.^[183] Die Verseifung der Ethylreste sowie Säureamidbindung der alkylierten Malonsäurederivate **22** und **23** kann unter sauren und alkalischen Bedingungen erfolgen. Wie jedoch bereits durch SONNENBERGER beschrieben, hätte eine Verseifung mit KOH nur unzureichende Ergebnisse geliefert.^[175] Hintergrund ist die geringe Spaltung der Amidbindung unter alkalischen Bedingungen, entsprechende Beobachtungen finden sich auch in der Literatur.^[184] Eine Hydrolyse in konz. HCl, wie bereits in einer älteren Arbeit erfolgt^[185], oder in verdünnter HCl nach MORI und FUNAKI^[183] wurde aufgrund der schlechten Löslichkeit von langkettigen Verbindungen und daraus resultierenden geringen Ausbeuten

ebenfalls nicht in Betracht gezogen. Eine gängige Methode, um dieses Problem zu umgehen, ist die Verwendung eines Gemisches bestehend aus konz. HCl und DMF im Volumenverhältnis von 9:1.^[186-188] Während des Erhitzens unter Rückfluss kommt es neben der Verseifung zur gleichzeitigen Decarboxylierung der Intermediate. Die Fällung der in diesem Milieu als Hydrochlorid vorliegenden Aminosäuren **24** und **25** erfolgte durch Zugabe von NH₃aq. Die anschließende Umsetzung der Aminosäuren **24** und **25** in die α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27** fand unter Verwendung von salpetriger Säure statt. Letztere muss aufgrund ihrer Unbeständigkeit in situ gebildet werden.^[177, 179, 189] Hierfür wurden die Aminosäuren **24** und **25** zunächst in 2N D₂SO₄ suspendiert und anschließend unter Zugabe von in D₂O gelöstem NaNO₂ in die entsprechenden α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27** überführt (siehe Abbildung 16).

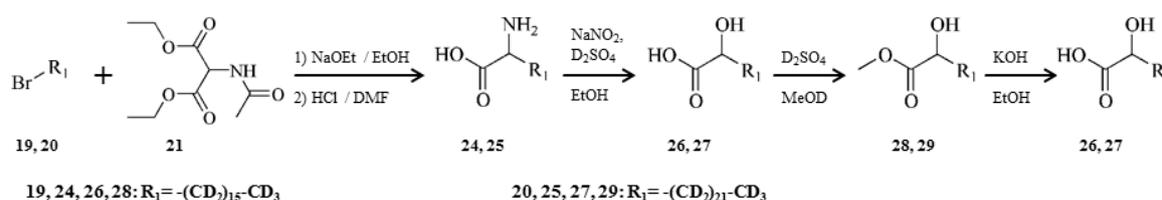


Abbildung 16 Umsetzung der Bromalkane **19** und **20** in die α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27**

Entgegen der von MORI und FUNAKI gewählten Reaktionsbedingungen, Rühren für 2 h bei 80 °C gefolgt von weiteren 18 h bei RT^[183], wurde der Ansatz die komplette Zeit über bei 80 °C gerührt. MORI und FUNAKI begründen die gewählten Bedingungen mit einer verstärkten Racemisierung bei höheren Temperaturen.^[183] Dies war jedoch für die weitere Synthesestrategie nicht von Bedeutung, da die Trennung erst später auf Stufe der diastereomeren DL-CER mittels Sch erfolgte. Für eine ausführlichere Erläuterung zu dieser Thematik sei an dieser Stelle auf Abschnitt 3.4.4 verwiesen. Eine Reinigung der α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27** mittels Sch sowie durch Umkristallisation nach MORI und FUNAKI waren nicht erfolgreich. Auch der Versuch eine als Rohprodukt vorliegende α -Hydroxyfettsäure direkt mittels PyBOP[®] zum entsprechenden CER umzusetzen und die Reinigung auf dieser Stufe mittels Sch unter Verwendung eines CHCl₃:MeOH-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung scheiterten in einer vorangegangenen Arbeit.^[185] Die Synthesestrategie musste daher entsprechend MORI und FUNAKI angepasst werden und die Säuren zunächst in die Methylester überführt werden.^[183] Abweichend von der Originalvorschrift erfolgte die Synthese der Methylester **28** und **29** durch Umsetzung der α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27** in MeOD und konz. D₂SO₄ nach ORGANIKUM.^[177] Nach Reinigung der Methylester **28** und **29** mittels Sch, wurden diese anschließend durch alkalische Verseifung mit KOH in die Säuren **26** und **27** überführt und im Anschluss durch Umkristallisation gereinigt.

3.3.2 30-[[*(10RS)*-D₃₃-10-Methylhexadecanoyl]oxy]triacontansäure

Die Synthese der verzweigten Säure **30** erfolgte gemäß SONNENBERGER et al.^[190] und die des Diols **33** aus entsprechenden Alkylbromiden durch Grignard Kupplung nach DRESCHER et al.^[191], beide Verbindungen wurden durch Herrn Dr. Stefan Sonnenberger für diese Arbeit zur Verfügung gestellt.

Die Säure **30** wurde zunächst entsprechend Abbildung 17 unter Verwendung von Pd/C (10 %), D₂O sowie KOH in einer Hydrierapparatur zur deuterierten Säure **31** umgesetzt und dann entsprechend ORGANIKUM mit Thionylchlorid in das Säurechlorid **32** überführt.^[177]

Die anschließende Veresterung des Diols **33** erfolgte entsprechend der von SÜB beschriebenen Methode.^[192] Hinderlich für die Umsetzung zum Monoester erwies sich die schlechte Löslichkeit des Diols **33** in CHCl₃. Um dennoch entsprechende Ausbeuten zu generieren, erfolgte die Veresterung nach SÜB in siedendem CHCl₃ mit dreifachem Überschuss an Diol **33** im Stoffmengenverhältnis zum Säurechlorid **32**, welches langsam zum Ansatz getropft wurde.^[192]

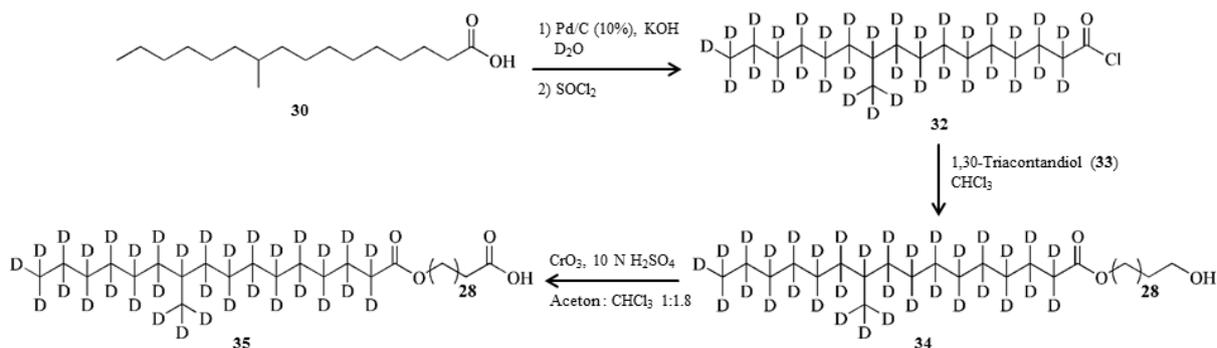


Abbildung 17 Synthese der Methylhexadecanoyltriacontansäure **35** ausgehend von der Methylhexadecansäure **30**

Neben der verbesserten Löslichkeit konnte so auch eine Bisveresterung des Diols **33** weitestgehend ausgeschlossen und so auf die vorherige Einführung einer Schutzgruppe verzichtet werden. Überschüssiges Diol **33** wurde im Nachhinein durch Umkristallisation zurückgewonnen. Entgegen ENGELBRECHT et al. erfolgte die anschließende Oxidation des Hydroxyesters **34** zum Säureester **35** nicht mit Pyridiniumdichromat^[128] sondern durch JONES-Oxidation mit CrO₃^[80, 189, 193]. Zwar wurde Pyridiniumdichromat schon erfolgreich in der Arbeitsgruppe für die Oxidation langkettiger Alkohole zu Carbonsäuren eingesetzt^[128, 194], jedoch beobachtete SONNENBERGER bei seinen Synthesen eine Abspaltung von CH₂-Gruppen.^[175] Die JONES-Oxidation ist eine gängige Methode im Labor für die Oxidation von Alkoholen zu Carbonsäuren^[193], wird jedoch aufgrund ihrer geringen Atomökonomie selten in großtechnischen Anlagen verwendet. Aufgrund der Kettenlänge des Hydroxyesters **34** und hieraus resultierenden Löslichkeitsproblemen, erfolgte die Oxidation wie bei SONNENBERGER et al. in einer modifizierten Variante der JONES-Oxidation.^[190] Anstatt reinem Aceton wurde ein Gemisch bestehend aus Aceton und CHCl₃ verwendet, um den Hydroxyester **34** in Lösung zu bringen. Der gelöste Hydroxyester **34** konnte dann zum JONES-Reagenz getropft werden, um den entsprechenden Säureester **35** zu erhalten. Im ESI-MS-Spektrum wurden keine Peaks gefunden, die auf eine Abspaltung von CH₂-Gruppen hinwiesen.

3.3.3 30-Linoleoxytriacontansäure und 30,30-D₂-30-Linoleoxytriacontansäure

Wie bereits einleitend im Abschnitt 1.5.2 erwähnt, konnte bis heute nicht abschließend geklärt werden, ob die LPP im SC existiert oder ob es sich hierbei um ein experimentelles Fragment handelt. Die Ausbildung der LPP wird in der Literatur hauptsächlich den CER zugeschrieben, welche eine veresterte ω -Hydroxyfettsäure als Fettsäure enthalten. In der Arbeitsgruppe wurden für vorangegangene Experimente zur Existenz der LPP bisher methylverzweigte CER vom Typ CER[mEOP] und CER[mEOS] eingesetzt^[126-127, 190], die ein ähnliches thermotropes Phasenverhalten wie die natürlichen CER aufweisen und ebenfalls die Ausbildung einer äquivalenten Lipiddoppelschicht bewirken^[128]. Aufgrund vereinzelter Kritik, welche die Ergebnisse auf die verwendeten Modellverbindungen zurückführen, sollten statt der Modellverbindungen in weiteren Experimenten natürlich vorkommende CER bzw. die veresterte ω -Hydroxyfettsäure mit und ohne spezifische Deuterierung verwendet werden. Als geeignete Position für die Deuterierung wurde das ω -Kohlenstoff der veresterten ω -Hydroxyfettsäure bestimmt. Es wurde sich zunächst gegen eine Deuterierung der Linolsäure bzw. der jeweiligen Sphingoidbase entschieden. Die ausgearbeitete Synthesestrategie basiert auf den Erfahrungen der Arbeitsgruppe aus der Darstellung der methylverzweigten Modellverbindungen. Die entsprechend undeuterierte **36** bzw. deuterierte **37** Linoleoxytriacontansäure sollte aus einem Brombenzylether **38** und undeuterierten **39** bzw. deuterierten **40** Brommethoxymethylether als Grundbausteine aufgebaut werden. Eine Übersicht zur Synthesestrategie für die einzelnen Grundkörper ist in Abbildung 18 gegeben. Nach erfolgter GRIGNARD-Kupplung sollten die dann entsprechend geschützten ω -Hydroxyfettsäuren **41** und **42** mit Linolsäure (**43**) verestert werden.

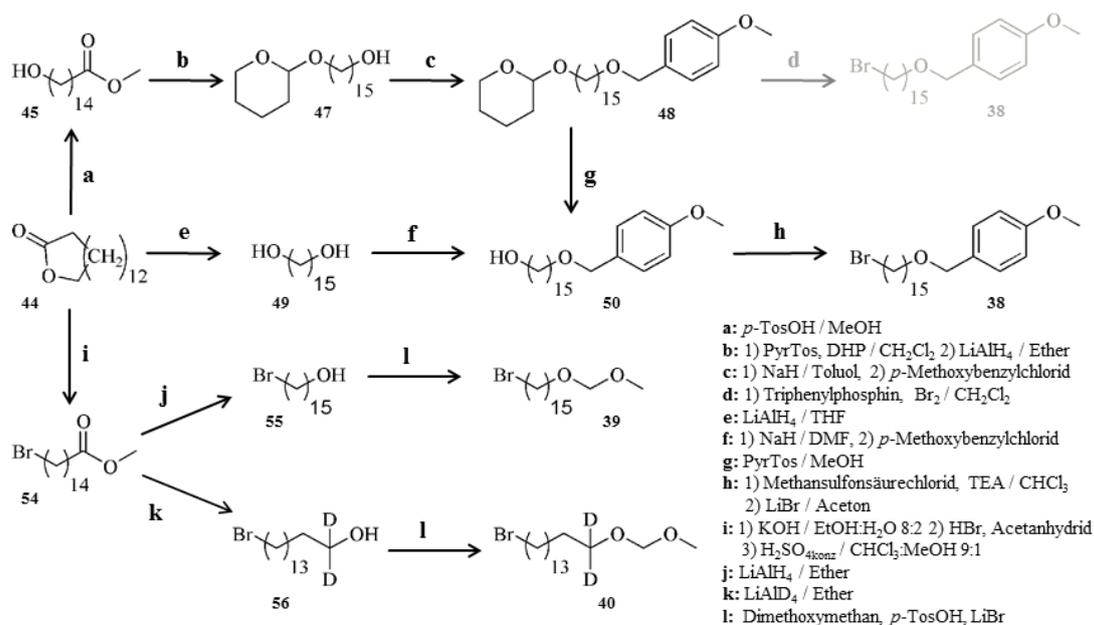


Abbildung 18 Syntheschema zur Darstellung der Grundkörper **38**, **39** und **40** ausgehend vom Lacton **44**

Eine günstige und kommerziell verfügbare Ausgangsverbindung für die jeweiligen Grundbausteine war das Lacton **44**, welches für die Synthese des Brombenzylethers **38** zunächst durch 24 stündiges Erhitzen in Methanol unter Zusatz von katalytischen Mengen an *p*-Toluolsulfonsäure in den Hydroxysäuremethylester **45** überführt wurde^[195]. Die

anschließende Einführung der THP-Schutzgruppe an die freie OH-Gruppe erfolgte dann entsprechend etablierter Methode mit DHP in CH₂Cl₂ und PyrTos in Anlehnung an MIYASHITA et al.^[180] Die Reduktion der Estergruppe des so erhaltenen THP-Esters **46** erfolgte anschließend in abs. Ether mit LiAlH₄^[177], hierbei war auf die strikte Abwesenheit von Wasser zu achten^[80, 189]. Aufgrund der säurelabilen THP-Schutzgruppe durfte der Ansatz entgegen der Literatur auch nicht sauer aufgearbeitet^[177, 196] sondern das gebildete Al(OH)₃ lediglich mittels Büchnertrichter abgetrennt werden. Für die nun beabsichtigte Einführung der PMB-Schutzgruppe waren die Bedingungen so zu wählen, dass eine gleichzeitige Abspaltung der THP-Schutzgruppe des THP-Ethers **47** vermieden wird. Zur Deprotonierung der freien OH-Gruppe des THP-Ethers **47** wurde dieser daher zunächst mit NaH in abs. Toluol für 24 h bei 50 °C gerührt. Durch anschließende Zugabe von *p*-Methoxybenzylchlorid zum Ansatz erfolgte die Synthese des Ether-Acetals **48**.^[197-199] Mehrere Versuche das Ether-Acetal **48** mithilfe von Triphenylphosphindibromid unter Austausch des Tetrahydropyranylesteres nach SCHWARZ et al. in den Bromether **38** zu überführen scheiterten.^[181] Zwar wurde eine Umsetzung nachgewiesen, jedoch erfolgte teilweise parallel eine Substitution des Tetrahydropyranyl- und des Benzylrestes gegen Brom. Das so gebildete 1,15-Dibrompentadecan konnte dünnschichtchromatographisch in größeren Mengen nachgewiesen werden. Da eine chromatographische Abtrennung des Monobromids **38** von diesem erfolglos war, wurde dieser Syntheseweg nicht weiter verfolgt und nach einer anderen Möglichkeit zur Synthese des Bromethers **38** gesucht. Erneut ausgehend vom Lacton **44** wurde zunächst durch Reduktion mit LiAlH₄ in abs. THF das Diol **49** synthetisiert^[177], welches durch zweimalige Umkristallisation aus Essigester und Heptan gereinigt wurde. Die Reduktion gelingt nur mit geringer Ausbeute. Ursächlich hierfür ist die schlechte Löslichkeit des Diols **49**, welches viel Ausgangsprodukt einschließt. Wie bereits bei der Synthese des Ether-Acetals **48** aus dem THP-Ether **47** erfolgte die Deprotonierung der OH-Gruppe durch NaH, aufgrund der Löslichkeit des Diols **49** allerdings in abs. DMF und nicht in abs. Toluol. Die anschließende Einführung der Schutzgruppe zur Darstellung des Monobenzylethers **50** erfolgte dann durch Zugabe von *p*-Methoxybenzylchlorid.^[198-199] Die geringe Ausbeute an Monobenzylether **50** ist auf die zeitgleich nicht unerhebliche Bildung von Dibenzylether zurückzuführen, welcher jedoch mittels Sch abgetrennt werden konnte. Weiterhin wurde der Monobenzylether **50** aus dem Ether-Acetal **48** durch Erhitzen unter Rückfluss in Methanol und gleichzeitiger Katalyse von PyrTos gewonnen.^[180] Aufgrund der guten Löslichkeit des Monobenzylethers **50** in MeOH wurde der Ansatz nach Abkühlung auf RT bis zur Trockne eingengt und dann durch Sch gereinigt. Die Darstellung des Bromethers **38** aus dem Monobenzylether **50** erfolgte nach einer, durch DRESCHER modifizierten^[200], Vorschrift von MORI et al.^[201] Die freie OH-Gruppe des Monobenzylethers **50** wurde zunächst unter Verwendung von Methansulfonsäurechlorid und TEA in CHCl₃ bei 0 °C und anschließendem Rühren bei RT verestert. Nach Aufarbeitung des Ansatzes und Einengung bis zur Trockne wurde das erhaltene Sulfonat **51** direkt weiter mit LiBr in Aceton und Erhitzen unter Rückfluss in den Bromether **38** überführt.

Ausgangsverbindung für die Synthese der Brommethoxymethylether **39** und **40** war wiederum das Lacton **44**, welches zunächst mit KOH im Stoffmengenverhältnis von 1.5_{KOH}:1₄₄ alkalisch in einem Gemisch aus Ethanol_{tech} und H₂O im Volumenverhältnis von 8:2 bei RT verseift wurde.^[177] Nach Ansäuern mit verdünnter HCl und Abkühlen des Ansatzes

auf 0 °C wurde die ausgefallene Hydroxysäure **52** abgetrennt, mit H₂O neutral gewaschen und im Exsikkator über P₂O₅ für 24 h getrocknet. Die Hydroxysäure **52** wurde dann ohne weitere Reinigung in HBr_{48%} sowie Acetanhydrid für 20 h unter Rückfluss erhitzt und in die Bromsäure **53** überführt.^[202] Zur Steigerung der Ausbeute wurde dem Ansatz in regelmäßigen Abständen frische HBr_{48%} zugeführt. Eine ursprünglich geplante direkte Umsetzung des Lacton **44** mit HBr_{48%} zur Synthese der Bromsäure **53** brachte keinen Erfolg.^[202] Zwar konnte eine Umsetzung mittels Dünnschichtchromatographie (DC) beobachtet werden, jedoch war eine Trennung der Reaktionsprodukte nicht möglich. Die nachfolgende Veresterung der Bromsäure **53** zur Darstellung des Bromesters **54** erfolgte durch Erhitzen unter Rückfluss in CHCl₃ und MeOH im Volumenverhältnis von 9:1 am Wasserabscheider unter Katalyse von konz. H₂SO.^[177] Nachdem keine Abscheidung von H₂O mehr zu beobachten war, wurde durch Waschen die Reste an MeOH und H₂SO₄ entfernt. Die Reinigung des Bromesters **54** durch Sch erwies sich für die nachfolgende Reduktion mittels LiAlH₄ bzw. LiAlD₄ in abs. Ether bei -5 bis 0 °C zur Darstellung der Bromalkohole **55** und **56** als sehr dienlich^[203], da so eine gute bis sehr gute Umsetzung erreicht werden konnte. Weiterhin erwies sich die Verwendung des Reduktionsmittels im Überschuss als vorteilhaft für die Ausbeute.^[177] Bei der Reduktion ist die Temperatur von 0 °C nicht zu überschreiten, um eine reduktive Bromabspaltung möglichst zu vermeiden. Vorteilhaft an der gewählten Variante des Einbaus von Deuterium beim Bromalkohol **56** ist ihre Irreversibilität aufgrund der Verwendung des komplexen Metallhydrids für die Reduktion der Estergruppe.^[204] Die Einführung der MOM-Schutzgruppe zur Synthese der Brommethoxymethylether **39** und **40** erfolgte jeweils durch Lösen der Bromalkohole **55** und **56** in Dimethoxymethan und Rühren für 48 h bei RT in Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure und LiBr.^[205-206]

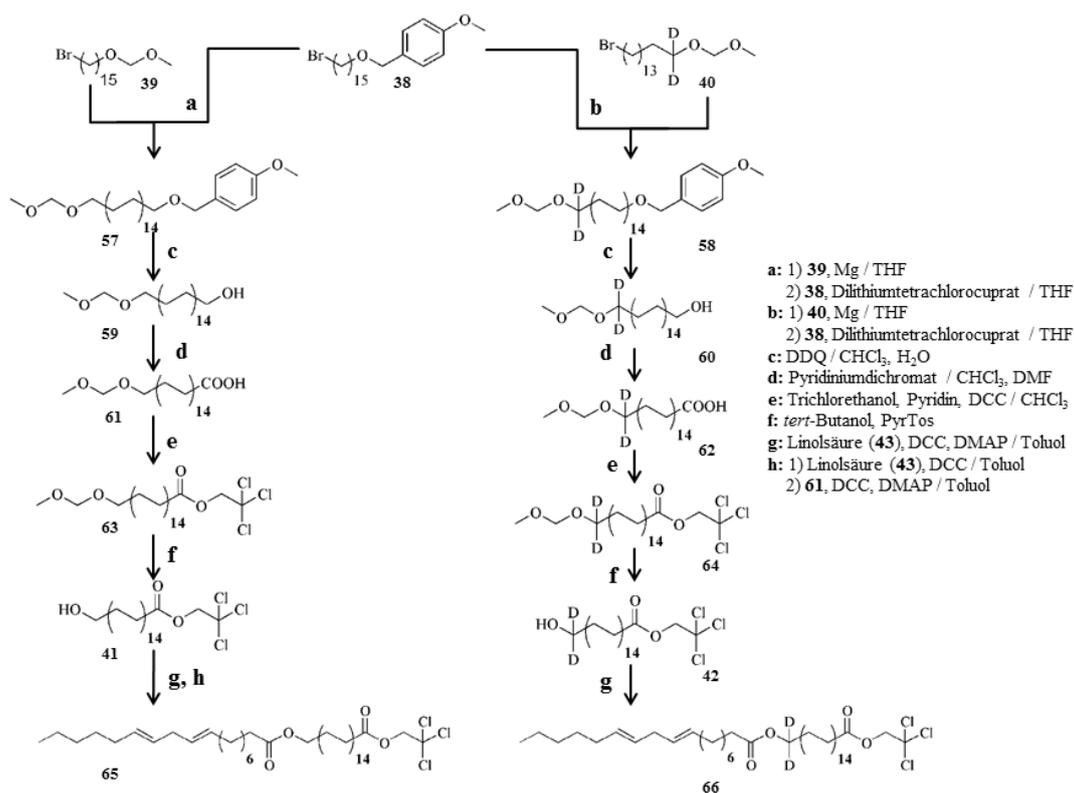


Abbildung 19 Syntheschema zur Darstellung der Linoleoyloxytriacontansäuretrichlorethylester **65** und **66**

Der Aufbau der langkettigen Diether **57** und **58** erfolgte anschließend aus dem Bromether **38** und Brommethoxymethylether **39** bzw. **40** durch eine kupferkatalysierte Kohlenstoff-Kohlenstoff-Kupplung nach GRIGNARD, die so bereits erfolgreich in der Arbeitsgruppe angewandt wurde.^[191, 207-209] Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche GRIGNARD-Kupplung ist neben der Wahl des Lösungsmittels auch die strikte Abwesenheit von H₂O bis zum Abbruch der Reaktion, da die aufgrund ihrer hohen Basizität in situ gebildeten magnesiumorganischen Verbindungen mit jedweder Protonenquelle reagieren und so verbraucht werden.^[80, 189] Zunächst wurden die Brommethoxymethylether **39** bzw. **40** in abs. THF gelöst und unter Argonatmosphäre zu Mg-Spänen getropft, währenddessen konnte ein Anstieg der Temperatur beobachtet werden. Nach erfolgter Zugabe wurde der Ansatz für 2 h bei 50 °C gerührt und dann inert vom überschüssigen Magnesium abdekantiert. Im Anschluss wurde bei -5 °C der in abs. THF gelöste Bromether **38** und eine frisch hergestellte 0.1 M Katalysatorlösung aus Dilithiumtetrachlorocuprat (II) in abs. THF zum jeweiligen Ansatz gegeben. Nach mehrstündigem Rühren bei 0 °C wurde die Reaktion durch Zugabe gesättigter Ammoniumchloridlösung gestoppt. Aus den NMR-Spektren der Diether **57** und **58** war ersichtlich, dass noch Nebenprodukte aus der GRIGNARD-Kupplung nach erfolgter Reinigung mittels SCh enthalten waren. Sowohl die Diether **57** und **58** als auch die Verunreinigungen zeigten jedoch ein ähnliches dünn-schichtchromatographisches Laufverhalten, weshalb sich gegen eine erneute Reinigung mittels SCh auf dieser Stufe entschieden wurde. Stattdessen sollten die Nebenprodukte erst auf der nachfolgenden Stufe abgetrennt werden. Die Abspaltung der PMB-Schutzgruppe zur Synthese der langkettigen Alkohole **59** und **60** erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von HORITA et al. mit DDQ in CHCl₃ unter Zugabe von H₂O bei RT.^[210] Bei der Aufarbeitung nach Originalvorschrift nur mit ges. NaHCO₃-Lösung wurden lediglich geringe Ausbeuten erzielt, sodass abweichend hiervon neben der Lösung auch festes NaHCO₃ zugesetzt wurde. Zusätzlich erfolgte eine mehrfache Extraktion des Ansatzes mit CH₂Cl₂, nach entsprechender Reinigung mittels SCh wurden dadurch sehr gute Ausbeuten erreicht. Die anschließende Oxidation der Alkohole **59** und **60** zur Darstellung der langkettigen Carbonsäureacetale **61** und **62** konnte aufgrund der gewählten Schutzgruppenstrategie nicht nach etablierter Methode mit CrO₃ und H₂SO₄ realisiert werden^[190], sondern musste unter Verwendung von Pyridiniumdichromat in einem Gemisch aus CHCl₃ und DMF im Volumenverhältnis von 1:1 erfolgen.^[128, 194, 211] Die von SONNENBERGER beschriebene Abspaltung von CH₂-Gruppen wurde nicht beobachtet.^[175] Die Reinigung mittels SCh erfolgte bei dem Carbonsäureacetal **61** unter Verwendung eines CHCl₃:Methanol-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung. Aufgrund verunreinigter Fraktionen musste hier jedoch ein zweites Mal chromatographiert werden. Um dies bei dem Carbonsäureacetal **62** zu umgehen wurde hier mit einem Heptan:CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung chromatographiert, verunreinigte Fraktionen traten hier nicht auf. Dem jeweiligen Eluenten wurde TEA zugesetzt, um eine Abspaltung der MOM-Schutzgruppe während der Chromatographie zu verhindern. Trotz anschließender Lagerung des Carbonsäureacetals **62** im Exsikkator über P₂O₅ konnte nicht sämtliches TEA entfernt werden, welches jedoch bei der nachfolgenden Einführung der Trichlorethyl-Schutzgruppe nicht weiter störte. Hierfür wurden die Carbonsäureacetale **61** und **62** zunächst in abs. CHCl₃, Pyridin und Trichlorethanol unter Argonatmosphäre vorgelegt. Die anschließende Bildung der Ester **63** und **64** erfolgte nach Zugabe von DCC durch Rühren bei

RT, eine Abspaltung der MOM-Schutzgruppe wurde hierbei nicht beobachtet.^[212] Die NMR-Spektren des Esters **63** zeigten noch Spuren von Verunreinigungen nach der Sch, sodass die Erhöhung der Polarität des Eluenten bei der Chromatographie des Esters **64** in kleineren Schritten erfolgte. Die Darstellung der geschützten ω -Hydroxyfettsäuren **41** und **42** erfolgte dann aus den Estern **63** und **64** durch Erhitzen unter Rückfluss in *tert*-Butanol für 24 h und Katalyse von PyrTos mit sehr guten Ausbeuten.^[213] Die Synthese der Linoleoylester **65** und **66** erfolgte nach der Vorschrift von ZERKOWSKI et al. mit DCC unter Katalyse von DMAP.^[214] Hierfür wurden unter Argonatmosphäre die jeweiligen ω -Hydroxyfettsäureester **41** und **42** mit der Linolsäure (**43**) und DCC im Stoffmengenverhältnis von 1:1.5:1.5 in abs. Toluol für 10 h bei RT gerührt.^[214] Aufgrund der schlechten Ausbeuten bei dieser Umsetzung wurde für die Synthese des Linoleoylesters **66** ein weiterer Ansatz verfolgt. Zunächst wurden die Linolsäure **43** sowie DCC in abs. Toluol und unter Argonatmosphäre für 2 h bei RT zur Bildung des Anhydrids gerührt, anschließend erfolgte die Zugabe von weiterem DCC, dem Hydroxysäureester **42** sowie DMAP.^[215] Nach Rühren für 12 h bei RT wurde der Ansatz bis zur Trockne eingengt und dann gereinigt. Auf diesem Wege konnte eine signifikant höhere Ausbeute als beim Ansatz nach ZERKOWSKI et al. erzielt werden.^[214]

In der Literatur sind verschiedene Wege für die Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe beschrieben, häufig erfolgt dies unter Verwendung von Zinkstaub in Kombination mit verschiedenen Salzen.^[216-218] Ein erster Versuch zur Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe für die Darstellung der Linoleoylester **36** aus dem Ester **65** erfolgte daher nach einer Vorschrift von JUST und GROZINGER unter Verwendung von Zinkstaub und KH_2PO_4 -Lösung in THF.^[216] In einer Testreaktion mit einer Modellverbindung, wo die Kettenlänge der C_{30} -Hydroxysäure des Esters **65** auf C_{15} reduziert war, erwies sich die Methode aufgrund der erzielten Ausbeute und gleichzeitigen Erhalt der beiden Doppelbindungen als geeignet für die Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe. Trotz 12-stündigen Rührens bei RT wurde jedoch beim Ester **65** dünnstichtchromatographisch keine Umsetzung beobachtet, auch bei der Untersuchung des Rohproduktes mittels ESI-MS wurde kein Peak der Säure **36** gefunden.

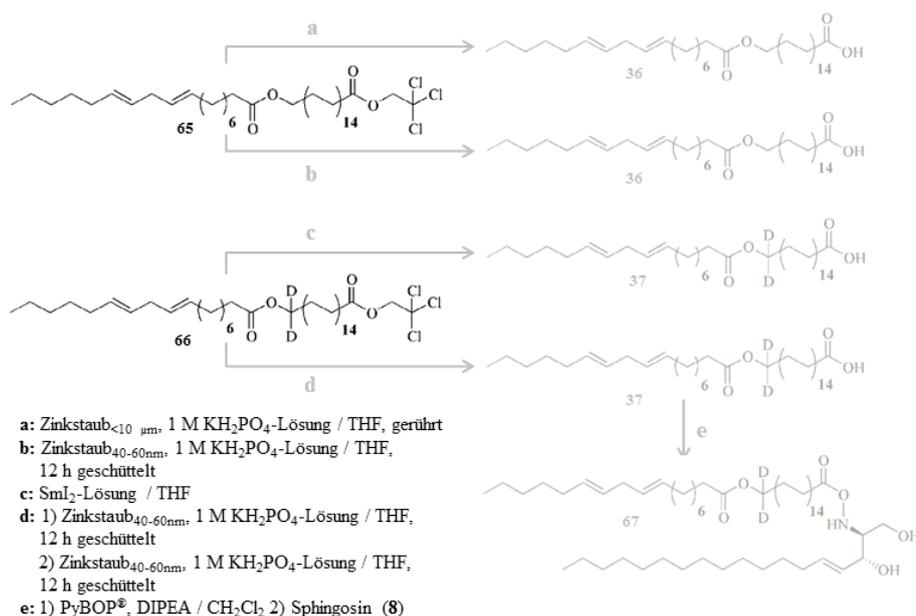


Abbildung 20 Umsetzung der geschützten Säuren **65** und **66** in die freien Säuren **36** und **37** bzw. zum CER[EOS]-D₂ **67**

Da die Methode nach JUST und GROZINGER jedoch wie bereits erwähnt in den Vorversuchen gut funktionierte, wurde die ursprüngliche Methode für einen zweiten Versuch wie folgt modifiziert: für eine bessere Durchmischung wurde der Ansatz nun geschüttelt und nicht gerührt sowie Zinkstaub_{40-60 nm} anstatt Zinkstaub_{<10 μm} verwendet. Eine Umsetzung wurde hier sowohl mittels DC als auch bei der Untersuchung des Rohproduktes durch ESI-MS beobachtet. Das Rohprodukt wurde daraufhin mittels SCh gereinigt, jedoch konnte keine freie Säure **36** isoliert werden. Dies lag wahrscheinlich an der geringen Menge an zu reinigender Substanz. Aufgrund der gescheiterten Ansätze wurde für die Darstellung der Säure **37** aus dem Ester **66** nach einer Alternative gesucht. In der Literatur finden sich neben den bereits erwähnten Methoden mit Zink weitere Ansätze, wie beispielsweise Selen in Kombination mit NaBH₃^[219], die Kombination aus Indium und NH₄Cl^[220], Natriumtellurit^[221] oder Samariumdijodid^[222]. Aufgrund der einfachen Reaktionsbedingungen und angegebenen quantitativen Ausbeute wurde sich für die Variante mit Samariumdijodid entschieden.^[222] Unter Argonatmosphäre wurde der Ester **66** bei 0 °C in THF vorgelegt und mit der Samariumdijodidlösung versetzt, nach Rühren für 2 h bei 35 °C erfolgte dann ein Abbruch der Reaktion durch Zugabe von H₂O. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt und unter Verwendung einer NH₄Cl-sowie Na₂S₂O₃-Lösung aufgearbeitet. Zwar wurde eine nahezu quantitative Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe dünnschichtchromatographisch und mittels ESI-MS beobachtet, jedoch führten die gewählten Reaktionsbedingungen zu einer teilweisen Hydrierung der Linolsäure. Ursächlich hierfür ist die Aufarbeitung über Nacht unter Zugabe von H₂O, da Samariumdijodid in Anwesenheit von Letzterem zur Hydrierung von Doppelbindungen führt^[223]. Auf eine Reinigung des Rohproduktes mittels SCh wurde verzichtet. Da auch dieser Ansatz nicht erfolgreich war und aufgrund der begrenzten Restmenge an verfügbarem Ester **66** wurde sich gegen einen weiteren Versuch unter neuen Reaktionsbedingungen entschieden. Stattdessen sollte erneut auf den modifizierten Versuchsaufbau nach JUST und GROZINGER mit Zink zurückgegriffen werden^[216], da hier eine entsprechende Umsetzung beobachtet wurde und scheinbar nur die Reinigung mittels SCh nicht erfolgreich war. Um eine möglichst quantitative Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe zu erreichen wurde der Versuchsaufbau dahingehend überarbeitet, dass die Reaktionszeit auf 36 h erhöht und nach 24 h der Ansatz erneut mit Zinkstaub_{40-60 nm} sowie KH₂PO₄-Lösung versetzt wurde. Eine regelmäßige Kontrolle des Reaktionsverlaufes mittels DC zeigte nach 36 h keine weitere Veränderung mehr an. Durch Filtration wurde der Zinkstaub abgetrennt und der Filtrerrückstand noch mehrfach mit CHCl₃ gespült. Nach entsprechender Aufarbeitung wurde das Rohprodukt der Säure **37** für 24 h im Exsikkator über P₂O₅ getrocknet. Bei der anschließenden Untersuchung mittels ESI-MS wurde nur noch der Peak der Säure **37** gefunden. Um erneut Verluste bei der Reinigung der Säure **37** mittels SCh zu vermeiden, wurde diese direkt ohne weitere Reinigung unter Verwendung von PyBOP[®] und Sphingosin **8** nach etablierter Methode zum CER[EOS]-D₂ **67** umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde zunächst mittels ESI-MS untersucht, ein entsprechender Peak für das CER[EOS]-D₂ **67** wurde im Spektrum gefunden. Bei der nachfolgenden Reinigung mittels SCh konnte erneut kein Produkt isoliert werden, was wahrscheinlich erneut an der zu geringen Substanzmenge lag.

In den bereits angesprochenen Vorversuchen, welche nicht Gegenstand dieser Arbeit sind, wurde die in diesem Abschnitt vorgestellte Synthesestrategie in Teilen an verschiedenen

Modellkörpern erprobt. Die Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe mittels Zinkstaub und KH_2PO_4 -Lösung nach JUST und GROZINGER wurde beispielsweise zunächst an einem zu **65** analogen Modellkörper, wo die C_{30} -Kette gegen eine C_{15} -Kette ausgetauscht war, getestet.^[216] In diesem Experiment wurde eine hohe Ausbeute an freier Säure erreicht. Mit der Kettenlänge einhergehende Löslichkeitsprobleme, ein häufiger Grund für schlechte Ausbeuten, wurden so während der Ansätze mit den Linoleolestern **65** und **66** nicht beobachtet. Mögliche Ursachen für die geringen Ausbeuten könnten beispielsweise eine durch Sauerstoff aus der Luft verursachte Passivierung des Zinkstaubs, eine aufgrund der erhöhten Kettenlänge stark verringerte Reaktivität in Kombination mit einer zu geringen Reaktionszeit oder aber eine zu schlechte Durchmischung von Zinkstaub, KH_2PO_4 -Lösung und THF-Phase sein. Um dennoch eine entsprechend hohe Ausbeute an freier Säure **36** oder **37** zu erreichen, könnte der Zinkstaub_{40-60 nm} zunächst mit konz. HCl behandelt werden und die Reaktion im Anschluss in einem Ultraschallbad erfolgen.^[224] Aufgrund von Zeitproblemen und Mangel an Substanz konnte ein entsprechender Versuch jedoch nicht mehr durchgeführt werden.

3.4 Synthesekonzept der Ceramide

3.4.1 Perdeuterierte Fettsäuren

Deuterium, welches mit einer Häufigkeit von 10^{-4} :1 im natürlichen Wasserstoff vorkommt und im Vergleich zu diesem ein zusätzliches Neutron im Atomkern besitzt^[179], wurde 1931 vom späteren Nobelpreisträger Harold Clayton Urey und seinen Kollegen Ferdinand Brickwedde sowie George Murphy entdeckt. Die molare Masse von Deuterium ist mit 2.014 g/mol fast doppelt so hoch wie die von Wasserstoff mit 1.008 g/mol. Dieser Umstand wird bei einer Vielzahl unterschiedlicher Anwendungen ausgenutzt. Verbindungen mit Deuteriumlabel haben beispielsweise eine große Bedeutung bei der Erforschung neuer Arzneimittel, der Entwicklung von quantitativen Analysemethoden zum Arzneimittelmetabolismus durch Massenspektrometrie sowie bei Untersuchungen von Reaktionsmechanismen und -kinetiken.^[225-226] Weitere Anwendungen finden sich in verschiedenen physikalisch-chemischen Messmethoden, als Beispiele seien hier Festkörper-NMR, Röntgen- und Neutronenstreuuntersuchungen genannt.^[137]

In der Arbeitsgruppe wurden bisher hauptsächlich CER mit einer spezifischen Deuterierung in Form einer endständigen CD_3 -Gruppe für Neutronenstreu- und Röntgenuntersuchungen zum Aufbau der SC synthetisiert. Grundlage war hier zumeist die dreistufige Reduktion einer Estergruppe in Anlehnung an eine Vorschrift von TULLOCH unter Verwendung von LiAlD_4 ^[227], welche je nach Bedarf modifiziert wurde. In dieser Arbeit wird aus Platzgründen nicht weiter auf die theoretischen Hintergründe zu diesem Verfahren eingegangen, sondern an dieser Stelle lediglich auf eine Auswahl entsprechender Arbeiten verwiesen.^[175, 185, 194]

Wie bereits einleitend unter 1.6.2 erwähnt, werden für Untersuchungen von Biomembranen durch Deuterium-Festkörper-NMR entsprechend perdeuterierte CER benötigt. Denkbar ist hier entweder die Deuterierung einer oder beider Seitenketten des CERs. In der Literatur gibt es zahlreiche Strategien für die Darstellung von Sphingoidbasen^[228-230], welche nach entsprechender Modifikation auch die Synthese von deuterierten Aminoalkoholen ermöglicht hätten. Aufgrund des hohen synthetischen Aufwandes wurde dieser Ansatz allerdings nicht

weiter verfolgt. Bei den Carbonsäuren gibt es zwar kommerziell verfügbare Verbindungen, jedoch sind diese sehr teuer und auch nur in einer begrenzten Auswahl verfügbar. Ein Schwerpunkt dieser Arbeit war daher die Weiterentwicklung und Variation bestehender Methoden zur Darstellung perdeuterierter Carbonsäuren. Neben einem Gehalt von $\geq 95\%$ Deuterium im Molekül sollte die Methode weiterhin kosteneffizient und für einen größeren Labormaßstab geeignet sein.

Als Modellverbindung diente dabei die Tetracosansäure (**68**), welche in die korrespondierende perdeuterierte Tetracosansäure **69** überführt werden sollte. Eine der ersten Publikationen zur Thematik der Perdeuterierung von Carbonsäuren stammt von VAN HEYNINGEN et al. Der Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium erfolgt hier mittels D_2O und KOH in Anwesenheit von PtO_2 als Katalysator bei einer Temperatur von $130-135\text{ }^\circ\text{C}$.^[231] DINH-NGUYEN überführte dagegen die Säure zunächst in das entsprechende Natriumsalz, der Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium erfolgte dann mit D_2O und NaOD sowie PtO_2 als Katalysator bei $200\text{ }^\circ\text{C}$.^[232] Beide Methoden lieferten trotz langer Reaktionszeiten bei entsprechenden Temperaturen nur bedingt zufriedenstellende Ergebnisse. Ursächlich hierfür ist wahrscheinlich die Wahl des Katalysators, wie neuere Untersuchungen zum Austausch von Wasserstoff gegen Deuterium zeigen. Die hierbei zugrundeliegende Kinetik wird stark von der Art und Form des Katalysators sowie der gewählten Temperatur bestimmt.^[233-234] Weiterhin ist die Wahl des Katalysators bzw. -gemisches stark abhängig von der Struktur der zu deuterierenden Verbindung, wobei sich Pd/C am effektivsten für unverzweigte Ketten erwies.^[226, 235-236] ATKINSON et al. beschrieben erstmalig 1967 eine Methode zur Deuterierung von einfachen Alkylketten durch Pd/C und D_2 .^[237] HSIAO et al. griffen dieses Prinzip auf und entwickelten dieses weiter^[238]. Für ihre Untersuchungen verwendeten SAJIKI et al. ebenfalls Pd/C-Katalysatoren, aber anstelle des D_2 wurde D_2O benutzt, welches eine günstige und leicht zugängliche Deuteriumquelle darstellt.^[239-240] Aufbauend auf diesen Publikationen wurden verschiedene Vorversuche und drei Testläufe durchgeführt. Gemein war allen Läufen: die Durchführung erfolgte im Autoklaven der Serie 5500 von Parr Instruments GmbH. Als Deuteriumquelle diente D_2O und als Katalysator wurde Pd/C (10 %) genutzt. Weiterhin wurden jeweils 1 g Säure **68** sowie 175 mg KOH verwendet. Beide Testläufe erfolgten bei einer Temperatur von $195\text{ }^\circ\text{C}$ unter ständigem Rühren. Eine Decarboxylierung ist bei den gewählten Reaktionsbedingungen nicht zu erwarten.^[238, 241]

Beim ersten Lauf wurden zunächst 200 mg Pd/C (10 %), 100 ml D_2O , die Säure **68** und KOH in der Hydrierapparatur vorgelegt. Die Apparatur wurde dann geschlossen, mehrfach mit D_2 gespült und der Ansatz gestartet. Nach 32 h wurde die Reaktion unterbrochen und das Säure-Katalysator-Gemisch von der wässrigen Phase mithilfe eines Filters abgetrennt. Das Gemisch wurde anschließend zurück in die Hydrierapparatur überführt und erneut mit 100 ml D_2O , 200 mg Pd/C (10 %) sowie 175 mg KOH versetzt. Die Apparatur wurde dann wieder verschlossen, mehrfach mit D_2 gespült und die Reaktion fortgesetzt. Nach weiteren 38 h Reaktionszeit wurde diese Prozedur noch einmal wiederholt. Nach einer Gesamtreaktionszeit von 107 h wurde die Reaktion abgebrochen und der Ansatz entsprechend aufgearbeitet. Für den zweiten Lauf wurden 300 mg Pd/C (10 %), 100 ml D_2O , die Säure **68** und KOH in der Hydrierapparatur vorgelegt und die Reaktion gestartet. Auf ein Spülen der Hydrierapparatur

mit D₂ wurde diesmal verzichtet. Nach einer Reaktionszeit von 100 h wurde die Reaktion abgebrochen und der Ansatz entsprechend aufgearbeitet. Ein dritter Testlauf erfolgte analog zu Lauf zwei, jedoch wurden hier 3 g Säure **68** anstatt 1 g umgesetzt. Anschließend wurde der Deuteriumgehalt der Zwischen- und Endprodukte jeweils durch Massenspektrometrie und ¹H-NMR bestimmt sowie miteinander verglichen. Als interner Standard bei den NMR-Messungen diente die undeuterierte Säure **68**. Die Ergebnisse der Läufe lassen sich wie folgt zusammenfassen: Ob die Hydrierapparatur vor der eigentlichen Deuterierung mit D₂ gespült wurde oder nicht hatte keinen messbaren Einfluss auf den Deuterierungsgrad der Säure **69**. Gleiches wurde für die Fällung bei RT zur Aufarbeitung der Säure **69** mit HCl oder DCl beobachtet. Ähnliche Beobachtungen werden auch durch HEYNINGEN et al. beschrieben.^[231] Als Reaktionszeit erwiesen sich 100 h als ausreichend. Ebenso genügen 100 ml D₂O als Deuteriumquelle für bis zu 3 g Säure **68**. Das so entwickelte und unter 5.3.6.1 beschriebene Verfahren liefert eine homogene Deuterierung der Carbonsäurekette von ≥ 95 % bis zu einer Kettenlänge von 24 Kohlenstoffatomen. Zum Großteil wurde ein Gehalt von 98 % und mehr erzielt. Ausnahme bleibt die methylverzweigte Hexadecansäure **31**, bei der eine unvollständige Deuterierung an den Kohlenstoffatomen C-9, C-10 und C-11 sowie an der Methylgruppe an Position C-10 beobachtet wurde. Ursächlich hierfür ist wahrscheinlich die erwähnte Methylgruppe, die zu einer sterischen Hinderung in dieser Region des Moleküls führt. Um hier zukünftig bessere Ergebnisse zu generieren, könnte beispielsweise die Reaktionszeit angehoben oder aber ein anderer Katalysator bzw. -gemisch verwendet werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das entwickelte Verfahren eine homogene Deuterierung von unverzweigten Carbonsäuren mit dem angestrebten Deuteriumgehalt ermöglicht. Gleichzeitig ist es kostengünstig im Vergleich zum Kauf der deuterierten Säuren, einfach anzuwenden und liefert im Labormaßstab hohe Ausbeuten.

3.4.2 α -Hydroxyfettsäuren – alternativer Weg über die Zwischenstufe der α -Bromsäuren

Aufgrund der unkomplizierten Zugänglichkeit des L- und D-Diastereomers aus dem DL-CER, näheres siehe 3.4.4, wurde nach einer Alternative zur aufwendigen Synthese von α -Hydroxyfettsäuren nach MORI und FUNAKI^[183] gesucht. Eine einfache Synthesestrategie besteht darin, eine gesättigte Monocarbonsäure entsprechender Kettenlänge mit elementarem Brom zunächst in eine α -Bromsäure zu überführen. Eines der ältesten Verfahren hierzu geht auf eine Veröffentlichung aus dem Jahre 1881 von HELL zurück, der zusätzlich Phosphortribromid als Katalysator verwendete.^[242] Dieses Verfahren wurde später durch VOLHARD^[243] und ZELINSKY^[244] weiterentwickelt. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die gesättigte Monocarbonsäure zunächst mithilfe von Thionylchlorid in ein Säurechlorid zu überführen und dieses anschließend mit elementarem Brom zur α -Bromsäure reagieren zu lassen.^[245-247]

Aufgrund der stark ätzenden Eigenschaften des Phosphortribromids, wurde sich für den zweiten Weg entschieden. Entsprechend wurden die Säuren **68**, **70** und **71** über die Zwischenstufe eines Säurechlorids in die jeweiligen α -Bromsäuren **72**, **73** und **74** umgesetzt. Zur Steigerung der Ausbeute erfolgte die Umsetzung unter Argonatmosphäre und mit Thionylchlorid im Überschuss. Die so erhaltenen α -Bromsäuren **72**, **73** und **74** wurden dann

nach LE SUEUR durch nukleophile Substitution mit KOH in Wasser in die racemischen α -Hydroxyfettsäuren **75**, **76** und **77** überführt.^[248] Abweichend zur Originalvorschrift wurde mit konz. HCl anstatt verdünnter H₂SO₄ angesäuert.

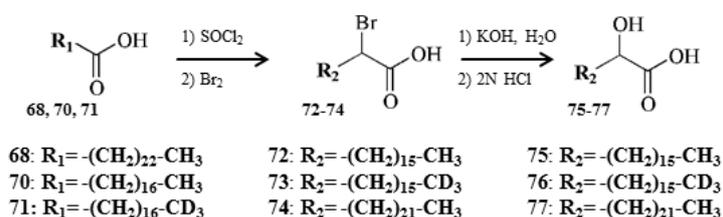


Abbildung 21 Darstellung der α -Hydroxyfettsäuren **75-77** über die Zwischenstufe der α -Bromsäuren **72-74**

Für die Darstellung der deuterierten α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27** wurden zuerst die Säuren **68** und **70** unter Verwendung von D₂O, KOH und Pd/C (10 %) in die perdeuterierten Carbonsäuren **69** und **78** überführt, welche zunächst ebenfalls unter Anwendung von Thionylchlorid sowie elementarem Brom in die α -Bromsäuren **79** und **80** überführt wurden. Im Anschluss erfolgte dann gleichermaßen in abgewandelter Form nach LE SUEUR durch nukleophile Substitution mit KOH in Wasser die Darstellung der racemischen α -Hydroxyfettsäuren **26** und **27**.^[248]

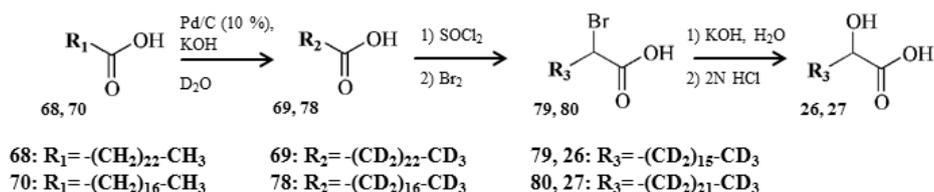


Abbildung 22 Darstellung der deuterierten α -Hydroxyfettsäuren **25** und **27** über die Zwischenstufe der α -Bromsäuren **69** und **78**

Die Reinigung der Säuren **26**, **75** und **76** erfolgte durch Umkristallisation aus siedendem CHCl₃, zur vollständigen Kristallisation wurde der Ansatz nach Abkühlung auf RT zusätzlich für 24 h im Kühlschrank gelagert. Aufgrund von Löslichkeitsproblemen bei den α -Hydroxyfettsäuren **27** und **77** wurde zum siedenden CHCl₃ solange MeOH zugetropft, bis die Rohprodukte komplett gelöst waren. Nach Abkühlen auf RT wurden zwecks vollständiger Kristallisation dann wenige Tropfen Heptan zum jeweiligen Ansatz gegeben und dieser ebenfalls für 24 h im Kühlschrank gelagert.

Im Vergleich zur unter 3.3.1 vorgestellten und in der Arbeitsgruppe etablierten Synthesestrategie nach MORI und FUNAKI^[183] ist der hier beschriebene Weg eine deutliche Vereinfachung für die Darstellung von racemischen α -Hydroxyfettsäuren bei gleichzeitig signifikant erhöhter Ausbeute. Auch ein negativer Einfluss auf den Gehalt an Deuterium im Molekül wurde nicht beobachtet. Beim Vergleich der Produkte fiel lediglich ein erhöhter Gehalt an Deuterium am Kohlenstoffatom in α -Position bei dem in diesem Abschnitt vorgestellten Weg auf. Ursächlich hierfür ist wahrscheinlich, dass ein Austausch von Deuterium gegen Wasserstoff an dieser Position im Molekül unter den gewählten Bedingungen kaum stattfindet. In dieser Arbeit wird der Einfachheit halber zwischen gleichen Produkten des hier und unter 3.3.1 vorgestellten Syntheseweges bei der späteren Synthese der CER nicht unterschieden. Weiterhin wird generell von 100 % Wasserstoff am Kohlenstoffatom in α -Position ausgegangen.

3.4.3 Amidknüpfung

Wie bereits im Abschnitt 1.5.1 erwähnt, bestehen CER aus einer Fettsäure und einer Sphingoidbase, die über eine Amidbindung miteinander verbunden sind. Eine direkte Umsetzung beider Bestandteile zum CER wird aufgrund der Salzbildung durch die konkurrierende Säure-Base-Reaktion erschwert, da das entstehende Ammoniumcarboxylat gegenüber nucleophilen Angriffen resistent ist.^[80] Eine unmittelbare Amidbildung ist daher nur unter sehr hohen Temperaturen möglich.^[80, 249] Um diese zu umgehen wird in der Regel die Carbonsäure zunächst in ein aktiviertes Carbonsäurederivat überführt, beispielsweise durch Austausch der OH-Gruppe gegen ein Halogenatom oder der Umwandlung der Säure in ein Säureanhydrid bzw. aktivierten Ester. Bei der Wahl des Derivates galt es zu beachten, dass eine Esterbildung mit den freien OH-Gruppen der Sphingoidbasen **7**, **8** und **9** vermieden wird sowie gleichzeitig die Doppelbindung der Sphingoidbase **8** erhalten bleibt. Weiterhin sollte eine aufwendige Schutzgruppenstrategie vermieden werden und die Reaktion idealerweise bei RT ablaufen. In der Literatur lassen sich verschiedene Ansätze zur Synthese von CER finden.

WILD und SCHMIDT nutzten ein Säurechlorid für die Synthese von CER[NP].^[250] Bereits 1972 wurden *N*-Hydroxysuccinimidester von Fettsäuren für die Synthese von CER eingesetzt^[251], die Ester wurden aus den Säuren unter Zuhilfenahme von *N*-Hydroxysuccinimid und *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid synthetisiert.^[252] OPÁLKA et al. nutzten für die Synthese des CER[EOS] ebenfalls einen *N*-Hydroxysuccinimidester, der gleichzeitig die Funktion einer Schutzgruppe während der mehrstufigen Synthese einnimmt.^[215] Die Synthese des *N*-Hydroxysuccinimidesters erfolgte aus der entsprechenden Säure und *N,N'*-Disuccinimidylcarbonat.^[215] TASHIRO und MORI benutzten für die Synthese des CER[EOS] und CER[EOH] einen aktivierten *O*-Acylharnstoff und 1-Hydroxybenzotriazol als Hilfsreagenz zur Ausbeutesteigerung.^[253] Der *O*-Acylharnstoff wurde aus der Säure und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid synthetisiert.^[253] Diese Methode wurde später modifiziert und auch von ŠKOLOVA et al. für die Synthese weiterer CER eingesetzt.^[254]

In der Arbeitsgruppe wurden in ersten synthetisch-präparativen Arbeiten die Säuren zunächst mithilfe von Chlorameisensäureethylester^[138] nach RAMSAMY et al.^[255] oder EEDQ^[138, 194, 256] in Anlehnung an BELLEAU et al.^[257] und MÜLLER et al.^[258] in ein Anhydrid überführt. Anschließend erfolgte die Umsetzung mit der jeweiligen Sphingoidbase zum CER. Aufgrund des zugrunde liegenden Reaktionsmechanismus erschien EEDQ als geeignetes Kupplungsreagenz^[259], infolge geringer Ausbeuten bei der Umsetzung mit langkettigen Carbonsäuren oder dem Phytosphingosin **7** wurde dieser Ansatz jedoch nicht weiterverfolgt. EEDQ wurde beispielsweise auch von WISSE et al. für die Synthese des CER[AH] verwendet, wobei ähnliche Ausbeuten wie die der Arbeitsgruppe erzielt wurden.^[230] Da für die Darstellung von Säureamiden eine große Anzahl an Kupplungsreagenzien zur Verfügung steht^[260], wurde in der Literatur nach einer Alternative zu EEDQ gesucht. Basierend auf den positiven Erfahrungen in der Arbeitsgruppe bei der Synthese verschiedener Malonsäureamide mit PyBOP[®]^[261-262] und der Tatsache, dass eine Amidbildung in der Synthese von CER so bisher noch nicht beschrieben war, sollte versucht werden, diese einfache Methode hier zu etablieren. PyBOP[®], ein kommerziell verfügbares und daher oftmals verwendetes Kupplungsreagenz in der Peptidsynthese^[263], ist ein Analogon von BOP[®] bei dem die

Dimethylamino- gegen Pyrrolidiningruppen ausgetauscht wurden. Dies hat den großen Vorteil, dass nach erfolgter Kupplung im Vergleich zu BOP[®] nicht das karzinogene Hexamthylphosphoramid freigesetzt wird^[264], bei gleichzeitig häufig gesteigerter Ausbeute.^[263, 265] Weitere Vorteile von PyBOP[®] sind die milden Reaktionsbedingungen und die Selektivität der Amidknüpfung in Anwesenheit von freien Hydroxygruppen, solange der postulierte Reaktionsmechanismus beachtet wird.^[266] Die jeweilige Säurefunktion reagiert ad interim mit PyBOP[®] in Anwesenheit einer Hilfsbase zu einem Phosphoniumintermediat, welches aufgrund der hohen Reaktivität weiter zu einem Benzotriazolester reagiert.^[266] Während ersteres noch in der Lage ist mit freien Hydroxygruppen zu reagieren, ist bei letzterem nur noch eine Umsetzung mit einer Aminogruppe zu einem Säureamid möglich.^[266] Die Säuren **10**, **68**, **70** und **81** wurden zunächst mithilfe von Pd/C (10 %), D₂O und KOH in die deuterierten Säuren **11**, **69**, **78** und **83** überführt. Anschließend erfolgte die Aktivierung der Säuren **11**, **35**, **69**, **78**, **81** sowie **83** mit PyBOP[®] und DIPEA als Hilfsbase in CH₂Cl₂.^[267] Versuche mit TEA als Hilfsbase lieferten im Vergleich zu DIPEA minimal geringere Ausbeuten an CER. Um eine selektive Knüpfung der Amidbindung zu gewährleisten, wurde der Ansatz zunächst bei RT gerührt. Anschließend erfolgte durch Zugabe der entsprechenden Sphingoidbasen **7-9** die Umsetzung in die CER **82** und **84-92**, eine Übersicht der dargestellten CER ist noch einmal in Abbildung 23 gegeben.

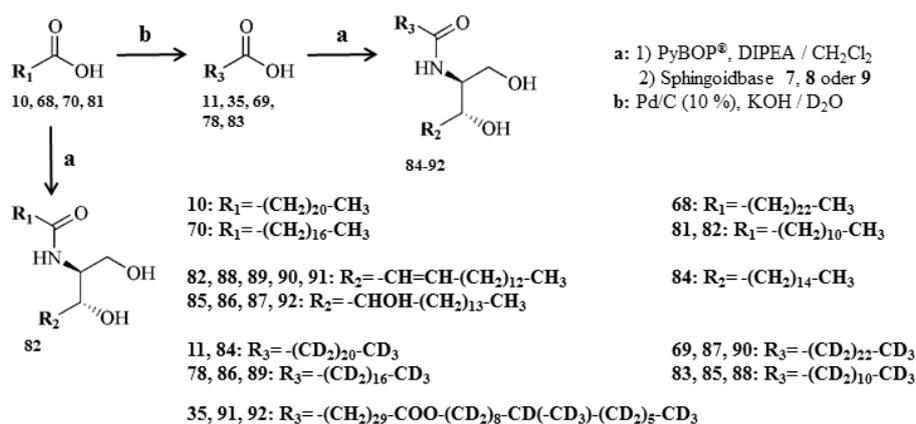


Abbildung 23 Syntheschema der dargestellten CER vom Typ CER[EO], CER[NDS], CER[NP] und CER[NS]

Entgegen der unmittelbaren Amidknüpfung aus α-Hydroxyfettsäure und Aminoalkohol mit PyBOP[®] musste für CER der Typen CER[ADS], CER[AP] oder CER[AS] ein anderer Syntheseweg eingeschlagen werden. Wie bereits in der Arbeit von SONNENBERGER erwähnt^[175], kommt es bei der direkten Umsetzung von einer α-Hydroxyfettsäure mit einer Sphingoidbase zur Bildung eines Nebenproduktes, welches nicht durch Sch abgetrennt werden kann. Es wird vermutet, dass es durch das hochreaktive Phosphoniumintermediat zur Bildung eines Esters aus zwei α-Hydroxyfettsäuremolekülen kommt.^[266] In verschiedenen Versuchsansätzen konnte diese Nebenreaktion nicht ausgeschlossen werden, sodass dieser Ansatz letztendlich verworfen und nach einem alternativen Weg gesucht wurde. Um die Bildung des Esters auszuschließen, erfolgte daher zunächst eine Acetylierung an der freien OH-Gruppe der Säuren **26**, **27** und **75-77** durch Umsetzung mit Acetanhydrid und Pyridin nach WISSE et al. in CH₂Cl₂.^[230] Die so geschützten 2-Acetoxyalkansäuren **93-97** wurden daraufhin direkt mit PyBOP[®] und DIPEA in CH₂Cl₂ aktiviert. Unter Beachtung des Reaktionsmechanismus wurde der Ansatz zunächst bei RT gerührt und dann mit der

jeweiligen Sphingoidbase **7-9** zur Reaktion gebracht. Die Deacetylierung der Verbindungen **98-103** erfolgte ebenfalls nach WISSE et al. in einem Gemisch aus CHCl_3 und MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 mit katalytischen Mengen an K_2CO_3 unter Rühren bei $\text{RT}^{[230]}$, abweichend zur Originalvorschrift wurden zur quantitativen Umsetzung noch 5 Tropfen Wasser zugesetzt. Die Aufarbeitung beschränkte sich auf Einengen der Ansätze bis zur Trockne. Auf die nachfolgende Diastereomerentrennung der DL-CER **104-112** in die jeweiligen L- **113-121** und D-Diastereomere **122-130** wird näher in Abschnitt 3.4.4 eingegangen.

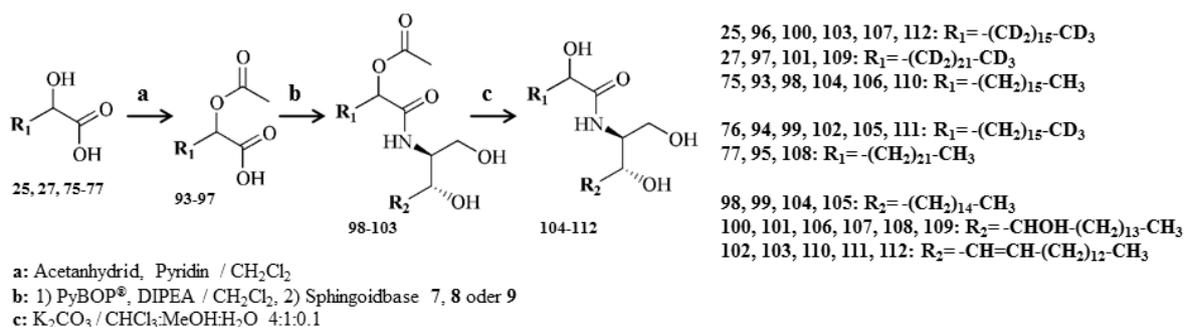


Abbildung 24 Syntheschema der dargestellten DL-CER vom Typ CER[ADS], CER[AP] und CER[AS]

Wie bereits einleitend in diesem Abschnitt erwähnt, sind für die Knüpfung der Amidbindung von CER eine große Anzahl unterschiedlicher Synthesewege beschrieben. Neben diesen sind in der Literatur verschiedenste Kupplungsreagenzien für die Synthese von Amiden zu finden.^[260] Basierend hierauf, wurde in verschiedenen Testansätzen mit der Hydroxysäure **75** und Sphingoidbase **8** eine Alternative zur in Abbildung 24 dargestellten Syntheseroute gesucht. Jedoch scheiterten diverse Ansätze nach WATKINS et al. mit Trifluoressigsäurepentafluorphenylester.^[268] Eine Zwischenaktivierung der Säure **75** mithilfe von *N,N'*-Carbonyldiimidazol nach ACHATZ et al.^[269] und anschließender Umsetzung nach WATKINS et al.^[268] sowie mit *N*-Hydroxysuccinimid nach OPÁLKA et al.^[215] scheiterten jeweils an der Aktivierung der Hydroxysäure **75**, sodass die Suche nach einer alternativen Amidknüpfung wieder verworfen wurde. Zumal der in Abbildung 24 beschriebene Ansatz unter milden Reaktionsbedingungen abläuft, gute bis sehr gute Ausbeuten liefert sowie PyBOP® kommerziell verfügbar und dazu günstig ist.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit mussten die CER **82**, **84-92** und **104-112** vor der eigentlichen Reinigung mittels Sch auf SiO_2 aufgezogen werden. Hierfür wurden diese zunächst in einem Gemisch aus CHCl_3 :MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst und dann auf wenig SiO_2 adsorbiert. Die anschließende Sch fand unter zu Hilfenahme von CHCl_3 :MeOH:0.5 %_(v/v) $\text{NH}_{3\text{aq}}$ für CER vom Typ CER[ADS], CER[AP], CER[AS], CER[EOP] und CER[NP] bzw. Heptan: CHCl_3 :MeOH:0.5 %_(v/v) $\text{NH}_{3\text{aq}}$ für CER vom Typ CER[EOS], CER[NDS] bzw. CER[NS] als mobile Phase statt. Die Abtrennung eines Nebenproduktes aus der Kupplung, welches als weißer Schatten auf der DC-Platte kurz oberhalb des CER sichtbar ist und bereits durch SONNENBERGER beschrieben wurde^[175], erfolgte beim CER[NS12] **82** nicht vollständig, was zu einer erhöhten Anzahl an verunreinigten Fraktionen und einer geringen Ausbeute führte. Um ähnliche Verluste bei weiteren CER des Typs CER[EOS], CER[NDS] oder CER[NS] zu vermeiden musste das Reinigungsverfahren angepasst werden. Zunächst wurde das jeweilige Rohprodukt nach

Trocknung und vor Adsorption auf SiO₂ in Heptan suspendiert, bei 40-45 °C für ca. 10 min gerührt und anschließend nach Abkühlung auf RT abfiltriert. Weiterhin wurde bei der eigentlichen Sch mit einem Gemisch aus Heptan:CHCl₃ als mobile Phase anstatt direkt mit CHCl₃:MeOH:0.5 %_(v/v)NH_{3aq} begonnen. Mit der adaptierten Methode konnte das Nebenprodukt abgetrennt und die Ausbeuten des jeweiligen CER signifikant erhöht werden. Auf eine nachträgliche Reinigung der Fraktionen von CER[NS12] **82** zur Steigerung der Ausbeute wurde verzichtet.

Durch Kombination der synthetisierten CER mit den unter 1.6 vorgestellten physikochemischen Untersuchungsmethoden konnten neue Erkenntnisse zur Bedeutung der einzelnen CER-Typen auf die strukturelle Anordnung und Stabilität der LM im SC gewonnen werden. Beispielsweise wurde mithilfe von Festkörper-NMR-Messungen ein unterschiedliches thermotropes Phasenverhalten von CER[NP] und CER[NS] in Modellmembranen bei niedrigen Temperaturen nachgewiesen.^[169] Die Membran mit CER[NP] hatte tendenziell einen höheren fluiden Phasenanteil, was auf die zusätzliche OH-Gruppe im Bereich der Kopfgruppe im Vergleich zum CER[NS] zurückgeführt wird. Diese verursacht einen Packungsdefekt in der Anordnung der einzelnen Membranbestandteile, was zu einer Destabilisierung der kompletten Membran führt und hierdurch die Bildung einer Gel-Phase begünstigt wird.^[169]

3.4.4 Diastereomerentrennung bei racemischen Ceramiden

CER, die neben der Sphingoidbase eine α -Hydroxyfettsäure in der Grundstruktur besitzen, zählen zu den am häufigsten vorkommenden Spezies im natürlichen SC des Menschen, siehe hierzu auch die Tabelle im Abschnitt 1.5.2. Dementsprechend werden diesen in der Hautforschung eine besondere Aufmerksamkeit zuteil, wie eine kleine Auswahl an Publikationen zeigt.^[63, 96, 125, 270-271] Abweichend von der natürlichen LM des SC werden für die meisten Experimente jedoch racemische Gemische dieser CER genutzt. KARLSSON und PASCHER postulierten jedoch schon in den 1970er Jahren, dass nur die D-Form der jeweiligen CER in der natürlichen LM vorkommt.^[272-274] Auf einer älteren Arbeit aufbauend^[185] wurden zwei Synthesestrategien entwickelt, welche die für die Darstellung der D-Form benötigten (*R*)-konfigurierten α -Hydroxyfettsäuren zugänglich machen sollten.

Der erste Ansatz basierte auf der Synthese der Säuren ausgehend von D-Mannitol, aufgrund seiner C2-Symmetrie eine gute Ausgangsverbindung für die entsprechenden α -Hydroxyfettsäuren. Hierfür wurde das Mannitol zunächst nach einer Vorschrift von BOURNE et al. mit konz. H₂SO₄ und Aceton zum 1,2:3,4:5,6-Tri-*O*-isopropyliden-D-mannitol^[275] und anschließend nach NUGIEL et al. mit 60%iger Essigsäure zum 3,4-*O*-Isopropyliden-D-mannitol umgesetzt^[276]. Dieses wurde durch Reaktion mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und katalytischen Mengen an 4-(Dimethylamino)pyridin in Pyridin nach einer Vorschrift von ALTERMAN et al. in das 1,6-Di-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol überführt.^[277] Die erzielten Ausbeuten entsprachen der jeweiligen Literatur.^[276-278] Eine Dibenzilylierung an Position 2 und 5 nach Literatur mit Benzylbromid in THF unter Zuhilfenahme von Tetrabutylammoniumjodid als Katalysator und NaH zur Deprotonierung der Hydroxygruppen lieferte nur eine sehr geringe Ausbeute.^[277, 279] Ursächlich hierfür war, dass anstatt der Dibenzilylierung meist nur eine Monobenzilylierung

stattfind. In Anlehnung an die Vorschrift von ALTERMAN et al. wurden verschiedene Testansätze zur Deprotonierung der freien Hydroxygruppen an Position 2 und 5 sowie anschließender Dibenzilylierung durchgeführt.^[277] Am effektivsten erwies sich hier NaH in Verbindung mit einem Gemisch bestehend aus THF und Dimethoxyethan im Volumenverhältnis von 1:1 zur Deprotonierung, gefolgt von einer Umsetzung mit Benzylbromid in Anwesenheit von katalytischen Mengen an Tetrabutylammoniumjodid zur Dibenzilylierung. Mit dieser abgewandelten Methode konnte das 2,5-Di-*O*-benzyl-1,6-di-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol mit einer guten Ausbeute erhalten werden. Die Abspaltung der Silylschutzgruppen in Position 1 und 6 erfolgte durch Tetrabutylammoniumfluorid in THF.^[277] Das so erhaltene 2,5-Di-*O*-benzyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol wurde in einer zweistufigen Synthese nach MORI et al.^[201], entsprechend DRESCHER modifiziert^[200]. Unter Zuhilfenahme von Methansulfonylchlorid und TEA in CHCl₃ zum 1,6-Dimesyl-2,5-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol überführt und dann mit LiBr in Aceton zum 1,6-Dibrom-1,6-dideoxy-2,5-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol umgesetzt. Dieses sollte im Anschluss mit Pentadecylbromid in einer kupferkatalysierten GRIGNARD-Reaktion^[207] zum 4,5-Bis[(1-benzyloxy)heptadecyl]-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan umgesetzt werden. Diese Variante der GRIGNARD-Reaktion wurde schon mehrfach in der Arbeitsgruppe erfolgreich angewandt.^[191, 208-209, 280] In einem ersten Versuch wurde anfangs das Pentadecylbromid mit Mg in THF zur GRIGNARD-Verbindung umgesetzt, die anschließende Kupplung mit dem 1,6-Dibrom-1,6-dideoxy-2,5-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-isopropyliden-D-mannitol scheiterte. Letztere Verbindung zunächst in die GRIGNARD-Verbindung zu überführen, scheiterte sowohl in Diethylether als auch in THF. Ursächlich hierfür ist wahrscheinlich die sterische Hinderung aufgrund der Benzylschutzgruppe in Position 2 und 5, auch wenn dies in der Literatur so nur für die direkte Umgebung zu den reagierenden Atomen beschrieben ist.^[80, 189] Aufgrund der mehrfach gescheiterten Versuche zur Kohlenstoff-Kohlenstoff-Knüpfung wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt und sei deshalb hier nur am Rand erwähnt.

Der zweite Ansatz baute auf dem bereits unter 3.3.1 beschriebenen Synthesekonzept von MORI und FUNAKI auf^[183], welche zunächst einen Acetaminomalonsäureester mit einem Alkylbromid nach GERENCEVIC et al. umsetzten.^[281] Anschließend erfolgte über mehrere Zwischenstufen die Synthese einer racemischen Aminosäure. Für die eigentliche Racematspaltung unter Verwendung von Aspergillus-Acylase, wurde die Aminosäure hier zunächst durch Chlorameisensäurechlorid N-acetyliert.^[183, 282] Mit NaNO₂ und H₂SO₄ wurde die Aminosäure anschließend in eine Hydroxysäure überführt. Die optische Reinheit der (*R*)-Hydroxysäure war mit nur 85 %_{e.e.} allerdings niedriger als erwartet.^[183] Dies wurde auf eine partielle Racemisierung aufgrund der gewählten Reaktionsbedingungen während der Deaminierung zurückgeführt, da die Enantioselektivität der angewandten Methode bei der Synthese einer anderen Hydroxysäure mit 94 %_{e.e.} nahezu perfekt war.^[283] Aufbauend hierauf gab es verschiedene Überlegungen die optische Reinheit der α -Hydroxyfettsäuren zu erhöhen. Zum einen sollte versucht werden eine Racemisierung durch Anpassung der Bedingungen während der Deaminierung zu verhindern, da entsprechend BREWSTER et al. diese eigentlich unter Beibehaltung der Konfiguration erfolgt.^[284] Zum anderen sollte versucht werden, die α -Hydroxyfettsäuren durch eine selektive Salzfällung unter Zuhilfenahme von 1-Phenylethylamin nach der von PASCHER und KARLSSON beschriebenen Methode weiter zu

reinigen.^[274] Eine weitere Möglichkeit wäre gewesen, die Racematspaltung nicht auf Stufe der Aminosäure sondern auf Stufe der α -Hydroxyfettsäure durchzuführen.

Der dritte Ansatz beruhte auf den chromatographischen Eigenschaften der DL-CER. Durch DC Experimente konnten KARLSSON und PASCHER bereits 1971 das unterschiedliche Laufverhalten der L- und D-Diastereomere von racemischen Gemischen verschiedener CER mit einer α -Hydroxysäure aufzeigen.^[272] In einer späteren Publikation führte PASCHER dies auf die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen in der Kopfgruppe beim L-Diastereomer zurück, wodurch dessen Polarität im Vergleich zum D-Diastereomer verringert ist.^[285] Dies wiederum bedingt einen höheren R_f -Wert des L-Diastereomers im Vergleich zum D-Diastereomer.^[285] Die räumliche Ausrichtung samt Wasserstoffbrückenbindungen ist noch einmal am Beispiel der Diastereomere von CER[AP] in Abbildung 25 nach PASCHER gegenübergestellt^[285], bei L- und D-Form unterscheidet sich lediglich die Konfiguration der OH-Gruppe im Säureteil. Beim verwendeten Modell zeigen die Kohlenwasserstoffketten vom Betrachter weg. Im Vordergrund steht die Amidgruppe, auf deren Ebene oder nahe dieser alle Atome mit fester Bindung angeordnet sind.

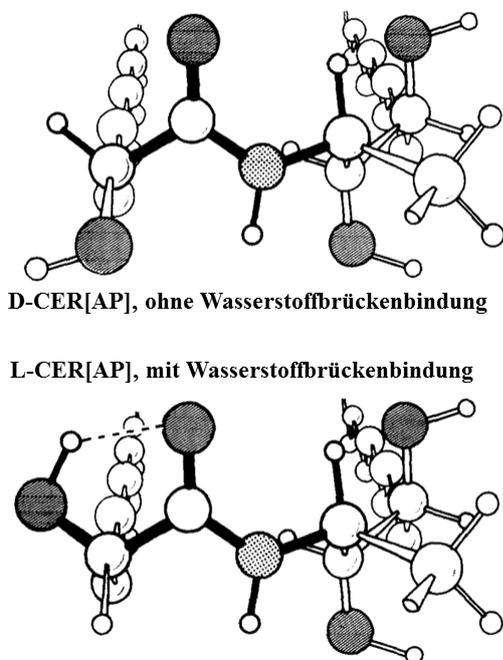


Abbildung 25 Räumliche Ausrichtung der Diastereomere von CER[AP] nach PASCHER mit Wasserstoffbrückenbindungen,^[285] bearbeitet und übersetzt durch LANGE

Aufbauend auf den unterschiedlichen Laufeigenschaften der Diastereomere sollte eine einfache Methode zur Trennung verschiedener DL-CER mittels Sch entwickelt werden. Das dies prinzipiell möglich ist, zeigten RAUDENKOLB et al. am Beispiel des DL-CER[AP18] unter Verwendung eines Gemisches bestehend aus CHCl_3 :THF:MeOH mit steigender Polarität bereits in einer Veröffentlichung 2005.^[286] Da die Ergebnisse unter Verwendung des beschriebenen Gemisches als mobile Phase während der Sch mehrfach nicht reproduzierbar waren, musste nach einer Alternative gesucht werden. In DC-Untersuchungen zum Laufverhalten verschiedener DL-CER in unterschiedlichen mobilen Phasen erwies sich ein Gemisch bestehend aus CHCl_3 :MeOH: $\text{NH}_{3\text{aq}}$ hinsichtlich Auftrennung der Diastereomere am geeignetsten. Hier wurde eine saubere Trennung mit ermittelten R_f -Werten jeweils ≥ 0.15 zwischen L- und D-Form erreicht. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden verschiedene Versuche mit den

Modellsubstanzen DL-CER[AP18] und DL-CER[AS18] durchgeführt. Gemein hatten alle, dass die entsprechenden DL-CER zunächst auf SiO_2 adsorbiert wurden. Variablen waren die angewandte Technik der Sch, das Verhältnis von SiO_2 zum DL-CER und die Polarität der mobilen Phase. Bei Letzterer erfolgte die Erhöhung entweder dis- oder kontinuierlich bzw. wurden auch isokratische Läufe durchgeführt. Am effektivsten erwies sich letztendlich die Kombination aus konditionierter Säule mit einem Masseverhältnis SiO_2 :Substanz von 200:1

und einer isokratischen mobilen Phase. Die Polarität muss dabei aber dem entsprechenden DL-CER sowie der jeweiligen L- und D-Form angepasst werden. Weiterhin zeigte sich, dass eine direkte Trennung der Diastereomere aus dem Rohprodukt nach der Synthese nur unzureichende Ergebnisse mit einer hohen Anzahl an Mischfraktionen aus L- und D-Form lieferte. Dies liegt vermutlich an dem ungünstigen Verhältnis von SiO₂ zu Substanz. Um dieses Problem zu umgehen, wurde das Rohprodukt vor der eigentlichen Diastereomerentrennung zunächst mittels Sch gereinigt.

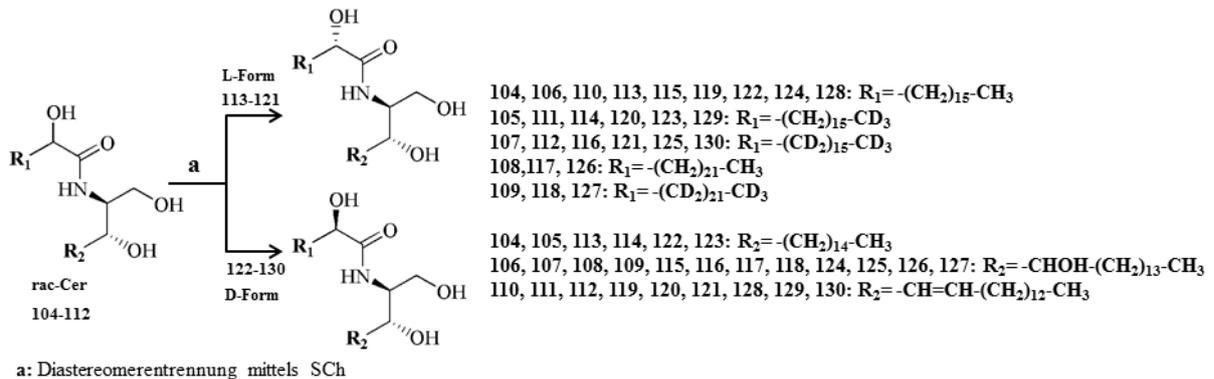


Abbildung 26 Übersicht der erhaltenen L- und D-Diastereomere, ausgehend vom entsprechenden DL-CER

Aufgrund der einfachen und zuverlässigen Trennung der Diastereomere mittels Sch wurden die Ansätze 1 und 2 nicht weiter verfolgt. Ein großer Vorteil der gewählten Methode ist die gleichzeitige Verfügbarkeit von L- und D-Form des jeweiligen CER aus einer Synthese. Dies ermöglicht einen Vergleich der lamellaren als auch molekularen Eigenschaften und die Auswirkungen auf die Nanostruktur von Modellmembranen nach deren Einbau. So konnte in einer Publikation durch SCHMITT et al. die unterschiedliche Interaktion der L- und D-Form von CER[AP24] mit CER[NP24], Cholesterin und freien Fettsäuren verdeutlicht werden. Beide zeigten hier in Abwesenheit von CER[NP] ein kristallines Phasenverhalten.^[287] In Anwesenheit von CER[NP] zeigte die D-Form dagegen ein natives, wogegen die L-Form ihr kristallines Phasenverhalten beibehält.^[287] Weiterhin konnte die Auswirkung auf den Wassergehalt der Modellmembran demonstriert werden, welcher beim D-CER[AP] signifikant höher war.^[287] Dies wiederum könnte zur Dehydrierung der Haut bei Verwendung von DL-CER[AP] in Salben oder Cremes führen.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Als äußerste Schicht des menschlichen Organismus fungiert die Haut als Abgrenzung gegenüber der Umwelt und ist zugleich Schutz gegenüber pathogenen Umwelteinflüssen. Parallel hierzu hat sie eine Vielzahl unterschiedlichster Aufgaben wie beispielsweise die Wärmeregulation des Körpers, der Beteiligung am Stoffwechsel sowie der Immunantwort und weiterhin als Energiespeicher.

Die äußerste Schicht der Haut ist das Stratum Corneum. Diese sich ständig regenerierende Schicht aus toten verhornten Keratinozyten, den sogenannten Korneozyten, und einer interzellulären Lipidmatrix hat aufgrund ihres speziellen Aufbaus eine Schlüsselfunktion beim Schutz des Organismus gegenüber exogenen Einflüssen inne. Gleichzeitig reguliert sie zur Aufrechterhaltung der lebensnotwendigen Homöostase dessen Wasserhaushalt. Die Lipidmatrix besteht vorwiegend aus Cholesterol und Cholesterolderivaten, freien Fettsäuren sowie Ceramiden. Die strukturelle Vielfalt der Ceramide hier ist dabei einzigartig. Die unterschiedlichen Subspezies sind maßgeblich an der Aufrechterhaltung der lamellaren Ordnung innerhalb der Matrix beteiligt. Um die Bedeutung der einzelnen Subspezies und die Auswirkungen von Enhancern auf die Ordnung genauer zu verstehen, können Modellmembranen mit verschiedenen physikochemischen Methoden wie beispielsweise der Neutronendiffraktion, Röntgenstrahlung oder Festkörper-NMR untersucht werden. Aufgrund der geringeren Komplexität gegenüber nativem Probenmaterial haben sich Modellmembranen aus Cholesterol, freien Fettsäuren und synthetisch hergestellten Ceramide mit definierter Kettenlänge in den entsprechenden Experimenten als vorteilhaft erwiesen. Vergleichsmessungen von undeuterten und deuterten Proben ermöglichen die Lokalisation der Deuteriumatome bzw. Moleküle innerhalb der jeweiligen Modellmembran. Dies wiederum lässt Rückschlüsse zum Aufbau und den vorherrschenden Phasenverhältnissen zu. Die Zusammensetzung von undeuterten und deuterten Proben ist identisch und orientiert sich beim Mengenverhältnis der einzelnen Bestandteile für gewöhnlich an der natürlichen Matrix. Ein Schwerpunkt der Arbeit war daher den Arbeitsgruppen um Herrn Prof. Dr. Dr. Neubert, Herrn Prof. Dr. Brezesinski und Herrn Prof. Dr. Huster mittels Synthese spezifisch deuterierte Verbindungen wie dem häufig in halbfesten und flüssigen Arzneiformen als Penetrationshilfe verwendetem Isopropylmyristat sowie eine große Anzahl verschiedener Ceramide des Dihydrosphingosin-, Sphingosin- und Phytosphingosin-Typs für die jeweiligen Experimente zur Verfügung zu stellen.

Im ersten Teil der Arbeit wird zunächst die Synthese des deuterierten Isopropylmyristats beschrieben. Ausgehend von perdeutertem Bromdodecan und Malonsäurediethylester werden diese zunächst über mehrere Zwischenstufen in eine deuterierte Myristinsäure überführt und im Anschluss mit Isopropanol dann zum entsprechenden Ester umgesetzt. Weiterhin wird auf die Darstellung verschiedener Grundkörper für die spätere Ceramidsynthese eingegangen. Neben der Synthese des Dihydrosphingosins durch Hydrierung von Sphingosin wurden zwei deuterierte racemische α -Hydroxyfettsäuren mit einer Kettenlänge von 18 bzw. 24 Kohlenstoffatomen sowie eine in ω -Position mit einer deuterierten 10-Methylhexadecansäure, anstatt von Linolsäure wie bei der im CER[EOS] vorkommenden Carbonsäure, veresterten 30-Hydroxytriacontansäure dargestellt.

Im mittleren Teil der Arbeit wird dann die Synthese der 30-(Linoleoyloxy)triacontansäure und 30,30-D₂-30-(Linoleoyloxy)triacontansäure sowie sämtlicher Vorstufen detailliert beschrieben, beide Säuren sollten dann mit Sphingosin jeweils zum CER[EOS] bzw. CER[EOS]-D₂ umgesetzt werden. Für die Synthese der beiden Säuren erfolgte zunächst die Darstellung der folgenden C₁₅-Grundkörper: 15-Brom-1-(4-methoxybenzyloxy)-pentadecanol, 15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ether und 1,1-D₂-15-Brompentadecanyl-1-(methoxymethyl)ether, welche im Anschluss zunächst durch GRIGNARD-Reaktion verknüpft und dann über mehrere Zwischenstufen in den 30-(Linoleoyloxy)-triacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester und 30,30-D₂-30-(Linoleoyloxy)triacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester überführt wurden. Durch Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe sollten diese dann in die entsprechenden Säuren überführt werden. Trotz mehrerer Versuche mittels Zinkstaub bzw. Samariumdijodidlösung gelang dies jedoch nicht. Zwar konnten die entsprechenden Verbindungen mittels ESI-MS nachgewiesen aber letztendlich nicht isoliert werden. Aufbauend auf der vorgestellten Synthesestrategie sollten ursprünglich weitere deuterierte Vertreter vom Typ CER[EOS] wie beispielsweise mit einer deuterierten Linolsäure oder einem Endständig deuterierten Sphingosin dargestellt werden. Aufgrund von Zeitproblemen wurden diese Ansätze jedoch nicht weiterverfolgt und bleiben zukünftigen Arbeiten vorbehalten, wie auch eine effiziente Abspaltung der Trichlorethylschutzgruppe. Potentielle Ansätze hierfür sind zum einen der Umsatz mittels Zinkstaub_{40-60 nm} und KH₂PO₄-Lösung unter Zuhilfenahme eines Ultraschallbads oder aber mithilfe einer Samariumdijodidlösung ohne anschließende wässrige Aufarbeitung.

Der letzte Teil der Arbeit behandelt das Synthesekonzept für die verschiedenen Ceramidtypen. Beschrieben wird hier zunächst die Entwicklung der in dieser Arbeit angewandten Methode zur Darstellung perdeuterierter Carbonsäuren unter Verwendung von D₂O, KOH und Pd/C (10 %) als Katalysator im Autoklaven. Im Anschluss wird eine, im Vergleich zu vorangegangenen Arbeiten, vereinfachte Methode zur Darstellung von racemischen α -Hydroxyfettsäuren beschrieben. Ausgangspunkt waren hier Carbonsäuren entsprechender Kettenlänge welche unter Zuhilfenahme von elementarem Brom zuerst in α -Bromsäuren und dann unter alkalischen Bedingungen in die racemischen α -Hydroxyfettsäuren überführt wurden. Nachfolgend wird auf die Kupplung der verschiedenen Säuren mit der jeweiligen Sphingoidbase nach der in der Arbeitsgruppe etablierten Methode unter Verwendung von PyBOP[®] als Kupplungsreagenz eingegangen. Zunächst werden daraufhin kurz die ursprünglich verfolgten Ansätze zur Darstellung von diastereomerenreinen α -Hydroxyfettsäuren beschrieben. Abschließend wird dann ausführlicher auf die Entwicklung einer einfachen Methode zur Diastereomertrennung von Ceramiden mittels Säulenchromatographie und die zugrundeliegende Theorie eingegangen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten so neben dem spezifisch deuterierten Isopropylmyristat insgesamt 28 Ceramide für die entsprechenden Untersuchungen bereitgestellt werden, wobei das angewandte Baukastensystem genügend Möglichkeiten zur Abwandlung für weitere Arbeiten liefert. So könnten die Kettenlängen der verwendeten Säuren verändert oder aber das 6-Hydroxysphingosin als Sphingoidbase verwendet werden. Ein weiterer Ansatzpunkt für zukünftige Arbeiten wäre auch die Synthese von deuterierten Sphingoidbasen für eine

anschließende Kupplung mit undeuterten bzw. deuterierten Säuren, um deren Lage in den unterschiedlichen Membranen näher zu erforschen.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse von Neutronendiffraktions- sowie Festkörper-NMR-Experimenten sind nur eine kleine Auswahl und sollen lediglich die Möglichkeiten zur Erforschung des strukturellen Aufbaus der Lipidmatrix im Stratum Corneum aufzeigen, welche sich durch die Verwendung natürlicher und spezifisch deuterierter Verbindungen in Modellmembranen ergeben. Diese werden speziell für die einzelnen Experimente angefertigt und beinhalten vergleichsweise geringe Menge an deuterierten Verbindungen, sodass Letztere noch eine große Anzahl an Experimenten und Arbeiten möglich machen. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass neben den entwickelten präparativen Grundlagen für die Synthese verschiedener Subspezies von Ceramiden gleichzeitig mit den während dieser Arbeit dargestellten Vertretern eine Vielzahl an Festkörper-NMR- und Neutronendiffraktionsexperimenten im Themenfeld „molekularer Aufbau der Lipidmatrix des Stratum Corneum“ ermöglicht wurden und werden.

5. Experimenteller Teil

5.1 Reinigung von Chemikalien, Lösungsmittel sowie Zwischen- und Endverbindungen

5.1.1 Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel

Alle in diesem Abschnitt aufgeführten Chemikalien und Lösungsmittel wurden, falls nicht anders angegeben, bei Sigma Aldrich kommerziell erworben und ohne weitere Reinigung direkt eingesetzt. Chemikalien und Lösungsmittel, welche hier nicht aufgeführt sind, entstammen der Chemikalienausgabe des Instituts für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Phytosphingosin (**7**) und Sphingosin (**8**) wurden von EVONIK Industries AG bereitgestellt.

Acetamidomalonsäurediethylester	Ammoniak, konz.
Ammoniumchlorid	Brom [Laborchemie Apolda]
1-Brom-D ₂₅ -dodecan [Larodan Fine Chemicals AB]	
Bromwasserstoffsäure	Chrom(III)oxid
Deuteriumgas (99.8%) [AIR LIQUIDE]	Deuteriumchlorid [ARMAR AG]
Deuteriumoxide (99.8%) [ARMAR AG]	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran	4-(Dimethylamino)pyridin
Ethanol abs., HPLC (≥99.8%)	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
D ₃₁ -Hexadecansäure	Kaliumcarbonat
Kaliumhydroxid	Kupfer(II)chlorid, (99.999 %)
Laurinsäure	Lithiumaluminiumdeuterid [ARMAR AG]
Lithiumaluminiumhydrid	Lithiumbromid, ≥ 99 %
Lithiumchlorid, 99.99 %	Magnesiumspäne
Methanol-OD [Armar AG]	Malonsäurediethylester [Laborchemie Apolda]
Methansulfonsäurechlorid	4-Methoxybenzylchlorid
Natrium	Natriumchlorid
Natriumhydrid, 60 % in Paraffin	Natriumhydrogencarbonat
Natriumhydrogensulfat	Natriumhydroxid
Natriumnitrit	Natriumsulfat
Pentadecan-15-olid, 98 %	Phosphorpentoxid
Phytosphingosin [Evonik]	PyBOP® [carbolution CHEMICALS GmbH]
Pyridin	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat

Pd/C (10 %)	Salzsäure, konz.
Samarium(II)jodidlösung (0.1 M in THF)	Schwefelsäure, konz.
D ₂ -Schwefelsäure, konz.	<i>p</i> -Toluolsulfonsäuremonohydrat
<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid	Triethylamin
Triphenylphosphin [Fluka]	Stearinsäure
D ₃₅ -Stearinsäure	Tetracosansäure
Zinkstaub _{<10 μm, ≥98 %} oder _{40-60 nm, ≥99 %}	

5.1.2 Vorbehandlung von Chemikalien und Trocknung von Lösungsmitteln

- **Chloroform**

2 h Rückfluss über P₂O₅, Destillation

- **Dichlormethan**

2 h Rückfluss über P₂O₅, Destillation, Lagerung unter Argonatmosphäre und über Molsieb 4Å

- **Diethylether und Tetrahydrofuran**

Vortrocknung über KOH, Filtration, 2 h Rückfluss über Na in Anwesenheit von Benzophenon als Indikator für Abwesenheit von Wasser, Destillation, Lagerung über Na in Anwesenheit von Benzophenon und unter Argonatmosphäre, frisch destilliert unter Argonatmosphäre

- **3,4-Dihydro-2H-pyran**

Lagerung über KOH, vor Verwendung Destillation über frischem KOH

- **Ethylacetat**

Gewaschen mit gleichem Volumen einer 5 %igen Na₂CO₃ Lösung, Lagerung für 24 h über CaCl₂, frisch destilliert

- **Heptan**

Lagerung über KOH, Filtration, 2 h Rückfluss über KOH, Destillation

- **Isopropanol**

2 h Rückfluss über Na, frisch destilliert

- **Methanol**

3 h Rückfluss über Magnesiumspäne, Destillation, Lagerung unter Argonatmosphäre

- **Pyridin**

Vortrocknung durch 48 h Lagerung über KOH, Filtration, Destillation über KOH, Lagerung unter Argonatmosphäre

- **Toluol**

2 h Rückfluss über Na in Anwesenheit von Benzophenon als Indikator für Abwesenheit von Wasser, Destillation, Lagerung über Na in Anwesenheit von Benzophenon und unter Argonatmosphäre, frisch destilliert

- **Triethylamin**

2 h Rückfluss über Na, Destillation, Lagerung über frischem Na und unter Argonatmosphäre

5.1.3 Säulenchromatographie

Die Reinigung der Zwischen- und Endverbindungen sowie die Diastereomerentrennung der CER erfolgte mittels Sch unter Verwendung von Kieselgel 60 der Firma *Merck KGaA* (Darmstadt, Deutschland) mit einer Korngrößenverteilung von 0.063-0.2 mm als stationäre Phase. Die für die Sch als mobile Phase (MP) bzw. zum Konditionieren der stationären Phase verwendeten Lösungsmittel wurden wie in Kapitel 5.1.2 beschrieben vorbereitet, die Detektion der Elution und der einzelnen Fraktionen fand mittels DC statt, näheres siehe Kapitel 5.2.3. Schwerlösliche Substanzen wurden vor der Reinigung in einem geeigneten Lösungsmittel bzw. -gemisch aufgenommen und dann auf wenig Kieselgel adsorbiert. Das entsprechend adsorbierte Material wurde anschließend auf das obere Ende der stationären Phase aufgebracht und mit ca. 2 cm geblühtem Seesand bedeckt.

5.1.4 Reinigung von Zwischen- und Endverbindungen

Bei der Reinigung von säurelabilen Zwischen- und Endverbindungen wurde der MP zwecks Phlegmatisierung der sauren Hydroxylgruppen des Kieselgels noch TEA im Volumenverhältnis von 100:0.5_(MP:TEA) zugesetzt. Die Kontrolle der Elution der einzelnen Fraktionen erfolgte durch DC, die Zusammensetzung der MP wird bei den jeweiligen Verbindungen angegeben und bezieht sich immer auf das entsprechende Volumenverhältnis der jeweiligen Bestandteile untereinander. Es wurden folgende Techniken der Sch verwendet:

- **Frontchromatographie**

Die entsprechende Menge Kieselgel wurde im Masseverhältnis von 1:10_(Substanz:Kieselgel) trocken in den Säulenkörper eingefüllt und mit ca. 2 cm geblühtem Seesand bedeckt. Das entsprechende Rohprodukt wurde in wenig MP aufgenommen und auf das unkonditionierte Kieselgel aufgetragen. Die Elution erfolgte isokratisch.

- **Sch mit trockengepackter Säule**

Die Berechnung der benötigten Kieselgelmenge erfolgte im Masseverhältnis von 1:10_(Substanz:Kieselgel). Das Kieselgel wurde anschließend trocken in die Glassäule eingefüllt, mit ca. 2 cm geblühtem Seesand bedeckt und mit der entsprechenden MP konditioniert, bei säurelabilen Zwischen- und Endverbindungen wurde dieser TEA im Volumenverhältnis von 100:1_(MP:TEA) zugesetzt. Die Erhöhung der Polarität der MP während der eigentlichen Sch erfolgte diskontinuierlich.

- **SCh mit konditionierter Säule**

Kieselgel im Masseverhältnis von 1:100_(Substanz:Kieselgel) wurde in der entsprechenden MP suspendiert und nachfolgend unter einem kontinuierlichem Fluss dieser in den Säulenkörper überführt. Bei säurelabilen Zwischen- und Endverbindungen wurde TEA im Volumenverhältnis von 100:1_(MP:TEA) zugesetzt. Nach erfolgtem Konditionieren der Säule wurde die stationäre Phase mit ca. 2 cm geglühtem Seesand bedeckt, die Polaritätserhöhung der MP während der SCh erfolgte entsprechend dem Bedarf diskontinuierlich.

5.1.5 Reinigung der CER vom Typ CER[EOS], CER[NDS] und CER[NS]

Das jeweils erhaltene Rohprodukt wurde zunächst in Heptan suspendiert, für 10 min bei 45 °C gerührt und anschließend von der Heptanphase nach Abkühlen auf RT abfiltriert. Das vorgereinigte CER wurde dann in einem Gemisch aus CHCl₃:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst und auf wenig Kieselgel adsorbiert. Die Reinigung der adsorbierten CER erfolgte hiernach unter Verwendung einer konditionierten Säule. Zum Einschwemmen der stationären Phase wurde ein Gemisch zusammengesetzt aus CHCl₃:Heptan im Volumenverhältnis von 8:2 verwendet. Als MP kam ein Gemisch bestehend aus Heptan:CHCl₃:MeOH diskontinuierlicher Polaritätserhöhung zum Einsatz. Die Startkonzentration sowie Endkonzentration sind stoffspezifisch und bei dem jeweiligen CER gelistet. Die angegebenen Werte beziehen sich immer auf das Volumenverhältnis der einzelnen Bestandteile untereinander. Die Zugabe von NH_{3aq} im Volumenverhältnis von 100:0.5_(MP:NH_{3aq}) erfolgte ab einer Konzentration von Heptan:CHCl₃:MeOH 0:100:0.

Die Kontrolle der Elution der einzelnen Fraktionen erfolgte durch DC, die Zusammensetzung der MP wird bei dem jeweiligen CER angegeben.

5.1.6 Reinigung der CER vom Typ CER[EOP] und CER[NP]

Das entsprechende Rohprodukt wurde in einem Gemisch bestehend aus CHCl₃:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst und nachfolgend auf wenig Kieselgel adsorbiert. Anschließend erfolgte die Reinigung der adsorbierten CER mithilfe einer konditionierten Säule. Zum Einschwemmen der stationären Phase wurde reines CHCl₃ verwendet. Als MP bei der Reinigung kam ein Gemisch bestehend aus CHCl₃:MeOH diskontinuierlicher Polaritätserhöhung zum Einsatz. Die Startkonzentration sowie Endkonzentration sind stoffspezifisch und bei dem jeweiligen CER gelistet. Die angegebenen Werte beziehen sich immer auf das Volumenverhältnis der einzelnen Bestandteile untereinander. Die MP wurde jeweils zusätzlich mit NH_{3aq} im Volumenverhältnis von 100:0.5_(MP: NH_{3aq}) versetzt.

Die Kontrolle der Elution der einzelnen Fraktionen erfolgte durch DC, die Zusammensetzung der MP wird bei dem jeweiligen CER angegeben.

5.1.7 Reinigung und Diastereomerentrennung der CER vom Typ CER[ADS], CER[AP] und CER[AS]

Das jeweilige DL-CER wurde in einem Gemisch aus CHCl_3 :MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst, auf wenig Kieselgel adsorbiert und unter Verwendung einer konditionierten Säule gereinigt. Bei CER vom Typ CER[ADS] und CER[AS] wurde die stationäre Phase mit einem Gemisch bestehend aus CHCl_3 :Heptan im Volumenverhältnis von 8:2 konditioniert. Bei CER vom Typ CER[AP] wurde hierfür reines CHCl_3 verwendet. Als MP kam während der Chromatographie ein Gemisch bestehend aus Heptan: CHCl_3 :MeOH diskontinuierlicher Polaritätserhöhung zum Einsatz. Die MP wurde jeweils mit $\text{NH}_{3\text{aq}}$ im Volumenverhältnis von 100:0.5_(MP:NH_{3aq}) versetzt. Die Startkonzentration sowie Endkonzentration sind stoffspezifisch und bei dem jeweiligen CER gelistet. Die Zugabe von $\text{NH}_{3\text{aq}}$ erfolgte ab einer Konzentration von Heptan: CHCl_3 :MeOH 0:100:0. Alle Fraktionen, welche das entsprechende CER (reine L- bzw. D-Form sowie DL-CER) enthielten, wurden vereinigt, bis zur Trockne eingengt und im Exsikkator für 24 h über P_2O_5 getrocknet.

Für die nachfolgende Trennung der Diastereomere mittels Sch wurden die initial gereinigten DL-CER zunächst erneut in einem Gemisch bestehend aus CHCl_3 :MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 aufgenommen und dann auf wenig Kieselgel adsorbiert, die anschließende Trennung erfolgte unter Verwendung einer konditionierten Säule. Abweichend zur unter 5.1.4 beschriebenen Methode wurde hier jedoch ein Masseverhältnis von 1:200_(DL-CER:Kieselgel) verwendet. Die entsprechende Menge Kieselgel wurde in CHCl_3 suspendiert und nachfolgend unter einem kontinuierlichen Fluss dieser in den Säulenkörper überführt. Als MP bei der Diastereomerentrennung wurde ein Gemisch bestehend aus CHCl_3 :MeOH unter Zugabe von $\text{NH}_{3\text{aq}}$ im Volumenverhältnis von 100:0.5_(MP:NH_{3aq}) verwendet. Die Angabe des genauen Volumenverhältnisses von CHCl_3 :MeOH für die Diastereomerentrennung erfolgt beim entsprechenden CER.

Die Kontrolle der Elution der einzelnen Fraktionen fand durch DC statt, die Zusammensetzung der MP wird bei dem jeweiligen CER angegeben.

5.2 Analytische Methoden

5.2.1 Elementaranalyse (EA)

Falls möglich wurden die Substanzen vor der Analyse mithilfe einer Trockenpistole im Vakuum getrocknet. Als Siedeflüssigkeit wurde hierfür Methanol verwendet. Die Bestimmung des Kohlenstoff- und Wasserstoffgehaltes fand im automatischen Mikroverfahren an einem CHNS-932 der Firma Leco-Corporation (St. Joseph, MI, USA). Durch Verbrennen der Substanz am Platinkontakt in reinem Sauerstoff samt anschließender Titration mit Quecksilbernitrat gegen Diphenylcarbazid erfolgte die Bestimmung des Halogengehaltes im Halbmikroverfahren.

5.2.2 Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzbereiche bzw. -punkte erfolgte mittels Boetius Heiztischmikroskop, die angegebenen Werte stellen unkorrigierte Werte dar.

5.2.3 Dünnschichtchromatographie

Die Kontrolle von Reaktionsverläufen, die Reinheitsprüfung von Zwischen- und Endverbindungen sowie die Bestimmung von R_f -Werten (unkorrigiert) erfolgte durch DC. Als stationäre Phase dienten Kieselgelplatten der Firma Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland) bzw. Macherey-Nagel (Düren, Deutschland), welche mit Kieselgel 60 F₂₅₄ auf einer dünnen Aluminiumplatte als stationäre Phase beschichtet waren.

Zur Detektion der Substanzen wurde neben UV-Licht noch eine Bromthymolblaulösung verwendet. Zur Herstellung dieser Lösung wurden in 10 ml Ethanol 400 mg KOH und 200 mg Bromthymolblau angelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe von 1 l entionisiertem Wasser. Der Triphenylmethanfarbstoff lagert sich an lipophile Strukturen an, wodurch die entsprechenden Substanzen anschließend als gelbe (z. B. Carbonsäuren) bzw. blaue (z. B. Amide) Flecken sichtbar werden. Zur Erhöhung der Sensitivität erfolgte noch eine Bedampfung der Platten mit Ammoniakdampf nach Besprühen mit der Bromthymolblaulösung. Weiterhin wurde eine Bromlösung zum Nachweis von Doppelbindungen verwendet. Hierfür wurden 5-6 Tropfen elementares Brom in 10 ml Methanol gelöst. Durch Addition des Broms an die Doppelbindung wurden weiße Flecken auf den bräunlich gefärbten DC-Platten sichtbar.

Das Probenmaterial wurde vor dem Auftragen in einem geeigneten Lösungsmittel bzw. -gemisch gelöst und anschließend mithilfe einer 10 µl Kapillare der Firma Diagnostics (Berlin, Deutschland) auf die DC-Platten aufgetragen. Die Entwicklung erfolgte unter Kammersättigung in entsprechenden Chromatographiekammern. Als mobile Phase dienten verschiedene Laufmittel bzw. -gemische, deren genaue Angabe erfolgt bei den jeweiligen Substanzen. Die Zusammensetzung bei den Gemischen bezieht sich dabei immer auf das Volumenverhältnis. Die verwendeten Lösungsmittel wurden ohne Vorbehandlung direkt eingesetzt.

5.2.4 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Die Bestimmung der Reinheit der Substanzen erfolgte an einem HP 1100 Agilent der Firma Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA). Als Lichtstreuendetektor fand ein ELSD 2000 Alltech der Firma Grace Davison (Columbia, MD, USA) und als Säule eine Nucleodur 100-5 125 x 2 Säule der Firma Macherey-Nagel (Düren, Deutschland) Verwendung. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mithilfe der Software Origin 8.0 der Firma OriginLab Corporation (Northampton, MA, USA) oder der Freeware SciDAVis 1.26. Die Substanzen wurden entsprechend ihrer Löslichkeit in einem Gemisch bestehend aus CHCl₃:MeOH unterschiedlicher Zusammensetzung gelöst. Vor Injektion in die Anlage erfolgte die Herstellung verschiedener Stammlösungen. Die Reinheitsbestimmung des deuterierten IPM 6 wurde PRONIUK et al. durchgeführt.^[288]

5.2.5 Massenspektrometrie

Die Berechnung der monoisotopischen Massen der jeweiligen Verbindungen erfolgte mit CS ChemDraw Pro 6.0 der Firma CambridgeSoft Corporation (Cambridge, MA, USA).

- **Elektrospray-Massenspektrometrie (ESI-MS)**

Die Substanzen wurden vor Injektion in ein Ionenfallen-Massenspektrometer Finnigan SSQ 710C der Firma Thermo Electron (Egelsbach, Deutschland) mithilfe einer Spritzenpumpen 22 der Firma Havarad Apparatus (Holliston, MA, USA) in CHCl_3 bzw. einem Gemisch bestehend aus CHCl_3 :Methanol unterschiedlicher Volumenanteilen gelöst. Die Ionisierung erfolgte entweder positiv oder negativ im Ionenspray bei 4.5 kV bei einer Flussrate von 20 $\mu\text{l}/\text{min}$. Weiterhin besitzt das Gerät eine bis auf 200 °C beheizbare Kapillare.

- **Hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS)**

Die Aufnahme der Spektren der hochauflösenden Massenspektrometrie zur Identitätsbestimmung erfolgte durch ein LTQ-Orbitrap-XL-Massenspektrometer der Firma Thermo Fisher Scientific (Bremen, Deutschland) unter Zuhilfenahme einer Proxeon-Nano-ESI-Quelle zur Ionisierung bei 1.3 kV, diese stammt ebenfalls von der Firma Thermo Fisher Scientific (Bremen, Deutschland). Die jeweiligen Verbindungen wurden in einem Gemisch bestehend aus CHCl_3 :Methanol unterschiedlicher Volumenanteile aufgenommen und dann der Ionenquelle zugeführt.

5.2.6 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) – ^1H - und ^{13}C -NMR

Die Aufnahme der ^1H - bzw. ^{13}C -NMR Spektren erfolgte, falls nicht anders angegeben, bei 27 °C an einem VNMRS 400 der Firma Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA) bei 400 MHz (^1H) bzw. 100 MHz (^{13}C) oder einem 500 MHz DD2 von Agilent Technologies bei 500 MHz (^1H) bzw. 125 MHz (^{13}C). Die Proben wurden entsprechend ihrer Löslichkeit in verschiedenen deuterierten Lösungsmittel bzw. einem Gemisch bestehend aus CDCl_3 : CD_3OD unterschiedlicher Volumenanteile gelöst. Die genaue Angabe erfolgt bei den jeweiligen Substanzen. Die Auswertung der Spektren wurde mithilfe von MestReNova Version 6.0.2 der Firma Mestrelab Research S.L. (Santiago de Compostela, Spanien) durchgeführt, wobei das jeweils verwendete Lösungsmittel als interner Standard diente. Bei den eingesetzten Gemischen dient immer CDCl_3 als Standard. Die Dokumentation der Kopplungskonstanten (J) erfolgt in Hz und die der chemischen Verschiebung (δ) in ppm. Bei Multipletts (m) wird der Bereich der chemischen Verschiebung angegeben, wogegen sich bei definierten Multiplizitäten auf die Symmetrieachse bezogen wird. Folgende Abkürzungen dienen der Dokumentation: s (Singulett), d (Duplett), t (Triplett), dd (Duplett vom Duplett), dt (Duplett vom Triplett) und Septett.

5.3 Synthesevorschriften

Die in den Reaktionen verwendeten nicht kommerziell erworbenen Chemikalien und Lösungsmittel wurden falls nötig entsprechend ORGANIKUM vor Einsatz vorbehandelt, getrocknet sowie frisch destilliert.^[177] Abweichende Prozedere sind in Kapitel 5.1.2 beschrieben. Zur Aufarbeitung der Reaktionen wurden unbehandelte Lösungsmittel und entionisiertes Wasser verwendet. Die verwendeten Salzlösungen wurden ebenfalls mit entionisiertem Wasser hergestellt. Katalytische Hydrierungen sowie der Austausch von

Wasserstoff gegen Deuterium erfolgte im Autoklaven der Serie 5500 der Firma Parr Instruments GmbH (Frankfurt, Deutschland).

5.3.1 Synthese des Isopropyl-D₂₅-myristats (6)

a) Darstellung des D₂₅-Dodecylmalonsäurediethylsters (3)

In einem ausgeheizten 250 ml Zweihalskolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 14.21 mmol (0.34 g) NaH in 40 ml Toluol vorgelegt. 14.21 mmol (2.28 g) frisch destillierter Malonsäureester **1** wurden in 6 ml Toluol gelöst und unter starkem Rühren vorsichtig zum Ansatz getropft. Anschließend wurde dieser für 2 h bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlung auf 45 °C wurde zuerst eine katalytische Menge an Tetrabutylammoniumjodid zum Ansatz gegeben und dann unter starkem Rühren 10.93 mmol (3.00 g) Bromdodecan **2**, gelöst in 10 ml Toluol, zugetropft. Nachdem der Ansatz für 5 h unter Rückfluss erhitzt wurde, erfolgte durch Zugabe von 50 ml einer gesättigten NH₄Cl-Lösung der Abbruch der Reaktion. Die Toluolphase wurde anschließend 2x mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels einer konditionierten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung (Startkonzentration 100:0, Endkonzentration 94:6).

Summenformel: C₁₉H₁₁D₂₅O₄

Molare Masse: 353.42 g/mol

Ausbeute: 1.60 g (72 %)

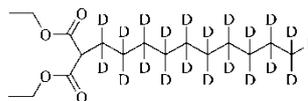
Aussehen: weißer Feststoff

DC: Heptan:Ether 95:5, R_f = 0.11

ESI-MS: 354.22 [M+H]⁺, 376.32 [M+Na]⁺, 729.24 [2M+Na]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.19-4.12 (m, 4 H, 2x H₃C-CH₂-), 3.26 (s, 1 H, -CH-), 1.23 (t, 6 H, ³J = 7.1 Hz, 2x H₃C-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 169.66, 61.25, 51.99, 31.97, 28.67-27.78, 26.17, 22.77, 14.15



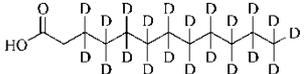
b) Darstellung der D₂₅-Tetradecansäure (5)

In einem 100 ml Rundkolben wurden 4.52 mmol (1.60 g) Dodecylmalonsäureester **3** sowie 18.10 mmol (1.02 g) KOH in 32 ml Wasser und 16 ml Ethanol gelöst und anschließend für 15 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde zuerst das Ethanol mithilfe eines Rotationsverdampfers entfernt, 30 ml Wasser zugegeben, mit konz. HCl angesäuert und die wässrige Phase 4x mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Es wurden 1.28 g Dodecylmalonsäure **4** gewonnen und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt.

Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte durch DC (CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.1).

Die als Rohprodukt gewonnene Disäure **4** wurde zur Decarboxylierung in einem 100 ml Rundkolben bei 140 °C und 700 mbar für 90 min über einem Metallbad gerührt.

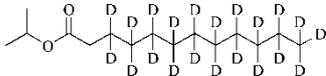
Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte unter Verwendung einer konditionierten Säule und eines CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung (Startkonzentration 100:0, Endkonzentration 90:10).

Summenformel:	C ₁₄ H ₃ D ₂₅ O ₂	
Molare Masse:	253.36 g/mol	
Ausbeute:	0.88 g (76 %)	
Aussehen:	weißer Feststoff	
DC:	CHCl ₃ :MeOH 8:2, R _f = 0.34	
ESI-MS:	252.58 [M-H] ⁻	
HRMS:	ber. (C ₁₄ H ₂ D ₂₅ O ₂): 252.3555 [M-H] ⁻ gef.: 252.3586	

c) Darstellung des Isopropyl-D₂₅-myristats (**6**)

3.47 mmol (0.88 g) der Tetradecansäure **5** und 34.7 mmol (4.13 g) frisch destilliertes SOCl₂ wurden für 12 h bei RT in einem 100 ml Rundkolben gerührt. Das überschüssige SOCl₂ wurde anschließend im Vakuum unter Zuhilfenahme einer Wasserstrahlpumpe entfernt. 13.8 mmol (0.83 g) frisch destilliertes Isopropanol und 3.82 mmol (0.30 g) frisch destilliertes Pyridin wurden in 7 ml CHCl₃ gelöst und im Anschluss über einen Zeitraum von 15 min bei 0 °C zum Ansatz getropft. Nachfolgend wurde das Gemisch noch für 1 h bei 0 °C und danach für 1 h bei RT gerührt. Abschließend wurde der Ansatz eingedampft, bis ein gelbes, viskoses Öl als Rückstand erhalten wurde.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung (Startkonzentration 100:0, Endkonzentration 97:3).

Summenformel:	C ₁₇ H ₉ D ₂₅ O ₂	
Molare Masse:	295.4103 g/mol	
Ausbeute:	0.99 g (98 %)	
Aussehen:	dickflüssiges, farbloses Öl	
DC:	CHCl ₃ , R _f = 0.67	
ESI-MS:	318.18 [M+Na] ⁺ , 613.16 [2M+Na] ⁺	
HRMS:	ber. (C ₁₇ H ₁₀ D ₂₅ O ₂): 296.4181 [M+H] ⁺ gef.: 296.4203	

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): 4.99 (septett, 1 H, $^3J = 6.3$ Hz, $-\text{CH}-$), 2.21 (s, 2 H, $-\text{CH}_2\text{CO}-$), 1.21 (d, 6 H, $J = 6.3$ Hz, $2 \times \text{CH}_3-$)

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): 173.32, 67.16, 34.46, 30.73-30.33, 28.56-27.67, 24.19-23.89, 21.93-21.16, 13.15-12.70

5.3.2 Synthese des Dihydrospingosins (9)

Im Autoklaven wurden 0.02 mmol (6.5 g) Sphingosin **8** in 150 ml eines Gemisches bestehend aus EtOAc:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst und nach Zugabe von 3 Spatelspitzen Pd/C (10 %) bei einem Wasserstoffdruck von 6 bar für 3 h bei RT gerührt. Nach Abschluss der Reaktion wurde der Pd/C-Katalysator abfiltriert und mehrfach mit EtOAc:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gewaschen. Im Anschluss wurden die organischen Phasen vereinigt und bis zur Trockne eingengt.

Das gewonnene Rohprodukt wurde auf wenig Kieselgel adsorbiert und anschließend mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines CHCl_3 :MeOH-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration 95:5, Endkonzentration 90:10).

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{NO}_2$

Molare Masse: 301.30 g/mol

Ausbeute: 6.10 g (93 %)

Aussehen: weißer Feststoff

Fp: 73-75 °C

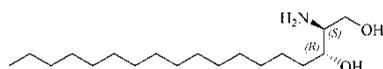
DC: CHCl_3 :MeOH: NH_3aq , $R_f = 0.21$

ESI-MS: 302.54 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 603.34 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 625.29 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): 3.70-3.67 (m, 2 H, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 3.60-3.57 (m, 1 H, $-\text{CHOH}-$), 2.82 (dd, 1 H, $^2J = 10.2$ Hz, $^3J = 4.7$ Hz, $-\text{CHNH}_2-$), 1.52-1.45 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CHOH}-$), 1.35-1.23 (m, 23 H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{13}-$), 0.88 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 3 H, CH_3-)

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): 75.11, 64.07, 55.86, 33.89, 32.08, 29.85-29.51, 26.16, 22.84, 14.27

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, THF-D_8): 74.73, 65.04, 58.39, 34.73, 33.04, 31.03-30.47, 27.15, 23.72, 14.60

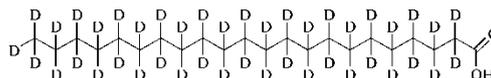


5.3.3 Synthese der (2*RS*)-2-Hydroxy- D_{33} -octadecansäure (26) bzw. der (2*RS*)-2-Hydroxy- D_{45} -tetracosansäure (27) nach MORI

a) Darstellung der D_{43} -Docosansäure (11)

11.8 mmol (5.01 g) Docosansäure (**10**) wurden entsprechend der in Kapitel 5.3.6.1 beschriebenen Methode zur deuterierten Docosansäure **11** umgesetzt und direkt weiterverwendet.

Summenformel: C₂₂H₁D₄₃O₂



Molare Masse: 383.60 g/mol

Ausbeute: 98 %

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.46

b) Darstellung des D₃₁-Hexadecansäuremethylesters (13) und des D₄₃-Docosansäuremethylesters (15)

3.6 mmol (1.04 g) deuterierte Hexadecansäure **12**, 10 ml MeOD und 10 Tropfen konz. H₂SO₄ wurden für 5 h unter Rückfluss in einem 100 ml Rundkolben erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde das MeOD im Vakuum entfernt, 10 ml eiskaltes D₂O zum Ansatz gegeben und die wässrige Phase 3x mit 20 ml Ether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden nacheinander mit 30 ml ges. Na₂CO₃- und 30 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Der als weißer, wachsartiger Feststoff gewonnene Ester **13** wurde ohne weitere Reinigung direkt umgesetzt (Rohprodukt: 1.05 g, Ausbeute: 97 %).

• **D₃₁-Hexadecansäuremethylester (13)**

Ausbeute: 1.05 g Rohprodukt

DC: CHCl₃, R_f = 0.73

Analog erfolgte die Umsetzung von 7.9 mmol (3.03 g) deuterierter Docosansäure **11** zum entsprechenden Ester **14**, dieser wurde ebenfalls direkt ohne weitere Reinigung umgesetzt.

• **D₄₃-Docosansäuremethylester (14)**

Ausbeute: 3.07 g Rohprodukt

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.57

c) Darstellung des D₃₃-Hexadecan-1-ols (15) und des D₄₅-Docosan-1-ols (16)

In einem ausgeheizten 250 ml Zweihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 3.88 mmol (92.5 mg) LiAlD₄ in 5 ml Ether suspendiert. Zu dieser Suspension wurden zunächst unter starkem Rühren vorsichtig 3.5 mmol (1.05 g) des zuvor in 10 ml Ether gelösten Esters **13** bei RT zugetropft, im Anschluss daran wurde dieser noch für 2 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz auf 0 °C abgekühlt, mit 30 ml Ether versetzt und unter starkem Rühren vorsichtig 5 ml D₂O zugetropft. Bei RT wurde dann für 2 h weitergerührt und anschließend mit konz. DCl angesäuert. Nachfolgend wurde vorsichtig eine entsprechende Menge an D₂O so lange zugetropft, bis sich der gebildete Niederschlag komplett gelöst hatte. Die Etherphase wurde abgetrennt und die wässrige Phase noch 3x mit 10 ml Ether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden mit 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Der als weißer Feststoff gewonnene Alkohol **15** wurde direkt weiter ohne Reinigung umgesetzt.

- **D₃₃-Hexadecan-1-ol (15)**

Ausbeute: 0.94 g Rohprodukt

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.21

Analog erfolgte die Umsetzung von 7.5 mmol (3.07 g) des Esters **14** zum entsprechenden Alkohol **16**, dieser wurde ebenfalls ohne weitere Reinigung umgesetzt.

- **D₄₅-Docosan-1-ol (16)**

Ausbeute: 2.81 g Rohprodukt

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.16

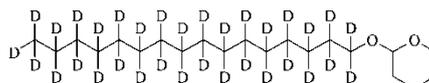
d) Darstellung des 2-(D₃₃-Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyrans (17) und des 2-(D₄₅-Docosyloxy)tetrahydro-2H-pyrans (18)

Unter einer Atmosphäre von Argon wurden in einem ausgeheizten 100 ml Rundkolben 3.5 mmol (0.94 g) Alkohol **15**, 7.0 mmol (0.63 ml) 3,4-Dihydro-2H-pyran (2 h Rückfluss über KOH, frisch destilliert) in 15 ml CH₂Cl₂ gelöst, katalytische Mengen PPTS zugegeben und der Ansatz für 24 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die CH₂Cl₂-Phase 2x mit 50 ml H₂O und 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Der als blassgelbes Öl gewonnene THP-geschützte Alkohol **17** wurde durch Sch gereinigt.

Für die Reinigung wurde der THP-geschützte Alkohol **17** in wenig Heptan gelöst und über eine trockengepackte Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration 99:2). Dem Eluenten wurde TEA im Volumenverhältnis von 100:0.5 zugesetzt.

- **2-(D₃₃-Hexadecyloxy)tetrahydro-2H-pyran (17)**

Summenformel: C₂₁H₉D₃₃O₂



Molare Masse: 359.52 g/mol

Ausbeute: 1.25 g (97 % über 3 Stufen)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.52

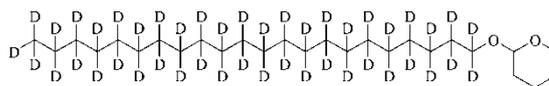
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 4.57-4.55 (m, 1 H, -CH-), 3.90-3.82 (m, 1 H, -O-CHH^c-), 3.56-3.40 (m, 1 H, -O-CHH^c-), 1.94-1.76 (m, 1 H, -CH-CHH^c-), 1.75-1.65 (m, 1 H, -CH-CHH^c-), 1.62-1.37 (m, 4 H, -O-CH₂-(CH₂)₂-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 98.98, 67.72, 62.44, 30.95, 29.99, 29.07-28.01, 25.68, 25.15, 21.51, 19.85, 13.07.

Analog erfolgte die Umsetzung von 7.5 mmol (2.81 g) Alkohol **16** zum entsprechenden THP-geschützten Alkohol **18**. Für die Reinigung wurde dieser ebenfalls in wenig Heptan gelöst und über eine trockengepackte Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration 96:4). Dem Eluenten wurde TEA im Volumenverhältnis von 100:0.5 zugesetzt.

• **2-(D₄₅-Docosyloxy)tetrahydro-2H-pyran (18)**

Summenformel: C₂₇H₉D₄₅O₂



Molare Masse: 455.69 g/mol

Ausbeute: 3.06 g (85 % über 3 Stufen)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.51

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.57-4.56 (m, 1 H, -CH-), 3.89-3.84 (m, 1 H, -O-CH'H-), 3.51-3.47 (m, 1 H, -O-CH'H-), 1.86-1.80 (m, 1 H, -CH-CH'H-), 1.73-1.69 (m, 1 H, -CH-CH'H-), 1.59-1.20 (m, 4 H, -O-CH₂-(CH₂)₂-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 98.78, 67.58, 62.29, 31.91, 30.79, 29.68-28.03, 25.51, 25.03, 22.67, 19.69, 14.08

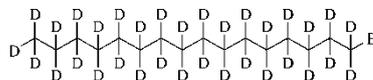
e) **Darstellung des Brom-D₃₃-hexadecans (19) und des Brom-D₄₅-dodecans (20)**

In einem ausgeheizten 250 ml Dreihalsrundkolben wurden in einer Atmosphäre von Argon zunächst 7.4 mmol (1.94 g) Triphenylphosphin in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Im Anschluss wurden 7.4 mmol (0.19 ml) Brom in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst und dann bei einer Temperatur von 0 °C vorsichtig unter starkem Rühren zum Ansatz getropft. Dabei war die Tropfgeschwindigkeit so gewählt, dass keine Gelbfärbung des Ansatzes auftrat und auch kein Temperaturanstieg zu beobachten war. Unmittelbar danach wurden 3.4 mmol (1.2 g) des in 5 ml CH₂Cl₂ gelösten THP-geschützten Alkohols **15** zugetropft. Nach erfolgter Zugabe wurde noch für 12 h bei RT gerührt, hierbei verfärbte sich der Ansatz schwarz. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz 2x mit 50 ml eines Gemisches bestehend aus H₂O:ges. NaCl-Lösung im Volumenverhältnis von 1:1 gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingeeengt. Die Reinigung des Bromids **19** erfolgte mittels Sch.

Zunächst wurde das Rohprodukt in Heptan aufgenommen und dann auf wenig Kieselgel adsorbiert. Die Reinigung erfolgte im Anschluss durch Frontchromatographie unter Verwendung von Heptan als Eluent.

• **Brom-D₃₃-hexadecan (19)**

Summenformel: C₁₆D₃₃Br



Molare Masse: 337.38 g/mol

Ausbeute: 0.95 g (85 %)

DC: Heptan, R_f = 0.56

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 34.01, 32.04, 31.07, 29.85-28.18, 22.85, 14.26

Analog erfolgte die Umsetzung von 6.4 mmol (2.90 g) THP-geschütztem Alkohol **18** zum Bromid **20**. Für die Reinigung wurde das Rohprodukt ebenfalls in Heptan aufgenommen, auf wenig Kieselgel adsorbiert und durch Frontchromatographie unter Verwendung von Heptan als Eluent gereinigt.

- **Brom-D₄₅-dodecan (20)**

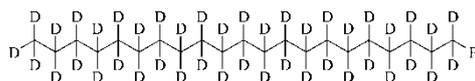
Summenformel: C₂₂D₄₅Br

Molare Masse: 433.55 g/mol

Ausbeute: 2.72 g (96 %)

DC: Heptan, R_f = 0.53

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 32.09, 29.87, 29.53, 29.10-28.21, 22.85, 14.27



f) Darstellung des (2RS)-2-Hydroxy-D₃₃-octadecansäuremethylesters (28) und des (2RS)-2-Hydroxy-D₄₅-tetracosansäuremethylesters (29)

- **Darstellung des Acetylamino-D₃₃-hexadecylmalonsäurediethylesters (22) und Acetylamino-D₄₅-docosanylmalonsäurediethylesters (23)**

In einem ausgeheizten 250 ml Rundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 4.1 mmol (0.89 g) Acetaminomalonsäureester **21**, gelöst in 5 ml abs. EtOH, unter starkem Rühren zu einer Natriumethanolatlösung [7.66 mmol (175 mg) Na gelöst in 4 ml abs. EtOH] bei RT zugetropft. Darauf folgend wurde der Ansatz für 30 min gerührt. Im Anschluss wurden 2.73 mmol (0.92 g) Alkylbromid **19** in 10 ml abs. EtOH gelöst und zugetropft. Anschließend wurde der Ansatz für 18 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurden 20 ml H₂O zum Ansatz gegeben und die wässrige Phase dann 3x mit je 50 ml Ether extrahiert. Die Etherphasen wurden hierauf vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Der als brauner Feststoff gewonnene Hexadecylmalonsäureester **22** wurde direkt weiter umgesetzt.

- **Acetylamino-D₃₃-hexadecylmalonsäurediethylester (22)**

DC: CH₃Cl:Heptan 6:4, R_f = 0.17

Analog erfolgte die Umsetzung von 5.8 mmol (2.53 g) Alkylbromid **20** zum Docosanylmalonsäureester **23**, dieser wurde ebenfalls als Rohprodukt direkt weiter umgesetzt.

- **Acetylamino-D₄₅-docosanylmalonsäurediethylester (23)**

DC: CH₃Cl:Heptan 6:4, R_f = 0.13

- **Darstellung der (2RS)-2-Hydroxy-D₃₃-octadecansäure (26) und (2RS)-2-Hydroxy-D₄₅-tetracosansäure (27)**

Der Hexadecylmalonsäureester **22** wurde im nächsten Schritt in einem 100 ml Rundkolben mit 10 ml eines Gemisches bestehend aus DCI:DMF im Volumenverhältnis von 9:1 versetzt und für 24 h unter Rückfluss sowie starkem Rühren erhitzt. Bei RT wurde der Ansatz danach mit NH₃_{aq} neutralisiert und für 1 h gerührt. Die entstandene Suspension wurde unter Verwendung einer Nutsche getrennt. Der Filterkuchen wurde im Anschluss mit jeweils 10 ml H₂O und MeOH sowie 2x 5 ml Ether gewaschen. Die als grauer Feststoff gewonnene Aminosäure **24** wurde unmittelbar danach in einen 250 ml Zweihalsrundkolben überführt und in 16 ml 2N D₂SO₄ (1.5 ml konz. D₂SO₄ aufgenommen in 15 ml D₂O) gelöst. Bei 80 °C erfolgte dann unter starkem Rühren das vorsichtige Zutropfen von 16.1 mmol (1.11 g) in

13 ml D₂O gelösten NaNO₂ über einen Zeitraum von 1 h. Der Ansatz wurde im Nachhinein noch für weitere 8 h bei 80 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurden 20 ml H₂O zum Ansatz gegeben, die wässrige Phase dann 3x mit je 50 ml Ether extrahiert und die vereinigten Etherphasen über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Die als Rohprodukt erhaltene Hydroxysäure **26** wurde direkt im Anschluss weiter umgesetzt.

Analog erfolgte die Umsetzung des als Rohprodukt vorliegenden Docosanylmalonsäureesters **23** in 50 ml eines Gemisches bestehend aus DCI:DMF im Volumenverhältnis von 9:1 zur Aminosäure **25** und anschließend zur Hydroxysäure **27** unter Zuhilfenahme von 50 ml 2N D₂SO₄ sowie 43.9 mmol (3.03 g) NaNO₂. Die als Rohprodukt erhaltene Hydroxysäure **27** wurde ebenfalls direkt weiter umgesetzt.

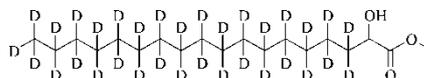
- **Darstellung des (2RS)-2-Hydroxy-D₃₃-octadecansäuremethylesters (28) und (2RS)-2-Hydroxy-D₄₅-tetracosansäuremethylesters (29)**

In einem 100 ml Rundkolben wurde die ungereinigte α-Hydroxyfettsäure **26**, 20 ml MeOD und 10 Tropfen konz. D₂SO₄ zunächst für 4 h unter Rühren erhitzt und im Anschluss eingengt. Die Reinigung des gewonnenen Hydroxysäureesters **28** erfolgte durch Sch.

Hierfür wurde der Ester **28** auf wenig Kieselgel adsorbiert und mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 40:60:0, Endkonzentration: 0:97:3).

- **(2RS)-2-Hydroxy-D₃₃-octadecansäuremethylester (28)**

Summenformel: C₁₉H₅D₃₃O₃



Molare Masse: 347.49 g/mol

Ausbeute: 0.22 g (23 % über 4 Stufen)

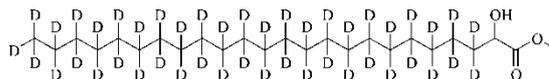
DC: CHCl₃, R_f = 0.43

ESI-MS: 370.48 [M+Na]⁺

Analog erfolgte die Umsetzung der als Rohprodukt vorliegenden α-Hydroxyfettsäure **27** mit 50 ml MeOD und 10 Tropfen konz. D₂SO₄. Zur Reinigung durch Sch wurde der Ester **29** anschließend ebenfalls auf wenig Kieselgel adsorbiert und unter Verwendung einer konditionierten Säule mit einem Heptan:CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 40:60:0, Endkonzentration: 0:95:5).

- **(2RS)-2-Hydroxy-D₄₅-tetracosansäuremethylester (29)**

Summenformel: C₂₅H₅D₄₅O₃



Molare Masse: 443.65 g/mol

Ausbeute: 0.23 g (9 % über 4 Stufen)

DC: CHCl₃, R_f = 0.41

ESI-MS: 466.12 [M+Na]⁺

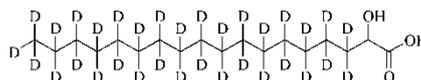
g) Umsetzung der Hydroxysäureester 28 und 29 in die entsprechenden α -Hydroxyfettsäuren 26 und 27

In einem 50 ml Rundkolben wurden 0.63 mmol (0.22 g) Ester **28** sowie 0.96 mmol (53.9 mg) KOH in 10 ml abs. EtOH gelöst. Im Anschluss wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt und dabei gerührt. Zur Aufarbeitung wurde zunächst das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und dann der feste Rückstand in 10 ml eiskaltem H₂O aufgenommen. Der pH-Wert wurde nachfolgend durch die Zugabe von 2 N HCl auf 5 eingestellt. Die wässrige Phase wurde danach 3x mit je 15 ml Ether extrahiert, die vereinigten Etherphasen über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Die als blassgelber Rückstand gewonnene Hydroxysäure **25** wurde anschließend 2x aus einem Gemisch von Heptan:Aceton im Volumenverhältnis von 8:1 umkristallisiert.

Analog wurden 0.52 mmol (0.23 g) Ester **29** zur Hydroxysäure **27** umgesetzt, die Reinigung erfolgte hier durch 3-fache Umkristallisation aus einem Gemisch bestehend aus Heptan:Aceton im Volumenverhältnis von 8:1.

• **(2RS)-2-Hydroxy-D₃₃-octadecansäure (26)**

Summenformel: C₁₈H₃D₃₃O₃



Molare Masse: 333.78 g/mol

Ausbeute: 0.19 g (89 %)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

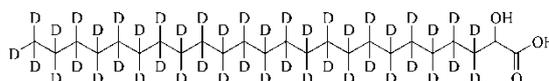
DC: CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.38

ESI-MS: 333.02 [M-H]⁻

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) 178.28, 70.41, 34.39, 32.00, 29.85-29.42, 24.91, 22.58, 13.36

• **(2RS)-2-Hydroxy-D₄₅-tetracosansäure (27)**

Summenformel: C₂₄H₃D₄₅O₃



Molare Masse: 429.6382 g/mol

Ausbeute: 0.18 g (83 %)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.41

ESI-MS: 428.04 [M-H]⁻

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 176.04, 70.53, 33.62, 32.08, 29.86-28.21, 23.70, 22.85, 14.26

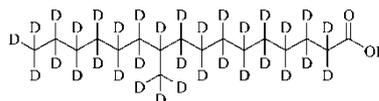
5.3.4 Synthese der 30-[[*(10RS)*-D₃₃-10-Methylhexadecanoyl]-oxy]triacontansäure (35)

a) Darstellung der (*10RS*)-D₃₃-10-Methylhexadecansäure (31)

3.7 mmol (1 g) Methylhexadecansäure **30** wurden entsprechend 5.3.6.1 zur deuterierten Methylhexadecansäure **31** umgesetzt. Abweichend zur unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode wurde der Ansatz zur Aufarbeitung zunächst mit konz. DCl angesäuert und dann mit 100 ml CHCl₃ versetzt. Die Suspension wurde nachfolgend in einen 500 ml Rundkolben überführt und für 1 h bei RT stark gerührt. Die Abtrennung des Pd/C-Katalysators erfolgte anschließend über eine Fritte, zusätzlich wurde der Filterkuchen noch 2x mit je 20 ml CHCl₃ gewaschen. Nach Abtrennen der CHCl₃-Phase wurde die wässrige Phase noch 2x mit je 50 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten CHCl₃-Phasen wurden dann über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingeeengt. Die deuterierte Säure **31** wurde durch Sch gereinigt.

Hierfür wurde die Säure **31** auf wenig Kieselgel adsorbiert und über eine trockengepackte Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 50:50, Endkonzentration: 0:100).

Summenformel: C₁₇HD₃₃O₂



Molare Masse: 303.46 g/mol

Ausbeute: 0.73 g (65 %)

DC: CHCl₃:Ether 8:2, R_f = 0.42

ESI-MS: 302.73 [M-H]⁻

b) Darstellung des (*10RS*)-D₃₃-10-Methylhexadecansäure-30-hydroxytriacontanyl-1-esters (34)

In einem ausgeheizten 50 ml Zweihalsrundkolben und unter einem ständigen Fluss von Argon wurden 2.4 mmol (0.73 g) Säure **31** und 24 mmol (2.86 g) frisch destilliertes SOCl₂ für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Bei 45 °C wurde im Anschluss das überschüssige SOCl₂ unter Verwendung einer Wasserstrahlpumpe entfernt und der Ansatz dann vorsichtig unter einem stetigen Strom von Argon auf RT abgekühlt. Das gewonnene Säurechlorid **32** wurde umgehend weiter umgesetzt.

In einer Atmosphäre von Argon wurden in einem ausgeheizten 250 ml Zweihalsrundkolben 7.2 mmol (3.27 g) des C₃₀-Diols **33** und 150 ml CHCl₃ vorgelegt. In der Siedehitze und unter starkem Rühren erfolgte dann über einen Zeitraum von 2 h das vorsichtige Zutropfen des in 25 ml CHCl₃ gelösten Säurechlorids **32**. Der Ansatz wurde im Nachhinein noch für 8 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlung auf RT wurde der feste Rückstand über eine Nutsche abgetrennt, der Filterkuchen 2x mit je 30 ml CHCl₃ gewaschen, die vereinigten CHCl₃-Phasen bis zur Trockne eingeeengt und der Ester **34** anschließend durch Sch gereinigt.

Hierfür wurde das Rohprodukt zunächst in CHCl₃ gelöst, auf wenig Kieselgel adsorbiert und dann mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0 Endkonzentration: 90:10). Der MP wurde zusätzlich TEA im Volumenverhältnis von 100:0.5_(MP:TEA) zugesetzt.

Summenformel: C₄₇H₆₁D₃₃O₃

Molare Masse: 739.92 g/mol

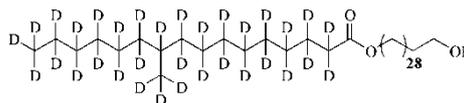
Ausbeute: 1.38 g (78 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.14

ESI-MS: 740.90 [M+H]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.05 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-O-), 3.63 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-OH), 1.62-1.53 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-O-; -CH₂-CH₂-OH), 1.35-1.23 (m, 52 H, -(CH₂)₂₆-CH₂-CH₂-O-), 0.88 (t, ³J= 6.9 Hz, 1 H, -CD₂-CD₂H), 0.83 (d, ³J= 6.6 Hz, 1 H, -CD-CD₂H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.18, 64.51, 63.20, 37.24, 34.57, 32.98, 32.11, 30.10-29.27, 28.82, 27.20, 26.09, 25.91, 25.05, 22.84, 19.85, 14.26



c) Darstellung der 30-[[*(10RS)*-D₃₃-10-Methylhexadecanoyl]oxy]-triacontansäure (35)

In einem ausgeheizten 500 ml Zweihalsrundkolben und unter einer Atmosphäre von Argon wurden bei 0 °C 3,4 mmol (0.34 g) CrO₃ sowie 1.7 ml 10 N H₂SO₄ vorgelegt. Anschließend wurde über einen Zeitraum von 3 h und unter starkem Rühren 1.5 mmol (1.14 g) Ester **34**, gelöst in 60 ml Aceton und 105 ml CHCl₃, zugetropft und der Ansatz nachfolgend für 1 h bei 0 °C weitergerührt. Zur Aufarbeitung erfolgte im Nachhinein die Zugabe von 200 ml CHCl₃, 50 ml H₂O und 50 ml ges. NaCl-Lösung. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase 3x mit je 100 ml CHCl₃ extrahiert, die vereinigte organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingengt. Die veresterte Hydroxysäure **35** wurde durch Sch gereinigt.

Hierfür wurde das Rohprodukt zunächst in warmen CHCl₃ gelöst, auf wenig Kieselgel adsorbiert und dann mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 30:70:0 Endkonzentration: 0:80:20).

Summenformel: C₄₇H₅₉D₃₃O₄

Molare Masse: 753.90 g/mol

Ausbeute: 0.81 g (69 %)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

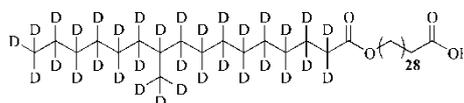
Fp: 72-73 °C

DC: CHCl₃, R_f = 0.09

ESI-MS: 753.13 [M-H]⁻

HRMS: ber. (C₄₇H₅₉D₃₃O₄Na): 776.8931 [M+Na]⁺

gef.: 776.9000



ber. (C₄₇H₅₉D₃₃O₄Cl): 788.8722 [M+Cl]⁻

gef.: 788.8759

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.05 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-O-), 2.34 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COOH), 1.68-1.55 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-O-; -CH₂-CH₂-COOH), 1.39-1.20 (m, 50 H, -(CH₂)₂₅-CH₂-CH₂-O-), 0.88 (t, ³J= 6.9 Hz, 1 H, -CD₂-CD₂H), 0.83 (d, ³J= 6.6 Hz, 1 H, -CD-CD₂H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 179.76, 174.25, 64.55, 37.26, 34.15, 32.92, 32.12, 30.11-29.23, 28.82, 27.21, 26.10, 25.06, 24.85, 22.85, 19.86, 14.27

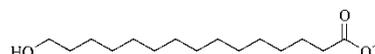
5.3.5 Synthese der 30-Linoleoxytriacontansäure (36) und 30,30-D₂-30-Linoleoxytriacontansäure (37)

5.3.5.1 Synthese des 15-Brompentadecyl(*p*-methoxybenzyl)ethers (38), Methode 1

a) Darstellung des 15-Hydroxypentadecansäuremethylesters (45)

In einem 1000 ml Rundkolben wurden 0.08 mol (20 g) Lacton **44** und 3 mmol (0.6 g) *p*-Toluolsulfonsäure in 500 ml Methanol für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Ansatz in einen Scheidetrichter überführt, mit 500 ml Wasser versetzt und 4x mit je 300 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden je 2x mit je 400 ml einer ges. NaHCO₃- und NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, eingengt und im Exsikkator für 48 h über P₂O₅ getrocknet. Der als Rohprodukt vorliegende Hydroxysäureester **45** wurde aus wenig Heptan umkristallisiert.

Summenformel: C₁₆H₃₂O₃



Molare Masse: 272.24 g/mol

Ausbeute: 21.79 g (98 %)

DC: CHCl₃, R_f= 0.18

ESI-MS: 273.16 [M+H]⁺, 295.58 [M+Na]⁺, 567.30 [2M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 70.54, H: 11.84 gef.: C: 70.35, H: 11.75

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 3.66 (s, 3 H, -CH₃), 3.64 (t, ³J= 6.6 Hz, 2 H, HO-CH₂-), 2.32-2.27 (m, 2 H, -CH₂-COO-), 1.66-1.52 (m, 4 H, HO-CH₂-(CH₂)₂-), 1.37-1.23 (m, 20 H, -(CH₂)₁₀-CH₂-COO-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 174.49, 63.25, 51.58, 34.28, 32.98, 29.76-29.30, 25.89, 25.12

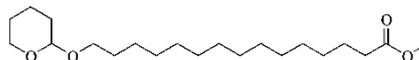
b) Darstellung des 15-[(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]pentadecansäuremethylesters (46)

In einem 500 ml Rundkolben wurden 0.08 mol (21.8 g) Hydroxysäureester **45**, 0.14 mol (13.0 ml) DHP und eine katalytische Menge PyrTos gelöst in 300 ml CH₂Cl₂ für 24 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 150 ml H₂O versetzt und in einen

Scheidetrichter überführt. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase 2x mit je 75 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nachfolgend über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Der THP-geschützte Ester **46** wurde anschließend durch Sch gereinigt.

Das Rohprodukt wurde in einer kleinen Menge Heptan:Ether im Volumenverhältnis von 9:1 sowie 10 Tropfen TEA aufgenommen und danach mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 92:8). Zur Vermeidung einer Schutzgruppenabspaltung wurden dem Eluenten je 100 ml 10 Tropfen TEA zugesetzt.

Summenformel: C₂₁H₄₀O₄



Molare Masse: 356.29 g/mol

Ausbeute: 28.51 g (98 %)

DC: CHCl₃, R_f = 0.42

ESI-MS: 379.17 [M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 70.74, H: 11.30 gef.: C: 70.59, H: 11.33

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 4.58-4.55 (m, 1 H, -O-CH-O-), 3.89-3.84 (m, 1 H, -O-CHH'-(CH₂)₂-CHH'-CH-O-), 3.70 (dt, ²J= 9.3 Hz, ³J= 6.9 Hz, 1 H, -O-CHH'-(CH₂)₁₄-), 3.64 (s, 3 H, -CH₃), 3.51-3.46 (m, 1 H, -O-CHH'-(CH₂)₂-CHH'-CH-O-), 3.36 (dt, ²J= 9.4 Hz, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -O-CH₂-(CH₂)₁₃-), 2.28 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-), 1.85-1.77 (m, 1 H, -O-CHH'-(CH₂)₂-CHH'-CH-O-), 1.72-1.66 (m, 1 H, -O-CHH'-(CH₂)₂-CHH'-CH-O-), 1.63-1.46 (m, 8 H, -CH₂-(CH₂)₁₁-CH₂-CH₂-O-CH-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.35-1.23 (m, 22 H, -COO-(CH₂)₂-(CH₂)₁₁-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 174.38, 98.91, 67.78, 62.38, 51.50, 34.22, 30.92, 29.89, 29.75-29.23, 26.36, 25.65, 25.06, 19.83

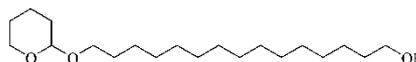
c) Darstellung des 15-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)pentadecanols (**47**)

In einem ausgeheizten 500 ml Zweihalsrundkolben wurde unter einer Atmosphäre von Argon eine Suspension bestehend aus LiAlH₄ und 150 ml Ether vorgelegt. Anschließend wurden 0.04 mol (14.23 g) Ester **46**, gelöst in 80 ml Ether, vorsichtig unter starkem Rühren bei RT zum Ansatz getropft und nachfolgend für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurden sehr vorsichtig 150 ml Eiswasser zum Ansatz getropft und dieser dann noch für 1 h bei RT gerührt. Mittels einer Fritte wurde im Anschluss der Feststoff vom Ansatz abgetrennt und der erhaltene Filterkuchen 3x mit je 30 ml Ether gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden nach dem Abtrennen der wässrigen Phase noch 1x mit 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und zur Trockne eingengt.

Zur Reinigung wurde das gewonnene Rohprodukt in wenig Heptan:Ether im Volumenverhältnis von 8:2, versetzt mit 10 Tropfen TEA, gelöst und unter Verwendung einer trockengepackten Säule sowie eines CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 95:5). Zur

Vermeidung einer Schutzgruppenabspaltung wurden dem Eluenten je 100 ml 10 Tropfen TEA zugesetzt.

Summenformel: C₂₀H₄₀O₃



Molare Masse: 328.30 g/mol

Ausbeute: 11.83 g (90 %)

DC: CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.36

ESI-MS: 351.22 [M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 73.12, H: 12.27 gef.: C: 73.11, H: 12.54

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.58-4.57 (m, 1 H, -O-CH-O-), 3.89-3.85 (m, 1 H, -O-CHH⁺-(CH₂)₂-CHH⁺-CH-O-), 3.72 (dt, ²J= 9.6 Hz, ³J= 6.9 Hz, 1 H, -O-CHH⁺-(CH₂)₁₄-), 3.64 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, HO-CH₂-), 3.52-3.47 (m, 1 H, -O-CHH⁺-(CH₂)₂-CHH⁺-CH-O-), 3.38 (dt, ²J= 9.6 Hz, ³J= 6.7 Hz, 1 H, -O-CHH⁺-(CH₂)₁₄-), 1.87-1.80 (m, 1 H, -O-CHH⁺-(CH₂)₂-CHH⁺-CH-O-), 1.74-1.68 (m, 1 H, -O-CHH⁺-(CH₂)₂-CHH⁺-CH-O-), 1.62-1.48 (m, 8 H, -CH₂-(CH₂)₁₁-CH₂-CH₂-O-CH-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.38-1.26 (m, 22 H, HO-(CH₂)₂-(CH₂)₁₁-)

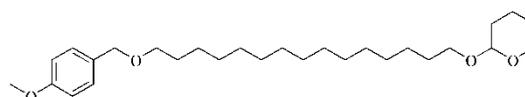
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 99.00, 67.86, 63.25, 62.49, 32.98, 30.96, 29.92, 29.82-29.58, 26.40, 25.90, 25.68, 19.86

d) Darstellung des 2[15-(*p*-Methoxybenzyloxy)pentadecyloxy]tetrahydro-2*H*-pyrans (48)

Bei RT wurde in einem ausgeheizten 250 ml Zweihalsrundkolben unter einer Atmosphäre von Argon eine Lösung bestehend aus 0.031 mol (10.31 g) THP-Alkohol **47** und 30 ml Toluol vorgelegt. Unter starkem Rühren wurden vorsichtig 0.031 mol (1.4 g) NaH zum Ansatz gegeben und dieser anschließend bei 50 °C für 24 h weitergerührt. Nach erfolgter Abkühlung auf RT wurden 0.031 mol (4.2 ml) *p*-Methoxybenzylchlorid zum Ansatz gegeben und dieser für 2 h bei RT weitergerührt. Im Anschluss wurden 5 ml DMF zum Ansatz getropft und dieser erneut für 48 h bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz auf RT abgekühlt, mit 30 g Eis versetzt und solange gerührt, bis das Eis vollständig geschmolzen war. Nachfolgend wurde die wässrige Phase abgetrennt, 3x mit je 30 ml Ether extrahiert. Die Etherphasen wurden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingengt.

Zur Reinigung wurde das Rohprodukt in wenig Heptan:TEA im Volumenverhältnis von 99:1 gelöst und mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 90:10). Zur Vermeidung einer Schutzgruppenabspaltung wurden dem Eluenten je 100 ml 10 Tropfen TEA zugesetzt.

Summenformel: C₂₈H₄₈O₄



Molare Masse: 448.36 g/mol

Ausbeute: 9.27 g (68 %)

DC: CHCl₃, R_f= 0.64, CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.38,
CHCl₃:Heptan 6:4, R_f= 0.29

ESI-MS: 471.29 [M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 74.95, H: 10.78 gef.: C: 74.69, H: 10.63

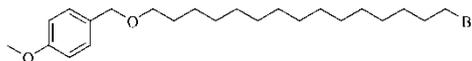
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 7.27-7.25 (m, 2 H, 2,6-C₆H₄-), 6.89-6.86 (m, 2 H, 3,5-C₆H₄-), 4.58-4.57 (m, 1 H, -O-CH-O-), 4.43 (s, 2 H, -O-CH₂-C₆H₄-), 3.90-3.85 (m, 1 H, -O-CHH^c-(CH₂)₂-CHH^c-CH-O-), 3.80 (s, 3 H, -CH₃), 3.73 (dt, ²J= 9.6 Hz, ³J= 6.9 Hz, 1 H, -O-CHH^c-(CH₂)₁₄-), 3.52-3.48 (m, 1 H, -O-CHH^c-(CH₂)₂-CHH^c-CH-O-), 3.43 (t, ³J= 6.7, 2 H, -CH₂-O-CH₂-C₆H₄-), 3.38 (dt, ²J= 9.6 Hz, ³J= 6.7 Hz, 1 H, -O-CHH^c-(CH₂)₁₄-), 1.87-1.80 (m, 1 H, -O-CHH^c-(CH₂)₂-CHH^c-CH-O-), 1.74-1.69 (m, 1 H, -O-CHH^c-(CH₂)₂-CHH^c-CH-O-), 1.62-1.50 (m, 8 H, -CH₂-(CH₂)₁₁-CH₂-CH₂-O-CH-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.35-1.25 (m, 22 H, -C₆H₄-CH₂-O-(CH₂)₂-(CH₂)₁₁-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 159.24, 131.01, 129.33, 113.89, 98.99, 72.65, 70.41, 67.85, 62.48, 55.42, 30.96, 29.94-29.65, 26.41, 26.37, 25.68, 19.86

e) Darstellung des 15-Brompentadecyl(*p*-methoxybenzyl)ethers (38)

In einem ausgeheizten 100 ml Dreihalsrundkolben wurden unter Argonatmosphäre 4.6 mmol (1.21 g) Triphenylphosphin und 15 ml CH₂Cl₂ vorgelegt. Anschließend wurden 4.6 mmol (0.24 ml) Brom in 2 ml CH₂Cl₂ gelöst und unter starkem Rühren vorsichtig bei 0 °C zum Ansatz gegeben, sodass weder ein Anstieg der Temperatur noch eine Verfärbung des Ansatzes durch Bromreste zu beobachten war. Nachfolgend wurde der Ansatz für weitere 15 min bei 0 °C gerührt, anschließend erfolgte die Zugabe von 2.1 mmol (0.9 g) doppeltgeschütztes Diol **48**. Der Ansatz wurde dann für 10 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 10 ml CH₂Cl₂ versetzt, 3x mit je 25 ml Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde nicht weiter gereinigt.

Summenformel: C₂₃H₃₉BrO₂



Molare Masse: 426.21 g/mol

DC: CHCl₃:Heptan 4:6, R_f= 0.49

5.3.5.2 Synthese des 15-Brompentadecyl(*p*-methoxybenzyl)ethers (38), Methode 2

a) Darstellung des Pentadecan-1,15-diols (49)

In einem ausgeheizten 500 ml Dreihalsrundkolben wurde unter Argonatmosphäre eine Suspension bestehend aus 0.08 mol (3.4 g) LiAlH₄ und 120 ml THF vorgelegt. In 80 ml THF wurden anschließend zunächst 0.1 mol (24.0 g) Lacton **44** gelöst und dann unter starkem Rühren vorsichtig zur Suspension getropft. Im Anschluss wurde der Ansatz für 6 h bei 50 °C weitergerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde der Ansatz vorsichtig mit 5 ml Wasser versetzt, auf die Hälfte eingengt, mit weiteren 150 ml Wasser versetzt und das ausgefallene Produkt dann mittels Fritte abgesaugt. Das Rohprodukt wurde 2x aus einem Gemisch

bestehend aus Essigester:Heptan umkristallisiert. Das erhaltene Diol **49** wurde ohne weitere Charakterisierung direkt in den nachfolgenden Synthesen eingesetzt.

Summenformel: $C_{15}H_{32}O_2$



Molare Masse: 244.24 g/mol

Ausbeute: 20.27 g (83 %)

DC: Heptan:Ether 8:2, $R_f = 0.13$

b) Darstellung des 15-[(4-Methoxybenzyl)oxy]pentadecan-1-ols (**50**)

- **Methode 1** - ausgehend vom Diol **49**

In einem ausgeheizten 250 ml Zweihalsrundkolben wurden unter Argonatmosphäre 0.035 mol (8.6 g) Diol **49** und 0.035 mol (1.4 g) NaH (60 %) in 75 ml DMF für 30 min bei 50 °C gerührt. Nachfolgend wurden vorsichtig über einen Zeitraum von 15 min bei gleichbleibender Temperatur 0.035 mol (5.48 g) *p*-Methoxybenzylchlorid zum Ansatz getropft und dieser für weitere 5 h gerührt. Nach Abschluss der Reaktion wurde der Ansatz bei 45 °C und 5 Torr bis zur Trockne eingengt.

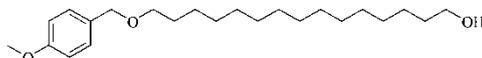
- **Methode 2** - ausgehend vom Ether-Acetal **48**

Zur Abspaltung der THP-Schutzgruppe wurden in einem 250 ml Rundkolben 16.6 mmol (7.43 g) des Ether-Acetals **48** in 150 ml MeOH gelöst, mit 100 mg PyrTos versetzt und für 24 h bei RT gerührt. Im Anschluss wurde der Ansatz bis zur Trockne eingengt, der Rückstand in 150 ml CH_2Cl_2 aufgenommen, 3x mit je 75 ml Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und erneut bis zur Trockne eingengt.

- **Reinigung der Rohprodukte:**

Das jeweils erhaltene Rohprodukt wurde in wenig Heptan: $CHCl_3$ im Volumenverhältnis von 1:1 gelöst und mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan: $CHCl_3$ -Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 50:50; Endkonzentration: 15:85).

Summenformel: $C_{23}H_{40}O_3$



Molare Masse: 364.30 g/mol

Ausbeute: Methode 1 5.61 g (44 %)

Methode 2 4.88 g (81 %)

DC: $CHCl_3$, $R_f = 0.21$; $CHCl_3$:Heptan 4:6, $R_f = 0.36$

ESI-MS: 387.18 $[M+Na]^+$, 751.32 $[2M+Na]^+$

Elementaranalyse: ber.: C: 75.77, H: 11.06 gef.: C: 74.91, H: 10.89

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 7.28-7.25 (m, 2 H, 3,5-C₆H₄-), 6.89-6.86 (m, 2 H, 2,6-C₆H₄-), 4.43 (s, 2 H, -CH₂-C₆H₄-), 3.80 (s, 3 H, -CH₃), 3.63 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, HO-CH₂-), 3.43 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-O-CH₂-C₆H₄-), 1.62-1.54 (m, 4 H, HO-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-), 1.34-1.26 (m, 22 H, HO-CH₂-(CH₂)₁₁-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 159.24, 131.00, 129.34, 113.90, 72.65, 70.40, 63.24, 55.42, 32.98, 29.83-29.58, 26.36, 25.90

c) Darstellung des 15-Brom-1-(4-methoxybenzyloxy)pentadecans (38) über die Zwischenstufe des 15-(4-Methoxybenzyloxy)pentadecanoyl-sulfonats (51)

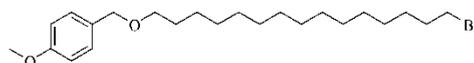
In einem ausgeheizten 250 ml Zweihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 0.06 mol (21.87 g) des Hydroxyethers **50**, 80 ml CHCl₃ sowie 0.065 mol (9.1 ml) TEA vorgelegt. Anschließend wurden 0.065 mol (5.2 ml) Methansulfonsäurechlorid in 10 ml CHCl₃ gelöst und danach bei 0 °C sowie unter starkem Rühren vorsichtig zugetropft. Der Ansatz wurde dann für weitere 12 h gerührt, dabei erwärmte sich dieser sehr langsam auf RT. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz zunächst mit 50 ml Eiswasser versetzt, in einen Scheidetrichter überführt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase anschließend 2x mit je 20 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde dann je 1x mit 50 ml Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingeengt. Das als Rohprodukt vorliegende Sulfonat **51** wurde ohne Reinigung direkt weiterverwendet.

Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte durch DC (CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.65).

Zur weiteren Umsetzung wurden das Sulfonat **51** und 0,14 mol (12 g) LiBr in 100 ml Aceton suspendiert. Der Ansatz wurde nachfolgend unter Rückfluss für 5 h gerührt. Dabei löste sich das Sulfonat **51** zuerst vollständig auf und fiel anschließend als Bromether **38** wieder aus. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz zunächst im Vakuum eingeengt, der Rückstand in 70 ml CHCl₃ aufgenommen und die organische Phase nachfolgend je 1x mit 30 ml Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingeengt.

Das Rohprodukt wurde in wenig Heptan gelöst und mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0; Endkonzentration: 96:4).

Summenformel: C₂₃H₃₉BrO₂



Molare Masse: 426.21 g/mol

Ausbeute: 21.80 g (85 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f= 0.46

ESI-MS: 449.06 [M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 64.63, H: 9.20 gef.: C: 64.44, H: 9.12

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 7.28-7.24 (m, 2 H, 3,5-C₆H₄-), 6.89-6.86 (m, 2 H, 2,6-C₆H₄-), 4.43 (s, 2 H, -CH₂-C₆H₄-), 3.80 (s, 3 H, -O-CH₃), 3.45-3.39 (m, 4 H, -(CH₂)₁₄-CH₂-O-, Br-CH₂-), 1.89-1.82 (Br-CH₂-CH₂-), 1.63-1.56 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-O-), 1.46-1.26 (m, 22 H, -(CH₂)₁₁-(CH₂)₂-O-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 159.24, 131.00, 129.33, 113.89, 72.65, 70.40, 55.42, 34.17, 33.01, 29.94-28.92, 28.34, 26.37

5.3.5.3 Synthese des 15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (39) und 1,1-D₂-15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (40)

a) Darstellung des 15-Brompentadecansäuremethylesters (54)

In einem 500 ml Rundkolben wurde eine Mischung bestehend aus 0.15 mol (8.4 g) KOH, 80 ml Ethanol_{tech.} sowie 20 ml Wasser unter Rühren zunächst mit 0.1 mol (24,03 g) Lacton **44** versetzt. Der Ansatz wurde nachfolgend für 48 h bei RT ohne Rühren stehen gelassen. Im Anschluss wurde dieser dann für 2 h unter Rückfluss erhitzt, erneut auf RT abgekühlt und unter starkem Rühren mit 15 ml konz. HCl, welche zuvor in 100 ml Wasser gelöst wurde, versetzt. Nach Abkühlen des Ansatzes auf 0 °C wurde der Überstand mittels Fritte abgesaugt, 2x mit je 50 ml Wasser gewaschen und im Exsikkator für 24 h über P₂O₅ getrocknet. Die als Rohprodukt vorliegende Hydroxysäure **52** wurde ohne weitere Reinigung direkt umgesetzt.

Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte durch DC (CHCl₃:Ether 1:1, R_f= 0.4).

In einem 250 ml Zweihalsrundkolben wurden 22.1 ml HBr_{48%} vorgelegt. Hierzu wurden bei einer Temperatur zwischen 0 °C und 10 °C unter Rühren vorsichtig 79.7 ml Acetanhydrid zugegeben. Nach Abklingen der exothermen Reaktion wurde die Hydroxysäure **52** zum Ansatz gegeben und dieser für 20 h unter Rückfluss erhitzt. Wobei im Abstand von jeweils 5 h weitere HBr_{48%}, zuerst 10 ml und dann 2x je 5 ml, zum Ansatz gegeben wurde. Zur Aufarbeitung wurde dieser zunächst eingengt, in einen Scheidetrichter überführt und im Anschluss mit 300 ml Ether sowie 200 ml Wasser versetzt. Nach Abtrennen der wässrigen Phase wurde diese noch 2x mit je 50 ml Ether extrahiert. Die vereinigte Etherphase wurde 2x mit je 100 ml Wasser und 100 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Die als Rohprodukt vorliegende Bromsäure **53** wurde ohne weitere Reinigung direkt umgesetzt.

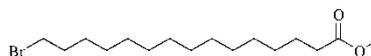
Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte mittels DC (CHCl₃:Ether 1:1, R_f= 0.4).

In einem 250 ml Rundkolben wurde die Bromsäure **53**, 100 ml CHCl₃_{tech} sowie 10 ml Methanol_{tech} vorgelegt und dann mit 1 ml konz. H₂SO₄ versetzt. Es wurde solange am Wasserabscheider unter Rückfluss erhitzt, bis kein Wasser mehr abgeschieden wurde. Der Ansatz wurde nachfolgend in einen Scheidetrichter überführt und mit 50 ml CHCl₃ sowie 50 ml Wasser versetzt. Nach Abtrennen der wässrigen Phase wurde die organische Phase je 2x mit 50 ml einer 1 %igen NaHCO₃-Lösung und 2x mit je 50 ml Wasser sowie 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt.

Das Rohprodukt wurde anschließend in wenig Heptan:Ether im Volumenverhältnis von 95:5 gelöst und mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-

Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0; Endkonzentration: 93:7).

Summenformel: C₁₆H₃₁BrO₂



Molare Masse: 334.15 g/mol

Ausbeute: 30.3 g (91 % über 3 Stufen)

DC: CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.49

ESI-MS: 357.25 [M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 57.31, H: 9.32 gef.: C: 57.48, H: 9.30

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 3.66 (s, 3 H, -CH₃), 3.40 (t, ³J= 6.9 Hz, 2 H, Br-CH₂-), 2.30 (t, ³J= 7.6 Hz, 2 H, -CH₂-COO-), 1.88-1.82 (m, 2 H, Br-CH₂-CH₂-), 1.65-1.58 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-COO-), 1.45-1.39 (m, 2 H, Br-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.32-1.25 (m, 18 H, -(CH₂)₉-CH₂-CH₂-COO-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.39, 51.48, 34.23, 34.16, 33.01, 29.94-29.15, 25.07

b) Darstellung des 15-Brompentadecan-1-ols (55)

In einem ausgeheizten 500 ml Dreihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 0.09 mol (3.42 g) LiAlH₄ und 100 ml Ether vorgelegt. Nachfolgend wurden 0.091 mol (30.51 g) Bromester **54** in 50 ml Ether gelöst und dann unter starkem Rühren bei -5 bis 0 °C vorsichtig zum Ansatz getropft. Anschließend wurde dieser für 8 h bei 0 °C weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurden 36 ml konz. HCl mit 100 ml Eiswasser versetzt und diese dann vorsichtig bei -5 bis 0 °C zum Ansatz getropft. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase noch 2x mit je 30 ml Ether gewaschen und die organischen Phasen im Anschluss vereinigt. Die vereinigte organische Phase wurde dann unter mehrmaliger Verwendung von je 50 ml einer 5%igen Natriumacetatlösung neutral gewaschen. Im Anschluss wurde die organische Phase noch mit 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, eingeengt und dann im Exsikkator über P₂O₅ für 48 h getrocknet. Das Rohprodukt wurde zum Schluss 2x aus wenig Heptan umkristallisiert.

Summenformel: C₁₅H₃₁BrO



Molare Masse: 307.14 g/mol

Ausbeute: 19.8 g (71 %).

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f= 0.16

ESI-MS: 330.39 [M+Na]⁺

Elementaranalyse: ber.: C: 58.62, H: 10.17 gef.: C: 58.81, H: 10.23

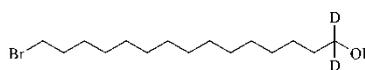
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 3.62 (t, ³J= 6.5 Hz, 2 H, HO-CH₂-), 3.39 (t, ³J= 6.9 Hz, 2 H, Br-CH₂-), 1.91-1.78 (m, 2 H, Br-CH₂-CH₂-), 1.58-1.51 (m, 2 H, HO-CH₂-CH₂-), 1.48-1.23 (m, 22 H, Br-(CH₂)₂-(CH₂)₁₀-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 63.25, 34.19, 33.08, 32.94, 29.76-28.34, 25.89

c) Darstellung des 1,1-D₂-15-Brompentadecan-1-ols (56)

In einem ausgeheizten 500 ml Dreihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 0.04 mol (2.1 g) LiAlD₄ und 120 ml Ether vorgelegt. Im Anschluss wurden zunächst 0.05 mol (16.76 g) Bromester **54** in 80 ml Ether gelöst und dann unter starkem Rühren bei 0 °C vorsichtig zugetropft. Nachfolgend wurde der Ansatz für 5 h bei 0 °C weitergerührt. Zur Hydrolyse des überschüssigen LiAlD₄ wurde dieser erst auf -5 °C abgekühlt und dann sehr vorsichtig tropfenweise mit 2.0 ml D₂O versetzt. Für die weitere Aufarbeitung wurden zunächst 16 ml konz. DCl mit 16 ml D₂O verdünnt und im Anschluss unter starkem Rühren bei 0 °C vorsichtig zum Ansatz getropft. Nach Abtrennung der Etherphase wurde die wässrige Phase noch 3x mit je 50 ml Ether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden mit Wasser neutral gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wurde abschließend 2x aus wenig Heptan umkristallisiert.

Summenformel: C₁₅H₂₉D₂BrO



Molare Masse: 308.17 g/mol

Ausbeute: 13.4 g (87 %)

DC: Heptan:CHCl₃ 6:4, R_f= 0.17; CHCl₃ R_f= 0.33
CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.47

ESI-MS: 331.04 [M+Na]⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 3.40 (t, ³J= 6.9 Hz, 2 H, Br-CH₂-), 1.90-1.78 (m, 2 H, Br-CH₂-CH₂-), 1.57-1.53 (m, 2 H, HO-CD₂-CH₂-), 1.46-1.26 (m, 22 H, -CD₂-CH₂-(CH₂)₁₁)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 62.51, 34.19, 33.00, 32.77, 29.78-29.59, 28.92, 28.34, 25.85

d) Darstellung des 15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (39) und 1,1-D₂-15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (40)

• Darstellung des 15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (39)

In einem 500 ml Rundhalskolben wurden 0.096 mol (29.67 g) Bromalkohol **55** in 200 ml Dimethoxyethan suspendiert. Unter starkem Rühren wurden dann 9.6 mmol (1.65 g) *p*-Toluolsulfonsäure sowie 19 mmol (1.65 g) LiBr zum Ansatz gegeben und dieser für 48 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurden 30 ml ges. NaCl-Lösung zum Ansatz gegeben und dieser für 30 min stark gerührt. Die wässrige Phase wurde danach abgetrennt und die zurückbleibende Suspension bis zur Trockne eingengt.

• Darstellung des 1,1-D₂-15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ethers (40)

In einem 250 ml Rundkolben wurden 0,02 mol (6.18 g) Bromalkohol-D₂ **56** gelöst in 40 ml Dimethoxyethan und 20 ml CHCl₃ vorgelegt. Nach erfolgter Zugabe von 0.004 mol (0.35 g) LiBr und 0.002 mol (0.35 g) *p*-Toluolsulfonsäure wurde der Ansatz bei RT für 48 h gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz bei einer Wasserbadtemperatur von 25 °C zunächst am Rotationsverdampfer eingengt und dann mit 50 ml CHCl₃ sowie 0.4 ml TEA versetzt. Anschließend wurde die organische Phase je 1x mit 50 ml Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt.

- **Reinigung der Bromether 39 und 40**

Das jeweilige Rohprodukt wurde in wenig Heptan:TEA im Volumenverhältnis von 100:2 gelöst und mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 97:3). Zur Vermeidung der Schutzgruppenabspaltung wurde dem Eluenten TEA im Volumenverhältnis von 100:2_(MP:TEA) zugesetzt.

- **15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ether (39)**

Summenformel: $C_{17}H_{35}BrO_2$ 

Molare Masse: 350.18 g/mol

Ausbeute: 26.07 g (77 %)

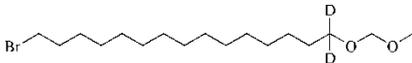
DC: $CHCl_3$:Heptan 6:4, $R_f = 0.62$

ESI-MS: 373.60 $[M+Na]^+$

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): 4.59 (s, 2 H, -O-CH₂-O-), 3.49 (t, $^3J = 6.7$ Hz, 2 H, -CH₂-O-CH₂-O-), 3.38 (t, $^3J = 6.9$ Hz, 2 H, Br-CH₂-), 3.34 (s, 3 H, CH₃-), 1.87-1.78 (m, 2 H, Br-CH₂-CH₂-), 1.61-1.51 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-O-CH₂-O-), 1.44-1.21 (m, 22 H, Br-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₁-)

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): 96.34, 67.83, 55.01, 33.93, 32.82, 29.73-29.42, 28.75, 28.15, 26.19

- **1,1-D₂-15-Brompentadec-1-yl-(methoxymethyl)ether (40)**

Summenformel: $C_{17}H_{33}D_2BrO_2$ 

Molare Masse: 352.19 g/mol

Ausbeute: 6.2 g (88 %)

DC: $CHCl_3$:Heptan 6:4, $R_f = 0.61$

ESI-MS: 375.03 $[M+Na]^+$

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 4.62 (s, 2 H, -O-CH₂-O-), 3.41 (t, $^3J = 6.9$ Hz, 2 H, Br-CH₂-), 3.36 (s, 3 H, CH₃-), 1.89-1.81 (m, 2 H, Br-CH₂-CH₂-), 1.60-1.54 (m, 2 H, -CH₂-CD₂-), 1.44-1.26 (m, 22 H, -(CH₂)₁₁-CH₂-CD₂-)

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 96.51, 55.23, 34.19, 33.01, 29.79-29.59, 28.93, 28.34, 26.32

5.3.5.4 Synthese der Linoleoyloxyalkansäuretrichlorethylester 65 und 66

a) Darstellung des 30-(Methoxymethoxy)triacontan-1-yl(*p*-methoxybenzyl)ethers (57) und 30,30-D₂-30-(Methoxymethoxy)triacontan-1-yl(*p*-methoxybenzyl)ethers (58)

• Darstellung

In einem ausgeheizten und mit Argon sekuriertem 250 ml Dreihalsrundkolben wurden 0.065 mol (1.58 g) Magnesiumspäne vorgelegt. Anschließend wurden 0.045 mol (15.81 g) Bromether **39** in 60 ml THF gelöst und unter starkem Rühren so zugetropft, dass die Innentemperatur 50 °C nicht überstieg. Nach Beendigung des Zutropfens wurde der Ansatz im Anschluss für 2 h bei 50°C weitergerührt und dann inert vom überschüssigen Magnesium in einen ausgeheizten und ebenfalls mit Argon sekuriertem 500 ml Dreihalsrundkolben abdekantiert. Anschließend wurden unter starkem Rühren inert bei -5 °C zunächst 0.0287 mol (12.27 g) in 20 ml THF gelöster Methoxybenzylether **38** auf einmal zum Ansatz gegeben, gefolgt von 3.5 ml 0.1 M Dilithiumtetrachlorocuprat in THF. Der Ansatz wurde für 30 min bei 0 °C gerührt, dann erneut mit 25 ml THF versetzt und nochmals für 2.5 h bei 0 °C weitergerührt. Zur Aufarbeitung des Ansatzes wurde dieser mit 100 ml Ether sowie 50 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und in einen Scheidetrichter überführt. Nach Abtrennen der wässrigen Phase wurde diese 2x mit je 50 ml Ether extrahiert und die vereinigten Etherphasen zunächst mit Wasser neutral und dann zusätzlich 1x mit 100 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingeeengt.

Analog erfolgte die Umsetzung von 0.015 mol (5.1 g) des Bromethers **40** und 0.0092 mol (3.93 g) Methoxybenzylether **38** zum Diether **58**.

• Reinigung

Zur Reinigung mittels SC wurde das jeweilige Rohprodukt in einem warmen Gemisch aus Heptan:CHCl₃ im Volumenverhältnis von 50:50 sowie 10 Tropfen TEA gelöst; auf wenig Kieselgel adsorbiert und mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung (Startkonzentration: 90:10, Endkonzentration: 56:44 (für **53**) und 44:56 (für **54**)) gereinigt. Zur Vermeidung der Schutzgruppenabspaltung wurde dem Eluenten TEA im Volumenverhältnis von 100:1_(MP:TEA) zugesetzt.

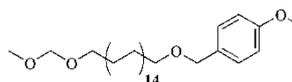
• 30-(Methoxymethoxy)triacontan-1-yl(*p*-methoxybenzyl)ether (57)

Summenformel: C₄₀H₇₄O₄

Molare Masse: 618.99 g/mol

Ausbeute: 11.79 g (66 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f= 0.41



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 7.28-7.26 (m, 2 H, 3,5-C₆H₄-), 6.90-6.87 (m, 2 H, 2,6-C₆H₄-), 4.63 (s, 2 H, -O-CH₂-O-), 4.44 (s, 2 H, -CH₂-C₆H₄-), 3.82 (s, 3 H, -C₆H₄-O-CH₃), 3.53 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-O-CH₂-O-), 3.44 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-O-CH₂-C₆H₄-), 3.37 (s, 3 H, CH₃-O-CH₂-O-), 1.63-1.55 (m, 4 H, -O-CH₂-O-CH₂-CH₂-; -CH₂-CH₂-O-CH₂-C₆H₄-), 1.43-1.20 (m, 52 H, -(CH₂)₂₆-CH₂-CH₂-O-CH₂-C₆H₄-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 159.08, 130.85, 129.17, 113.73, 96.39, 72.48, 70.24, 67.90, 55.26, 55.06, 29.77-29.44, 26.21

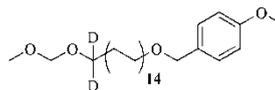
- **30,30-D₂-30(Methoxymethoxy)triacontan-1-yl(*p*-methoxybenzyl)ether (58)**

Summenformel: C₄₀H₇₂D₂O₄

Molare Masse: 620.57 g/mol

Ausbeute: 5.82 g (62 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f= 0.39



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.84 (d, ³J= 8.8 Hz, 2 H, 3,5-C₆H₄-), 7.01 (d, ³J= 8.7 Hz, 2 H, 2,6-C₆H₄-), 4.61 (m, 4 H, -O-CH₂-O-; -CH₂-C₆H₄-), 3.89 (s, 3 H, -C₆H₄-O-CH₃), 3.40 (m, 2 H, -CH₂-O-CH₂-C₆H₄-), 3.36 (s, 3 H, CH₃-O-CH₂-O-), 1.60-1.55 (m, 4 H, -CD₂-CH₂-; -CH₂-CH₂-O-CH₂-C₆H₄-), 1.42-1.23 (m, 52 H, -CD₂-CH₂-(CH₂)₂₆-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 159.44, 132.14, 130.16, 114.47, 96.50, 72.01, 70.41, 67.52, 55.74, 55.22, 29.86-29.62, 26.32

b) Darstellung des 30-(Methoxymethoxy)triacontan-1-ols (59) und 30,30-D₂-30-(Methoxymethoxy)triacontan-1-ols (60)

- **Darstellung**

In einem 250 ml Rundkolben wurden 9.6 mmol (6 g) des Diethers **57**, 100 ml CHCl₃ und 6 ml Wasser vorgelegt. Unter starkem Rühren wurden 14.4 mmol (3.24 g) DDQ zum Ansatz gegeben und dieser dann für 5 h bei RT weitergerührt. Anschließend wurde der Ansatz erneut mit 6.6 mmol (1.5 g) DDQ, 50 ml CHCl₃ sowie 3 ml Wasser versetzt und weitere 6 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 150 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung sowie etwas festem NaHCO₃ versetzt und für 1 h bei RT gerührt. Nach Abtrennung der wässrigen Phase wurde diese 2x mit je 100 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten CHCl₃-Phasen wurden dann über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingeeengt.

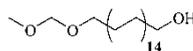
Analog erfolgte die Umsetzung von 0.0032 mol (2.0 g) des Diethers **58**.

- **Reinigung**

Das jeweilige Rohprodukt wurde in 5 ml CHCl₃ sowie 5 Tropfen TEA gelöst und mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 97:3) gereinigt. Zur Vermeidung der Schutzgruppenabspaltung wurde dem Eluenten TEA im Volumenverhältnis von 100:1_(MP:TEA) zugesetzt.

- **30-(Methoxymethyloxy)triacontan-1-ol (59)**

Summenformel: C₃₂H₆₆O₃



Molare Masse: 498.50 g/mol

Ausbeute: 4.14 g (87 %)

DC: CHCl₃, R_f = 0.17

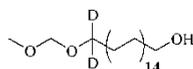
ESI-MS: 522.28 [M+Na]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.63 (s, 2 H, -O-CH₂-O-), 3.65 (t, ³J = 6.6 Hz, 2 H, -CH₂-OH), 3.53 (t, ³J = 6.7 Hz, 2 H, -CH₂-O-CH₂-O-), 3.37 (s, 3 H, CH₃-), 1.61-1.56 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-OH; -CH₂-CH₂-O-CH₂-O-), 1.36-1.24 (m, 52 H, -(CH₂)₂₆-CH₂-CH₂-OH)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 96.38, 67.90, 63.09, 55.06, 32.82, 29.75-29.42, 26.21, 25.73

- **30,30-D₂-30-(Methoxymethyloxy)triacontan-1-ol (60)**

Summenformel: C₃₂H₆₄D₂O₃



Molare Masse: 500.51 g/mol

Ausbeute: 1.37 g (85 %)

DC: CHCl₃, R_f = 0.18

ESI-MS: 523.35 [M+Na]⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 4.62 (s, 2 H, -OCH₂O-), 3.64 (t, ³J = 6.6 Hz, 2 H, -CH₂-OH), 3.36 (s, 3 H, -CH₃), 1.57-1.53 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-OH; -O-CD₂-CH₂-), 1.45-1.25 (m, 52 H, -O-CD₂-CH₂-(CH₂)₂₆-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 96.50, 63.27, 55.23, 32.99, 29.86-29.60, 26.32, 25.90

c) Darstellung der 30-(Methoxymethyloxy)triacontansäure (61) und 30,30-D₂-30-(Methoxymethyloxy)triacontansäure (62)

- **Darstellung**

In einem 500 ml Rundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 8 mmol (3.99 g) Hydroxyacetal **59**, 100 ml CHCl₃ und 100 ml DMF vorgelegt. Unter starkem Rühren wurde der Ansatz portionsweise mit 56 mmol (21 g) Pyridiniumdichromat versetzt und für 60 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz in einen Scheidetrichter überführt und mit 300 ml Wasser, 50 ml Methanol sowie 60 ml CHCl₃ versetzt. Nach Abtrennen der wässrigen Phase wurde diese noch 2x mit je 150 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 200 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt.

Analog erfolgte die Umsetzung von 0.0026 mol (1.3 g) des Hydroxyethers **60**.

- **Reinigung des Carbonsäureacetals 61**

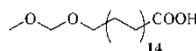
Das Rohprodukt wurde in wenig CHCl₃:TEA im Volumenverhältnis von 100:2 gelöst und mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines CHCl₃:Methanol-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 96:4). Zur Vermeidung der Schutzgruppenabspaltung wurde dem Eluenten TEA im Volumenverhältnis von 100:1_(MP:TEA) zugesetzt. Es wurden zunächst 2.91 g reines Carbonsäureacetal **61** und wenige verunreinigte Fraktionen isoliert. Diese wurden erneut chromatographiert, um weitere 0.68 g des Carbonsäureacetals **61** zu erhalten.

- **Reinigung des Carbonsäureacetals 62**

Das Rohprodukt wurde in wenig CHCl₃:TEA im Volumenverhältnis von 100:2 gelöst und mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃:Ether-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 60:40:0, Endkonzentration: 0:90:10). Nach Einengen der Fraktionen wurde das gereinigte Carbonsäureacetal **62** noch für 48 h über P₂O₅ im Exsikkator gelagert, um restliche Spuren von TEA zu entfernen.

- **30-(Methoxymethoxy)triacontansäure (61)**

Summenformel: C₃₂H₆₄O₄



Molare Masse: 512.48 g/mol

Ausbeute: 3.59 g (90 %)

DC: CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.31; CHCl₃:MeOH 95:5, R_f= 0.47;
CHCl₃, R_f= 0.18

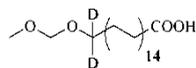
ESI-MS: 511.40 [M-H]⁻

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.64 (s, 2 H, -O-CH₂-O-), 3.53 (t, ³J= 6.8 Hz, 2 H, -CH₂-O-CH₂-O-), 3.37 (s, 3 H, CH₃-), 2.30 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COOH), 1.63-1.56 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-OH; -CH₂-CH₂-O-CH₂-O-), 1.36-1.21 (m, 52 H, -(CH₂)₂₆-CH₂-CH₂-COOH)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 177.34, 96.36, 67.87, 32.80, 55.07, 29.83-26.37, 26.20, 24.97

- **30,30-D₂-30-(Methoxymethoxy)triacontansäure (62)**

Summenformel: C₃₂H₆₂D₂O₄



Molare Masse: 514.49 g/mol

Ausbeute: 1.19 g (89 %)

DC: CHCl₃:Ether 8:2, R_f= 0.28; CHCl₃:MeOH 95:5, R_f= 0.48;
CHCl₃, R_f= 0.19

ESI-MS: 513.62 [M-H]⁻

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 4.61 (s, 2 H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 3.35 (s, 3 H, CH_3-), 3.10 (qd, $^3J=7.3\text{ Hz}$, $^3J=4.8\text{ Hz}$, 6 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (TEA)), 2.33 (t, $^3J=7.5\text{ Hz}$, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 1.64-1.54 (m, 4 H, $-\text{CD}_2-\text{CH}_2-$; $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 1.41 (t, $^3J=7.3\text{ Hz}$, 9 H, $-\text{CH}_3$ (TEA)), 1.34-1.23 (m, 50 H, $-(\text{CH}_2)_{25}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$)

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 177.18, 96.46, 55.20, 45.96 (TEA), 33.94, 29.82-29.24, 26.29, 24.93, 8.76 (TEA)

d) Darstellung des 30-(Methoxymethoxy)triacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)esters (63) und 30,30-D₂-30-Methoxymethyltriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)esters (64)

• **Synthese**

In einem ausgeheizten 100 ml Zweihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 4 mmol (2.05 g) des Carbonsäureacetals **61** gelöst in 15 ml CHCl_3 vorgelegt. Unter starkem Rühren wurden nacheinander 20 mmol (1.92 ml) Trichlorethanol, 4 mmol (0.32 ml) Pyridin und 5 mmol (1.03 g) DCC zum Ansatz gegeben und dieser nachfolgend bei RT für 10 h gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz zunächst eingengt und der Rückstand dann in 100 ml Ether aufgenommen. Die Etherphase wurde 2x mit je 20 ml Wasser und 20 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingengt.

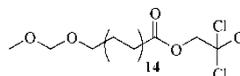
Analog erfolgte die Umsetzung von 2.2 mmol (1.15 g) des Carbonsäureacetals **62**, allerdings wurde der Ansatz hier nach Zugabe von DCC 24 h anstatt 10 h bei RT gerührt.

• **Reinigung**

Zur Reinigung wurde das jeweilige Rohprodukt zunächst in einer geringen Menge eines Gemisches bestehend aus Heptan: CHCl_3 :TEA im Volumenverhältnis von 50:50:2 gelöst und dann mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan: CHCl_3 -Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 50:50, Endkonzentration: 10:90). Zur Vermeidung der Schutzgruppenabspaltung wurde dem Eluenten TEA im Volumenverhältnis von 100:1_(MP:TEA) zugesetzt.

• **30-(Methoxymethoxy)triacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (63)**

Summenformel: $\text{C}_{34}\text{H}_{65}\text{Cl}_3\text{O}_4$



Molare Masse: 644.24 g/mol

Ausbeute: 1.78 g (71 %)

DC: CHCl_3 :Heptan 6:4, $R_f=0.38$; CHCl_3 , $R_f=0.65$

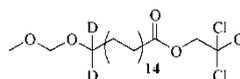
ESI-MS: 667.82 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.73 (s, 2 H, -CH₂-CCl₃), 4.62 (s, 2 H, -OCH₂O-), 3.52 (t, ³J= 6.7 Hz, 2 H, -OCH₂O-CH₂-), 3.36 (s, 3 H, CH₃-), 2.44 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-), 1.71-1.53 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-COO-; -OCH₂O-CH₂-CH₂-), 1.38-1.27 (m, 50 H, -(CH₂)₂₅-CH₂-CH₂-COO-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 172.55, 96.41, 95.16, 74.07, 68.23, 55.24, 34.11, 29.86-29.17, 26.57, 24.92

- **30,30-D₂-30-Methoxymethyltriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (64)**

Summenformel: C₃₄H₆₃D₂Cl₃O₄



Molare Masse: 646.25 g/mol

Ausbeute: 1.21 g (83 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f= 0.39; CHCl₃, R_f= 0.67

ESI-MS: 669.23 [M+Na]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 4.74 (s, 2 H, -CH₂-CCl₃), 4.61 (s, 2 H, -OCH₂O-), 3.36 (s, 3 H, CH₃-), 2.45 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-), 1.72-1.66 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-COO-), 1.59-1.56 (m, 2 H, -CD₂-CH₂-), 1.37-1.24 (m, 50 H, -CD₂-CH₂-(CH₂)₂₅-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 172.32, 96.51, 95.25, 74.02, 55.22, 34.12, 29.86-29.19, 26.33, 24.93

e) **Darstellung des 30-Hydroxytriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)esters (41) und 30,30-D₂-30-Hydroxytriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (42)**

- **Synthese**

In einem ausgeheizten 100 ml Zweihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 2.3 mmol (1.5 g) Trichlorethylester **63**, 25 ml *tert*-Butanol und 2.3 mmol (0.57 g) Pyridiniumtosylat vorgelegt. Der Ansatz wurde anschließend für 24 h gerührt und gleichzeitig unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit je 25 ml Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt.

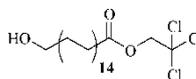
Analog erfolgte die Umsetzung von 1.5 mmol (1 g) D₂-Trichlorethylester **64**.

- **Reinigung**

Zur Reinigung mittels SCh wurden die C₃₀-Hydroxysäuretrichlorethylester **41** und **42** in wenig Heptan:CHCl₃ im Volumenverhältnis von 80:20 aufgenommen und mithilfe einer trockengepackten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 50:50).

- **30-Hydroxytriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (41)**

Summenformel: C₃₂H₆₁Cl₃O₃



Molare Masse: 598.37 g/mol

Ausbeute: 1.26 g (91 %)

DC: CHCl₃, R_f= 0.35

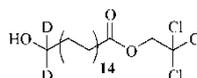
ESI-MS: 621.72 [M+Na]⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 4.73 (s, 2 H, -CH₂-CCl₃), 3.62 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, OH-CH₂), 2.47 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-), 1.71-1.65 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-COO-), 1.57-1.49 (m, 2 H, OH-CH₂-CH₂-), 1.41-1.23 (m, 50 H, OH-(CH₂)₂-(CH₂)₂₅-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 172.31, 95.28, 73.94, 62.73, 34.11, 32.77, 29.62-29.07, 25.91, 24.87

• **30,30-D₂-30-Hydroxytriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (42)**

Summenformel: C₃₂H₅₉D₂Cl₃O₃



Molare Masse: 600.38 g/mol

Ausbeute: 0.81 g (89 %)

DC: CHCl₃, R_f= 0.39

ESI-MS: 600.17 [M-H]⁻

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 4.74 (s, 2 H, -CH₂-CCl₃), 2.46 (t, ³J= 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-), 1.73-1.65 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-COO-), 1.55 (t, ³J= 6.9 Hz, 2 H, -CD₂-CH₂-), 1.44-1.42 (m, 2 H, -CD₂-CH₂-CH₂-), 1.36-1.25 (m, 48 H, -CD₂-CH₂-CH₂-(CH₂)₂₄-)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 172.33, 95.25, 74.03, 62.52, 34.12, 32.78, 29.86-29.19, 25.85, 24.93

f) **Darstellung des 30-(Linoleoyloxy)triacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)esters (65) und 30,30-D₂-30-Linoleoyloxytriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)esters (66)**

• **Darstellung, Methode 1:**

In einem ausgeheizten 250 ml Zweihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 0.5 mmol (0.3 g) Hydroxyester **41**, 0.75 mmol (0.21 g) Linolsäure (**43**), 0.75 mmol (0.15 g) DCC sowie 0.5 mmol (0.06 g) DMAP in 30 ml Toluol gelöst und dann für 10 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer eingengt.

Analog erfolgte die Umsetzung von 0.11 mmol (0,07 g) Hydroxyester **42**.

• **Darstellung, Methode 2:**

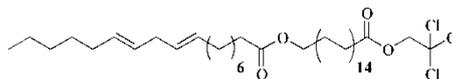
In einem ausgeheizten 100 ml Zweihalsrundkolben wurden unter Argonatmosphäre 0.4 mmol (0.11 g) Linolsäure (**43**) und 0.2 mmol (0.04 g) DCC in 10 ml Toluol gelöst und für 2 h bei RT gerührt. Im Anschluss erfolgte die Zugabe von 0.13 mmol (0.08 g) Hydroxyester **42**, gelöst in 5 ml Toluol, weiteren 0.2 mmol (0.04 g) DCC sowie 0.26 mmol (0.03 g) DMAP. Nachfolgend wurde der Ansatz für weitere 12 h bei RT gerührt und im Anschluss am Rotationsverdampfer eingengt.

- **Reinigung**

Das jeweilige Rohprodukt wurde zur Reinigung mittels Sch in wenig warmen Heptan aufgenommen und mithilfe einer konditionierten Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0, Endkonzentration: 80:20).

- **30-(Linoleoyloxy)triacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (65)**

Summenformel: C₅₀H₉₁Cl₃O₄



Molare Masse: 860.60 g/mol

Ausbeute: 0.23 g (55 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.56

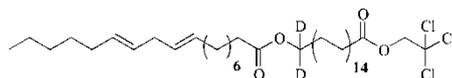
ESI-MS: 883.68 [M+Na]⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.42-5.29 (m, 4 H, 2x -CH=CH-), 4.74 (s, 2 H, -CH₂-CCl₃), 4.05 (t, ³J = 6.7 Hz, 2 H, -COO-CH₂-(CH₂)₂₈-), 2.77 (t, ³J = 6.5 Hz, 2 H, =CH-CH₂-CH=), 2.46 (t, ³J = 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-CH₂-CCl₃), 2.29 (t, ³J = 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-(CH₂)₂₉-), 2.07-2.02 (m, 4 H, 2x -CH₂-CH=CH-), 1.73-1.65 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-COO-CH₂-CCl₃), 1.64-1.58 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-COO-CH₂-CH₂-), 1.42-1.22 (m, 64 H, -(CH₂)₂-CH₃; -(CH₂)₅-(CH₂)₂-COO-(CH₂)₂-(CH₂)₂₅-), 0.89 (t, 3J = 6.9 Hz, 3 H, -CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 174.11, 172.32, 130.37, 130.20, 128.20, 128.07, 95.25, 74.02, 64.57, 34.57, 34.12, 31.69, 29.87-29.20, 28.83, 27.36, 26.10, 25.80, 25.18, 24.93, 22.73, 14.22

- **30,30-D₂-30-Linoleoyloxytriacontansäure(2,2,2-trichlorethyl)ester (66)**

Summenformel: C₅₀H₈₉D₂Cl₃O₄



Molare Masse: 862.61 g/mol

Ausbeute: Methode 1 0.07 g (74 %)

Methode 2 0.10 g (90 %)

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.56

ESI-MS: 885.67 [M+Na]⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 5.41-5.30 (m, 4 H, 2x -CH=CH-), 4.74 (s, 2 H, -CH₂-CCl₃), 2.77 (t, ³J = 6.5 Hz, 2 H, =CH-CH₂-CH=), 2.45 (t, ³J = 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-CH₂-CCl₃), 2.28 (t, ³J = 7.5 Hz, 2 H, -CH₂-COO-CD₂-), 2.05 (q, ³J = 6.9 Hz, 4 H, 2x -CH₂-CH=CH-), 1.69 (m, 2 H, -CH₂-CH₂-COO-CH₂-CCl₃), 1.64-1.58 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-COO-CD₂-CH₂-), 1.38-1.24 (m, 64 H, -(CH₂)₂-CH₃; -(CH₂)₅-(CH₂)₂-COO-CD₂-; -CD₂-CH₂-(CH₂)₂₅-), 0.89 (t, 3J = 6.9 Hz, 3 H, -CH₃)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.09, 172.28, 130.35, 130.18, 128.19, 128.06, 95.24, 74.01, 60.28, 34.55, 34.10, 31.68, 29.86-29.19, 28.62, 27.35, 26.04, 25.79, 25.17, 24.92, 22.72, 14.21

5.3.5.5 Synthese der 30-(Linoleoyloxy)triacontansäure (36) und 30,30-D₂-30-(Linoleoyloxy)triacontansäure (37)

- **Darstellung, Methode 1:** Zinkstaub_{<10 μm}, Rührfisch

In einem 25 ml Rundkolben wurden 0.8 mmol (65 mg) Säureester **65** gelöst in 5 ml THF vorgelegt. Nach erfolgter Zugabe von 0.2 g Zinkstaub_{<10 μm} und 0.5 ml 1 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung wurde der Ansatz für 12 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurden 15 ml CHCl₃ zum Ansatz gegeben und der Zinkstaub dann abfiltriert. Letzterer wurde im Anschluss zusätzlich 2x mit je 10 ml CHCl₃ gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10 ml H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter gereinigt.

- **Darstellung, Methode 2:** Zinkstaub_{40-60 nm} und Schüttelapparatur

Auf einer Schüttelapparatur wurden in einem 250 ml Rundkolben 0.18 mmol (151 mg) Säureester **65**, 8 ml THF, 0.8 ml 1 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung und 0.3 g Zinkstaub_{40-60 nm} für 12 h geschüttelt. Zur Aufarbeitung wurden 25 ml CHCl₃ zum Ansatz gegeben und der Zinkstaub abfiltriert. Letzterer wurde zusätzlich 2x mit je 15 ml CHCl₃ gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 15 ml H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Die Kontrolle des Rohproduktes erfolgte durch ESI-MS.

Das Rohprodukt wurde in wenig Heptan:CHCl₃ im Volumenverhältnis von 1:1 gelöst und mithilfe konditionierter Säule unter Verwendung eines Heptan:CHCl₃-Eluenten diskontinuierlicher Polaritätserhöhung gereinigt (Startkonzentration: 100:0 Endkonzentration: 30:70).

- **30-(Linoleoyloxy)triacontansäure (36)**

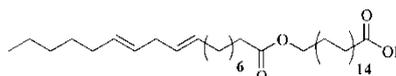
Summenformel: C₄₈H₉₀O₄

Molare Masse: 730.68 g/mol

Ausbeute: 0 %

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.26

ESI-MS: 729.87 [M-H]⁻ Rohprodukt



- **Darstellung, Methode 3:** Abspaltung mittels SmI₂-Lösung

In einem ausgeheizten und mit Argon gespülten 25 ml Rundkolben wurden 0.8 mmol (65 mg) Säureester **66** gelöst in 5 ml THF vorgelegt. Zum Ansatz wurden dann nach Abkühlung auf 0 °C vorsichtig 0.43 mmol (4.3 ml) Samariumdijodidlösung zugetropft. Unter einem stetigen Strom von Argon wurde der Ansatz nachfolgend auf 35 °C erwärmt und dann für 2 h gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde 1 ml H₂O zugegeben und der Ansatz über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 2 ml 5%igen NH₄Cl-Lösung sowie 2 ml ges. NaCl-Lösung versetzt und im Anschluss 3x mit je 10 ml Ether extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit 10 ml einer 0.2 M Na₂S₂O₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter gereinigt.

- **Darstellung, Methode 4:** Zinkstaub_{40-60 nm} sowie Schüttelapparatur und direkte Umsetzung zum CER[EOS]-D₂ **67**

Auf einer Schüttelapparatur wurden in einem 250 ml Rundkolben 0.12 mmol (105 mg) Säureester **66**, 5 ml THF, 0.5 ml 1 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung und 0.2 g Zinkstaub_{40-60 nm} für 12 h geschüttelt. Anschließend wurden erneut die gleichen Mengen an Zinkstaub_{40-60 nm} und 1 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung zum Ansatz gegeben und dieser für weitere 12 h geschüttelt. Zur Aufarbeitung wurden 15 ml CHCl₃ zum Ansatz gegeben und der Zinkstaub abfiltriert. Letzterer wurde zusätzlich 2x mit je 10 ml CHCl₃ gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10 ml H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, eingengt und anschließend für 24 h im Exsikkator über P₂O₅ getrocknet. Es wurden 87.9 mg Rohprodukt gewonnen und direkt weiter umgesetzt.

Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes und des Rohproduktes erfolgte durch DC (CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.21) und ESI-MS.

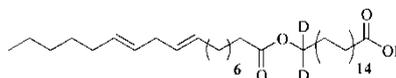
- **30,30-D₂-30-(Linoleoyloxy)triacontansäure (37)**

Summenformel: C₄₈H₈₈D₂O₄

Molare Masse: 732.70 g/mol

DC: CHCl₃:Heptan 6:4, R_f = 0.21

ESI-MS: 731.95 [M-H]⁻_{Rohprodukt}



In einem ausgeheizten und mit Argon gespülten 50 ml Rundkolben wurden 0.12 mmol (87.9 mg) Säure **37** (ausgehend von 100 % Umsetzung des Säureesters **66**) gelöst in 10 ml CH₂Cl₂ vorgelegt. Nach erfolgter Zugabe von 0.12 mmol (65 mg) PyBOP[®] sowie 10 Tropfen DIPEA wurde für 30 min bei RT gerührt und im Anschluss 0.12 mmol (36 mg) Sphingosin **8** zum Ansatz hinzugegeben. Der Ansatz wurde dann für 12 h bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockne eingengt. Es wurden 0.42 g Rohprodukt als blassgelber Feststoff gewonnen.

Das Rohprodukt wurde in CHCl₃:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst und auf wenig Kieselgel adsorbiert, die Reinigung erfolgte mithilfe einer konditionierten Säule (Annahme: Rohprodukt entspricht 100% CER[EOS]-D₂ **67**) unter Verwendung von CHCl₃:Heptan im Volumenverhältnis von 8:2 zur Konditionierung. Als mobile Phase wurde ein Gemisch bestehend aus Heptan:CHCl₃:MeOH:NH_{3aq} verwendet. Die Zugabe von NH_{3aq} zur mobilen Phase erfolgte ab einer Konzentration von Heptan:CHCl₃:MeOH 0:100:0, der Volumenanteil von NH_{3aq} war dabei konstant mit 0.5 %. Die Erhöhung der Polarität erfolgte diskontinuierlich (Startkonzentration: 40:60:0, Endkonzentration: 0:90:10).

- **CER[EOS]-D₂**

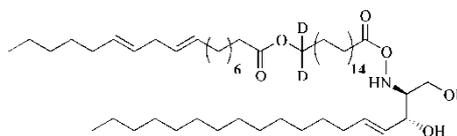
Summenformel: C₆₆H₁₂₃D₂NO₅

Molare Masse: 1013.97 g/mol

Ausbeute: 0 %

DC: CHCl₃:MeOH:NH_{3aq} 9.5:0.5:0.5, R_f = 0.38

ESI-MS: 1012.96 [M-H]⁻_{Rohprodukt}



5.3.6 Allgemeine Synthesemethoden zur Darstellung von Ceramiden

5.3.6.1 Darstellung von perdeuterierten Fettsäuren

In der Hydrierapparatur wurden 10 mmol der zu deuterierenden Säure, KOH (Säure:KOH im Stoffmengenverhältnis von 1:1.2) sowie 300 mg Pd/C (10 %) pro 1 g bis 3 g Säure und 100 ml D₂O vorgelegt. Anschließend wurde der Autoklav zunächst für 2 min mit Argon gespült und der Ansatz dann für 100 h bei einer Temperatur von 195 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurde mit konz. HCl angesäuert, die feste Phase bestehend aus deuterierter Säure sowie Pd/C von der wässrigen Phase abfiltriert und im Anschluss an der Luft getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde in einem Gemisch aus CHCl₃:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 gelöst, auf wenig Kieselgel adsorbiert und mithilfe einer Frontchromatographie vom Katalysator abgetrennt. Als Eluent diente ein Gemisch bestehend aus CHCl₃:MeOH im Volumenverhältnis von 8:2, die Elution der einzelnen Fraktionen wurden durch DC kontrolliert (Laufmittel: CHCl₃). Die erhaltenen Säuren wurden anschließend ohne weitere Charakterisierung direkt umgesetzt.

5.3.6.2 Synthese der (2*RS*)-2-Hydroxyfettsäuren über die Zwischenstufe der (2*RS*)-2-Bromsäuren

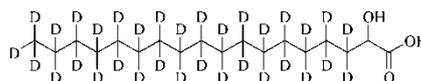
a) Darstellung der C₁₈ α -Hydroxyfettsäuren **26**, **75** und **76**

Zunächst wurde die Carbonsäure **70** entsprechend der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die perdeuterierte Säure **78** umgesetzt. In einem ausgeheizten Zweihalsrundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon jeweils 1 mmol der Säure **70**, **71** oder **78** in 10 ml SOCl₂ gelöst und für 30 min bei 50 °C gerührt. Anschließend wurden vorsichtig 3 mmol Brom zum Ansatz getropft, dieser für 8 h unter Rückfluss erhitzt und dann im Anschluss für weitere 12 h bei RT gerührt. Das überschüssige SOCl₂ wurde nachfolgend mithilfe einer Wasserstrahlpumpe bei 75 °C Ölbadtemperatur entfernt. Um restliche Spuren von SOCl₂ zu zersetzen, wurden zunächst 15 ml eiskaltes H₂O zum Ansatz gegeben und dieser dann kurzzeitig auf 80 °C erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde die wässrige Phase 2x mit je 30 ml Ether gewaschen, die Etherphasen vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingengt. Die als blassgelbe Feststoffe gewonnenen α -Bromsäuren **72**, **73** und **79** wurden jeweils in einer KOH-Lösung, bestehend aus 4.5 mmol KOH gelöst in 10 ml H₂O, suspendiert und bei starkem Rühren für 8 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde mit 2N HCl angesäuert, der Feststoff abfiltriert, 3x mit je 5 ml H₂O gewaschen und im Exsikkator für 24 h über KOH getrocknet.

Die als Rohprodukt gewonnenen α -Hydroxyfettsäuren **26**, **75** und **76** wurden in siedendem CHCl₃ umkristallisiert. Zur vollständigen Kristallisation wurde die CHCl₃ Phase nach Abkühlen auf RT für 24 h im Kühlschrank aufbewahrt. Die α -Hydroxyfettsäuren **26**, **75** und **76** wurden danach unter Verwendung einer Glasfritte abgesaugt, im Exsikkator für 24 h über P₂O₅ getrocknet, anschließend mit ESI-MS untersucht und dann weiter umgesetzt.

- **(2*RS*)-2-Hydroxy-D₃₃-octadecansäure (26)**

Summenformel: C₁₈H₃D₃₃O₃



Molare Masse: 333.47 g/mol

Ausbeute: 75 % (über 2 Stufen)

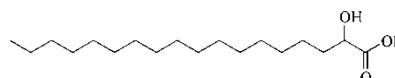
Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.29

ESI-MS: 333.14 [M-H]⁻

- **(2*RS*)-2-Hydroxyoctadecansäure (75)**

Summenformel: C₁₈H₃₆O₃



Molare Masse: 300.27 g/mol

Ausbeute: 71 % (über 2 Stufen)

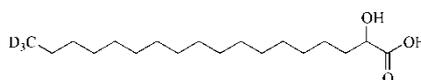
Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.30

ESI-MS: 299.67 [M-H]⁻

- **(2*RS*)-2-Hydroxy-18,18,18-D₃-octadecansäure (76)**

Summenformel: C₁₈H₃₃D₃O₃



Molare Masse: 303.28 g/mol

Ausbeute: 72 % (über 2 Stufen)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl₃:MeOH 8:2, R_f = 0.31

ESI-MS: 302.58 [M-H]⁻; 605.33 [2M-H]⁻

b) Darstellung der C₂₄ α-Hydroxyfettsäuren 27 und 77

Zuerst wurde die Carbonsäure **68** entsprechend der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode zur perdeutierten Säure **69** umgesetzt. Als Nächstes wurden in einem ausgeheizten Zweihalsrundkolben unter einer Atmosphäre von Argon 1 mmol Säure **68** und **69** in 10 ml SOCl₂ gelöst und für 30 min bei 50 °C gerührt. Anschließend wurden zur Darstellung der entsprechenden α-Bromsäuren **74** und **80** vorsichtig 3 mmol Brom zum Ansatz getropft. Dieser wurde dann für 16 h unter Rückfluss erhitzt und im Anschluss weitere 16 h bei RT gerührt. Das überschüssige SOCl₂ wurde nachfolgend mithilfe einer Wasserstrahlpumpe bei 75 °C Ölbadtemperatur entfernt und restliche Spuren von SOCl₂ durch Zugabe von 15 ml eiskaltem H₂O zersetzt. Unter starkem Rühren wurde anschließend eine KOH-Lösung, bestehend aus 4.5 mmol KOH gelöst in 10 ml H₂O, zum Ansatz gegeben und dieser für 30 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde mit 2N HCl angesäuert, der Feststoff abfiltriert, 3x mit je 5 ml H₂O gewaschen und im Exsikkator für 48 h über KOH getrocknet.

Die als Rohprodukt gewonnenen α -Hydroxyfettsäuren **27** und **77** wurden in siedendem CHCl_3 , unter Zugabe von wenigen Tropfen MeOH, zunächst aufgenommen und durch Umkristallisation gereinigt. Zur vollständigen Kristallisation wurde die CHCl_3 -Phase nach Abkühlen auf RT mit wenig Heptan versetzt und für 24 h im Kühlschrank aufbewahrt. Die α -Hydroxyfettsäuren **27** und **77** wurden danach unter Verwendung einer Glasfritte abgesaugt, im Exsikkator für 48 h über P_2O_5 getrocknet, mit ESI-MS untersucht und dann weiter umgesetzt.

- **(2RS)-2-Hydroxy-D₄₅-tetracosansäure (27)**

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



Molare Masse: 429.64 g/mol

Ausbeute: 57 % (über 2 Stufen)

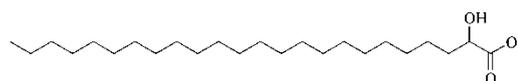
Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl_3 :MeOH 8:2, $R_f = 0.35$

ESI-MS: 428.91 [M-H]⁻

- **(2RS)-2-Hydroxytetracosansäure (77)**

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_3$



Molare Masse: 384.36 g/mol

Ausbeute: 53 % (über 2 Stufen)

Aussehen: weißer, kristalliner Feststoff

DC: CHCl_3 :MeOH 8:2, $R_f = 0.38$

ESI-MS: 383.64 [M-H]⁻; 767.51 [2M-H]⁻

5.3.6.3 Allgemeine Methode zur Darstellung der CER vom Typ CER[EOP], CER[EOS], CER[NDS], CER[NP] und CER[NS]

1 mmol der entsprechenden Säure, 1.05 mmol PyBOP[®], 10 Tropfen DIPEA und 10 ml CH_2Cl_2 pro 1 mmol Säure wurden für 20 min bei RT in einem Rundkolben gerührt, anschließend erfolgte die Zugabe von 1 mmol der benötigten Sphingoidbase **7**, **8** oder **9** zur klaren Lösung. Nachfolgend wurde der Ansatz zuerst für 12 h bei RT gerührt und dann bis zur Trockne eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde in einem Gemisch bestehend aus CHCl_3 :MeOH im Volumenverhältnis von 8:2 aufgenommen und auf wenig Kieselgel adsorbiert. Anschließend erfolgte die Reinigung durch Sch wie in Abschnitt 5.1.5 und 5.1.6 beschrieben.

5.3.6.4 Allgemeine Methode zur Darstellung der CER vom Typ CER[ADS], CER[AP] und CER[AS]

a) Einführung Acetylschutzgruppe

In einem ausgeheizten Rundkolben wurden unter einer Atmosphäre von Argon 1 mmol der jeweils benötigten Säure, 1.5 mmol Acetanhydrid, 3 mmol Pyridin und 10 ml CH₂Cl₂ pro 0.6 mmol Säure für 16 h bei RT gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgte durch Zugabe von 10 ml ges. NaHCO₃-Lösung pro 0.6 mmol Säure. Der Ansatz wurde im Anschluss 3x mit je 10 ml CHCl₃ pro 0.6 mmol Säure extrahiert. Nachfolgend wurde die vereinigte CHCl₃-Phase mit 25 ml einer 0.5 M NaHSO₄-Lösung pro 0.6 mmol Säure gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingeeengt. Die als blassgelber Feststoff gewonnenen acetylgeschützten Säuren wurden mit ESI-MS untersucht und direkt ohne weitere Reinigung umgesetzt (Ausbeute_{Rohprodukt}: 93-96 %).

- **(2RS)-2-Acetyloxyoctadecansäure (93)**

Summenformel: C₂₀H₃₈O₄

Molare Masse: 342.28 g/mol

ESI-MS: 341.39 [M-H]⁻, 683.23 [2M-H]⁻

- **(2RS)-2-Acetyloxy-18,18,18-D₃-octadecansäure (94)**

Summenformel: C₂₀H₃₅D₃O₄

Molare Masse: 345.30 g/mol

ESI-MS: 344.56 [M-H]⁻, 689.45 [2M-H]⁻

- **(2RS)-2-Acetyloxy-D₃₃-octadecansäure (95)**

Summenformel: C₂₀H₅D₃₃O₄

Molare Masse: 375.48 g/mol

ESI-MS: 374.81 [M-H]⁻

- **(2RS)-2-Acetyloxytetracosansäure (96)**

Summenformel: C₂₆H₅₀O₄

Molare Masse: 426.37 g/mol

ESI-MS: 425.70 [M-H]⁻

- **(2RS)-2-Acetyloxy-D₄₅-tetracosansäure (97)**

Summenformel: C₂₆H₅D₄₅O₄

Molare Masse: 471.65 g/mol

ESI-MS: 470.14 [M-H]⁻, 942.23 [2M-H]⁻

b) Darstellung der acetylgeschützten CER

In einem Rundkolben wurden zunächst 1 mmol der jeweils umzusetzenden acetylgeschützten Säure, 1.05 mmol PyBOP[®], 10 Tropfen DIPEA und 10 ml CH₂Cl₂ je 0.5 mmol Säure für 20 min bei RT gerührt, anschließend erfolgte die Zugabe von 1 mmol entsprechender Sphingoidbase **7**, **8** oder **9** zur klaren Lösung. Abermals wurde der Ansatz für 12 h bei RT gerührt und dann bis zur Trockne eingengt. Die so erhaltenen Rohprodukte wurden ohne weitere Reinigung und Charakterisierung direkt umgesetzt.

c) Abspaltung Acetylschutzgruppe

Für die Darstellung des DL-CER wurde in einem Rundkolben das entsprechende acetylgeschützte CER in 10 ml eines Gemisches bestehend aus CHCl₃:MeOH:H₂O im Volumenverhältnis von 4:1:0.1 pro 0.25 mmol acetylgeschütztes CER gelöst. Nach Zugabe einer kleinen Menge K₂CO₃ wurde der Ansatz für 2 h bei RT gerührt und nach Abschluss der Reaktion bis zur Trockne eingengt. Die chromatographische Reinigung der Rohprodukte und die anschließende Trennung der Diastereomere erfolgte nach der im Kapitel 5.1.7 beschriebenen Methode.

5.3.7 Synthese der Ceramide

Entgegen der IUPAC-Nomenklatur erfolgt die Benennung der CER in diesem Abschnitt bezogen auf die ceramidtypische Amidbindung, analog zu SONNENBERGER.^[175]

5.3.7.1 Synthese der Ceramide vom Typ CER[NDS]

Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-D₄₃-docosanamids - CER[NDS22]-D₄₃ (**84**)

Zunächst wurde die Säure **10** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **11** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NDS22]-D₄₃ **84** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **11** und dem Aminoalkohol **9**.

Summenformel: C₄₀H₃₈D₄₃NO₃

Molare Masse: 666.89 g/mol

Ausbeute: 78 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

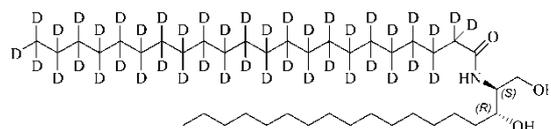
Fp: 98-101 °C

DC: CHCl₃:MeOH:NH_{3aq} 95:5:0.5, R_f= 0.44

SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:98.5:1.5

ESI-MS: 665.10 [M-H]⁻, 689.05 [M+Na]⁺

HRMS: ber. (C₄₀H₃₉D₄₂NO₃Cl): 700.8498 [M+HCl]⁻
gef.: 700.8532



¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 173.22, 73.26, 63.07, 56.36, 35.42, 33.04, 30.96-29.40, 27.02, 23.72, 14.59

5.3.7.2 Synthese der Ceramide vom Typ CER[NP]

a) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-D₂₃-dodecanamids – CER[NP12]-D₂₃ (85)

Zunächst wurde die Säure **81** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **83** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NP12]-D₂₃ **85** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **83** und dem Aminoalkohol **7**.

Summenformel: C₃₀H₃₈D₂₃NO₄

Molare Masse: 522.60 g/mol

Ausbeute: 81 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

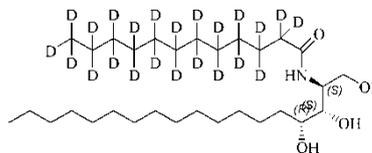
Fp: 115-118 °C

DC: CHCl₃:MeOH:NH_{3aq} 90:10:0.5, R_f= 0.33

SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:95:5

ESI-MS: 521.69 [M-H]⁻, 1043.79 [2M-H]⁻

HRMS: ber. (C₃₀H₃₉D₂₃NO₄): 523.6099 [M+H]⁺
gef.: 523.6118



¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃:MeOD 8:2): 174.53, 75.06, 72.05, 60.78, 51.64, 32.37, 31.55, 29.37-29.22, 28.97, 27.76, 25.50, 22.27, 13.44

b) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-D₃₅-octadecanamids - CER[NP18]-D₃₅ (86)

Zunächst wurde die Säure **70** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **78** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NP18]-D₃₅ **86** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **83** und dem Aminoalkohol **7**.

Summenformel: C₃₆H₃₈D₃₅NO₄

Molare Masse: 618.77 g/mol

Ausbeute: 85 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

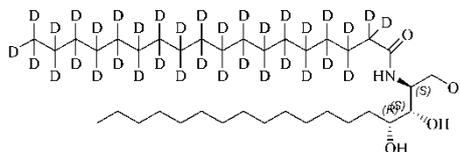
Fp: 120-121 °C

DC: CHCl₃:MeOH:NH_{3aq} 95:5:0.5, R_f= 0.22

SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:96:4

ESI-MS: 617.81 [M-H]⁻

HRMS: ber. (C₃₆H₃₉D₃₅NO₄): 619.7779 [M+H]⁺
gef.: 619.7788



^{13}C NMR (125 MHz, THF- D_8): 173.33, 77.23, 73.24, 62.53, 53.86, 34.31, 32.92, 30.90-30.35, 26.84, 25.86, 25.37, 23.60, 14.46

c) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]- D_{47} -tetracosanamids - CER[NP24]- D_{47} (87**)**

Zunächst wurde die Säure **68** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **69** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NP24]- D_{47} **87** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **69** und dem Aminoalkohol **7**.

Summenformel: $\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{D}_{47}\text{NO}_4$

Molare Masse: 714.94 g/mol

Ausbeute: 91 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

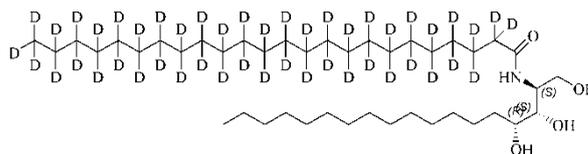
Fp: 110-114 °C

DC: CHCl_3 :MeOH: NH_3aq 90:10:0.5, $R_f = 0.39$

SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:96:4

ESI-MS: 713.92 [M-H]⁻

HRMS: ber. ($\text{C}_{42}\text{H}_{39}\text{D}_{47}\text{NO}_4$): 715.9459 [M+H]⁺
gef.: 715.9486



^{13}C NMR (125 MHz, THF- D_8): 173.34, 77.27, 73.27, 62.55, 53.91, 34.33, 32.90, 30.89-30.64, 30.33, 26.83, 25.86, 23.58, 14.45

5.3.7.3 Synthese der Ceramide vom Typ CER[NS]

a) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-dodecanamids – CER[NS12] (82**)**

Die Säure **81** und der Aminoalkohol **8** wurden entsprechend Methode 5.3.6.3 zum CER[NS12] **82** umgesetzt. Abweichend zum beschriebenen Reinigungsverfahren wurde das als Rohprodukt vorliegende CER[NS12] **82** vor Adsorption auf Kieselgel nicht in Heptan suspendiert sondern direkt auf SiO_2 adsorbiert.

Summenformel: $\text{C}_{30}\text{H}_{59}\text{NO}_3$

Molare Masse: 481.45 g/mol

Ausbeute: 62 %

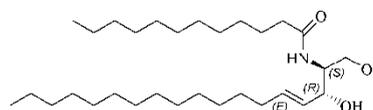
Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

Fp: 78-79 °C

DC: CHCl_3 :MeOH: NH_3aq 95:5:0.5, $R_f = 0.39$

SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:98:2

ESI-MS: 480.49 [M-H]⁻, 482.18 [M+H]⁺, 504.36 [M+Na]⁺, 985.15 [2M+Na]⁺



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 6.23 (d, ³J= 7.6 Hz, 1 H, -HN-), 5.82-5.75 (m, 1 H, -CH₂-CH=CH-), 5.53 (dd, ³J= 15.4 Hz, ³J= 6.5 Hz, 1H, -CH₂-CH=CH-), 4.34-4.31 (m, 1 H, -CH-OH), 3.96 (dd, ²J= 11.2 Hz, ³J= 3.8 Hz, 1H, -CH^hHOH), 3.91 (dd, ²J= 11.3 Hz, ³J= 3.7 Hz, 1 H, -CHNH-), 3.71 (dd, ²J= 11.2 Hz, ³J= 3.3 Hz, 1H, -CH^hHOH), 2.26-2.21 (m, 2 H, -CH₂-CONH-), 2.06 (q, ²J= 14.2 Hz, ³J= 7.1 Hz, 2 H, -CH₂-CH=CH-), 1.64 (dt, ²J= 15.0 Hz, ³J= 7.6 Hz, 2 H, -CH₂-CH₂-CONH-), 1.40-1.25 (m, 38 H, H₃C-(CH₂)₈-; -(CH₂)₁₁-CH₂-CH=CH-), 0.88 (t, ³J= 7.0 Hz, 6 H, 2x H₃C-)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.04, 134.48, 128.96, 74.86, 62.70, 54.69, 37.01, 32.44, 32.08, 29.85-29.28, 25.92, 22.84, 14.26

b) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-D₂₃-dodecanamids – CER[NS12]-D₂₃ (88)

Zunächst wurde die Säure **81** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **83** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NS12]-D₂₃ **88** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **83** und dem Aminoalkohol **8**.

Summenformel: C₃₀H₃₆D₂₃NO₃

Molare Masse: 504.59 g/mol

Ausbeute: 74 %

Aussehen: weißer, wachsartiger Feststoff

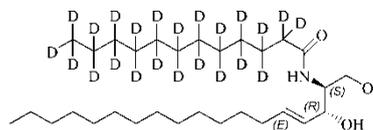
Fp: 77-80 °C

DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 95:5:0.5, R_f= 0.41

SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:98:2

ESI-MS: 503.68 [M-H]⁻, 527.55 [M+Na]⁺

HRMS: ber. (C₃₀H₃₇D₂₃NO₃): 505.5993 [M+H]⁺
gef.: 505.6012



¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.13, 134.40, 128.99, 74.80, 62.67, 54.68, 36.90, 32.44, 32.08, 29.84-29.26, 25.71, 22.84, 14.26

c) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-D₃₅-octadecanamids – CER[NS18]-D₃₅ (89)

Zunächst wurde die Säure **70** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **78** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NS18]-D₃₅ **89** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **78** und dem Aminoalkohol **8**.

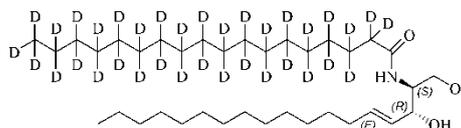
Summenformel: C₃₆H₃₆D₃₅NO₃

Molare Masse: 600.76 g/mol

Ausbeute: 81 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

Fp: 87-89 °C



DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 95:5:0.5, R_f= 0.46
SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:98:2
ESI-MS: 599.71 [M-H]⁻, 626.61 [2M+Na]⁺; 1224.80 [2M+Na]⁺
HRMS: ber. (C₃₆H₃₆D₃₅NO₃Cl): 635.7284 [M+Cl]⁻
gef.: 635.7360

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.16, 134.44, 128.97, 74.80, 62.67, 54.68, 32.44, 32.08, 29.85- 29.28, 28.21, 22.84, 14.26

d) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-D₄₇-tetracosanamids – CER[NS24]-D₄₇ (90)

Zunächst wurde die Säure **68** nach der unter 5.3.6.1 beschriebenen Methode in die deuterierte Säure **69** umgesetzt, anschließend erfolgte die Synthese des CER[NS24]-D₄₇ **90** entsprechend Methode 5.3.6.3 aus der Säure **69** und dem Aminoalkohol **8**.

Summenformel: C₄₂H₃₆D₄₇NO₃

Molare Masse: 696.93 g/mol

Ausbeute: 85 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

Fp: 91-93 °C

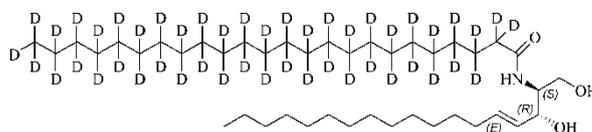
DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 95:5:0.5, R_f= 0.42

SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:98:2

ESI-MS: 719.78 [M+Na]⁺

HRMS: ber. (C₄₂H₃₆D₄₇NO₃Na): 719.9173 [M+Na]⁺
gef.: 719.9201

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 173.86, 134.48, 129.09, 74.86, 62.74, 54.81, 32.43, 32.09, 29.86- 29.30, 28.53, 22.84, 14.23



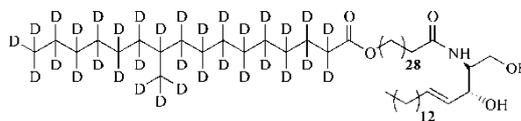
5.3.7.4 Synthese der Ceramide vom Typ CER[EO]

a) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-30-[[*(1*R*,3*S*)-D₃₃-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamids – CER[mEOS]-D₃₃ (91)*

Die Säure **35** und der Aminoalkohol **8** wurden entsprechend Methode 5.3.6.3 zum CER[mEOS]-D₃₃ **91** umgesetzt.

Summenformel: C₆₅H₉₄D₃₃NO₅

Molare Masse: 1035.18 g/mol



Ausbeute: 86 %
Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff
Fp: 81-82 °C
DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 95:5:0.5, R_f= 0.64
SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:98.5:1.5
ESI-MS: 1058.27 [M+Na]⁺
HRMS: ber. (C₆₅H₉₄D₃₃NO₅Cl): 1070.1441 [M+Cl]⁻
 gef.: 1070.1497

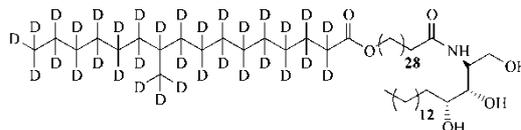
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.24, 174.08, 134.30, 129.00, 74.68, 64.54, 62.61, 54.72, 37.25, 36.99, 32.90, 32.44, 32.07, 30.10, 29.87-29.30, 28.81, 27.20, 26.09, 25.92, 25.06, 22.83, 19.85, 14.25

b) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-30-[[*(1*0RS*)-D₃₃-10-methylhexadecanoyl]oxy]triacontanamids – CER[mEOP]-D₃₃ (92)*

Die Säure **35** und der Aminoalkohol **7** wurden entsprechend Methode 5.3.6.3 zum CER[mEOP]-D₃₃ **92** umgesetzt.

Summenformel: C₆₅H₉₆D₃₃NO₆

Molare Masse: 1053.19 g/mol



Ausbeute: 83 %

Aussehen: weißer, pulverförmiger Feststoff

Fp: 103-105 °C

DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 95:5:0.5, R_f= 0.27

SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:97:3

ESI-MS: 1052.19 [M-H]⁻

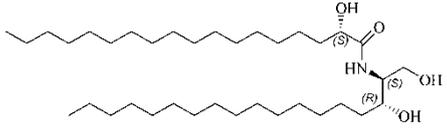
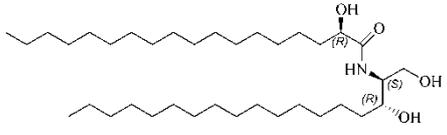
HRMS: ber. (C₆₅H₉₆D₃₃NO₆Cl): 1088.1546 [M+Cl]⁻
 gef.: 1088.1585

¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 173.29, 77.36, 73.34, 64.69, 62.62, 53.99, 38.23, 36.93, 34.43, 33.95, 33.05, 31.09-30.42, 29.88, 28.16, 27.10, 26.97, 26.82, 23.73, 20.25, 14.60

5.3.7.5 Synthese der Ceramide vom Typ CER[ADS]

a) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-(2*RS*)-2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[ADS18] (**104**)

Die Darstellung von DL-CER[ADS18] **104** erfolgte aus der Säure **75** und dem Aminoalkohol **9** entsprechend der unter 5.3.6.4 beschriebenen Methode. Die Diastereomerenentrennung von DL-CER[ADS18] **104** in L-CER[ADS18] **113** und D-CER[ADS18] **122** erfolgte anschließend entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 erläuterten Methode.

Summenformel:	C ₃₆ H ₇₃ NO ₄		L-Form
Molare Masse:	583.55 g/mol		
Ausbeute:	67 % für 104 über 3 Stufen		
Aussehen:	jeweils weißer, pulverförmiger Feststoff		D-Form
DC:	CHCl ₃ :MeOH:NH ₃ aq 95:5:0.5 R _f = 0.31 für 113 , 0.23 für 122		
SCh:	Startkonzentration: 20:80:0	Endkonzentration: 0:95:5	
ESI-MS:	582.66 [M-H] ⁻		

- Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-(2*S*)-2-hydroxyoctadecanamids - L-CER[ADS18] (**113**)

Fp:	104-108 °C
SCh:	98.5:1.5
HRMS:	ber. (C ₃₆ H ₇₃ NO ₄ Cl): 618.5228 [M+Cl] ⁻ gef.: 618.5237

¹H NMR (500 MHz, THF-D₈): 7.30 (d, ³J= 8.4 Hz, 1 H, -HN-), 4.02 (d, ³J= 6.1 Hz, 1 H, -CHOH-CH-), 3.93-3.90 (m, 1 H, -CHOH-CONH-), 3.79-3.75 (m, 1 H, -CH'H-OH), 3.73-3.68 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.56-3.54 (m, 1H, -CH'H-OH), 1.60-1.48 (m, 3 H, -CH₂-CHOH-CH-; -CH'H-CHOH-CONH-; 1.76-1.71 -CH'H-CHOH-CONH- überlagert von THF-D₈), 1.46-1.38 (m, 4 H, 2x H₃C-CH₂-), 1.36-1.25 (m, 50 H, -(CH₂)₁₃-CH₂-CHOH-CONH-; -(CH₂)₁₂-CH₂-CHOH-CH-), 0.89 (t, ³J= 6.8 Hz, 6 H, 2x H₃C-)

¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 174.91, 73.18, 72.77, 62.89, 56.00, 36.10, 35.41, 33.03, 30.98-30.47, 27.09, 23.72, 14.58

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-(2*R*)-2-hydroxyoctadecanamids - D-CER[ADS18] (122)**

Fp: 117-121 °C
SCh: 97:3
HRMS: ber. (C₃₆H₇₃NO₄Cl): 618.5228 [M+Cl]⁻
 gef.: 618.5244

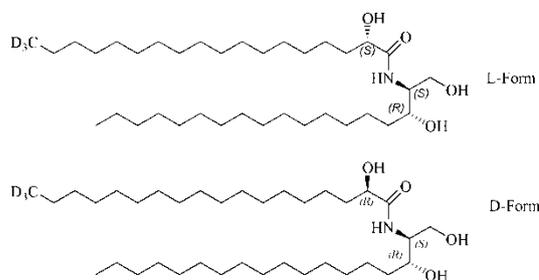
¹H NMR (500 MHz, THF-D₈): 7.30 (d, ³J= 8.4 Hz, 1 H, -HN-), 4.01-3.99 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.94-3.90 (m, 1 H, -CHOH-CONH-), 3.79-3.75 (m, 1 H, -CH'H-OH), 3.74-3.70 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.56-3.55 (m, 1H, -CH'H-OH), 1.60-1.49 (m, 4 H, -CH₂-CHOH-CH-; -CH'H-CHOH-CONH-; 1.75-1.70 -CH'H-CHOH-CONH- überlagert von THF-D₈), 1.46-1.37 (m, 4 H, 2x H₃C-CH₂-), 1.35-1.29 (m, 50 H, -(CH₂)₁₃-CH₂-CHOH-CONH-; -(CH₂)₁₂-CH₂-CHOH-CH-), 0.89 (t, ³J= 6.9 Hz, 6 H, 2x H₃C-)

¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 174.80, 73.19, 72.88, 62.84, 55.86, 36.13, 35.46, 33.05, 30.96-30.48, 27.02, 23.73, 14.60

b) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-(2*RS*)-18,18,18-D₃-2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[ADS18]-D₃ (105)

Die Darstellung von DL-CER[ADS18-D₃] **105** erfolgte aus der Säure **76** und dem Aminoalkohol **9** entsprechend der unter 5.3.6.4 beschriebenen Methode. Die Diastereomerentrennung von DL-CER[ADS18]-D₃ **105** in L-CER[ADS18]-D₃ **114** und D-CER[ADS18]-D₃ **123** erfolgte anschließend entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 erläuterten Methode.

Summenformel: C₃₆H₇₀D₃NO₄
Molare Masse: 586.57 g/mol
Ausbeute: 69 % für **105** über 3 Stufen
Aussehen: jeweils weißer, pulverförmiger Feststoff
DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 95:5:0.5
 R_f= 0.34 für **114**, 0.21 für **123**
SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:95:5
ESI-MS: 585.69 [M-H]⁻



- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-(2*S*)-18,18,18-*D*₃-2-hydroxyoctadecanamids - L-CER[ADS18]-*D*₃ (114)**

Fp: 102-106 °C
SCh: 98.5:1.5
HRMS: ber. (C₃₆H₇₀D₃NO₄Cl): 621.5413 [M+Cl]⁻
 gef.: 621.5430

¹H NMR (500 MHz, THF-D₈): 7.30 (d, ³J= 8.3 Hz, 1 H, -HN-), 4.05-3.99 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.94-3.90 (m, 1 H, -CHOH-CONH-), 3.79-3.76 (m, 1 H, -CH'H-OH), 3.74-3.70 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.57-3.54 (m, 1H, -CH'H-OH), 1.62-1.48 (m, 4 H, -CH₂-CHOH-CH-; -CH'H-CHOH-CONH-; 1.76-1.70 -CH'H-CHOH-CONH- überlagert von THF-D₈), 1.47-1.37 (m, 4 H, 2x H₃C-CH₂-), 1.36-1.26 (m, 50 H, -(CH₂)₁₃-CH₂-CHOH-CONH-; -(CH₂)₁₂-CH₂-CHOH-CH-), 0.89 (t, ³J= 6.9 Hz, 3 H, H₃C-)

¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 174.92, 73.17, 72.78, 62.88, 55.96, 36.09, 35.41, 33.03, 30.93-30.31, 27.09, 23.71, 14.60

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*)-1,3-Dihydroxyoctadec-2-yl]-(2*R*)-18,18,18-*D*₃-2-hydroxyoctadecanamids - D-CER[ADS18]-*D*₃ (123)**

Fp: 119-122 °C
SCh: 97:3
HRMS: ber. (C₃₆H₇₀D₃NO₄Cl): 621.5413 [M+Cl]⁻
 gef.: 621.5432

¹H NMR (500 MHz, THF-D₈): 7.30 (d, ³J= 8.3 Hz, 1 H, -HN-), 4.03-4.00 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.94-3.89 (m, 1 H, -CHOH-CONH-), 3.80-3.76 (m, 1 H, -CH'H-OH), 3.74-3.71 (m, 1 H, -CHOH-CH-), 3.56-3.54 (m, 1H, -CH'H-OH), 1.61-1.47 (m, 4 H, -CH₂-CHOH-CH-; -CH'H-CHOH-CONH-; 1.76-1.70 -CH'H-CHOH-CONH- überlagert von THF-D₈), 1.46-1.38 (m, 4 H, 2x H₃C-CH₂-), 1.36-1.25 (m, 50 H, -(CH₂)₁₃-CH₂-CHOH-CONH-; -(CH₂)₁₂-CH₂-CHOH-CH-), 0.89 (t, ³J= 6.9 Hz, 3 H, H₃C-)

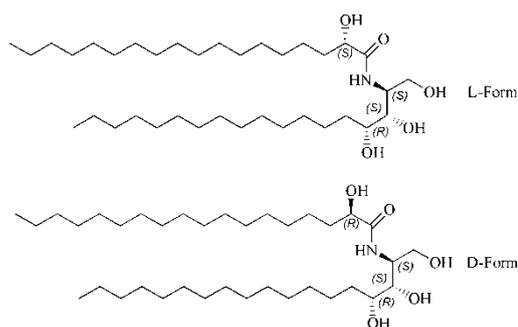
¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 174.83, 73.17, 72.88, 62.83, 55.85, 36.12, 35.45, 33.05, 30.96-30.49, 27.02, 23.73, 14.60

5.3.7.6 Synthese der Ceramide vom Typ CER[AP]

- a) **Diastereomerentrennung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*RS*)-2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[AP18] (106)**

Das DL-CER[AP18] **106** wurde von *Evonik Industries AG* (Essen, Deutschland) zur Verfügung gestellt, die Reinigung und Trennung in die Diastereomere L-CER[AP18] **115** und D-CER[AP18] **124** erfolgte entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 beschriebenen Methode.

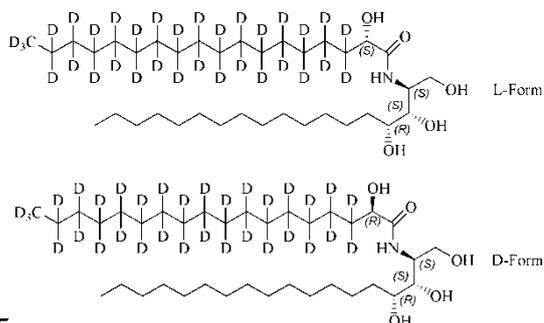
Summenformel: C₃₆H₇₃NO₅
Molare Masse: 599.55 g/mol
Aussehen: jeweils weißer,
pulverförmiger Feststoff
Fp: 126-129 °C für **115**
142-143 °C für **124**
DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5
R_f= 0.50 für **115**, 0.24 für **124**
SCh: 96.5:3.5 für **115**, 95:5 für **124**



b) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*RS*)-D₃₃-2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[AP18]-D₃₃ (107**)**

Die Darstellung von DL-CER[AP18-D₃₃] **107** erfolgte aus der Säure **26** und dem Aminoalkohol **7** entsprechend der unter 5.3.6.4 beschriebenen Methode. Die Diastereomerentrennung von DL-CER[AP18]-D₃₃ **107** in L-CER[AP18]-D₃₃ **116** und D-CER[AP18]-D₃₃ **125** erfolgte anschließend entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 erläuterten Methode.

Summenformel: C₃₆H₄₀D₃₃NO₅
Molare Masse: 632.75 g/mol
Ausbeute: 71 % für **107** über 3 Stufen
Aussehen: jeweils weißer,
pulverförmiger Feststoff
DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5
R_f= 0.48 für **116**, 0.23 für **125**
SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:94:6
ESI-MS: 631.94 [M-H]⁻



- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*S*)-D₃₃-2-hydroxyoctadecanamids - L-CER[AP18]-D₃₃ (**116**)**

Fp: 120-125 °C
SCh: 96.5:3.5
HRMS ber. (C₃₆H₄₁D₃₃NO₅Cl): 668.7332 [M+Cl]⁻
gef.: 668.7397

¹³C NMR (100 MHz, THF-D₈): 175.15, 77.33, 73.31, 62.48, 53.38, 34.62, 33.05, 31.06-30.49, 26.96, 23.73, 14.61

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*R*)-D₃₃-2-hydroxyoctadecanamids - D-CER[AP18]-D₃₃ (125)**

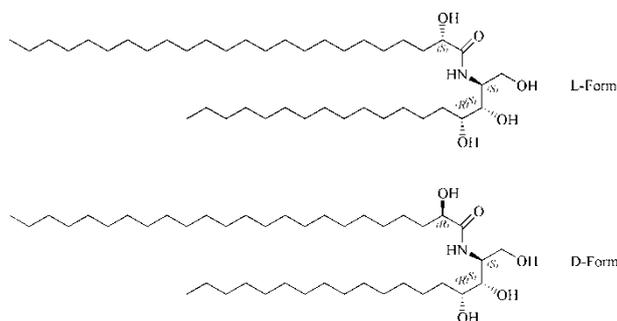
Fp: 134-138 °C
SCh: 95:5
HRMS ber. (C₃₆H₄₁D₃₃NO₅Cl): 668.7332 [M+Cl]⁻
 gef.: 668.7323

¹³C NMR (100 MHz, THF-D₈): 175.33, 77.25, 73.23, 62.54, 53.32, 34.44, 33.05, 31.04-30.48, 26.96, 23.73, 14.60

c) Diastereomerentrennung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*RS*)-2-hydroxytetracosanamids – DL-CER[AP24] (108)

Das DL-CER[AP24] **108** wurde von *Evonik Industries AG* (Essen, Deutschland) zur Verfügung gestellt, die Reinigung und Trennung in die Diastereomere L-CER[AP24] **117** und D-CER[AP24] **126** erfolgte entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 beschriebenen Methode.

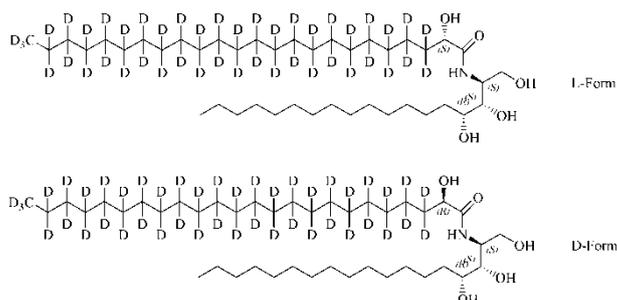
Summenformel: C₄₂H₈₅NO₅
Molare Masse: 683.64 g/mol
Aussehen: jeweils weißer,
 pulverförmiger Feststoff
Fp: 120-124 °C für **117**
 135-140 °C für **126**
DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5
 R_f= 0.38 für **117**, 0.22 für **126**
SCh: 97:3 für **117**, 96:4 für **126**



d) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*RS*)-D₄₅-2-hydroxytetracosanamids – DL-CER[AP24]-D₄₅ (109)

Die Darstellung von DL-CER[AP24]-D₄₅ **109** erfolgte aus der Säure **27** und dem Aminoalkohol **7** entsprechend der unter 5.3.6.4 beschriebenen Methode. Die Diastereomerentrennung von DL-CER[AP24]-D₄₅ **109** in L-CER[AP24]-D₄₅ **118** und D-CER[AP24]-D₄₅ **127** erfolgte anschließend entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 erläuterten Methode.

Summenformel: C₄₂H₄₀D₄₅NO₅
Molare Masse: 728.92 g/mol
Ausbeute: 76 % für **109** über 3 Stufen
Aussehen: jeweils weißer,
 pulverförmiger Feststoff



DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5

R_f= 0.37 für **118**, 0.17 für **127**

SCh: Startkonzentration: 0:100:0 Endkonzentration: 0:94:6

ESI-MS: 728.31 [M-H]⁻

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*S*)-D₄₅-2-hydroxytetracosanamids – L-CER[AP24]-D₄₅ (**118**)**

Fp: 121-123 °C

SCh: 97:3

HRMS: ber. (C₄₂H₄₁D₄₅NO₅): 729.9285 [M+H]⁺

gef.: 729.9318

ber. (C₄₂H₄₀D₄₅NO₅Cl): 763.8895 [M+Cl]⁻

gef.: 763.8957

¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 175.10, 77.35, 73.29, 62.49, 53.42, 34.61, 33.05, 31.06-30.48, 26.96, 23.73, 14.60

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*S*,4*R*)-1,3,4-Trihydroxyoctadec-2-yl]-(2*R*)-D₄₅-2-hydroxytetracosanamids – D-CER[AP24]-D₄₅ (**127**)**

Fp: 134-139 °C

SCh: 96:4

HRMS: ber. (C₄₂H₄₁D₄₅NO₅): 729.9285 [M+H]⁺

gef.: 729.9316

ber. (C₄₂H₄₀D₄₅NO₅Cl): 763.8895 [M+Cl]⁻

gef.: 763.8934

¹³C NMR (125 MHz, THF-D₈): 175.16, 77.33, 73.30, 62.46, 53.35, 34.61, 33.05, 31.05-30.48, 26.95, 23.73, 14.60

5.3.7.7 Synthese der Ceramide vom Typ CER[AS]

- a) **Diastereomerentrennung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*RS*)-2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[AS18] (**110**)**

Das DL-CER[AS18] **110** wurde von *Evonik Industries AG* (Essen, Deutschland) zur Verfügung gestellt, die Reinigung und Trennung in die Diastereomere L-CER[AS18] **119** und D-CER[AS18] **128** erfolgte entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 beschriebenen Methode.

Summenformel: C₃₆H₇₁NO₄

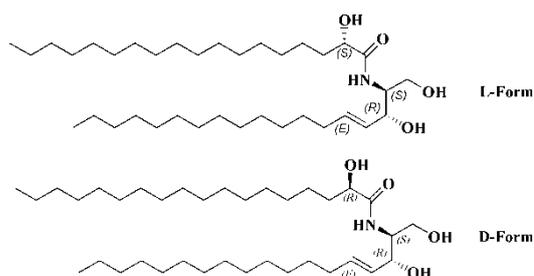
Molare Masse: 581.54 g/mol

Aussehen: jeweils weißer,
pulverförmiger Feststoff

Fp: 95-98 °C für **119**,
99-103 °C für **128**

DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5
R_f= 0.44 für **119**, 0.29 für **128**

SCh: 98:2 für **119**, 97:3 für **128**



b) Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*RS*)-18,18,18-*D*₃-2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[AS18]-*D*₃ (111**)**

Die Darstellung von DL-CER[AS18]-*D*₃ **111** erfolgte aus der Säure **76** und dem Aminoalkohol **8** entsprechend der unter 5.3.6.4 beschriebenen Methode. Die Diastereomerentrennung von DL-CER[AS18]-*D*₃ **111** in L-CER[AS18]-*D*₃ **120** und D-CER[AS18]-*D*₃ **129** erfolgte anschließend entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 erläuterten Methode.

Summenformel: C₃₆H₆₈D₃NO₄

Molare Masse: 584.56 g/mol

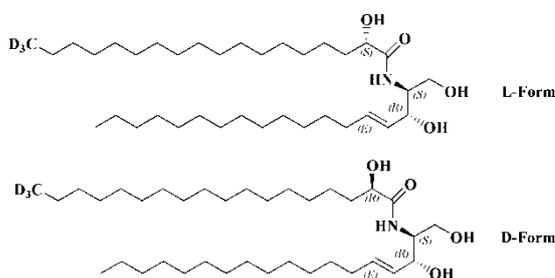
Ausbeute: 63 % für **111** über 3 Stufen

Aussehen: jeweils weißer,
pulverförmiger Feststoff

DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5
R_f= 0.47 für **120**, 0.31 für **129**

SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:95:5

ESI-MS: 583.77 [M-H]⁻



• Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*S*)-18,18,18-*D*₃-2-hydroxyoctadecanamids - L-CER[AS18]-*D*₃ (120**)**

Fp: 95-97 °C

SCh: 98:2

HRMS: ber. (C₃₆H₆₈D₃NO₄Cl): 619.5257 [M+Cl]⁻
gef.: 619.5263

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, THF- D_8): 7.26 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1 H, -NH-), 5.70-5.64 (m, 1 H, -CH=CH-CH-), 5.50 (dd, $^2J = 15.4$ Hz, $^3J = 6.4$ Hz, 1 H, -CH=CH-CH-), 4.09 (dd, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 5.3$ Hz, CH=CH-CH-), 3.92-3.87 (m, 1 H, -CHOH-CO-), 3.78-3.72 (m, 2H, -CH'H-OH; -CHNH-), 3.56-3.53 (m, 1 H, -CH'H-OH), 2.02 (dd, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz, 2 H, -CH₂-CH=CH-), 1.71-1.69 (m, 1 H, -CH'H-CHOH-CO-), 1.55-1.48 (m, 1 H, -CH'H-CHOH-CO-), 1.43-1.37 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-CHOH-CO-; -CH₂-CH₂-CH=CH-), 1.29-1.25 (m, 48 H, $\text{D}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{13}$ -; $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{10}$ -), 0.89 (t, $^3J = 6.9$ Hz)

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, THF- D_8): 175.09, 132.56, 132.14, 73.78, 72.78, 62.73, 56.48, 36.11, 33.42, 33.04, 30.84-30.39, 26.25, 23.73, 23.46, 14.60

• **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*R*)-18,18- D_3 -2-hydroxyoctadecanamids - D-CER[AS18]- D_3 (**129**)**

Fp: 100-102 °C

SCh: 97:3

HRMS: ber. ($\text{C}_{36}\text{H}_{68}\text{D}_3\text{NO}_4\text{Cl}$): 619.5257 [$\text{M}+\text{Cl}$]⁻
gef.: 619.5266

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, THF- D_8): 7.25 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 1 H, -NH-), 5.69-5.64 (m, 1 H, -CH=CH-CH-), 5.51 (dd, $^2J = 15.4$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz, 1 H, -CH=CH-CH-), 4.09 (dd, $^2J = 10.5$ Hz, $^3J = 5.2$ Hz, CH=CH-CH-), 3.91-3.86 (m, 1 H, -CHOH-CO-), 3.78-3.72 (m, 2H, -CH'H-OH; -CHNH-), 3.58-3.53 (m, 1 H, -CH'H-OH), 2.02 (dd, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz, 2 H, -CH₂-CH=CH-), 1.71-1.69 (m, 1 H, -CH'H-CHOH-CO-), 1.54-1.48 (m, 1 H, -CH'H-CHOH-CO-), 1.44-1.35 (m, 4 H, -CH₂-CH₂-CHOH-CO-; -CH₂-CH₂-CH=CH-), 1.29-1.25 (m, 48 H, $\text{D}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{13}$ -; $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{10}$ -), 0.89 (t, $^3J = 6.9$ Hz)

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, THF- D_8): 175.02, 132.57, 132.30, 73.94, 72.92, 62.64, 56.26, 36.14, 33.43, 33.05, 30.86-30.45, 26.29, 23.73, 23.46, 14.60

c) **Darstellung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*RS*)- D_{33} -2-hydroxyoctadecanamids - DL-CER[AS18]- D_{33} (**112**)**

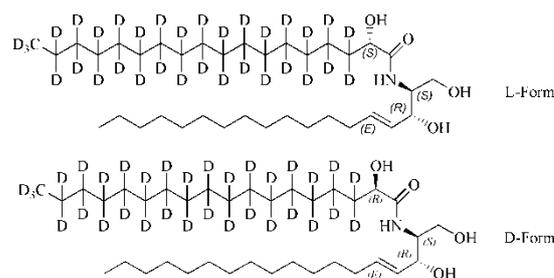
Die Darstellung von DL-CER[AS18]- D_{33} **112** erfolgte aus der Säure **26** und dem Aminoalkohol **8** entsprechend der unter 5.3.6.4 beschriebenen Methode. Die Diastereomerentrennung von DL-CER[AS18]- D_{33} **112** in L-CER[AS18]- D_{33} **121** und D-CER[AS18]- D_{33} **130** erfolgte anschließend entsprechend der im Abschnitt 5.1.7 erläuterten Methode.

Summenformel: $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{D}_{33}\text{NO}_4$

Molare Masse: 614.74 g/mol

Ausbeute: 65 % für **112** über 3 Stufen

Aussehen: jeweils weißer,
pulverförmiger Feststoff



DC: CHCl₃:MeOH:NH₃aq 90:10:0.5

R_f= 0.46 für **121**, 0.29 für **130**

SCh: Startkonzentration: 20:80:0 Endkonzentration: 0:95:5

ESI-MS: 614.78 [M-H]⁻

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*S*)-D₃₃-2-hydroxyoctadecanamids - L-CER[AS18]-D₃₃ (121)**

Fp: 96-97 °C

SCh: 98:2

HRMS: ber. (C₃₆H₃₉D₃₃NO₄Na): 638.7397 [M+H,Na]⁺

gef.: 638.7456

ber. (C₃₆H₃₉D₃₃NO₄Cl): 650.7188 [M+HCl]⁻

gef.: 650.7202

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, 40 °C): 174.67, 134.75, 128.86, 75.94, 74.59, 62.53, 54.76, 32.44, 32.09, 29.85-29.29, 28.52, 22.84, 14.23

- **Charakterisierung des *N*-[(2*S*,3*R*,4*E*)-1,3-Dihydroxyoctadec-4-en-2-yl]-(2*R*)-D₃₃-2-hydroxyoctadecanamids - D-CER[AS18]-D₃₃ (130)**

Fp: 99-101 °C

SCh: 97:3

HRMS: ber. (C₃₆H₃₉D₃₃NO₄Na): 638.7397 [M+H,Na]⁺

gef.: 638.7410

ber. (C₃₆H₃₉D₃₃NO₄Cl): 650.7188 [M+HCl]⁻

gef.: 650.7212

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 174.69, 134.77, 128.69, 75.47, 74.51, 62.59, 54.70, 32.45, 32.09, 29.86-29.26, 28.48, 22.85, 14.27

6. Literaturverzeichnis

- [1] L. C. U. Junqueira, J. Carneiro, Histologie, Vol. 6. Auflage, Springer, **2005**.
- [2] A. Faller, M. Schünke, Der Körper des Menschen, Vol. 15. Auflage, Thieme, **2008**.
- [3] P. Vaupel, S. H. G., E. Mutschler, Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen Vol. 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, **2015**.
- [4] K. M. Joo, J. H. Hwang, S. Bae, D. H. Nahm, H. S. Park, Y. M. Ye, K. M. Lim, J. Dermatol. Sci. **2015**, 77, 71-74.
- [5] D. Paslin, P. Wertz, International Journal of Dermatology **2006**, 45, 352-356.
- [6] J. M. Jungersted, L. I. Hellgren, G. B. E. Jemec, T. Agner, Contact Dermatitis **2008**, 58, 255-262.
- [7] H. Farwanah, K. Raith, R. H. H. Neubert, J. Wohlrab, Archives of Dermatological Research **2005**, 296, 514-521.
- [8] G. Bernard, M. Auger, J. Soucy, R. Pouliot, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects **2007**, 1770, 1317-1323.
- [9] S. Z. Ghodsi, H. Orawa, C. C. Zouhoulis, Journal of Investigative Dermatology **2009**, 129, 2136–2141.
- [10] E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting, Mutschler Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, Vol. 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, **2008**.
- [11] J. Koolman, K. H. Röhm, Taschenatlas - Biochemie des Menschen, Vol. 4. Auflage, Thieme, **2009**.
- [12] M. F. Holick, The Journal of Clinical Investigation **2006**, 116, 2062-2072.
- [13] M. F. Holick, The New England Journal of Medicine **2007**, 357, 266-281.
- [14] G. Thews, E. Mutschler, P. Vaupel, Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, **1999**.
- [15] F. H. Silver, J. W. Freeman, D. DeVore, Skin Research and Technology **2001**, 7, 18-23.
- [16] C. M. Kielty, C. A. Shuttleworth, Microscopy Research and Technique **1997**, 38, 413-427.
- [17] R. Lüllmann-Rauch, E. Asan, Taschenlehrbuch - Histologie, Vol. 5. Auflage, Thieme, **2015**.
- [18] M. Brenner, V. J. Hearing, Photochemistry and Photobiology **2008**, 84, 539-549.
- [19] A. Ishida-Yamamoto, M. Kishibe, Medical Molecular Morphology **2011**, 44, 1-6.
- [20] G. F. Odland, J. Invest. Dermatol. **1960**, 34, 11-15.
- [21] L. Landmann, Pharmazie in unserer Zeit **1991**, 20, 155-163.

- [22] P. M. Elias, *Int. J. Dermatol.* **1981**, 20, 1-19.
- [23] R. Abdayem, F. Formanek, A. M. Minondo, A. Potter, M. Haftek, *Experimental Dermatology* **2016**, 25, 865-871.
- [24] G. Grove, M. A. Kligman, Grove GL & Kligman AM. Age-associated changes in human epidermal cell renewal. *J Gerontol* **1983**, 38, 137-142.
- [25] M. E. Loomans, D. P. Hannon, *J. Invest. Dermatol.* **1970**, 55, 101-114.
- [26] K. A. Holbrook, G. F. Odland, *J. Invest. Dermatol.* **1974**, 62, 415-422.
- [27] P. W. Wertz, B. v. d. Bergh, *Chem. Phys. Lipids* **1998**, 91, 85-96.
- [28] M. A. Lampe, A. L. Burlingame, J. Whitney, M. L. Williams, B. E. Brown, E. Roitman, P. M. Elias, *J. Lipid Res.* **1983**, 24, 120-130.
- [29] S. Wartewig, R. H. H. Neubert, *Skin Pharmacol. Physi.* **2007**, 20, 220-229.
- [30] M. H. Schmid-Wendtner, H. C. Korting, *Skin Pharmacology and Physiology* **2006**, 19, 296-302.
- [31] R. J. Scheuplein, *J. Invest. Dermatol.* **1976**, 67, 672-676.
- [32] A. Alonso, N. C. Meirelles, V. E. Yushmanov, M. Tabak, *J. Invest. Dermatol.* **1996**, 106, 1058-1063.
- [33] R. R. Warner, M. C. Myers, D. A. Taylor, *J. Invest. Dermatol.* **1988**, 90, 218-224.
- [34] P. M. Elias, *J. Invest. Dermatol.* **1983**, 80, 44s-49s.
- [35] A. Naegel, M. Heisig, G. Wittum, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, 65, 191-207.
- [36] H. F. Frasc, A. M. Barbero, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, 65, 208-220.
- [37] B. W. Barry, *Journal of Controlled Release* **1987**, 6, 85-97.
- [38] A. Patzelt, J. Lademann, *Expert Opinion on Drug Delivery* **2013**, 10, 787-797.
- [39] J. D. Bos, M. M. Meinardi, *Experimental Dermatology* **2000**, 9, 165-169.
- [40] J. M. Fitzpatrick, D. W. Roberts, G. Patlewicz, *Journal of Applied Toxicology* **2017**, 37, 105-116.
- [41] J. Hadgraft, M. E. Lane, *International Journal of Pharmaceutics* **2016**, 514, 52-57.
- [42] S. Heuschkel, A. Goebel, R. H. H. Neubert, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, 97, 603-631.
- [43] R. H. Hathout, T. J. Woodman, S. Mansour, N. D. Mortada, A. S. Geneidi, R. H. Guy, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2010**, 40, 188-196.
- [44] L. B. Lopes, *Pharmaceutics* **2014**, 6, 57-77.
- [45] M. J. Lawrence, G. D. Rees, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2000**, 45, 89-121.
- [46] X. Zhao, J. P. Liu, X. Zhang, Y. Li, *International Journal of Pharmaceutics* **2006**, 327, 58-64.

- [47] S. C. Steinbach, R. Triani, L. Bennedsen, A. Gabel, O. Haeusler, J. Wohlrab, R. H. H. Neubert, *Pharmazie* **2017**, 72, 440-446.
- [48] S. M. Soleymani, A. Salimi, *Advanced Pharmaceutical Bulletin* **2019**, 9, 584-592.
- [49] J. S. Yuan, E. J. Acosta, *International Journal of Pharmaceutics* **2009**, 368, 63-71.
- [50] B. W. Barry, *Nature Biotechnology* **2004**, 22, 165-167.
- [51] B. Ongpipattanakul, R. R. Burnette, R. O. Potts, M. L. Francoeur, *Pharmaceutical Research* **1991**, 8, 350-354.
- [52] B. W. Barry, S. L. Bennett, *Pharmacy and Pharmacology* **1987**, 39, 535-546.
- [53] F. Ilopoulos, A. S. M. M. A. Hossain, B. C. Sil, D. J. Moore, R. A. Lucas, M. E. Lane, *Scientia Pharmaceutica* **2020**, 88, 1-13.
- [54] H. P. T. Ammon, *Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch*, Vol. 9. Auflage, Walter de Gruyter, **2004**.
- [55] T. N. Engelbrecht, B. Deme, B. Dobner, R. H. H. Neubert, *Skin Pharmacol. Physi.* **2012**, 25, 200-207.
- [56] A. Schroeter, T. Engelbrecht, R. H. H. Neubert, *Front. Chem. Sci. Eng.* **2013**, 7, 29-36.
- [57] A. Eichner, S. Stahlberg, S. Sonnenberger, S. Lange, B. Dobner, A. Ostermann, T. E. Schrader, T. Hauß, A. Schroeter, D. Huster, R. H. H. Neubert, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2017**, 1859, 745-755.
- [58] G. M. E. Maghraby, B. W. Barry, A. C. Williams, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2008**, 34, 203-222.
- [59] J. Lademann, H. Richter, F. Knorr, A. Patzelt, M. E. DArvin, E. Rühl, K. Y. Cheung, K. K. Lai, R. Renneberg, W. C. Mak, *Acta Biomaterialia* **2016**, 30, 388-396.
- [60] N. Dragicevic, H. Maibach, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2018**, 127, 58-84.
- [61] P. Pan-In, A. Wongsomboon, C. Kokpol, N. Chaichanawongsaroj, S. Wanichwecharungruang, *Journal of Pharmacological Sciences* **2015**, 129, 226-232.
- [62] P. W. Wertz, M. C. Miethke, S. A. Long, J. S. Strauss, D. T. Downing, *J. Invest. Dermatol.* **1985**, 84, 410-412.
- [63] J. v. Smeden, W. A. Boiten, T. Hankemeier, R. Rissmann, J. A. Bouwstra, R. J. Vreeken, *Biochimica et Biophysica Acta* **2014**, 1841, 70-79.
- [64] P. W. Wertz, D. C. Schwartzendruber, K. C. Madison, D. T. Downing, *J. Invest. Dermatol.* **1987**, 89, 419-425.
- [65] R. t'Kindt, L. Jorge, E. Dumont, P. Couturon, F. David, P. Sandra, K. Sandra, *Analytical Chemistry* **2012**, 84, 403-411.
- [66] Y. Masukawa, H. Narita, H. Sato, A. Naoe, N. Kondo, Y. Sugai, T. Oba, R. Homma, J. Ishikawa, Y. Takagi, T. Kitahara, *Journal of lipid research* **2009**, 50, 1708-1719.

- [67] Y. Masukawa, H. Narita, E. Shimizu, N. Kondo, Y. Sugai, T. Oba, R. Homma, J. Ishikawa, Y. Takagi, T. Kitahara, Y. Takema, K. Kita, *J. Lipid Res.* **2008**, 49, 1466-1476.
- [68] M. Rabionet, A. Bayerle, C. Marsching, R. Jennemann, H.-J. Gröne, Y. Yildiz, D. Wachten, W. Shaw, J. A. Shaymann, R. Sandhoff, *Journal of lipid research* **2013**, 54, 3312-3321.
- [69] M. Rabionet, K. Gorgas, R. Sandhoff, *BBA-Mol. Cell Biol. L.* **2014**, 1841, 422-434.
- [70] S. T. Pruett, A. Bushnev, K. Hagedorn, M. Adiga, C. A. Haynes, M. C. Sullards, D. C. Liotta, A. H. M. Jr, *Journal of lipid research* **2008**, 48, 1621-1639.
- [71] T. Hornemann, A. Penno, M. F. Rützi, D. Ernst, F. Kivrak-Pfiffner, L. Rohrer, A. v. Eckardstein, *Journal of Biological Chemistry* **2009**, 284, 26322-26330.
- [72] P. W. Wertz, D. T. Downing, *J. Lipid Res.* **1983**, 24, 759-765.
- [73] M. Ponec, A. Weerheim, P. Lankhorst, P. Wertz, *J. Invest. Dermatol.* **2003**, 120, 581-588.
- [74] S. Motta, M. Monti, S. Sesana, R. Caputo, S. Carelli, R. Ghidoni, *BBA-Mol. Basis Dis.* **1993**, 1182, 147-151.
- [75] K. J. Robson, M. E. Stewart, S. Michelsen, N. D. Lazo, D. T. Downing, *J. Lipid Res.* **1994**, 35, 2060-2068.
- [76] J. v. Smeden, L. Hoppel, R. v. d. Heijden, T. Hankemeier, R. J. Vreeken, J. A. Bouwstra, *J. Lipid Res.* **2011**, 52, 1211-1221.
- [77] N. Nicolaidis, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1965**, 42, 691-702.
- [78] A. Weerheim, M. Ponec, *Arch. Dermatol. Res.* **2001**, 293, 191-199.
- [79] P. W. Wertz, *Adv. Drug Deliver. Rev.* **1996**, 18, 283-294.
- [80] K. P. C. Vollhardt, N. E. Schore, K. Peter, *Organische Chemie*, Vol. 4. Auflage, Wiley, **2005**.
- [81] G. M. Gray, H. J. Yardley, *J. Lipid Res.* **1975**, 16, 441-447.
- [82] K. R. Feingold, *Journal of lipid research* **2007**, 48, 2531-2546.
- [83] D. T. Downing, *J. Lipid Res.* **1992**, 33, 301-313.
- [84] P. M. Elias, R. Ghadially, *Clinics in Geriatric Medicine* **2002**, 18, 103-120.
- [85] A. Conti, J. Rogers, P. Verdejo, C. R. Harding, A. V. Rawlings, *International Journal of Cosmetic Science* **1996**, 18, 1-12.
- [86] G. S. K. Pilgram, D. C. J. Vissers, H. v. d. Meulen, H. K. Koerten, S. Pavel, S. P. M. Lavrijsen, J. A. Bouwstra, *J. Invest. Dermatol.* **2001**, 117, 710-717.
- [87] A. P. M. Lavrijsen, J. A. Bouwstra, G. S. Gooris, A. Weerheim, H. E. Boddé, M. Ponec, *Journal of Investigative Dermatology* **1995**, 105, 619-624.

- [88] A. D. Nardo, P. Wertz, A. Giannetti, S. Seidenaro, *Acta Dermato Venereologica* **1998**, 78, 27-30.
- [89] A. Schroeter, D. Kessner, M. A. Kiselev, T. Hauß, S. Dante, R. H. H. Neubert, *Biophysical Journal* **2009**, 97, 1104-1114.
- [90] M. A. Kiselev, N. Y. Ryabova, A. M. Balagurov, S. Dante, T. Hauss, J. Zbytovska, S. Wartewig, R. H. H. Neubert, *Eur. Biophys. J.* **2005**, 34, 1030-1040.
- [91] I. Iwai, H. Han, L. d. Hollander, S. Svensson, L. G. Öfverstedt, J. Angwar, J. Brewer, M. Bloksgaard, A. Laloef, D. Nosek, S. Masich, L. A. Bagatolli, U. Skoglund, L. Norlen, *J. Invest. Dermatol.* **2012**, 132, 2215-2225.
- [92] D. Groen, G. S. Gooris, D. J. Barlow, M. J. Lawrence, J. B. v. Mechelen, B. Deme, J. A. Bouwstra, *Biophys. J.* **2011**, 100, 1481-1489.
- [93] E. H. Mojumdar, D. Groen, G. S. Gooris, D. J. Barlow, M. J. Lawrence, B. Demé, J. A. Bouwstra, *Biophys. J.* **2013**, 105, 911-918.
- [94] D. Kessner, M. Kiselev, S. Dante, T. Hauß, P. Lersch, S. Wartewig, R. H. H. Neubert, *Eur. Biophys. J.* **2008**, 37, 989-999.
- [95] L. Norlén, *J. Invest. Dermatol.* **2001**, 117, 830-836.
- [96] M. A. Kiselev, *Crystallography Rep.* **2007**, 52, 525-528.
- [97] M. Boncheva, F. Damien, V. Normand, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2008**, 1778, 1344-1355.
- [98] A. S. Breathnach, T. Goodman, C. Stolinski, M. Gross, *J. Anat.* **1973**, 114, 65-81.
- [99] D. C. Swartzendruber, A. Manganaro, K. C. Madison, M. Kremer, P. W. Wertz, C. A. Suier, *Cell and Tissue Research* **1995**, 279, 271-276.
- [100] K. C. Madison, D. C. Swartzendruber, P. W. Wertz, D. T. Downing, *J. Invest. Dermatol.* **1987**, 88, 714-718.
- [101] S. Y. Hou, A. K. Mitra, S. H. White, G. K. Menon, R. Ghadially, P. M. Elias, *J. Invest. Dermatol.* **1991**, 96, 215-223.
- [102] D. C. Swartzendruber, P. W. Wertz, D. J. Kitko, K. C. Madison, D. T. Downing, *J. Invest. Dermatol.* **1989**, 92, 251-257.
- [103] B. Školová, B. Janůšová, J. Zbytovská, G. Gooris, J. Bouwstra, P. Slepíčka, P. Berka, J. Roh, K. Palát, A. Hrabálek, K. Vávrová, *Langmuir* **2013**, 29, 15624-15633.
- [104] I. Hatta, N. Ohta, K. Inoue, N. Yagi, *BBA-Biomembranes* **2006**, 1758, 1830-1836.
- [105] J. R. Hill, P. W. Wertz, *BBA-Biomembranes* **2003**, 1616, 121-126.
- [106] S. Pfeiffer, G. Vielhaber, J. P. Vietzke, K. P. Wittern, U. Hintze, R. Wepf, *J. Invest. Dermatol.* **2000**, 114, 1030-1038.
- [107] M. d. Jager, G. Gooris, M. Ponc, J. A. Bouwstra, *J. Invest. Dermatol.* **2004**, 123, 911-916.

- [108] J. A. Bouwstra, G. S. Gooris, K. Cheng, A. Weerheim, W. Bras, M. Ponec, J. Lipid Res. **1996**, 37, 999-1011.
- [109] J. A. Bouwstra, G. S. Gooris, F. E. R. Dubbelaar, M. Ponec, J. Invest. Dermatol. **2002**, 118, 606-617.
- [110] T. McIntosh, Biophys. J. **2003**, 85, 1675-1681.
- [111] T. J. McIntosh, M. E. Stewart, D. T. Downing, Biochemistry **1996**, 35, 3649-3653.
- [112] M. W. d. Jager, G. S. Gooris, I. P. Dolbnya, W. Bras, M. Ponec, J. A. Bouwstra, J. Lipid Res. **2004**, 45, 923-932.
- [113] M. W. d. Jager, G. S. Gooris, M. Ponec, J. A. Bouwstra, J. Lipid Res. **2005**, 46, 2649-2656.
- [114] J. A. Bouwstra, F. E. R. Dubbelaar, G. S. Gooris, A. M. Weerheim, M. Ponec, BBA-Biomembranes **1999**, 1419, 127-136.
- [115] L. Opálka, A. Kováčik, J. Maixner, K. Vávrová, Langmuir **2016**, 32, 12894-12904.
- [116] E. H. Mojumdar, G. S. Gooris, J. A. Bouwstra, Soft Matter **2015**, 11, 4326-4336.
- [117] J. A. Bouwstra, G. S. Gooris, J. A. v. d. Spek, W. Bras, Journal of Investigative Dermatology **1991**, 97, 1005-1012.
- [118] D. Kessner, A. Ruettinger, M. A. Kiselev, S. Wartewig, R. H. H. Neubert, Skin Pharmacol. Physi. **2008**, 21, 58-74.
- [119] J. A. Bouwstra, G. Pilgram, G. S. Gooris, H. Koerten, M. Ponec, Skin Pharmacol. Physi. **2001**, 14(suppl 1), 52-62.
- [120] J. A. Bouwstra, G. S. Gooris, M. Ponec, J. Biol. Phys. **2002**, 28, 211-223.
- [121] B. Forslind, Acta dermato-venereologica **1994**, 74, 1-6.
- [122] J. A. Bouwstra, G. S. Gooris, F. E. R. Dubbelaar, M. Ponec, J. Lipid Res. **2001**, 42, 1759-1770.
- [123] L. Coderch, O. López, A. d. l. Maza, J. L. Parra, Am. J. Clin. Dermatol. **2003**, 4, 107-129.
- [124] T. Schmitt, R. Gupta, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauß, B. Rai, R. H. H. Neubert, Chemistry and Physics of Lipids **2018**, 218, 58-68.
- [125] T. N. Engelbrecht, A. Schroeter, T. Hauß, B. Demé, H. A. Scheidt, D. Huster, R. H. H. Neubert, Soft Matter **2012**, 8, 6599-6607.
- [126] A. Eichner, Sonnenberger, S., Dobner, B., Hauß, T., Schroeter, A., Neubert, R. H. H., Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes **2016**, 1858, 2911-2922.
- [127] T. Schmitt, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, B. Deme, A. Langner, R. H. H. Neubert, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes **2019**, 1861, 306-315.
- [128] T. Engelbrecht, T. Hauß, K. Suess, A. Vogel, M. Roark, S. E. Feller, R. H. H. Neubert, B. Dobner, Soft Matter **2011**, 7, 8998-9011.

- [129] C. Das, P. D. Olmsted, M. G. Noro, *Soft Matter* **2009**, 5, 4549-4555.
- [130] R. Gupta, D. B. Sridhar, B. Rai, *The Journal Of Physical Chemistry B* **2016**, 120, 8987-8996.
- [131] M. Lundborg, A. Narangifard, C. L. Wennberg, E. Lindahl, B. Daneholt, L. Norlen, *Journal of Structural Biology* **2018**, 203, 149-161.
- [132] T. A. Harroun, G. D. Wignall, J. Katsaras, in *Neutron Scattering in Biology: Techniques and Applications* (Eds.: J. Fitter, T. Gutberlet, J. Katsaras), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2006**, pp. 1-18.
- [133] K. A. Olive, *Chinese Physics C* **2014**, 38, 1-1676.
- [134] E. Ehlers, *Chemie: Kurzlehrbuch allgemeine und anorganische Chemie: mit 106 Tabellen. 1, Vol. 8. Auflage*, Dt. Apotheker-Verlag, **2003**.
- [135] G. Schatz, A. Weidinger, M. Deicher, *Nukleare Festkörperphysik: Kernphysikalische Messmethoden und ihre Anwendungen*, Vol. 4. Auflage, Vieweg+Teubner Verlag, **2010**.
- [136] W. Reimers, A. Kaysser-Pyzalla, A. K. Schreyer, H. Clemens, *Neutrons and Synchrotron Radiation in Engineering Materials Science: From Fundamentals to Material and Component Characterization*, Vol. 1. Auflage, Wiley, **2008**.
- [137] R. Winter, F. Noll, C. Czeslik, *Methoden der Biophysikalischen Chemie*, Vol. 2. Auflage, Teubner B.G. GmbH, **2011**.
- [138] D. Kessner, *Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg* **2008**.
- [139] F. Cser, *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 80, 2300-2308.
- [140] S. Sonnenberger, A. Eichner, T. Hauß, A. Schroeter, R. H. H. Neubert, B. Dobner, *Chemistry and Physics of Lipids* **2017**, 204, 15-24.
- [141] B. P. Schoenborn, A. C. Nunes, *Annual Review of Biophysics and Bioengineering* **1972**, 1, 529-552.
- [142] T. Hauss, G. Büldt, M. P. Heyn, N. A. Dencher, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1994**, 91, 11854-11858.
- [143] S. Dante, T. Hauss, N. A. Dencher, *Biochemistry* **2003**, 42, 13667-13672.
- [144] B. P. Schoenborn, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* **1976**, 457, 41-55.
- [145] M. C. Wiener, S. H. White, *Biophysical Journal* **1991**, 59, 174-185.
- [146] J. F. Nagle, S. Tristram-Nagle, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* **2000**, 1469, 159-195.
- [147] A. Eichner, *Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg* **2017**.
- [148] T. Schmitt, *Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg* **2018**.

- [149] J. Zbytovská, M. A. Kiselev, S. S. Funari, V. M. Garamus, S. Wartewig, K. Palát, R. H. H. Neubert, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2008**, 328, 90-99.
- [150] D. Groen, G. S. Gooris, J. A. Bouwstra, *Biophysical Journal* **2009**, 97, 2242-2249.
- [151] D. J. Moore, M. Rerek, R. Mendelsohn, *The Journal of Physical Chemistry B* **1997**, 101, 8933-8940.
- [152] R. Mendelsohn, D. J. Moore, *Methods in Enzymology* **2000**, 312, 228-247.
- [153] M. E. Rerek, C. B. Markovic, D. V. Wyck, P. Gabriel, R. Mendelsohn, D. J. Moore, *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, 9355-9362.
- [154] D. J. Moore, R. G. Snyder, M. E. Rerek, R. Mendelsohn, *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, 2378-2386.
- [155] E. Corbe, C. Laugel, N. Yagoubi, A. Baillet, *Chemistry and Physics of Lipids* **2007**, 146, 67-75.
- [156] A. Percot, M. Lafleur, *Biophysical Journal* **2001**, 81, 2144-2153.
- [157] C. Choe, J. Lademann, M. E. Darvin, *Journal of Raman Spectroscopy* **2016**, 47, 1327-1331.
- [158] A. P. Ramos, G. Gooris, J. Bouwstra, M. Molinari, M. Lafleur, *Canadian Journal of Chemistry* **2020**, 98, 495-501.
- [159] T. R. Molugu, S. Lee, M. F. Brown, *Chemical Reviews* **2017**, 117, 12087-12132.
- [160] W. Abraham, D. T. Downing, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1991**, 1068, 189-194.
- [161] W. Abraham, D. T. Downing, *Pharm Res* **1992**, 9, 1415-1421.
- [162] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Vol. 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, **1991**.
- [163] M. F. Brown, *The Journal of Chemical Physics* **1982**, 77, 1576-1599.
- [164] M. F. Brown, A. Salmon, U. Henriksson, O. Söderman, *Molecular Physics* **1990**, 69, 379-383.
- [165] R. R. Vold, R. L. Vold, *The Journal of Chemical Physics* **1988**, 88, 1443-1457.
- [166] R. R. Vold, R. L. Vold, *Advances in Magnetic and Optical Resonance* **1991**, 16, 85-171.
- [167] D. L. Bryce, G. M. Bernard, M. Gee, M. D. Lumsden, K. Eichele, R. E. Wasylshen, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* **2001**, 46, 46-82.
- [168] J. J. Kinnun, A. Leftin, M. F. Brown, *Journal of Chemical Education* **2013**, 90, 123-128.
- [169] S. Stahlberg, S. Lange, B. Dobner, D. Huster, *Langmuir* **2016**, 32, 2023-2031.

- [170] S. Stahlberg, A. Eichner, S. Sonnenberger, A. Kováčik, S. Lange, T. Schmitt, B. Demé, T. Hauß, B. Dobner, R. H. H. Neubert, D. Huster, *Langmuir* **2017**, 33, 9211-9221.
- [171] S. Stahlberg, B. Školová, P. K. Madhu, A. Vogel, K. Vávrová, D. Huster, *Langmuir* **2015**, 31, 4906-4915.
- [172] V. Macho, L. Brombacher, H. W. Spiess, *Applied Magnetic Resonance* **2001**, 20, 405-432.
- [173] T. Pott, E. J. Dufourc, *Biophysical Journal* **1995**, 68, 965-977.
- [174] C. Wölk, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg **2014**.
- [175] S. Sonnenberger, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg **2020**.
- [176] I. Schulze, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg **2006**.
- [177] Autorenkollektiv, *Organikum*, Vol. 23. Auflage, Wiley, Weinheim, **2009**.
- [178] I. G. Zhukova, G. P. Smirnova, N. V. Chekareva, N. K. Kochetkov, *Izvestiya Akademii Nauk SSSR, Seriya Khimicheskaya* **1970**, 2, 411-419.
- [179] E. Riedel, C. Janiak, *Anorganische Chemie*, Vol. 7. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, **2007**.
- [180] N. Miyashita, A. Yoshikoshi, P. A. Grieco, *The Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, 3772-3774.
- [181] M. Schwarz, J. E. Oliver, P. E. Sonnet, *The Journal of Organic Chemistry* **1975**, 40, 2410-2411.
- [182] A. G. Anderson, F. J. Freenor, *The Journal of Organic Chemistry* **1972**, 37, 626-630.
- [183] K. Mori, Y. Funaki, *Tetrahedron* **1985**, 41, 2369-2377.
- [184] H. R. Snyder, C. W. Smith, *Journal of the American Chemical Society* **1944**, 66, 350-351.
- [185] S. Lange, Masterthesis, Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden **2012**.
- [186] S. M. Culbertson, N. A. Porter, *Journal of the American Chemical Society* **2000**, 122, 4032-4038.
- [187] J. T. Blanchfield, J. L. Dutton, R. C. Hogg, O. P. Gallagher, D. J. Craik, A. Jones, D. J. Adams, R. J. Lewis, P. F. Alewood, I. Toth, *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, 46, 1266-1272.
- [188] W. A. Gibbons, R. A. Hughes, M. Charalambous, M. Christodoulou, A. Szeto, A. E. Aulabaugh, P. Mascagni, I. Toth, *Liebigs Annalen der Chemie* **2006**, 1990, 1175-1183.
- [189] P. Y. Bruice, *Organische Chemie*, Vol. 5. Auflage, Pearson Studium, München **2007**.
- [190] S. Sonnenberger, A. Eichner, T. Schmitt, T. Hauß, S. Lange, A. Langner, R. H. H. Neubert, B. Dobner, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **2017**, 60, 316-330.

- [191] S. Drescher, A. Meister, A. Blume, G. Karlsson, M. Almgren, B. Dobner, *Chemistry – A European Journal* **2007**, 13, 5300-5307.
- [192] K. Süß, Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg **2015**.
- [193] R. S. Monson, *Advanced Organic Synthesis - Methods and Techniques*, Vol. 1. Auflage, Academic Press, Inc, **1971**.
- [194] S. Lange, Bachelorthesis, Hochschule Anhalt (FH) - Abteilung Köthen **2011**.
- [195] D. J. Cundy, P. A. Gurr, *Organic Preparations and Procedures International* **2000**, 32, 461-468.
- [196] P. G. M. Wuts, T. W. Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, Vol. 4. Auflage, John Wiley & Sons, Inc., **2006**.
- [197] J. L. Marco, J. A. Hueso-Rodríguez, *Tetrahedron Letters* **1988**, 29, 2459-2462.
- [198] H. Takaku, K. Kamaike, *Chemistry Letters* **1982**, 11, 189-192.
- [199] H. Takaku, K. Kamaike, H. Tsuchiya, *The Journal of Organic Chemistry* **1984**, 49, 51-56.
- [200] S. Drescher, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg **2008**.
- [201] K. Mori, M. Ohki, A. Sato, M. Matsui, *Tetrahedron* **1972**, 28, 3739 - 3745.
- [202] I. Bidd, D. J. Kelly, P. M. Ottley, O. I. Paynter, D. J. Simmonds, M. C. Whiting, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1983**, 1369-1372.
- [203] F. Salmon-Legagneur, C. Neveu, *Bulletin de la Societe Chimique de France* **1965**, 8, 2270-2275.
- [204] E. Ehlers, *Chemie 2 - Kurzlehrbuch der Organischen Chemie*, Vol. 6. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, **1999**.
- [205] J. P. Yardley, H. Fletcher, *Synthesis* **1976**, 4, 244.
- [206] J. L. Gras, Y. Y. K. W. Chang, A. Guerin, *Synthesis* **1985**, 1, 74-75.
- [207] M. Tamura, J. Kochi, *Synthesis* **1971**, 6, 303-305.
- [208] S. Drescher, S. Sonnenberger, A. Meister, A. Blume, B. Dobner, *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2012**, 143, 1533-1543.
- [209] S. Sonnenberger, S. Lange, A. Langner, R. H. H. Neubert, B. Dobner, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **2016**, 59, 531-542.
- [210] K. Horita, T. Yoshioka, T. Tanaka, Y. Oikawa, O. Yonemitsu, *Tetrahedron* **1986**, 42, 3021-3028.
- [211] E. J. Corey, J. W. Suggs, *Tetrahedron Letters* **1975**, 31, 2647-2650.
- [212] R. B. Woodward, K. Heusler, J. Gosteli, P. Naegeli, W. Oppolzer, R. Ramage, S. Ranganathan, H. Vorbrüggen, *Journal of the American Chemical Society* **1966**, 88, 852-853.

- [213] H. Monti, G. Léandri, M. Klos-ringuet, C. Corriol, *Synthetic Communications* **1983**, 13, 1021-1026.
- [214] J. A. Zerkowski, A. Nuñez, D. K. Y. Solaiman, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **2008**, 85, 277-284.
- [215] L. Opálka, A. Kováčik, M. Sochorová, J. Roh, J. Kuneš, J. Lenčo, K. Vávrová, *Organic Letters* **2015**, 17, 5456-5459.
- [216] G. Just, K. Grozinger, *Synthesis* **1976**, 7, 457-458.
- [217] B. Kalita, K. M. Nicholas, *Tetrahedron* **2004**, 60, 10771-10778.
- [218] J. A. Bodkin, E. J. Humphries, M. D. McLeod, *Tetrahedron* **2003**, 44, 2869-2872.
- [219] Z. Z. Huang, X. J. Zhou, *Synthesis* **1989**, 693-694.
- [220] T. Mineno, H. Kansui, T. Kunieda, *Tetrahedron Letters* **2007**, 48, 5027-5030.
- [221] G. Blay, L. Cardona, B. García, C. L. García, J. R. Pedro, *Synthetic Communications* **1998**, 28, 1405-1414.
- [222] A. J. Pearson, K. Lee, *The Journal of Organic Chemistry* **1994**, 59, 2304-2313.
- [223] D. J. Procter, R. A. Flowers, T. Skrydstrup, *Organic Synthesis Using Samarium Diodide*, Vol. 1. Auflage, RSC Publishing, **2010**.
- [224] M. Mikyna, *Diplomarbeit, Universität Dortmund* **2006**.
- [225] T. Junk, W. J. Catallo, *Chemical Society Reviews* **1997**, 26, 401-406.
- [226] N. Ito, T. Watahiki, T. Maesawa, T. Maegawa, H. Sajiki, *Synthesis* **2008**, 9, 1467-1478.
- [227] A. P. Tulloch, *Chem. Phys. Lipids* **1977**, 18, 1-6.
- [228] J. Novotný, A. Hrabálek, K. Vávrová, *Current Medicinal Chemistry* **2010**, 17, 2301-2324.
- [229] A. Kováčik, L. Opálka, M. Šilarová, J. Roh, K. Vávrová, *RSC Advances* **2016**, 6, 73343-73350.
- [230] P. Wisse, M. A. R. d. Geus, G. Cross, A. M. C. H. v. d. Nieuwendijk, E. J. v. Rooden, R. J. B. H. N. v. d. Berg, J. M. F. G. Aerts, G. A. v. d. Marel, J. D. C. Codee, H. S. Overkleeft, *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 7258-7265.
- [231] W. E. v. Heyningen, D. Rittenberg, R. Schoenheimer, *Journal of Biological Chemistry* **1938**, 125, 495-500.
- [232] N. Dinh-Nguyen, *Arkiv för Kemi* **1964**, Band 22 Nr. 13, 151-167.
- [233] W. Luo, D. F. Cowgill, R. A. Causey, *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, 113, 12978-12987.
- [234] C. P. O'Brien, J. B. Milner, B. D. Morreale, A. J. Gellman, *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, 115, 24221-24230.

- [235] N. Ito, T. Watahiki, T. Maesawa, T. Maegawa, H. Sajiki, *Advanced Synthesis & Catalysis* **2006**, 348, 1025-1028.
- [236] K. N. Zhavoronkova, *Theoretical Foundations of Chemical Engineering* **2009**, 43, 783-790.
- [237] J. G. Atkinson, M. O. Luke, R. S. Stuart, *Canadian Journal of Chemistry* **1967**, 45, 1511-1518.
- [238] C. Y. Y. Hsiao, C. A. Ottaway, D. B. Wettlaufer, *Lipids* **1974**, 9, 913-915.
- [239] H. Sajiki, H. Esaki, F. Aoki, T. Maegawa, K. Hirota, *Synlett* **2005**, 9, 1385-1388.
- [240] H. Sajiki, T. Kurita, H. Esaki, F. Aoki, T. Maegawa, K. Hirota, *Organic Letters* **2004**, 6, 3521-3523.
- [241] S. Matsubara, Y. Yokota, K. Oshima, *Organic Letters* **2004**, 6, 2071-2073.
- [242] C. Hell, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1881**, 14, 891-893.
- [243] J. Volhard, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1887**, 242, 141-163.
- [244] N. Zelinsky, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1887**, 20, 2026.
- [245] E. Schwenk, D. Papa, *Journal of the American Chemical Society* **1948**, 70, 3626-3627.
- [246] M. Syrpas, E. Ruysbergh, C. V. Stevens, N. D. Kimpe, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2014**, 10, 2539-2549.
- [247] T. Balzer, H. Budzikiewicz, *Zeitschrift für Naturforschung B* **1987**, 42b, 1367-1368.
- [248] H. R. L. Sueur, *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1905**, 87, 1888-1906.
- [249] B. S. Jursic, Z. Zdravkovski, *Synthetic Communications* **1993**, 23, 2761-2770.
- [250] R. Wild, R. R. Schmidt, *Tetrahedron-Asymmetr.* **1994**, 5, 2195-2208.
- [251] D. E. Ong, R. N. Brady, *J. Lipid Res.* **1972**, 13, 819-822.
- [252] Y. Lapidot, S. Rappoport, Y. Wolman, *J. Lipid Res.* **1967**, 8, 142-145.
- [253] T. Tashiro, K. Mori, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2014**, 76, 1715-1720.
- [254] B. Školová, K. Hudská, P. Pullmannová, A. Kováčik, K. Palát, J. Roh, J. Fleddermann, I. Estrela-Lopis, K. Vávrová, *J. Phys. Chem. B* **2014**, 118, 10460-10470.
- [255] K. Ramsamy, R. K. Olsen, T. Emery, *Synthesis* **1982**, 01, 42-43.
- [256] F. F. Sahle, S. Lange, B. Dobner, J. Wohlrab, R. H. H. Neubert, *J. Pharmaceut. Biomed.* **2012**, 60, 7-13.
- [257] B. Belleau, G. Malek, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 1651-1652.
- [258] S. Müller, R. R. Schmidt, *Journal für praktische Chemie* **2000**, 342, 779-784.
- [259] D. J. Cremin, A. F. Hegarty, *J. Chem. Soc. Perk. T. 2* **1980**, 412-420.
- [260] E. Valeur, M. Bradley, *Chemical Society Reviews* **2009**, 38, 606-631.

- [261] C. Wölk, M. Heinze, P. Kreideweiß, M. Dittrich, G. Brezesinski, A. Langner, B. Dobner, *Int. J. Pharm.* **2011**, 409, 46-56.
- [262] C. Wölk, S. Drescher, A. Meister, A. Blume, A. Langner, B. Dobner, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 12824-12838.
- [263] J. Coste, D. Le-Nguyen, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 205-208.
- [264] B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve, *Tetrahedron Letters* **1975**, 14, 1219-1222.
- [265] J. Coste, E. Frerot, P. Jouin, B. Castro, *Tetrahedron Letters* **1991**, 32, 1967-1970.
- [266] M. H. Kim, D. V. Patel, *Tetrahedron Letters* **1994**, 35, 5603-5606.
- [267] T. Hoeg-Jensen, M. H. Jakobsen, A. Holm, *Tetrahedron Letters* **1991**, 32, 6387-6390.
- [268] E. B. Watkins, H. Gao, A. J. C. Dennison, N. Chopin, B. Struth, T. Arnold, J. C. Florent, L. Johannes, *Biophysical Journal* **2014**, 107, 1146-1155.
- [269] O. Achatz, A. Grandl, K. T. Wanner, *European Journal of Chemistry* **1999**, 1967-1978.
- [270] J. A. Bouwstra, F. E. R. Dubbelaar, G. S. Gooris, M. Ponc, *Acta Dermato-Venereologica* **2000**, 208, 23-30.
- [271] A. Schroeter, M. A. Kiselev, T. Hauss, S. Dante, R. H. H. Neubert, *Biochimica et biophysica acta* **2009**, 1788, 2194-2203.
- [272] K. A. Karlsson, I. Pascher, *Journal of Lipid Research* **1971**, 12, 466-472.
- [273] I. Pascher, *Chemistry and Physics of Lipids* **1974**, 12, 303-315.
- [274] K. A. Karlsson, I. Pascher, *Chemistry and Physics of Lipids* **1974**, 12, 65-74.
- [275] E. J. Bourne, G. T. Bruce, L. F. Wiggins, *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1951**, 2708-2713.
- [276] D. A. Nugiel, K. Jacobs, A. C. Tabaka, C. A. Teleha, P. A. Orahovats, J. S. Newcom, W. R. Roush, *Organic Syntheses* **2005**, 81, 140-146.
- [277] M. Alterman, M. Björsne, A. Mühlman, B. Classon, I. Kvarnström, H. Danielson, P. Markgren, U. Nillroth, T. Unge, A. Hallberg, B. Samuelsson, *Journal of Medical Chemistry* **1998**, 41, 3782-3792.
- [278] L. F. Wiggins, *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1946**, 388-390.
- [279] H. Eibl, P. Woodlley, *Chemistry and Physics of Lipids* **1988**, 47, 47-53.
- [280] T. Markowski, S. Drescher, A. Meister, G. Hause, A. Blume, B. Dobner, *European Journal of Organic Chemistry* **2011**, 2011, 5894-5904.
- [281] N. Gerencevic, A. Castek, M. Sateva, J. Pluscec, M. Prostenik, *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **1966**, 97, 331-339.
- [282] S. M. Birnbaum, S. C. J. Fu, J. P. Greenstein, *Journal of Biological Chemistry* **1953**, 203, 333-338.

- [283] Y. Masaoka, M. Sakakibara, K. Mori, *Agricultural and Biological Chemistry* **1982**, 46, 2319-2324.
- [284] P. Brewster, E. D. Hughes, C. K. Ingold, P. A. D. S. Rao, *Nature* **1950**, 166, 178-179.
- [285] I. Pascher, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1976**, 455, 433-451.
- [286] S. Raudenkolb, S. Wartewig, R. H. H. Neubert, *Chemistry and Physics of Lipids* **2005**, 133, 89-102.
- [287] T. Schmitt, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, B. Demé, R. H. H. Neubert, G. Gooris, J. A. Bouwstra, *Chemistry and Physics of Lipids* **2017**, 209, 29-36.
- [288] S. Proniuk, S. Lerkpulsawand, J. Blanchard, *Journal of Chromatographic Science* **1998**, 36, 495-498.

7. Anhang

7.1 Kurzcharakterisierung Phytosphingosin (7) und Sphingosin (8)

- Phytosphingosin (7)

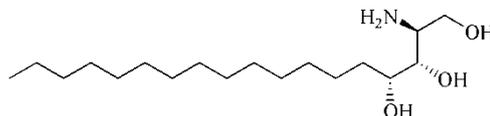
Summenformel: $C_{18}H_{39}NO_3$

Molare Masse: 317.51 g/mol

ESI-MS: 318.20 $[M+H]^+$, 657.10 $[2M+Na]^+$

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 3.67 (d, $^3J= 4.9$ Hz, 2 H, $-CH_2-OH$), 3.55-3.49 (m, 1 H, $-CHNH_2-CHOH-$), 3.31-3.28 (m, 1 H, $-CH_2-CHOH-$), 2.90 (dd, $^2J= 10.5$ Hz, $^3J= 5.0$ Hz, 1 H, $-CHNH_2-$), 1.67-1.61 (m, 1 H, $-CH'H-CHOH-$), 1.50-1.45 (m, 1 H, $-CH'H-CHOH-$), 1.37-1.14 (m, 24 H, $CH_3-(CH_2)_{12}-$), 0.81 (t, $^3J= 6.8$ Hz, 3 H, CH_3-)

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 74.93, 73.47, 63.31, 54.25, 33.17, 31.70, 29.59-29.15, 25.38, 22.47, 13.86



- Sphingosin (8)

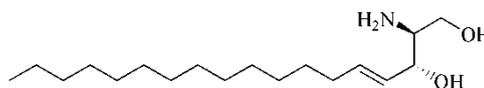
Summenformel: $C_{18}H_{37}NO_2$

Molare Masse: 299.49 g/mol

ESI-MS: 300.13 $[M-H]^-$

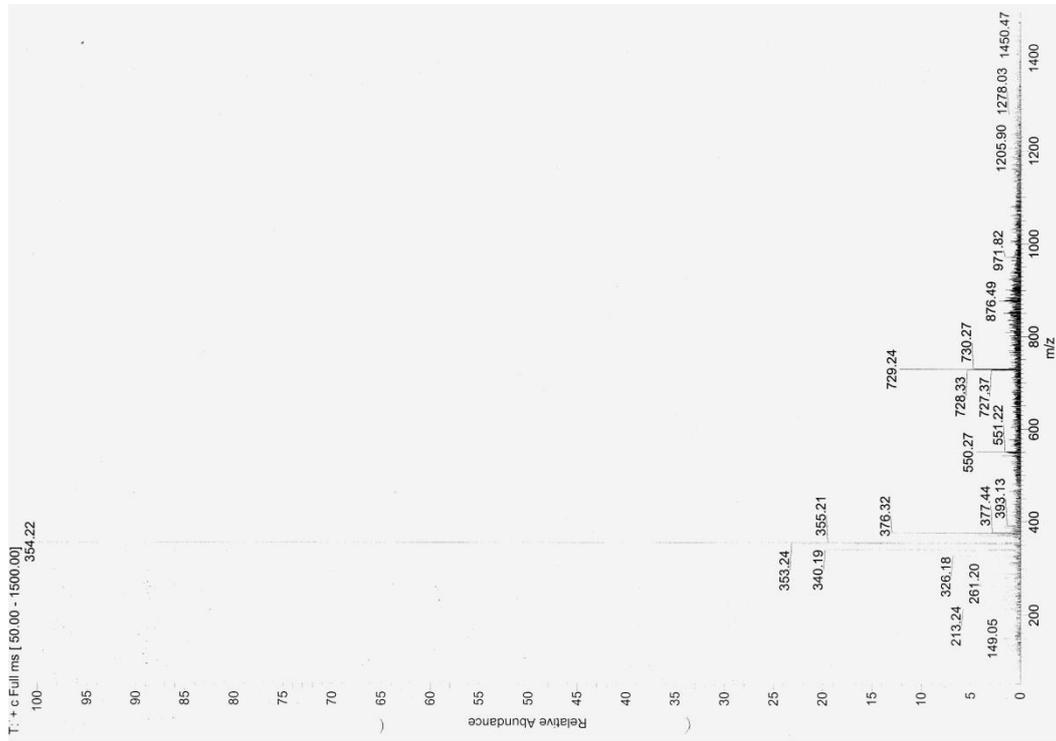
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 5.81-5.72 (m, 1 H, $-CH=CH-CH-$), 5.47 (dd, $^2J= 15.4$ Hz, $^3J= 7.1$ Hz, 1 H, $-CH=CH-CH-$), 4.08 (t, $^3J= 6.3$ Hz, 1 H, $-CHOH$), 3.70 (dd, $^2J= 11.0$ Hz, $^3J= 4.5$ Hz, 1 H, $-CH'H-OH$), 3.64 (dd, $^2J= 11.0$ Hz, $^3J= 6.0$ Hz, 1 H, $-CH'H-OH$), 2.91 (dd, $^2J= 10.4$ Hz, $^3J= 5.5$ Hz, 1 H, $-CHNH_2-$), 2.24 (s, 4 H, $-NH_2$; 2x $-OH$), 2.06 (q, $^2J= 13.9$ Hz, $^3J= 6.9$ Hz, 2 H, $-CH_2-CH=CH-$), 1.43-1.21 (m, 22 H, $CH_3-(CH_2)_{11}-$), 0.88 (t, $^3J= 6.8$ Hz, 3 H, CH_3-)

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 134.98, 129.19, 75.34, 64.01, 56.37, 32.50, 32.08, 29.85-29.31, 22.84, 14.27

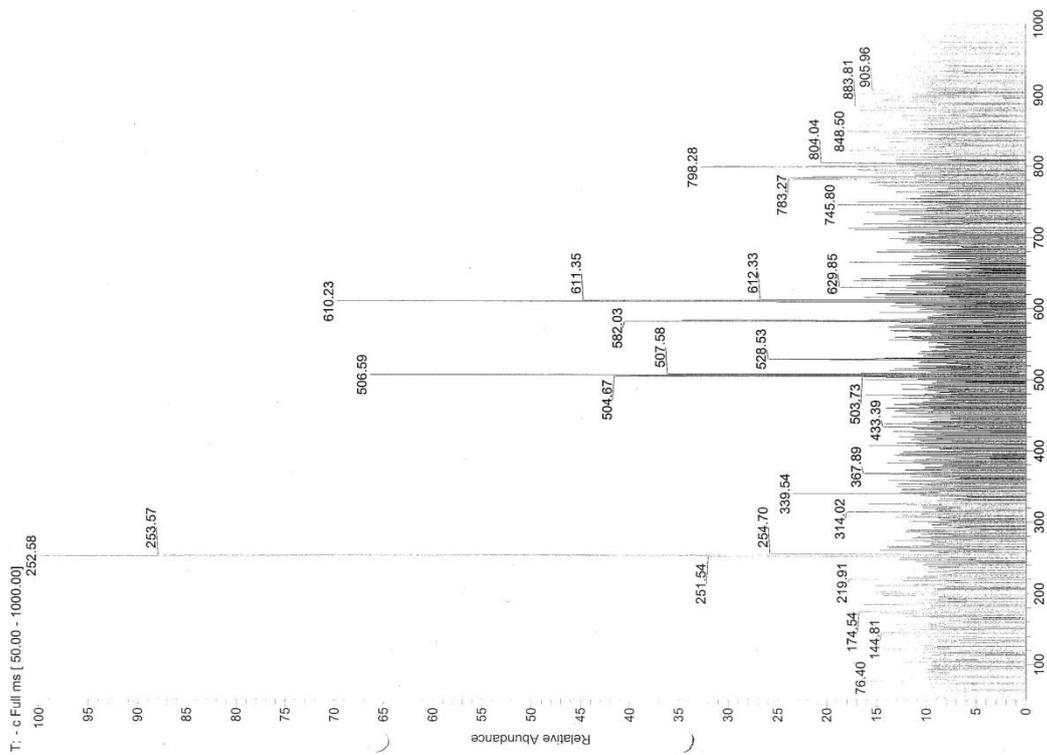


7.1 ESI-MS Spektren von ausgewählten Verbindungen

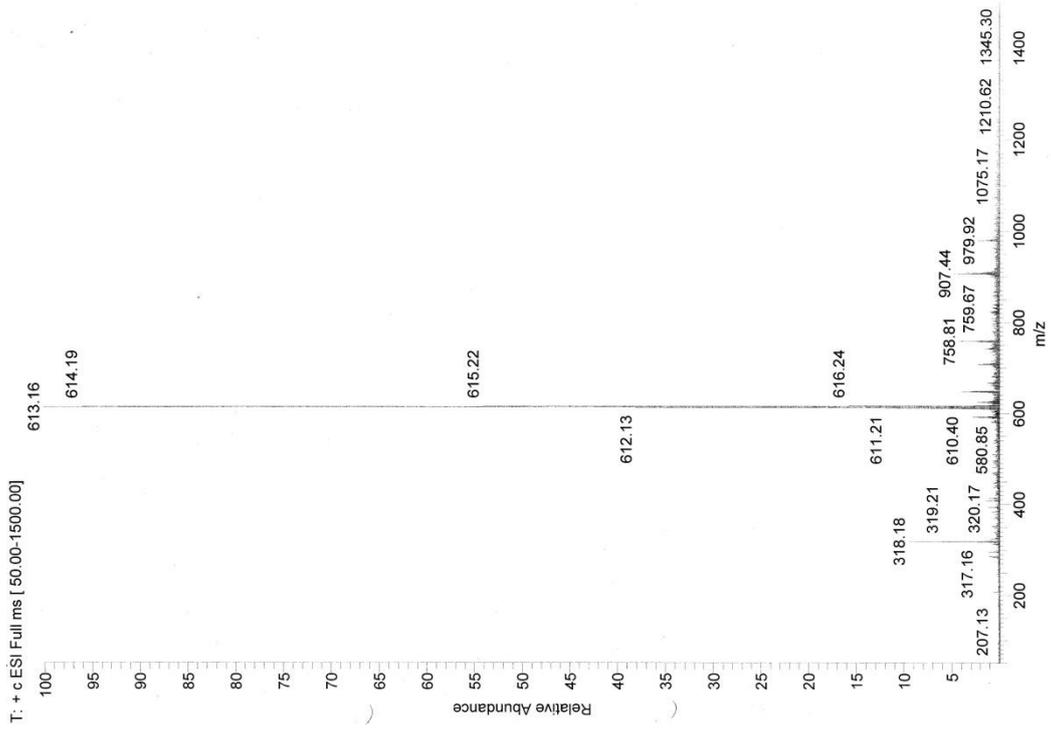
- Verbindung 3



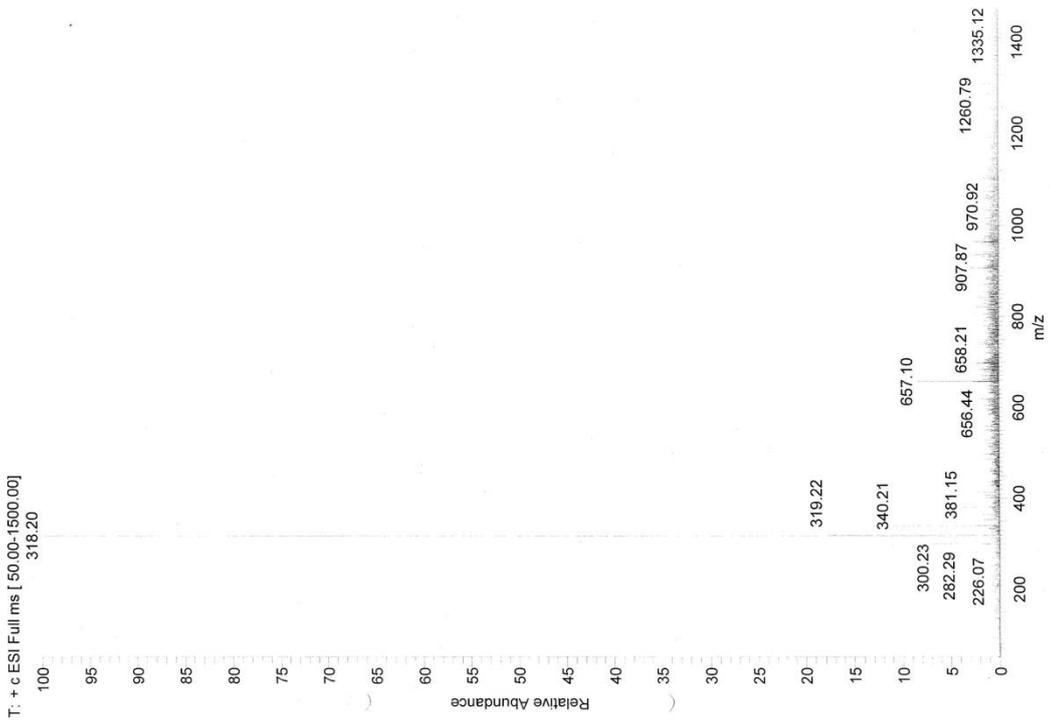
- Verbindung 5



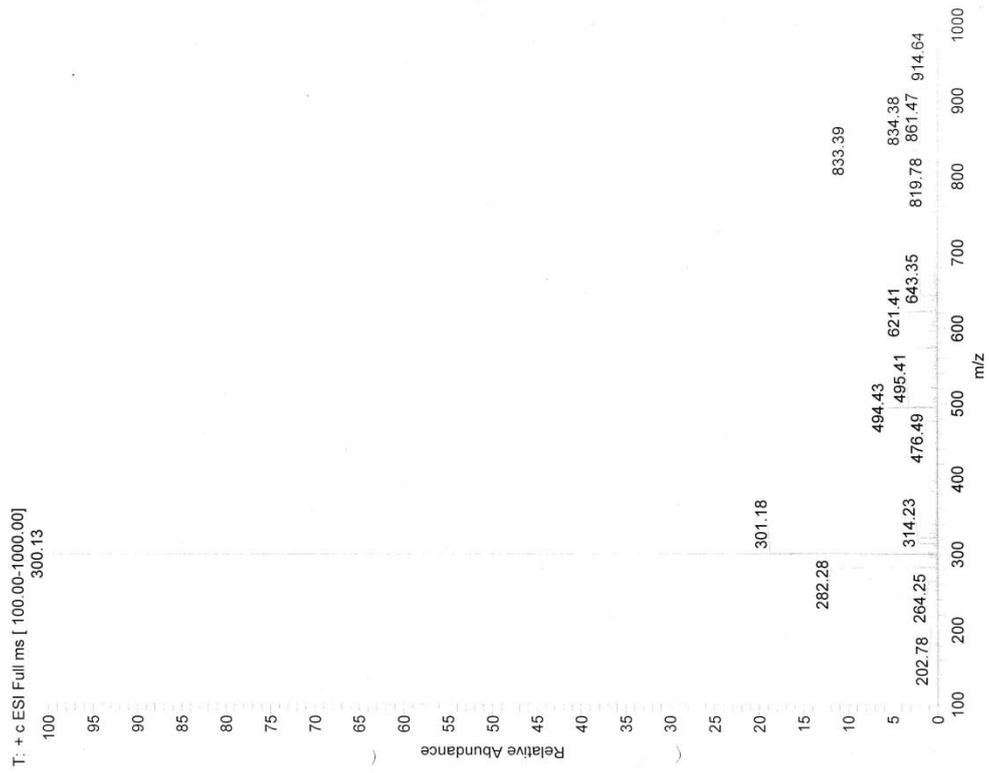
- **Verbindung 6**



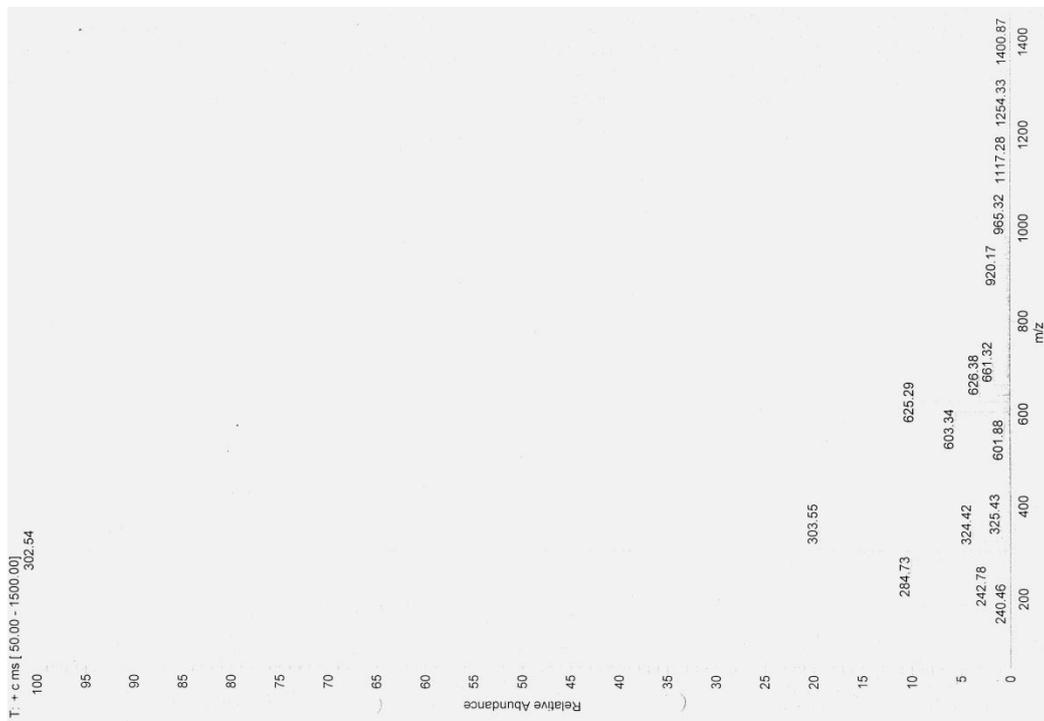
- **Verbindung 7**



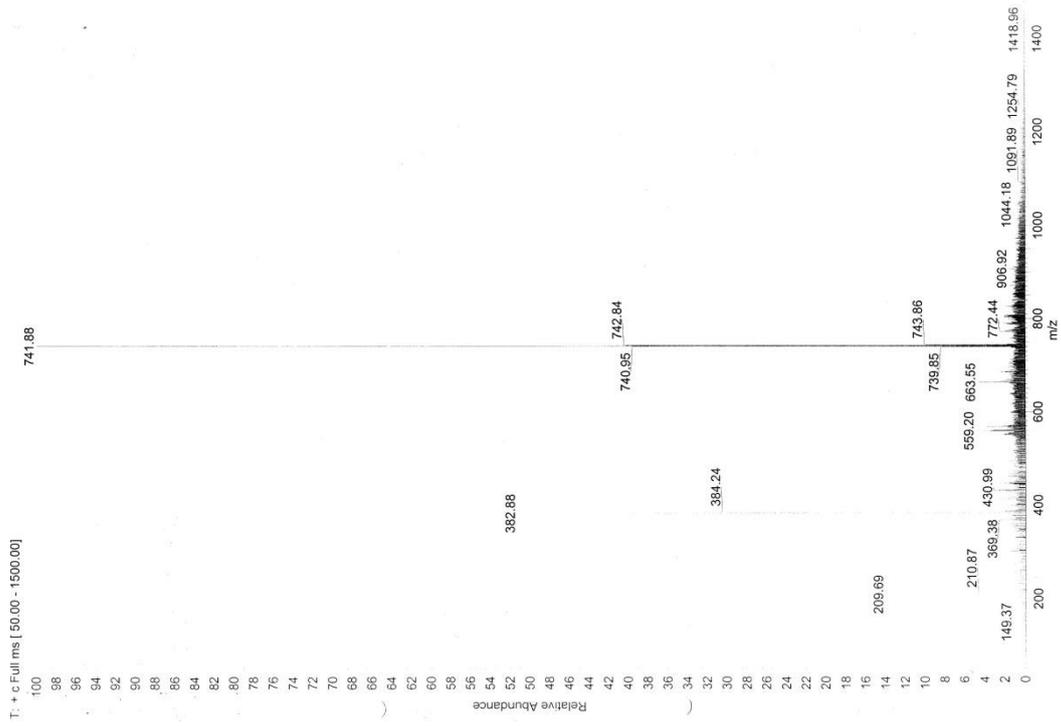
- **Verbindung 8**



- **Verbindung 9**



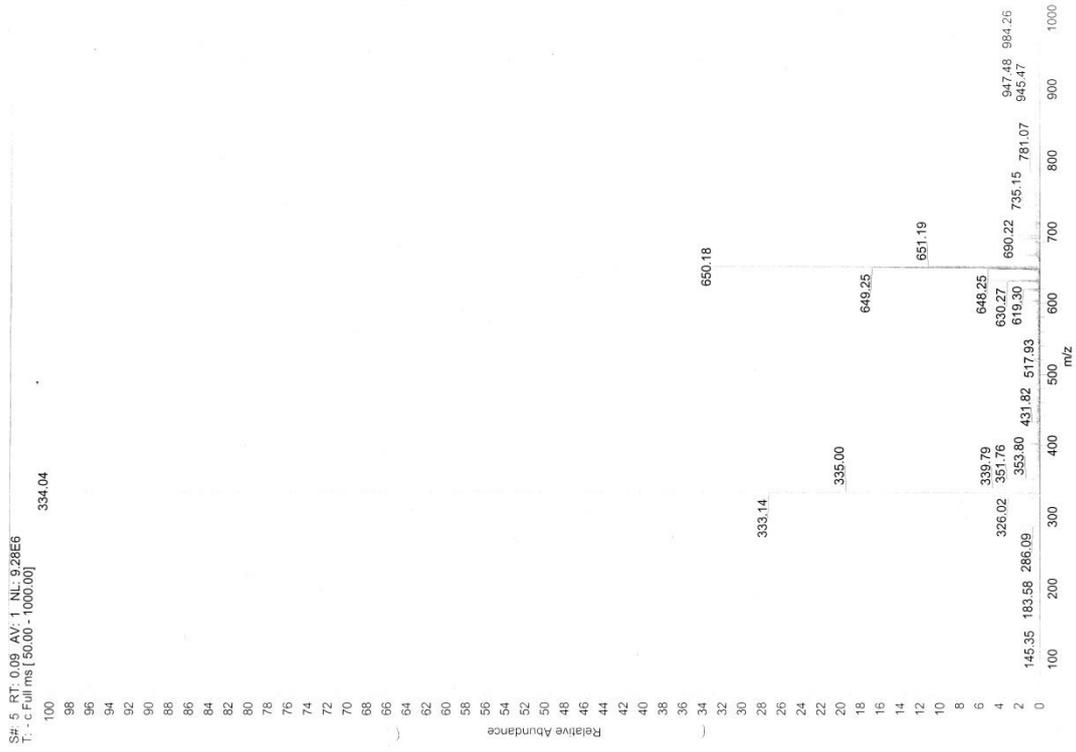
- **Verbindung 18**



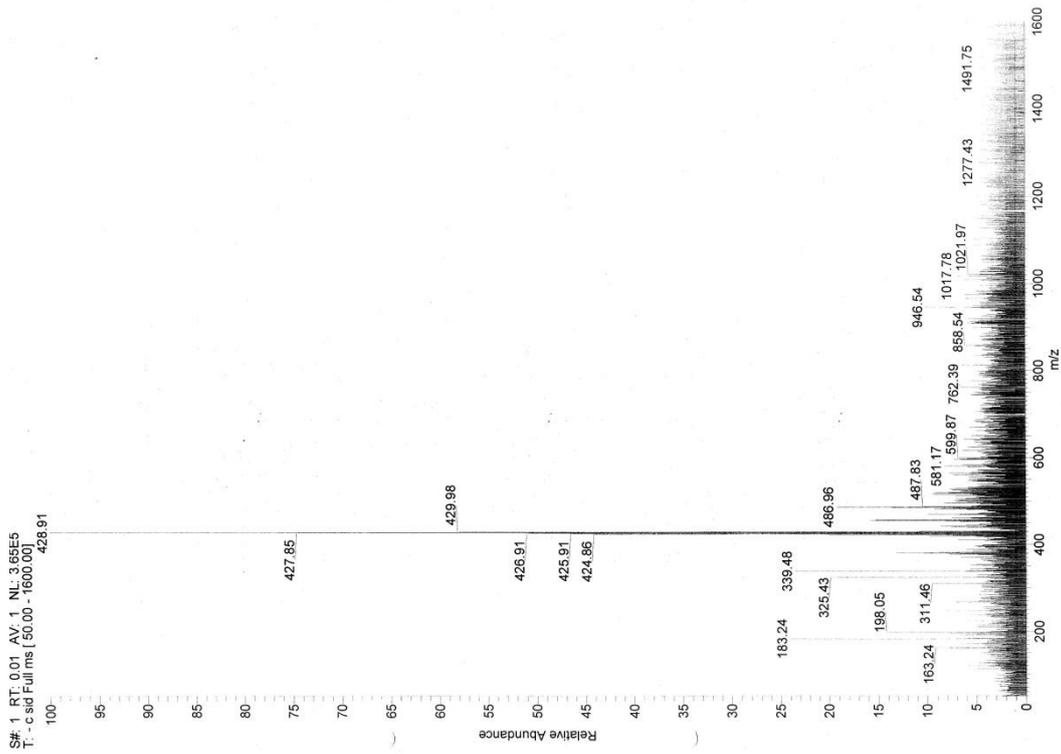
- **Verbindung 26 - I**



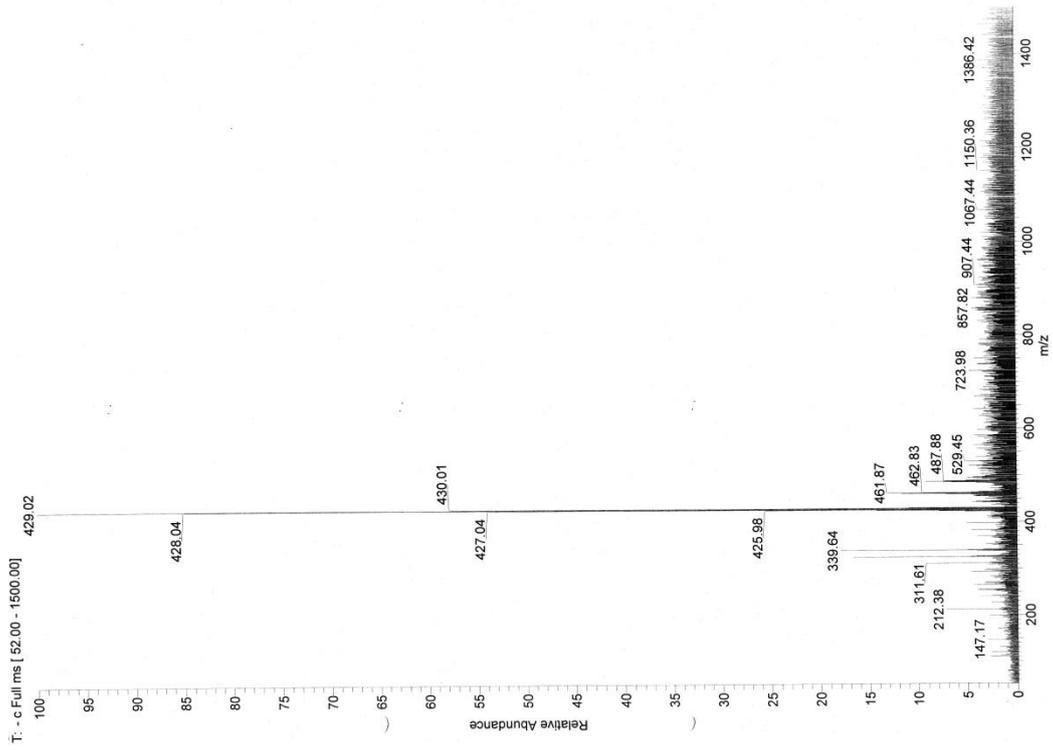
- Verbindung 26 - II



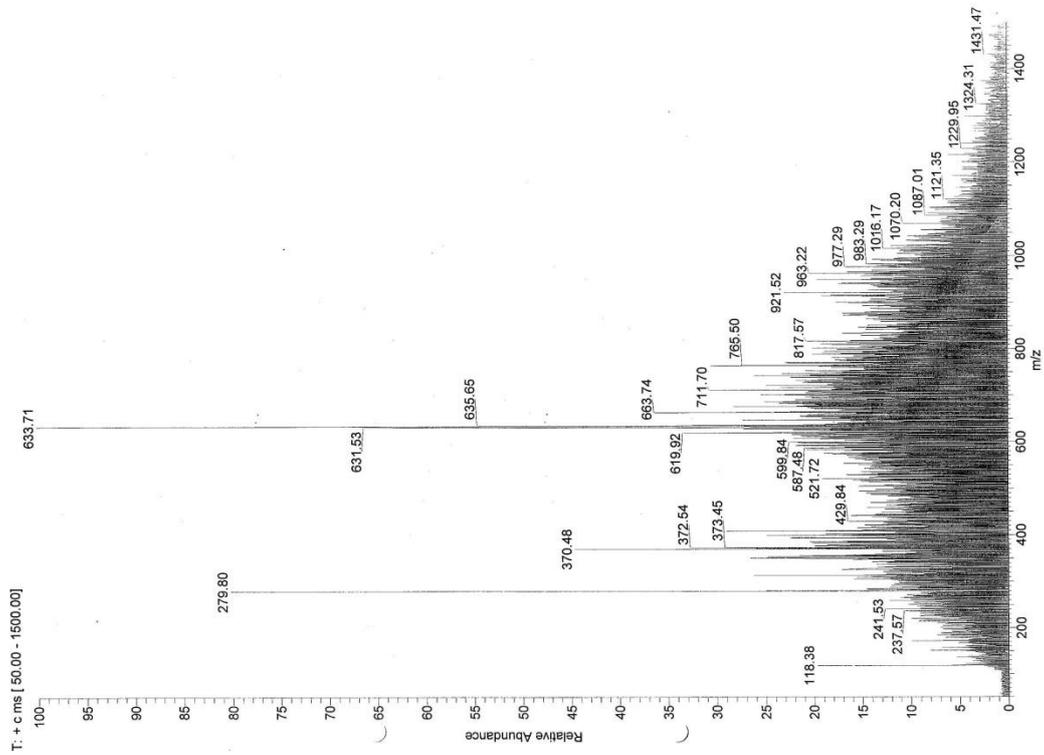
- Verbindung 27 - I



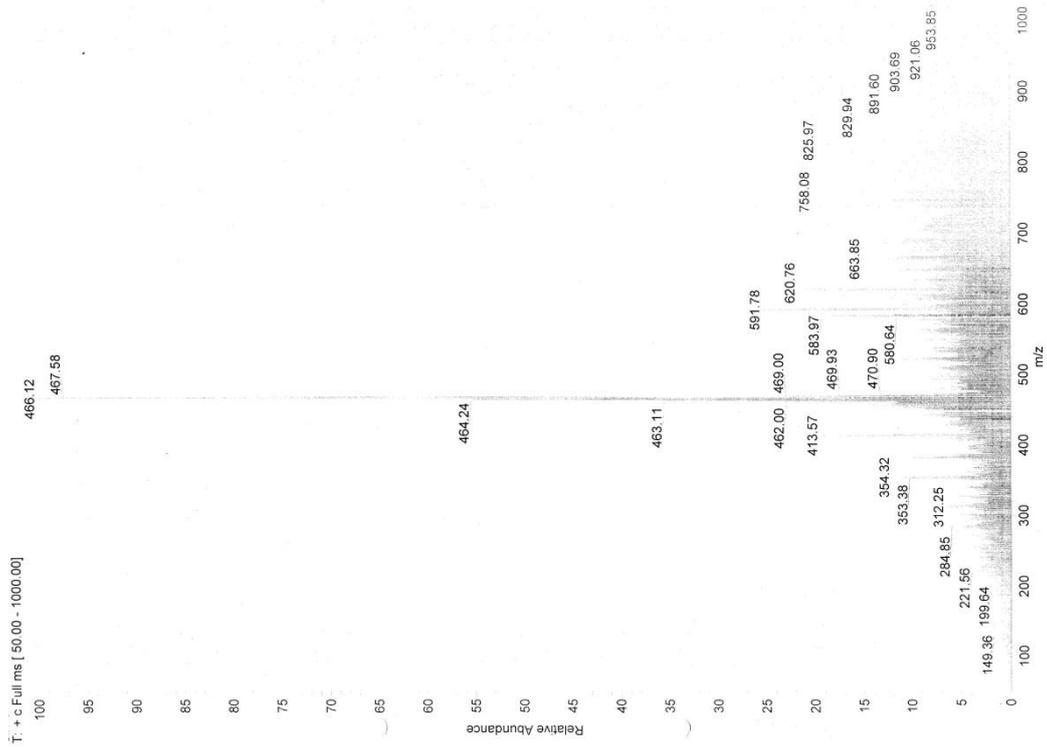
- Verbindung 27 - II



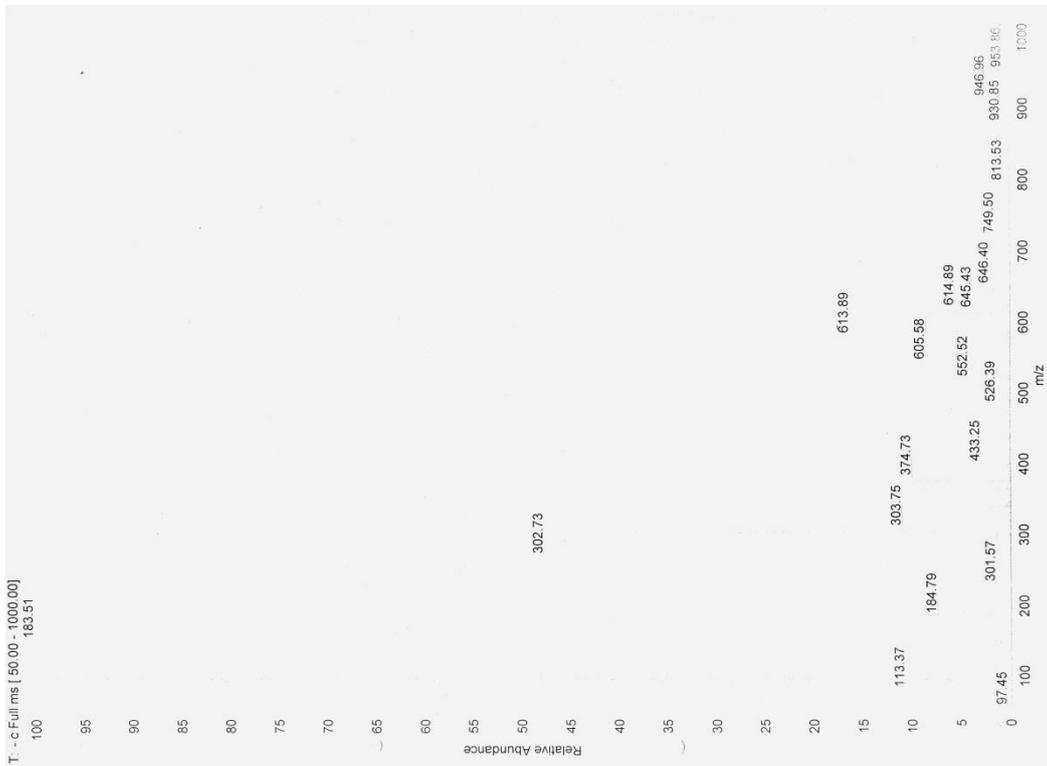
- Verbindung 28



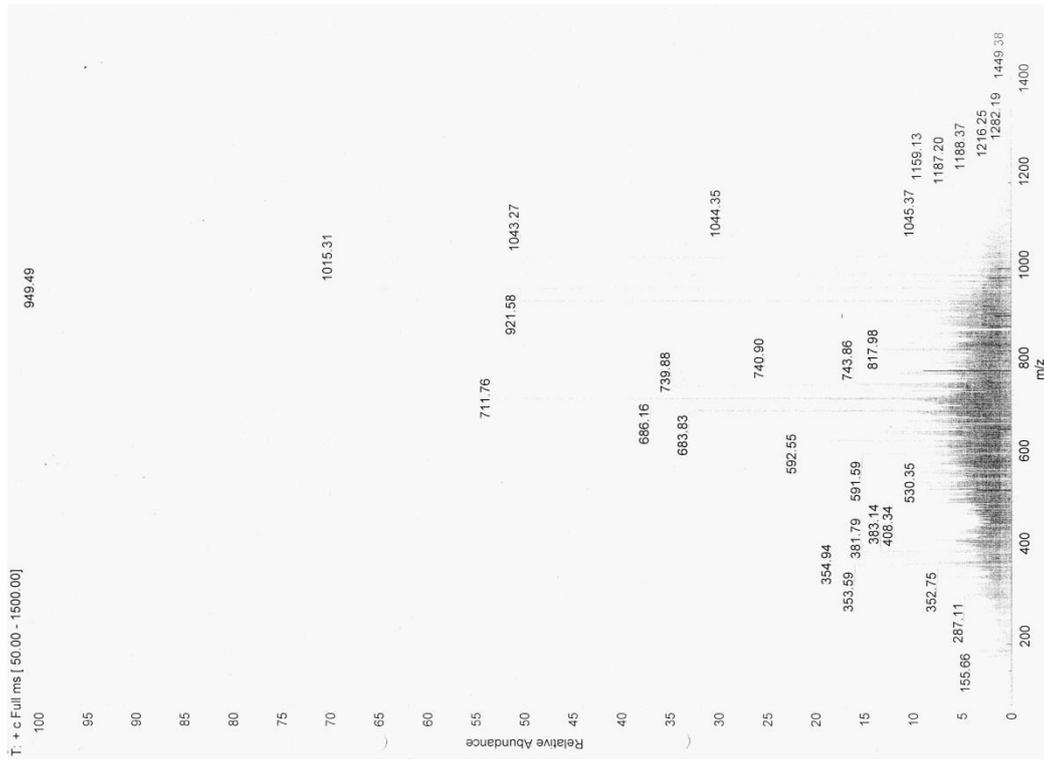
- **Verbindung 29**



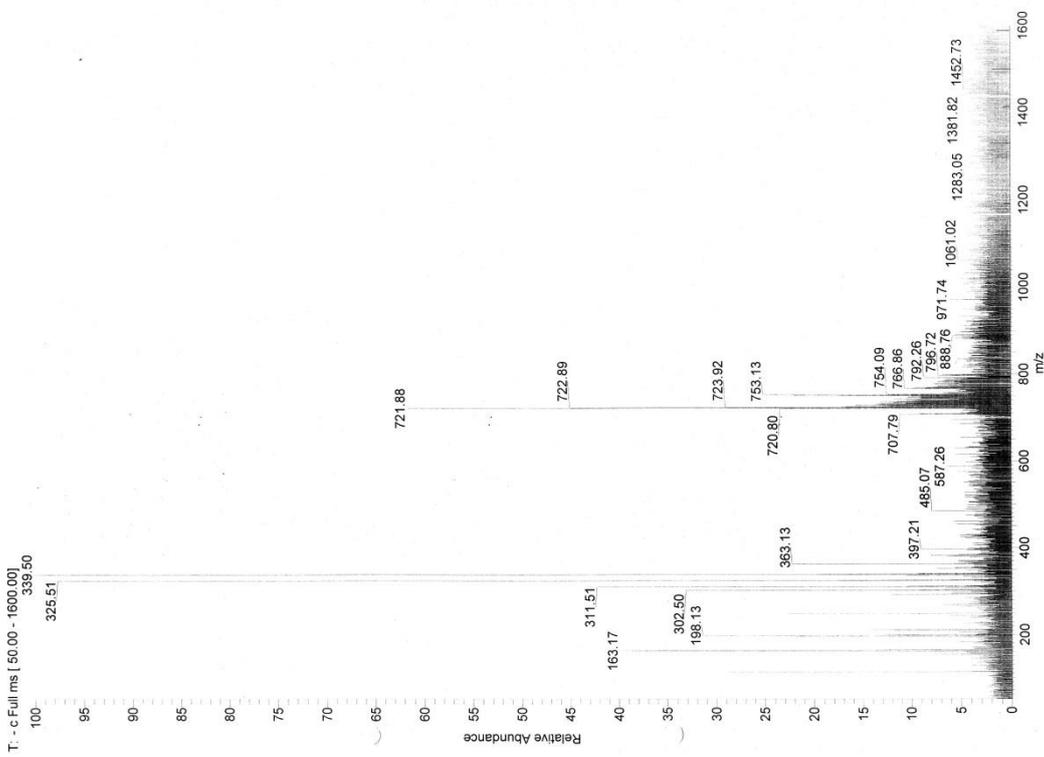
- **Verbindung 32**



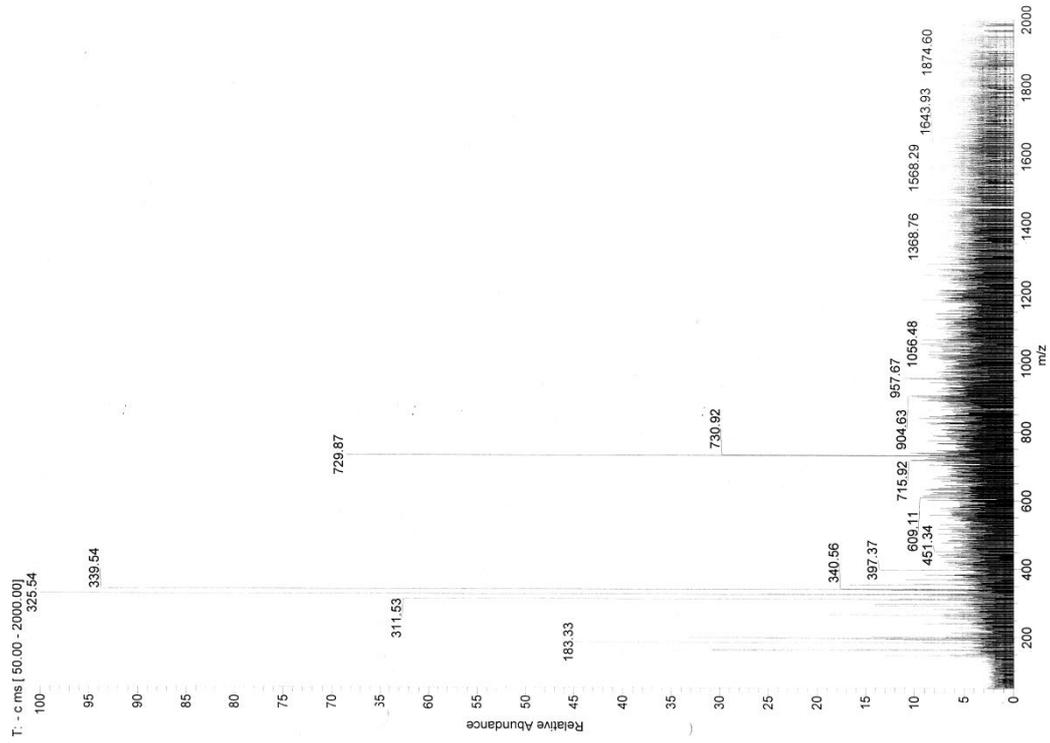
- **Verbindung 34**



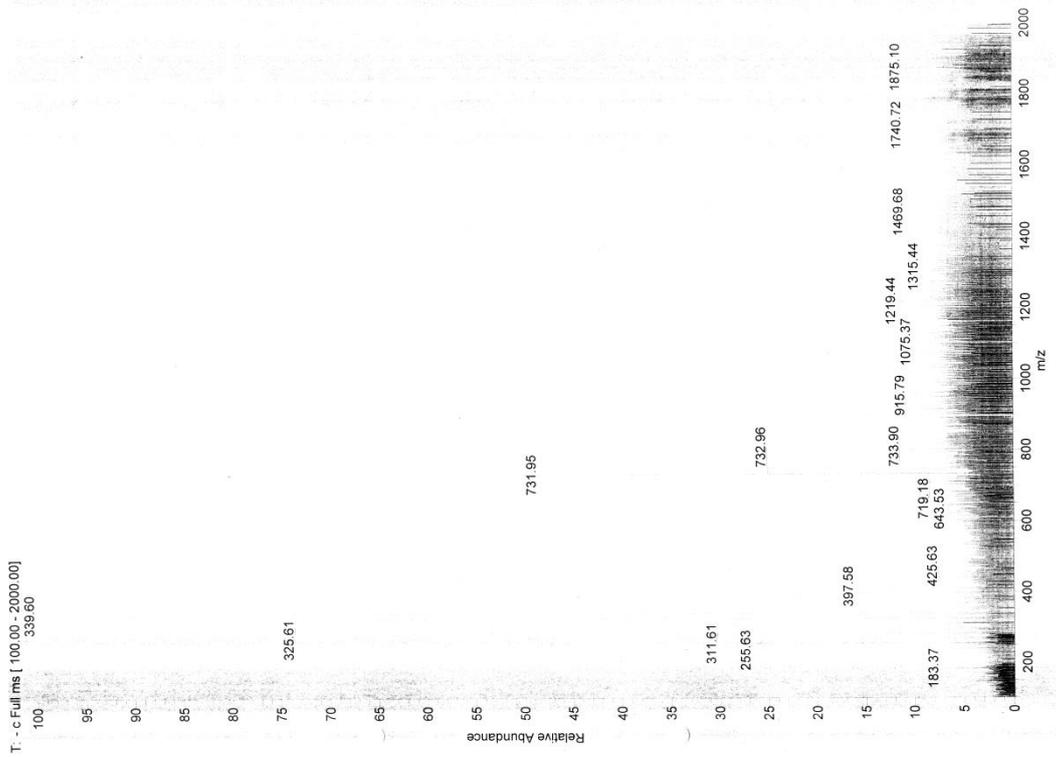
- **Verbindung 35**



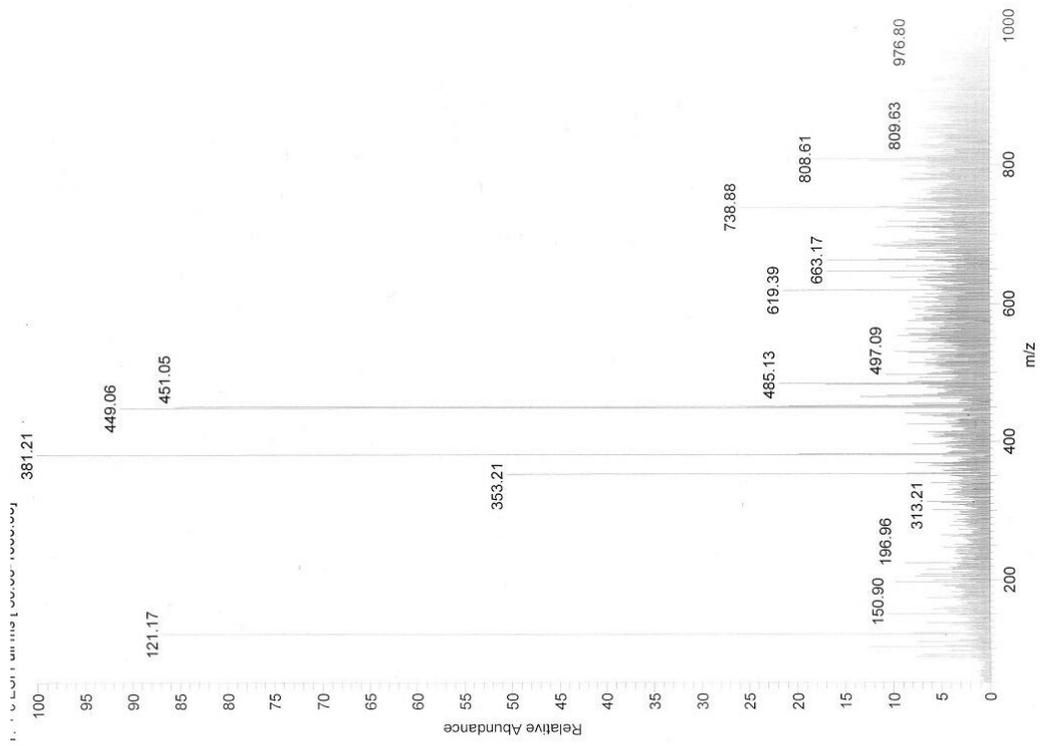
- **Verbindung 37, Rohprodukt Methode 2 (siehe 5.3.5.5)**



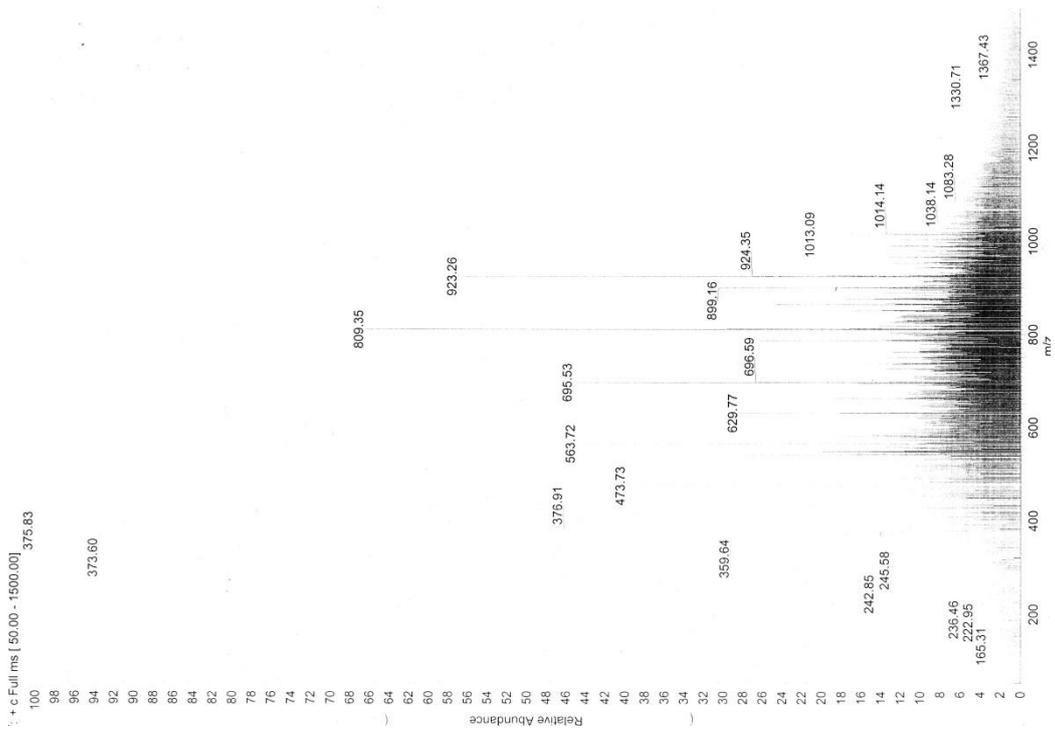
- **Verbindung 37, Rohprodukt Methode 4 (siehe 5.3.5.5)**



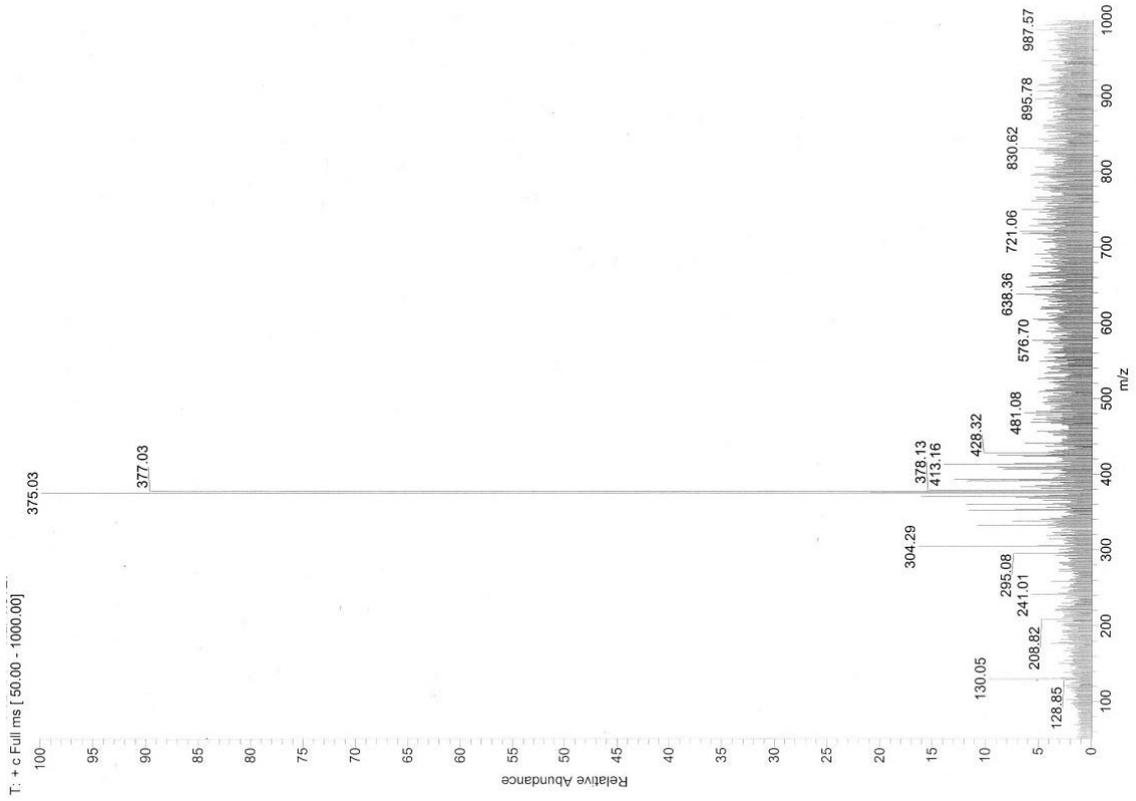
- **Verbindung 38**



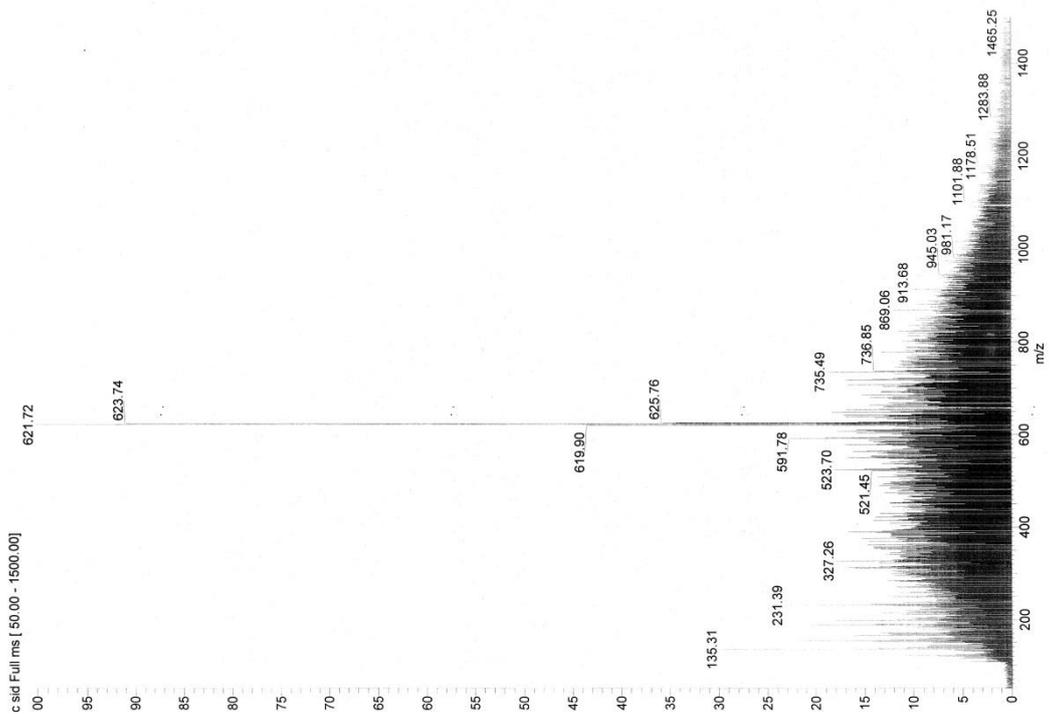
- **Verbindung 39**



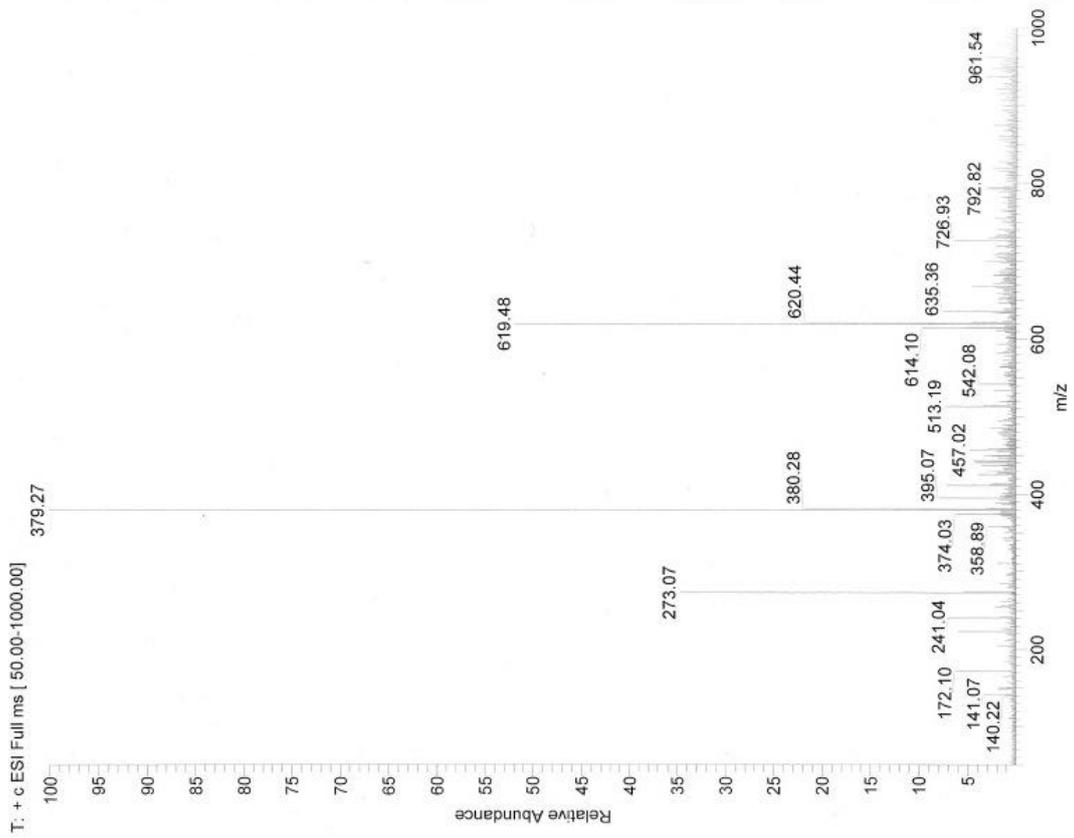
- **Verbindung 40**



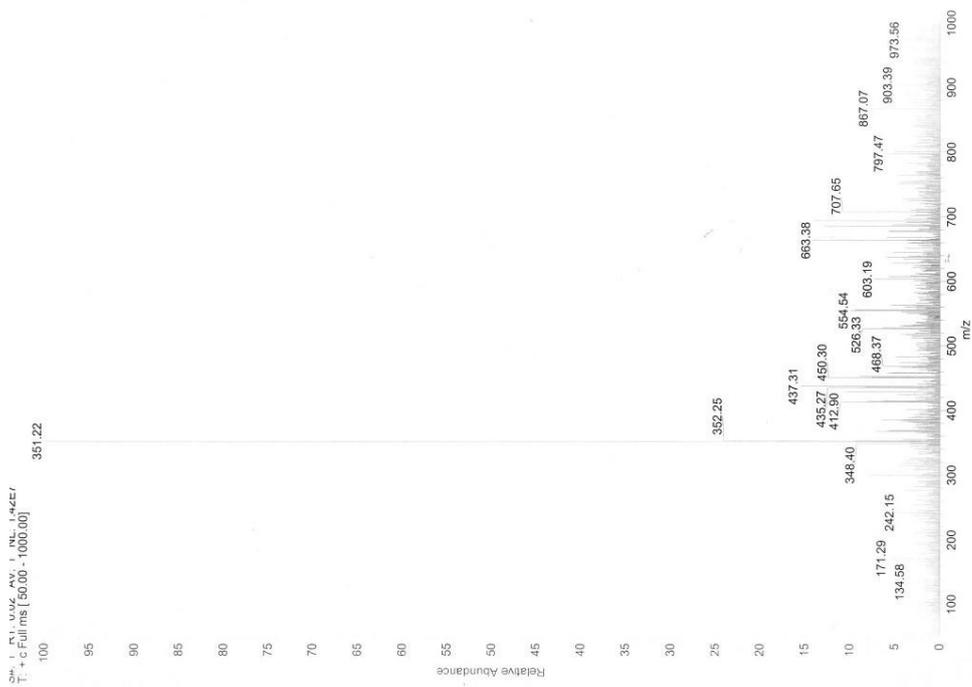
- **Verbindung 41**



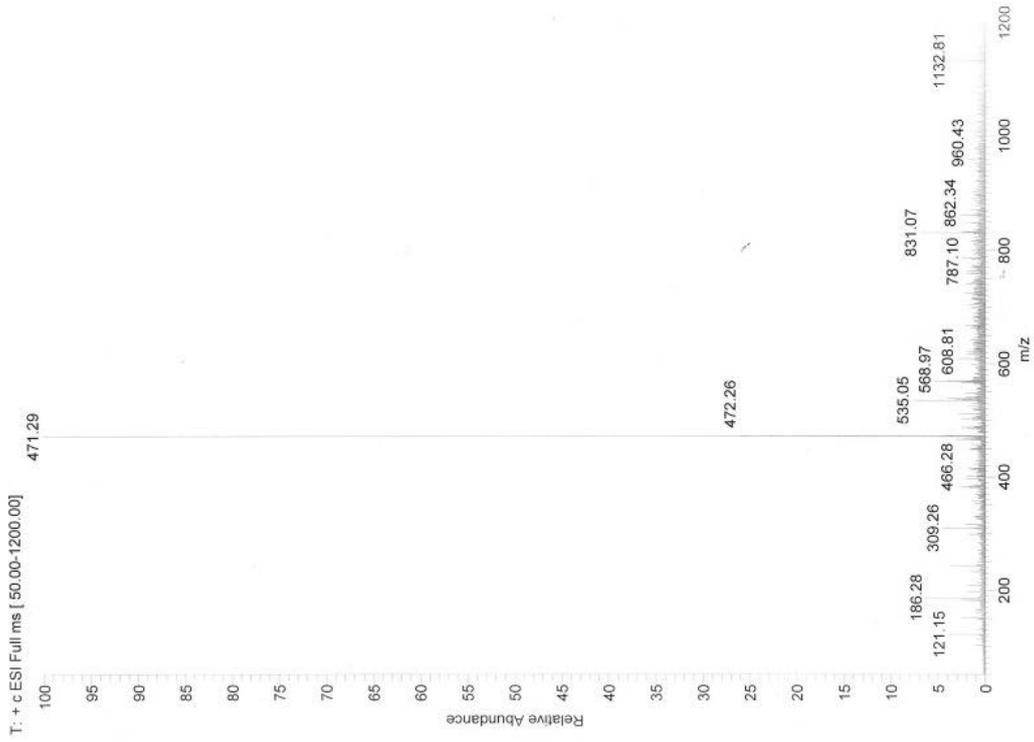
- Verbindung 46



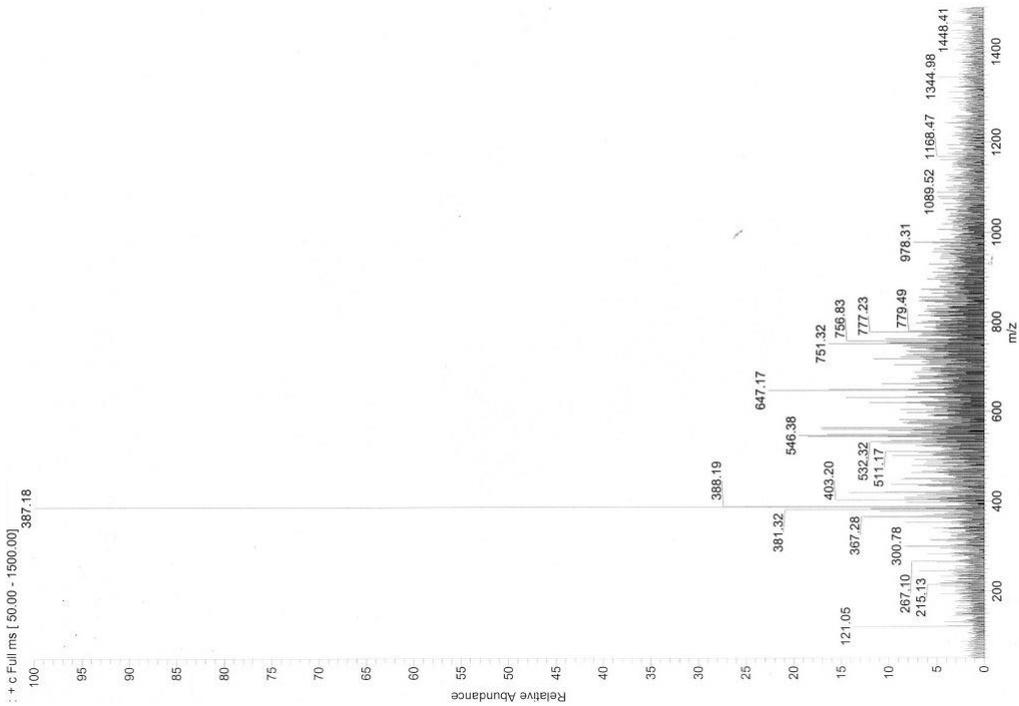
- Verbindung 47



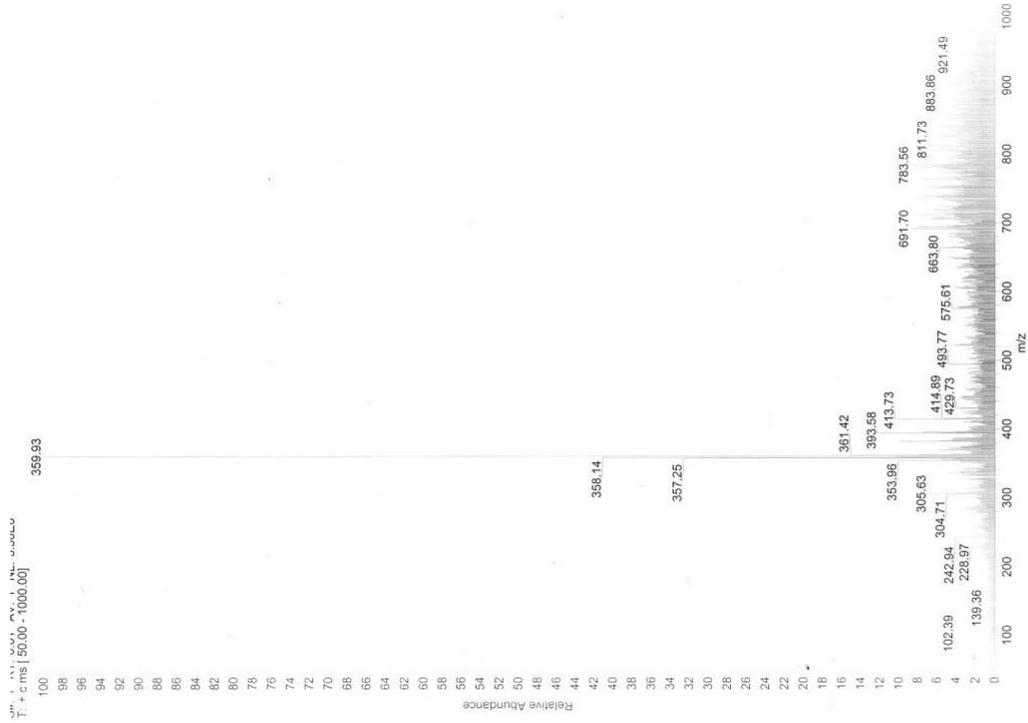
- **Verbindung 48**



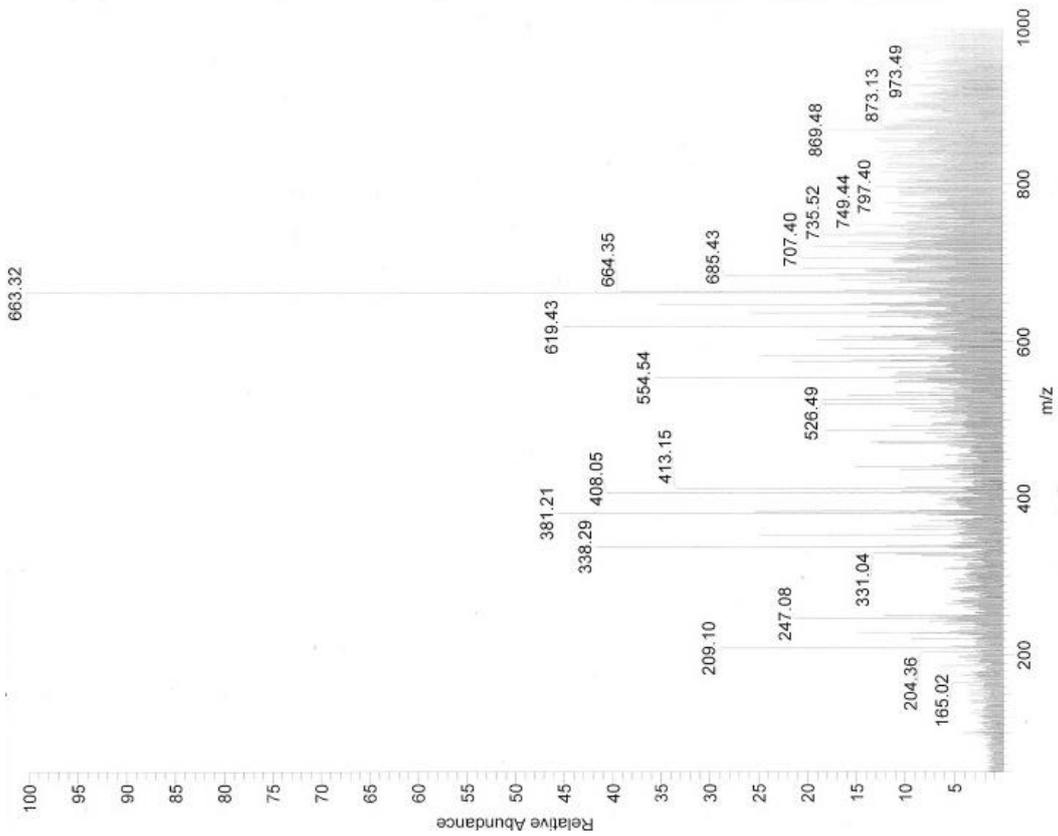
- **Verbindung 50**



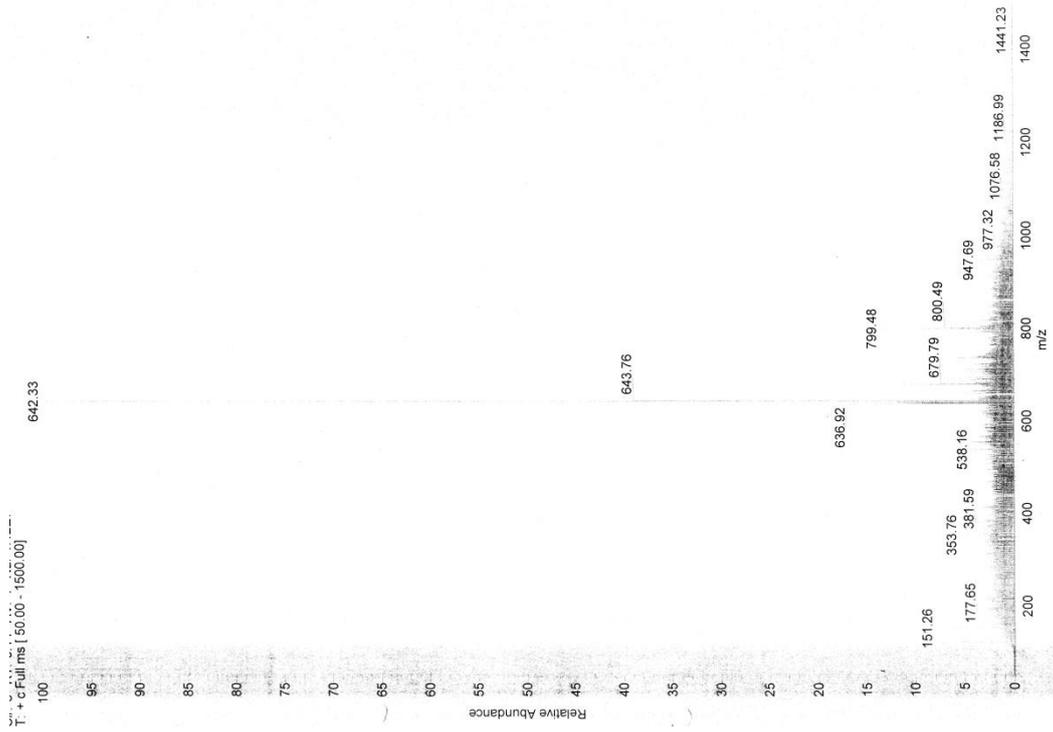
- Verbindung 54



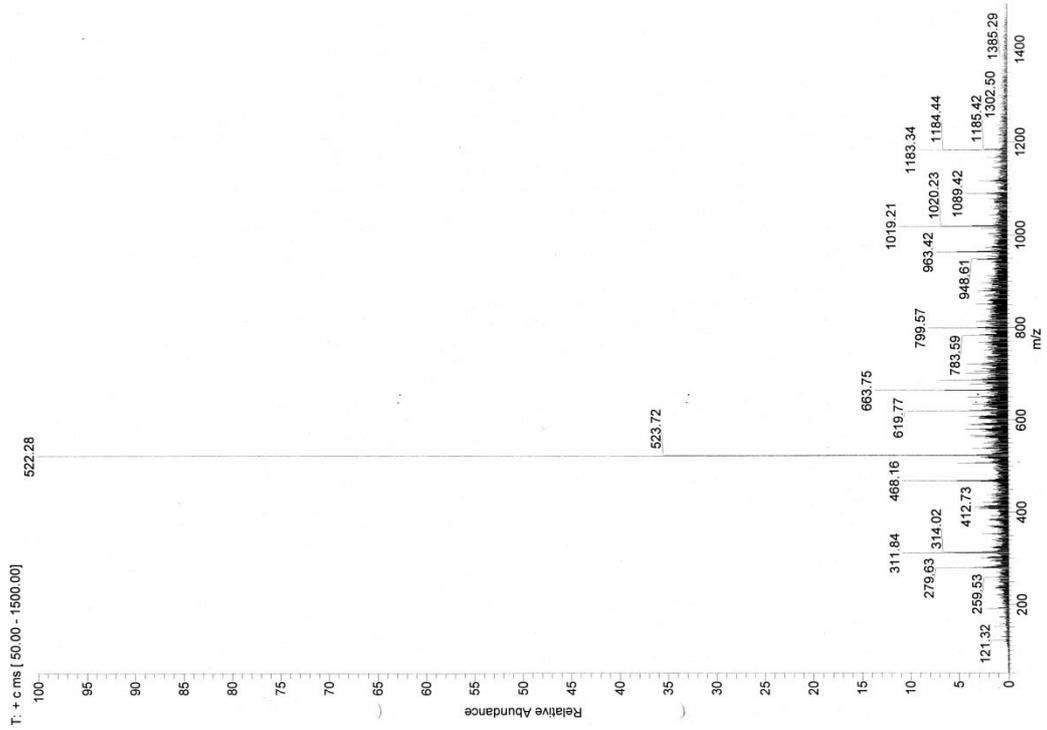
- Verbindung 56



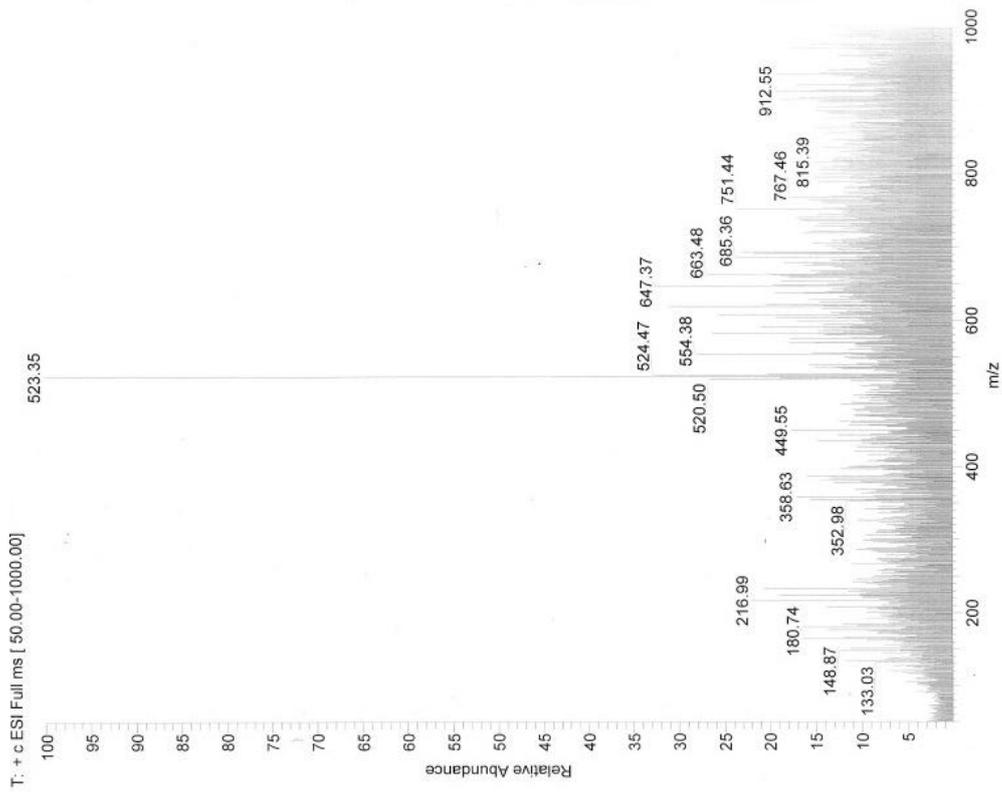
- Verbindung 57



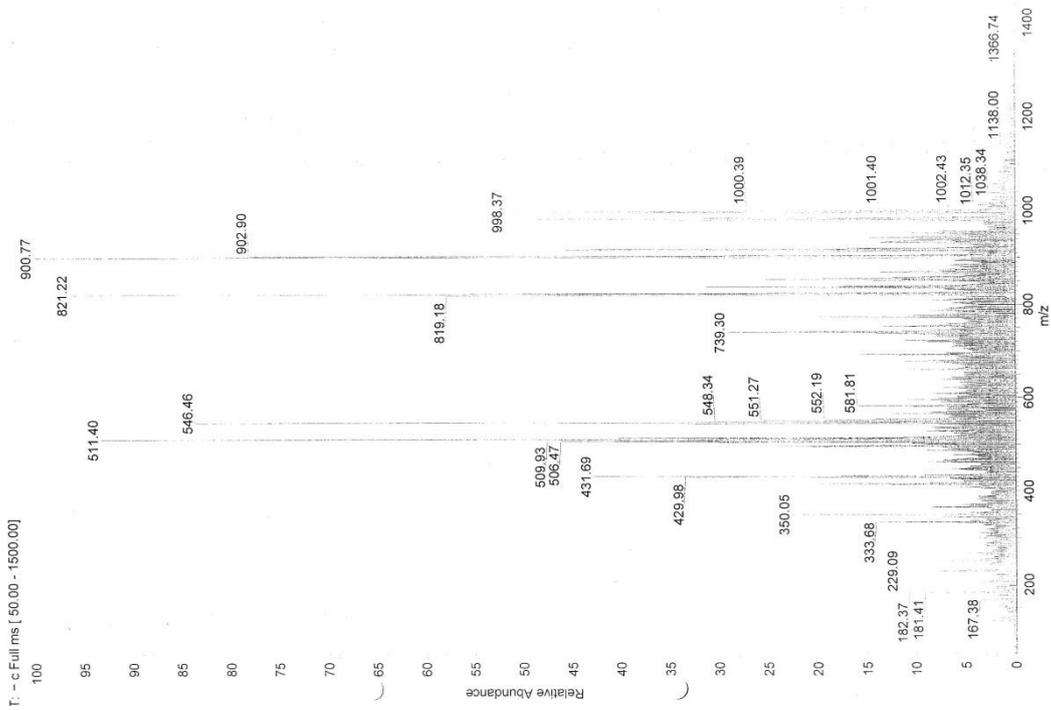
- Verbindung 59



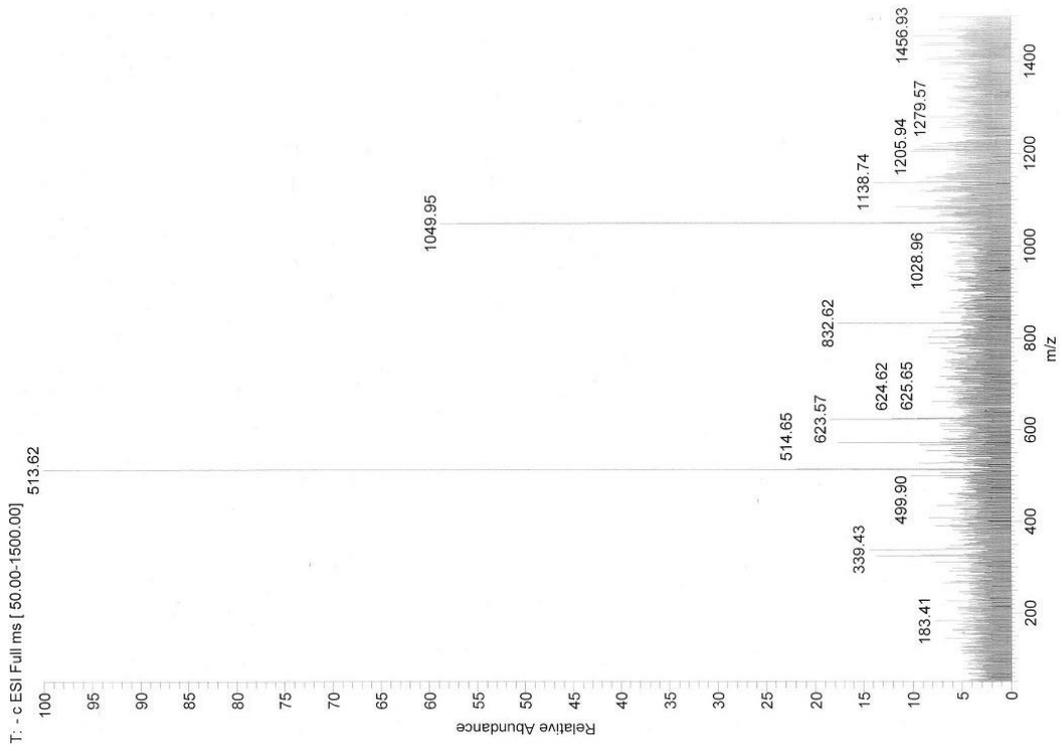
- Verbindung 60



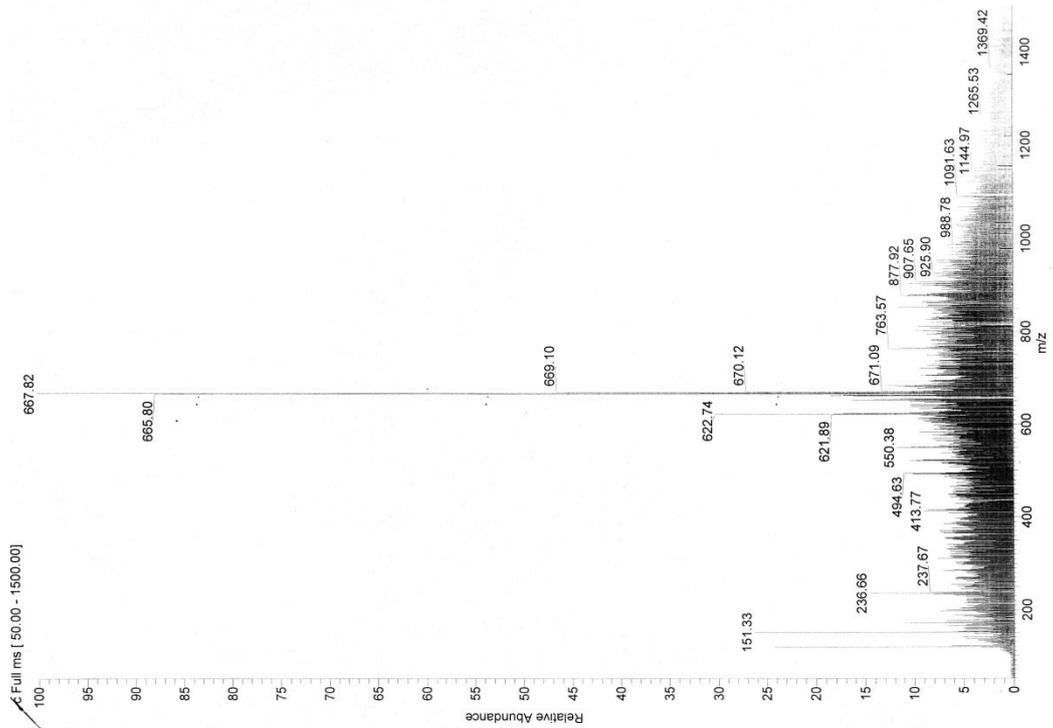
- Verbindung 61



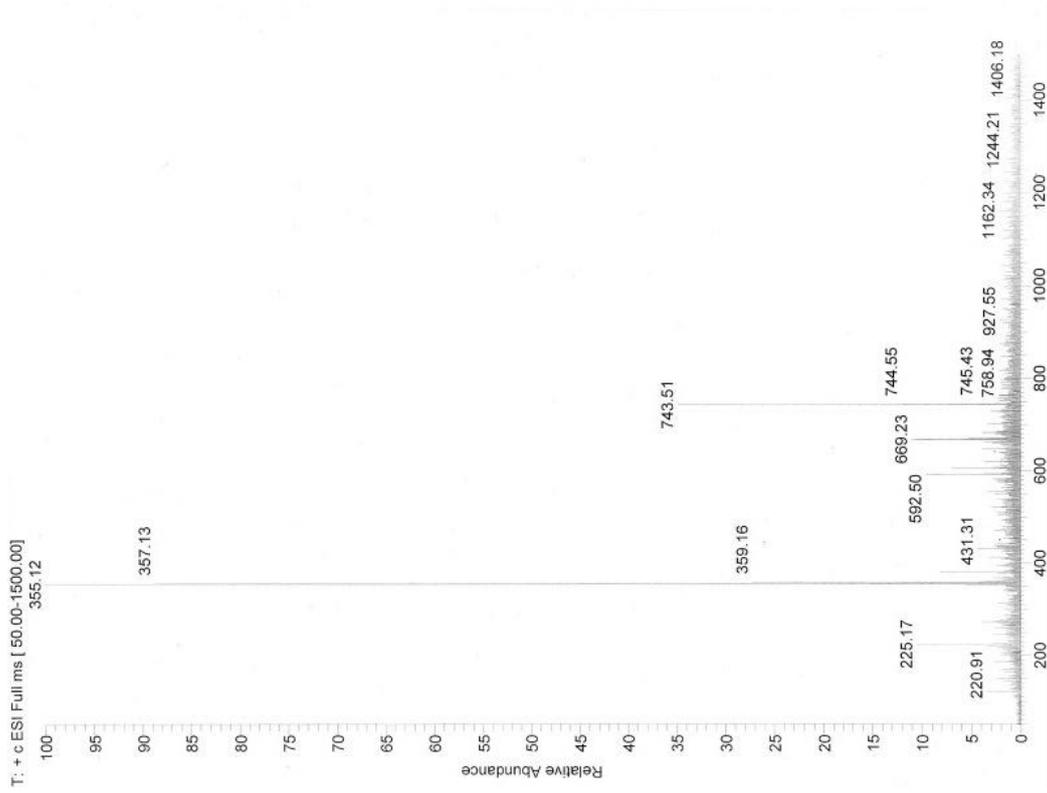
- **Verbindung 62**



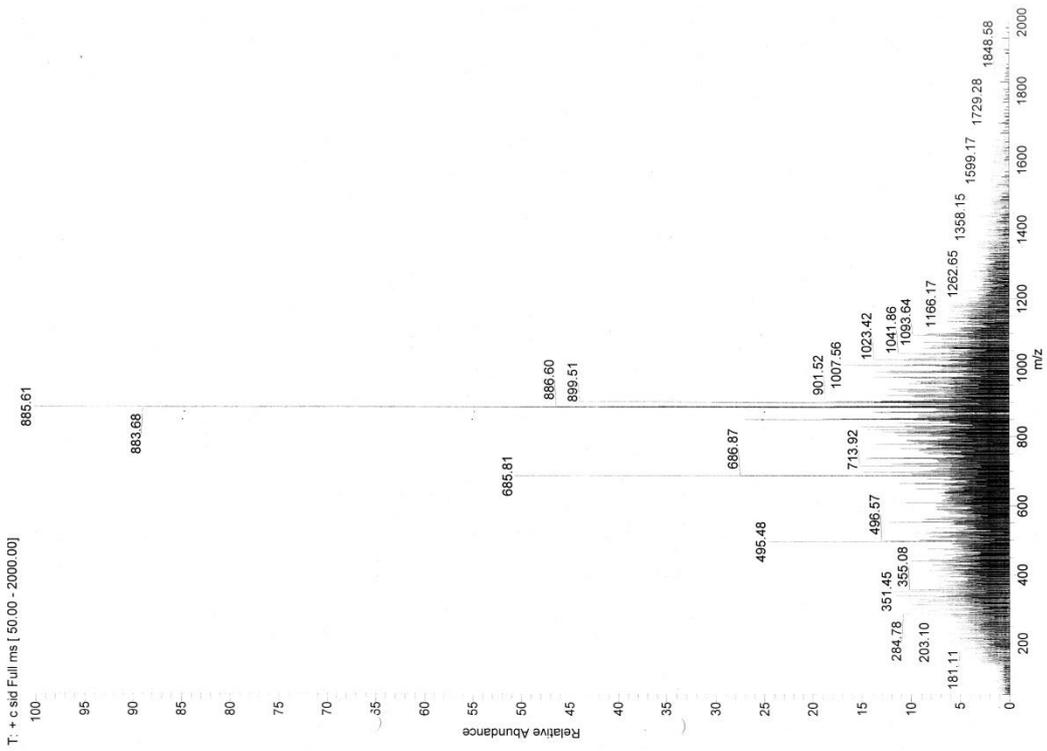
- **Verbindung 63**



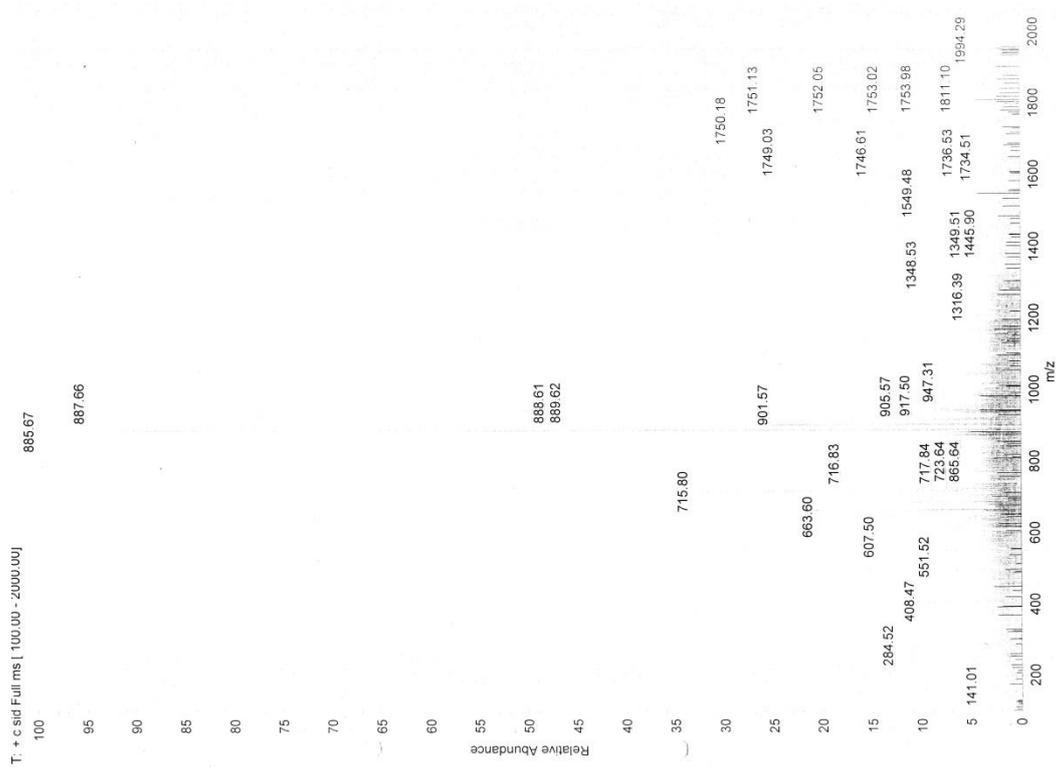
- Verbindung 64



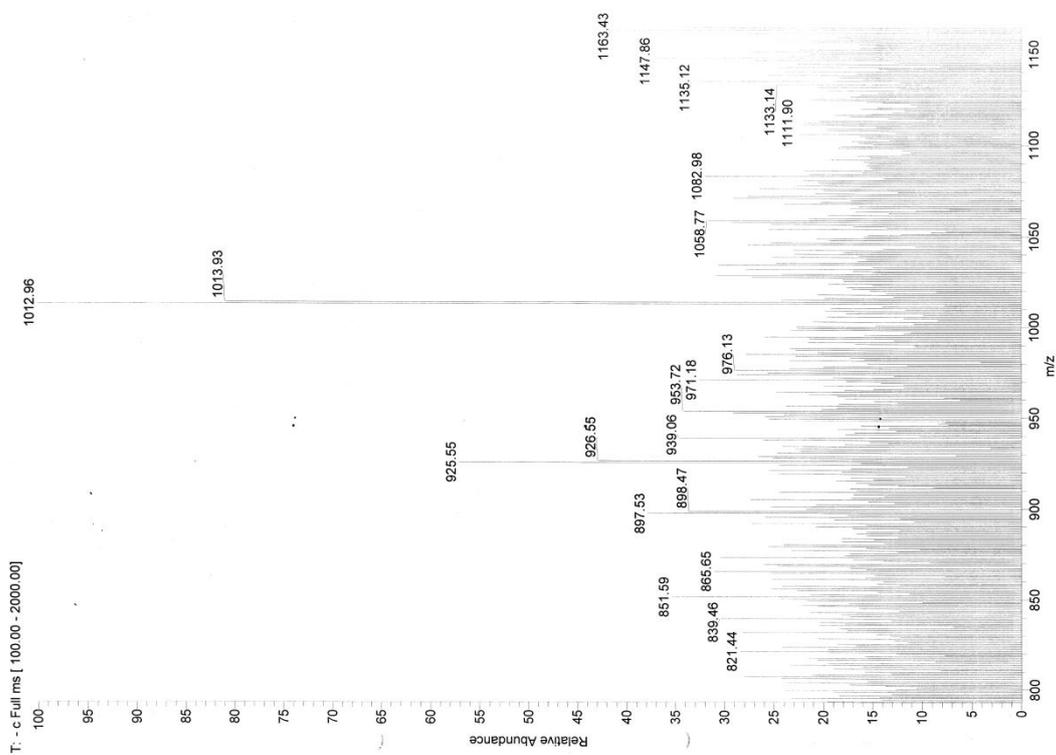
- Verbindung 65



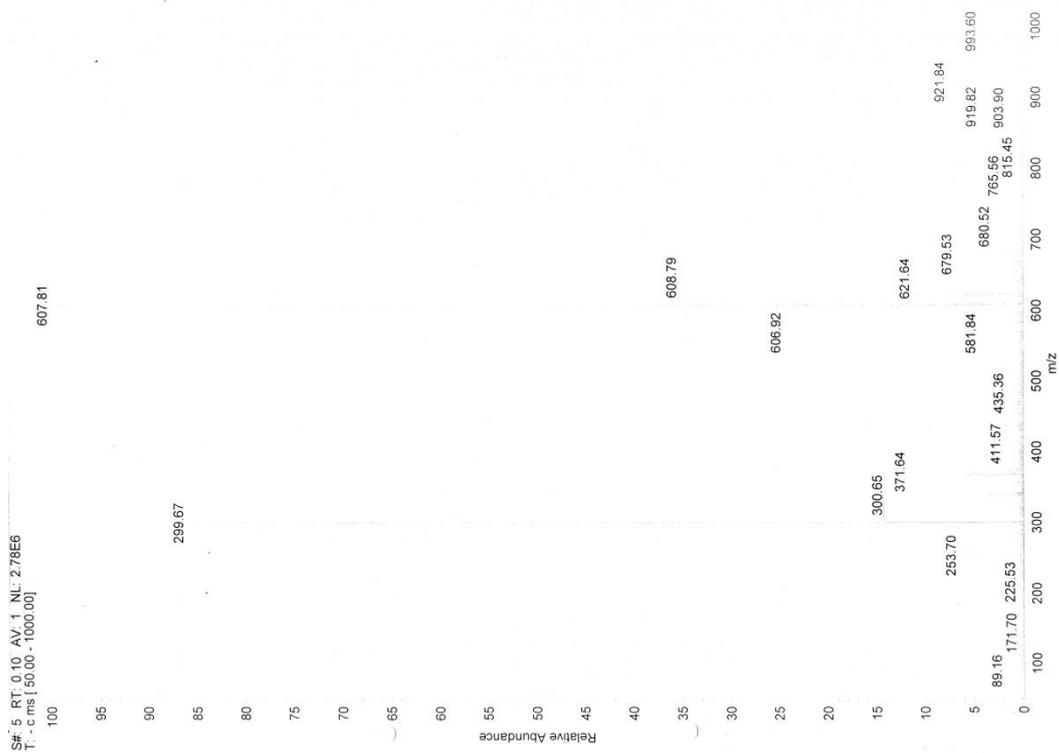
- **Verbindung 66**



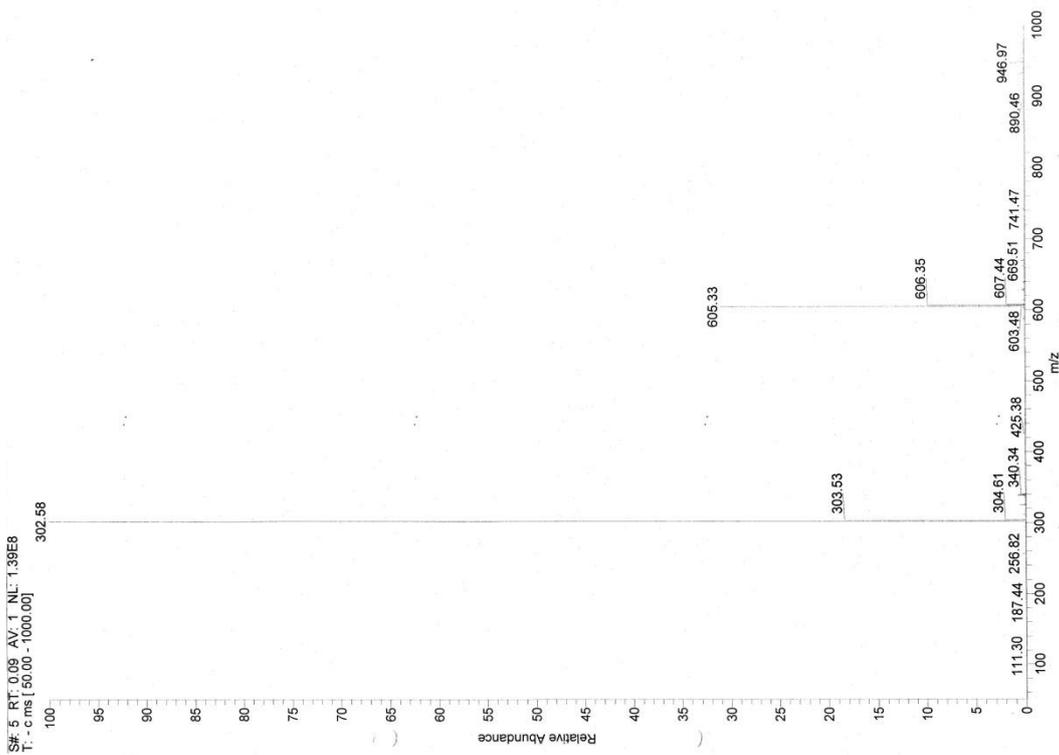
- **Verbindung 67, Rohprodukt Ansatz 4 (siehe 5.3.5.5)**



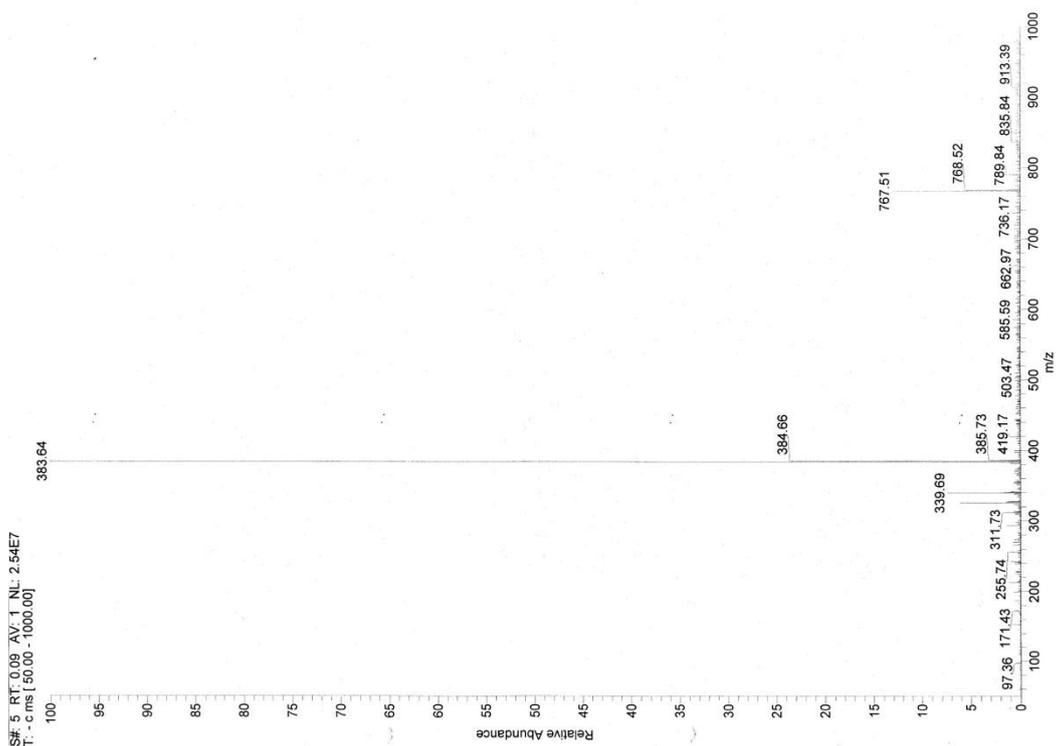
- **Verbindung 75**



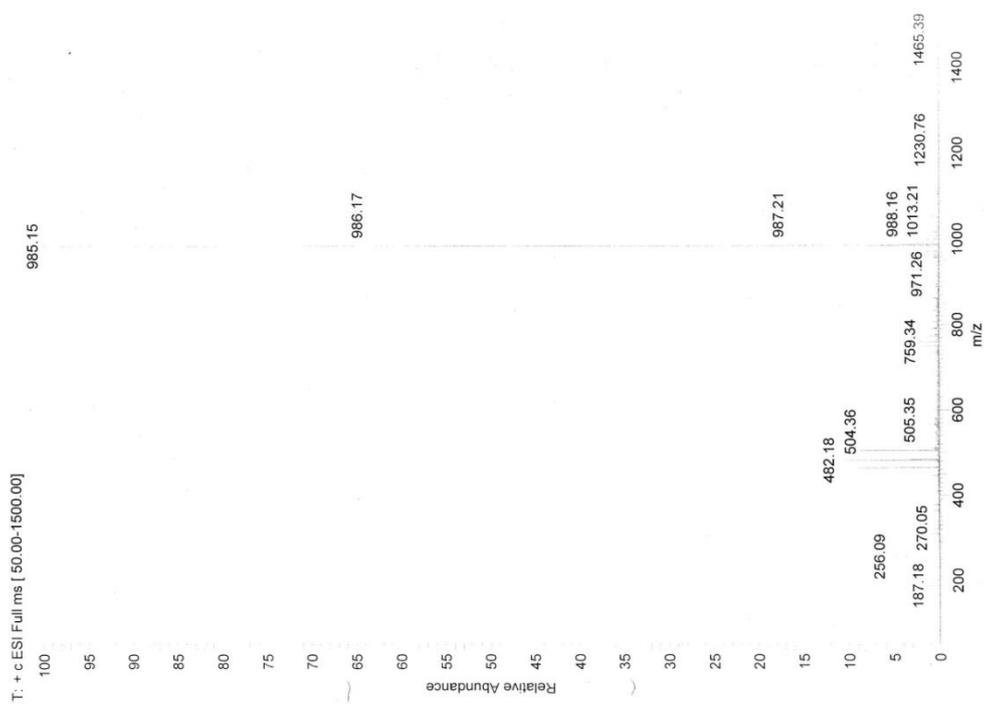
- **Verbindung 76**



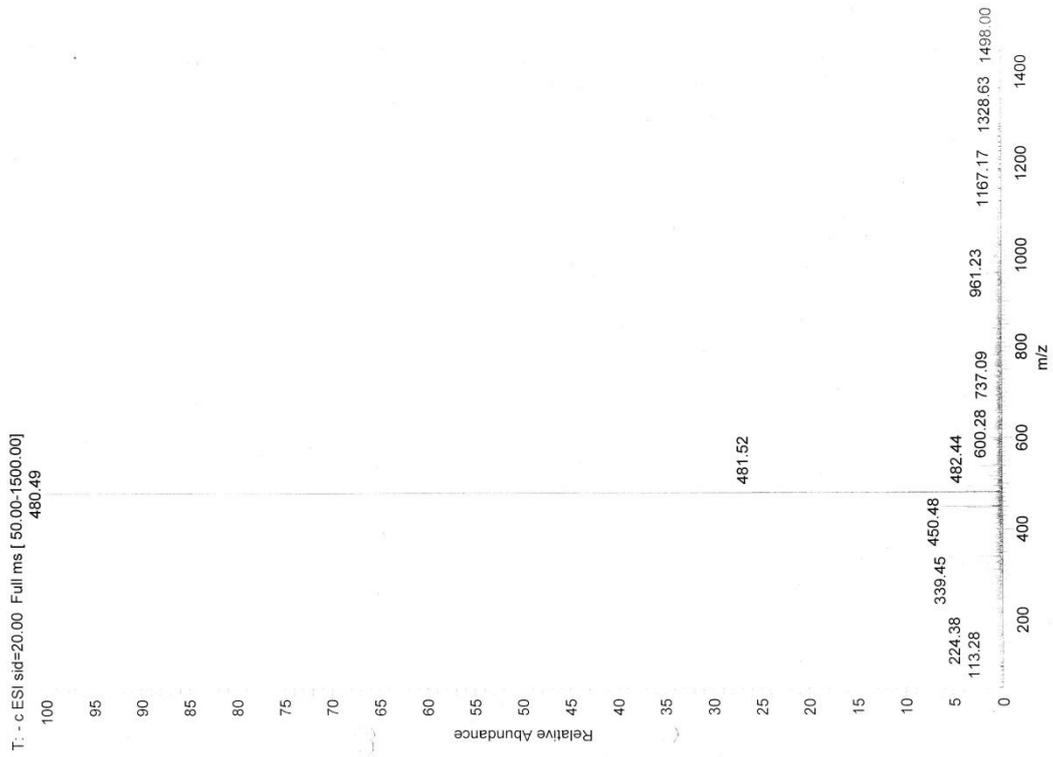
- Verbindung 77



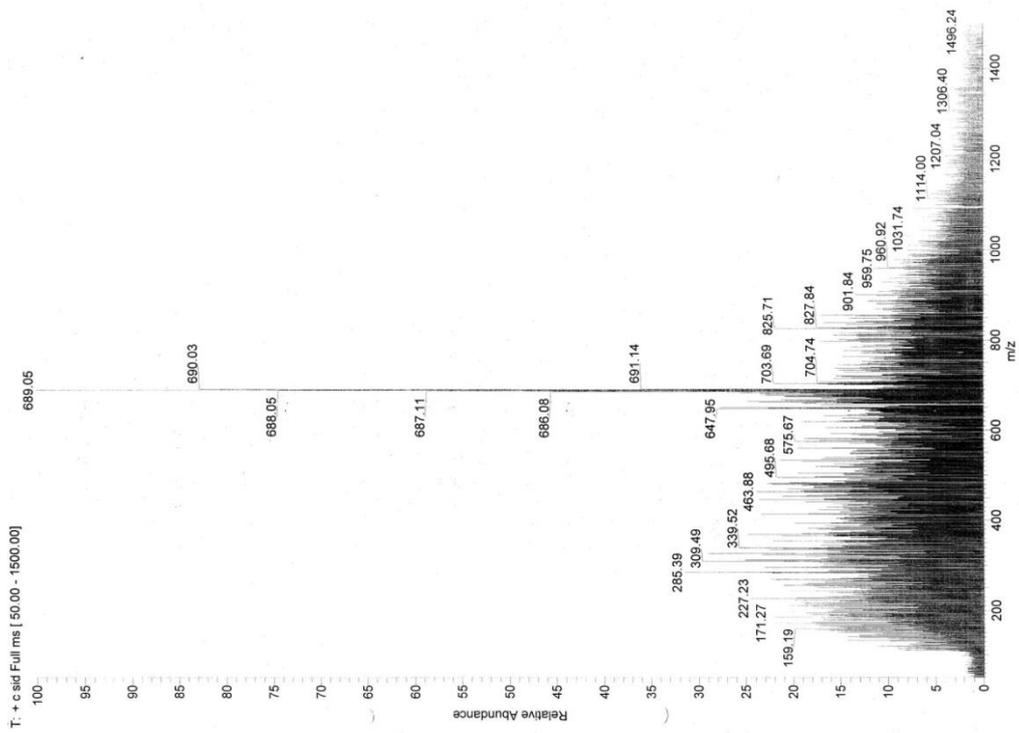
- Verbindung 82 - I



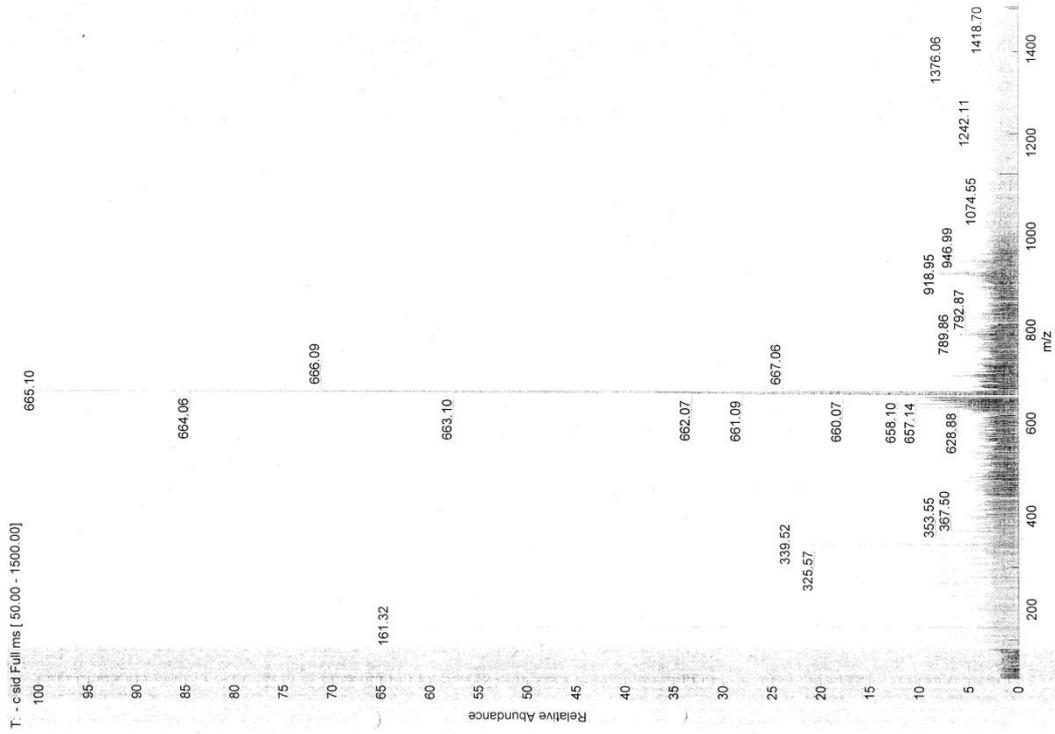
- Verbindung 82 - II



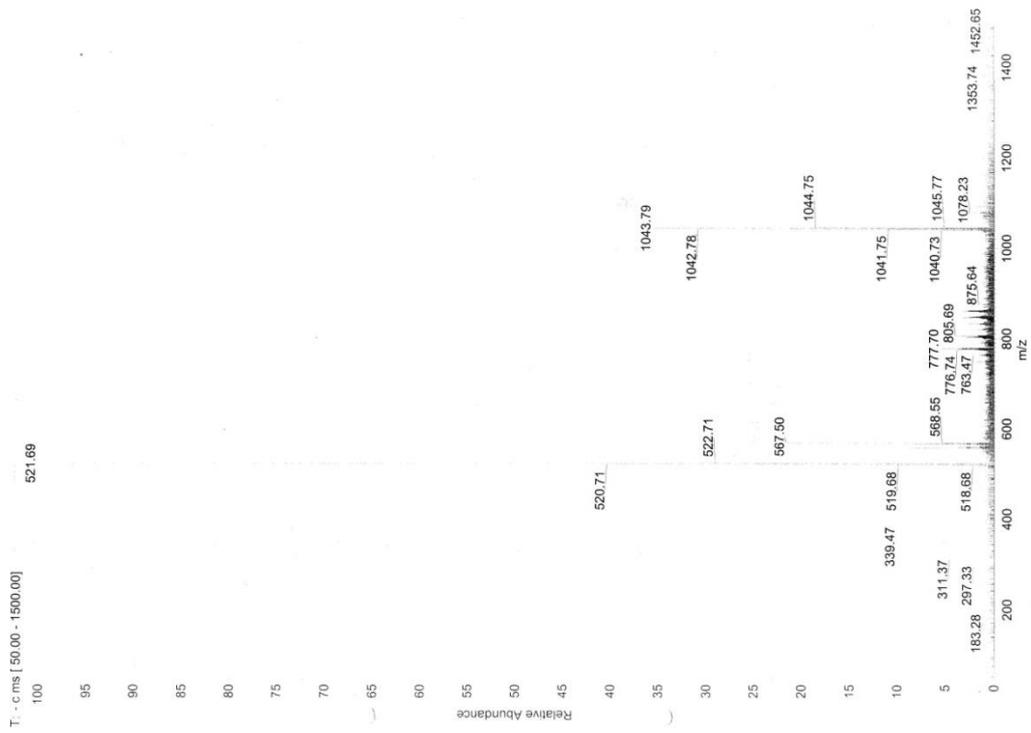
- Verbindung 84 - I



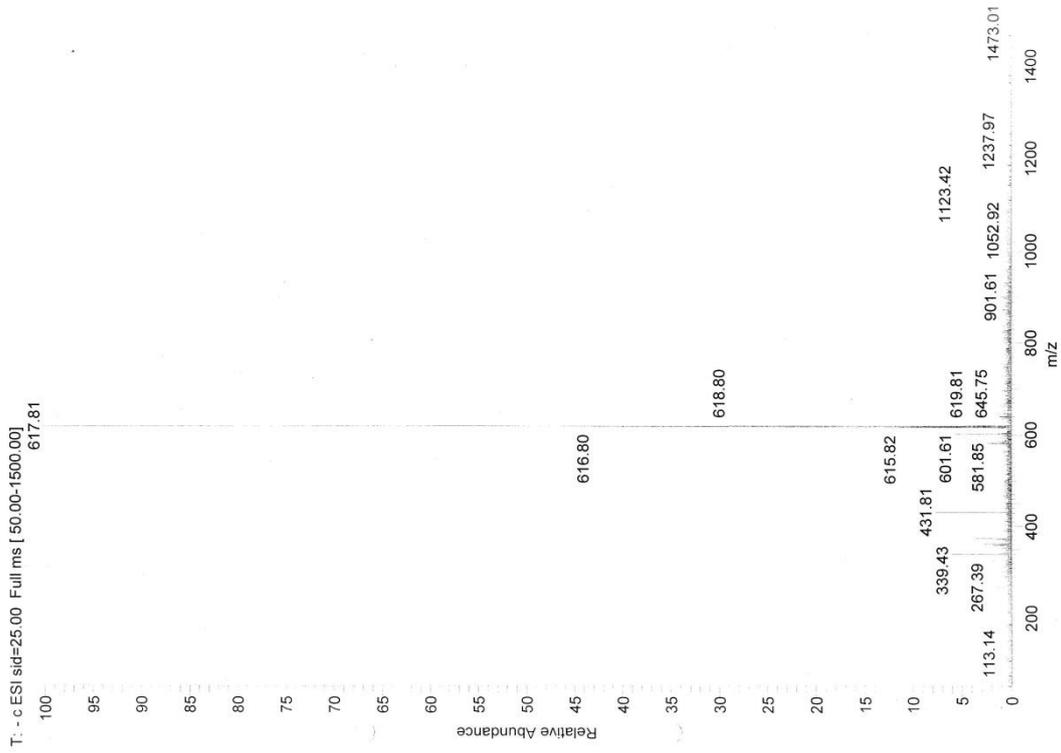
- Verbindung 84 - II



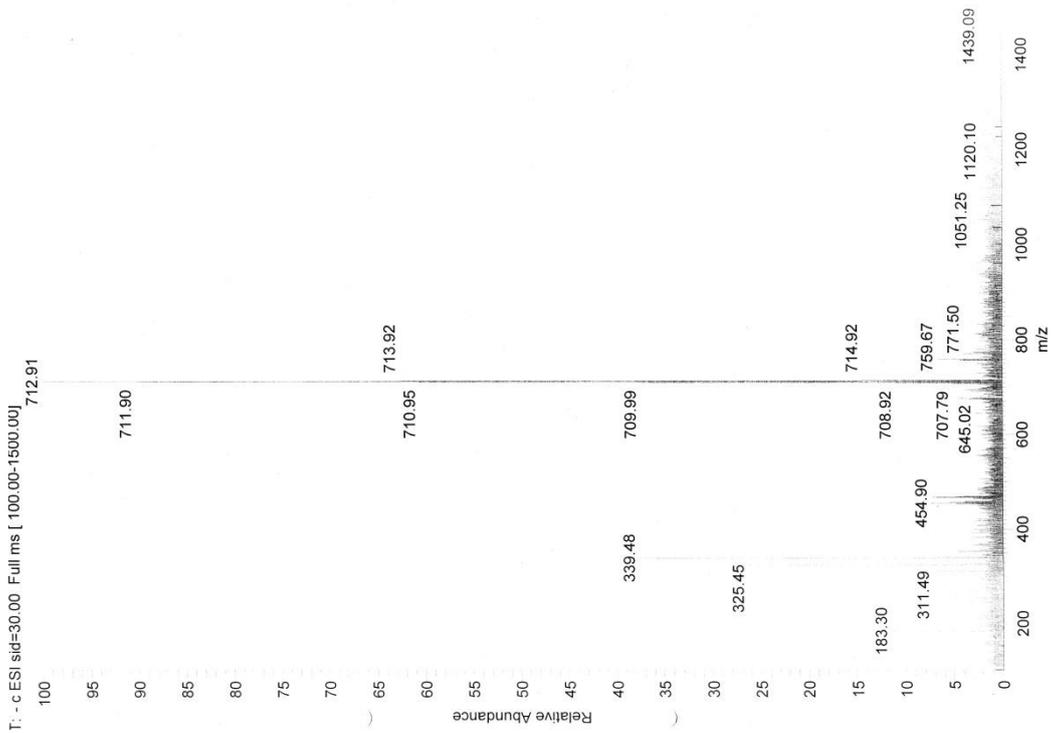
- Verbindung 85



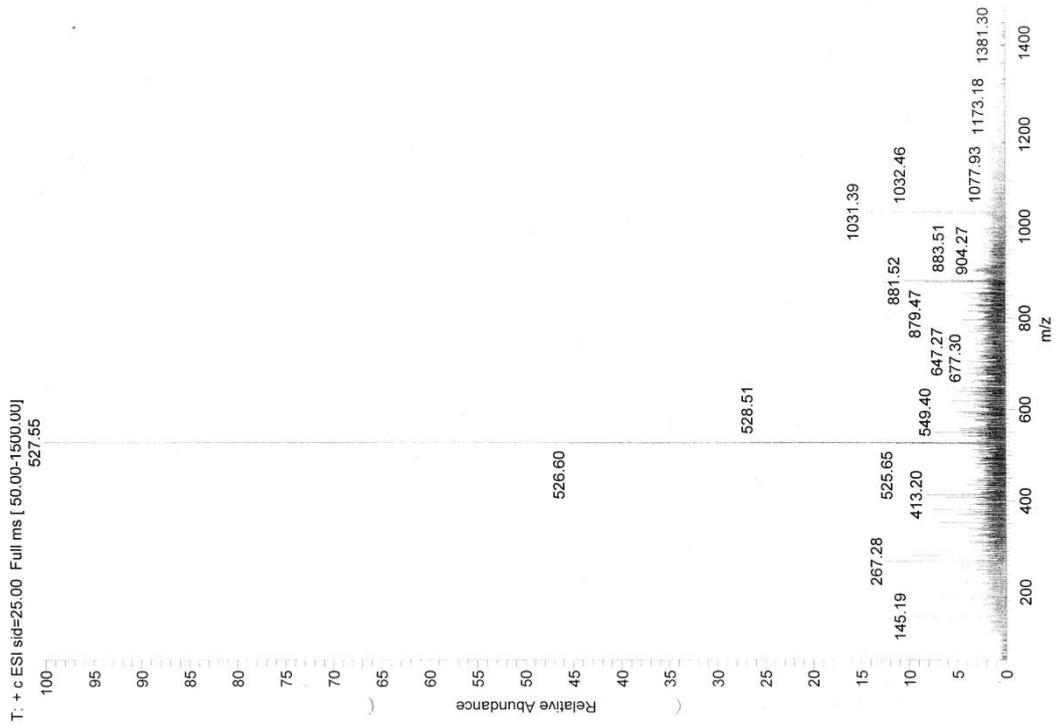
- **Verbindung 86**



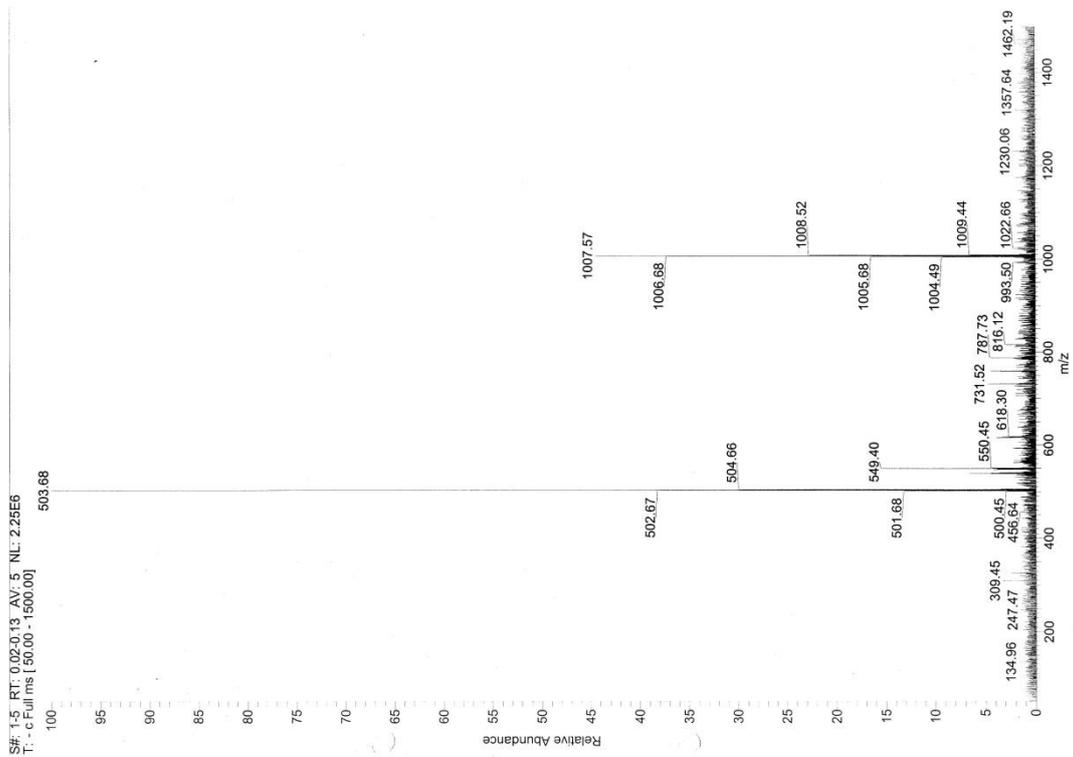
- **Verbindung 87**



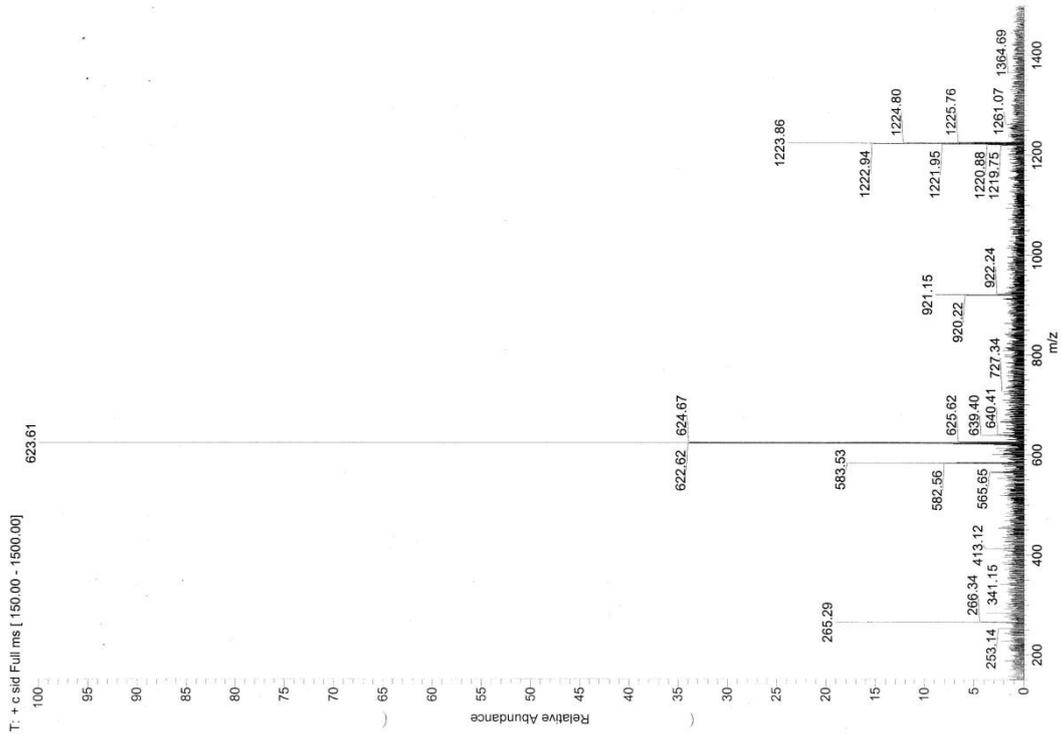
- Verbindung 88 - I



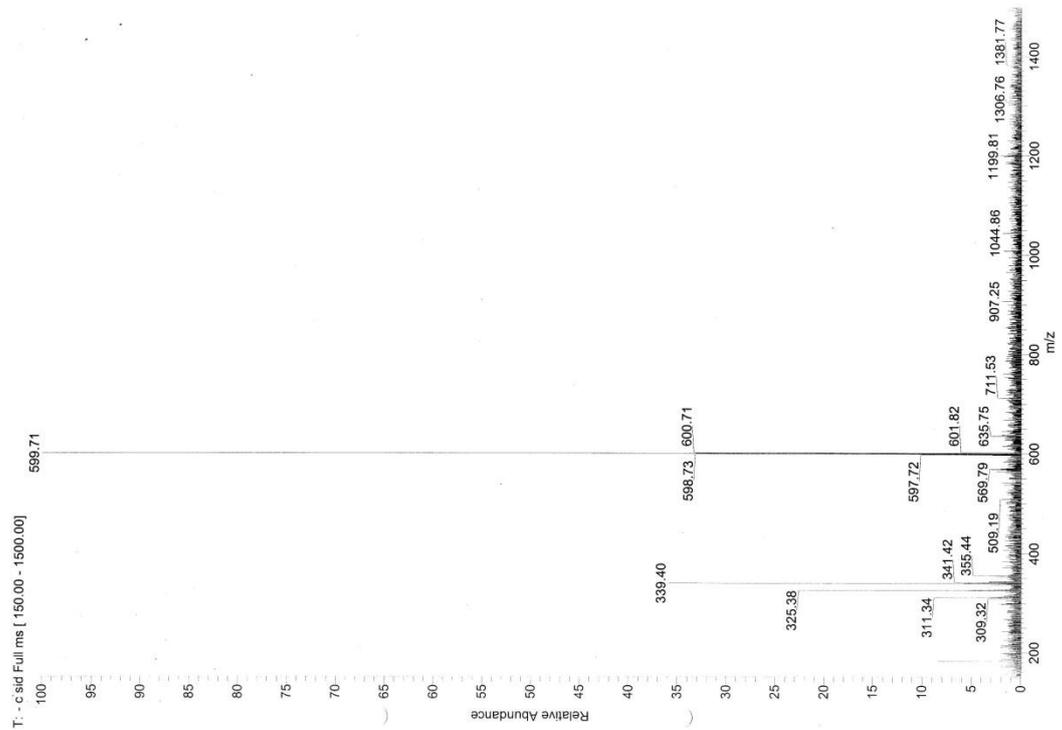
- Verbindung 88 - II



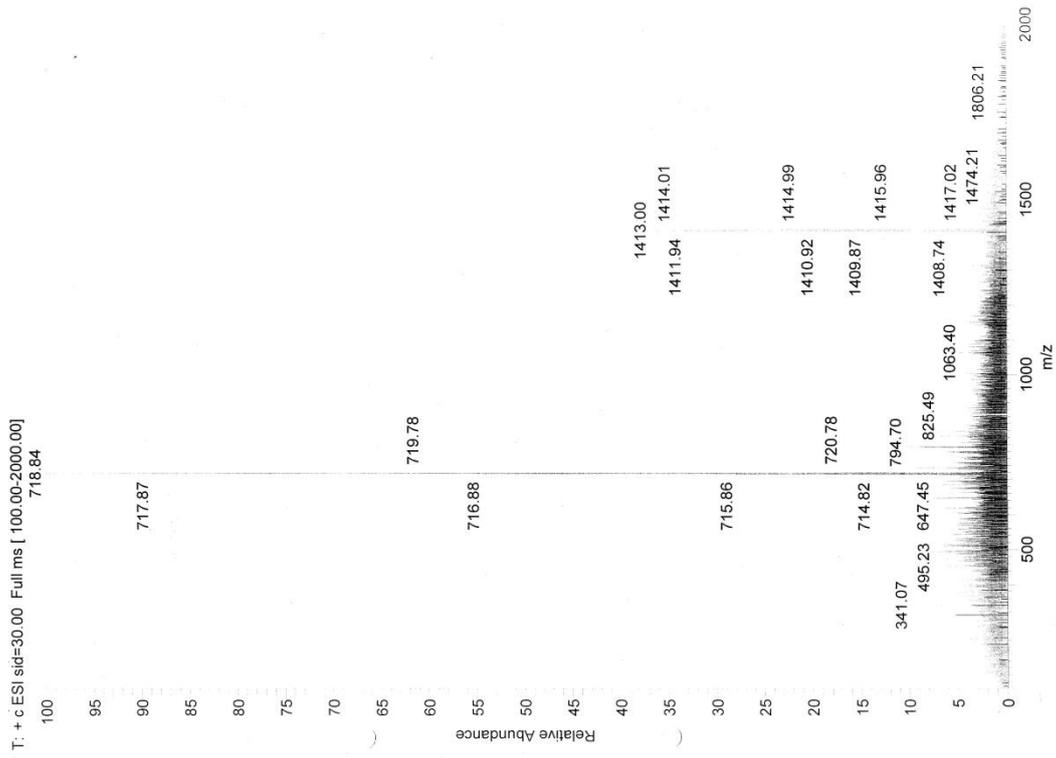
- **Verbindung 89 - I**



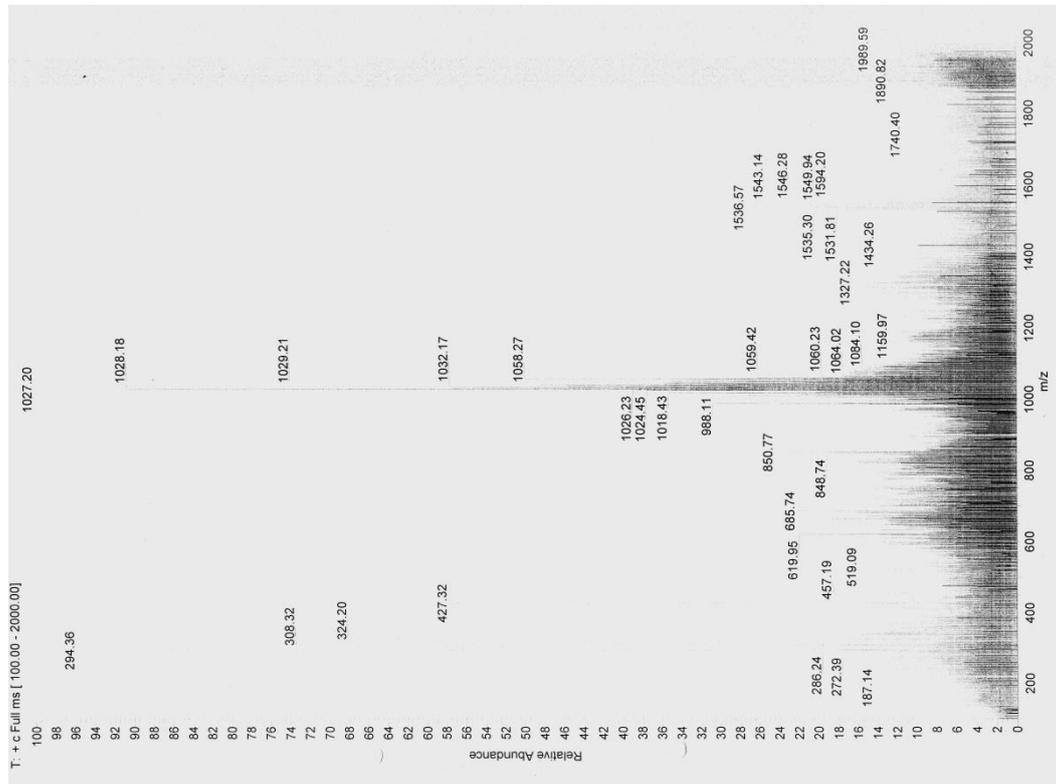
- **Verbindung 89 - II**



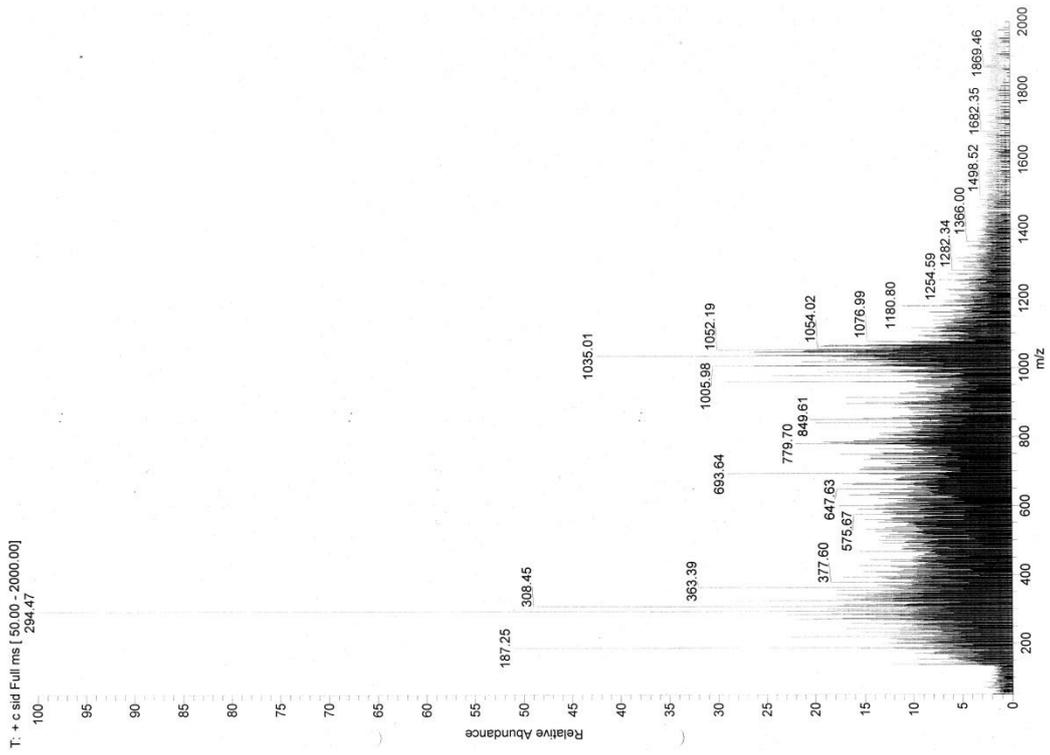
- Verbindung 90



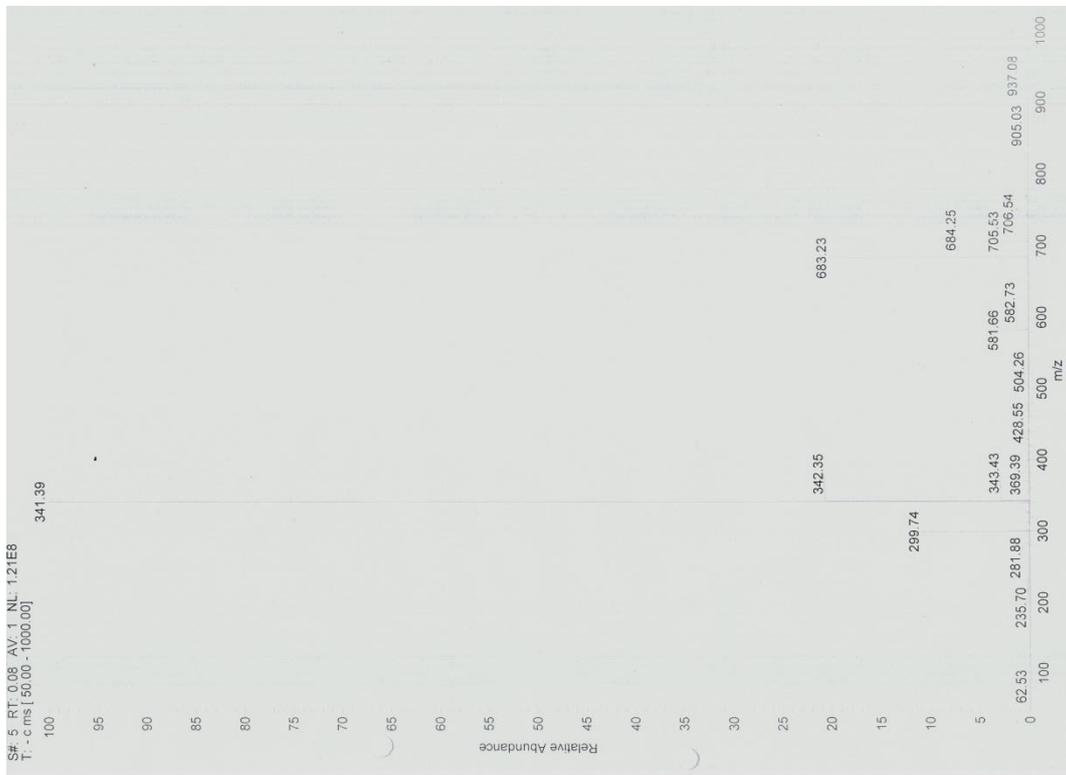
- Verbindung 91



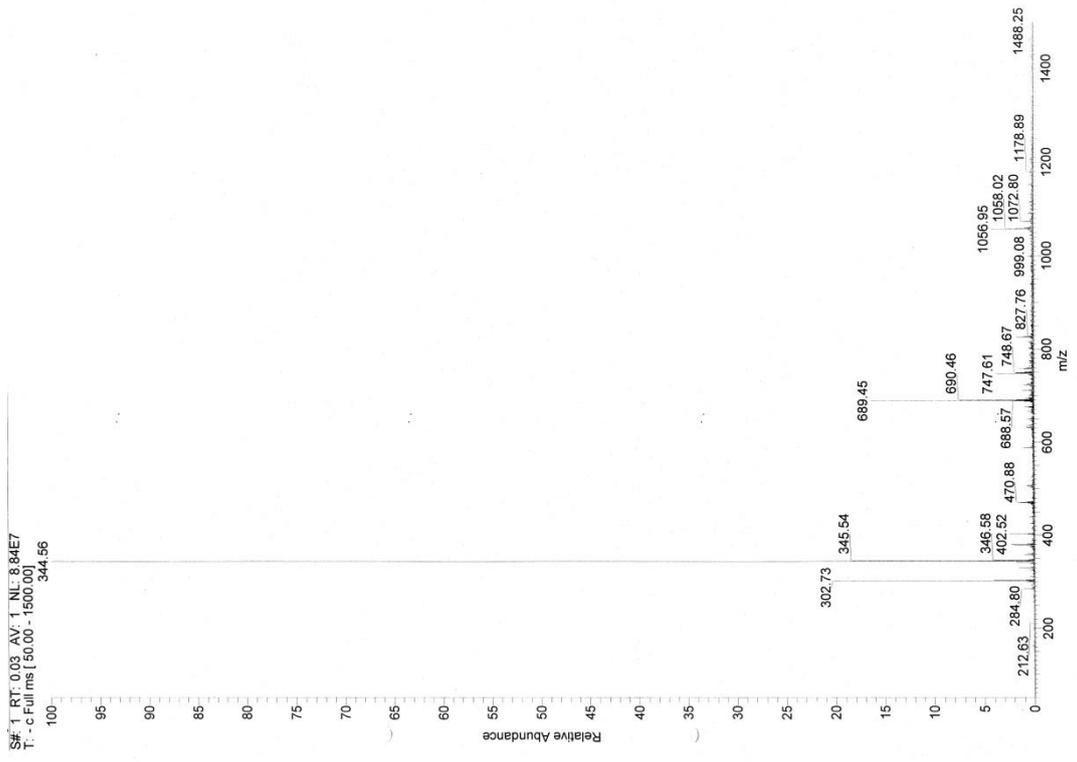
- Verbindung 92



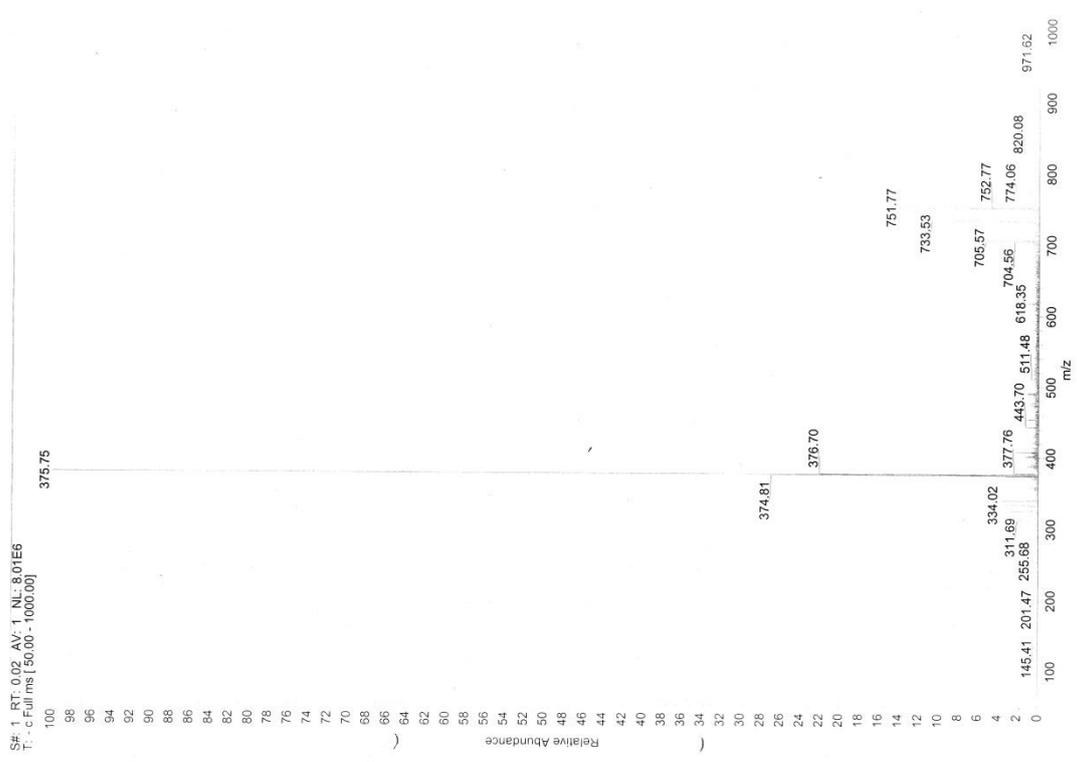
- Verbindung 93



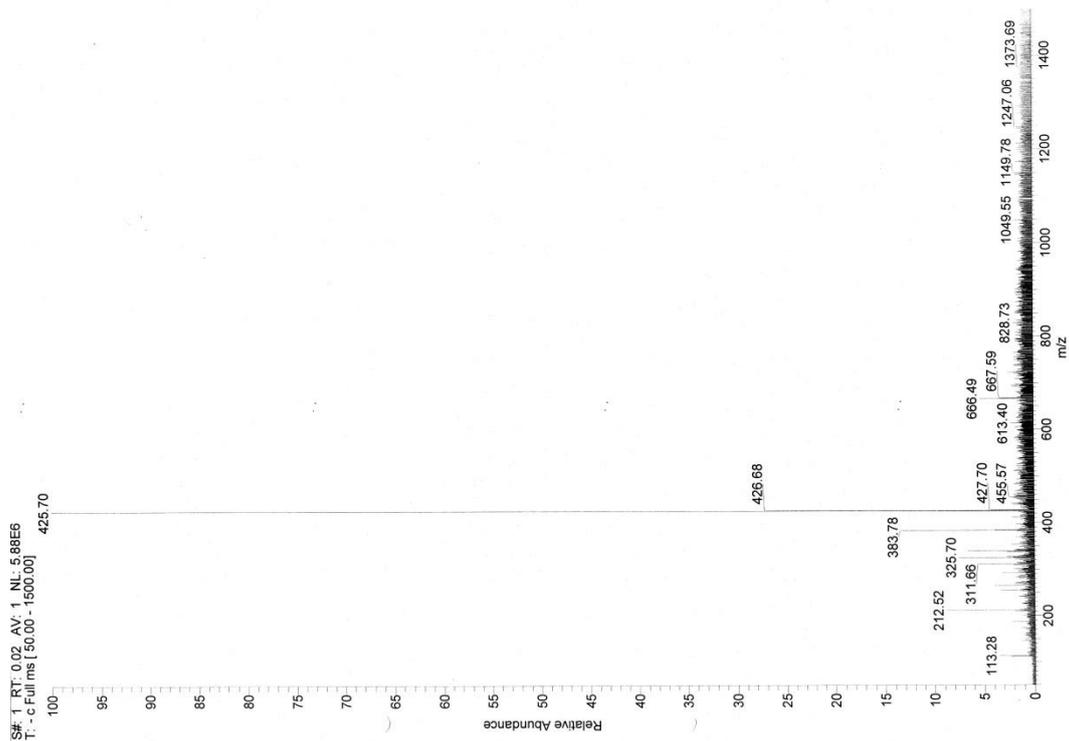
• Verbindung 94



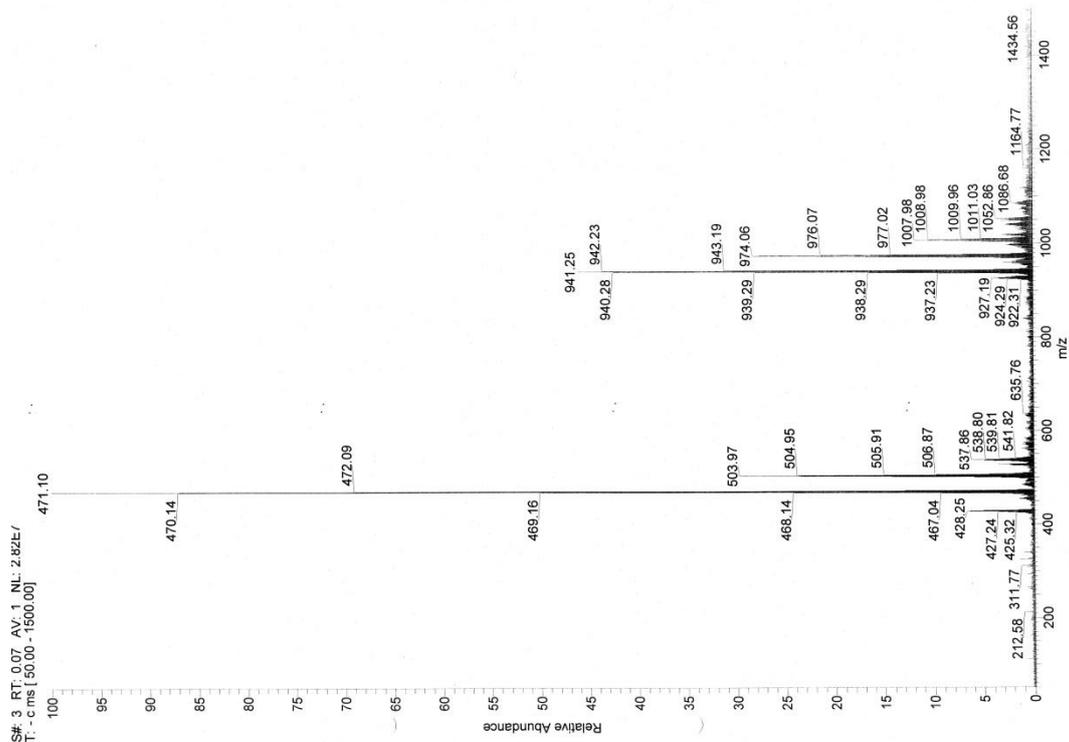
• Verbindung 95



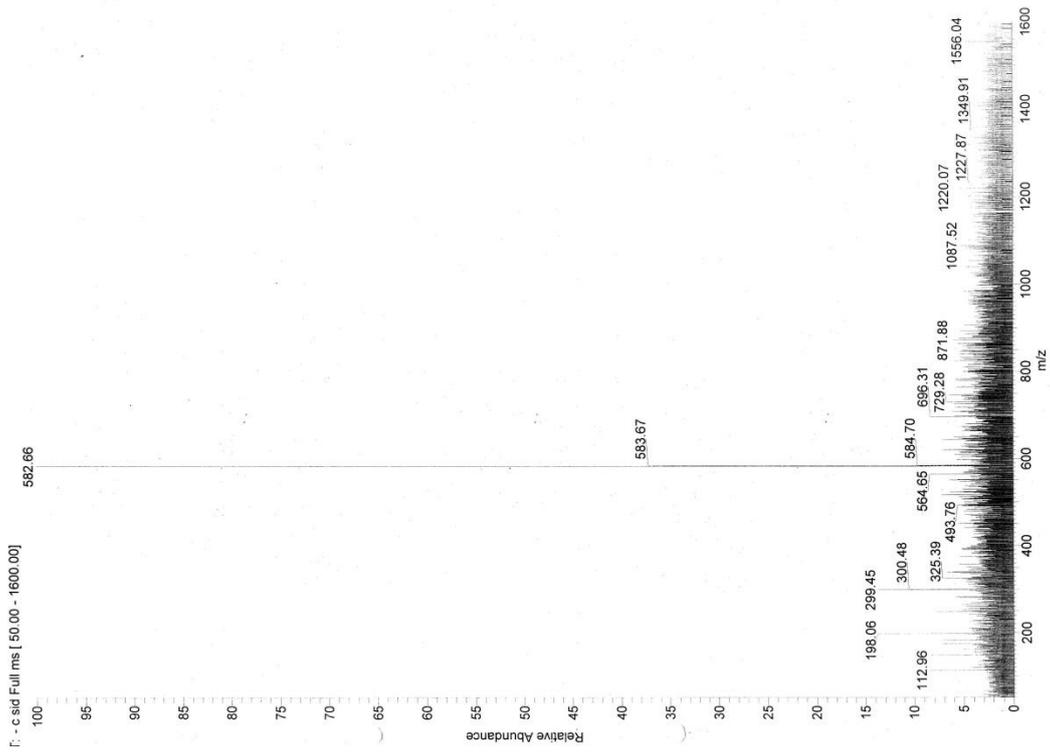
- Verbindung 96



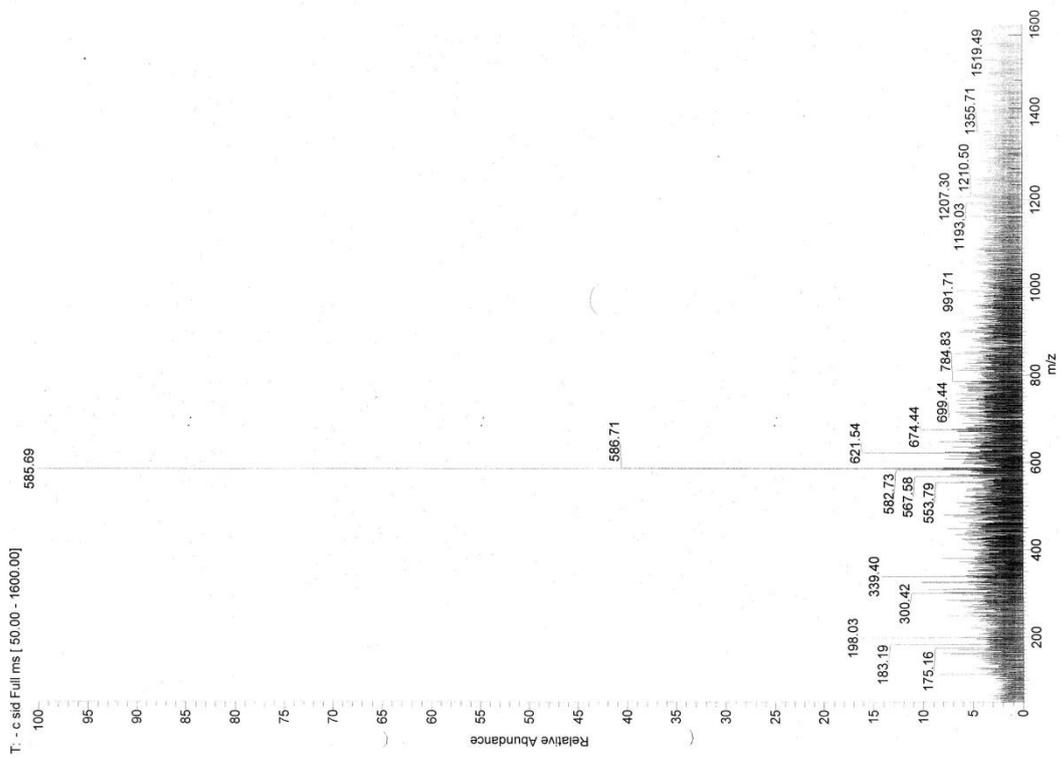
- Verbindung 97



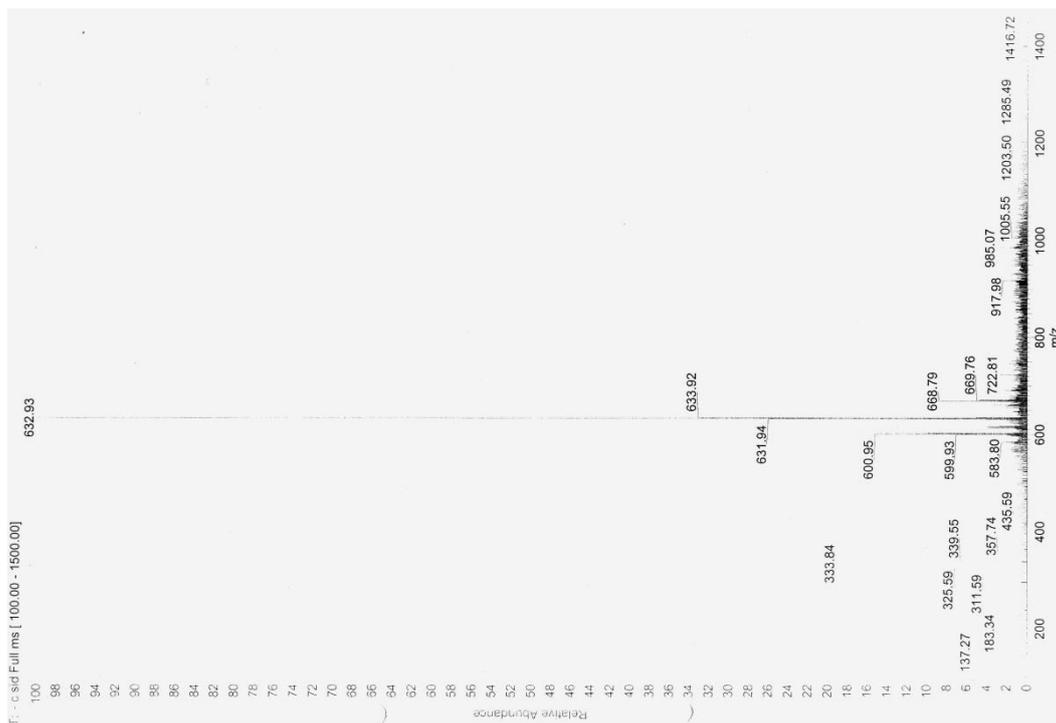
- Verbindung 104



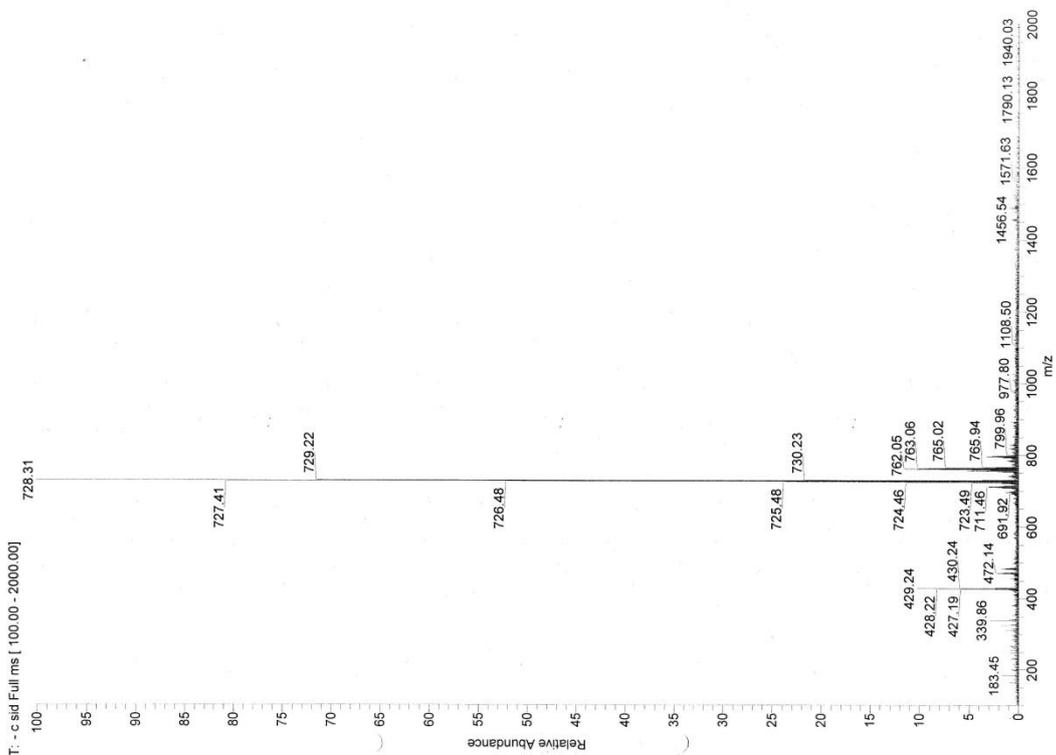
- Verbindung 105



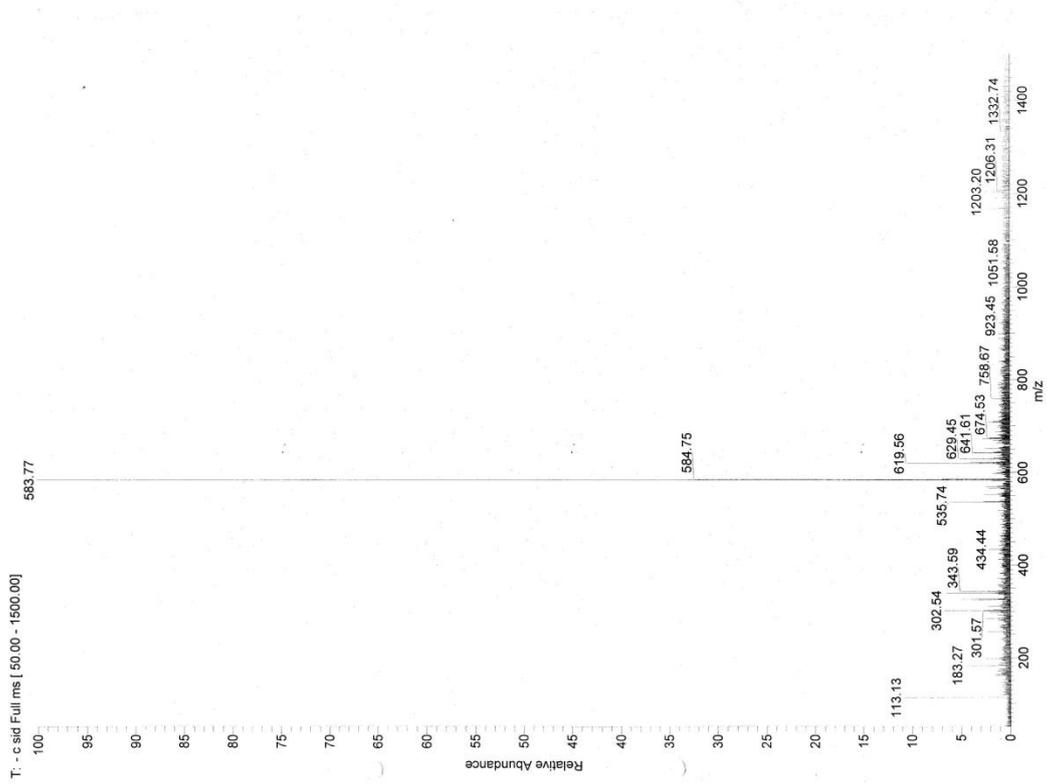
- **Verbindung 107**



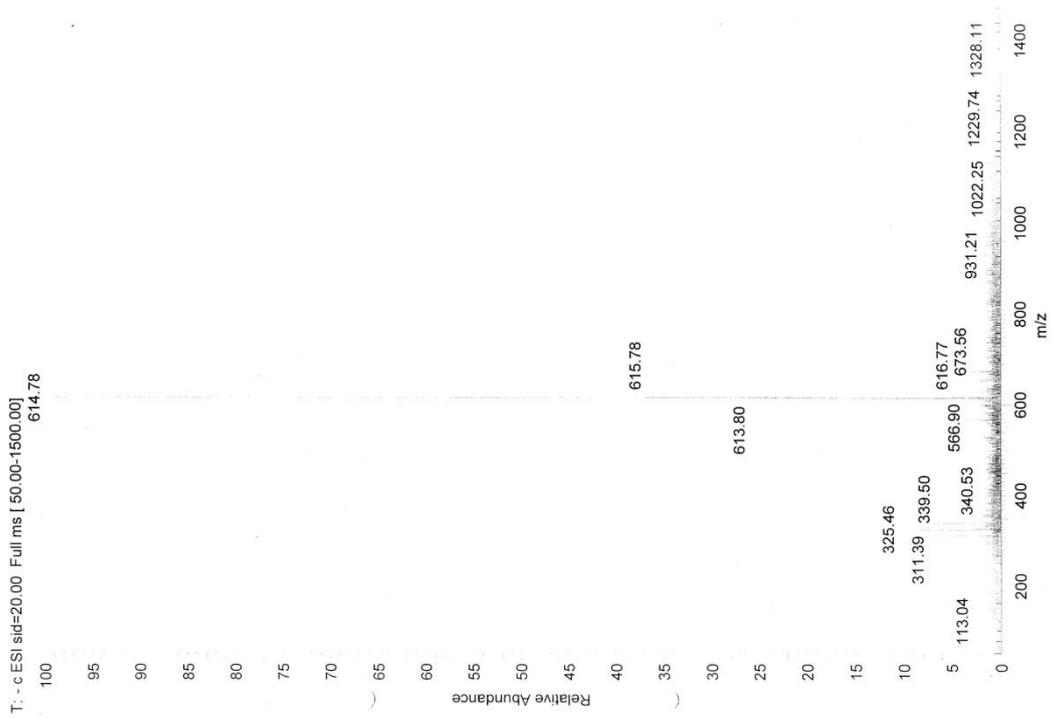
- **Verbindung 109**



- **Verbindung 111**



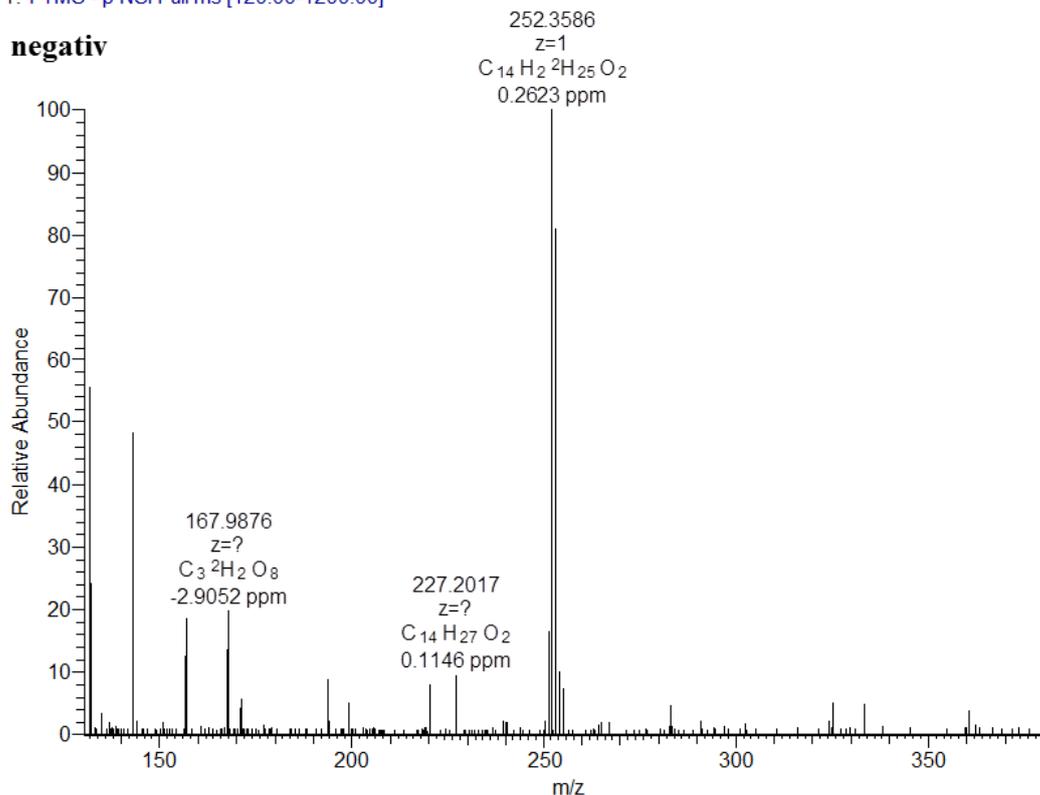
- **Verbindung 112**



7.2 HRMS Spektren von ausgewählten Verbindungen

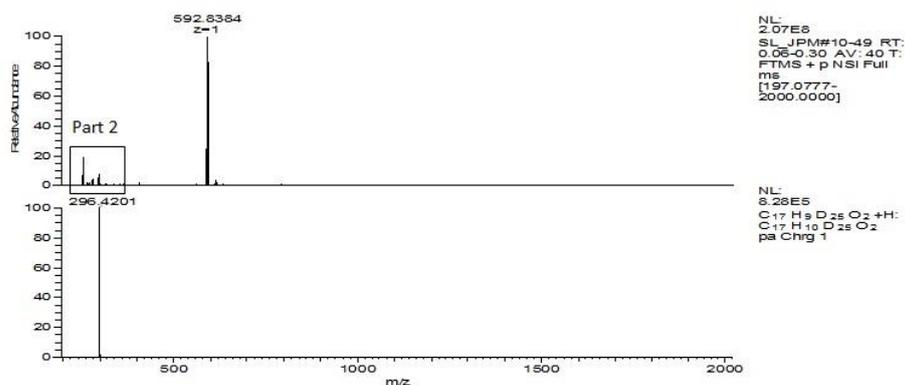
• Verbindung 5

T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

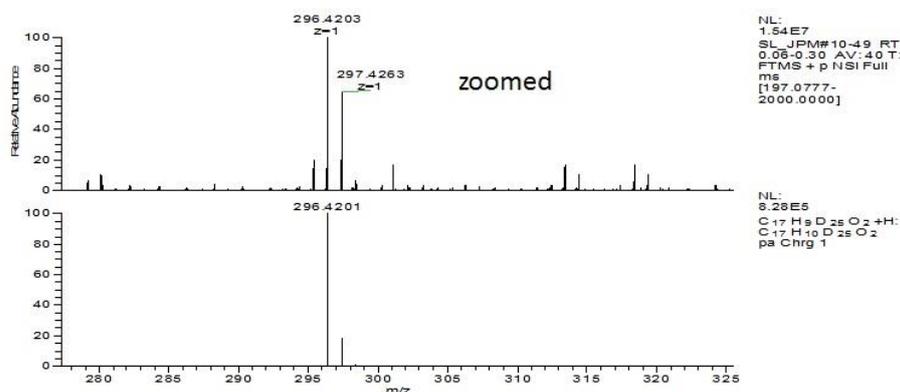


• Verbindung 6

Part 1

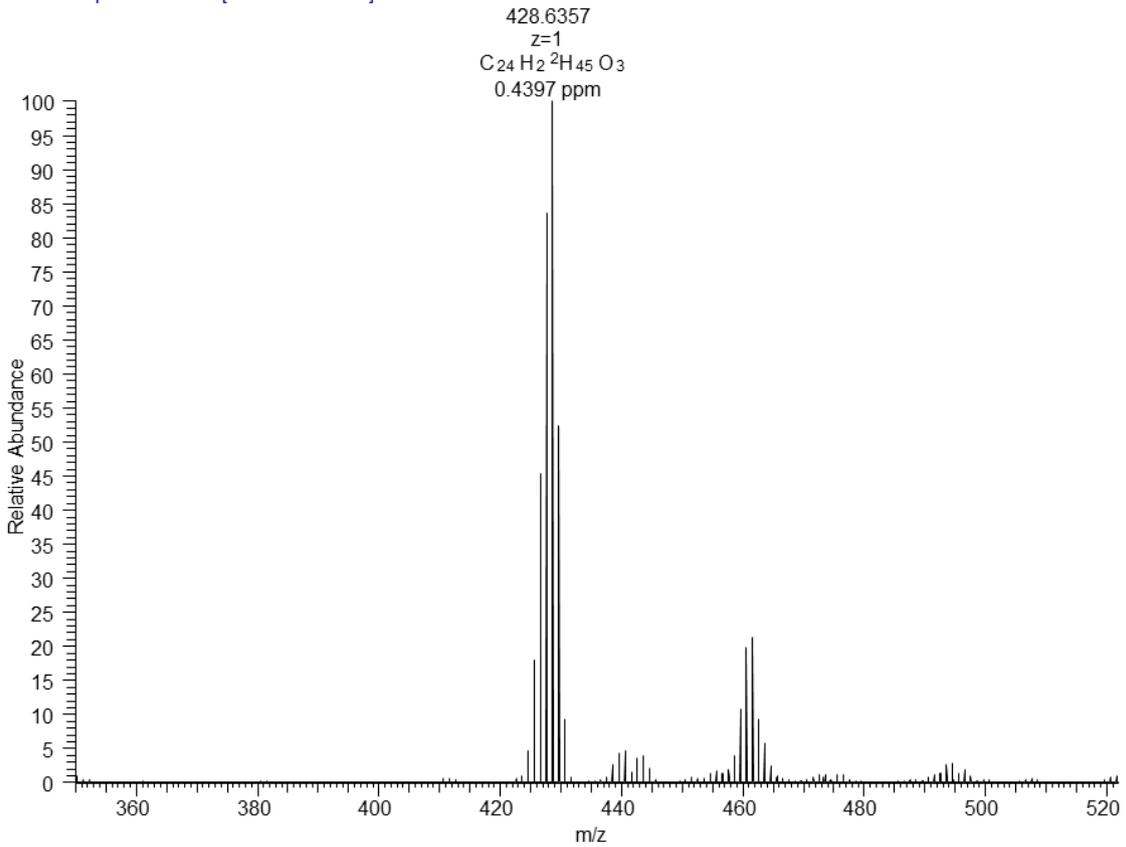


Part 2



• **Verbindung 27**

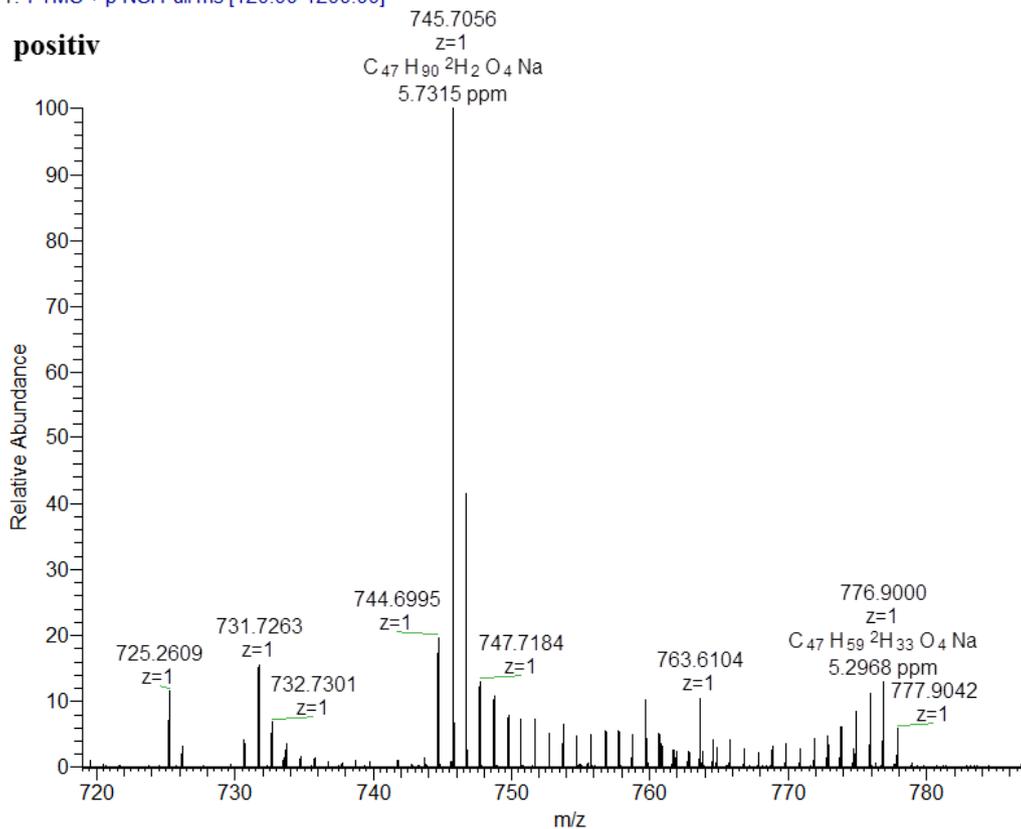
T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1000.00]



• **Verbindung 35 - I**

T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-1200.00]

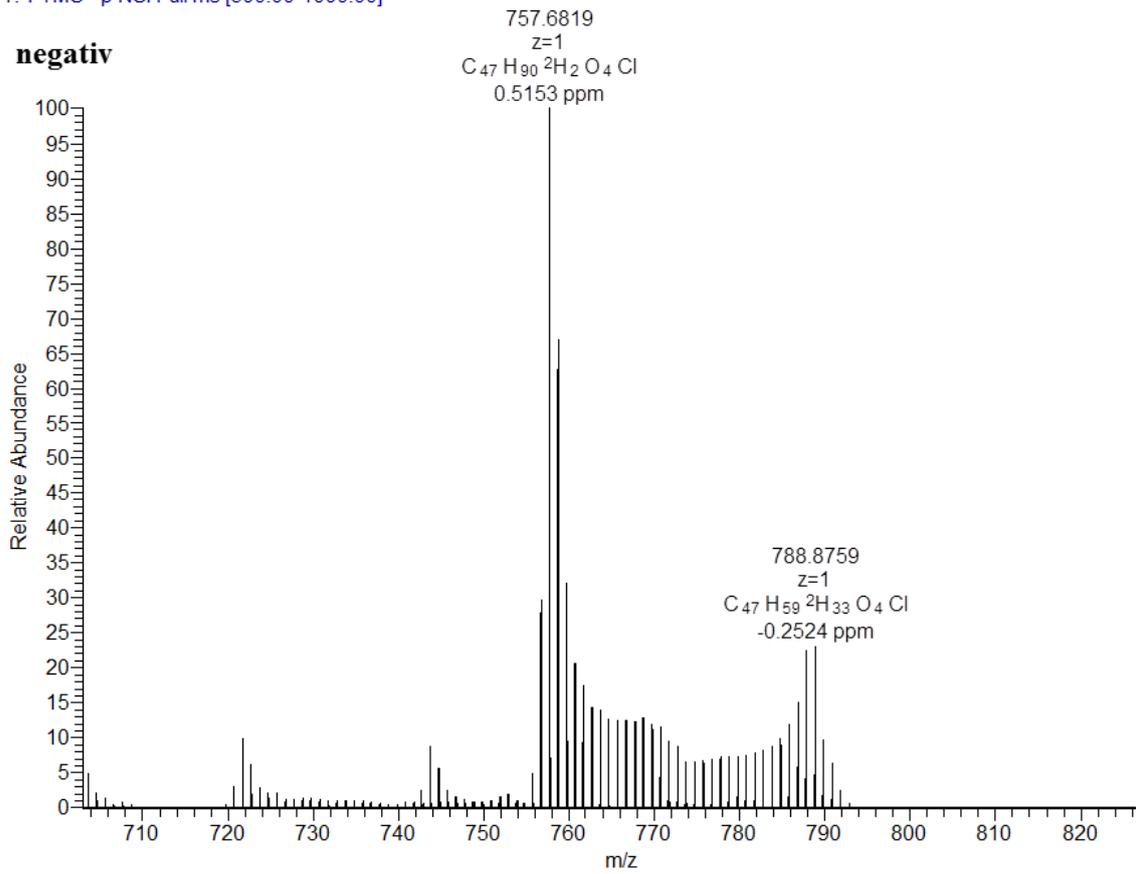
positiv



• **Verbindung 35 - II**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1000.00]

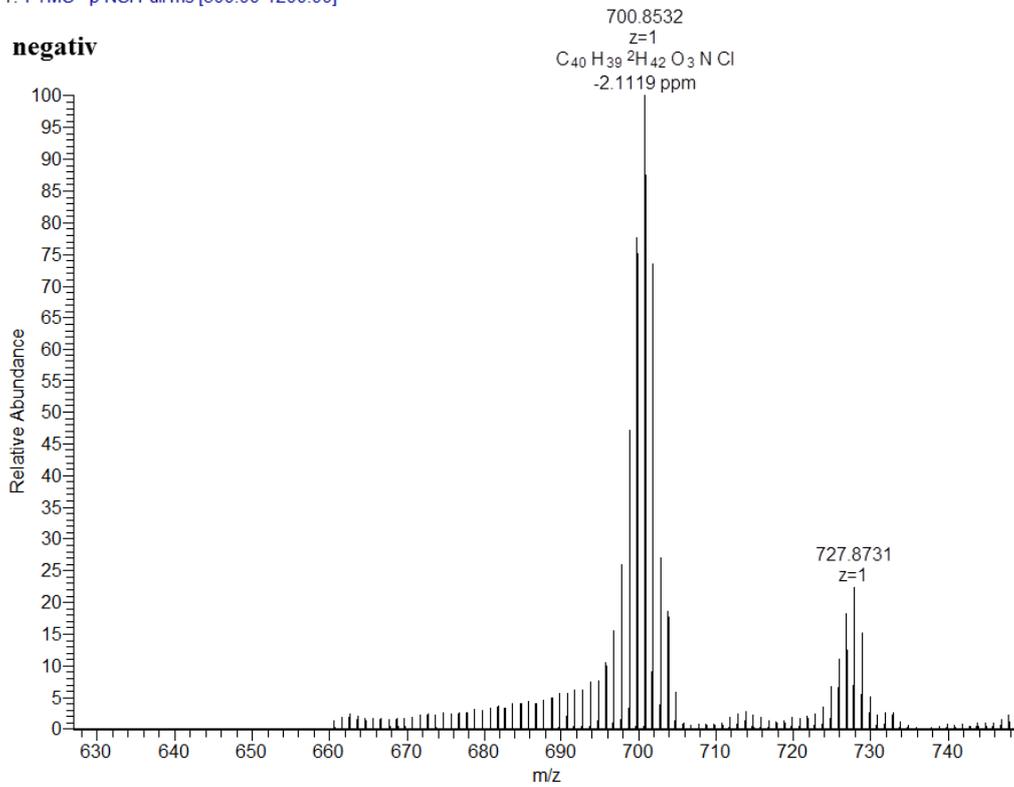
negativ



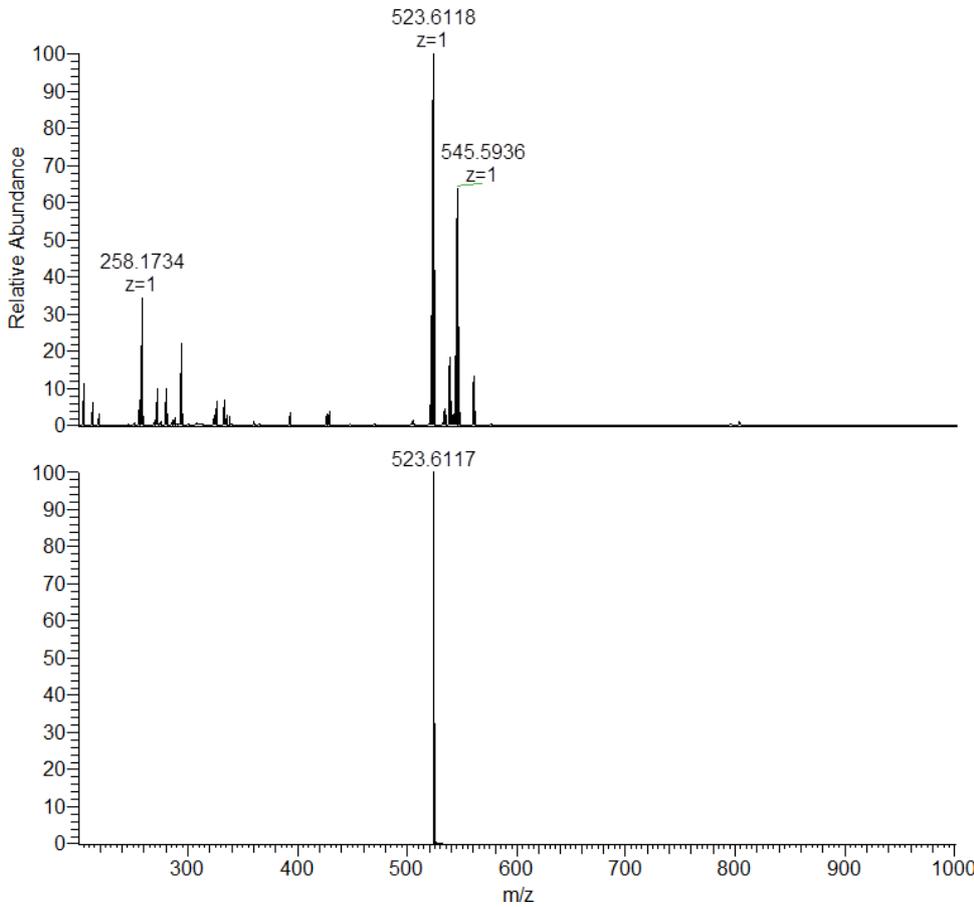
• **Verbindung 84**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]

negativ



• **Verbindung 85**



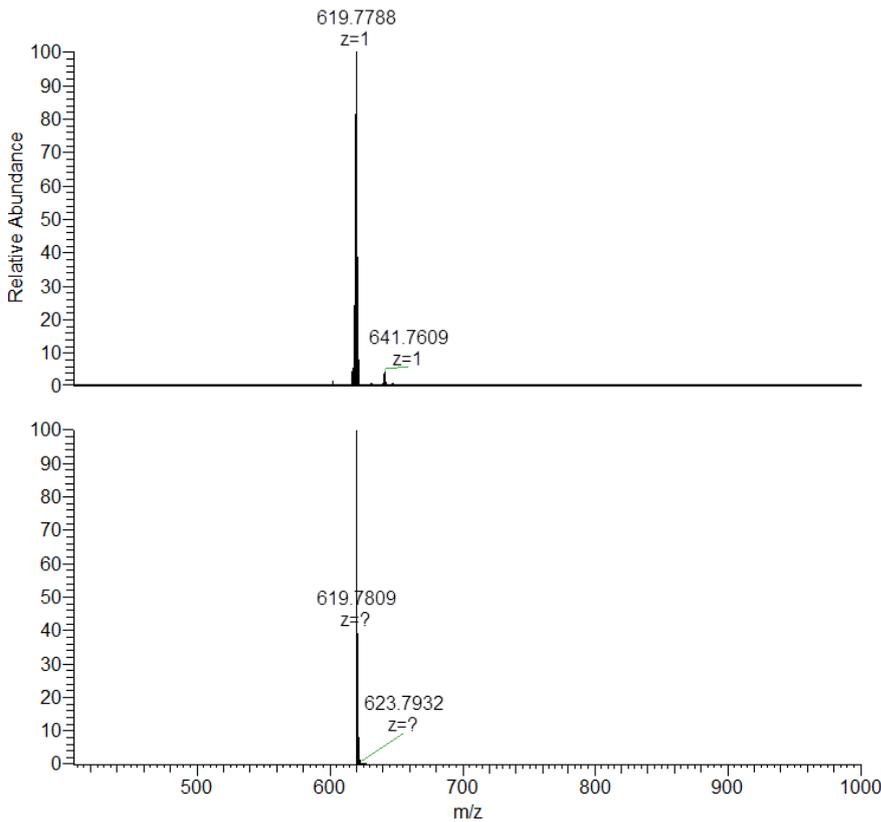
NL:
2.75E6
NP12_18pd#5-8 RT:
0.14-0.22 AV: 4 T:
FTMS + p NSI Full ms
[200.00-1000.00]

positiv

NL:
7.11E5
C₃₀ H₃₈ D₂₃ NO₄ +H:
C₃₀ H₃₉ D₂₃ N₁ O₄
pa Chrg 1

simuliert

• **Verbindung 86**



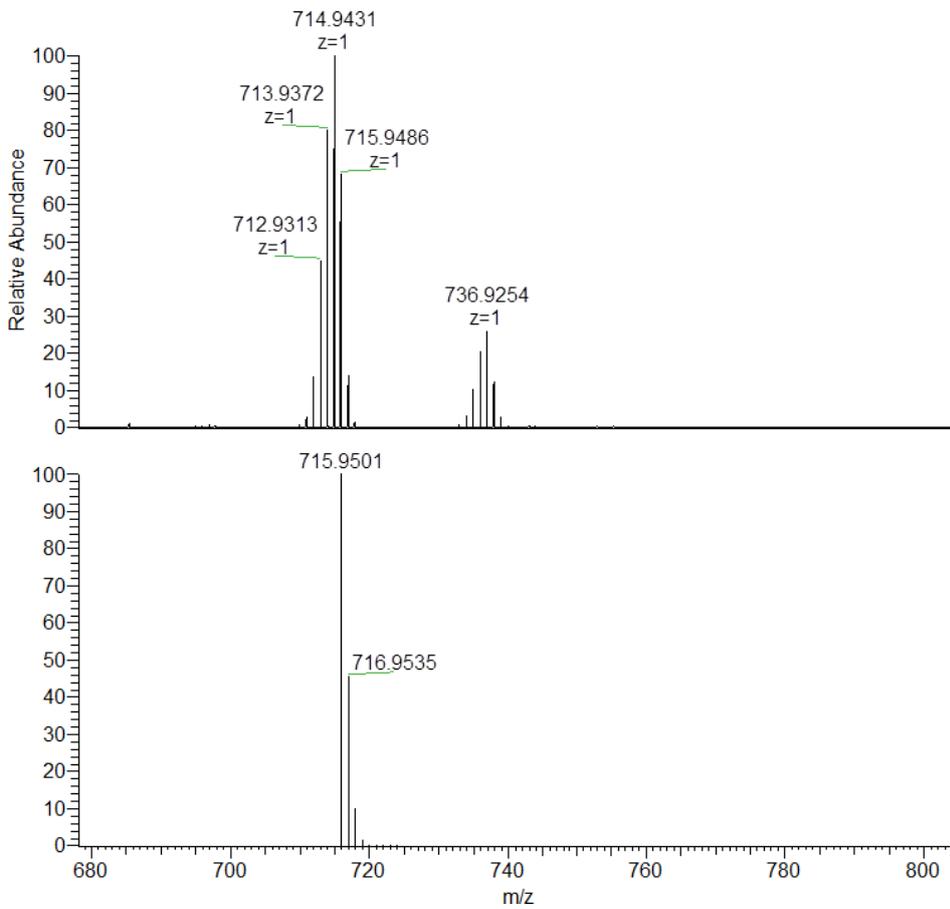
NL:
2.78E7
SL-NP18p
positiv1_150922131227#4
RT: 0.10 AV: 1 T: FTMS + p
NSI Full ms [300.00-1000.00]

positiv

NL:
1.56E4
C₃₆ H₃₈ D₃₅ NO₄ +H:
C₃₆ H₃₉ D₃₅ N₁ O₄
p (gss, s /p:40) Chrg 1
R: 100000 Res .Pwr . @FWHM

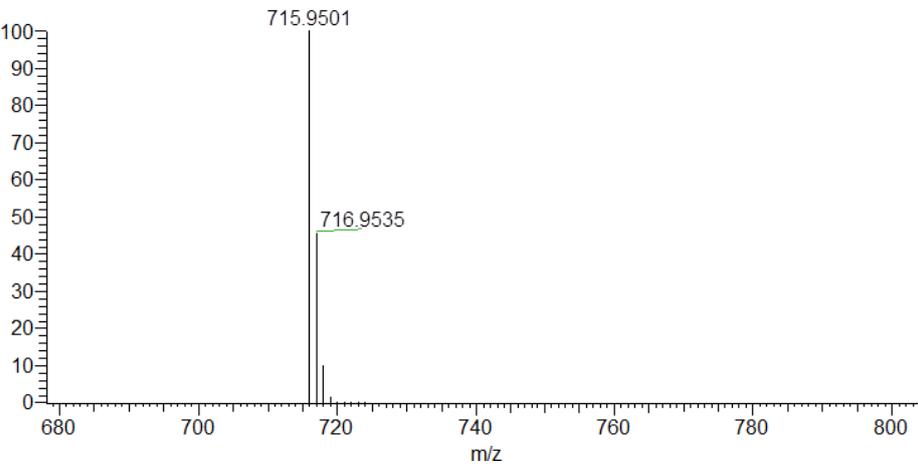
simuliert

• **Verbindung 87**



NL:
1.40E6
NP18_24pd#4-8 RT:
0.10-0.21 AV: 5 T:
FTMS + p NSI Full ms
[200.00-1000.00]

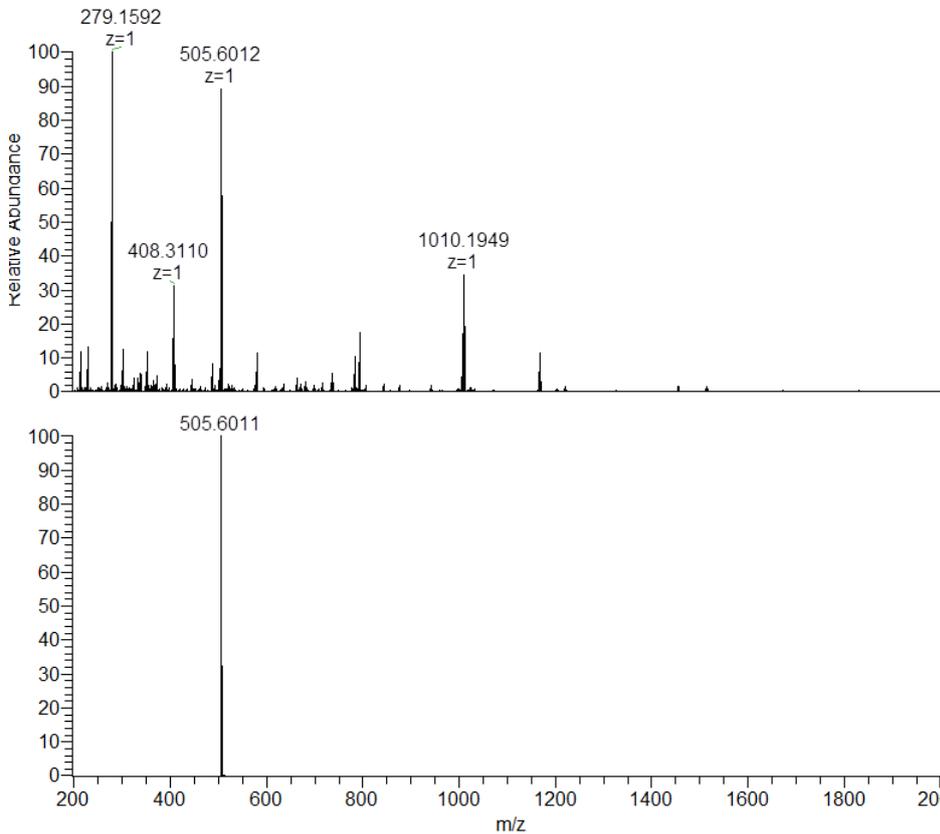
positiv



NL:
6.25E5
C₄₂H₃₈D₄₇NO₄+H:
C₄₂H₃₉D₄₇N₁O₄
pa Chrg 1

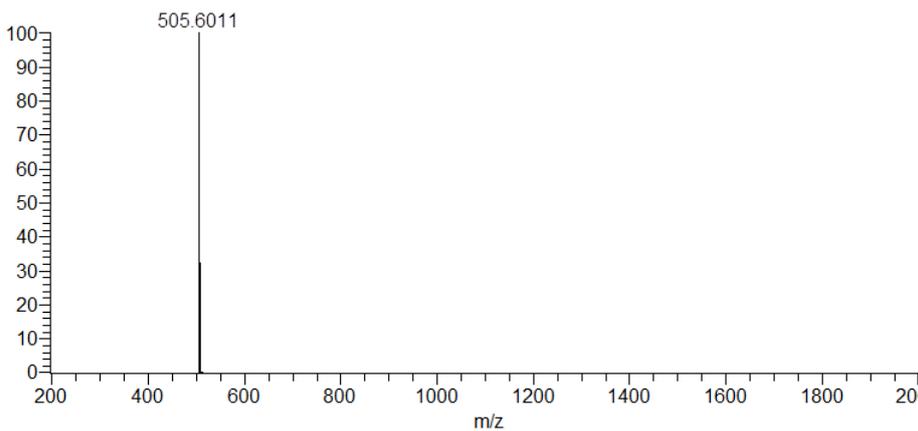
simuliert

• **Verbindung 88**



NL:
7.67E7
NS_12P#10-40 RT:
0.06-0.23 AV: 31 T:
FTMS + p NSI Full ms
[197.0777-2000.0000]

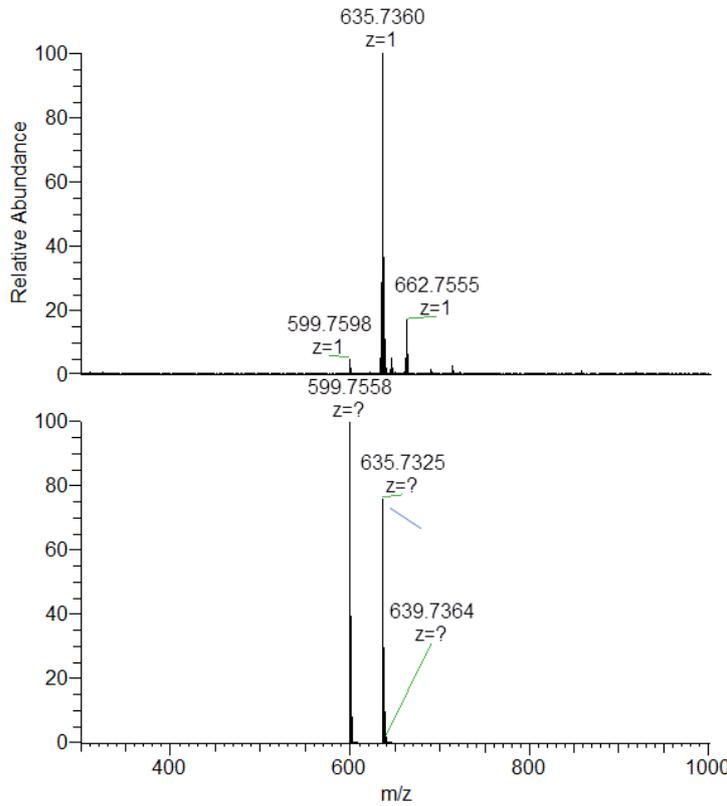
positiv



NL:
7.13E5
C₃₀H₃₆D₂₃NO₃+H:
C₃₀H₃₇D₂₃N₁O₃
pa Chrg 1

simuliert

• **Verbindung 89**



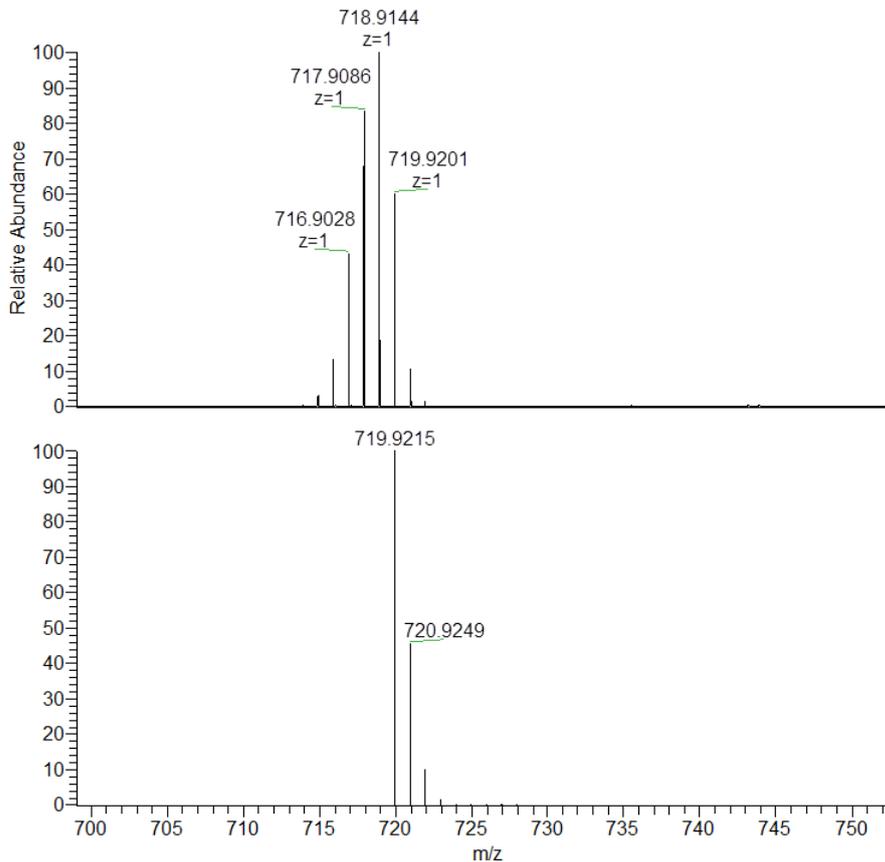
NL:
2.14E7
SL-NS18p#3-10 RT: 0.06-0.26 AV: 8 T:
FTMS - p NSI Full ms [300.00-1000.00]

negativ

NL:
1.57E4
C₃₆H₃₆D₃₅NO₃*1.00 +
C₃₆H₃₇D₃₅NO₃Cl*1.00 +H: p (gss,
s/p:40) Chrg -1
R: 100000 Res. Pwr. @FWHM

simuliert

• **Verbindung 90**



NL:
4.83E5
NS18_24pd#7-13 RT:
0.17-0.34 AV: 7 T:
FTMS + p NSI Full ms
[200.00-1000.00]

positiv

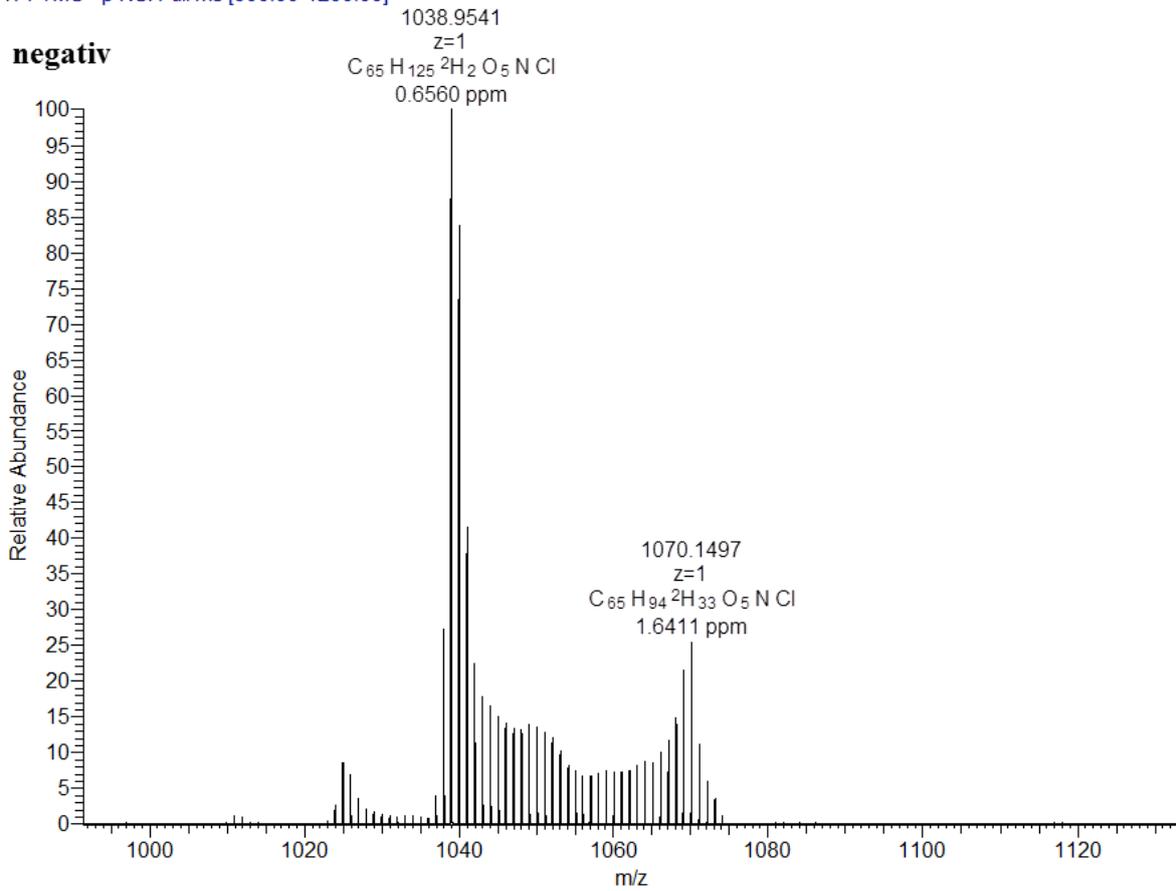
NL:
6.27E5
C₄₂H₃₆D₄₇NO₃+Na:
C₄₂H₃₆D₄₇N₁O₃Na₁
pa Chrg 1

simuliert

• **Verbindung 91**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]

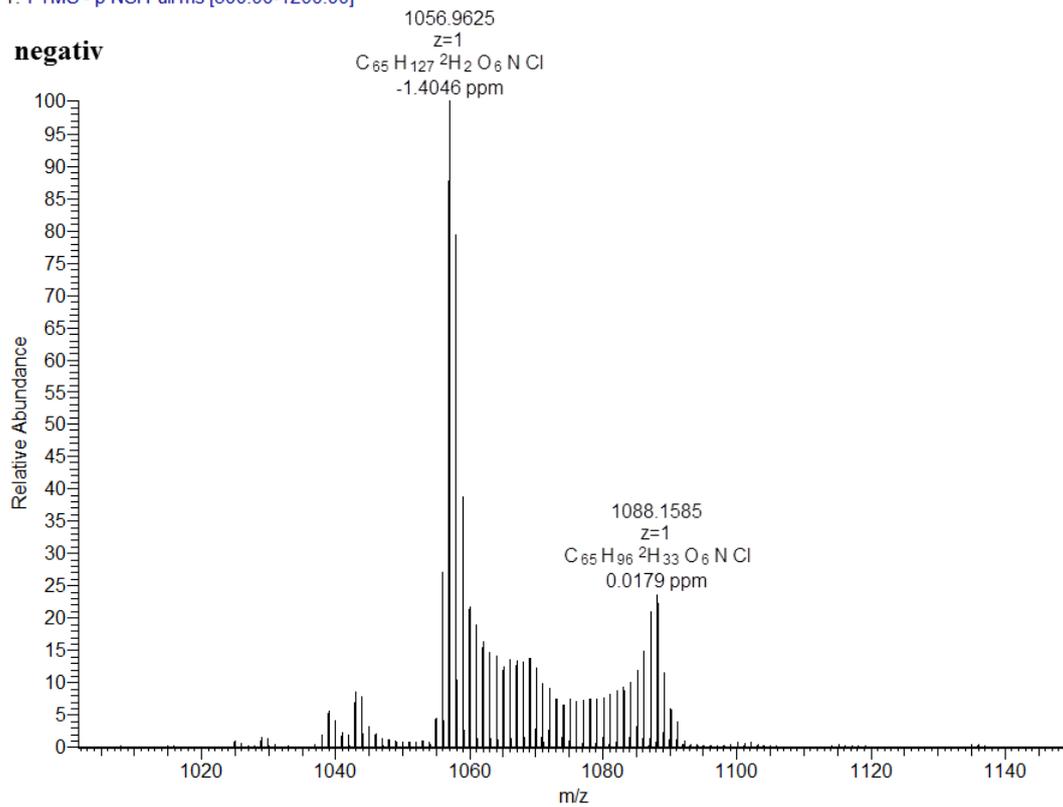
negativ



• **Verbindung 92**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]

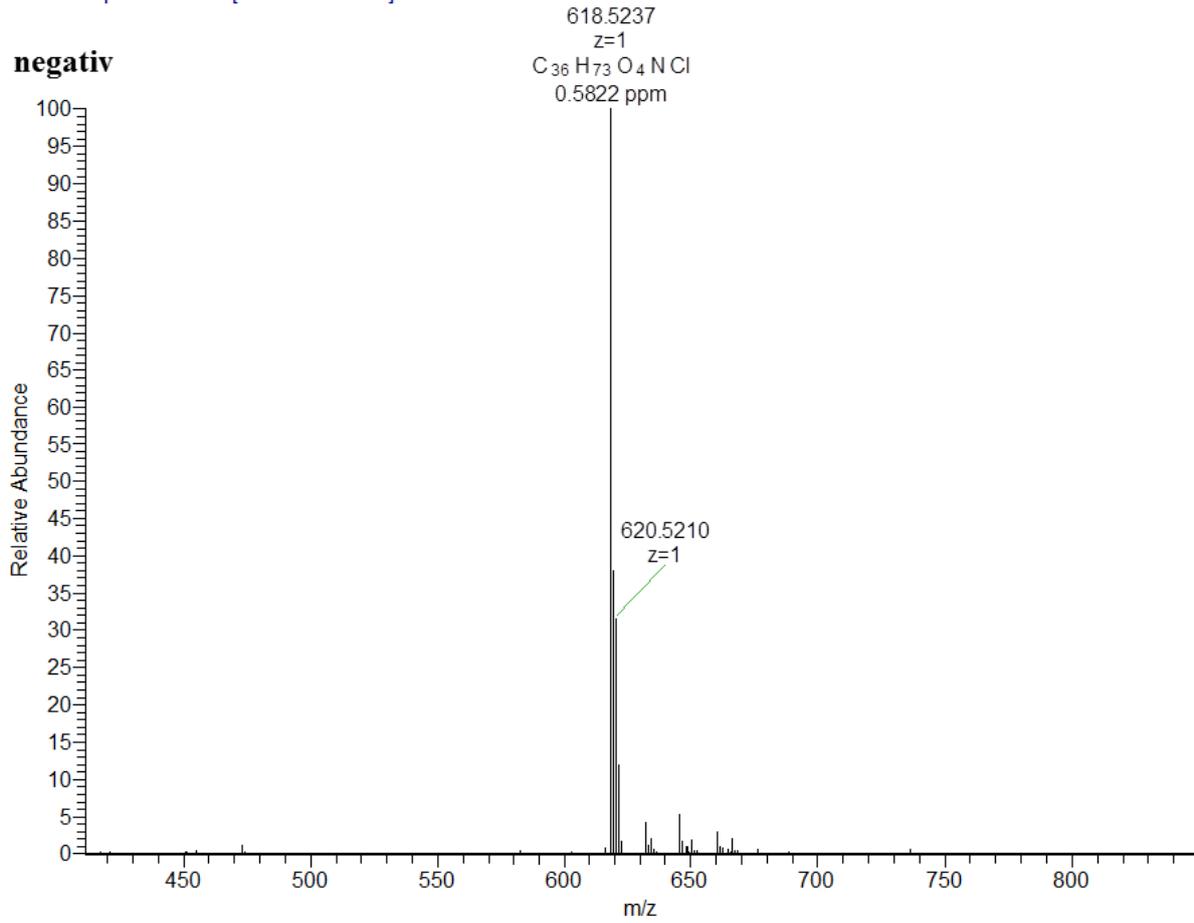
negativ



• **Verbindung 113**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]

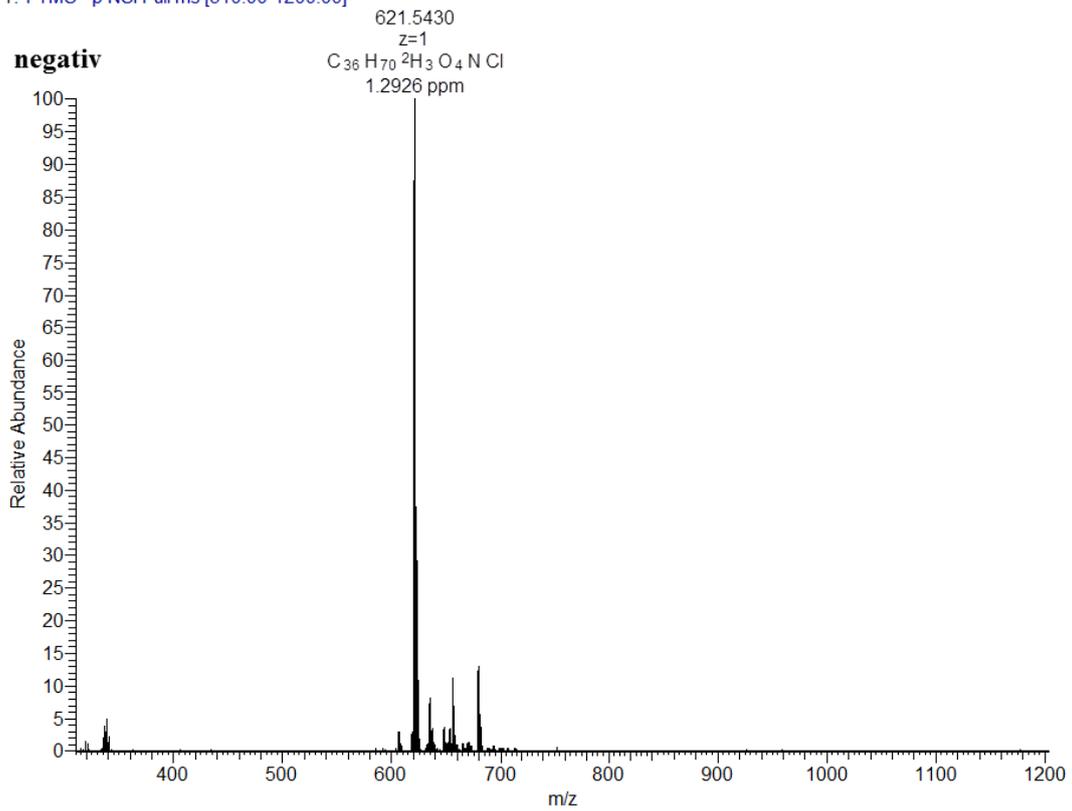
negativ



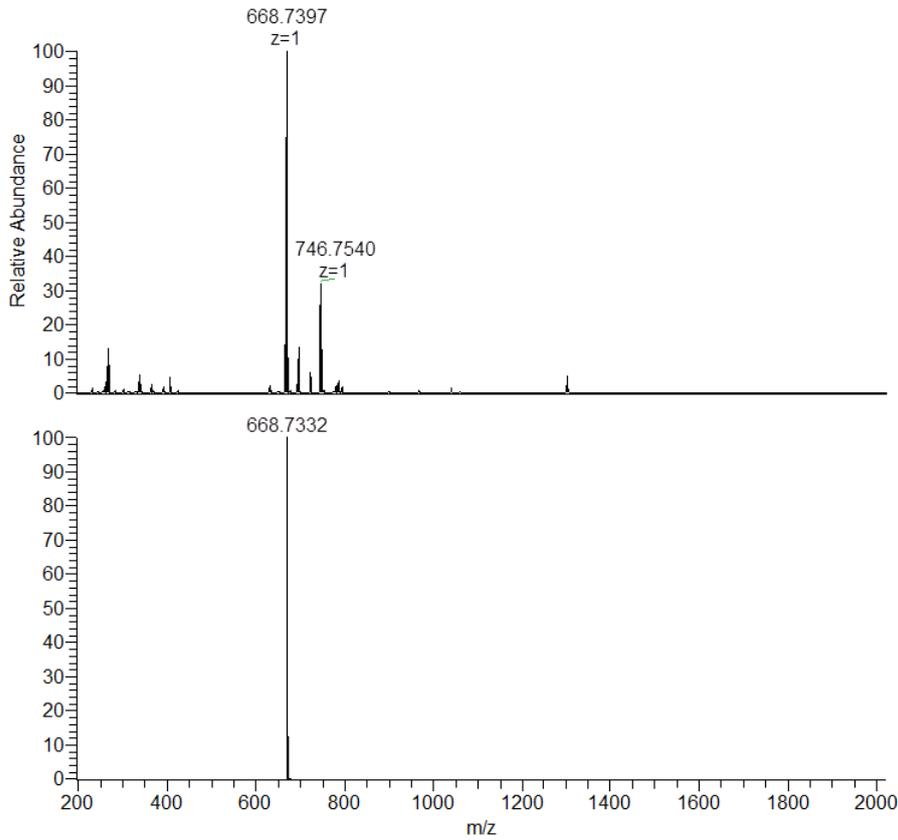
• **Verbindung 114**

T: FTMS - p NSI Full ms [310.00-1200.00]

negativ



• **Verbindung 116**



NL:
1.34E7
L_AP18P#50-56 RT:
0.29-0.33 AV: 7 T:
FTMS - p NSI Full ms
[197.0777-2000.0000]

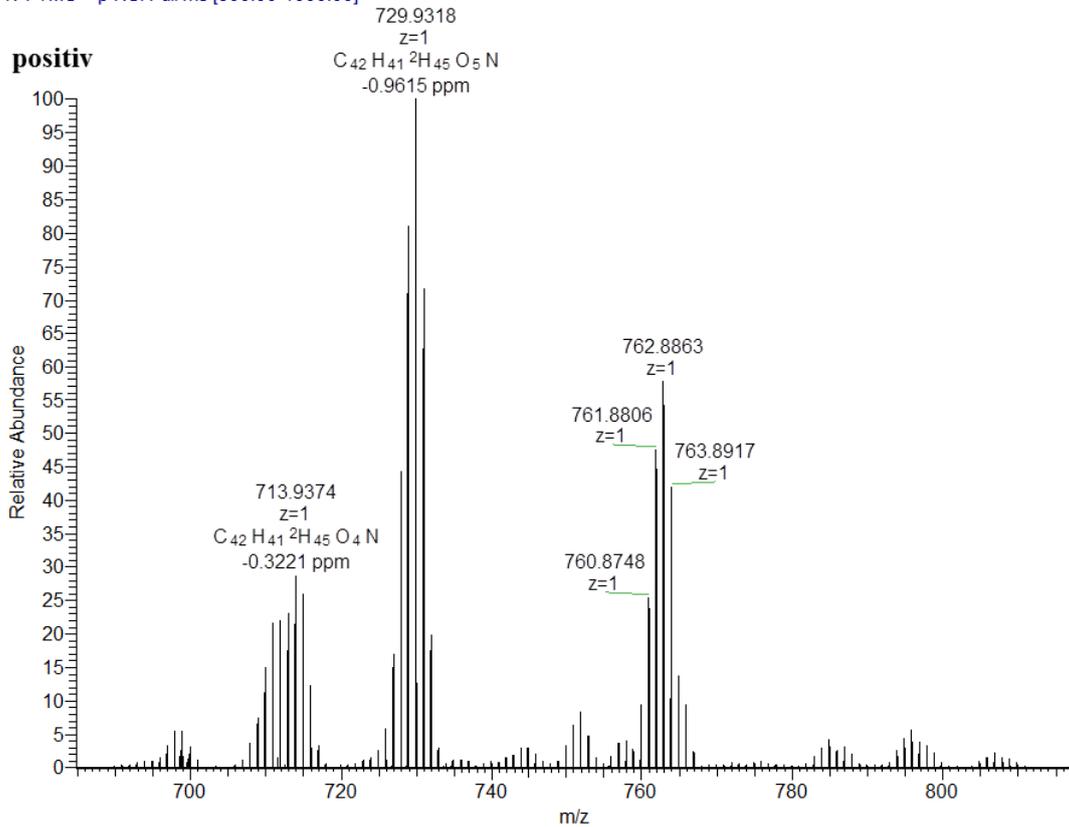
negativ

NL:
5.04E5
C₃₆ H₄₁ D₃₃ NO₅ Cl:
C₃₆ H₄₁ D₃₃ N₁ O₅ Cl₁
pa Chrg -1

simuliert

• **Verbindung 118 - I**

T: FTMS + p NSI Full ms [300.00-1000.00]



positiv

729.9318
z=1
C₄₂ H₄₁ ²H₄₅ O₅ N
-0.9615 ppm

713.9374
z=1
C₄₂ H₄₁ ²H₄₅ O₄ N
-0.3221 ppm

761.8806
z=1

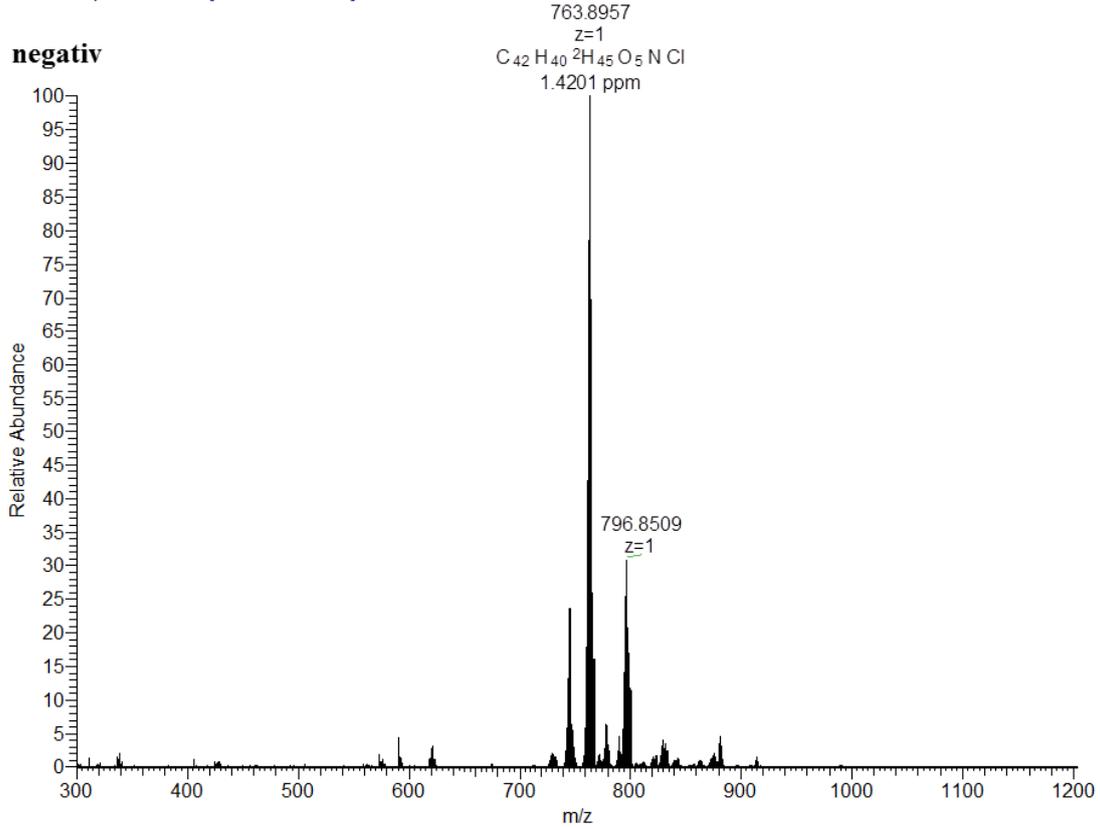
762.8863
z=1

763.8917
z=1

760.8748
z=1

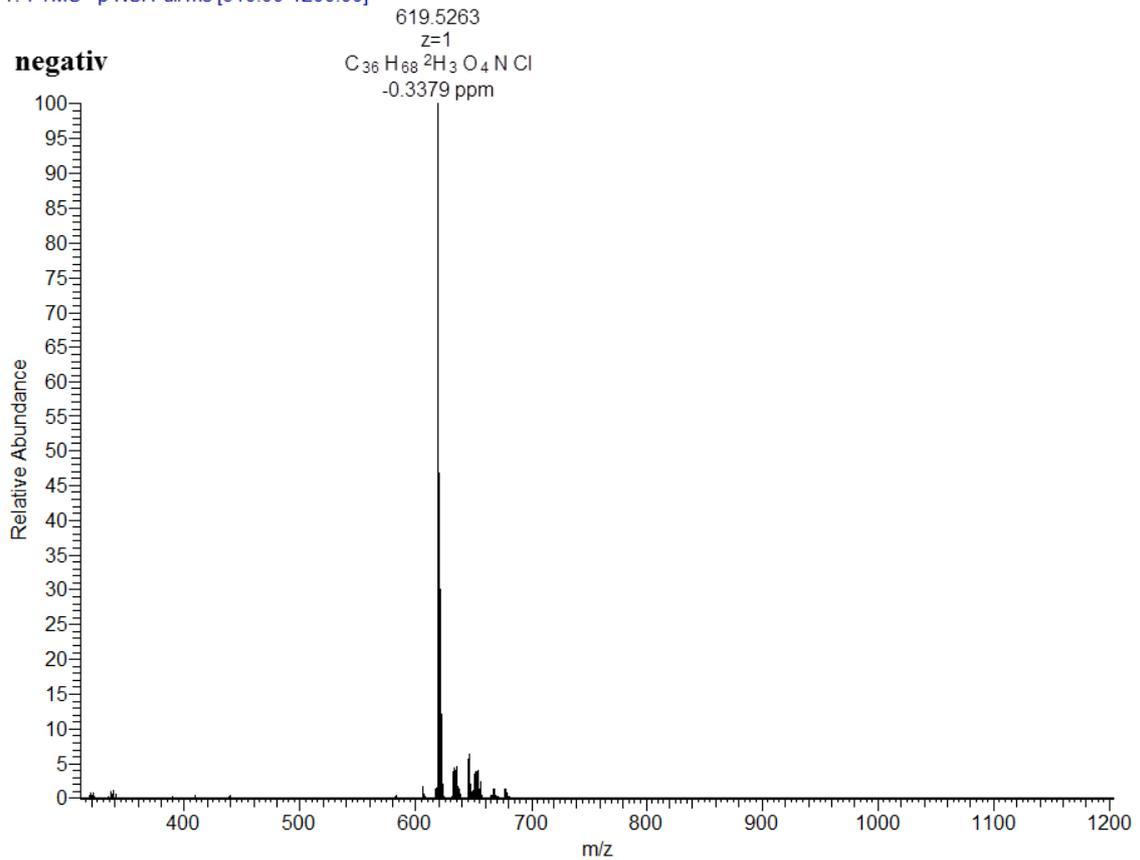
• **Verbindung 118 - II**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]



• **Verbindung 120**

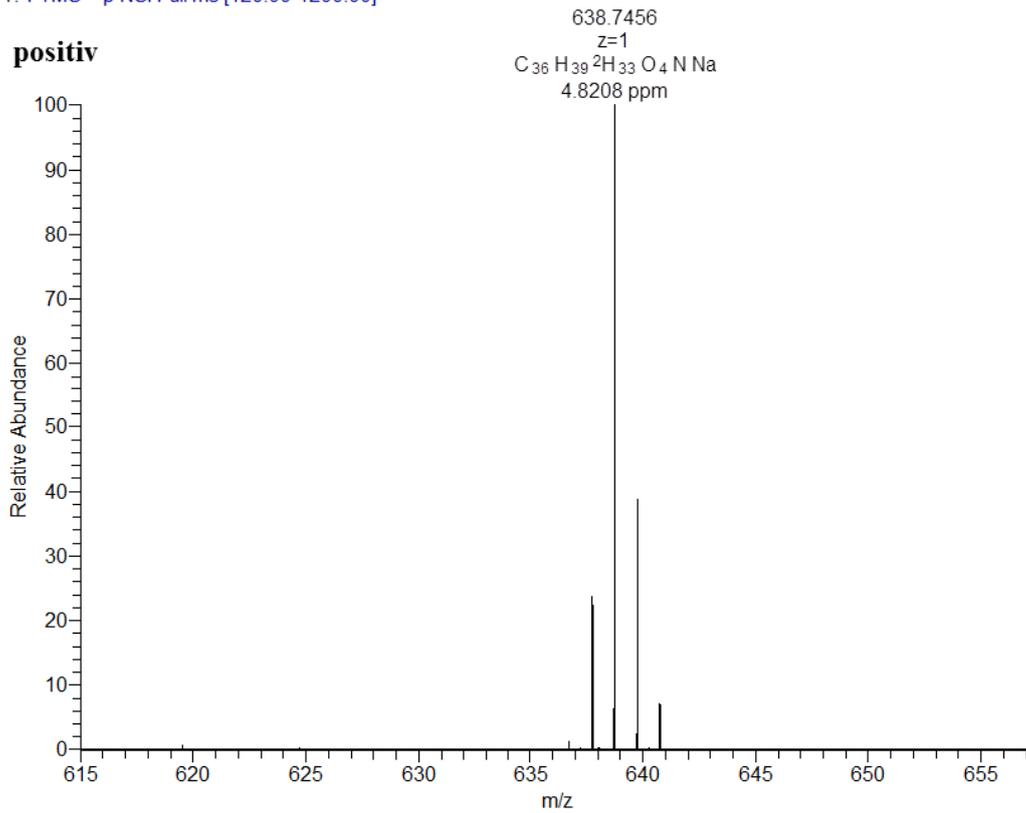
T: FTMS - p NSI Full ms [310.00-1200.00]



• **Verbindung 121 - I**

T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-1200.00]

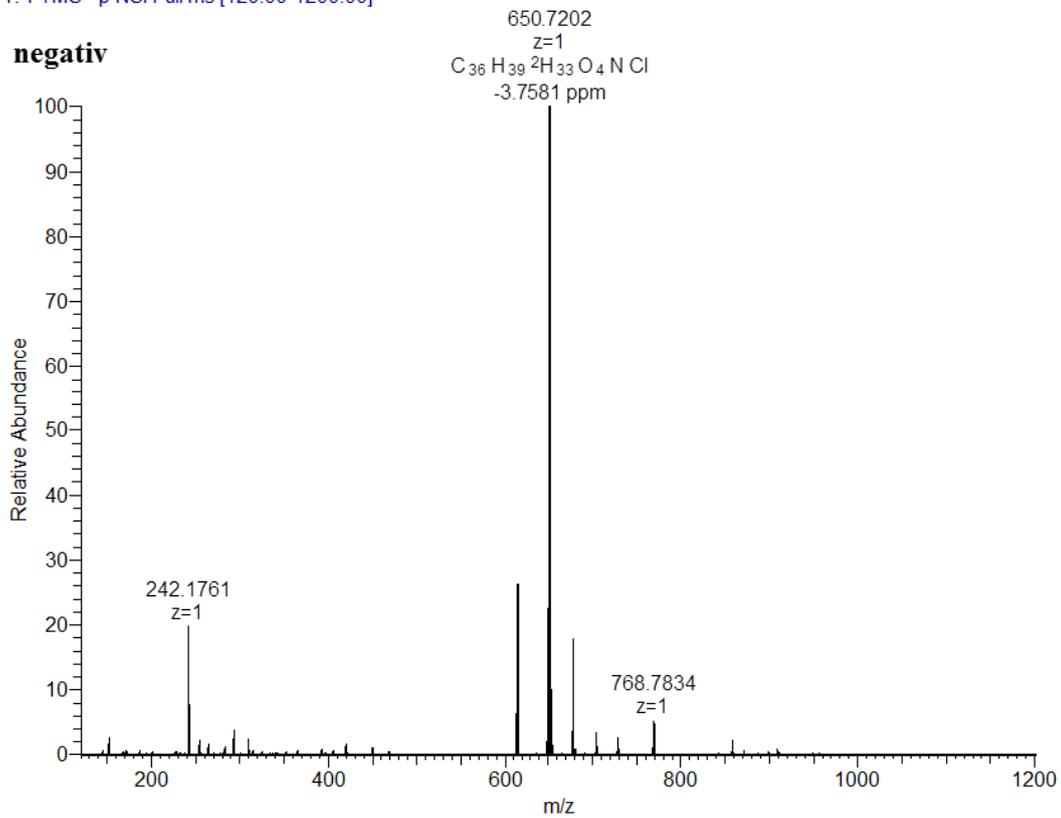
positiv



• **Verbindung 121 - II**

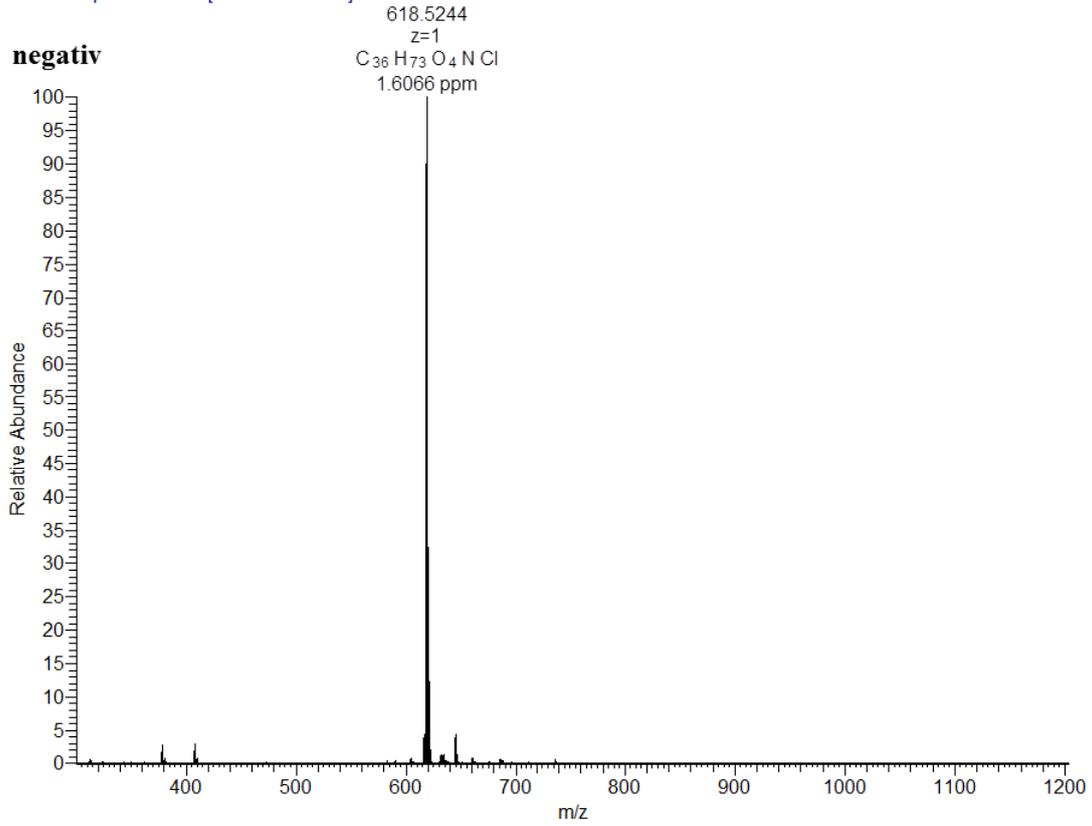
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

negativ



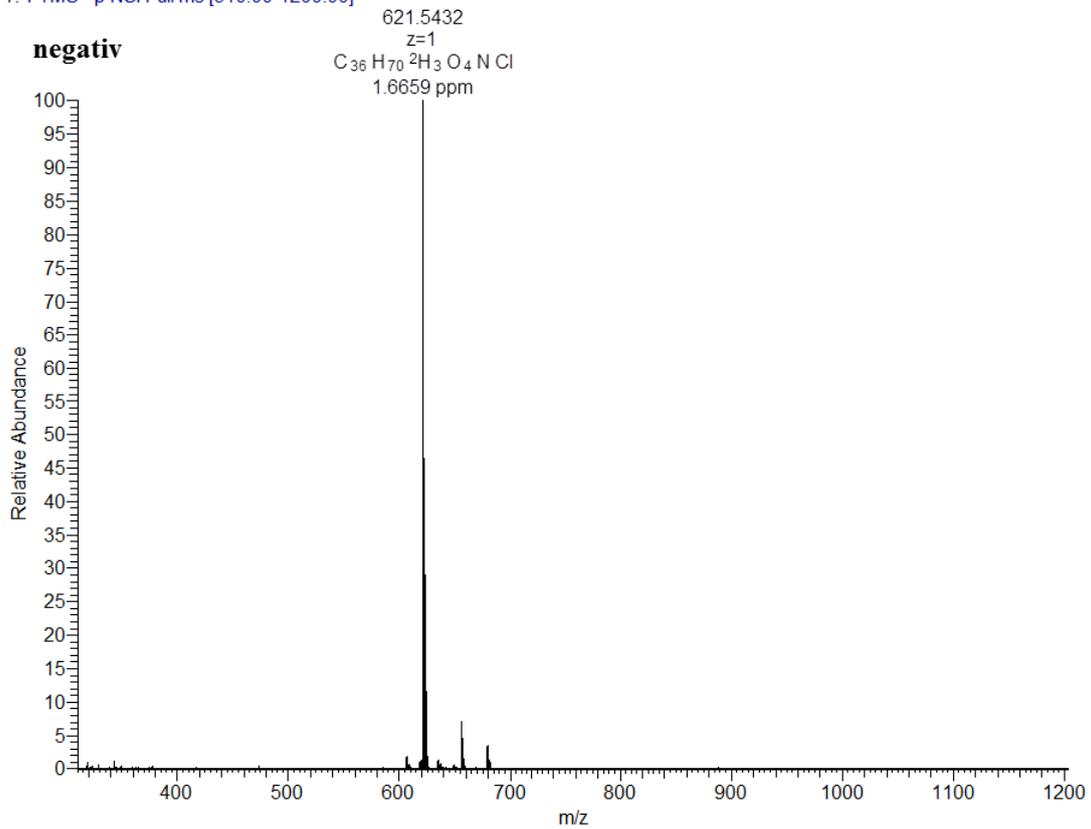
• **Verbindung 122**

SL_125n #8-12 RT: 0.10-0.16 AV: 5 NL: 5.42E7
T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]

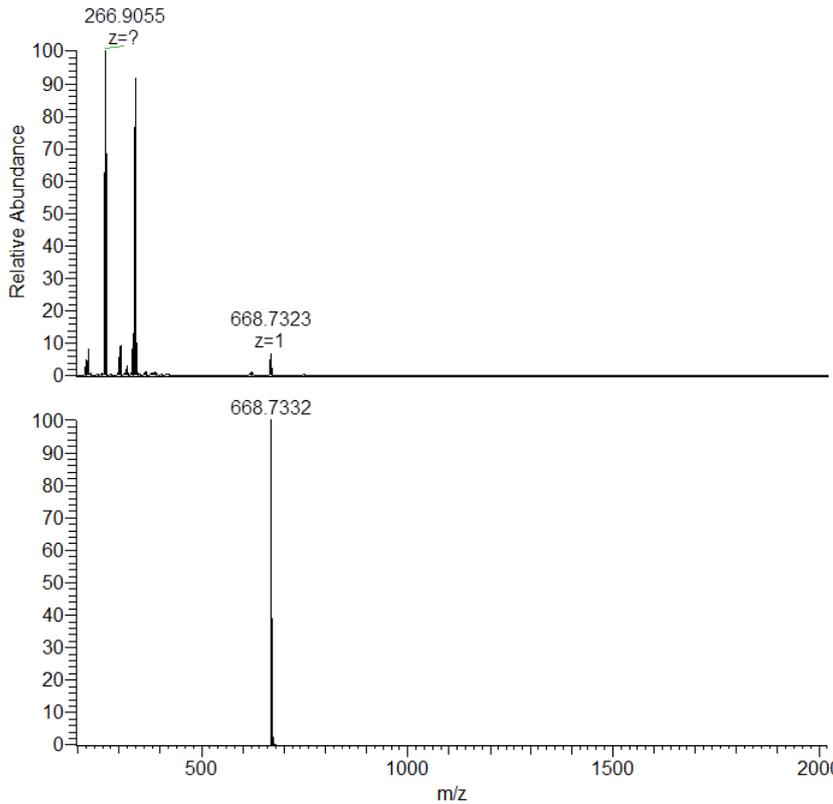


• **Verbindung 123**

T: FTMS - p NSI Full ms [310.00-1200.00]



• **Verbindung 125**



NL:
8.72E6
D_AP18P#39-47 RT:
0.23-0.29 AV: 9 T:
FTMS - p NSI Full ms
[197.0777-2000.0000]

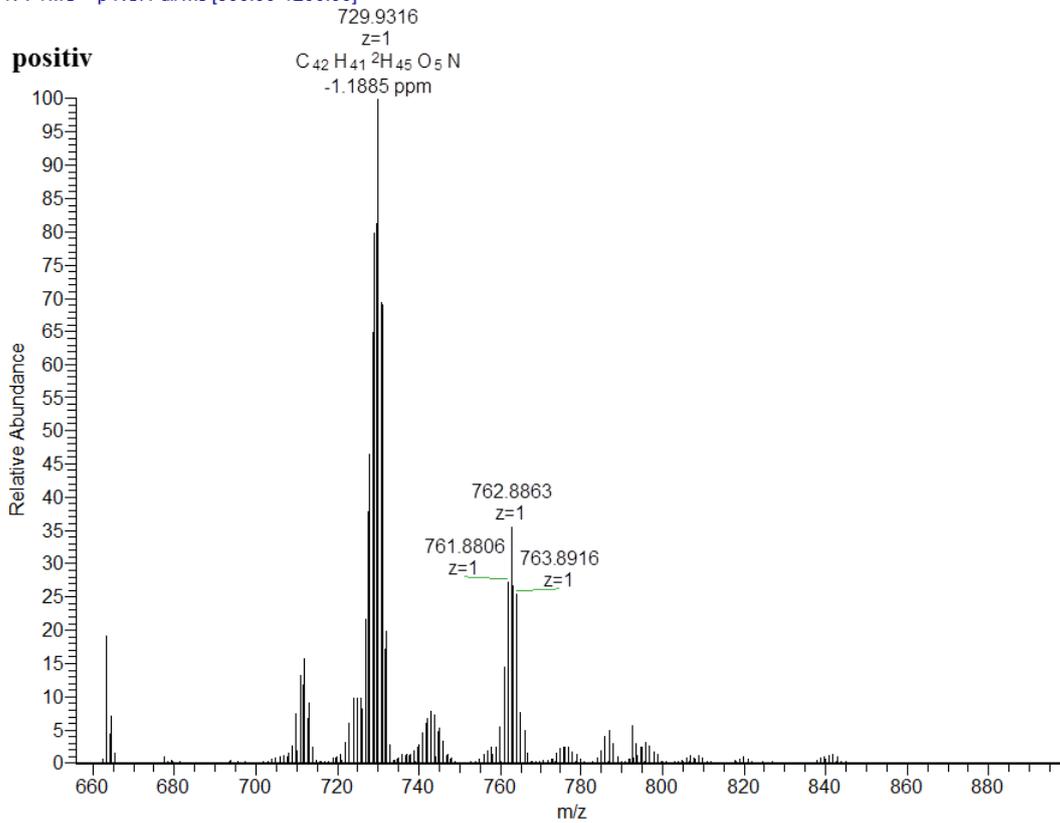
negativ

NL:
5.04E5
C₃₆H₄₁D₃₃NO₅Cl:
C₃₆H₄₁D₃₃N₁O₅Cl₁
pa Chrg -1

simuliert

• **Verbindung 127 - I**

T: FTMS + p NSI Full ms [300.00-1200.00]



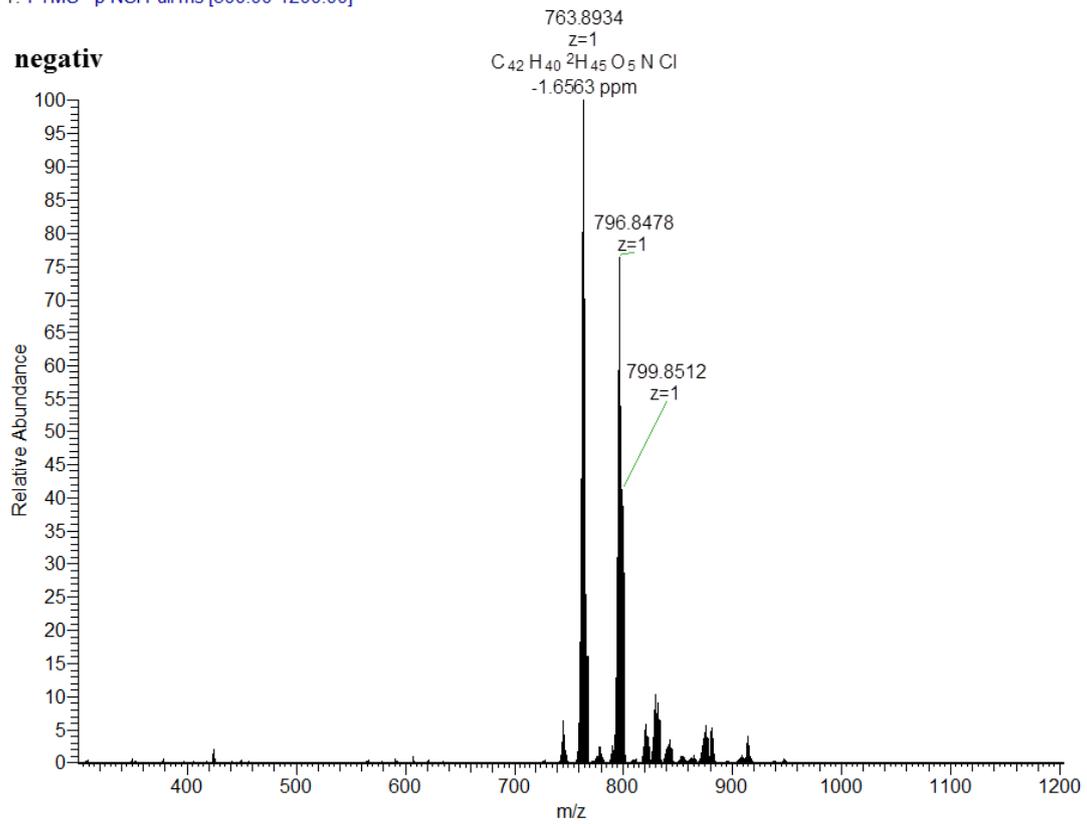
positiv

729.9316
z=1
C₄₂H₄₁²H₄₅O₅N
-1.1885 ppm

• **Verbindung 127 - II**

T: FTMS - p NSI Full ms [300.00-1200.00]

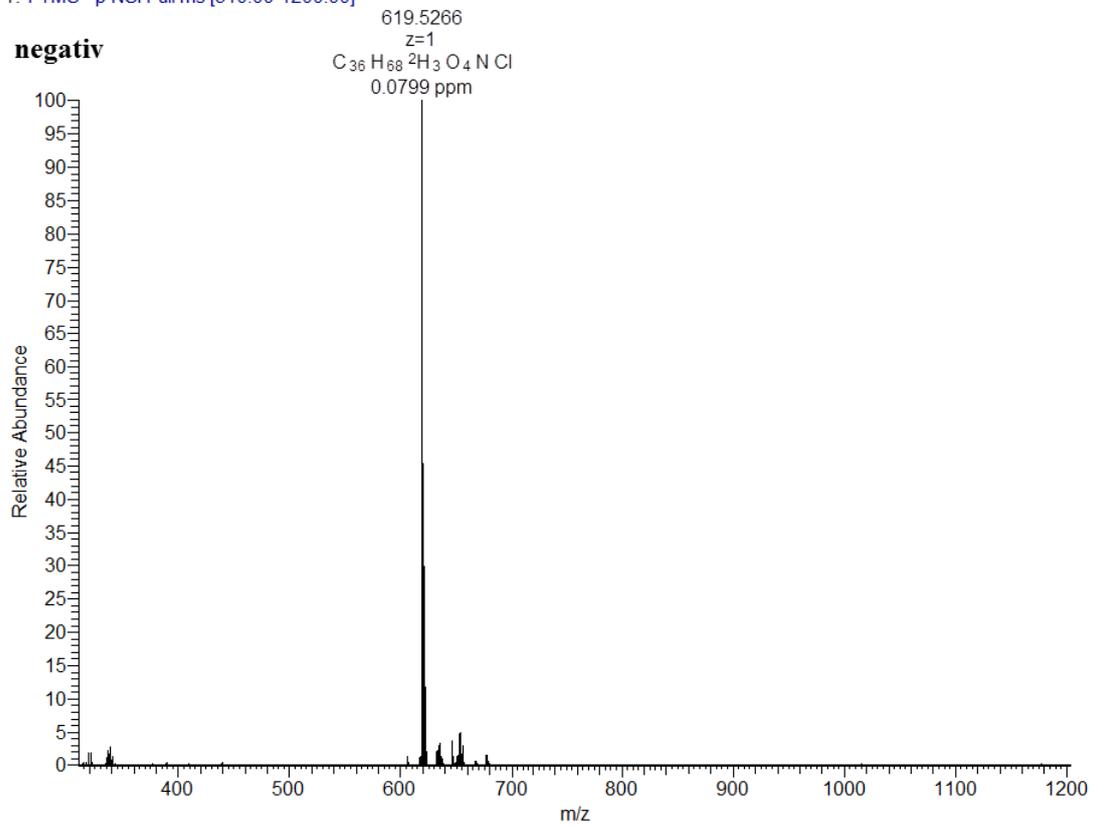
negativ



• **Verbindung 129**

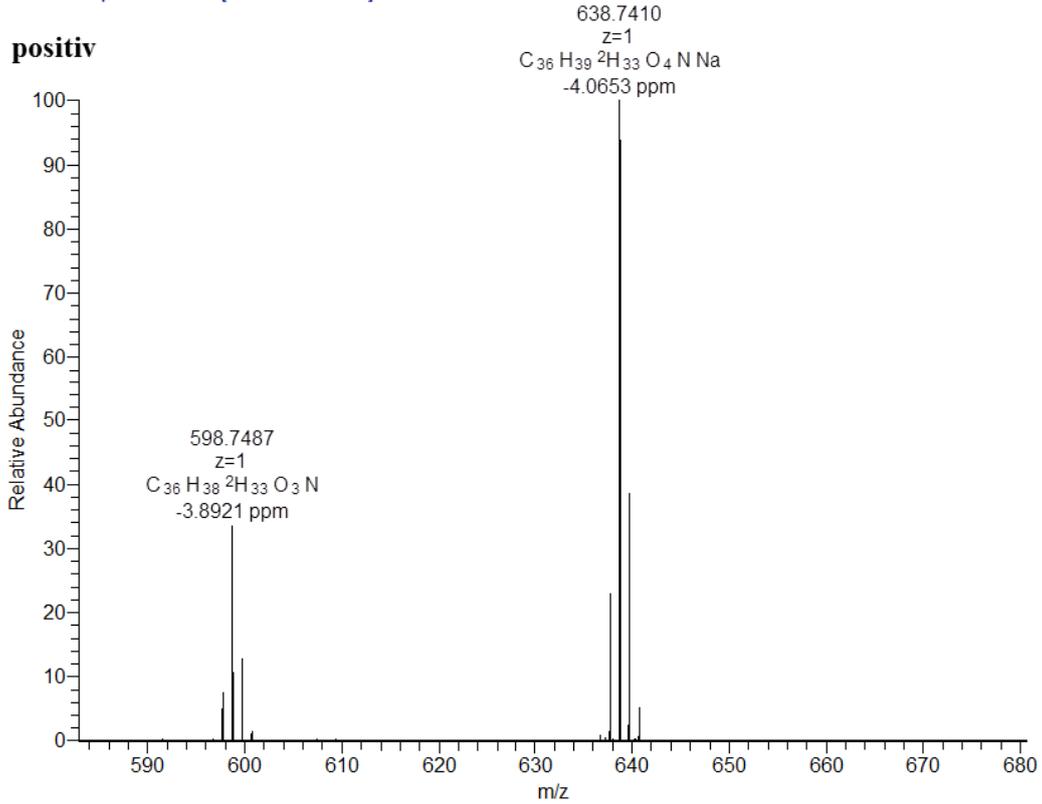
T: FTMS - p NSI Full ms [310.00-1200.00]

negativ



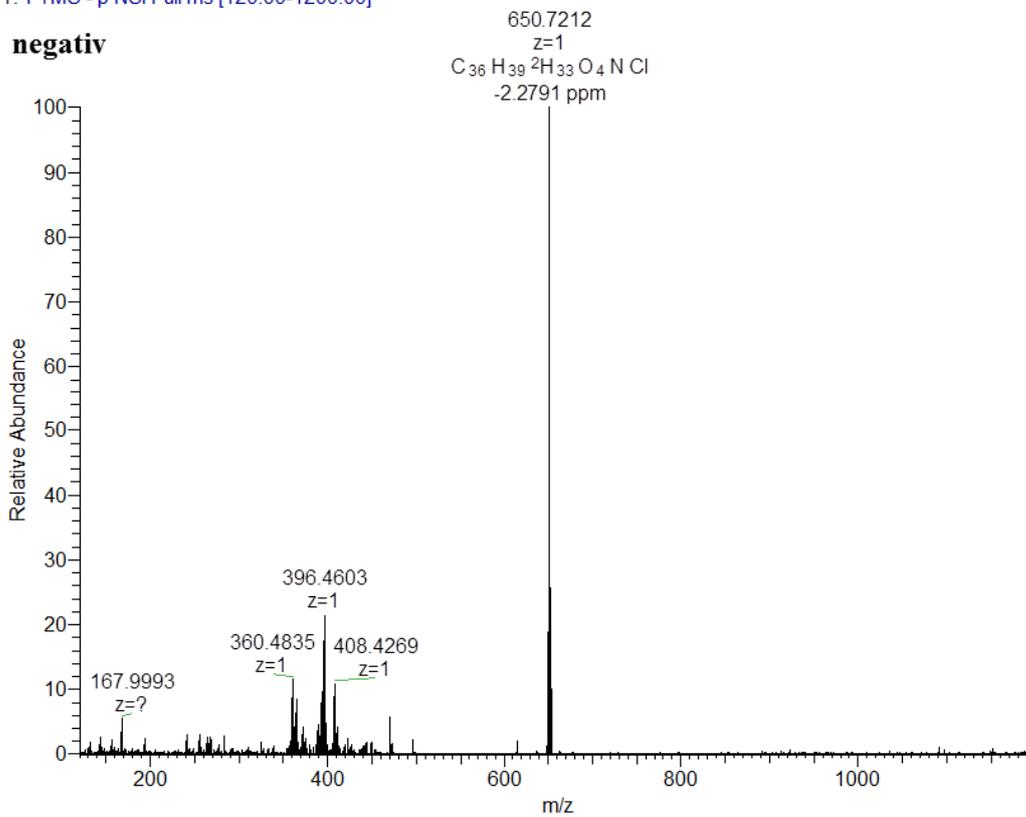
• **Verbindung 130 - I**

T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-1200.00]



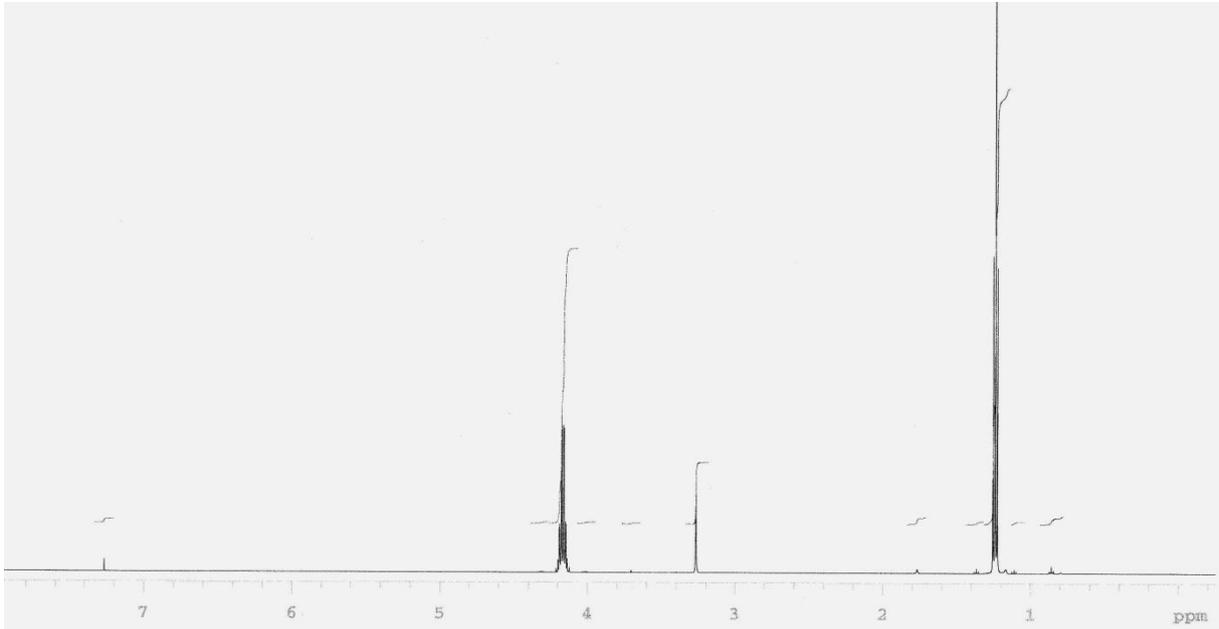
• **Verbindung 130 - II**

T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-1200.00]

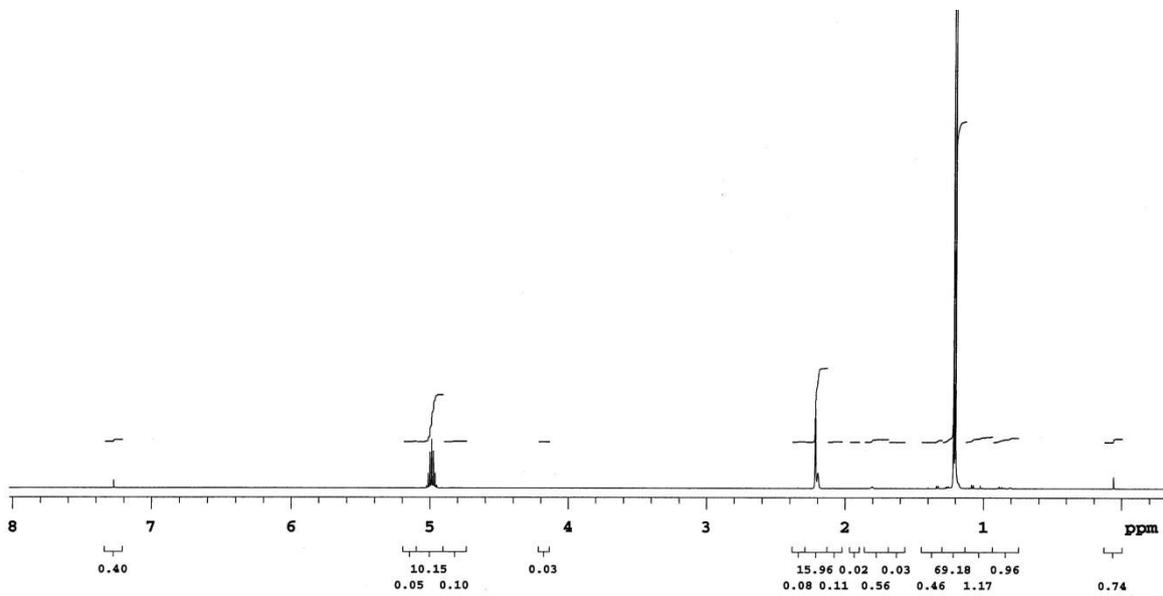


7.3 ^1H NMR Spektren von ausgewählten Verbindungen

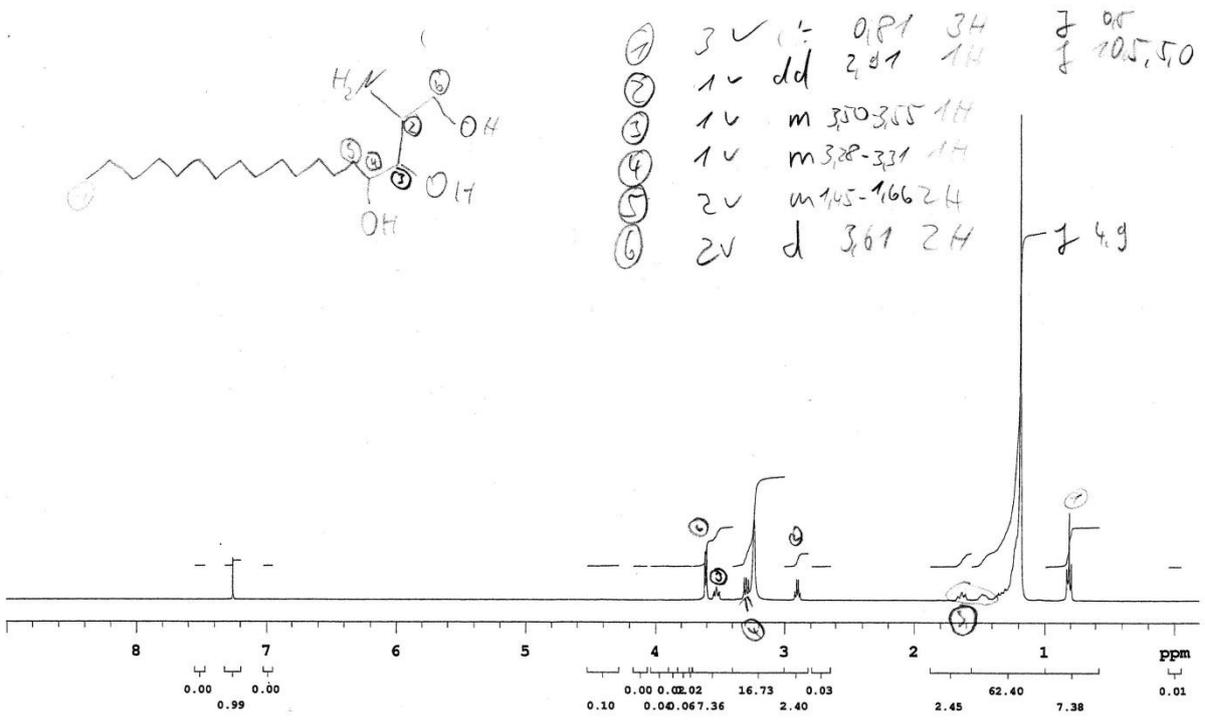
- Verbindung 3



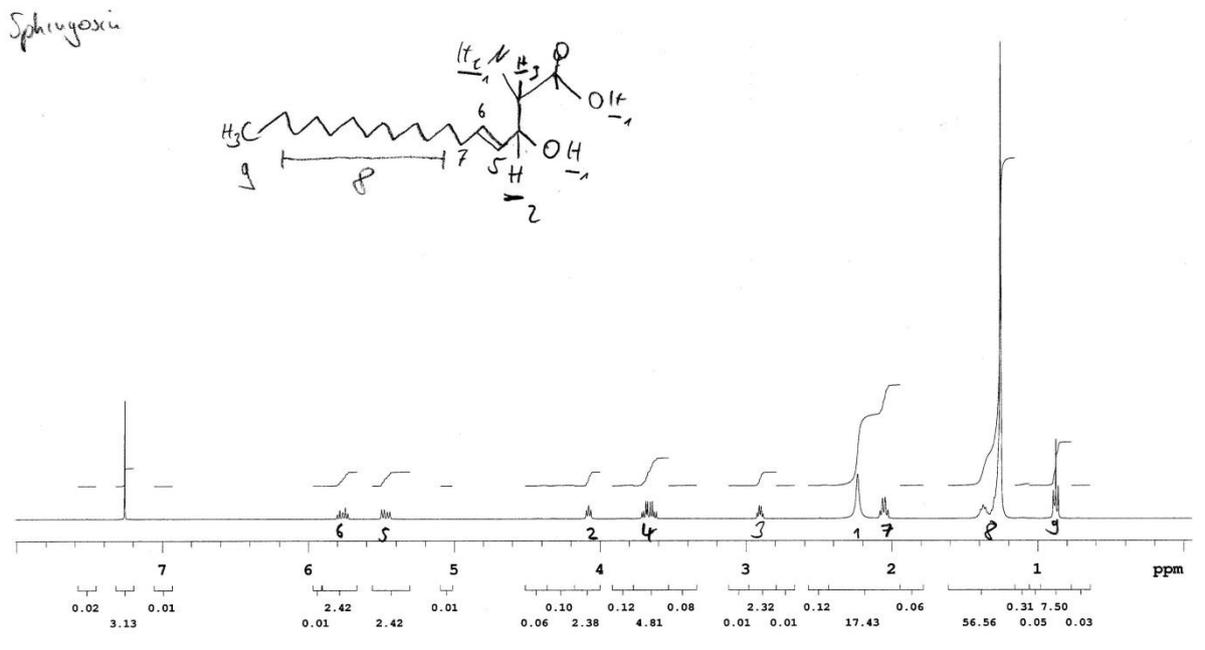
- Verbindung 6



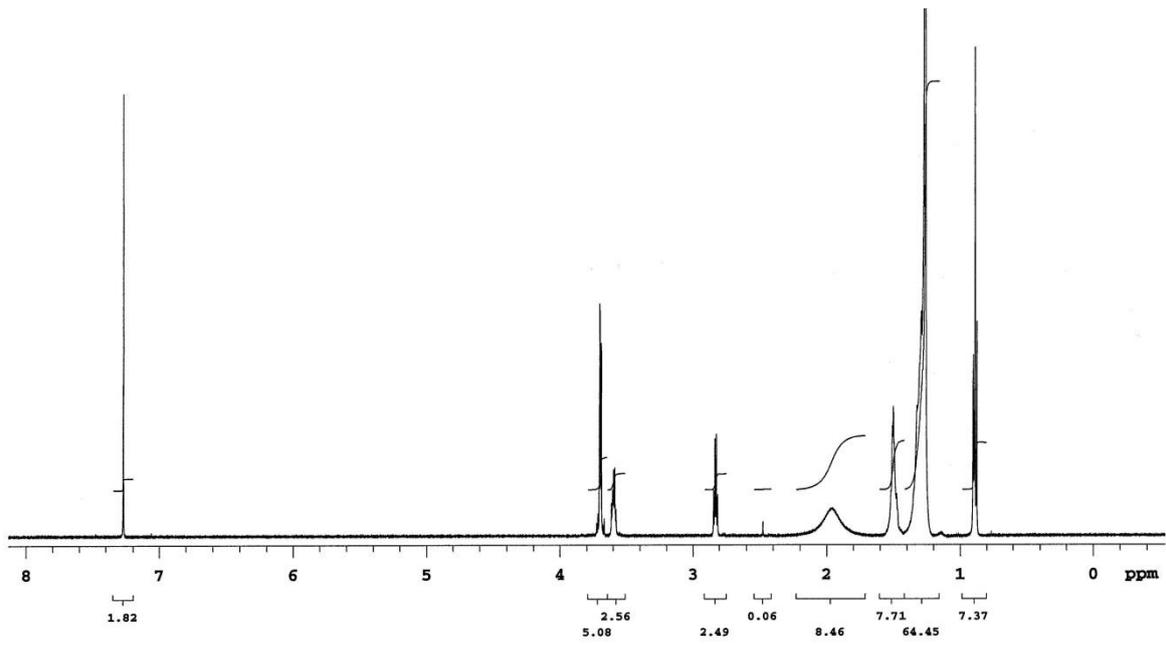
• Verbindung 7



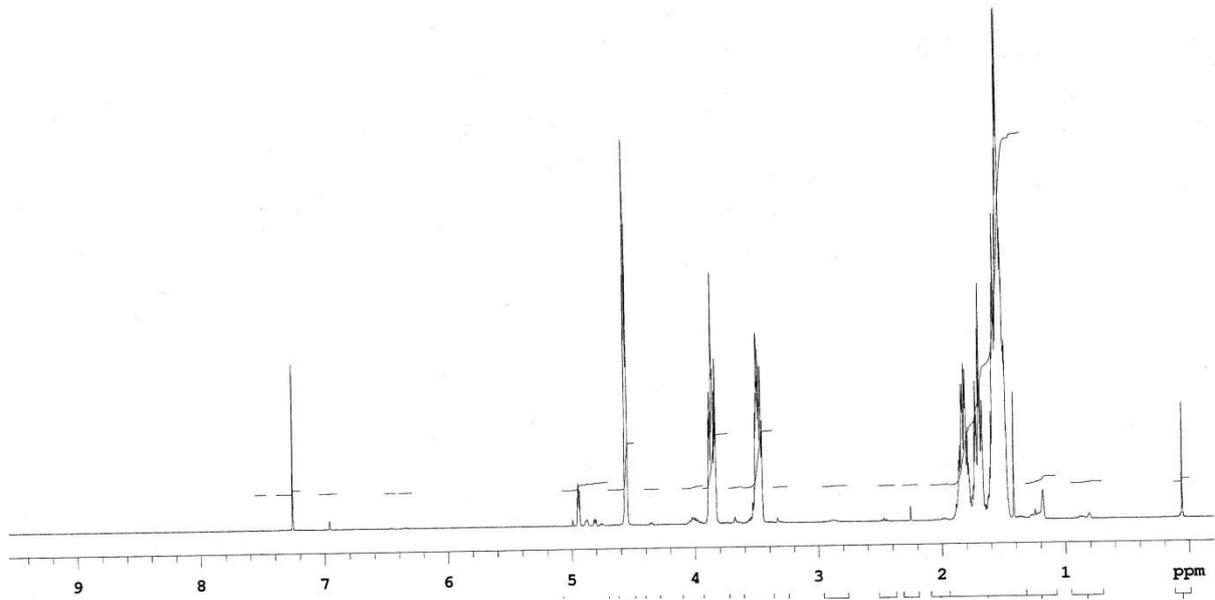
• Verbindung 8



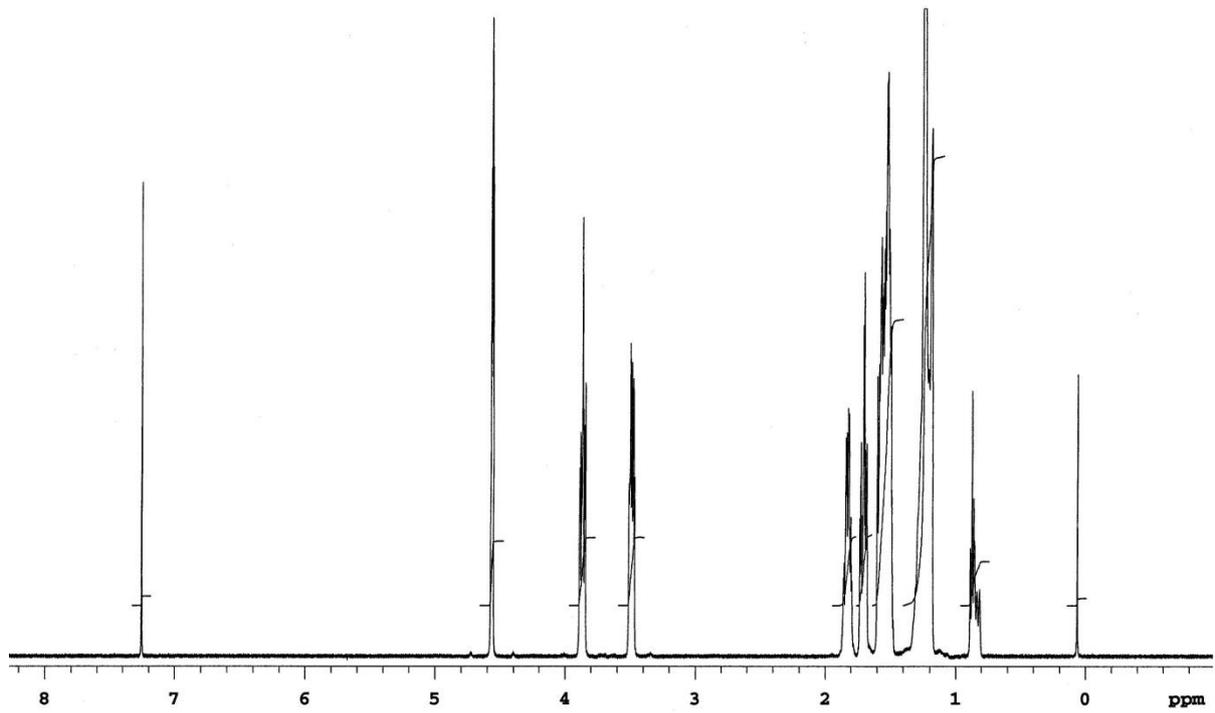
• Verbindung 9



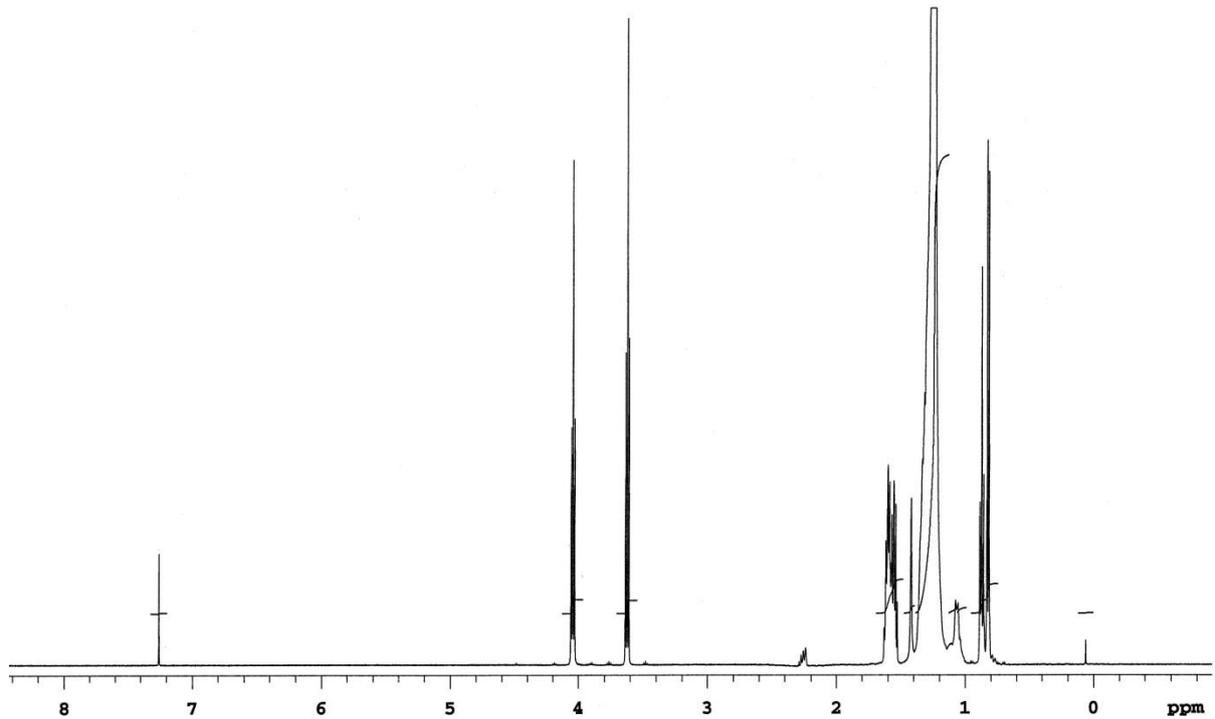
• Verbindung 17



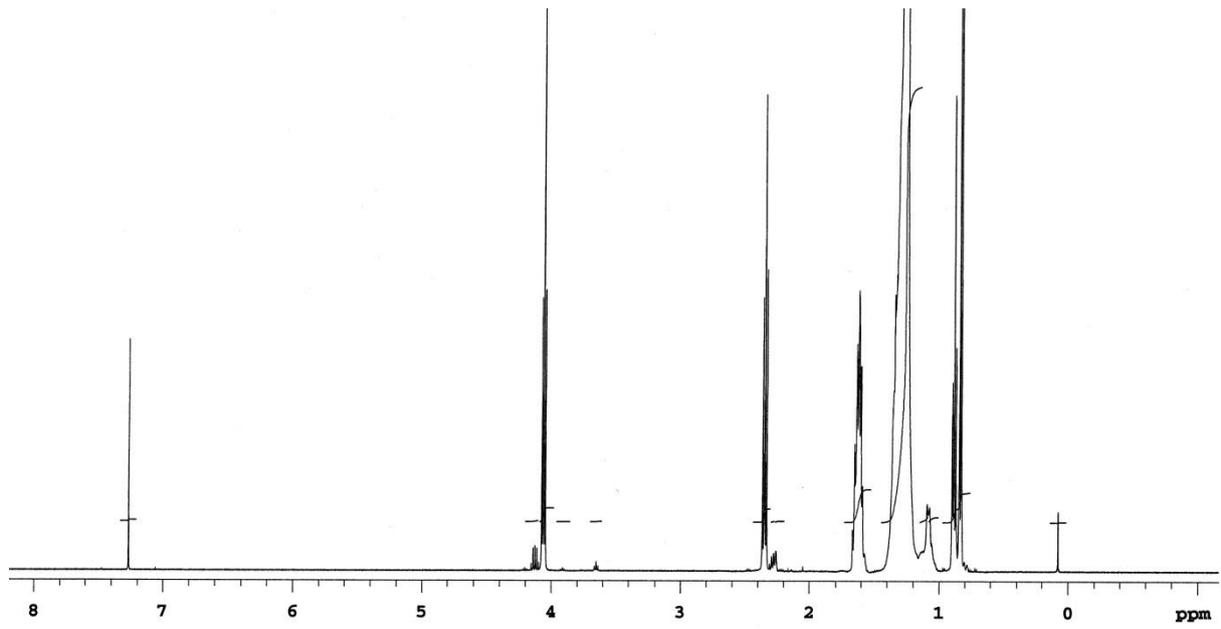
• Verbindung 18



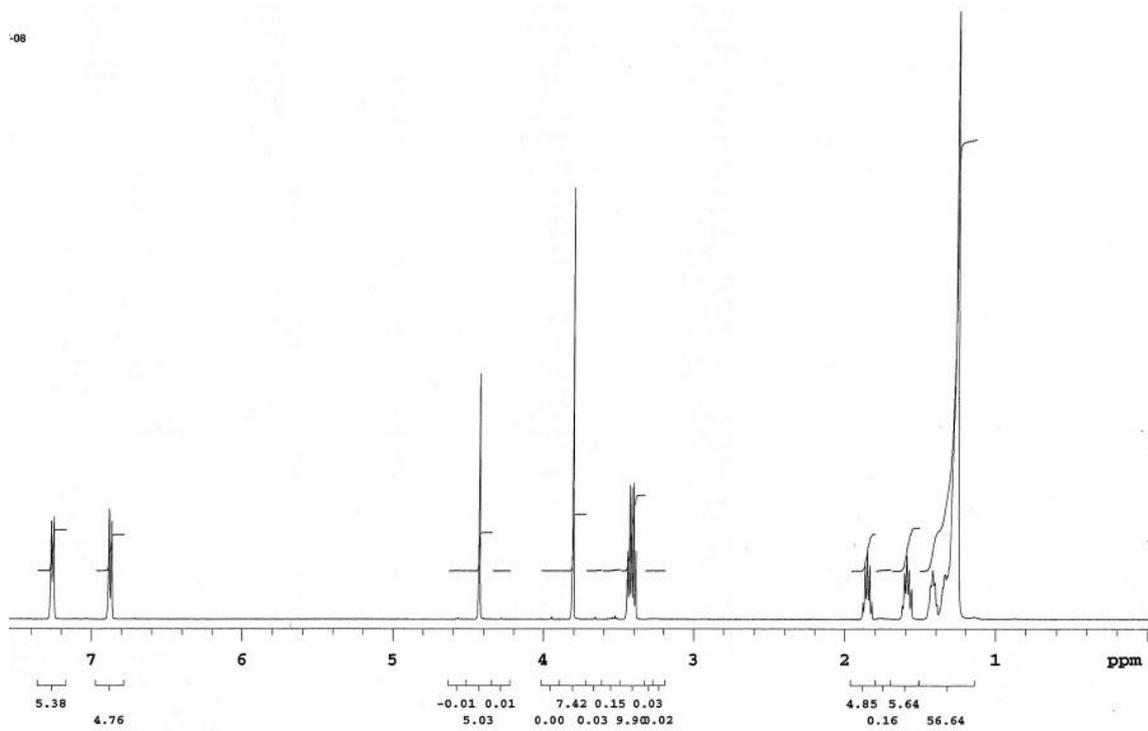
• Verbindung 34



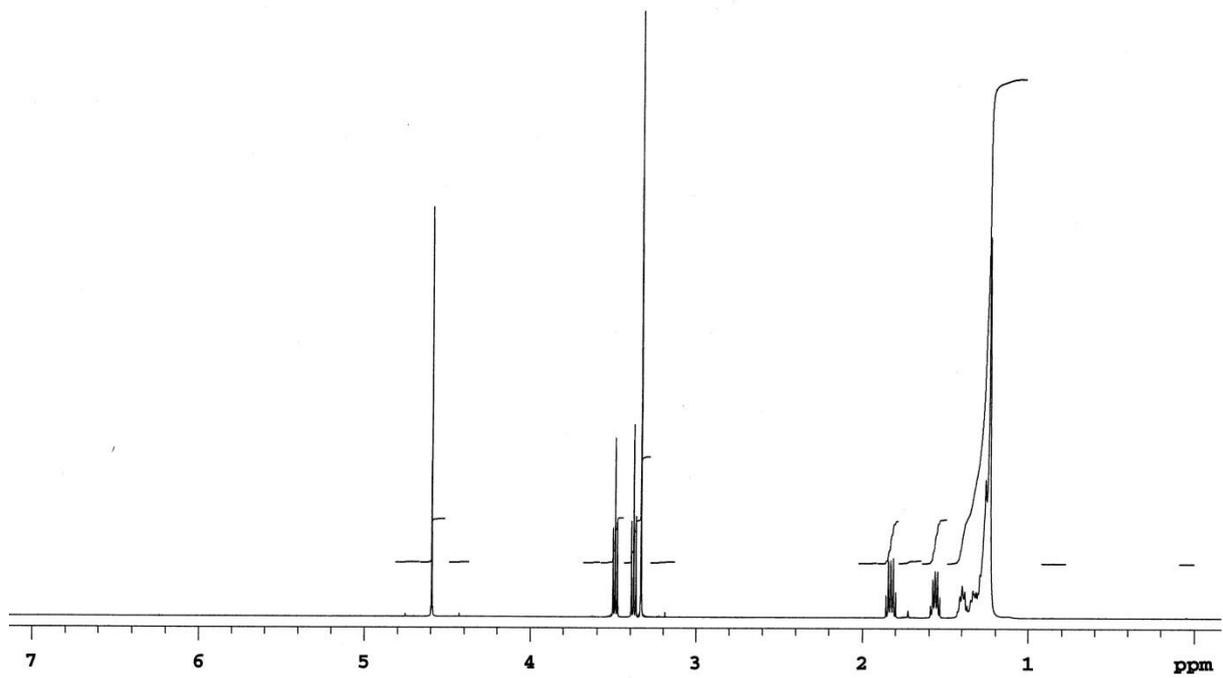
- Verbindung 35



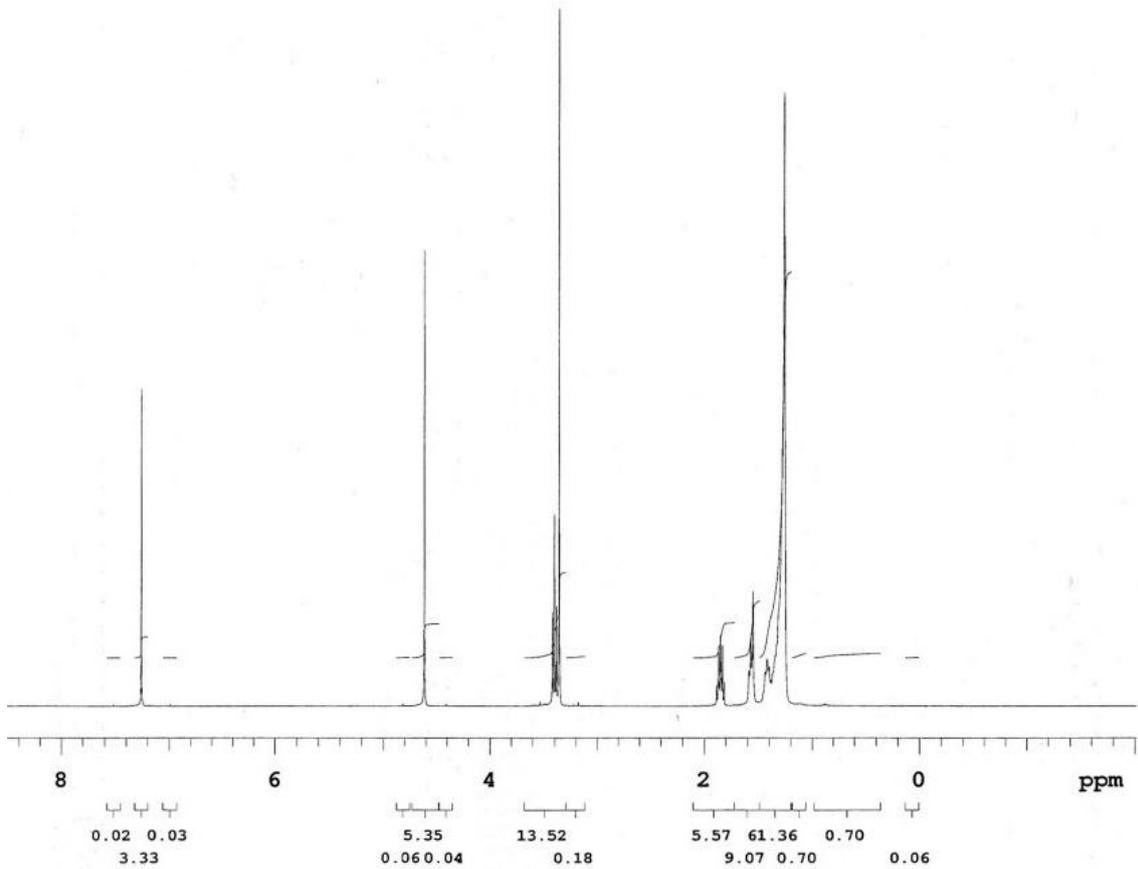
- Verbindung 38



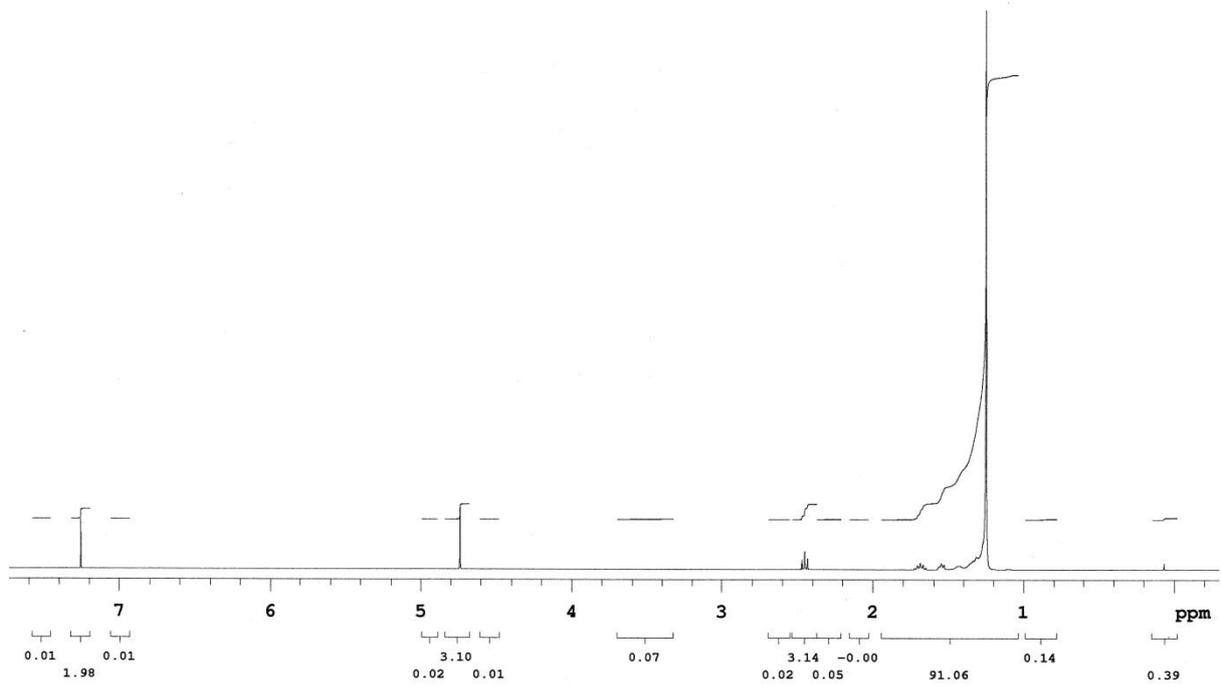
- Verbindung 39



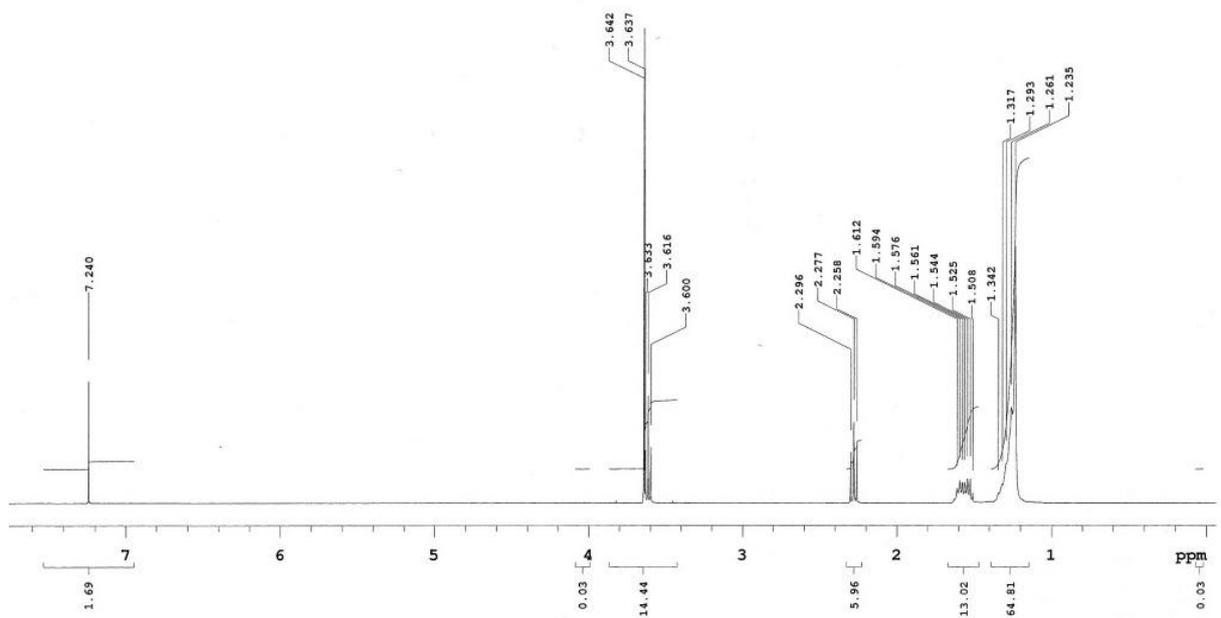
- Verbindung 40



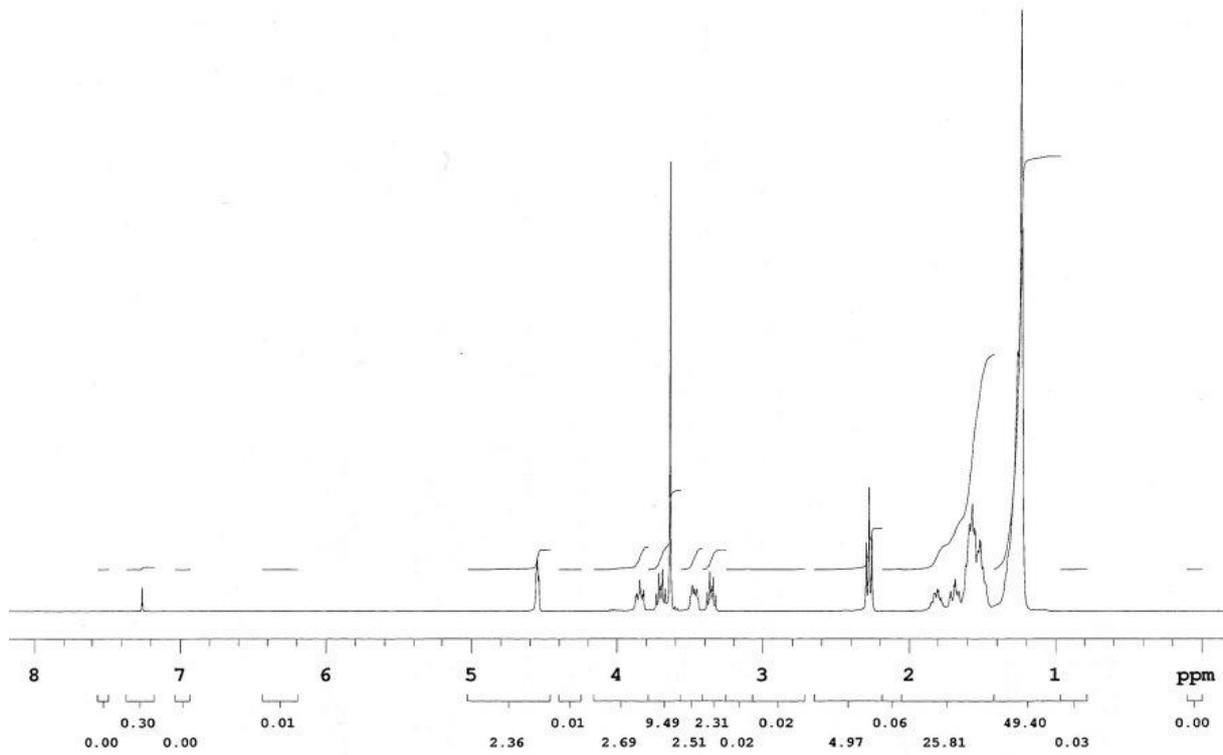
- Verbindung 42



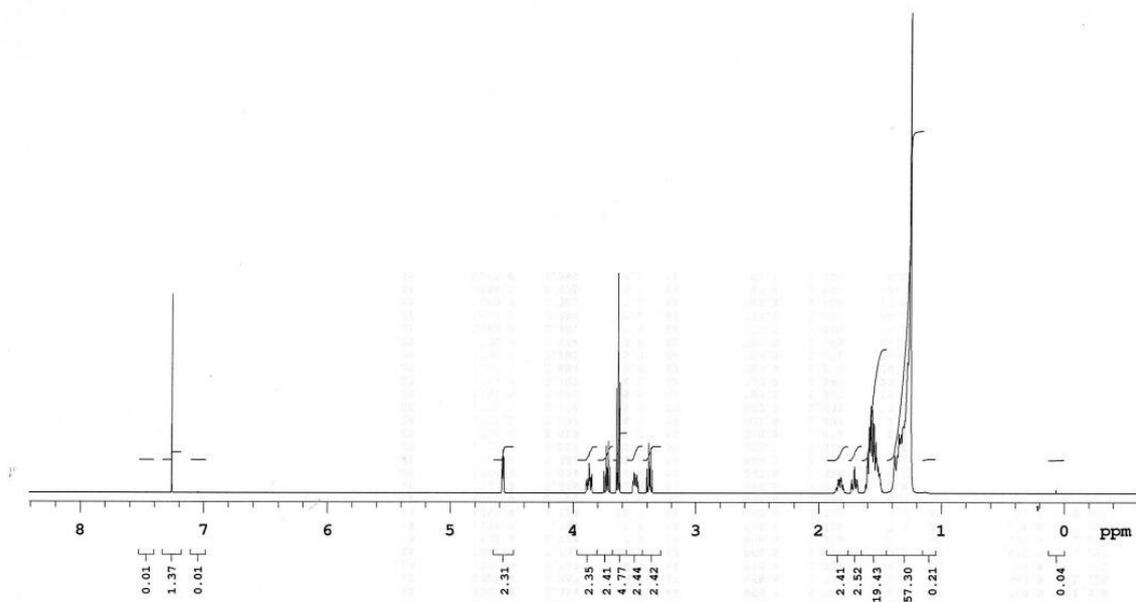
- Verbindung 45



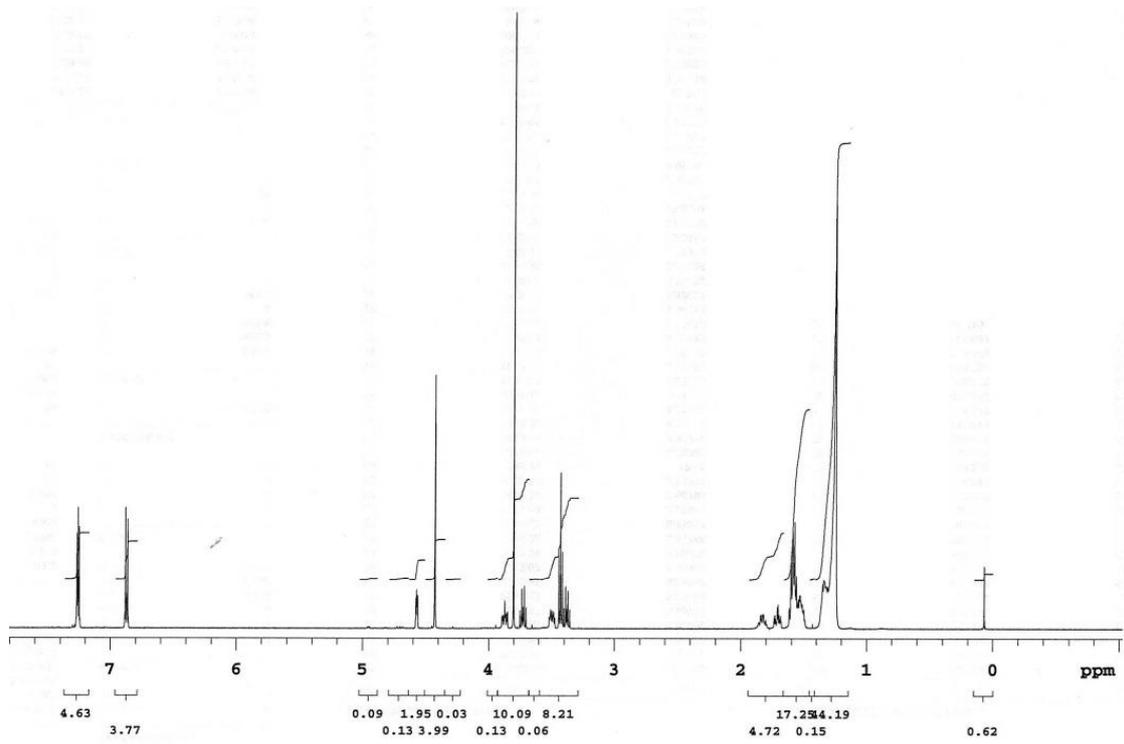
- Verbindung 46



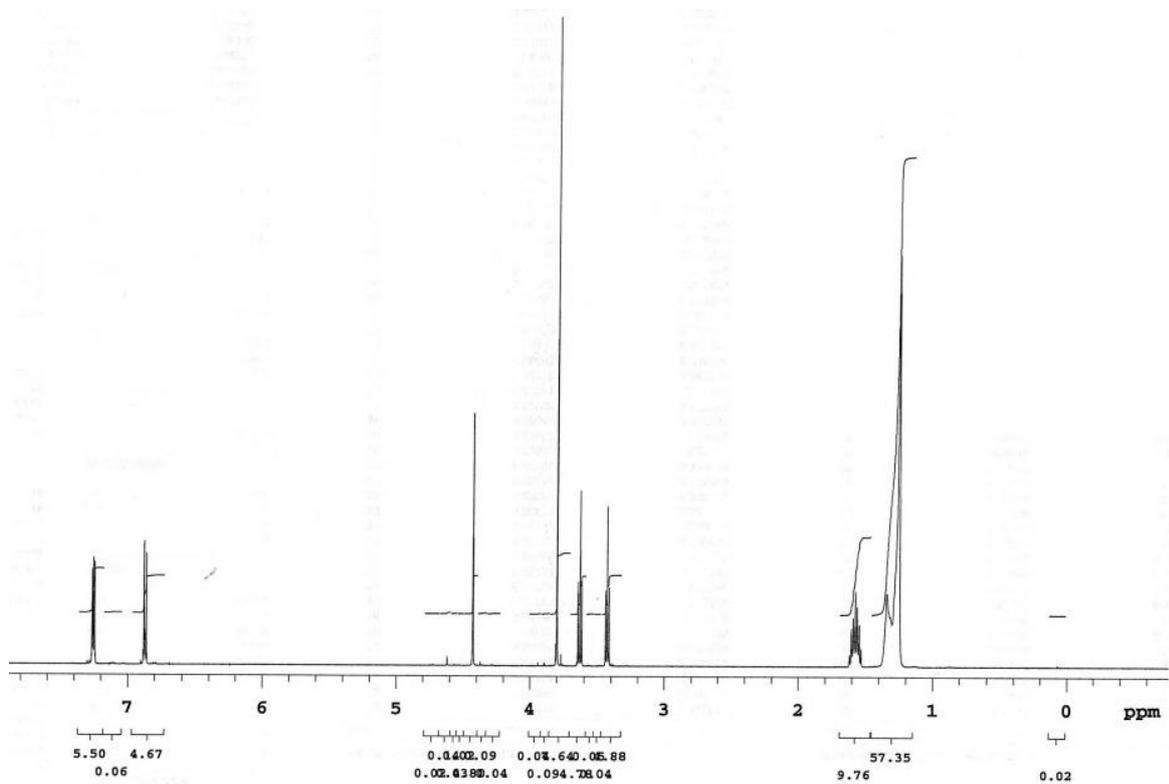
- Verbindung 47



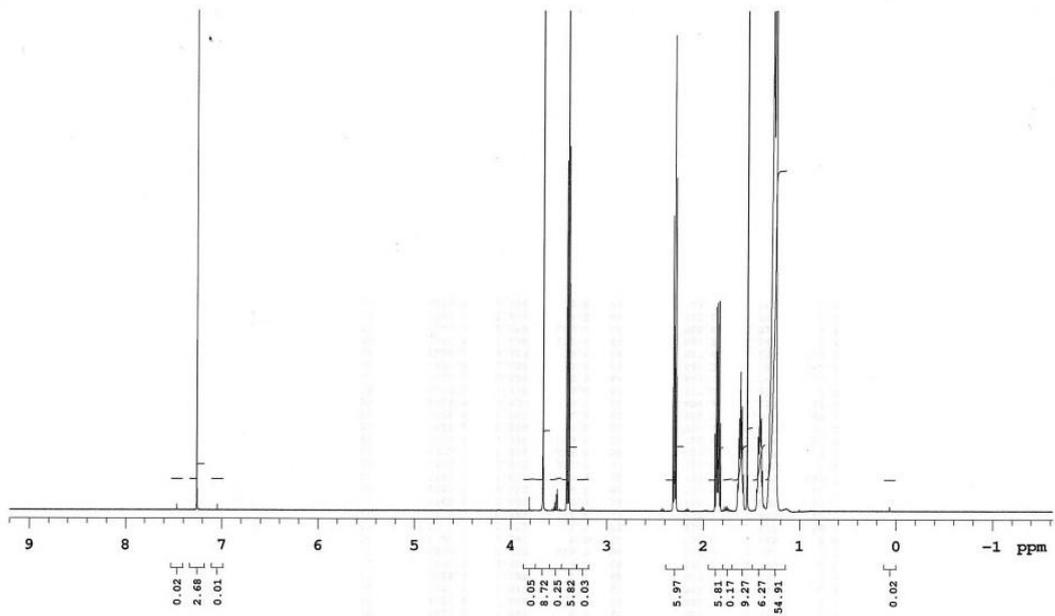
• Verbindung 48



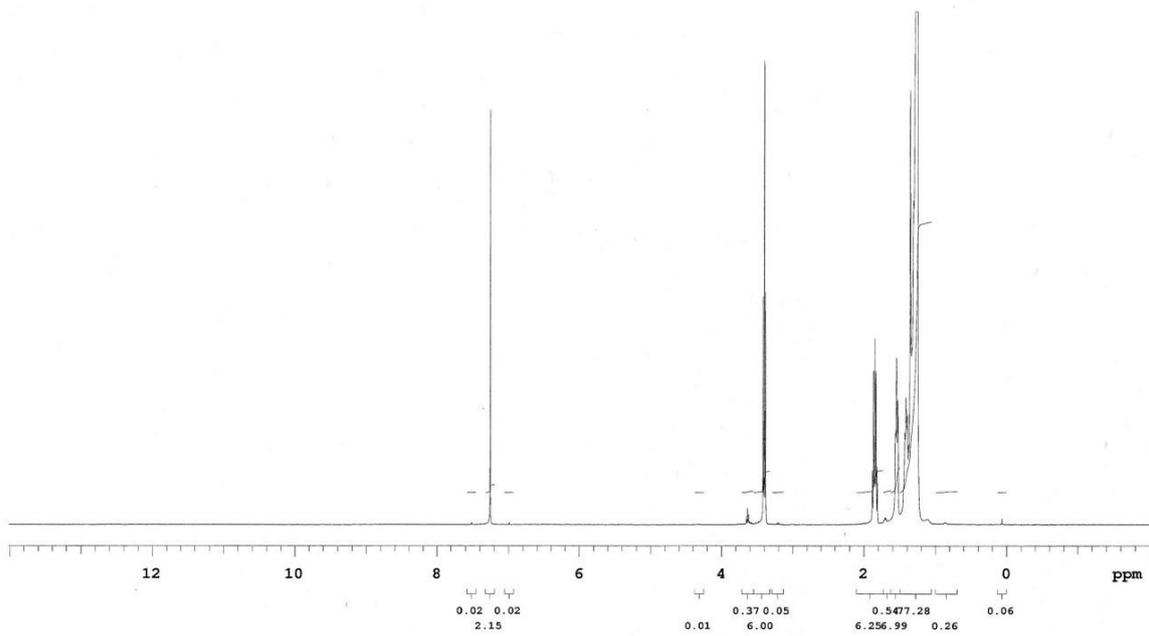
• Verbindung 50



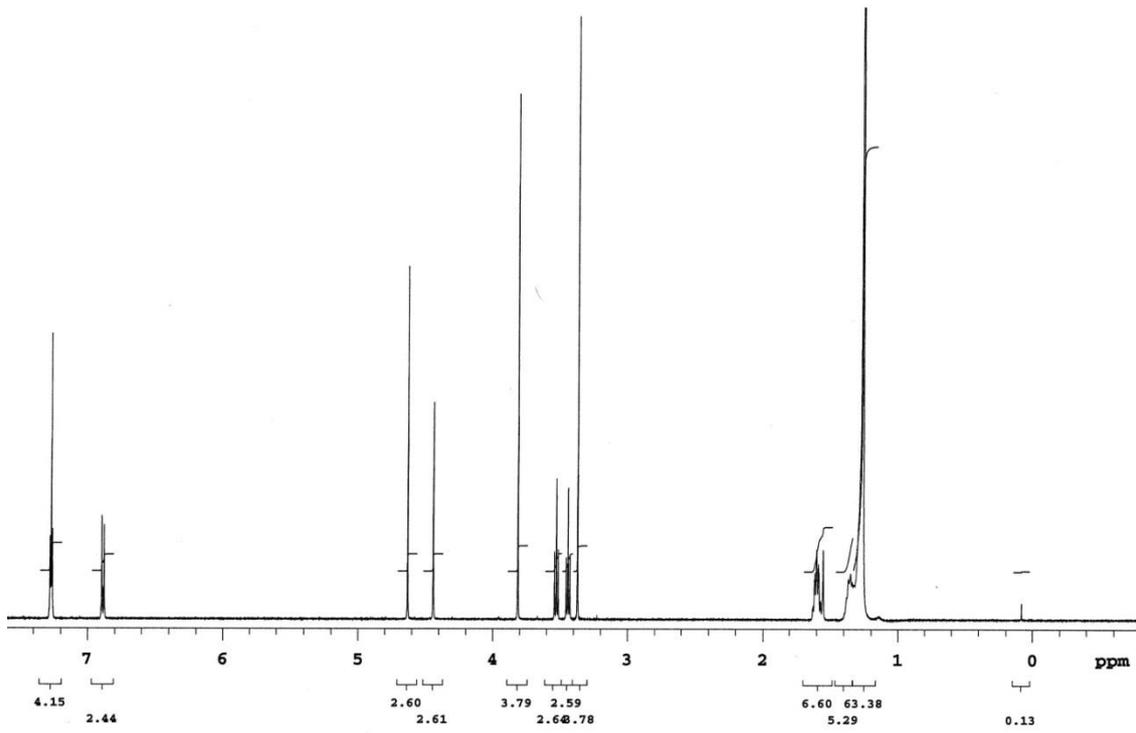
- Verbindung 54



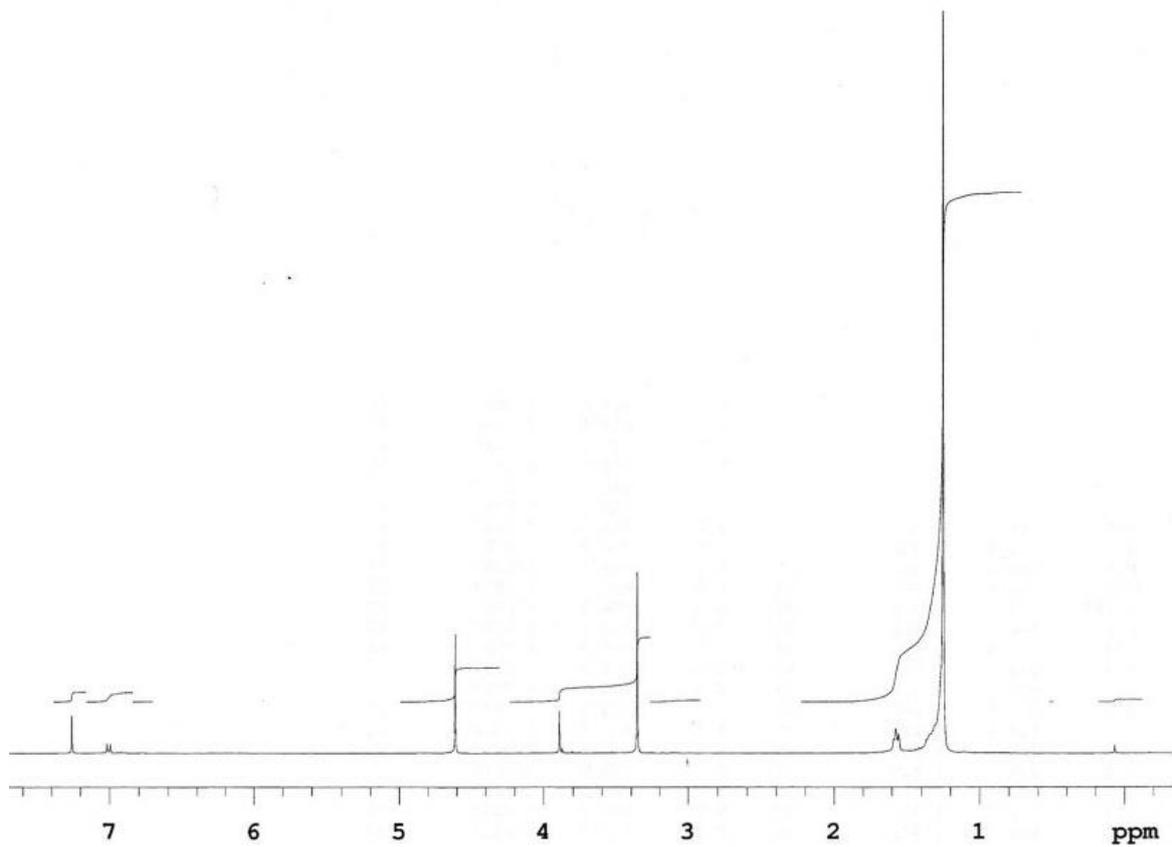
- Verbindung 56



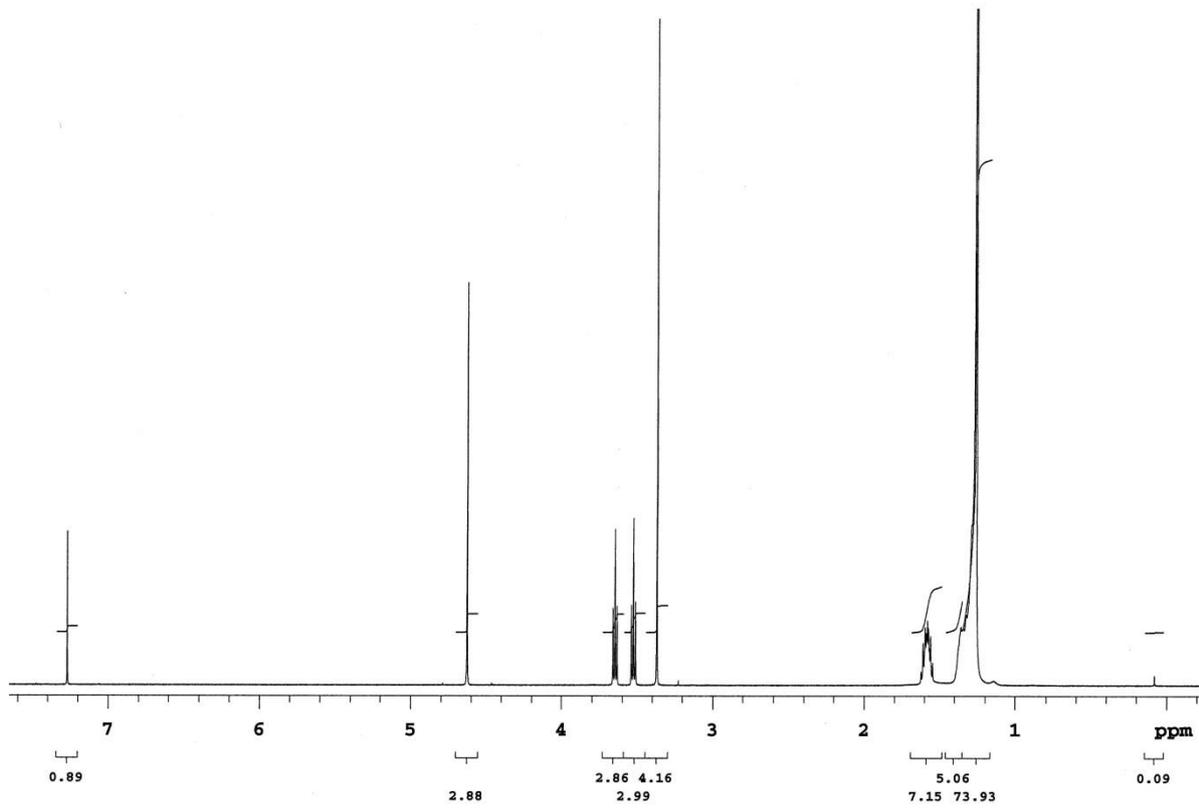
- Verbindung 57



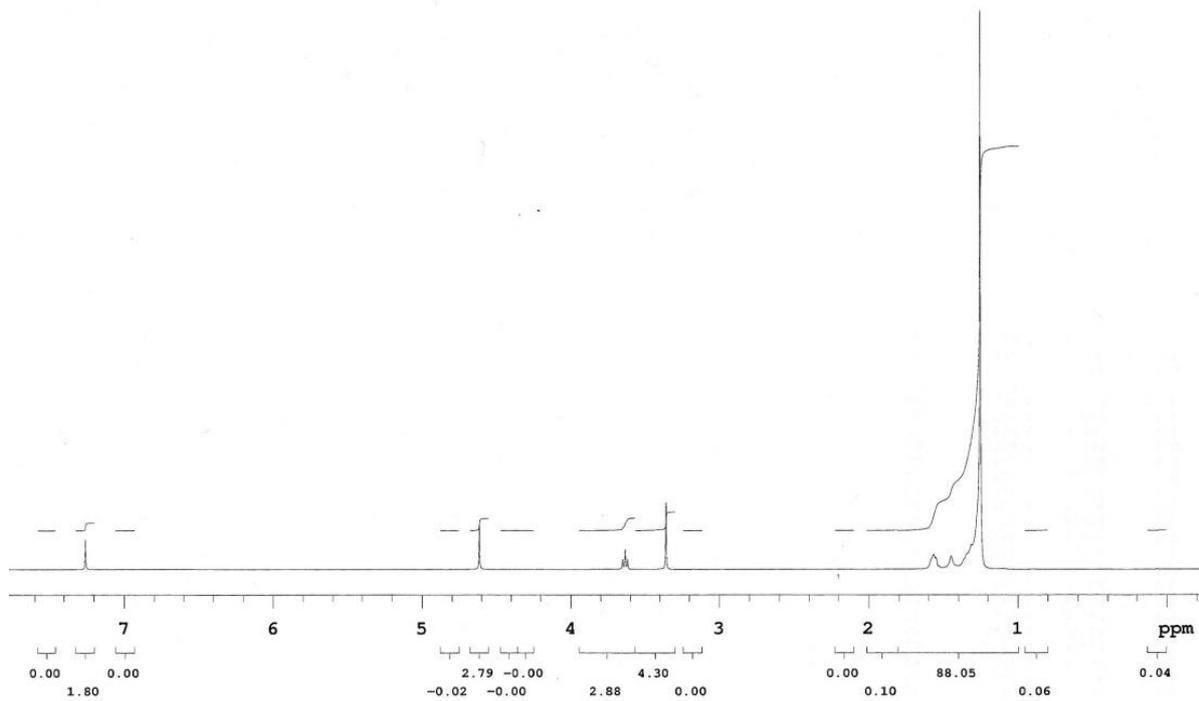
- Verbindung 58



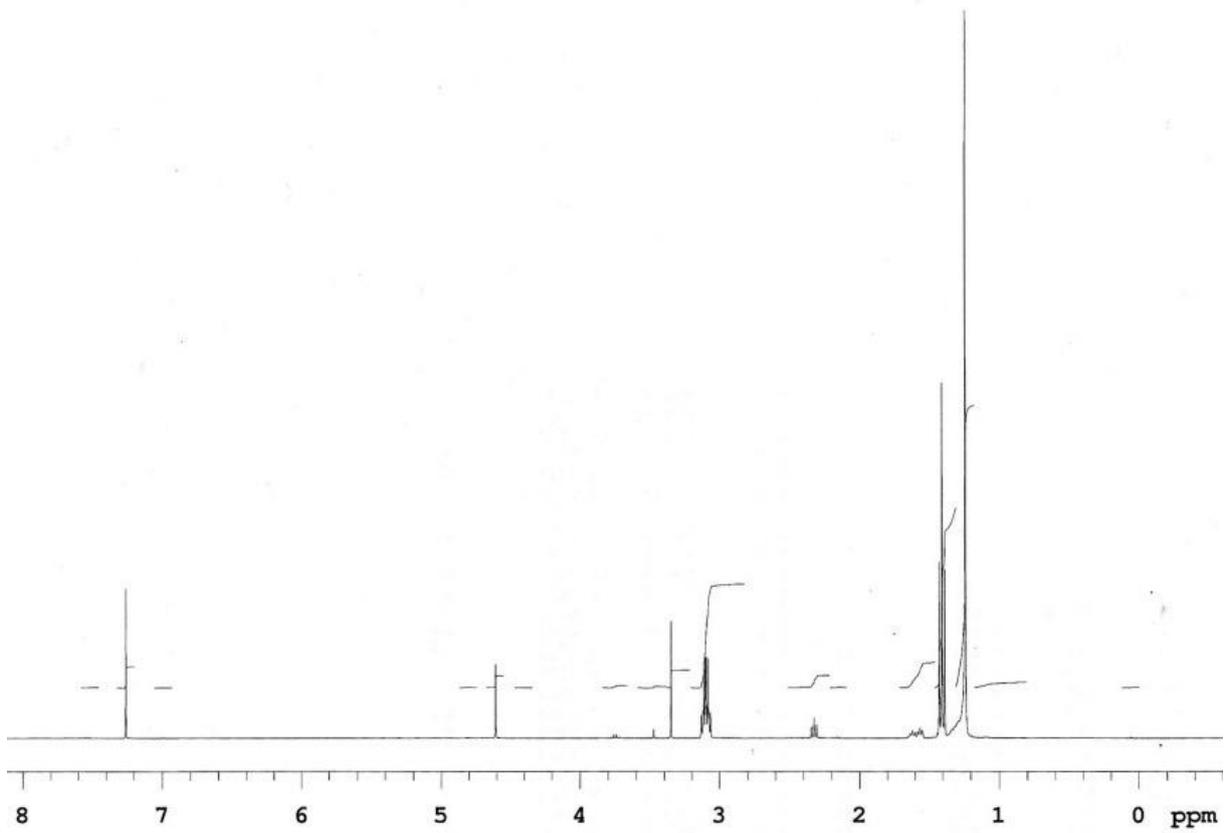
• Verbindung 59



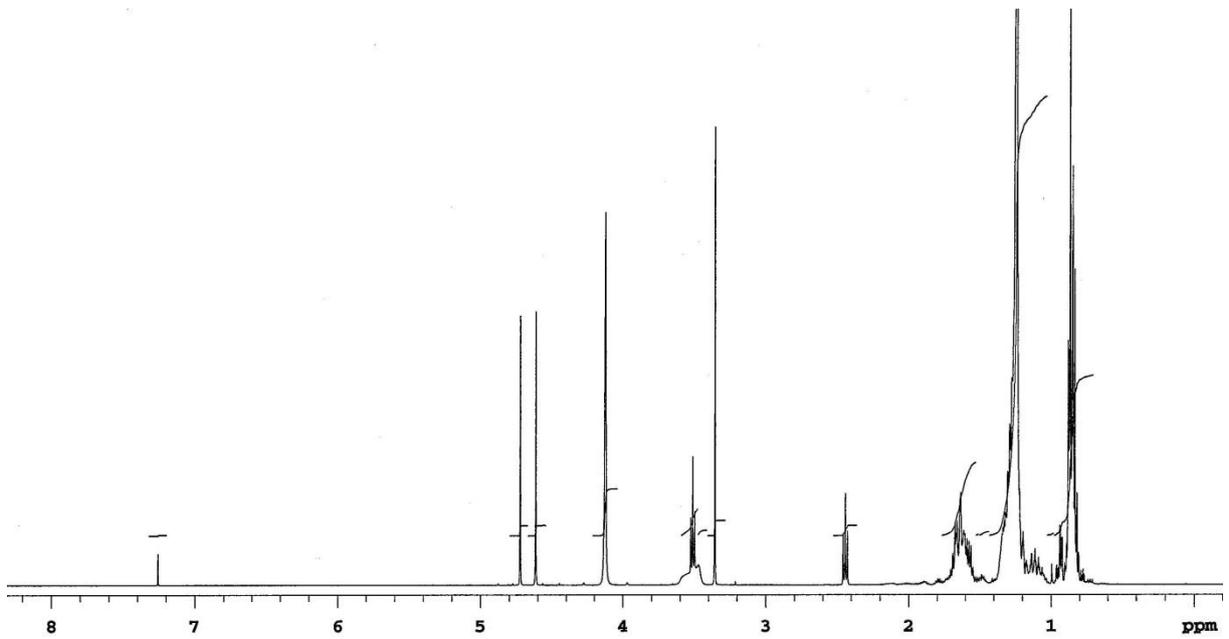
• Verbindung 60



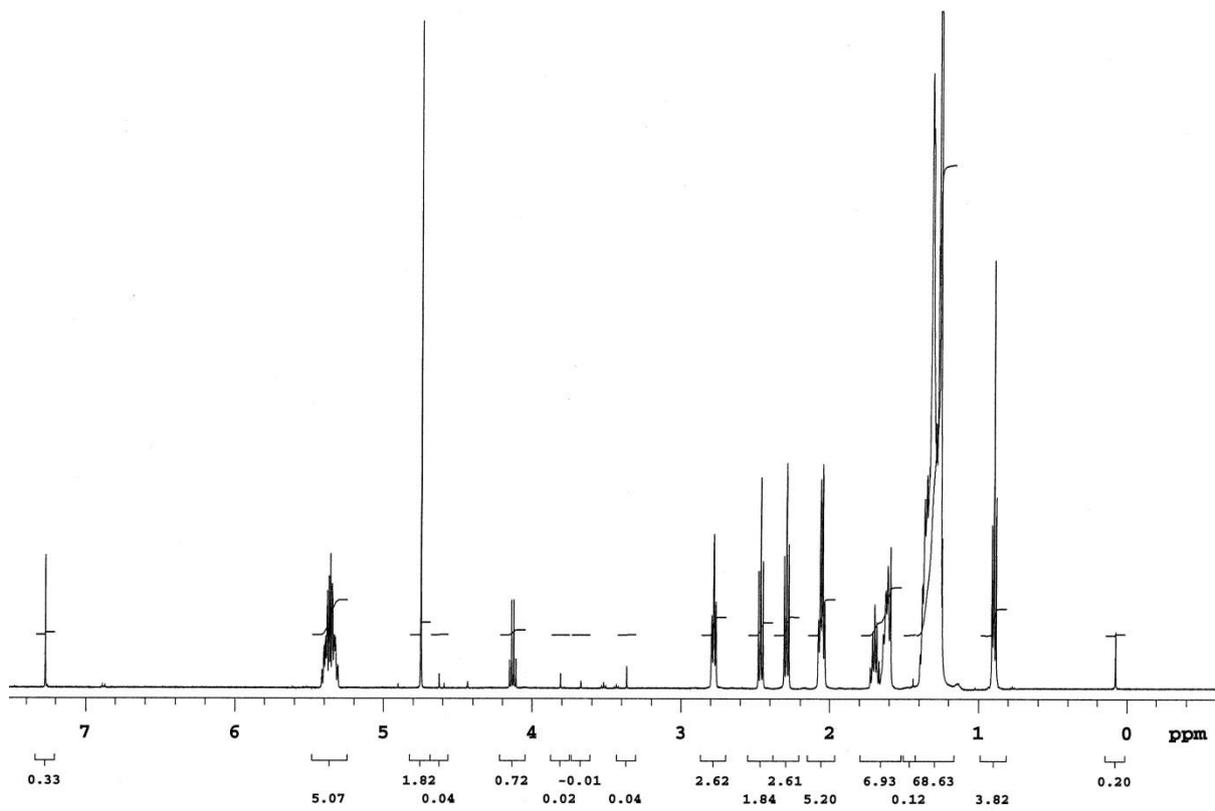
- **Verbindung 62**



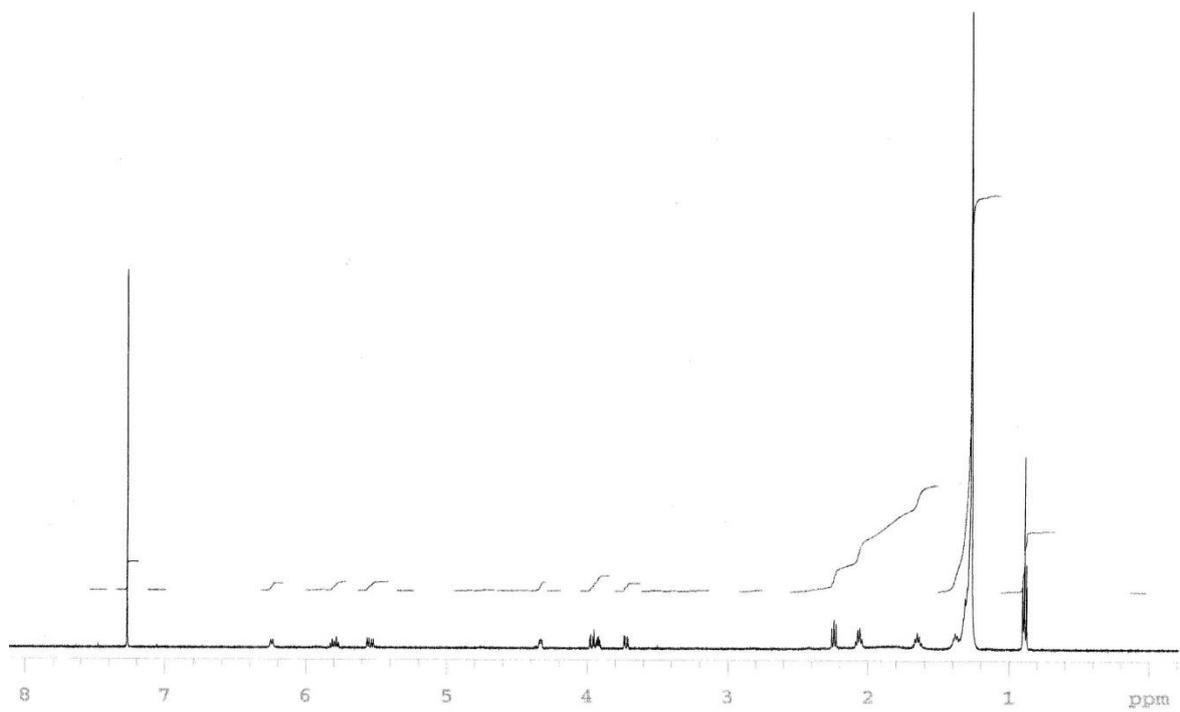
- **Verbindung 63**



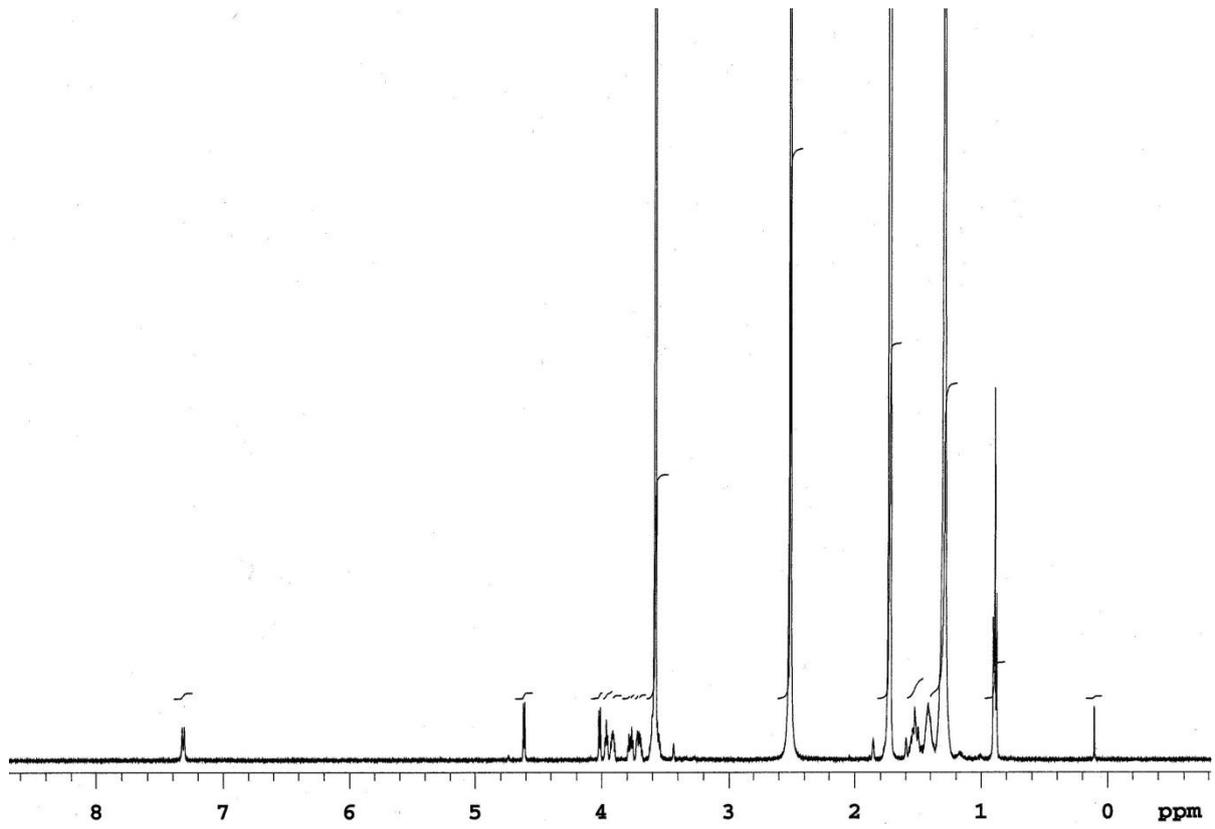
• Verbindung 66



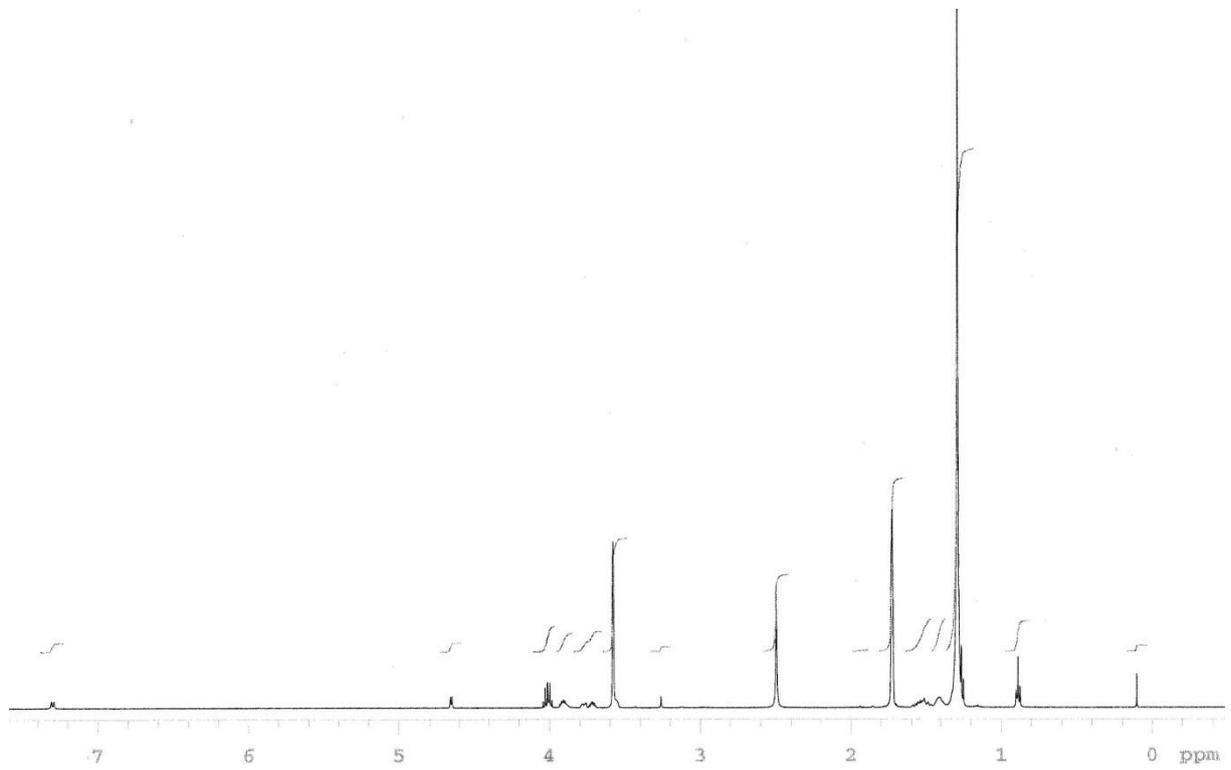
• Verbindung 82



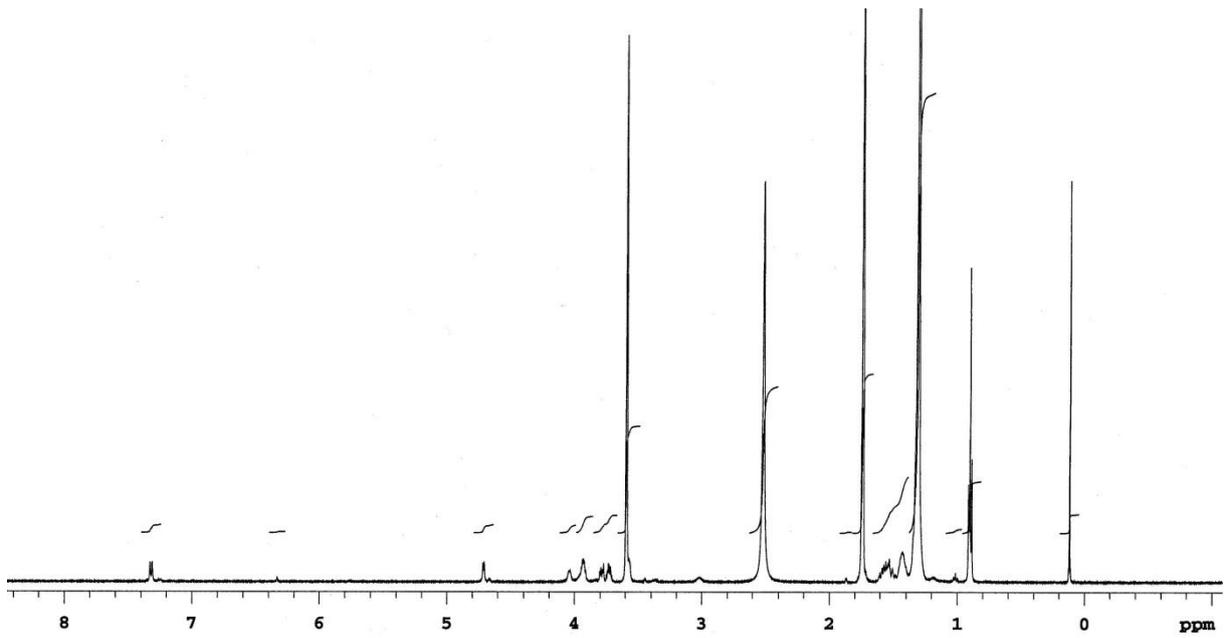
- Verbindung 113



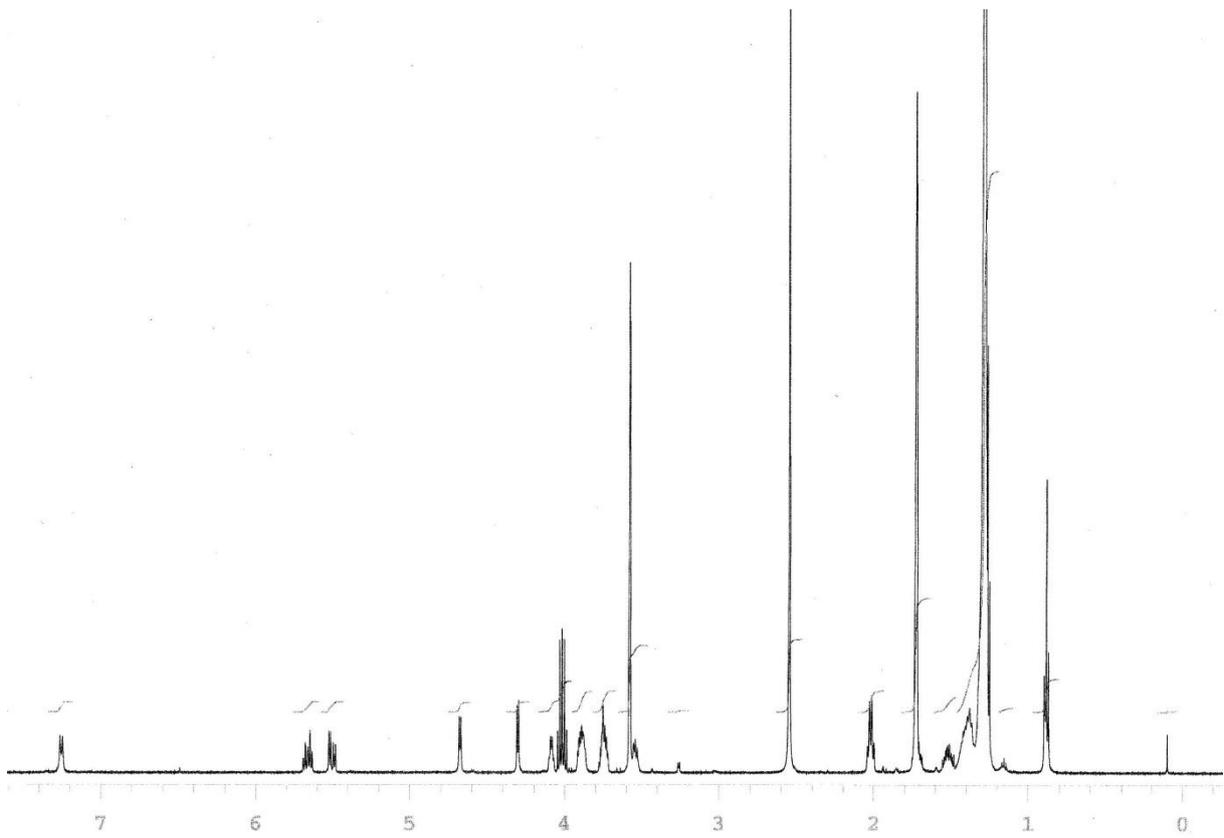
- Verbindung 114



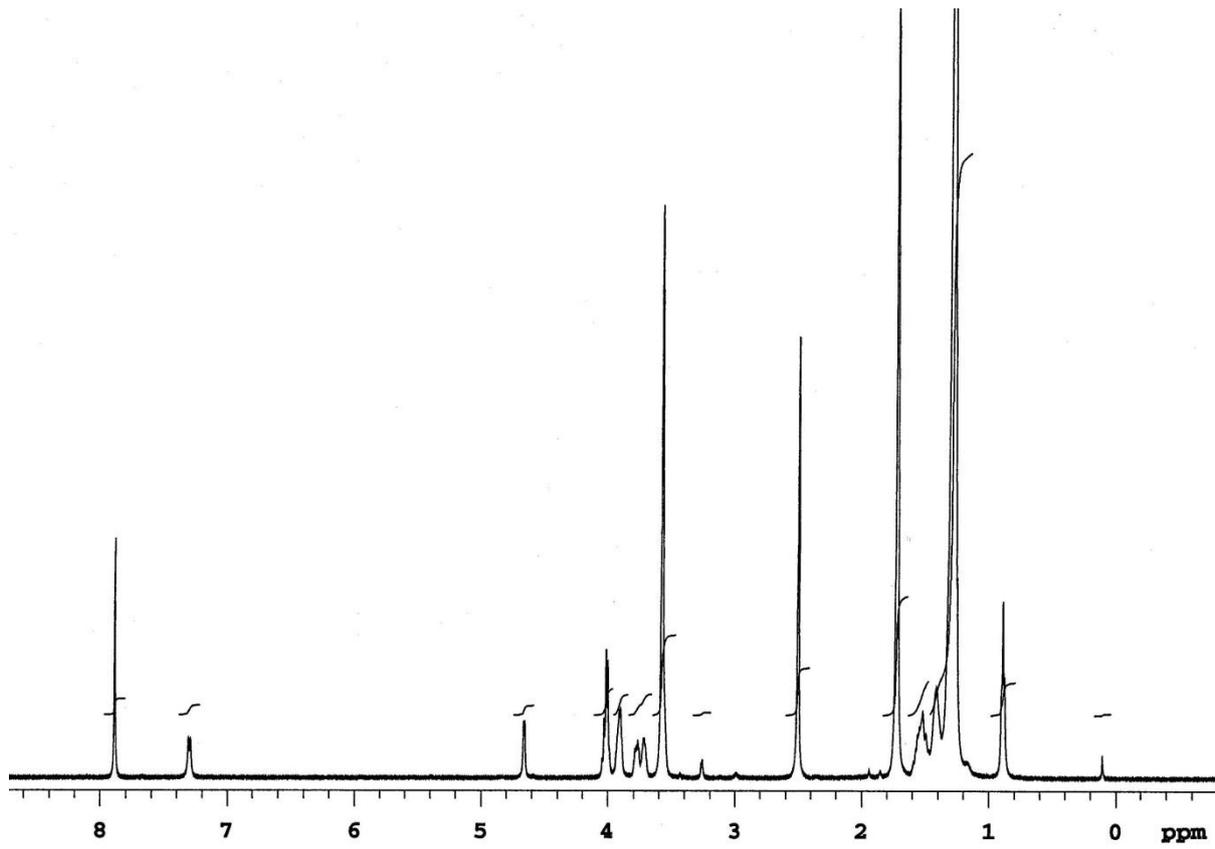
- **Verbindung 122**



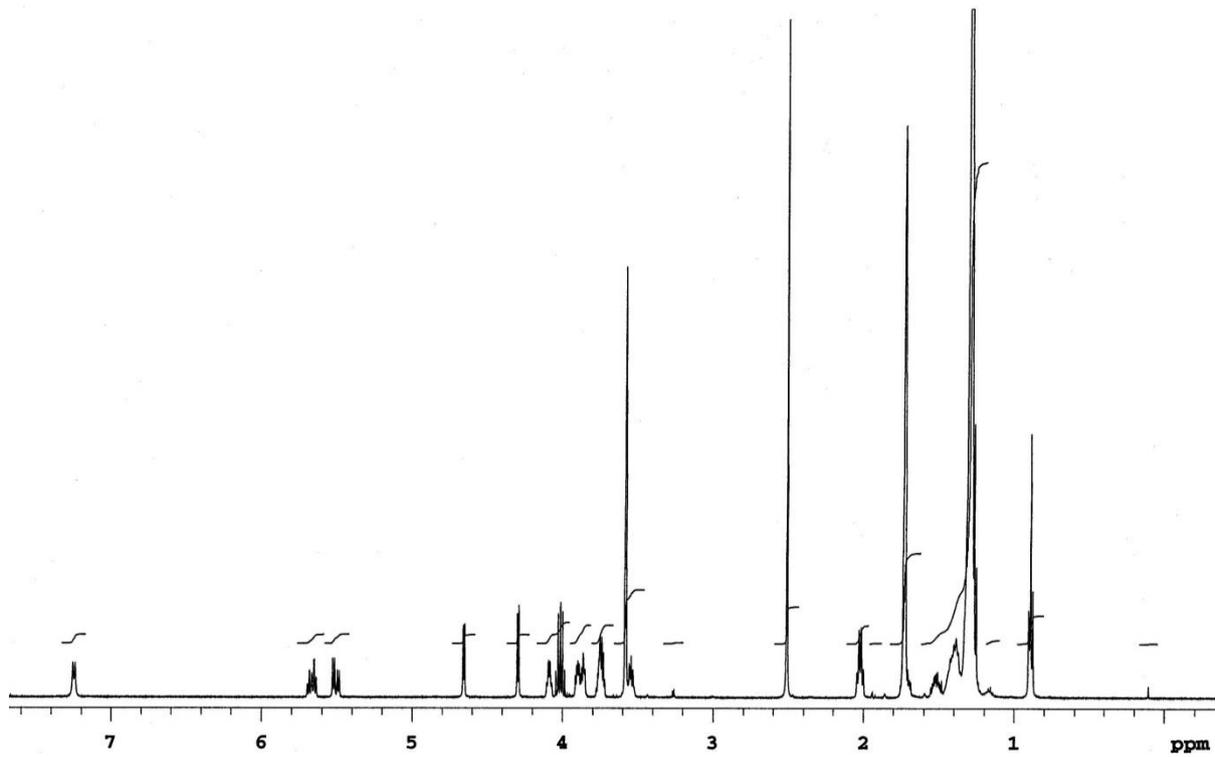
- **Verbindung 120**



- Verbindung 123

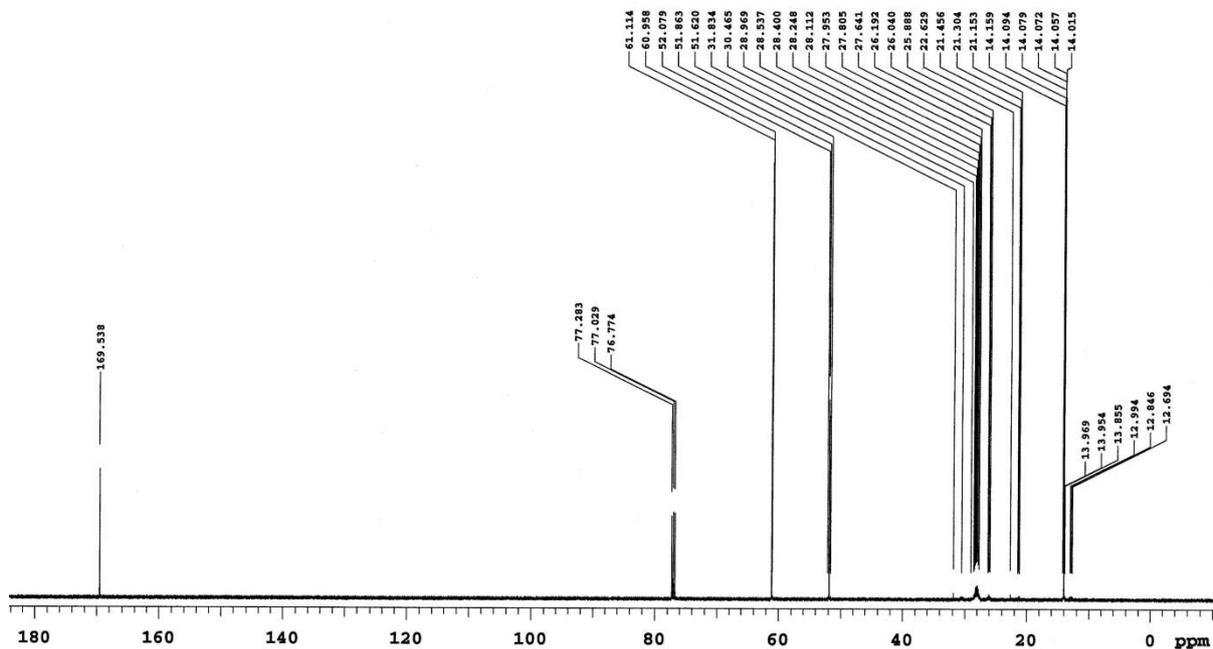


- Verbindung 129

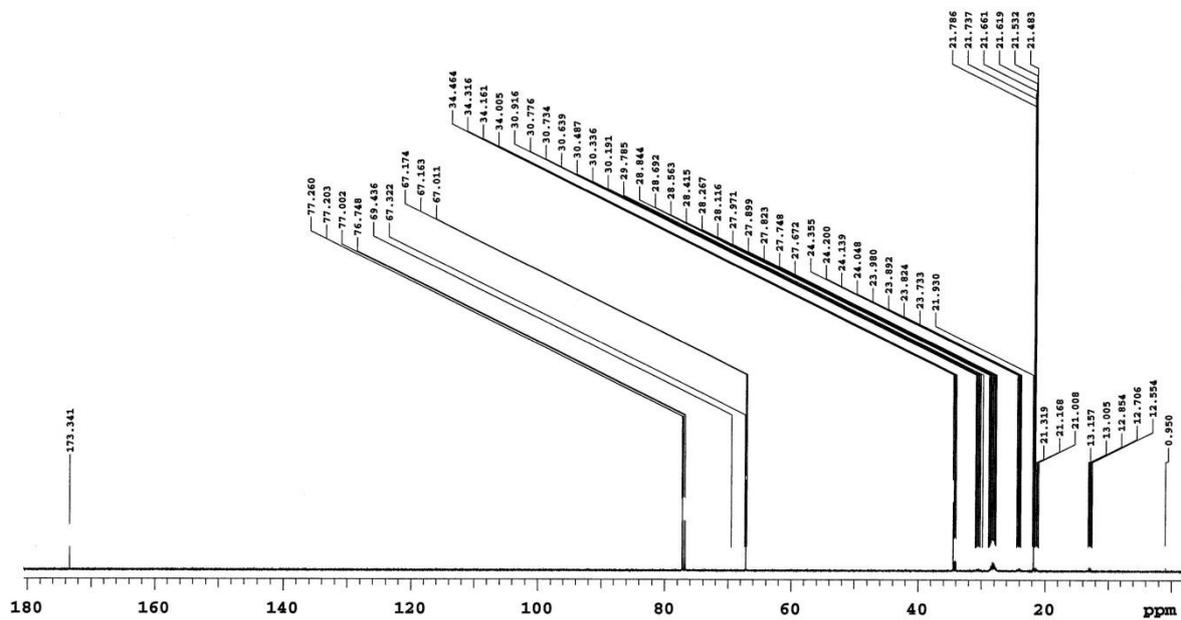


7.4 ^{13}C NMR Spektren von ausgewählten Verbindungen

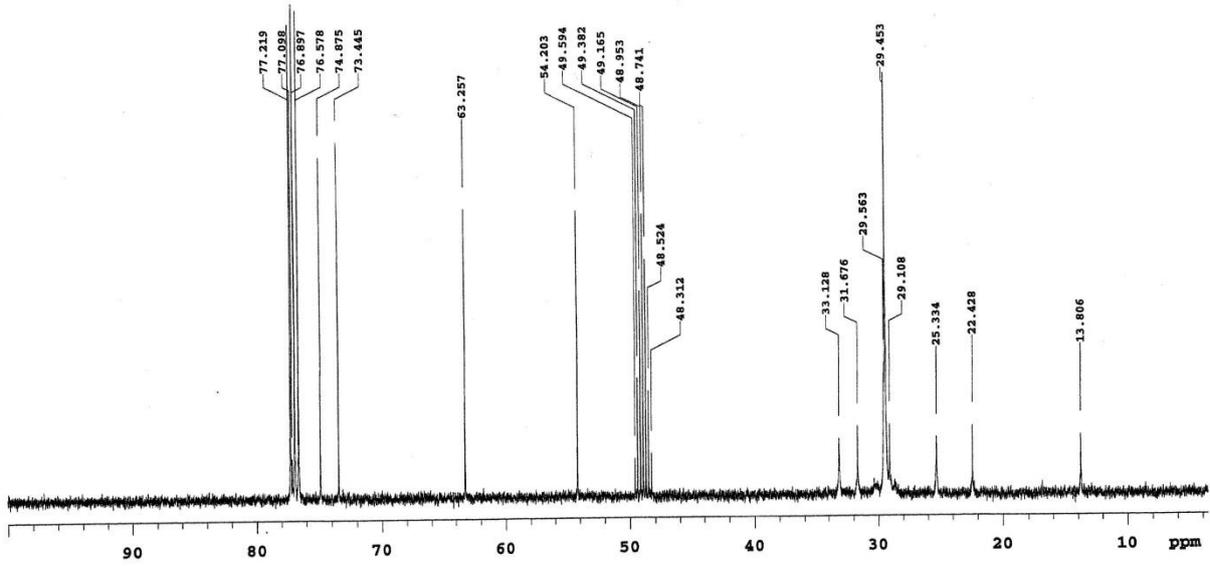
- Verbindung 3



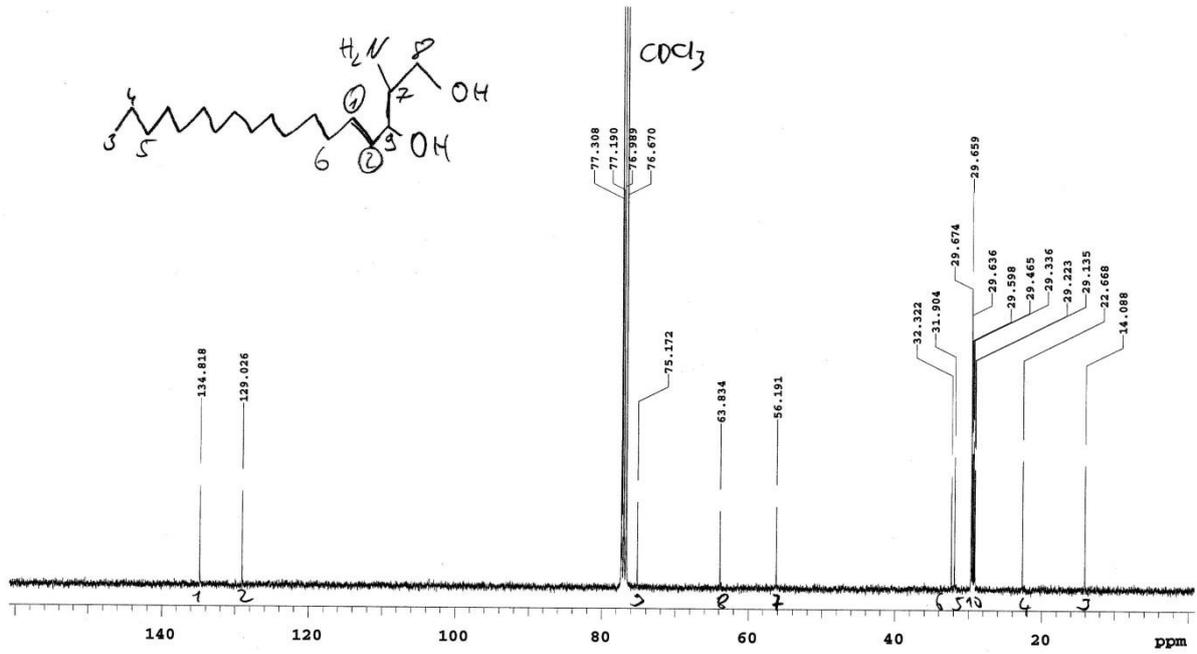
- Verbindung 6



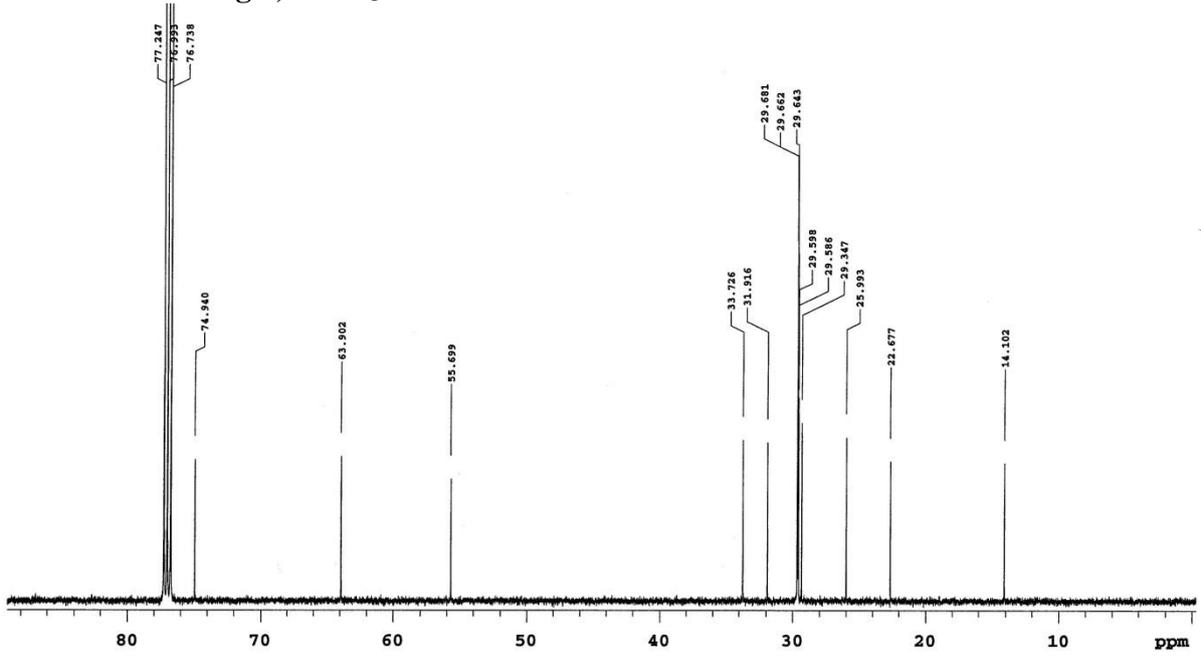
• Verbindung 7



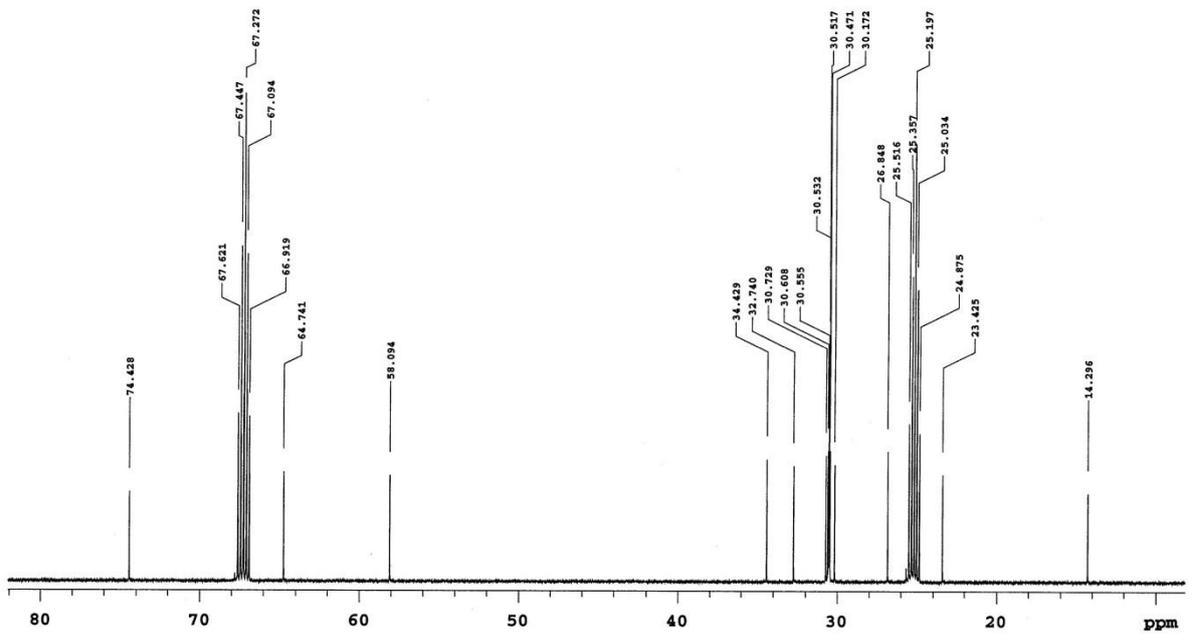
• Verbindung 8



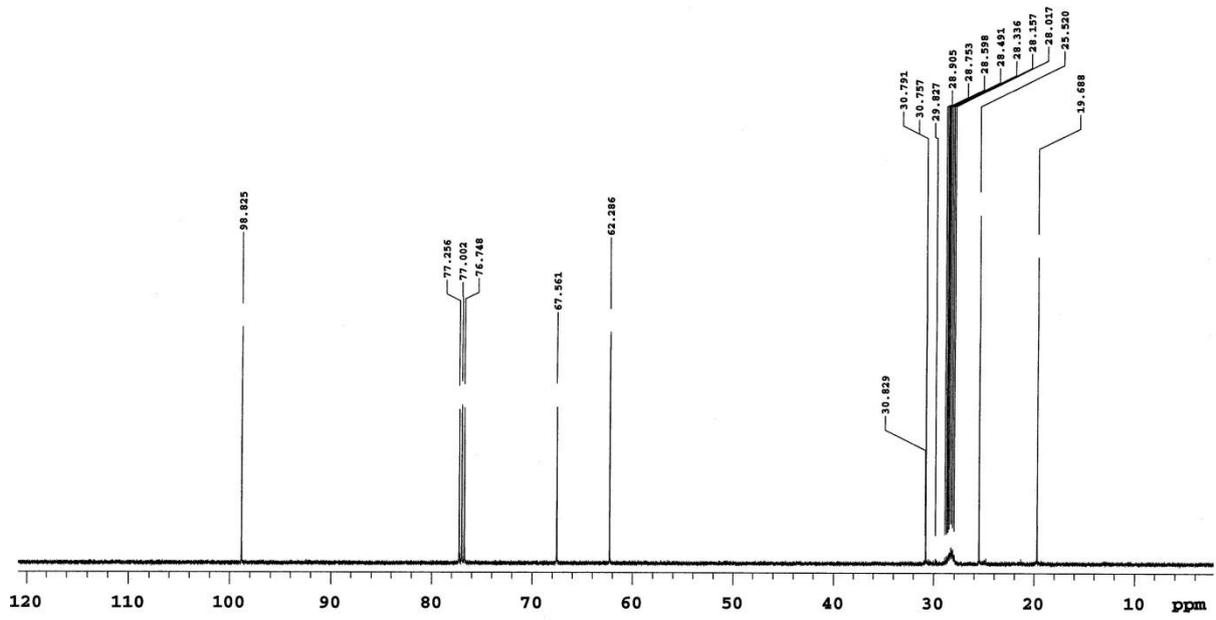
• Verbindung 9, CDCl₃



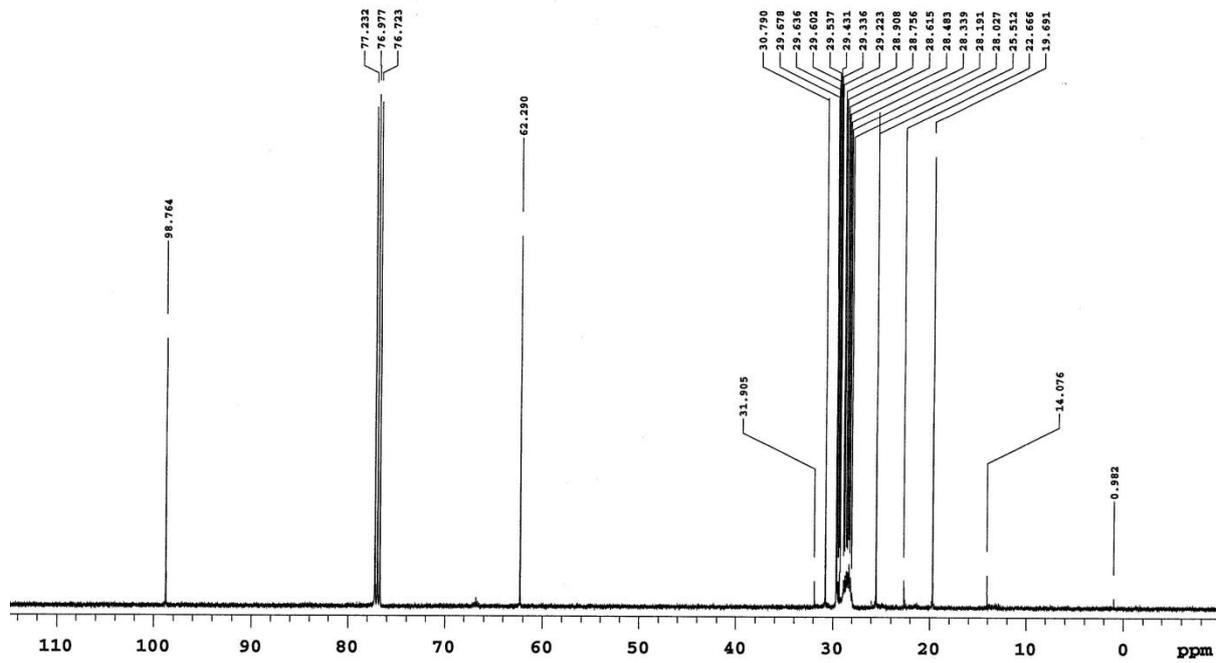
• Verbindung 9, THF-D₈



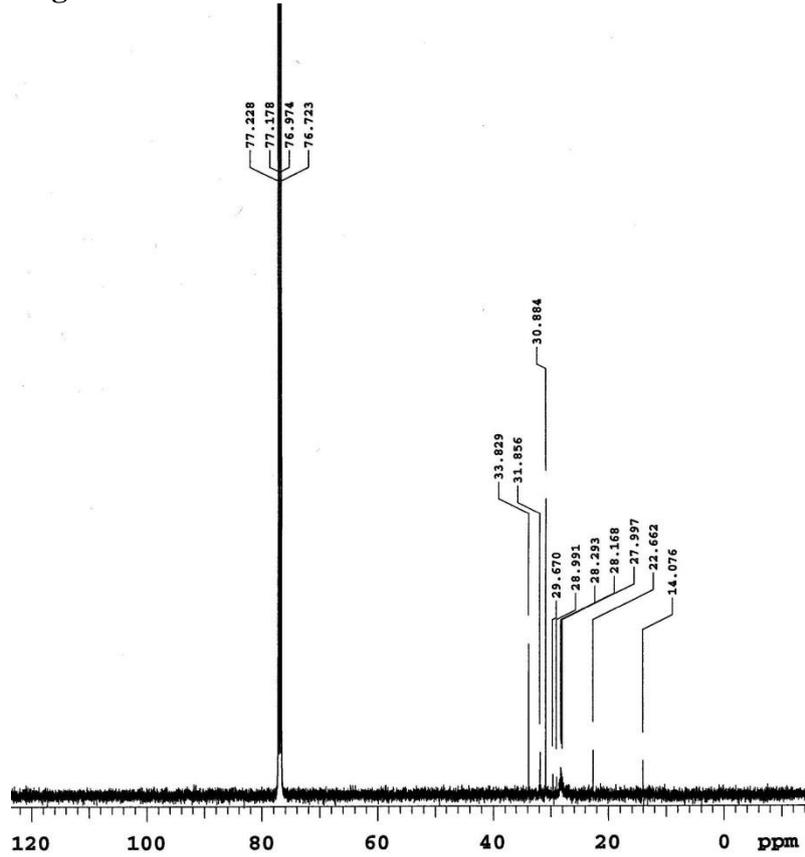
• Verbindung 17



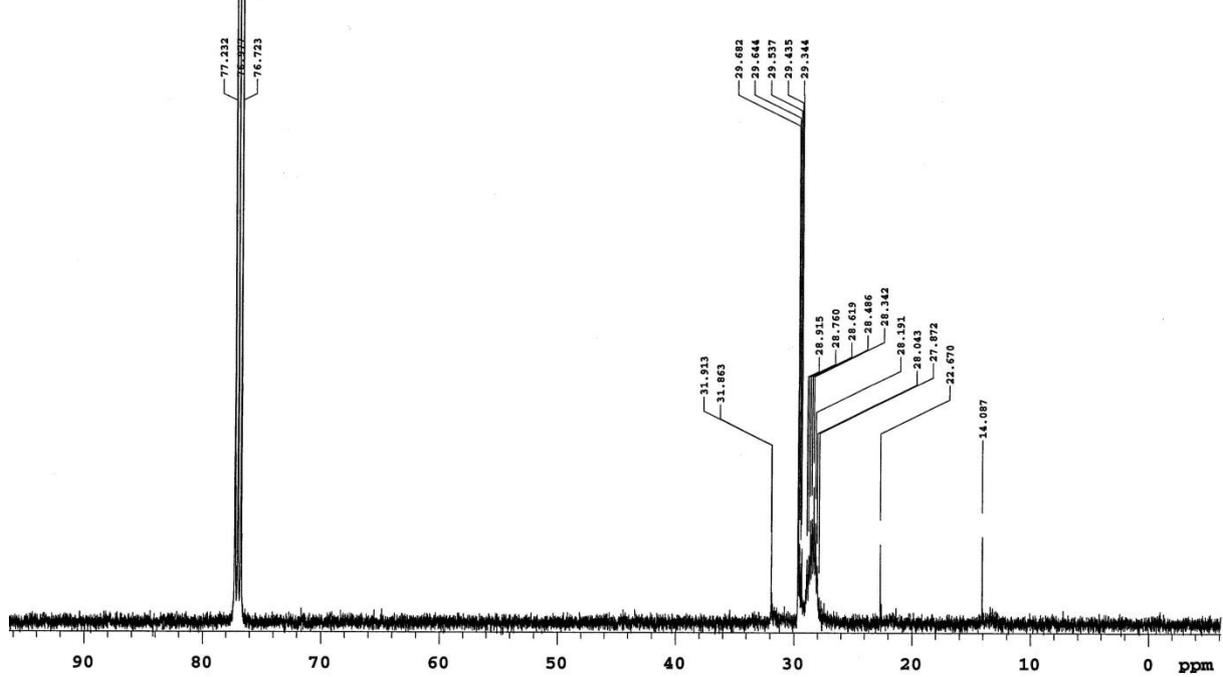
• Verbindung 18



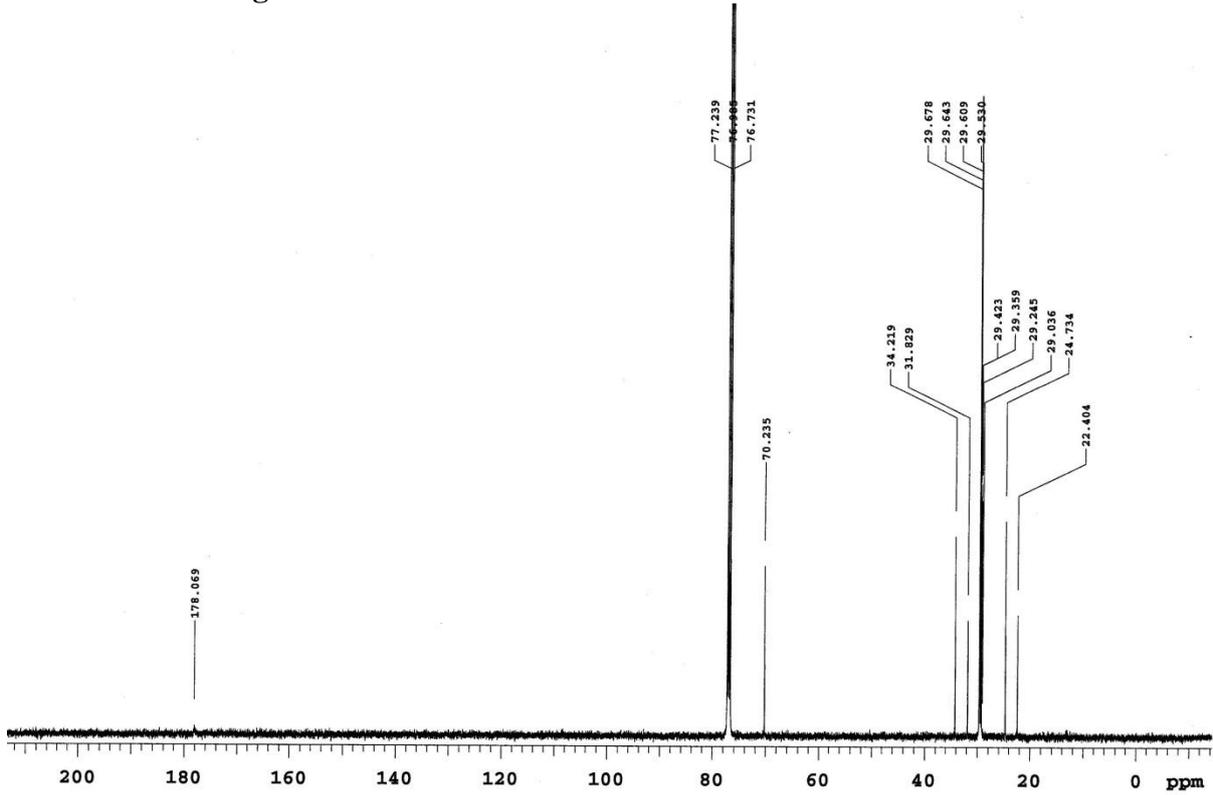
• Verbindung 19



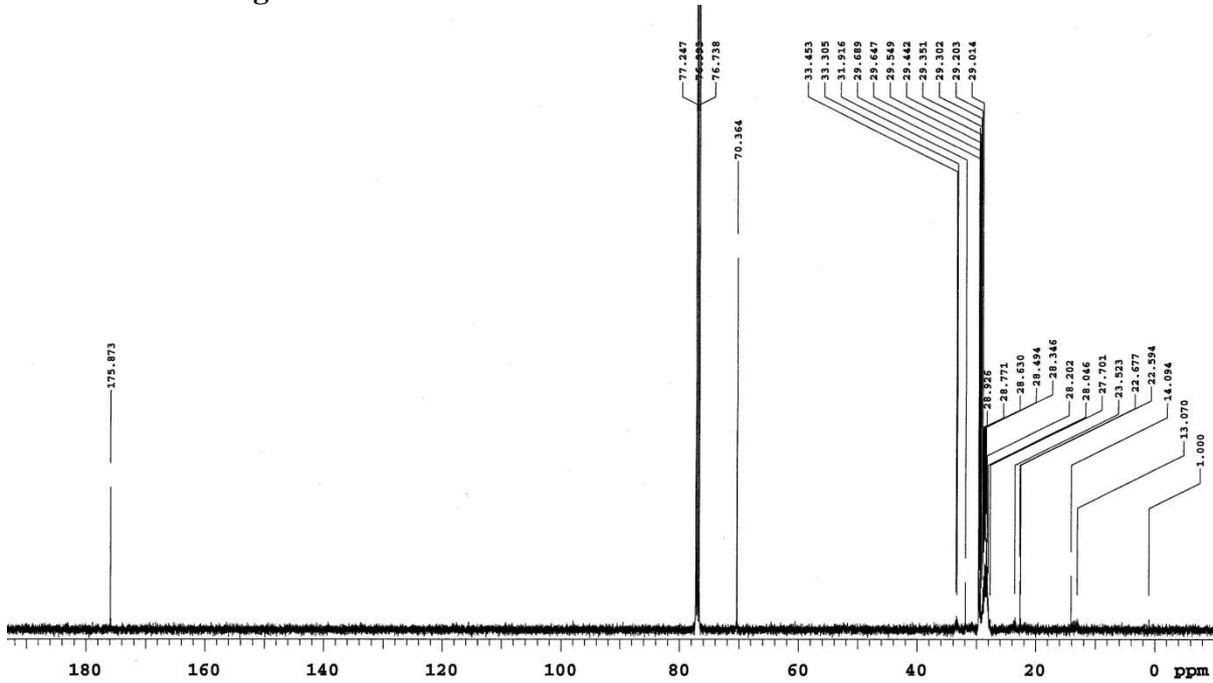
• Verbindung 20



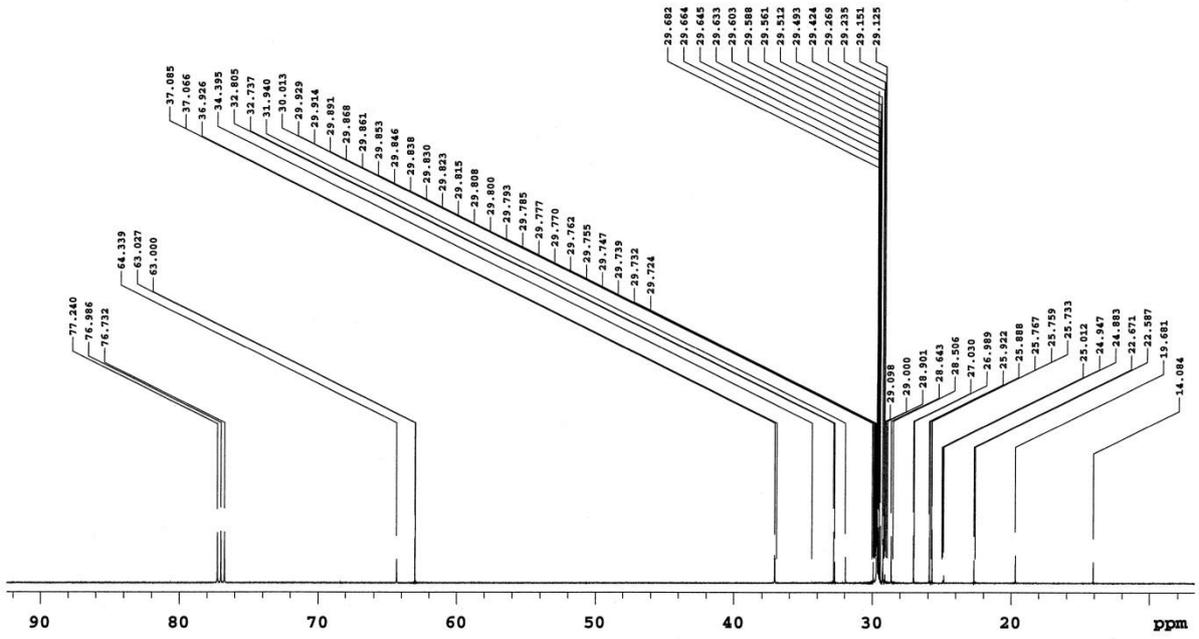
• Verbindung 26



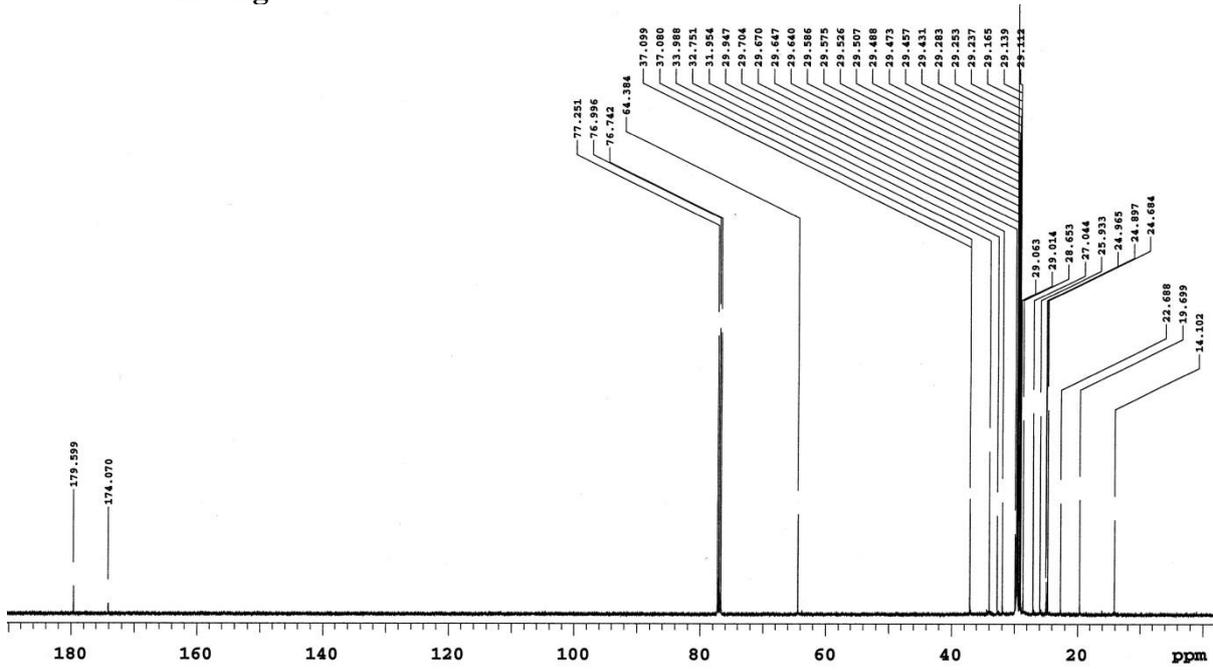
• Verbindung 27



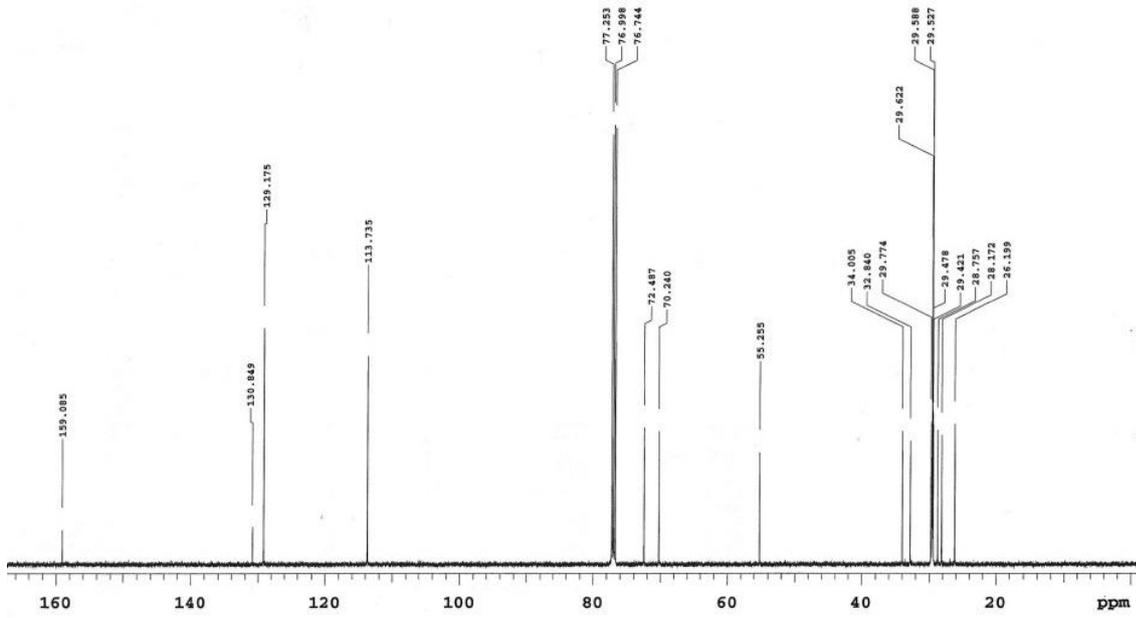
• Verbindung 34



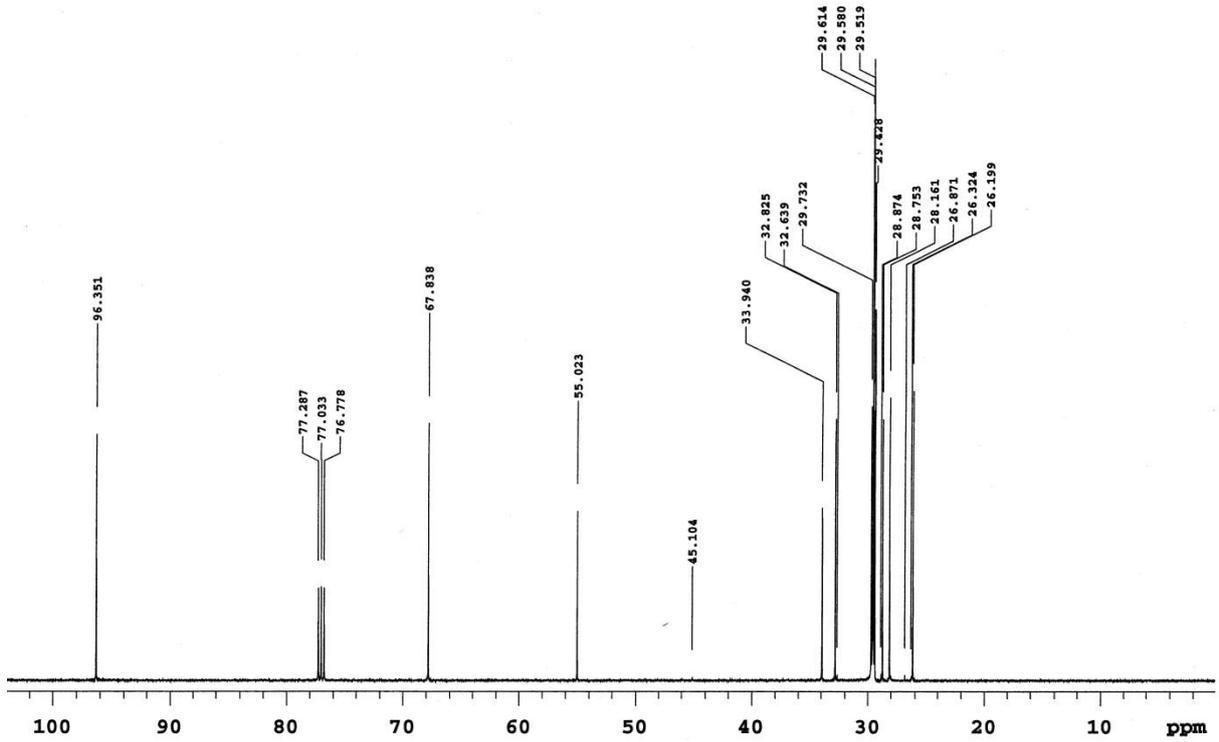
• Verbindung 35



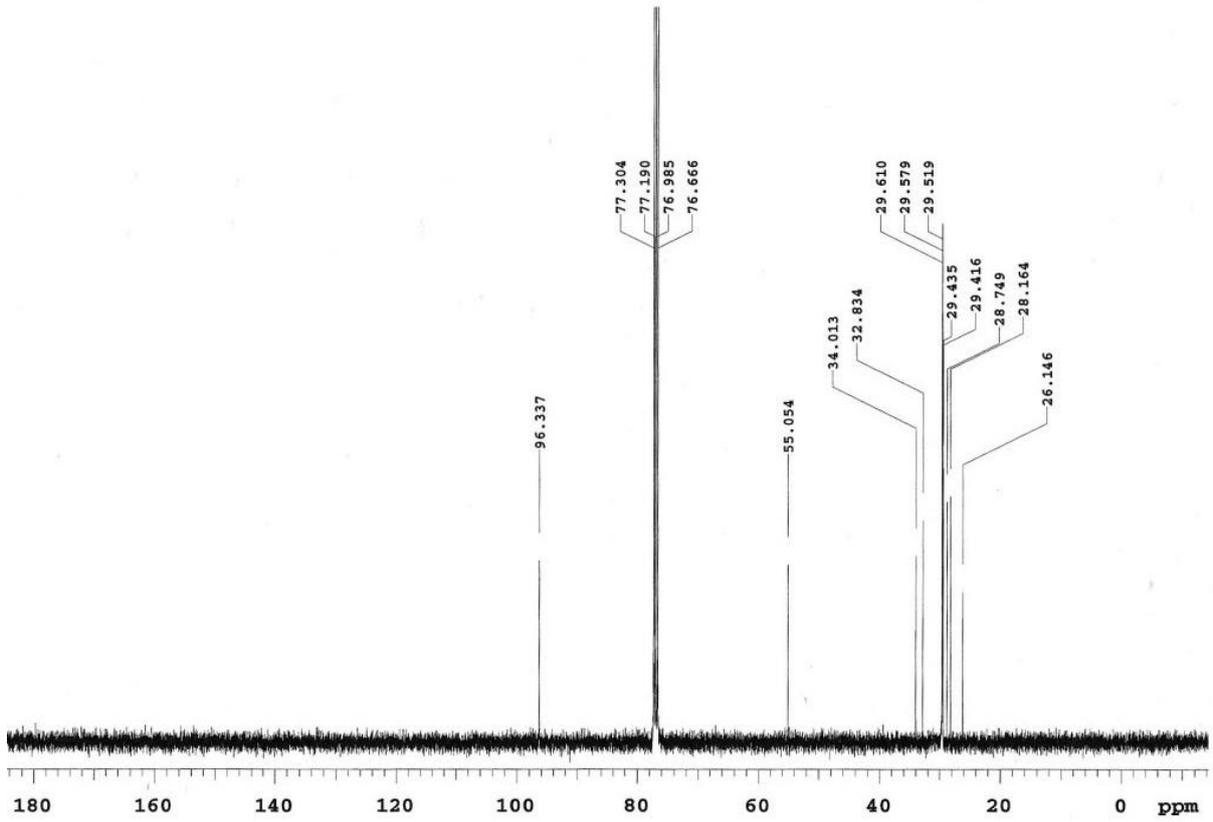
• Verbindung 38



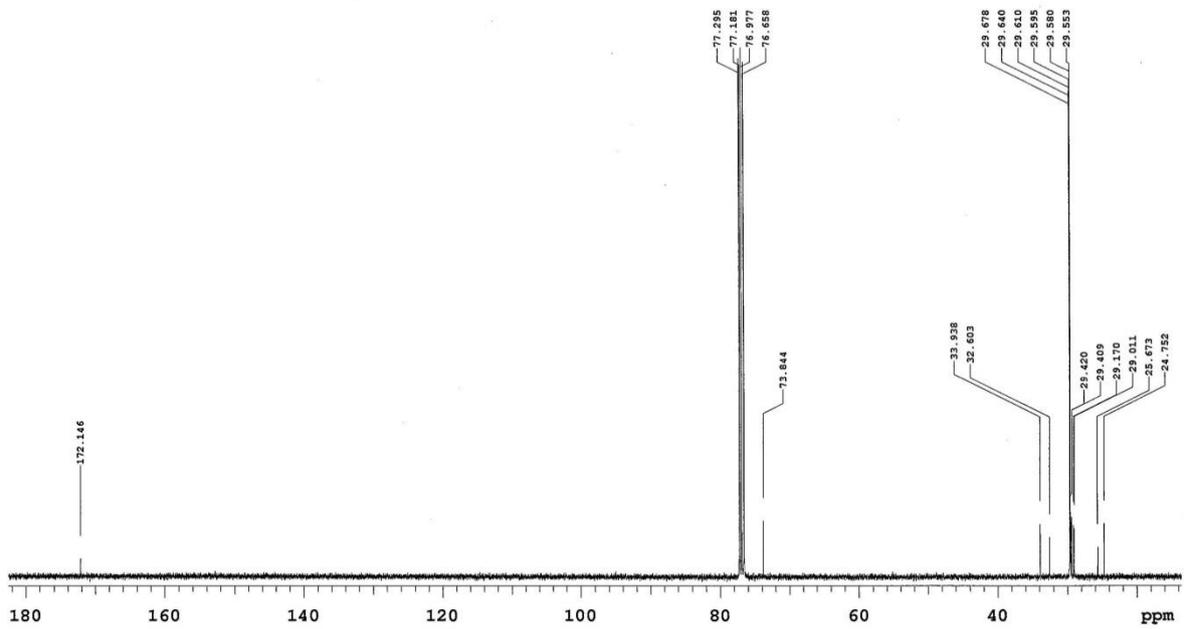
• Verbindung 39



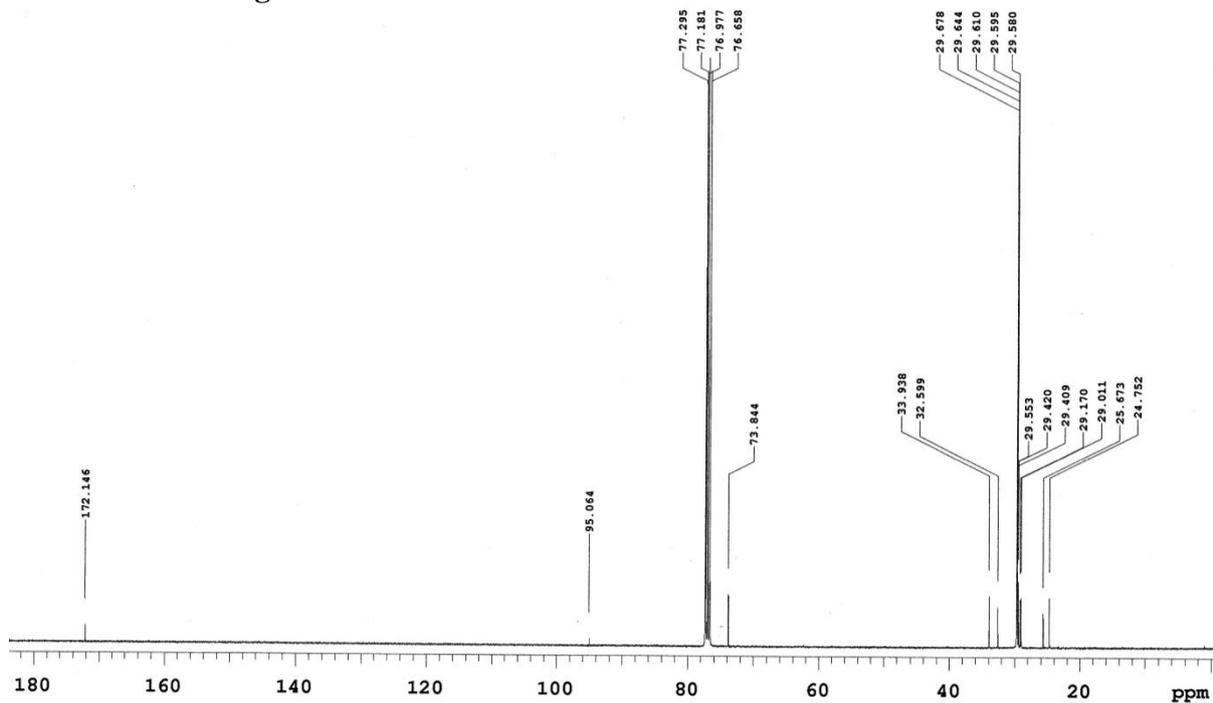
• Verbindung 40



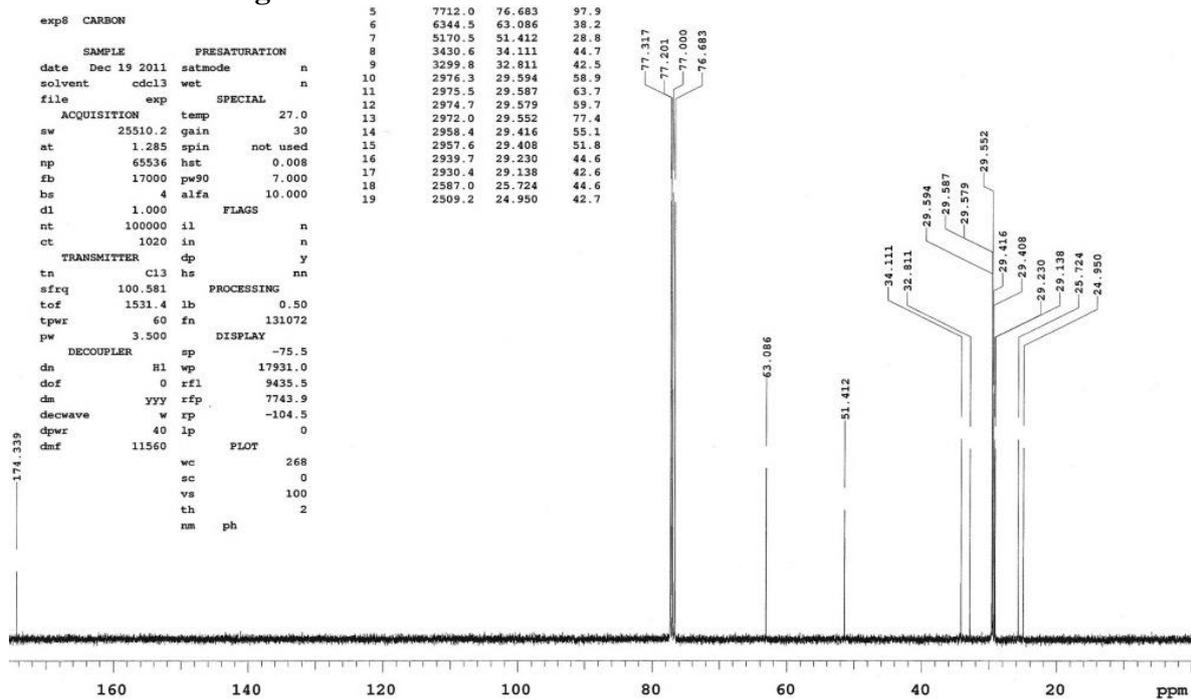
• Verbindung 41



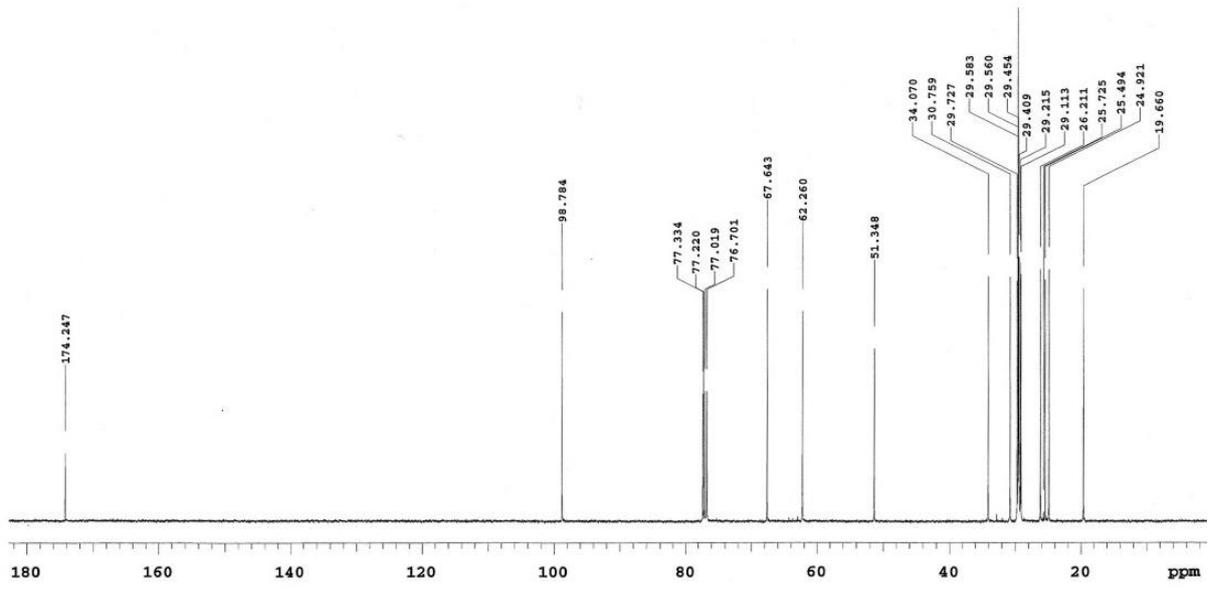
• Verbindung 42



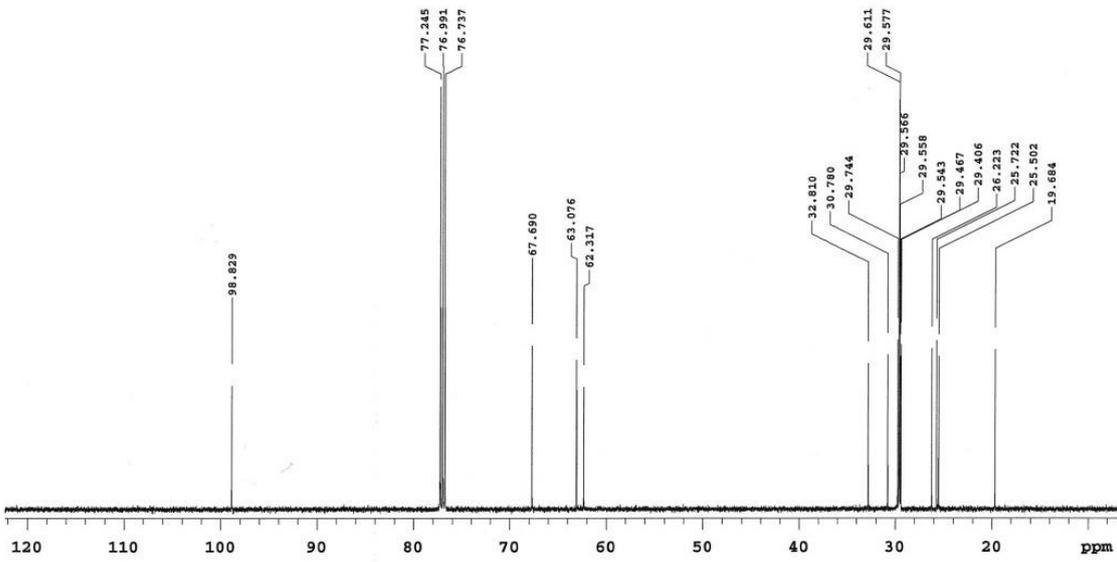
• Verbindung 45



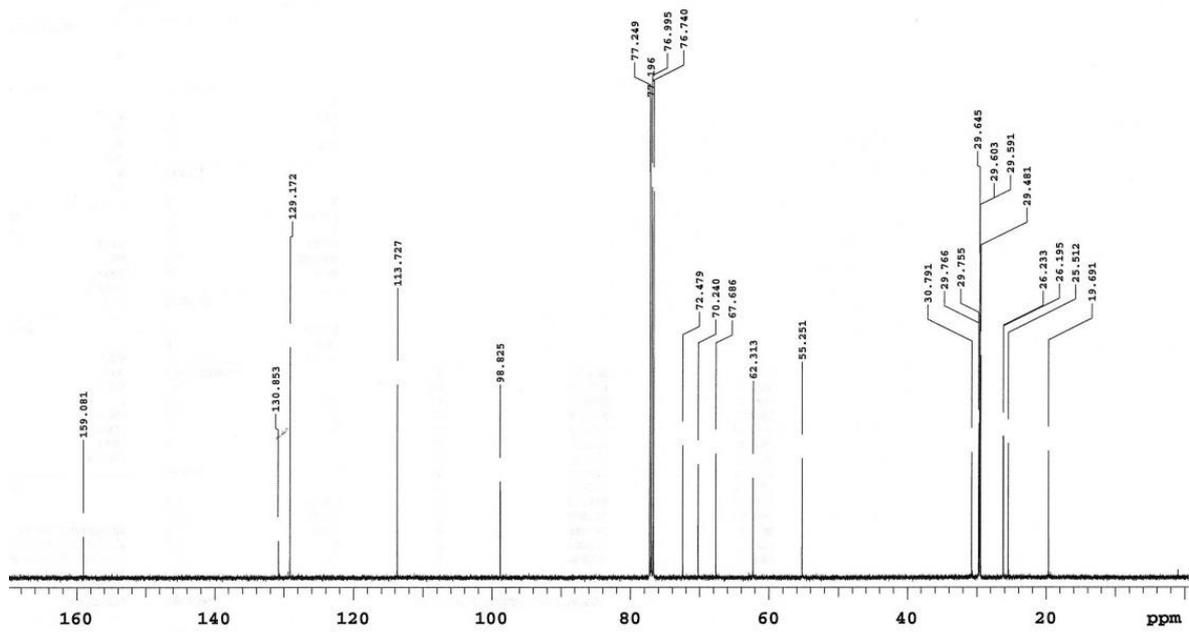
• Verbindung 46



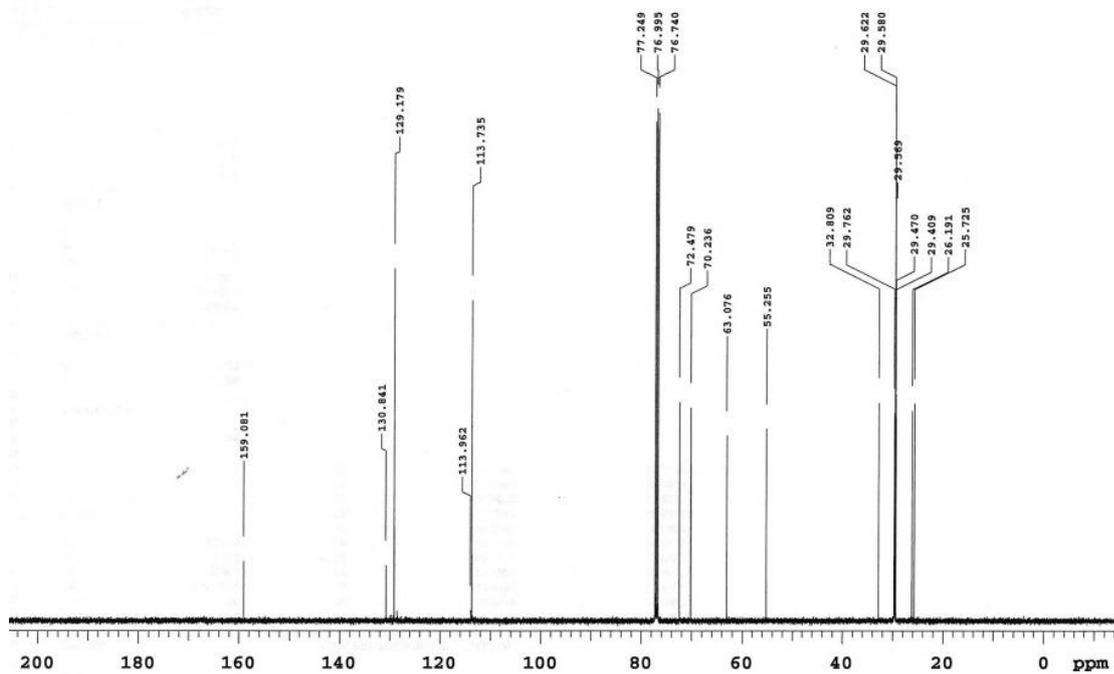
• Verbindung 47



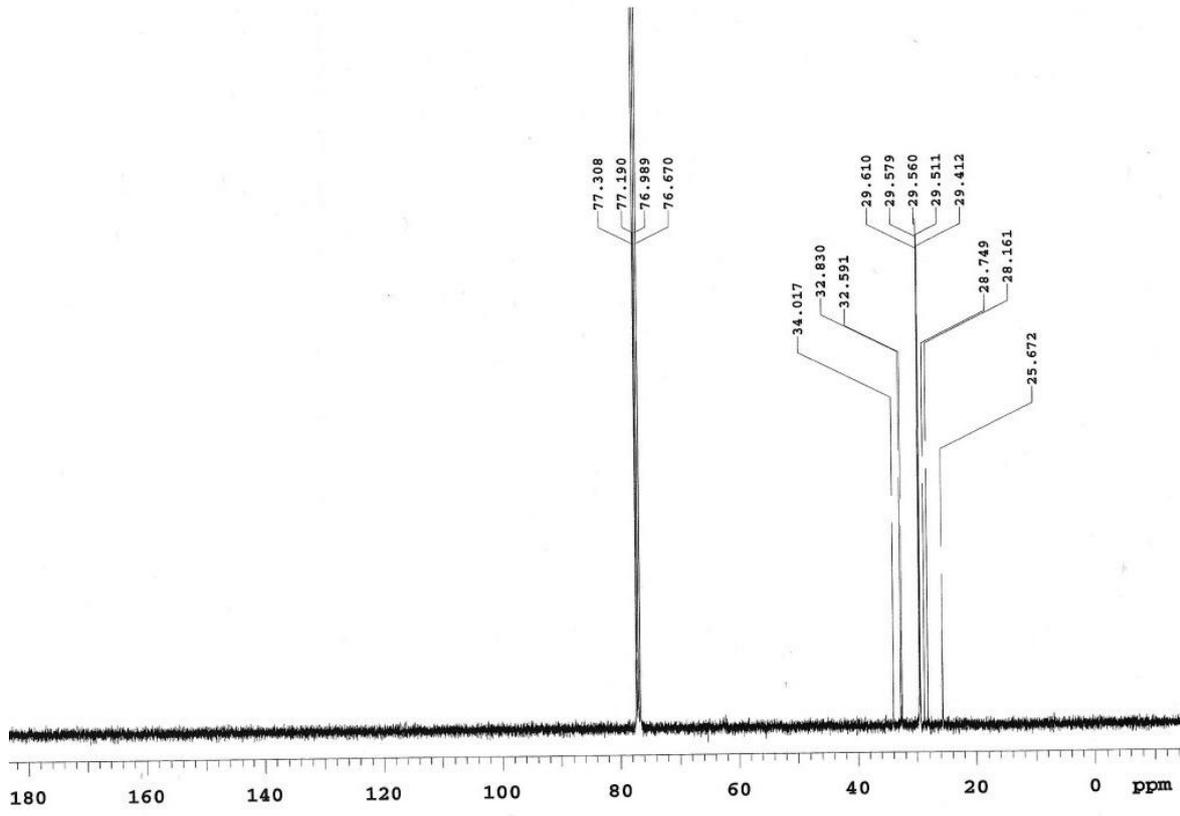
• Verbindung 48



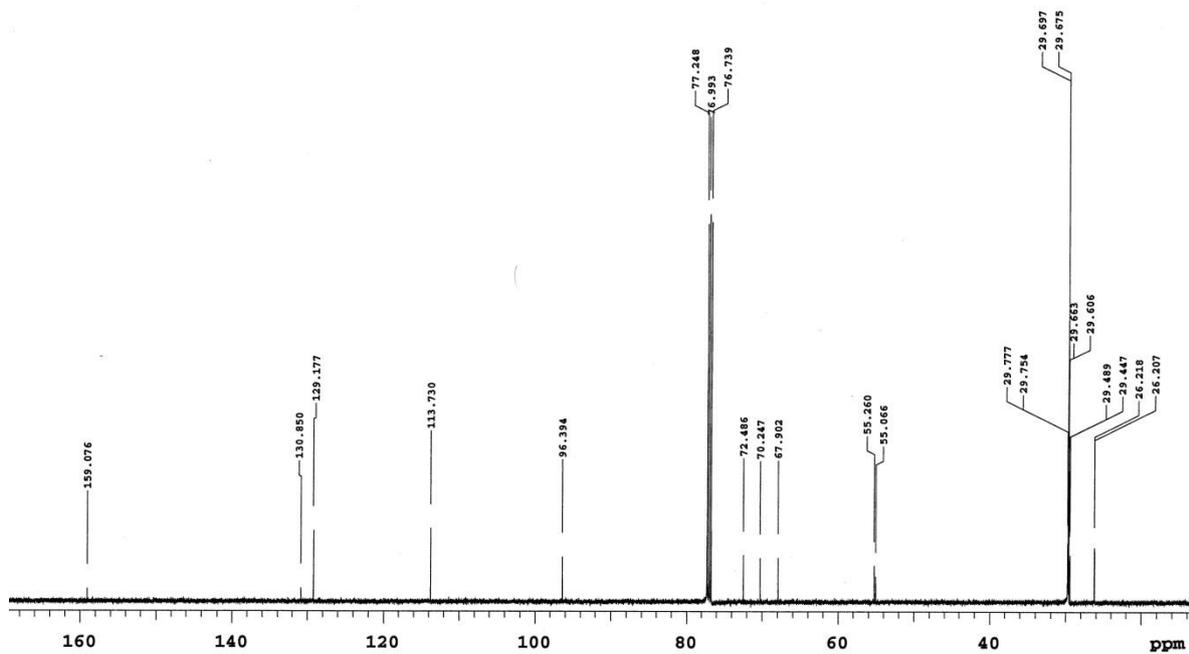
• Verbindung 50



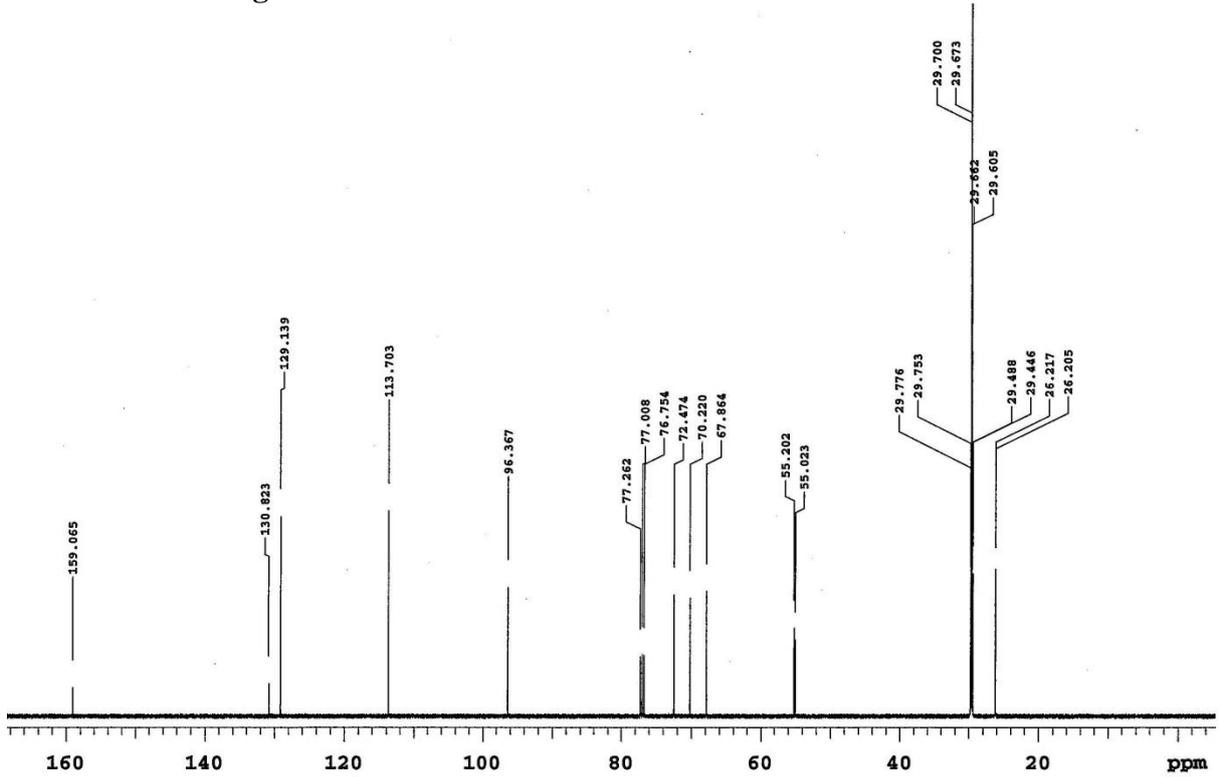
- Verbindung 56



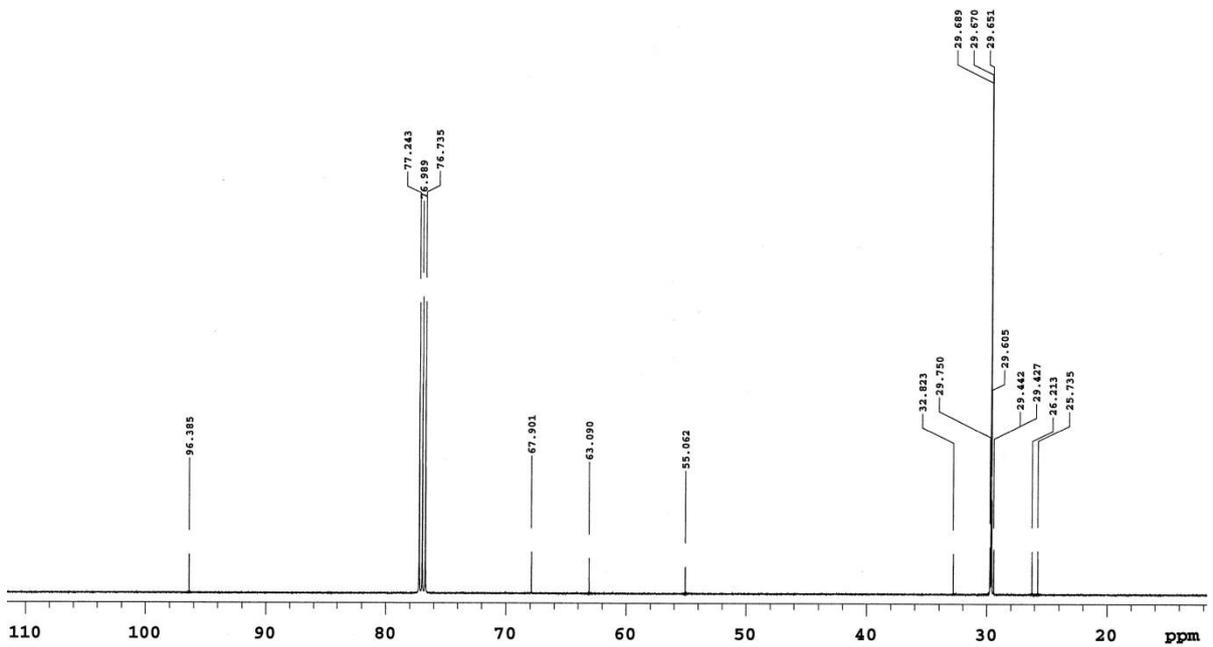
- Verbindung 57



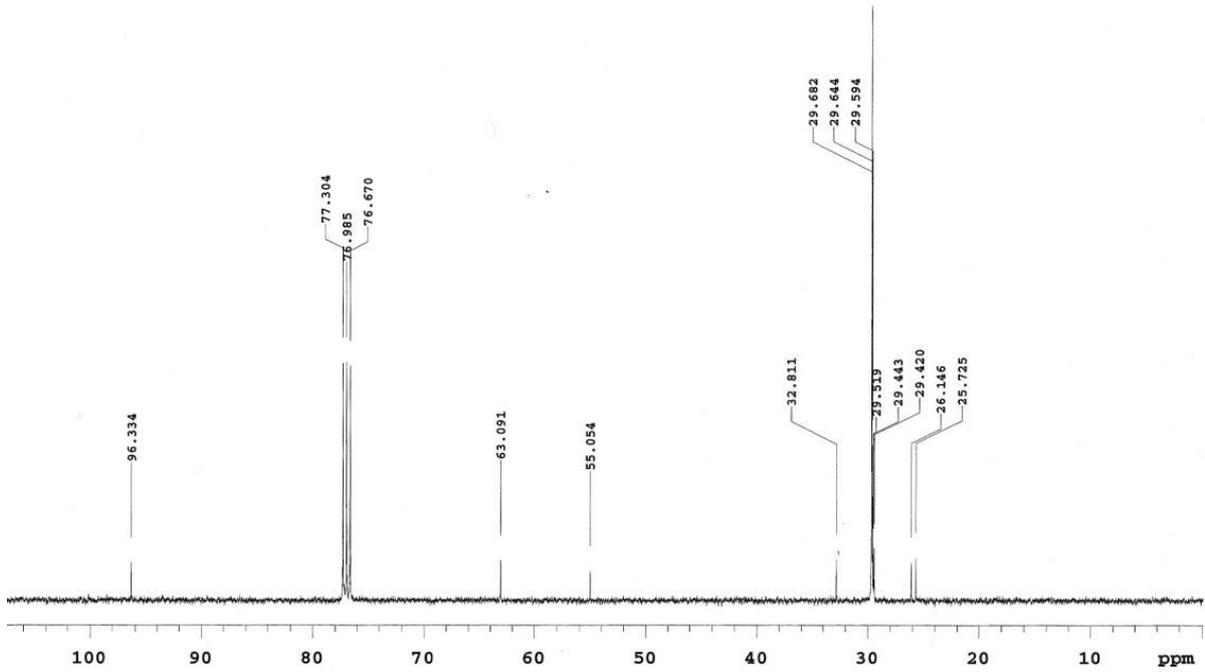
• Verbindung 58



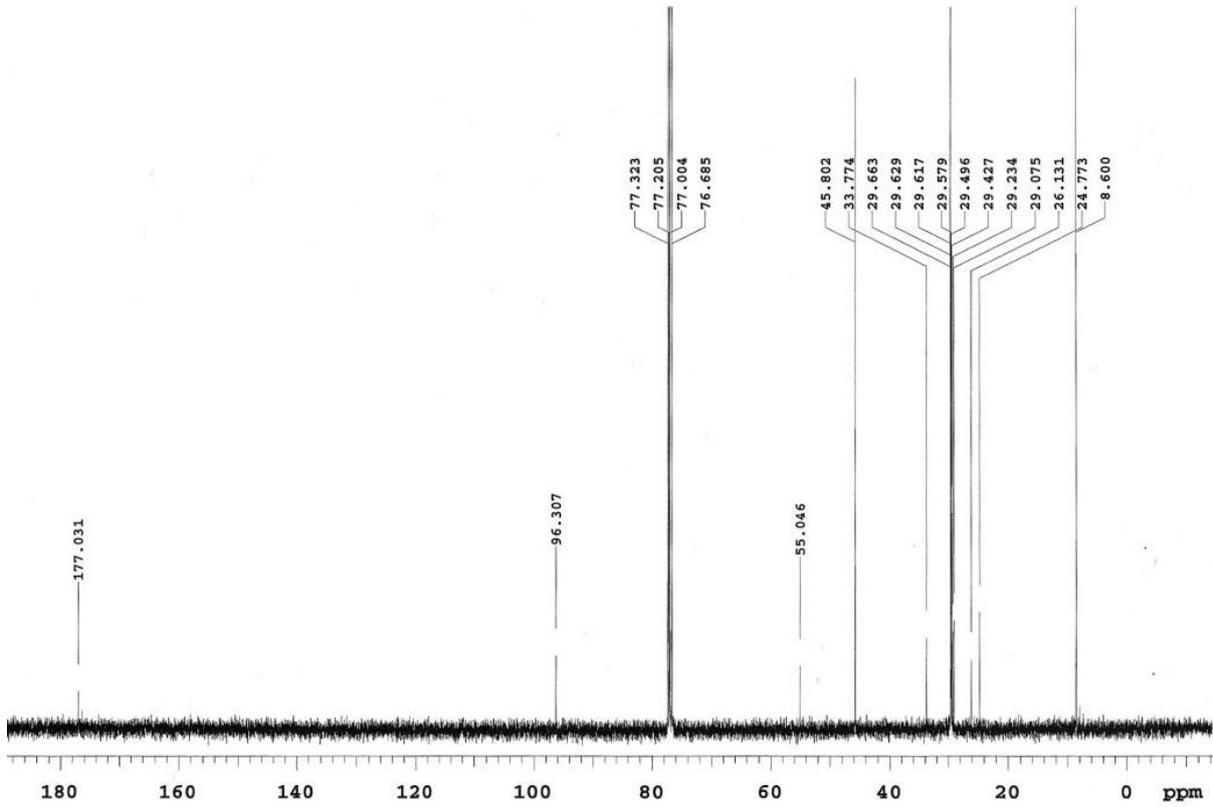
• Verbindung 59



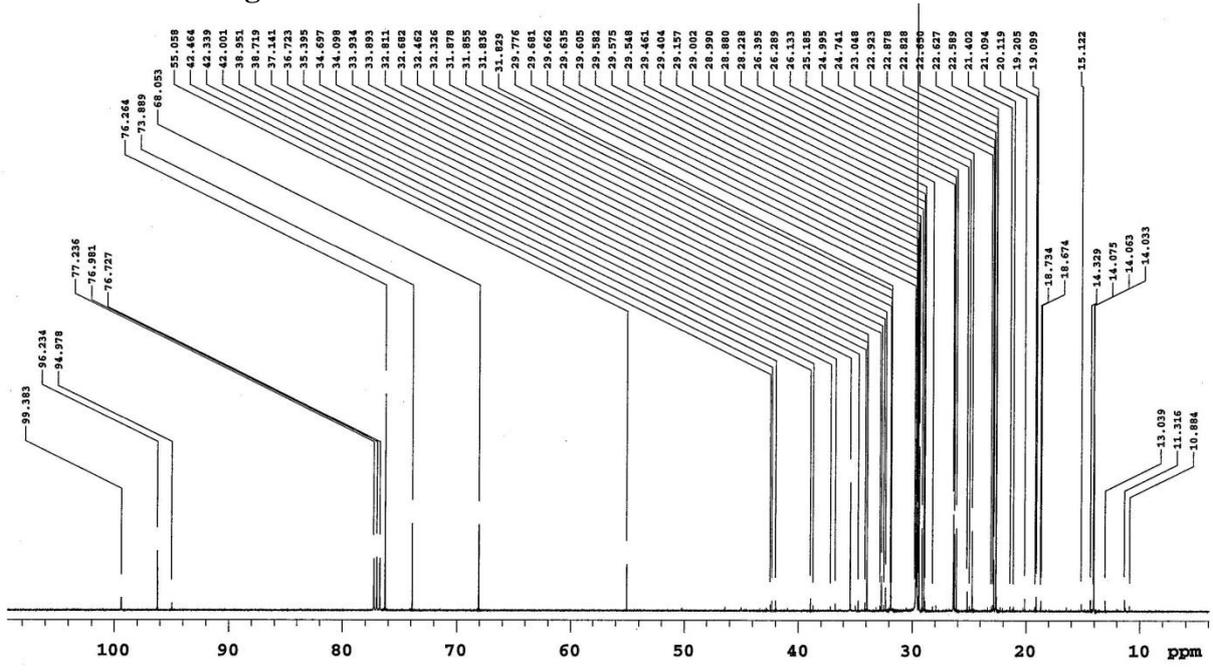
• Verbindung 60



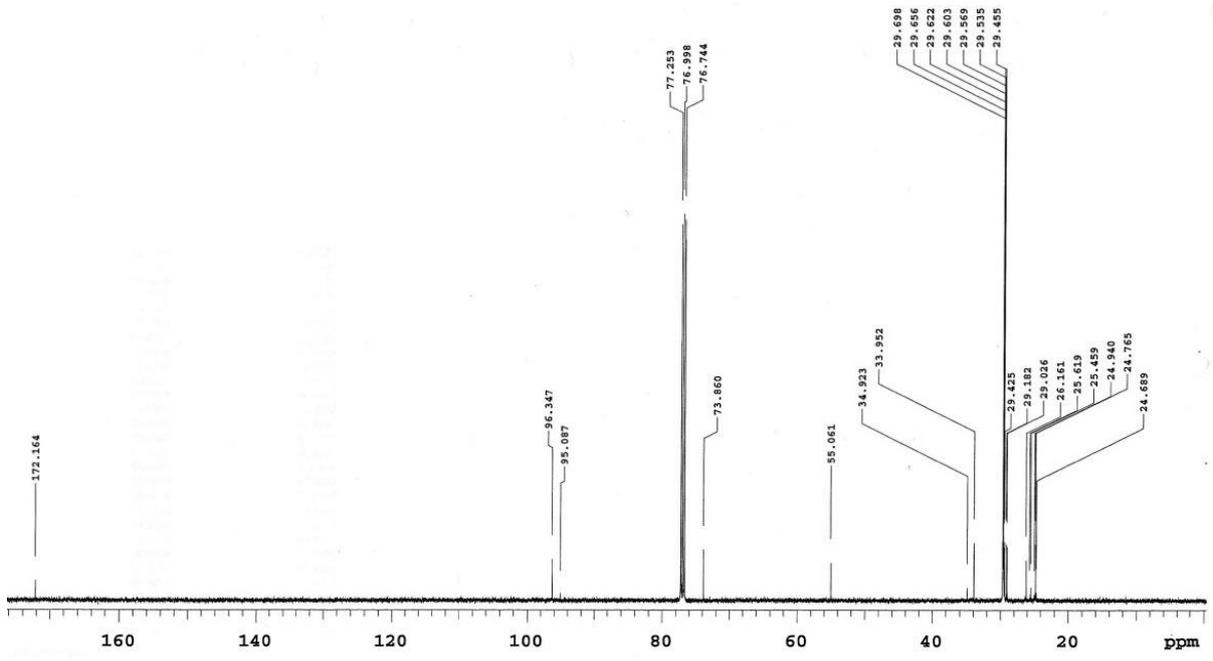
• Verbindung 62



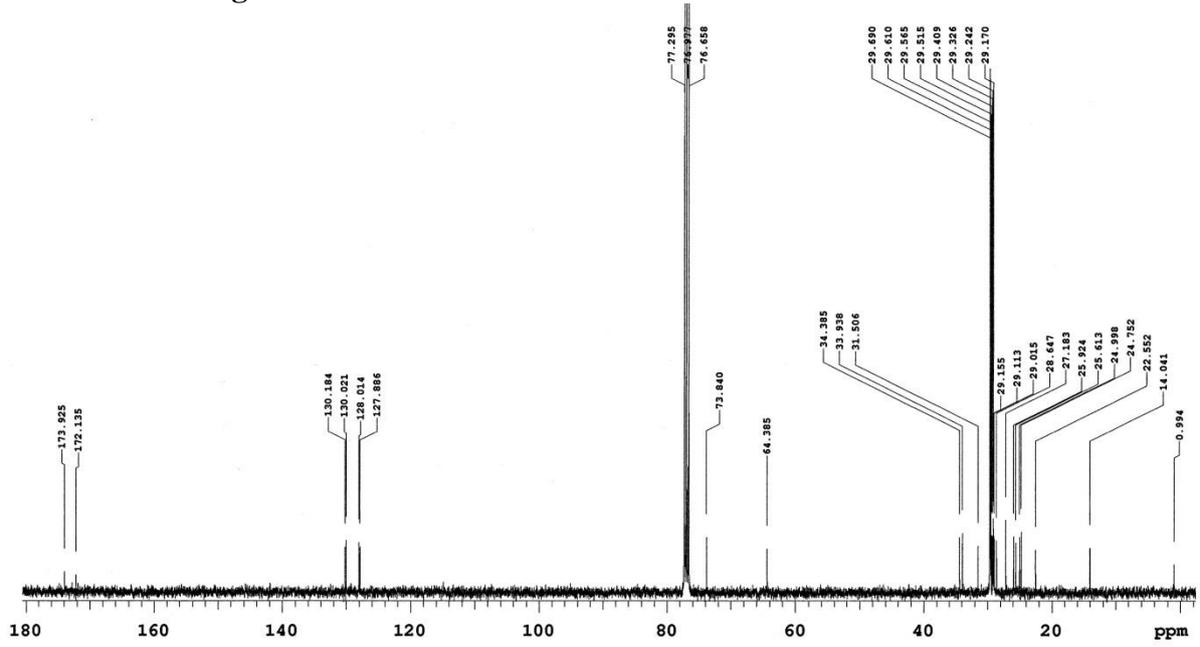
• Verbindung 63



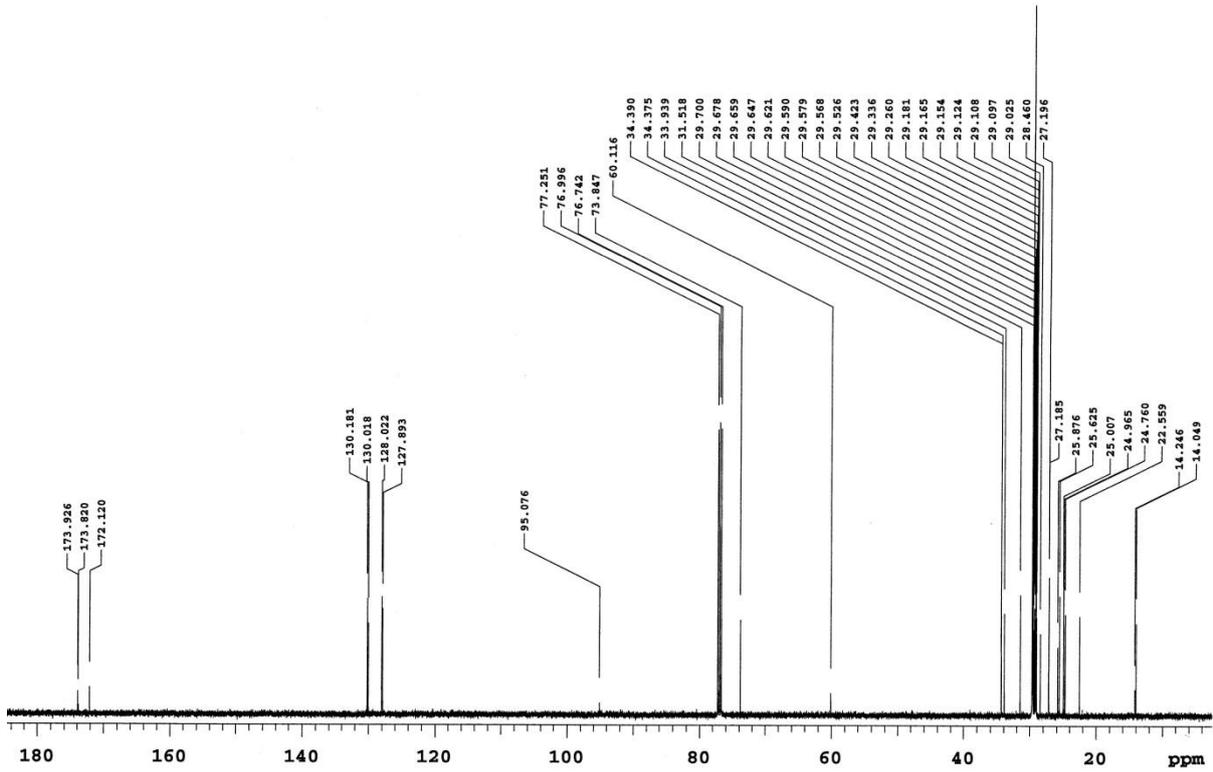
• Verbindung 64



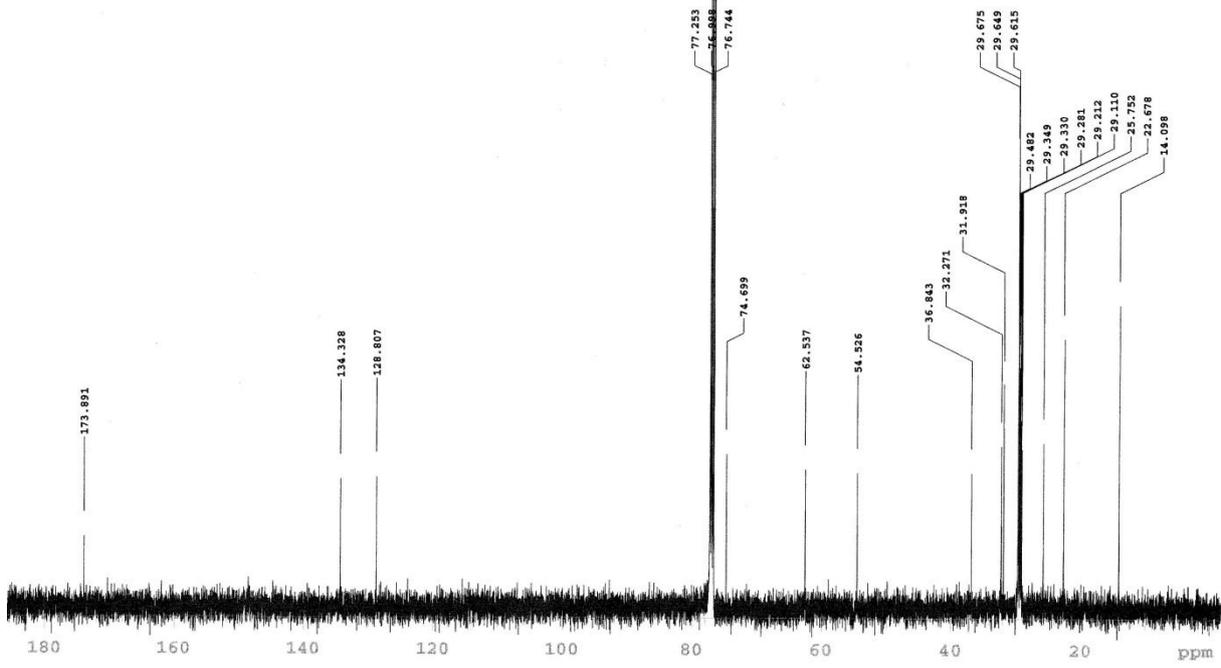
• Verbindung 65



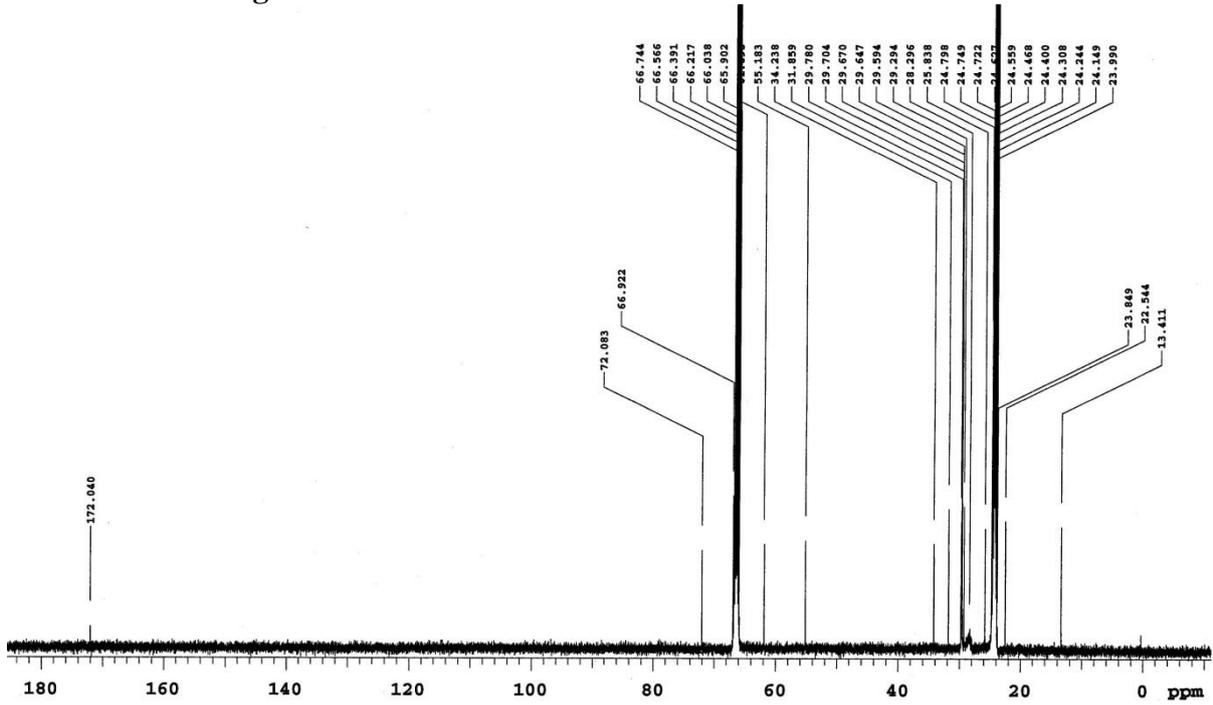
• Verbindung 66



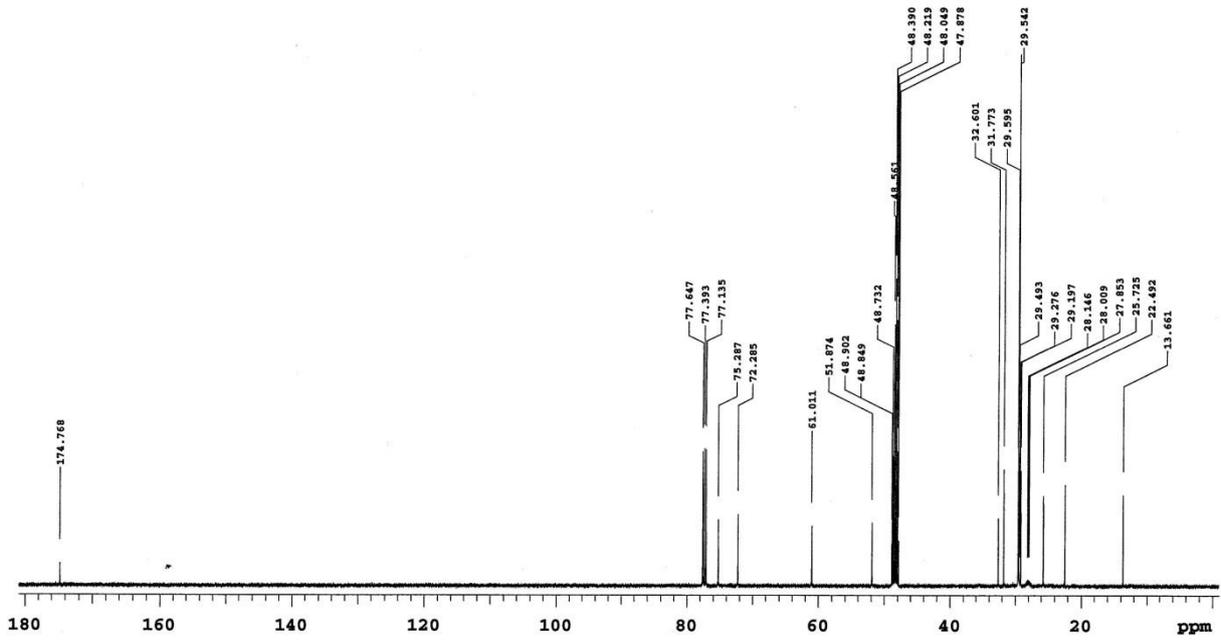
• Verbindung 82



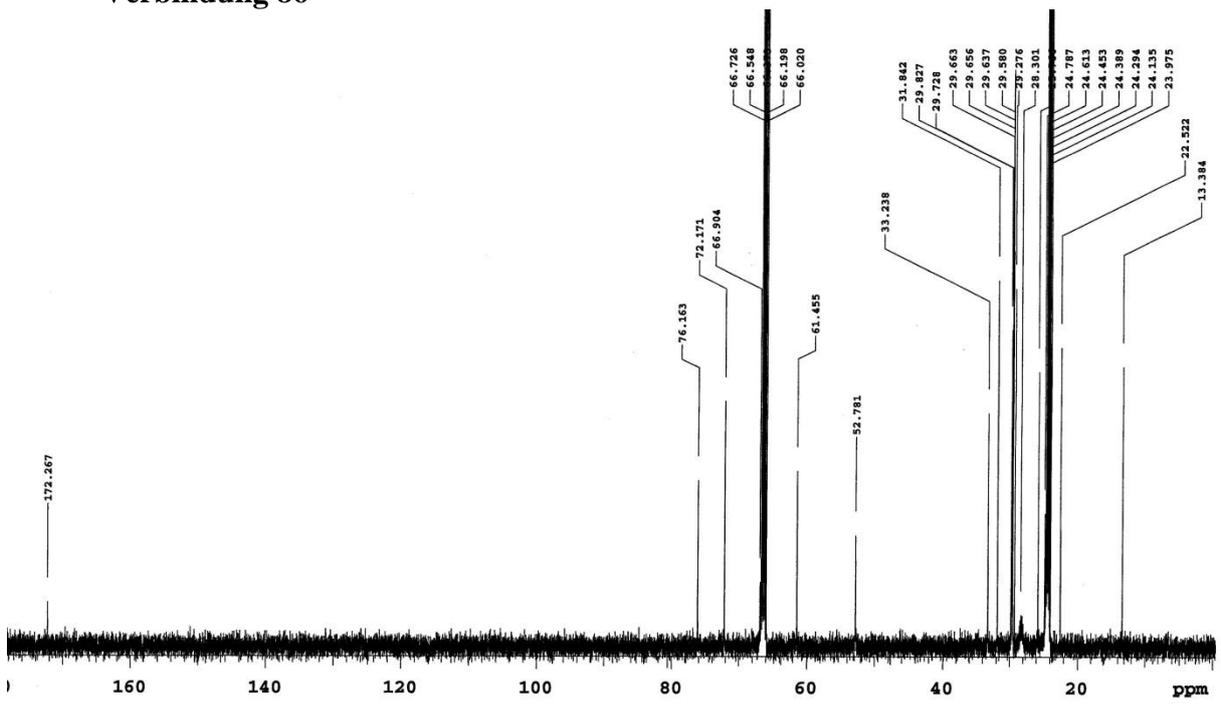
• Verbindung 84



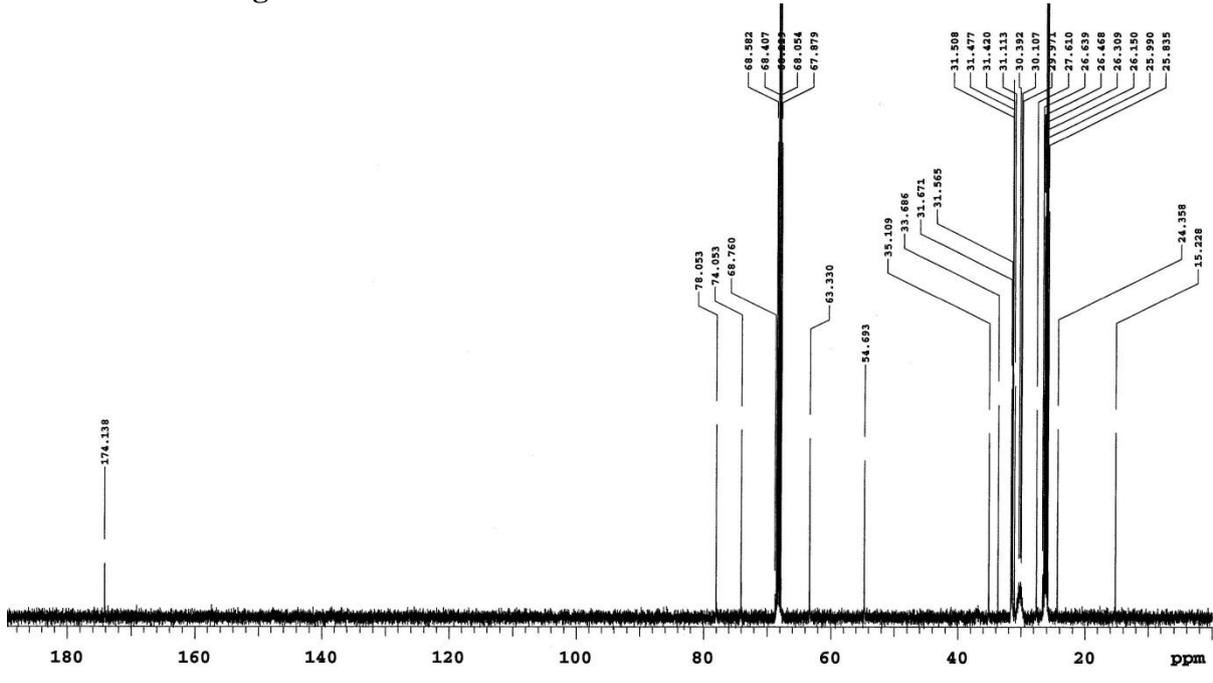
• Verbindung 85



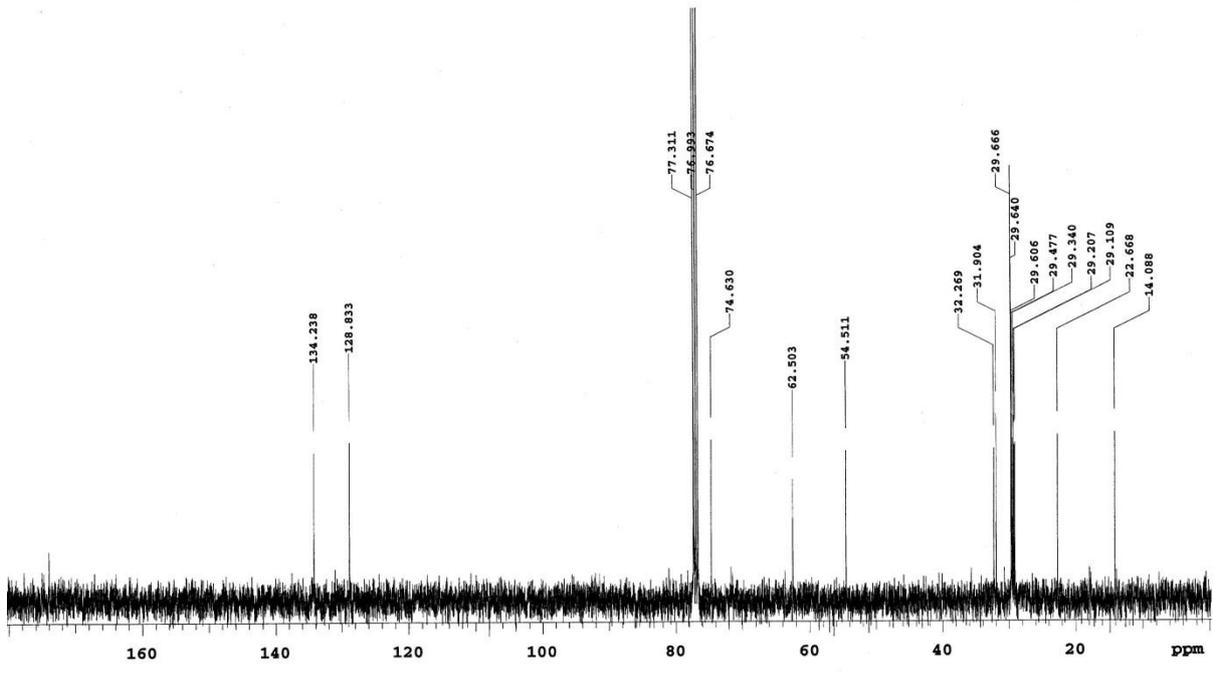
• Verbindung 86



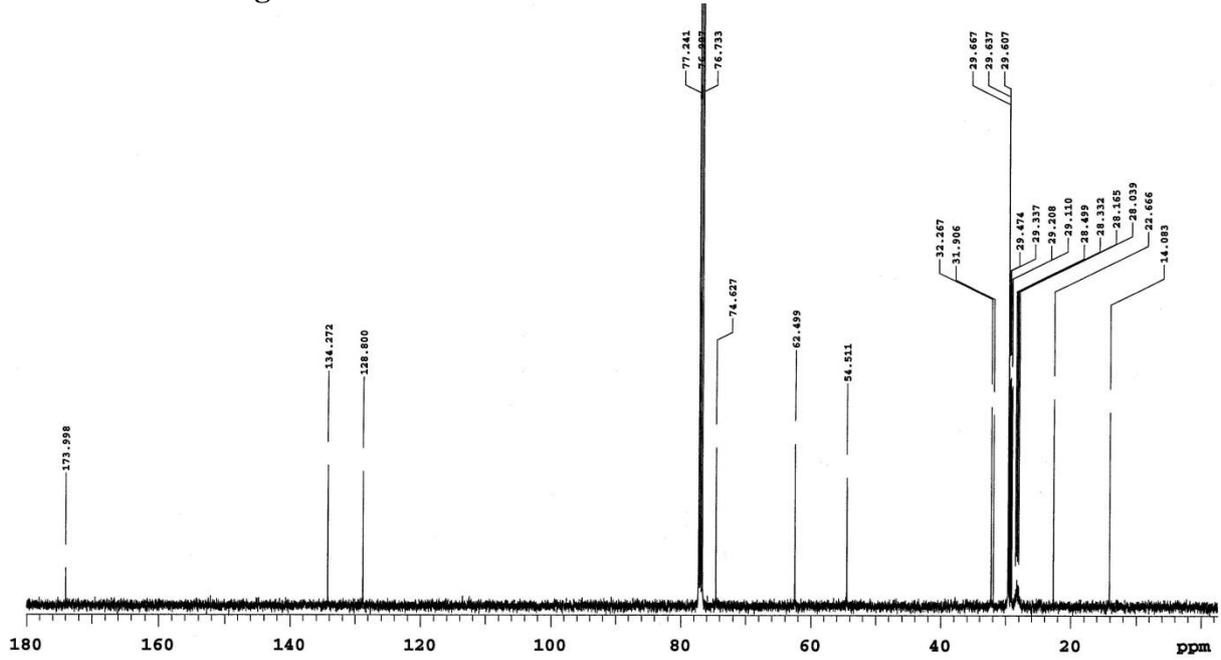
• Verbindung 87



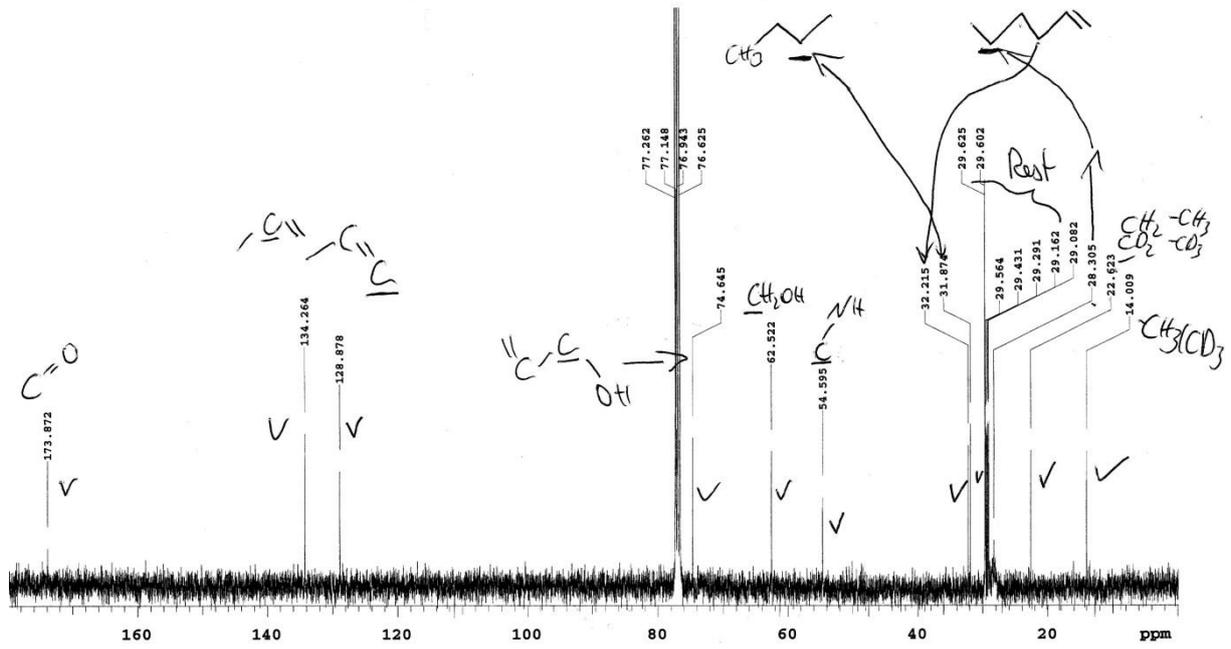
• Verbindung 88



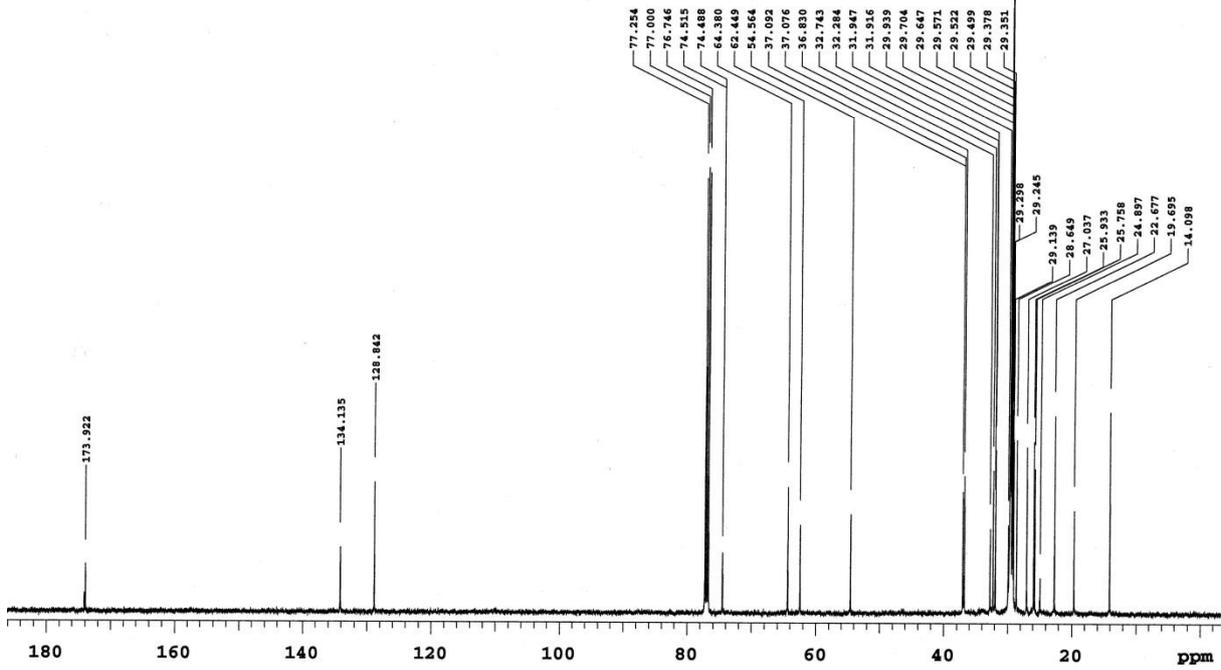
• Verbindung 89



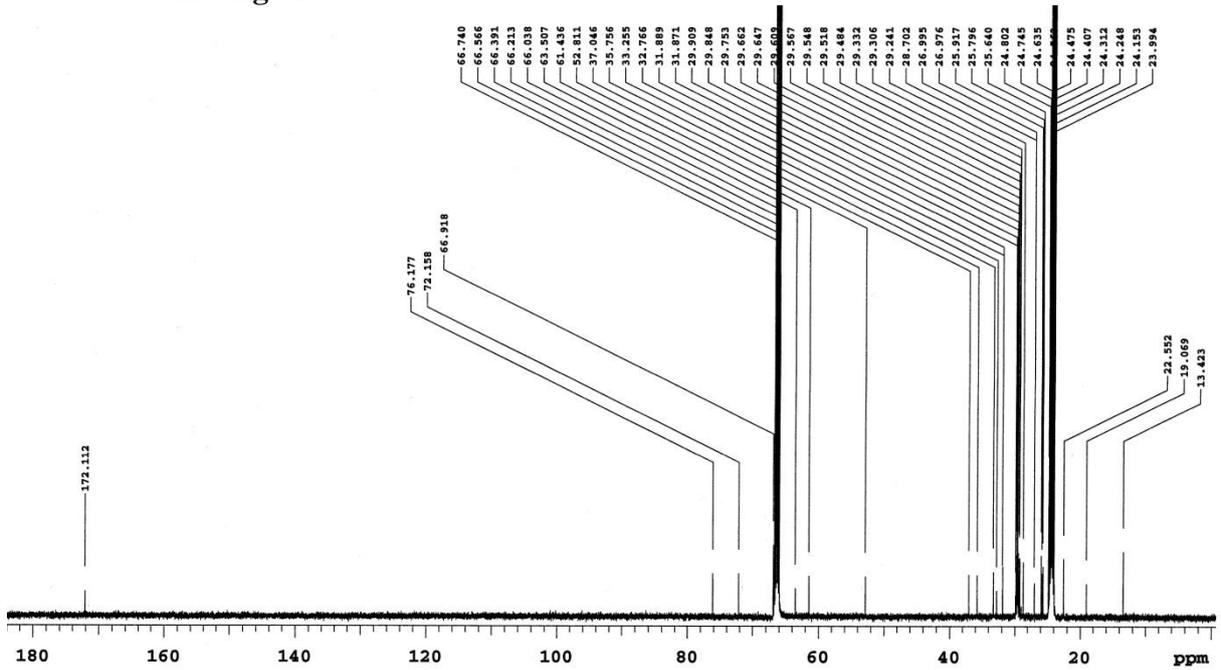
• Verbindung 90



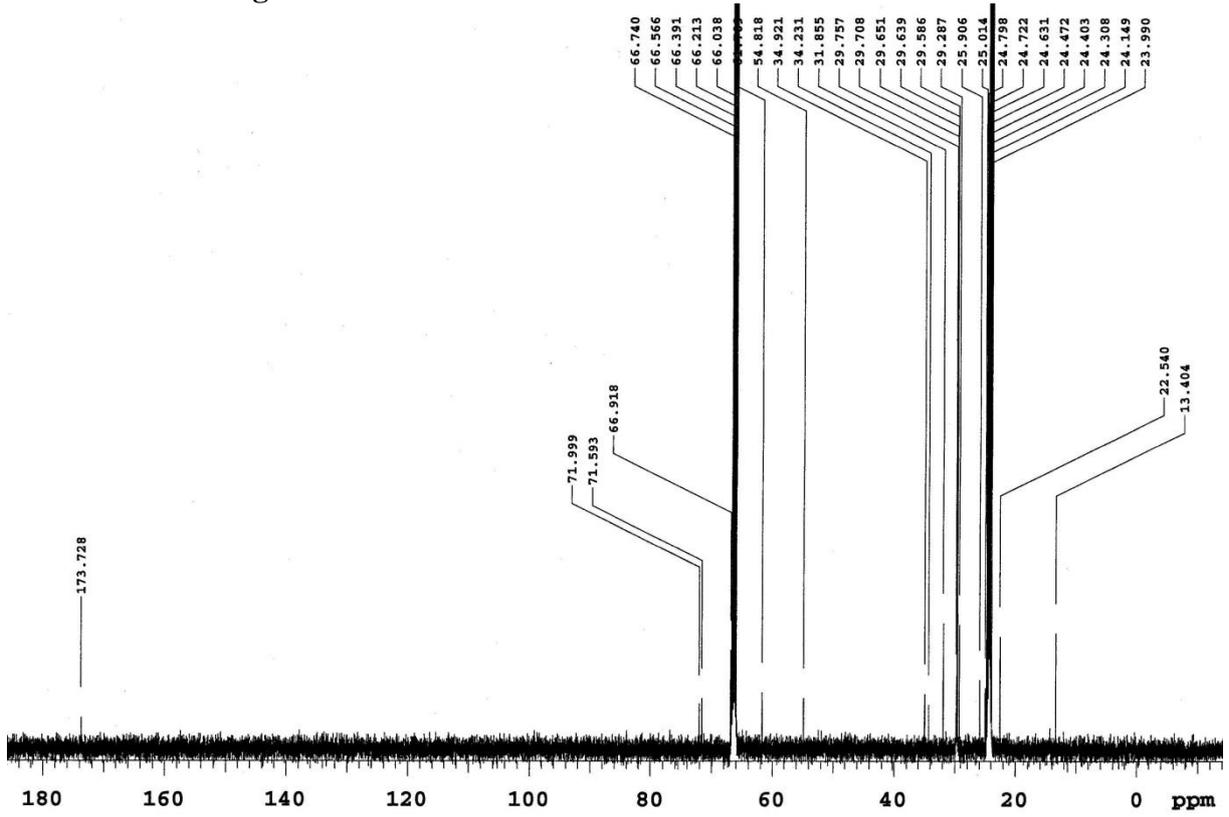
• Verbindung 91



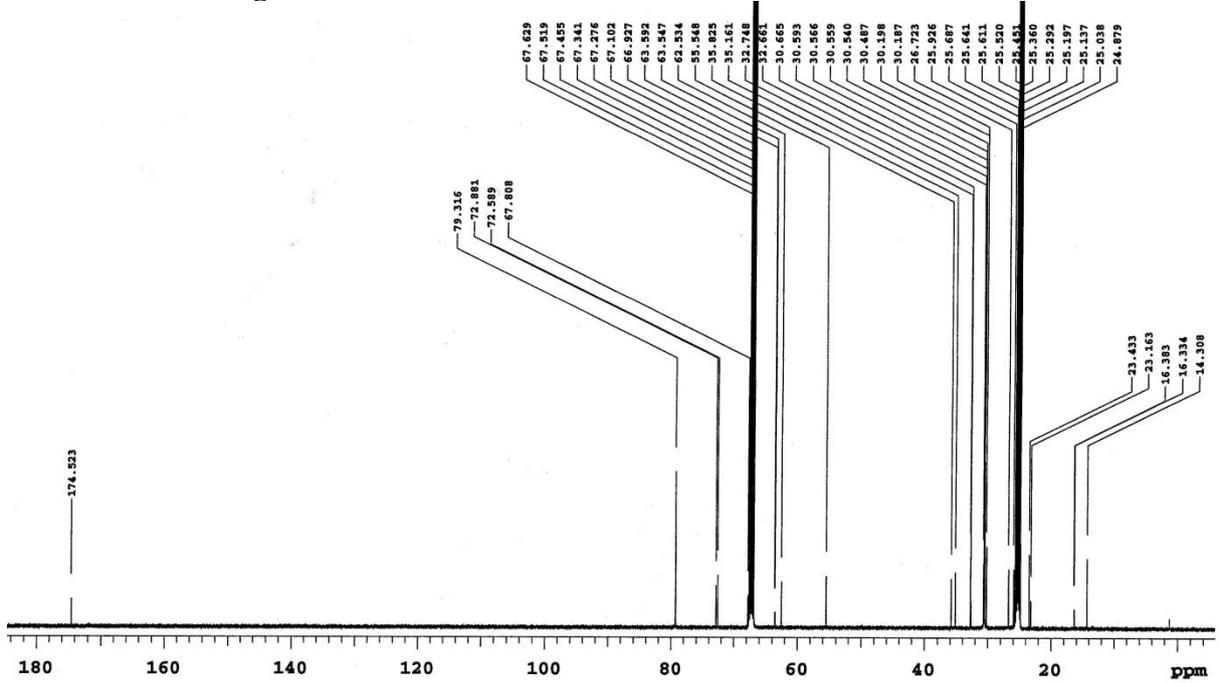
• Verbindung 92



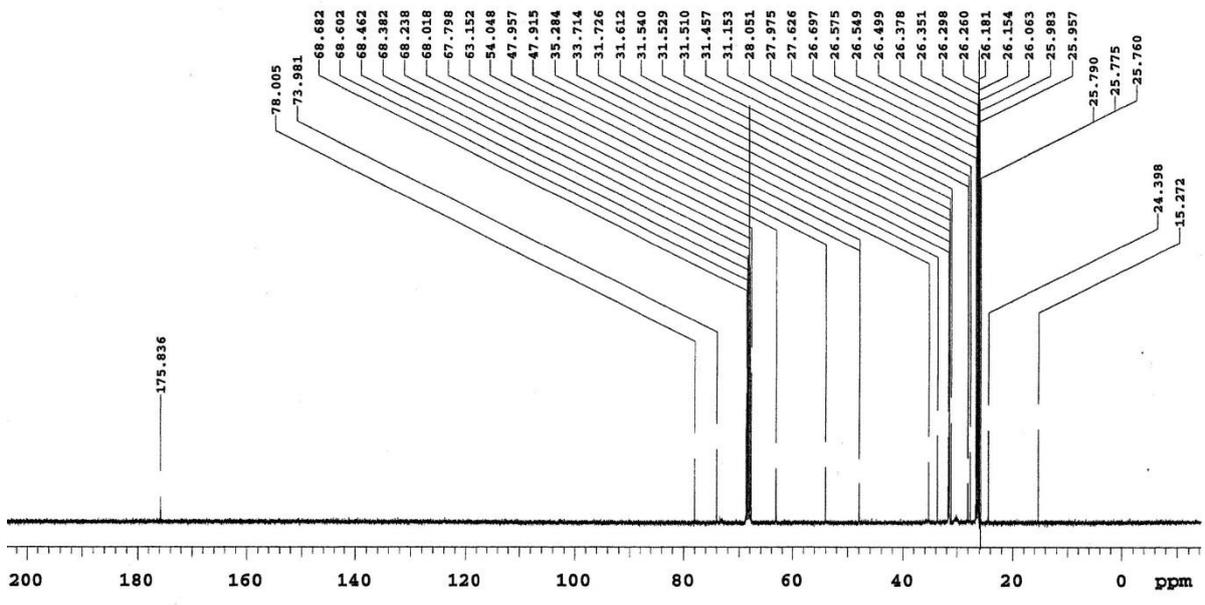
• Verbindung 113



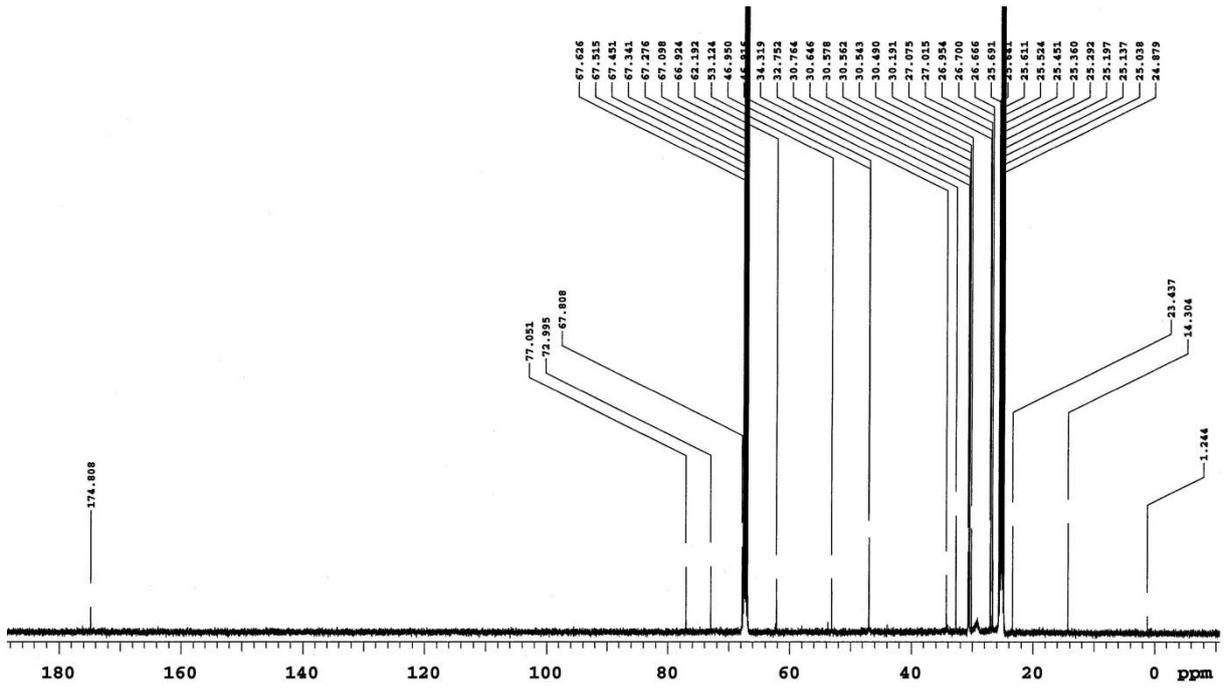
• Verbindung 114



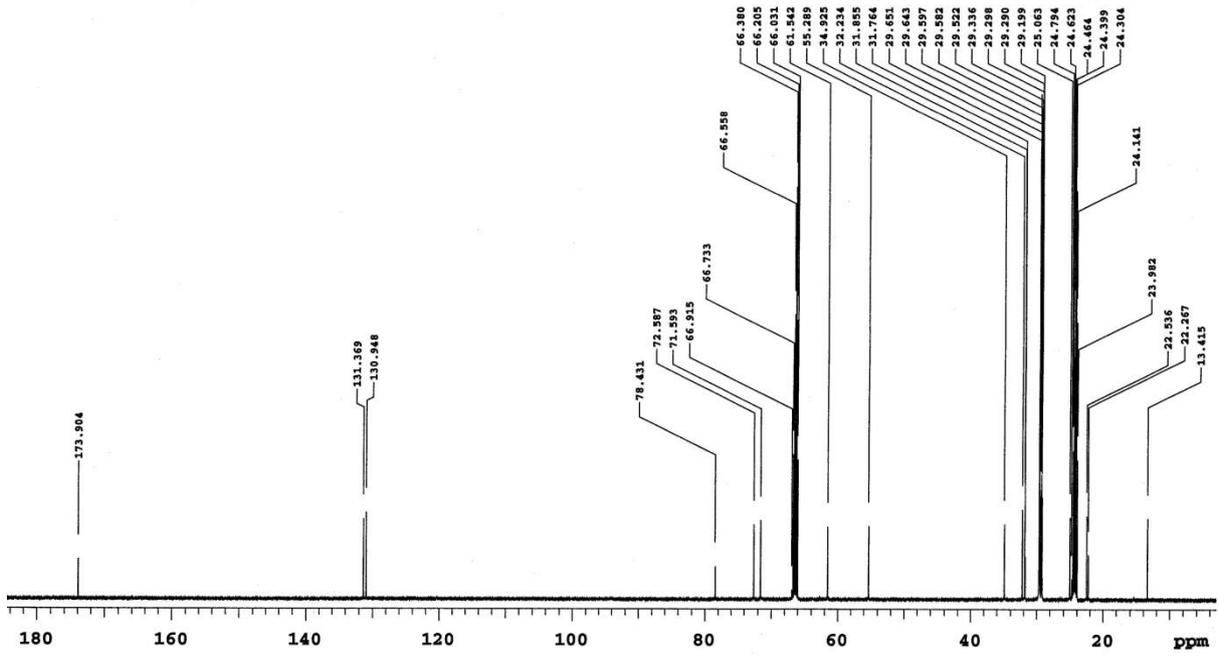
• Verbindung 116



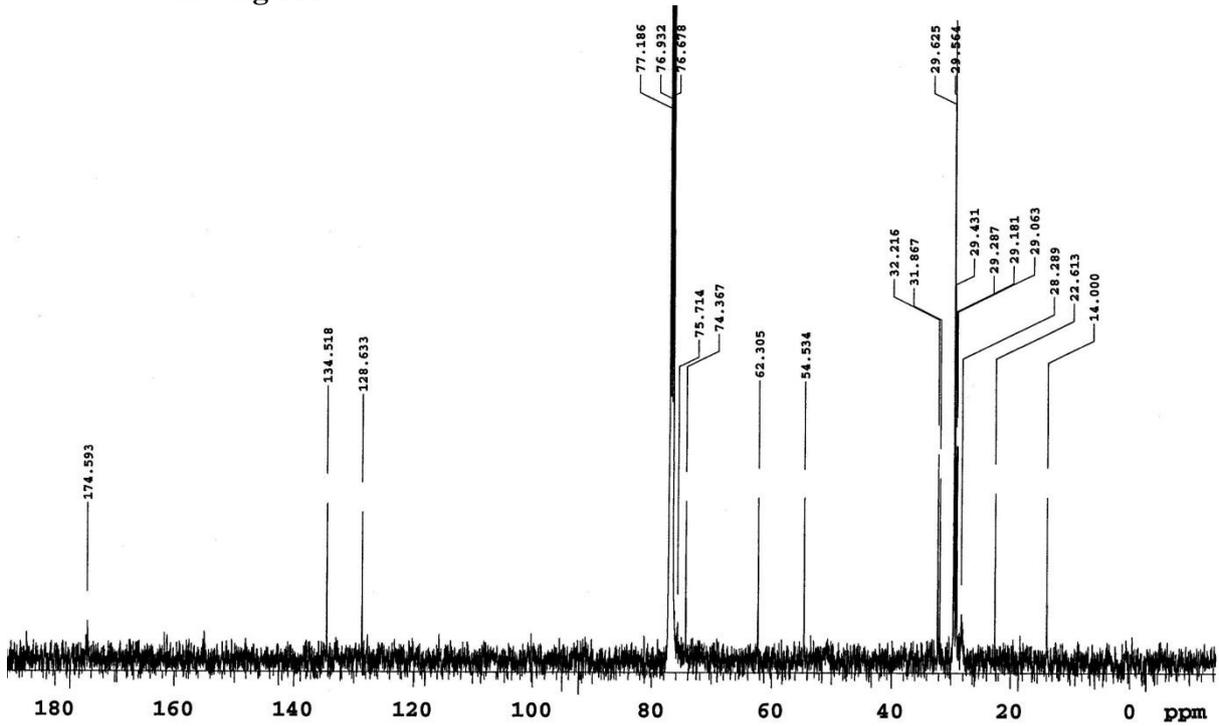
• Verbindung 118



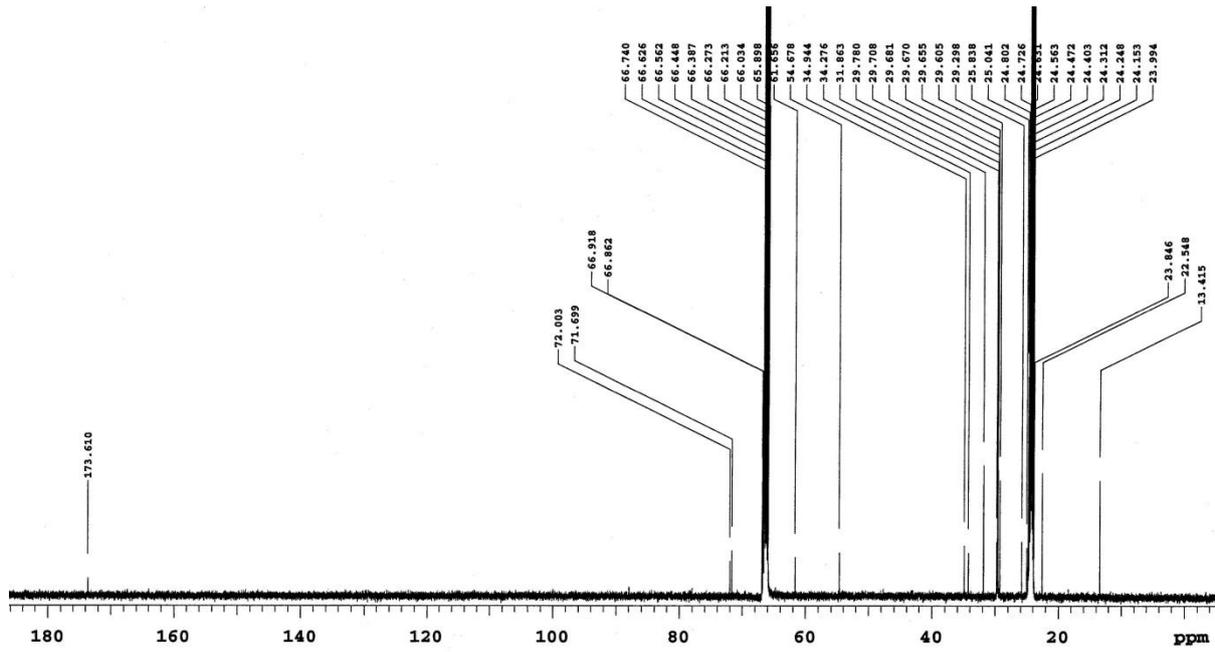
• Verbindung 120



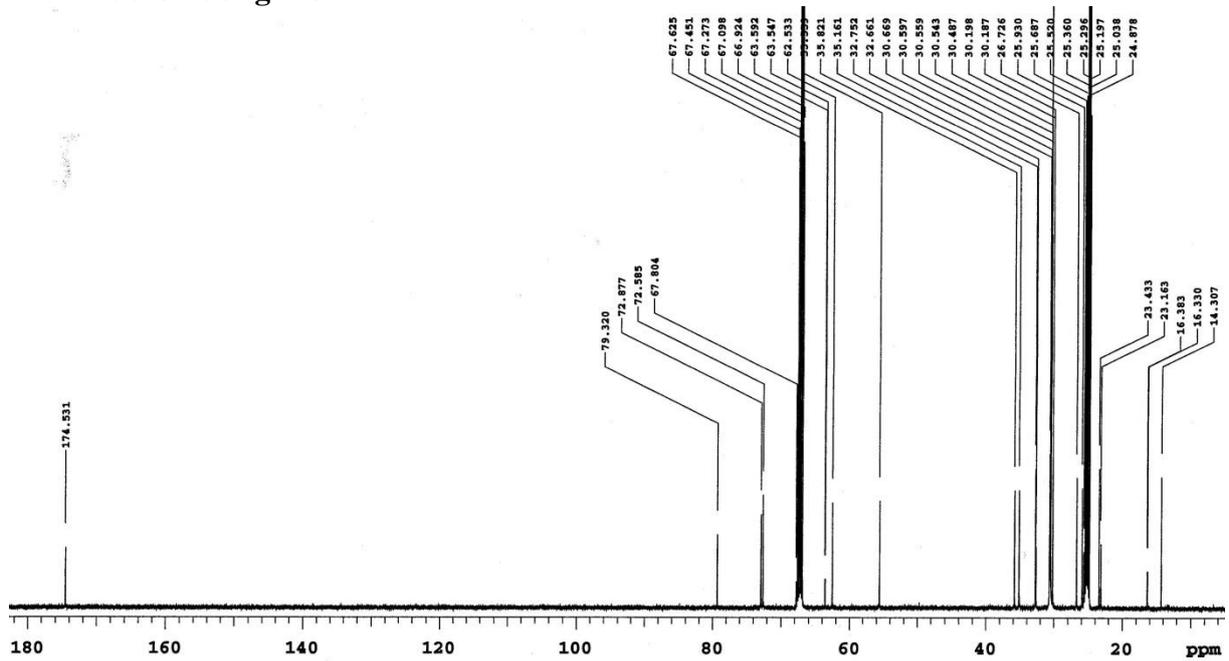
• Verbindung 121



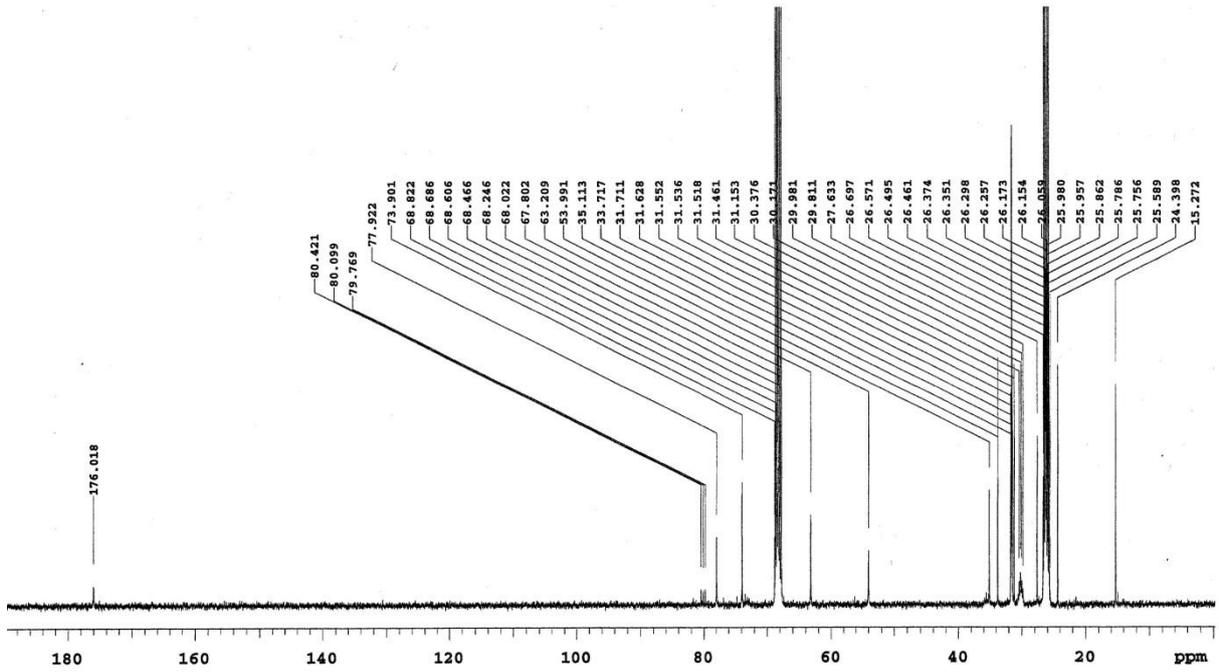
- Verbindung 122



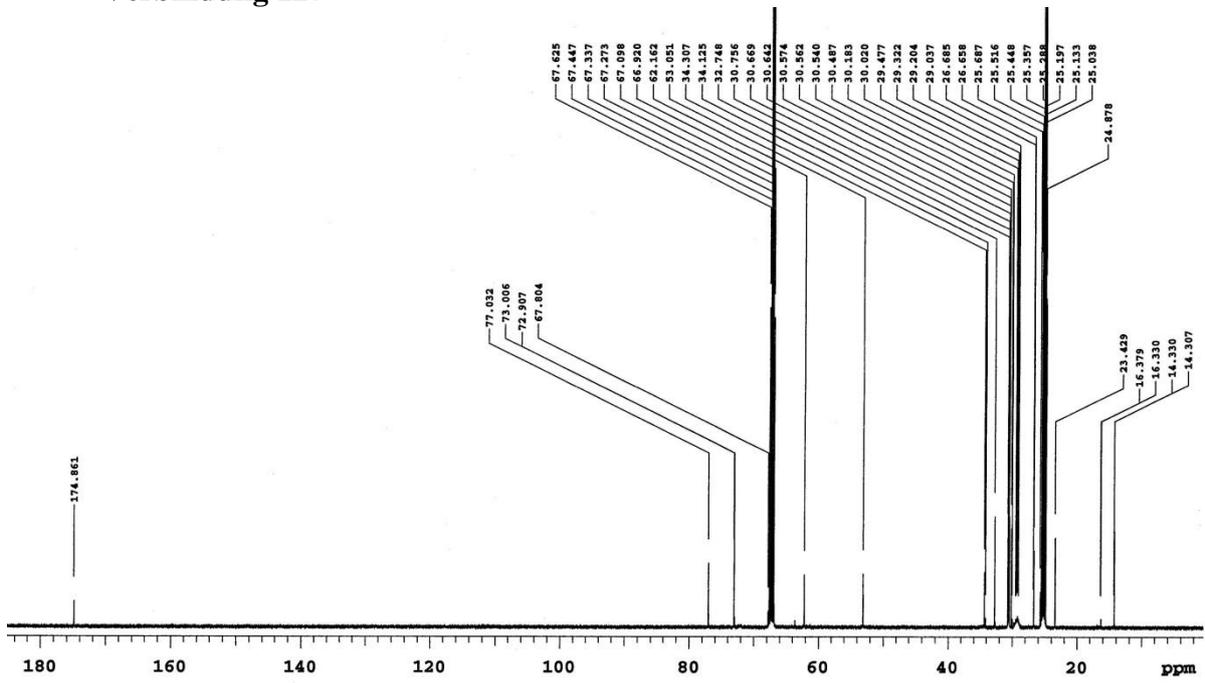
- Verbindung 123



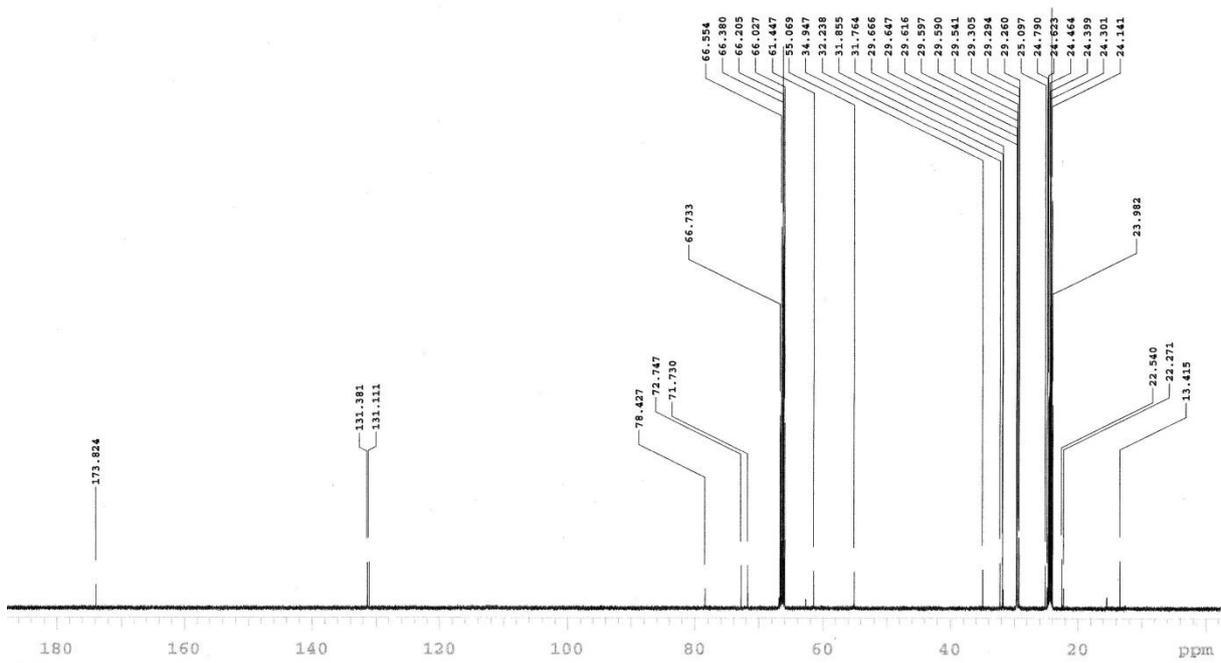
• Verbindung 125



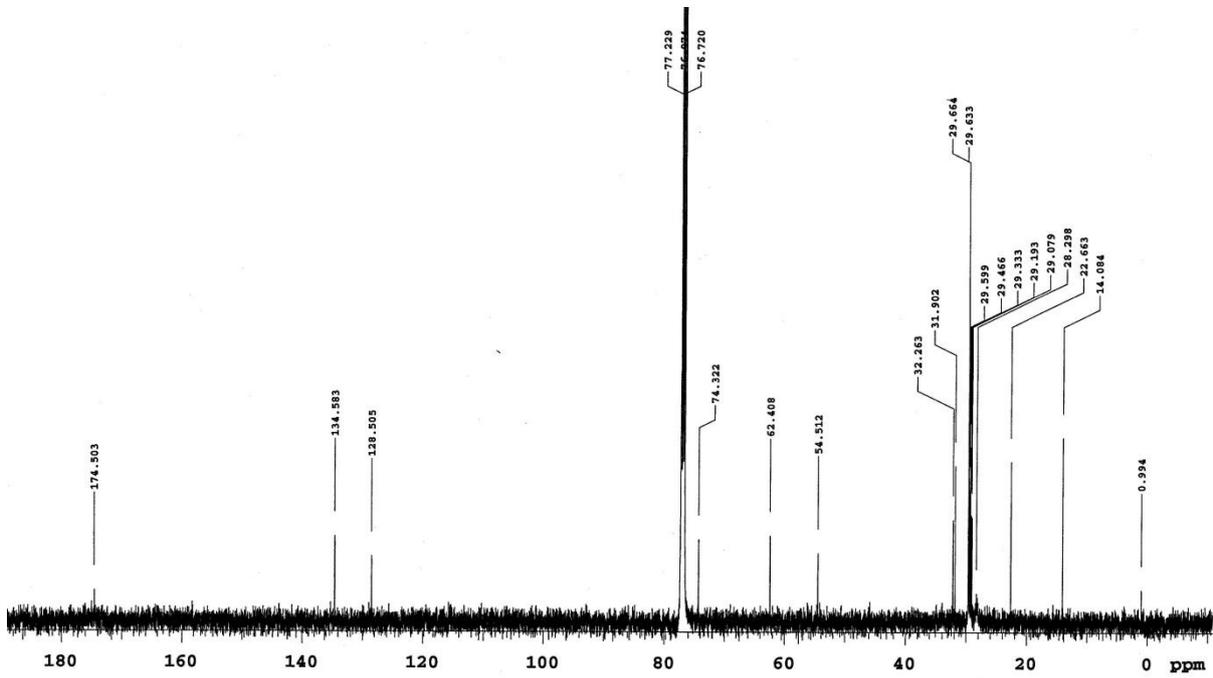
• Verbindung 127



• Verbindung 129

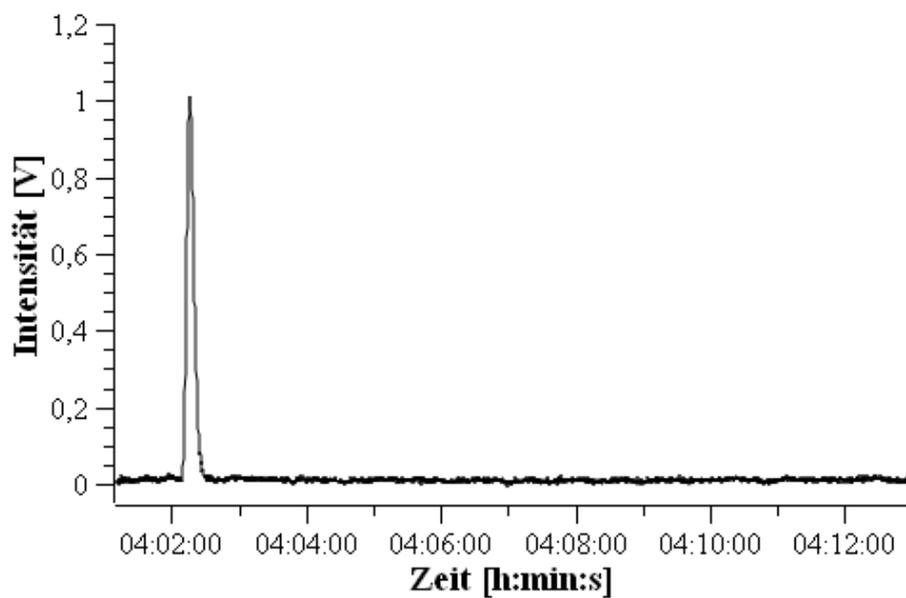


• Verbindung 130

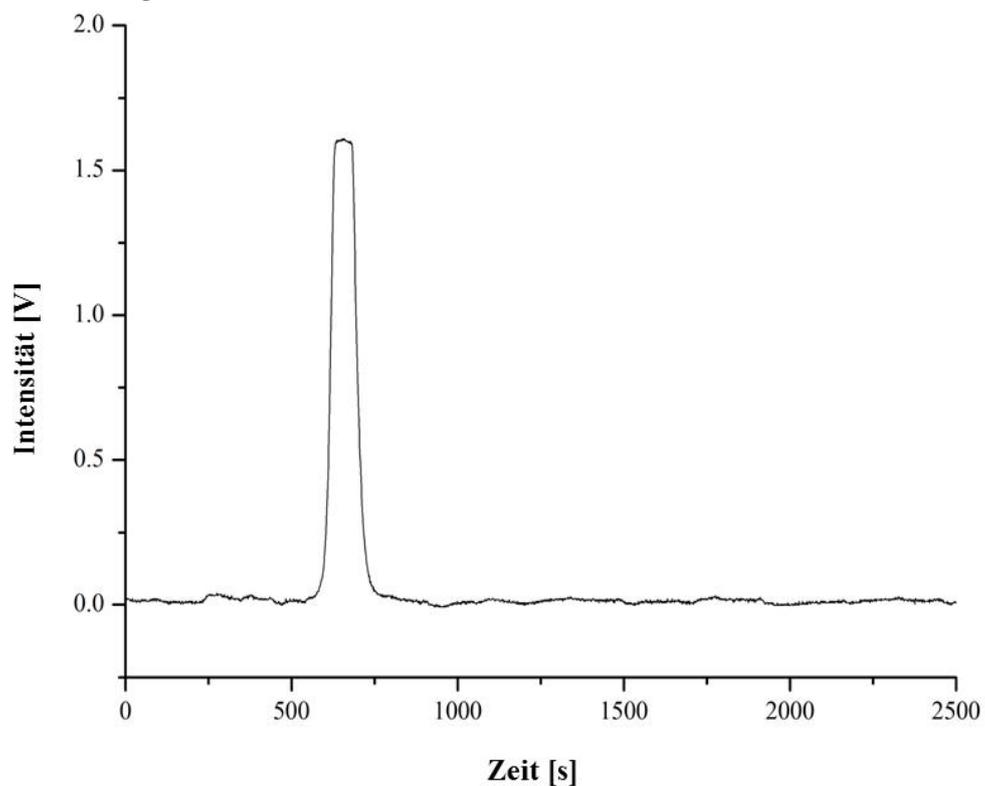


7.5 HPLC Chromatogramme von ausgewählten Verbindungen

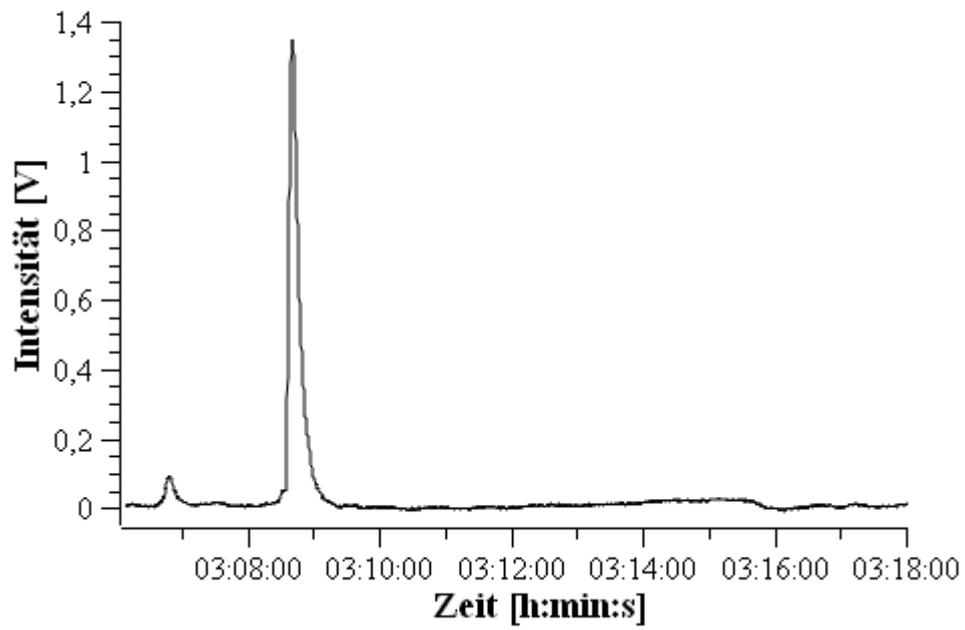
- Verbindung 5



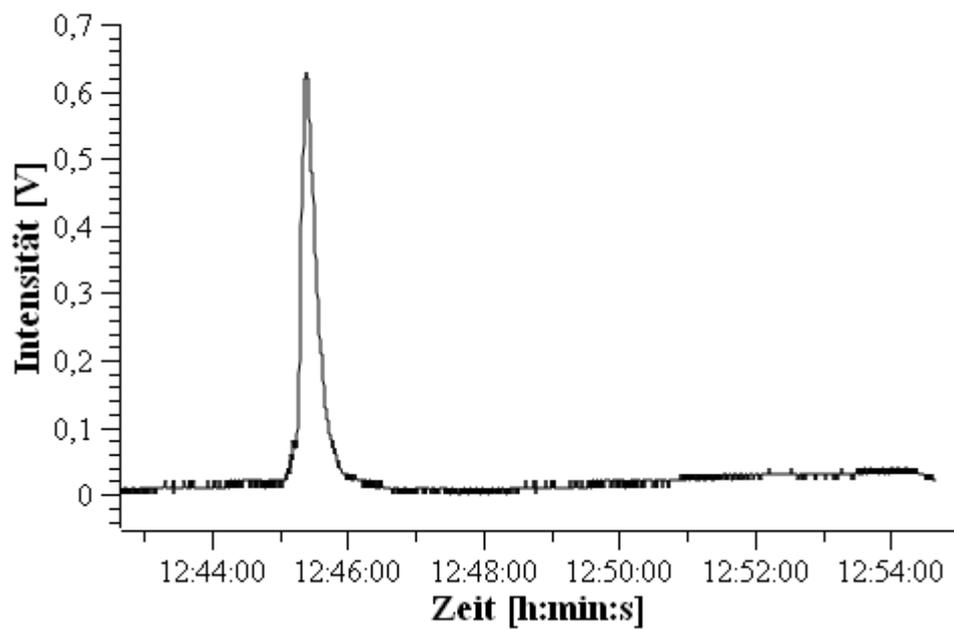
- Verbindung 6



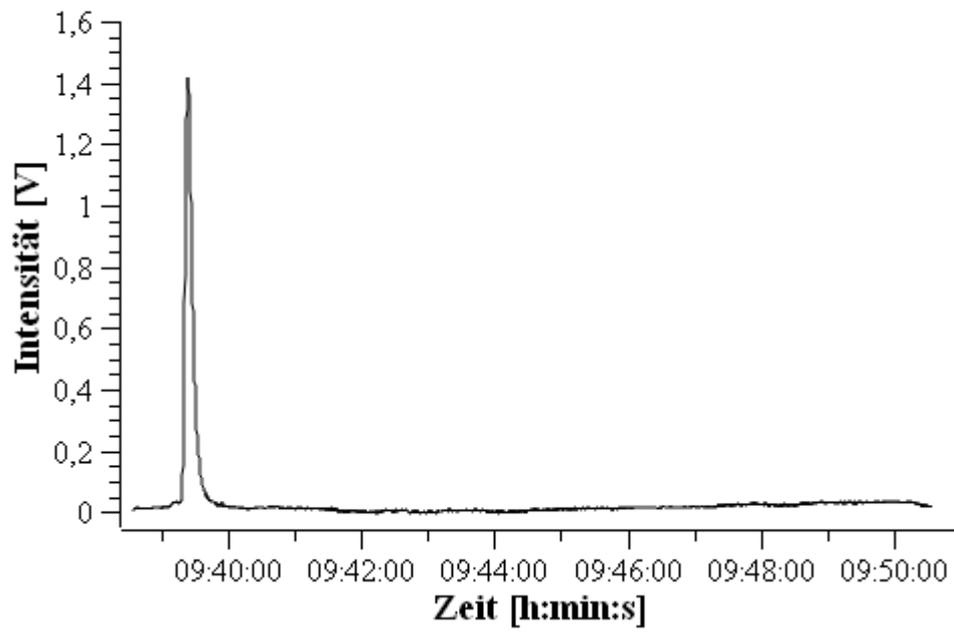
- **Verbindung 26**



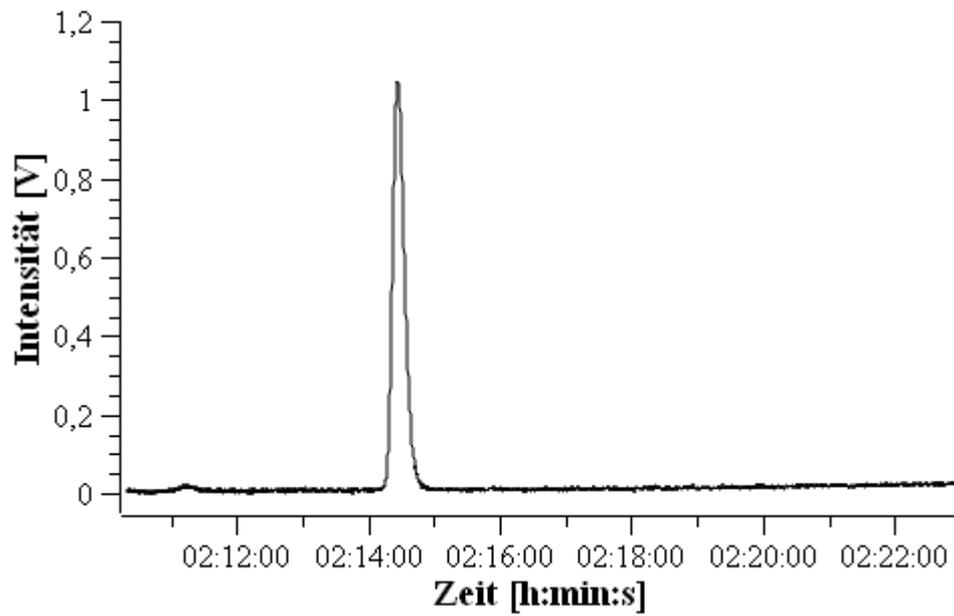
- **Verbindung 27**



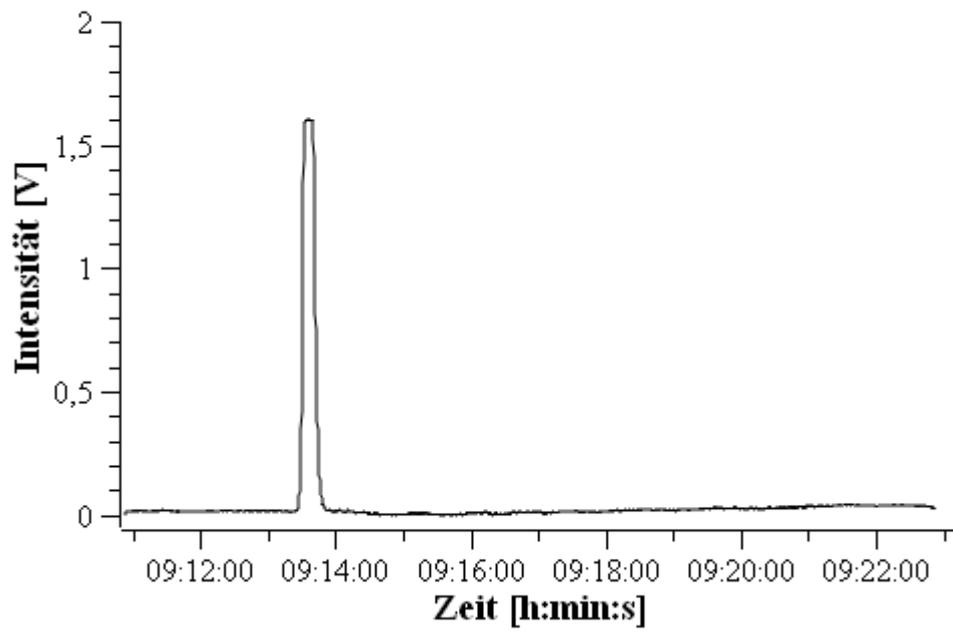
- **Verbindung 35**



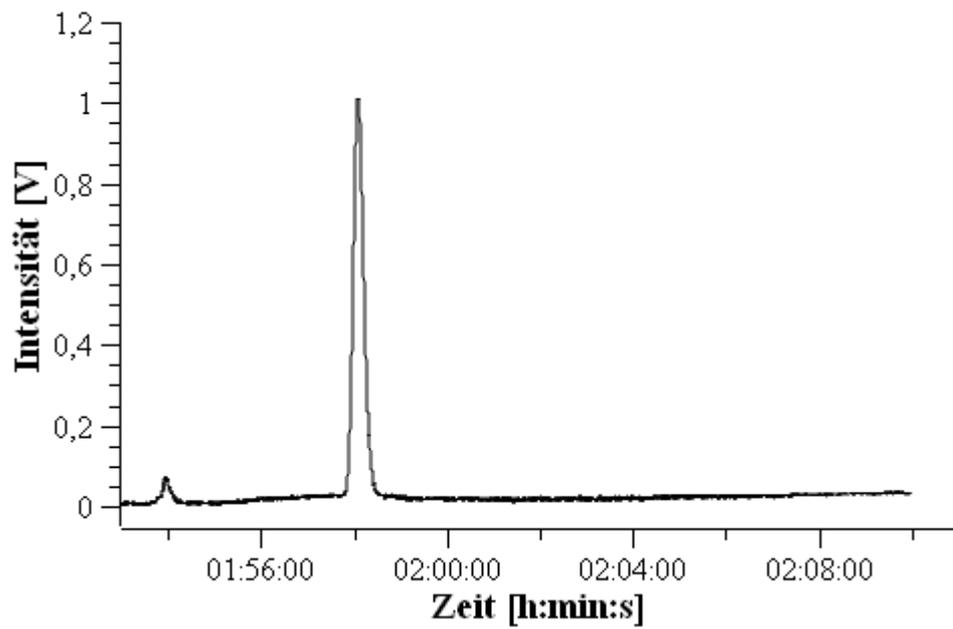
- **Verbindung 82**



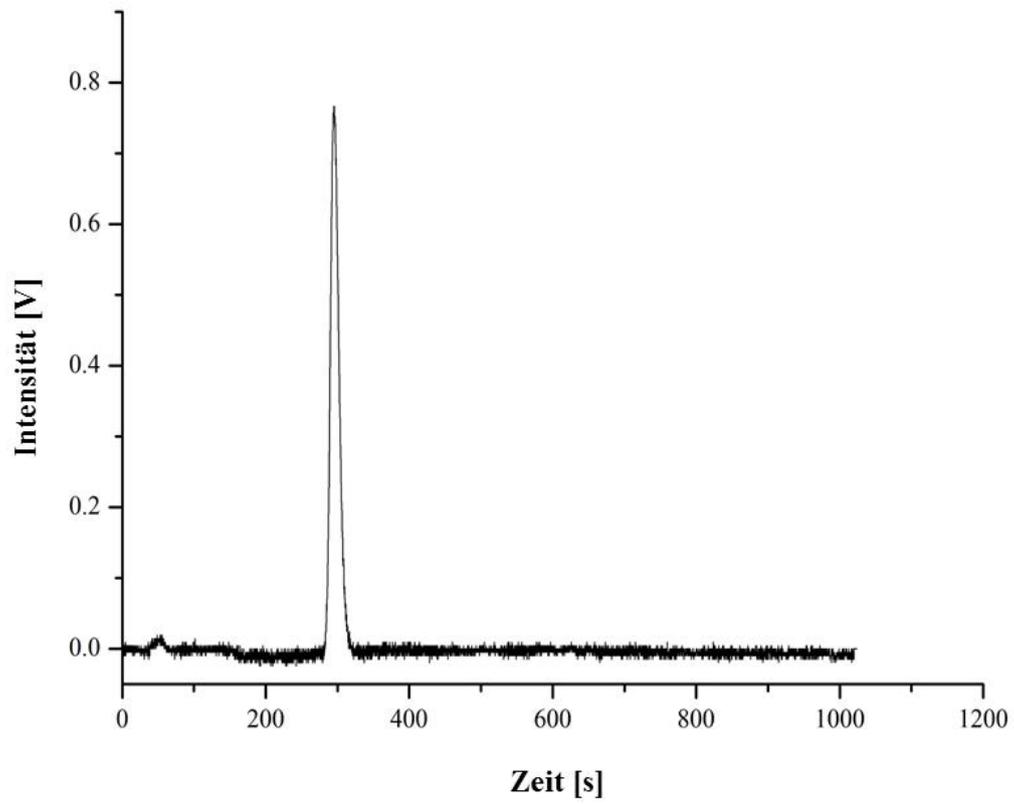
- **Verbindung 84**



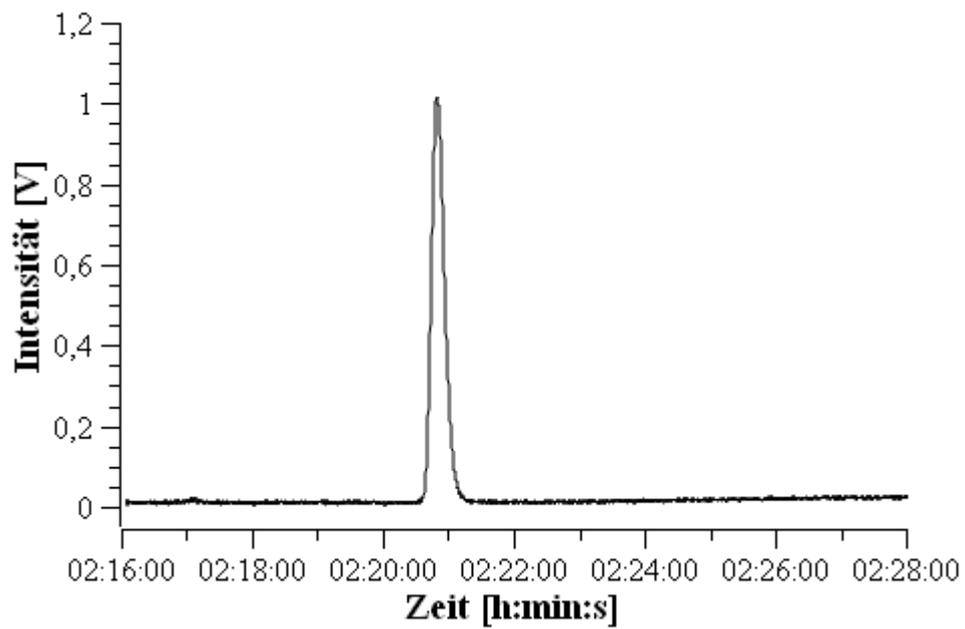
- **Verbindung 85**



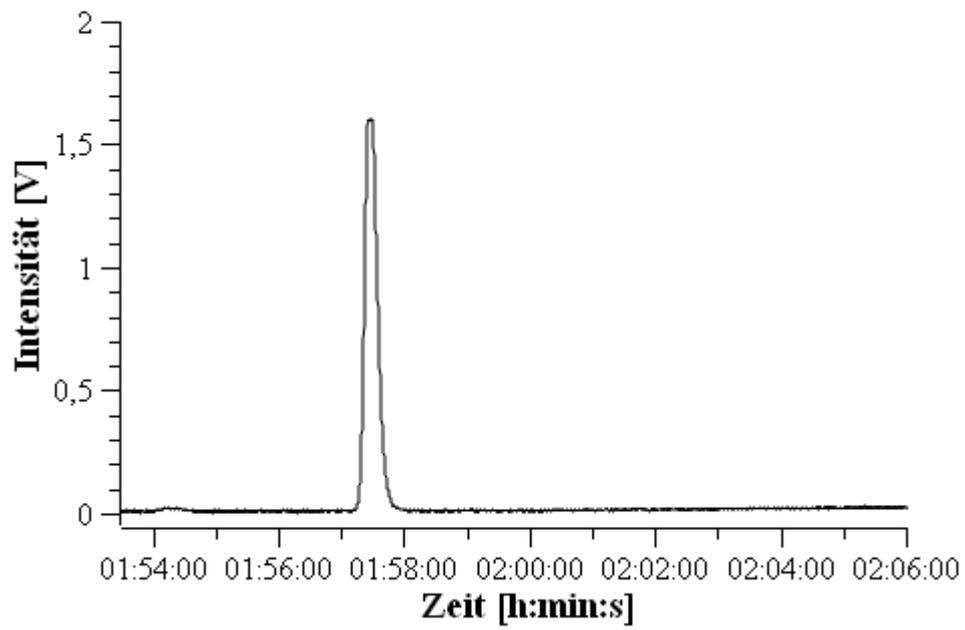
- **Verbindung 86**



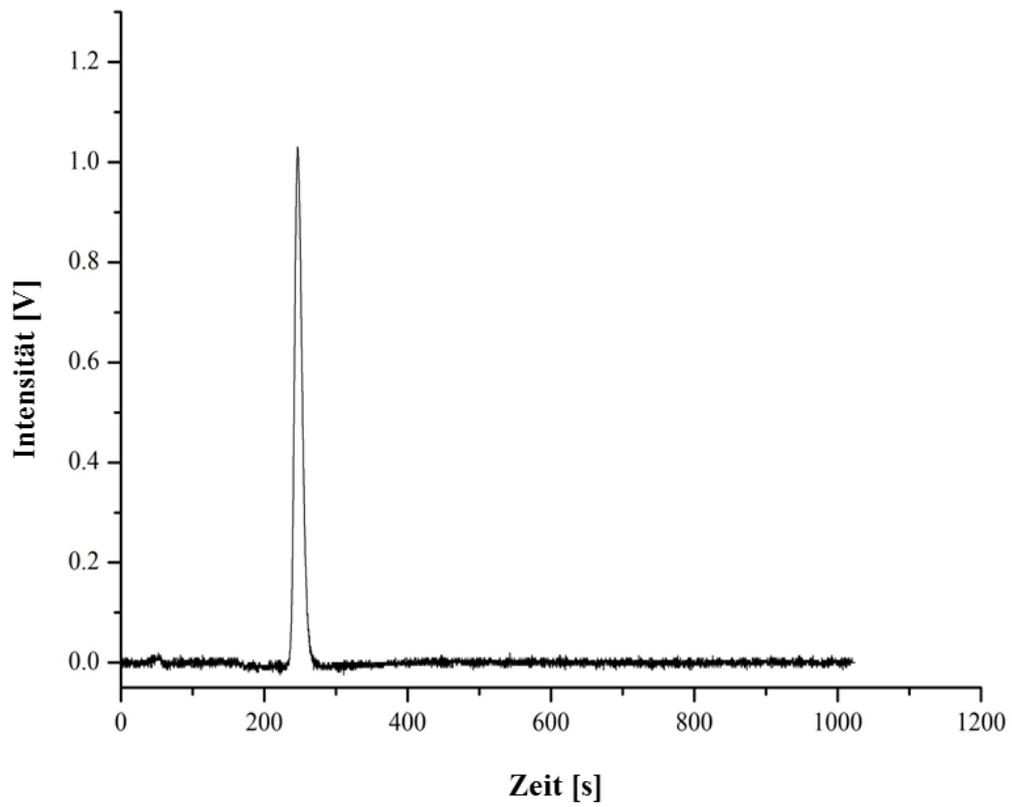
- **Verbindung 87**



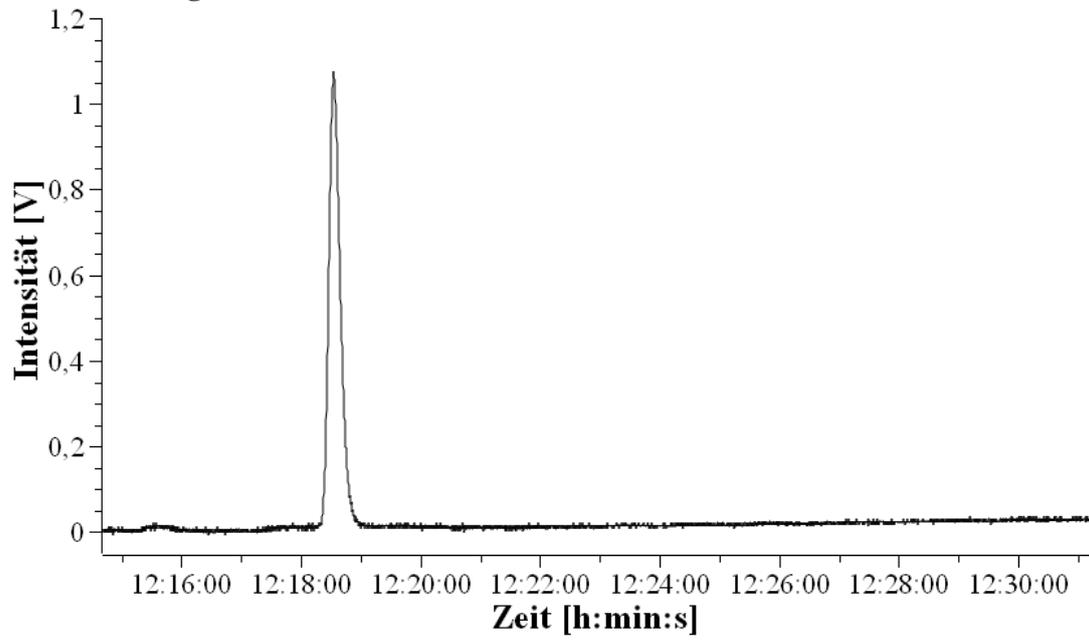
- **Verbindung 88**



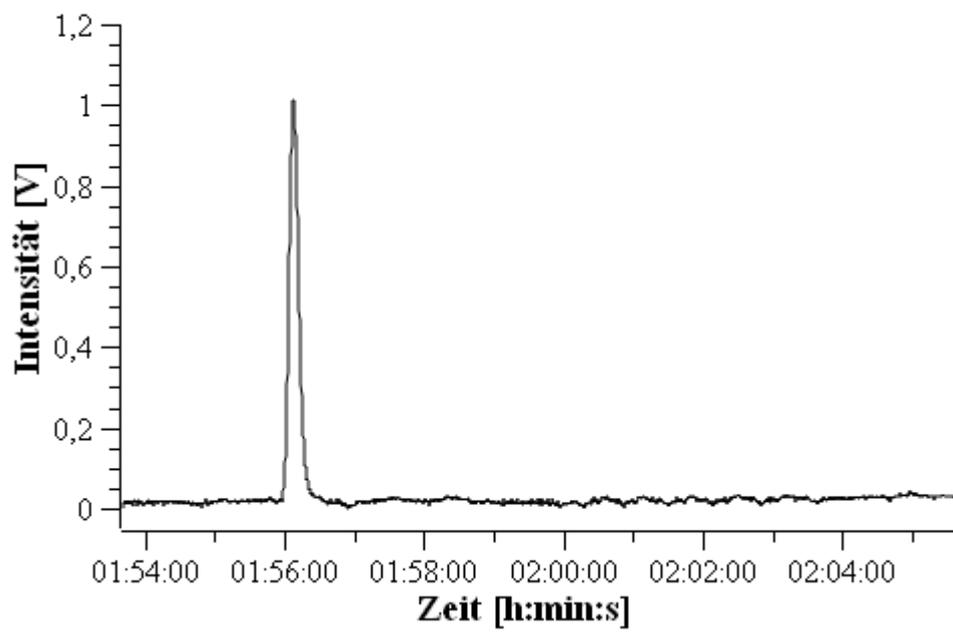
- **Verbindung 89**



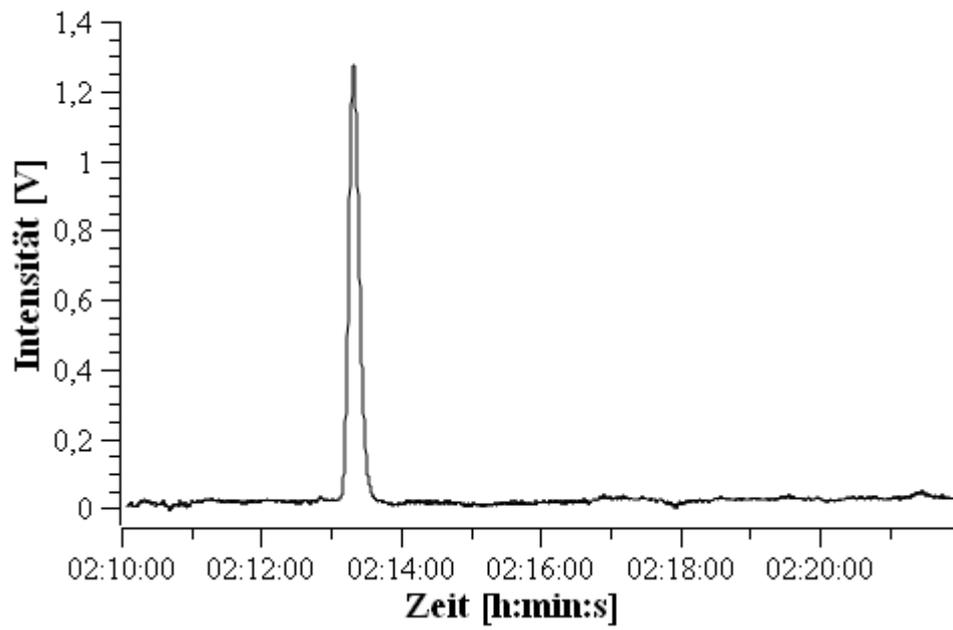
- **Verbindung 90**



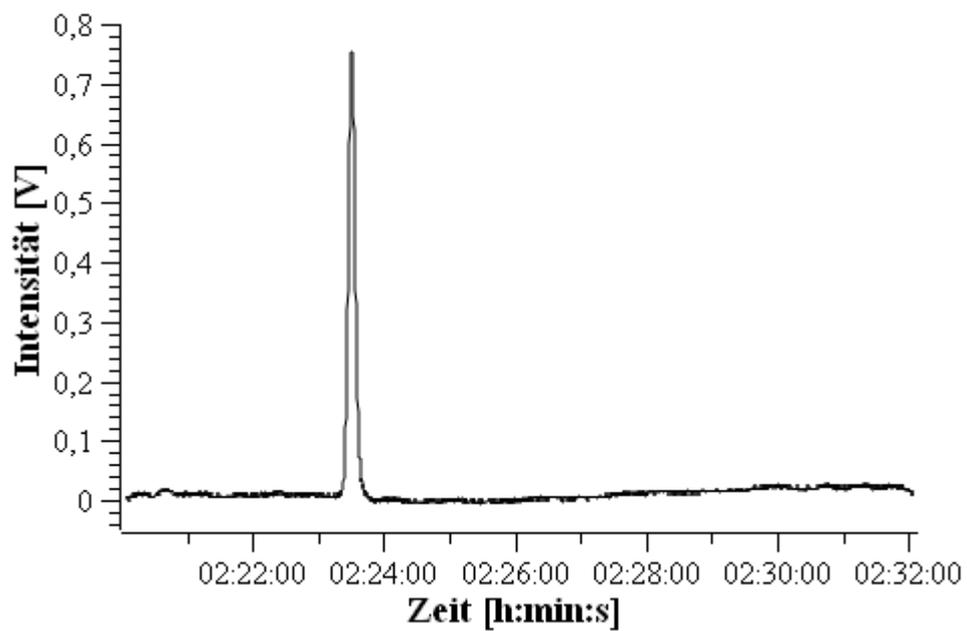
- **Verbindung 91**



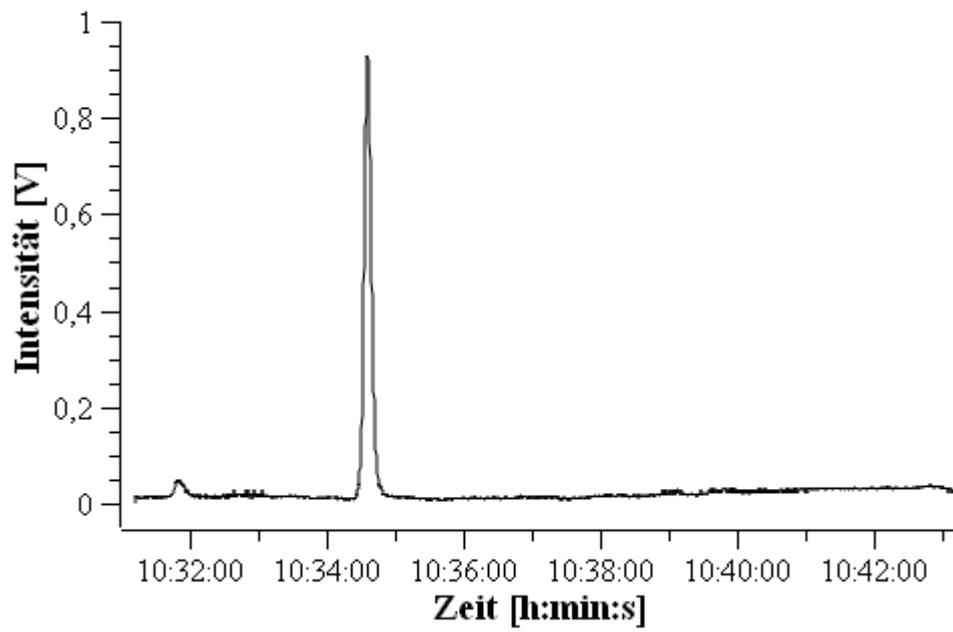
- **Verbindung 92**



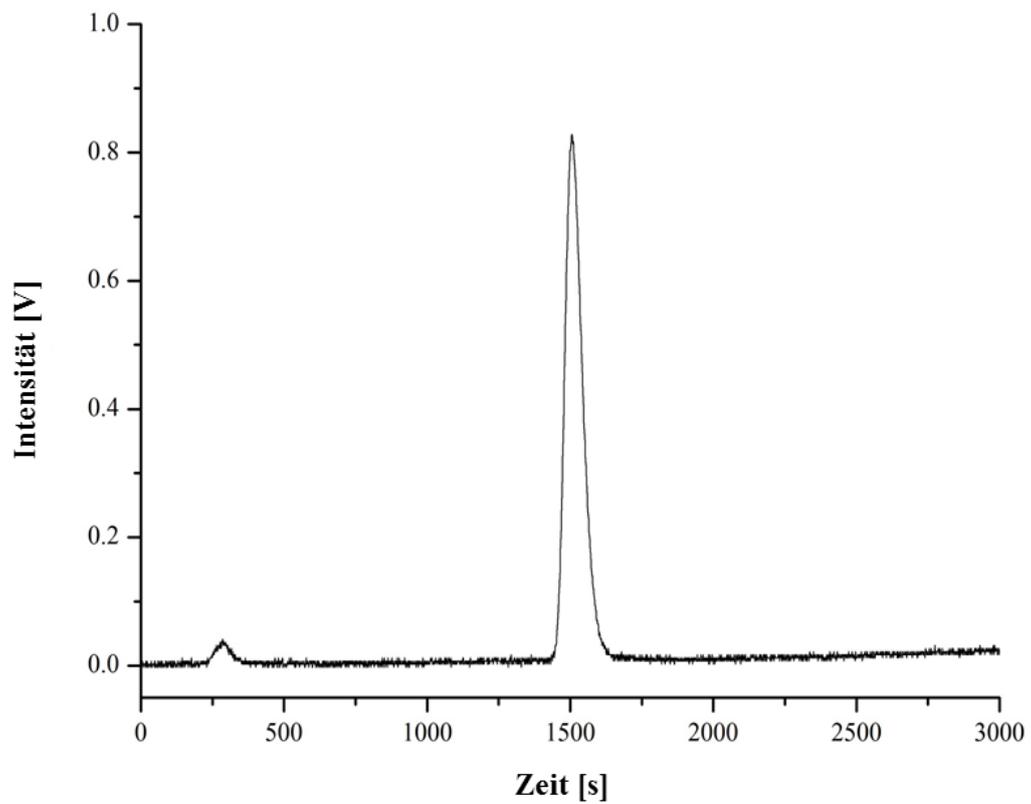
- **Verbindung 113**



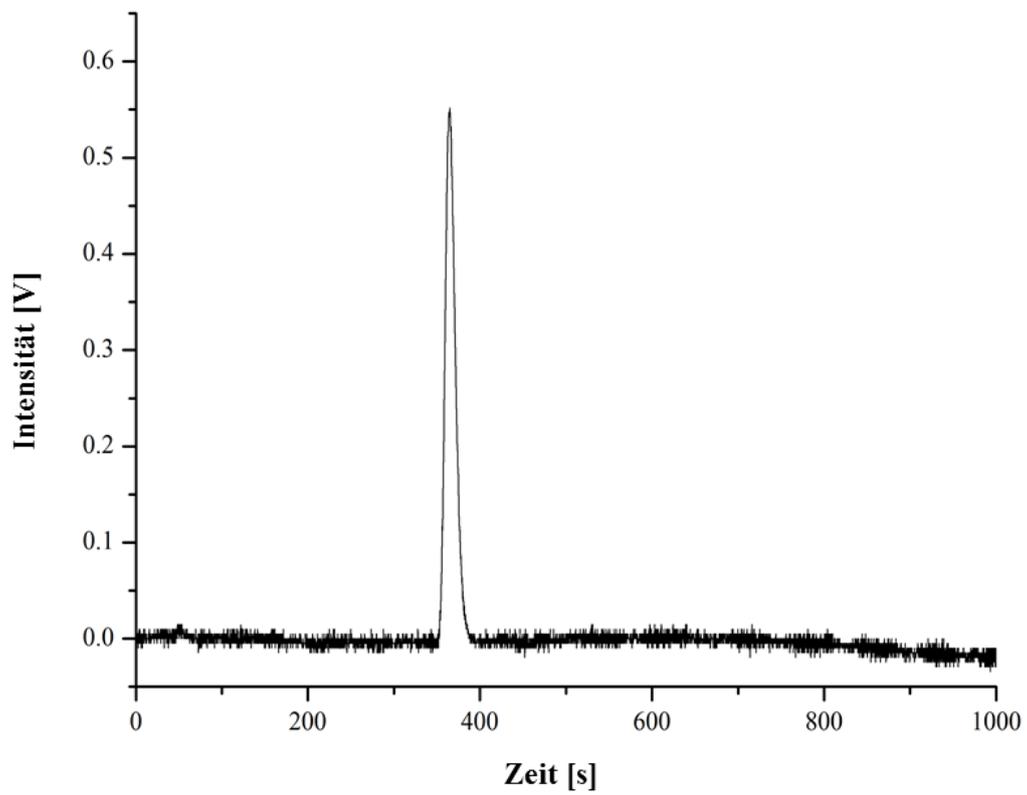
- **Verbindung 114**



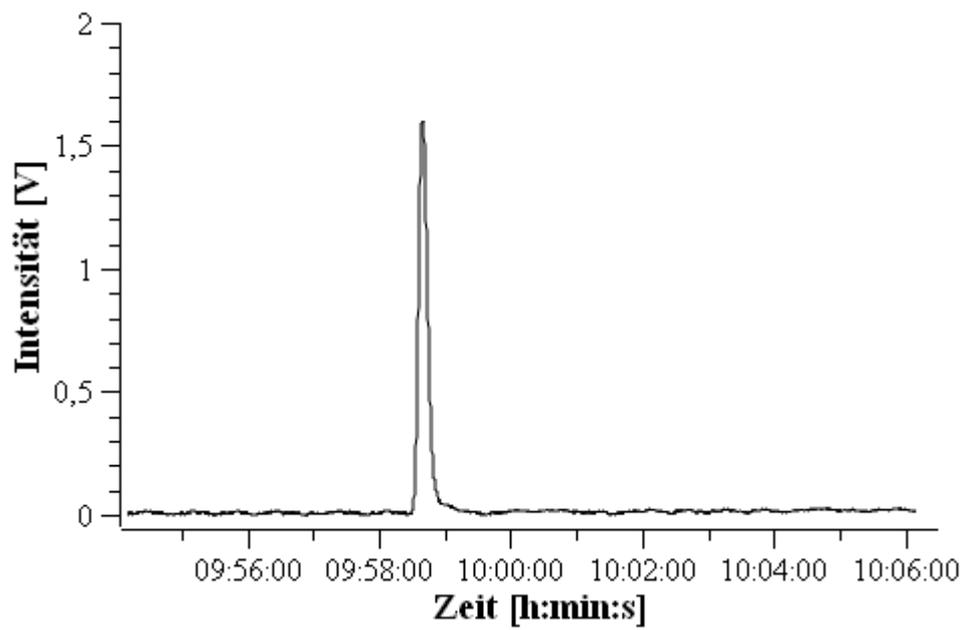
- **Verbindung 115**



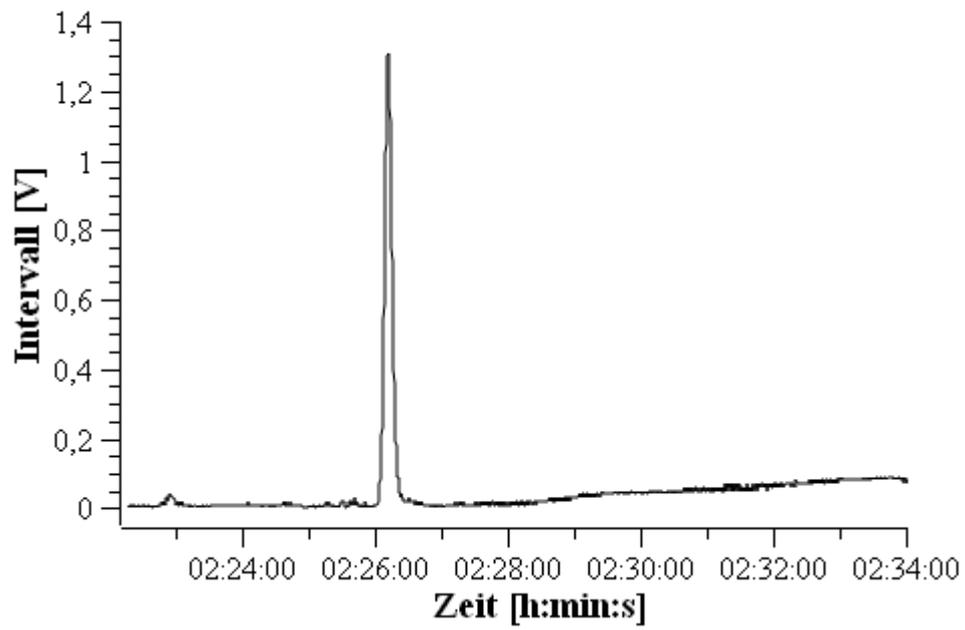
- **Verbindung 116**



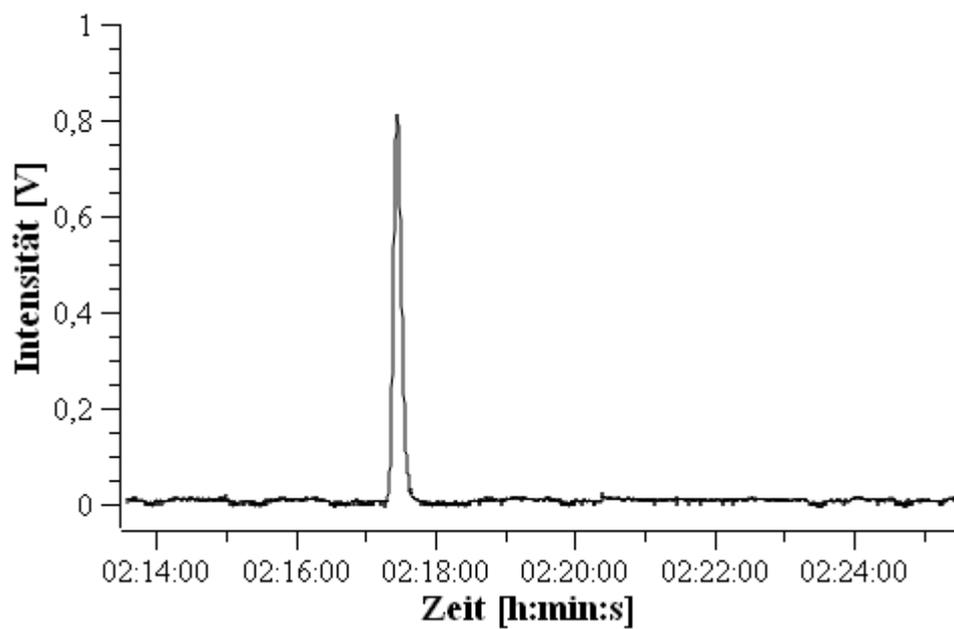
- **Verbindung 117**



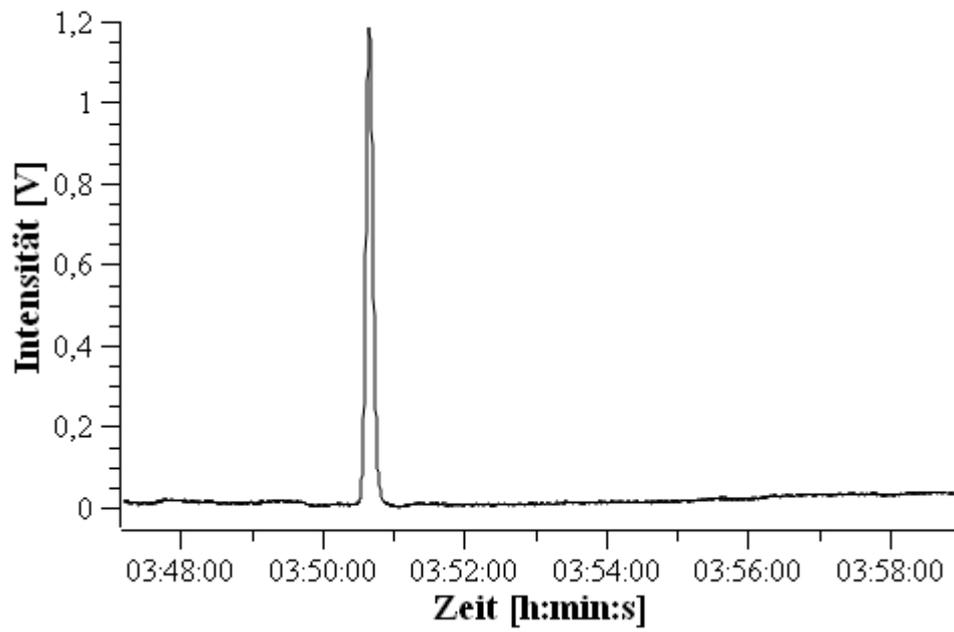
- **Verbindung 118**



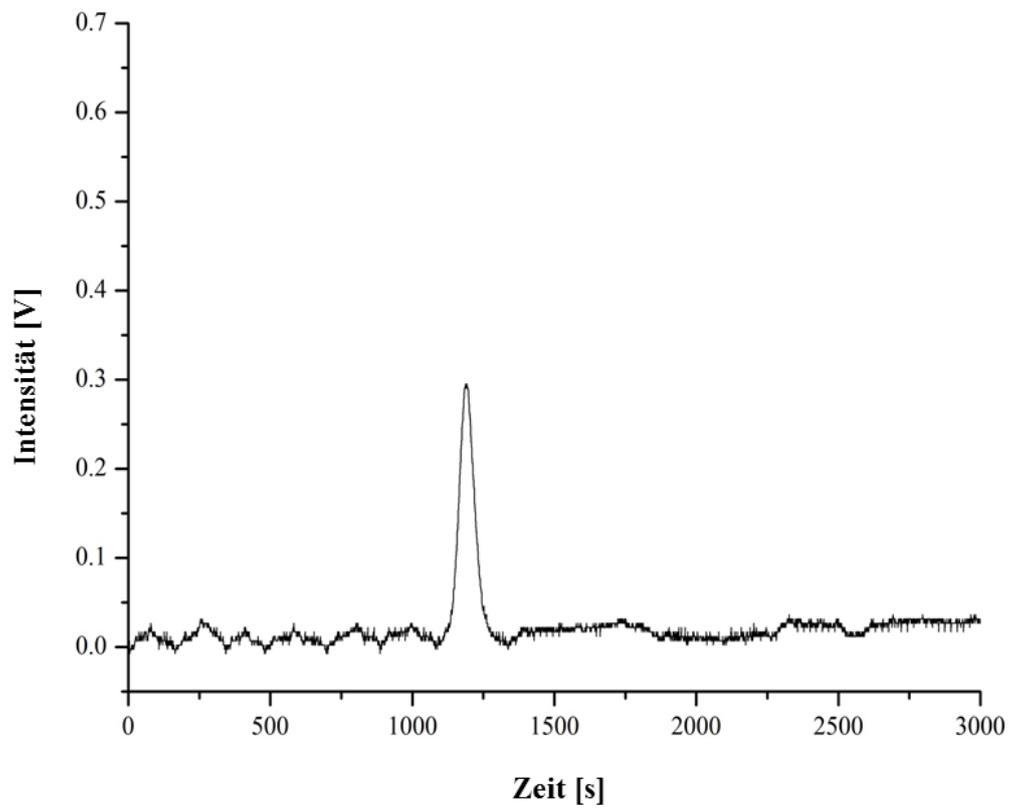
- **Verbindung 119**



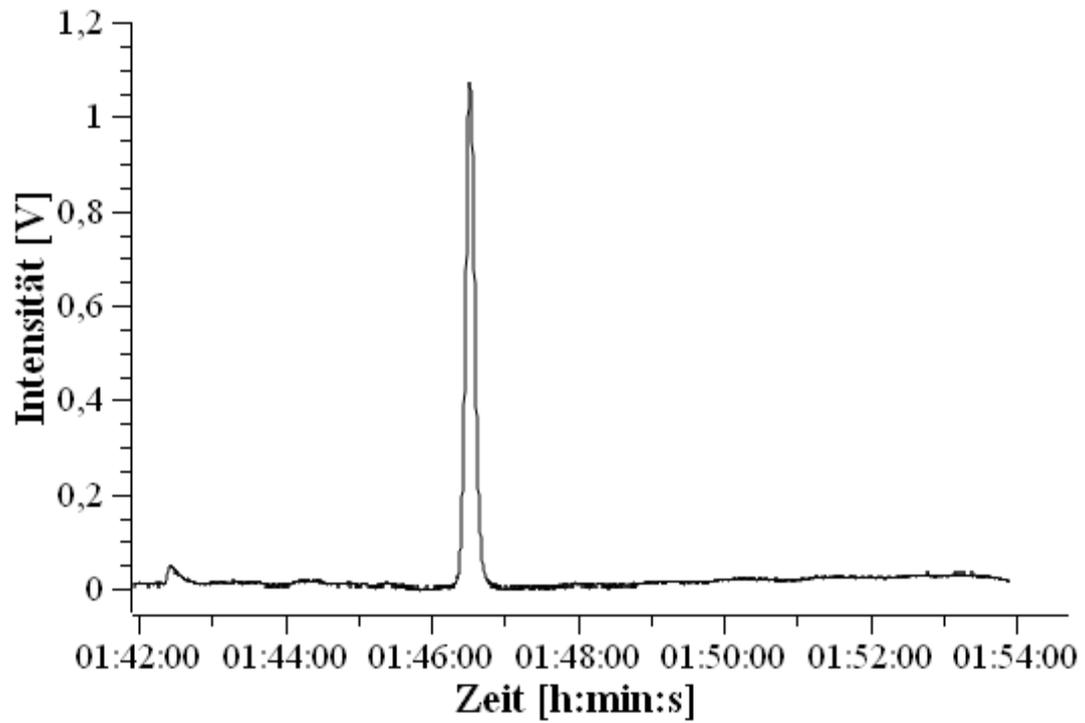
- **Verbindung 120**



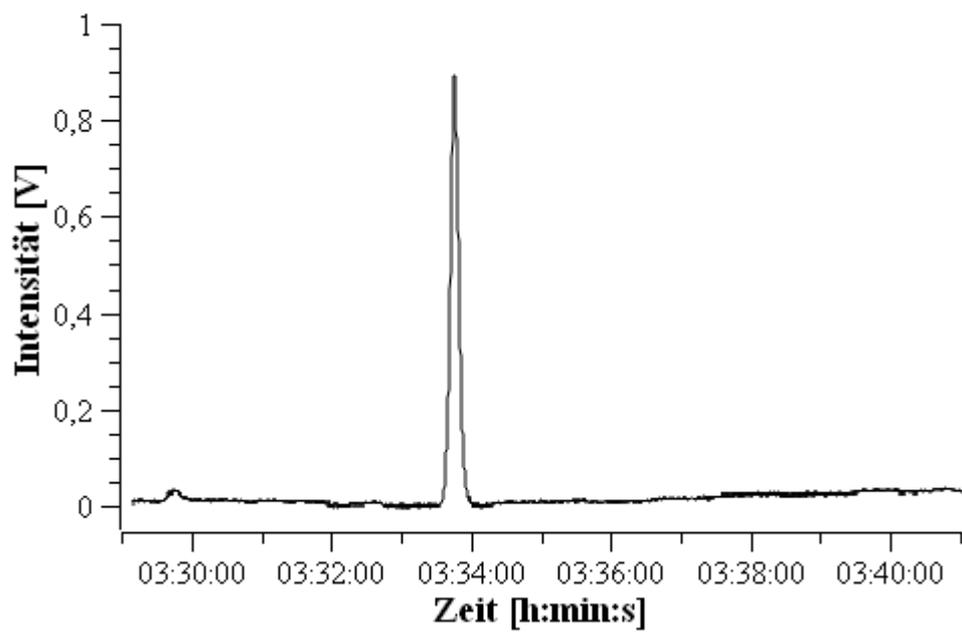
- **Verbindung 121**



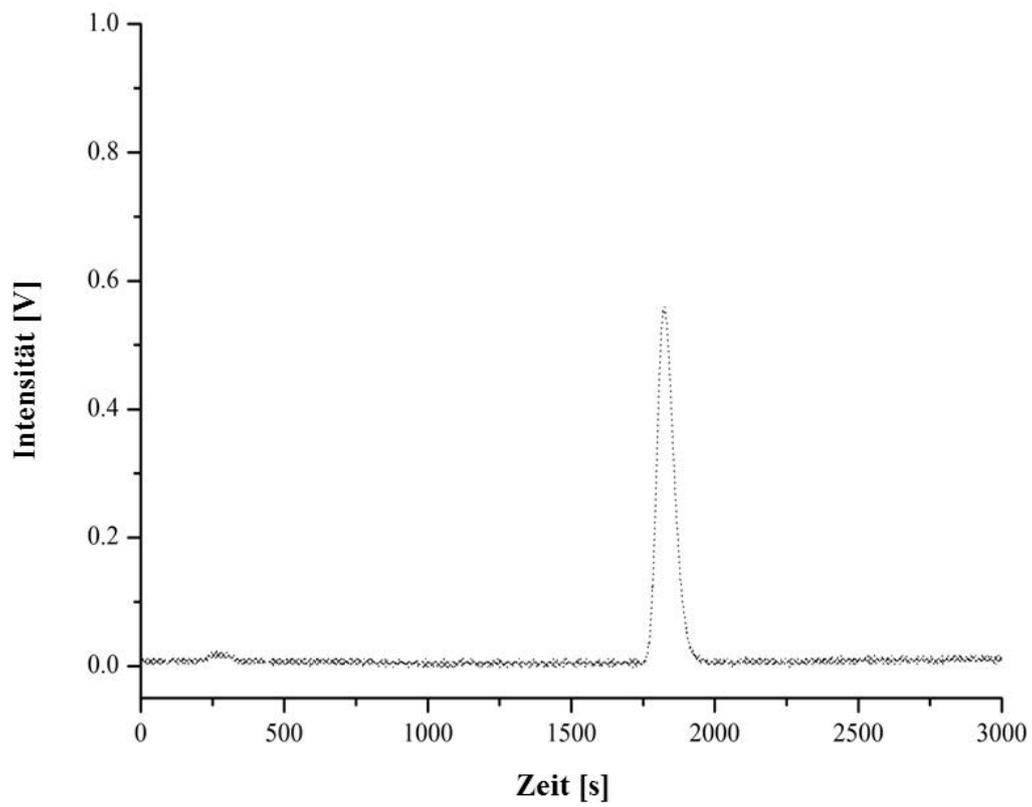
- **Verbindung 122**



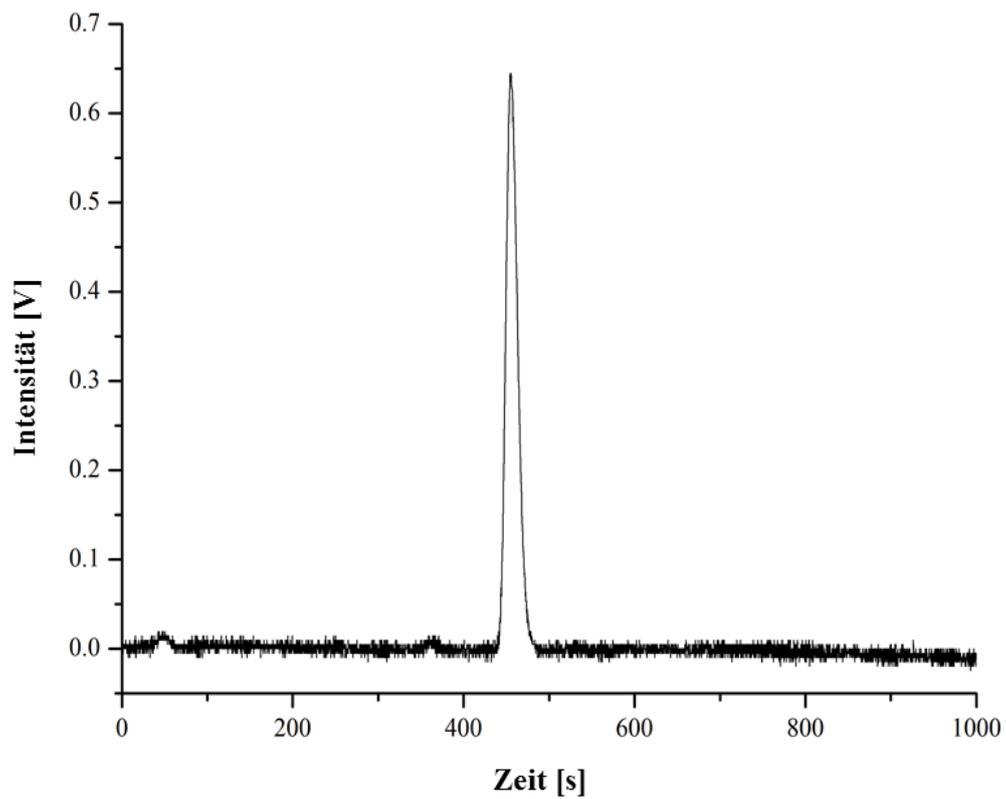
- **Verbindung 123**



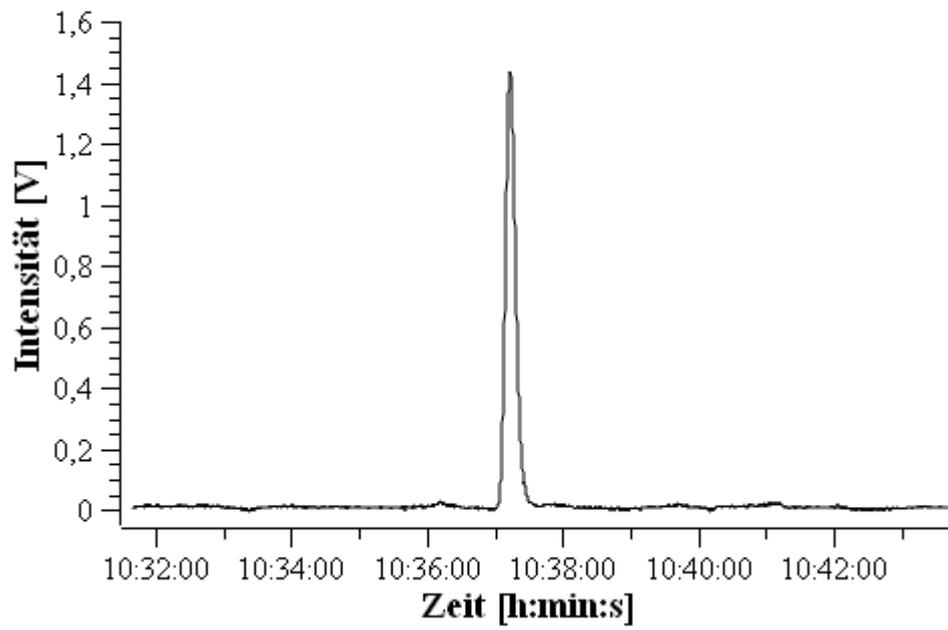
- **Verbindung 124**



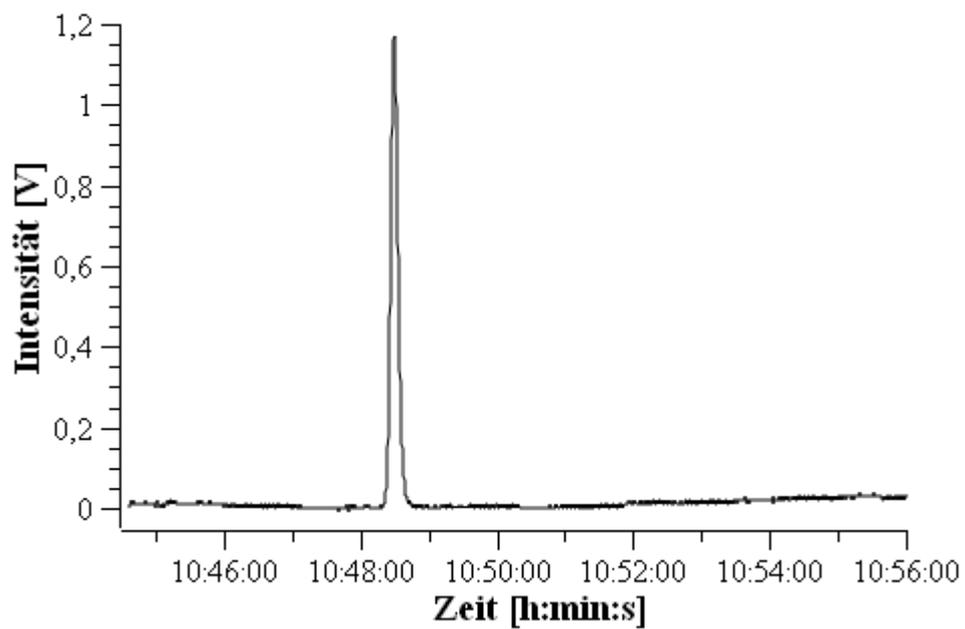
- **Verbindung 125**



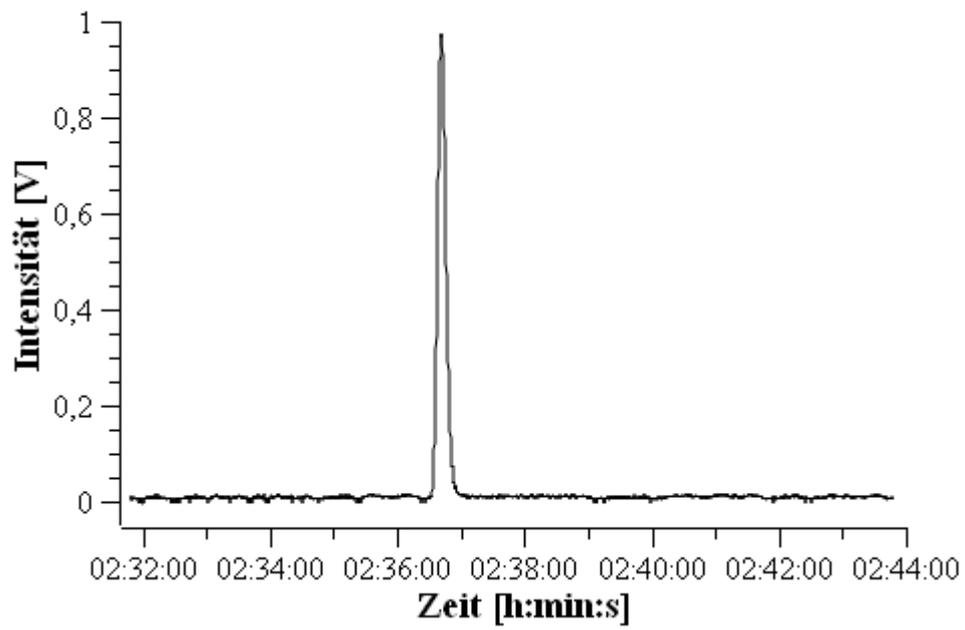
- **Verbindung 126**



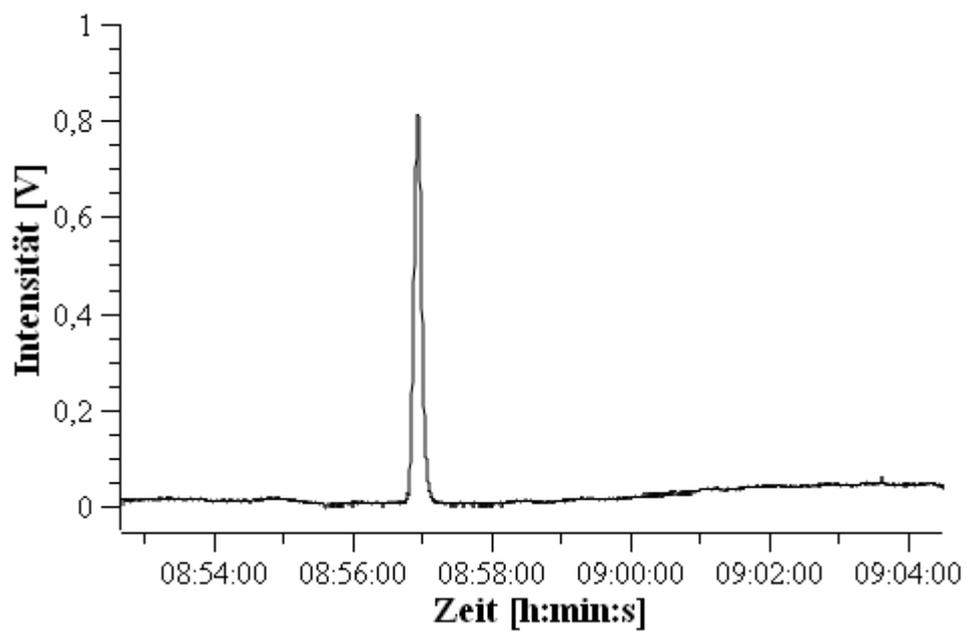
- **Verbindung 127**



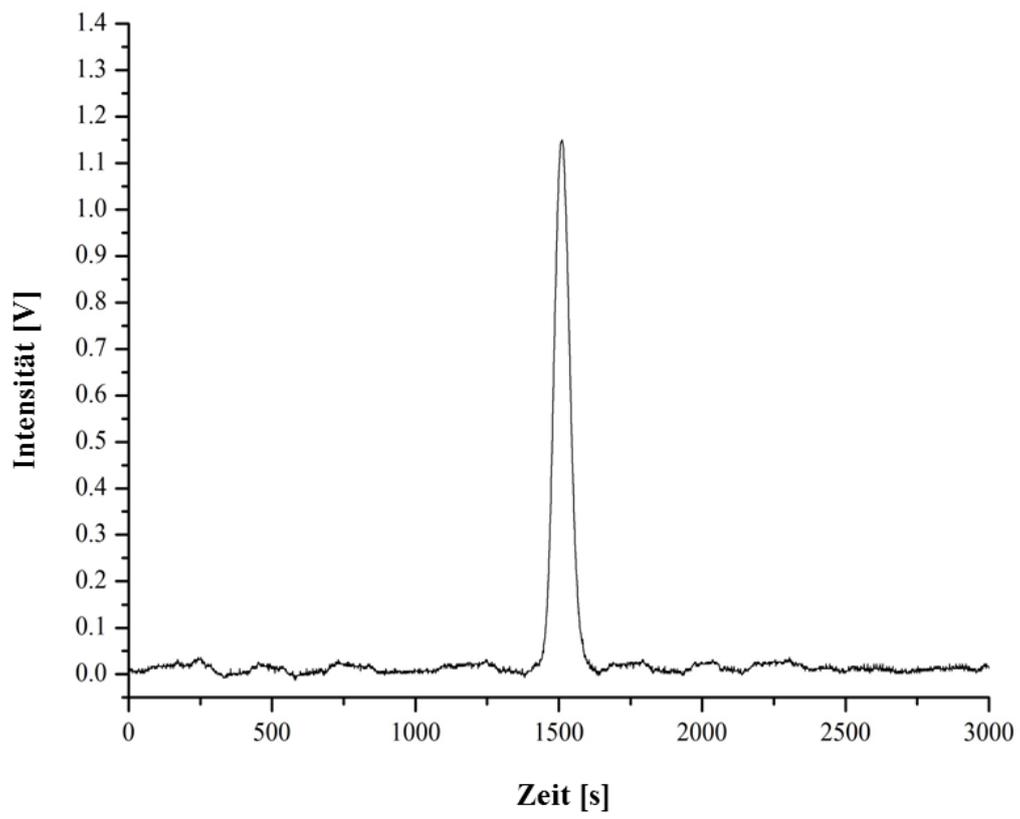
- **Verbindung 128**



- **Verbindung 129**



- **Verbindung 130**



7.6 Liste der Veröffentlichungen

- **Publikationen**

T. Schmitt¹, S. Lange¹, S. Sonnenberger, B. Dobner, B. Demé, A. Langner, R. H. H. Neubert: The long periodicity phase (LPP) controversy part I- The influence of a natural-like ratio of the CEREOS analogue EOS-br in a CERNP/AP based stratum corneum modelling system: A neutron diffraction study.

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, **2019**, 1861(1), 306-315.

DOI: 10.1016/j.bbamem.2018.06.008

T. Schmitt, R. Gupta, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauss, B. Rai, R. H. H. Neubert: Impact of the ceramide subspecies on the nanostructure of stratum corneum lipids using neutron scattering and molecular dynamics simulations. Part I: impact of CER[NS].

Chemistry and Physics of Lipids, **2018**; 214, 58-68

DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2018.05.006.

T. Schmitt, S. Lange, B. Dobner, S. Sonnenberger, T. Hauss, R. H. H. Neubert: Investigation of a CER[NP]- and [AP]-Based Stratum Corneum Modeling Membrane System: Using Specifically Deuterated CER Together with a Neutron Diffraction Approach.

Langmuir, **2018**, 34(4), 1742-1749

DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01848

T. Schmitt, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, B. Demé, R. H. Neubert, G. Gooris, J. A. Bouwstra: Determination of the influence of C24 D/(2R)- and L/(2S)-isomers of the CER[AP] on the lamellar structure of stratum corneum model systems using neutron diffraction.

Chemistry and Physics of Lipids, **2017**; 209, 29–36

DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2017.11.001

E. N. Tessema, T. Gebre-Mariam, S. Lange, B. Dobner, R. H. H. Neubert: Potential application of oat-derived ceramides in improving skin barrier function: Part 1. Isolation and structural characterization.

Journal of Chromatography B, **2017**, 1065-1066, 87-95.

DOI: 10.1016/j.jchromb.2017.09.029.

S. Stahlberg, A. Eichner, S. Sonnenberger, A. Kovacik, S. Lange, T. Schmitt, B. Deme, T. Hauss, B. Dobner, R. H. H. Neubert: Influence of a Novel Dimeric Ceramide Molecule on the Nanostructure and Thermotropic Phase Behavior of a Stratum Corneum Model Mixture.

Langmuir, **2017**, 33(36), 9211-9221.

DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01227.

S. Sonnenberger, A. Eichner, T. Hauss, A. Schroeter, T. Schmitt, S. Lange, A. Langner, R.H.H. Neubert, B. Dobner: Synthesis of specific deuterated derivatives of the long chained stratum corneum lipids [EOS] and [EOP] and characterization using neutron scattering.

Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, **2017**, 60(7), 316-330.

DOI: 10.1002/jlcr.3504.

J.S.L. Oliveira, S. Lange, B. Dobner, G. Brezesinski: Analytical data of synthesized deuterated isopropyl myristate and data about the influence of IPM/IPM_{deut} on the thermodynamics and morphology of 2D Stratum Corneum models.

Data in Brief, **2017**, 12, 624–631.

DOI: 10.1016/j.dib.2017.04.055.

J.S.L. Oliveira, S. Lange, B. Dobner, G. Brezesinski: The effect of non-deuterated and deuterated isopropyl myristate on the thermodynamical and structural behavior of a 2D Stratum Corneum model with Ceramide [AP].

Chemistry and Physics of Lipids, **2017**, 204, 1-9.

DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.01.029

A. Eichner¹, S. Stahlberg¹, S. Sonnenberger¹, S. Lange, B. Dobner, A. Ostermann, T.E. Schrader, T. Hauß, A. Schroeter, D. Huster: Influence of the penetration enhancer isopropyl myristate on stratum corneum lipid model membranes revealed by neutron diffraction and ²H NMR experiments.

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, **2017**, 1859(5), 745-755.

DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.01.029

S. Sonnenberger, S. Lange, A. Langner, R.H.H. Neubert and B. Dobner: Synthesis of ceramides NS and NP with perdeuterated and specifically ω-deuterated N-acyl residues.

Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, **2016**, 59(12), 531-542.

DOI: 10.1002/jlcr.3443.

S. Stahlberg, S. Lange, B. Dobner, and D. Huster: Probing the Role of Ceramide Headgroup Polarity in Short-Chain Model Skin Barrier Lipid Mixtures by ²H Solid-State NMR Spectroscopy.

Langmuir, **2016**, 32(8), 2023-2031.

DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b04173.

- **Ältere Publikationen:**

F. Sahle, S. Lange, B. Dobner, J. Wohlrab, and R. H. H. Neubert: Development and Validation of LC/ESI-MS Method for Detection and Quantification of Exogenous Ceramide NP in Stratum Corneum and Other Layers of the Skin.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **2012**, 60, 7-13

DOI: 10.1016/j.jpba.2011.10.032.

- **Reviewartikel**

T. Schmitt, R. Gupta, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauß, B. Rai, R. H. Neubert, R. H. H. Neubert: Impact of the ceramide subspecies on the nanostructure of stratum corneum lipids using neutron scattering and molecular dynamics simulations. Part I- Impact of CER[NS].

Chemistry and Physics of Lipids, **2018**; Vol. 214, 58–68.

DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2018.05.006

- **Posterbeiträge**

T. Schmitt, S. Lange, S. Sonnenberger, B. Dobner, T. Hauss, R. H. H. Neubert: Investigation of a CER[NP] and [AP] based stratum corneum modelling membrane system: using specifically deuterated CER together with a neutron diffraction approach. Gordon Research Conference **2017**

S. Stahlberg, A. Eichner, S. Sonnenberger, S. Lange, T. Schmitt, B. Demé, T. Hauss, B. Dobner, R. H. H. Neubert, and D. Huster: The Influence of a Novel Dimeric Ceramide Molecule on the Nanostructure and the Thermotropic Phase Behaviour of a Stratum Corneum Model Mixture
Gordon Research Conference **2017**

S. Sonnenberger, A. Eichner, S. Lange, A. Langner, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of a modified deuterated ω -Acyl Ceramide [EOS] Species and the Impact to the Nanostructure of Stratum Corneum Lipid Model Membranes.
DPhG-Tagung - Düsseldorf **2015**

S. Lange, S. Sonnenberger, A. Eichner, R.H.H. Neubert, and B. Dobner: Synthesis of specific deuterated ceramide species [NP] and [NS] with different chain lengths.
DPhG-Tagung - Düsseldorf **2015**

7.7 Danksagung

Ein großer Dank gilt **Herrn Prof. Dr. Bodo Dobner** und **Herrn Prof. Dr. Dr. Reinhard Neubert** für das Überlassen dieses äußerst interessanten sowie vielseitigen Themas und damit die Ermöglichung zur Erstellung dieser Arbeit. Zusätzlich gilt mein besonderer Dank **Herrn Prof. Dr. B. Dobner** für die fachliche Betreuung sowie sein stets offenes Ohr bei jeglichen Fragen und Problemen. Weiterhin möchte ich mich bei Ihm für die freundliche Zusammenarbeit und den zahlreichen gewährten Ratschlägen sowie die stets interessanten Gespräche bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meinem ehemaligen Promotions- und Arbeitskollegen **Herrn Dr. Stefan Sonnenberger** für die zahlreichen Diskussionen zur Synthese und Analytik von Ceramiden bedanken. Weiterhin bedanke ich mich für das Freundschaftliche und Vertrauensvolle miteinander.

Der Forschungsgruppe des Ceramid-Projektes danke ich für die stets gute Zusammenarbeit und interessanten Diskussionen sowie der ausführlichen Testung der zur Verfügung gestellten Substanzen. Ein besonderer Dank gilt hier vor allem **Herrn Prof. Dr. Daniel Huster** und **Sören Stahlberg**, **Herrn Prof. Dr. Gerald Brezesinski** und **Frau Dr. Joana Oliveira** sowie **Herrn Dr. Thomas Schmitt** und **Frau Dr. Adina Eichner**. **Herrn Prof. Dr. Daniel Huster** danke ich zudem für die finanzielle Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Andreas Langner möchte ich für die Bereitstellung des Laborplatzes für die synthetischen Arbeiten danken. Weiterhin möchte ich Ihm und seiner Arbeitsgruppe einen besonderen Dank für das sehr angenehme und freundliche Arbeitsklima aussprechen. Ein großer Dank gilt dabei **Frau Munk** für die Unterstützung bei organisatorischen Angelegenheiten.

Herrn PD Dr. Simon Drescher und **Herrn Kai Gruhle** danke ich für die Unterstützung bei synthetischen und analytischen Fragestellungen sowie die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern und Kollegen der verschiedenen Abteilungen für die Durchführung der Elementaranalysen und die Aufnahme der Massen- bzw. NMR-Spektren sowie HPLC-Chromatogramme. Den Leitern der entsprechenden Arbeitsgruppen danke ich für die Bereitstellung und Nutzung der hierfür benötigten Gerätschaften.

Weiterhin bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung durch das **Institut für angewandte Dermatopharmazie** und dem Unternehmen **Evonik Industries AG** sowie der **Deutschen Forschungsgemeinschaft**. **Evonik Industries AG** danke ich zudem für die Bereitstellung der Sphingoidbasen Phytosphingosin und Sphingosin.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Freundin **Liv Bennedsen** für ihre Geduld und die verständnisvolle Art bedanken, ohne welche das Anfertigen dieser Schrift so nicht möglich gewesen wäre. Meinem Sohn **Carlo** danke ich für den gewährten Schlaf und die Extraportion an Motivation, diese Arbeit fertigzustellen. Besonders möchte ich mich auch bei meinen Eltern **Gerald** und **Christine Lange** für die immerwährende Unterstützung während des Studiums und der Promotionszeit bedanken. Dieser Dank gilt auch dem **Rest meiner Familie**.

Vielen Dank auch an all jene, welche mich während meiner Promotionszeit und dem Anfertigen dieser Schrift unterstützt haben, hier aber nicht namentlich erwähnt wurden.

7.8 Lebenslauf

• Persönliche Angaben

Name: Stefan Lange
Geburtsdatum: 23. Januar 1986
Geburtsort: Köthen
Familienstand: ledig, 1 Kind

• Beruflicher Werdegang

Seit 11/2019 Scientific Expert, Quality Control
Merz Pharma GmbH & Co. KGaA
08/2017 - 10/2019 GMP-Referent, Quality Assurance
Merz Pharma GmbH & Co. KGaA
01/2017 - 07/2017 Wissenschaftlicher Mitarbeiter,
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
04/2016 - 12/2016 Wissenschaftlicher Mitarbeiter,
Universität Leipzig
04/2013 - 03/2016 Wissenschaftlicher Mitarbeiter,
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

• Hochschulbildung

03/2011 - 02/2013 Chemieingenieurwesen an der HTW Dresden
Abschluss: Master of Science
Titel Masterthesis:
„Synthese von endständig deuterierten α -Hydroxyfettsäuren“
10/2007 - 03/2011 Pharmatechnik an der Hochschule Anhalt
Abschluss: Bachelor of Engineering
Titel Bachelorthesis:
„Synthese von Ceramiden des Sphingosins und Phytosphingosins mit
endständig deuterierten Fettsäuren“
10/2006 - 08/2007 Studium der Geoökologie an der TU Bergakademie Freiberg

7.9 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Stefan Lange, dass ich die vorgelegte Arbeit mit dem Titel: „*Synthese von spezifisch deuterierten und undeuterierten Ceramiden des Dihydrosphingosins, Sphingosins und Phytosphingosins sowie eines spezifisch deuterierten Isopropylmyristats*“ selbstständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie alle wörtlich oder sinngemäß übernommenen Stellen in der Arbeit als solche und durch Angabe der Quelle nach bestem Wissen und Gewissen gekennzeichnet habe. Dies gilt ebenso für Zeichnungen, Skizzen sowie bildliche Darstellungen.

Ich versichere, dass ich diese Arbeit bisher weder an einer Universität noch Hochschule im In- und Ausland vorgelegt habe.

Halle (Saale), im Oktober 2021

Stefan Lange