

Struktur, Eigenschaften und Reaktionen oxidierter Dextrane

DISSERTATION

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

2008

vorgelegt von
Heike Sowinski

Tag der mündlichen Prüfung:	14. Januar 2008
Dekan:	Prof. Dr. L. Wesemann
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Th. Ziegler
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. M. E. Maier

Meiner Familie und Uli
in großer Dankbarkeit gewidmet

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. Th. Ziegler für die Überlassung des Themas und die hervorragende Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Dr. G. Lemanski für die Unterstützung und das Korrekturlesen.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises Prof. Ziegler für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Atmosphäre.

Frau A. Just und P. Krüger für die Durchführung der Elementaranalysen.

Frau B. Schindler, Frau P. T. Nguyen und Herrn P. Schuler für die Anfertigung der NMR-Spektren.

Herrn G. Nicholson für die GC/MS Analysen.

Frau Dr. A. Frickenschmidt für die Maldi TOF Messungen.

Der Firma Aesculap AG & Co. KG für die finanzielle Unterstützung.

Der SOHENA GmbH für die finanzielle Unterstützung..

Meiner Familie, ganz besonders meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglicht haben.

Uli für die Geduld und die stete Unterstützung während des gesamten Studiums.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abkürzungen	v
1. Einleitung	1
2. Allgemeiner Teil	3
2.1 Strukturaufklärung des periodatoxierten Dextrans	3
2.1.1 Dextran	3
2.1.2 Periodatspaltung	4
2.1.2.1 Periodatspaltung von Dextran	5
2.1.3 Literaturbekannte Strukturen des oxidierten Dextrans	7
2.1.4 NMR-spektroskopische Untersuchung des oxidierten Dextrans	11
2.1.5 Bestimmung der Masse des oxidierten Dextrans	17
2.2 Reaktionen des oxidierten Dextrans	18
2.2.1 Reaktionen des oxidierten Dextrans als Aldehyd	18
2.2.1.1 Reduktion des oxidierten Dextrans	18
2.2.1.2 Reaktionen des oxidierten Dextrans mit aliphatischen Aminen	21
2.2.1.3 Reaktion des oxidierten Dextrans mit aromatischen Aminen	23
2.2.1.4 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Glucosamin- Hydrochlorid	25
2.2.1.5 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- D-glucosamin-Hydrochlorid	26
2.2.1.6 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- D-glucosamin	26
2.2.1.7 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Hydroxylamin	28
2.2.1.8 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniak bzw. Ammoniumcarbonat	29

2.2.1.9 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 2,4-Dinitrophenyl-Hydrazin	31
2.2.2 Reaktion des oxidierten Dextrans als Alkohol	33
2.2.2.1 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Essigsäureanhydrid	33
2.2.2.2 Reaktion des oxidierten Dextrans mit einem Aktivester	35
2.3 Untersuchungen zur Stabilität des oxidierten Dextrans in wässrigen Lösungen	38
2.3.1 Literaturbekannte Methoden zur quantitativen Glyoxalbestimmung	39
2.3.2 Nachweis von Glyoxal in wässrigen Lösungen des oxidierten Dextrans	40
2.4 Hydrogele	43
2.4.1 Literaturbekannte Hydrogele	44
2.4.1.1 Gelbildung durch kovalente Quervernetzung	44
2.4.1.2 Gelbildung durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen	45
2.4.1.3 Gelbildung durch ionische Wechselwirkungen	46
2.4.1.4 Gelbildung durch π - π - Wechselwirkungen	46
2.4.1.5 Hydrogele durch Amin-Aldehyd-Reaktion	47
2.4.2 Verwendete Komponenten zur Bildung von Hydrogelen	48
2.4.2.1 Oxidiertes Dextran	48
2.4.2.2 Oxidiertes Methyl- β -D-glucopyranosid	48
2.4.2.3 Oxidiertes β -Cyclodextrin	48
2.4.2.3.1 Strukturaufklärung des oxidierten β -Cyclodextrins	49
2.4.2.3.2 Reaktionsverhalten des oxidierten β -Cyclodextrins	52
2.4.2.4 Dialdehyde	56
2.4.2.5 Formaldehyd	56
2.4.2.6 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol	57
2.4.2.7 Chitosan	57
2.4.2.8 Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid	58
2.4.2.9 Polyallylamin	60
2.4.2.10 Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]	62

2.4.2.11 Diamine	64
2.4.3 Gelierungsversuche mit Chitosan-Hydrochlorid	67
2.4.4 Gelierungsversuche mit oxidiertem Dextran	68
2.4.5 Gelierungsversuche mit oxidiertem β -Cyclodextrin	69
2.4.6 Gelierungsversuche mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β - cyclodextrin	69
2.4.7 Gelierungsversuche mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β - cyclodextrin-Hydrochlorid	69
2.4.8 Gelierungsversuche mit Polyallylamin	70
2.4.9 Gelierungsversuche mit Polyallylamin-Hydrochlorid	70
2.4.10 Gelierungsversuche mit Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl- 2,2'-oxydiethanamin]	71
2.4.11 Gelierungsversuche mit Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl- 2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid	71
2.5 Untersuchungen der gebildeten Hydrogele	72
2.5.1 Strukturvorschläge der Literatur	72
2.5.2 Der Einfluss von Hitze auf die Hydrogele	74
2.5.3 Spektroskopische Untersuchung der Hydrogele	75
2.5.3.1 Untersuchung des hydrogels aus oxidiertem Dextran und Chitosan-Hydrochlorid	75
2.5.3.2 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem Dextran und Polyallylamin-Hydrochlorid	80
2.5.3.3 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem β -Cyclodextrin und Polyallylamin-Hydrochlorid	82
2.5.3.4 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem Dextran und Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]- Hydrochlorid	82
2.5.4 Wasserstoffbrückenbindungen als Ursache für die Hydrogelbildung	84
2.5.4.1 Literatur zur Bildung von Hydrogelen	84

2.5.4.2 Übertragung der Literatur auf die hier gebildeten Hydrogele	85
3. Experimenteller Teil	88
3.1 Allgemeines	88
3.1.1 Verwendete Geräte	89
3.1.2 Reagentien	90
3.2 Umsetzungen	92
3.2.1 Zu Kapitel 2.1	92
3.2.1.1 Oxidation der Dextrane mit Natriumperiodat	92
3.2.1.2 Spektroskopische Daten des oxidierten Dextrans	92
3.2.2 Zu Kapitel 2.2	93
3.2.3 Zu Kapitel 2.3	102
3.2.4 Zu Kapitel 2.4	103
3.2.5 Gelierungsversuche	107
3.2.6 Zu Kapitel 2.5	122
4. Zusammenfassung	127
5. Bezifferung der Verbindungen	132
6. Literatur	135

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
abs.	absolut(iert)
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
arom.	aromatisch
ber.	berechnet
bzw.	beziehungsweise
chem.	chemisch
COSY	correlation spectroscopy
d	Tage
DC	Dünnschichtchromatogramm bzw. Dünnschichtchromatographie
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigsäureethylester
FAB	Fast Atom Bombardment
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl-
g	Gramm
gef.	gefunden
gem.	gemessen
h	Stunde
Hz	Hertz
Kap.	Kapitel
konz.	Konzentriert
l	Liter
μ	Micro
M	Molar
m	Multipllett
Maldi	Matrix assisted laser desorption ionization

max.	maximal
MC	Monte-Carlo
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmol	Millimol
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse pro Ladung
NMR	Kernresonanzspektroskopie
PE	Petrolether 60-95°
Ph	Phenyl
PNiPAM	Poly-(N-isopropylacrylamid)
ppm	parts per million
PVA	Polyvinylalkohol
PVME	Polyvinylmethylether
psi	pound-force per square inch
quant.	quantitativ
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
Smp.	Schmelzpunkt
Tab.	Tabelle
TOF	time of flight

1. Einleitung

Hydrogele sind Systeme, die ein Vielfaches ihres eigenen Gewichts an Wasser aufnehmen können. Die Bildung eines Hydrogels ist sowohl aus Monomeren wie auch aus Oligo- bzw. Polymeren möglich. Hydrogele bestehen aus dreidimensionalen Netzwerken, in die sich Wassermoleküle einlagern können.^{[57][58]} In Bereichen wie Medizin, Kosmetik und bei Hygieneartikeln finden Hydrogele vielfältige Anwendung.^{[68][69]}

Die Gele bilden sich aufgrund verschiedener Kräfte, die Ursache für die Gelierung ist bei einigen Typen von Hydrogelen genau untersucht, so z.B. im Falle der Quervernetzung durch Radikalreaktionen oder bei Quervernetzung aufgrund ionischer Kräfte.^{[70][71][72][73][74]}

In anderen Fällen gehen die Meinungen über die Ursache für die Hydrogelbildung stark auseinander. Ein Beispiel hierfür sind etwa Gele, bei denen Glutaraldehyd als Quervernetzer verwendet wird. Die zweite Komponente dieser Gele sind meist Polysaccharide mit Aminofunktionen wie z. B. Gelatine. Als Ursache für die Gelbildung von Aminen mit Aldehyden wird in den meisten Fällen davon ausgegangen, dass sich Schiff'sche Basen bzw. Imine bilden.^[76-80,82]

Diese Art der Hydrogele findet in medizinischen Bereichen wie z.B. der Wundheilung und als Wirkstoff enthaltende Matrices, so genannte „Drug Delivery Systems“, Anwendung. Die Wirkstoffe können so an einem bestimmten Ort in bestimmter Zeit und in bestimmtem Maße abgegeben werden.^[1]

Die Tatsache, dass durch Mischen einer wässrigen Lösung einer Aldehydverbindung mit einer wässrigen Lösung einer Aminoverbindungen Hydrogele gebildet werden können, verspricht die Möglichkeit zur Bildung neuer Hydrogele auf dieser Basis.

Die Oxidation von Dextran mit Natriumperiodat führt zu einem Polyaldehyd. Bisherige Untersuchungen zur Struktur des so oxidierten Dextrans führten zu unterschiedlichen Ergebnissen.^[9, 16-19, 79] Zunächst gingen die Autoren davon aus, dass es sich bei der Struktur des oxidierten Dextrans um freie Aldehyde handelt. IR-spektroskopische Untersuchungen und die Titration der Carbonylfunktionen zeigten jedoch, dass keine bzw. nur wenige freie Aldehydfunktionen vorhanden sind.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Struktur des oxidierten Dextrans aufgeklärt werden, außerdem sollte das Reaktionsverhalten sowie die Stabilität des oxidierten Dextrans in wässriger Lösung untersucht werden. Des Weiteren sollte die Ursache für die Bildung von Gelen des oxidierten Dextran untersucht werden. Letztendlich galt es, neue Hydrogele zu entwickeln. Diese Hydrogele sollten aus einer Amino- und einer Aldehydkomponente bestehen. Dazu sollten verschiedene Aldehydverbindungen sowie verschiedene Aminoverbindungen als Komponente zur Bildung von Hydrogelen untersucht werden.

2. Allgemeiner Teil

2.1 Strukturaufklärung des periodatoxidierten Dextrans

2.1.1 Dextran

Dextran (1) ist ein aus α -(1,6)-verknüpften Glucoseeinheiten aufgebautes Polysaccharid.

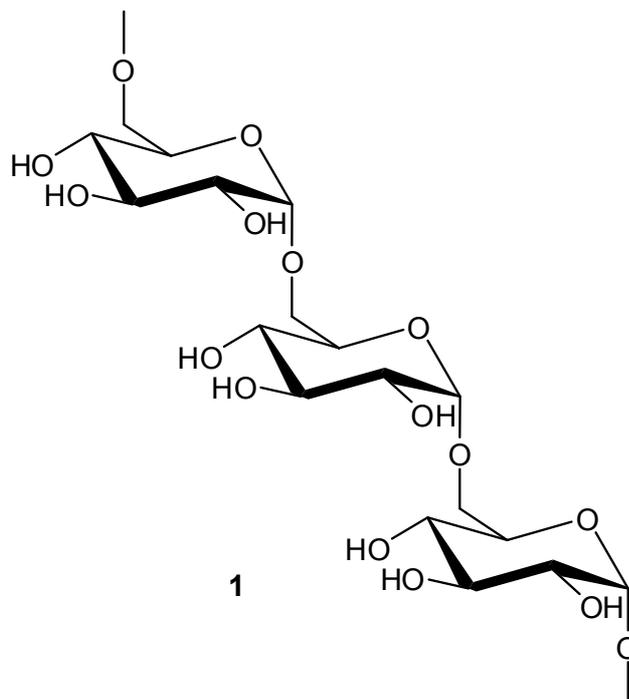


Abbildung 1 Dextran (1)

Neben dieser α -1,6-Verknüpfung können noch α -(1,3)- und α -(1,4)-Verknüpfungen existieren.^[2] Es ist ein von Bakterien produziertes Polysaccharid und je nach Bakterium variiert der Anteil an α -(1,6)-Verknüpfung zwischen 50 und 97% aller glycosidischen Bindungen im Polymer. Milchsäurebakterien produzieren Dextran extrazellulär aus Saccharose.^[3] 1861 entdeckte Pasteur

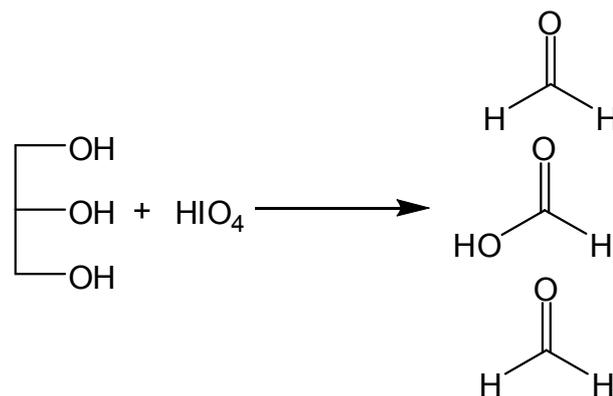
schleimbildende Bakterien^[4], die 1878 von van Tiegheim „Leuconostoc mesenteroides“ genannt wurden.^[5] Scheibler schließlich nannte dann das abgesonderte Polysaccharid Dextran. Industriell wird es ebenfalls mikrobiell mittels *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(F) oder B512 aus Saccharose hergestellt.^[6] Die weltweite Produktion wird auf 2000 t pro Jahr geschätzt.^[7]

Dextran ist physiologisch unbedenklich und kann leicht durch α -1-Glycosidasen (Dextranase) abgebaut werden. Solche Enzyme befinden sich hauptsächlich in Leber, Milz und Niere.

Die gute Zugänglichkeit und physiologische Unbedenklichkeit machen Dextran und seine Derivate für medizinische Anwendungen interessant.

2.1.2. Periodatspaltung

Unter dem Begriff Periodatspaltung versteht man die oxidative Spaltung vicinaler Diole. Erstmals von Malaprade 1928 genau untersucht, wird sie auch Malaprade-Reaktion genannt. Malaprade benutzte Periodsäure und spaltete damit 1 mol Glycol zu 2 mol Formaldehyd und Glycerin zu Formaldehyd und Ameisensäure. Für diese Reaktion eignen sich auch die Salze der Periodsäure.^[8]



Schema 1 Reaktion von Glycerin mit Periodsäure

Auch mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ können Glykole oxidativ gespalten werden, diese Reaktion wurde nach Criegee benannt.^{[9][10]} Ein Vorteil der Verwendung von Periodat zur oxidativen Spaltung von Diolen besteht jedoch darin, dass Periodsäure bzw. die

Salze der Periodsäure im Gegensatz zum Bleitetraacetat keine Nebenreaktionen wie Substitution, Addition und Dehydrierung eingehen.^[11]

2.1.2.1 Periodatspaltung von Dextran (1)

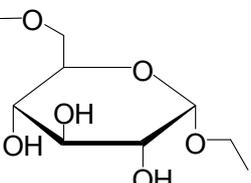
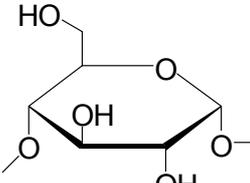
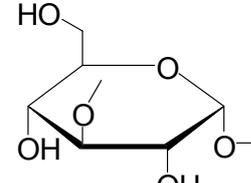
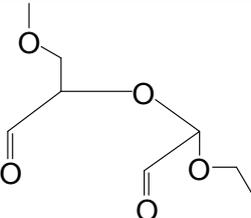
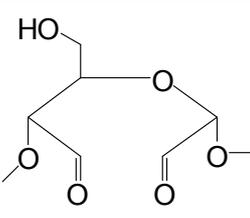
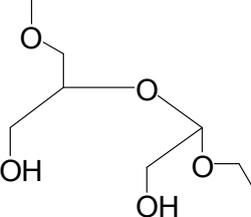
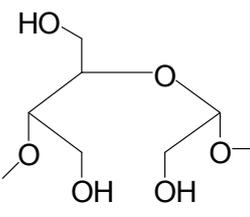
Die Periodatspaltung von Polysacchariden wurde bereits in den 1950er Jahren zu deren Strukturaufklärung verwendet. Je nach glycosidischer Verknüpfung erhält man unterschiedliche Spaltprodukte, anhand dieser charakteristischen Spaltprodukte kann auf die Struktur zurück geschlossen werden.^[12]

Bei der oxidativen Spaltung von Dextran (1) entsteht je α -(1,6)-verknüpftem Monomerbaustein ein Molekül Ameisensäure. Innerhalb eines solchen Monomerbausteins werden also zwei Bindungen oxidativ gespalten, und somit 2 Moleküle Natriumperodat zu Natriumiodat reduziert. Nach der oxidativen Spaltung enthält jeder 1,6-verknüpfte Monomerbaustein zwei Aldehydfunktionen, jedoch nur noch fünf C-Atome.

Sind andere Verknüpfungen vorhanden, wird jeweils nur eine Bindung oxidativ gespalten. Im Falle der 1,3-verknüpften Glucoseeinheit ist keine oxidative Spaltung möglich, da hier keine freien vicinalen Diolen zur Verfügung stehen.

Zur Klärung der Struktur des Dextrans (1) wurde 1950 zunächst mit Natriumperodat oxidiert und anschließend bei 1800 – 2000 psi und 100°C im Autoklaven mit Raney-Nickel eine Stunde reduziert. Die glycosidischen Bindungen wurden mit 1 N Schwefelsäure 12 - 14 h unter Rückfluss hydrolisiert. So entstehen für jede Art der Verknüpfung charakteristische Verbindungen, welche dann chromatographiert, derivatisiert und anhand der Schmelzpunkte charakterisiert werden konnten. In Tabelle 1 sind diese Verbindungen zusammengefasst.

Tabelle 1 Produkte der Periodatspaltung bei unterschiedlicher Verknüpfung

Monomer- baustein	 1,6-Verknüpfung	 1,4-Verknüpfung	 1,3-Verknüpfung
nach oxidativer Spaltung			Keine Reaktion
Nach Reduktion			keine Reaktion
Charakteristisches Fragment	Glycerin	Erythrol	Glucose

Die Kinetik, pH-Abhängigkeit (Reaktionsführung in gepufferten Systemen) und die Änderung des pH-Werts während der Reaktion wurden bereits in früheren Arbeiten untersucht.^{[13][14][15][16][17]}

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Dextrane mit einem Molekulargewicht von 6 kD, 60 kD, 200 kD und 500 kD mit Natriumperodat gespalten. Bei allen Oxidationen wurden 2,1 eq Natriumperodat je Monomerbaustein verwendet und 24 h unter Lichtausschluss gerührt, wobei zu Beginn der Reaktion im Eisbad gekühlt wurde. Anschließend erfolgt Ultrafiltration und Lyophilisation. Die Ausbeuten betragen bei 6 kD 43%, bei allen anderen über 80%. Die niedrigen Ausbeuten beim Dextran mit einem Molekulargewicht von 6 kD sind auf die Ultrafiltration zurückzuführen. Die Membran mit der ultrafiltriert wurde,

hat einen Cut-Off von 1 kD. Eine Membran mit geringerem Cut-Off war im Handel nicht erhältlich. Daher ist ein Verlust bei der Ultrafiltration des 6 kD Produktes nicht auszuschließen, da es sich bei den Molekulargewichten von Polymeren stets um Mittelwerte handelt. Es muss davon ausgegangen werden, dass bei einem mittleren Molekulargewicht von 6 kD Moleküle mit einem Molekulargewicht von > 1 kD vorhanden sind.

2.1.3 Literaturbekannte Strukturen des oxidierten Dextrans

Sloan et al. stellten fest, dass im UV-Spektrum des oxidierten Dextrans keine Absorptionsbanden der Aldehydfunktionen zu finden sind.^[12] Sie verweisen auf Rowen et al. die mit Hilfe der IR-Spektroskopie die Struktur der periodat-oxidierten Cellulose untersuchten und zu dem Schluss kamen, dass die Aldehydfunktionen vermutlich als Hydrate bzw. Halbacetale verschiedener Formen vorliegen (Abb. 2).^[18]

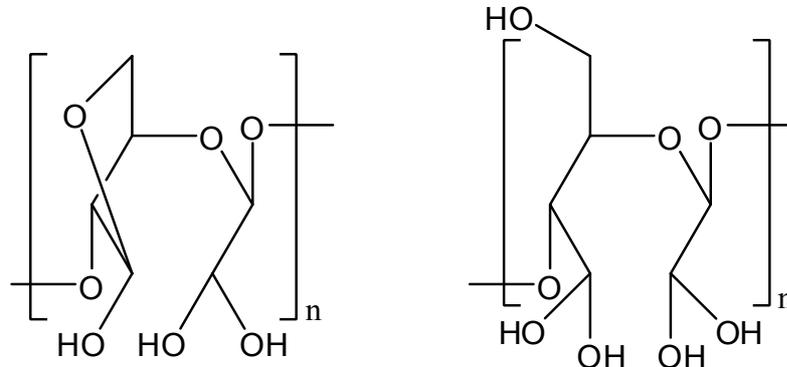


Abbildung 2 Strukturen der oxidierten Cellulose nach Rowen et al.

Drobchenko et al. beschäftigten sich genauer mit der Struktur des oxidierten Dextrans.^{[19][20]} Sie untersuchten es mit UV-, IR- und NMR-Spektroskopie und fanden auch keine klaren Signale im IR- bzw. NMR-Spektrum, die einer Aldehydfunktion zugeordnet werden konnten. Sie sprechen von Aldo-Enol-Übergängen und formulieren Strukturen wie in Abb.3 dargestellt.

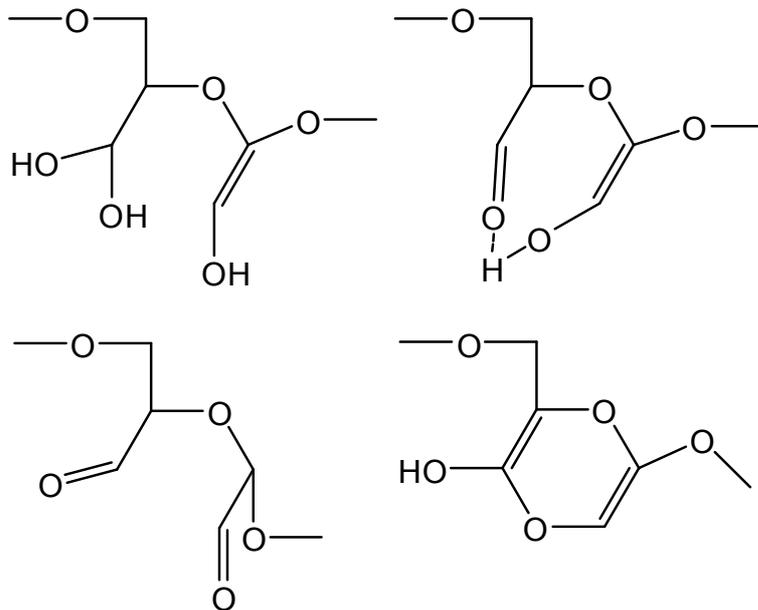


Abbildung 3 Strukturen des oxidierten Dextrans nach Drobchenko et al.

Es wurde dabei eine pH-Abhängigkeit des Gleichgewichts zwischen den vermuteten Strukturen festgestellt. Bei hohen pH-Werten (pH 9,3) fanden Drobchenko et al. in den angefertigten Spektren mehr Hinweise auf C-C-Doppelbindungen.

Novikavo et al. untersuchten ebenfalls die pH-Abhängigkeit der Oxidation von Dextran mit Natriumperiodat.^[21] Sie titrierten sowohl die bei der Oxidation von Dextran entstehende Ameisensäure als auch die bei der Oxidation des Dextrans entstandenen Carbonylfunktionen mit Hydroxylamin. Dabei stellten Novikavo et al. fest, dass die Ergebnisse ihrer beider Titrations nicht übereinstimmen. Es müssten je titriertem Molekül Ameisensäure 2 Carbonylfunktionen nachgewiesen werden. Laut Ihren Ergebnissen wird aber mehr Ameisensäure gebildet als Aldehydfunktionen entstehen. Diese Beobachtung erklären sie mit der Bildung von Halbacetalen (Abb. 4). Diese Halbacetale können nach Novikova et al. nicht mit Hydroxylamin reagieren.

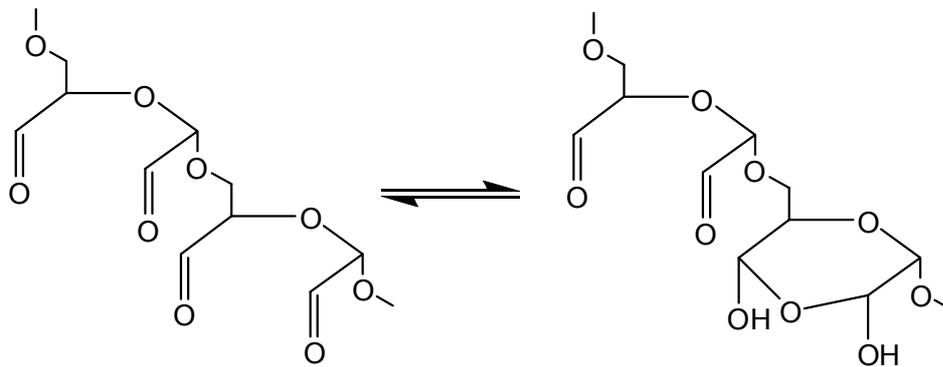


Abbildung 4 Bildung von Halbacetalen im oxidierten Dextran nach Novikova et al.

Auch M. F. Ishak et al. untersuchten die Struktur des oxidierten Dextrans.^[22]

Sie kommen zu dem Ergebnis, dass nicht alle oxidierbaren OH-Funktionen der vicinalen Trioleinheiten des Dextrans oxidiert werden. $1,84 \pm 0,02$ mol Natriumperodat pro mol Monomereinheit Dextran werden laut ihren Ergebnissen verbraucht.

Die Periodatspaltung von Dextran erfolgt nach einer Kinetik 2. Ordnung. Die erste Oxidation an einem Monomerbaustein erfolgt zwischen Position 3 und 4 ca. 7,5-mal schneller als zwischen Position 2 und 3. Der zweite Oxidationsschritt erfolgt jedoch zwischen beiden Positionen gleich schnell, wobei nur etwa 40% aller monooxidierten Bausteine sofort mit einem zweiten Molekül Natriumperodat reagieren.

Durch die unterschiedlichen Reaktionszeiten der beiden möglichen Angriffspunkte kommt es dann nach Ishak et al. zu Halbacetalbildungen wie in Abb. 5 gezeigt. Sind diese Halbacetale gebildet, so stehen die daran beteiligten benachbarten Monomerbausteine nicht mehr für einen zweiten Oxidationsschritt zur Verfügung.

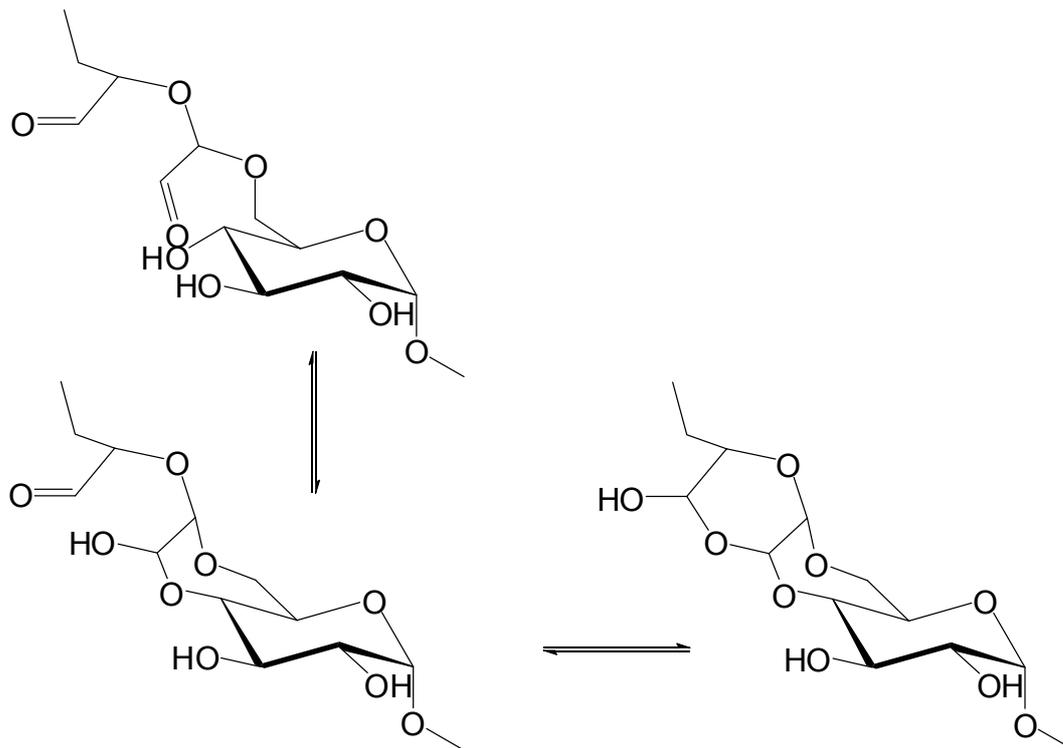


Abbildung 5 Struktur des oxidierten Dextrans nach Ishak

Yu et al. untersuchten die Periodatspaltung von Dextran (1) in DMSO.^[69] Sie stellten fest, dass hierbei nur ein mol Natriumperodat pro mol Monomerbaustein Dextran verbraucht werden. Daraufhin reduzierten sie das so gewonnene Produkt zunächst mit Natriumborhydrid und hydrolysierten anschließend sauer. So konnten sie Erythrol und Glycerol nachweisen und schließen auf die in Abb. 6 dargestellten Strukturen des oxidierten Dextrans.

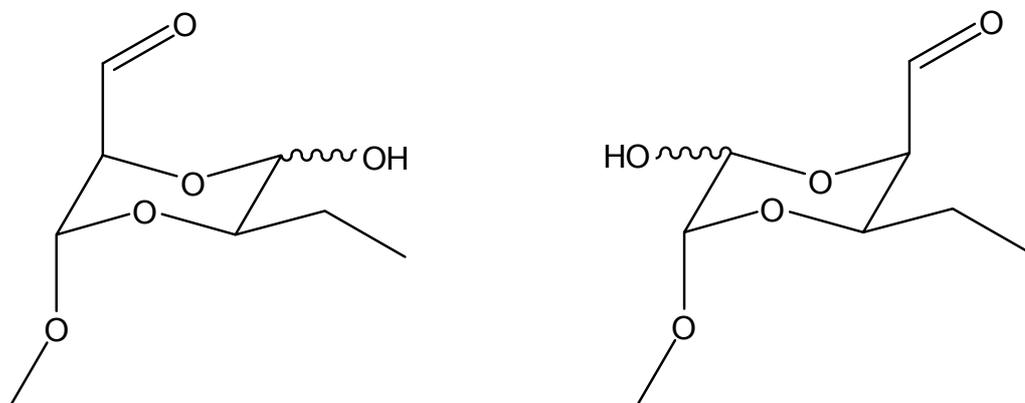


Abbildung 6 Strukturen des in DMSO oxidierten Dextrans nach Yu et al.

Die Bildung verschiedener Halbacetalformen wurde auch bei der Oxidation von Methyl- β -D-glucopyranosid und anderen Hexosen beobachtet.^{[23][24][25][26][27][28][29][30][31][32][33][34][35]}

Wenn man die Monomerstruktur des unhydratisierten oxidierten Dextrans betrachtet, so stellt man fest, dass es sich um einen 1,5-Dialdehyd handelt, analog zum Glutaraldehyd (**2**). Whipple et al. entdeckten, dass auch Glutaraldehyd (**2**) in einer Halbacetalform vorliegt.^[36]

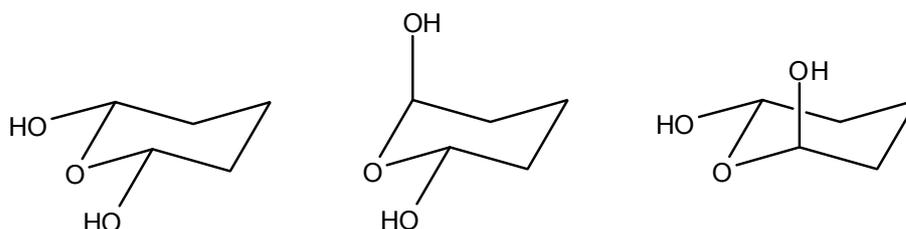


Abbildung 7 Cyclische Halbacetalformen von Glutaraldehyd (**2**) nach Whipple et al.

2.1.4 NMR-spektroskopische Untersuchungen des oxidierten Dextrans

Die Struktur des oxidierten Dextrans in der Literatur kontrovers diskutiert.^[18-21, 69] Es existieren jedoch keine klaren spektroskopischen Nachweise der diskutierten Strukturen. Um die Struktur des oxidierten Dextrans spektroskopisch aufzuklären, wurden die oxidierten Dextrane (Kapitel 2.1.3) NMR-spektroskopisch untersucht. Die Messungen wurden um der Signalverbreiterung entgegen zu wirken bei 50°C in D₂O durchgeführt.

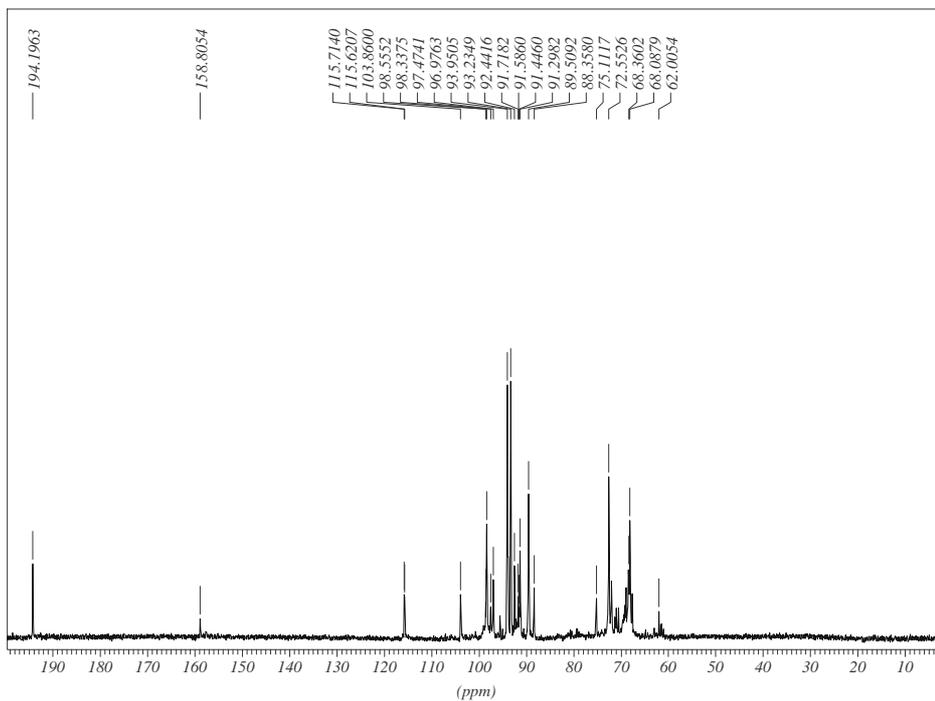


Abbildung 8 ^{13}C -NMR-Spektrum des oxidierten Dextrans in D_2O .

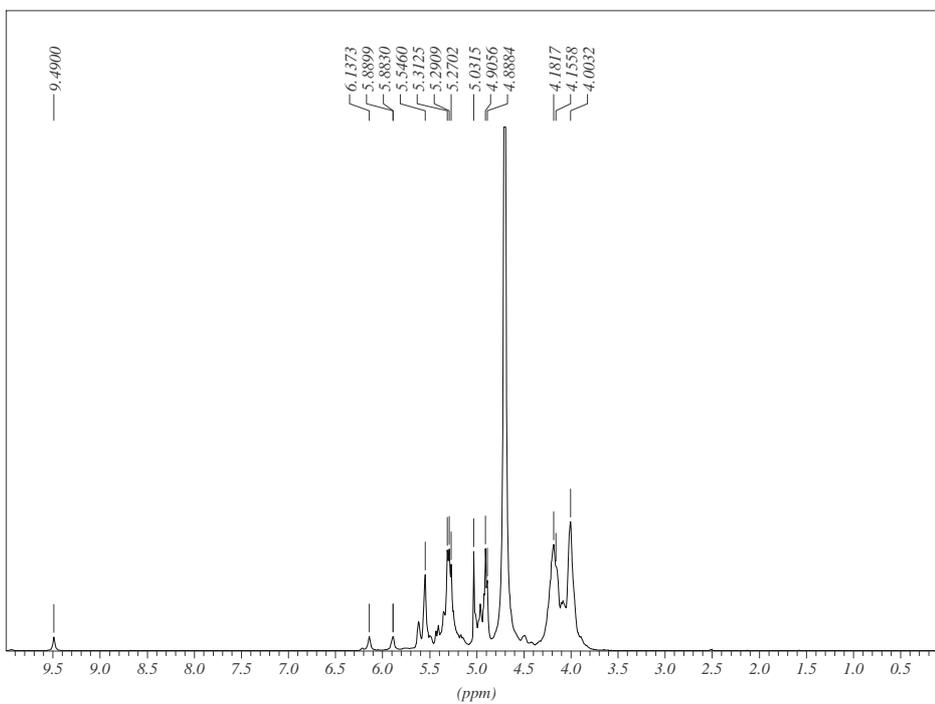
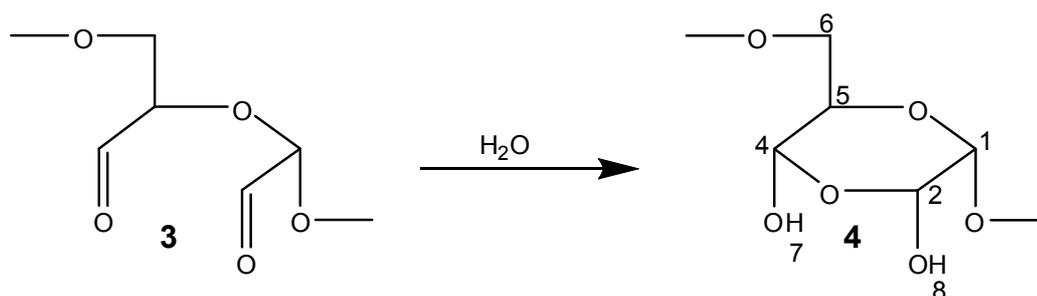


Abbildung 9 ^1H -NMR-Spektrum des oxidierten Dextrans in D_2O .

Das Signal bei 9,5 ppm im ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 9) und bei 194,2 ppm im ^{13}C -NMR-Spektrum (Abb. 8) können den Aldehydfunktionen zugeordnet werden. Der Peak bei 158,8 ppm im ^{13}C -NMR-Spektrum unterstützt die Aussage von Drobchenko et al.,^{[19][20]} dass es zu Aldo-Enol-Übergängen kommt, da eine chemische Verschiebung von 158,8 ppm einer C-C-Doppelbindung zugeordnet werden kann. Die restlichen Peaks im ^{13}C -NMR-Spektrum liegen zwischen 62,0 und 115,7 ppm und im ^1H -NMR-Spektrum zwischen 4,0 und 6,1 ppm. In diesem Bereich liegen die Signale für Kohlenhydratderivate. Die Anzahl sowie die chemische Verschiebung der Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum (Abb.8) deuten darauf hin, dass die Monomerbausteine des oxidierten Dextrans unterschiedliche Strukturen aufweisen. Die Spektren der oxidierten Dextrane in D_2O unterschiedlicher Molekulargewichte sind identisch.

In den Spektren des oxidierten Dextrans in d_6 -DMSO (Abb. 10 und 11) findet man keine Signale, die einer Aldehydfunktion zugeordnet werden können.

Die Spektren in d_6 -DMSO und die Elementaranalyse (Tab. 2) der oxidierten Dextrane weisen eindeutig auf eine cyclische Form **4** hin. Die zwei Aldehydfunktionen je Monomereinheit des oxidierten Dextrans bilden mit einem Molekül Wasser ein wie in Schema 2 dargestelltes cyclisches Halbacetal (**4**),



Schema 2 Bildung der cyclischen Halbacetalform (**4**)

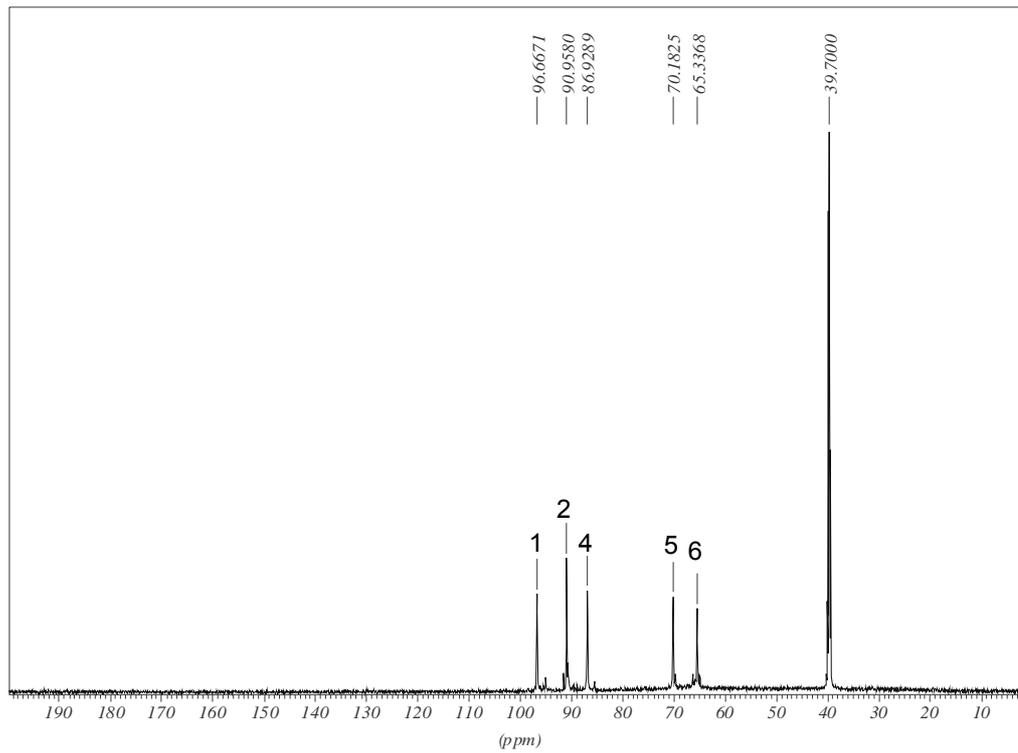


Abbildung 10 ^{13}C -NMR-Spektrum des oxidierten Dextrans in d_6 -DMSO.

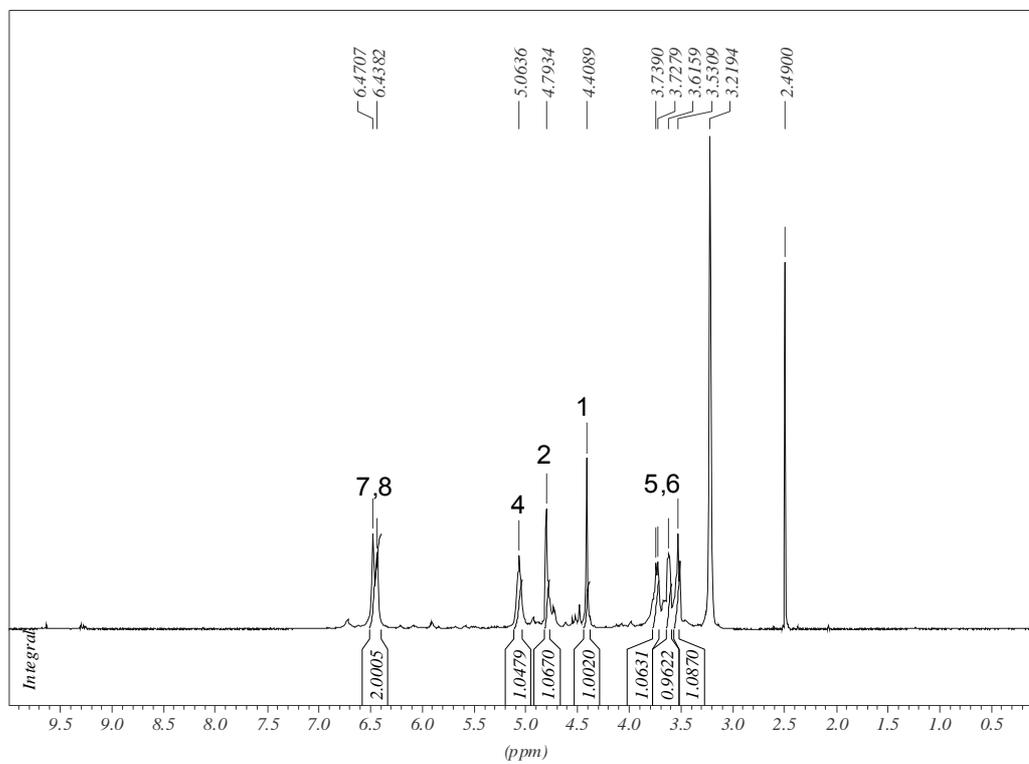


Abbildung 11 ^1H -NMR-Spektrum des oxidierten Dextrans in d_6 -DMSO.

Tabelle 2 Elementaranalysen der oxidierten Dextrane mit unterschiedlichen Molekulargewichten, berechnet für Halbacetalform **4**.

$[\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5]_n$	ber.:	C: 40.55	H: 5.44
500 kD	gef.:	C: 40.54	H: 5.36
200 kD	gef.:	C: 40.58	H: 5.38
60 kD	gef.:	C: 40.36	H: 5.46
6 kD	gef.:	C: 40.34	H: 5.46

Da nicht ausgeschlossen werden konnte, dass das d_6 -DMSO Spuren von Wasser enthielt, stellte sich nun die Frage, ob das im oxidierten Dextran gebundene Wasser aus dem deuterierten Lösungsmittel stammt. Um dies zu klären, wurde ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt (Abb. 13). Auch dieses weist auf die cyclische Struktur **4** hin, es konnte kein Carbonyl-Kohlenstoff nachgewiesen werden.

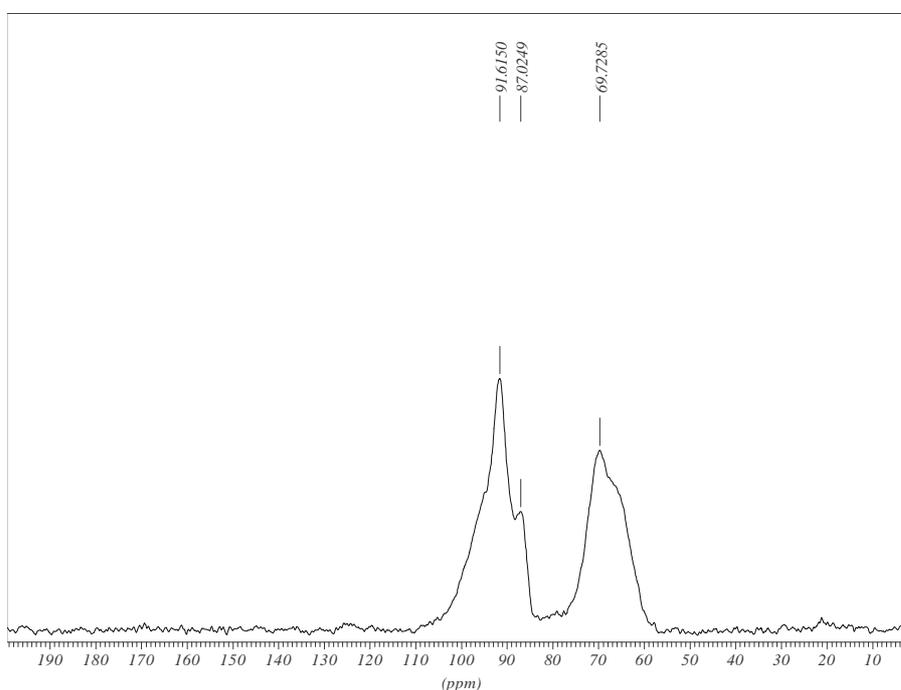


Abbildung 12 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum des oxidierten Dextrans.

Um zu untersuchen, ob das zu einem Halbacetal gebundene Wasser entfernt werden kann, wurde das oxidierte Dextran 24 h auf 100°C im Vakuum in

Anwesenheit von Phosphorpentoxid als Trockenmittel erhitzt. Anschließend angefertigte NMR-Spektren, sowohl Festkörper als auch in d_6 -DMSO-Lösung, konnten nicht von den Spektren des oxidierten Dextrans ohne Erhitzen im Vakuum unterschieden werden. Auf diese Art konnte das zum Halbacetal gebundene Wasser also nicht entfernt werden. Anschließend wurde das oxidierte Dextran in d_6 -DMSO gelöst und mit aktiviertem Molsieb 24 h bei 60°C gerührt. Diese Lösung wurde NMR-spektroskopisch vermessen nachdem das Molsieb anfiltrierte wurde. Die erhaltenen Spektren entsprachen den Spektren des oxidierten Dextrans ohne Behandlung mit Molsieb. Dies bedeutet, dass das zum Acetal gebundene Wasser auch durch die Verwendung von Molsieb bei 60°C in DMSO nicht entfernt werden konnte

Da sich die NMR-Spektren des oxidierten Dextrans in D_2O stark von den NMR-Spektren des oxidierten Dextrans in d_6 -DMSO unterscheiden, wurde untersucht, wie sich die NMR-Spektren verändern, wenn man zu in d_6 -DMSO gelöstem oxidierten Dextran langsam D_2O zugibt. Dazu wurden NMR-Spektren des oxidierten Dextrans in d_6 -DMSO/ D_2O angefertigt, wobei beginnend bei einem Verhältnis von 9:1 d_6 -DMSO: D_2O der Wasseranteil in Einerschritten erhöht wurde. Bei diesem Mischungsverhältnis entsprechen die Spektren noch dem in reinem d_6 -DMSO gemessenen Spektrum. Lediglich die Peaks bei 6,4 ppm (C-OH) im ^1H -NMR-Spektrum sind durch die Zugabe von D_2O nicht mehr vorhanden. Bereits ab einem Mischungsverhältnis von 8:2 d_6 -DMSO: D_2O sind alle Peaks, die auch im NMR-Spektrum in reinem D_2O erscheinen, vorhanden aber mit schwächerer Intensität als in reinem D_2O . Bis zu einem Mischungsverhältnis von 1:1 ändern sich nur noch die Integrale der Signale, bei diesem Mischungsverhältnis sind sie identisch mit denen des Spektrums des oxidierten Dextrans in reinem D_2O .

Somit ist es nahe liegend, dass es sich bei den unterschiedlichen Strukturen der Monomereinheiten des oxidierten Dextrans in D_2O um unterschiedlich hydratisierte Formen, sowie um Aldo-Enol-Gleichgewichte handelt.

Es genügen also 20% Wasser in DMSO um die cyclische Form **4** zu verschiedenen hydratisierten Formen zu öffnen. Ab einem Wassergehalt von

50% hat das DMSO keinen Einfluss mehr auf die Struktur des oxidierten Dextrans.

2.1.5. Bestimmung der Masse des oxidierten Dextrans

Die Ausbeuten für die Periodatspaltung des Dextrans mit der Masse von 6 kD betragen 43%. Die Aufreinigung erfolgte nur durch Ultrafiltration, folglich musste davon ausgegangen werden, dass die Polymerketten im Laufe der Reaktion hydrolysiert wurden, da die Ultrafiltration über eine Membran mit einem Cut-Off von 1 kD zu großen Verlusten an Polymer führte. Um festzustellen, in welchem Maße diese Fragmentierung stattfand, wurde die Masse des so oxidierten Dextrans mittels Maldi TOF bestimmt.

Bei Polymeren handelt es sich nicht um eine „absolute Masse“, sondern um eine Massenverteilung. Das Maximum der Verteilung des hier bestimmten oxidierten Dextrans findet man bei 1,5 kD. Die Masse wird also um ein Viertel kleiner.

Bei vollständiger Reaktion würde man eine Masse von ca. 5,5 kD erwarten. Folglich führt die Oxidation von Dextran zu einer deutlichen Abnahme des mittleren Molekulargewichts. Gründe für die Abnahme des Molekulargewichts sind vermutlich die Aufarbeitung (2 Tage Ultrafiltration) und die Reaktionszeiten (24 h). Bei der Reaktion entsteht Ameisensäure wodurch der pH-Wert im Laufe der Reaktion auf 2,6 – 0,6 sinkt.^[21] Unter diesen Bedingungen werden die glycosidischen Bindungen und somit die Polymerketten hydrolysiert.

2.2 Reaktionen des oxidierten Dextrans

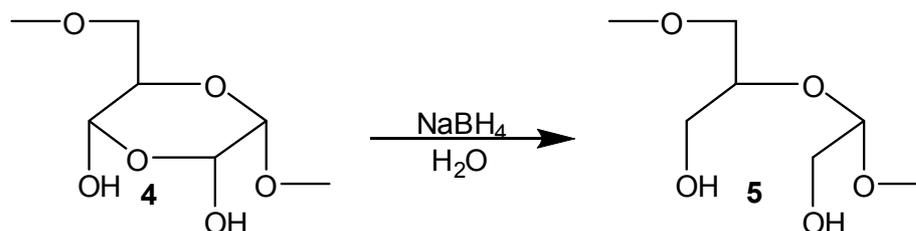
In Kapitel 2.1.4 konnte gezeigt werden, dass das oxidierte Dextran in reinem, trockenem Zustand sowie in DMSO gelöst als Poly-(2,6-dihydroxy-5-methylenoxy-3,5-dihydro-1,4-dioxan) (**4**) vorliegt. In Wasser liegt es vermutlich als eine Mischung aus verschiedenen hydratisierten Formen vor. Somit ist es möglich, dass das oxidierte Dextran sowohl als Aldehyd als auch als Alkohol reagieren kann. Im Folgenden gelang es, entsprechende Derivate des oxidierten Dextrans darzustellen. Die in den folgenden Kapiteln beschriebenen Reaktionen wurden mit dem oxidierten Dextran mit einem Molekulargewicht von 500 kD vor der Oxidation durchgeführt.

2.2.1 Reaktionen des oxidierten Dextrans als Aldehyd

Um zu untersuchen, inwiefern das oxidierte Dextran als Aldehyd reagiert, wurden mit dem oxidierten Dextran klassische Aldehydreaktionen durchgeführt. In Kapitel 2.1.4 wurde gezeigt, dass die cyclische Form **4** des oxidierten Dextrans bereits mit 20% Wasser in DMSO geöffnet werden kann. Deshalb wurde untersucht, ob das cyclische Halbacetal auch als Aldehyd reagieren kann.

2.2.1.1 Reduktion des oxidierten Dextrans

Aldehyde können mit Natriumborhydrid zu Alkoholen reduziert werden. Eine solche Reduktion wurde mit dem oxidierten Dextran in Wasser durchgeführt. Wenn das oxidierte Dextran wie ein Aldehyd reagiert, sollte es sich zu der in Schema 3 abgebildeten Struktur **5** reduzieren lassen.



Schema 3 Reduktion des oxidierten Dextrans mit NaBH_4 .

Nach der Periodatoxidation von Dextran und anschließender Ultrafiltration wurden zu dieser Lösung unter Eiskühlung 3 eq Natriumborhydrid pro Monomerbaustein in Wasser gelöst zugegeben. Anschließend wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, das Reaktionsgemisch mit konzentrierter HCl-Lösung neutralisiert, 2 Tage ultrafiltriert und lyophilisiert.^[37] Zur Analyse wurden NMR-Spektren und eine Elementaranalyse angefertigt. Die gefundenen Werte der Elementaranalyse stimmten nicht mit den erwarteten berechneten Werten für Verbindung **5** überein.

Durch Hydrolyse von Natriumborhydrid entsteht Metaborsäure. Alkohole können mit Metaborsäure verestern.^[38] Mit den durch die Reduktion erhaltenen Hydroxyfunktionen kann die Metaborsäure die in Abb.12 dargestellten cyclischen Produkte bilden. Die Berechnung der Elementaranalyse für einen solchen Borsäureester stimmte mit den gefundenen Werten überein.

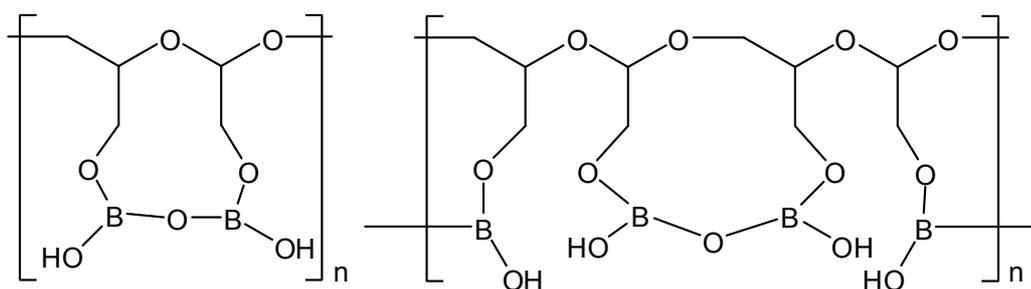


Abbildung 13 Mögliche Produkte nach Periodatoxidation reduziertem Dextran und Metaborsäure.

Deshalb wurde das Produkt in Methanol suspendiert und anschließend im Vakuum bei 50°C wieder entfernt. Es bildete sich aus Borsäure und Methanol der Borsäuretrimethylester, welcher dann im Vakuum azeotrop mit Methanol entfernt wurde. Nach dreimaliger Wiederholung dieser Prozedur wurde das Produkt im Vakuum getrocknet und nochmals eine Elementaranalyse angefertigt. Das Ergebnis dieser Analyse stimmte dann mit den berechneten Werten des erwarteten Produkts **5** überein. Das NMR-Spektrum (Abb. 13) bestätigt die Reaktion des oxidierten Dextrans zum Polyalkohol **5**.

Tabelle 3 Elementaranalysen des Polyborsäureesters und der Polyalkohols **5**.

Borsäureester (C ₅ H ₁₀ B ₂ O ₇) _n :	ber.: C: 29.47	H: 4.95
	gef.: C: 29.24	H: 5.26
Polyalkohol (C ₅ H ₁₀ O ₄) _n :	ber.: C: 44.77	H: 7.51
	gef.: C: 44.36	H: 7.93

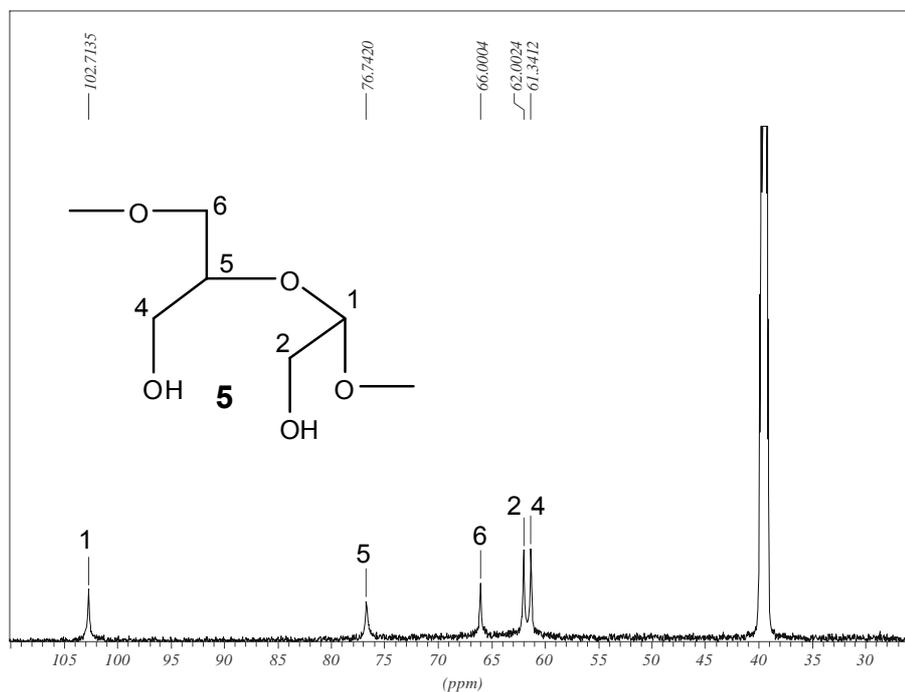


Abbildung 13 ¹³C-NMR-Spektrum des Polyalkohols **5**.

2.2.1.2 Reaktionen des oxidierten Dextrans mit aliphatischen Aminen

Eine weitere klassische Reaktion von Aldehyden ist die Umsetzung mit Aminen zu Iminen bzw. zu Schiff'schen Basen. Diese Reaktion soll auch bei der Bildung von Hydrogelen aus einer Amino- und einer Aldehydkomponente eine Rolle spielen. Das oxidierte Dextran wird später als Komponente zur Bildung von Hydrogelen eingesetzt. Deshalb wurde die Reaktion des oxidierten Dextrans mit verschiedenen Aminen genauer untersucht. Zunächst wurde das oxidierte Dextran mit verschiedenen aliphatischen Aminen umgesetzt. Als erstes wurde n-Propylamin (**6**) verwendet.

Dazu wurde das oxidierte Dextran mit 2 eq n-Propylamin (**6**) umgesetzt. Die Lösung färbte sich bereits nach wenigen Minuten braun. NMR-spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass sich das oxidierte Dextran unter diesen, durch die Zugabe des Amins verursachten, alkalischen Bedingungen zersetzt. Um dies zu umgehen wurde das oxidierte Dextran nun in d_6 -DMSO gelöst. Zu dieser Lösung wurden 0,7 eq n-Propylamin (**6**) zugegeben und das Reaktionsprodukt ohne weitere Aufarbeitung NMR-spektroskopisch vermessen. Das Experiment wurde in DMSO durchgeführt, da die Signale des Spektrums des oxidierten Dextrans in diesem Lösungsmittel genau zugeordnet werden konnten. Es wurde ein Überschuss an n-Propylamin (**6**) verwendet (ausgegangen von der Annahme, dass ein Mol Monomer oxidiertes Dextran mit 2 Mol n-Propylamin (**6**) reagiert), damit in kurzer Zeit möglichst alles abreagiert. Anschließend wurde sofort ein ^1H -NMR-Spektrum angefertigt (Abb. 14).

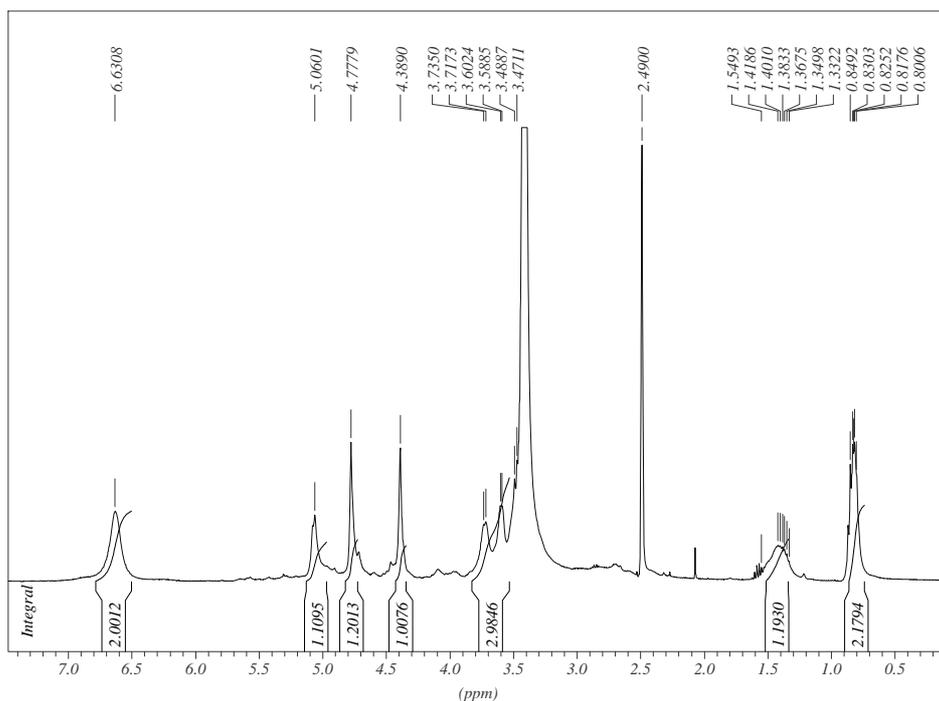
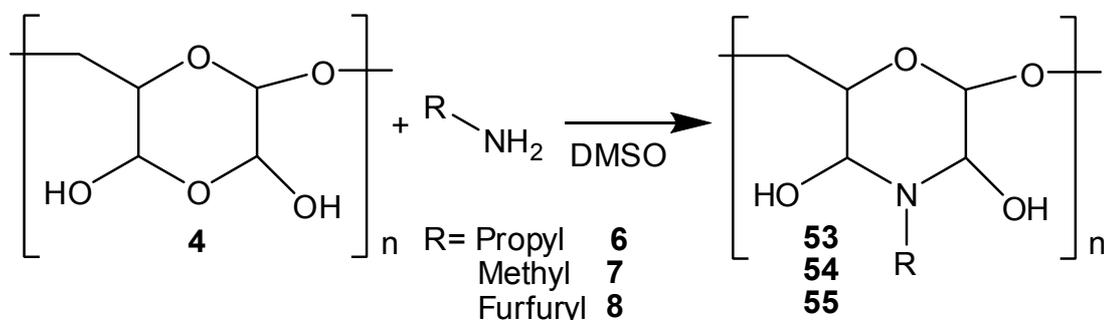


Abbildung 14 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach der Zugabe von n-Propylamin (**6**) zum oxidierten Dextran in d_6 -DMSO.

Im Vergleich zum Spektrum des reinen oxidierten Dextrans sind deutlich zwei neue Peaks bei 1,3 und 0,8 ppm zu erkennen. Außerdem ist bei ca. 3,3 ppm ein deutlicher HOD-Peak zu erkennen. Bei der Reaktion eines Mols Aldehyd mit einem Mol Amin zu einem Imin entsteht ein Mol Wasser. Deshalb ist dieses HOD-Signal ein klares Anzeichen für eine Reaktion. Da nur zwei Peaks des n-Propylamins (**6**) zu sehen sind, müssen die $\text{CH}_2\text{-NR}$ -Protonen unter dem Wassersignal liegen. Das bedeutet, dass das Signal dieser Gruppe im Vergleich zu Spektrum des reinen n-Propylamins (**6**) deutlich ins hohe Feld verschoben ist. Im Spektrum des reinen n-Propylamins (**6**) erscheint dieses Signal bei 2,5 ppm. Die Signale der OH-Gruppen des oxidierten Dextrans sind nach wie vor sichtbar, auch an der Integration hat sich nichts geändert, daher kann ausgeschlossen werden, dass diese OH-Gruppen nur einem Anteil von Monomerbausteinen die aufgrund des Unterschusses an n-Propylamin nicht reagiert haben, zugeordnet werden können. Dies deutet darauf hin, dass keine

Reaktion zum Imin stattgefunden hat. Aus diesen Beobachtungen ist nur das Reaktionsprodukt **53** in Schema 4 möglich.



Schema 4 Reaktion des oxidierten Dextrans mit aliphatischen Aminen **6**, **7** und **8**.

Dasselbe Reaktionsverhalten wurde bei den Umsetzungen des oxidierten Dextrans mit Methylamin (**7**) und mit Furfurylamin (**8**) zu den Polymorpholinderivaten **54** und **55** beobachtet.

Solche cyclischen Halbaminale wurden auch für die Reaktion von Glutaraldehyd (**2**) mit Aminen beobachtet.^{[39][40][41][42][43]}

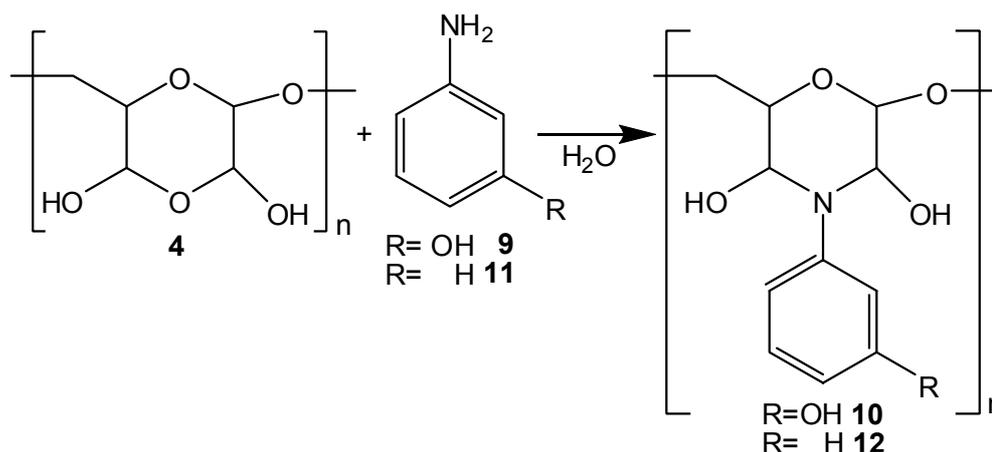
2.2.1.3 Reaktion des oxidierten Dextrans mit aromatischen Aminen

In Kapitel 2.2.1.2 wurden die Reaktionen des oxidierten Dextrans mit aliphatischen Aminen beschrieben. Aliphatische Amine gehen Imino-Enamin-Gleichgewichte ein, diese konnten jedoch in den beschriebenen Umsetzungen durch geeignete Reaktionsführung vermieden werden. Aromatische Imine hingegen gelten als stabil.^[44] Wie in Kapitel 2.2.1.2 gezeigt, reagiert das oxidierte Dextran mit aliphatischen Aminen zu Polymorpholinderivaten (**53**, **54** und **55**) anstatt zu Iminen. Die Reaktionsführung der Umsetzung des oxidierten Dextrans mit den aliphatischen Aminen erwies sich als schwierig. Bei zu schneller Zugabe von Amin zersetzt sich das Polymer. Aufgrund der Stabilitätsunterschiede von aromatischen und aliphatischen Iminen wurden im Folgenden Reaktionen des oxidierten Dextrans mit aromatischen Aminen durchgeführt. Auf diesem Wege wurde untersucht, ob das oxidierte Dextran mit

aromatischen Aminen auch zu Polymorpholinderivaten reagiert. Da aromatische Imine stabiler sind als aliphatische Imine wäre in diesem Fall auch eine Reaktion zum Imin wahrscheinlich.

Als aromatisches Amin wurde 3-Aminophenol (**9**) aufgrund seiner Wasserlöslichkeit für diese Untersuchungen eingesetzt. Zu einer wässrigen Lösung oxidierten Dextrans wurden 2 eq 3-Aminophenol (**9**) zugegeben. Im Gegensatz zu den Umsetzungen mit aliphatischen Aminen trat hierbei keine Zersetzung des Polymers auf, bereits nach 1 h begann ein Feststoff auszufallen. Nach 24 h wurde das ausgefallene Produkt abfiltriert, mit Wasser gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet. Vom wasserunlöslichen Produkt wurde ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Auch in diesem Spektrum kann kein Signal einer Iminfunktion zugeordnet werden.

Die Elementaranalyse zeigt, dass je Monomereinheit des oxidierten Dextrans ein Molekül 3-Aminophenol (**9**) zum Polymorpholinderivat **10** reagiert hat. Gleiche Beobachtungen wurden bei der Umsetzung des oxidierten Dextrans mit Anilin (**11**) zu Derivat **12** gemacht. Somit reagiert das oxidierte Dextran mit aromatischen Aminen ebenso wie mit aliphatischen zu einem cyclischen Produkt.



Schema 5 Reaktion des oxidierten Dextrans mit den aromatischen Aminen **9** und **11**.

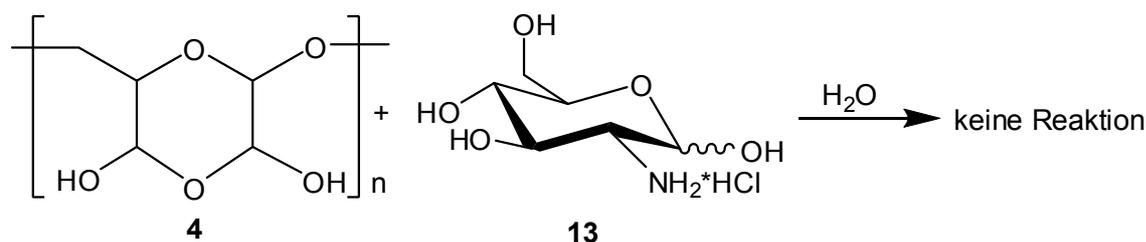
Die Reaktionen des oxidierten Dextrans mit aromatischen Aminen wurden sowohl in Wasser als auch in DMSO durchgeführt. Sowohl bei der

Reaktionsführung in Wasser als auch bei der Reaktionsführung in DMSO wurden die cyclischen Produkte **10** und **12** gebildet. Dies bedeutet, dass das Lösungsmittel keinen Einfluss auf die Reaktionsweise des oxidierten Dextrans hat. Mit primären Aminen bildet das oxidierte Dextran also Polymorpholinderivate. Ähnliche Beobachtungen wurden von Guthrie et al. bei periodatoxidierten Kohlenhydraten wie z.B. 1-Methylarabinopyranosid gemacht.^{[45][46]}

2.2.1.4 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Glucosamin-Hydrochlorid (13)

Das Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) entspricht dem Monomerbaustein des Chitosan-Hydrochlorids (**14**). In Kapitel 2.4.3 wird das Chitosan-Hydrochlorid (**14**) als Gelierungspartner für das oxidierte Dextran eingesetzt. Da das oxidierte Dextran sowohl mit aliphatischen als auch mit aromatischen Aminen nicht wie erwartet zum Imin reagierte, musste geklärt werden, wie das oxidierte Dextran mit Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) reagiert. Wenn das oxidierte Dextran auch mit Glucosamin-Hydrochlorid Polymorpholinderivate bildet, so kann die Bildung von Schiff'schen Basen als Ursache für die Gelbildung aus oxidiertem Dextran und Chitosan-Hydrochlorid (**14**) ausgeschlossen werden.

Das oxidierte Dextran wurde also mit 2,4 eq Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) 24 h umgesetzt. Die Lösung wurde anschließend zwei Tage ultrafiltriert um nicht abreagiertes Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) zu entfernen. Die polymerhaltige Lösung wurde anschließend lyophilisiert und es wurden ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren in d₆-DMSO angefertigt. Diese Spektren entsprechen denen des reinen oxidierten Dextrans (Abb.10 und Abb.11). Das bedeutet, dass das Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) nicht mit dem oxidierten Dextran reagiert hat.



Schema 6 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Glucosamin-Hydrochlorid (**13**)

2.2.1.5 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorid (**14**)

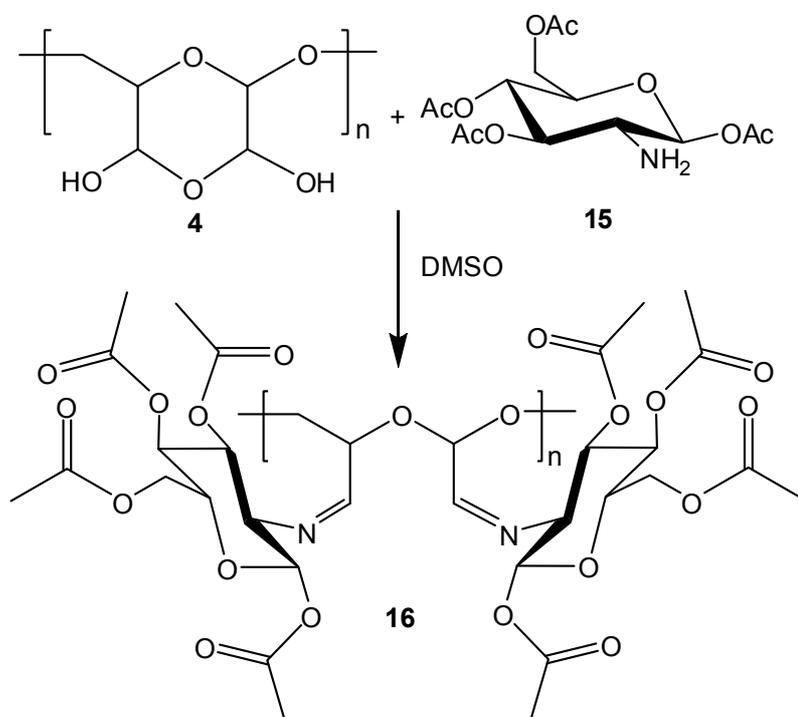
Da bei der Reaktion von Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) mit oxidiertem Dextran NMR-spektroskopisch keine Reaktion nachgewiesen werden konnte, wurde nun 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorid^[47,48] in gleicher Weise mit dem oxidierten Dextran umgesetzt. Die CH_3 -Gruppen der Acetylgruppen des Glucosamins müssten im Spektrum gut sichtbar sein, wenn es zu einer Reaktion kommt. Sie erscheinen im Spektrum des reinen 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorids (**14**) als scharfes, hohes Singulett. Da in jedem Molekül 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorid (**14**) vier Acetylgruppen vorhanden sind, sollte dieses Signal auch noch sichtbar sein, wenn nur wenige Moleküle 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorid (**14**) mit dem oxidierten Dextran reagieren. Jedoch erhielt man hier das identische Spektrum wie beim Versuch mit Glucosamin-Hydrochlorid (**13**). Es fand keine Reaktion statt.

2.2.1.6 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**)

Die Untersuchungen in den Kapiteln 2.2.1.4 und 2.2.1.5 zeigen, dass das oxidierte Dextran mit den Aminohydrochloriden **13** und **14** keine Reaktion eingeht.

Aminohydrochloride sind im Allgemeinen unreaktiv. Möchte man eine Reaktion mit diesen durchführen, so gibt man eine Base, meist in Form eines Carbonats oder eines tertiärenamins dazu.

Somit lag es Nahe, das oxidierte Dextran mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**) umzusetzen. Dieses ist jedoch nicht wasserlöslich. Aus diesem Grund wurde die Reaktion in DMSO durchgeführt. 2,4 eq 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**) wurden 24 h mit dem oxidierten Dextran in DMSO umgesetzt und anschließend Wasser in das Reaktionsgemisch gegeben. Dabei fiel ein Feststoff aus. Die Lösung wurde angesäuert um überschüssiges 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**) zu lösen, der übrige Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Von diesem Feststoff wurde ein ^{13}C -Festkörperspektrum angefertigt (Abb.14). Dieses zeigt deutlich, dass eine Reaktion zum Polyimin **16** stattgefunden hat (Schema 7). Das Signal bei 164,1 ppm entspricht den Imin-Kohlenstoffen, die Signale bei 180,5 ppm, 172,8 ppm, 24,3 ppm und 21 ppm entsprechen den Acetylgruppen des Glucosamins.



Schema 7 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**).

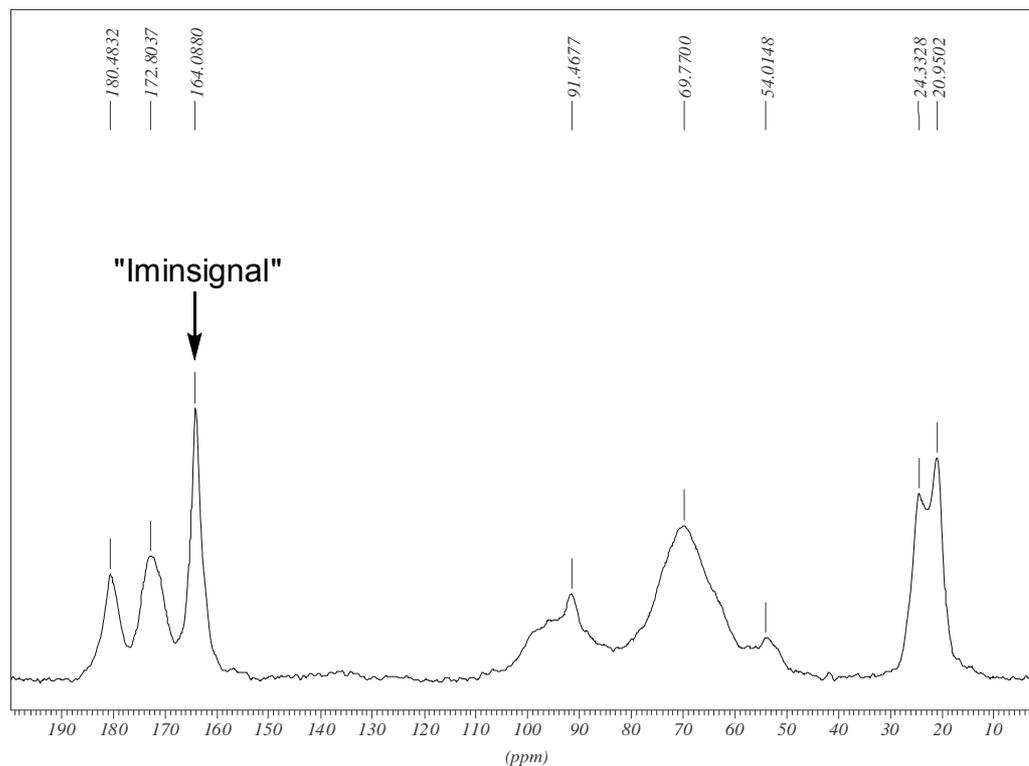


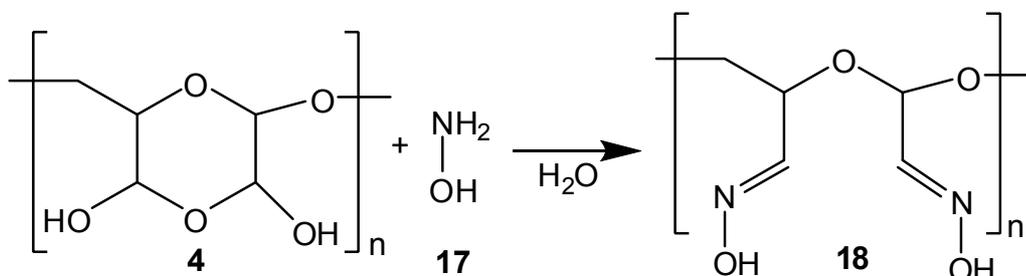
Abbildung 11 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum von Verbindung 16.

2.2.1.7 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Hydroxylamin (17)

Hydroxylamin (17) dient häufig zur quantitativen Bestimmung von Aldehydfunktionen durch Titration. Dabei wird davon ausgegangen, dass eine Aldehydfunktion mit einem Molekül Hydroxylamin (17) zum Oxim reagiert. Da das oxidierte Dextran in den meisten Fällen nicht zum Imin reagiert, stellte sich nun die Frage, ob diese Methode für die Bestimmung der Aldehydfunktionen im oxidierten Dextran geeignet ist. Wie in Kapitel 2.1.3 erwähnt, beruhen die Ergebnisse zur Strukturuntersuchung des oxidierten Dextrans von Novikavo et al. auf einer solchen Titration. Laut den Autoren können die gebildeten Halbacetale nicht mehr mit Hydroxylamin (17) reagieren. Deshalb wurde die Reaktion des oxidierten Dextrans mit Hydroxylamin (17) genau untersucht.

Hierzu wurde zu einer wässrigen Lösung oxidierten Dextrans 2,2 eq einer 40%igen wässrigen Lösung von Hydroxylamin (17) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Lösung

ultrafiltriert und lyophilisiert. Zur Analyse des Produkts **18** wurde ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Dieses Spektrum zeigt deutlich, dass hier eine Reaktion zum Imin stattgefunden hat (150 ppm, C=N-H).



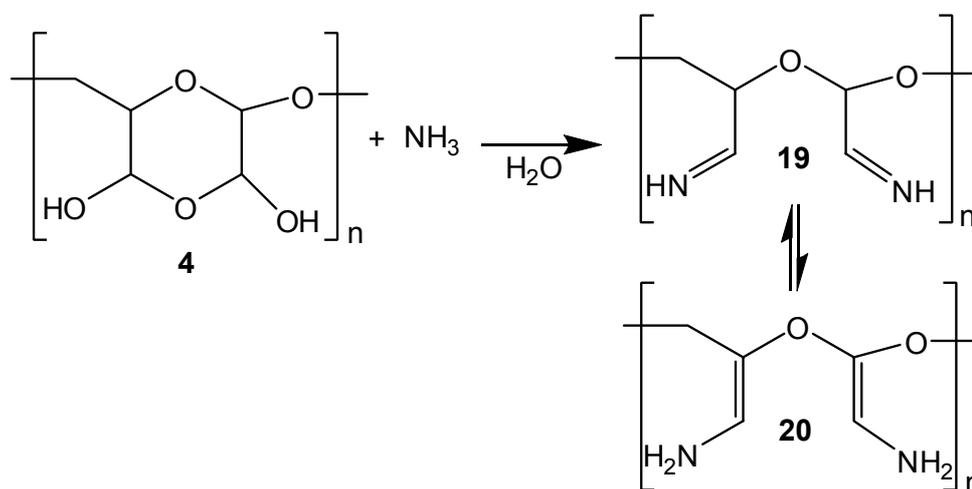
Schema 8 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Hydroxylamin (**17**).

Dies bedeutet, dass die Untersuchungen von Novikavo et al. soweit richtig interpretiert wurden. Ein Monomerbaustein des oxidierten Dextrans reagiert mit zwei Molekülen Hydroxylamin (**17**). Die Behauptung, dass die Halbacetale nicht zu den entsprechenden Iminen umgesetzt werden können trifft jedoch nicht zu. Da sich die verschiedenen Strukturen im Gleichgewicht zueinander befinden, kann das oxidierte Dextran nahezu quantitativ in das entsprechende Imin überführt werden.

2.2.1.8 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniak bzw. Ammoniumcarbonat

Das oxidierte Dextran reagiert in einigen Fällen, wie z.B. mit Hydroxylamin (**17**) (Kapitel 2.2.1.7) zum Oxim, in anderen Fällen wie z.B. mit aromatischen Aminen (Kapitel 2.2.1.3) reagiert es zu einer cyclischen Halbaminatform. Daher wurde das oxidierte Dextran mit weiteren Stickstoffverbindungen die mit Aldehyden reagieren können umgesetzt, um sein Reaktionsverhalten genauer zu untersuchen. Daher wurde das oxidierte Dextran nun mit Ammoniak umgesetzt. Dazu wurde das oxidierte Dextran in Wasser gelöst und zu dieser Lösung 2,1 eq einer konzentrierten wässrigen Lösung Ammoniak zugegeben. Anschließend wurde lyophilisiert und vom Lyophilisat ein ^{13}C -Festkörperspektrum angefertigt. Dieses Spektrum zeigt einen deutlichen Peak

bei 165,5 ppm. Daraus kann geschlossen werden, dass sich Imine gebildet haben. Jedoch weist das Spektrum außer den Signalen des oxidierten Dextrans auch Peaks bei 145,6 ppm und 139,3 ppm auf. Dies deutet darauf hin, dass sich zwar Imine gebildet haben, diese jedoch ein Imino-Enamin-Gleichgewicht eingehen, analog den Beobachtungen von Drobchenko et al. für das oxidierte Dextran in Wasser.^[19] Dieses Imino-Enamin-Gleichgewicht besteht im Unterschied zu oxidiertem Dextran nicht nur in wässriger Lösung sondern konnte auch im Festkörper-NMR-Spektrum der reinen Substanz nachgewiesen werden.



Schema 9 Umsetzung des oxidierten Dextrans mit Ammoniak und anschließendes Imino-Enamin-Gleichgewicht.

Um festzustellen, ob das oxidierte Dextran auch in DMSO mit Ammoniak zum Imin reagiert, wurde die Reaktion nun in DMSO durchgeführt. Dazu wurde das oxidierte Dextran in DMSO gelöst. Anschließend wurde 2 h Ammoniak in die Lösung eingeleitet. Um ein Gefrieren des Reaktionsgemischs zu verhindern, musste es auf RT temperiert werden. Anschließend wurde durch 24 h Einleiten von Luft überschüssiges Ammoniak entfernt und die Lösung anschließend wiederholt lyophilisiert. Vom Produkt wurde ebenfalls ein ¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Dieses Spektrum entspricht dem Spektrum des Produktes welches bei der Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniak in Wasser entsteht. Der Peak bei 40 ppm ist d₆-DMSO zuzuordnen.

Auch durch die Verwendung von Ammoniumcarbonat in DMSO wurde kein anderes Ergebnis erzielt.

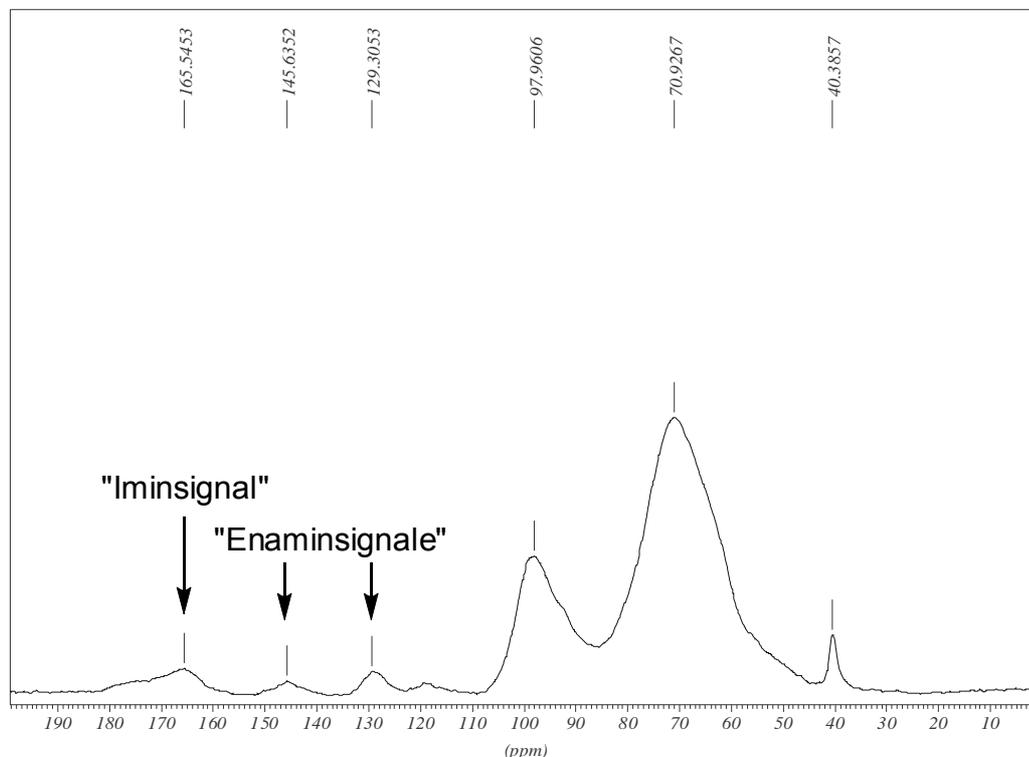


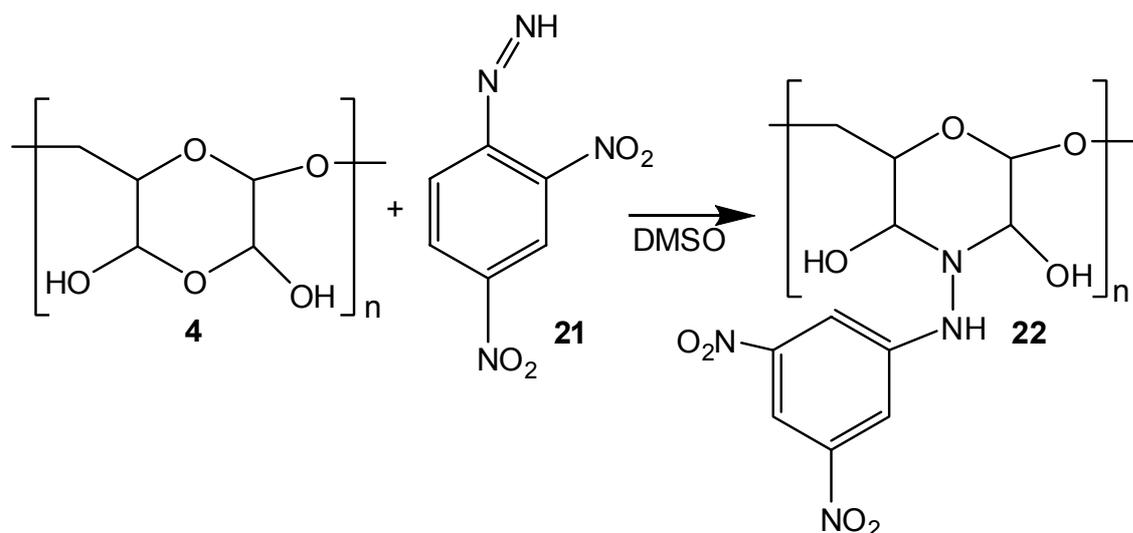
Abbildung 12 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum nach der Umsetzung von oxidiertem Dextran und Ammoniak.

2.2.1.9 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (21)

Wie Hydroxylamin (**17**) wird auch 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**) zur quantitativen Bestimmung von Aldehyden verwendet.^[49] Dabei reagiert ein Mol 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**) mit einem Mol Aldehyd zu einem Mol Hydrazon. Um zu überprüfen, ob diese Methode so auf das oxidierte Dextran angewendet werden kann, wurde es mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**) umgesetzt und die Struktur anschließend untersucht.

Hierzu versetzte wurde eine Lösung des oxidierten Dextrans in DMSO mit 2 eq 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**) versetzt und die Reaktionslösung wurde 48 h bei RT gerührt. Das Reaktionsprodukt wurde durch Zugabe von Wasser gefällt,

abfiltriert und anschließend mit Wasser und Ethylacetat gewaschen und im Vakuum getrocknet. Im ^{13}C -NMR-Festkörperspektrum des Produktes erscheinen die Signale des oxidierten Dextrans ähnlich wie im Spektrum des reinen oxidierten Dextrans. Man kann deutlich die 5 Peaks (66,1 ppm; 70,0 ppm; 86,9 ppm; 91,9 ppm; 95,7 ppm) für die fünf C-Atome je Monomerbaustein des oxidierten Dextrans erkennen. Außerdem sind im Bereich zwischen 117 ppm und 145 ppm die Signale des 2,4-Dinitrophenylhydrazins (**21**) vorhanden. Würde das oxidierte Dextran in diesem Fall zum Hydrazon reagieren, so müssten die beiden Signale bei 86,9 ppm und 91,9 ppm deutlich ins tiefe Feld verschoben sein. Diese Signale entsprechen den C-Atomen die an der Halbacetalbildung beteiligt sind. Da dies jedoch nicht der Fall ist wurde daraus geschlossen, dass auch hier das cyclische Derivat **22** gebildet wurde.



Schema 10 Reaktion des oxidierten Dextrans mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**).

Dies bedeutet, dass die oben erläuterte Methode zur Bestimmung von Aldehydfunktionen nicht direkt auf das oxidierte Dextran übertragen werden kann. Beim oxidierten Dextran reagiert ein Halbacetal, entstanden aus 2 Aldehydfunktionen und einem Molekül Wasser, mit einem Molekül 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**).

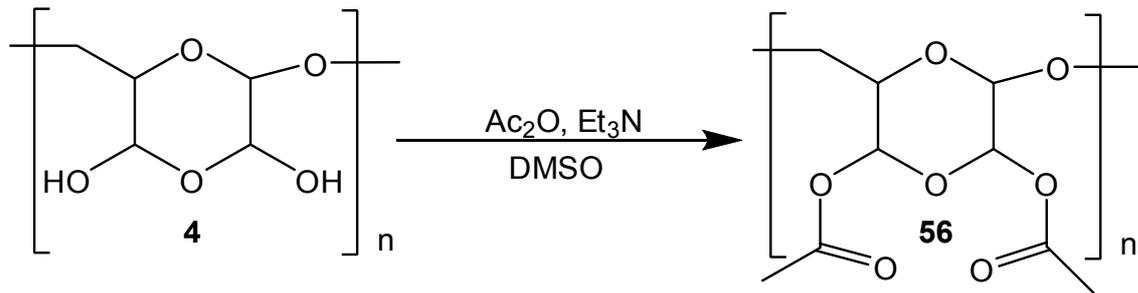
2.2.2 Reaktionen des oxidierten Dextrans als Alkohol

In Kapitel 2.1 wurde die cyclische Halbacetalform **4** des oxidierten Dextrans in DMSO-Lösungen sowie in reiner Form bewiesen. Die Untersuchungen zum Reaktionsverhalten des oxidierten Dextrans als Aldehyd in Kapitel 2.2.1 zeigten, dass das oxidierte Dextran sowohl in Wasser als auch in DMSO als Aldehyd reagieren kann. Jedoch reagiert das oxidierte Dextran nicht immer wie die klassischen Aldehyde. Im Folgenden wurde untersucht, ob das oxidierte Dextran auch wie ein Alkohol reagieren kann. Wie in den folgenden Kapiteln gezeigt wird, eröffnen sich durch diese Reaktionen viele weitere Möglichkeiten um das oxidierte Dextran zu modifizieren.

2.2.2.1 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Essigsäureanhydrid

Eine Reaktion, die häufig mit Alkoholen durchgeführt wird, ist die Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin. Um zu untersuchen, ob das oxidierte Dextran als Alkohol reagieren kann, wurde das oxidierte Dextran mit Essigsäureanhydrid in Pyridin umgesetzt. Auch nach drei Tagen konnte keine Umsetzung nachgewiesen werden. Ein Grund dafür kann die Unlöslichkeit des oxidierten Dextrans in Pyridin sein.

Aus diesem Grund wurde das oxidierte Dextran in DMSO gelöst und anschließend unter Eiskühlung einige Tropfen Triethylamin und 5 eq. Essigsäureanhydrid zugegeben. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt und das Reaktionsgemisch dann auf Eiswasser gegossen, dabei fiel ein Feststoff aus.



Schema 11 Acetylierung des oxidierten Dextrans.

Dieser wurde mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das vom Produkt **56** angefertigte ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum in Abb. 16 zeigt eindeutig die Signale der Acetylschutzgruppen bei 169 ppm ($-\text{C}=\text{O}$) und 20 ppm ($-\text{CH}_3$). Dies bedeutet, dass das oxidierte Dextran auch wie ein Alkohol reagieren kann.

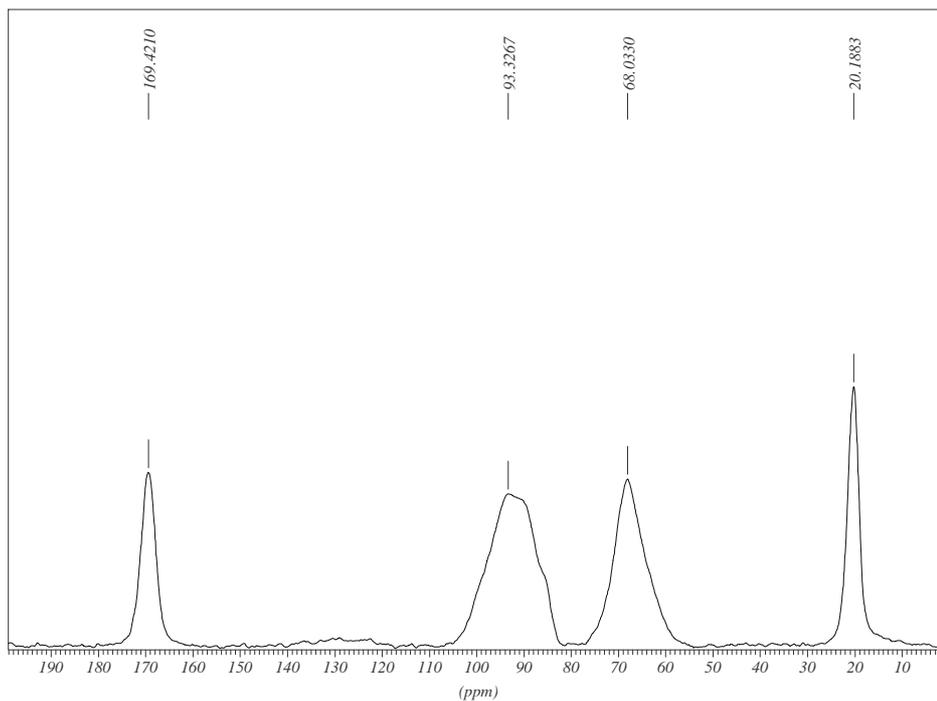


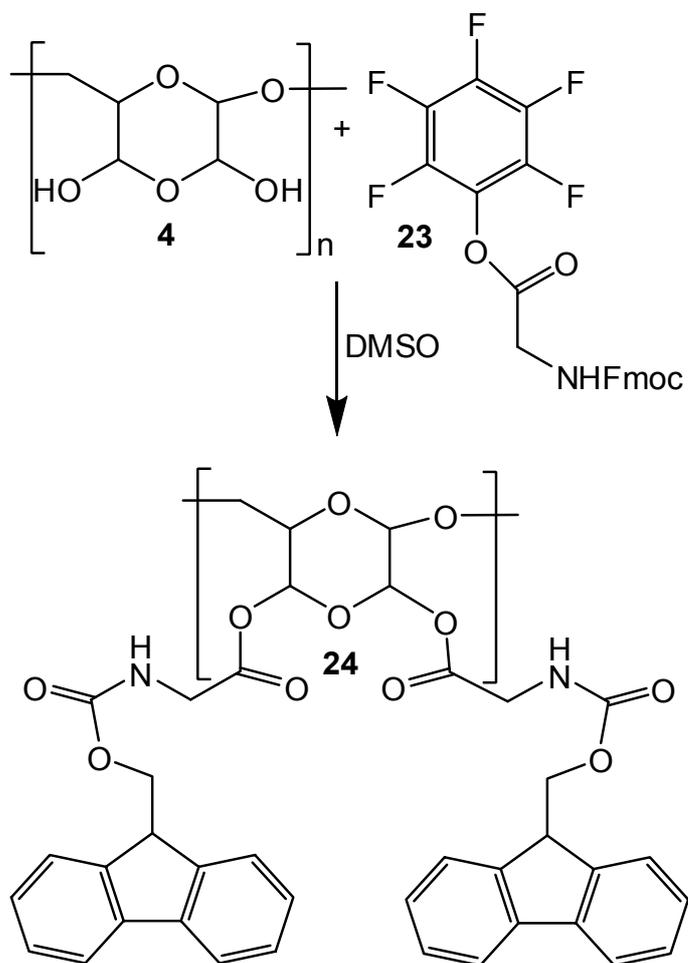
Abbildung 13 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum vom acetylierten oxidierten Dextran (**56**).

2.2.2.2 Reaktion des oxidierten Dextrans mit einem Aktivester

Für medizinische Anwendungen könnte es interessant sein, wenn man das oxidierte Dextran mit Aminosäuren modifiziert. Deshalb wurde untersucht, ob das oxidierte Dextran mit aktivierten Aminosäuren verestert werden kann. Als Aminosäure wurde die einfachste Aminosäure gewählt, das Glycin.

Die Aminofunktion des Glycins wurde mit Fmoc geschützt. Anschließend wurde die Säurefunktion mit Pentafluorphenol aktiviert. Die so erhaltene Verbindung **23** wurde nun in DMSO mit dem oxidierten Dextran über 3 Tage bei Raumtemperatur umgesetzt und anschließend das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegossen wobei ein Niederschlag ausfiel. Dieser wurde abfiltriert und mit Wasser und Ethylacetat gewaschen um nicht abreagierte Aminosäure sowie Pentafluorphenol zu entfernen. Anschließend wurde das Produkt im Vakuum getrocknet und ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Dieses Spektrum zeigt die Signale des oxidierten Dextrans sowie die Signale der Fmoc-geschützten Aminosäure **23** (Abb. 17). Die Peaks bei 179.6 ppm und bei 177.7 ppm wurden den Carboxylkohlenstoffen des Glycins zugeordnet werden, der Peak bei 157.9 ppm den Carbonylfunktionen der Fmoc-Schutzgruppen. Die Signale im Bereich von 147.3 ppm bis 120.7 ppm entsprechen den aromatischen Kohlenstoffen der Fmoc-Schutzgruppe. Die Peaks zwischen 92.4 ppm und 68.7 ppm werden den Kohlenstoffatomen des oxidierten Dextrans zugeordnet. Die Peaks im Bereich von 45.8 ppm bis 40.4 ppm entsprechen den CH_2 - bzw. CH-Signalen des Fmoc geschützten Glycins.

Dies bedeutet, dass die Hydroxyfunktionen der cyclischen Halbacetalform **4** durch die Umsetzung mit Aktivestern verestert werden kann (Schema 12).



Schema 12 Umsetzung des oxidierten Dextrans mit aktiviertem Glycin 23.

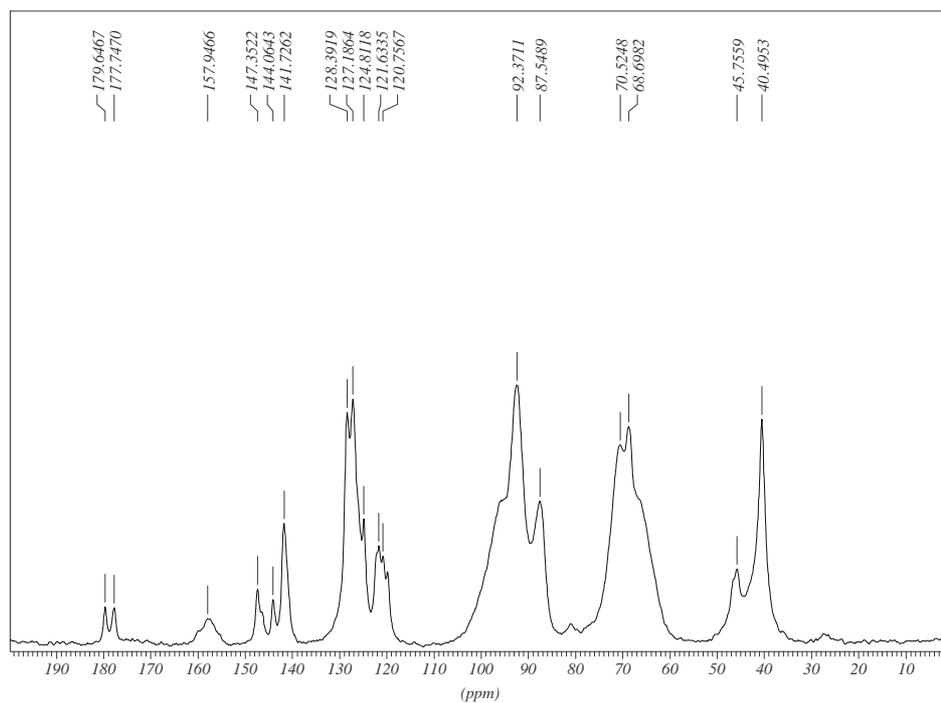


Abbildung 14 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum des Produkts **24** aus oxidiertem Dextran und aktiviertem Glycin **23**.

2.3 Untersuchungen zur Stabilität des oxidierten Dextrans in wässrigen Lösungen

In Kapitel 2.4 wird das oxidierte Dextran zur Bildung von Hydrogelen verwendet. Aus Polysacchariden und aus Polysaccharidderivaten gebildete Hydrogele finden Anwendung in der Medizin. Für solche Anwendungen muss sichergestellt sein, dass die Verbindungen insofern stabil sind, dass keine gesundheitlich bedenklichen Abbauprodukte entstehen können. Daher wurde nun die Stabilität des oxidierten Dextrans in wässriger Lösung untersucht.

Beim Betrachten der Struktur des oxidierten Dextrans stellt man fest, dass außer den beiden Halbacetalfunktionen auch eine Acetalfunktion vorhanden ist.

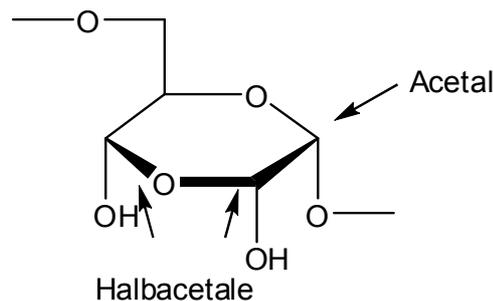
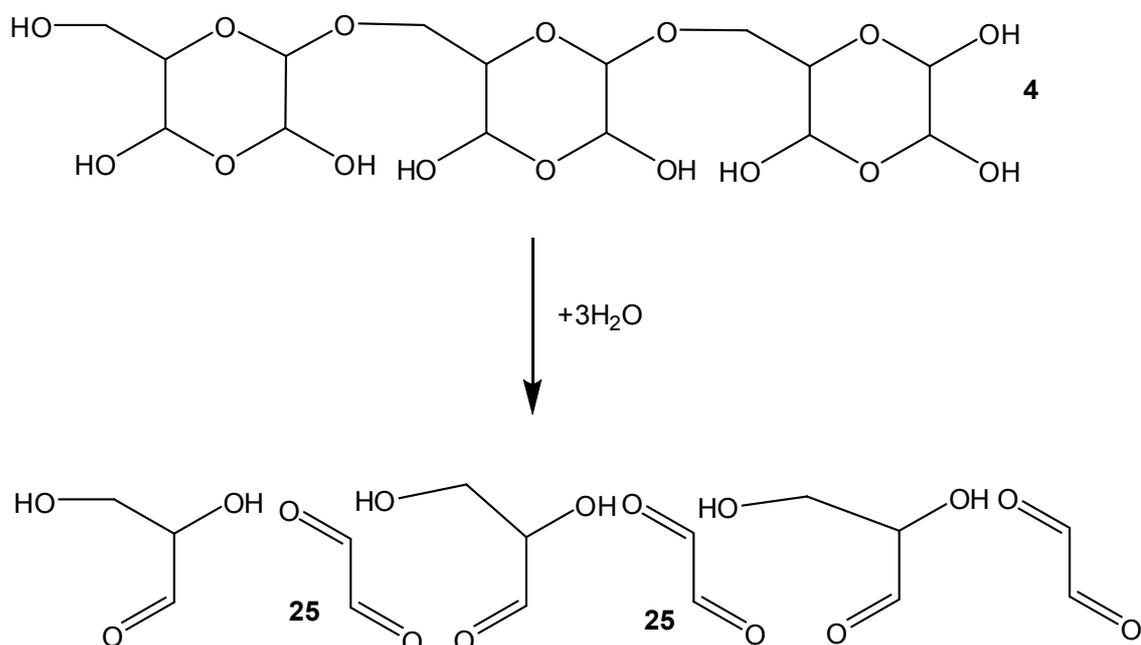


Abbildung 15 Halbacetalfunktionen und Acetalfunktionen in der Struktur des oxidierten Dextrans

Da die beiden aus zwei Aldehydfunktionen und einem Molekül Wasser gebildeten Halbacetale in wässriger Lösung geöffnet werden, stellte sich nun die Frage, ob auch das Acetal gespalten werden kann. Wenn das der Fall wäre, so müsste in wässriger Lösung Glyoxal (**25**) entstehen, die Polymerketten müssten also in wässriger Lösung hydrolisieren (Schema 13).



Schema 13 Schematische Darstellung der Glyoxalbildung

Aus diesem Grund wurden wässrige Lösungen des oxidierten Dextrans auf das Vorhandensein von Glyoxal (**25**) untersucht. Dazu wurden die wässrigen Lösungen unterschiedlich lange und unter verschiedenen Bedingungen gelagert. Die Analysen wurden aus 10% igen Lösungen durchgeführt.

2.3.1 Literaturbekannte Methoden zur quantitativen Glyoxalbestimmung

Eine Methode zum Nachweis von Glyoxal (**25**) ist die UV-Spektroskopie. Dabei wird das Glyoxal (**25**) mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**) derivatisiert und das Derivat dann UV-spektroskopisch identifiziert.^[50]

Eine weitaus empfindlichere Methode ist die Analyse mittels Gaschromatographie.

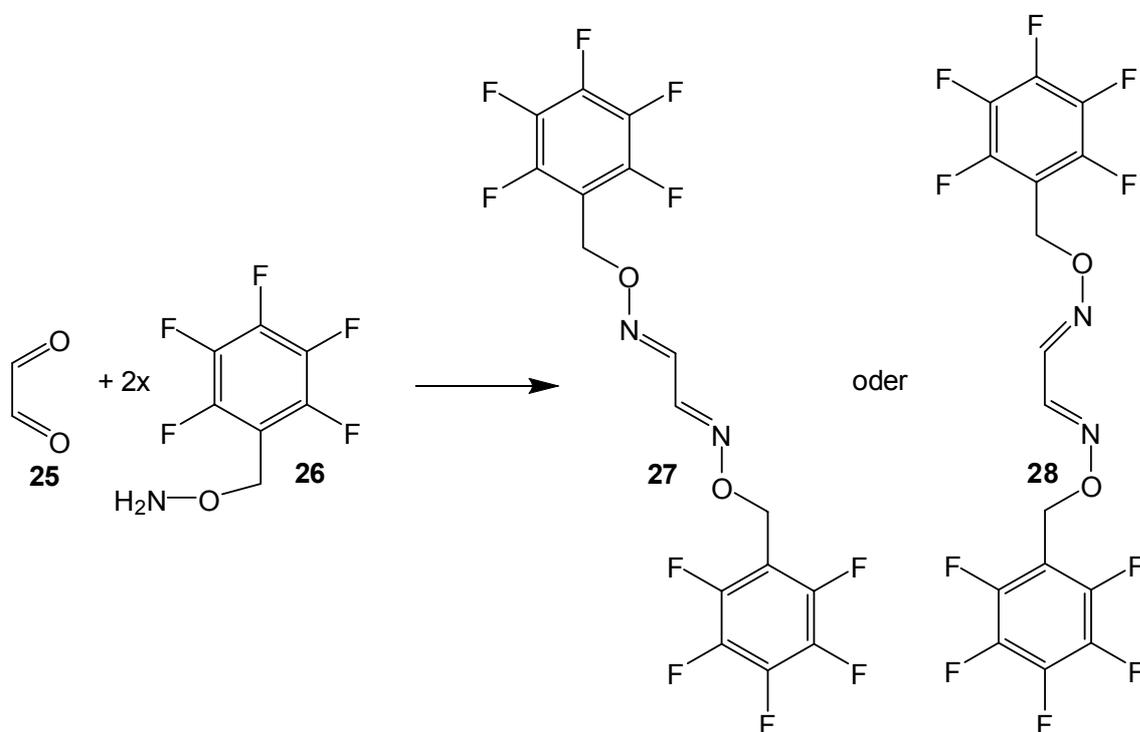
Eine Möglichkeit, Glyoxal (**25**) gaschromatographisch nachzuweisen, ist die Reduktion des Glyoxals (**25**) zu Ethylenglycol mit Natriumborhydrid. Ethylenglycol kann dann mit der Head Space Methode chromatographisch quantitativ bestimmt werden.^[51]

Eine weitere gaschromatographische Methode ist die Derivatisierung des Glyoxals (**25**) mit 1,2-Diaminobenzol zum Chinoxalin. Das Chinoxalin kann dann gaschromatographisch detektiert werden.^{[52][53][54]}

Ebenso kann Glyoxal (**25**) nach der Derivatisierung mit O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)hydroxylamin (**26**) gaschromatographisch nachgewiesen werden.^{[55][56]}

2.3.2 Nachweis von Glyoxal (**25**) in wässrigen Lösungen des oxidierten Dextrans

Sämtliche literaturbekannte Methoden aus Kapitel 2.3.1 wurden zum Nachweis des Glyoxals (**25**) verwendet. Nur mit der Methode der Derivatisierung mit O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)hydroxylamin (**26**) und anschließender Identifizierung durch GC/MS konnte Glyoxal (**25**) quantitativ bestimmt werden.



Schema 14 Derivatisierung des Glyoxals (**25**) mit O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)hydroxylamin (**26**).

Bei der Derivatisierung können zwei Produkte entstehen, das trans-Produkt **27** und das cis-Produkt **28**. Daher mussten bei der quantitativen Bestimmung beide Derivate berücksichtigt werden.

Ein Problem bei der Bestimmung aus den wässrigen Polymerlösungen war, dass das oxidierte Dextran auch über Aldehydfunktionen verfügt. Aus diesem Grund musste das Derivatisierungsreagenz **26** im Überschuss zum gelösten oxidierten Dextran zugeben werden.

Ein weiteres Problem war die schlechte Löslichkeit des derivatisierten Polymers. Die Derivatisierung wurde im Phthalat-gepufferten System bei pH 4 unter Zugabe von Benzaldehyd (gelöst in Methanol) als internen Standard unter Lichtausschluss ca. 16 h bei 45°C durchgeführt. Nach der Extraktion mit Dichlormethan wurde dieses verdampft und der Rückstand in Hexan gelöst. Diese Lösung wurde gaschromatographisch vermessen. Die beiden Produkte (cis und trans) entstehen laut Gaschromatogramm in einem Verhältnis von ca. 1:1.

Diese Messung erfolgte direkt nach dem Lösen des oxidierten Dextrans. Der so erhaltene Wert ist mit $15 \cdot 10^{-6}$ g Glyoxal (**25**) je g oxidiertes Dextran niedrig. Anschließend wurden die Proben verschiedenen Bedingungen ausgesetzt. Eine wurde bei Raumtemperatur am Tageslicht gelagert, eine bei Raumtemperatur im Dunkeln und eine im Kühlschrank bei ca. 4°C. Auf diesem Weg wurde untersucht, inwiefern die Lagerbedingungen Einfluss auf weitere Glyoxalbildung haben. Nach einem halben Jahr wurde der Glyoxalgehalt nochmals gaschromatographisch bestimmt. Die Werte sind in allen drei Fällen höher. Der höchste Wert wurde durch Lagerung am Tageslicht bei Raumtemperatur, der niedrigste durch Lagerung unter Lichtausschluss bei 4°C gemessen (Tab.4) .

Tabelle 4 Ergebnisse der quantitativen Glyoxalbestimmung

	Probe 1 Frisch hergestellte Lösung	Probe 2 Nach 0,5 Jahren, RT, Tageslicht	Probe 3 Nach 0,5 Jahren, RT, Lichtausschluss	Probe 4 Nach 0,5 Jahren, 4°C, Lichtausschluss
g Glyoxal (25) / g oxidiertes Dextran	$15 \cdot 10^{-6}$	$1002 \cdot 10^{-6}$	$943 \cdot 10^{-6}$	$781 \cdot 10^{-6}$
mol Glyoxal (25)/ mol Monomereinheit	$0,26 \cdot 10^{-4}$	$1,77 \cdot 10^{-4}$	$1,67 \cdot 10^{-4}$	$1,38 \cdot 10^{-4}$
Faktor der Erhöhung des Glyoxalgehalts	1	66,8	62,9	52,1
Faktor der Erhöhung bzgl. der Lagerbedingungen	-	1,3	1,2	1

Betrachtet man die Ergebnisse nach einem halben Jahr, so stellt man fest, dass sich der Glyoxalgehalt um den Faktor 52,1 – 66,6 im Vergleich zum Gehalt der frisch hergestellten Lösung erhöht hat. Geht man von einem linearen Anstieg des Gehalts aus, so entstehen bei 4°C Lagerung im Dunkeln je Monat 0,019 mmol Glyoxal (**25**) pro mol Monomereinheit oxidiertes Dextran.

Betrachtet man die letzte Zeile in Tab. 4, so stellt man fest, dass die Lagerung keinen großen Einfluss auf die Glyoxalbildung hat. Im Vergleich zu Probe 4 ist der Unterschied mit Probe 2 am größten. Er beträgt 30%, dies entspricht 221 µg Glyoxal (**25**) je g oxidiertes Dextran bzw. 0,112 mmol Glyoxal (**25**) je mol Monomereinheit oxidiertes Dextran.

Dies bedeutet, dass die Spaltung des Acetals vernachlässigbar klein ist und somit keinen großen Einfluss auf die Struktur des Dextrans in wässrigen Lösungen hat. Der Glyoxalgehalt ist so gering, dass das oxidierte Dextran auch ohne Bedenken für medizinische Zwecke verwendet werden kann.

2.4 Hydrogele

Hydrogele sind hydrophile polymere Netzwerke, die Wasser in einer Menge von 10% bis zu einem Tausendfachen des eigenen Gewichts aufnehmen können. Man nennt sie permanente Hydrogele wenn es sich um kovalent verbundene Netzwerke handelt. Reversible Gele werden sie genannt, wenn das Netzwerk aufgrund von ineinander verschlungener Molekülketten oder aufgrund intermolekularer Kräfte wie ionischen oder hydrophoben Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen aufgebaut wird.^[57]

All diese Wechselwirkungen sind reversibel und können somit durch die Änderung physikalischer Größen wie z.B. der Temperatur verhindert werden.^[58] Wenn die Gelierung beginnt, so werden zunächst die polarsten und somit hydrophilen Funktionen im Netzwerk hydratisiert. Dies geschieht durch ionische Wechselwirkungen und durch die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen. Das so absorbierte Wasser wird auch „primär gebundenes Wasser“ genannt. Anschließend richten sich die hydrophoben Teile des Netzwerks aus, z.B. über π - π - Wechselwirkungen. Die Oberflächen dieser hydrophoben Teile werden nun von Wassermolekülen ummantelt. Das so gebundene Wasser wird als „sekundär gebundenes Wasser“ bezeichnet. Diese beiden Typen der Wasserabsorption werden allgemein als „gebundenes Wasser“ bezeichnet. Sind diese Bereiche mit Wasser gesättigt, so kann das System noch weiteres, so genanntes „freies Wasser“ aufnehmen, bis sich das System im Gleichgewicht befindet. Diese weitere Aufnahme von Wasser wird auf osmotische Kräfte zurückgeführt.^{[59][60]}

Hydrogele finden bereits in den verschiedensten Bereichen Anwendung. Dazu zählen die Herstellung weicher Kontaktlinsen, Implantate, Verbandsmaterialien und so genannten „Drug Delivery Systems“.^{[61][62][63][64][65][66][67]} Eine weitere sehr bekannte Anwendung solcher Gele sind die Superabsorber in Babywindeln und anderen Hygieneartikeln.^{[68][69]}

2.4.1 Literaturbekannte Hydrogele

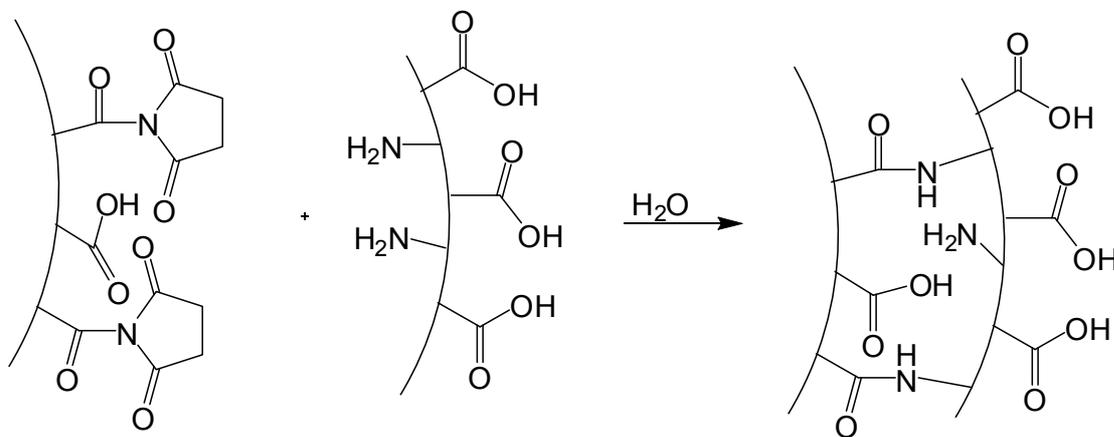
In der Literatur ist eine Vielzahl von Hydrogelen bekannt. Bei diesen Systemen beruht die Gelbildung auf unterschiedlichen Ursachen. Im Folgenden werden die unterschiedlichen Geltypen kurz vorgestellt.

2.4.1.1 Gelbildung durch kovalente Quervernetzung

Systeme die aufgrund kovalenter Bindungen gelieren, sind oft Mehrkomponentensysteme.

Ein Beispiel für ein solches Mehrkomponentensystem ist die Gelierung von Gelatine mit Poly(L-glutaminsäure) nach Iwata et al.^[70]

Die Poly(L-glutaminsäure) wird zunächst mit N-Hydroxysuccinimid aktiviert. Hierbei werden Ausbeuten von 83 – 98% erreicht. Die aktivierte Poly(L-glutaminsäure) und die Gelatine werden getrennt voneinander in Wasser gelöst, anschließend gemischt und es entsteht durch die Bildung von Peptidbindungen ein Hydrogel.



Schema 15 Gelbildung nach Iwata et al.

Ein Beispiel für ein Einkomponentensystem zur Gelbildung aufgrund kovalenter Quervernetzung ist das Gelatinederivat nach Gattas-Asfura et al.^[71] Sie derivatisierten die Aminofunktionen von Gelatine mit *p*-Nitrozimtsäurechlorid, wobei die Ausbeute > 87% beträgt. Wird das so erhaltene Gelatinederivat in Wasser gelöst und mit UV-Licht bestrahlt, bildet sich ein Gel.

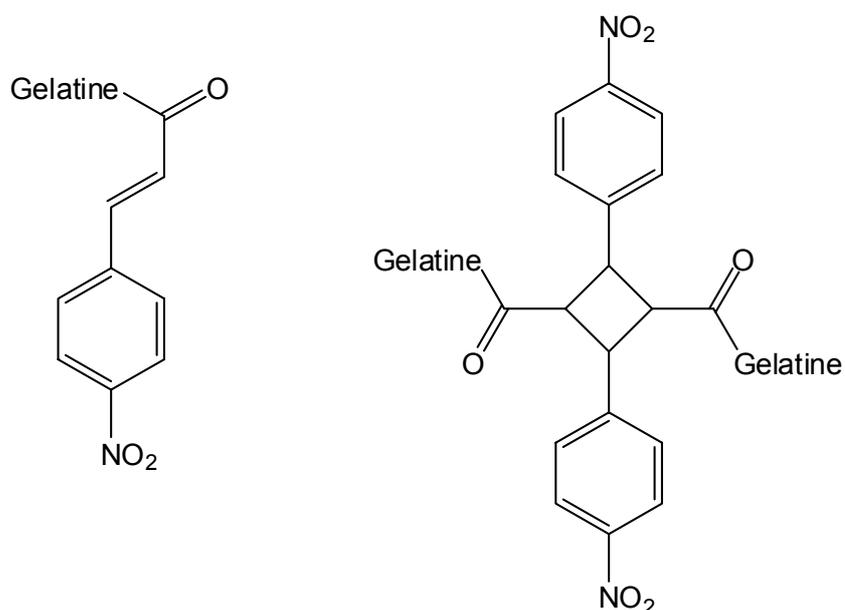


Abbildung 16 Gelatinederivat nach Gattas-Asfura vor (links) und nach UV-Bestrahlung (rechts)

2.4.1.2 Gelbildung durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen

N-alkylierte Chitosane bilden in Wasser ebenfalls Gele. Von Xin et al. konnte gezeigt werden, dass diese Hydrogele auf der Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen basieren.^[72] Die Autoren setzten Chitosan (**36**) mit verschiedenen Aldehyden zum entsprechenden Imin um und reduzierten dieses dann mit Natriumborhydrid. Das beste Ergebnis in Bezug auf die Gelbildung lieferte das Dodecylderivat.

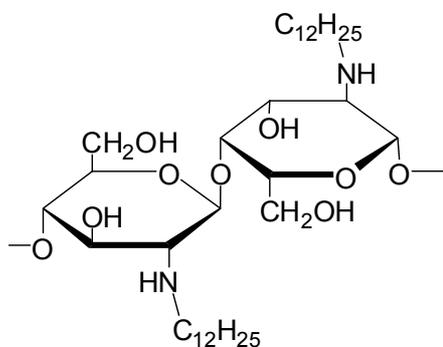


Abbildung 17 Chitosanderivat nach Xin et al.

2.4.1.3 Gelbildung durch ionische Wechselwirkungen

Ein Beispiel für die Gelbildung aufgrund ionischer Wechselwirkungen ist das Chitosan-Hydrochlorid (**14**) / Polyacrylsäure - System nach Crescenzi et al.^[73] Hier wechselwirken die protonierten Aminofunktionen des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) mit den Carboxylatfunktionen der Polyacrylsäure. Die Polyacrylsäure wird in situ durch radikalische Polymerisation von Acrylsäure mit N,N-Methylenbisacrylamid und Kaliumpersulfat bei 74°C dargestellt und bildet dann sofort mit Chitosan-Hydrochlorid (**14**) ein Gel.

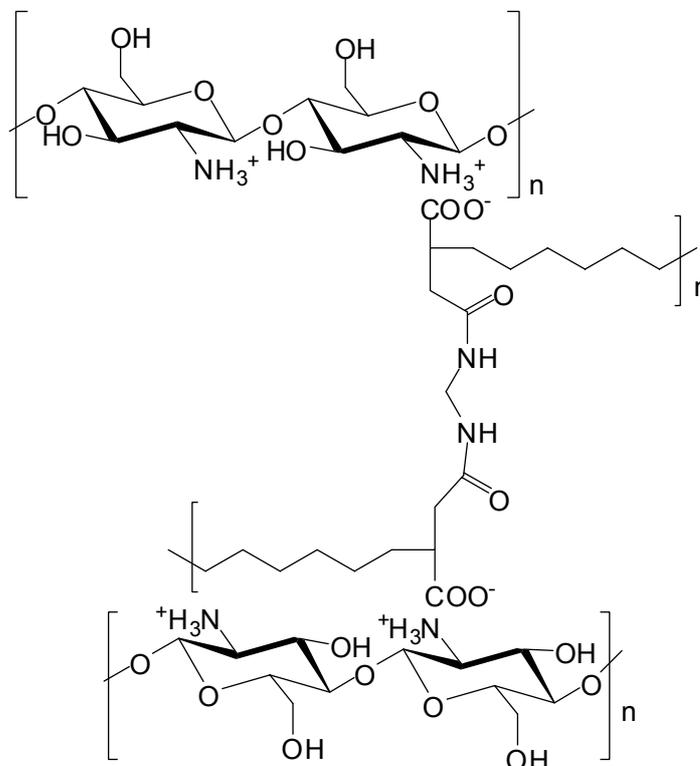


Abbildung 18 Systematischer Aufbau des Chitosan-Hydrochlorid (**14**) / Polyacrylsäure-Netzwerks

2.4.1.4 Gelbildung durch π - π -Wechselwirkungen

Bao et al. entdeckten die Gelbildung aufgrund von π - π -Wechselwirkungen.^[74] In diesem Fall handelt es sich nicht um ein Polymer, sondern um ein Phenylglycosid, das 4-(N-Dodecylimino)methylphenyl- β -D-glucopyranosid. Die Aromaten stapeln sich und die Moleküle ordnen sich so an, dass die

hydrophoben Alkylketten zueinander ausgerichtet sind und die Wassermoleküle die Oberfläche der so gebildeten Bündel umhüllen (sekundär gebundenes Wasser). Im hydrophilen Teil der Moleküle, den Kohlehydraten, werden Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet (primär gebundenes Wasser).

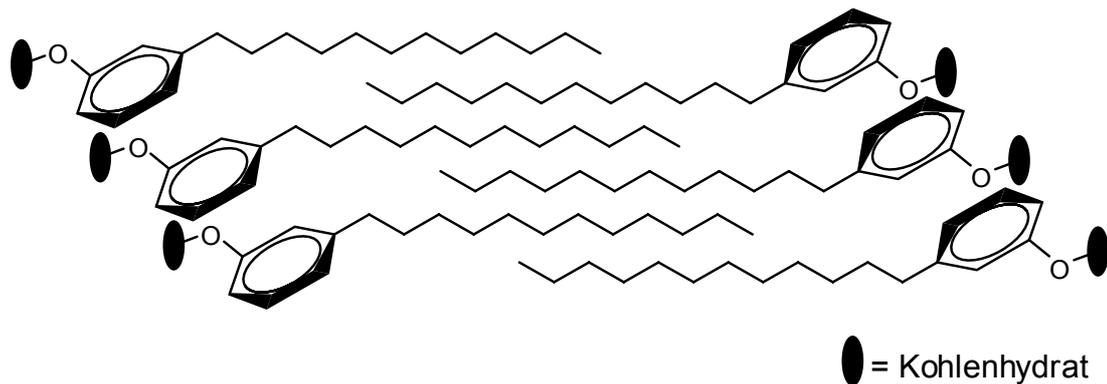


Abbildung 19 π - π -Wechselwirkungen bei der Gelbildung nach Bao et al.

2.4.1.5 Hydrogele durch Amin-Aldehyd-Reaktion

Einige Hydrogele die aus zwei Komponenten bestehen, wobei eine Komponente Aldehydfunktionen und andere Komponente Aminohydrochlorid-funktionen besitzen, sind bereits bekannt.^{[Fehler! Textmarke nicht definiert.][120][77][75]} Solche Systeme, basierend auf Polysacchariden und sind vor allem für die Wundheilung und für so genannte "Drug Delivery Systems" von großem Interesse. Die Gelbildung wird mit der Entstehung eines dreidimensionalen Netzwerks über Schiff'sche Basenreaktion oder über die Bildung eines sekundären Amins erklärt.^{[76][77][68][78]} ^{[79][80]} Als Komponente mit Aminofunktionen wurde modifizierte Gelatine verwendet. Die Struktur der Hydrogele wurde bisher noch nicht genauer untersucht.

2.4.2 Verwendete Komponenten zur Bildung von Hydrogelen

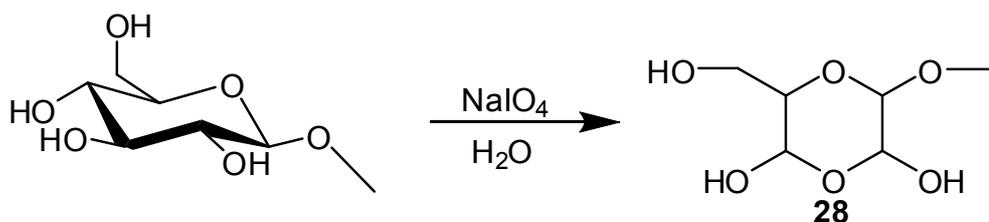
Im Rahmen dieser Arbeit wurden neue Hydrogele entwickelt und untersucht. Zur Bildung dieser Hydrogele wurden verschiedene polymere oder makromolekulare Hauptkomponenten verwendet. Diese Hauptkomponenten werden im Folgenden kurz vorgestellt. Das Hauptkriterium bei der Auswahl der Komponenten bestand darin, dass sie wasserlöslich sein müssen.

2.4.2.1 Oxidiertes Dextran

Das oxidierte Dextran ist die wichtigste hier verwendete Hauptkomponente zur Bildung von Hydrogelen. Die Darstellung sowie Struktur und Reaktionsverhalten wurden bereits in Kapitel 2.1 bis 2.3 besprochen.

2.4.2.2 Oxidiertes Methyl- β -D-glucopyranosid (**28**)

In Kapitel 2.1 wurde erwähnt, dass das oxidierte Methyl- β -D-glucopyranosid^[23] (**28**) dieselbe Struktur aufweist wie das oxidierte Dextran. Aus diesem Grund wurde untersucht, ob ein Monomerbaustein des oxidierten Dextrans bereits genügt, um Hydrogele zu bilden, oder ob es dazu polymer vorliegen muss.



Schema 16 Darstellung des oxidierten Methyl- β -D-glucopyranosids (**28**).

2.4.2.3 Oxidiertes β -Cyclodextrin (**29**)

β -Cyclodextrin (**29**) wurde 1903 erstmals von Schardinger beim Abbau der Stärke mit *Bacillus macerans* entdeckt, wobei er bereits das α -Cyclodextrin vom β -Cyclodextrin (**29**) unterschied.^[81] Freudenberg et al. entdeckte dann 1935 erstmals das γ -Cyclodextrin.^[82] Weitere Untersuchungen von French et al.

zeigten, dass es sich um Ringe aus 6, 7 oder 8 α -1,4-verknüpften Glucoseeinheiten handelt.^{[83][84][85]}

In der Literatur ist bereits bekannt, dass das oxidierte β -Cyclodextrin mit Chitosan-Hydrochlorid (**14**) ein Hydrogel bildet.^{[86][87]} Im Folgenden wurde untersucht, ob es auch mit anderen Aminokomponenten Hydrogele bilden kann.

2.4.2.3.1 Strukturaufklärung des oxidierten β -Cyclodextrin

Es wurde bereits gezeigt, dass das oxidierte Dextran als Festkörper und in DMSO gelöst als cyclische Halbacetale (**4**) vorliegt. Bei der Oxidation des Dextrans mit Natriumperodat wird der Kohlenstoff an Position 3 als Ameisensäure abgespalten. Dadurch kann ein Sechring in Form eines Halbacetals gebildet werden (siehe Schema 2). Analoge Halbacetal-Bildung beim β -Cyclodextrin (**29**) würde zu einem weniger stabilen Siebenring führen, da hier nur zwei vicinale Hydroxyfunktionen für die Periodatspaltung zur Verfügung stehen.

Es gibt Untersuchungen über die Struktur des periodat-oxidierten Methyl-4:6-O-benzyliden- α -D-glucopyranosids.^{[88][89]} Dieses Molekül und das β -Cyclodextrin (**29**) haben gemein, dass bei beiden die Positionen zwei und drei zur Periodatspaltung zur Verfügung stehen (Abb. 23). Das oxidierte Methyl-4:6-O-benzyliden- α -D-glucopyranosid bildet ebenfalls ein cyclisches Halbacetal (Schema 17).^{[100][101]}

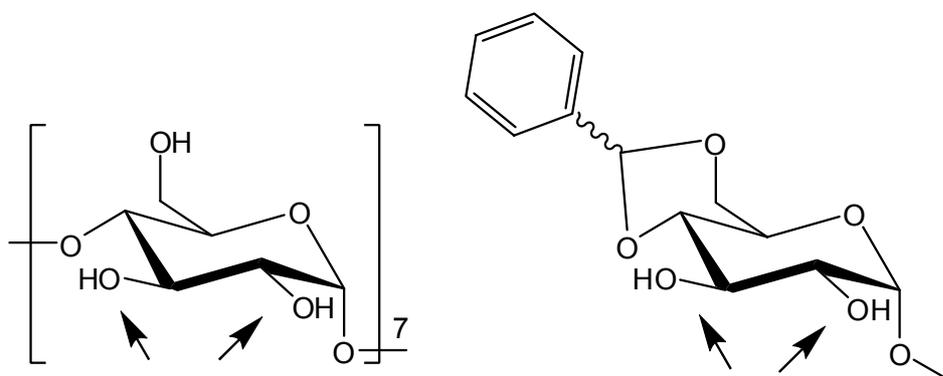
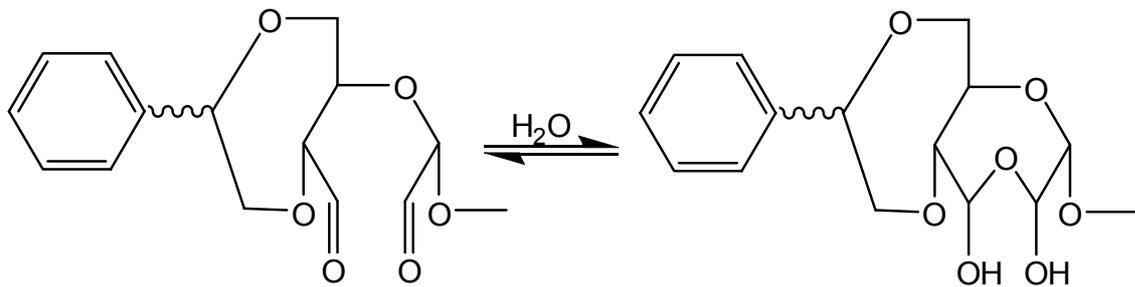


Abbildung 20 Vergleich eines Monomerbausteins des Cyclodextrins und Methyl-4:6-O-benzyliden- α -D-glucopyranosids.



Schema 17 Halbacetalbildung des oxidierten Methyl-4:6-O-benzyliden- α -D-glucopyranosids

Aus diesem Grund wurde vor den Gelierungsversuchen mit dem oxidierten β -Cyclodextrin die Struktur sowie das Reaktionsverhalten untersucht.

Dazu wurde zunächst das β -Cyclodextrin (**29**) mit Natriumperodat oxidiert.^{[90][91][92][93]} Die NMR-Spektren des oxidierten β -Cyclodextrins in Wasser sind laut Literatur ebenso uneinheitlich wie die Spektren des oxidierten Dextrans in Wasser.

Folglich wurden sowohl ein Maldi TOF Massenspektrum als auch ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Das ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum zeigt keinerlei Hinweise auf eine Carbonylfunktion.

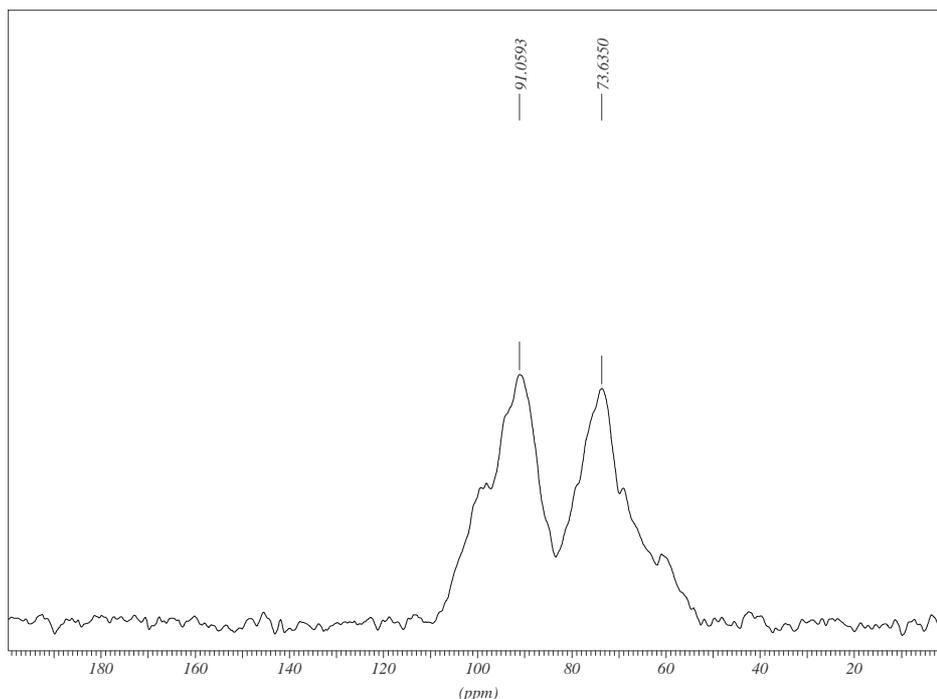
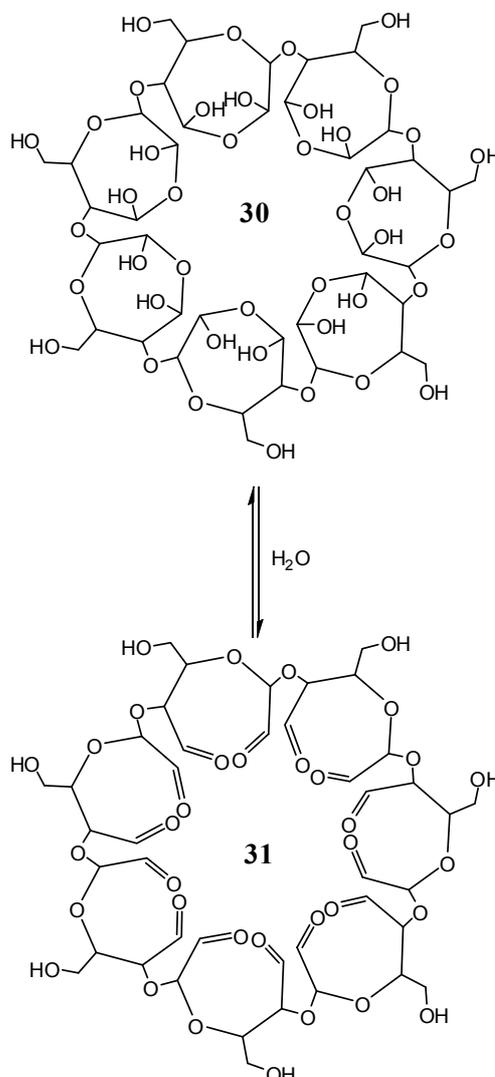


Abbildung 21 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum des oxidierten β -Cyclodextrins.

Somit kann man davon ausgehen, dass auch hier eine cyclische Halbacetalform (**30**) gebildet wurde. Auch die Werte der Elementaranalyse (Tab.4) zeigten, dass es sich hier um die Halbacetalform **30** handeln musste. Das Maldi TOF Spektrum hat einen Massenpeak bei m/z 1143,044. Dies entspricht dem $[M+Na]^+$ -Peak der Dialdehydform **31**. Aus diesem Ergebnis kann man annehmen, dass das zum Halbacetal gebundene Wasser bei der Messung abgespalten wurde. NMR-Spektroskopisch und elementaranalytisch konnte diese Dialdehydform **31** des oxidierten β -Cyclodextrins jedoch auch nach 24 h Erhitzen auf 80°C im Hochvakuum nicht nachgewiesen werden. Höher konnte das oxidierte β -Cyclodextrin nicht erhitzt werden, da es sich dann zersetzte.



Schema 18 Halbacetalbildung im oxidierten β -Cyclodextrin

Tabelle 5 Elementaranalyse des oxidierten β -Cyclodextrins

Analyse ($C_{42}H_{70}O_{42}$)	ber.: C: 40.45	H: 5.66
	gef.: C: 40.36	H: 5.46

2.4.2.3.2 Reaktionsverhalten des oxidierten β -Cyclodextrin

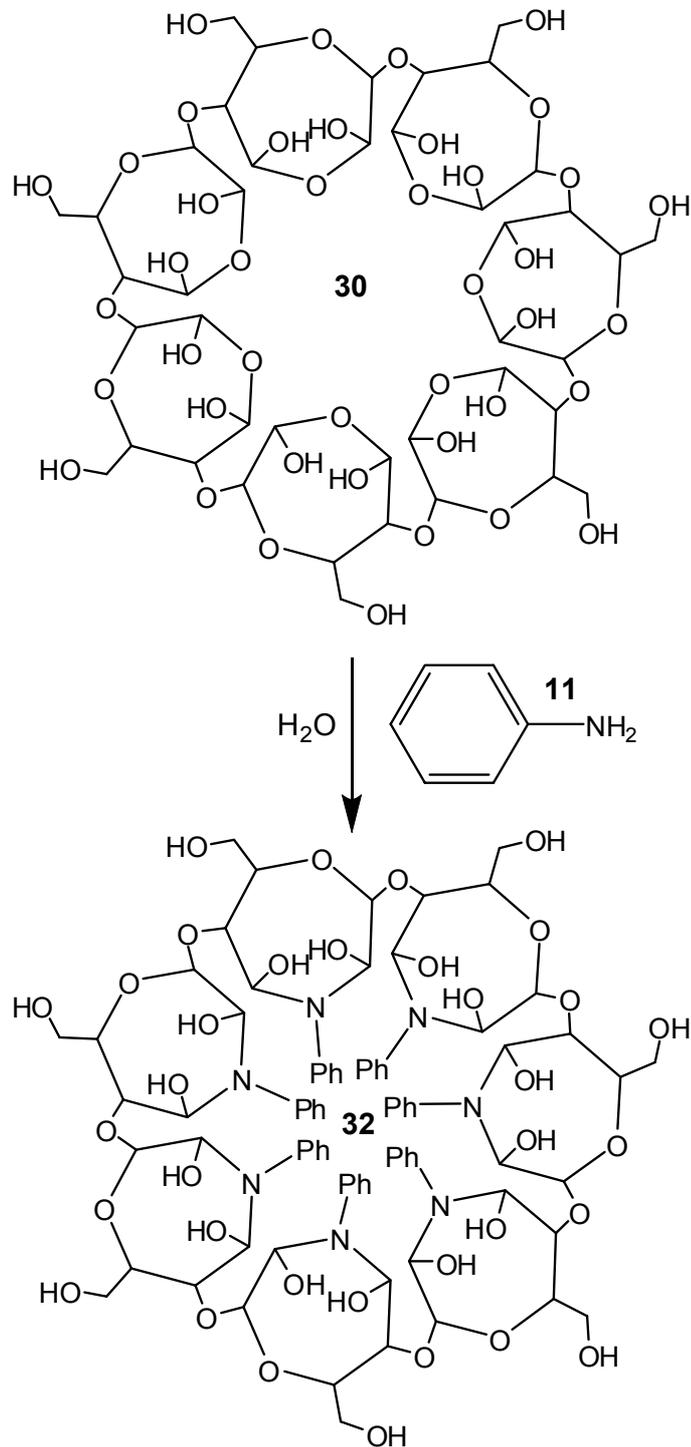
Das oxidierte β -Cyclodextrin bildet wie das oxidierte Dextran cyclische Halbacetale. Daher stellte sich nun die Frage, ob das Reaktionsverhalten des oxidierten β -Cyclodextrin auch dem des oxidierten Dextrans analog ist.

Das oxidierte Dextran reagiert mit aliphatischen und aromatischen Aminen zu Polymorpholinderivaten, es werden cyclische Halbaminale gebildet (siehe Kapitel 2.3).

Folglich wurde das oxidierte β -Cyclodextrin mit 2 eq Anilin (**11**) in Wasser bei Raumtemperatur 24 h umgesetzt. Es fiel ein Feststoff aus, dieser wurde abfiltriert und anschließend mit Wasser und Diethylether gewaschen, im Vakuum getrocknet und ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Dieses Spektrum zeigte, dass sich auch hier kein Imin gebildet hat. Die Elementaranalyse bestätigte, dass eine cyclische Halbaminatform gebildet wurde (Schema 19). Es handelt sich in diesem Falle um ein Heptaoxazepanderivat (**32**).

Tabelle 6 Elementaranalyse des Heptaoxazepanderivats **32**.

Analyse ($C_{84}H_{105}N_7O_{35}$):	ber.: C: 56.91	H: 5.97	N: 5.53
	gef.: C: 56.23	H: 5.27	N: 6.29



Schema 19 Umsetzung des oxidierten β -Cyclodextrins mit Anilin (11).

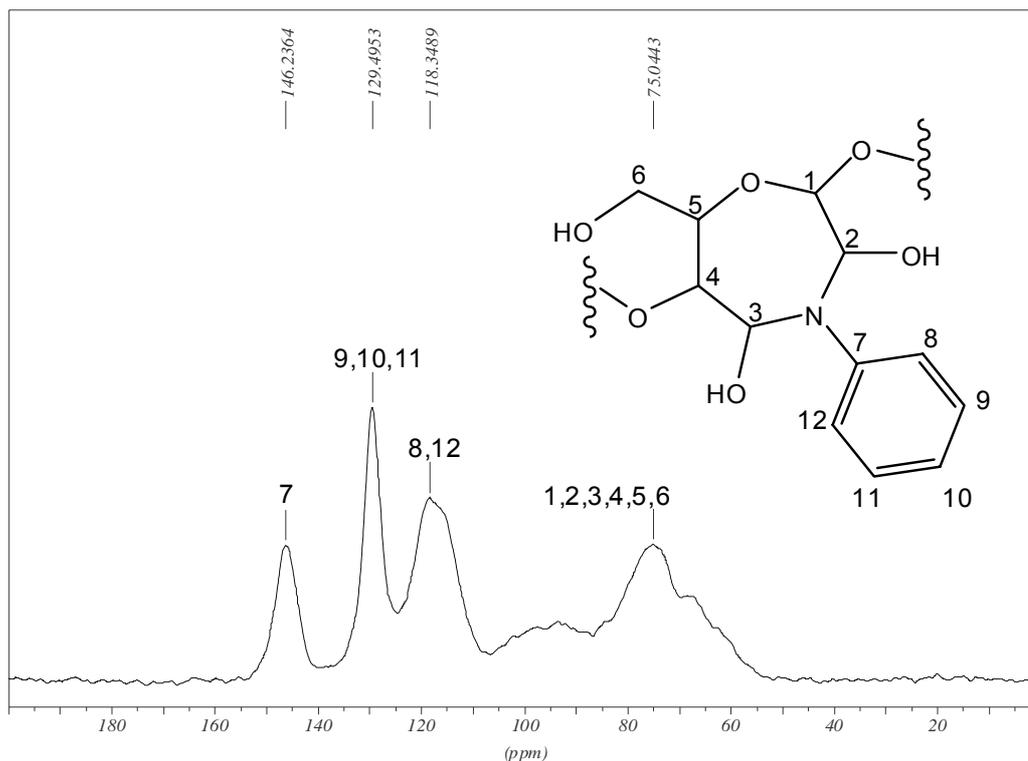
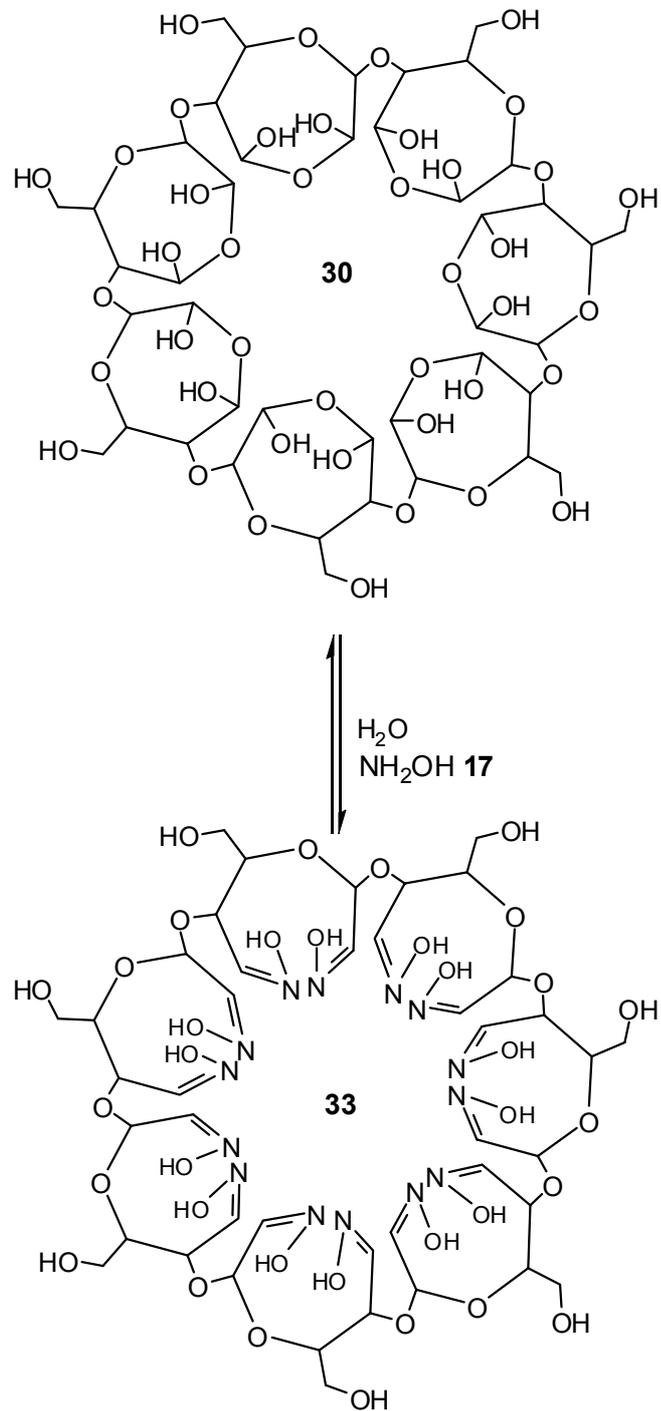


Abbildung 22 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum nach der Umsetzung von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Anilin (**11**).

Die Umsetzung des oxidierten Dextrans mit Hydroxylamin (**17**) führte zu Oximen. Nun wurde das oxidierte β -Cyclodextrin auch mit Hydroxylamin (**17**) umgesetzt.

Dazu wurde zu einer wässrigen Lösung des oxidierten β -Cyclodextrin 2,1 eq Hydroxylamin (**17**) zugegeben, und das Reaktionsgemisch 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde lyophilisiert und ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Dieses Spektrum zeigt deutlich, dass analog zum oxidierten Dextran eine Reaktion zum Oxim **33** (C=N-OH, 150 ppm) stattgefunden hat.



Schema 20 Reaktion des oxidierten β -Cyclodextrins mit Hydroxylamin (17).

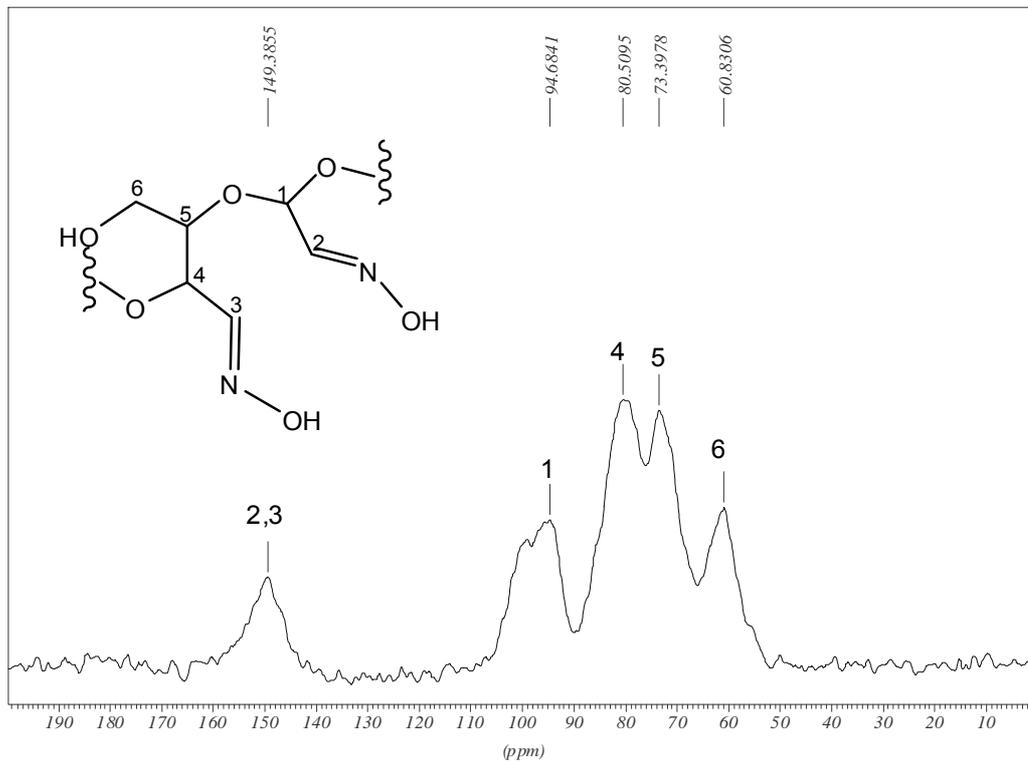


Abbildung 23 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum nach der Umsetzung des oxidierten β -Cyclodextrins mit Hydroxylamin (**17**).

Aus diesen Ergebnissen kann man schließen, dass das oxidierte β -Cyclodextrin ein vergleichbares Reaktionsverhalten aufweist wie das oxidierte Dextran.

2.4.2.4 Dialdehyde

Es gibt Beispiele in der Literatur, dass Dialdehyde wie Glyoxal (**25**) und Glutaraldehyd (**2**) mit Polymeren wie Chitosan-Hydrochlorid (**14**) Hydrogele bilden.^{[119][120][121][122]} Deshalb wurden die Dialdehyde Glyoxal (**25**), Glutaraldehyd (**2**) und 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd^{[94][95][96]} (**34**) als Dialdehyde zur Hydrogelbildung verwendet.

2.4.2.5 Formaldehyd

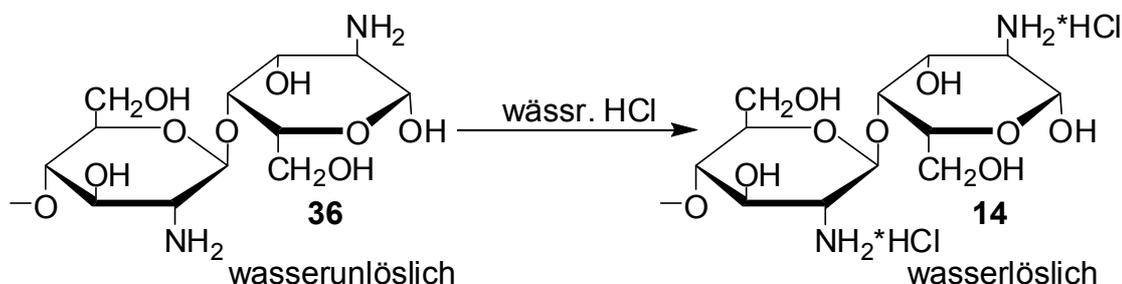
Formaldehyd bildet mit Chitosan-Hydrochlorid (**14**) ein Hydrogel.^{[123][124]} Aus diesem Grund wurde untersucht, ob Formaldehyd auch mit anderen Polyaminen Hydrogele bilden kann.

2.4.2.6 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Als Trialdehydverbindung wurde 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (**35**)^{[97][98]} für die Untersuchungen zur Bildung eines Hydrogels mit verschiedenen Aminokomponenten verwendet. Dieser ist wasserlöslich und kann in einer Stufe durch Duff-Formylierung aus Phloroglucin hergestellt werden.

2.4.2.7 Chitosan (36)

Chitosan (**36**) ist ein aus β -(1,4)-verknüpften Glucosaminen aufgebautes Polysaccharid, welches 1859 von Rouget beim Kochen von Chitin in Kalilauge gefunden wurde. Kommerziell erhältliche Chitosane (**36**) haben Molekulargewichte von 50 bis 1000 kD, wobei 50 bis 90% der Aminofunktionen deacetyliert sind. Chitin ist das nach Cellulose zweithäufigste Polysaccharid und wird industriell aus den Exoskeletten von Krustentieren gewonnen. Diese bilden Chitin aus der Trehalose im Blut.^[99] Chitosan (**36**) kommt in der Natur auch als Hauptkomponente der Zellwände von Pilzen vor und ist nur als Ammoniumsalz wasserlöslich (\sim pH 5).^[100]



Schema 21 Wasserlösliche (**36**) und unlösliche (**14**) Form des Chitosans (**36**) am Beispiel der wässrigen Salzsäure

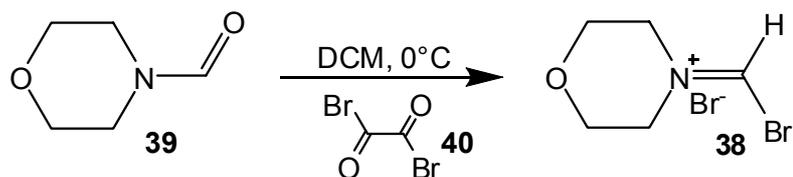
In vitro Untersuchungen zeigten, dass Chitosan (**36**) das Wachstum von Krebszellen und die Metastasenbildung verhindert.^[101] Es beschleunigt die Wundheilung durch Förderung der Hämostase, wirkt antibakteriell, antiviral und antiallergen.^[102] Außerdem hat Chitosan (**36**) fettbindende Eigenschaften, so dass es in manchen Ländern in Medikamenten als so genannte „Fettblocker“ bereits Anwendung findet.^{[103][104]}

Ebenfalls findet Chitosan (**36**) bei der Aufreinigung von Schmutzwasser Anwendung, da die Aminofunktionen des Chitosans (**36**) Schwermetallionen wie Pb^{2+} , Cu^{2+} und Cd^{2+} komplexieren können.^[105]

Chitosan (**36**) wird im Körper durch enzymatische Hydrolyse abgebaut. Das hierbei beteiligte Enzym ist Lysozym, welches die acetylierten Anteile erkennt. Dadurch bleiben Chitosan oligomere variabler Länge je nach Deacetylierungsgrad übrig. Hydrolyse wirksame Enzyme zeigen beim Chitosan (**36**) niedrige Aktivitäten. Dadurch korreliert die Zeit des kompletten Abbaus mit dem Deacetylierungsgrad. Je höher der Deacetylierungsgrad, desto länger die Zeit des Abbaus. So kann diese gezielt beeinflusst werden.^[106] Diese Tatsache wird bei Untersuchungen zur Anwendung von Chitosan (**36**) für die Herstellung von Implantaten gezielt eingesetzt. Mit Chitosan (**36**) beschichtete Implantate werden vom Körper mehr akzeptiert als nicht beschichtete. Es kommt zu weniger Antikörperreaktionen und Verkapselungen.^[107]

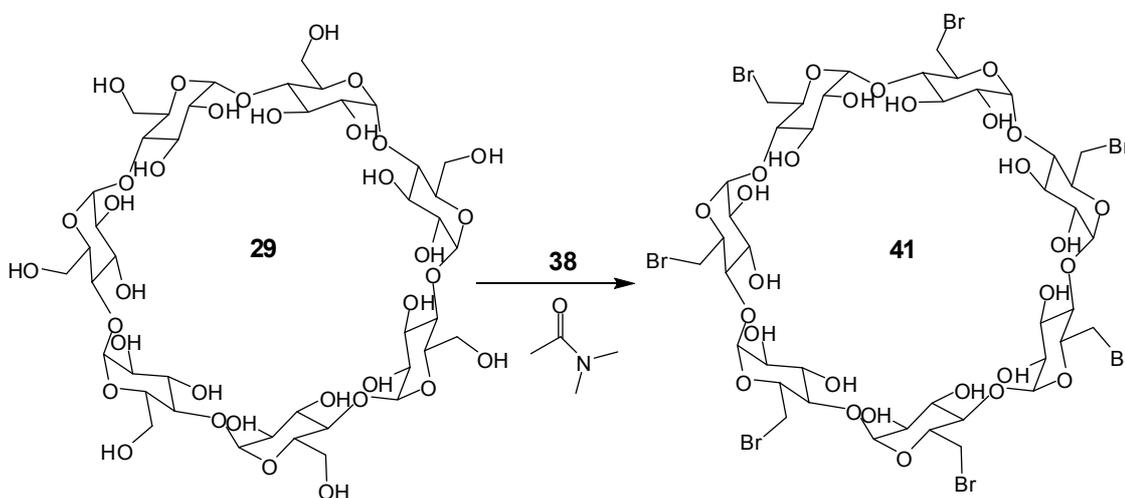
2.4.2.8 Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37**)**

Das β -Cyclodextrin (**29**) wurde mit NaIO_4 oxidiert, um es dann als Aldehydkomponente zur Bildung von Hydrogelen einzusetzen. Nun wurde das β -Cyclodextrin (**29**) derivatisiert, dass es als Aminokomponente eingesetzt werden konnte. Ein synthetisch gut zugängliches Aminoderivat des β -Cyclodextrins (**29**) ist das Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**). Die Synthese erfolgte durch Substitution der OH-Funktion des β -Cyclodextrins (**29**) an den 6-Positionen der Glucoseeinheiten. Dazu wurde zunächst das Reagenz **38** aus N-Formylmorpholin (**39**) und Oxalylbromid (**40**) bei 0°C in Dichlormethan unter Argon hergestellt.^[108] Das so gebildete 4-(Bromomethylen)-morpholiniumbromid (**38**) fiel aus und wurde abfiltriert.



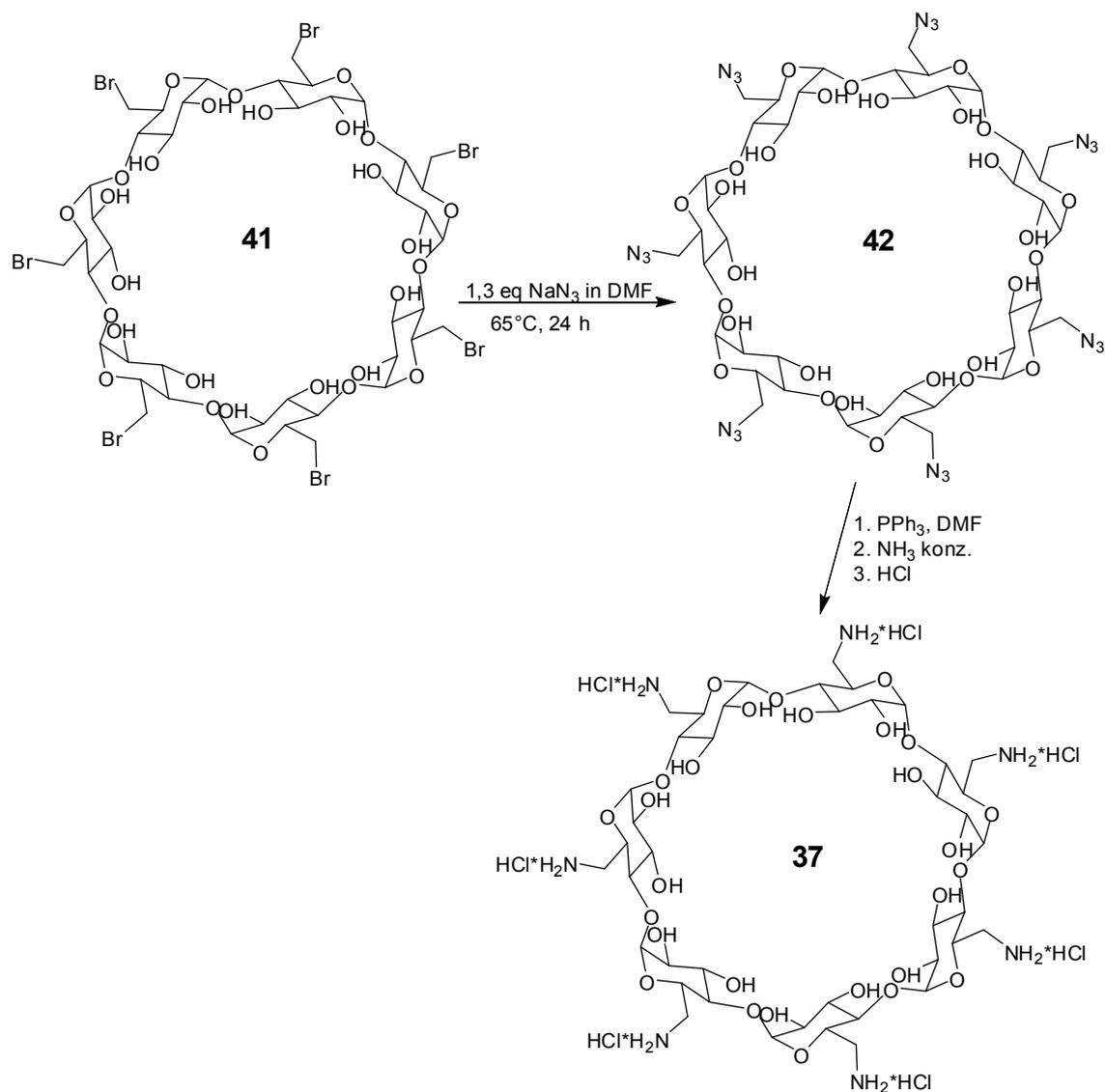
Schema 22 Darstellung von 4-(Bromomethylen)-morpholiniumbromid (**38**).

Mit Hilfe dieses Reagenzes konnten die OH-Funktionen an den 6-Positionen des β -Cyclodextrins (**29**) in N,N-Dimethylacetamid durch Brom substituiert werden.^[109]



Schema 23 Darstellung des Heptabromids **41** aus β -Cyclodextrin (**29**).

Die Bromide dieser Verbindung wurden anschließend mit Natriumazid in DMF substituiert und danach mit Triphenylphosphin und konz. Ammoniak und anschließender Hydrolyse mit konzentrierter HCl zum Heptaaminohydrochlorid reduziert.^[110]



Schema 24 Darstellung des Heptaamins **37**.

2.4.2.9 Polyallylamin (**43**)

Chitosan (**36**) bzw. Chitosan-Hydrochlorid (**14**) besitzen helicale Strukturen.^[111]

Bisher gibt es keine Untersuchungen, ob diese helicale Struktur an der Bildung von Hydrogelen beteiligt ist bzw. ob diese helicale Struktur eine Voraussetzung dafür ist, dass Hydrogele gebildet werden können. Polyallylamin (**43**) bzw. Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) besitzen keine helicalen Strukturen, sind beide wasserlöslich und kommerziell zugänglich. Daher schien es als ein geeignetes

Polyamin bzw. Polyaminohydrochlorid um zu untersuchen, ob das Vorliegen einer helicalen Struktur mindestens einer Komponente Voraussetzung für die Bildung eines Hydrogels aus einer Amino- und einer Aldehydkomponente ist.

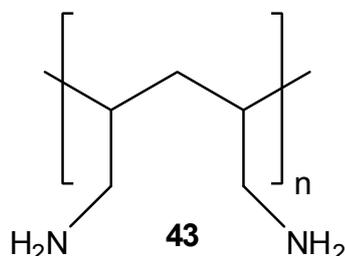


Abbildung 24 Polyallylamin (**43**)

Wenn Polyallylamin (**43**) in der Lage ist, mit Polyaldehyden Hydrogele zu bilden, so können die bestehende helicalen Strukturen des Chitosans (**36**) bzw. des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) als Ursache für die Gelbildung ausgeschlossen werden.

Polyallylamin (**43**) kann durch konventionelle radikalische Polymerisierung nur schwer dargestellt werden. Die Aminofunktion setzt die Reaktivität der Doppelbindung im Allylamin stark herab. Man spricht in diesem Fall von „allylic degradative chain transfer“.^[112] Masterova et al. polymerisierten Allylamin in Phosphorsäure durch Bestrahlung mit einer ⁶⁰Cobalt-Quelle.^[113]

Harada et al. gelang es Allylamin mit 2,2'-Azobis[2-(imidazoliny)propan]-dihydrochlorid oder 2,2'-Azobis[2-methylpropandiamino]-dihydrochlorid als Radikalstarter radikalisch zu polymerisieren.^[114]

Bisherige Untersuchungen zur Bildung von Hydrogelen mit Polyallylamin (**43**) zeigten, dass Polyallylamin (**43**) mit Hyaluronsäure^[115] und CO₂^[116] Hydrogele bildet. Untersuchungen zur Hydrogelbildung mit Aldehydkomponenten sind noch keine untersucht.

2.4.2.10 Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (44)

Die Entwicklung von Hydrogelen aus Polysacchariden zielt meist auf Anwendungen im medizinischen Bereich ab. Daher ist Polyallylamin (**43**) (Kapitel 2.4.2.5) als Gelierungsreagenz aufgrund seiner schlechten biologischen Abbaubarkeit in diesen Bereichen wenig geeignet.

Chitosan (**36**) hat zwar gute Eigenschaften in Bezug auf biologische Abbaubarkeit und verfügt über antibakterielle Wirkung, das Problem bei diesem Polysaccharid ist jedoch seine Gewinnung. Chitosan (**36**) wird aus Chitin, welches aus Schalen von Krustentieren gewonnen wird, durch Deacetylierung hergestellt. Somit stammt es aus tierischem Material und die Verwendung von tierischem Material gilt als problematisch, da auf diesem Wege Krankheiten verbreitet werden können. Als Beispiel sei hier die Krankheit BSE und ihr Zusammenhang mit dem Polysaccharid Gelatine genannt.

Um solche Gefahren zu umgehen, sollte ein Polyamin gefunden werden, welches in der Lage ist, Hydrogele zu bilden. Gleichzeitig sollte es biologisch abbaubar sein und nicht tierischen Ursprungs.

Wenn man die Struktur des Polyallylamins (**43**) betrachtet und sie mit der Struktur der Dialdehyd-Form des oxidierten Dextrans (**3**) vergleicht, so stellt man fest, dass sie sich ähnlich sind (Abb.25).

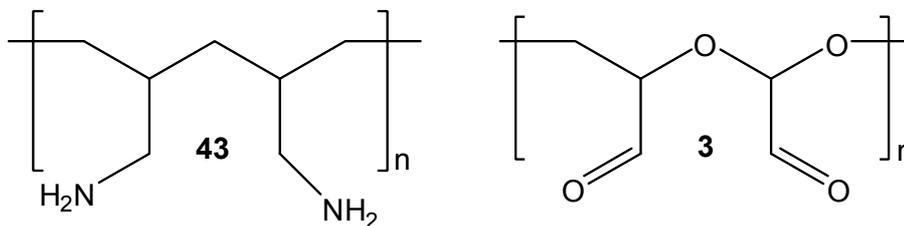
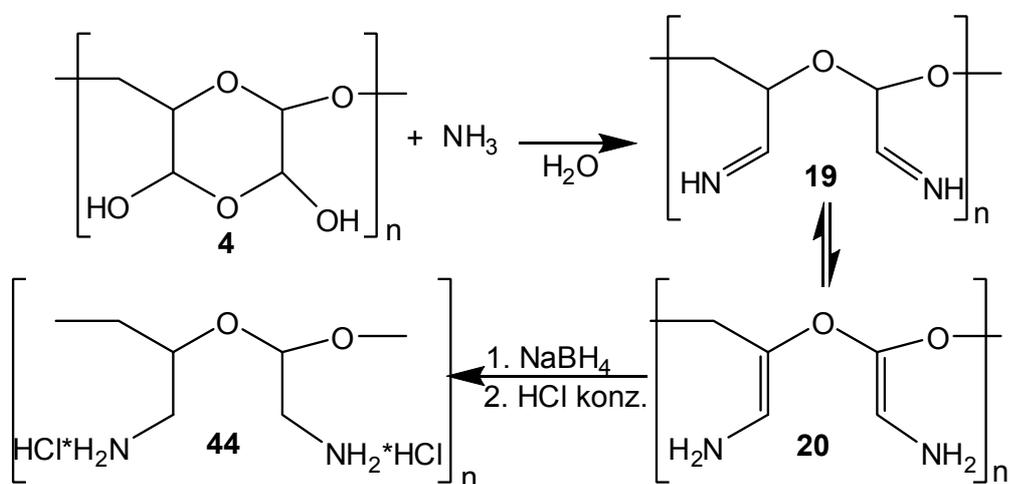


Abbildung 25 Vergleich der Strukturen von der Dialdehydform des oxidierten Dextrans (**3**) und Polyallylamin (**43**)

Die Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniak wurde bereits in Kapitel 2.2.1.8 untersucht. Im Folgenden wurde aus dem oxidierten Dextran durch reduktive Aminierung das entsprechende Polyamin hergestellt.^[117] Dieses

Polyamin sollte aufgrund der vorhandenen Acetale, welche aus dem Dextran stammen, biologisch abbaubar sein.

Zunächst wurde das oxidierte Dextran in Wasser gelöst und zu dieser Lösung 2,2 eq Lösung wässrige konz. Ammoniak zugegeben. Die Lösung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter Eiskühlung 4 eq NaBH_4 zugegeben und über Nacht gerührt. Mit einer 2 N Salzsäure wurde das Reaktionsgemisch neutralisiert und anschließend zwei Tage ultrafiltriert. Die polymerhaltige Lösung wurde lyophilisiert und es wurde vom Produkt **44** ein ^{13}C -NMR-Festkörperspektrum angefertigt.



Schema 25 Darstellung von Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin] (**44**).

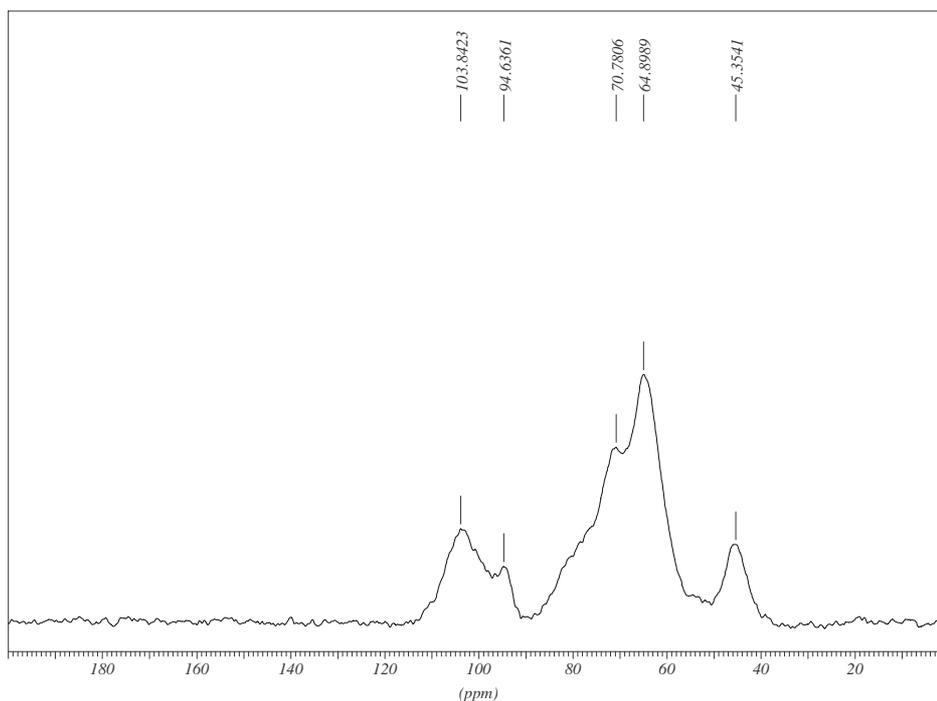


Abbildung 26 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum des Polyamins **44** aus oxidiertem Dextran.

Das Spektrum zeigt, dass die Reaktion stattgefunden hat. Das Signal bei 45,4 ppm ist dem Kohlenstoff an der Aminofunktion (C-NH_2) zuzuordnen. Die Darstellung dieses Polyamins **44** zeigt nochmals die vielfältige Anwendung des oxidierten Dextrans zur Darstellung neuer Polymere.

2.4.2.11 Diamine

Dialdehyde wie Glutaraldehyd (**2**) sind in der Lage, mit Polyaminen Hydrogele zu bilden. Daher wurde untersucht, ob Diamine auch mit Polyaldehyden Hydrogele bilden können. Als Diamine wurden Ethylendiamin (**45**), 1,2-Diaminobenzol (**46**) und 1,6-Diaminohexan (**47**) verwendet. Die entsprechenden Hydrochloride wurden in situ hergestellt.

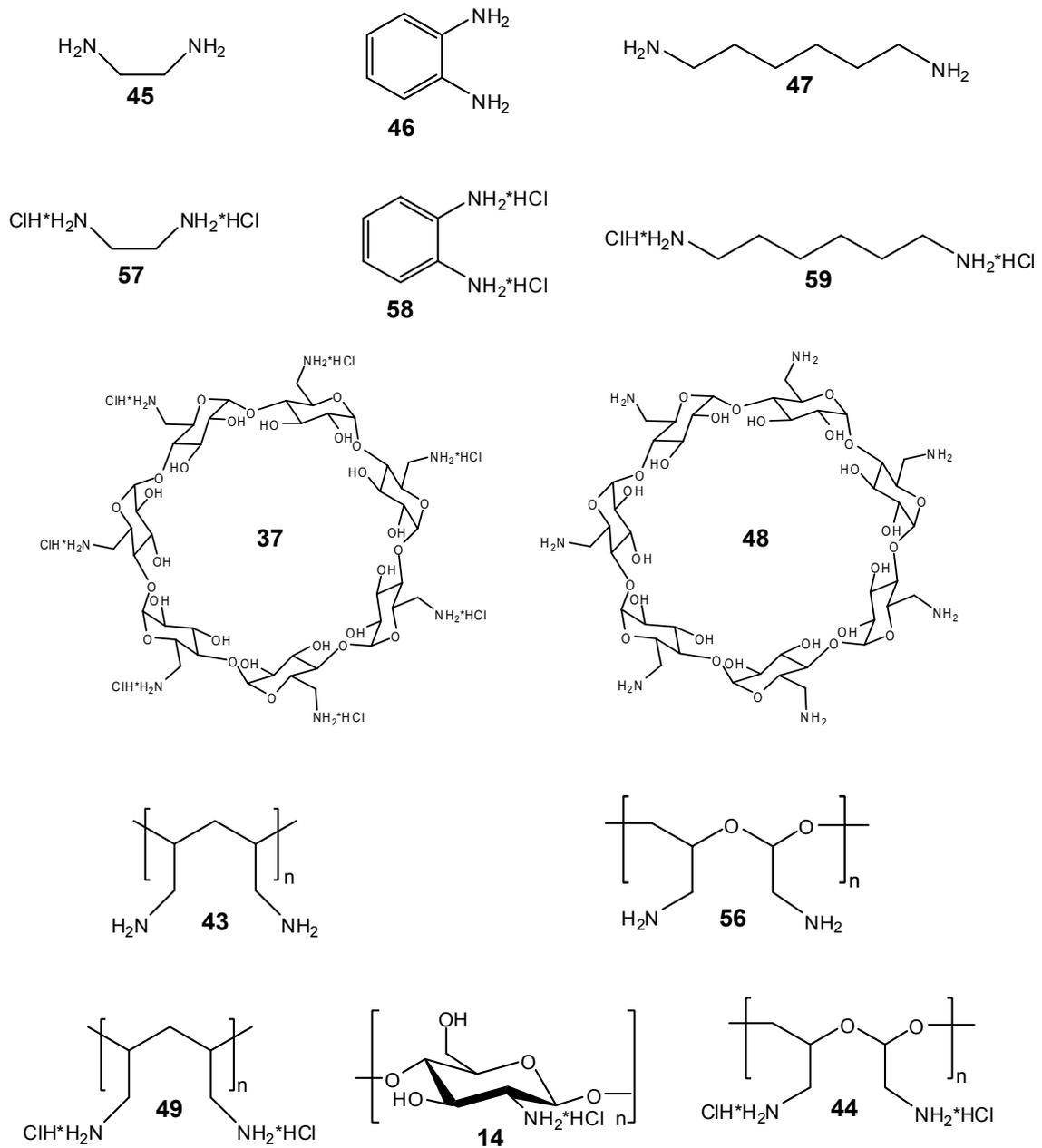


Abbildung 27 Übersicht der Amino- bzw. Aminohydrochloridverbindungen, die für die Versuche zur Bildung von Hydrogelen eingesetzt wurden.

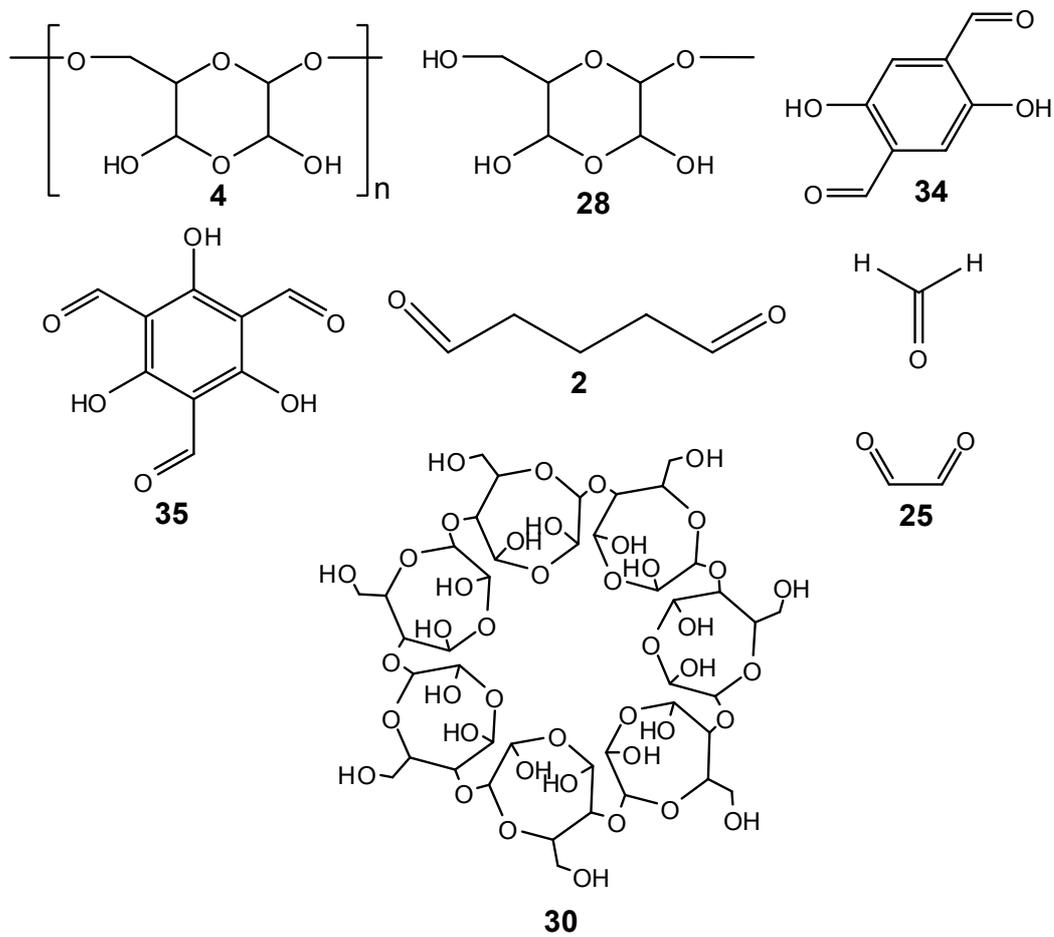


Abbildung 28 Übersicht der Aldehydverbindungen die für die Versuche zur Bildung von Hydrogelen eingesetzt wurden.

Tabelle 7 Übersicht aller Versuche zur Bildung eines Hydrogels

	57	45	58	46	59	47	37	48	44	50	49	43	14
4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
28													+
35	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
34	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
25	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+

Bedingungen: Je 1 ml wässrige Lösungen (ca. 10 - 5%) der beiden Komponenten wurden bei RT unter Rühren gemischt

2.4.3 Gelierungsversuche mit Chitosan-Hydrochlorid (14)

Zur Herstellung von Hydrogelen aus Chitosan (**36**) muss das Chitosan-Hydrochlorid (**14**) verwendet werden, da das freie Chitosan (**36**) nicht wasserlöslich ist. Hydrogele aus Chitosan-Hydrochlorid (**14**) und Dialdehyden wie z.B. Glyoxal^[118] (**25**) und Glutaraldehyd (**2**)^{[119][120][121][122]} sind bereits bekannt. Auch mit Formaldehyd bildet Chitosan-Hydrochlorid (**14**) ein Hydrogel.^{[123][124]} Ursache für die Gelbildung sei die Schiff'sche Basenreaktion (siehe Kapitel 2.4.1.5).^{[125][126]}

Chitosan-Hydrochlorid (**14**) hat mit allen in Abb. 28 verwendeten Aldehydverbindungen Hydrogele gebildet. Die Gelbildung erfolgte in allen Fällen innerhalb von Sekunden. Eine Ausnahme war der 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (**34**). In diesem Fall fand die Gelbildung erst nach ca. 5 min

statt. Dies kann jedoch an der größeren Verdünnung liegen, da 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (**34**) nicht gut wasserlöslich ist. Das Hydrogel aus Chitosan-Hydrochlorid (**14**) und oxidiertem Methyl- β -D-glucopyranosid (**28**) zersetzte sich schnell. Daher wurden mit oxidiertem Methyl- β -D-glucopyranosid (**28**) keine weiteren Gelierungsversuche vorgenommen. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass es Hydrogele bilden kann. Das oxidierte Methyl- β -D-glucopyranosid (**28**) entspricht einem Monomerbaustein des oxidierten Dextran. Somit zeigte diese Untersuchung, dass bereits ein Monomerbaustein des oxidierten Dextran Hydrogele bilden kann, es muss also nicht polymer vorliegen. Lediglich die Stabilität des Hydrogels wird durch die Verwendung von Methyl- β -D-glucopyranosid (**28**) anstelle von oxidiertem Dextran beeinträchtigt.

2.4.4 Gelierungsversuche mit oxidiertem Dextran

Chitosan-Hydrochlorid (**14**) bildet mit Dialdehyden (Kapitel 2.4.3.3) Hydrogele. Folglich sollte es auch möglich sein, aus oxidiertem Dextran und Diaminen Hydrogele zu bilden. Geht man davon aus, dass kovalente Quervernetzung der Grund für die Gelbildung von Chitosan-Hydrochlorid (**14**) mit Dialdehyden ist, so sollte es keinen Unterschied machen, ob die Aldehyd- oder die Aminoverbindung polymer vorliegt.

Mit keiner der verwendeten Aminoverbindungen wurde unter den gewählten Bedingungen ein Hydrogel gebildet. Auch mit den Diaminohydrochloriden und dem Heptaaminohydrochlorid **40** konnten keine Hydrogele gebildet werden. Nur die Versuche mit den polymeren Aminohydrochloridverbindungen (Abb. 29) führten zur Bildung von Hydrogelen.

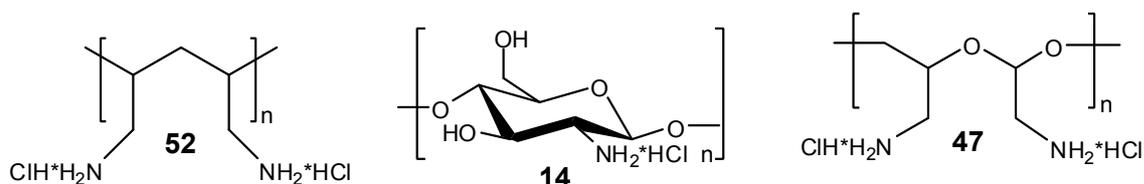


Abbildung 29 Polymere Aminohydrochloridverbindungen, die mit oxidiertem Dextran ein Hydrogel gebildet haben.

2.4.5 Gelierungsversuche mit oxidiertem β -Cyclodextrin

Die Versuche zur Gelbildung mit oxidiertem β -Cyclodextrin zeigten, dass das oxidierte β -Cyclodextrin unter den gewählten Bedingungen mit denselben Verbindungen Hydrogele bildete wie das oxidierte Dextran. Auch hier waren die Versuche zur Bildung eines Hydrogels nur bei Verwendung der polymeren Aminohydrochloride (Abb. 29) erfolgreich. Mit allen anderen Amino- bzw. Aminohydrochloridverbindungen konnten keine Hydrogele gebildet werden.

2.4.6 Gelierungsversuche mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48)

Das oxidierte β -Cyclodextrin bildet mit polymeren Aminohydrochloriden Hydrogele. Im Folgenden wurde untersucht, ob das Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**) auch in der Lage ist, mit Polyaldehyden Hydrogele zu bilden. Keiner der durchgeführten Versuche zur Bildung eines Hydrogels mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**) war erfolgreich. Mit keiner der hier verwendeten Aldehydverbindungen (Abb.28) konnte ein Hydrogel gebildet werden.

2.4.7 Gelierungsversuche mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37)

Mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**) konnten keine Hydrogele gebildet werden. Da das Chitosan (**36**) bei allen Gelierungsversuchen in Kapitel 2.4.3 als Hydrochlorid eingesetzt wurde und in allen Fällen ein Hydrogel bildete, wurde nun auch das Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**) als Hydrochlorid eingesetzt. Jedoch konnte auch bei diesen Umsetzungen des Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorids (**37**) mit den in Abb. 28 dargestellten Aldehydverbindungen unter den gewählten Bedingungen kein Hydrogel gebildet werden. Es zeigte sich, dass auch das Heptakis-(6-

amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**) ungeeignet für die Bildung von Hydrogelen ist.

2.4.8 Gelierungsversuche mit Polyallylamin (43)

Im Folgenden wurde das Polyallylamin (**43**) mit den in Abb. 28 dargestellten Aldehydverbindungen umgesetzt. Vom Polyallylamin (**43**) sind im Gegensatz zum Chitosan-Hydrochlorid (**14**) keine helicalen Strukturen bekannt. Um feststellen zu können, ob diese helicale Struktur des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) notwendig für die Bildung der Hydrogele ist, wurden nun die gleichen Untersuchungen wie beim Chitosan-Hydrochlorid (**14**) zur Hydrogelbildung auch mit Polyallylamin (**43**) durchgeführt. Sollte das Polyallylamin (**43**) in der Lage sein Hydrogele analog zu Chitosan-Hydrochlorid (**14**) zu bilden, so kann ausgeschlossen werden, dass die Existenz einer helicalen Struktur, mindestens einer an der Gelbildung beteiligten Komponente, für die Bildung eines Hydrogels ausschlaggebend ist.

Mit keiner der verwendeten Aldehydverbindungen konnte ein Hydrogel gebildet werden. In allen Fällen wurde ein wasserunlöslicher Feststoff erhalten. Dies deutet darauf hin, dass das Polyallylamin (**43**) mit den Aldehyden reagiert hat. Jedoch führte diese Reaktion nicht zur Gelbildung (Kapitel 2.5).

2.4.9 Gelierungsversuche mit Polyallylamin-Hydrochlorid (49)

Da mit Polyallylamin (**46**) keine Hydrogele sondern wasserunlösliche Feststoffe gebildet wurden, wurden nun mit dem Hydrochlorid des Polyallylamins (**52**) nochmals die gleichen Umsetzungen durchgeführt. Alle diese Umsetzungen mit dem Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) führten zur Bildung eines Hydrogels, somit kann aus diesen Ergebnissen geschlossen werden, dass für die Bildung eines Hydrogels, bestehend aus einer Amino- und einer Aldehydkomponente, das Amin als Hydrochlorid vorliegen muss. Außerdem zeigten die bisherigen Untersuchungen, dass die Aminohydrochloridkomponente polymer vorliegen muss. Alle bisher durchgeführten Untersuchungen zur Bildung eines Hydrogels

mit Amino- bzw. Aminohydrochloridkomponenten die nicht polymer vorlagen, führten unter den gewählten Bedingungen nicht zur Gelbildung.

2.4.10 Gelierungsversuche mit Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin] (53)

Nun wurde die Eignung des neuen Polyamins Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin] (**53**) zur Herstellung von Hydrogelen untersucht. Wie die bisher zur Bildung von Hydrogelen untersuchten Amine wurde auch hier zunächst das freie Amin mit den in Abb. 28 dargestellten Aldehydverbindungen getestet, wobei das freie Amin wurde in situ hergestellt. Wie erwartet wurde nie ein Hydrogel, sondern stets ein Feststoff erhalten.

2.4.11 Gelierungsversuche mit Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (47)

Da mit Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin] (**53**) analog zu den anderen freien Polyaminen keine Hydrogele gebildet werden konnten, wurde nun untersucht, ob das Hydrochlorid dieses Polymers wie das Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) Gele bildet. Die Gelierungsversuche wurden auch hier mit den in Abb. 28 dargestellten Aldehydverbindungen durchgeführt. Analog zum Chitosan-Hydrochlorid (**14**) und zum Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) bildet auch das Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (**47**) Hydrogele mit allen hier verwendeten Verbindungen.

Somit kann geschlossen werden, dass zur Bildung eines Hydrogels aus einer Amino- und einer Aldehydverbindung die Reaktivität desamins durch die Bildung eines Salzes gesenkt werden muss. Reagieren die Aldehyde mit den Aminen, wird ein wasserunlöslicher Feststoff anstatt eines Hydrogels erhalten. Außerdem muss die Aminokomponente polymer vorliegen, damit Hydrogele gebildet werden können. Die Aldehydkomponente kann jedoch auch als monomerer Dialdehyd vorliegen.

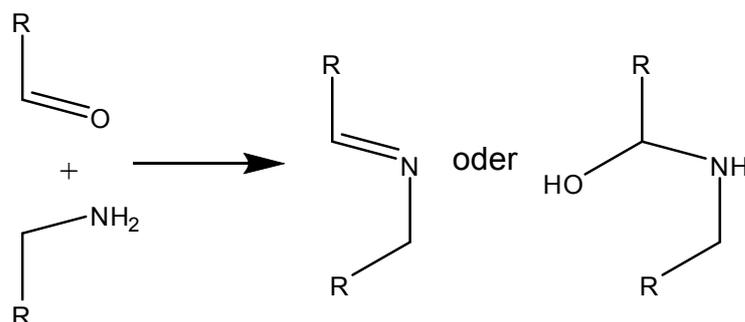
2.5 Untersuchungen der gebildeten Hydrogele

Die Untersuchungen in Kapitel 2.4 zeigten, dass Hydrogele nur gebildet werden können, wenn die Aminokomponente als Hydrochlorid vorliegt. Außerdem entstehen nur dann Hydrogele, wenn die Aminokomponente polymer vorliegt. Polymere Aminohydrochloride können mit Dialdehyden Hydrogele bilden. Polymere Aldehyde können jedoch mit Diaminohydrochloriden keine Hydrogele bilden. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass die Ursache für die Bildung dieser Hydrogele nicht in der Bildung kovalenter Bindungen zu suchen ist. Dafür spricht auch die Tatsache, dass nur Aminohydrochloride und nicht die freien Amine Gele bilden.

Da das Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) in gleichem Maße Hydrogele bildet wie das Chitosan-Hydrochlorid (**14**), aber im Gegensatz zu diesem keine helicale Struktur aufweist, kann ausgeschlossen werden, dass die Existenz einer helicalen Struktur für die Bildung der Hydrogele von Bedeutung ist.

2.5.1 Strukturvorschläge der Literatur

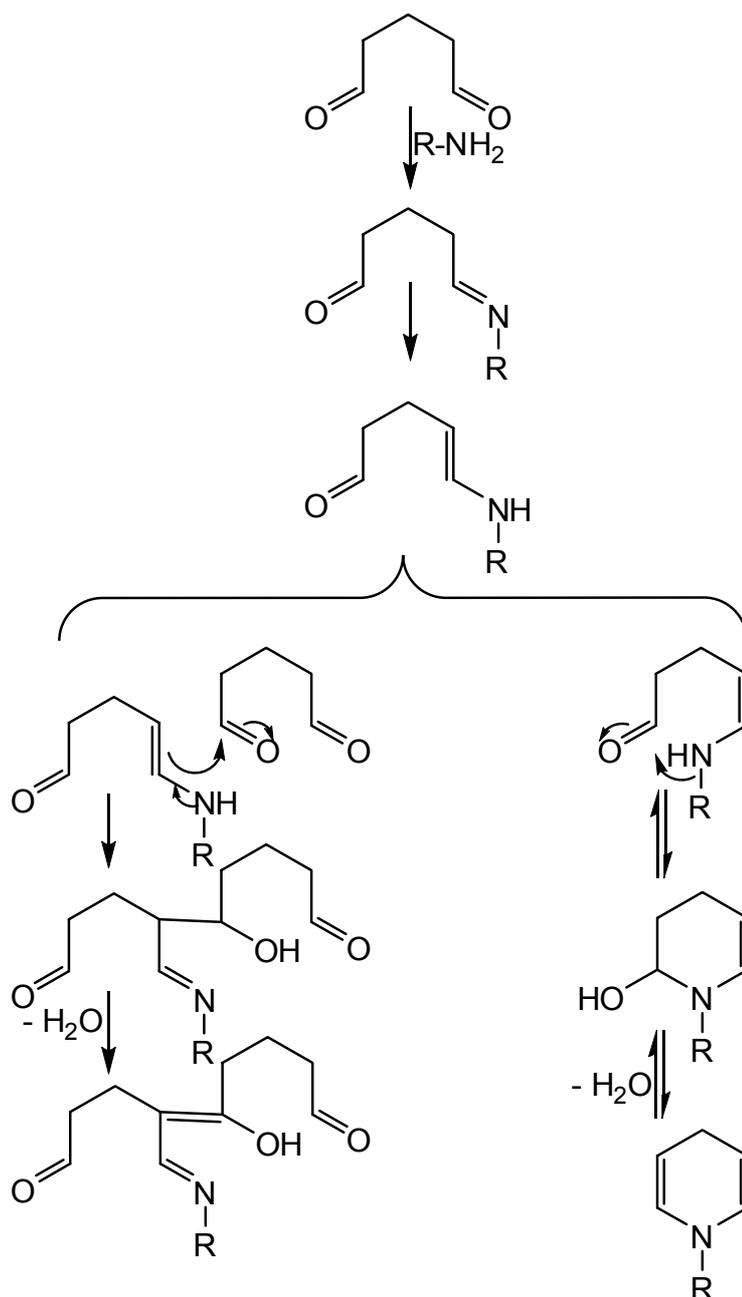
Die Bildung von Hydrogelen, bei der eine Amino- und eine Aldehydkomponente beteiligt sind, wird auf die Bildung von kovalenten Bindungen in Form eines Imins oder eines sekundären Amins zurückgeführt (siehe Kapitel 2.4.1.5).



Schema 26 Reaktion eines Aldehyds mit einem Amin

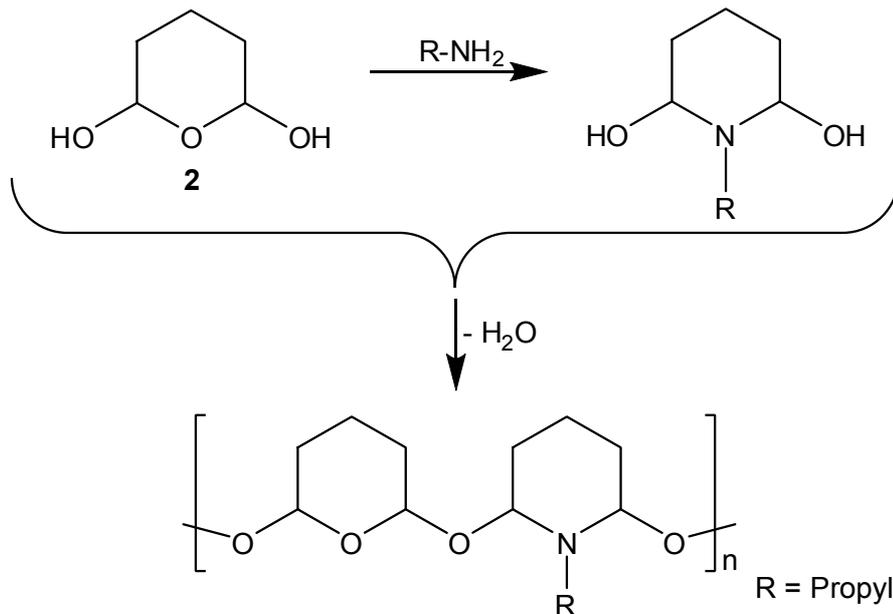
Die Struktur solcher Hydrogele, bestehend aus einer Amino- und einer Aldehydkomponente, wurde in der Literatur spektroskopisch nie genau untersucht. Lediglich für den Glutaraldehyd (**2**) als Quervernetzer für Proteine werden alternative Vernetzungsmechanismen vorgeschlagen.

Kawahara et al.^[40] untersuchten die Quervernetzung von Glutaraldehyd (**2**) mit Aminofunktionen in Wasser. Sie stellten fest, dass die Gelbildung nicht nur auf die Bildung von Iminen zurückzuführen ist. Für die Quervernetzung schlagen sie den Mechanismus in Schema 27 vor.



Schema 27 Reaktionsschema der Quervernetzung von Aminen mit Glutaraldehyd (**2**) nach Kawahara et al.

Lubig et al.^[39] untersuchten ebenfalls die Mechanismen der Quervernetzung von Proteinen mit Glutaraldehyd (**2**). Die Ergebnisse der Untersuchungen von Lubig et al. basieren auf der Reaktion des Glutaraldehyds mit Propylamin als Modellreaktion. Sie schlagen folgenden Mechanismus vor:



Schema 28 Reaktionsschema der Quervernetzung von Glutaraldehyd mit Aminen nach Lubig et al.

Diese Polykondensation beobachteten sie nur bei pH-Werten höher pH 7.

2.5.2 Der Einfluss von Hitze auf die Hydrogele

Die Ergebnisse der Gelierungsversuche in Kapitel 2.4 deuten darauf hin, dass nicht die Ausbildung kovalenter Bindungen ausschlaggebend für die Bildung der Hydrogele ist (Kapitel 2.5). Folglich müssen andere Kräfte die Ursache für die Gelbildung sein. Solche Kräfte, wie z.B. Wasserstoffbrückenbindungen oder ionische Wechselwirkungen lassen sich durch die Einwirkung von Hitze beeinflussen.^[57]

Deshalb wurden alle gebildeten Hydrogele aus Kapitel 2.4 1 h auf 100°C erhitzt. In allen Fällen verflüssigten sich die Gele wieder. Nachdem die so erhaltenen Lösungen abgekühlt wurden, fand keine erneute Gelierung statt. Dies bedeutet,

dass die Moleküle nicht mehr in die für die Bildung von Hydrogelen notwendige Ordnung zurückfinden (siehe Kapitel 2.4). Wäre diese Ordnung durch die Bildung kovalenter Bindungen entstanden, so müsste sie auch nach der Erwärmung noch existieren.

2.5.3 Spektroskopische Untersuchung der Hydrogele

Da die bisherigen Ergebnisse dagegen sprechen, dass die, wie bisher angenommene, Bildung kovalenter Bindungen Ursache für die Gelbildung ist, wurden die hier hergestellten Hydrogele NMR-spektroskopisch untersucht.

2.5.3.1 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem Dextran und Chitosan-Hydrochlorid (14)

Um das Hydrogel aus oxidiertem Dextran und Chitosan-Hydrochlorid (14) spektroskopisch untersuchen zu können, wurde es zunächst lyophilisiert. Von dem Lyophilisat wurde anschließend ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Um das Spektrum des Lyophilisats auszuwerten, wurde es mit den ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektren des reinen oxidierten Dextrans und dem des reinen Chitosan-Hydrochlorids (14) verglichen. Im Falle einer Iminbildung erwartete man einen Peak bei ca. 170 ppm. Beim Vergleich der Spektren stellt man fest, dass das Spektrum des Lyophilisats dem Spektrum entspricht welches man erhält, wenn man das vom oxidierten Dextran und das vom Chitosan-Hydrochlorid (14) übereinander legt. Man kann keine zusätzlichen Peaks erkennen. Im Spektrum des Chitosan-Hydrochlorids (14) wie auch im Spektrum des Lyophilisats ist ein kleiner Peak bei 175 ppm zu erkennen. Dieser und der Peak bei ca. 20 ppm (ebenfalls im Spektrum des reinen Chitosan-Hydrochlorids (14) und dem des Lyophilisats zu erkennen) sind den Acetylgruppen des Chitosan (36) zuzuordnen. Das hier verwendete Chitosan-Hydrochlorid (14) enthält laut Hersteller noch etwa 4% N-Acetylgruppen. Diese stammen vom Chitin aus welchem das Chitosan-Hydrochlorid (14) durch Deacetylierung hergestellt wird.

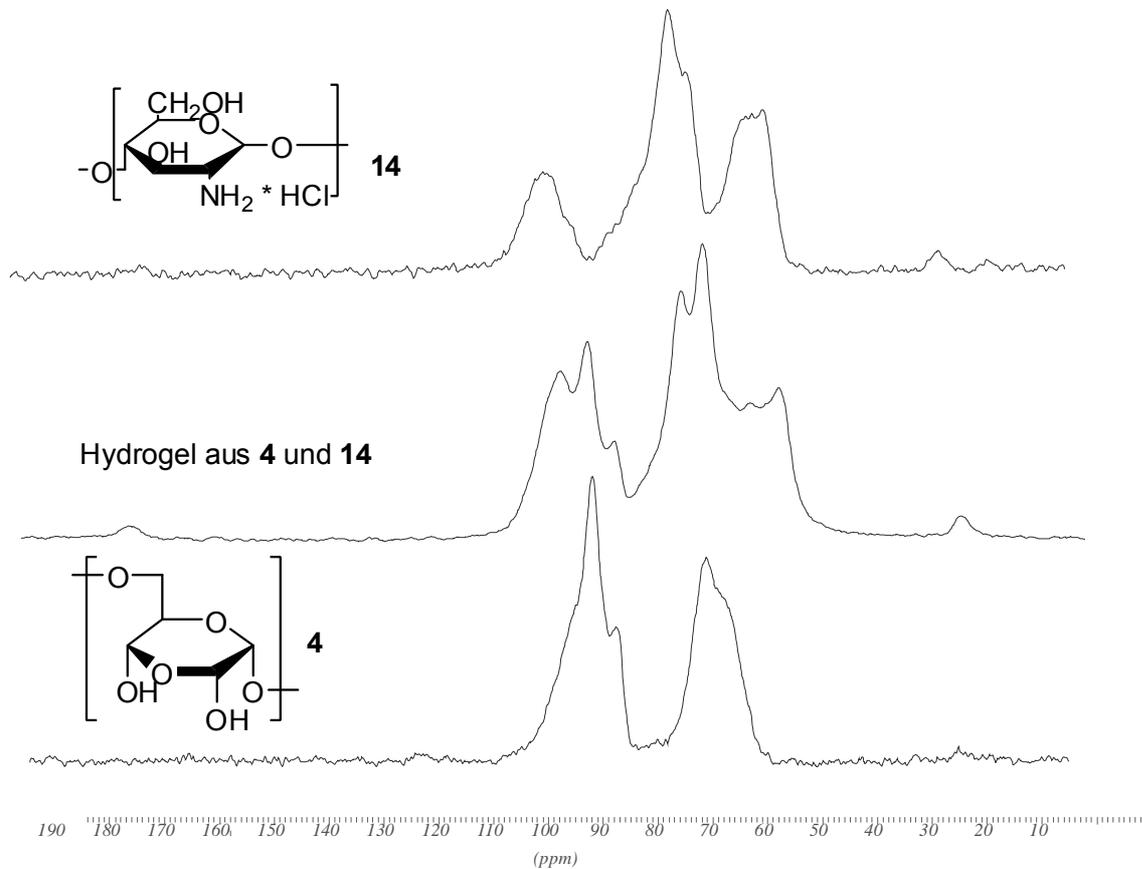


Abbildung 30 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektren des Lyophilisats (Mitte) und der Komponenten.

Da aufgrund dieses Spektrums keine Aussage über die Struktur des Hydrogels getroffen werden konnte, wurden von denselben Verbindungen wie in Abb.30 ^1H -Suspensions-NMR-Spektren angefertigt (Abb.31). Dies bedeutet, dass das Hydrogel direkt, ohne Lyophilisation vermessen wurde. Auch hier entspricht das Spektrum des Lyophilisats dem Spektrum welches entsteht, wenn man die Spektren der zwei reinen Komponenten übereinander legt. Es ist kein Signal vorhanden das einem Imin zugeordnet werden könnte.

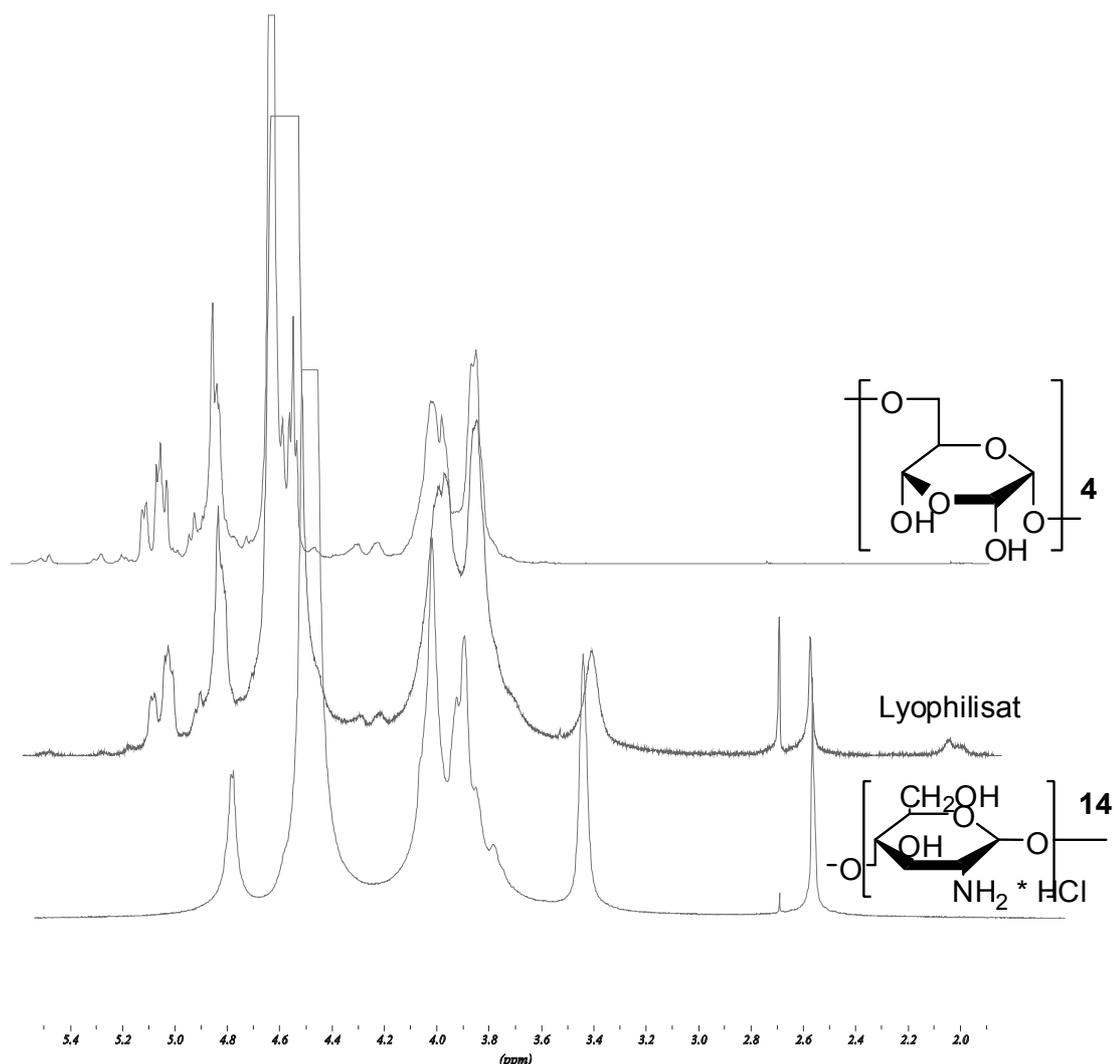


Abbildung 31 ^1H -Suspensions-NMR-Spektren der Komponenten und des Lyophilisats

Die Untersuchungen in Kapitel 2.2.1.6 zeigten, dass das oxidierte Dextran mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**) zum Imin reagiert. Da das Glucosamin dem Monomerbaustein des Chitosans (**36**) entspricht, kann man davon ausgehen, dass das oxidierte Dextran auch mit Chitosan-Hydrochlorid (**14**) zu Imin reagiert.

Aus den NMR-spektroskopischen Untersuchungen kann geschlossen werden, dass sich entweder keine Imine bilden, oder dass diese in so geringem Maße entstehen, dass der Iminpeak im Grundrauschen untergeht.

Eine zweite Möglichkeit ist, dass keine Imine sondern sekundäre Amine entstehen. In diesem Falle ist keine starke chemische Verschiebung der Peaks

bzw. keine Entstehung von neuen Peaks zu erwarten. Die chemischen Verschiebungen, die in diesem Falle auftreten, könnten durch die stark verbreiterten Signale des Festkörperspektrums nicht erkennbar sein.

Um diese Fragen zu klären, wäre es von Vorteil, wenn man die gleiche Umsetzung nochmals mit Chitosan (**36**) durchführen könnte. Die Untersuchungen zur Gelbildung in Kapitel 2.4 zeigten, dass bei Reaktionen der Aldehydverbindungen mit den freien Aminoverbindungen keine Hydrogele bildeten sondern stets Feststoffe ausfielen. Wie dort bereits erläutert, weist dies auf eine chemische Reaktion hin. Chitosan (**36**) ist jedoch wasserunlöslich. Daher wurde nun eine 1%ige Lösung des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) in Wasser hergestellt. Zu dieser Lösung wurde über 3 Tage langsam insgesamt ein Äquivalent K_2CO_3 zugegeben. So ist es gelungen, dass das Chitosan (**36**) in Lösung blieb. Nun wurde diese Lösung mit einer wässrigen Lösung oxidierten Dextrans gemischt. Innerhalb von Sekunden bildete sich anstatt eines Hydrogels ein wasserunlöslicher Feststoff. Dieser wurde abfiltriert, gewaschen und lyophilisiert. Anschließend wurde ein ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum des so erhaltenen Produkts angefertigt (Abb.32). Es ist ein deutlicher Imin-Peak bei 164,2 ppm zu erkennen, ansonsten sind die Peaks des Chitosans (**36**) nicht von denen des oxidierten Dextrans zu unterscheiden, sie überlagern sich.

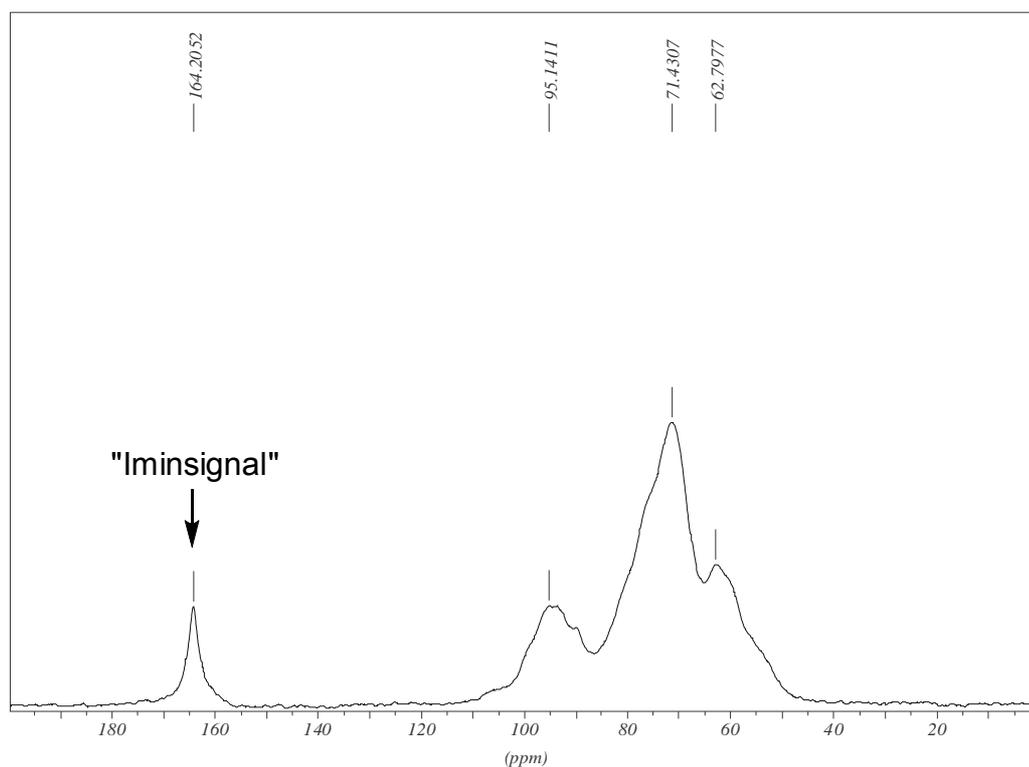
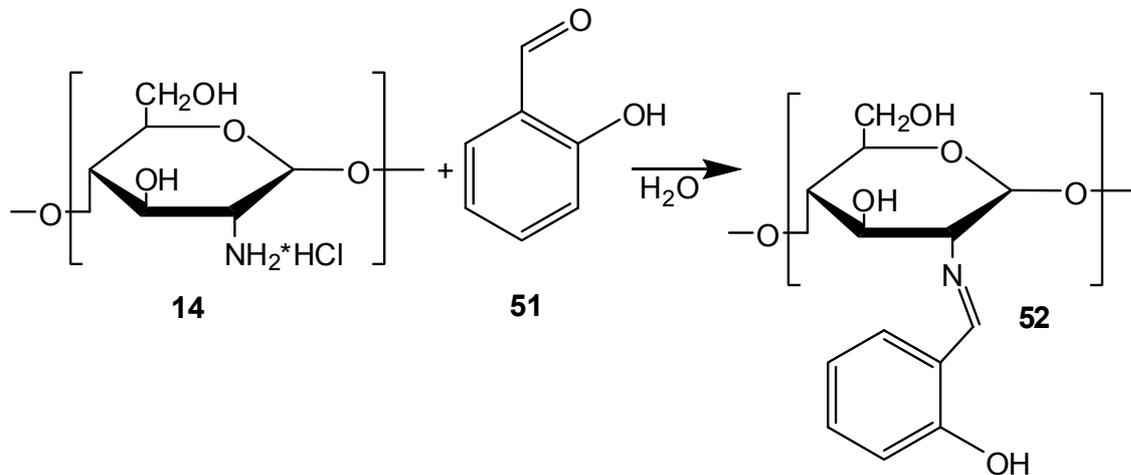


Abbildung 32 ^{13}C -Festkörperspektrum des Reaktionsproduktes aus Chitosan (**36**) und oxidiertem Dextran

Anhand dieser Ergebnisse kann geschlossen werden, dass an der Gelbildung keine Iminbildung beteiligt ist. Da der Imin-Peak bei 164,2 ppm im ^{13}C -Festkörperspektrum in Abb. 32 deutlich sichtbar ist, müsste er es auch sein, wenn deutlich weniger Aminofunktionen reagieren.

Um die Reaktivität des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) genauer zu untersuchen, wurde es mit 2 eq Salicylaldehyd (**51**) ohne die Zugabe einer Base umgesetzt. Salicylaldehyd (**51**) wurde aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit gewählt.^[127] Der erste Ansatz wurde nach 5 min abgebrochen. Innerhalb dieser Zeit sollte bereits ein Teil reagiert haben, wenn man die kovalente Bindung als Grund für die Gelierung von Chitosan-Hydrochlorid (**14**) mit Dialdehyden voraussetzt. Die Lösung wurde 2 Tage ultrafiltriert und anschließend lyophilisiert. Ein ^{13}C -Festkörperspektrum wurde angefertigt. Dieses Spektrum entspricht dem Spektrum des reinen Chitosan-Hydrochlorids (**14**). Es hat also keine Reaktion stattgefunden.

Erhöht man hingegen die Reaktionszeit auf 24 h, so erhält man das erwartete Spektrum mit Iminbildung.^[128]



Schema 29 Reaktion des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) mit Salicylaldehyd (**51**).

Auch dies deutet darauf hin, dass beim Gelierungsprozess keine kovalenten Bindungen beteiligt sind, da sich diese in der kurzen Zeit des Gelierungsprozesses noch nicht gebildet haben. Dies zeigen die Umsetzungen des Chitosan-Hydrochlorids (**14**) mit Salicylaldehyd (**51**).

2.5.3.2 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem Dextran und Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**)

Die Untersuchungen in Kapitel 2.5.3.1 zeigen, dass bei der Gelbildung aus oxidiertem Dextran und Chitosan-Hydrochlorid (**14**) keine kovalenten Bindungen beteiligt sind. Das Hydrogel aus oxidiertem Dextran und Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) wurde nun ebenfalls spektroskopisch untersucht. Dazu wurde das Gel lyophilisiert und ein ¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum angefertigt. Aus diesem Spektrum kann man dieselben Schlüsse ziehen wie in Kapitel 2.5.3.1, nämlich dass keine Reaktion stattgefunden hat. Man findet keine Hinweise auf die Bildung kovalenter Bindungen zwischen den beiden Polymeren.

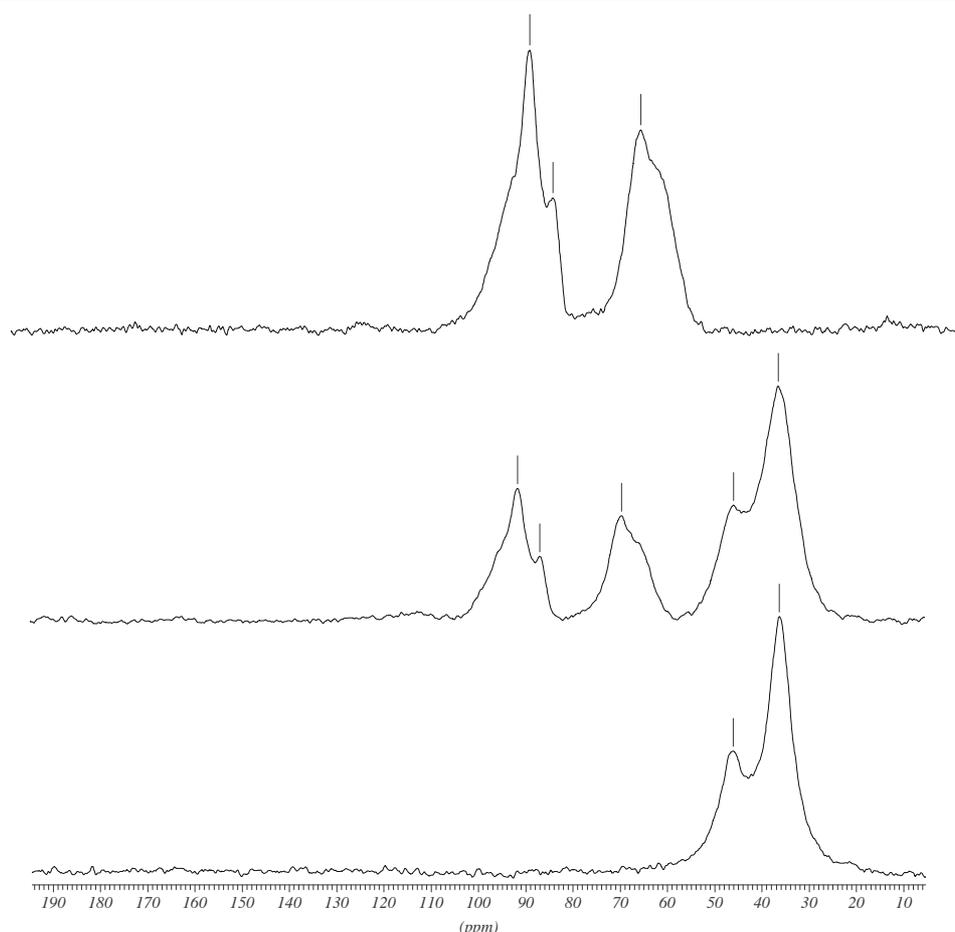
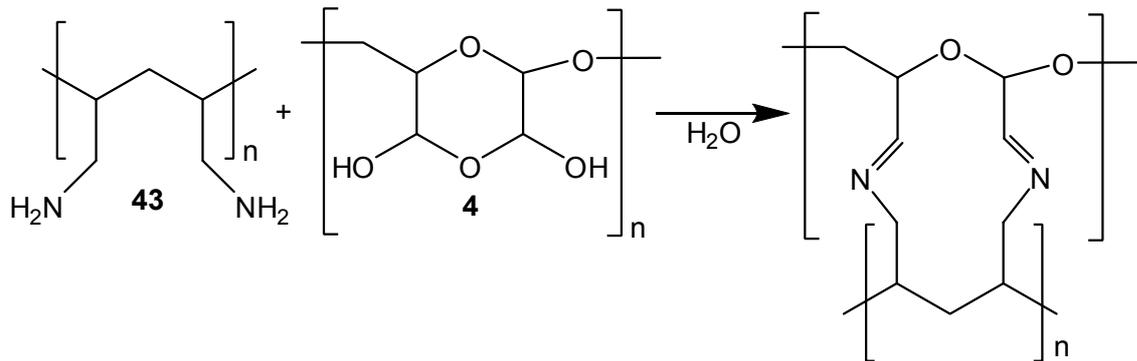


Abbildung 33 ^{13}C -Festkörper-NMR-Spektren des lyophilisierten Hydrogels aus Polyallylamin – Hydrochlorid (**49**) und oxidiertem Dextran (Mitte), des oxidierten Dextrans (oben) und des Polyallylamin-Hydrochlorids (**49**) (unten).

Auch der Feststoff, den man erhält, wenn man Polyallylamin (**43**) mit oxidiertem Dextran umsetzt, wurde lyophilisiert und ebenfalls NMR-spektroskopisch vermessen.

Dieses Spektrum zeigt deutlich, dass das oxidierte Dextran mit den Aminofunktionen des Polyallylamins (**43**) Imine gebildet hat, da es einen Peak bei 164,4 ppm zeigt. Diese Reaktion zum Imin war insofern nicht zu erwarten, da das oxidierte Dextran mit monomeren aliphatischen Aminen wie z.B. n-Propylamin (**6**) zu Polymorpholinderivaten reagiert (Kapitel 2.2.1.2).



Schema 30 Reaktion des oxidierten Dextrans mit Polyallylamin (**43**).

Auch diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass an der Bildung der Hydrogele aus Aminohydrochlorid- und Aldehydkomponente keine kovalenten Bindungen beteiligt sind.

2.5.3.3 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem β -Cyclodextrin und Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**)

Die gleiche Vorgehensweise wie in Kapitel 2.5.3.2 wurde nun auf das Hydrogel aus oxidiertem β -Cyclodextrin und Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) angewendet. Auch hier deutet das Spektrum des lyophilisierten Hydrogels darauf hin, dass keine chemischen Bindungen gebildet wurden. Das Spektrum des entstandenen Feststoffs bei der Umsetzung des oxidierten β -Cyclodextrins und Polyallylamin (**43**) zeigt anhand des Peaks bei 165,1 ppm deutlich, dass hier eine Reaktion zum Imin stattgefunden hat.

2.5.3.4 Untersuchung des Hydrogels aus oxidiertem Dextran und Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (**47**)

Wie die Ähnlichkeit der Struktur des Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorids (**47**) mit dem Polyallylamin (**43**) schon vermuten ließ, entspricht das Reaktionsverhalten dem des Polyallylamins (**43**) bzw. dem des Hydrochlorids. Das Spektrum des lyophilisierten Gels entspricht dem, des reinen Poly-[1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorids (**47**). Da das Polyamin **47** aus dem oxidierten Dextran dargestellt wurde, liegen die

2.5.4 Wasserstoffbrückenbindungen als Ursache für die Hydrogelbildung

2.5.4.1 Literatur zu Bildung von Hydrogelen

Tamai et al.^{[129][130]} untersuchten die Dynamik und Struktur von Wasserstoffbrückenbindungen in Hydrogelen (Abb. 35). Sie kommen zu dem Schluss, dass Hydrogele durch die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Wasser und hydrophilem Polymer entstehen, wobei das gelbildende Polymer Quervernetzung aufweisen muss. Die Untersuchungen wurden durch Simulation mit der MC-Methode (Monte-Carlo-Methode)^[131] anhand der Beispiele PVA (Polyvinylalkohol) (**A**), PVME (Polyvinylmethylether) (**B**) und PNiPAM (Poly-(N-isopropylacrylamid)) (**C**) gemacht.

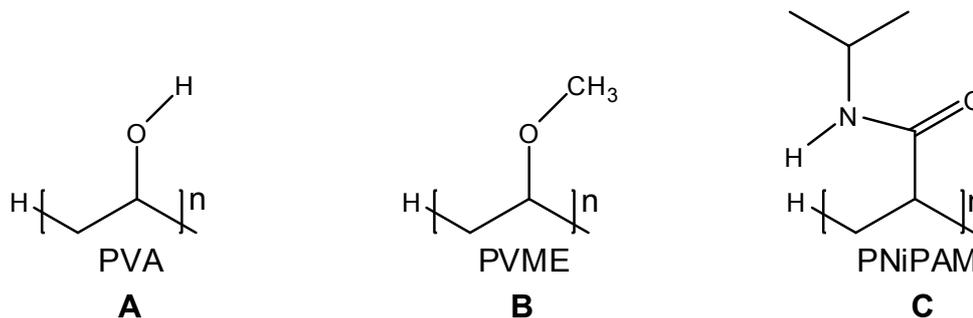
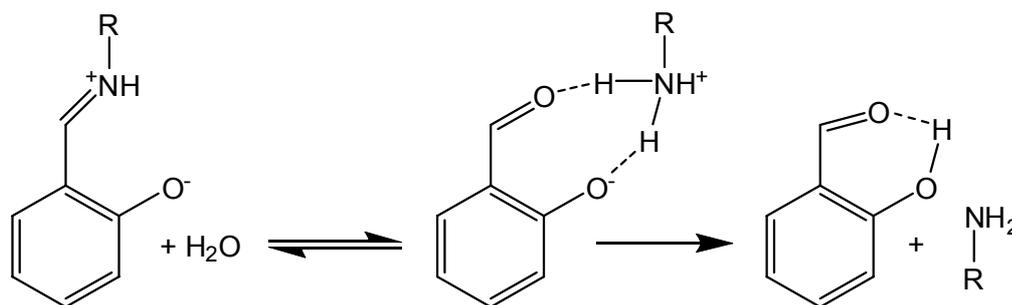


Abbildung 35 Strukturen der von Tamai et al. verwendeten Polymere

Im Rahmen ihrer Untersuchungen stellten sie fest, dass PVA (**A**) und PNiPAM (**C**) Polymer-Polymer-Wasserstoffbrückenbindungen bilden. So werden 0,75 Wasserstoffbrückenbindungen je OH-Gruppe im PVA (**A**) und 0,35 Wasserstoffbrückenbindungen je C=O- und –NH-Gruppe des PNiPAM (**C**) zwischen den beiden Polymeren ausgebildet. Auf diese Art entsteht die nötige Quervernetzung des Polymers, welche zur Ausbildung von Hydrogelen notwendig ist.

Inouye untersuchte die Umsetzung von Aminen mit Salicylaldehyd (**51**) in Wasser.^[132] Dabei beobachtete er folgendes Gleichgewicht.



Schema 31 Gleichgewicht von Salicylaldehyd (**51**) und monomeren Aminen in Wasser

Das Gleichgewicht liegt hier auf der linken Seite.

2.5.4.2 Übertragung der Literatur auf die hier gebildeten Hydrogele

Die Untersuchungen von Inouye in Kapitel 2.4.5.1 zeigen, dass ein Gleichgewicht zwischen dem Imin und Aldehyd/Amin besteht. Gleichzeitig zeigen seine Untersuchungen, dass das gebildete Aminohydrochlorid mit Aldehyden Wasserstoffbrückenbindungen eingeht (Schema 31). Da selbst im Falle des freien Amins ein Gleichgewicht zwischen Imin und Amin/Aldehyd vorliegt, ist zu erwarten, dass das Gleichgewicht zwischen Imin und Aminohydrochlorid/Aldehyd im Gegenteil zum Gleichgewicht Imin und Amin/Aldehyd auf der rechten Seite liegt.

Ein solches Gleichgewicht unter Berücksichtigung der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen könnte im Beispiel des Gels aus Glyoxal (**25**) und Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**) folgendermaßen aussehen.

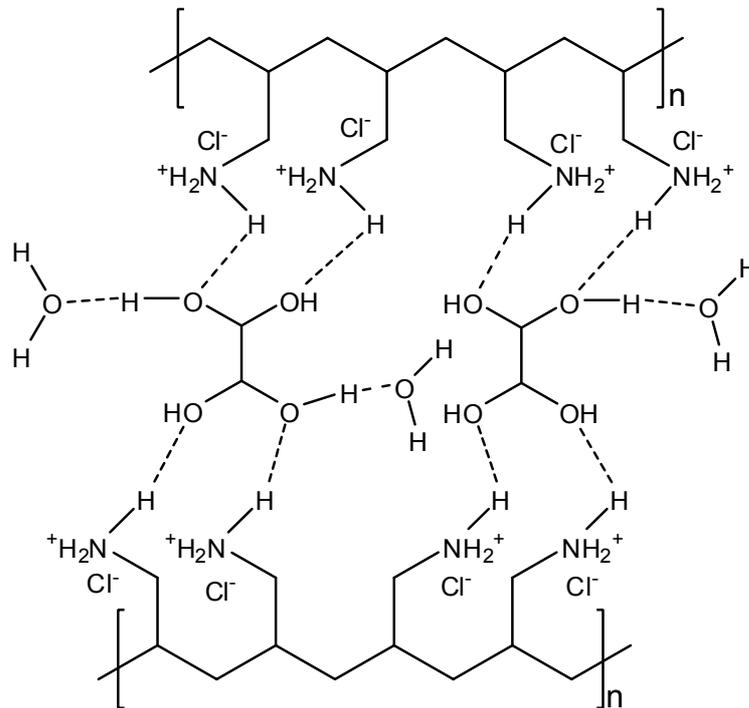


Abbildung 36 Mögliche Wasserstoffbrückenbindungen am Beispiel des Hydrogels aus Glyoxal (**25**) und Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**).

Einige Aldehyde liegen, wie die Untersuchungen von Tamai zeigen, als Hydrate vor bzw. sie gehen Wasserstoffbrückenbindungen zu Wassermolekülen ein. So entstehen optimale Bedingungen zur Bildung von Hydrogelen.

Die Gelierungsversuche mit den freien Aminen in Kapitel 2.4 zeigten, dass aus polymerem Aldehyd und dimerem Aminohydrochlorid keine Hydrogele gebildet werden konnten. Aus polymeren Aminohydrochloriden und dimeren Aldehyden können jedoch Gele gebildet werden. Selbst mit dem Heptaaminohydrochlorid des β -Cyclodextrins (**29**) und polymeren Aldehyden konnte kein Gel gebildet werden.

Diese Tatsache kann damit begründet werden, dass eine Aldehydfunktion mit zwei Aminohydrochloridfunktionen Wasserstoffbrückenbindungen bilden kann.^[133] Folglich liegt es bei einem Diaminohydrochlorid nahe, dass beide Aminohydrochloridfunktionen mit derselben Aldehydfunktion bzw. mit der benachbarten Aldehydfunktion Wasserstoffbrückenbindungen eingeht. Die Wassermoleküle bilden in Konkurrenz mit den Aminen Wasserstoffbrückenbindungen zu den Aldehydfunktionen. Somit findet

insgesamt nur geringe Quervernetzung statt und es kommt nicht zur Gelbildung.

Wenn die Aminohydrochloride polymer vorliegen, so reicht es aus, wenn nur einige Funktionen Wasserstoffbrückenbindungen zu Aldehydfunktionen ausbilden. Im Polymer liegen die Aminohydrochloride durch die ineinander verschlungenen Polymerketten nah beieinander, so dass die Wahrscheinlichkeit, dass ein Aldehyd mit zwei verschiedenen Aminohydrochloriden Wasserstoffbrückenbindungen bildet, größer ist.

Als „Wasserspeicher“ stehen bei dieser Art von Hydrogelen nur die Aldehyd- und die Aminohydrochloridfunktionen zur Verfügung. Wie Tamai et al. bereits feststellten, wird das Wasser in derartigen Hydrogelen durch Wasserstoffbrückenbindungen gebunden. Würden die Aldehydfunktionen mit den Aminohydrochloriden reagieren, so könnte kein Wasser bzw. viel weniger Wasser gebunden werden. Dies bestätigen die Umsetzungen der freien Aminopolymere mit Aldehyden. Hier erfolgte eine Reaktion und das Polymer fällt aus der wässrigen Lösung aus, es wird also kein Wasser gebunden.

3. Experimenteller Teil

3.1 Allgemeines

Alle verwendeten Reagenzien wurden so eingesetzt wie sie käuflich erworben wurden. Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert und wenn nötig nach literaturbekannten Methoden getrocknet.

Wasser wurde stets vollständig entsalzt verwendet.

Bei den Umsetzungen der Polymere sowie der Cyclodextrinderivate beziehen sich alle Molangaben auf die Monomereinheiten.

Die Nummerierung der Kohlenstoffe bezieht sich bei allen Polymeren bzw. Cyclodextrinderivaten auf das Polysaccharid, aus dem es hergestellt wurde (Abb. 37)

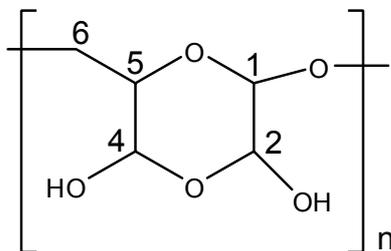


Abbildung 37 Nummerierung der Polymere am Beispiel des oxidierten Dextrans.

Die Aminohydrochloride wurden durch Zugabe von 2 N Salzsäure bis die Lösung neutral reagierte, hergestellt.

Die freien Amine wurden aus den Aminohydrochloriden hergestellt, indem eine äquivalente Menge K_2CO_3 zugegeben wurde.

3.1.1 Verwendete Geräte

NMR-Spektren:

^1H -NMR-Spektren	Bruker AC 250 (250 MHz) Bruker Avance 400 (400 MHz) Bruker AMX 600 (600 MHz)
^{13}C -NMR-Spektren	Bruker AC 250 (62,9 MHz) Bruker Avance 400 (100 MHz) Bruker AMX 600 (151 MHz)
^1H -NMR-Suspensions-NMR-Spektren:	Bruker ARX 400 (400 MHz)
^{13}C -Festkörper-NMR-Spektren:	Bruker DSX 200 (50,3 MHz)

Die chemischen Verschiebungen sind auf das jeweilige deuterierte Lösungsmittel als internen Standard bezogen und in ppm angegeben.

Die Zuordnung der Signale erfolgte mittels Inkrementberechnung, durch den Vergleich mit ähnlichen bekannten Verbindungen und, soweit möglich, mit zweidimensionalen NMR-Experimenten wie $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY und $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -COSY.

Massenspektrometrie:

FAB:	Finnigan MAT TSQ 70
Maldi TOF:	Bruker Autoflex, Matrix: 2,6-Dihydroxybenzoesäure

Elementaranalyse:

HEKAtech GmbH Euro EA 3000

Die berechneten Werte der Polymere beziehen sich auf eine Monomereinheit.

Dünnschichtchromatographie:

POLYGRAM® SILG/UV₂₅₄ Platten von Macherey & Nagel

Die Detektion erfolgte mit Hilfe einer UV-Lampe bzw. durch Veraschen mit einer 5% igen H₂SO₄-Lösung in EtOH.

Präparative Säulenchromatographie

Glassäulen verschiedener Größen, abhängig von Menge der zu säulenden Substanz, wurden mit Kieselgel (0,032 – 0,063 mm) von Macherey & Nagel gepackt.

Die Laufmittel werden in den einzelnen Arbeitsvorschriften angegeben.

Schmelzpunkte:

Büchi B-540. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

GC/MS:

GC: HP Systems, HP 6890 Series

MS: Mass Selective Detector 5973

Ultrafiltration:

Rührzelle: Amicon 8050

Membran: Millipore NMWL: 1 000

Filter Code PLAC

3.1.2 Reagentien

Dextran 6 kD, Leuconostoc ssp.: Fluka, Dextran 60 kD, Leuconostoc mesenteroides: Fluka, Dextran 200 kD, Leuconostoc ssp: Fluka, Dextran 500 kD: Pharmacosmos. Natriumperodat: Merck, Natriumborhydrid: Merck, Chitosan-Hydrochlorid, Polyallylamin: Aldrich, β-Cyclodextrin: Fluka, Glutaraldehyd: Fluka, Glyoxal: Fluka, Furfurylamin: Fluka, Glucosamin-Hydrochlorid: Glycon, Salicylaldehyd: Fluka, 3-Aminophenol: Fluka, 1,2-Diaminobenzol: Fluka, Methylamin: Fluka, n-Propylamin: Fluka, O-(2,3,4,5,6-

Pentafluorbenzyl)hydroxylamin: Fluka, Benzaldehyd: Fluka, Ethylendiamin: Fluka, 1,6-Diaminohexan: Fluka, Oxalylbromid: Acros, N-Formylmorpholin: Fluka, Phloroglucin: Fluka, 1,4-Dibrom-2,5-dimethoxybenzol: Acros, 2,4-Dinitrophenylhydrazin: Fluka, Hydroxylamin: Fluka, Anilin: Fluka, Hexamethylentetraamin: Fluka, Trifluoressigsäure: Fluka, Natriumazid: Fluka, Triphenylphosphan: Fluka,

3.2 Umsetzungen

3.2.1 zu Kapitel 2.1

3.2.1.1. Oxidation der Dextrane (1) mit Natriumperiodat

2 g Dextran (1) (12,42 mmol) werden in 200 ml Wasser gelöst. In diese Lösung werden unter Eiskühlung und Lichtausschluss innerhalb 1h 5,6 g (26,09 mmol, entspricht 2,1 eq) zugegeben. Anschließend wird die Eiskühlung entfernt und über Nacht bei RT gerührt. Das ausgefallene Produkt wird durch Zugabe von Wasser wieder in Lösung gebracht. Diese wird danach 2 Tage lang ultrafiltriert und anschließend lyophilisiert.

Ausbeuten:

500 kD : 1,76 g (11,89 mmol, 88 %), 200 kD: 1,72 (11,62 mmol, 86%), 60 kD: 1,62 g (10,95 mmol 81%), 6 kD: 0,86 g (5,82 mmol, 43%).

3.2.1.2 Spektroskopische Daten des oxidierte Dextrans

Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen beziehen sich auf das oxidierte Dextran, welches aus dem Dextran mit einer Masse von 500 kD dargestellt wurde.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO):

δ = 6.47 (s, 1 H, C-2-OH), 6.44 (s, 1 H, C-4-OH), 5.10 (s, 1 H, H-4), 4.79 (s, 1 H, H-2), 4.41 (s, 1 H, H-1), 3.73 (s, 1 H, H-6a), 3.62 (s, 1 H, H-5), 2.53 (s, 1 H, H-6b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 -DMSO):

δ = 97.0 (C-1), 91.0 (C-2), 86.9 (C-4), 70.,2 (C-5), 65.3 (C-6).

Die Signale der NMR-Spektren in D₂O können aufgrund der uneinheitlichen Struktur nicht zugeordnet werden.

¹H-NMR (D₂O):

δ = 9.49, 6.14, 5.89, 5.88, 5.55, 5.31, 5.29, 5.27, 5.03, 4.91, 4.89, 4.18, 4.16, 4.00.

¹³C-NMR (D₂O):

δ = 194.2, 158.8, 115.7, 116.6, 103.9, 98.6, 98.3, 97.5, 96.9, 93.9, 93.2, 92.4, 91.7, 91.6, 91.4, 91.3, 89.5, 88.4, 75.1, 72.5, 68.4, 68.1, 62.0.

¹³C-Festkörper-NMR:

δ = 91.6 (2C, C-1, C-2), 87.0 (C-4), 69.7 (2C, C-5, C-6).

Analyse (C₅H₈O₅)_n:

	ber.:	C: 40.55	H: 5.44
500 kD	gef.:	C: 40.54	H: 5.36
200 kD	gef.:	C: 40.58	H: 5.38
60 kD	gef.:	C: 40.36	H: 5.46
6 kD	gef.:	C: 40.34	H: 5.46

3.2.2 Zu Kapitel 2.2

Reduktion des oxidierten Dextrans:

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 50 ml Wasser gelöst. 180,8 mg (7,43 mmol) in so wenig wie möglich Wasser gelöst. Diese Lösungen werden dann langsam (alle 5 min 500 µl) zugegeben. Nach Beendigung der Zugabe wird das Reaktionsgemisch ca. 3 h bei RT gerührt. Anschließend wird das Gemisch mittels 2 N Salzsäure auf pH 7 gebracht und ultrafiltriert. Zum Rückstand der Ultrafiltration wird dann 3 x 100 ml Methanol zugegeben und

anschließend bei 40°C am Vakuum wieder abgezogen. Um das Produkt trocken zu erhalten, wird anschließend lyophilisiert.

Ausbeute: 180 mg (40%, 1,35 mmol)

¹H-NMR (d₆-DMSO):

δ = 6.40 (s, 2 H, C-2-OH, C-4-OH), 4.65 (s, 1 H, H-1), 3.73 (s, 1 H, H-2), 3.67-3.49 (m, 4 H, H-4, H-5, H-6a+b).

¹³C-NMR (d₆-DMSO):

δ = 102.7 (C-1), 76.7 (C-5), 66.0 (C-6), 62.0 (C-2), 61.3 (C-4)

Analyse:

Borsäureester (C ₅ H ₁₀ B ₂ O ₇) _n :	ber.: C: 29.47	H: 4.95
	gef.: C: 29.24	H: 5.26
Polyalkohol (C ₅ H ₁₀ O ₄) _n :	ber.: C: 44.77	H: 7.51
	gef.: C: 44.36	H: 7.93

Reaktion des oxidierten Dextrans mit n-Propylamin (6)

50 mg (0,34 mmol) oxidiertes Dextran werden in 1 ml d₆-DMSO gelöst. Anschließend wird zu dieser Lösung unter Rühren 20 µl (0,24 mmol) n-Propylamin (6) zugegeben. Die Lösung wird 10 min gerührt und vom Reaktionsgemisch wird ein ¹H-NMR-Spektrum angefertigt.

¹H-NMR (d₆-DMSO):

δ = 6.63 (2H, s, OH), 5.06 (1H, s, H-4), 4.78 (1H, s, H-2), 4.39 (1H, s, H-1), 3.72 -3.47 (3H, m, H-5, H-6a, H-6b), 1.38 (1,2 H, m, CH₂-CH₃), 0.82 (2,2 H, m, CH₂-CH₃).

Anschließend wurden noch weitere 10 µl (0,10 mmol) n-Propylamin (6) zugegeben. Es wird nochmals 30 min gerührt, das Produkt mit Wasser gefällt, abfiltriert, mit Wasser gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 58 mg (91%, 0,31 mmol)

Analyse (C₈H₁₅NO₄)_n: ber.: C: 50.78; H: 7.99; N: 7.40
gef.: C: 51.98; H: 7.44; N: 6.58

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Furfurylamin (8)

50 mg (0,34 mmol) oxidiertes Dextran werden in 1 ml d₆-DMSO gelöst. Zu dieser Lösung werden unter Rühren langsam 30 µl (0,34 mmol) Furfurylamin (8) zugegeben. Anschließend wird 10 min gerührt und dann sofort ein NMR-Spektren angefertigt.

¹H-NMR (d₆-DMSO):

δ = 7.51 (1H, s, H-5'), 6.34 (1H, s, H-4'), 5.51 (1H, s, H-3'), 5.31 (1H, s, H-4), 4.85 (1H, s, H-2), 4.70 (1H, s, H-1), 4.04 -3.64 (5H, m, H-5, H-6a, H-6b, CH₂').

¹³C-NMR (d₆-DMSO):

δ = 154.0 (C-1'), 142.4 (C-4'), 110.3 (C-2'), 108.2 (C-3'), 98.2 (C-1), 79.6 (C-2), 68.8 (C-4), 66.2 (C-5), 63.4 (C-6), 42.7 (CH₂').

Anschließend werden 5 ml Wasser zugegeben. Es fällt ein Feststoff aus. Dieser wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 68 mg (87%, 0,30 mmol)

Analyse (C₁₀H₁₃NO₅)_n: ber.: C: 51.36, H: 5.88, N: 5.44
gef.: C: 51.37, H: 5.84, N: 5.40

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Methylamin (7)

50 mg (0.338 mmol) oxidiertes Dextran werden in 1 ml d_6 -DMSO gelöst. Anschließend gibt man zu dieser Lösung 38 μ l Methylamin (7) in 40% Wasser (0,338 mmol). Das Reaktionsgemisch wird 10 min gerührt und anschließend sofort NMR-Spektren angefertigt.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO):

δ = 5.23 (s, 1 H, H-4), 4.97 (s, 1 H, H-2), 4.56 (s, 1 H, H-1), 3.86 – 3.64 (m, 3 H, H-5, H-6a, H-6b), 1.95 (s, 3H, N-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 -DMSO):

δ = 95.7 (C-1), 90.8 (C-2), 86.9 (C-4), 70.1 (C-5), 65.7 (C-6), 24.9 (N-CH₃).

Reaktion des oxidierten Dextrans mit 3-Aminophenol (9)

100 mg (0,68 mmol) oxidiertes Dextran werden in 10 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 155 mg (1,42 mmol) 3-Aminophenol (9) zugegeben. Nach 1 h beginnt ein Feststoff auszufallen. Nach 24 h wird der Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 155 mg (0,65 mmol, 96%)

$^{13}\text{C-Festkörper-NMR}$:

δ = 156.7 (C-1'), 146.7 (C-3'), 130.6 (C-5'), 107.7 – 91.6 (C-2', C-4', C-6', C-1, C-2, C-3), 69.5 (C-5, C-6).

Analyse (C₁₁H₁₃NO₅)_n:

ber.: C: 55.23; H: 5.48; N: 5.86

gef.: C: 55.99; H: 5.58; N: 5.54

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Anilin (**11**)

100 mg (0,68 mmol) oxidiertes Dextran werden in 10 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 130 ml (1,42 mmol) Anilin (**11**) zugegeben. Nach 1 h beginnt ein Feststoff auszufallen. Nach 24 h wird der Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 139 mg (0,62 mmol, 92%)

^{13}C -Festkörper-NMR:

$\delta = 145.0$ (C-1'), 129.6 (2C, C-3', C-5'), 119.1 (C-4'), 116.7 (2C, C-2', C-6'), 100.0 - 85.0 (C-1, C-2, C-3), 69.5 (C-5, C-6).

Analyse ($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_4$)_n:

ber.: C: 59.19; H: 5.87; N: 6.27

gef.: C: 58.79; H: 5.65; N: 5.47

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Glucosamin-Hydrochlorid (**13**)

500 mg oxidiertes Dextran (3,38 mmol) werden in 5 ml Wasser gelöst. Anschließend wird diese Lösung mit 1,75 g (8,11 mmol) Glucosamin-Hydrochlorid (**13**) versetzt und 24 h bei RT gerührt. Die Lösung wird anschließend 2 d ultrafiltriert und danach lyophilisiert.

Laut NMR-Spektren fand keine Reaktion statt, das Edukt wurde zurück gewonnen

Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorid

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 5 ml Wasser gelöst. Diese Lösung wird mit 3,11 g (8,12 mmol) 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin-Hydrochlorid versetzt und 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Lösung 2 d ultrafiltriert und lyophilisiert.

Laut NMR-Spektren hat keine Reaktion stattgefunden, das Edukt wurde zurück gewonnen.

Reaktion des oxidierten Dextrans mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin (15)

Zu 500 mg (3,38 mmol) in 5 ml DMSO gelöstem oxidierten Dextran werden 2,8 g (8,12 mmol) 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin (**15**) zugegeben. Die Lösung wird 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf 50 ml Wasser gegossen. Es fällt ein weißer Feststoff aus. Das Gemisch wird mit 2 N Salzsäure auf ca. pH 6 angesäuert, um überschüssiges 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucosamin (**15**) als Hydrochlorid wieder in Lösung zu bringen. Dann wird abfiltriert und mit Wasser und Et₂O gewaschen. Der Feststoff wird im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,4 g (92%, 3,12 mmol)

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 180.5 (2C, C-1''-C{O}CH₃, C-1'''-C{O}CH₃), 172.8 (6C, C-3''-C{O}CH₃, C-3'''-C{O}CH₃, C-4''-C{O}CH₃, C-4'''-C{O}CH₃, C-6''-C{O}CH₃, C-6'''-C{O}CH₃), 164.1 (2C, C-2, C-2'), 91.5 (3C, C-1', C-1'', C-1'''), 69.8 (10C, C-1, C-1-CH₂, C-3'', C-3''', C-4'', C-4''', C-5'', C-5''', C-6'', C-6'''), 54.0 (2C, C-2'', C-2'''), 20.9 (C-1''-C{O}CH₃, C-1'''-C{O}CH₃, C-3''-C{O}CH₃, C-3'''-C{O}CH₃, C-4''-C{O}CH₃, C-4'''-C{O}CH₃, C-6''-C{O}CH₃, C-6'''-C{O}CH₃).

Analyse (C₃₃H₄₄N₂O₂₀)_n:

ber.: C: 50.25; H: 5.62; N: 3.55

gef.: C: 49.52; H: 5.32; N: 2.28

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Hydroxylamin (17)

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 5 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 650 μ l (8,12 mmol) einer 40%igen Lösung von Hydroxylamin (17) in Wasser zugegeben und 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch ultrafiltriert und 2 d lyophilisiert. Die Elementaranalyse zeigt, dass überschüssiges Hydroxylamin durch die Ultrafiltration nicht komplett entfernt werden konnte.

Ausbeute: 515 mg (3,18 mmol, 94%)

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 150.0 (2C, C-2, C-4), 97.4 (C-1), 80.2 (C-6), 68.3 (C-5).

Analyse ($\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)_n: ber.: C: 30.61; H: 6.17; N: 14.28

gef.: C: 31.49; H: 5.83; N: 16.96

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniak bzw. Ammoniumcarbonat**1. Reaktion des oxidierten Dextrans mit konz. NH_3 -Lösung in Wasser:**

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 5 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 430 μ l (8,12 mmol) einer 32%igen Lösung von Ammoniak in Wasser zugegeben und 24 bei RT gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch lyophilisiert.

Ausbeute: 435 mg (3,38 mmol, quantitativ)

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 165.5 (C-2, C-4), 145.6 (C-1_{imin}), 129.3 (C-5_{imin}), 98.0 (C-1, C-4_{imin}), 70.9 (C-5, C-6).

2. Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniak in DMSO:

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 15 ml DMSO gelöst. Durch diese Lösung wird 2 h gasförmiges Ammoniak durch geleitet. Das Reaktionsgemisch wird währenddessen mit einem Wasserbad erwärmt, damit es nicht gefriert. Anschließend wird 1 d Luft durch das Reaktionsgemisch geleitet, um überschüssigen Ammoniak zu entfernen.

Dann wird das Gemisch unter Zugabe von Wasser mehrmals lyophilisiert.

Ausbeute: 435 mg (3,38 mmol, quantitativ)

3. Reaktion des oxidierten Dextrans mit Ammoniumcarbonat:

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 10 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 635 mg (8,12 mmol) Ammoniumcarbonat zugegeben und 24 bei RT gerührt. Anschließend wird 1 d Luft durch das Reaktionsgemisch geleitet, um überschüssiges Ammoniumcarbonat zu entfernen.

Dann wird das Gemisch unter Zugabe von Wasser mehrmals lyophilisiert.

Ausbeute: 435 mg (3,38 mmol, quantitativ)

Umsetzung des oxidierten Dextrans mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (21)

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 10 ml DMSO gelöst. Zu dieser Lösung werden 1,35 g (6,77 mmol) 2,4-Dinitrophenylhydrazin (**21**) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird Wasser zum Gemisch gegeben. Es fällt ein Feststoff aus. Dieser Feststoff wird abfiltriert, mit Wasser und Diethylether gewaschen und dann im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,8 g (2,44 mmol, 72 %)

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 145.1 (C-1'), 137.9 (C-4'), 129.6 (C-2'), 122.8 – 117.3 (C-3', C-5', C-6'), 95.7 (C-1), 91.9 (C-2), 86.9 (C-4), 69.9 (C-5), 66.1 (C-6).

Analyse ($C_{11}H_{12}N_4O_8 \cdot 2 H_2O$)_n: ber.: C: 36.27; H: 4.43; N: 15.38
gef.: C: 36.07; H: 5.02; N: 14.81

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Essigsäureanhydrid

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 10 ml DMSO gelöst. Zu dieser Lösung werden unter Eiskühlung 1 ml Triethylamin und 1,6 ml Essigsäureanhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei RT gerührt und anschließend auf 100 ml Eiswasser gegossen. Es fällt ein Feststoff aus welcher dann abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 770 mg (3,32 mmol, 98%)

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 169.4 (C{O}CH₃), 93.3 (C-1, C-2, C-4), 68.0 (C-5, C-6), 20.2 (C{O}CH₃)

Analyse ($C_9H_{12}O_7 \cdot H_2O$)_n: ber.: C: 43.20; H: 5.64
gef.: C: 43.77; H: 5.34

Reaktion des oxidierten Dextrans mit einem Aktivester

500 mg (3.38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 10 ml DMSO gelöst. Dazu werden 3,77 g (8,13 mmol) Perfluorophenyl-2-[[[9H-fluoren-9-yl)methoxy]-carbonylamino]acetat (**23**) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 48 h bei RT gerührt und anschließend auf 100 ml Eiswasser gegossen. Es fällt ein Feststoff aus. Dieser wird abfiltriert, mit Wasser und Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 2,25 g (3,18 mmol, 94%)

3.2.4 Zu Kapitel 2.4

Periodatoxidation des β -Cyclodextrins (**29**):^[91]

2 g β -Cyclodextrin (**29**) (12,34 mmol) werden in 200 ml Wasser gelöst. Anschließend werden unter Eiskühlung und Lichtausschluss innerhalb von 0,5 h 3,2 g (14,81 mmol) Natriumperodat zugegeben. Anschließend wird 5 Tage im Dunkeln bei RT gerührt. Dann werden ca. 80 μ l (1,42 mmol) 1,2-Ethandiol zugegeben und weitere 2 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird 12 h im Gefrierschrank stehen gelassen. Anschließend gibt man wässrige Bariumchloridlösung (2 g (9,61 mmol) in ca. 10 ml) zu und die Lösung bleibt 3 h bei Raumtemperatur stehen. Man filtriert den entstandenen Niederschlag ab. Dann wird das Wasser im Vakuum abgezogen. Den erhaltenen weißen Rückstand schwemmt man in trockenem Methanol auf und lässt die Suspension über Nacht im Gefrierschrank stehen. Anschließend wird nach der Zugabe von Aktivkohle abfiltriert und das Methanol aus dem Filtrat im Vakuum abgezogen (nicht über 35°C erhitzen!). Diese Prozedur wird zweimal wiederholt.

Ausbeute: 580 mg (3,63 mmol, 29,4 %).

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 91.1 (3C, C-1, C-2, C-3), 73.6 (3C, C-4, C-5, C-6).

MS Maldi TOF: $m/z = 1143,044 [M+Na]^+$

Analyse: ber.: C: 40.45; H: 5.66

gef.: C: 40.36; H: 5.46

Reaktion des oxidierten β -Cyclodextrins mit Anilin (11)

500 mg (2,81 mmol) des oxidierten Dextrans werden in 10 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 515 μ l Anilin (5,64 mmol) (**11**) gegeben und 24 h bei RT gerührt. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert, mit Wasser und Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 690 mg (2,73 mmol, 97%)

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 146.2 (C-1'), 129.5 (C-3', C-5'), 118.4 (C-2', C-4', C-6'), 90.3 (C-1, C-2, C-4, C-3), 75.0 (C-5, C-6).

Analyse ($\text{C}_{84}\text{H}_{105}\text{N}_7\text{O}_{35}$):

ber.: C: 56.91; H: 5.97; N: 5.53

gef.: C: 56.23; H: 5.27; N: 6.29

Reaktion des oxidierten β -Cyclodextrins mit Hydroxylamin (17)

500 mg (2,807 mmol) oxidiertes β -Cyclodextrin werden in 10 ml Wasser gelöst. 490 μ l (5,896 mmol) einer 40%igen Lösung von Hydroxylamin (**17**) in Wasser werden zur Lösung des oxidierten β -Cyclodextrins zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei RT gerührt, und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute: 650 mg (2,752 mmol, 98%)

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 149.4 (C-2, C-3), 94.7 (C-1), 80.5 (C-4), 73.8 (C-5), 60.8 (C-6).

Analyse ($\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{N}_{14}\text{O}_{35} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)_n: ber.: C: 35.95; H: 5.60; N: 13.98

gef.: C: 35.85; H: 5.96; N: 14.78

Darstellung von 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

1. Darstellung von 1,4-Dimethoxyterephthalaldehyd (36):^{[95][96]}

4,8 ml (1,2 mmol, 2,5 M in Hexan) n-BuLi werden unter Schutzgas bei einer Temperatur von -78°C zu einer Lösung von 1 g (3,3 mmol) 1,4-Dibrom-2,5-dimethoxybenzol (**35**) in 20 ml THF zugegeben. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 2 h gerührt. Dann werden weitere 20 ml THF sowie 3 ml DMF (39 mmol) zugegeben. Die Lösung wird eine weitere Stunde gerührt und anschließend mit 10 ml 3 N Salzsäure hydrolisiert.

Nun wird langsam auf RT erwärmt und es werden 50 ml Ethylacetat zugegeben. Im Folgenden wird 3 mal mit Wasser gewaschen, die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (PE:EE 2:1).

Ausbeute: 395 mg (2,03 mmol, 60%)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

$\delta = 10.5$ (2H, s, CHO), 7.5 (2H, s, H-3, H-6), 4.0 (6H, s, OCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

189.6 (2C, C{O}), 156.0 (2C, C-1, C-4), 129.4 (2C, C-2, C-5), 111.1 (2C, C-3, C-6), 56.3 (2C, O- CH_3).

2. Darstellung von 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34):^[97]

Zu einer Lösung von 1 g (5,15 mmol) 1,4-Dimethoxyterephthalaldehyd (**36**) in 50 ml trockenem DCM werden bei 0°C 3 ml (31,644 mmol) BBr_3 getropft. Die Farbe der Lösung schlägt von gelb nach dunkelrot um. Es wird eine Stunde bei 0°C und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Dann wird das Reaktionsgemisch auf 200 ml Eiswasser gegossen, die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird noch 2-mal mit 20 ml DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet und das

Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird anschließend an Kieselgel chromatographiert (PE:EE 1:1).

Ausbeute: 170 mg (1,03 mmol, 20%)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

$\delta = 12.63$ (2H, s, OH), 10.38 (2H, s, CH{O}), 7.63 (2H, s, H-3, H-6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

$\delta = 192.6$ (2C, C{O}), 167.3 (2C, C-2, C-5), 123.4 (2C, C-1, C-4), 118.6 (2C, C-3, C-6).

Darstellung von 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol^[98]

Eine Lösung aus 10 g (61,68 mmol) Phloroglucin (**38**), 70 ml TFA, und 19 g (135,62 mmol) HMTA werden bei ca. 120°C 24 h gerührt. Dann wird für 3 h auf ca. 150°C erhitzt und anschließend, nachdem das Gemisch auf 100°C abgekühlt ist, wird es mit 100 ml 3 N Salzsäure versetzt. Es wird 30 min bei 100°C gerührt und dann über Nacht auf RT abgekühlt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.
Ausbeute: 1,7 g (8,02 mmol, 13%)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

$\delta = 12.23$ (2H, s, OH), $10,27$ (2H, s, CH{O})

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

$\delta = 193.6$ (2C, C{O}), 180.1 (3C, C-2, C-4, C-6), 106.6 (3C, C-1, C-3, C-5).

Darstellung von Poly-[(1-methylenoxy1,1'-diyl--2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (47)

500 mg (3,38 mmol) oxidiertes Dextran werden in 5 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung werden 430 μ l (8,12 mmol) einer 32%igen Lösung von Ammoniak in Wasser zugegeben und 3h bei RT gerührt. Anschließend werden zu dieser Lösung 510 mg (13,51 mmol) NaBH₄ in Wasser gelöst und unter Eiskühlung zur Polymerlösung zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht gerührt und dann mit 2N Salzsäure neutralisiert. Zur Aufreinigung wird 2 d ultrafiltriert und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute: 235 mg (1,15 mmol, 34%)

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 103.8 (C-1), 94.6 (C-5), 70.8 (C-6), 64.9 (C-2), 45.4 (C-4).

Analyse (C₅H₁₄Cl₂N₂O₂*H₂O)_n:

ber.: C: 26.92; H: 7.23; N: 12.56

gef.: C: 27.39; H: 6.46; N: 9.20

3.2.5 Gelierungsversuche

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Bildung von Hydrogelen:

Die wässrigen Lösungen der Amino- bzw. Aminohydrochlorid-Komponente und der Aldehydkomponente werden unter Rühren bei RT gemischt. Findet nicht sofort eine Reaktion statt, so wird das Gemisch weitere 24 h gerührt.

Hydrogel aus Chitosan-Hydrochlorid (14) und oxidiertem Dextran

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

Chitosan-Hydrochlorid (14): 40 mg, 0,20 mmol in 1 ml H₂O

Es bildet sich sofort beim Mischen ein Gel.

Hydrogel aus Chitosan-Hydrochlorid (14) und oxidiertem Methyl- β -D-glucopyranosid (28)

Oxidiertes Methyl- β -D-glucopyranosid (28): 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O

Chitosan-Hydrochlorid (14): 40 mg, 0,20 mmol in 1 ml H₂O

Es bildet sich sofort beim Mischen ein Gel.

Hydrogel aus Chitosan-Hydrochlorid (14) und 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Chitosan-Hydrochlorid (14): 40 mg, 0,20 mmol in 1 ml H₂O

Nach ca. 5 min beginnt das Gemisch zu gelieren.

Gelierungsversuch von Chitosan-Hydrochlorid (14) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35): 40 mg, 0,19 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Chitosan-Hydrochlorid (14): 40 mg, 0,20 mmol in 1 ml H₂O

Sofort nach der Zugabe geliert die Lösung.

Gelierungsversuch von Chitosan-Hydrochlorid (14) mit oxidiertem β -Cyclodextrin

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O

Chitosan-Hydrochlorid (14): 40 mg, 0,20 mmol in 1 ml H₂O

Das Gemisch geliert sofort.

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)-Hydrochlorid (44)]

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)-Hydrochlorid (44): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Gel.

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit Polyallylamin-Hydrochlorid (49)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml H₂O

Es bildet sich sofort ein Gel.

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit Ethylendiamin (45)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Ethylendiamin (**45**): 100 mg, 1,66 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit 1,2-Diaminobenzol (46)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

1,2-Diaminobenzol (**46**): 100 mg, 0,923 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit 1,6-Diaminohexan (47)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

1,6-Diaminohexan (**47**): 100 mg, 0,86 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuch von oxidiertem Dextran mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuch von oxidiertem Dextran mit Polyallylamin (43)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Polyallylamin (**43**): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuch von oxidiertem Dextran mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin] (53)

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin] (**53**): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit Ethylendiamin-Hydrochlorid (57)

1. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Ethylendiamin-Hydrochlorid (**57**): 50 mg, 0,38 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

Ethylendiamin-Hydrochlorid (**57**): 100 mg, 0,75 mmol in 1 ml H₂O

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit 1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid (58)

1. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid (**58**): 50 mg, 0,28 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid (**58**): 100 mg, 0,55 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit 1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid (59)

1. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid (**59**): 50 mg, 0,26 mmol in 1 ml H₂O

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O

1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid (**59**): 100 mg, 0,53 mmol in 1 ml H₂O

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuche von oxidiertem Dextran mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)-β-cyclodextrin-Hydrochlorid (37)

1. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)-β-cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**): 50 mg, 0,25 mmol in 1 ml H₂O

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes Dextran: 100 mg, 0,68 mmol in 1 ml H₂O.

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)-β-cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (44)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (**44**): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Gel.

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Polyallylamin-Hydrochlorid (49)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Polyallylamin-Hydrochlorid (**49**): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml. H₂O.

Es bildet sich sofort ein Gel.

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Ethylendiamin (45)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O

Ethylendiamin (**45**): 100 mg, 1,66 mmol in 1 ml H₂O

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit 1,2-Diaminobenzol (46)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

1,2-Diaminobenzol (**46**): 100 mg, 0,93 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit 1,6-Diaminohexan (47)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

1,6-Diaminohexan (**47**): 100 mg, 0,86 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuch von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuch von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Polyallylamin (43)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Polyallylamin (**43**): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuch von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (53)

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (**53**): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Ethylendiamin-Hydrochlorid (57)

1. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Ethylendiamin-Hydrochlorid (**57**): 50 mg, 0,38 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Ethylendiamin-Hydrochlorid (**57**): 100 mg, 0,75 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit 1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid (58)

1. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid (**58**): 50 mg, 0,28 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid (**58**): 100 mg, 0,55 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuche von oxidiertem β -Cyclodextrin mit 1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid (59)

1. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid (**59**): 50 mg, 0,26 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid (**59**): 100 mg, 0,53 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuch von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37)

1. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**): 50 mg, 0,25 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

2. Versuch:

oxidiertes β -Cyclodextrin: 100 mg, 0,56 mmol in 1 ml H₂O.

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48**) mit Formaldehyd**

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

Formaldehyd: 100 mg (3,33 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48**) mit Glyoxal (**25**)**

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

Glyoxal (**25**): 100 mg (1,72 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48**) mit Glutaraldehyd (**2**)**

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

Glutaraldehyd (**2**): 100 mg (1 mmol) in 1 ml H₂O

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48) mit 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (**34**): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (48) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin (**48**): 100 mg, 0,62 mmol in 1 ml H₂O.

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (**35**): 40 mg, 0,190 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37) mit Formaldehyd

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

Formaldehyd: 100 mg (3,33 mmol) in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37) mit Glyoxal (25)

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (**37**): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

Glyoxal (**25**): 100 mg (1,72 mmol) in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37) mit Glutaraldehyd (2)

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

Glutaraldehyd (2): 100 mg (1 mmol) in 1 ml H₂O.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37) mit 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Keine Gelbildung, klare Lösung

Gelierungsversuch von Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid (37): 100 mg, 0,51 mmol in 1 ml H₂O.

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35): 40 mg, 0,19 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Keine Gelbildung, klare Lösung.

Gelierungsversuch von Polyallylamin (43) mit Formaldehyd

Polyallylamin (43): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O.

Formaldehyd: 100 mg (3,33 mmol) in 1 ml H₂O

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Polyallylamin (43) mit Glyoxal (25)

Polyallylamin (43): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O.

Glyoxal (25): 100 mg (1,72 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Polyallylamin (43) mit Glutaraldehyd (2)

Polyallylamin (43): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O.

Glutaraldehyd (2): 100 mg (1 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Polyallylamin (43) mit 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

Polyallylamin (43): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O.

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Polyallylamin (43) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Polyallylamin (43): 100 mg, 0,88 mmol in 1 ml H₂O.

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35): 40 mg, 0,19 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Polyallylamin-Hydrochlorid (49) mit Formaldehyd

Polyallylamin-Hydrochlorid (49): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml H₂O.

Formaldehyd: 100 mg (3,330 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Polyallylamin-Hydrochlorid (49) mit Glyoxal (25)

Polyallylamin-Hydrochlorid (49): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml H₂O.

Glyoxal (25): 100 mg (1,72 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Polyallylamin-Hydrochlorid (49) mit Glutaraldehyd (2)

Polyallylamin-Hydrochlorid (49): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml H₂O.

Glutaraldehyd (2): 100 mg (1 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Polyallylamin-Hydrochlorid (49) mit 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

Polyallylamin-Hydrochlorid (49): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml H₂O.

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Polyallylamin-Hydrochlorid (49) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Polyallylamin-Hydrochlorid (49): 100 mg, 0,54 mmol in 1 ml H₂O.

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35): 40 mg, 0,19 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Es bildet sich sofort ein Hydrogel.

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (53) mit Formaldehyd

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)](50): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

Formaldehyd: 100 mg (3,33 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50) mit Glyoxal (25)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

Glyoxal (25): 100 mg (1,72 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50) mit Glutaraldehyd (2)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

Glutaraldehyd (2): 100 mg (1 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50) mit 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50): 100 mg, 0,76 mmol in 1 ml H₂O.

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35): 40 mg, 0,19 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Es bildet sich ein Feststoff.

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (44) mit Formaldehyd

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (**44**): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

Formaldehyd: 100 mg (3,33 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (44) mit Glyoxal (25)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (**44**): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

Glyoxal (**25**): 100 mg (1,72 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (44) mit Glutaraldehyd (2)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (**44**): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

Glutaraldehyd (**2**): 100 mg (1 mmol) in 1 ml H₂O.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (44) mit 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (34)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]-Hydrochlorid (**44**): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd (**34**): 170 mg, 1,03 mmol in 1 ml H₂O. Die Suspension wird am Rückfluss kurz auf 100°C erhitzt, dann wird heiß filtriert und auf RT abgekühlt.

Es bildet sich sofort ein Hydrogel

Gelierungsversuch von Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)-Hydrochlorid (44) mit 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35)

Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)-Hydrochlorid (44): 100 mg, 0,49 mmol in 1 ml H₂O.

1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol (35): 40 mg, 0,19 mmol in 1 ml H₂O werden kurz erhitzt. So erhält man eine klare Lösung

Es bildet sich sofort ein Hydrogel.

3.2.6 Zu Kapitel 2.5

Spektroskopische Untersuchung des Gels aus oxidiertem Dextran und Chitosan-Hydrochlorid (14)

Das Gel wird in flüssigem Stickstoff eingefroren und anschließend lyophilisiert.

¹³C-Festkörper-NMR:

δ = 174.6 (N-C{O}CH₃, 14), 96.5 (C-1, 14), 91.7 (C-1, C-2, 4), 86.8 (C-4, 4), 75.0 (C-3, C-4, C-5, 14), 71.1 (C-5, C-6, 4), 62.0 (C-6, 14), 57.0 (C-2, 4), 23.9 (N-C{O}CH₃, 14).

¹H-Suspensionspektrum (Signale können nicht eindeutig zugeordnet werden):

δ = 9.49, 6.14, 5.89, 5.88, 5.55, 5.31, 5.29, 5.27, 5.09, 5.08, 5.03, 4.91, 4.89, 4.18, 4.16, 4.12, 4.00.

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Chitosan (36)

1. Darstellung einer wässrigen Lösung von 39:

500 mg (2,53 mmol) Chitosan-Hydrochlorid (14) werden in 50 ml Wasser gelöst. Außerdem wird eine Lösung von 350 mg (2,53 mmol) K₂CO₃ in 10 ml Wasser hergestellt. Diese Lösung wird in jeweils 500 μ l Schritten über 3 Tage zur Polymerlösung zugegeben. So gelingt es, dass Chitosan (36) entsteht, aber nicht aus der Lösung ausfällt.

2. Umsetzung des oxidierten Dextrans mit Chitosan (36):

Zu dieser Lösung werden dann 3,75 ml einer 10%igen wässrigen Lösung von oxidiertem Dextran (2,53 mmol) zugegeben. Sofort nach der Zugabe bildet sich ein wasserunlöslicher Schleim. Es wird noch 2 weitere Stunden bei RT gerührt. Anschließend wird der Schleim abfiltriert, mit Wasser gewaschen und der Rückstand lyophilisiert.

Ausbeute: quantitativ, 875 mg.

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 164.2 (C{N} (4)), 95.1 (C-1 (39), C-1 (4)), 71.4 (5C, C-3 (39) C-4 (39), C-5 (39), C-5 (4), C-6 (39)), 62.8 (C-2 (4), C-6 (39)).

Umsetzung von Chitosan-Hydrochlorid (14) mit Salicylaldehyd (51)**1. Ansatz:**

500 mg (2,53 mmol) Chitosan-Hydrochlorid (14) werden in 25 ml Wasser gelöst. Anschließend werden zu dieser Lösung 530 μ l (5,06 mmol) Salicylaldehyd (54) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 5 min bei RT gerührt und anschließend 2 d ultrafiltriert und lyophilisiert.

Laut NMR-Spektren fand keine Reaktion statt.

2. Ansatz:

Analog 1. Ansatz.

Lediglich die Reaktionszeit wurde von 5 min auf 24 h erhöht.

Ausbeute: 662 mg (2,50 mmol, 98,7%)

¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum:

δ = 170.3 (C{N}), 160.4 (C-2 Aromat), 132.6 (2C, C-4 Aromat, C-6 Aromat), 118.6 (C-3 Aromat), 104.6 (C-1), 83.2 (C-4), 74.6 (3C, C-3, C-4, C-5), 61.6 (C-2).

Ausbeute: 200 mg, quantitativ

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

$\delta = 91.2$ (C-1, C-3, C-4), 73.6 (C-2, C-5, C-6), 40.6 (CH-CH₂-CH), 35.4 (CH-CH₂-CH).

Reaktion des oxidierten β -Cyclodextrins mit Polyallylamin (43)

Ansatz erfolgt analog dem Gelierungsversuch von oxidiertem β -Cyclodextrin mit Polyallylamin (**43**), Reaktionszeit: 24 h.

Anschließend wird der Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 200 mg, quantitativ

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

$\delta = 165.1$ (C-3, C-4), 103.1 (C-1), 72.0 (C-2, C-5, C-6, CH-CH₂-N), 40.6 (CH-CH₂-CH), 34.8 (CH-CH₂-CH).

Reaktion des oxidierten Dextrans mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (44)

Ansatz erfolgt analog Gelierungsversuch von oxidiertem Dextran mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid (**44**), Reaktionszeit: 24 h.

Das Hydrogel wird lyophilisiert.

Ausbeute: 200 mg, quantitativ

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

$\delta = 92.2$ (C-1, C-2, C-4), 70.9 (C-5, C-6), 45.3 (C-NH₂).

Reaktion des oxidierten β -Cyclodextrins mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (50)]

Ansatz erfolgt analog Gelierungsversuch von oxidiertem Dextran mit Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin) (**50**), Reaktionszeit: 24 h.

Anschließend wird der Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 200 mg, quantitativ

^{13}C -Festkörper-NMR-Spektrum:

$\delta = 169.2$ (C-2, C-4), 101.8 (C-1), 73.0 (C-5, C-6, CH-CH₂-N), 49.6 (C-NH₂)

4. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Dextrane unterschiedlichen Molekulargewichts (6, 60, 200 und 500 kD) mit Natriumperodat oxidiert, wobei die Ausbeuten bei den Dextranen mit 60 - 500 kD bei über 80% lagen, beim Dextran mit 6 kD aufgrund der Aufarbeitung bei 43%.

Die Struktur der oxidierten Dextrane wurde NMR-spektroskopisch untersucht. Es zeigte sich, dass die Monomerbausteine des oxidierten Dextrans im reinen Zustand und in DMSO gelöst in einer cyclischen Halbacetalform vorliegen.

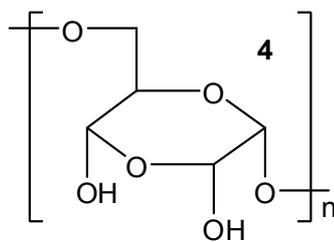
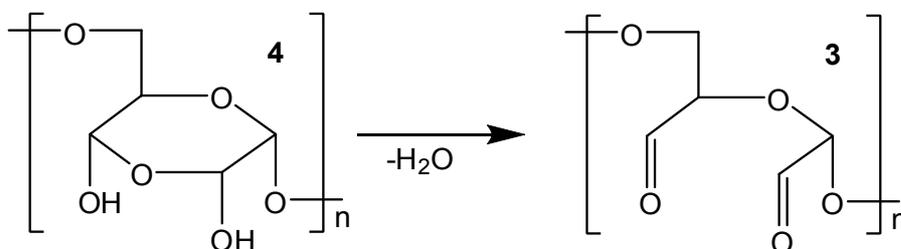


Abbildung 29 Cyclische Halbacetalform des oxidierten Dextrans (**4**)

In Wasser kann sich dieses Halbacetal **4** öffnen, so dass das oxidierte Dextran dann in verschiedenen hydratisierten und unhydratisierten Formen vorliegt.

Die Halbacetalform in Abb. 40 wurde direkt nach der Oxidation in Wasser aus den zwei Aldehydfunktionen und einem Molekül Wasser gebildet. Dieses Wasser konnte auch durch Erhitzen auf 100°C im Vakuum und durch Rühren in DMSO mit Molsieb nicht entfernt werden um so zur Dialdehydform **3** zu kommen.



Schema 32 Cyclische Halbacetal- (**4**) und Dialdehydform (**3**) des oxidierten Dextrans

Die unterschiedlichen hydratisierten Formen des oxidierten Dextrans, welche in Wasser vorliegen, beginnen sich ab einem Wassergehalt von 20% in DMSO zu bilden. Dies konnte NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden.

Des Weiteren wurde gezeigt, dass die Polymerketten des Dextrans während der Periodatspaltung hydrolisiert werden. Die Masse des aus dem Dextran mit einer Molekularmasse von 6 kD hergestellten oxidierten Dextrans konnte mittels Maldi TOF Spektrometrie bestimmt werden, sie betrug 1,5 kD.

Das Reaktionsverhalten des oxidierten Dextrans wurde sowohl in Wasser als auch in DMSO untersucht. Diese Untersuchungen machten deutlich, dass das oxidierte Dextran sowohl als Alkohol (Veresterung der Alkoholfunktionen) als auch als Aldehyd reagiert. Das Lösungsmittel hat keinen Einfluss auf das Reaktionsverhalten. Mit Verbindungen wie z.B. Propylamin, Anilin und 2,4-Dinitrophenylhydrazin reagiert das oxidierte Dextran zu Polymorpholinderivaten. Mit Hydroxylamin bildet das oxidierte Dextran Oxime und mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin geht das oxidierte Dextran Iminbindungen ein.

Die Stabilität des oxidierten Dextrans in wässriger Lösung wurde untersucht. Wenn das oxidierte Dextran sich zersetzt, so entsteht Glyoxal als eines der Zersetzungsprodukte. Aus diesem Grund wurde Glyoxal quantitativ durch die Derivatisierung mit O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)hydroxylamin mittels GC/MS bestimmt. Der Glyoxalgehalt einer frisch hergestellten 10%igen Lösung entspricht $15 \cdot 10^{-6}$ g Glyoxal pro g oxidiertes Dextran. Die 10%ige wässrige Lösungen des oxidierten Dextrans wurden unter verschiedenen Bedingungen ein halbes Jahr gelagert. Der höchste Glyoxalgehalt wurde für die Lagerung an Licht bei Raumtemperatur mit $1002 \cdot 10^{-6}$ g Glyoxal pro g oxidiertes Dextran gemessen.

Weiterhin wurden Hydrogele, bestehend aus einer Aldehyd und einer Aminokomponente, entwickelt und untersucht. Als Aldehydkomponenten dienten oxidiertes Dextran, Glyoxal, Glutaraldehyd, Formaldehyd, 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd, 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol, oxidiertes Methyl- α -D-glucopyranosid und oxidiertes β -Cyclodextrin. Vom oxidierten β -Cyclodextrin wurde wie beim oxidierten Dextran das Reaktionsverhalten

untersucht. Es zeigte sich, dass das oxidierte β -Cyclodextrin wie das oxidierte Dextran cyclische Halbacetale bildet.

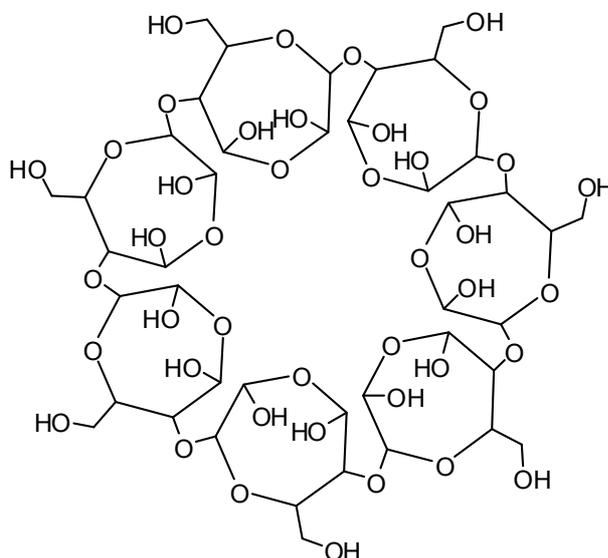


Abbildung 30 oxidiertes β -Cyclodextrin

Untersuchungen zum Reaktionsverhalten des oxidierten β -Cyclodextrins zeigten, dass das oxidierte β -Cyclodextrin wie das oxidierte Dextran mit Hydroxylamin Oxime bildet und mit Anilin ein Heptaoxazepanderivat.

Als Aminokomponente zur Bildung von Hydrogelen aus einer Amino- und einer Aldehydkomponente wurden Chitosan-Hydrochlorid, Polyallylamin-Hydrochlorid, Poly-[1-methylenoxy-2,2'-oxydiethanamin-1'-yl]-Hydrochlorid, Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid, Ethylendiamin-Hydrochlorid, 1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid und 1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid verwendet. Tabelle 6 zeigt die erfolgreichen Gelierungsversuche.

Tabelle 8 Übersicht der Untersuchungen zur Bildung von Hydrogelen.

	Chitosan*	Polyallylamin*	Polyamin*	Heptaamin*	Ethylen-Diamin*	1,6-Diaminohexan*	1,2-Diaminobenzol
Oxidiertes Dextran	+	+	+	-	-	-	-
Oxidiertes β -Cyclodextrin	+++	+	+	-	-	-	-
Formaldehyd	+++	+	+	-			
Glyoxal	+++	+	+	-			
Glutaraldehyd	+++	+	+	-			
1,3,5-Ttriformyl-2,4,6-trihydroxybenzol	+	+	+	-			
Oxidiertes Methyl- α -D-glucoryranosid	+						

+ entspricht Gelbildung

- entspricht keine Gelbildung

* Amine lagen als Hydrochloride vor.

** literaturbekannt

Aus den Gelierungsversuche und den Untersuchung der gebildeten Hydrogele zeigten, dass Hydrogele nur gebildet wurden wenn die Aminokomponente polymer sein mussten um Hydrogele zu bilden. Außerdem wurden zudem nur Hydrogele gebildet, wenn die Aminfunktionen der Aminokomponente als Hydrochloride vorlagen. Bei der Verwendung von freien polymeren Aminen wurden wasserunlösliche Feststoffe anstatt Hydrogele gebildet. Mit Hilfe NMR-

spektroskopischer Untersuchungen der Hydrogele konnten im Gegensatz zu den gebildeten Feststoffen aus freien polymeren Aminokomponenten und Aldehydkomponenten keine kovalenten Bindungen zwischen den Aldehydkomponenten und dem polymeren Aminohydrochloridkomponenten nachgewiesen werden.

Durch Erwärmung auf 100°C konnten die Hydrogele verflüssigt werden, nachdem die Gele abgekühlt konnte keine erneute Gelbildung beobachtet werden. Aus diesen Beobachtungen wurde geschlossen, dass die Bildung eines Hydrogels aus einer Aminhydrochloridkomponente und einer Aldehydkomponente nicht durch die Bildung von kovalenten Bindungen, sondern durch die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Aldehyd- und den Aminohydrochloridfunktionen verursacht wird.

5. Bezifferung der Verbindungen

- 1 Dextran
- 2 Glutaraldehyd
- 3 Poly-(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiacetaldehyd)
- 4 Poly-(2,6-dihydroxy-5-methylenoxy-3,5-diyl-1,4-dioxan)
- 5 Poly-(1-methylenoxyl-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanol)
- 6 n-Propylamin
- 7 Methylamin
- 8 Furfurylamin
- 9 3-Aminophenol
- 10 Poly-{{[3,5-dihydroxy-4-(3-hydroxyphenyl)-6-methylenoxy-2,6-diyl]-morpholin}}
- 11 Anilin
- 12 Poly-{{[3,5-dihydroxy-4-phenyl-6-methylenoxy-2,6-diyl]-morpholin}}
- 13 Glucosamin-Hydrochlorid
- 14 Chitosan-Hydrochlorid
- 15 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucosamin
- 16 Poly-{{[N,N-di-(2-desoxy-1,3,4,6-tetraacetyl- β -D-glucopyranosid)-1-methylenoxy-1,1'-diyl]2,2'-oxydiethanimin}}
- 17 Hydroxylamin
- 18 Poly-{{2-[(2-hydroxyimino)-1-methylenoxy-ethoxy-1,2-diyl]-acetaldehyd-oxim}}
- 19 Poly-[1-methylenoxyl-2,2'-1,1'-diyl-oxydiethanimin]
- 20 Poly-[1-methylenoxyl-2,2'-1,1'-diyl-oxydiethenamin]
- 21 2,4-Dinitrophenylhydrazin
- 22 Poly-{{[3,5-dihydroxy-4-(3,5-dinitrophenylamino)-6-methylenoxyl-2,6-diyl]-morpholin}}
- 23 Perfluorphenyl-2-{{[(9H-fluoren-9-yl)methoxy]carbonylamino}acetat

-
- 24 Poly-[[bis-2,6-(2-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)acetat)-5-methylenoxy-3,5-diyl]-1,4-dioxan}
- 25 Glyoxal
- 26 O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)hydroxylamin
- 27 trans-Glyoxal-O,O-di(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl)-dioxim
- 27a cis-Glyoxal-O,O-di(2,3,4,5,6-pentafluorbenzyl)-dioxim
- 28 3-(Hydroxymethyl)-5-methoxy-1,4-dioxan-2,6-diol
- 29 β -Cyclodextrin
- 30 Heptakis-cyclo-[(2,7-dihydroxy-5-hydroxymethyl-1-oxy-1,3-diyl)-1,4-dioxepan]
- 31 5,10,15,20,25,30,35-Heptakis(hydroxymethyl)-1,3,6,8,11,13,16,18,21,23,26,28,31,33-tetradecaoxacyclopentatriacontan-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34-tetradecacarbalddehyd
- 32 Heptakis-cyclo-[(3,5-dihydroxy-7-hydroxymethyl-2-oxy-4-phenyl-2,5-diyl)-1,4-oxazepan]
- 33 2,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34-tridecakis[(hydroxyimino)methyl]-5,10,15,20,25,30,35-heptakis(hydroxymethyl)-1,3,6,8,11,13,16,18,21,23,26,28,31,33-tetradecaoxacyclopentatriacontan-4-carbalddehyd-oxim
- 34 2,5-Dihydroxyterephthalaldehyd
- 35 1,3,5-Triformyl-2,4,6-trihydroxybenzol
- 36 Chitosan
- 37 Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin-Hydrochlorid
- 38 4-(Bromomethylen)-morpholiniumbromid
- 39 N-Formylmorpholin
- 40 Oxalylbromid
- 41 Heptakis-(6-bromo-6-desoxy)- β -cyclodextrin
- 42 Heptakis-(6-azido-6-desoxy)- β -cyclodextrin
- 43 Polyallylamin
- 44 Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin]-Hydrochlorid

- 45 Ethylendiamin
- 46 1,2-Diaminobenzol
- 47 1,6-Diaminohexan
- 48 Heptakis-(6-amino-6-desoxy)- β -cyclodextrin
- 49 Polyallylamin-Hydrochlorid
- 50 Poly-[(1-methylenoxy-1,1'-diyl-2,2'-oxydiethanamin)]
- 51 Salicylaldehyd
- 52 N-(2-Hydroxy-benzyliden)chitosan
- 53 Poly-[(3,5-dihydroxy-6-methylenoxy-4-propyl-2,6-diyl)-morpholin]
- 54 Poly-[(3,5-dihydroxy-6-methylenoxyl-4-methyl-2,6-diyl)-morpholin]
- 55 Poly-[(3,5-dihydroxy-4-(furan-2-yl-methyl)-6-methylenoxy-2,6-diyl)-morpholin]
- 56 Poly-[(2,6-diacetat-5-methylenoxyl-3,5-diyl)-1,4-dioxan]
- 57 Ethylendiamin-Hydrochlorid
- 58 1,2-Diaminobenzol-Hydrochlorid
- 59 1,6-Diaminohexan-Hydrochlorid

6. Literatur

- [1] C. T. Vogelson, *Modern Drug Discovery*, **2001**, 4(4), 49.
- [2] K. I. Shingel, *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 1445.
- [3] C. Taylor; N. W. H. Cheetham; G. J. Walker, *Carbohydr. Res.*, **1985**, 137, 1.
- [4] L. Pasteur, *Bull. Soc. Chim.*, **1861**, 30
- [5] P. Van Tieghem, *Ann. Sci. Nature Bot Biol. Veg.*, **1878**, 7, 180.
- [6] Th. Heinze; T. Liebert; B. Heublein; S. Hornig, *Adv. Polym. Sci.*, **2006**, 205, 199.
- [7] E.J. Vandamme; G. Bruggeman; S. DeBaets; P.T. Vanhooren, *Agro-Food-Ind. Hi-Tech*, **1996**, 7(5), 21.
- [8] L. Malaprade, *Bull. Soc. Chim.*, **1928**, 43, 683.
- [9] R. Criegee, *Chem. Ber.*, **1931**, 64B, 260.
- [10] R. Criegee, L. Kraft, B. Rank, *Liebigs Ann.*, **1933**, 507, 159.
- [11] R. Criegee, *Angew. Chem.*, **1940**, 53, 321.
- [12] J. W. Sloan; B.H. Alexander; R.L. Lohmar; I.A. Wolff; C. E. Rist, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 4429.
- [13] C. Rankin; A. Jeanes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 4435.
- [14] R. J. Dimler; I. A. Wolff; J. W. Sloan; C. E. Rist, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 6568.
- [15] A. Jeanes; C. A. Wilham, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 2655.
- [16] S. Tiziani; F. Sussich; A. Cesàro, *Carbohydr. Res.*, **2003**, 338, 1083.
- [17] S. Ahmad; R. F. Tester; A. Corbett; J. Karkalas, *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 2694.
- [18] J. W. Rowen; F. H. Forziati; R. E. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 4484.
- [19] S. N. Drobchenko; L. S. Isaeva-Ivanova; A. R. Kleiner; A. V. Lomakin; A. R. Kolker; V. A. Noskin, *Carbohydr. Res.*, **1993**, 241, 189.

-
- [20] S. N. Drobchenko; L. S. Isaeva-Ivanova; A. R. Kleiner; E. V. Eneyskaya, *Carbohydr. Res.*, **1996**, 171.
- [21] E. V. Novikova; E. V. Tishchenko; A. A. Iozep; B. V. Passet, *Russian J. Appl. Chem.* **2002**, 75, 985.
- [22] M. F. Ishak; T. J. Painter, *Carbohydr. Res.*, **1978**, 64, 189.
- [23] T. Heidelberg; J. Thiem, *J. prakt. Chem.*, **1998**, 340, 223.
- [24] I. Perl-Molnar; L. Maros, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **1968**, 55(4), 373.
- [25] J. W. Rowen; F. H. Forzati; R. E. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 4484.
- [26] S. Akiya; S. Okui; S. Suzuki, *J. Pharm. Soc. Japan*, **1952**, 72, 785.
- [27] C. D. Hurd; P. J. Baker jr.; R. P. Holysz; W. A. Sanders jr., *J. Org. Chem.*, **1953**, 18, 186.
- [28] I. J. Goldstein; B. A. Lewis; F. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 939.
- [29] I. J. Goldstein; B. A. Lewis; F. Smith, *Chem. and Ind.*, **1958**, 595.
- [30] R. D. Guthrie; J. Honeyman, *Chem. and Ind.*, **1958**, 388.
- [31] M. Guernet; A. J. Soler; P. Malangeau, *Bull. Soc. Chim.*, **1963**, 1188.
- [32] S. Hirano; T. Fukuda; M. Sato, *Agr. Biol. Chem.*, **1974**, 38(12), 2539.
- [33] G. Hughes; T. P. Nevell, *J. Org. Chem.*, **1947**, 941.
- [34] R. D. Guthrie; J. F. McCarthy, *J. Chem. Soc.*, **1967**, 62.
- [35] E. F. Garner; I. J. Goldstein; R. Montgomery; F. Smith, *J. Org. Chem.*, **1957**, 80, 1206.
- [36] E. B. Whipple; M. Ruta, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39(12), 1666.
- [37] E. B. Reid; J. R. Siegel, *J. Org. Chem.*, **1954**, 520.
- [38] C. Giachetti; G. Zanolio; A. Assandri; P. Poletti, *Biomed. Environ. Mass. Spectrom.*, **1989**, 18, 592.
- [39] R. Lubig; P. Kusch; K. Röper; H. Zahn, *Monatsh. Chemie*, **1981**, 112, 1313.
- [40] J. Kawahara; K. Ishikawa; T. Uchimarui; H. Takaya, *Polym. Mod.*, **1997**, 119.
- [41] A. P. Henderson; C. Bleasdale; W. Clegg; B. T. Golding, *Chem. Res. Toxicol.*, **2004**, 17, 378.

-
- [42] Watanabe; S. Chul Shim; T. Mitsudo; M. Yameshita; Y. Takegami, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **1976**, 49(8), 2302.
- [43] G. Verardo; A. G. Giumanini; G. Favret; P. Strazzolini, *Synthesis*, **1991**, 447.
- [44] R. W. Layer, *Chem. Rev.*, **1963**, 63, 489.
- [45] R. D. Guthrie, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1961**, 16, 105.
- [46] R. D. Guthrie; J. F. McCarthy; *J. Chem. Soc.*, **1967**, 62.
- [47] A. Medgyes; E. Farkas; A. Liptak; V. Pozsgay, *Tetrahedron*, **1997**, 53(12), 4159.
- [48] M. Bergmann; L. Zervas, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1931**, 64, 975.
- [49] H. A. Iddles, C. E. Jackson, *Ind. Engng. Chem. Analyt. Edit.*, **1935**, 6, 454
- [50] Y.-N. Lee; X. Zhou, *Environ. Sci. Technol.*, **1993**, 27, 749.
- [51] D. E. Blanford; P. R. Desjardins, *Clinic. Biochem.*, **1994**, 27(1), 25.
- [52] F. Niyati-Shirkhodaee; T. Shibamoto, *J. Agric. Food Chem.*, **1993**, 41, 227.
- [53] P. Moree-Testa; Y. Saint-Jalm, *J. Chromatogr.*, **1981**, 217, 197.
- [54] T. Nishiyama; Y. Hagiwara; H. Hagiwara; T. Shibamoto, *Food Chem. Toxicol.*, **1994**, 32(11), 1047.
- [55] T. Gabrio; A. Bertsch, *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1046, 293.
- [56] M.-I. Bao; F. Pantani; O. Griffini; D. Burrini; D. Santianni; K. Barbieri, *L. Chromatogr. A*, **1998**, 809, 75.
- [57] E. H. Schacht, *J. of Phys.: Conf. Ser.*, **2004**, 3, 22.
- [58] K. V. H. Prashanth; R. N. Tharanathan, *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 169.
- [59] J. M. Rosiak; F. Yosshii, *Nucl. Instr. and Meth. In Phys. Res.*, **1999**, B 151, 56.
- [60] L. A. Estroff; A. D. Hamilton, *Chem. Rev.*, **2004**, 104(3), 1201.
- [61] N. Kashiap; N. Kumar; M. N. V. R. Kumar, *Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst.*, **2005**, 22(2), 107.
- [62] T. Coviello; P. Matricardi; F. Alhaique, *Expert Opinion on Drug Del.*, **2006**, 3(3), 395.

- [63] E. Hurwitz; R. Kashi; R. Arnon; M. Wilchek; M. Sela, *J. Med. Chem.*, **1985**, 28, 137.
- [64] T. Coviello; P. Matricardi; C. Marianecchi; F. Alhaique, *J. Control. Rel.*, **2007**, 119(1), 5.
- [65] B. H. Fella; P. Weiss; O. Gauthier; T. Rouillon; P. Pilet; G. Daculsi; P. Layrolle, *J. Orthopaed. Res.*, **2006**, 628.
- [66] Z. Yang; G. Liang; M. Ma; A. S. Abah; W. W. Lu; B. Xu, *Chem. Commun.*, **2007**, 843.
- [67] Y. Hong; Z. Mao; H. Wang; C. Gao; J. Shen, *J. Biomed. Mat. Res. Part 1*, **2006**, 913.
- [68] E. Schacht; B. Bogdanov; A. Van Den Bulcke; N. De Rooze, *Reactive & Functional Polymers*, **1997**, 33, 109.
- [69] C. Yu; T. Hui-min, *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 887.
- [70] H. Iwata; S. Matsuda; K. Mitsuhashi; E. Itoh; Y. Ikada, *Biomaterials*, **1998**, 19, 1869.
- [71] K. M. Gattas-Asfura; E. Weismann; F. M. Andreopoulos; M. Micic; B. Muller; S. Sirpal; S. M. Pham; R. M. Leblanc, *Biomacromolecules*, **2005**, 6, 1503.
- [72] M. Xin; M. Li; K. Yao, *Macromol. Symp*, **2003**, 200, 191.
- [73] V. Crescenzi; G. Paradossi; P. Desideri; M. Dentini; F. Cavalieri; E. Amici; R. Lisi, *Polymer gels and Networks*, **1997**, 5, 225.
- [74] C. Bao; R. Lu; M. Jin; P. Xue; C. Tan; Y. Zhao; G. Liu, *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 1311.
- [75] H. Goldmann; J. Wegmann, *PCT Int. Appl.*, **2003**, 40 pp.
- [76] J.-P. Draye; B. Delaey; A. Van de Voorde; A. Van Den Bulcke; B. De Reu; E. Schacht, *Biomaterials*, **1998**, 19, 1677.
- [77] X. Mo; H. Iwata; S. Matsuda; Y. Ikada, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.*, **2000**, 11, 341.
- [78] O. B. Suvorova; A. A. Iozep; B. V. Passet, *Russ. J. Appl. Chem.*, **2001**, 74(6), 1016.
- [79] P. Monsan; G. Puzo; H. Mazarguil, *Biochimie*, **1975**, 57, 1281.

-
- [80] S. Branner-Jorgensen, *Enzym Eng.*, **1978**, 4, 393.
- [81] F. Schardinger, *Z. Untersuch. Nahr. u. Genussm.*, **1903**, 6, 865.
- [82] K. Freudenberg; R. Jacobi, *Ann.*, **1935**, 518, 102.
- [83] D. French; R. E. Rundle, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, 64, 1651.
- [84] D. French; D. W. Knapp; J. H. Pazur, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 5150.
- [85] A. O. Pulley; D. French, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1961**, 5(1), 11.
- [86] G. Paradossi; F. Cavalieri; V. Crescenzi, *Carbohydr. Res.*, **1997**, 300, 77.
- [87] R. L. Colbran; R. D. Guthrie; M. A. Parsons, *J. Org. Chem.*, **1960**, 3532.
- [88] R. D. Guthrie; J. Honeyman, *J. Org. Chem.*, **1959**, 2441.
- [89] R. D. Guthrie; J. Honeyman; M. A. Parsons, *J. Org. Chem.*, **1959**, 2449.
- [90] M. Kobayashi; T. Urayama; I. Suzawa; S. Tagaki; K. Mazuda; E. Ichishima, *Agric. Biol. Chem.*, **1988**, 52(11), 2695.
- [91] M. Kobayashi; I. Suzawa; E. Ichishima, *Agric. Biol. Chem.*, **1990**, 54(7), 1507.
- [92] S. Immel; T. Nakawasa; H. J. Lindner; F. W. Lichtenthaler, *Chem. Eur. J.*, **2000**, 6, 18, 3366.
- [93] D. French; R. L. McIntire, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 5148.
- [94] N Kuhnert; G. M. Rossignolo; A. Lopez-Periago, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, 1, 1157.
- [95] D. E. Burton; K. Clarke; G. W. Gray, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 438.
- [96] M. Sauer; C. Yeung; J. H. Chong; B. O. Patrick; M. J. MacLachlan, *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 775.
- [97] J. H. Chong; M. Sauer; B. O. Patrick; M. O. Patrick; M. J. MacLachlan, *Org. Lett.*, **2003**, 5(21), 3823.
- [98] A. A. Anderson; T. Goetzen; S. A. Shackelford; S. Tsank, *Synth. Com.*, **2000**, 30(17), 3227.
- [99] J.-K. F. Suh; H.W.T. Matthew, *Biomaterials*, **2000**, 21, 2589.

-
- [100] R. N. Tharanathan; F. S. Kittur, *Critical Reviews in Food and Nutrition*, **2003**, 43(1), 61.
- [101] Z. Jia; D. Shen; W. Xu, *Carbohydr. Res.*, **2001**, 333, 1.
- [102] L. Qi; Z. Xu; X. Jiang; C. Hu; X. Zou, *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 2693.
- [103] J. K. Dutkiewicz, *J. Biomed. Mater. Res.*, **2002**, 63(3), 373.
- [104] J. L. Nauss; J. L. Thompson; L. Nagyvary, *Lipids*, **1983**, 18(10), 714.
- [105] E. Onsoyen; O. Skaugrud, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **1990**, 49, 395.
- [106] S. Hirano; H. Tsuchida; N. Nagao, *Biomaterials*, **1989**, 10(8), 574.
- [107] S. Hirano, *Biotechnol. Annu. Rev.* 2, **1996**, 237.
- [108] D. R. Hepburn; H. R. Hudson, *J. Chem. Soc.*, **1976**, 754.
- [109] K. Chmurski; J. Defaye, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38(42), 7365.
- [110] B. I. Gorin; R. J. Riopelle; G. R. J. Thatcher, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37(27), 4647.
- [111] A. Lertworasirikul; K. Noguchi; K. Ogawa; K. Okuyama, *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 835.
- [112] R. C. Laible, *Chem. Rev.*, **1958**, 58, 807.
- [113] M. N. Masterova; L. I. Andreeva; V. P. Zubov; L. S. Polak; V. A. Kabanov, *Vysokomol. Soedin., Ser. A.*, **1976**, 18, 1957.
- [114] S. Harada; S. Hasegawa, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **1984**, 5, 27.
- [115] S. E. Burke; C. J. Barrett, *Biomacromolecules*, **2005**, 6, 1419.
- [116] E. Carretti; L. Dei; P. Baglioni; R. G. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 5121.
- [117] A. V. Panfilov; Y. D. Markovich; I. P. Ivashev; A. A. Zhirov; A. F. Eleev; V.
- [118] K. C. Gupta; F. H. Jabrail, *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 744.
- [119] M. Kawase; N. Michibayashi; Y. Nakashima; N. Kurikawa; K. Yagi; T. Mizoguchi, *Biol. Pharm. Bull.*, **1997**, 20(6), 708.
- [120] X. Wu; L. Black; G. Santacana-Laffitte; C. W. Patrick, Jr., *J. Biomed. Mat. Res. Part A*, **2006**, 59.
- [121] O. A. C. Monteiro Jr.; C. Airolido, *Int. J. Biol. Macromol.*, **1999**, 26, 119.
- [122] G. A. F. Roberts; K. E. Taylor, *Makromol. Chem.*, **1989**, 190, 951.

-
- [123] B. Sreenivasa Rao; K. V. Ramana Murthy, *Drug Developm. Indust. Pharm*, **2000**, 26(10), 1085.
- [124] S. Hirano; R. Yamaguchi; N. Matsuda; O. Miura; Y. Kondo, *Agric. Biol. Chem.*, **1977**, 41(8), 1547.
- [125] R. H. Reiner, *Makromol. Chem.*, **1981**, 182, 1641.
- [126] A. Webster; M. D. Halling; D. M. Grant, *Carbohydr. Res.*, **2007**, 342, 1189.
- [127] S. Shigeharu, *Chem. Pharm. Bull.*, **1967**, 15(10), 1540.
- [128] K. Kurita; S. Mori; Y. Nishiyama; M. Harata, *Polym. Bull.*, **2002**, 48, 150.
- [129] Y. Tamai; H. Tanaka; K. Nakanishi, *Macromolecules*, **1996**, 29, 6750.
- [130] Y. Tamai; H. Tanaka; K. Nakanishi, *Macromolecules*, **1996**, 29, 6761.
- [131] I. Ohmine, H. Tanaka, *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 2545.
- [132] S. Inouye, *Chem. Pharm. Bull.*, **1967**, 15(10), 1540.
- F. M. Arshid; C. H. Giles; S. K. Jain, *J. Org. Chem.* **1956**, 5.

Meine akademischen Lehrer waren:

K. Albert, D. Christen, H. Eckstein, H.-J. Egelhaaf, G. Gauglitz, F. Gönnenwein, G. Häfelinger, M. Hanack, D. Hoffmann, V. Hoffmann, W. Jäger, G. Jung, D. Krug, N. Kuhn, E. Lindner, M. E. Maier, H. Mayer, H.-J. Meyer, U. Nagel, H. Oberhammer, C. Ochsenfeld, D. Oelkrug, H. Pauschmann, H. Pommer, G. Reinhardt, V. Schurig, E. Schweda, F.F. Seelig, B. Speiser, G. Staudt, J. Strähle, U. Weimar, K.-P. Zeller, T. Ziegler.

Lebenslauf:

Persönliche Daten:

Heike Melanie Sowinski
geb. 18.11.1977 in Tübingen
ledig, deutsch

Eltern:

Therese Sowinski geb. Schneider
Walter Sowinski

Schulbildung:

1984-1988 Grundschule Bondorf
1988-1997 Schickhardt Gymnasium Herrenberg

Studium:

10/1997 – 09/2003 Chemiestudium an der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

03.11.1999 Vordiplom

03 – 09.2003 Diplomarbeit:
*Untersuchungen zur O-Glycosylierung mit
Perfluorbutansulfonsäureflourid als Aktivator*

04.09.2003 Diplom

ab 10.2003 Promotion am Institut für Organische Chemie II,
Tübingen:
*Struktur, Eigenschaften und Reaktionen oxidierter
Dextrane*

