



MAX-PLANCK-INSTITUT
FÜR POLYMERFORSCHUNG

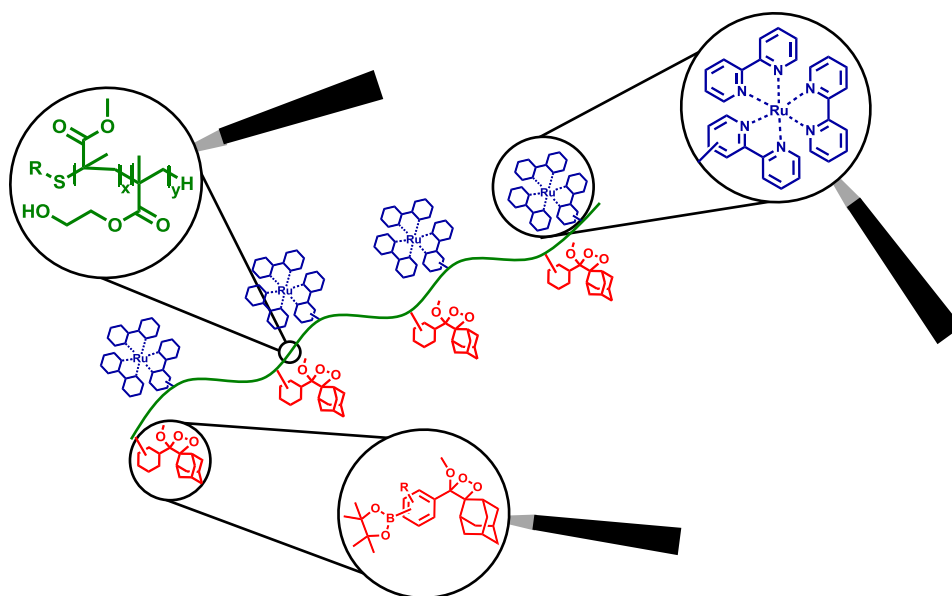


JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ

MASTERARBEIT

im Studiengang Chemie

SYNTHESE CHEMILUMINESZENTER HYBRID-MATERIALIEN



zur Erlangung des akademischen Grades

Master of Science

dem Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der

Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

DANIEL KODURA

Mainz, Februar 2019

Eigenständigkeitserklärung

**Masterarbeit im Studiengang Chemie, Biomedizinische Chemie
oder Polymerchemie
an der Johannes Gutenberg – Universität Mainz**

Ich, Daniel Kodura, Matrikelnummer 2707364, versichere, dass ich meine Masterarbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen schriftlichen und elektronischen Quellen sowie andere Hilfsmittel benutzt habe. Alle Ausführungen, die anderen Schriften wörtlich oder sinngemäß entnommen wurden, habe ich kenntlich gemacht.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)

Diese Arbeit wurde im Zeitraum vom September 2018 bis Februar 2019 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Tanja Weil am Max-Planck-Institut für Polymerforschung an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz verfasst.

Erstgutachter: Prof. Dr. Tanja Weil

Zweitgutachter: Prof. Dr. Matthias Barz

Abgabedatum: 28.02.2019.

Danksagung

Ich möchte mich bei Frau Prof. Dr. Tanja Weil für die wundervolle Möglichkeit bedanken, diese Arbeit in ihrem Arbeitskreis unter optimalen Bedingungen durchzuführen.

Bei Prof. Matthias Barz möchte ich mich für die Zweitkorrektur dieser Arbeit bedanken.

Mein Dank geht auch an die Mitglieder des Arbeitskreises für die freundliche Aufnahme und vielen schönen Momente.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Dr. Seah Ling Kuan. Ihre fachliche, sowie insbesondere ihre vielseitigen organisatorischen Hilfestellungen haben mich immer begleitet.

Ein großer Dank gilt an Michael Müller. Durch die vielen anregenden Diskussionen, sein Erfahrungsschatz in dem Themengebiet dieser Arbeit und der ausführlichen Korrektur dieser hat er mit zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Florian Feist. Sein immer offenes Ohr, seine stetige Hilfsbereitschaft, kompetenten Ratschläge und seine Freude an der Chemie ermöglichten es mir, sehr viel beim Verfassen dieser Arbeit zu lernen und für die Zukunft mitzunehmen.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Durch die großartige Unterstützung während des kompletten Studiums, ihre Toleranz gegenüber allen Problemen und ihr immer offenes Ohr haben sie mir den Weg geebnet. Auch bei Leona Lucas Rodrigues möchte ich mich ganz besonders bedanken. Für die wundervolle Zeit mit ihr, sowohl während des Studiums, als auch außerhalb. Für die zahllosen Unterstützungen, ihr Verständnis und bedingungslose Hilfsbereitschaft. Vielen Dank!

Kurzfassung

Die Entstehung von Photonen durch eine chemische Reaktion – Chemilumineszenz – ist in der aktuellen Forschung aufgrund einer Vielzahl potenzieller Anwendungsmöglichkeiten im Fokus. Heutzutage ist die Verwendung der Chemilumineszenz in der Analytik und Diagnostik in den Vordergrund gerückt. In der vorliegenden Arbeit soll es hingegen um die Nutzung chemilumineszenter Reaktionen als Energiequelle für photochemische Folgeprozesse gehen. Ziel dieser Arbeit ist die Synthese und Analytik eines polymeren Hybrid-Materials, welches chemilumineszente Gruppen und Photosensibilisatoren trägt.

Begründet in der synthetischen Herausforderung, die ein solches Polymer darstellt, ist die Funktionalisierung des Dioxetans bzw. eines *Precursors* zentraler Bestandteil dieser Arbeit.

Zukünftig können chemilumineszente Hybrid-Materialien potenziell in der Tumor-Therapie zur gezielten Freisetzung von Singulett-Sauerstoff und damit zur Apoptose der Krebszellen genutzt werden.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
1 Einleitung und Theorie	1
1.1 Einführung in die Chemie- und Biolumineszenz	1
1.2 Chemielumineszenz.....	3
1.2.1 Bausteine der Chemilumineszenz - Cyclische Peroxide	3
1.2.2 Auslösungsprozess der Chemilumineszenz	4
1.2.3 Der angeregte Zustand – Konkurrenzprozesse zur Chemilumineszenz.....	4
1.3 Photosensibilisator und Förster-Resonanz-Energietransfer (FRET)	6
1.4 Synthese eines Polymers	10
1.4.1 Anionische Polymerisation	10
1.4.2 Anionische Ringöffnungspolymerisation.....	12
1.4.3 Synthese funktioneller Polymere	14
2 Motivation und Zielsetzung	19
3 Ergebnisse und Diskussionen.....	21
3.1 Chemilumineszenter Grundbaustein.....	21
3.1.1 Synthese des 1,2-Dioxetans.....	21
3.1.2 Photooxidation	32
3.1.3 Verbesserung der Quantenausbeute	37
3.2 Chemilumineszentes Polymer	42
3.2.1 Darstellung eines chemilumineszenten Monomers.....	42
3.3 Polymer Postfunktionalisierung	48
3.3.1 Synthese eines funktionalisierten Biopolymers	48
3.3.2 Funktionalisierung eines synthetischen Polymers.....	53
4 Zusammenfassung und Ausblick	59
5 Experimentalteil.....	63
5.1 Allgemeines und Messmethoden.....	63

5.1.1	Chemikalien und Reaktionsführung.....	63
5.1.2	Chromatographie.....	63
5.1.3	NMR-Spektroskopie.....	63
5.1.4	Massenspektrometrie.....	64
5.1.5	Lumineszenz Messungen	64
5.2	Synthese.....	65
5.2.1	Synthese des chemilumineszenten Moleküls	65
5.2.2	Polymersynthese.....	76
5.3	Chemilumineszenz-Messungen	83
	Literaturverzeichnis.....	85
	Abbildungsverzeichnis	88
	Tabellenverzeichnis.....	92
	Spektrenanhang	93

Abkürzungsverzeichnis

Aq	Äquivalente
APCI	<i>Atmospheric pressure chemical ionization</i>
bs	breites Singulett
ca.	circa
CH	Cyclohexan
COSY	Correlated Spectroscopy
°C	Grad Celcius
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DIAD	Diazodicarbonylisopropylester
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDC	3-(Ethyliminomethylenamino)- <i>N,N</i> -dimethylpropan-1-amin
EA	Ethylacetat
et al.	et alii
FRET	Förster Resonanz Energietransfer
g	Gramm
ges.	gesättigt
h	Stunde
HATU	1-[bis(Dimethylamin)methylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol[4,5- <i>b</i>]pyridinium-3-oxid-hexafluorophosphat
HEMA	Metacrylsäurehydroxyethylester
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HR	High Resolution
HAS	Human Serum Albumin

HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
HEG	Hexaethylenglycol
Hz	Hertz
IR	Infrarot
ISC	<i>Inter-System-Crossing</i>
<i>J</i>	Kopplungskonstante
L	Liter
λ	Wellenlänge
μ	Mikro
m	Milli
LDA	Lithiumdiisopropylamin
LM	Lösemittel
Lsg.	Lösung
m	Multiplett
MeOH	Methanol
MLCT	Metall zu Ligand <i>charge transfer</i>
MMA	Metacrylsäuremethylester
MS	Massenspektrometrie
MsCl	Methansulfonsäurechlorid
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
NHS	N-Hydroxysuccinimide
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Ph	Phenyl
ppm	Parts per Million
q	Quartett
quin	Quintett
R	Rest
R_f	Ratio of Fronts
ROS	<i>reactive oxygen species</i> / reactive Sauerstoffspiezies
r.t.	Raumtemperatur
s	Singulett
II	

sept	Septett
t	Triplett
TBAF	Tributylammoniumfluorid
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
UV	Ultraviolett
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung und Theorie

1.1 Einführung in die Chemie- und Biolumineszenz

Die Faszination gegenüber „leuchtenden“ Tieren begleitet uns alle zumeist seit Kindertagen in Form der allseits bekannten Glühwürmchen oder der „leuchtenden Tiefseemonster“. Dabei gibt es eine Vielzahl weiterer biolumineszenter Lebewesen. Heutzutage sind mehr als 2500 Insekten^[1] und 1500 Fische^[2] bekannt, welche Biolumineszenz verwenden. Dabei wird davon ausgegangen, dass eine Vielzahl weiterer Lebewesen, vor allem in der Tiefsee, aber auch Pilze und Bakterien, in der Lage sind Biolumineszenz zu nutzen. Ein Großteil der Biolumineszenz findet im blauen Wellenlängenbereich statt, während andere Wellenlängen selten vorkommen.^{[3],[4]} Die Biolumineszenz in der Tierwelt tritt in unterschiedlichen Funktionen auf. Neben dem Anlocken von Partnern oder Beute (z.B. Anglerfisch), kann die Biolumineszenz auch als Warnung bzw. Abschreckung dienen. Weiterhin fungiert sie, vor allem im maritimen Bereich zur Tarnung.^[5] In Abbildung 1 ist die japanische Feuerfliege „*Luciola cruciata*“ gezeigt, deren Biolumineszenz vermutlich zum Anlocken von Partnern zur Paarung dient.^[6]

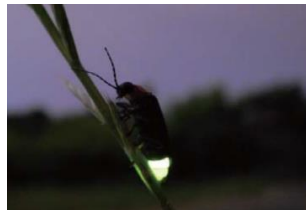


Abbildung 1: Biolumineszenz eines männlichen *Luciola cruciata*.^[6]

Biolumineszenz ist das Resultat einer im Metabolismus ablaufenden chemischen Reaktion, bei der durch Bindungsspaltung ein Molekül im angeregten Zustand entsteht, welches unter Aussendung eines Photons zurück in den elektronischen Grundzustand gelangt. Voraussetzung dafür sind in vielen biologischen Systemen ein Elektronen-Donor- sowie auch ein Elektronen Akzeptor-System.^[7]

Das am häufigsten untersuchte und zumeist herangezogene Beispiel ist das Luciferin-Luciferase-System der nordamerikanischen Feuerfliege.^{[8],[9]} Die entsprechenden Organe entwickeln sich im Verlauf der Ontogenese, also des Heranwachsens, aus Fettkörpern. Diese sind wiederum in zwei unterschiedliche Komponenten aufgeteilt. Zum einen in spezialisierte, lumineszente Schichten, zum anderen in reflektierende Schichten.^[4] Derselbe biochemische Reaktionsmechanismus wird unter anderem auch in Lebewesen wie z.B. den Apfelwürmern oder den Elateriden verwendet^{[7],[10]} und ist nachfolgend dargestellt.

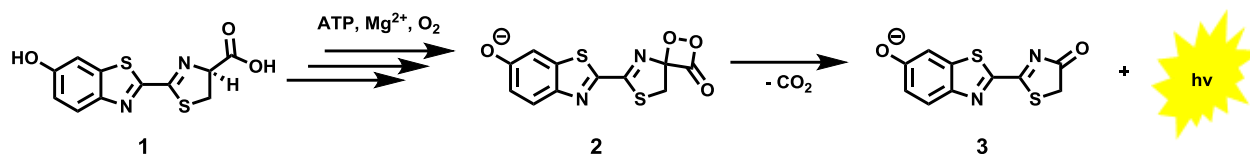


Abbildung 2: Luciferin-Luciferase-Biolumineszenz.^[7]

Durch ATP, Magnesiumionen und Sauerstoff wird die Carbonsäure des Luciferins **1**, katalysiert durch Luciferase, in vier Schritten zum 1,2-Dioxetanon-Derivat **2** umgewandelt. Unter Abspaltung von CO₂ kann anschließend vom entstandenen, angeregtem Oxyluciferin ein Photon emittiert werden, wodurch dieses wieder in den elektronischen Grundzustand **3** gelangt.^[7]

Durch eine rasante Entwicklung in molekularbiologischen Methoden Ende des letzten Jahrhunderts, wie unter anderem der Klonung, stieg die Verfügbarkeit von biologischen Luciferasen deutlich.^[11] Dies ermöglicht die Anwendung der Biolumineszenz in unterschiedlichen Bereichen, wie in der analytischen Chemie,^[12] Biosensorik für Umweltschadstoffe,^[13] Gen-Expression^[14] und im Krebs-Monitoring.^[15]

Durch die Einschränkungen, die das komplexe Luciferin-Luciferase-System im Hinblick auf die Anwendungen bietet, ist es Ziel der aktuellen Forschung, ein synthetisch einfach zugängliches und vielseitiges chemilumineszentes System zu entwickeln. Dabei sollte der Fokus auf Stabilität, Flexibilität und Funktionalität liegen. Ein von Shabat *et al.*^{[16],[17],[18]} weiterentwickeltes Dioxetan kann dabei als Plattform zur Entwicklung eines Systems dienen, welches die oben beschriebenen Bedingungen erfüllt. Dadurch soll ein zukünftiges Ziel zur Anwendung in der Tumor-Therapie durch die Erzeugung von ROS erreicht werden.^[19] Dazu soll ein chemilumineszentes Hybrid-Material entwickelt werden, welches aus mehreren Bausteinen besteht. Auf die unterschiedlichen Bausteine, deren Eigenschaften und Funktionsweisen, sowie die Anforderungen an das System, wird in den folgenden Kapiteln der Theorie eingegangen.

1.2 Chemielumineszenz

1.2.1 Bausteine der Chemilumineszenz - Cyclische Peroxide

In nahezu allen bekannten biologischen und chemischen Systemen, bei denen Chemie- bzw. Biolumineszenz auftritt, werden cyclische Peroxide wie das zuvor in Abbildung 2 gezeigte Luciferin verwendet.^{[3],[7]} Eine der wenigen Ausnahmen für ein chemilumineszentes Molekül, das kein Dioxetan ist, ist das Luminol **4** und seine Derivate.^[20] Aufgrund der großen Relevanz der Dioxetane im Kontext dieser Arbeit wird die folgende Betrachtung der Chemilumineszenz auf die hier gezeigten Dioxetane beschränkt.

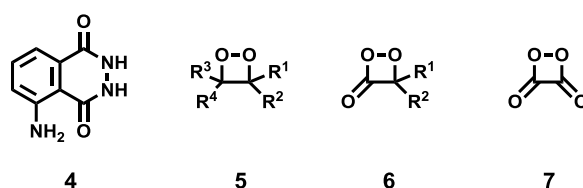


Abbildung 3: Luminol **4**, 1,2-Dioxetan **5**, 1,2-Dioxetanon **6** und 1,2-Dioxetandion **7**.

Dabei kann unter drei verschiedenen Dioxetanklassen unterschieden werden, wie in Abbildung 3 dargestellt ist. Ein besonders interessanter Aspekt in der vorliegenden Arbeit ist die Stabilität der 1,2-Dioxetane **5** in Abhängigkeit der gewählten Substituenten. Durch ihre hohe thermische Stabilität müssen sie im Gegensatz zu den anderen Dioxetanen nicht *in situ* dargestellt werden. Die Emission eines Photons tritt bei allen Dioxetan durch die Peroxid-Bindungsspaltung auf. Aufgrund der Stabilität des gewählten 1,2-Dioxetans wird die Spaltung und die daraus folgende Photonenemission erst durch eine vorangehende chemische Reaktion, dem Auslösungs-Prozess (*Trigger-Prozess*), hervorgerufen. Dieser Prozess ist in Abbildung 5 genauer gezeigt. Ein weiterer Vorteil der 1,2-Dioxane ist deren Substitutionsmuster. Wird ein aromatischer Rest verwendet, ermöglicht dies eine vielseitige Funktionalisierung und dadurch auch ein breites potenzielles Anwendungsspektrum.^{[17],[21],[22]} Die 1,2-Dioxethanone **6**, welche vor allem in der Natur als Biolumineszenzquelle Anwendung finden, wie am vorherigen Beispiel des Luciferins (Abschnitt 1.1, Abbildung 2) gezeigt, haben den entscheidenden Vorteil gegenüber anderen Dioxetanen, dass sie in wenigen biochemischen Schritten reversible Systeme bilden.^[23] Als dritte Klasse sind die aus der Umsetzung von Peroxid mit den entsprechenden Oxalatdiester gewonnenen 1,2-Dioxetandione **7** zu nennen. Sie sind sehr leicht zugänglich, jedoch äußerst labil, weshalb sie *in situ* generiert werden müssen (Abbildung 4).^{[24],[25],[26]}

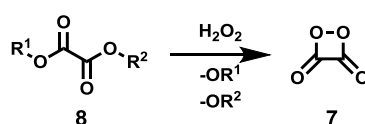


Abbildung 4: Bildung eines Dioxetandions **7** aus einem Oxalatdiester **8**.

1.2.2 Auslösungsprozess der Chemilumineszenz

Die Chemilumineszenz, also die Emission eines Photons durch eine chemische Reaktion, geschieht immer aus einem elektronisch angeregten Zustand. Dieser wird bei Dioxetanen, durch die Spaltung der Peroxid-Bindung, erzeugt. Zum besseren Verständnis des Prozesses wird im Folgenden auf den Mechanismus genauer eingegangen, welcher in Abbildung 5 detailliert dargestellt ist.

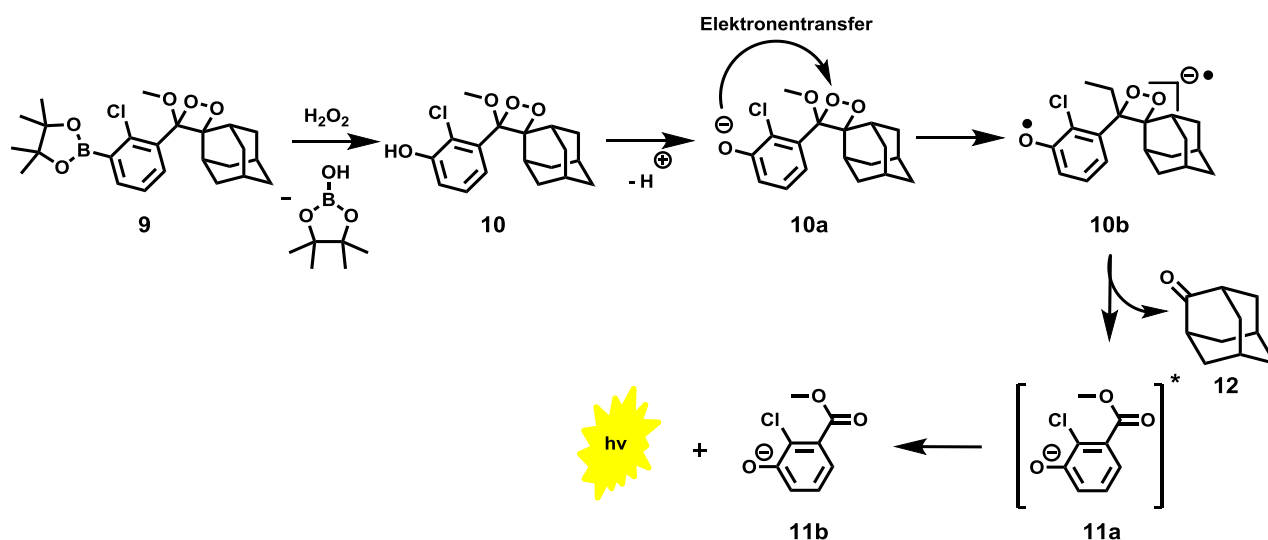


Abbildung 5: Mechanismus der Chemilumineszenz eines 1,2-Dioxetans.^{[27],[28]}

Nach einem literaturbekanntem Mechanismus wird durch die Zugabe von Wasserstoffperoxid aus dem Borsäureester **9** das freie Phenol **10** generiert.^[29] Das Phenol ist durch sein Substitutionsmuster, vor allem durch den Chlorsubstituenten in *ortho*-Stellung, leicht sauer und wird daher schon bei neutralem pH in wässriger Lösung deprotoniert. Über einen Elektronentransfer (*chemically initiated electron-exchange luminescence CIEEL*) des Phenolates **10a** (Elektronen-Donor) zum Dioxetan (Elektronen-Akzeptor) kommt es im Anschluss zur Bindungsspaltung. Es entstehen ein Keton **12** und ein Carbonsäureester **11a**, wobei auf eines der Fragmente, hier vereinfacht dargestellt auf das aromatische System **11a**, die freiwerdende Energie übertragen wird. Das sich somit im angeregten Zustand befindende Fragment kann dann durch die Emission eines Photons in den Grundzustand **11b** gelangen.

1.2.3 Der angeregte Zustand – Konkurrenzprozesse zur Chemilumineszenz

Aus dem angeregten Zustand nach der Spaltung des Dioxetans, welcher im vorherigen Abschnitt 1.2.2 beschrieben wurde, kommt es jedoch nicht immer zur Emission eines Photons. Im angeregten Zustand konkurrieren unterschiedliche Relaxationsprozesse, wobei auf drei besonders relevante nachfolgend eingegangen wird (Abbildung 6).

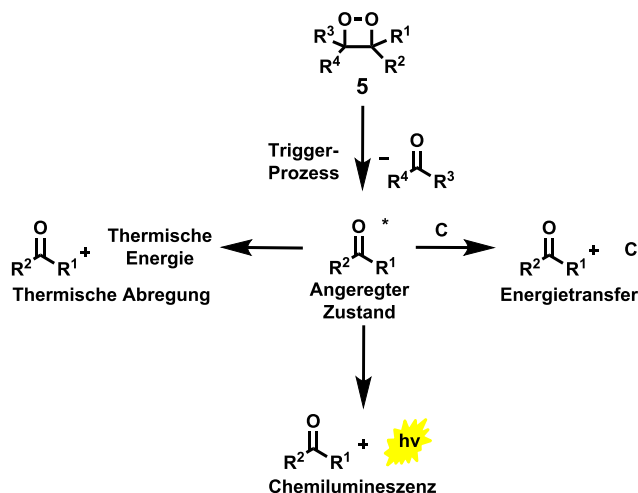


Abbildung 6: Vereinfachtes Schema des Dioxetan Zerfallsprozess nach einer Vorlage von M. Vacher *et al.*^[3]

Wie schon beschrieben ist die Abregung aus dem angeregten Zustand durch die Emission eines Photons die gewünschte Chemilumineszenz. In Konkurrenz dazu stehen jedoch zwei strahlungslose Abregungsprozesse. Zum einen die Abregung durch Schwingungsrelaxation, wodurch die Energie in Form von Wärme an das umgebende Medium abgegeben wird. Zum anderen ist die Energieübertragung auf ein Akzeptor-Molekül in Form eines Energietransfer möglich.^[30] Dabei handelt es sich vermutlich um einen Förster-Resonanz-Energietransfer, worauf in Abschnitt 1.3 genauer eingegangen wird. Weiterhin sind aus dem angeregten Zustand auch Carbonyl-Photoreaktionen als Nebenreaktionen möglich, wie z.B. die Paterno-Büchi-Reaktion ([2 + 2] Cycloaddition)^{[30],[31]} oder C-C-Bindungsspaltungen. Auch intramolekulare photochemische Prozesse können auftreten.^[3]

1.3 Photosensibilisator und Förster-Resonanz-Energietransfer (FRET)

Wie in Abschnitt 1.2.3 beschrieben, kann die bei der Spaltung des Dioxetans freiwerdende Energie bei Anwesenheit eines Akzeptor-Moleküls, wie z.B. eines Chromophors, auf dieses übertragen werden.^[3]

Durch die Verwendung von Photosensibilisatoren als Energietransfer-Akzeptoren in Kombination mit chemilumineszenten Donor-Molekülen können vielversprechende Anwendungen erreicht werden. Als Beispiel ist hier unter anderem die Tumor-Therapie denkbar. Vorherige Arbeiten haben gezeigt, dass Photosensibilisatoren bei Bestrahlung zelltoxischen Singulett-Sauerstoff *in vivo* generieren können.^{[19],[32]} Aufgrund der geringen Reichweite des Lichtes in Zellen ist dieses System in seiner Anwendung jedoch stark eingeschränkt.^[33] Diese Problematik kann durch die Verwendung von chemilumineszenten Molekülen als Energietransfer-Donor gelöst werden.

Photosensibilisatoren, wie z.B. einige Ruthenium-Komplexe, werden durch die Absorption eines Photons bzw. durch Energietransfer vom Grundzustand S_0 in einen energetisch höher liegenden Singulett-Zustand S_1 angeregt. Aus diesem Singulett-Zustand kann durch *Inter-System-Crossing ISC* ein Übergang in den langlebigen Triplett-Zustand T_1 folgen. Dieser Übergang ist spinverboten, wird aber durch ein Metall zu Ligand *charge transfer* 3MLCT begünstigt. Der Prozess ist in Abbildung 7 dargestellt.

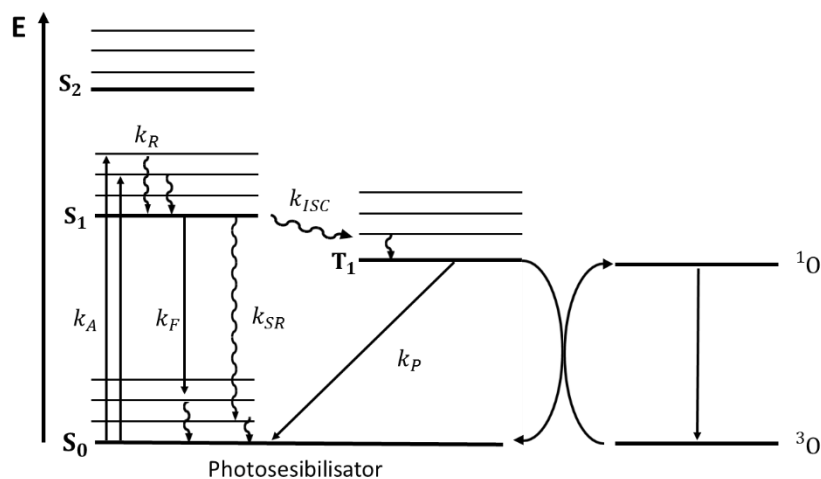


Abbildung 7: Generierung von Singulett-Sauerstoff durch einen Photosensibilisator. Dabei entspricht k_A der Absorption, k_F der Fluoreszenz, k_R und k_{SR} den strahlungsfreien Relaxationsprozessen und k_{ISC} der *Inter-System-Crossing-Rate*.

Im Triplett-Zustand sind Folgereaktionen des Komplexes möglich. So kann z.B. unter Anwesenheit von Triplett-Sauerstoff 3O dieser zu Singulett-Sauerstoff 1O umgewandelt werden, welcher wiederum zu diversen reaktiven Sauerstoff-Spezies (ROS) reagieren kann.

Dadurch gelangt der Photosensibilisator in den Grundzustand zurück. Der entstandene Singulett-Sauerstoff kann wiederum Krebszellen, pathogene Mikroben und unerwünschtes Gewebe durch Apoptose, also den kontrollierten Zelltod, zerstören, wie vorherige Arbeiten zeigen konnten.^{[32],[34]} Der Prozess der Erzeugung von Singulett-Sauerstoff ist in Abbildung 8 schematisch anhand eines Ruthenium-Komplexes dargestellt.

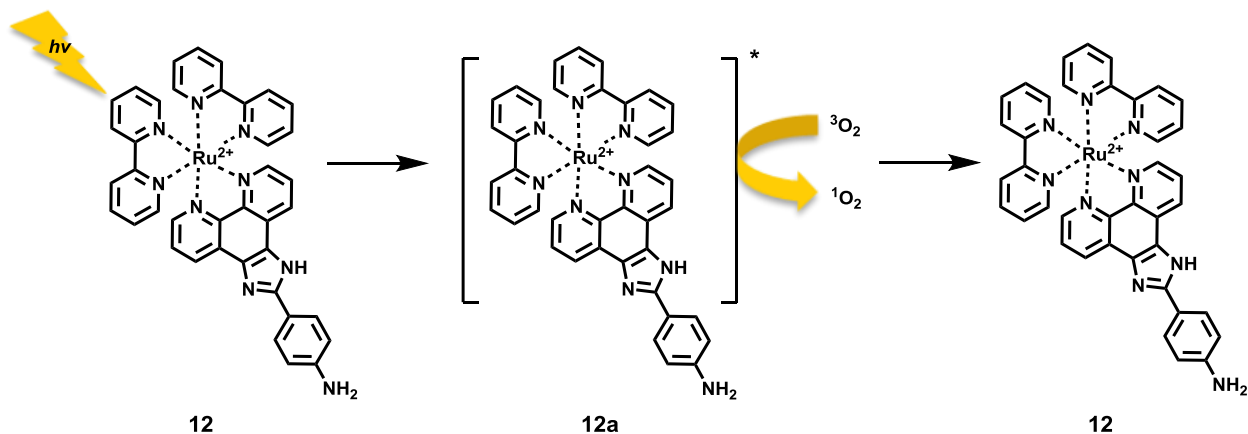


Abbildung 8: Generierung von Singulett-Sauerstoff durch Anregung eines Photosensibilisators mit Licht.

Damit ein Energietransfer stattfindet, müssen einige Bedingungen erfüllt werden. Dazu soll im Folgenden die mathematische Beschreibung des FRET näher betrachtet werden.

Die Rate des Energietransfers k_T zwischen einem Donor (chemilumineszentes Molekül) und einem Akzeptor (Photosensibilisator) ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig. Das Jablonski-Diagramm (Abbildung 9) soll die folgenden Beschreibungen veranschaulichen.

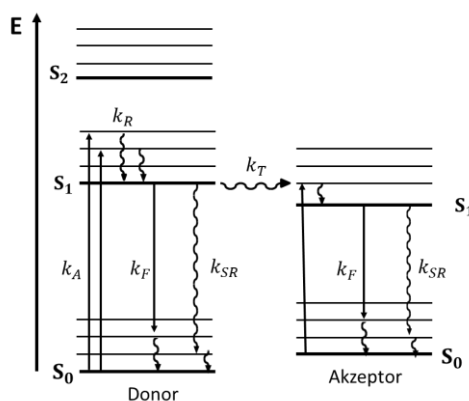


Abbildung 9: Jablonski-Diagramm eines Förster-Resonanz-Energietransfers.

Durch die Absorption eines Photons wird der Donor mit der Rate k_A vom Grundzustand S_0 in einen vibronisch angeregten Zustand des ersten elektronischen Zustands angeregt. Die folgende, strahlungsfreie Relaxation k_R läuft im Bereich von Picosekunden ab, wodurch sie deutlich schneller als die Fluoreszenz ist (Nanosekunden) und das Molekül zunächst in den vibronischen Grundzustand des ersten elektronischen Zustands S_1 gelangt (Kasha-Regel). Im

S_1 -Zustand konkurrieren nun die Fluoreszenz k_F und der Energietransfer k_T , da sie in derselben Zeitskala ablaufen. Läuft ein Energietransfer ab, wird der Akzeptor angeregt, wodurch wiederum der Donor abgeregt wird. Die Anregung des Akzeptors erfolgt in einen vibronisch angeregten Zustand des ersten elektronischen Zustandes S_1 , weshalb wiederum die schnelle Relaxation abläuft. Dies macht den Prozess des Energietransfers irreversibel. Neben dem Energietransfer kann die Abregung auch durch Fluoreszenz und Schwingungsrelaxation mit anschließender Relaxation in den Grundzustand S_0 erfolgen.

Da es sich, wie eben beschrieben, bei der Fluoreszenz und dem Energietransfer um zwei konkurrierende Prozesse handelt, kann durch das Verändern der äußeren Bedingungen das Verhältnis der Prozesse zueinander in die gewünschte Richtung verschoben werden. Auf die Abhängigkeiten des Energietransfers wird mit Gleichung 1 eingegangen.

Neben der Fluoreszenzlebensdauer des Donors τ_D , welche mit der Chemilumineszenzlebensdauer τ_C vergleichbar ist, ist vor allem der Abstand r zwischen Donor und Akzeptor relevant. Der Försterradius R_0 ist definiert als Donor-Akzeptor-Abstand, bei dem 50 % der absorbierten Photonen auf den Akzeptor übertragen werden und ist eine für jedes Molekülpaar spezifische Größe. Unter Beachtung der Kasha-Regel kann davon ausgegangen werden, dass auch hier Chemilumineszenz sowie Fluoreszenz identisch betrachtet werden können, da beide aus dem vibronischem Grundzustand des ersten elektronischen Zustands stattfinden. Übertragen auf das chemilumineszente System bedeutet das, dass 50 % der durch den in Abbildung 5 gezeigten Spaltungsprozess freiwerdenden Energie auf den Akzeptor übertragen wird. Für die Rate des FRET gilt somit folgende Gleichung:^[35]

$$k_t = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (1)$$

Wobei R_0 unter anderem von der Quantenausbeute des Akzeptors, dem Brechungsindex des Mediums, sowie dem Orientierungsfaktor κ abhängt. Letzterer beschreibt die Lage der beiden Übergangsdipolmomente von Akzeptor und Donor zueinander. Nur bei parallel zueinander ausgerichteten Übergangsdipolmomenten findet ein optimaler Übertrag statt. Je weiter die Orientierungen voneinander abweichen, desto geringer der mögliche Übertrag.^{[35],[36]} Damit ein Energietransfer ablaufen kann, müssen zudem das Emissionsspektrum des Donors mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors zu mindestens 30% überlappen.^[37]

Wie aus Gleichung 1 sichtbar und in Abbildung 10 schematisch dargestellt, ist der Energietransfer stark abhängig vom Donor-Akzeptor-Abstand ($\sim \frac{1}{r^6}$). Für den Försterradius ergeben sich meistens Abstände, die im Bereich von 3-6 nm liegen.^[37]

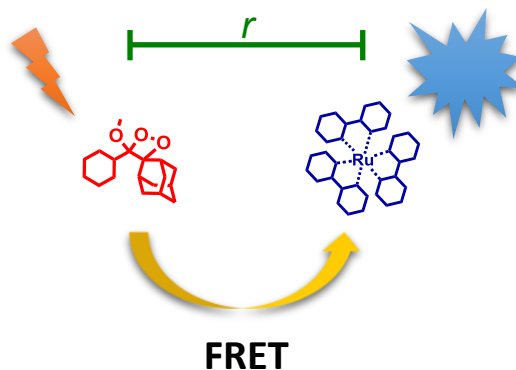


Abbildung 10: Abstandsabhängigkeit des Energietransfers.

Liegen die Moleküle in Lösung vor, muss für kurze Donor-Akzeptor-Abstände und eine daraus resultierende hohe Wahrscheinlichkeit des Energietransfers somit mindestens eine der Komponenten in hoher Konzentration vorliegen. Dies stellt ein Problem für Anwendungen, beispielsweise in Zellen, dar, da dort selten ausreichend hohe Konzentrationen erreicht werden können. Damit der Energietransfer auch bei geringen Konzentrationen stattfinden kann, besteht die Möglichkeit Donor- und Akzeptor-Molekül über chemische Bindungen miteinander zu verknüpfen. Dies kann z.B. durch ein mit beiden Gruppen funktionalisiertes Polymer geschehen (Abbildung 11).

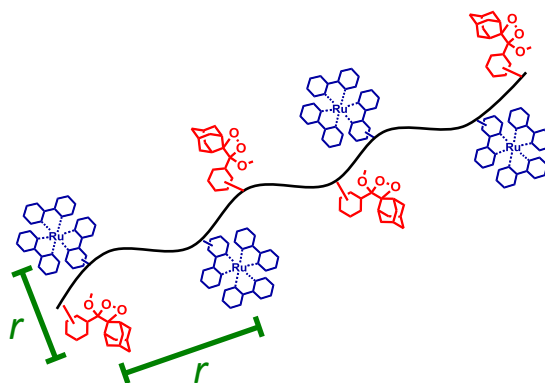


Abbildung 11: Fixierung der Donor-Akzeptor-Abstände am Polymer.

Aus dem Försterradius von wenigen Nanometern ergibt sich die Notwendigkeit den Abstand der funktionellen Gruppen in der Polymerkette entsprechend zu wählen. In einem statistischen Copolymer kann der Abstand beispielsweise durch den Anteil eines funktionalen Comonomers beeinflusst werden. Auch dynamische Effekte wie Polymerfaltung oder Diffusion, welche stark vom Lösungsmittel und der Temperatur abhängen, können den mittleren Abstand des Förster-

Paares beeinflussen. Dabei sind viele Beispiele bekannt, in denen durch das Design von amphiphilen Polymeren eine Assemblierung^{[38],[39]} oder Mizellenbildung^[40] der Donor- und Akzeptor-Gruppen hervorgerufen wird. Der resultierende kurze Abstand sollte zu hohen FRET-Ausbeuten führen.

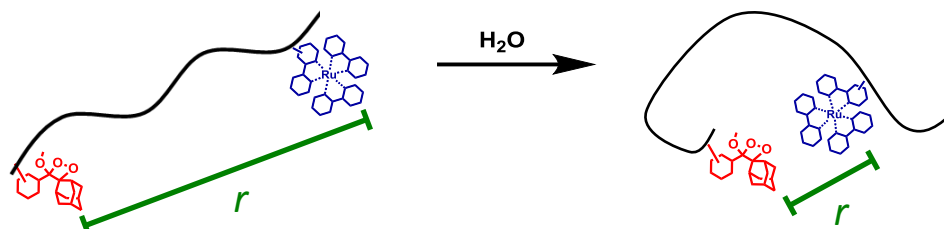


Abbildung 12: Amphiphiles Polymer führt in Wasser zur Polymerfaltung und damit zu kürzeren Donor-Akzeptor Abständen.

1.4 Synthese eines Polymers

Mit dem Hintergrund, dass ein chemilumineszentes Hybrid-Material dargestellt werden soll, welches den in Abschnitt 1.3 beschriebenen Energietransfer zwischen chemilumineszenten Molekül und Photosensibilisator ermöglicht, wird im folgenden Kapitel genauer auf die Synthese eines funktionellen Polymers eingegangen. Dabei werden die unterschiedlichen synthetischen Möglichkeiten, wie Monomersynthese und Polymerisierungstechniken, sowie Postfunktionalisierung in Bezug auf ihre Herausforderungen, Bedingungen und Limitationen genauer beschrieben.

1.4.1 Anionische Polymerisation

Die anionische Polymerisation unterscheidet sich, ähnlich wie die kationische, grundlegend von der radikalischen Polymerisation in Hinblick auf den Reaktionsmechanismus, die Reaktionsführung, sowie resultierende Kettenlängen und Dispersität. Die propagierende Spezies trägt eine negativ geladene reaktive Funktionalität am Kettenende, wie z.B. ein Alkoholat, Carbanion oder Sulfid-Ion. Durch die negative Ladung stoßen sich somit zwei aktive Kettenenden gegenseitig ab, was zur Folge hat, dass Terminierungsreaktionen durch Radikal-Radikal Rekombination oder Disproportionierung, wie sie in der radikalischen Polymerisation auftreten können, hier keine Rolle spielen. Aufgrund dessen ist es in der anionischen Polymerisation möglich einen PDI von unter 1,1 zu erhalten.^[41] Schon früh wurde zudem von

Szwarc *et al.* in „«Living» polymers“ (1956)^[42] der „lebende Charakter“ dieser Polymerisation entdeckt und beschrieben. Lebend bedeutet hier, dass unter idealen Bedingungen, aufgrund der fehlenden Terminierungsreaktionen, bei vollem Monomerumsatz alle Kettenenden noch aktiv sind. Durch die Zugabe eines weiteren Monomers kann die Polymerisation weitergeführt werden – die Polymerisation „lebt“ noch. Erst durch die Zugabe von Kettenabbruchreagenzien, wie z.B. im Mechanismus in Abbildung 13 gezeigt die Protonierung der propagierenden Ketten durch die Zugabe einer Säure, wird die Polymerisation beendet.

Verwendung finden vor allem Vinylverbindungen, wobei die entstehenden Anionen durch Mesomerie stabilisiert sind. Als Beispiele für Monomere sind hier Acrylester,^[43] Butadien^[44] und Styrol^[45] zu nennen. Je nach Acidität des Monomers muss ein passender Initiator gewählt werden. Für wenig saure Monomere wie Styrol oder Butadien werden daher starken Basen wie Organometallverbindungen, insbesondere Lithiumamide, oder Natrium verwendet.^{[45],[44]} Das schränkt die Verwendbarkeit der anionischen Polymerisation stark ein, da einige funktionelle Gruppen nicht stabil gegen diese stark basischen Bedingungen sind. Aufgrund fehlender Terminierungen und des linearen Kettenwachstums kann durch die Wahl der Monomer- zu Initiator-Konzentration $[M]/[I]$ und der gezielten, gleichzeitigen Terminierung in der anionischen Polymerisation die Kettenlänge leicht kontrolliert und den Bedürfnissen angepasst werden. Als Beispiel ist im Folgenden die anionische Polymerisation von Styrol gezeigt (Abbildung 13).^[46]

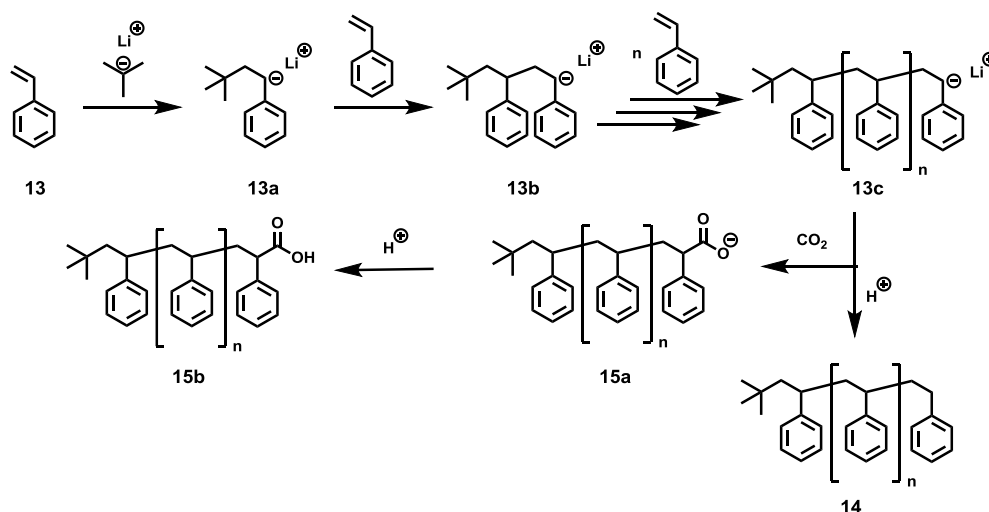


Abbildung 13: Mechanismus der anionischen Polymerisation von Styrol **13**.^[46]

Das im ersten Schritt durch Addition des Initiators *tert*-Butyllithium an Styrol gebildete Carbanion **13a** ist stark nukleophil und greift den leicht elektrophilen Methylenkohlenstoff eines weiteren Styrols an. Es entsteht ein neues Anion **13b**, welches im nächsten Schritt wieder

Styrol angreifen kann. Durch die Zugabe eines Protonendonors, wie z.B. Wasser oder einer Säure, wird das Anion protoniert und die Polymerisation beendet **14**.

Der lebende Charakter der Kette ermöglicht jedoch eine weitere, interessante Möglichkeit der Funktionalisierung. Durch die Zugabe eines Elektrophils kann die Polymerisation beendet und zusätzlich das Kettenende mit einer hohen Endgruppentreue^[47] funktionalisiert werden. Ein gutes Beispiel ist CO₂, wie in Abbildung 13 gezeigt. Durch die Zugabe von CO₂ kann die Polymerkette mit einer Carbonsäure als Endgruppe modifiziert werden. Das entstandene Carboxylat (**15a**) wiederum ist nicht nukleophil genug, um mit einem weiteren Monomer zu reagieren, weshalb auch hier die Polymerisation beendet wird. Dabei sind auch andere Endgruppen einführbar. Bedingung dafür ist eine elektrophile Funktionalität, welche mit dem Anion der Kette reagieren kann.^[48]

Auf die Wahl des Lösungsmittels ist für die anionische Polymerisation besonders zu achten. Häufig findet THF Verwendung, aber auch aliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe können verwendet werden. Stabilität gegen starke Nucleophile ist notwendig. Halogenierte Lösungsmittel wie Dichlormethan oder Chloroform können z.B. zu Kettenabbrüchen führen und sollten daher nicht verwendet werden. Spuren von Wasser, Sauerstoff oder CO₂ müssen ebenfalls vermieden werden.^[46]

1.4.2 Anionische Ringöffnungspolymerisation

Wie im vorherigen Abschnitt 1.4.1 beschrieben und in Abbildung 13 gezeigt, bedarf es für viele vinyliche Monomere sehr starke Basen zur Initiierung der Polymerisation. Anionische Ringöffnungspolymerisationen können hingegen in der Regel bei mildereren Bedingungen geführt werden, da hier die propagierende Gruppe zumeist kein Carbanion, sondern ein anionisches Heteroatom ist, welche erheblich unreaktiver als Carbanionen sind. So wird zum Beispiel in dem im folgenden gezeigten Mechanismus der Ringöffnungspolymerisation (Abbildung 14) Propargylalkohol als Initiator eingesetzt. Dabei wird DBU als nukleophiler Katalysator verwendet. Dieser kann sowohl als Base zur Deprotonierung des Initiators dienen oder zur Öffnung des cyclischen Carbonat über ein instabiles Amid, welches wiederum durch den Alkohol substituiert wird.^{[41],[49]}

Für Ringöffnungspolymerisationen häufig verwendete Monomere sind Lactone,^[50] Lactame^[51] und cyclische Carbonate. Polycarbonate haben aufgrund ihrer Polarität und der daraus folgenden Wasserlöslichkeit ein breites potenzielles Anwendungsspektrum im Hinblick auf

ihre Biokompatibilität^[52] und Bioabbaubarkeit.^[53] Eine anionische Ringöffnungspolymerisation eines cyclischen Carbonates mit einem Lactid als Comonomer ist nachfolgend gezeigt.^[41]

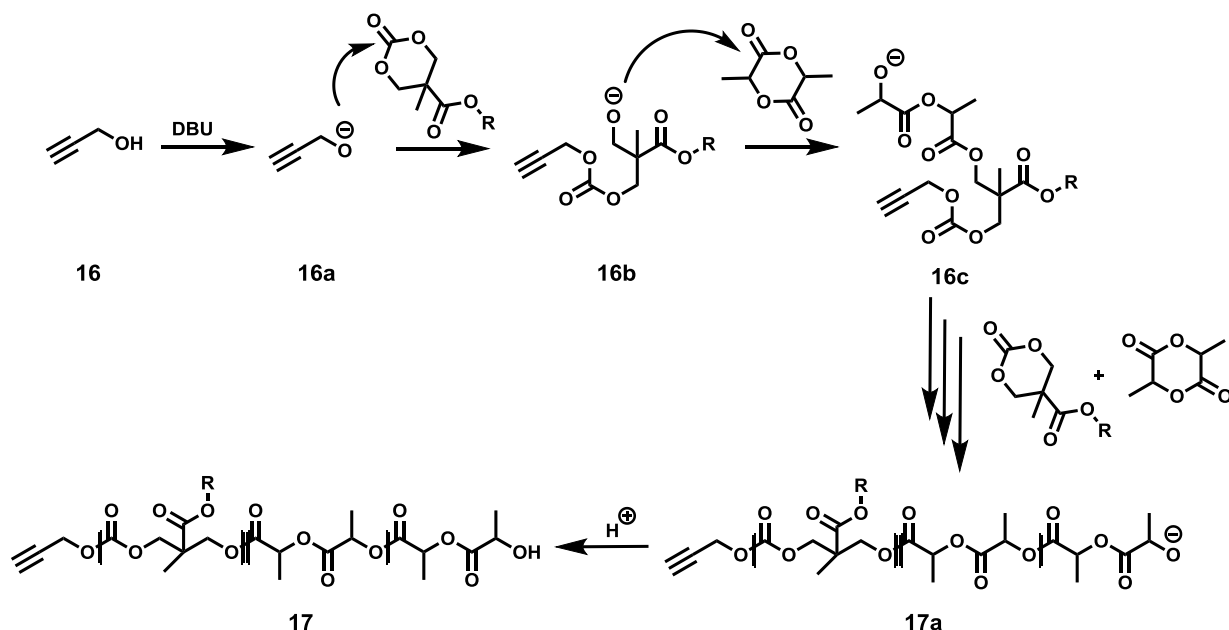


Abbildung 14: Vereinfachter Mechanismus einer anionischen Ringöffnungspolymerisation.

Der aktivierte Initiator **16a** greift im ersten Schritt den stark elektrophilen Carbonatkohlenstoff nukleophil an. Dies führt zur Ringöffnung und Entstehung eines neuen Alkoholates **16b**, welcher wiederum den Carbonylkohlenstoff des Comonomers nukleophil angreifen kann. In der Folge bildet sich ein Polymer **17a**, dessen propagierende Kette erst durch die Zugabe eines Protons deaktiviert wird. Das verwendete Comonomer kann dabei die Eigenschaften des Polymers wie z.B. Löslichkeit positiv beeinflussen.

Neben sterisch gehinderten Aminobasen können auch andere Katalysatoren wie Metallkatalysatoren^[54], Lewis-Paare^[55] oder organische Katalysatoren wie Thioharnstoffe^[56] verwendet werden. In Abbildung 15 ist ein Derivat des Thioharnstoffes als organischer Katalysator dargestellt.

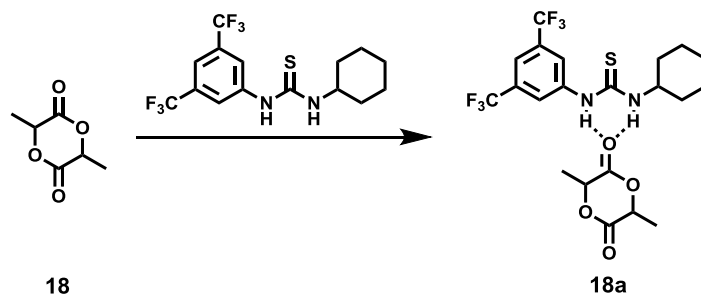


Abbildung 15: Organische Katalyse der ROP durch Aktivierung des Esters.^[56]

Die katalytische Wirkung beruht auf den Protonen der Thioharnstoffe. Über Wasserstoffbrücken chelatisieren diese den Carboxylsauerstoff des Ringes und aktivieren diesen (**18a**). Dies erhöht die Elektrophilie des Carbonylkohlenstoffes und führt somit zum bevorzugten nukleophilen Angriff der propagierenden Kette. Die Verwendung von Katalysatoren erhöht somit die Selektivität der Reaktion und verhindert dadurch ungewünschte intra- oder intermolekulare Umesterungen. Dadurch sind höhere Molekulargewichte und geringere PDI's möglich.^{[57],[55]}

1.4.3 Synthese funktioneller Polymere

Um ein funktionales Polymer zu synthetisieren gibt es zwei unterschiedliche Routen, zum einen besteht die Möglichkeit das Monomer vor der Polymerisation zu funktionalisieren, zum anderen können Polymere postfunktionalisiert werden, wenn nach der Polymerisation entsprechende funktionelle Gruppen in der Wiederholeinheit vorhanden sind. Dabei bietet die direkte Funktionalisierung des Monomers einige Vorteile und ermöglicht eine flexible Verwendung. So kann neben dem funktionalisierten Monomer ein Comonomer mit variabler Stöchiometrie eingeführt werden. Dies ermöglicht die Darstellung von Block-Copolymeren, Gradient-Copolymeren, streng alternierenden Copolymeren oder periodischen Copolymeren. Somit kann Einfluss auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Polymers genommen werden. Zusätzlich kann über ein funktionalisiertes Monomer das vollständig funktionalisierte Polymer erhalten werden. Nachteilig an einer Monomerfunktionalisierung ist jedoch, dass die gebundene funktionelle Gruppe stabil gegen die Reaktionsbedingungen während der Polymerisation und der Aufarbeitung sein muss. Des Weiteren ist die am Monomer mögliche Chemie stark eingeschränkt, da es sich zumeist um reaktive Gruppen handelt, welche Instabilitäten gegen Hitze oder Nukleo- bzw. Elektrophile aufweisen. Auch die Reinheit der Monomere muss hoch sein, um bei der Polymerisation störende Faktoren ausschließen zu können, welche zu Kettenabbrüchen und somit höheren Dispersitäten führen könnten. Die Aufreinigung der labilen Monomere ist dabei häufig nicht trivial.

Bei der Postfunktionalisierung von Polymeren werden funktionelle Gruppen am Polymer über Reaktionen, welche meistens sehr hohe Ausbeuten liefern, mit dem Zielmolekül umgesetzt um einen hohen Funktionalisierungsgrad zu erreichen. Dies ermöglicht auch den Zugang zu funktionalisierten Biopolymeren. Beispielhaft sind im Folgenden vier für diese Arbeit relevante Seitengruppen und deren Postfunktionalisierung dargestellt.

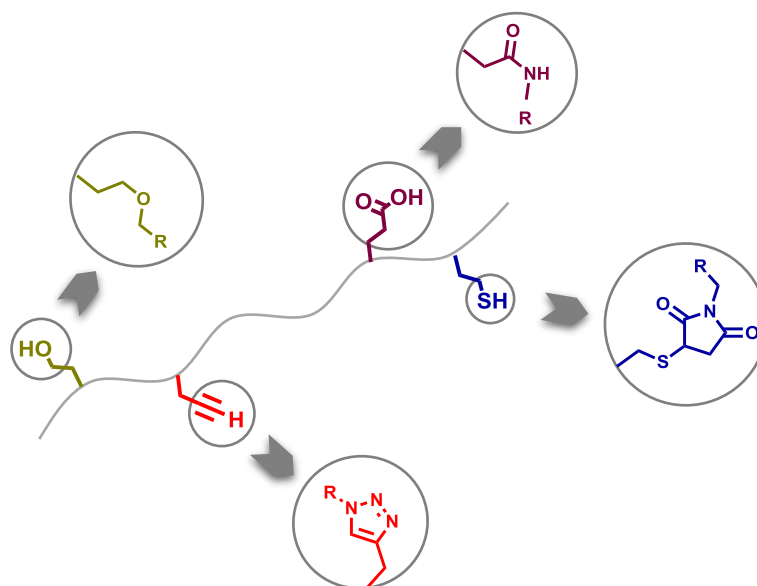


Abbildung 16: Funktionelle Gruppen am Polymer die zur Postfunktionalisierung verwendet werden können.

Die Postfunktionalisierung von Polymeren bietet den Vorteil, dass auf eine große Auswahl an Polymerisationstechniken sowie kommerziell erhältlichen Monomeren zurückgegriffen werden kann. Die Bedingungen für die Synthese sowie Analyse der Polymere sind häufig literaturbekannt. Viele Reaktionen liefern jedoch nicht vollständige Funktionalisierung bzw. bedarf es eines großen Überschusses der funktionalen Gruppe für eine vollständige Funktionalisierung. Bei der Postfunktionalisierung können bei zu hoher Dichte an funktionellen Gruppen zusätzlich sterische Probleme auftreten, welche eine vollständige Funktionalisierung erschweren können. Freie funktionelle Gruppen verändern die physikalischen Eigenschaften des Polymers, wie z.B. die Löslichkeit und können störend bei der weiteren Funktionalisierung des Polymers wirken. So können z.B. freie Carbonsäuren den pH-Wert in Lösung beeinflussen und somit zu Nebenreaktion mit dem säurelabilen Enoether führen, welcher in dieser Arbeit verwendet wird. Um ein Polymer nahezu vollständig zu Funktionalisieren ist zudem ein großer Überschuss von Kupplungsreagenz und funktionellem Molekül notwendig, was bei der häufig begrenzteren Verfügbarkeit ein großer Nachteil ist. Im nachfolgenden Abschnitt soll auf die in Abbildung 16 gezeigten Funktionalisierungen genauer eingegangen werden.

Die 1,3-dipolare Cycloaddition nach Huisgens (Alkin-Azid-Klick Chemie) ist eine häufig verwendete Möglichkeit der Postfunktionalisierung. Die Umsetzung eines terminalen Alkins **20** mit einem Azid **19** wird in Abbildung 17 dargestellt.^[58]

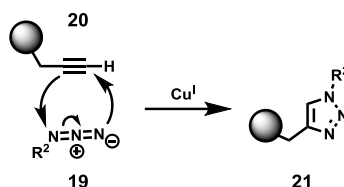


Abbildung 17: Kupferkatalysierte Alkin-Azid-Klick Chemie.

Das entstehende 1,2,3-Triazol **21** weist durch die Zugabe von Kupfer (I) und die daraus resultierende Aktivierung der terminalen Position eine hohe Regioselektivität zum 1,4-Adukt auf, das 1,5-Adukt tritt kaum auf.^[59] Durch die hohen Umsätze, der Toleranz von vielen funktionellen Gruppen und diversen Lösungsmitteln, sowie die milden Reaktionstemperaturen von 20-70 °C, bietet die Klick-Chemie auch am Polymer optimale Rahmenbedingungen.^[60]

Nachteilig ist die Verwendung von Kupfer zu nennen, welches häufig nur schwer aus dem Reaktionsprodukt zu entfernen ist. Die Alternative, kupferfreie ringspannungsinduzierte 1,3-dipolae Cycloaddition liefert ähnlich gute Umsätze und bietet sich daher für biologische Proben an. Jedoch ist sie synthetisch aufgrund der notwendigen 8-Ringe limitiert.^[61]

Eine für diese Arbeit relevante Limitation dieser Reaktion ist zusätzlich die Labilität der Edukte, als auch des entstehenden Triazols gegenüber Singulett-Sauerstoff.

Die Maleimid-Thiol-Michael-Addition findet vor allem bei biologischen Polymeren an der freien Thiol-Gruppe des Cysteins,^{[62],[63]} aber auch an den Thiolen denaturierter Disulfid-Brücken^[64] Verwendung. Auch an synthetischen Polymeren können freie Thiole generiert werden oder Monomere mit Maleimiden funktionalisiert sein.^[65] Die Reaktion ist in Abbildung 18 gezeigt.

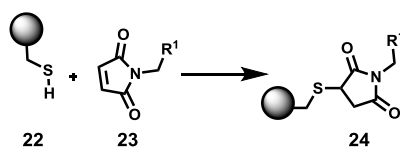


Abbildung 18: Thiol-Maleimid-Chemie.

Um Maleimide zu polymerisieren, können diese zuvor über eine Diels-Alder-Cycloaddition mit Furan geschützt und anschließend polymerisiert werden.^[66] Im Gegensatz zur kupferkatalysierten Alkin-Azid-Klick-Chemie kann diese Reaktion ohne Metallkatalyse hohe Ausbeuten liefern, was für biologische Systeme unabdingbar ist.^[62] Limitiert wird sie andererseits durch die möglichen Nebenreaktionen am Maleimid **23**. Diese können mit Nucleophilen, wie primären oder sekundären Aminen, entstehen. Weiterhin muss das Maleimid für einen nahezu quantitativen Umsatz bei der Funktionalisierung von Biopolymeren in sehr großen Überschüssen zugegeben werden, was die Verwendbarkeit limitiert.^[63]

Eine weitere Methode, die häufig zur Postfunktionalisierung von biologischen und synthetischen Polymeren Verwendung findet, ist die Amidierung. Dabei kann die freie Carbonsäure **25**, **29** durch ein Kupplungsreagenz wie DCC, EDC oder HBTU aktiviert und anschließend mit einem Amin **26**, **28** umgesetzt werden. Alternativ kann ein metastabiler Aktivester, wie der Pentafluorphenol- oder NHS-Ester, verwendet werden, der anschließend mit dem Amin umgesetzt wird.^{[67],[68],[69]}

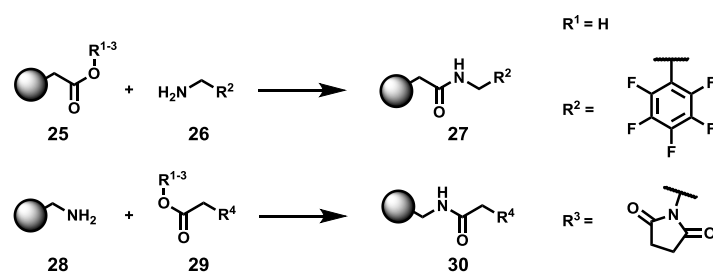


Abbildung 19: Amidierung einer Säure oder eines Aktivesters mit einem freien Amin.

Wie in Abbildung 19 gezeigt, kann sich hier sowohl das Amin als auch die Carbonyl-Komponente am Polymer befinden. Auch hier muss für eine hohe Funktionalisierung die Amin- (oben) bzw. Carbonyl-Komponente (unten), sowie, falls benötigt, das Kupplungsreagenz in großem Überschuss hinzugegeben werden. Auch Nebenreaktionen mit anderen funktionellen Gruppen, wie Alkoholen sind hier möglich, was eine Limitierung auf bestimmte Polymere zur Folge hat.

Carbonsäuren, aber auch primäre Alkohole, können zusätzlich durch die Mitsunobu-Reaktion am Polymer zum entsprechenden Ester oder Ether umgesetzt werden (Abbildung 20).^{[70],[71]}

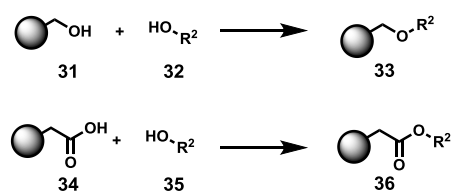


Abbildung 20: Mitsunobu-Reaktion von Benzylalkoholen oder Carbonsäuren mit Alkoholen.

Bei der Mitsunobu-Reaktion werden als Kupplungsreagenz eine Diazo-Komponente (z.B. DIAD, 4,4-Azopyridin, Azobis-(*N,N*-dimethylformamid)), sowie ein Phosphin (z.B. Trimethyl-, Triethyl- oder Triphenylphosphin) verwendet. Dadurch wird ein direkter Zugang zu Alkyl-Aryl-Ethern **33**, sowie zu diversen Estern **36** ermöglicht. Die Mitsunobu-Reaktion läuft bei sehr milden Reaktionsbedingungen und Raumtemperatur ab und ist orthogonal gegenüber vielen funktionellen Gruppen. Einzig basenlabile Verbindungen oder starke Nucleophile, welche ebenfalls in der Mitsunobu umgesetzt werden können, sind nicht toleriert.

Bei der Reaktion werden stöchiometrische Mengen an Kupplungsreagenzien benötigt. Die Entfernung dieser ist am kleinen Molekül oftmals schwierig, im Fall von Polymeren können diese durch Fällung oder Dialyse jedoch häufig leichter abgetrennt werden.

Nachteilig ist des Weiteren, dass die richtigen Reaktionsbedingungen und Reagenzien für hohe Ausbeuten üblicherweise durch Vorversuche gefunden werden müssen.^[72]

2 Motivation und Zielsetzung

Im Rahmen dieser Masterarbeit war es das Ziel, ein chemilumineszentes Hybrid-Material darzustellen. Dieses Hybrid-Material sollte dabei aus drei Bausteinen bestehen. Zum einen aus einem Polymer-Rückgrat, welches sowohl aus synthetischen, als auch aus biologischen Polymeren bestehen kann. Zum anderen sollte dieses Polymer mit einem chemilumineszente Molekül funktionalisiert sein, welches als Energiequelle dienen soll. Der dritte Baustein soll eine Funktionalität besitzen, welche wiederum die entsandte Energie verwenden kann. Besonderes Augenmerk soll dabei auf Chromophore in Form von Photosensibilisatoren gelegt werden.

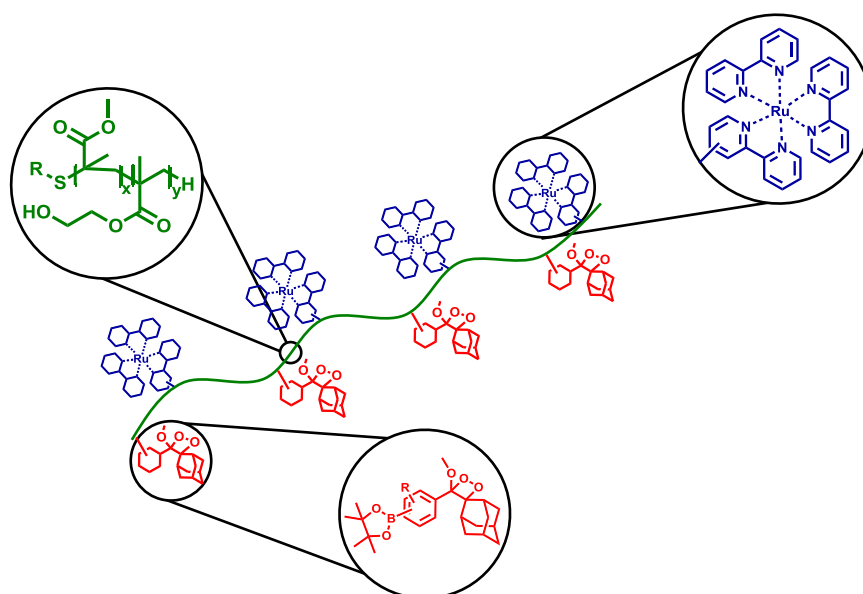


Abbildung 21: Komposition eines chemilumineszenten Hybrid-Materials.

Grundvoraussetzung ist hierfür die einfache Zugänglichkeit und Skalierbarkeit der Synthese des chemilumineszenten Moleküls, da es, wie in der Theorie 1.4.3 beschrieben, bei Postfunktionalisierungen an Polymeren, sowie auch an Proteinen, eines großen Überschusses an dem Molekül bedarf. Auf Basis dessen befasst sich der erste Teil dieser Arbeit mit dem *up-scaling* einer in der Weil-Gruppe gezeigten Syntheseroute.^[19] Dies soll das chemilumineszente Molekül verfügbar machen und dadurch die Analyse der Dioxetan-Bildung und der Auslösung der Chemilumineszenz ermöglichen, welche zuvor nur schwer zu interpretierende Ergebnisse lieferte.^[19] Eine gute Ausbeute bei der Dioxetan-Bildung, sowie die Isolierung des Produkts ist für die weitere Verwendung dringend notwendig. Die Bildung des Dioxetans **38** durch eine Photooxidation und die Auslösung der Chemilumineszenz ist in Abbildung 22 gezeigt.

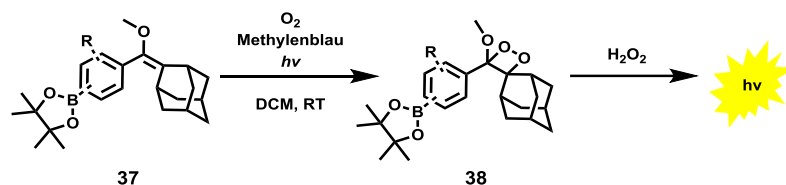


Abbildung 22: Bildung des Dioxetans durch Oxidation mit Singulett-Sauerstoff sowie anschließende Auslösung der Chemilumineszenz.

Für einen breiten Anwendungsbereich, den die Plattform der Chemilumineszenz bieten kann, ist es zusätzlich notwendig ein möglichst flexibles Molekül zugänglich zu machen. Dies beinhaltet eine möglichst hohe Quantenausbeute sowie die einfache Möglichkeit der Postfunktionalisierung des Moleküls. Dazu sollte im Rahmen dieser Arbeit ein Derivat des chemilumineszenten Moleküls entworfen werden, welches diese Bedingungen erfüllt.

Als mögliche Anwendung des chemilumineszenten Hybrid-Material ist die Krebstherapie denkbar, da ein Photosensibilisator durch die Energie eines Photons aus Triplett-Sauerstoff Singulett-Sauerstoff generieren kann, welcher wiederum zur Zerstörung von Zellen führt.^[32]

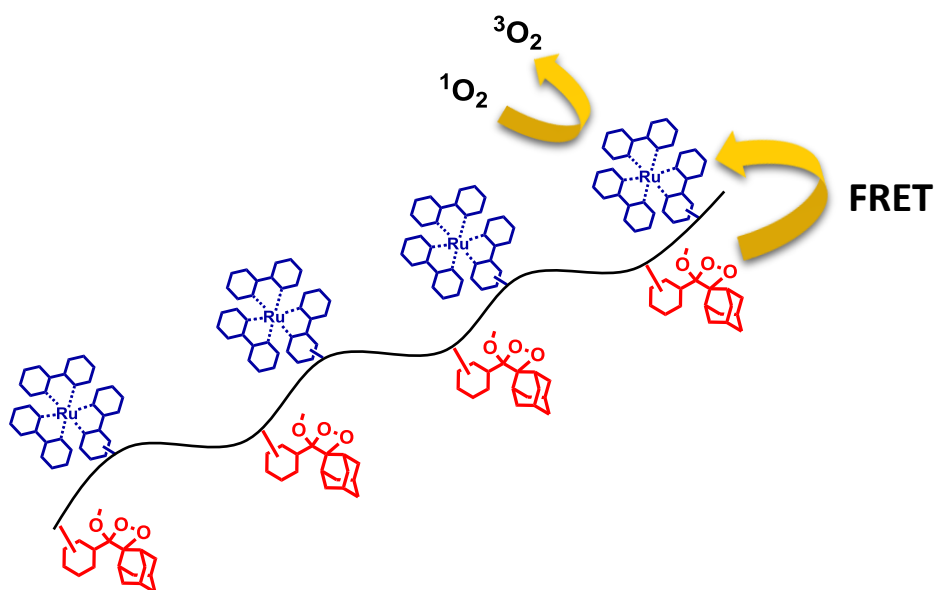


Abbildung 23: Produktion von Singulett-Sauerstoff durch Energietransfer des chemilumineszenten Moleküls am Polymer zu einem Photosensibilisator.

3 Ergebnisse und Diskussionen

3.1 Chemilumineszenter Grundbaustein

3.1.1 Synthese des 1,2-Dioxetans

3.1.1.1 Gewählte Syntheseroute

Nachdem vorherige Arbeiten in der Weil Gruppe^[19] eine Syntheseroute für den Grundbaustein des chemilumineszenten Moleküls **46** erfolgreich etablieren konnten, war es zu Beginn dieser Arbeit zunächst das Ziel diese Route zu reproduzieren, den Maßstab der Synthese zu vergrößern und das Molekül somit verfügbar zu machen. Die Syntheseroute, welche zu den reinen Zielverbindungen geführt hat, ist nachfolgend dargestellt.

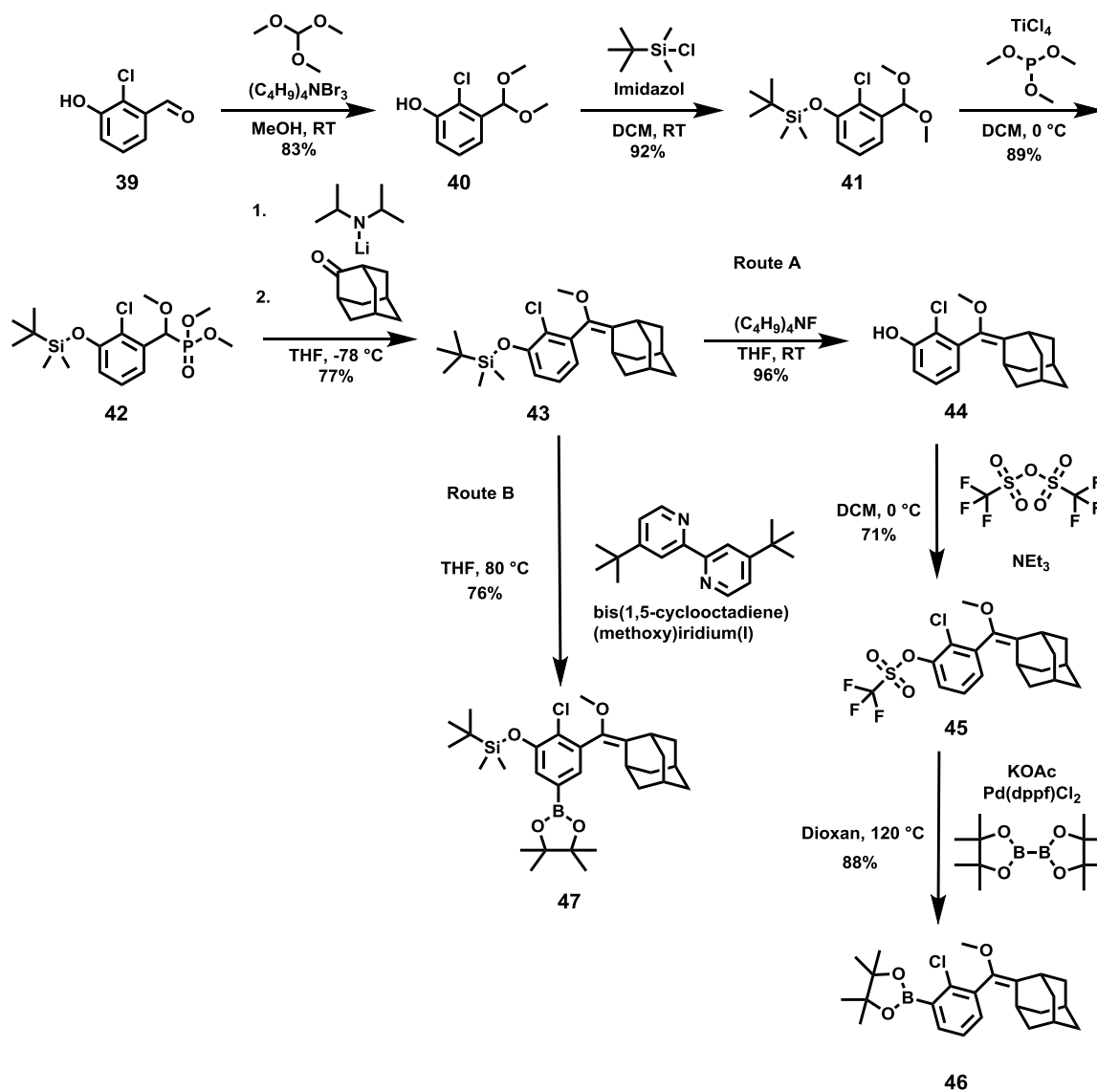


Abbildung 24: Syntheschema der Dioxetan-Vorstufen, welche zu reinen Produkten führten.

Wie in der Motivation und Zielsetzung (Abschnitt 2) beschrieben, sollte die größere Verfügbarkeit des Grundbausteins eine bessere Zugänglichkeit zum in Abbildung 22 dargestellten, durch eine Oxidation mit Singulett-Sauerstoff gebildeten 1,2-Dioxetan erreicht werden. Dadurch sollten die folgende Isolierung und Analyse des Oxidationsprodukts ermöglicht werden, was zuvor nicht gelungen war. Eine Optimierung der Ausbeuten dieser Stufe und die Isolierung des reinen 1,2-Dioxetans ist daher dringend notwendig. Zum einen, um die physikalischen Daten wie Quantenausbeute und Emissionswellenlänge bestimmen zu können, zum anderen um die spätere Verwendung des Moleküls zu ermöglichen.

Zusätzlich sollte die bessere Verfügbarkeit es ermöglichen, eine Syntheseweg zur Funktionalisierung des Moleküls zu finden, um dieses, wie in Abbildung 21 schematisch gezeigt, an ein Polymer zu knüpfen.

Aus Abbildung 24 wird sichtbar, dass zwei unterschiedliche Zielmoleküle durch zwei verschiedene Routen zugänglich sind. Dabei wurde zunächst Route A zu Molekül **46** verfolgt, wobei hier nur eine Funktionalisierung über den gebildeten *ortho*-Borsäureester durch eine Umesterung möglich ist. Daher sollte in dieser Arbeit ein besonderes Augenmerk auf das in Route B gezeigte Derivat **47** gelegt werden. Eine geringere Anzahl an Stufen bis zum Endprodukt, sowie die Möglichkeit einer Funktionalisierung über die Phenolgruppe sind die zwei großen Vorteile dieses Derivates.

3.1.1.2 Synthese der Zielmoleküle

Ausgehend von 2-Chlor-3-hydroxybenzaldehyd **39** wurde zunächst durch Trimethylorthoformat **48** das entsprechende Acetal **40** gebildet.

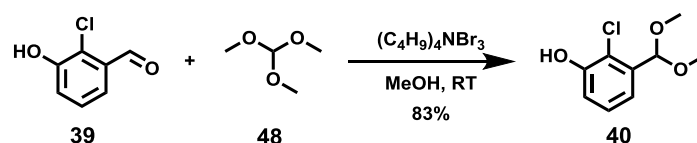


Abbildung 25: Bildung des Acetals **40** durch Trimethylorthoformat.

Dabei wurde Tetra-*tert*-butylammoniumtribromid als Katalysator verwendet. Dessen Katalyse wird in Abbildung 26 gezeigt. Unter Anwesenheit eines protischen Lösungsmittels setzt der Katalysator in kleinen Mengen Bromwasserstoffsäure frei (I). Neben der Bereitstellung eines protischen Mediums ist die Verwendung eines Alkohols als Lösungsmittel notwendig, um aus dem Aldehyd ein Halbacetal **39a** zu bilden (II). Die in (I) generierte Säure ermöglicht die Protonierung eines orthoformat-Sauerstoffes und vereinfacht somit den in (IV) gezeigten nukleophilen Angriff. Unter Abspaltung von leicht flüchtigem Methylformats wird eine

kationische Zwischenstufe **39b** gebildet, welche dann zum Vollacetal **40** als Endprodukt umgesetzt wird.

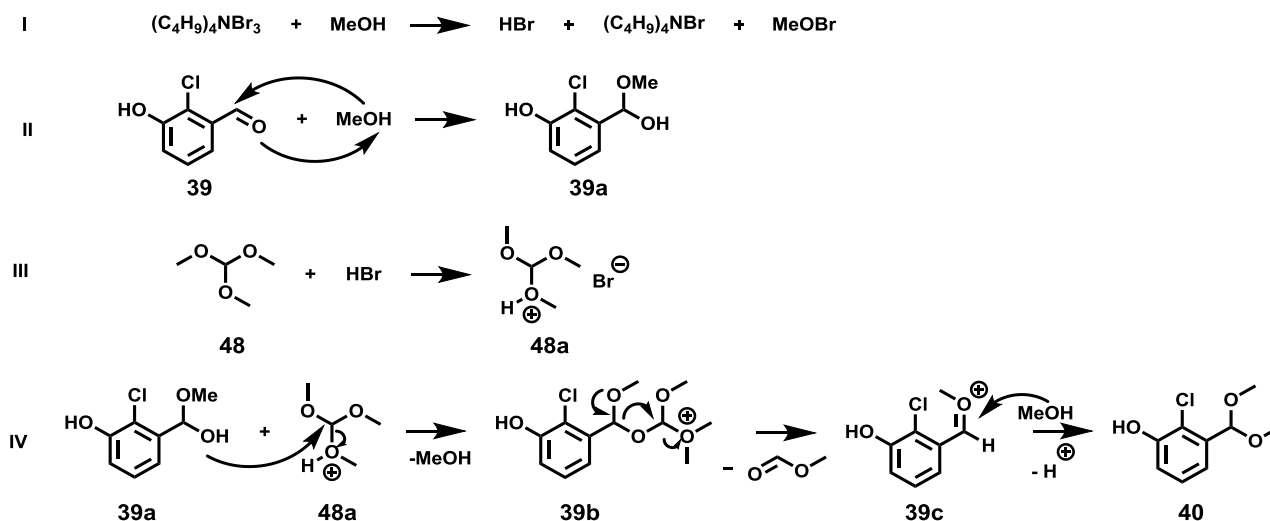


Abbildung 26: Mechanismus der Vollacetalbildung durch Trimethylorthoformat von K. Patel *et al.*^[73] vorgeschlagen.

Aufgrund der Reversibilität des Prozesses unter sauren Bedingungen musste vermutlich ein Ausbeutenverlust bei der säulenchromatographischen Aufreinigung hingenommen werden, da das Produkt nur in 83% Ausbeute erhalten werden konnte und Kieselgel, welches leicht sauer ist, als Säulenmaterial verwendet wurde. Dabei wurde per DC nur eine kleine Verunreinigung auf der Baseline beobachtet, wobei es sich vermutlich um das Ammoniumsalz handelte.

Für die Verhinderung von Nebenprodukten in der HWE (Mechanismus Abbildung 32) durch ein weiteres acids Proton, wurde im nächsten Schritt die durch das Substitutionsmuster des Aromaten leicht saure Phenolfunktionalität durch eine Silyl-Gruppe geschützt. Das Produkt **41** konnte als farbloses Öl mit 92% Ausbeute erhalten werden.

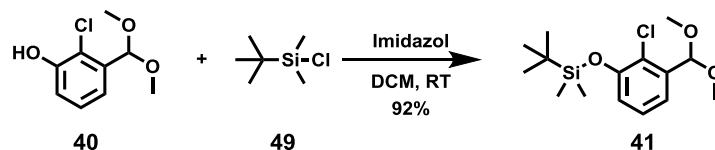


Abbildung 27: Schätzung des Phenols **40** mit TBDMS-Chlorid.

Dazu wurde Imidazol als Base verwendet, um das Phenol **40** zu deprotonieren. Als Schutzgruppe wurde die sterisch stark anspruchsvolle *tert*-Butyl-dimethylsilyl Schutzgruppe gewählt und in Form des Silylchlorids **49** zugegeben. Hierbei sollte bei der Wiederholung der Synthese jedoch über einem Wechsel der Schutzgruppe nachgedacht werden. Da hier keine sterisch anspruchsvolle Gruppe notwendig ist, wäre die Trimethylsilyl-Schutzgruppe eventuell die bessere Wahl. Das bei der Entschützung mit Fluorid-Ionen entstehende Trimethylsilylfluorid ist mit einem Siedepunkt von 16 °C^[74] leicht flüchtig und kann somit sehr

einfach aus der Reaktionslösung entfernt werden. Auch würde eine Trimethylsilylgruppe das Molekül weniger unpolar machen als die verwendete Gruppe. Aufgrund der geringeren Stabilität dieser Schutzgruppe müssen zukünftige Versuche jedoch zeigen, ob diese gegenüber den Reaktionsbedingungen der folgenden Reaktionen stabil sind.

Die Verbindung von Aryl- und Adamanthy- Baustein geschieht in zwei Schritten. Zunächst wird über eine Michaelis-Arbuzov-Reaktion ein Phosphonat **42** gebildet, welches wiederum in einer Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) Reaktion mit 2-Adamantanon umgesetzt werden kann.

Bei der Michaelis-Arbuzov-Reaktion wurde Titan-tetrachlorid als Lewis-Säure verwendet, sowie Trimethylphosphit **50** als Edukt für das entstehende Phosphonat **42**.

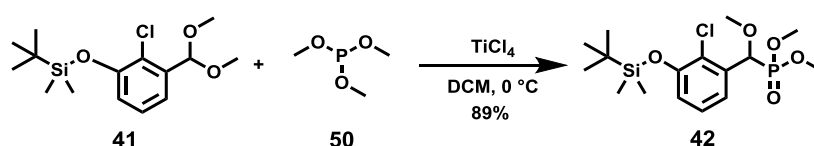


Abbildung 28: Michaelis-Arbuzov-Reaktion zur Synthese des Phosphonats **42**.

Durch eine Veränderung der Reaktionsführung konnte die Ausbeute im Vergleich zu vorherigen Arbeiten^[19] auf 89% erhöht werden. Dies wurde ermöglicht, indem zunächst eine DCM Stammlösung mit Titan-tetrachlorid hergestellt wurde. Titan-tetrachlorid reagiert stark exotherm mit Wasser und beginnt schon bei Kontakt mit Umgebungsluft durch die Luftfeuchtigkeit heftig zu rauchen. Des Weiteren wirkt die durch die Hydrolyse entstehende Salzsäure stark korrosiv auf Metalle, was die Handhabung mit Kanülen und dadurch die Entnahme und Injektion des flüssigen TiCl₄ erschwert. Die Herstellung einer Stammlösung senkt die Konzentration und damit die Reaktivität ab und vereinfacht folglich die Handhabung deutlich. Somit ist ein langsames Zutropfen in die Reaktionslösung über einen längeren Zeitraum möglich. Für eine Wiederholung der Synthese bietet es sich daher an, eine kommerziell erhältliche TiCl₄-Lösung zu verwenden. Das Arbeiten unter trockenen Bedingungen ist in dieser Reaktion unabdingbar. Schon geringe Restfeuchte in Kolben oder Lösemittel wird durch starke Rauchentwicklung bei Zugabe des Titan-tetrachlorids sichtbar. Der Mechanismus der Reaktion ist in der nachfolgenden Abbildung gezeigt.

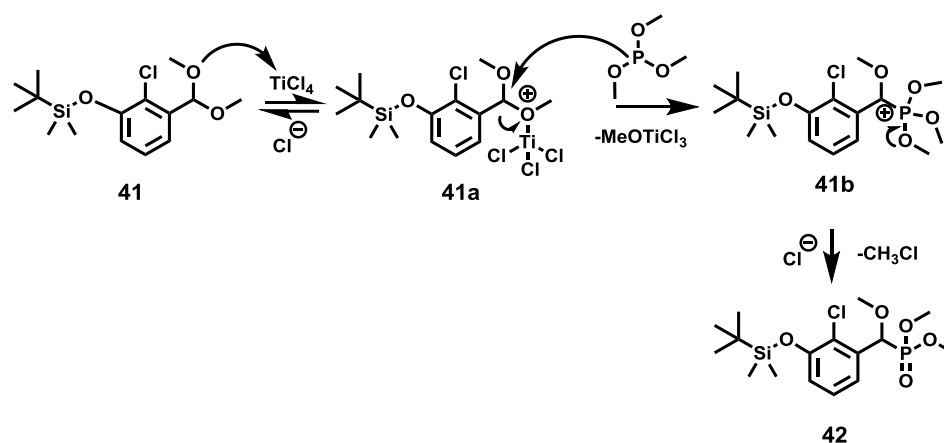


Abbildung 29: Mechanismus der Michaelis-Arbuzov-Reaktion katalysiert durch Titan-tetrachlorid.

Im ersten Schritt wird die Lewis-Saure Titan-tetrachlorid von einem der Acetalsauerstoffe angegriffen. Durch die entstehende Titan-Sauerstoff-Bindung wird der Sauerstoff positiv geladen und verringert die Elektronendichte des benachbarten Kohlenstoffs **41a**. Der somit erzeugte elektrophile Kohlenstoff ermöglicht den nukleophilen Angriff des Phosphits, welcher unter Spaltung der zuvor gebildeten Titan-Sauerstoff-Bindung geschieht. Durch Ausbildung einer Phosphor-Sauerstoff-Doppelbindung und der damit folgenden Abspaltung eines Alkylhalogenids, entsteht im letzten Schritt das gewünschte Phosphonat **42**. Somit wird bei dieser Reaktion das dreiwertige Phosphit in ein fünfwertiges Phosphonat oxidiert und eine P-O-C Bindung zu einer (P=O)-C Bindung umgewandelt, was Energien von 32-65 kcal/mol^[75] freisetzt und die Triebkraft der Reaktion ist.

Bei der darauffolgenden HWE-Reaktion wurde das eben gebildete Phosphonat **42** mit 2-Adamantanon erfolgreich zum Produkt **43** umgesetzt. Auch in diesem Schritt konnte die Ausbeute durch eine Veränderung der Reaktionsführung auf 73% erhöht werden.

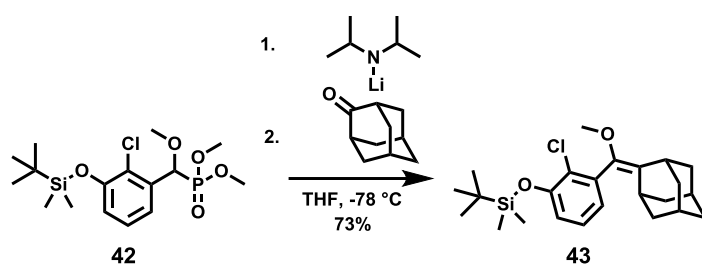


Abbildung 30: HWE-Reaktion mit 2-Adamantanon.

Die Steigerung der Ausbeute konnte durch eine deutliche Verlängerung der Reaktionszeit in jedem Schritt erreicht werden. Dadurch wurde gewährleistet, dass die Reaktion langsamer und somit kontrollierter abläuft. Nach dem Waschen der organischen Phase und Entfernung des Lösungsmittels bleibt eine rötliche Lösung zurück. Aus dieser Lösung kristallisiert langsam ein

weißer Feststoff. Daher wäre es vermutlich möglich diese Stufe auch per Umkristallisation von Edukten und Nebenprodukten zu trennen, was gerade bei großen Ansätzen zu einer Zeitersparnis führen kann. Das NMR des erhaltenen Produkts ist in nachfolgend gezeigt.

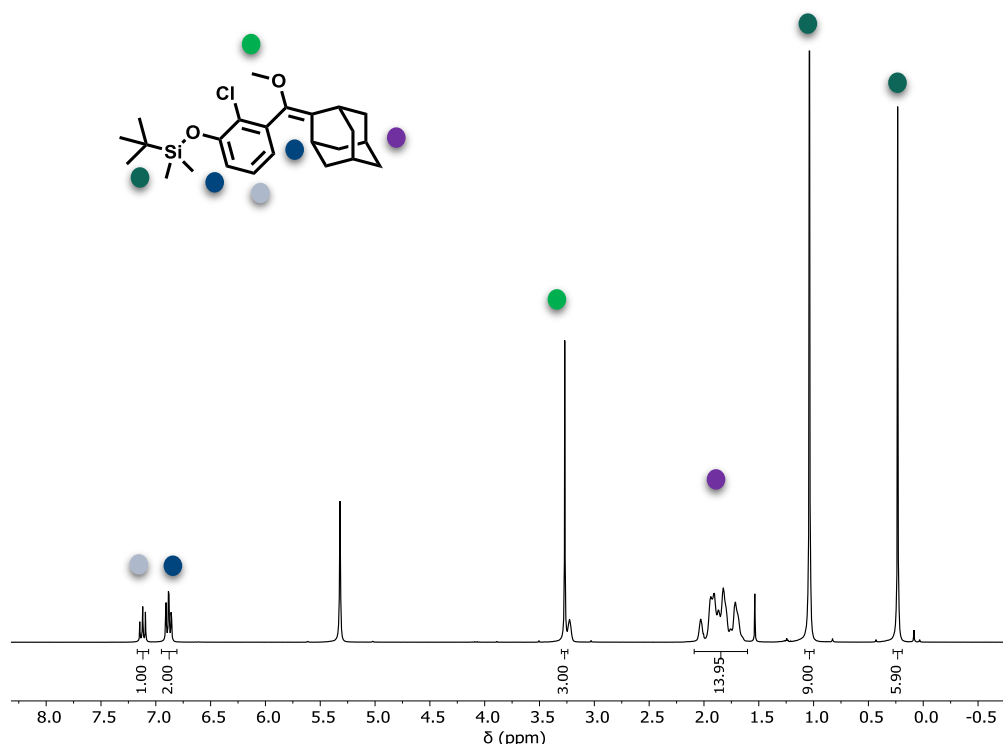


Abbildung 31: NMR des HWE-Produkts **43**, gemessen in Dichlormethan.

Mechanistisch läuft die Reaktion in fünf Schritten ab und ist in Abbildung 32 gezeigt.

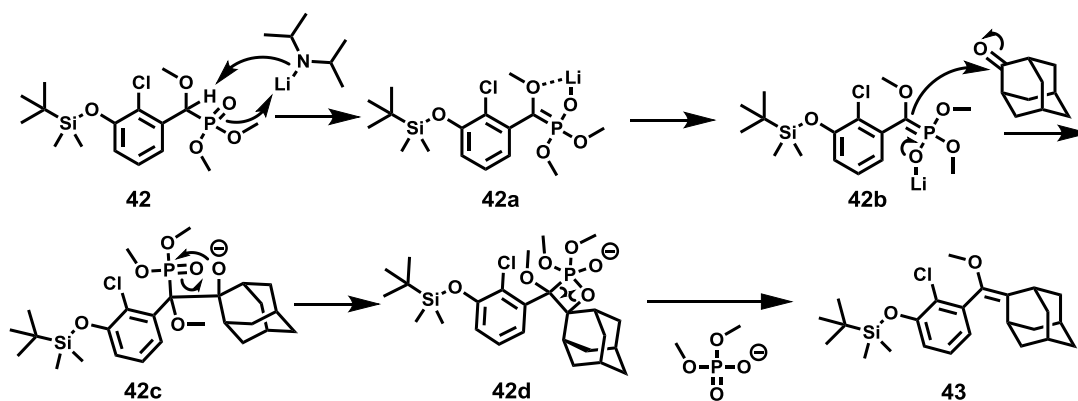


Abbildung 32: Mechanismus der HWE-Reaktion.

Durch die Zugabe einer starken, lithiumhaltigen Base wird der zum Phosphor benachbarte Kohlenstoff deprotoniert. Es bildet sich ein Phosphorylid **42a**, welches durch die Chelatisierung des Lithiums zwischen den beiden Sauerstoffen stabilisiert wird. Die Zugabe eines Ketons, hier 2-Adamantanon, ermöglicht den nukleophilen Angriff **42b** und die Knüpfung einer neuen C-C-Bindung **42c**. Aufgrund der Oxophilie des Phosphors bildet sich ein Vierring **42d**, woraus sich durch Abspaltung des Phosphates das gewünschte Endprodukt **43** bildet. Diese Reaktion

führt bei Verwendung von chelatisierenden Gegenionen wie Lithium und sterisch anspruchsvollen Resten stereoselektiv zur *E*-Doppelbindung^[76]. Aufgrund der Symmetrie des Adamantansubstituenten spielt dies hier jedoch keine Rolle.

Um Route A weiter zu verfolgen, musste das Molekül **43** in drei Stufen zum *ortho*-Pinacolborsäureester **46** funktionalisiert werden. Begonnen wurde mit der Entschützung des Phenols. Dafür wurde Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) verwendet, welches in der Lage ist auch in organischen Lösungsmitteln Fluorid-Ionen bereit zu stellen. Das Phenol **44** konnte als farbloser, kristalliner Feststoff in Ausbeuten von 86% erhalten werden.

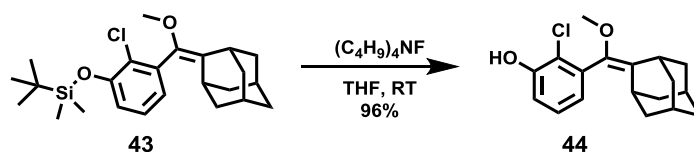


Abbildung 33: Entschützung der Silyl-Schutzgruppe mit TBAF zum freien Phenol **44**.

Triebkraft der Reaktion ist die Ausbildung der Si-F-Bindung. Sie ist eine der stärksten bekannten Einfachbindungen im Periodensystem. Die im Vergleich zur Literatur^[27] schlechtere Ausbeute lässt sich durch zwei Beobachtungen erklären. Zum einen verlief die Reaktion im großen Ansatz langsamer als erwartet. Nach Entschützung über Nacht konnte noch Startmaterial per NMR nachgewiesen werden (Abbildung 34).

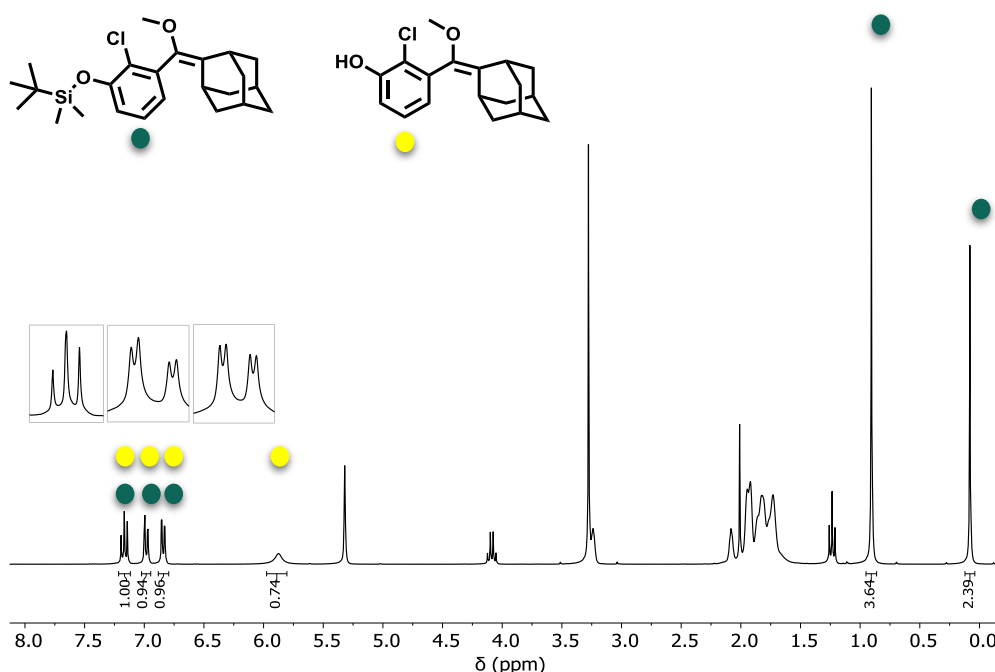


Abbildung 34: NMR der nicht vollständig abgelaufene Entschützung, gemessen in Dichlormethan.

So liegen, wie in Abbildung 34 sichtbar, freies Phenol (gelb, bs, 5,89 ppm) und Schutzgruppe (grün, s, 0,91 ppm, s, 0,08 ppm) nebeneinander vor. Vor allem bei größeren Ansätzen sollte

daher die Konzentration der Reaktionslösung erhöht, sowie der Reaktionszeit verlängert werden. Des Weiteren kam es auch zu unerwarteten Trennproblemen von Produkt und dem gebildeten *tert*-Butyldimethylsilylfluorid kommen. Durch die Wahl eines unpolaren Eluationsgemisches sollte dieses Problem aber zu beheben sein. Auch der Wechsel zur Trimethylsilyl-Schutzgruppe, welche aufgrund ihres Siedepunktes nach der Entschützung von 16 °C^[74] leicht im Vakuum zu entfernen ist, verspricht eine Vereinfachung der Synthese.

Im nächsten Reaktionsschritt wurde das Phenol **44** mit dem Anhydrid der Trifluormethansulfonsäure zum Triflat **45** umgesetzt. Die Reaktion lieferte in Ausbeuten von 71% einen farblosen Feststoff als Produkt.

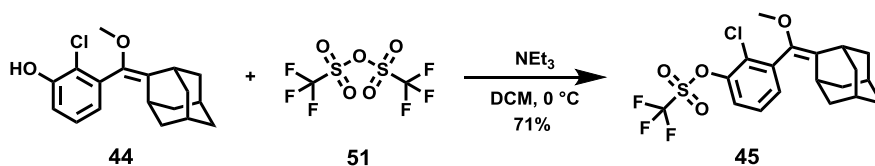


Abbildung 35: Bildung des Triflates **45** als gute Abgangsgruppe.

Die Verwendung einer Base soll hier zur Deprotonierung des Phenols und dadurch erhöhter Nucleophilie führen. Das Arbeiten unter trockenen Bedingungen ist in diesem Schritt sehr wichtig, da das Anhydrid hydrolyseempfindlich ist. Dies könnte auch der Grund für die mäßige Ausbeute sein. Die verwendete Substanz war älter und im Gefäß ist ein farbloser Feststoff am Rand kristallisiert.

Im letzten Syntheseschritt wurde eine Miyaura-Borylierung durchgeführt. Dabei wurde das Triflat als Abgangsgruppe durch den Pinacolester der Borsäure metallkatalytisch substituiert.

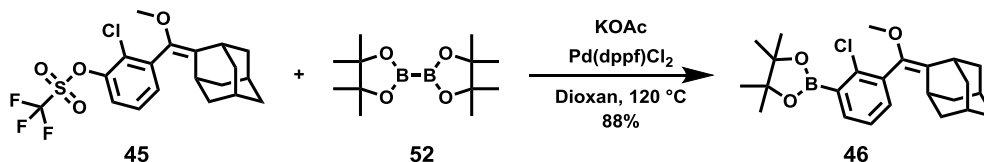


Abbildung 36: Miyaura-Borylierung am Triflat **45**.

Das Zielprodukt **46** wurde in dieser Reaktion in hohen Ausbeuten von 88% erhalten und konnte mit Hilfe von NMR (Abbildung 37) und Massenspektrometrie nachgewiesen werden. Dabei ist im Vergleich zum NMR nach der HWE (Abbildung 31) deutlich das Signal des Pinacolesters bei 1,36 ppm mit 12 Protonen sichtbar.

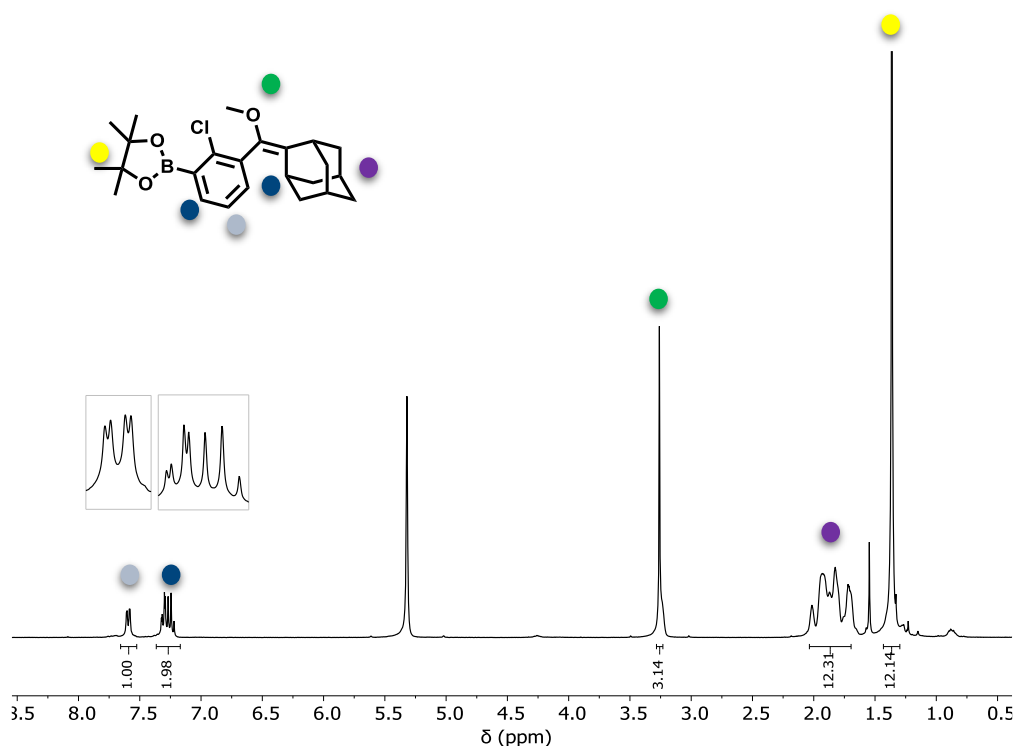


Abbildung 37: Produkt-NMR des *ortho*-Boresters **46**, gemessen in Dichlormethan.

Der Mechanismus der Miyaura-Borylierung ist nachfolgend gezeigt. Als Katalysator wird ein Pd(dppf)Cl₂ Komplex **53** verwendet. Im ersten Schritt wird über eine oxidative Addition der Aromat, sowie das Triflat an den Komplex **45a** addiert. Das Triflat wird im Folgeschritt durch ein Acetat-Ion ausgetauscht **45b**, welches wiederum in einer Transmetallierung mit Bis(pinacol)diboran **45b** substituiert wird. Nach einer *cis-trans*-Isomerisierung der Liganden im letzten Schritt kommt es zur reduktiven Eliminierung, zur Freisetzung des Produkts **46** und der Zurückgewinnung des Katalysators. Die Wahl der Base ist entscheidend für die Ausbeute dieser Reaktion. Bei der Verwendung einer starken Base wie K₂CO₃ kann es zur Katalyse von Folgereaktionen kommen, welche das Biphenyl als Nebenprodukt bilden.^[77]

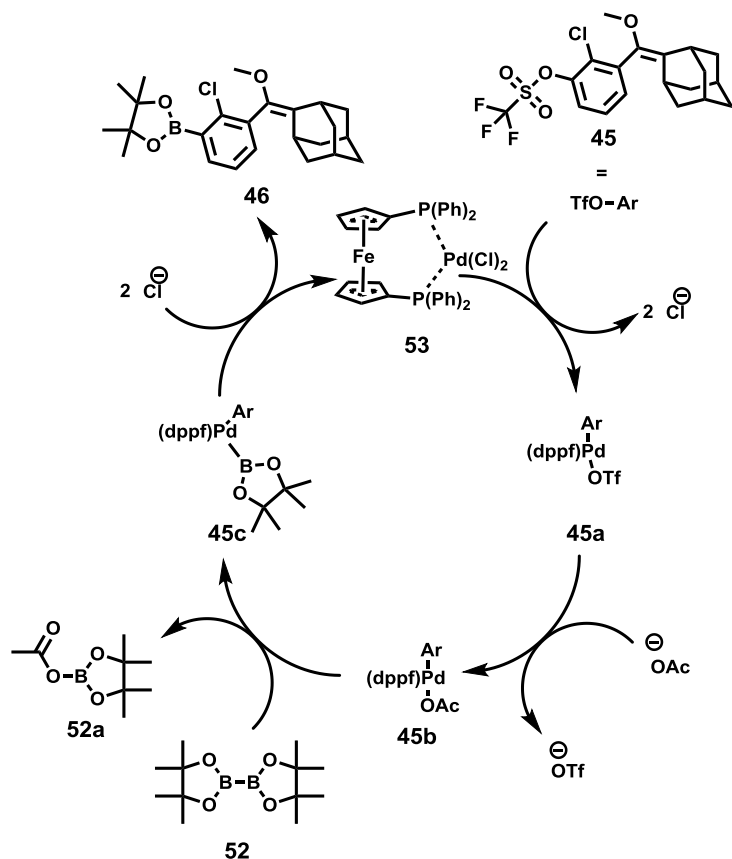


Abbildung 38. Vereinfachter Katalysezyklus der Miyaura-Borylierung.^[77]

Wie in Abschnitt 3.1.1.1 beschrieben, wird in dieser Arbeit ein besonderes Augenmerk auf das Derivat **47** gelegt, bei dem sich der Borsäureester in *para*-Stellung zum Chlor-Substituenten befindet. Hergestellt über eine C-H Borylierung kann das Produkt in Ausbeuten von 76% erhalten werden.

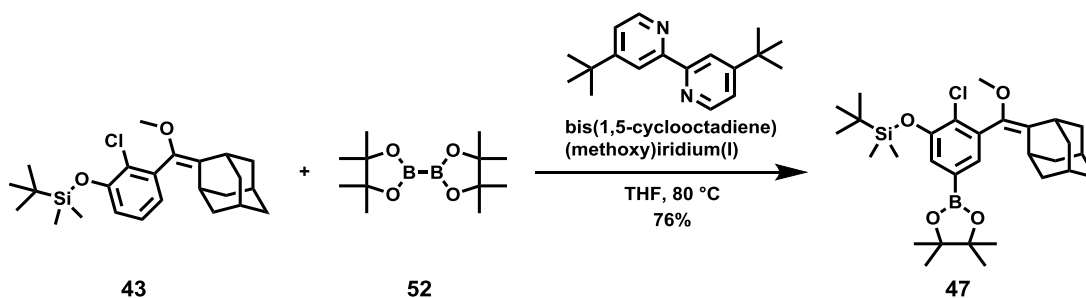


Abbildung 39: C-H-Borylierung am Aromaten zum *para*-Borsäureester **47**.

Dabei findet ein Iridium-Katalysator Verwendung. Das Einbüßen in der Ausbeute liegt an der schwierigen Trennung von Bis(pinacol)diboran **52** und dem Produkt **47**. Durch ihre Lewis-sauren Eigenschaften interagieren Borsäuren- sowie Borsäurenester stark mit Kieselgel, was eine Auftrennung deutlich erschwert. Durch die Verwendung von Ethern (THF, Diethylether) kann diese Interaktion durch Komplexbildungen verringert werden, was die Trennung erleichtern kann. Das NMR ist in der folgenden Abbildung gezeigt. Ähnlich wie in

Abbildung 37 sind hier die Protonen des Pinacolesters der Borsäure bei 1,36 ppm sichtbar. Zusätzlich geht das Signal des substituierten aromatischen Protons verloren, wodurch nur noch ein Singulett der beiden aromatischen Protonen bei 7,28 ppm sichtbar ist.

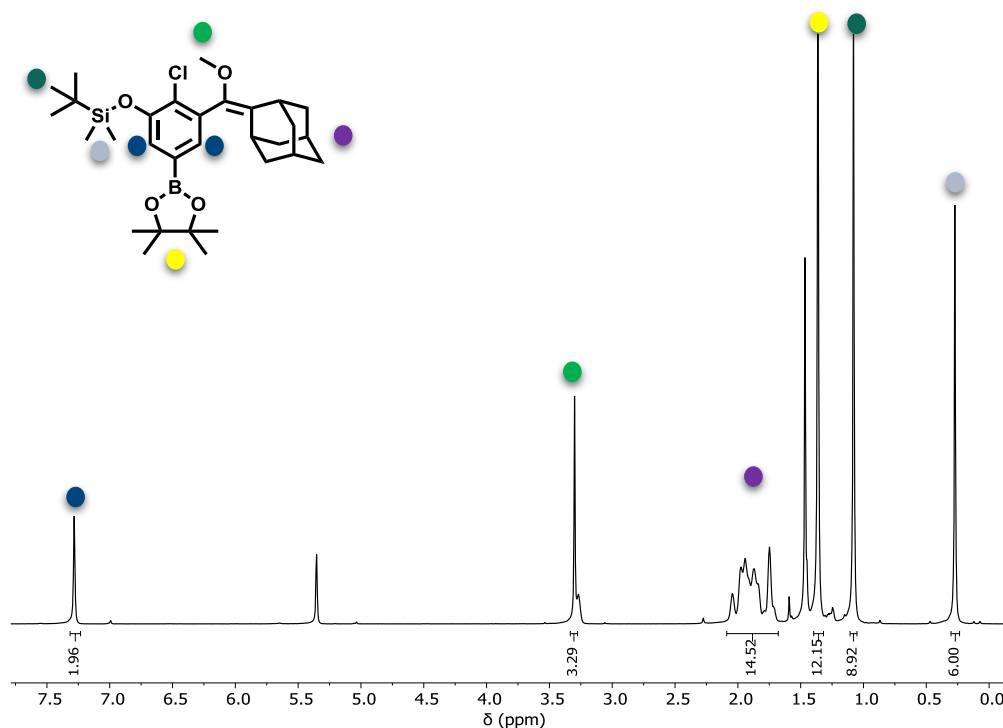


Abbildung 40: NMR-Spektrum des *para*-Borsäureester **47**, gemessen in Dichlormethan.

Somit ergibt sich eine Gesamtausbeute von 28% für Route A und Molekül **46** und eine Gesamtausbeute von 40% für Route B und Derivat **47**, sowie eine Reduktion um zwei Syntheseschritte. Auf die weitere Funktionalisierung der Phenol-Gruppe wird in den folgenden Kapiteln eingegangen.

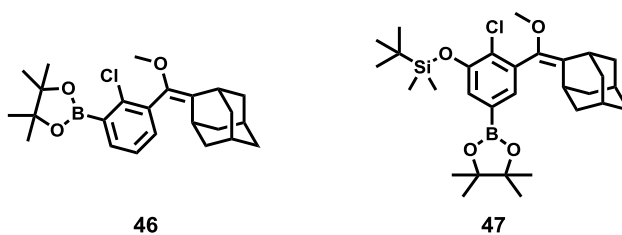


Abbildung 41: Dargestellte Grundbausteine **46** und **47**.

3.1.2 Photooxidation

3.1.2.1 Bildung der Dioxetane

Ein kritischer Schritt bei der Synthese stabiler chemilumineszenter Verbindungen ist die Darstellung des Dioxetans. Wie in der Theorie beschrieben, läuft die Bildung über eine Addition von Singulett-Sauerstoff ab. Dieser wiederum wird durch Bestrahlung eines Photosensibilisators, wie zum Beispiel Metylenblau, generiert (siehe Theorie 1.3). Da der gebildete Singulett-Sauerstoff äußerst reaktiv ist und stark oxidativ wirkt, tolerieren nur wenige funktionelle Gruppen diese Reaktionsbedingungen. Des Weiteren ist es essentiell die richtigen Bedingungen der Photooxidation herauszufinden, um Nebenprodukte zu vermeiden und somit die Ausbeute im letzten Schritt zu maximieren.

Zunächst wurde der *ortho*-Borsäureester **46** verwendet und bei Kühlung in einem Isopropanol/Trockeneis-Bad unter Anwesenheit eines Photosensibilisators vier Stunden bestrahlt. Dabei befand sich die Reaktionslösung unter einem kontinuierlichen Sauerstoff Überdruck.

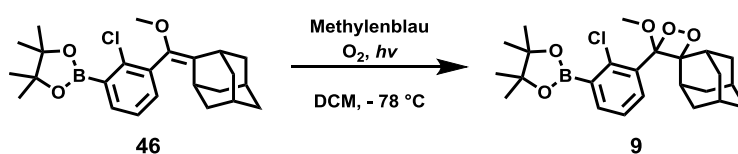


Abbildung 42: Photooxidation des *ortho*-Borsäureesters **46**.

Ähnlich wie die ersten Bestrahlungsergebnisse in dieser Gruppe^[19] (siehe Abbildung 43 links), führte die Bestrahlung zu Nebenprodukten (siehe Abbildung 43 rechts). Zusätzlich war auch nach vier Stunden Bestrahlungsdauer noch Edukt vorhanden.

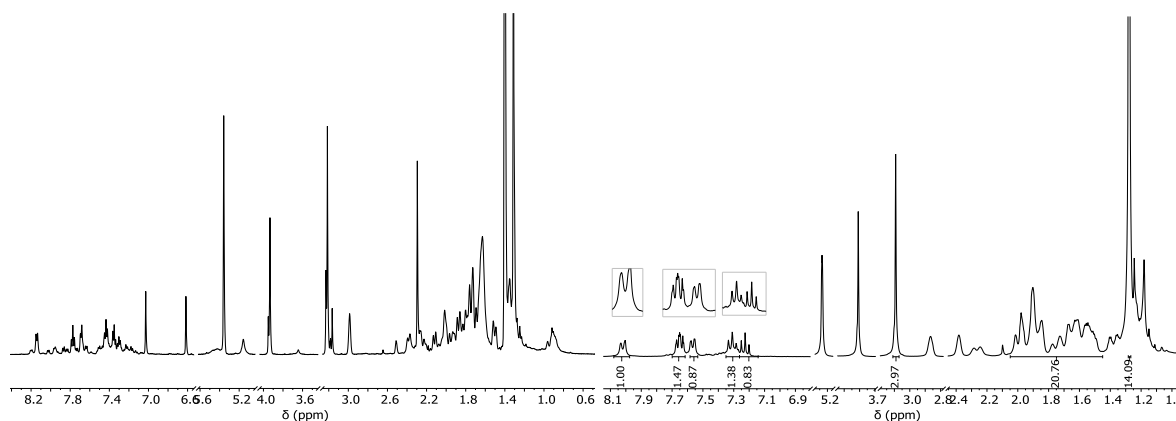


Abbildung 43: NMR-Spektren der Photooxidation des *o*-Borsäureester **9**. Links gezeigt vorherige Ergebnisse der Photooxidation,^[19] rechts Ergebnisse aus dieser Arbeit. Beide Spektren sind gemessen in Dichlormethan.

Da die Polaritätsunterschiede zwischen Startmaterial und Produkt sehr gering sind, ist eine Auftrennung der Stoffe per Säulenchromatographie nur per HPLC möglich. Dies wird durch

die Messung einer analytischen HPLC sichtbar (Abbildung 44). Im Eluationsdiagramm sind zwei Peaks getrennt voneinander aufgelöst. Somit sollte es in Zukunft möglich sein, das Photoprodukt als Reinstoff zu isolieren.

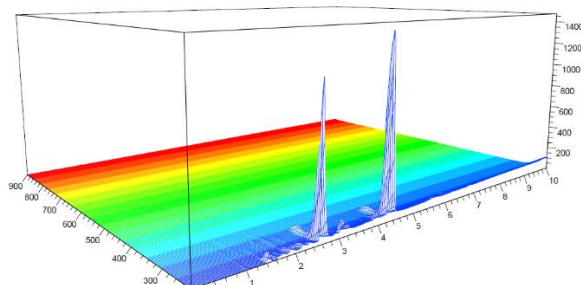


Abbildung 44: Analytischer HPLC-Durchlauf nach Photooxidation des *o*-Borsäureester **9**.

Bei tiefen Temperaturen nimmt die Löslichkeit von Gasen stark ab, folglich sinkt die Konzentration an gelöstem Gas in der Flüssigkeit, wodurch sich somit die Reaktionsgeschwindigkeit verlangsamt. Dadurch muss wiederum die Bestrahlungsdauer für hohe Ausbeuten erhöht werden. Bei nachfolgenden Versuchen wurde deshalb die Temperatur auf Raumtemperatur erhöht und die Bestrahlungsdauer erheblich verkürzt. Zusätzlich wurde das Startmaterial gewechselt, da vermutet wurde, dass die Borsäureester mit dem bereitgestellten Sauerstoff reagieren und somit Nebenprodukte gebildet werden, welche die Ausbeute vermindern.

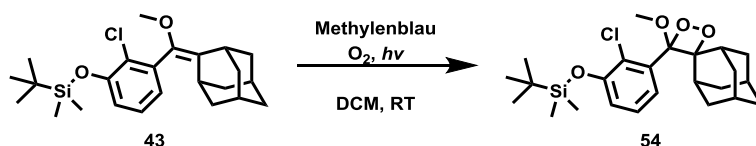


Abbildung 45: Photooxidation des HWE-Produktes **43** zum Dioxetan **54**.

Wie im nachfolgendem NMR sichtbar ist, befinden sich auch hier im Bereich von 3,5-4 ppm, 2,5 ppm und im aromatischen Bereich durch die Bestrahlung neue Signale. Jedoch konnte das Dioxetan gebildet werden, was vor allem durch die signifikanten Veränderungen der Enolether-Protonen-Resonanzen (hellgrün) von 3,27 ppm (Abbildung 31) auf 3,17 ppm (Abbildung 46) sichtbar wird.

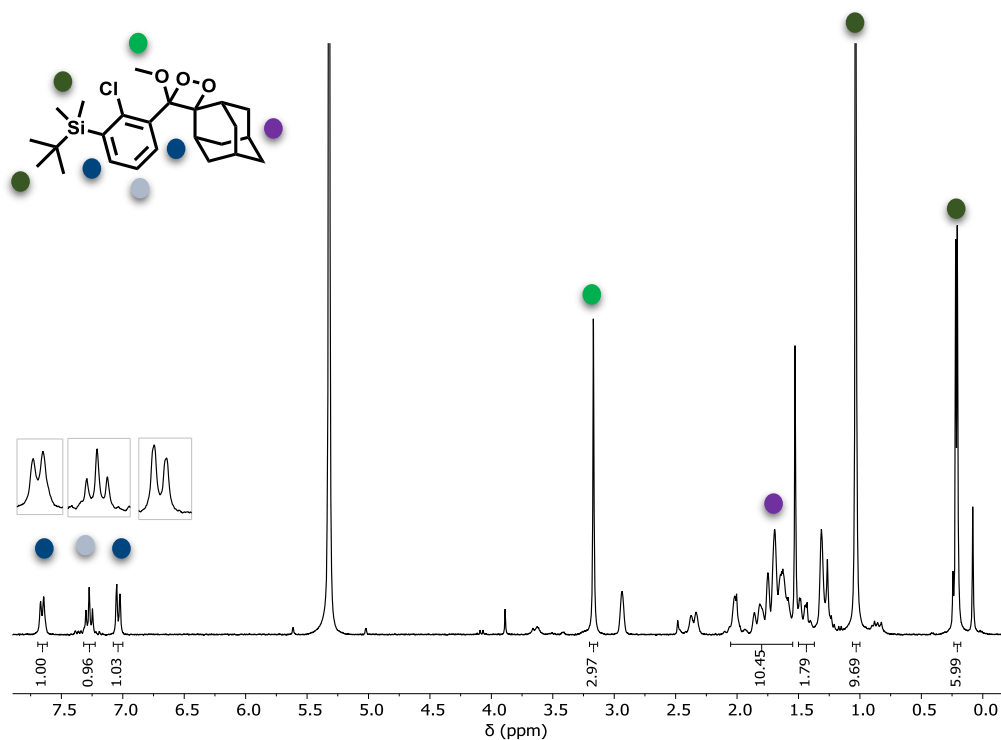


Abbildung 46: NMR-Spektrum des Photooxidationsprodukt **54**, gemessen in Dichlormethan.

Eine Erhöhung der Temperatur lieferte somit in zufriedenstellender Reinheit das Photooxidationsprodukt und verkürzte zudem die Bestrahlungsdauer auf unter eine Stunde. Die Bestrahlung des *para*-Borsäureesters **47** bei denselben Bedingungen führte zu ähnlich guten Ergebnissen.

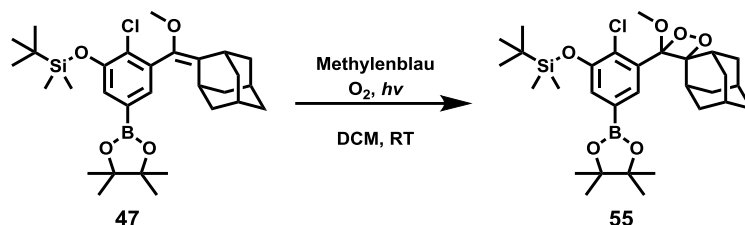


Abbildung 47: Photooxidation des *para*-Borsäureester **47**.

Auch hier ist die signifikante Veränderung der Enolether-Protonen-Resonanzen durch die Bildung des Dioxetans sichtbar. Im NMR des Produkts **55** (Abbildung 48) sind nur geringe Verunreinigungen sichtbar. Auffällig ist die Aufspaltung des Signals der Methylgruppen am Silizium in zwei Singulett-Signale. Dies lässt sich eventuell durch die Entstehung eines Stereozentrums bei der Bildung des Dioxetans erklären, welche dazu führt, dass die beiden Methylgruppen nicht mehr homotrop sind.

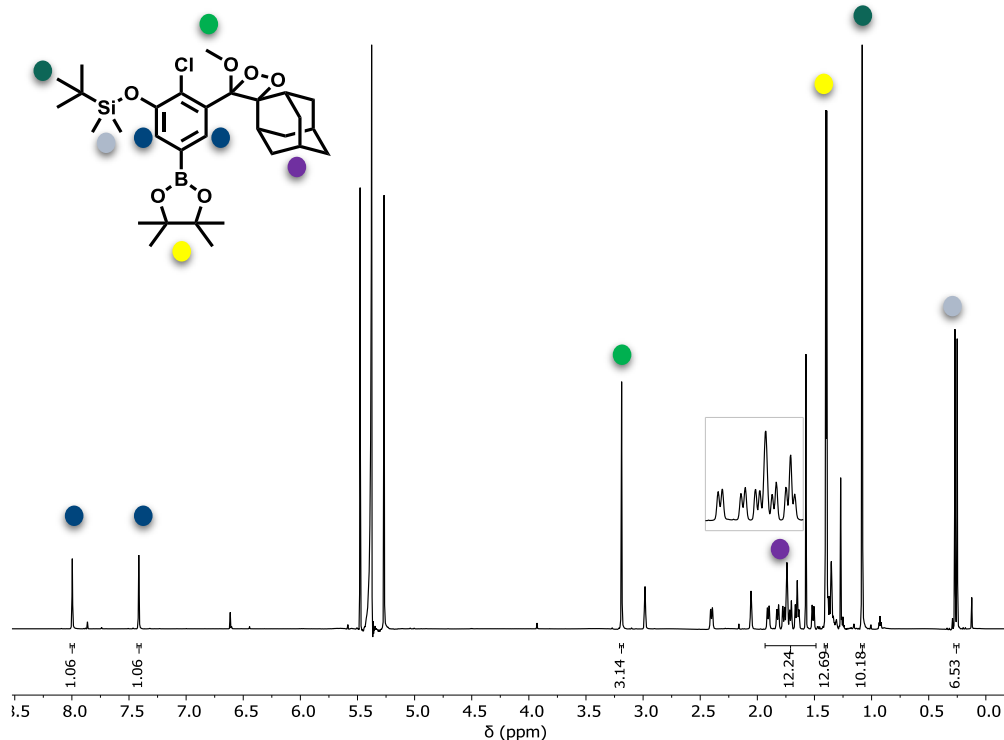


Abbildung 48: 850 MHz-NMR des Photooxidationsprodukt **55**, gemessen in Dichlormethan.

Somit ist es nun möglich mit der Photooxidation des Enolethers **47** ausreichend reine 1,2-Dioxetane durch die Verkürzung der Bestrahlungsdauer und Erhöhung der Temperatur zu erhalten. Die Analyse der Chemilumineszenz wird im nächsten Kapitel behandelt.

3.1.2.2 Chemilumineszenz -Messungen

Nach der in Kapitel 3.1.2.1 beschriebenen Bildung der 1,2-Dioxetane wurden die Chemilumineszenz der Verbindungen mit dem Lumineszenz-Reader vermessen. Dazu wurden die Dioxetane in DMSO bzw. DMF gelöst, vom Lumineszenz-Reader eine 3%-ige Wasserstoffperoxid-Lösung injiziert und 40 bzw. 50 Sekunden lang die entstehende Chemilumineszenz vermessen. Dieser kurze Zeitraum wurde gewählt, da der Reader maximal 280 Datenpunkte aufnimmt. Ein größerer Zeitraum würde daher weniger Signale in der ersten Minute liefern, in dem laut vorherigen Ergebnissen^[19] ein Großteil der Chemilumineszenz stattfindet. Aufgrund der nicht veränderbaren Geräteeinstellungen befindet sich zwischen Injektion und Start der Messung eine Verzögerung von 30 Sekunden. Dies führt dazu, dass der Start der Lumineszenz und damit die Steigung des Graphen am Anfang bei den meisten Messungen nicht sichtbar waren. Zusätzlich ist die Bestimmung der Wellenlänge des emittierten Lichtes nicht möglich, da nur ein qualitatives Intensitätsspektrum gemessen werden kann.

In der folgenden Abbildung 49 ist die vom *ortho*-Borester **9** erhaltene Lumineszenz dargestellt. Dabei ist deutlich der erwartete exponentielle Abfall der Chemilumineszenz sichtbar. Bei dieser Messung konnte das einzige Mal die erwartete kurze Phase der Intensitätssteigerung aufgenommen werden. Da jedoch nur zwei Messwerte dafür verantwortlich sind kann keine Aussage über die Signifikanz dieser Werte getroffen werden.

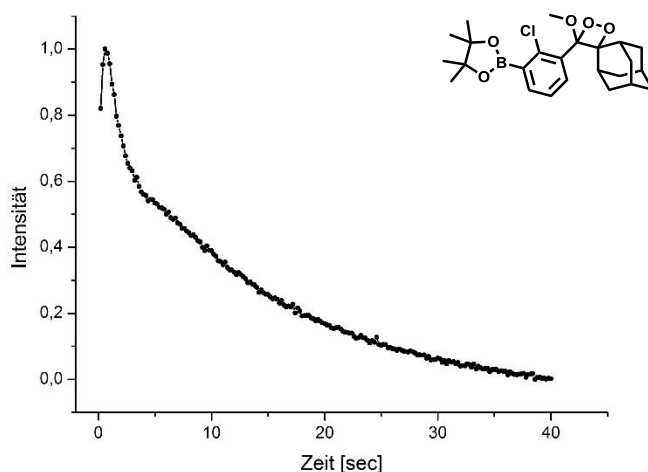


Abbildung 49: Normiertes, basislinienkorrigiertes Lumineszenzspektrum des *ortho*-Borsäureesters **9** in DMSO. Bei der Messung des *para*-Borsäureesters **55** traten Probleme bezüglich der Löslichkeit auf. Aufgrund der unpolaren Silyl-Schutzgruppe löst sich das Molekül erheblich schlechter in DMSO als das Derivat **9**. Zusätzlich kommt es dann bei der Injektion der wässrigen Wasserstoffperoxid-Lösung zur Fällung, wodurch Chemilumineszenz-Messungen in DMSO, aufgrund der sehr geringen Signalintensität, nur schlecht durchzuführen sind. Ein Wechsel zu DMF als Lösungsmittel führte zwar zu höheren Intensitäten, jedoch lieferten die Chemilumineszenz-Messungen keine signifikanten Ergebnisse (siehe Anhang, Abbildung 93). Es wird vermutet, dass dies ähnlich wie bei der DMSO-Lösung aufgrund der schlechten Löslichkeit auftritt. Das Problem könnte umgangen werden, indem in einem weniger polaren organischen Lösungsmittel, wie z.B. THF gearbeitet wird. Durch die Silyl-Schutzgruppe könnte die Chemilumineszenz hier auch durch TBAF ausgelöst werden. Dies war jedoch nicht möglich, da das Gerät, genauso wie der Probenhalter, nicht stabil gegen organische Lösungsmittel sind.

Das Derivat **54** lieferte ähnliche Ergebnisse. Da die Auslösung der Chemilumineszenz, wie eben beschrieben, mit TBAF-THF-Lösung am Gerät nicht möglich war, wurde versucht die Chemilumineszenz mit wässriger 5%-igen Kaliumfluorid-Lösung auszulösen. Das Ergebnis ist in Abbildung 94 gezeigt und erklärt sich analog zum *para*-Borsäureester über die schlechte

Löslichkeit. Zusätzlich ist die Kinetik der Entschätzung unbekannt. Wenn die Reaktionsgeschwindigkeit langsamer ist als die Borester-Peroxid Reaktion ist die Detektion der Photonen am Gerät schwieriger.

3.1.3 Verbesserung der Quantenausbeute

3.1.3.1 Einführung eines funktionalisierbaren *push-pull*-System.

Shabat et al. publizierte in „*Opening a Gateway for Chemiluminescence Cell Imaging*“^[27], dass die Quantenausbeute durch die Einführung eines *push-pull*-Systems erheblich gesteigert werden kann. Dieses *push-pull*-System kann durch das Einführen von Acrylsäure **56** oder Acrylnitril realisiert werden.

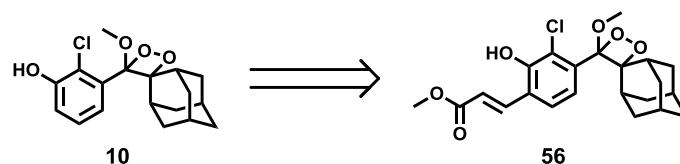


Abbildung 50: Erhöhung der Quantenausbeute durch Einführung eines *push-pull*-Systems.

Die in der Literatur gezeigten Daten sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 1: Verbesserung der Quantenausbeute durch Einführung eines *push-pull*-Systems.^[27]

Molekül	10	56
$\lambda \text{ max}_{\text{CL}}$ [nm]	470	540
$T_{\frac{1}{2}}$ [min]	17	23
Relative Chemilumineszenz Emission	1	724
$\phi_{\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})}$	0,0032	2,3

Neben einer größeren Anzahl an emittierten Photonen, welche zum einen eine leichtere Detektion und zum anderen eine breitere, nicht nur auf den Energietransfer limitierte Anwendungsmöglichkeit liefert, bietet das Derivat einen weiteren entscheidenden Vorteil. Über den Säureester kann durch Verseifung die freie Säure erhalten werden. Dies ermöglicht eine weitere Funktionalisierung mit Aminen oder Alkoholen. Dies würde eine Funktionalisierung wie zum Beispiel einem FRET-Partner oder an ein Polymer (siehe Theorie 1.4.3) ermöglichen. Die geplante Syntheseroute ist in der folgenden Abbildung dargestellt.

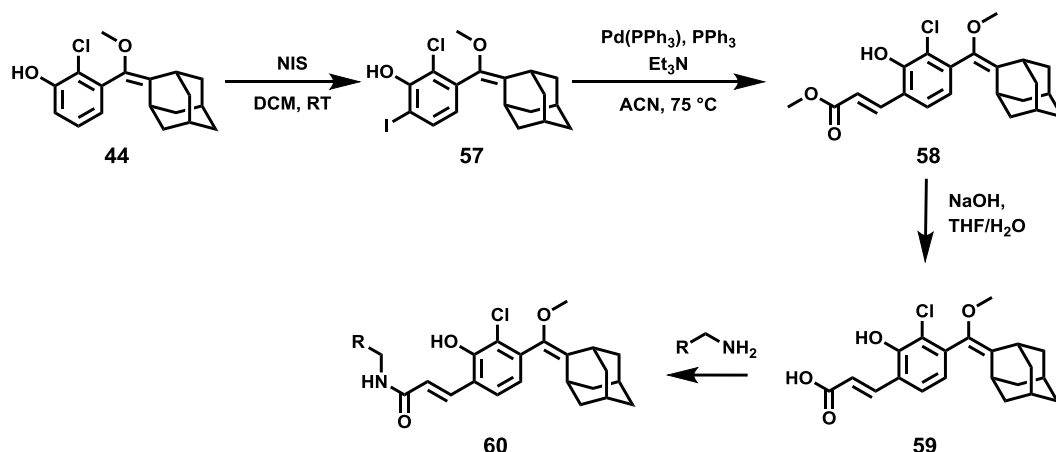


Abbildung 51: Vorgeschlagene Syntheseroute zur Erhöhung der Quantenausbeute und Möglichkeit der Postfunktionalisierung.

3.1.3.2 Aromatische Iodierung

Um nach der Syntheseroute in Abbildung 51 zur gewünschten freien Säure **59** zu gelangen wurde im ersten Schritt die aromatische Iodierung des Moleküls durchgeführt. Dabei konnten vorherige Arbeiten^[19] zeigen, dass die Iodierung des Aromaten mit elementarem Iod, Silbersulfat und Triethylamin nicht das gewünschte Produkt **61** liefern konnte.

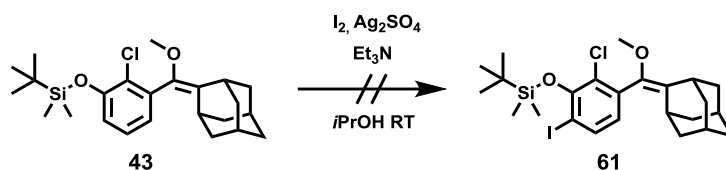


Abbildung 52: Iodierung von Molekül **43** mit elementarem Iod.

Daher wurde in dieser Arbeit *N*-Iodsuccinimid als Iodierungseagenz verwendet. Jedoch konnte auch hier nur Startmaterial isoliert werden.

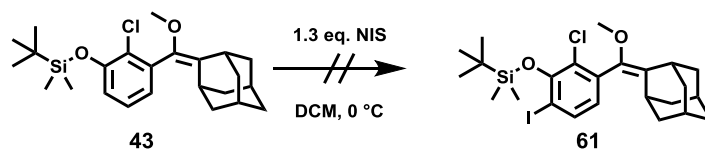


Abbildung 53: Iodierung von Molekül **43** mit NIS.

Erst durch die vorherige Entschützung zum freien Phenol **44** und anschließender Iodierung mit *N*-Iodsuccinimid konnte das Startmaterial erfolgreich umgesetzt werden. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurde jedoch festgestellt, dass ein Stoffgemisch aus einfach und doppelt iodiertem Produkt vorlag. Auch wiederholte Säulenchromatographie mit geringem Gradienten konnten zwar das Verhältnis der Stoffe zueinander ändern, ermöglichten jedoch nicht die Isolation des Produkts.

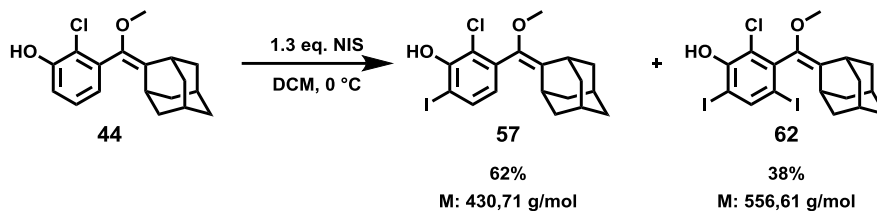


Abbildung 54: Erfolgreiche Iodierung des freien Phenols **44** mit NIS und zwei Produkten.

In NMR, sowie Massenspektrum, sind die Signale der jeweiligen Produkte deutlich zu erkennen. Dabei gehört das Singulett bei 8,17 ppm, sowie die höher verschobene Methoxy-Gruppe bei 3,34 ppm durch die elektronenziehenden induktiven Effekte der Iodsubstituenten zum doppelt iodierten Produkt **62**. Die Signale des einfach iodierten Produkts **57** erscheinen somit ins Hochfeld verschoben.

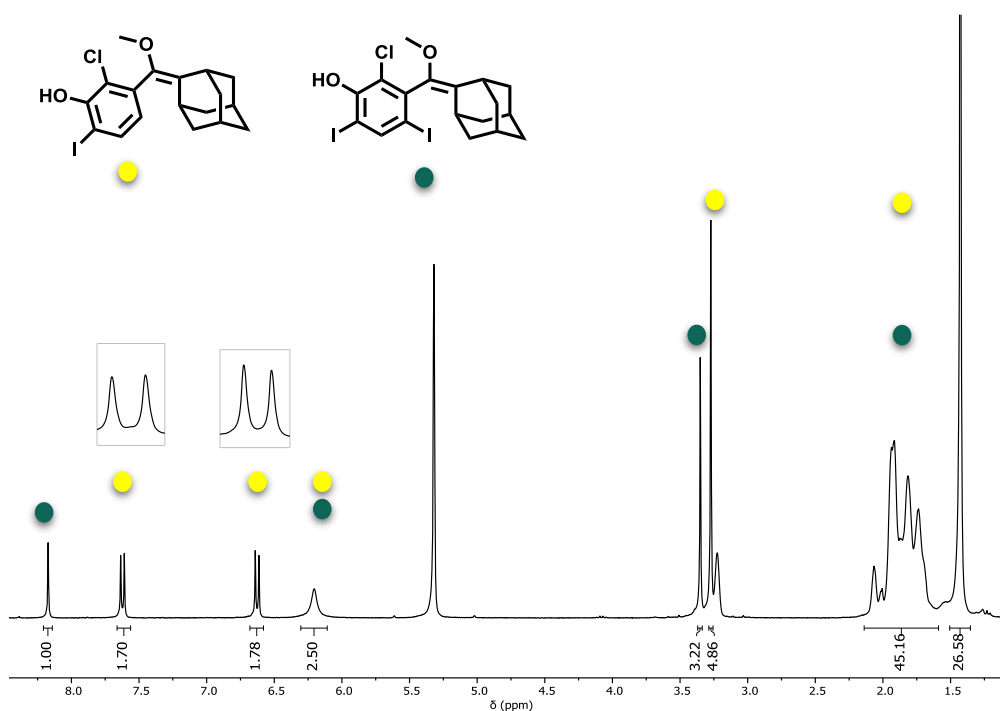


Abbildung 55: NMR-Spektrum des Produktgemisches von Molekül **57** und **62** nach Iodierung mit NIS, gemessen in Dichlormethan.

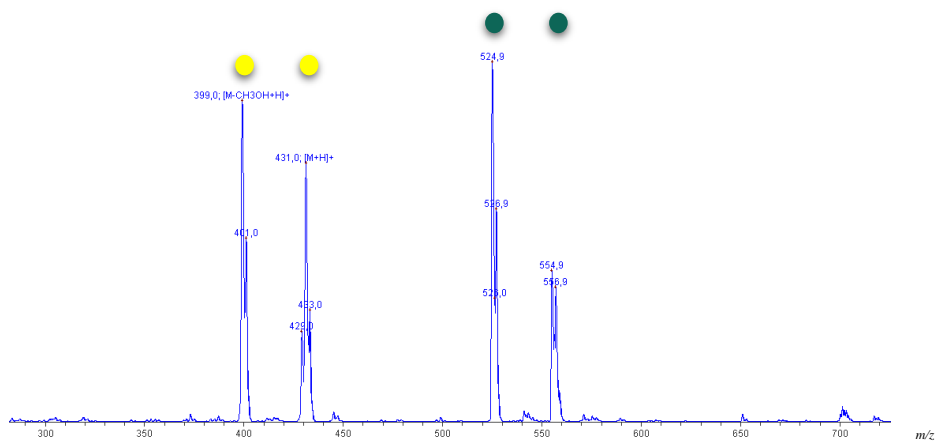


Abbildung 56: Massenspektrum des Produktgemisches von Molekül **57** und **62**.

Durch eine Variation der Reaktionsbedingungen konnte die Selektivität der Reaktion nicht signifikant erhöht werden. Dabei wurde zunächst das Lösungsmittels zu THF gewechselt in dem sich NIS deutlich besser löst als in DCM. Zusätzlich wurde die Konzentration der NIS-Lösung verringert und die Äquivalente von NIS zu Aromat **44** auf 0,9 Äq. reduziert. Auch die Zeit der Zugabe von Iodierungsreagenz wurde auf über fünf Stunden gestreckt.

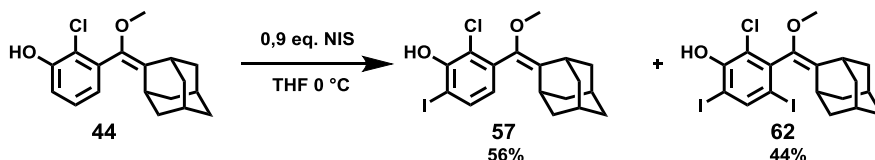


Abbildung 57: Iodierung mit veränderten Reaktionsbedingungen.

In ersten Durchläufen auf der HPLC im analytischen Maßstab konnte gezeigt werden, dass eine Auftrennung der Derivate möglich ist. Hierbei wurde isokratisch mit 10% Ethylacetat in Cyclohexan eluiert. Durch die Verwendung eines Gradienten sollte eine höhere Auflösung erreicht werden. Die Aufreinigung steht noch aus.

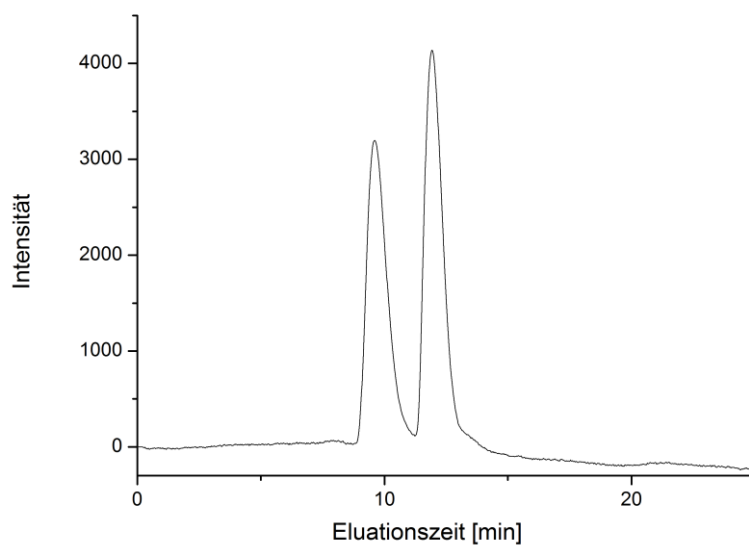
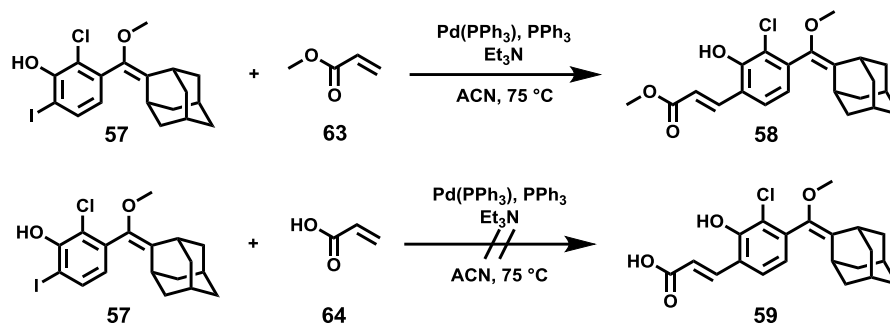
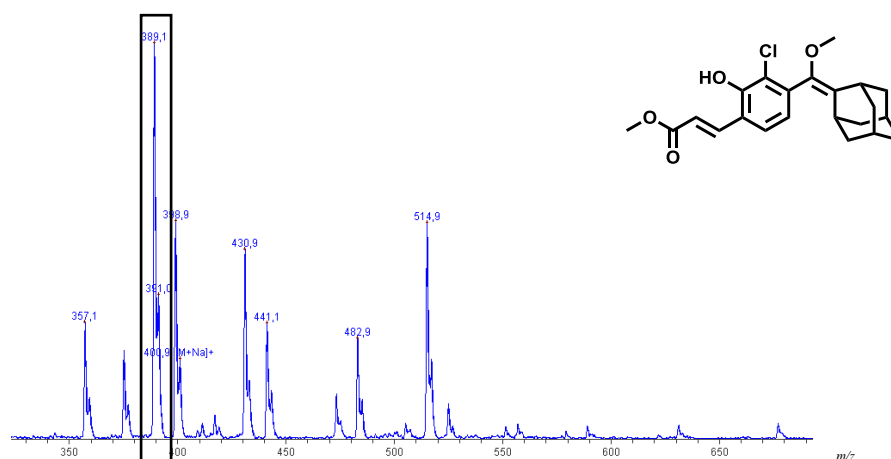


Abbildung 58: Eluationsdiagramm des Produktgemisches von Molekül **57** und **62**.

Um nachzuweisen, ob das gewünschte Kupplungsprodukt **58** zugänglich ist, wurde im Testmaßstab die Heck-Kupplung durchgeführt. Dabei wurde das Produktgemisch aus einfach sowie doppelt iodierten Aromaten verwendet. Zusätzlich wurde getestet, ob die freie Carbonsäure **59** direkt zugänglich ist.

Abbildung 59: Heck-Kupplungen mit Acrylsäure **64** und Acrylsäuremethylester **63**.

Mit Hilfe von Massenspektrometrie (Abbildung 60) konnte der Methylester **58** erfolgreich nachgewiesen werden. Die Umsetzung mit der Acrylsäure zu der freien Carbonsäure **59** lieferte jedoch keinen Umsatz. Ein direkter Umsatz zur freien Säure würde den Schritt der Verseifung umgehen, welcher aufgrund der schlechten Löslichkeit des Moleküls in wässrigen Medien problematisch sein könnte.

Abbildung 60: Massenspektrum der Heck-Kupplung mit Acrylsäuremethylester zu Molekül **58**.

Aufgrund der mangelnden Verfügbarkeit der präparativen HPLC konnten die synthetisierten Stoffe nicht isoliert werden. Somit steht eine weitere Arbeit basierend auf dieser Route noch aus. Die Testreaktionen konnten jedoch zeigen, dass das gewünschte Produkt zugänglich ist und daher eine vielversprechende Variante darstellt. Die hohe Quantenausbeute und die einfache Funktionalisierung liefert ein chemilumineszenten Baustein, welcher vielseitig verwendet werden kann.

3.2 Chemilumineszentes Polymer

Parallel zu den Optimierungen am kleinen Molekül wurde, wie in der Motivation (Abbildung 21) beschrieben, versucht ein Polymer zu synthetisieren, welches das chemilumineszente Molekül beinhaltet. Zusätzlich sollte die Option bestehen, einen Photosensibilisator als Energietransfer-Partner am Polymer anzuknüpfen. Um dies zu erreichen, wurden zwei verschiedene Ansätze verfolgt. Zum einen wurde versucht ein Monomer zu synthetisieren, welches das chemilumineszente Molekül enthält und die Möglichkeit bietet, durch ein Comonomer den Energietransfer-Partner einzuführen. Die zweite verfolgte Möglichkeit ist die Postfunktionalisierung von Polymeren. Dabei sollten synthetische sowie biologische Polymere verwendet werden. Beide Varianten werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.

3.2.1 Darstellung eines chemilumineszenten Monomers

3.2.1.1 Die Wahl des Monomers

Der eleganteste Weg ein Polymer zu erhalten, welches gewünschte Funktionalitäten und benötigte Eigenschaften besitzt, ist es ein Monomer mit diesen Funktionalitäten herzustellen (siehe Theorie 1.4). Dies ermöglicht es durch Variation der Kettenlänge, aber auch durch das Einbauen von diversen Comonomeren ein Polymer zu generieren, welches die gewünschten Eigenschaften im Hinblick auf Löslichkeit und Funktionalität erfüllt. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit nach einer Polymerisationsweise gesucht, in welcher die enthaltenen funktionellen Gruppen toleriert werden. Shabat *et al.*^[22] hat zum Beispiel gezeigt, dass ein Oligomere aus Dioxetanen durch sequentielle Kondensationsreaktionen möglich ist. Dies hat jedoch den entscheidenden Nachteil, dass nur sehr kurze Ketten möglich sind, die Wasserlöslichkeit und damit der Zugang zu biologischen Systemen nicht gewährleistet werden kann, sowie das Einbauen eines Comonomers mit Photosensibilisator nur schwer möglich ist. Aufgrund der Doppelbindung des Enolethers, welche wie in der Theorie beschrieben als Angriffsfläche für das Sauerstoffradikal dient, wurde vermutet, dass eine radikalisch ablaufende Polymerisation nicht verwendet werden kann. Dies wurde getestet, indem eine freie radikalische Polymerisation von MMA mit AIBN (0,05 Äq.) als Initiator in Gegenwart von Molekül **43** durchgeführt wurde. Durch NMR-Spektroskopie mit DMF als Standard wurde dabei der Polymerisationsgrad verfolgt (Abbildung 61).

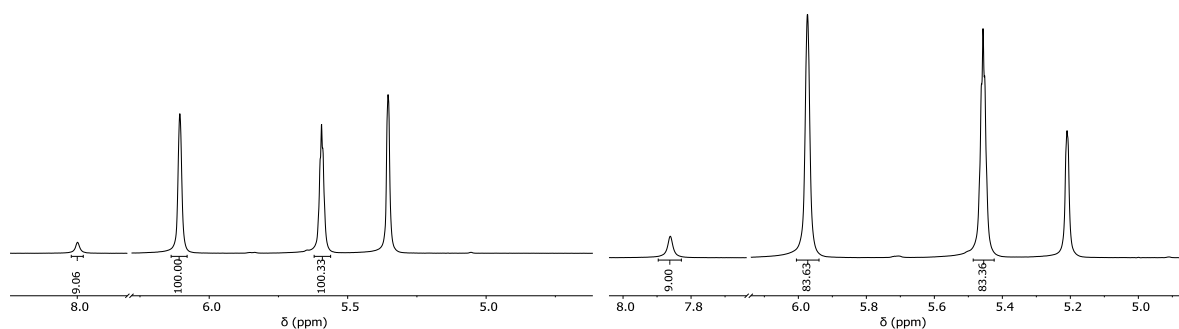
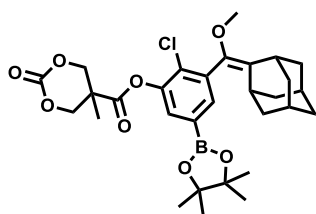


Abbildung 61: Reaktionskontrolle der Polymerisation per NMR-Spektroskopie. Links NMR am Start der Polymerisation, rechts NMR nach 4 h bei 65 °C.

Entgegen der Erwartung bei einer freien radikalischen Polymerisation, konnte auch nach vier Stunden Reaktionszeit nur ein geringer Monomerumsatz beobachtet werden,. Daher wird davon ausgegangen, dass radikalische Polymerisationen in Anwesenheit des Enolethers **43** nicht möglich sind, wobei jedoch Vergleichspolymerisationen in Abwesenheit des Enolethers noch zur Kontrolle durchgeführt werden sollten. Des Weiteren könnte untersucht werden, ob das Dioxetan **9** stabil gegen radikalische Polymerisationen bei Raumtemperatur ist. (z.B. initiiert durch einen Photoinitiator).

Die Darstellung eines Monomers für anionische Ringöffnungspolymerisation, welche in der Theorie 1.4.2 ausführlich beschrieben wurde, könnte hingegen zum Erfolg führen. Dabei lassen sich bei der richtigen Reaktionsführung Ketten beliebiger Länge bilden,^[46] sowie eine breite Vielzahl an Comonomeren^[78] verwenden. Als Monomer wurde 5-methyl-2-oxo-1,3-dioxane-5-carboxysäure gewählt, welches dann über eine Steglich-Veresterung mit dem Phenol zum Monomer **65** verknüpft werden sollte. Dieses Monomer bietet sich aufgrund der in Abschnitt 1.4.2 beschriebenen Polymerisationsbedingungen sowie der Biokompatibilität des entstehenden Polymers besonders für die Polymerisation des Enolethers an. Das Zielmonomer **65** ist in Abbildung 62 gezeigt.



65

Abbildung 62: Zielmonomer für anionische Ringöffnungspolymerisation.

3.2.1.2 Synthese des funktionalen Monomers

Ausgehend von 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionsäure **66** wurde unter stark basischen Bedingungen die Carbonsäure durch Verwendung von Benzylbromid **67** geschützt. Die Schützung ist dringend notwendig, da im folgenden Schritt des Ringschlusses mit Chlorameisensäureethylester eine Vielzahl von Nebenprodukten möglich wäre. Das gewünschte Produkt wurde dabei in Ausbeuten von 32% erhalten.

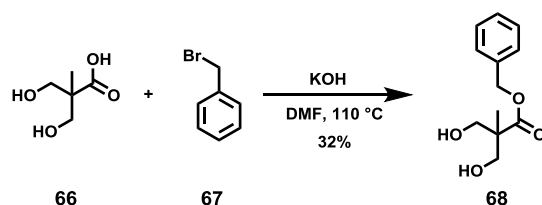


Abbildung 63: Benzylschützung von 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionsäure **66**.

Die geringe Ausbeute lässt sich durch die siebenmalige Umkristallisation zur Reinigung des Produktes **68** erklären. Laut Literatur^[41] soll nur durch Ausschütteln ein farbloser, reiner Feststoff erhalten werden. Da bei Entfernung des Lösungsmittels jedoch ein Gemisch aus farblosen und gelblichem Feststoff zurückblieb, wurde sieben Mal umkristallisiert, bis sich die Lösung nicht mehr gelb verfärbte. Aufgrund der starken Abweichung zur Literatur wird angenommen, dass eines der verwendeten Edukte eventuell kontaminiert war.

Der Ringschluss zwischen den beiden Hydroxy-Gruppen wurde mit Chlorameisensäureethylester durchgeführt. Der farblose Feststoff **69** wurde mit 74% Ausbeute erhalten.

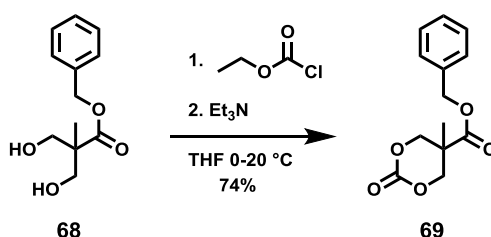


Abbildung 64: Ringschluss mit Chlorameisensäureethylester zu Molekül **69**.

Das zunächst rötliche Produkt wurde durch dreimaliges Umkristallisieren aus Ethylacetat aufgereinigt. Da im nächsten Schritt eine Aufreinigung schwierig ist, ist die hohe Reinheit in dieser Stufe sehr wichtig. Bei der Umkristallisation sollten dabei Temperaturen von über 50 °C vermieden werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde zunächst in siedendem Ethylacetat umkristallisiert, was zur vollständigen Zersetzung des Produkts geführt hat, weshalb die Synthese wiederholt werden musste. Allgemein muss darauf geachtet werden basische Bedingungen, beziehungsweise Kontakt mit Nukleophilen und vor allem Hitze zu vermeiden.

Um die freie Säure **70** zu generieren, wurde im Anschluss die Schutzgruppe durch Hydrierung entfernt. Dies geschah mit Wasserstoff bei ungefähr 500 mbar Überdruck und einem Palladium-Aktivkohle Katalysator.

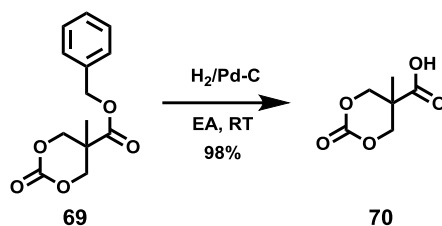


Abbildung 65: Entfernung der Schutzgruppe durch Hydrierung.

Nach Entfernung des Katalysators über eine kurze Celite-Säule wurde das Produkt **70** als weißer Feststoff erhalten und konnte ohne weitere Aufreinigung verwendet werden. Die Ausbeute beträgt somit 98%. Das NMR ist nachfolgend dargestellt.

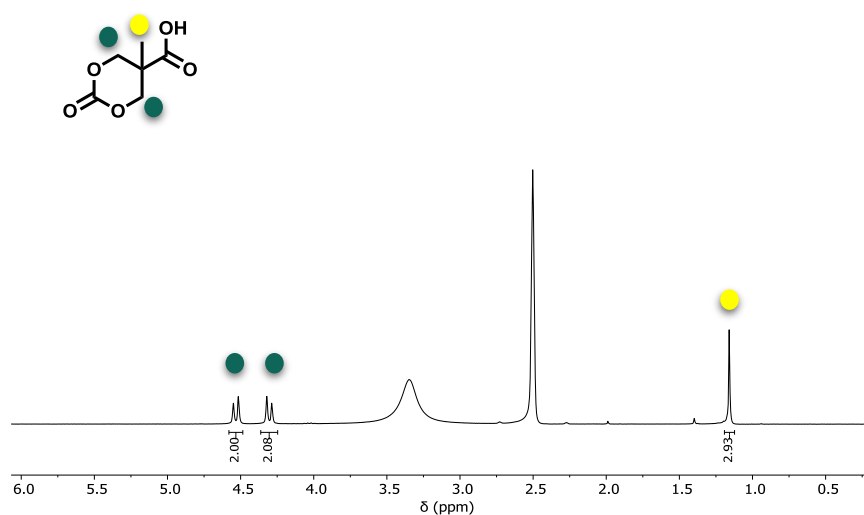


Abbildung 66: NMR der freien Säure **70** in DMSO.

Im letzten Syntheseschritt zur Darstellung des Monomers **65** sollte die freie Säure **70** mit dem entschütztem Phenol **71** des *para*-Borsäureesters umgesetzt werden. Dazu musste die Silyl-Schutzgruppe zuvor entfernt werden. Analog zu vorherigen Entschützung wurde dabei TBAF verwendet. Das Produkt **71** konnte als farbloser Feststoff in Ausbeuten von 90% erhalten werden.

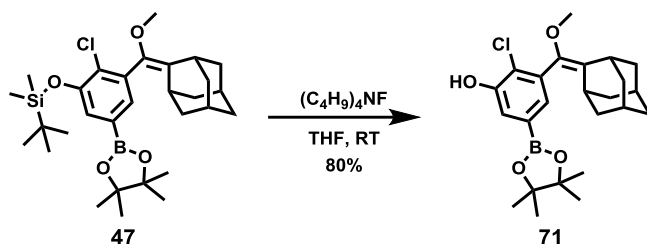


Abbildung 67: Entschützung *para*-Borsäureester **47**.

Um anschließend die Carbonsäure mit dem Phenol zu kuppeln, wurden DCC, sowie katalytische Mengen DMAP, verwendet.

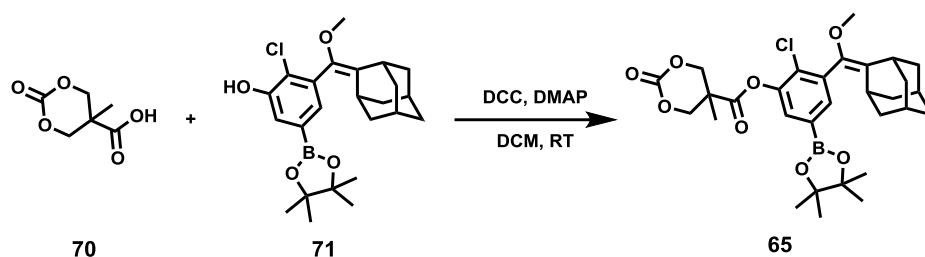


Abbildung 68: DCC-Kupplung zur Darstellung des Ringöffnungsmonomers **65**.

Das erhaltene Produkt **65** wurde zweimal aus Hexan gefällt und ein NMR gemessen, welches in Abbildung 69 sichtbar ist. Im NMR ist deutlich zu erkennen, dass zwei unterschiedliche Phenol-, sowie Säurespezies nebeneinander vorliegen, was die Bildung des Produkts bestätigt jedoch auch zeigt, dass beide Edukte noch vorliegen. Zusätzlich konnte das Produkt durch Massenspektrometrie nachgewiesen werden (Abbildung 70).

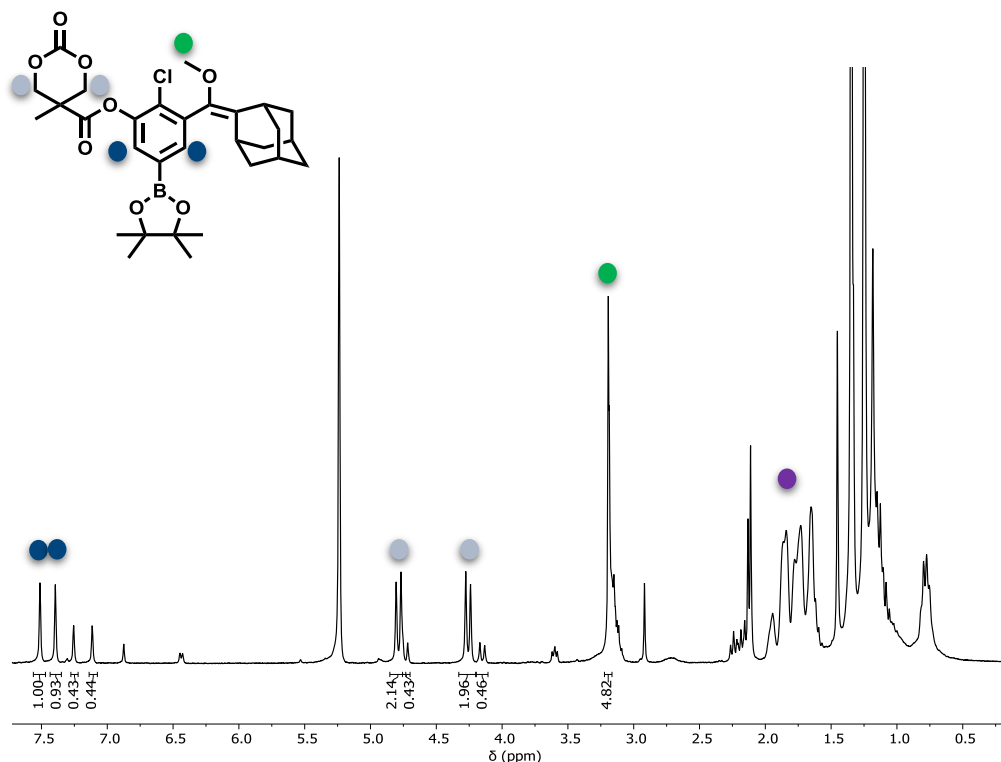
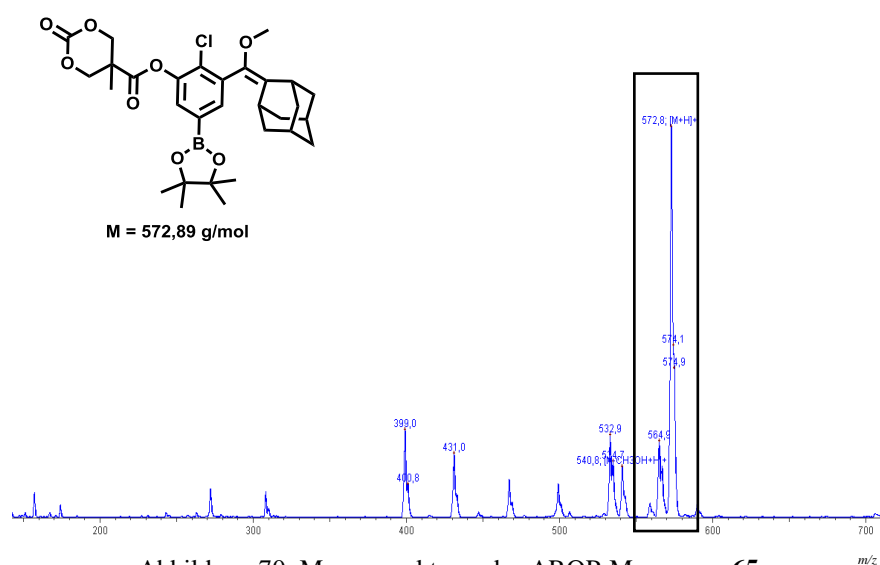
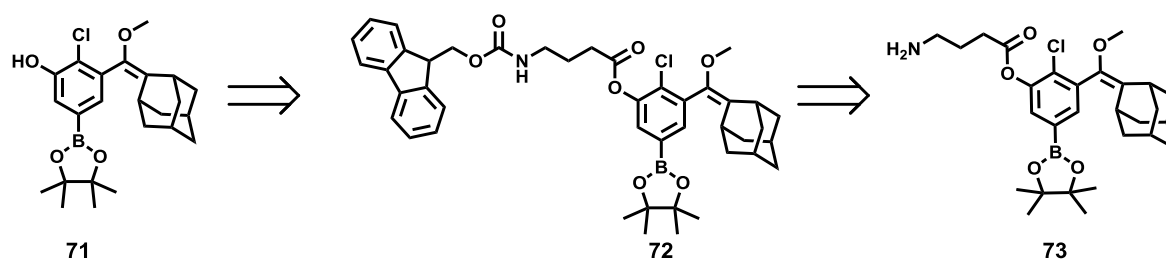


Abbildung 69: NMR-Spektrum der Reaktionsmischung des AROP-Monomers **65**, gemessen in Dichlormethan.

Abbildung 70: Massenspektrum des AROP-Monomers **65**.

Da nach wiederholter Fällung und fehlgeschlagener Umkristallisation das Produkt **65** nicht als Reinstoff isoliert werden konnte, wurde eine säulenchromatographische Aufreinigung durchgeführt. Hierbei konnte das Produkt jedoch nicht isoliert werden. Eine mögliche Begründung dafür ist, dass die Verbindung labil gegen die Bedingungen einer Silica-Säule ist. Bei einer Wiederholung sollte die Trennung mit einer Reverse-Phase Säule oder mit passiviertem Aluminiumoxid in Betracht gezogen werden. Alternativ könnte, um dieses Problem der Aufreinigung zu umgehen, das Anbringen einer Amino-Gruppe über das weniger reaktive Phenol eine Option sein (siehe Abbildung 71). Durch die erhöhte Reaktivität des Amins **73** könnte der Umsatz der DCC-Kupplung verbessert werden. Alternativ könnte statt der freien Säure **70** auch der Pentafluorophenolester^[79] verwendet werden, welcher bei Umsetzungen mit Aminen das gewünschte Produkt in quantitativen Ausbeuten^[68] zugänglich macht. Somit könnte der komplexe Aufreinigungsschritt umgangen werden.

Abbildung 71: Modifizierung des Phenols **71** mit γ -Aminobuttersäure.

Das Amin **73** hat den weiteren Vorteil, dass Amin-Gruppen stabil gegen Singulett-Sauerstoff sind. Dies würde prinzipiell eine Photooxidation am kleinen Molekül ermöglichen, bevor es an das Monomer oder auch ein Polymer gekuppelt wird.

3.3 Polymer Postfunktionalisierung

3.3.1 Synthese eines funktionalisierten Biopolymers

3.3.1.1 Synthesestrategie

Wie zuvor beschrieben, wurde neben der Synthese eines Monomers auch an einer Postfunktionalisierung von Polymeren gearbeitet. Dies sollte den Zugang zu Biopolymeren ermöglichen, wobei die Funktionalisierung eines Proteins mit chemilumineszente Molekül entscheidende Vorteile bieten kann. Durch die Anbindung des Moleküls an ein biologisches Polymer kann die Wasserlöslichkeit des ansonsten sehr unpolaren Moleküls ermöglicht werden. Weiter kann dies dann sogar den Zugang in lebende Organismen gewähren, da Grundvoraussetzung dafür die Wasserlöslichkeit ist. Dadurch wird dem Anwendungsziel als Therapeutikum näher gerückt. Um die Verknüpfung zwischen organischem Molekül und Protein zu ermöglichen, sollte die Maleimid-Thiol-Klick-Chemie^{[63],[67]} (siehe Abschnitt 1.4.3) Verwendung finden.

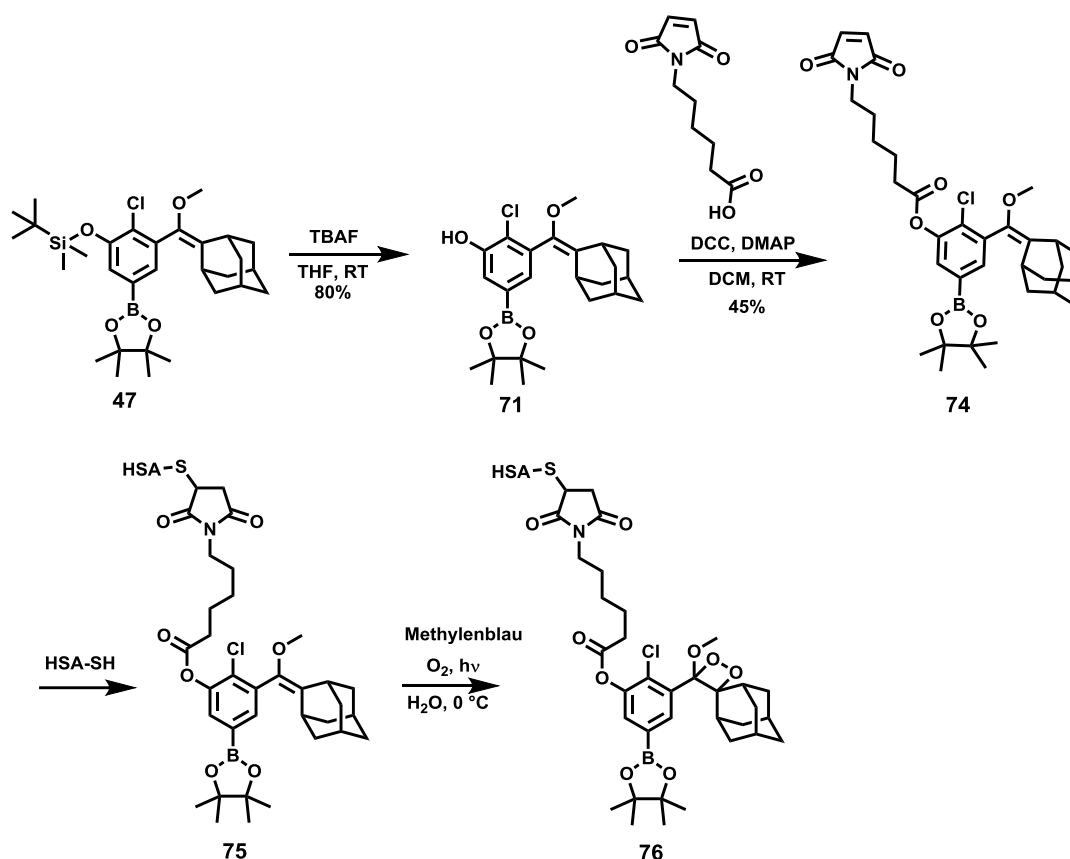


Abbildung 72: Synthesestrategie zum chemilumineszente Biopolymer **76**.

Durch die Entschützung des *para*-Borsäureesters **47** wird die Phenol-Gruppe **71** zugänglich, welche wiederum mit dem Maleimid durch DCC-Kupplung verknüpft werden kann. Das so funktionalisierte Molekül soll im Anschluss an denaturiertes, pegyliertes HSA geknüpft

werden. Das humane Serum-Albumin wird hier als Modellprotein verwendet, da es neben seiner guten Verfügbarkeit in denaturierter Form 35 freie Thiol-Gruppen besitzt.^[80] Die PEG-Funktionalisierung dient hierbei zur besseren Löslichkeit des Proteins. Weiterhin sind dabei noch eine Vielzahl anderer funktioneller Gruppen, wie Carbonsäuren oder Amine, verfügbar, durch die der Photosensibilisator eingeführt werden kann. Dies wurde in einer vorherigen Arbeit dieser Gruppe gezeigt.^[19]

Im Anschluss zur Funktionalisierung über die Thiole sollte die Photooxidation am Protein durchgeführt werden. Um Informationen über die Stabilität des Proteins gegenüber Singulett-Sauerstoff zu erhalten, wurde im Vorfeld das Protein vier Stunden in Anwesenheit von Methylenblau bestrahlt. Dabei konnte mit Hilfe von SDS-Page keine Zersetzung des Proteins im Vergleich zum nicht bestrahlten Protein detektiert werden. Bei der SDS-Page handelt es sich um eine biochemische Methode, bei der eine Auftrennung nach Molekülmassen durch ein elektrisches Feld auf einem Polyacrylamid-Gel durchgeführt wird. Hier sollte jedoch erwähnt werden, dass dies nur eine Aussage darüber zulässt, ob das Protein mit seiner Molekülmasse vorhanden bleibt. Trotzdem können Oxidationen an unterschiedlichen Funktionalitäten, wie den Thiolen bzw. Bisulfiden, stattgefunden haben und das Protein somit chemisch verändert haben. Dieser geringe Massenunterschied ist durch eine SDS-Page nicht sichtbar.

3.3.1.2 Synthese des Maleimids

Ausgehend vom *para*-Borsäureester **47** musste analog zu Abbildung 67 zunächst die Silyl-Schutzgruppe entfernt werden. Bei der anschließenden DCC-Kupplung mit dem Maleimid **77** wurde auf ein basisches Medium aufgrund der Labilität von Maleimid gegen Nukleophile verzichtet. Einzig eine katalytische Menge von DMAP fand Verwendung. Das Produkt **74** konnte in Ausbeuten von 45% mit geringen Verunreinigungen isoliert werden.

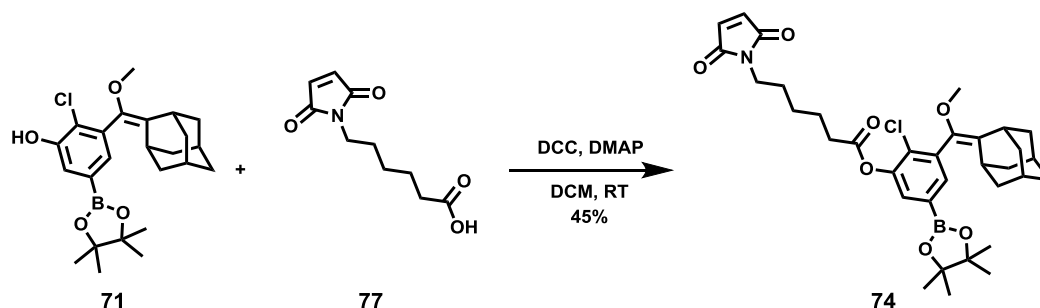


Abbildung 73: Synthese des Maleimid-Derivates **74**.

Die Einbußen in der Ausbeute lassen sich durch die geringe Reaktivität des Phenols **71** erklären. Durch das Substitutionsmuster des Aromaten, vor allem dem Chlorsubstituenten in *ortho*-

Stellung, ist das Phenol besonders sauer. Dies wiederum führt jedoch zu einer Senkung der Nucleophilie und somit zu einer geringeren Reaktivität in Carbonyl-Kupplungsreaktionen. Auch der sterische Einfluss durch den *ortho*-Substituenten verringert die Reaktivität. Das Erhöhen der Reaktionszeit kann hier eventuell zu besseren Ausbeuten führen. Auch sollte ein Wechsel des Kupplungsreagenz in Erwägung gezogen werden, da es bei DCC-Kupplungen zu Nebenprodukten durch Umlagerung kommen kann.^[81] Durch die geringe Nucleophilie und die dadurch langen benötigten Reaktionszeiten steigt der Anteil an Nebenprodukten und senkt die Ausbeute. Das NMR-Spektrum des Produkts ist in der nachfolgenden Abbildung 74 gezeigt. Aufgrund der Sensibilität des Maleimids **74** und der zukünftigen Verwendung bei Kupplungen an Proteine, welche, wie in der Theorie 1.4.3 beschrieben, im großen Überschuss durchgeführt werden, wurde trotz geringfügiger Verunreinigungen bei 6,97 ppm und 5,00 ppm auf eine weitere säulenchromatographische Aufreinigung verzichtet.

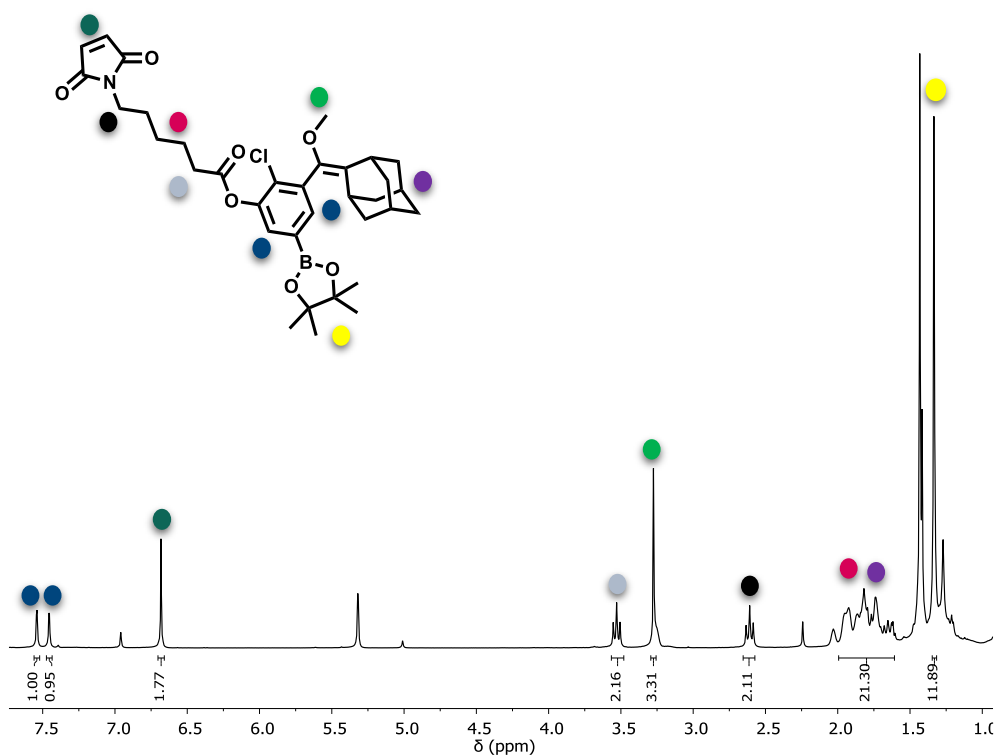


Abbildung 74: NMR-Spektrum des Maleimid-funktionalisierten *para*-Borsäureester **74**, gemessen in Dichlormethan.

3.3.1.3 Funktionalisierung von HSA

Für die folgende Proteinfunktionalisierung wurde ein zuvor kationisiertes und pegyliertes HSA **78** verwendet (MALDI-TOF: Abbildung 77 blauer Graph). Dies bietet den Vorteil, dass die

Löslichkeit des Proteins auch bei Denaturierung gewährleistet ist. Das Protein wurde mit TCEP in 6 M Harnstoff-Puffer denaturiert und anschließend mit dem Maleimid umgesetzt.

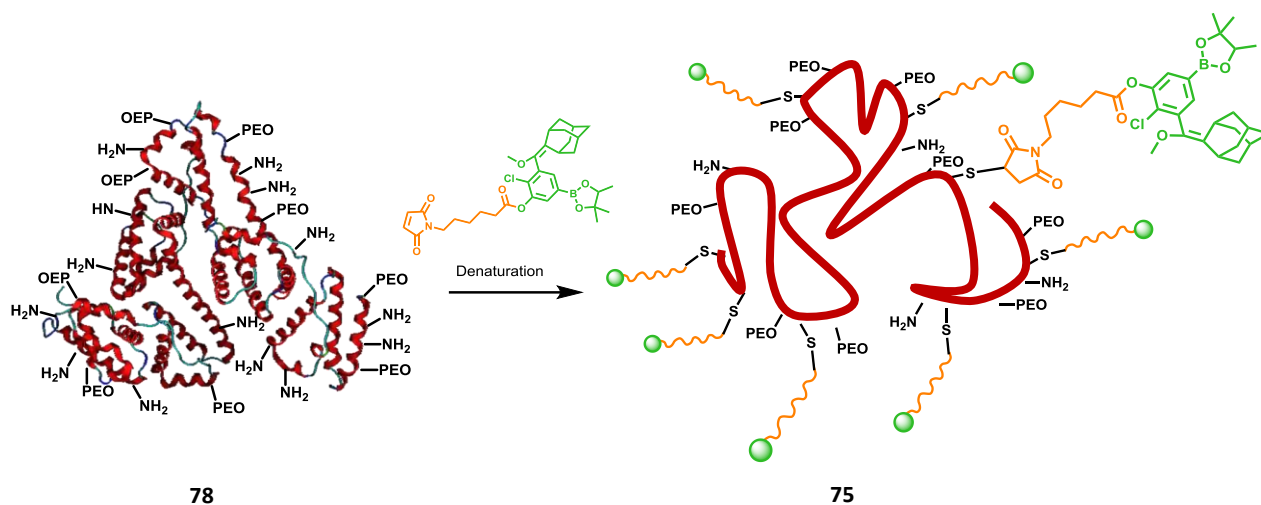


Abbildung 75: Denaturierung von HSA **78** und Funktionalisierung mit Maleimid **74**.

Das erhaltene Biopolymer wurde durch Zentrifugation über Membranfilter gereinigt und mit Hilfe von MALDI-TOF analysiert (Abbildung 77 grüner Graph). Dabei ist eine Erhöhung der Masse von ca. 6 kDa im Vergleich zum Startmaterial messbar. Dies würde eine durchschnittliche Modifizierung mit ungefähr 10 Maleimiden bedeuten. Die anschließende Photooxidation sollte das Dioxetan am Protein bilden.

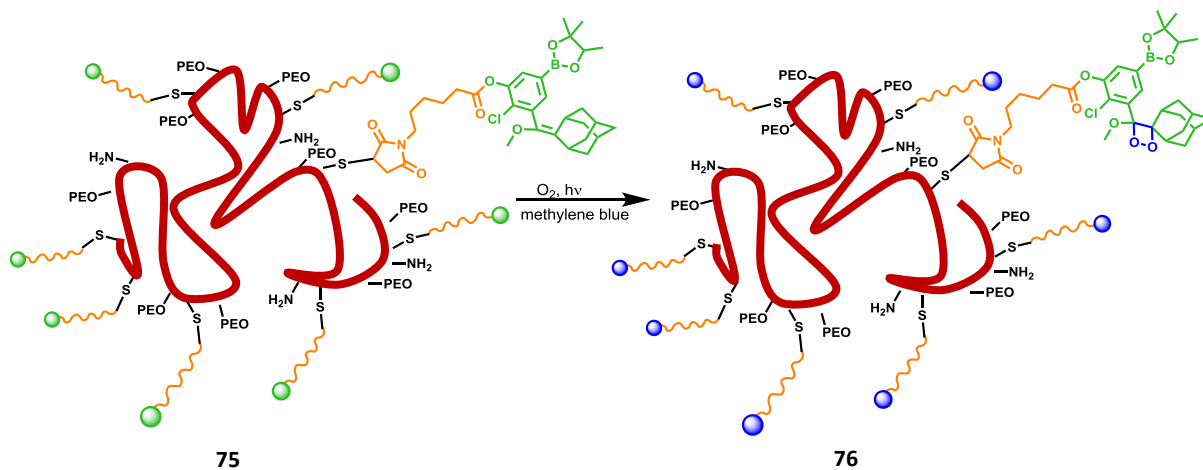


Abbildung 76: Photooxidation am Biopolymer **75**.

Die Analyse der Reaktion sollte per MALDI-TOF und Messung der Chemilumineszenz erfolgen, wobei eine so geringe Verschiebung der Masse nur schwer zu sehen sein sollte. Im optimalen Fall wären bei 10 Maleimiden und daraus folgenden 10 Dioxetanen eine Masse von 320 Da hinzugekommen. Das würde eine Erhöhung der Masse um 0,25% entsprechen.

Aufgrund des erhaltenen MALDI-TOF-Spektrums nach der Photooxidation, welches ebenfalls in Abbildung 77 in orange gezeigt ist und ein schlechtes Signal-zu-Rausch Verhältnis besitzt,

wird vermutet, dass das erhaltene Biopolymer **76** nicht mehr ausreichend Ionisiert werden konnte. Daher ist ein Rückschluss auf die Ausbeute bzw. den Erfolg der Photooxidation über die Veränderung der Molekülmasse nicht möglich.

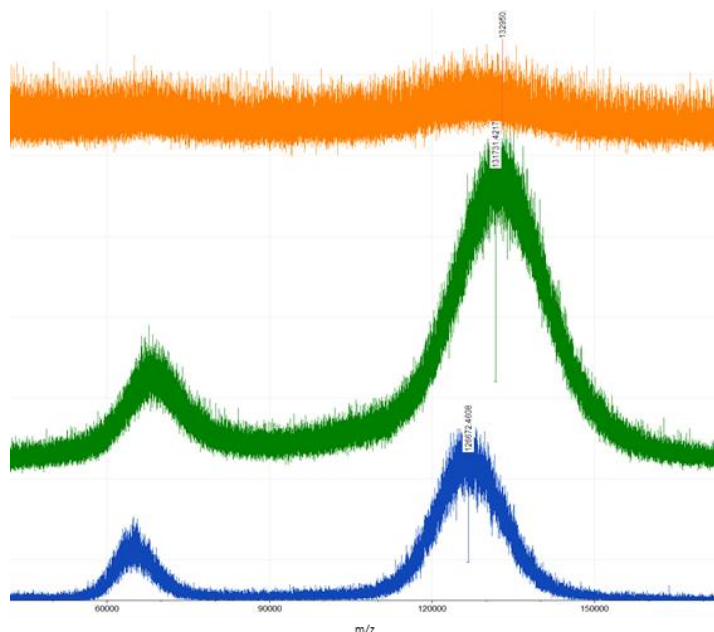


Abbildung 77: MALDI-TOF Spektren der funktionalisierten Biopolymere **75**, **76** und **78**.

Die Ergebnisse der durchgeführten Chemilumineszenz-Messungen des am Biopolymer gebildeten 1,2-Dioxetans lieferten keine signifikanten Ergebnisse (Anhang, Abbildung 95).

Dies lässt sich auf zwei Gründe zurückführen. Aufgrund des hohen Molekulargewichtes des Proteins von ungefähr 132 kDa und der daraus folgenden geringen molaren Menge, welche gemessen wurde ($\sim 0,1 \text{ mg} \cong \sim 0,7 \text{ nmol}$), sind bei einem vollständigen Umsatz der Photooxidation nur ca. 7 nmol an Dioxetan vorhanden. Daraus resultiert eine um den Faktor 100 kleinere maximale Anzahl an zu detektierenden Photonen. Diese kleine Photonenanzahl ist vermutlich zu gering, um sie vom Untergrundrauschen zu unterscheiden. Eine weitere Vermutung ist, dass durch das Protein dynamische Effekte entstehen, was die Durchmischung der beiden Lösungen und somit die Auslösung der Chemilumineszenz erschweren kann. Dies kann dazu führen, dass nur nach und nach chemilumineszente Moleküle von Wasserstoffperoxid-Molekülen erreicht und die Chemilumineszenz im Laufe der Zeit ausgelöst wird. Dies führt zu einer zeitlich versetzten Photonenemission und erschwert somit erheblich die Detektion. Somit konnte nicht nachgewiesen werden, ob es möglich ist das Dioxetan am Protein aufzubauen.

Auch hier verspricht das in Abbildung 71 dargestellte Amin-Derivat **73** eine verbesserte Möglichkeit zur Biopolymer-Funktionalisierung. Das Dioxetan kann am kleinen Molekül gebildet werden, was zum einen die Analyse bzw. Reaktionskontrolle ermöglicht, zum anderen

aber auch gewährleistet, dass das Protein nicht durch den Singulett-Sauerstoff beschädigt wird. Zusätzlich ermöglicht das Amin die Funktionalisierung an Protein-Säuregruppen, welche in vielen Proteinen in deutlich größere Anzahl auch ohne vorherige Denaturierung verfügbar sind.

3.3.2 Funktionalisierung eines synthetischen Polymers

3.3.2.1 Wasserlösliches Block-Copolymer

Die Postfunktionalisierung eines synthetischen Polymers bietet ähnliche Möglichkeiten wie die eines Proteins. Ein Vorteil bei der Verwendung eines synthetischen Polymers ist jedoch, dass die Kettenlänge nahezu frei gewählt werden kann und synthetische Polymere ein deutlich höheres Verhältnis von funktionellen Gruppen zu Molekulargewicht besitzen. Durch die Wahl von kurzen Polymeren mit geringen Molekulargewichten sollte die nachfolgenden Schritte erleichtern. Werden die Ketten zu lang und es kommt zur unvollständigen Funktionalisierung, können die entstehenden funktionalisierten Polymere durch große polaritätsunterschiede unlöslich werden, was die Aufreinigung deutlich erschwert. Weiterhin kann die Analyse kürzerer Polymere einfacher sein. Hier kann häufig noch im NMR auf die Endgruppe referenziert werden und somit der Umsatz der Postfunktionalisierung bestimmt werden. Eine Analyse durch Massenspektrometrie hingegen ist nach Postfunktionalisierungen deutlich erschwert, da dort eine komplexe Ionisierung und Fragmentierung auftreten kann, woraus die Identifizierung der Polymerisation häufig schwierig wird.

Zunächst sollte ein kommerziell erhältliches Block-Copolymer aus Acrylsäure und D-, L-Lactid funktionalisiert werden. Dieses kann über seine Säuregruppen modifiziert werden und besitzt durch das Lactid eine erhöhte Wasserlöslichkeit. Aufgrund der beobachteten geringen Reaktivität des Phenols bei Carbonyl-Kupplungen sollte das Polymer durch eine Mitsunobu-Reaktion mit dem freien Phenol **71** funktionalisiert werden. Bei der Mitsunobu-Reaktion können Carbonsäuren oder Alkohole mit Alkoholen zu Ethern oder Estern umgesetzt werden. Der Reaktionsmechanismus ist in der folgenden Abbildung beispielhaft an der Umsetzung einer Säure mit einem Alkohol dargestellt.

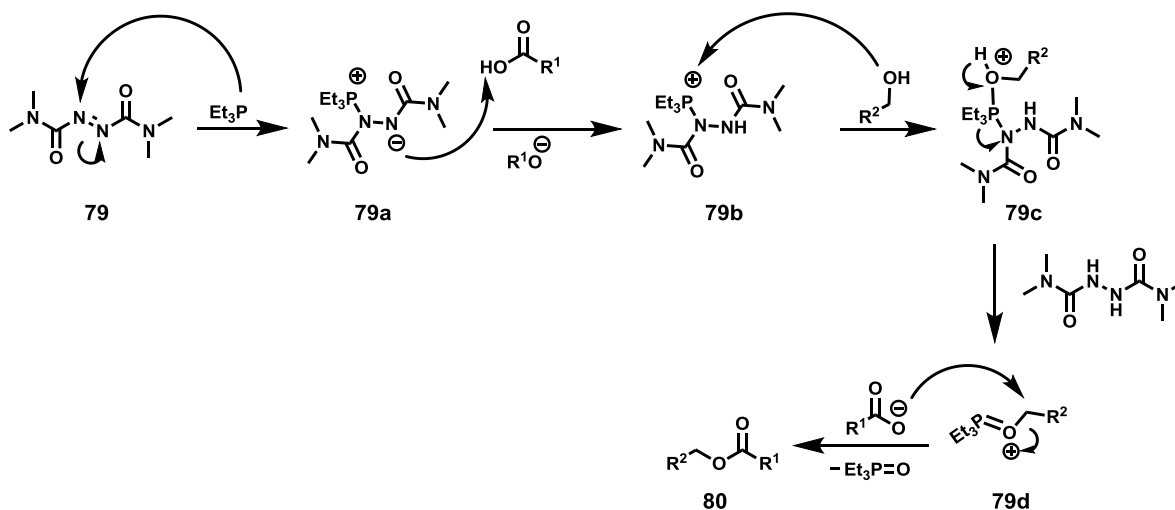


Abbildung 78: Mechanismus der Mitsunobu-Reaktion.

Als Kupplungsreagenzien werden bei der Mitsunobu-Reaktion Diazo- und Diazodicarbonylverbindungen und Phosphine verwendet, wobei eine große Anzahl unterschiedlicher Reagenzien zur Auswahl steht.^{[82],[83]} Die Reaktion beginnt mit der Ausbildung eines Phosphonium-Intermediates **79a** (Huisgen-Zwitterion) durch den Angriff des freien Elektronenpaares des Phosphors auf einen der Diazo-Stickstoffe. Das Intermediat besitzt eine ausreichende Basenstärke, um die Säure zu deprotonieren und somit für den späteren nukleophilen Angriff zu aktivieren. Der in der Reaktionslösung vorliegende Alkohol greift im nächsten Schritt den positiv geladenen und somit aktivierten Phosphor an. Dadurch spaltet sich ein stabiles Hydrazinderivat ab. In einer Substitutionsreaktion greift im letzten Schritt das Carboxylat die in α -Position zum Sauerstoff stehende Methylene-Gruppe **79d** an und bildet den Säureester **80** aus. Die Bildung eines Ethers aus zwei Alkoholen läuft dabei analog ab, wobei der weniger nukleophile Alkohol substituiert wird.

Das wasserlösliche Block-Copolymer mit freien Säuren **81** sollte nun nach dem eben dargestellten Mechanismus mit dem Phenol **71** umgesetzt werden. Als Kupplungsreagenzien wurde Triethylphosphin sowie Azopyridin verwendet, da es sich besonders gut für eine Mitsunobu-Reaktion mit Säuren eignet. Die geringe Nukleophilie des dabei gebildeten Huisgen-Zwitterions verhindert hier die bei Diazodicarbonylverbindungen auftretende Nebenreaktion. Dies ist wichtig, da das in der Reaktion gebildete Carboxylat ein schwaches Nukleophil ist, was eine längere Reaktionszeit und somit mehr Nebenprodukte bedeuten würde.^[83]

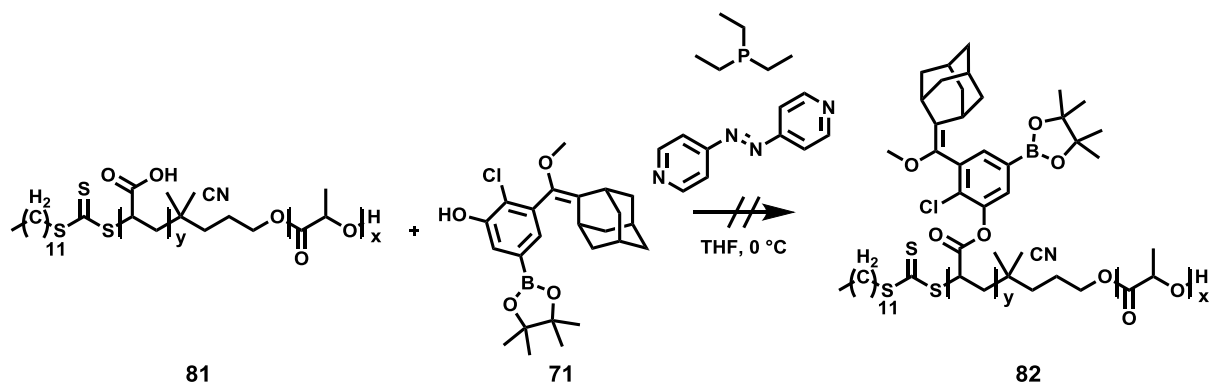


Abbildung 79: Mitsunobu-Reaktion am Polymer **81**. Funktionalisierung von Acrylsäuregruppen mit dem Phenol **71**.

Das Polymer **82** wurde durch Dialyse gereinigt. Es konnte jedoch nicht das gewünschte Produkt isoliert werden. Während sich die zumeist gelben Diazoverbindungen normalerweise während der Reaktion rasch entfärben, kam es hier nicht zur Entfärbung. Auch das erhaltene Polymer war gelb gefärbt.

3.3.2.2 MMA/HEMA Copolymer

Während Mitsunobu-Reaktionen an Säuren zumeist eher mäßige Ausbeuten liefern, finden primäre Alkohole häufiger Verwendung und liefern bei der Kupplung mit nukleophilen Alkoholen meistens hohe bis sehr hohe Ausbeuten.^{[72],[84]} Daher liegt es nahe, ein Copolymer aus HEMA und MMA zu synthetisieren, um dieses an seinen freien Hydroxy-Gruppen über eine Mitsunobu-Reaktion zu funktionalisieren. Als Polymerisationsmechanismus wurde die freie radikalische Polymerisation gewählt, wobei jedoch ein Thiol als Kettenabbruchsreagenz zugegeben wurde, um möglichst kurze Ketten zu erhalten. Eine kurze Kettenlänge soll die folgende Analytik vereinfachen und zudem die Eigenschaften des Polymers, wie Löslichkeit positiv beeinflussen. Eine Funktionalisierung der Hydroxy-Gruppen des Polymers durch den unpolaren Enolether senkt die Löslichkeit des Polymers in Wasser stark. Weiterhin könnte die Kombination aus polaren und unpolaren Gruppen am Polymeren zu Löslichkeitsproblemen führen.

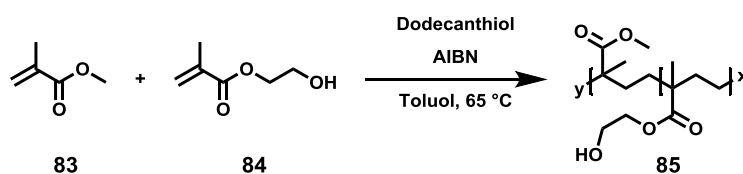


Abbildung 80: Polymerisation von MMA **83** und HEMA **84**.

Der Umsatz des Monomers wurde durch NMR-Spektroskopie verfolgt. Er wird sichtbar durch das Verhältnis der in α -Position zur Hydroxy-Gruppe stehenden Protonen am HEMA

(t, 3,80 ppm) zu der Methylgruppe am MMA (s, 3,68 ppm). Die zeitliche Veränderung ist in den folgenden NMR gezeigt. Auf der linken Seite befindet sich das NMR vor dem Start der Polymerisation. Durch den Vergleich der Integrale wird sichtbar, dass dort der 9-fache Überschuss an MMA zu HEMA vorliegt. Auf der rechten Seite ist die Reaktionskontrolle nach vier Stunden gezeigt. Wie zu sehen ist, sinkt das Signal der Methyl-Gruppen auf nur noch das 6-fache, während sich bei 3,51 ppm das breite Singulett der am Polymer befindlichen Methyl-Gruppen bildet. Durch die bei weiterem Umsatz steigende Viskosität kommt es zu einer steigenden Polydispersität, weshalb an diesem Zeitpunkt die Polymerisation beendet wurde.

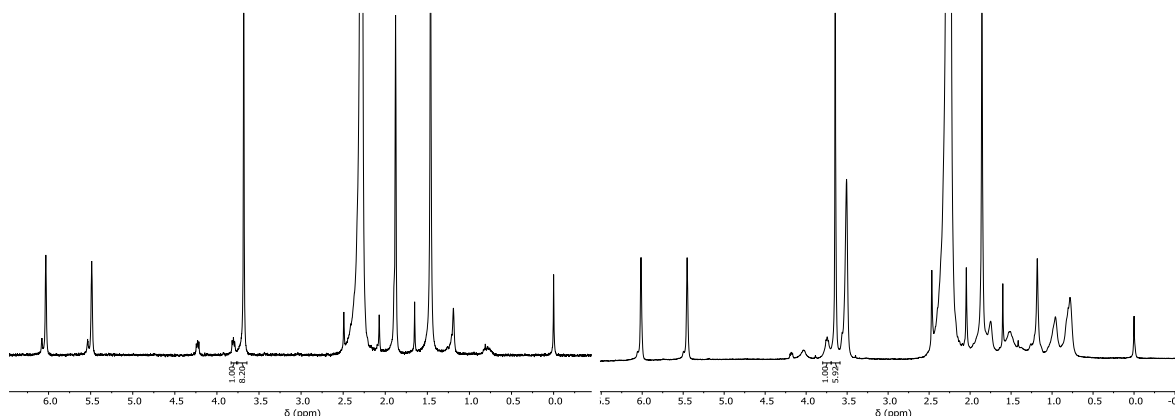


Abbildung 81: Reaktionskontrolle der radikalischen Polymerisation. Links NMR am Startpunkt, rechts nach 4 Stunden, gemessen in Chloroform.

Das erhaltene Polymer **85** wurde durch wiederholte Fällung in Hexan von den Monomeren getrennt. Das NMR-Spektrum des Polymers sowie dessen GPC-Daten sind in der nächsten Abbildung sichtbar.

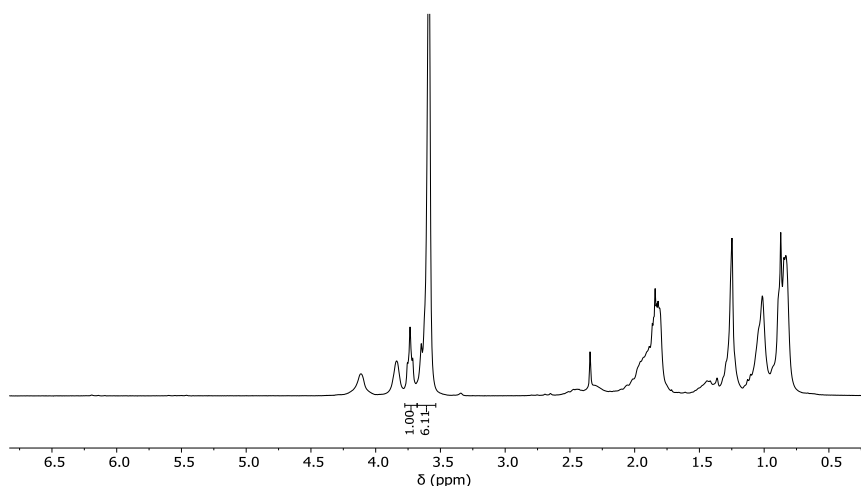
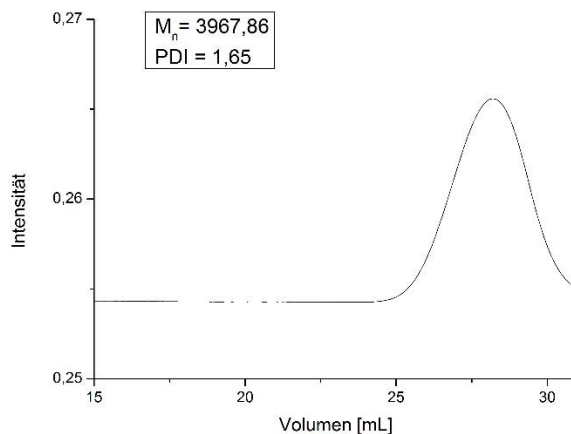
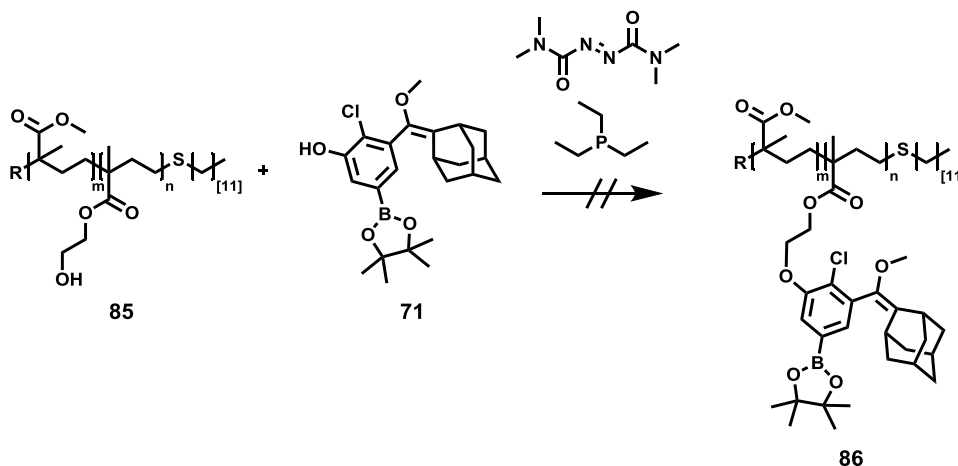


Abbildung 82: NMR des HEMA/MMA Polymers **85**, gemessen in Chloroform.

Abbildung 83: GPC-Daten des HEMA/MMA Polymers **85**.

Durch die Reaktionsführung konnte somit ein Polymer mit einem \overline{M}_n von knapp 4000 und einem PDI von 1,65 erhalten werden.

Die Hydroxy-Gruppen des erhaltenen Polymers sollte im Anschluss via Mitsunobu-Reaktion funktionalisiert werden. Dazu wurde als Kupplungsreagenzien Triethylphosphin sowie 1,1'-Azobis(*N,N*-dimethylformamid), aufgrund seiner im Vergleich zu 4,4-Azopyridin höheren Basenstärke, ausgewählt. Dies soll die Deprotonierung des Phenols gewährleisten.

Abbildung 84: Mitsunobu-Postfunktionalisierung eines MMA/HEMA-Copolymer **85**.

Das aus der Reaktion erhaltene Polymer **86** konnte in keinem untersuchten Lösungsmittel gefällt werden, da es immer Emulsionen bildete. Aufgrund dessen wurde zunächst das Lösungsmittel entfernt, das Polymer in Chloroform gelöst und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde dann im Anschluss in Chloroform dialysiert. Diese Schritte sollten das Polymer von den Reagenzien trennen. In der nachfolgenden Abbildung sind NMR und GPC-Ergebnisse dargestellt.

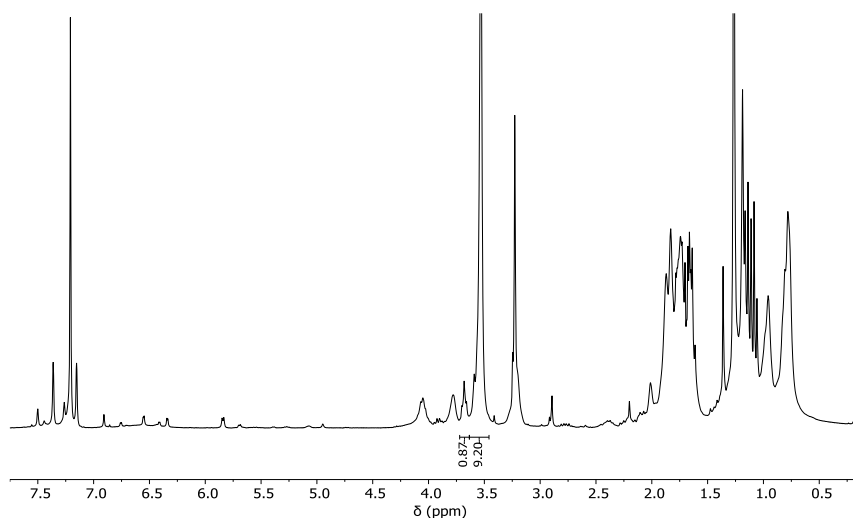


Abbildung 85: NMR-Spektrum des postfunktionalisierten HEMA/MMA Copolymer **86**, gemessen in Chloroform.

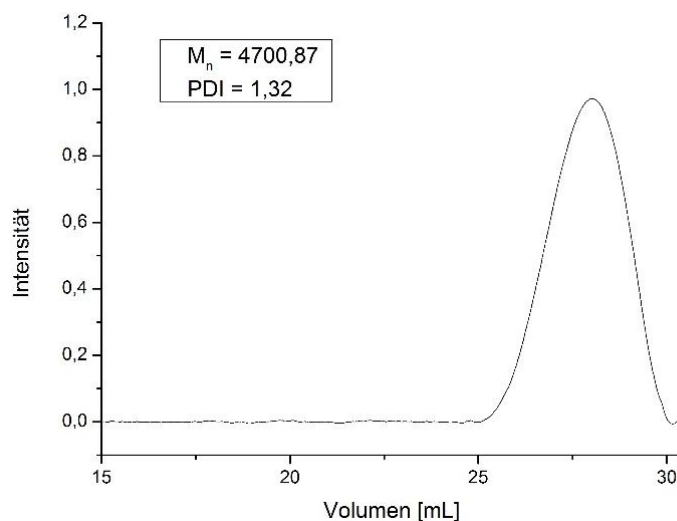


Abbildung 86: GPC-Daten des postfunktionalisierten HEMA/MMA Copolymers **86**.

Die erhaltenen Werte aus NMR, sowie GPC, sind nicht aussagekräftig. Aus der GPC wird ersichtlich, dass das Polymer funktionalisiert ist, da keine Veränderung der Form des Peaks in der GPC auftritt. Dies lässt Polymer-Polymer Verknüpfungen ausschließen. Zusätzlich hat sich M_n sowie der PDI verändert, was ebenfalls die Funktionalisierung bestätigt. Die starke Verringerung des PDI's um 0,3 kann jedoch nicht erklärt werden. Auch die NMR-Daten können keinen genaueren Rückschluss auf die Reaktionsprodukte liefern. Zwar kann eine Veränderung des Verhältnisses von α -Hydroxy- zu MMA-Methylen-Protonen beobachtet werden, was die Funktionalisierung der Hydroxy-Gruppen bestätigt, jedoch ist es nicht möglich die zusätzlich erscheinenden Signale im NMR einem Produkt zuzuordnen. Somit steht eine Optimierung der Reaktionsbedingungen inklusive eines eventuellen Wechsels der Reagenzien noch aus. Aufgrund der flexiblen direkten Bindungsknüpfung zu Ethern bietet die Mistunobu-Reaktion jedoch auch für zukünftige Postfunktionalisierungen eine vielversprechende Methode.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war die Synthese eines in Abbildung 87 gezeigten chemilumineszenten Hybrid-Materials. Dieses soll aus drei Komponenten bestehen. Einem chemilumineszenten Molekül (rot), einem Photosensibilisator (blau) sowie ein Polymer-Rückgrat (grün), an das die beiden Funktionalitäten gebunden sind. Die in der Zielsetzung (Abschnitt 2) in Abbildung 21 schematisch dargestellte Idee eines solchen Hybrid-Materials hat sich im Rahmen dieser Arbeit zum folgenden, in Abbildung 87 dargestellten Polymerdesign weiterentwickelt.

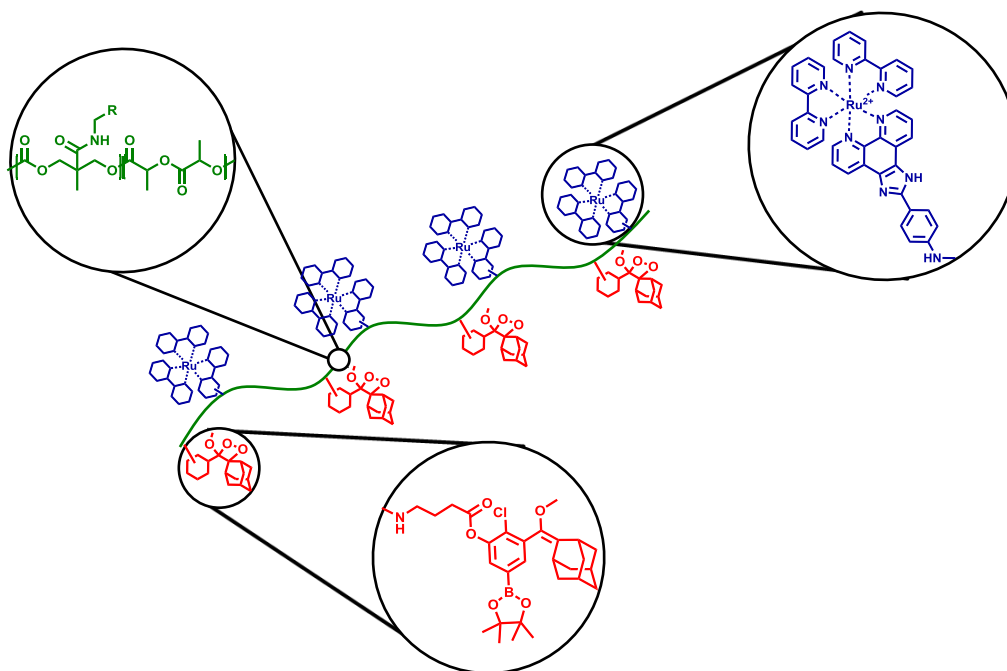


Abbildung 87: Ausblick auf ein chemilumineszentes Hybrid-Material.

Um das abgebildete Zielpolymer darzustellen, können, wie in der Theorie Abschnitt 1.4.3 beschrieben, zwei unterschiedliche Routen verfolgt werden. In dieser Arbeit wurden dabei sowohl die Postfunktionalisierung, als auch die direkte Monomer-Synthese dafür in Erwägung gezogen, wobei auf die verschiedenen Anforderungen sowie die synthetische Umsetzung im Folgenden eingegangen wird.

Für beide Routen wurde das chemilumineszente Molekül in ausreichenden Mengen benötigt. Dieses konnte im Rahmen dieser Arbeit in Form zweier Derivate erfolgreich im großen Maßstab dargestellt und analysierten werden. In einer 6- bzw. 8-stufigen Synthese, dessen Syntheschema in Abbildung 24 gezeigt ist, wurde mit Gesamtausbeuten von 40% für das *para*-Borsäureesterderivat **47** und 26% für das *ortho*-Borsäureesterderivat **46** über alle Stufen erhalten und dabei die einzelnen Schritte weiter optimiert. Auch der kritische Schritt der Dioxetanbildung und Isolierung konnte für das wichtige *para*-Derivat **55** optimiert werden und

lieferte das ausreichend reine Produkt. Die aus den Grundbausteinen (**46** und **47**) dargestellten Dioxetane sind in Abbildung 88 gezeigt.

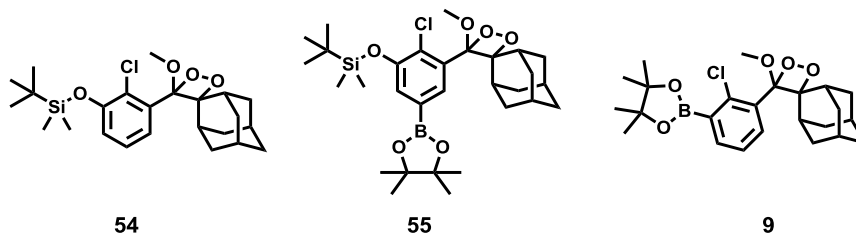


Abbildung 88: Dargestellte 1,2-Dioxetane.

Sowohl für eine Postfunktionalisierung, als auch für die Monomersynthese, muss das chemilumineszente Molekül über eine funktionelle Gruppe verknüpfbar sein. Auf einige mögliche Gruppen wurde in der Theorie 1.4.3 genauer eingegangen. Dabei war es eine große Herausforderung funktionelle Gruppen zu finden, die nicht zu Nebenreaktionen mit dem chemilumineszenten Molekül führen und zudem auch stabil gegen die Bedingungen der Photooxidation und dem dabei *in situ* generierten Singulett-Sauerstoff sind.

Auf Basis dessen wurden drei verschiedene Derivate entwickelt, welche durch ihre unterschiedlichen funktionellen Gruppen flexibel in diversen Anwendungsbereichen eingesetzt werden können.

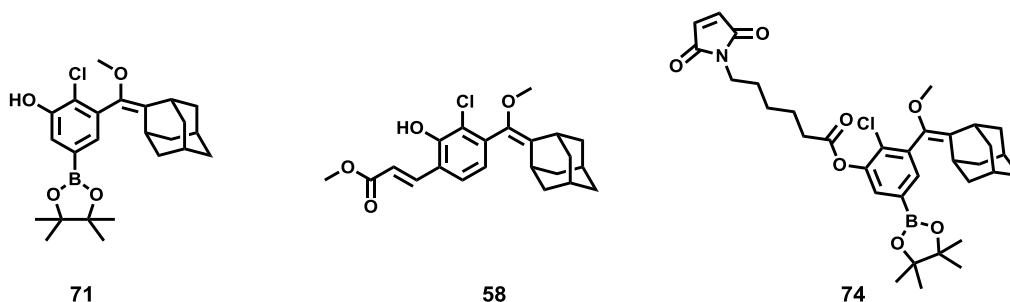


Abbildung 89: Synthetisierte Derivate mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen.

Durch die Darstellung des *para*-Borsäureester **47** und anschließender Entfernung der Silyl-Schutzgruppe wird das freie Phenol **71** zugänglich, welches zum einen über Steglich-Veresterung, als auch potenziell per Mitsunobu-Reaktion funktionalisiert werden kann.

Durch die Iodierung am Aromaten und anschließender Heck-Kupplung konnte gezeigt werden, dass ein durch einen Acrylsäureester funktionalisiertes Derivat **58** zugänglich ist. Ein somit eingeführtes *push-pull*-System erhöht die Quantenausbeute der Chemilumineszenz laut Literatur erheblich.^[27] Dies soll die Analyse der Chemilumineszenz auch bei kleinen Stoffmengen, wie sie z.B. in einem Biopolymer (Abschnitt 3.3.1.3) auftreten, vereinfachen. Weiterhin lässt sich nach einer Verseifung des Esters anschließend die Carbonsäure **59** beispielsweise durch Amidierungen elegant funktionalisieren.

Über eine Steglich-Veresterung konnte das mit einer Maleimid-Gruppe modifizierte Derivat **74** dargestellt werden. Dieses ermöglicht eine Konjugation mit freien Thiolgruppen, wie sie beispielsweise in denaturierten Proteinen und Peptiden vorkommen sowie eine ortsspezifische Funktionalisierung. In dieser Arbeit konnte das Maleimid-Derivat **74** entsprechend mit einem pegylierten HSA erfolgreich konjugiert werden.

Für die Synthese eines funktionalen Monomers, dass zu einem Hybrid-Material führen sollte, wurde die anionische Ringöffnungspolymerisation als Polymerisationstechnik gewählt. Diese Wahl wurde getroffen, da sowohl kationische, als auch radikalische Polymerisationen aufgrund des Enolethers nicht möglich sind. Im Gegensatz dazu sollte die Vorstufe des Dioxetans **47** gegen die in der Theorie 1.4.2 beschriebenen milderen Bedingungen der Ringöffnungspolymerisationen stabil sein und somit die Synthese eines Polymers, das den chemilumineszenten Grundbaustein in der Wiederholeinheit trägt, ermöglichen. Ein weiterer positiver Aspekt dieses Ansatzes ist die Biokompatibilität der verwendeten Polycarbonate. Für die spätere Anwendung in Zellen ist dies eine wichtige Voraussetzung.

Das in Abbildung 90 gezeigte Monomer **70** konnte erfolgreich dargestellt werden. Über die freie Carbonsäure wurde im Anschluss der chemilumineszente Grundbaustein an das Monomer geknüpft. Das Produkt **65** konnte nachgewiesen, jedoch nicht isoliert werden. Eine Wiederholung der Synthese steht noch aus.

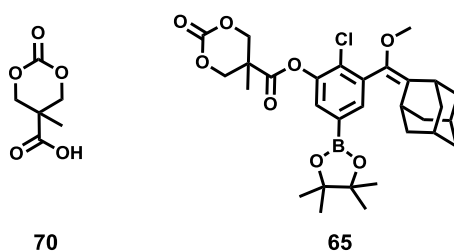


Abbildung 90: Monomer für die anionische Ringöffnungspolymerisation.

Durch die Umsetzung des Phenols zum in Abbildung 91 gezeigten Amin **73** könnten in Zukunft einige Probleme der Synthese und Aufreinigung durch die höhere Reaktivität des freienamins im Vergleich zum Phenol umgangen werden. Dies kann eine einfachere Zugänglichkeit zum resultierenden Monomer **87** ermöglichen.

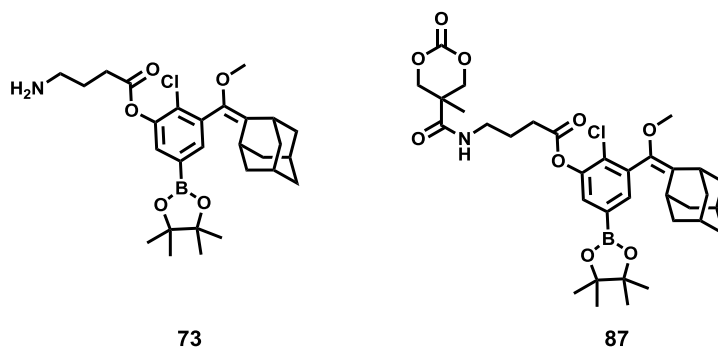


Abbildung 91: Mögliche Funktionalisierung des chemilumineszenz Grundbausteins.

Das verwendete Monomer **70** ist besonders interessant, da zusätzlich auch der Photosensibilisator in Form des in Abbildung 92 gezeigten Ruthenium-NH₂ **12** über ein Säureamid an dieses gebunden werden kann und somit als Comonomer **88** fungieren kann.

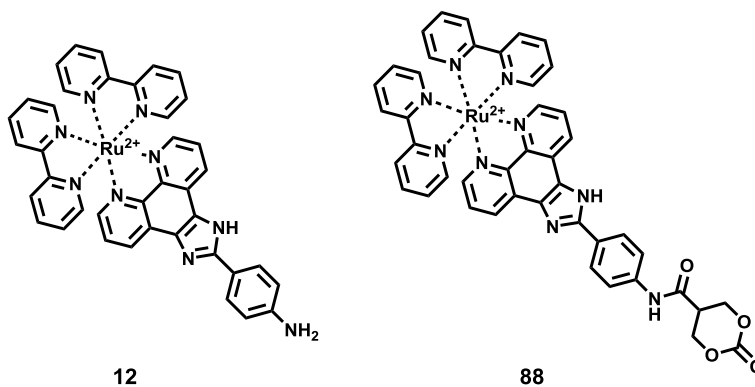


Abbildung 92: Monomer mit Photosensibilisator als zukünftiges Syntheseziel.

Dadurch wäre es möglich beide Monomere gemeinsam zu polymerisieren und somit das in Abbildung 87 gezeigte chemilumineszente Hybrid-Material darzustellen. Dieses ist dann potenziell in der Lage durch die Auslösung der Chemilumineszenz und den darauffolgenden Energietransfer auf den Photosensibilisator Singulett-Sauerstoff bereitzustellen.

5 Experimentalteil

5.1 Allgemeines und Messmethoden

5.1.1 Chemikalien und Reaktionsführung

Die verwendeten Lösungsmittel und Chemikalien wurden ohne weitere Reinigung und Trocknung eingesetzt. Ausnahmen sind in den Versuchsdurchführungen genannt. Die verwendeten Chemikalien wurden von kommerziellen Anbietern erhalten, auch hier sind Ausnahmen in der Versuchsdurchführung beschrieben. Alle Reaktionen wurden unter Ausschluss von Luft und Wasser durchgeführt. Das Lösemittel wurde mithilfe eines Rotationsverdampfers im Vakuum entfernt. Dieser wurde bei einer Wasserbadtemperatur von 40 °C und Membranpumpenvakuum betrieben.

5.1.2 Chromatographie

5.1.2.1 Dünnschichtchromatographie

Bei der analytischen Dünnschichtchromatographie fanden Alumgram[®] Sil G/UV₂₅₄ Kieselgel 60-DC-Fertigfolien Verwendung. Die Lösemittelverhältnisse beziehen sich auf deren Volumina.

UV-aktive Substanzen wurden mittels einer UV-Lampe ($\lambda = 254$ nm) detektiert. Eine Färbung der DC-Platten wurde mit Hilfe der im Folgenden aufgelisteten Reagenzien durchgeführt.

- Kaliumpermanganat Färbereagenz (3 g KMnO₄, 20 g K₂CO₃, 5 mL 5 % NaOH, 300 mL H₂O)

5.1.2.2 Säulenchromatographie

Bei der Aufreinigung durch Säulenchromatographie wurde Kieselgel des Typs 60 (0,063-0,2 nm) der Firma *Macherey-Nagel* verwendet. Die angegebenen Lösemittelverhältnisse beziehen sich hier ebenfalls auf deren Volumina.

5.1.3 NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der NMR-Spektren wurde an den im folgenden gelisteten Geräten durchgeführt.

- Bruker Avance III 300: ¹H-NMR (300 MHz), ¹³C -NMR (75 MHz), ¹⁹F-NMR (282 MHz), COSY, HSQC, HMBC
- Bruker III 850; ¹H-NMR (800 MHz), ¹³C -NMR (214 MHz), COSY, HSQC, HMBC

An allen Geräten wurden die ^{13}C -Spektren ^1H -entkoppelt aufgenommen. HSQC-Spektren wurden phasensensitiv gemessen (CH und CH_3 positiv, CH_2 negativ).

Alle gemessenen Spektren wurden auf den Restgehalt des undeuterten Lösungsmittels referenziert. Angaben über die Verschiebungen der einzelnen Lösungsmittel befinden sich in Tabelle 2.

Die Auswertung der NMR-Spektren wurde mit Hilfe der Software *MestReNova* der Firma *Mestrelab Research S.L.* durchgeführt. Dabei wurde bei jedem Spektrum eine manuelle Phasenkorrektur, sowie automatische Basislinienkorrektur vorgenommen.

Tabelle 2: Chemische Verschiebungen der NMR-Lösemittel.

Lösungsmittel	Kern	δ/ppm	Multiplizität
CD₃Cl	^1H	7.26	s
	^{13}C	77.16	t
CD₂Cl₂	^1H	5.32	quin
	^{13}C	77.16	sept
DMSO-d₆	^1H	2.50	quin
	^{13}C	39.52	sept

5.1.4 Massenspektrometrie

Die Durchführung von LC/MS-Analysen wurde an einem LCMS-2020 Single Quadrupole MS Detektor der Firma *Shimadzu* durchgeführt mit einer vorgesetzten Kinetex® 2.6 μm EVO C18 100 Å Säule.

Die Messungen der MALDI-TOF Spektren wurden an einem Bruker rapifleX durchgeführt. Wobei eine DCTB Matrix und THF als Lösemittel bei der Probenvorbereitung verwendet wurde. Massenspektren der Substanzen wurden an einer Advion Expression CMS mit Plate Express Addon durchgeführt. Als Ionisationsquelle wurde eine APCI (*atmospheric pressure chemical ionization*) in einem Fluss Methanol verwendet

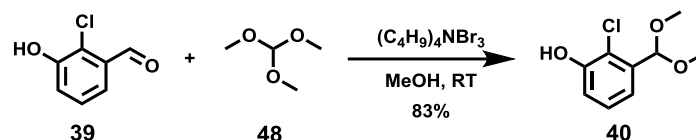
5.1.5 Lumineszenz Messungen

Für die Lumineszenz-Messungen wurde ein Bromega GloMax®-Multi Detection System verwendet. Die vermessenen Proben wurden in DMSO oder DMF gelöst und mit 3%-iger Wasserstoffperoxid-Lösung die Chemilumineszenz ausgelöst.

5.2 Synthese

5.2.1 Synthese des chemilumineszenten Moleküls

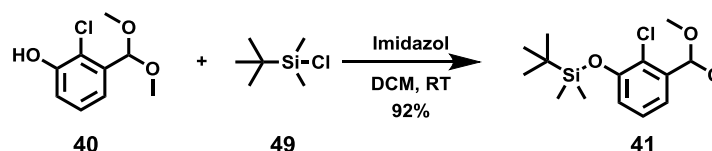
5.2.1.1 2-Chlor-3-(dimethoxymethyl)phenol^[85]



In einen 100 mL Einhalskolben mit Magnetrührer wurden 2-Chlor-3-hydroxybenzaldehyd **39** (3,75 g, 24,0 mmol, 1,0 Äq.) und Trimethylorthoformat **48** (4,07 g, 38,4 mmol, 1,6 Äq.) vorgelegt und in 50 mL Methanol (HPLC-Grade, nicht getrocknet) gelöst. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie auf Vollständigkeit geprüft. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung in einen Scheidetrichter überführt und 100 mL Ethylacetat hinzugegeben. Die organische Phase wurde mit 100 mL 0.01 M NaHCO₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Stoffgemisch wurde mit Hilfe von Säulenchromatographie (Gradient Hex:EA 90:10 → 80:20) gereinigt.

- **Ausbeute:** 4,10 g (20 mmol, 83%);
- **Aussehen:** farbloses viskoses Öl;
- **R_f** = 0,8 (Laufmittel: Hex/EA 80:20);
- **APCI-MS** = *m/z* 170,8 (M-CH₃OH+H⁺);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, DMSO-d₆)** δ (ppm) = 10.18 (s, 1H), 7.14 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.98 (ddd, *J* = 8.0, 6.2, 1.7 Hz, 2H), 5.51 (s, 1H), 3.27 (s, 6H).
- **¹³C-NMR, HSQC, HMBC (75 MHz, DMSO-d₆)** δ (ppm) = 153.28, 136.50, 126.89, 119.18, 118.03, 116.46, 100.85, 53.51.

5.2.1.2 *tert*-Butyl(2-chloro-3-(dimethoxymethyl)phenoxy)dimethylsilan^[85]

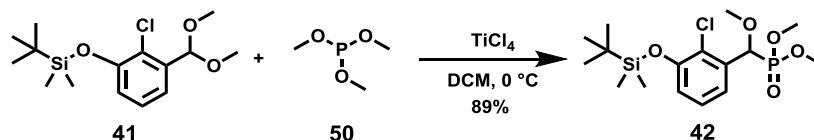


In einem 100 mL Schlenkkolben wurden 2-Chloro-3-(dimethoxymethyl)phenol **40** (3,96 g, 19,6 mmol, 1,0 Äq.) und Imidazol (2,67 g, 39,2 mmol, 2,0 Äq.) in 30 mL DCM vorgelegt. Unter Rühren wurde bei Raumtemperatur *tert*-Buthyldimethylchlorsilan **41** (3,62 mg, 24,0 mmol, 1,2 Äq.), gelöst in 3 mL DCM, zu getropft. Es wurde über Nacht gerührt und mit

DC auf Vollständigkeit überprüft. Der ausgefallene, weiße Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem DCM gewaschen. Nach der Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt **41** mit Säulenchromatographie (Hex/EA 90:10) gereinigt.

- **Ausbeute:** 5,64 g (18 mmol, 92 %);
- **Aussehen:** farbloses Öl;
- **R_f** = 0,60 (Laufmittel: Hex/EA 90:10);
- **APCI-MS** = *m/z* 285,0 (M-CH₃OH+H⁺);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, DMSO-d₆)** δ (ppm) = 7.25 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.16 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 2H), 7.01 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 3.27 (s, 6H), 1.00 (s, 9H), 0.22 (s, 6H).
- **¹³C-NMR, (75 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 152.05, 137.55, 126.92, 125.12, 120.82, 120.42, 101.57, 25.82, 18.62, -4.30.

5.2.1.3 Dimethyl((3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-chlorphenyl)(methoxy)methyl)phosphonat^[85]

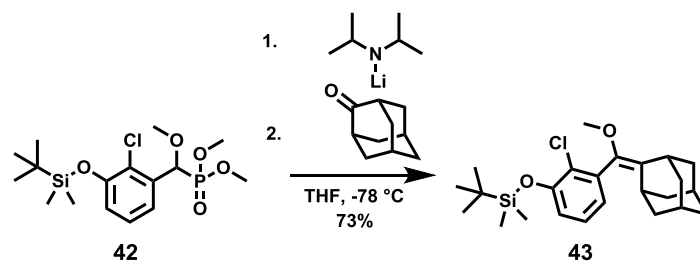


tert-Butyl(2-chlor-3-(dimethoxymethyl)phenoxy)dimethylsilan **41** (2,82 g, 8,90 mmol, 1,0 Äq.) wurde in einem 250 mL Schlenkkolben in 40 mL DCM gelöst und mit Eiswasser auf 0 °C gekühlt. In die kalte Lösung wurde unter Rühren innerhalb einer Stunde Titantetrachlorid (2,03 g, 10,68 mmol, 1,2 Äq.) in Form einer DCM-Stammlösung zu getropft. Die dunkelrote Lösung wurde weitere 30 min bei 0 °C gerührt und anschließend innerhalb einer Stunde Trimethylphosphit **50** (1,44 g, 11,57 mmol, 1,3 Äq.) langsam zugegeben. Nach weiteren 30 min bei 0 °C wurde das Eisbad entfernt und die Reaktionslösung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die Lösung wurde nochmal gekühlt, eiskalte gesättigte NaHCO₃-Lösung (150 mL) vorsichtig zugegeben und drei Mal mit 50 mL DCM gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Hilfe von Säulenchromatographie (Hex/EA 60:40) gereinigt.

- **Ausbeute:** 3,10 g (7,9 mmol, 89%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **R_f** = 0,45 (Laufmittel: Hex/EA 60:40);

- **APCI-MS** = m/z 395,2 ($M+H^+$);
- **1H -NMR, COSY (300 MHz, DMSO- d_6)** δ (ppm) = 7.30 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.16 (dt, J = 7.9, 2.0 Hz, 1H), 7.01 (dt, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 3.67 (d, J = 10.6 Hz, 3H), 3.54 (d, J = 10.5 Hz, 3H), 3.24 (s, 3H), 1.00 (s, 9H), 0.22 (s, 6h).
- **^{13}C -NMR, HSQC, HMBC (75 MHz, DMSO- d_6)** δ (ppm) = 150.82 (d, J = 2.0 Hz), 133.99, 127.49 (d, J = 3.0 Hz), 124.90 (d, J = 7.9 Hz), 121.74 (d, J = 4.1 Hz), 120.10 (d, J = 2.9 Hz), 117.67, 76.63, 74.39, 58.21, 58.02, 53.47, 53.38, 53.16, 53.07, 25.75, 25.45, 17.99, -4.65 (d, J = 1.9 Hz).
- **^{29}Si -NMR, (60 MHz, DMSO- d_6)** δ (ppm) = 23.70 (s).
- **^{31}P -NMR, (121 MHz, DMSO- d_6)** δ (ppm) = 20.08 (d, J = 23.3 Hz).

5.2.1.4 (3-((-Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenoxy)(*tert*-butyl)dimethylsilan^[85]

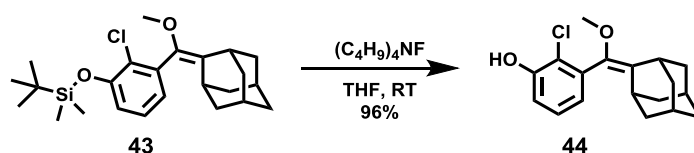


In einem 250 mL Schlenkkolben wurde Dimethyl((3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-chlorphenyl)(methoxy)methyl)phosphonat **42** (5,10 g, 13 mmol, 1,0 Äq.) in 75 mL THF vorgelegt. Die Lösung wurde mit einer Isopropanol-Trockeneis-Mischung auf -78°C gekühlt 8,07 mL einer 2 M LDA-Lösung (1,71 g, 16 mmol, 1,2 Äq.) langsam innerhalb einer Stunde zu getropft. Die Lösung wurde eine halbe Stunde bei -78°C gerührt und anschließend innerhalb von 30 min eine Lösung von 2-Adamantanon (2,91 g, 19 mmol, 1,5 Äq.) in 40 mL THF zugegeben, weitere 15 min gerührt und anschließend die Kühlung entfernt. Bei Raumtemperatur wurde die Lösung mit 100 mL Ethylacetat verdünnt und mit 100 mL NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Produkt **43** wurde nach Säulenchromatographie (Gradient Hex:EA 95:5 \rightarrow 85:15) erhalten.

- **Ausbeute:** 4,08 g (10 mmol, 77%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **R_f** = 0,8 (Laufmittel: Hex/EA 90:10);

- **APCI-MS** = m/z 418,9 ($M+H^+$);
- **1H -NMR, COSY (300 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 7.12 (dd, J = 8.2, 7.4 Hz, 1H), 6.88 (td, J = 7.5, 1.6 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.10 – 1.61 (m, 13H), 1.04 (s, 9H), 0.23 (s, 6H).
- **^{13}C -NMR, HSQC, HMBC (75 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 152.43, 140.87, 136.70, 130.73, 127.07, 125.39, 120.70, 57.05, 39.64, 39.53, 39.14, 37.72, 33.51, 30.20, 29.18, 29.04, 26.04, 18.84, -4.16.
- **^{29}Si -NMR, (60 MHz, DMSO- d_6)** δ (ppm) = 23.42.

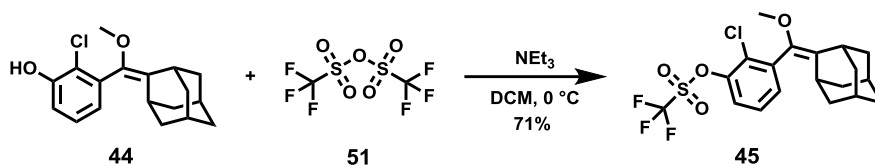
5.2.1.5 3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenol^[85]



In einen 50 mL Schlenkcolben wurden 3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenoxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane **43** (300 mg, 0,71 mmol, 1,0 Äq.) in 20 mL THF vorgelegt. Es wurden 0,78 mL einer 1 M TBAF-Lösung (205 mg, 0,78 mmol, 1,1 Äq.) langsam zu getropft und die Reaktionslösung über Nacht gerührt. Die Reaktionslösung wurde in 50 mL EA gegeben und die organische Phase mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung gewaschen. Aufgrund der Labilität des Enolethers im sauren Medium, ist eine rasche Aufarbeitung notwendig. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das reine Produkt **44** wurde durch Säulenchromatographie (Gradient Hex:EA 100:0 \rightarrow 70:30) erhalten.

- **Ausbeute:** 186 mg (0,61 mmol, 86 %);
- **Aussehen:** farbloses Feststoff;
- **R_f** = 0,80 (Laufmittel: Hex/EA 60:40);
- **APCI-MS** = m/z 304,6 ($M+H^+$);
- **1H -NMR, (300 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 6.67 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.48 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 2.77 (s, 3H), 1.48 – 1.17 (m, 13H).
- **^{13}C -NMR, (75 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 152.12, 140.26, 135.52, 131.85, 127.69, 124.33, 120.90, 115.69, 57.12, 39.36, 37.46, 33.28, 30.09, 28.89.

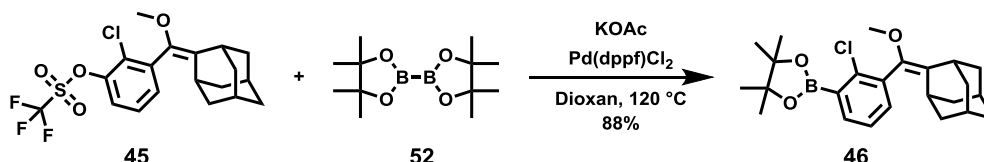
5.2.1.6 3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenyl trifluoromethanesulfonat^[17]



3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenol **44** (800 mg, 2,63 mmol, 1,0 Äq.) wurde zusammen mit 1,0 mL Triethylamin (6,57 mmol, 2,5 Äq.) und 5 mL DCM in einem 50 mL Schlenkkolben vorgelegt. Die Lösung wurde mit einem Eisbad auf 0 °C gekühlt und langsam 3,67 mL Trifluormethansulfonsäureanhydrid (3,67 mmol, 4,0 Äq.) hinzu getropft. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und im Anschluss mit 50 mL DCM verdünnt, zwei Mal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösemittels wurde mit Hilfe von säulenchromatographischer Aufreinigung (Gradient Hex:EA 100:0 → 9 7:3) das Produkt **45** erhalten.

- **Ausbeute:** 814 mg (1,87 mmol, 71%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **R_f** = 0,60 (Laufmittel: Hex:EA 80:20);
- **APCI-MS** = m/z 336,5 (M+H⁺);
- **¹H-NMR**, (300 MHz, CD₂Cl₂) δ (ppm) = 7.42 – 7.29 (m, 3H), 3.29 (s, 3H), 2.04 – 1.65 (m, 15H).
- **¹³C-NMR**, (75 MHz, CD₂Cl₂) δ (ppm) = 146.68, 139.28, 138.35, 133.76, 132.40, 128.04, 122.69, 118.75, 57.62, 39.50, 39.08, 37.51, 33.54, 30.38, 29.02.

5.2.1.7 2-(3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan^[17]

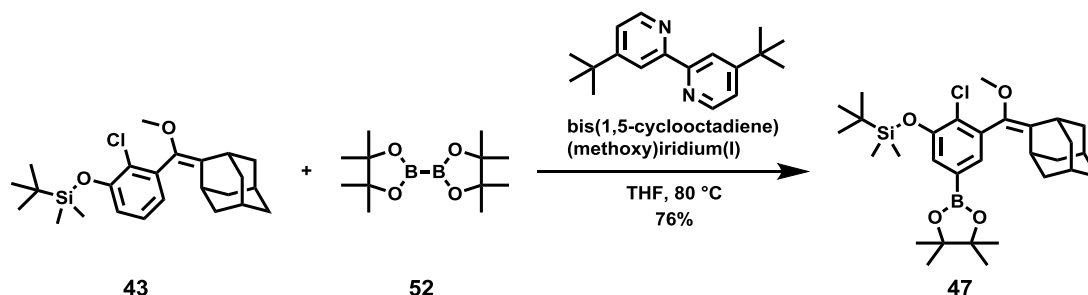


In ein 10 mL Schlenkkolben wurden 3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenyl-trifluoromethanesulfonat **45** (100 mg, 0,22 mmol, 1,0 Äq.), Pd(dppf)Cl₂ (35 mg, 0,05 mmol, 0,2 Äq.), Bis(pinacolato)diboron **52** (116 mg, 0,45 mmol, 2,0 Äq.) und Kaliumacetat (67 mg, 0,68 mmol, 3,0 Äq.) vorgelegt und in 2 mL entgastem Dioxan gelöst. Die Reaktionslösung wurde bei 110 °C über Nacht gerührt, danach mit DCM verdünnt und

anschließend mit gesättigter NaCl-Lösung zwei Mal gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das erhaltene Rohprodukt **46** wurde durch Säulenchromatographie (Laufmittel: Hex:EA 95:5) auf gereinigt.

- **Ausbeute:** 79 mg (0,19 mmol, 88%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **R_f** = 0,40 (Laufmittel: Hex:EA 95:5);
- **APCI-MS** = *m/z* 415,0 (M+H⁺);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 7.59 (dd, *J* = 7.1, 2.1 Hz, 1H), 7.38 – 7.19 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 2.10 – 1.61 (m, 13H), 1.36 (s, 12H).
- **¹³C-NMR, (75 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 141.14, 136.17, 135.05, 131.21, 126.20, 84.77, 57.13, 39.58, 39.19, 39.06, 37.68, 33.45, 30.21, 29.17, 29.02, 25.15.

5.2.1.8 (3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenoxy)(*tert*-butyl)dimethylsilan

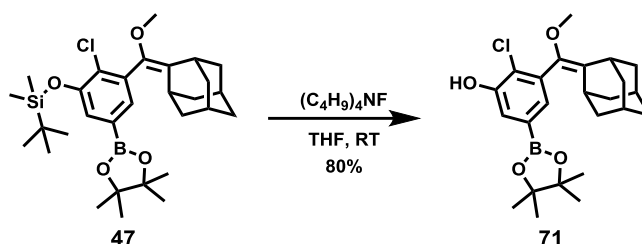


(3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenoxy)(*tert*-butyl)dimethylsilan **43** (600 mg, 1,43 mmol, 1,00 Äq.), Bis(pinacol)diboron **52** (654 mg, 2,58 mmol, 1,20 Äq.), 4,4'-*tert*-Buthyl-2,2'-bipyridin (15 mg, 0,06 mmol, 1,50 Äq.) und bis(1,5-Cyclooctadien)(methoxy)iridium(I) (19 mg, 0,03 mmol, 0,02 Äq.) wurden in 20 mL entgastem THF gelöst. Die Reaktionslösung wurde bei 80 °C unter Rückfluss über Nacht gerührt. Nachfolgend wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt **47** durch Säulenchromatographie (CH:THF 95:5) gereinigt.

- **Ausbeute:** 600 mg (1,09 mmol, 76%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **R_f** = 0,34 (Laufmittel: CH:THF 95:5);
- **APCI-MS** = *m/z* 577,6 (M+H⁺);

- **$^1\text{H-NMR}$, COSY (300 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 7.25 (s, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.06 – 1.64 (m, 14H), 1.43 (s, 12H), 1.33 (s, 9H), 1.05 (s, 6H).
- **$^{13}\text{C-NMR}$, (75 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 151.88, 140.71, 136.28, 131.40, 130.92, 130.24, 126.32, 118.78, 84.58, 57.09, 52.12, 52.08, 39.63, 39.51, 39.16, 39.07, 37.76, 33.53, 30.25, 29.20, 29.08, 27.51, 26.07, 25.25 (d, $J = 1.9$ Hz), 18.86.

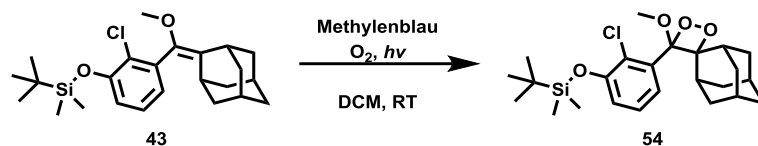
5.2.1.9 3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-5-(4,4,5-trimethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenol



In einem 50 mL Schlenkkolben wurden 3-(((-Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenoxy)(*tert*-butyl)dimethylsilan **47** (360 mg, 0,67 mmol, 1,0 Äq.) in 20 mL THF vorgelegt. Es wurden 0,73 mL einer 1 Molaren TBAF-Lösung (0,73 mmol, 1,1 Äq.) langsam zu getropft und über Nacht gerührt. Die Reaktionslösung wurde in 50 mL EA gegeben und die organische Phase mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung gewaschen. Nach dem Waschen der organischen Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das reine Produkt **71** wurde durch Säulenchromatographie (CH:THF 80:20) erhalten.

- **Ausbeute:** 220 mg (0,53 mmol, 80%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **R_f** = 0,65 (Laufmittel: CH:THF 80:20);
- **APCI-MS** = m/z 431,4 ($\text{M}+\text{H}^+$);
- **$^1\text{H-NMR}$, COSY (300 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 7.26 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.64 (bs, 1H), 3.19 (s, 3H), 1.9–1.60 (m, 14H), 1.25 (s, 12H).
- **$^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC (75 MHz, CD_2Cl_2)** δ (ppm) = 151.58, 140.12, 131.92, 130.14, 121.38, 118.56, 84.48, 57.11, 52.04, 39.35, 39.01, 37.49, 33.29, 30.12, 27.30, 25.77, 25.03.

5.2.1.10 *tert*-Butyl(2-chlor-3-((-4'-methoxyspiro[adamantane-2,3'-[1,2]dioxetan]-4'-yl)phenoxy)dimethylsilan

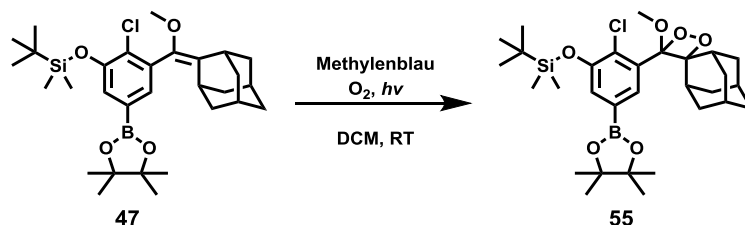


(3-((-Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenoxy)(*tert*-butyl)dimethylsilan **43**

(26 mg, 0,062 mmol) wurde in 5 mL Methylenblau-Lösung ($0,15 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ in DCM) in einem 10 mL Schlenkrohr gelöst. Es wurde Sauerstoff durch die Lösung geleitet und mit einer Lampe, welche gelbes Licht emittiert, bestrahlt. Dabei wurde der Kolben mit einem Wasserbad gekühlt, um die Wärme der Lampe ab zu führen. Es wurde 4 h bestrahlt und im Anschluss die Reaktionslösung durch eine mit Silica gefüllte Pipette filtriert, wobei mit Ethylacetat nachgespült wurde. Das Rohprodukt **54** wurde ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

- **Ausbeute:** /
- **Aussehen:** rötliches viskoses Öl.
- $R_f = 0,45$ (Laufmittel: Hex/EA 60:40);
- $^1\text{H-NMR}$, COSY (300 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) = 7.66 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.29 (q, $J = 8.0, 7.3$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.08 – 1.40 (m, 13H), 1.04 (s, 9H), 0.21 (d, $J = 4.1$ Hz, 6H).
- $^{13}\text{C-NMR}$, (75 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) = 153.32, 133.88, 127.43, 126.54, 122.80, 112.61, 96.59, 49.86, 39.78, 37.17, 34.35, 34.13, 32.99, 32.83, 32.16, 32.09, 26.95, 26.58, 26.06, 18.87, -4.09.

5.2.1.11 *tert*-butyl(2-chloro-3-((-4'-methoxyspiro[adamantane-2,3'-[1,2]dioxetan]-4'-yl)-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenoxy)dimethylsilane

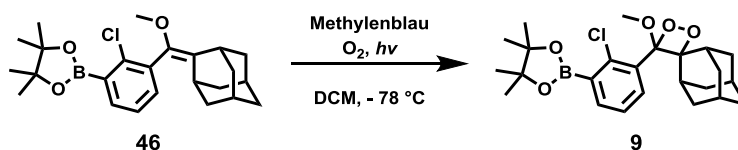


3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-5-(4,4,5,5-trimethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenol **47** (50 mg, 0,045 mmol) wurde in 5 mL Methylenblau-Lösung ($0,15 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ in DCM) gelöst. Unter einem kontinuierlichen Sauerstoffstrom wurde 1 h mit einer gelben Lampe

bestrahlt. Danach wurde das Lösemittel entfernt, der Rückstand erneut in Cyclohexan gelöst und über Celite gefiltert. Das Rohprodukt **55** wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet.

- **Ausbeute:** /
- **Aussehen:** farbloses viskoses Öl.
- **R_f** = 0,34 (Laufmittel: CH:THF 95:5);
- **¹H-NMR, COSY (850 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 7.95 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.37 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.12 – 1.55 (m, 14H), 1.35 (d, *J* = 1.9 Hz, 12H), 1.04 (d, *J* = 1.3 Hz, 9H), 0.25 – 0.19 (m, 6H).
- **¹³C-NMR, (214 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 152.20, 132.67, 131.72, 127.76, 127.17, 112.09, 96.04, 84.26, 53.82, 49.26, 36.60, 33.76, 33.49, 32.93, 32.30, 31.51, 29.18, 26.40, 26.00, 25.48, 24.75, 24.57. -4.64

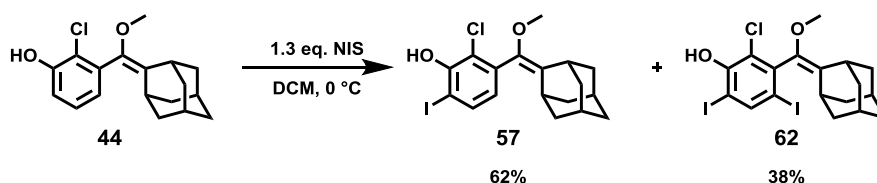
5.2.1.12 2-(2-chloro-3-(-4'-methoxyspiro[adamantane-2,3'-[1,2]dioxetan]-4'-yl)phenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane^[27]



2-(3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan **46** (25 mg, 0,12 mmol) wurde in 5 mL DCM gelöst und ein Kristall Methylenblau zugegeben. Die Reaktion wurde mit einem Isopropanol-Trockeneisbad auf -78 °C gekühlt und 4 h unter einem kontinuierlichem Sauerstoffstrom mit einer gelben Lampe bestrahlt. Danach wurde das Lösemittel entfernt, der Rückstand erneut in Cyclohexan gelöst und über Celite gefiltert. Das Rohprodukt **9** wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet.

- **Ausbeute:** /
- **Aussehen:** rötliches viskoses Öl.
- **R_f** = 0,40 (Laufmittel: Hex:EA 95:5);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 7.95 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.37 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.12 – 1.55 (m, 14H), 1.35 (d, *J* = 1.9 Hz, 12H), 1.04 (d, *J* = 1.3 Hz, 9H), 0.25 – 0.19 (m, 6H).

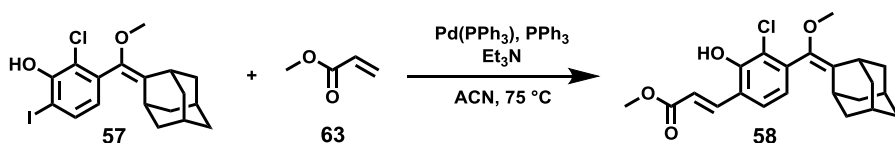
5.2.1.133-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-6-iodophenol^[27]



3-((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlorphenol **44** (200 mg, 0,66 mmol, 1,00 Äq.) wurde in einem 50 mL Schlenkkolben in 15 mL THF gelöst. Mit Hilfe einer Spritzenpumpe wurde im Zeitraum von 5 h eine Lösung von *N*-Iodsuccinimid (148 mg, 0,65 mmol, 0,98 Äq.), gelöst in 15 mL THF zu getropft. Nach vollständiger Zugabe wurden 20 mL einer gesättigten Na₂S₂O₃-Lösung, sowie 50 mL DCM zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde zwei Mal mit 20 mL DCM gewaschen, die vereinten organischen Phasen zwei Mal mit NaCl-Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte nur ein Gemisch aus einfach und doppelt iodierten Produkt isoliert werden. In der HPLC konnten eine Trennung der Produkte gezeigt werden, die Aufreinigung im präoperativen Maßstab steht noch aus.

- **Ausbeute:** /
- **Aussehen:** farbloses viskoses Öl;
- **APCI-MS** = m/z 431,0 (M+H⁺);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 7.62 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.21 (s, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.11 – 1.66 (m, 28H).
- **¹³C-NMR, (75 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 151.77, 146.40, 137.26, 136.41, 132.75, 125.81, 57.44, 56.87, 39.26, 39.09, 38.99, 38.40, 37.58, 33.87, 33.49, 30.29, 30.17, 29.06, 27.48

5.2.1.14(*E*)-3-(4-(((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-3-chlor-2-hydroxyphenyl)acrylsäuremethylester^[27]

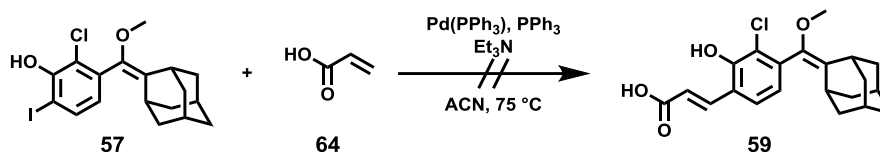


Das Iodid **57** (10 mg, 0,02 mmol, 1 Äq.), Methylacrylat **63** (6,0 mg, 0,08 mmol, 4,0 Äq.), Pd(PPh₃)₄ (0,9 mg, 0,004 mmol, 0,05 Äq.), Triphenylphosphin (0,1 mg, 0,0002 mol, 0,01 Äq.) und Triethylamin (4 μ L, 0,03 mmol, 1,5 Äq.) wurden in 0,5 mL MeCN in einem 10 mL

Schlenkrohr vorgelegt. Mit einem Ölbad wurde auf 75 °C geheizt und 8 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und das Produkt **58** durch Massenspektrometrie nachgewiesen.

- **APCI-MS** = m/z 389,8 ($M+H^+$).

5.2.1.15 (*E*)-3-(4-(((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-3-chlor-2-hydroxyphenyl)acrylsäure^[27]

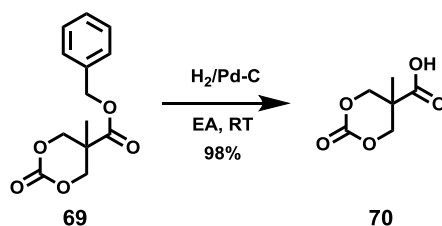


In einem 10 mL Schlenkrohr wurden Iodid **57** (10 mg, 0,02 mmol, 1 Äq.), Acrylsäure **64** (6,0 mg, 0,08 mmol, 4,0 Äq.), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0,9 mg, 0,004 mmol, 0,05 Äq.), Triphenylphosphin (0,1 mg, 0,0002 mol, 0,01 Äq.) und Triethylamin (4 μL , 0,03 mmol, 1,5 Äq.) in 0,5 mL MeCN gelöst und mit einem Ölbad auf 75 °C geheizt. Die Reaktionslösung wurde 8 h gerührt und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur das Lösungsmittel entfernt. Das gewünschte Produkt **59** konnte nicht nachgewiesen werden.

Reaktionslösung wurde daraufhin wieder auf 0 °C gekühlt und innerhalb einer halben Stunde Triethylamin (10 mL, 71,8 mmol, 3,0 Äq.) zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die Mischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend der ausgefallene Feststoff (TEA-HCl) durch Filtration entfernt. Das Lösemittel des Filtrats wurde entfernt und der zurückgebliebene, rötliche Feststoff drei Mal aus Ethylacetat umkristallisiert um das Produkt **69** als farblose Kristalle zu erhalten.

- **Ausbeute:** 4,36 g (17 mmol, 74%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 7.35 – 7.23 (m, 5H), 5.27 – 5.22 (m, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.60 (d, *J* = 10.5 Hz, 2H), 4.11 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 1.21 (s, 3H).
- **¹³C-NMR, HSQC, HMBC (75 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 171.51, 147.57, 135.57, 128.92, 128.47, 73.45, 68.11, 40.66, 17.61.

5.2.2.3 5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxan-5-säure^[41]

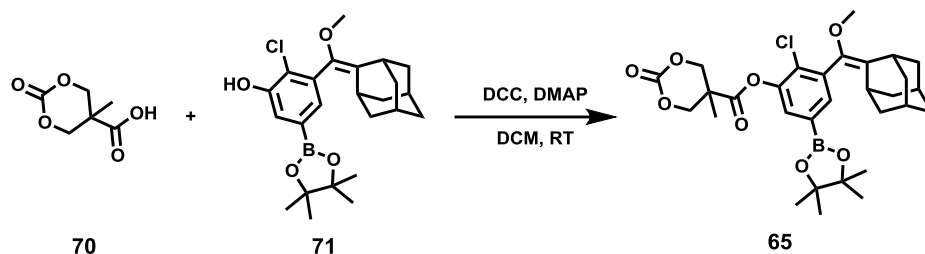


In ein 500 ml Schlenkcolben wurde 3-Hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2-methylpropanoat **69** (2,0 g, 8,0 mmol, 1,0 Äq.) und Pd/C (10 gew-%, 84 mg, 0,7 mmol, 0,01 Äq.) in 200 mL Ethylacetat gelöst. Über einen Ballon wurde ein Wasserstoff Überdruck zur Hydrierung erzeugt, wobei sieben Ballonfüllungen verwendet wurden. Die Reaktionslösung wurde über Celite gefiltert, um den Katalysator zu entfernen und im Anschluss das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die zurückbleibenden, farblosen Kristalle des Produkts **70** waren ausreichend rein, um ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet zu werden.

- **Ausbeute:** 1,2 g (7,9 mmol, 98%);
- **Aussehen:** farbloser Feststoff;
- **APCI-MS** = *m/z* 160,1 (M+H⁺);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, DMSO-d₆)** δ (ppm) = 4.57 – 4.50 (m, 2H), 4.30 (d, *J* = 10.2 Hz, 2H), 1.16 (s, 3H).

- $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 173.33, 147.42, 121.40, 72.68, 16.49

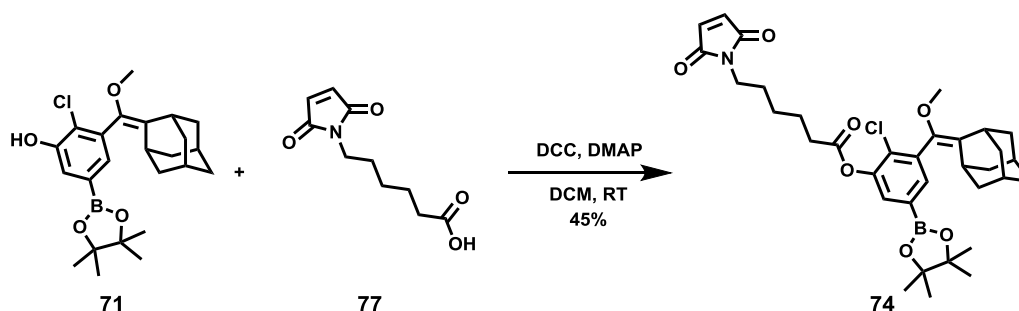
5.2.2.4 [3-(((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]-5-methyl-2-oxo-1,3-dioxane-5-carboxylat



In einem 50 mL Schlenkkolben wurden die freie Säure **70** (47,6 mg, 0,29 mmol, 1,1 Äq.) und das Phenol **71** (110 mg, 0,26 mmol, 1,0 Äq.) zusammen mit 0,05 mL DIPEA (0,039 mmol, 1,5 Äq.) in 1 mL DCM vorgelegt. Die Lösung wurde mit Eiswasser gekühlt und langsam über eine Spritzenpumpe DCC zugegeben. Nach Beendigung der Zugabe wurde das Eisbad entfernt und über Nacht weiter gerührt. Die Lösung wurde eingeeengt und zwei Mal in Hexan gefällt. Der Feststoff wurde abfiltriert und das Lösungsmittel aus dem Filtrat entfernt. Nach Säulenchromatischer Aufreinigung konnte das Produkt **65** nicht isoliert werden.

- APCI-MS = m/z 572,8 ($\text{M}+\text{H}^+$)

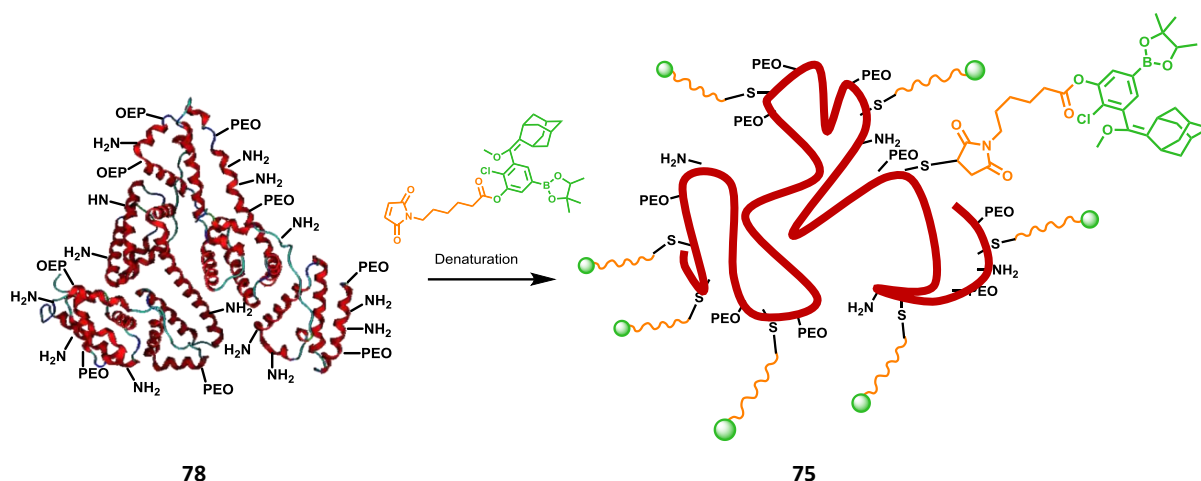
5.2.2.5 3-(((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl-7-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoat



In einem 25 mL Schlenkrohr wurden 92,5 mg 3-(((Adamantan-2-yliden)(methoxy)methyl)-2-chlor-5-(4,4,5-trimethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenol **71** (0,2 mmol, 1,0 Äq.), DMAP (5,4 mg, 0,04 mmol, 0,2 Äq.) und 50,0 mg 7-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexansäure **77** (50,0 mg, 0,22 mmol, 1,0 Äq.) vorgelegt und in 1 mL DCM gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und eine Lösung von DCC (55,0 mg, 0,26 mmol, 1,2 Äq.) in 1 mL DCM langsam zu getropft. Die Reaktionslösung wurde über Nacht rühren gelassen. Im Anschluss wurde das Lösemittel entfernt und das Produkt **74** mit Hilfe von Säulenchromatographie (CH:THF 60:40) erhalten.

- **Ausbeute:** 60 mg (0,09 mmol, 45%);
- **Aussehen:** farbloses viskoses Öl;
- **R_f** = 0,80 (Laufmittel: CH:THF 60:40);
- **APCI-MS** = m/z 624,5 (M+H⁺);
- **¹H-NMR, COSY (300 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 7.54 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 3.53 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.61 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.33 (s, 13H).
- **¹³C-NMR, (75 MHz, CD₂Cl₂)** δ (ppm) = 171.63, 171.43, 147.56, 139.94, 136.52, 135.92, 134.61, 132.53, 131.23, 129.25, 125.98, 84.88, 57.42, 56.24, 39.61, 39.55, 39.15, 38.04, 37.67, 35.57, 34.68, 34.31, 33.50, 30.67, 30.35, 30.28, 29.13, 28.98, 28.75, 27.50, 26.76, 25.26, 24.89.

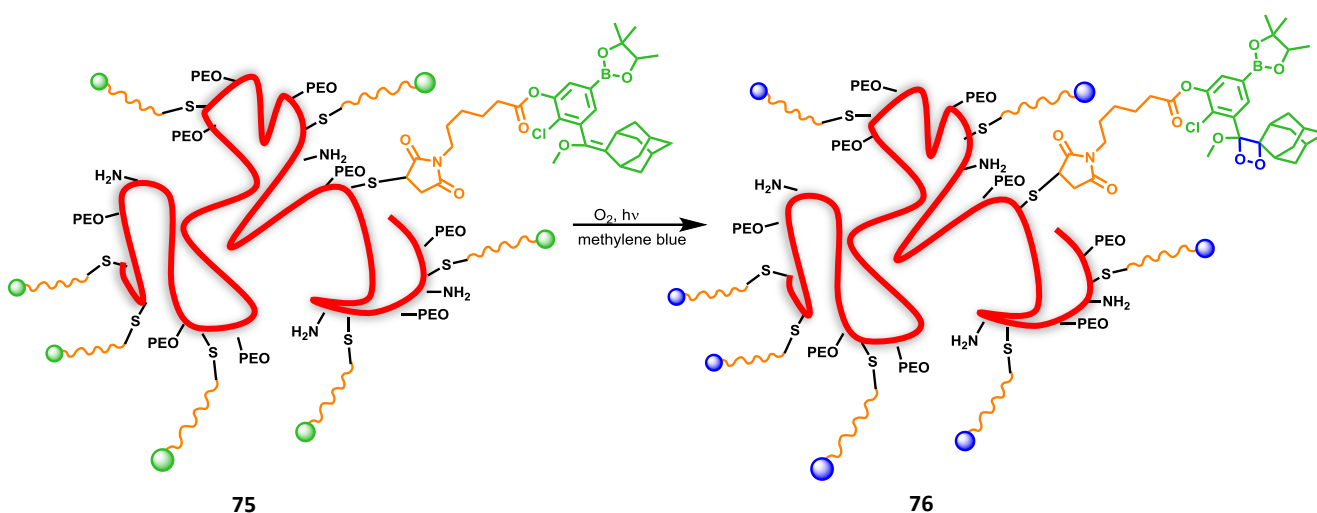
5.2.2.6 Denaturierung PEG-HSA und Umsetzung mit Maleimid^[67]



Das Pegylierte-HSA **78** (10 mg) wurde in 10 mL entgastem Phosphat-Puffer (50 mM), pH 7,4, 5 M Urea, 2 mM EDTA) gelöst und für 15 min gerührt. Zu der Lösung wurde TCEP (0,29 mg, 0,001 mmol) hinzugefügt und für eine weitere halbe Stunde rühren gelassen. Das mit dem Chemilumineszenten Molekül verknüpfte Maleimid (3 mg, 0,004 mmol) wurde zur Lösung hinzugegeben und über Nacht gerührt. Durch dreimalige Ultrazentrifugierung mit Membranfilter wurde das Protein **75** von der Puffer-Lösung getrennt und mit Hilfe von MALDI-TOF analysiert.

- MALDI-TOF = m/z 132 kDa.

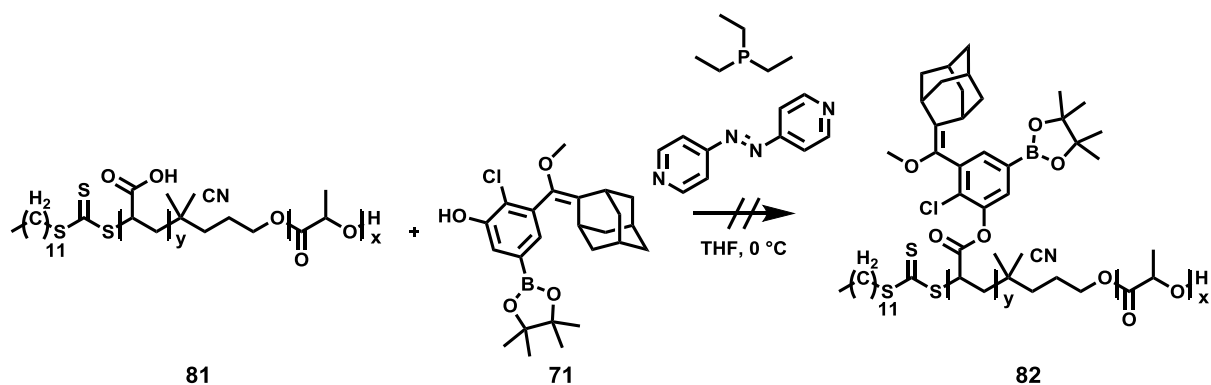
5.2.2.7 Photooxidation am Biopolymer



Das funktionalisierte Biopolymer **75** (5 mg) wurde in 5 mL Wasser gelöst und ein Kristall Methylenblau zugegeben. Die Reaktion wurde mit einem Wasserbad auf 10 °C gekühlt und 4 h

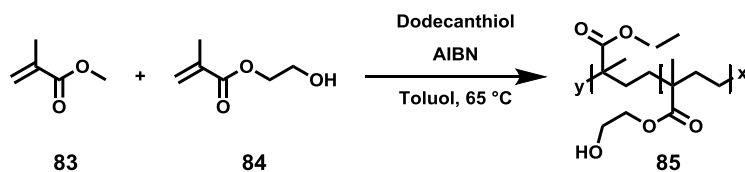
unter Sauerstoffstrom mit einer Lampe bestrahlt, die gelbes Licht emittiert. Danach wurde durch Zentrifugierung mit Membranfiltern das Methylenblau haltige Lösemittel entfernt. Der Rückstand wurde erneut in MilliQWasser gelöst und die Zentrifugierung zwei Mal wiederholt. Das Produkt **76** konnte in der MALDI-TOF konnte nicht detektiert werden. Lumineszenz-Messungen ergaben ebenfalls keine Eindeutigen Ergebnisse und sind in Abbildung 95 gezeigt.

5.2.2.8 Postfunktionalisierung des Acrylsäure-D,L-Lactid-Block-Copolymer^[83]



In einem 20 mL Schlenkrohr wurde Phenol **71** (32,2 mg, 0,075 mmol, 0,5 Äq.), Polymer **81** ($M_n = 9000$, 20 mg, 0,001 mmol, 0,006 Äq.) und 0,27 mL 1 M Triethylphosphin-Lösung (0,27 mmol, 1,8 Äq.) in 5 mL THF vorgelegt. Die Lösung wurde mit einem Eis/Wasserbad auf 0 °C gekühlt und unter Rühren innerhalb einer Stunde 4,4'-Azopyridin (44,1 mg, 0,24 mmol, 1,6 Äq.) gelöst in 3 mL THF zu getropft- Nach Beendigung der Zugabe wurde die Reaktionslösung über Nacht rühren gelassen. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der gelbe Rückstand in Chloroform/DMF gelöst und die Lösung in Chloroform dialysiert. Nach drei Tagen Dialyse kam es zu keiner Entfärbung und im NMR konnte das gewünschte Produkt **82** nicht nachgewiesen werden.

5.2.2.9 MMA/HEMA Copolymer

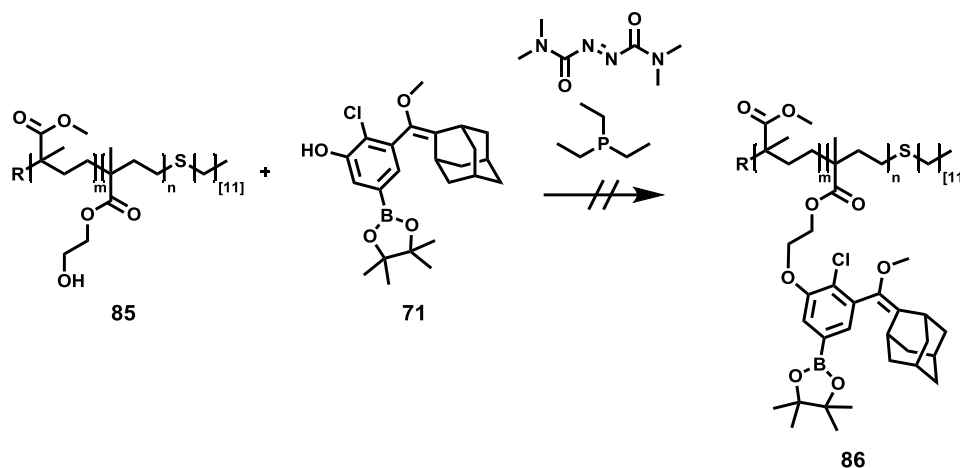


In einem 50 mL Schlenkrohr wurde 1,47 mL MMA **83** (13,8 mmol, 90,0 Äq.), 0,19 mL HEMA **84** (1,53 mmol, 10 Äq.), 0,11 mL Dodecanthiol (0,46 mmol, 3,0 Äq.) und AIBN (50 mg, 1,53 mmol, 2,0 Äq.) vorgelegt und in 25 mL Toluol gelöst. Die Lösung wurde entgast und im Anschluss auf 65 °C geheizt. Über NMR-Spektroskopie wurde der Umsatz kontrolliert und bei

einem Umsatz von 33% die Polymerisation durch Entfernung des Ölbadess sowie Belüftung gestoppt. Das Polymer **85** wurde zur Aufreinigung drei Mal in Hexan gefällt und via NMR und GPC analysiert.

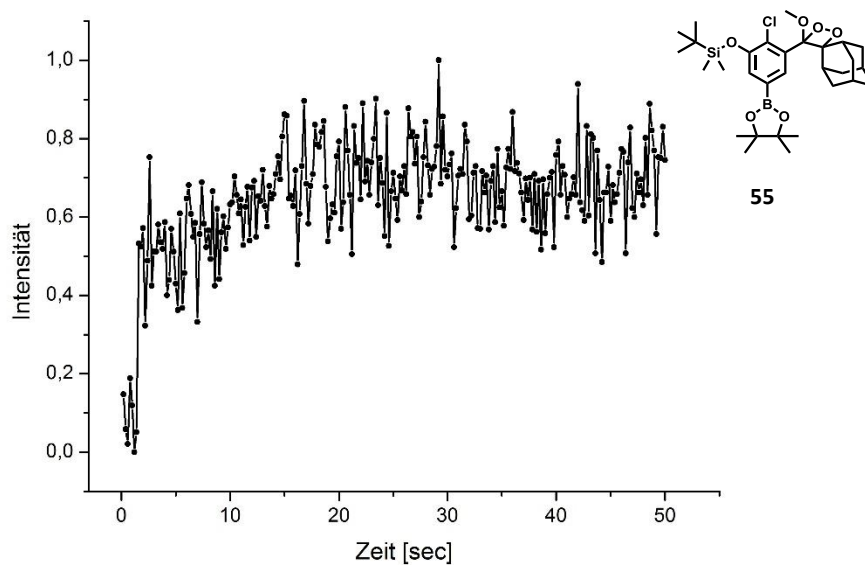
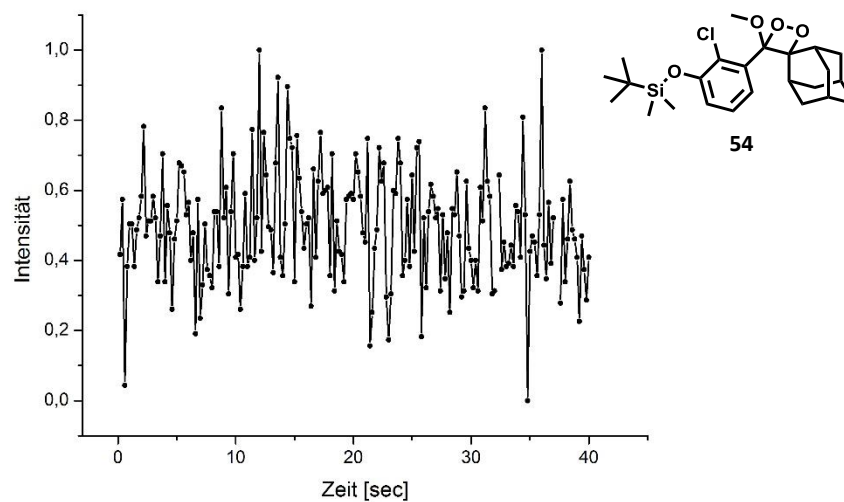
- **GPC-Daten:** $M_n = 3967,87$; PDI = 1,65;
- **$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) =** 3.73 (t), 3.59 (bs), 2.01 – 1.73 (m), 1.30-1.22 (m), 1.03 (m), 0.92 – 0.77 (m).

5.2.2.10 MMA/HEMA Copolymer Postfunktionalisierung



In einem 20 mL Schlenkrohr wurden Phenol **71** (25,8 mg, 0,06 mmol, 1,5 Äq.), MMA/HEMA-Polymer **85** (30 mg) und 0,072 mL 1 M Triethylphosphin-Lösung in THF (0,072 mmol, 1,8 Äq.) vorgelegt und in 5 mL THF gelöst. Unter Kühlung mit einem Eisbad wurde innerhalb von 1 h eine Lösung aus Azobis(*N,N*-Dimethylformamid) (11,0 mg, 0,064 mmol, 1,6 Äq.) in 2 mL THF zu getropft. Die Reaktionslösung wurde nach beendigter Zugabe weiter 16 h rühren gelassen. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel bei Raumtemperatur entfernt und der Rückstand in Chloroform aufgenommen. Es wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt und die Phasen durch Zentrifugierung getrennt. Anschließend wurde die organische Phase eingengt und drei Tage in Chloroform dialysiert. Das gewünschte Produkt **86** konnte nicht isoliert werden.

5.3 Chemilumineszenz-Messungen


 Abbildung 93: Normiertes, basislilienkorrigiertes Lumineszenzsspektrum von Molekül **55** in DMF.

 Abbildung 94: Normiertes, basislilienkorrigiertes Lumineszenzsspektrum von Derivat **54**.

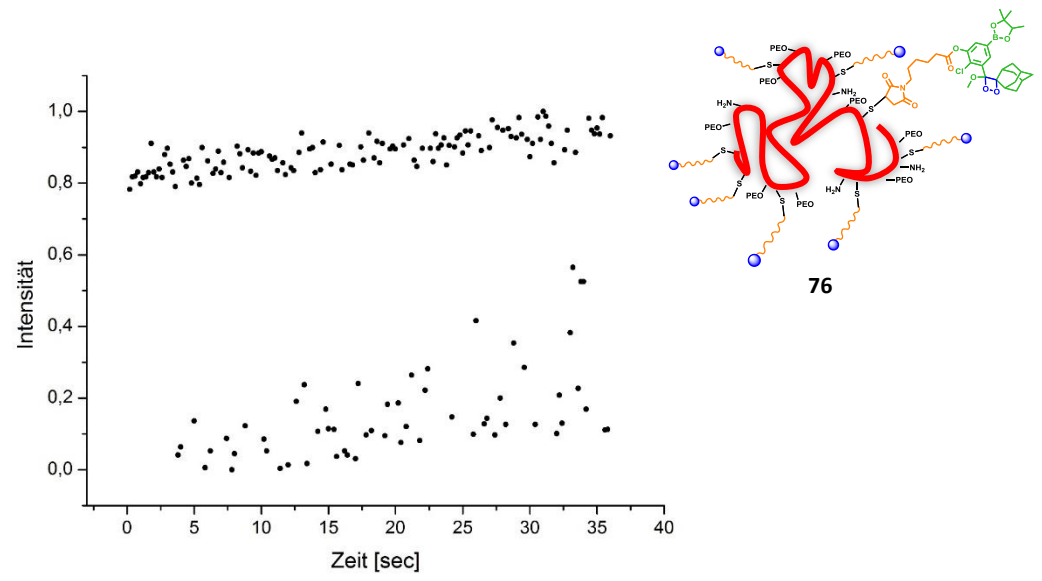


Abbildung 95: Chemielumineszenzmessungen des Photooxidierten Proteins **76**.

Literaturverzeichnis

- [1] V. R. Viviani, *Cell Mol Life Sci* **2002**, *59*, 1833-1850.
- [2] M. P. Davis, J. S. Sparks, W. L. Smith, *PLOS ONE* **2016**, *11*, 154-155.
- [3] M. Vacher, I. Fdez Galvan, B. W. Ding, S. Schramm, R. Berraud-Pache, P. Naumov, N. Ferre, Y. J. Liu, I. Navizet, D. Roca-Sanjuan, W. J. Baader, R. Lindh, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 6927-6974.
- [4] U. Matern, *Biologie in unserer Zeit* **1984**, *14*, 140-149.
- [5] W. Müller, in *Lebenswelt Meer: Reportagen aus der Meeresbiologie und Vorstellungen über die Entstehung des Lebens*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2017**, pp. 201-208.
- [6] Y. Oba, M. A. Branham, T. Fukatsu, *The Terrestrial Bioluminescent Animals of Japan, Vol. 28*, SPIE, **2011**.
- [7] I. Navizet, Y.-J. Liu, N. Ferré, D. Roca-Sanjuán, R. Lindh, *Chemphyschem.* **2011**, *12*, 3064-3076.
- [8] O. A. Gandelman, L. Y. Brovko, N. N. Ugarova, A. Y. Chikishev, A. P. Shkurimov, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **1993**, *19*, 187-191.
- [9] V. T. Nguyen, M. Morange, O. Bensaude, *Analyt. Biochem.* **1988**, *171*, 404-408.
- [10] K. V. Wood, *Photochemistry and Photobiology* **1995**, *62*, 662-673.
- [11] S. Albrecht, H. Brandl, C. Schönfels, W. Adam, *Chemie in unserer Zeit* **1992**, *26*, 63-69.
- [12] U. Isacson, G. Wettermark, *Analytica Chimica Acta* **1974**, *68*, 339-362.
- [13] G. Endo, T. Yamagata, M. Narita, C.-C. Huang, *Eng. Life Sci.* **2003**, *23*, 123-129.
- [14] C. H. Contag, M. H. Bachmann, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2002**, *4*, 235-260.
- [15] J.-B. Kim, K. Urban, E. Cochran, S. Lee, A. Ang, B. Rice, A. Bata, K. Campbell, R. Coffee, A. Gorodinsky, Z. Lu, H. Zhou, T. K. Kishimoto, P. Lassota, *PloS one* **2010**, *5*, 9364-9364.
- [16] N. Hananya, O. Green, R. Blau, R. Satchi-Fainaro, D. Shabat, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11793-11796.
- [17] O. Green, S. Gnaim, R. Blau, A. Eldar-Boock, R. Satchi-Fainaro, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 13243-13248.
- [18] N. Hananya, A. Eldar Boock, C. R. Bauer, R. Satchi-Fainaro, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13438-13446.
- [19] M. Müller, Master Thesis, Johannes Gutenberg-University **2018**.
- [20] K.-D. Gundermann, W. Horstmann, G. Bergmann, *Eur. JOC.* **1965**, *684*, 127-141.
- [21] J. Lee, *Photochem Photobiol.* **2017**, *93*, 389-404.
- [22] S. Gnaim, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10002-10008.
- [23] S. Schramm, D. Weiss, R. Beckert, *Nachrichten aus der Chemie* **2017**, *65*, 132-134.
- [24] A. Samadi-Maybodi, R. Akhoondi, M. Javad Chaichi, *J. Fluoresc.* **2010**, *20*, 671-679.
- [25] O. Jilani, T. M. Donahue, M. O. Mitchell, *J. Chem. Educ.* **2011**, *88*, 786-787.
- [26] R. Bos, S. A. Tonkin, G. R. Hanson, C. M. Hindson, K. F. Lim, N. W. Barnett, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2770-2771.
- [27] O. Green, T. Eilon, N. Hananya, S. Gutkin, C. R. Bauer, D. Shabat, *ACS Cent. Sci.* **2017**, *3*, 349-358.
- [28] E. L. Bastos, P. Farahani, E. J. H. Bechara, W. J. Baader, *J. Phys. Org. Chem.* **2017**, *30*.
- [29] H. G. Kuivila, A. G. Armour, *J. Phys. Org. Chem.* **1957**, *79*, 5659-5662.

- [30] H. Sahoo, *J. Photoch. and Photobio. C: Photochemistry Reviews* **2011**, *12*, 20-30.
- [31] M. Fréneau, N. Hoffmann, *J. Photoch. and Photobio. C: Photochemistry Reviews* **2017**, *33*, 83-108.
- [32] S. Chakraborty, B. K. Agrawalla, A. Stumper, N. M. Vegi, S. Fischer, C. Reichardt, M. Kögler, B. Dietzek, M. Feuring-Buske, C. Buske, S. Rau, T. Weil, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 2512-2519.
- [33] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, V. V. Tuchin, *Journal of Physics D: Applied Physics* **2005**, *38*, 2543-2555.
- [34] H. Abrahamse, M. R. Hamblin, *Biochem. j.* **2016**, *473*, 347-364.
- [35] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, Third edition. ed.
- [36] P. R. Selvin, *Nat. Struct. Bio.* **2000**, *7*, 730.
- [37] R. B. Sekar, A. Periasamy, *The Journal of cell biology* **2003**, *160*, 629-633.
- [38] P. Rajdev, S. Ghosh, *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123*, 327-342.
- [39] Y. Wang, C.-Y. Hong, C.-Y. Pan, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 2585-2593.
- [40] C. Li, Y. Zhang, J. Hu, J. Cheng, S. Liu, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 5246-5250.
- [41] C. Lang, L. Barner, J. P. Blinco, C. Barner-Kowollik, K. E. Fairfull-Smith, *Polym. Chem.* **2018**, *9*, 1348-1355.
- [42] M. Szwarc, *Nature* **1956**, *178*, 1168-1169.
- [43] W. Lu, C. Huang, K. Hong, N.-G. Kang, J. W. Mays, *Macromolecules* **2016**, *49*, 9406-9414.
- [44] N. Lühmann, A. Niu, J. Allgaier, J. Stellbrink, R. Zorn, M. Linnolahti, S. Willbold, B. W. Koenig, I. Grillo, D. Richter, L. J. Fetters, *Macromolecules* **2016**, *49*, 5397-5406.
- [45] D. J. Worsfold, S. Bywater, *Canadian J. Chem.* **1960**, *38*, 1891-1900.
- [46] S. Koltzenburg, M. Maskos, O. Nuyken, *Polymer Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg : Imprint: Springer, Berlin, Heidelberg, **2017**.
- [47] M. J. Stanford, A. P. Dove, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 486-494.
- [48] A. Hirao, M. Hayashi, *Acta. Polym.* **1999**, *50*, 219-231.
- [49] W.-C. Shieh, S. Dell, O. Repič, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2188-2191.
- [50] T. Rosen, I. Goldberg, W. Navarra, V. Venditto, M. Kol, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *130*, 7309-7313.
- [51] M. J. Benedikter, G. Frater, M. R. Buchmeiser, *Macromolecules* **2018**, *51*, 2276-2282.
- [52] P. Wang, J. H. Park, M. Sayed, T.-S. Chang, A. Moran, S. Chen, S.-H. Pyo, *Polym. Chem.* **2018**, *9*, 3798-3807.
- [53] W. Chin, C. Yang, V. W. L. Ng, Y. Huang, J. Cheng, Y. W. Tong, D. J. Coady, W. Fan, J. L. Hedrick, Y. Y. Yang, *Macromolecules* **2013**, *46*, 8797-8807.
- [54] M. Cheng, A. B. Attygalle, E. B. Lobkovsky, G. W. Coates, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11583-11584.
- [55] B. Wang, L. Pan, Z. Ma, Y. Li, *Macromolecules* **2018**, *51*, 836-845.
- [56] T. J. Bannin, M. K. Kiesewetter, *Macromolecules* **2015**, *48*, 5481-5486.
- [57] P. McKeown, S. N. McCormick, M. F. Mahon, M. D. Jones, *Polym. Chem.* **2018**, *9*, 5339-5347.
- [58] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- [59] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [60] W. H. Binder, R. Sachsenhofer, *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 15-54.
- [61] N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046-15047.
- [62] S. B. Gunnoo, A. Madder, *Chembiochem.* **2016**, *17*, 529-553.

- [63] T. Wang, A. Pfisterer, S. L. Kuan, Y. Wu, O. Dumele, M. Lamla, K. Müllen, T. Weil, *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1889-1894.
- [64] Y. Wu, S. Ihme, M. Feuring-Buske, S. L. Kuan, K. Eisele, M. Lamla, Y. Wang, C. Buske, T. Weil, *Adv. Healthc Mater* **2013**, *2*, 884-894.
- [65] R. J. Pounder, M. J. Stanford, P. Brooks, S. P. Richards, A. P. Dove, *Chem. Commun.* **2008**, 5158-5160.
- [66] B. Le Droumaguet, G. Mantovani, D. M. Haddleton, K. Velonia, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 1916-1922.
- [67] S. L. Kuan, F. R. G. Bergamini, T. Weil, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 9069-9105.
- [68] N. K. Singha, M. I. Gibson, B. P. Koiry, M. Danial, H. A. Klok, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 2908-2913.
- [69] M. Eberhardt, R. Mruk, R. Zentel, P. Théato, *Eur. Polym. J.* **2005**, *41*, 1569-1575.
- [70] Y. Catel, L. Maissiat, N. Moszner, *Polym. Chem.* **2016**, *54*, 1814-1821.
- [71] W. Huang, Z. Jin, Z. Shi, J. J. Intemann, M. Li, J. Luo, A. K. Y. Jen, *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 5760-5767.
- [72] K. C. K. Swamy, N. N. B. Kumar, E. Balaraman, K. V. P. P. Kumar, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2551-2651.
- [73] R. Gopinath, S. J. Haque, B. K. Patel, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5842-5845.
- [74] D. L. Perry, *Handbook of inorganic compounds*, 2nd ed., Taylor & Francis, Boca Raton, **2011**.
- [75] A. K. Bhattacharya, G. Thyagarajan, *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 415-430.
- [76] K. Ando, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6815-6821.
- [77] T. Ishiyama, M. Murata, N. Miyaura, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508-7510.
- [78] O. Nuyken, S. D. Pask, *Polymers* **2013**, *5*, 361.
- [79] D. P. Sanders, K. Fukushima, D. J. Coady, A. Nelson, M. Fujiwara, M. Yasumoto, J. L. Hedrick, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14724-14726.
- [80] X. M. He, D. C. Carter, *Nature* **1992**, *358*, 209-215.
- [81] E. Valeur, M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606-631.
- [82] T. Y. S. But, P. H. Toy, *Chem. Asian J.* **2007**, *2*, 1340-1355.
- [83] N. Iranpoor, H. Firouzabadi, D. Khalili, S. Motevalli, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4882-4887.
- [84] L. Hughes, *Organic Preparations and Procedures International* **1996**, *28*, 127-164.
- [85] N. Hananya, A. Eldar Boock, C. R. Bauer, R. Satchi-Fainaro, D. Shabat, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13438-13446.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Biolumineszenz eines männlichen <i>Luciola cruciata</i> . ^[6]	1
Abbildung 2: Luciferin-Luciferase-Biolumineszenz. ^[7]	2
Abbildung 3: Luminol 4 , 1,2-Dioxetan 5 , 1,2-Dioxetanon 6 und 1,2-Dioxetandion 7	3
Abbildung 4: Bildung eines Dioxetandions 7 aus einem Oxalatdiester 8	3
Abbildung 5: Mechanismus der Chemilumineszenz eines 1,2-Dioxetans. ^{[27],[28]}	4
Abbildung 6: Vereinfachtes Schema des Dioxetan Zerfallsprozess nach einer Vorlage von M. Vacher <i>et al.</i> . ^[3]	5
Abbildung 7: Generierung von Singulett-Sauerstoff durch einen Photosensibilisator. Dabei entspricht k_A der Absorption, k_F der Fluoreszenz, k_R und k_{SR} den strahlungsfreien Relaxationsprozessen und k_{ISC} der <i>Inter-System-Crossing-Rate</i>	6
Abbildung 8: Generierung von Singulett-Sauerstoff durch Anregung eines Photosensibilisators mit Licht.	7
Abbildung 9: Jablonski-Diagramm eines Förster-Resonanz-Energietransfers.	7
Abbildung 10: Abstandsabhängigkeit des Energietransfers.....	9
Abbildung 11: Fixierung der Donor-Akzeptor-Abstände am Polymer.....	9
Abbildung 12: Amphiphiles Polymer führt in Wasser zur Polymerfaltung und damit zu kürzeren Donor-Akzeptor Abständen.	10
Abbildung 13: Mechanismus der anionischen Polymerisation von Styrol 13 . ^[46]	11
Abbildung 14: Vereinfachter Mechanismus einer anionischen Ringöffnungspolymerisation. 13	
Abbildung 15: Organische Katalyse der ROP durch Aktivierung des Esters. ^[56]	13
Abbildung 16: Funktionelle Gruppen am Polymer die zur Postfunktionalisierung verwendet werden können.	15
Abbildung 17: Kupferkatalysierte Alkin-Azid-Klick Chemie.	16
Abbildung 18: Thiol-Maleimid-Chemie.	16
Abbildung 19: Amidierung einer Säure oder eines Aktivesters mit einem freien Amin.	17
Abbildung 20: Mitsunobu-Reaktion von Benzylalkoholen oder Carbonsäuren mit Alkoholen.	17
Abbildung 21: Komposition eines chemilumineszenten Hybrid-Materials.	19
Abbildung 22: Bildung des Dioxetans durch Oxidation mit Singulett-Sauerstoff sowie anschließende Auslösung der Chemilumineszenz.	20

Abbildung 23: Produktion von Singulett-Sauerstoff durch Energietransfer des chemilumineszenten Moleküls am Polymer zu einem Photosensibilisator.	20
Abbildung 24: Syntheschema der Dioxetan-Vorstufen, welche zu reinen Produkten führten.	21
Abbildung 25: Bildung des Acetals 40 durch Trimethylorthoformat.	22
Abbildung 26: Mechanismus der Vollacetalbildung durch Trimethylorthoformat von K. Patel <i>et al.</i> ^[73] vorgeschlagen.	23
Abbildung 27: Schätzung des Phenols 40 mit TBDMS-Chlorid.	23
Abbildung 28: Michaelis-Arbuzov-Reaktion zur Synthese des Phosphonats 42	24
Abbildung 29: Mechanismus der Michaelis-Arbuzov-Reaktion katalysiert durch Titan-tetrachlorid.	25
Abbildung 30: HWE-Reaktion mit 2-Adamantanon.	25
Abbildung 31: NMR des HWE-Produkts 43 , gemessen in Dichlormethan.	26
Abbildung 32: Mechanismus der HWE-Reaktion.	26
Abbildung 33: Entschützung der Silyl-Schutzgruppe mit TBAF zum freien Phenol 44	27
Abbildung 34: NMR der nicht vollständig abgelaufene Entschützung, gemessen in Dichlormethan.	27
Abbildung 35: Bildung des Triflates 45 als gute Abgangsgruppe.	28
Abbildung 36: Miyaura-Borylierung am Triflat 45	28
Abbildung 37: Produkt-NMR des <i>ortho</i> -Boresters 46 , gemessen in Dichlormethan.	29
Abbildung 38. Vereinfachter Katalysezyklus der Miyaura-Borylierung. ^[77]	30
Abbildung 39: C-H-Borylierung am Aromaten zum <i>para</i> -Borsäureester 47	30
Abbildung 40: NMR-Spektrum des <i>para</i> -Borsäureester 47 , gemessen in Dichlormethan.	31
Abbildung 41: Dargestellte Grundbausteine 46 und 47	31
Abbildung 42: Photooxidation des <i>ortho</i> -Borsäureesters 46	32
Abbildung 43: NMR-Spektren der Photooxidation des <i>o</i> -Borsäureester 9 . Links gezeigt vorherige Ergebnisse der Photooxidation, ^[19] rechts Ergebnisse aus dieser Arbeit. Beide Spektren sind gemessen in Dichlormethan.	32
Abbildung 44: Analytischer HPLC-Durchlauf nach Photooxidation des <i>o</i> -Borsäureester 9	33
Abbildung 45: Photooxidation des HWE-Produktes 43 zum Dioxetan 54	33
Abbildung 46: NMR-Spektrum des Photooxidationsprodukt 54 , gemessen in Dichlormethan.	34

Abbildung 47: Photooxidation des <i>para</i> -Borsäureester 47	34
Abbildung 48: 850 MHz-NMR des Photooxidationsprodukt 55 , gemessen in Dichlormethan.	35
Abbildung 49: Normiertes, basislinienkorrigiertes Lumineszenzspektrum des <i>ortho</i> - Borsäureesters 9 in DMSO.....	36
Abbildung 50: Erhöhung der Quantenausbeute durch Einführung eines <i>push-pull</i> -Systems..	37
Abbildung 51: Vorgeschlagene Syntheseroute zur Erhöhung der Quantenausbeute und Möglichkeit der Postfunktionalisierung.	38
Abbildung 52: Iodierung von Molekül 43 mit elementarem Iod.	38
Abbildung 53: Iodierung von Molekül 43 mit NIS.....	38
Abbildung 54: Erfolgreiche Iodierung des freien Phenols 44 mit NIS und zwei Produkten. ..	39
Abbildung 55: NMR-Spektrum des Produktgemisches von Molekül 57 und 62 nach Iodierung mit NIS, gemessen in Dichlormethan.	39
Abbildung 56: Massenspektrum des Produktgemisches von Molekül 57 und 62	39
Abbildung 57: Iodierung mit veränderten Reaktionsbedingungen.	40
Abbildung 58: Eluationsdiagramm des Produktgemisches von Molekül 57 und 62	40
Abbildung 59: Heck-Kupplungen mit Acrylsäure 64 und Acrylsäuremethylester 63	41
Abbildung 60: Massenspektrum der Heck-Kupplung mit Acrylsäuremethylester zu Molekül 58	41
Abbildung 61: Reaktionskontrolle der Polymerisation per NMR-Spektroskopie. Links NMR am Start der Polymerisation, rechts NMR nach 4 h bei 65 °C.....	43
Abbildung 62: Zielmonomer für anionische Ringöffnungspolymerisation.	43
Abbildung 63: Benzylschützung von 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionsäure 66	44
Abbildung 64: Ringschluss mit Chlorameisensäureethylester zu Molekül 69	44
Abbildung 65: Entfernung der Schutzgruppe durch Hydrierung.	45
Abbildung 66: NMR der freien Säure 70 in DMSO.	45
Abbildung 67: Entschützung <i>para</i> -Borsäureester 47	46
Abbildung 68: DCC-Kupplung zur Darstellung des Ringöffnungsmonomers 65	46
Abbildung 69: NMR-Spektrum der Reaktionsmischung des AROP-Monomers 65 , gemessen in Dichlormethan.	46
Abbildung 70: Massenspektrum des AROP-Monomers 65	47
Abbildung 71: Modifizierung des Phenols 71 mit γ -Aminobuttersäure.....	47

Abbildung 72: Synthesestrategie zum chemilumineszente Biopolymer 76	48
Abbildung 73: Synthese des Maleimid-Derivates 74	49
Abbildung 74: NMR-Spektrum des Maleimid-funktionalisierten <i>para</i> -Borsäureester 74 , gemessen in Dichlormethan.	50
Abbildung 75: Denaturierung von HSA 78 und Funktionalisierung mit Maleimid 74	51
Abbildung 76: Photooxidation am Biopolymer 75	51
Abbildung 77: MALDI-TOF Spektren der funktionalisierten Biopolymere 75 , 76 und 78	52
Abbildung 78: Mechanismus der Mitsunobu-Reaktion.	54
Abbildung 79: Mitsunobu-Reaktion am Polymer 81 . Funktionalisierung von Acrylsäuregruppen mit dem Phenol 71	55
Abbildung 80: Polymerisation von MMA 83 und HEMA 84	55
Abbildung 81: Reaktionskontrolle der radikalischen Polymerisation. Links NMR am Startpunkt, rechts nach 4 Stunden, gemessen in Chloroform.....	56
Abbildung 82: NMR des HEMA/MMA Polymers 85 , gemessen in Chloroform.....	56
Abbildung 83: GPC-Daten des HEMA/MMA Polymers 85	57
Abbildung 84: Mitsunobu-Postfunktionalisierung eines MMA/HEMA-Copolymer 85	57
Abbildung 85: NMR-Spektrum des postfunktionalisierten HEMA/MMA Copolymer 86 , gemessen in Chloroform.	58
Abbildung 86: GPC-Daten des postfunktionalisierten HEMA/MMA Copolymers 86	58
Abbildung 87: Ausblick auf ein chemilumineszentes Hybrid-Material.....	59
Abbildung 88: Dargestellte 1,2-Dioxetane.....	60
Abbildung 89: Synthetisierte Derivate mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen.	60
Abbildung 90: Monomer für die anionische Ringöffnungspolymerisation.	61
Abbildung 91: Mögliche Funktionalisierung des chemilumineszenz Grundbausteins.	62
Abbildung 92: Monomer mit Photosensibilisator als zukünftiges Synthesziel.....	62
Abbildung 93: Normiertes, basislinienkorrigiertes Lumineszenzspektrum von Molekül 55 in DMF.	83
Abbildung 94: Normiertes, basislinienkorrigiertes Lumineszenzspektrum von Derivat 54 . 83	
Abbildung 95: Chemilumineszenzmessungen des Photooxidierten Proteins 76	84

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verbesserung der Quantenausbeute durch Einführung eines <i>push-pull</i> -Systems. ^[27]	37
Tabelle 2: Chemische Verschiebungen der NMR-Lösemittel.	64

Spektrenanhang

