Synthese und Charakterisierung von Polymeren mit heparinanalogen Eigenschaften auf der Basis von Vinylzuckern

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Stefanie Stalberg

aus Oberhausen

2000

Gedruckt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Wulff
2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Braun

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Juni 2000

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Wulff in der Zeit von Oktober 1997 bis Oktober 1999 am Institut für Organische und Makromolekulare Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf angefertigt.

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. G. Wulff möchte ich für das aussichtsreiche, sehr praxisnahe Thema meiner Dissertation und seine stete Diskussionsbereitschaft herzlich danken.

Weiterhin möchte ich besonders Birgit Ohler danken für ihr großes Engagement bei der Ausführung der präparativen Arbeiten und für die schöne Zeit sowohl im Labor als auch außerhalb. An meine übrigen Laborkollegen Sonja Coors, Olaf Lammerschop und Marcus Guzmann richtet sich mein Dank für die ausgesprochen harmonische und nette Laboratmosphäre, in der nie Langeweile aufkam. Allen anderen Kollegen möchte ich für ihre Hilfsbereitschaft und das sehr gute Arbeitsklima im Institut danken.

Meinen Dank aussprechen möchte ich außerdem Frau Mertens für die gewissenhafte Erledigung der administrativen Aufgaben und Herrn Dr. Matthiesen für die Vermessung der Massenspektren und seine kompetenten Ratschläge.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Sosna und Frau Dr. Anders von der CREAVIS GmbH für die finanzielle Förderung des Projektes, die wertvollen Diskussionen und die gute Zusammenarbeit, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Schließlich sei der IZKF „Biomat“ in Aachen gedankt für die Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeiten und der Thrombinzeiten der Polymere.

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung 1

II. Theoretischer Teil 18

1. Zielsetzung 18
2. Monomersynthesen 20
3. Herstellung der Polymere 33
4. Polymercharakterisierung bezüglich Copolymerzusammensetzung, Sulfatierungsgrad, Tetramereigenschaft, Molmasse und Staudingerindex 39
5. Antikoagulative Eigenschaften, Bakterienadhäsion und Gleitreibungsminderung der Materialien 59

III. Zusammenfassung und Ausblick 99

IV. Experimenteller Teil 105

1. Apparatives 105
2. Chemikalien 106
3. Lösungsmittel 108
4. Dünnschicht- und Säulenchromatographie 108
5. Darstellung und Charakterisierung der Monomere 109
6. Darstellung und Charakterisierung der Polymere 158

V. Literaturverzeichnis 174

Liste der verwendeten Abkürzungen

ABAH	2,2´-Azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid
APTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AS	Acrylsäure
AT III	Antithrombin III
ATP	Adenosintriphosphat
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
dest.	destilliert
dd	Dublett vom Dublett
DMSO	Dimethylsulfoxid
DS	Sulfatierungsgrad („Degree of Sulfation“)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
H	Hauptisomer
IR	Infrarotspektroskopie
Lit.	Literatur
m	Multiplett
MAS	Methacrylsäure
M_n	Zahlenmittel des Molekulargewichtes
N	Nebenisomer
[η]	Staudingerindex
Na^+-p-SS	Na^+-p-Styrylsulfonat
Na^+-p-VB	Na^+-p-Vinylbenzoat
NMR	Kernresonanzspektroskopie
q	Quartett
PA 12	Polyamid 12
PBS	Phosphat-gepufferte Saline
PEO	Polyethylenoxidspacer
PF4	Platelet Faktor 4
PL	Phospholipidmembran
PTT	partielle Thromboplastinzeit
s	Singulett
t	Triplett
T	Thrombin
TDMAC	Tridodecylmethylammoniumchlorid
THF	Tetrahydrofuran
TRIS	Trishydroxyethylaminomethan
TT	Thrombinzeit

Der Mensch muß bei dem Glauben verharren,
daß das Unbegreifliche begreiflich sei;
er würde sonst nicht forschen.

Johann Wolfgang Goethe

I. Einleitung

Die chemische Industrie hat der Entwicklung von Wirkstoffen auf der Basis von Kohlenhydraten in der Vergangenheit nur geringfügige Beachtung geschenkt. Die Synthese dieser Materialien bzw. die Isolierung aus Naturstoffen ist oft zu aufwendig und daher wirtschaftlich gesehen nicht interessant. Allerdings bewegen die vielen Vorteile der Therapeutika auf Zuckerbasis, wie geringe Toxizität und niedriges allergenes Potential, in den letzten Jahren eine wachsende Zahl von Firmen dazu, sich auf diesem Gebiet zu engagieren. Eine kleine Auswahl solcher Medikamente zeigt die nachfolgende Abbildung.

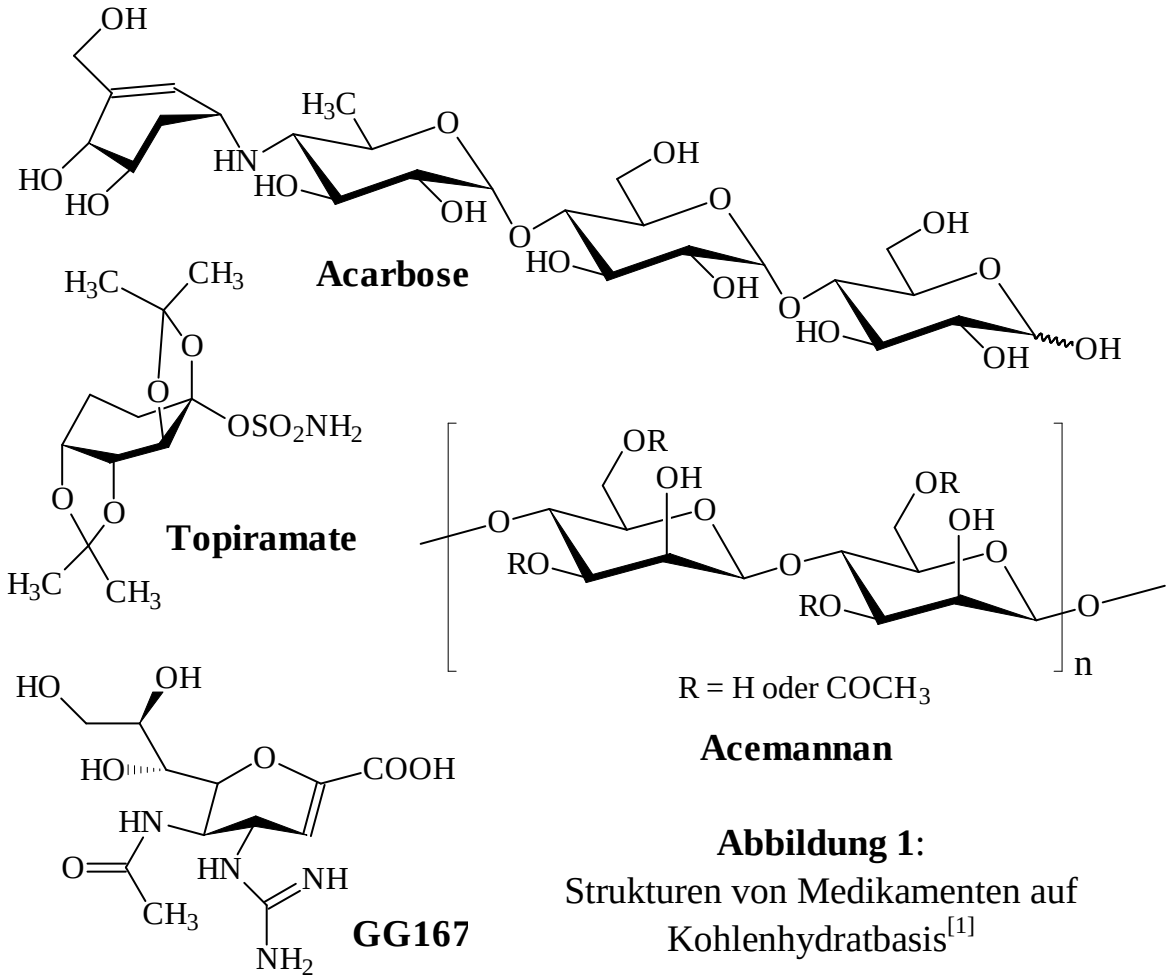


Abbildung 1:
Strukturen von Medikamenten auf Kohlenhydratbasis[1]

Zur Zeit sind bereits zahlreiche Wirkstoffe auf dem Markt oder befinden sich in der klinischen Testphase wie der folgenden Übersicht entnommen werden kann[1]:

Substanz	Bekämpfung von	Firma	Status	Lit.
Theratope	Krebs	Biomira	Phase II/III	2
NCCG	Krebs	IGG International	vorklinisch	3,4
Hyaluronsäure	Krebs	Hyal Pharmaceuticals	vorklinisch	5
SR90107 ORG31540	Thrombose	Sanofi/Organon	Phase I	6
Acarbose	Diabetes	Bayer AG	zugelassen	7
BAY m 1099	Diabetes	Bayer AG	zugelassen	8
AO-128	Diabetes	Takeda/Abbot	zugelassen	9
NE-0080	Magengeschwür	Neose Technologies	Phase II	10,11
GG-167	Influenza	Glaxo Wellcome/Biota	Phase II	12
MDL-24,574A	HIV/AIDS	Searle & Co	Phase II	13,14
Acemannan	Infektion Wundheilung	Carrington Labs	zugelassen	15,16
Betafectin	Nach-operative Infektionen	Alpha-Beta Tech	Phase III	17,18
Topiramate	Epilepsie	Johnson & Johnson	zugelassen	19
Ganglioside GM_1	Parkinson	Fidia Pharmaceuticals	Phase I	20

Tabelle 1: Kürzlich entwickelte Wirkstoffe auf Kohlenhydratbasis[1]

Das Medikament *Theratope* hat als Impfstoff erste Erfolge bei der Bekämpfung von fortgeschrittenem Brustkrebs gezeigt. Derivate von Zitruspektin, ein aus Pflanzen isolierbares Polysaccharid, sind in der Lage, die Ausbreitung von Metastasen zu verhindern. Zur Zeit wird ein solches Derivat *NCCG* von der Firma IGG International entwickelt[2].

Einige stickstoffhaltige Kohlenhydrate sind in der Lage Glycosidasen zu inhibieren, die für den Abbau von Poly- und Oligosacchariden verantwortlich sind. Auf diese Weise kann die Freisetzung von Glucose in den Blutstrom nach der Nahrungsaufnahme verhindert werden. Derartige Wirkstoffe wie *Acarbose*, *BAY m 1099* und *AO-128* werden in Kombination mit herkömmlichen Medikamenten in der Diabetes-Therapie eingesetzt[7,8,9]. Die Firma Neose Technologies synthetisiert zur Zeit im großen Maßstab Oligosaccharide, die Bakterienadhäsionen verhindern sollen. Einsatzbereiche werden bei der Herstellung von Säuglingsnahrung und bei der Behandlung von Infektionen gesehen. *NE-0080* ist ein von ihnen entwickelter Wirkstoff zur Bekämpfung von Magengeschwüren, die durch das Bakterium Helicobacter pylori hervorgerufen werden[10,11]. Interessant ist auch der von Glaxo Wellcome und Biota Holdings untersuchte Inhibitor *GG167* des Influenza Virus[12]. Bestimmte Kohlenhydrate sind in der Lage das Immunsystem zu aktivieren. Derartige Stoffe fördern die Wundheilung und schützen vor Infektionen, wie beispielsweise *Acemannan*, ein Mannosederivat, das von Carrington Laboratories vermarktet wird oder *Betafectin PGG-glucan*, das Infektionen nach Operationen verhindern soll[15-18]. Medikamente auf Kohlenhydratbasis finden darüber hinaus auch bei der Therapie der Epilepsie und der Parkinsonschen Krankheit Verwendung[19,20].

Bereits sehr lange bekannt sind die exzellenten antikoagulativen Eigenschaften von Heparin. Heparin findet seit 1937 Anwendung in der Medizin, um Thrombosen während Operationen zu verhindern. Heparin[21,22] ist ein Mucopolysaccharid mit einer breiten Molmassenverteilung von etwa 8000 – 25000 g/mol, was ungefähr 24 bis 77 Monosaccharideinheiten entspricht. Die lineare 1,4-verknüpfte Polysaccharidkette setzt sich aus D-Glucosamin, D-Glucuronsäure und L-Iduronsäure zusammen. Sowohl die L-Iduronsäure als auch das D-Glucosamin sind mit Schwefelsäure verknüpft, erstere am 2-OH, letzteres am 6-OH und häufig am 2-NH_2. Selten beobachtet man eine Acetylierung am 2-NH_2 des Glucosamins. Die OH-Gruppen der D-Glucuronsäure bleiben in der Regel unverestert. Eine Tetrasaccharideinheit enthält durchschnittlich vier bis fünf Sulfatgruppen, was dem Molekül eine hohe negative Ladungsdichte verleiht. Heparin findet man im Körpergewebe von Säugetieren, hauptsächlich in Lunge, Leber, Milz, Herz, Darmschleimhaut, Lymphe und Plasma. Es wird meistens aus der Lunge, der Leber oder der Darmschleimhaut von Rindern und Schweinen isoliert.

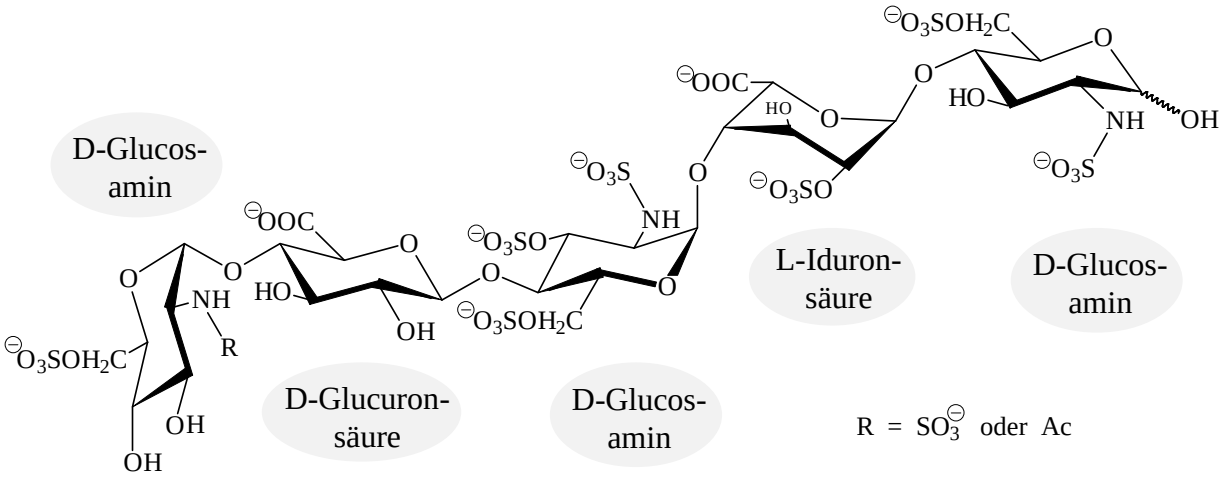
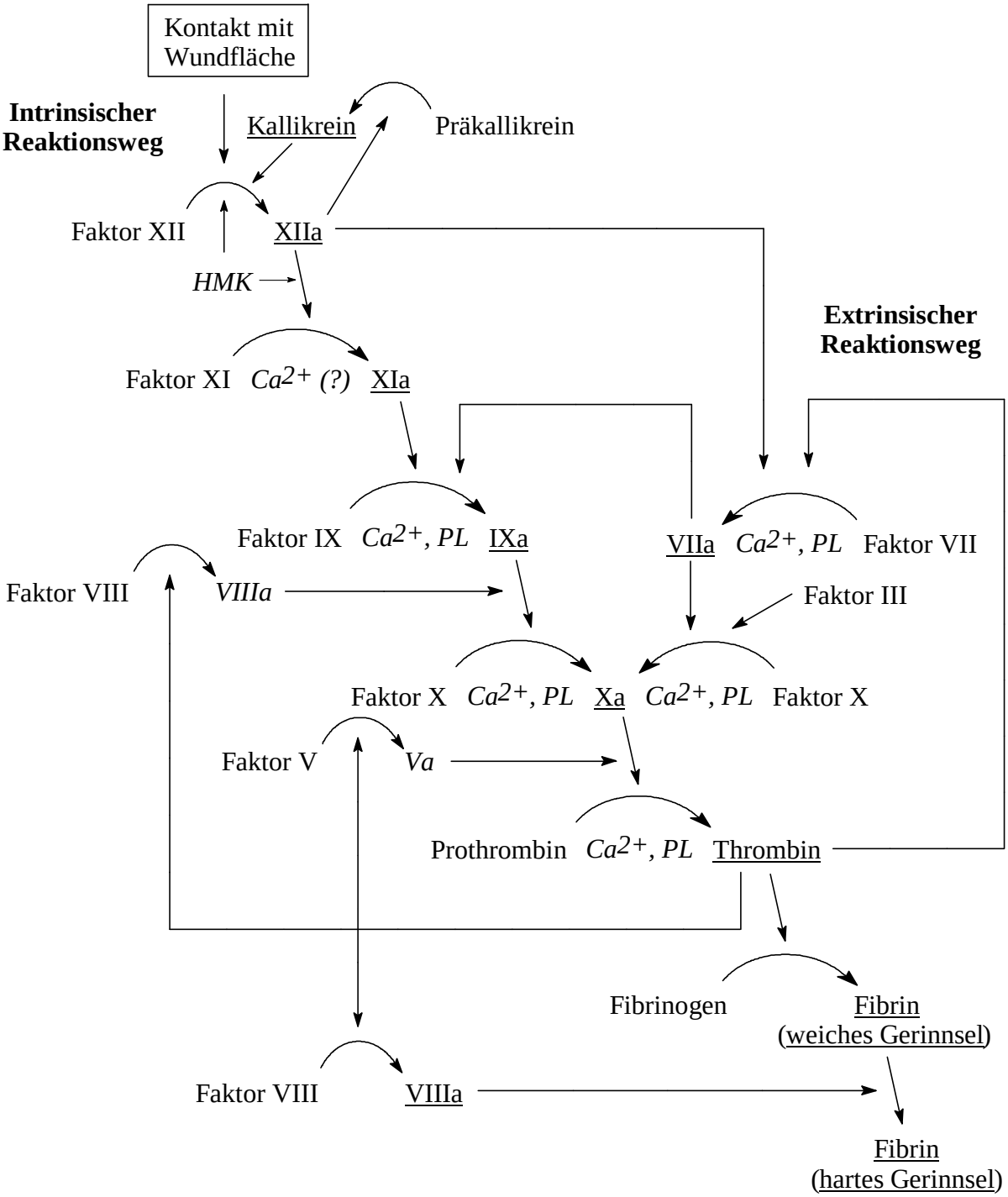


Abbildung 2: Pentasaccharideinheit von Heparin

Heparin ist in der Lage, in den sehr komplexen in Abbildung 3 beschriebenen Blutgerinnungsprozeß[23] einzugreifen und eine Thrombusbildung zu verhindern. Bei einer Gewebsverletzung wird reichlich Gewebethromboplastin (Faktor III) aus den zerstörten Zellen ins Blut ausgeschüttet. Dieser aktiviert den Faktor VII, der seinerseits in Kombination mit Phospholipiden und Calciumionen den Faktor X aktiviert. Letzterer bewirkt die Umwandlung des Proenzyms Prothrombin in die hochaktive Spezies Thrombin, die in kurzer Zeit große Mengen Fibrinogen in Fibrin (hartes Gerinnsel) umwandelt. Den soeben beschriebenen Prozeß bezeichnet man als extrinsischen Reaktionsweg, da der extravasculäre Faktor III, d.h. ein im Blut nicht vorhandener Faktor, die Blutgerinnung in Gang gebracht hat. Im Gegensatz zum extrinsischen Reaktionsweg, der in Sekundenschnelle zur Ausbildung eines harten Gerinnsels führt, ist der intrinsische Reaktionsweg deutlich langsamer. Hier dauert es einige Minuten bis aktives Thrombin vorliegt, da eine größere Zahl inaktiver Gerinnungsfaktoren in ihre aktive Form überführt werden müssen (Abb. 3). Der intrinsische Reaktionsweg wird nicht durch eine Gewebsverletzung ausgelöst, sondern beispielsweise durch Entzündungen oder Kalkeinlagerungen (Kontaktfläche) im Blutgefäß. Dies bedeutet, daß alle für die Gerinnung erforderlichen Faktoren bereits im Blut vorhanden sein müssen. Die Blutgerinnungskaskade beginnt mit der Aktivierung des Hageman-Faktors (Faktor XII), führt dann über mehrere Stufen zur Aktivierung von Faktor X (Überschneidung mit extrinsischem Reaktionsweg) und endet schließlich ebenfalls mit der Bildung eines harten Fibringerinnsels.



kursiv:	Hilfsfaktoren
unterstrichen:	aktive Gerinnungsfaktoren
PL:	Phospholipidmembran

Abbildung 3: Die Blutgerinnungskaskade beim Menschen[23]

Die Blutgerinnung muß sehr genau gesteuert werden, da ein einziges Gerinnsel an einem falschen Platz zu tödlichen Schlaganfällen und Herzinfarkten führen kann. Natürliche Blutgerinnungsinhibitoren sorgen dafür, daß das Thrombuswachstum nicht außer Kontrolle gerät und nur auf die Verletzungsstelle begrenzt bleibt. Eines der wichtigsten Inhibitoren ist das Antithrombin III (AT III), das mit allen aktiven Proteasen des Gerinnungssystems mit Ausnahme von Faktor VIIa stabile 1:1-Komplexe bildet und auf diese Weise in der Lage ist, die Gerinnung zu hemmen. Heparin kann die Aktivität von AT III hundertfach steigern und so die normalerweise sehr langsam verlaufenden Komplexbildungsreaktionen stark beschleunigen. Besonders stark empfindlich für die Wirkung des Heparin-AT III-Komplexes sind die Faktoren IIa (Thrombin) und Xa.

In den frühen achtziger Jahren ist eine charakteristische Pentasaccharideinheit[24-30] im natürlichen Heparin entdeckt worden, die als minimale Sequenz notwendig ist, um hochselektiv Antithrombin III binden zu können. Vier Sulfat- und zwei Carboxylatgruppen sind für eine starke Bindung essentiell. Der aktive Gerinnungsfaktor Thrombin wird hingegen unspezifisch über elektrostatische Wechselwirkungen an die negativ geladene Heparinkette gebunden. Anschließend gleitet das Thrombin entlang der Kette bis es auf ein aktiviertes AT III Molekül trifft und mit diesem einen 1:1-Komplex eingeht. Die Wirkung des Thrombins wird auf diese Weise inhibiert und die Blutgerinnungskaskade unterbrochen (Abb. 4).

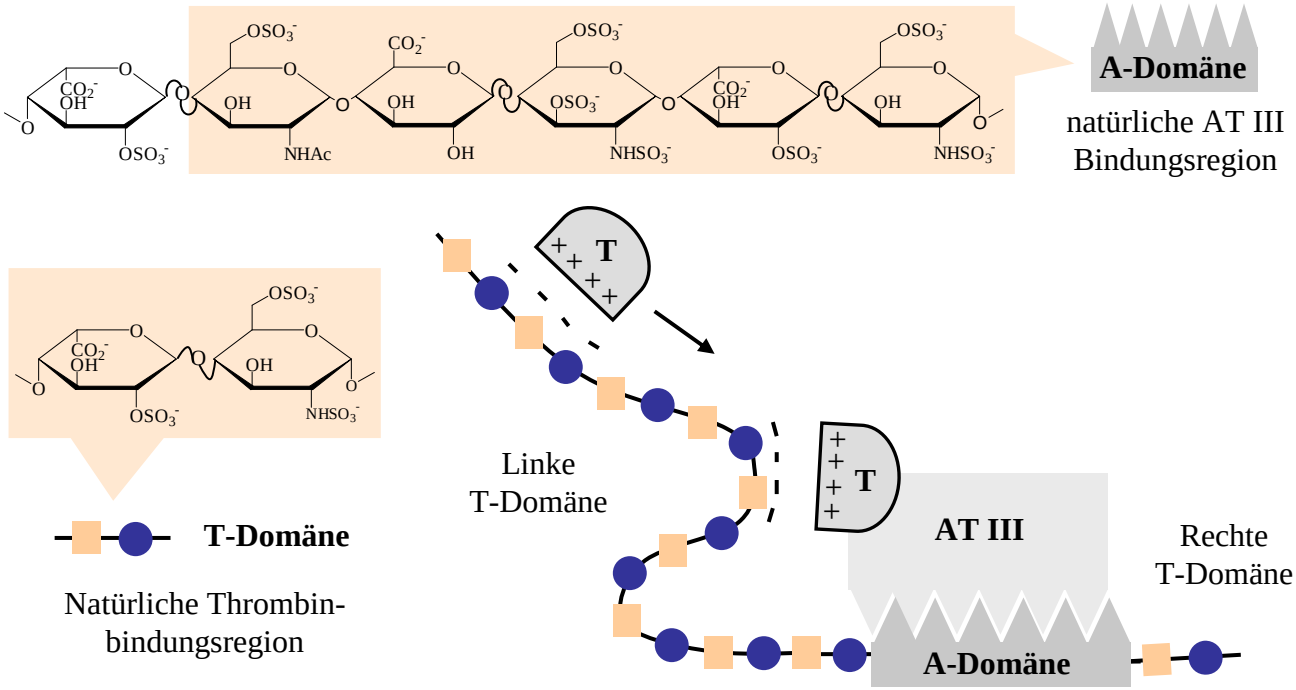


Abbildung 4: Beschleunigung der Thrombininhibierung mittels natürlichem Heparin[31]

Die Totalsynthese dieser Heparinpentasaccharideinheit ist schließlich 1983 gelungen[25], was den entscheidenden Durchbruch gebracht hat auf dem Weg hin zu künstlichem Heparin. Bisher ist nur natürliches Heparin verwendet worden, das in einem aufwendigen Prozeß aus tierischen Geweben gewonnen wird. Das so erhaltene Heparin ist stark heterogen aufgebaut und ruft mitunter unerwünschte Nebenwirkungen wie starke Blutungen hervor. Die Fraktionierung von Heparin führt zu niedermolekularen Heparinen, die ein wenig verträglicher sind[32], allerdings sind auch bei diesen Stoffen die unerwünschten Wirkungen nicht ausgeschlossen.

In Anbetracht dieser offensichtlichen Nachteile von natürlichem Heparin sind in den letzten 20 Jahren intensive Untersuchungen durchgeführt worden, um zu einem maßgeschneiderten künstlichen Wirkstoff zu gelangen, der die gleichen oder sogar verbesserte antikoagulative Eigenschaften als natürliches Heparin besitzt und nebenwirkungsfrei ist[33-43]. Die Synthese der Pentasaccharideinheit ist ein erster Schritt zur Erreichung dieses Ziels. Das Pentasaccharid allein ist allerdings aufgrund seiner geringeren Aktivität kein befriedigender Heparinersatz. Es bindet zwar mit hoher Selektivität und Bindungskraft an AT III und inhibiert die Wirkung des Gerinnungsfaktors Xa, aber es zeigt keinerlei Wirkungen gegenüber Thrombin (Abb. 5). Interessant ist, daß das Pentasaccharid nicht in der Lage ist, den Plättchenfaktor 4 (PF4) zu aktivieren. Dieser beschleunigt die Zusammenballung der Thrombocyten, wodurch ihre Anzahl im Blut herabgesetzt wird (Thrombocytopenie) und die Blutungsneigung steigt. Die Wechselwirkung mit Thrombin erfordert eine längere negativ geladene Heparinkette (Abb.6). Aufgrund der unspezifischen elektrostatischen Bindung kann sie jedoch nicht zwischen

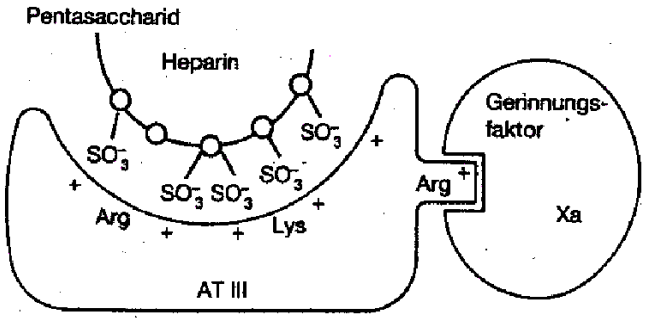


Abbildung 5:
Wechselwirkung: Pentasaccharid-ATIII-Xa[33]

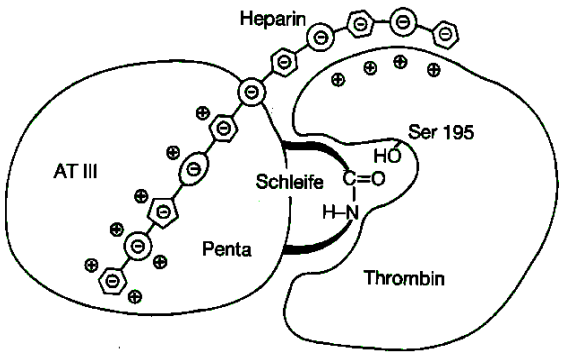


Abbildung 6:
Wechselwirkung: Heparin-ATIII-Thrombin[33]

Thrombin und anderen Proteinen unterscheiden, wie z.B. PF4, wodurch die bereits erwähnten unerwünschten Nebenwirkungen auftreten können.

M. Petitou, C. A. A. van Boeckel et al haben zahlreiche künstliche Heparinfragmente hergestellt und deren Wirksamkeit getestet (Abb. 7).

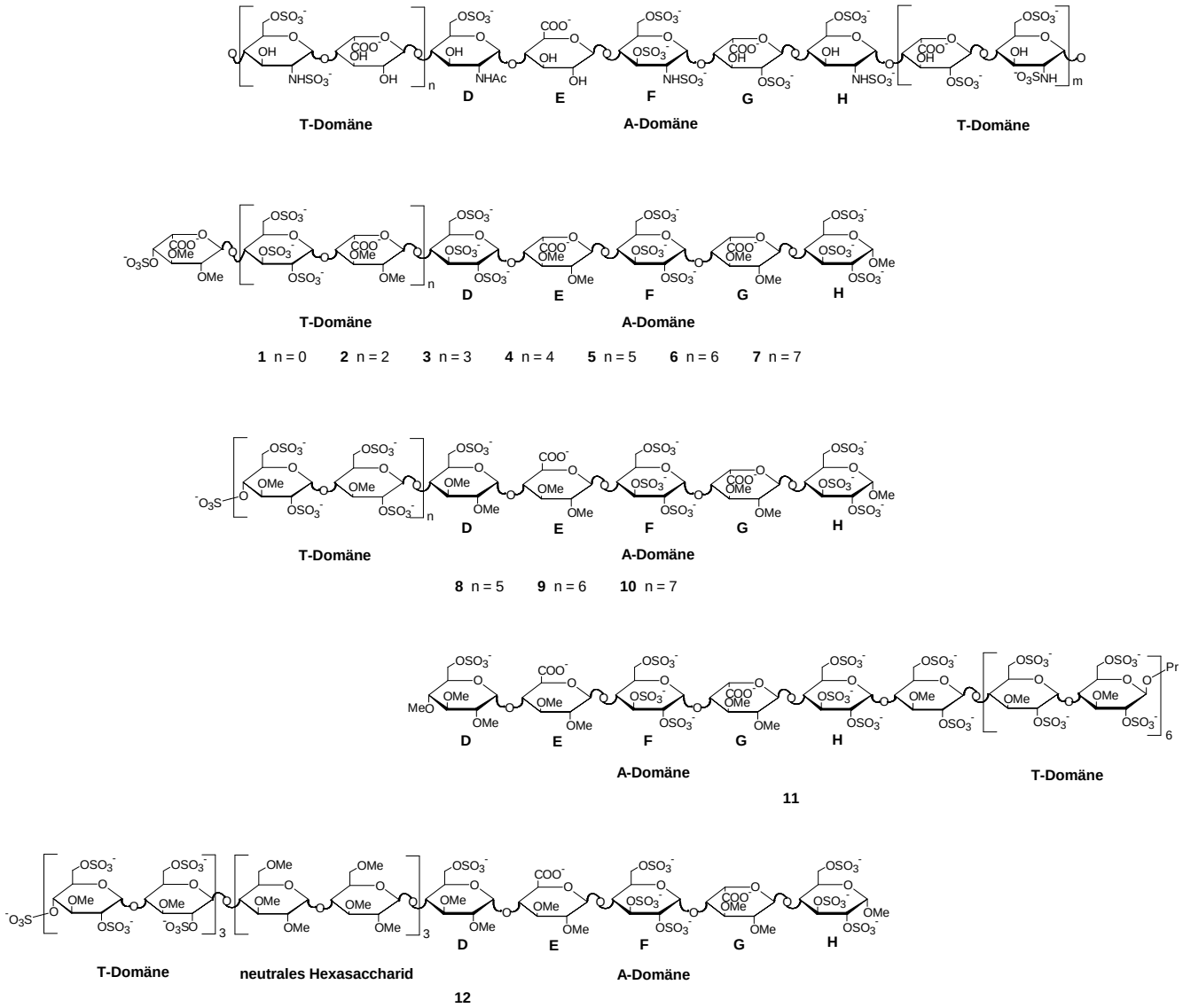


Abbildung 7: Gegenüberstellung von natürlichem Heparin und verschiedenen künstlichen Heparinfragmenten **1** – **12**[36]

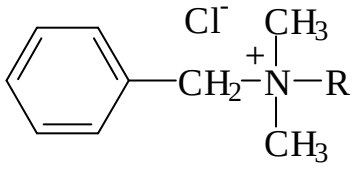
Sie haben dabei die *N*-Sulfatgruppen gegen *O*-Sulfatgruppen ausgetauscht und die freien OH-Gruppen alkyliert, wodurch die Synthese der künstlichen Fragmente im Vergleich zur Totalsynthese des natürlichen Fragments stark vereinfacht werden konnte. Alle Fragmente **1** – **12** sind über ihre A-Domäne in der Lage, Antithrombin III selektiv zu binden und die Wirkung von Faktor Xa aufzuheben.

Die Derivate **1** – **4** mit sechs, zehn, zwölf und vierzehn Zuckereinheiten sind inaktiv in Bezug auf die Thrombininhibierung, und sie sind im Tierversuch nicht in der Lage, eine Thrombusbildung zu verhindern. Die Verbindungen **5** – **7** mit sechzehn, achtzehn oder zwanzig Zuckereinheiten zeigen eine größenabhängige Steigerung der antikoagulativen Eigenschaften. Die Komponente mit zwanzig Zuckereinheiten ist bereits so aktiv wie natürliches Standardheparin. In den Fragmenten **8** – **11** ist die T-Domäne weiter vereinfacht worden. Da in dieser Region nur Wechselwirkungen von elektrostatischer Natur von Bedeutung sind, ist die Verwendung einer alternierenden α- und β- verknüpften 3-O-Methyl-2,6-di-O-sulpho-D-glucose vollkommen ausreichend. Weiterhin ist interessant, daß die Reihenfolge der Domänen von signifikanter Bedeutung ist. Lediglich die Verbindungen bei denen sich die T-Domäne auf der nicht reduzierenden Seite der A-Domäne befindet (**8** – **10**) zeigen antithrombogene Eigenschaften. Oligosaccharid **11**, bei dem die Reihenfolge von T- und A-Domäne vertauscht ist, ist nicht in der Lage, Thrombin ausreichend zu inhibieren. Sowohl die Fragmente **5** – **7** als auch **8** – **10** besitzen ausgezeichnete antikoagulative Eigenschaften, allerdings kann die Plättchenfaktor-4-Wechselwirkung verbunden mit den unerwünschten Nebenwirkungen nicht verhindert werden. Selbst eine Reduzierung der Kettenlänge auf das minimal zur Thrombininhibierung notwendige Maß führt zu keinem Erfolg. Erst die Einführung eines neutralen Spacers, ein methyliertes Hexasaccharid, zwischen T- und A-Domäne bringt den entscheidenden Durchbruch (Verbindung **12**). Die Synthese dieses maßgeschneiderten Oligosaccharids ist unter den folgenden Gesichtspunkten erfolgt:

1. Eine Pentasaccharideinheit (A-Domäne) wird benötigt, um Antithrombin III zu binden und dieses in Bezug auf die Faktor Xa und Thrombin Inhibierung zu aktivieren
2. Für die Bindung des Thrombins muß die negativ geladene T-Domäne nur vier bis sechs Zuckereinheiten lang sein[44].
3. Eine Gesamtkettenlänge von siebzehn Zuckereinheiten ist erforderlich, um die Wirkung von Thrombin merklich zu inhibieren.
4. Der mittlere Zuckerbereich mit etwa sechs bis acht Einheiten ist nicht an der Wechselwirkung mit Antithrombin III oder Thrombin beteiligt. Daher ist es möglich, dort einen neutralen Spacer einzuführen ohne Verlust der antikoagulativen Eigenschaften.

Die auf diese Weise gewonnene Verbindung **12** ruft keine der unerwünschten Nebenwirkungen hervor wie starke Blutungen. Dies hängt damit zusammen, daß eine Wechselwirkung zwischen PF4 und der Heparinkette mindestens acht aneinandergereihte geladene Zuckereinheiten erfordert[45]. Oligosaccharid **12** enthält allerdings höchstens sechs hintereinander liegende geladene Zuckereinheiten, so daß lediglich die Bindung des Thrombins, nicht aber die des PF4 stattfinden kann. Diese spezifische Bindung an Thrombin des Fragments **12** erklärt vermutlich seine fünf bis zehnmal so hohe Wirksamkeit im Thrombosemodell gegenüber Standardheparin, niedermolekularen Heparinen und allen anderen erwähnten künstlichen Oligosacchariden **1** – **11**. Es bleibt abzuwarten, wie sich dieses vielversprechende Derivat **12** in klinischen Tests bewähren wird.

Natürliches Heparin bzw. die niedermolekulare Fraktion wird den Patienten während Operationen direkt in die Blutbahn gespritzt, um Thrombosen zu verhindern. Auch das künstlich hergestellte Fragment **12** soll einmal in dieser Weise zum Einsatz kommen. Es existiert jedoch zusätzlich die Möglichkeit, Heparin auf medizinischen Geräten[46–52] entweder über elektrostatische Wechselwirkungen oder kovalente Bindungen zu immobilisieren. Auf diese Weise läßt sich die Heparingabe während medizinischer Eingriffe deutlich erniedrigen und damit das Auftreten von Nebenwirkungen wie Blutungen vermindern. V. Gott[53] war in den frühen sechziger Jahren einer der ersten, der solche Materialien hergestellt hat. Er hat Polymere mit Graphit beschichtet und diese anschließend mit Benzalkoniumchlorid und Heparin-Lösungen behandelt.



$R = C_8H_{17}$ oder $C_{18}H_{37}$

Abbildung 8: Allgemeine Struktur von Benzalkoniumchlorid[53]

Durch ionische Wechselwirkungen wird das negativ geladene Heparin über das quaternäre Ammoniumsalz des Benzalkoniumderivates an das polymere Material gebunden. Mit diesem Verfahren können 1 – 3 ng Heparin / cm^2 immobilisiert werden[54,55]. Bei Hunden können Implantate aus Polymethylmethacrylat, die auf diese Weise mit Heparin beschichtet werden, über einen Zeitraum von vierzehn Tagen erfolgreich eingesetzt werden. Entsprechende unbehandelte Implantate rufen bereits nach zwei Stunden Thrombosen hervor[56].

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse haben sich diese Materialien in der Praxis nicht durchsetzen können. Dies liegt zum einen darin begründet, daß mit dieser Technik nur starre Kunststoffe, wie Polycarbonate und Polymethylmethacrylat modifiziert werden können, nicht aber flexiblere Materialien, wie Silicone und andere Elastomere. Zudem ist die allmähliche Freisetzung des Benzalkoniumsalzes in den Blutstrom für den Menschen nicht unbedenklich.

Deutlich stärker wird Heparin mit Hilfe von Tridodecylmethylammoniumchlorid (TDMAC) an die meisten kommerziell erhältlichen Polymere gebunden (Tab. 2). Das Polymer wird mit einem Gemisch aus Toluol/Petrolether 1:1 und TDMAC versetzt, wobei die Oberfläche aufquillt und die hydrophoben Alkylketten des Ammoniumsalzes in das Polymer hineindiffundieren. Nach Entfernung des Lösungsmittels ist TDMAC fest mit der Polymeroberfläche verbunden. Heparin wird anschließend über elektrostatische Wechselwirkungen an die nach außen hin exponierten polaren quarternären Ammoniumsalzgruppierungen angelagert[57,58].

Polymer	Immobilisiertes Heparin	Auf der Oberfläche verbliebene Heparinmenge nach Behandlung mit	
		physiologischer Lösung	Plasma
	[ng/cm^2]	100 h, [%]	4 h, [%]
Polyvinylchlorid	25	100	95
Polycarbonat	4	93	90
Polyethylenterephthalat	18	95	90
Silikone	22	91	---
Polyurethane	186	100	98
Polyethylen	25	100	94
Polypropylen	8.2	92	91
Polytetrafluorethylen	1.1	99	87

Tabelle 2: Immobilisierung von Heparin auf verschiedenen polymeren Materialien mittels Tridodecylmethylammoniumchlorid[59]

Ferner lassen sich Ammoniumsalze auch über kovalente Bindungen in verschiedene Materialien einbauen, wodurch eine erhöhte Stabilität erreicht wird. Leininger hat Ende der sechziger Jahre Pionierarbeit auf diesem Gebiet geleistet, indem er Polystyrol zunächst chlormethyliert hat, danach folgt eine

Umsetzung mit Dimethylanilin zum quarternären Ammoniumsalz und schließlich die Immobilisierung von Heparin[60] (Abb. 9).

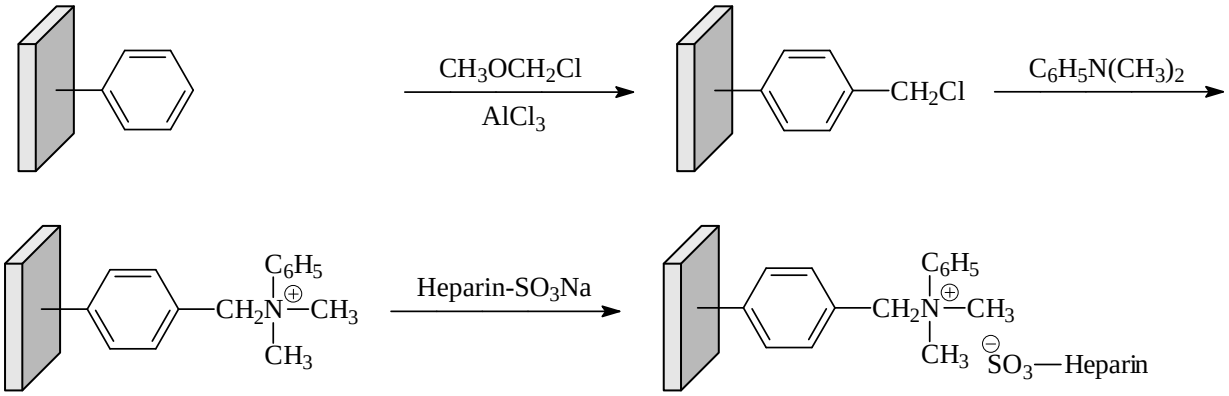


Abbildung 9: Polystyrolmodifizierung[60]

Reines Polystyrol wird allerdings nicht für medizinische Anwendungen genutzt. Es ist jedoch gelungen dieses Verfahren auch auf andere Materialien zu übertragen, wie z.B. Silicone, Polyethylen, Polypropylen, Polyethylenterephthalat etc., auf die zu diesem Zweck Styrol mit Hilfe von γ–Strahlung aufgepropft wird. Es lassen sich in dieser Weise 2,8 – 15,7 ng/cm^2 Heparin immobilisieren, und die Werkstoffe zeigen in vitro gute Thromboseresistenz. Die Gerinnung von recalzifiziertem Blutplasma kann so um einige Stunden verzögert werden.

Trotz vieler interessanter und vielversprechender Ansätze sind Polymere mit elektrostatisch fixiertem Heparin für Langzeitanwendungen wie Implantate nicht geeignet. Unter physiologischen Bedingungen wird ionisch gebundenes Heparin nach und nach durch den turbulenten Blutstrom abgetragen, so daß die Blutkompatibilität mit der Zeit nachläßt. In dieser Hinsicht sollten Materialien mit kovalent gebundenem Heparin weitaus stabiler sein und den Anforderungen für langfristige Anwendungen eher gerecht werden. Bereits 1968 ist erfolgreich versucht worden, Heparin über eine Isocyanatgruppierung kovalent an Polystyrol zu binden[61] (Abb. 10). Polystyrol-Polybutadien-Polystyrol Blockcopolymere können ebenfalls heparinisiert werden (Abb. 11). Hierzu werden einige der Doppelbindungen des Polybutadienblocks zu Diolen oxidiert[62], die danach mit Glutardialdehyd unter Acetalbildung umgesetzt werden. Die abschließende Behandlung mit einer Heparinlösung führt zu einer Immobilisierung von 80 ng Heparin / cm^2.

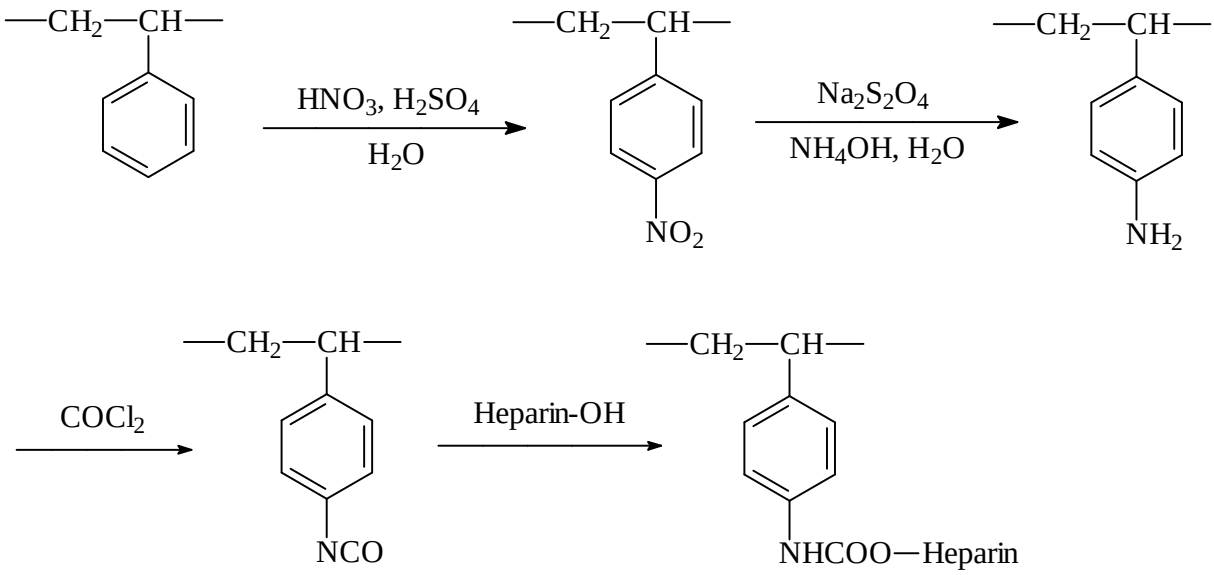


Abbildung 10: Heparinimmobilisierung auf Polystyrol[61]

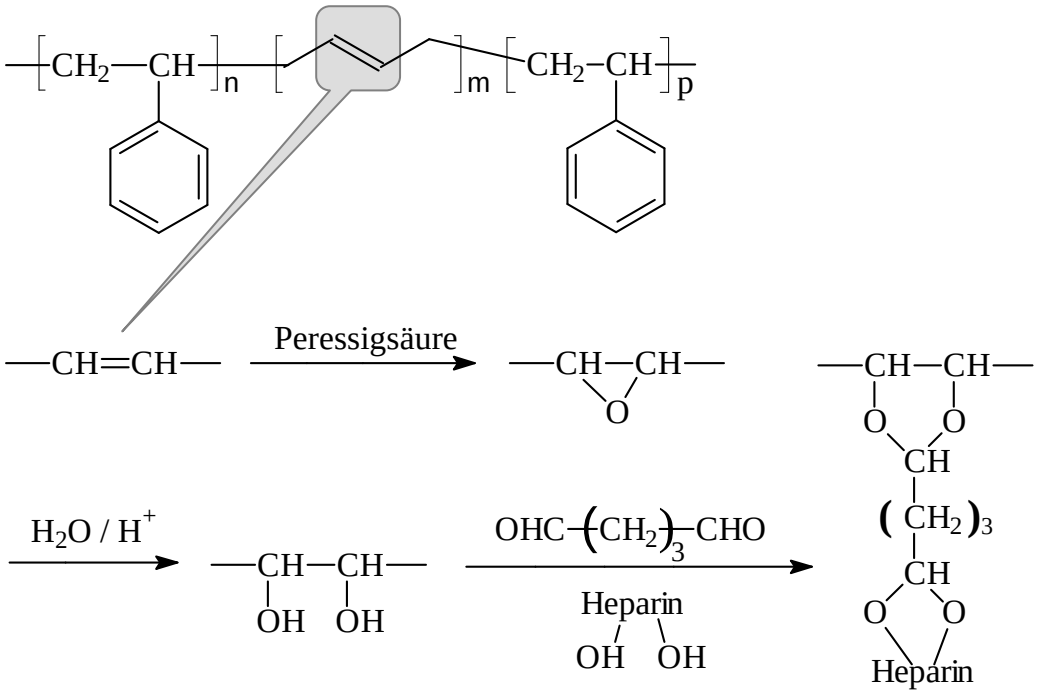


Abbildung 11: Modifizierung eines Polystyrol-Polybutadien-Polystyrol Blockcopolymers[62]

Viele kommerziell erhältliche Polymere, wie Polyethylen, Polypropylen, Polystyrol, Polyurethan, Polycarbonat etc., lassen sich mit Hilfe von Kaliumperoxydisulfat hydroxylieren[63,64]. Anschließend werden über die Cer-Ion-Technik Sauerstoffradikale auf der Polymeroberfläche erzeugt, die als Kettenstarter für verschiedene Monomere dienen können. Heparin, das über eine Amidbindung an ein basisches Methacrylatmonomer gebunden ist, kann so zusammen mit Acrylamidmonomeren auf verschiedene Materialien aufgepfropft werden (Abb. 12) und ihnen blutkompatible Eigenschaften verleihen[65]. Ecdel beispielsweise, ein aliphatischer Polyester mit 1,4-Cyclohexandimethanol-Einheiten, zeigt nach entsprechender Modifizierung mit Heparin gesteigerte antikoagulative Eigenschaften (Tab. 3).

Probe	PTT [s]
Ecdel, unbehandelt	330
Ecdel, behandelt mit Acrylamid	460
Ecdel, behandelt mit Acrylamid und Heparin	1400

Tabelle 3: Partielle Thromboplastinzeiten (PTT) (Blutgerinnungszeiten) von verschiedenen Ecdel-Filmen[65]

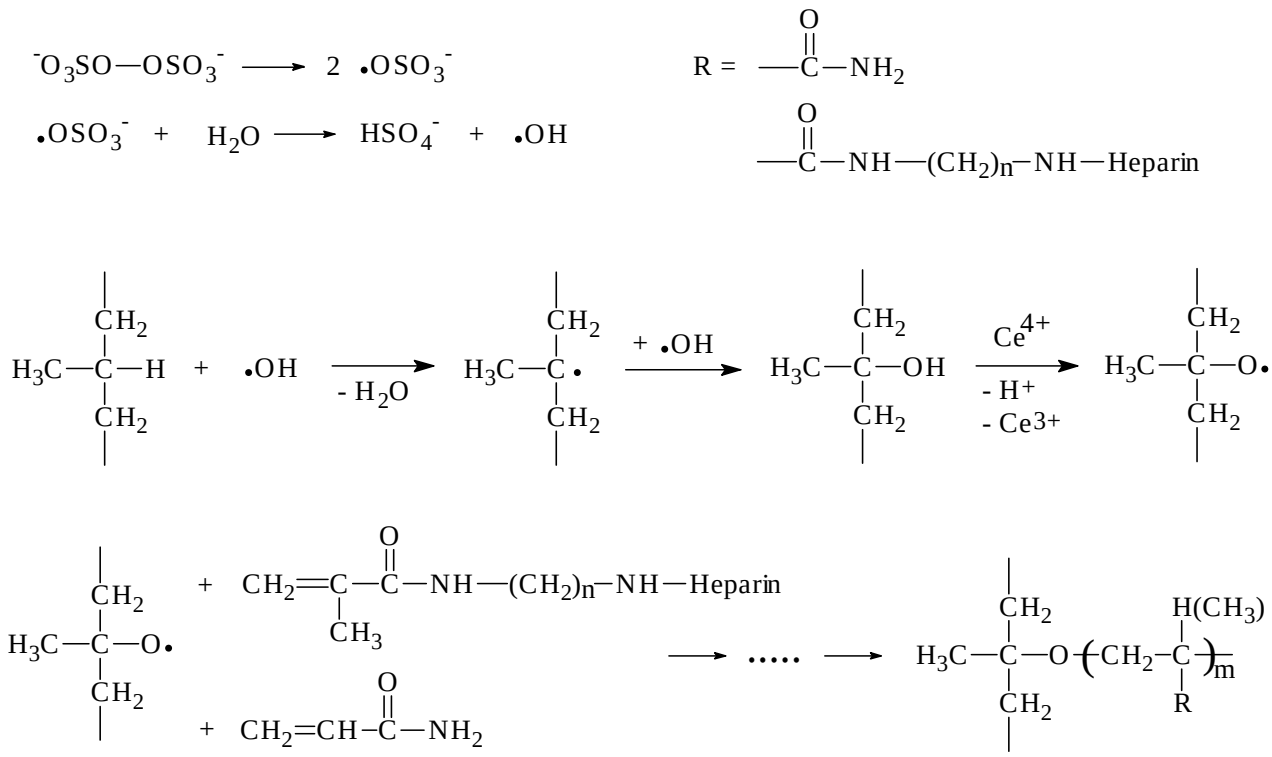


Abbildung 12: Aufpfropfen eines Heparinmacromonomers auf Polypropylen[65]

Dieses Verfahren ist bereits erfolgreich zur Modifizierung von Kanülen, Kathetern, Blutfiltern und anderen medizinischen Geräten angewendet worden. Ein Heparinmolekül mit einer Molmasse von etwa 20000 g/mol enthält dabei vierunddreißig Doppelbindungen und die Länge des Spacers beträgt drei Methylengruppierungen (n = 3). Der Spacer erhöht die Mobilität des auf der Polymeroberfläche fixierten Heparinmoleküls, was für dessen biologische Wirksamkeit von Bedeutung ist. Es wird oft eine Abnahme der Heparinaktivität nach der kovalenten Immobilisierung auf Polymeroberflächen beobachtet, da die eingeschränkte Bewegungsfreiheit die Ausbildung einer optimalen Konformation zur Antithrombin-III- und Thrombin-Bindung verhindert.

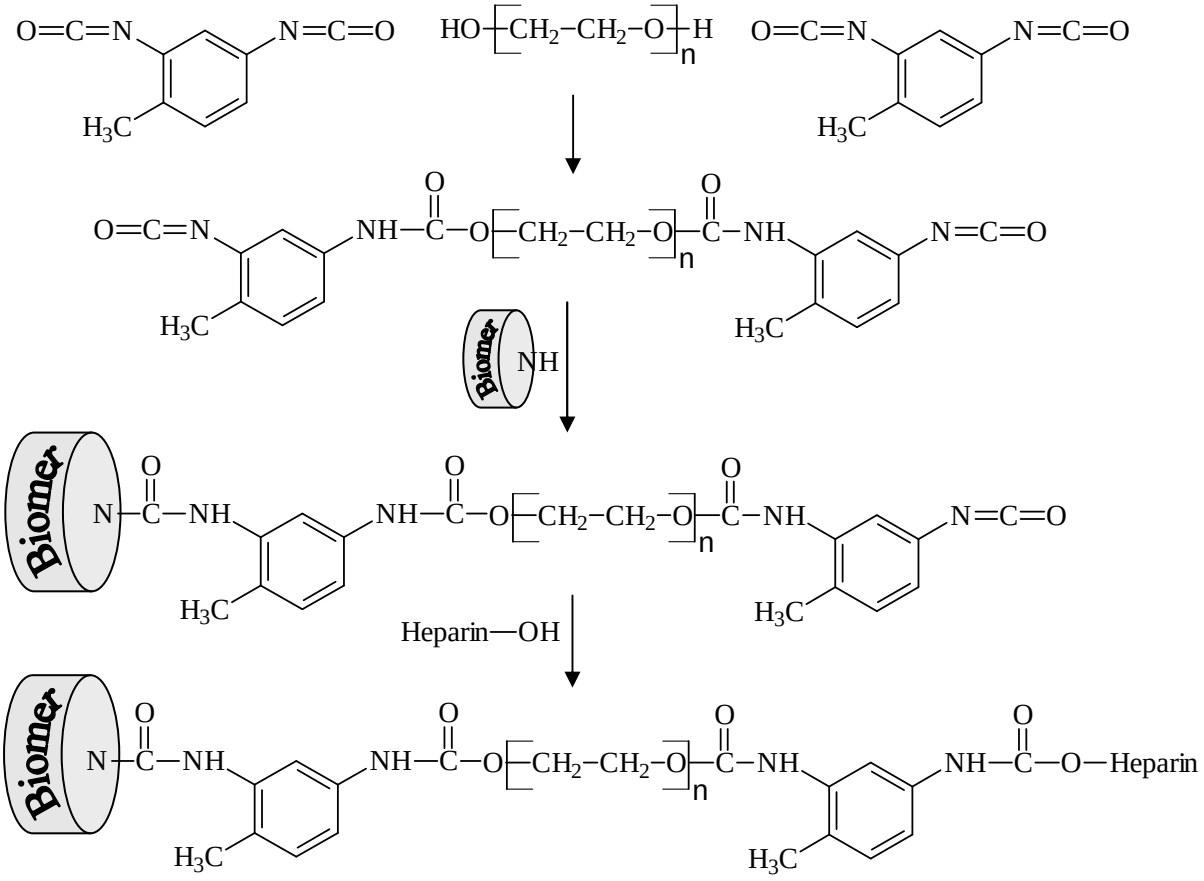


Abbildung 13: Modifizierung von Biomer-Oberflächen[66]

Kim et al[66] haben den Einfluß der Länge von hydrophilen Polyethylenoxidspacern (PEO) bei der Immobilisierung von Heparin auf segmentierten Polyurethanen (Biomer) eingehend untersucht (Abb. 13). Die Aktivität des polymergebundenen Heparins wächst hier mit zunehmendem Molekulargewicht des Spacers. Die biologische Wirksamkeit beträgt 7.5 % (PEO 200), 11.5 % (PEO 1000) bzw. 19.0 % (PEO 4000) der des freien Heparins.

Die Herstellung von heparinbeschichten Materialien, sowohl über elektrostatische als auch über kovalente Bindungen, ist sehr teuer aufgrund der aufwendigen Isolierung des Heparins beispielsweise aus der Darmschleimhaut von Schweinen (100 mg/kg). Preiswerte Alternativen zu Heparin sind sogenannte Heparinoide, deren antikoagulative Eigenschaften in der Regel jedoch deutlich geringer sind als die des Heparins. Heparinoide sind sulfatierte Polysaccharide pflanzlichen, tierischen und halbsynthetischen Ursprungs. Die folgende Abbildung liefert eine Übersicht über derzeit in der Medizin eingesetzte Wirkstoffe.

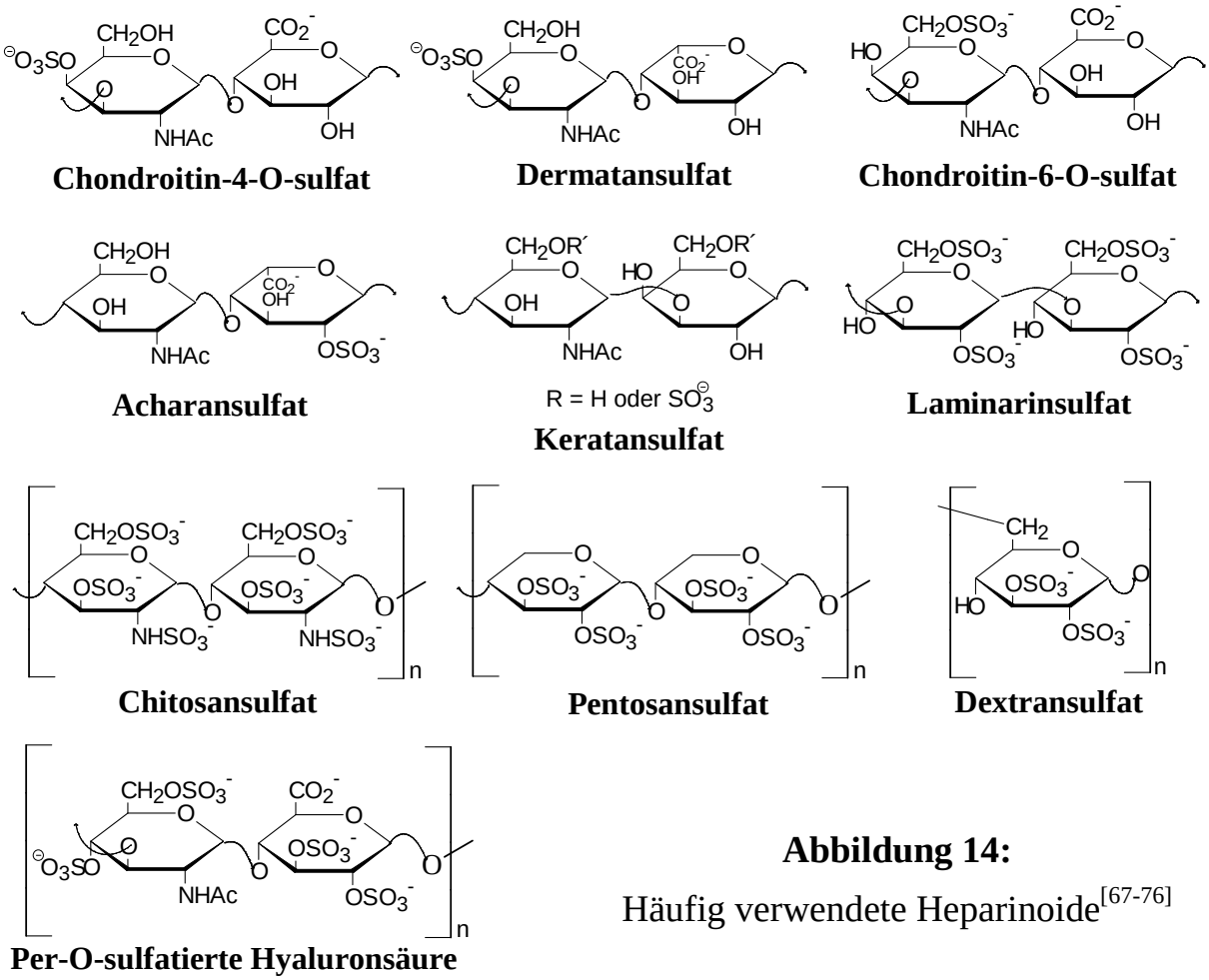


Abbildung 14:

Häufig verwendete Heparinoide[67-76]

Sowohl Heparin als auch die oben abgebildeten Heparinoide besitzen den Nachteil von schwachen glycosidischen Bindungen, die leicht unter physiologischen Bedingungen gespalten werden können. Aus diesem Grund ist selbst bei kovalenter Fixierung dieser Wirkstoffe auf polymeren Materialien, eine mit der Zeit nachlassende Blutkompatibilität der Kunststoffe zu erwarten. Heparinanaloge vollsynthetische Polymere mit stabilen C-C-Verknüpfungen stellen daher eine Alternative dar auf dem Weg zu langzeitstabilen, antithrombischen

Materialien. So zeigen Polystyrolsulfonate[77], vernetzte funktionalisierte Polystyrolsulfonate[78-80], Polyvinylsulfate[67], und Polyanetholsulfate[67] antikoagulative Aktivitäten (Abb. 15). Da diese Stoffe im Körper in der Regel nicht abgebaut werden können, zeigen sie allerdings eine erhöhte Toxizität und können daher nicht systemisch verwendet werden.

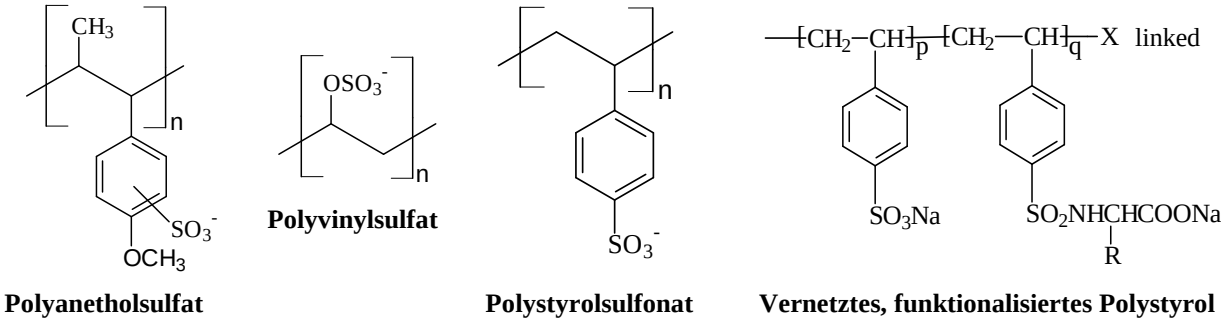


Abbildung 15: Synthetische heparinanaloge Polymere

Im Arbeitskreis von G. Wulff sind erstmalig von S. Bellmann[81,82] heparinanaloge Polymere auf Vinylzuckerbasis synthetisiert worden. Messungen zur Blutverträglichkeit haben vielversprechende Resultate geliefert. Diese Polymere (Abb. 16) zeichnen sich durch eine hohe Stabilität aufgrund von C-C-Verknüpfungen aus. Außerdem ist im Gegensatz zu den in Abbildung 15 aufgeführten Verbindungen, eine deutliche Analogie zu Heparin erkennbar, da diese Materialien ebenfalls Zuckereinheiten mit *O*- und *N*-Sulfatgruppen, OH-Gruppierungen und Carboxylaten enthalten. Eine eingehende, systematische Untersuchung dieser sulfatierten Vinylzuckerpolymere in Bezug auf ihre heparinanaloge Wirksamkeit ist Gegenstand der hier vorliegenden Arbeit.

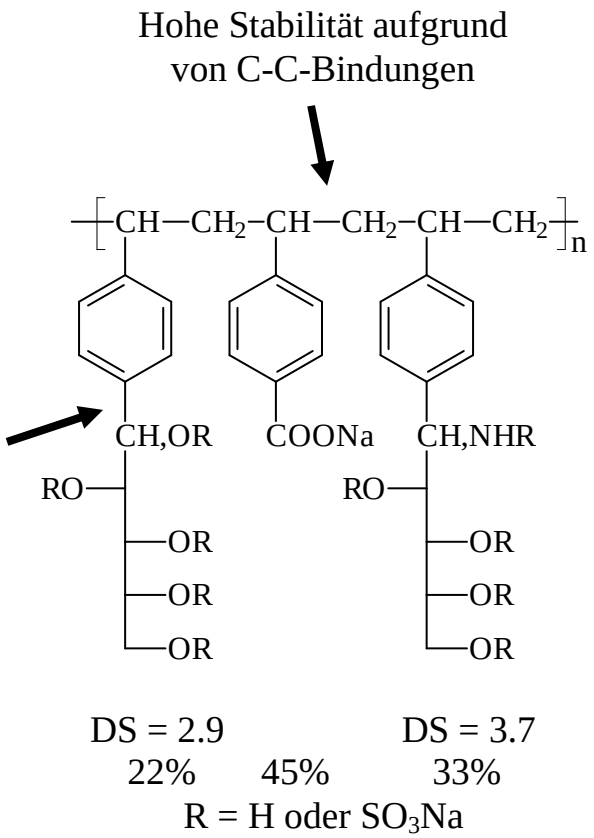


Abbildung 16:
Heparinanaloge Materialien auf Vinylzuckerbasis[81,82]

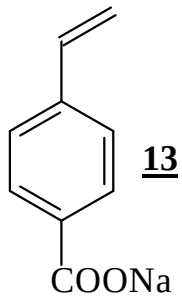
II. Theoretischer Teil

1. Zielsetzung

Im Zuge des rapiden medizinischen Fortschrittes hat sich die Biomaterialforschung in den letzten Jahren weltweit zu einer bedeutsamen wissenschaftlichen Disziplin entwickelt. Chemiker, Biologen, Physiker, Materialwissenschaftler und Mediziner entwickeln in interdisziplinärer Zusammenarbeit immer bessere, verträglichere Materialien zum Wohle des Patienten. Maßgeschneiderte synthetische Polymere finden beispielsweise in Form von Kontaktlinsen, chirurgischem Nahtmaterial, künstlichen Gelenken, Gefäßprothesen, Herz-Lungen-Maschinen, Dialysatoren, Kathetern, etc. mannigfache Verwendung[83].

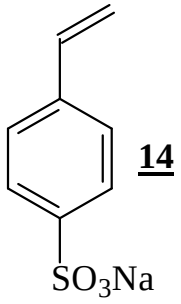
Die Synthese blutkompatibler Werkstoffe auf der Basis von sulfatierten Vinylzuckern ist Ziel der hier vorliegenden Arbeit. Durch die Variation folgender Parameter werden Struktur-Eigenschafts-Beziehungen aufgestellt, die einen Beitrag zur Optimierung der heparinanalogen Polymere leisten sollen:

- Intrinsische Viskosität bzw. Molekulargewicht des Polymers
- Monomerverhältnis in einem Copolymer
- Sulfatierungsgrad
- Wahl des Comonomers



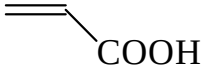
13

Na^+-p-Vinylbenzoat



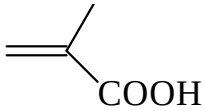
14

Na^+-p-Styrylsulfonat



Acrylsäure

15



Methacrylsäure

16

Abbildung 17: Comonomere

- Wahl des Vinylzuckers (Abb. 18)
  - **a)** Variation der Kettenlänge des Zuckermonomers
  - **b)** Einfluß der Isomerie des Monosaccharids
  - **c)** Unterschied zwischen Zuckern offenkettiger bzw. ringförmiger Struktur
  - **d)** Monomere mit einer *N*-Sulfat- oder nur *O*-Sulfatgruppen

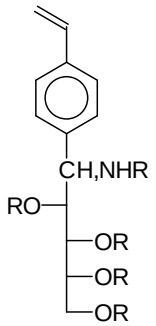
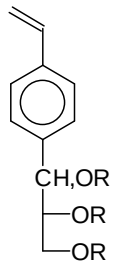
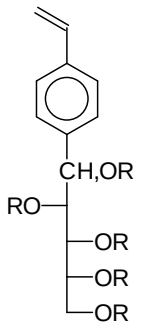
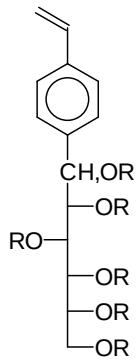
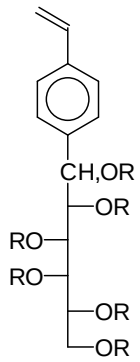
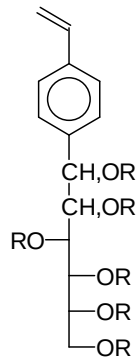
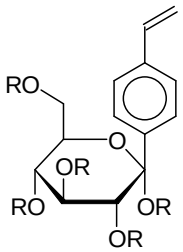
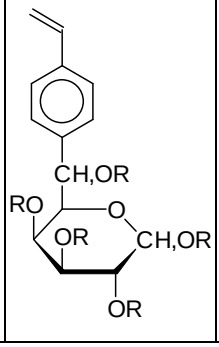
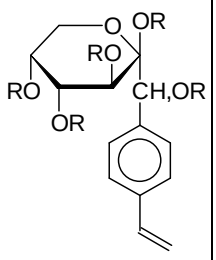
		Glycerin-**Sty**ryl	**Ara**binose-**Sty**ryl	**Glu**cose-**Sty**ryl	**Ga**lactose-**Sty**ryl	**Fruc**tose-**Sty**ryl
				Verschiedene Vinylzuckerisomere		
		Variation der Kettenlänge				
N-Sulfat	**offenkettig**					
O-Sulfat	**offenkettig**					
O-Sulfat	**ringförmig**	R = H oder SO_3Na				

Abbildung 18: Vinylzucker zur Herstellung heparinanaloger Polymere

Die hergestellten Materialien werden bezüglich ihrer antikoagulativen Eigenschaften (aktivierte partielle Thromboplastinzeit und Thrombinzeit), ihrer Bakterienadhäsion und ihrer Gleitreibungsminderung untersucht. Vielversprechende Kandidaten sollen bei der Beschichtung von medizinischen Geräten zum Einsatz kommen, eine systemische Anwendung ist nicht geplant.

2. Monomersynthesen

Die Herstellung der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten sulfatierten C-C-verknüpften Vinylzuckermonomere erfolgt nach einem stets ähnlichen Syntheseprinzip (Abb. 19).

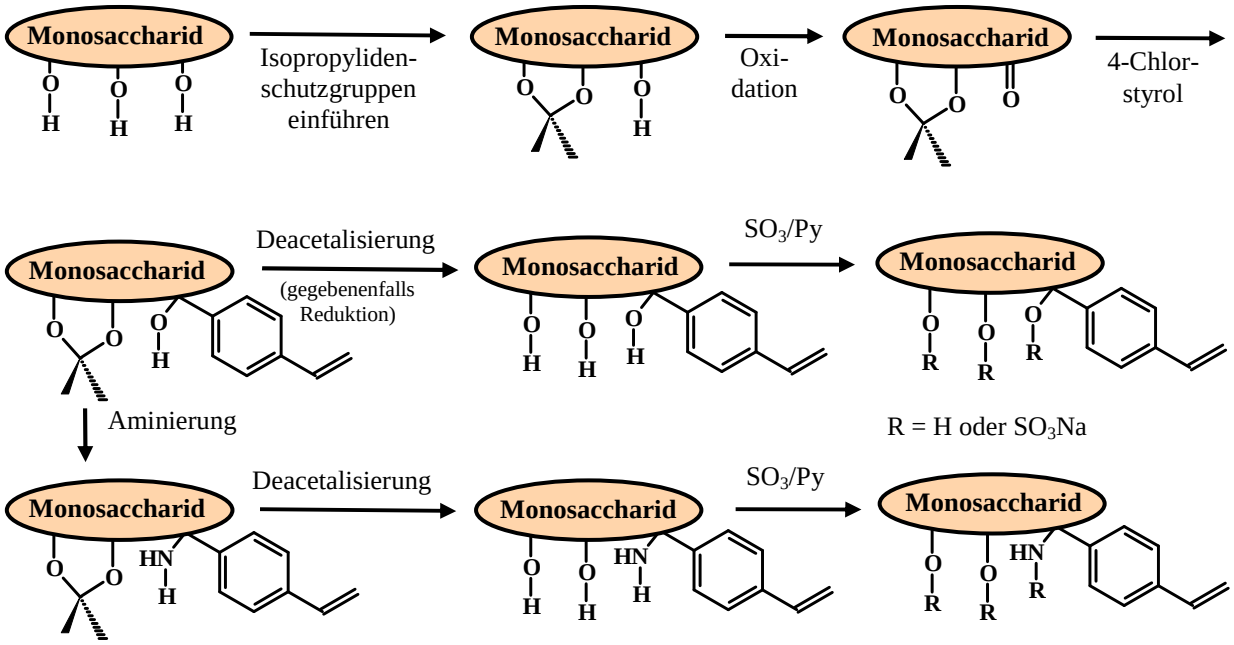
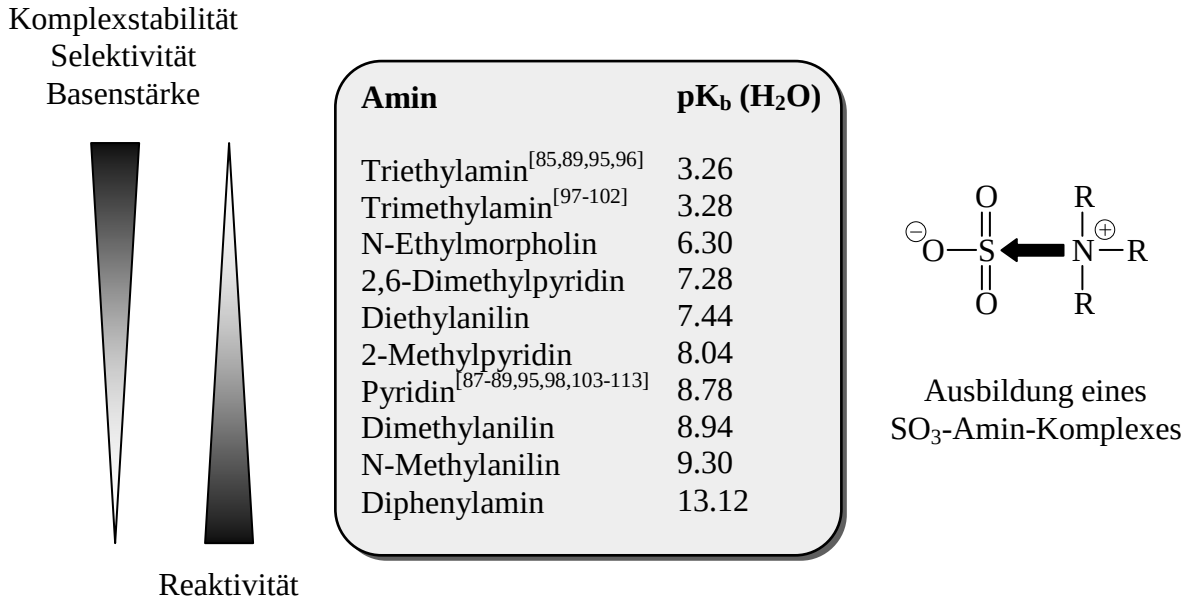


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Vinylzuckersynthesen

Zunächst werden Isopropylidenschutzgruppen in die kommerziell erhältlichen Monosaccharide eingeführt. Abgesehen vom Glucosederivat wird anschließend eine noch freie Hydroxidgruppe zu einer Carbonylfunktion oxidiert bzw. ein Diol oxidativ zum Aldehyd gespalten. Danach folgt eine Umsetzung mit 4-Chlorstyrol zu einem geschützten Styrylderivat. Dieses wird mit saurem Ionenaustauscher entschützt und gegebenenfalls reduziert. Eine Reduktion mit Natriumborhydrid ist zur Herstellung der offenkettigen Glucosestyryl-, Galactosestyryl- und Fructosestyrylderivate erforderlich, andernfalls werden die ringförmigen Zucker erhalten. Ferner ist eine Aminierung des isopropyliden-geschützten Styrylmonomers mit nachfolgender Deacetalisierung möglich. Die entschützten Monomere reagieren schließlich unter milden Bedingungen mit Hilfe eines Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplexes zu den entsprechenden sulfatierten Vinylzuckern. Im Allgemeinen sind solche Schwefeltrioxid-Amin-Komplexe[84] leichter handhabbar, besser dosierbar, weniger reaktiv und damit selektiver als andere Sulfatierungsreagenzien wie konzentrierte Schwefel-

säure[85,86], Chlorsulfonsäure[87-92] oder freies Schwefeltrioxid[93,94]. Durch gezielte Wahl des Amins läßt sich die Stabilität des Komplexes und damit dessen Reaktivität und Selektivität beeinflussen (Abb. 20). Nach eingehenden Untersuchungen[81] hat sich die Verwendung des SO_3-Pyridin-Komplexes für die Sulfatierung der Vinylzucker als die beste Alternative erwiesen. Es treten hierbei keine unerwünschten Zersetzungsreaktionen am Zucker auf, es fallen keine anorganischen Nebenprodukte an, die später nur schwer zu entfernen sind und das Pyridin läßt sich leicht azeotrop mit Wasser entfernen.



Amin	pK_b (H_2O)
Triethylamin[85,89,95,96]	3.26
Trimethylamin[97-102]	3.28
N-Ethylmorpholin	6.30
2,6-Dimethylpyridin	7.28
Diethylanilin	7.44
2-Methylpyridin	8.04
Pyridin[87-89,95,98,103-113]	8.78
Dimethylanilin	8.94
N-Methylanilin	9.30
Diphenylamin	13.12

Abbildung 20: Zusammenhang zwischen Basenstärke, Komplexstabilität, Selektivität und Reaktivität verschiedener SO_3-Amin-Komplexe

Der Sulfatierungsgrad DS der Vinylzuckermonomere kann über die C,H-Analyse ermittelt werden. Aus der Abnahme des Kohlenstoffgehaltes des sulfatierten Monomers gegenüber dem entsprechenden unsulfatierten Zucker läßt sich eine Aussage über den Sulfatgruppengehalt machen. Sulfatierte Zucker enthalten zudem stets Hydratwasser, da sie aufgrund der polaren Sulfonsäure-gruppen sehr hygroskopisch sind. Auch dieser Hydratwasseranteil kann elementaranalytisch bestimmt werden. Die hierzu benötigten Formeln sollen im Folgenden hergeleitet werden.

Zunächst wird die durchschnittliche Molmasse des sulfatierten Vinylzuckers $M(M_1s)$ aus seinem Kohlenstoffgehalt $\%C(M_1s)$, der Zahl der Kohlenstoffatome u_C in diesem Monomer und dem Atomgewicht des Kohlenstoffs von 12,011 g/mol nach Gleichung (1) berechnet.

$$M(M_1s) = \frac{u_C \cdot 12{,}011}{\%C(M_1s)} \cdot 100 \qquad (1)$$

Die Differenz des erhaltenen Molekulargewichtes $M(M_1s)$ und der Molmasse des entsprechenden unsulfatierten Derivates $M(M_1u)$ ist gleich der Summe der Molmassen der Sulfatgruppen und der des Hydratwassers im sulfatierten Derivat. DS ist hier der Sulfatierungsgrad, $M(SO_3Na)$ = 103,053 g/mol die Molmasse einer Sulfatgruppe, $M(H_2O)$ = 18,01 g/mol das Molekulargewicht von Wasser und $u_H(H_2O)$ die Zahl der Wasserstoffatome, die aus dem Hydratwasser stammen (Gleichung (2)).

$$M(M_1s) - M(M_1u) = DS \cdot M(SO_3Na) + \frac{u_H(H_2O)}{2} \cdot M(H_2O) \qquad (2)$$

Die Zahl der Wasserstoffatome $u_H(H_2O)$ aus dem Hydratwasser kann durch Gleichung (3) ausgedrückt werden, wobei $\%H(M_1s)$ der elementaranalytisch bestimmte Wasserstoffgehalt des sulfatierten Zuckers ist und $u_H(M_1s)$ der Wasserstoffzahl im sulfatierten Monomer ohne Berücksichtigung des Hydratwassers entspricht.

$$u_H(H_2O) = \frac{\%H(M_1s) \cdot M(M_1s)}{1{,}008 \cdot 100} - u_H(M_1s) \qquad (3)$$

Der Sulfatierungsgrad DS ist nach Gleichung (4) gleich der Differenz aus der Zahl der Wasserstoffatome im unsulfatierten Zucker $u_H(M_1u)$ und der Zahl Wasserstoffatome im sulfatierten Zucker $u_H(M_1s)$ ohne Berücksichtigung des Hydratwassers.

$$DS = u_H(M_1u) - u_H(M_1s) \qquad (4)$$

Gleichung (3) und (4) werden in Gleichung (2) eingesetzt und nach der Zahl der H-Atome im sulfatierten Monomer (ohne Hydratwasser) $u_H(M_1s)$ aufgelöst (Gleichung (5)).

$$u_H(M_1s) = \frac{M(M_1s) \cdot [1 - 0{,}08934 \cdot \%H(M_1s)] - M(M_1u) - 103{,}053 \cdot u_H(M_1u)}{-112{,}058} \qquad (5)$$

Anschließend läßt sich nach Gleichung (4) der Sulfatierungsgrad DS ermitteln. Die Anzahl Hydratwassermoleküle n wird nach Gleichung (6) bestimmt, wobei u_O die Zahl der Sauerstoffatome im unsulfatierten Zucker angibt.

$$n = \frac{M(M_1s) - DS \cdot 103{,}053 - u_C \cdot 12{,}011 - u_O \cdot 15{,}999 - u_H(M_1s) \cdot 1{,}008}{18{,}01} \quad (6)$$

Die Daten von verschiedenen in dieser Arbeit zum Einsatz gekommener Vinylzuckermonomere sind in Tabelle 4 zu sehen. Angegeben sind die jeweiligen Elementaranalysen, die nach den Gleichungen (1) bis (6) berechneten Summenformeln in der Form $C_{u_C}H_{u_H(M_1s)}O_{u_O}(SO_3Na)_{DS}*nH_2O$ und die Molekulargewichte $M(M_1s)$ der sulfatierten Monomere M_1s.

M_1s	Elementaranalyse	Summenformel	$M(M_1s)$
22	gef.: %C 24,52 %H 2,91 ber.: %C 24,52 %H 2,97	$C_{11}H_{11,05}O_3(SO_3Na)_{2,95}*2{,}42\ H_2O$	538,83 g/mol
31	gef.: %C 23,48 %H 2,68 ber.: %C 23,48 %H 2,74	$C_{13}H_{14,31}O_5(SO_3Na)_{3,69}*1{,}89\ H_2O$	665,00 g/mol
45	gef.: %C 22,04 %H 2,95 ber.: %C 22,04 %H 3,01	$C_{14}H_{15,92}O_6(SO_3Na)_{4,08}*3{,}43\ H_2O$	762,95 g/mol
45	gef.: %C 21,29 %H 2,63 ber.: %C 21,29 %H 2,69	$C_{14}H_{15,54}O_6(SO_3Na)_{4,46}*2{,}78\ H_2O$	789,83 g/mol
45	gef.: %C 37,46 %H 4,54 ber.: %C 37,46 %H 4,58	$C_{14}H_{18,55}O_6(SO_3Na)_{1,45}*0{,}92\ H_2O$	448,89 g/mol
57	gef.: %C 22,98 %H 2,77 ber.: %C 22,98 %H 2,83	$C_{14}H_{14,16}O_6(SO_3Na)_{3,84}*3{,}19\ H_2O$	731,74 g/mol
59	gef.: %C 27,14 %H 3,38 ber.: %C 27,14 %H 3,43	$C_{14}H_{17,07}O_6(SO_3Na)_{2,93}*2{,}02\ H_2O$	619,58 g/mol
65	gef.: %C 30,45 %H 3,18 ber.: %C 30,45 %H 3,23	$C_{14}H_{15,54}O_6(SO_3Na)_{2,46}*1{,}08\ H_2O$	552,23 g/mol
65	gef.: %C 24,72 %H 2,75 ber.: %C 24,72 %H 2,81	$C_{14}H_{14,49}O_6(SO_3Na)_{3,51}*2{,}23\ H_2O$	680,23 g/mol
67	gef.: %C 24,74 %H 3,33 ber.: %C 24,74 %H 3,39	$C_{14}H_{16,67}O_6(SO_3Na)_{3,33}*3{,}08\ H_2O$	679,68 g/mol

Tabelle 4: Elementaranalytisch bestimmte Sulfatierungsgrade DS und Molmassen $M(M_1s)$ verschiedener Vinylzuckermonomere

Die Genauigkeit der elementaranalytischen Bestimmung der Molmasse von sulfatierten Vinylzuckermonomeren beträgt etwa ± 8 g/mol, die des Sulfatierungsgrades ± 0,2 und die des Hydratwassers ca. ± 0,6. Diese Vertrauensgrenzen ergeben sich bei einer Meßunsicherheit des Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalts von ± 0,3 %. Der Sulfatierungsgrad wird daher im folgenden auf eine Stelle hinter dem Komma genau angegeben, während die Molmassen der sulfatierten Zucker auf ganze Zahlen gerundet werden.

Ergänzend ist im Fall des Monomers **45** mit dem Sulfatierungsgrad DS = 1,45 eine Schwefelelementaranalyse durchgeführt worden. Der berechnete Schwefelgehalt korreliert gut mit dem gefunden (Tabelle 5).

Monomer	Summenformel	S-Analyse	Molmasse [g/mol]
45	$C_{14}H_{18,55}O_6(SO_3Na)_{1,45}$*0,92 H_2O	gef.: %S 9,6 – 11,7 ber.: %S 10,4	448,89

Tabelle 5: Ergebnisse der Schwefelelementaranalyse von einem ausgewählten Glucosestyrylmonomer **45**

Nach diesen allgemeinen und theoretischen Vorbetrachtungen soll nun auf den folgenden Seiten erläutert werden wie die Synthesen der Zuckermonomere im einzelnen in der Praxis ablaufen.

Bei der in Abbildung 21 dargestellten Herstellung des Glycerinstyrylderivates **22** wird D-Mannit **17** als Ausgangsmaterial verwendet, das nach einer Vorschrift von C. R. Schmid[114] mit Dimethoxypropan zu 1,2:5,6-Diisopropyliden-D-mannit **18** umgesetzt wird. Das Diol **18** wird dann mit Natriummetaperiodat gespalten zu 2,3-O-Isopropyliden-D-glyceraldehyd[114] **19**. Da der Aldehyd **19** sehr leicht polymerisiert, sollte er innerhalb weniger Tage weiter verarbeitet werden. Gegebenenfalls entstandenes Polymer kann durch Erhitzen auf mindestens 90 °C depolymerisiert und durch Redestillation kann ein großer Anteil des freien Aldehyds zurückgewonnen werden. Die Styrylgruppe wird über eine Grignardreaktion mit 4-Chlorstyrol in den Zucker eingeführt[115]. Eine säulenchromatographische Reinigung von **20** ist nicht erforderlich, da auch die Deacetalisierung des Rohproduktes **20** mit dem saurem Ionenaustauscher IR-120 zu sehr reinem 1-(4-Vinylphenyl)-D-erythro(D-threo)-triol **21** führt. Bei der Deacetalisierung wird im Unterschied zu den von *H. Diederichs*[116,117] erarbeiteten Standardentschützungsvorschriften ein hoher THF-Anteil als

Lösungsmittel verwendet (H_2O : THF : EtOH ; 2 : 2 : 1), um die Löslichkeit und die damit gekoppelte Ausbeute des entstehenden Triols **21** zu erhöhen. *H. Diederichs* hat zur Entschützung von Arabinosestyryl-, Fructosestyryl- und Galactosestyrylderivaten Lösungsmittelgemische aus Wasser/Ethanol (6:1) benutzt. Das Glycerinstyrylderivat **21** besitzt allerdings zwei bzw. drei OH-Gruppen weniger, so daß die unpolare Styrylgruppe stärker dominiert. Der Einsatz eines zu polaren Lösungsmittels führt hier zur Ausfällung des Zuckers während der Entschützung und zu entsprechend geringen Ausbeuten. Schließlich wird der wasserlösliche, sulfatierte Zucker **22** durch Reaktion von **21** mit SO_3-Pyridin-Komplex erhalten.

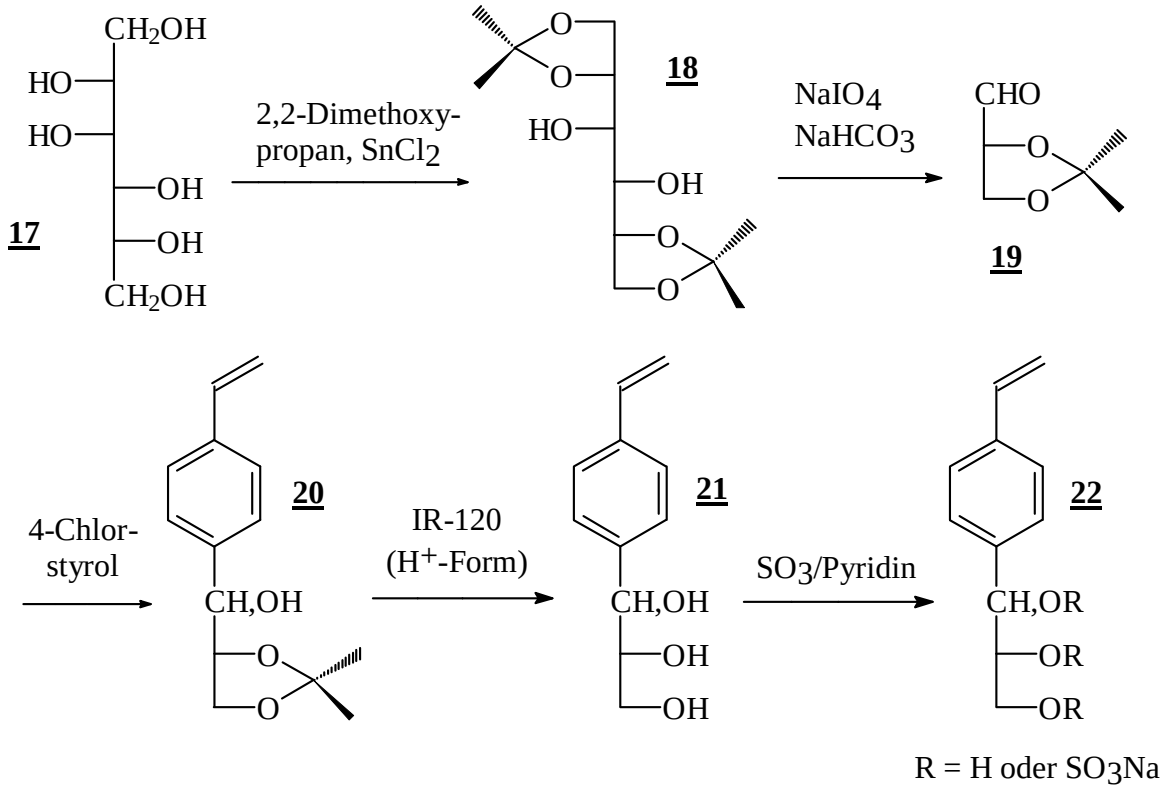


Abbildung 21: Synthese der Glycerinstyrylderivate (GlycSty)

Zur Synthese der Arabinosestyrylderivate in Abbildung 22 wird D-Glucono-lacton **23** nach Chittenden[118] säurekatalysiert mit Dimethoxypropan, Methanol und Aceton zum Regioisomerengemisch der isopropylidengeschützten Methylester **24** und **25** geöffnet. Die im Verhältnis 85 : 15 entstandenen Isomere werden mit Lithiumaluminiumhydrid zu den korrespondierenden Diolen **26** und **27** reduziert. Durch Diolspaltung mit Natriummetaperiodat[119] erhält man den Arabinosealdehyd **28**, der mit 4-Chlorstyrol in einer Grignard-Reaktion zum

Arabinosestyryl[115] **29** umgesetzt wird. Das Nebenprodukt **27** reagiert nicht mit Natriummetaperiodat und kann durch Destillation abgetrennt werden. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt und fällt danach in kristalliner Form an. **29** wird danach mit saurem Ionenaustauscher zu **30** entschützt[116] und die deacetalisierte Verbindung schließlich mit SO_3-Pyridin-Komplex zu **31** umgesetzt[81]. **29** kann mit Hilfe eines Gemisches aus Dimethylsulfoxid und Oxalylchlorid in das Keton überführt werden und anschließend über eine reduktive Aminierung[81] mit Ammoniumacetat und Natriumcyanoborhydrid in den entsprechenden geschützten Aminozucker **32** umgewandelt werden. Dieser kann mit 0,1 N Salzsäure zu **33** deacetalisiert[81] und abschließend mit SO_3/Pyridin zu **34** sulfatiert[81] werden.

Nach einer von Brock[120] modifizierten Vorschrift von Venhoff[121] und Schmid[115] können die isomeren Glucosestyrylmonomere **38** und **39** in hohen Ausbeuten erhalten werden (Abb. 23). Nach der Ringöffnung des Glucono-lactons **23** mit Diethylamin zum Amid folgt die säurekatalysierte Einführung der Isopropylidenschutzgruppen. Die hierbei erhaltenen regioisomeren Amide **36** und **37** werden nach Deprotonierung der noch freien OH-Gruppe mit Ethylmagnesiumbromid über eine Grignard-Reaktion mit 4-Chlorstyrol in die Styrylzucker **38** und **39** überführt. Durch direkte Entschützung von **38** und **39** wird das ringförmige Derivat **41** erhalten[120], das anschließend zum sulfatierten Zucker **42** umgesetzt wird[120]. Um zu den offenkettigen Vertretern zu gelangen, muß das Gemisch aus **38** und **39** zunächst mit Natriumborhydrid zu **43** reduziert werden[120]. Im Anschluß folgt die Deacetalisierung mit saurem Ionenaus-tauscher[120] zu **44** und die Sulfatierung[120] zu **45**.

Die Synthese der isomeren Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-1-amino-1-deoxy-D-glucose **48** und **49** ist im Rahmen dieser Arbeit weiter optimiert worden (Abb. 24). Das bisher eingesetzte Verfahren der reduktiven Aminierung mit Ammoniumacetat und Natriumcyanoborhydrid hat zu relativ geringen Aus-beuten geführt[81,120]. Bessere Umsätze werden erhalten, wenn die Carbonylfunk-tion zunächst mit Hydroxylaminhydrochlorid in das Oxim **46** bzw. **47** überführt und dieses anschließend mit Natrium-bis-(2-methoxyethoxy)-aluminiumdi-hydrid (Handelsname: Vitride) zum Amin **48** bzw. **49** reduziert wird. Vitride ist ein spezielles Reduktionsmittel[122,123], dessen Reaktivität der des Lithiumalu-miniumhydrids entspricht, aber nicht dessen Nachteile besitzt wie Selbstentzün-dung, geringe Lagerfähigkeit und beschränkte Löslichkeit. Bei der Reduktion mit Vitride liegt im Gegensatz zur Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid eine homogene Lösung vor, daher ist nur ein geringer Überschuß des Hydrids nötig.

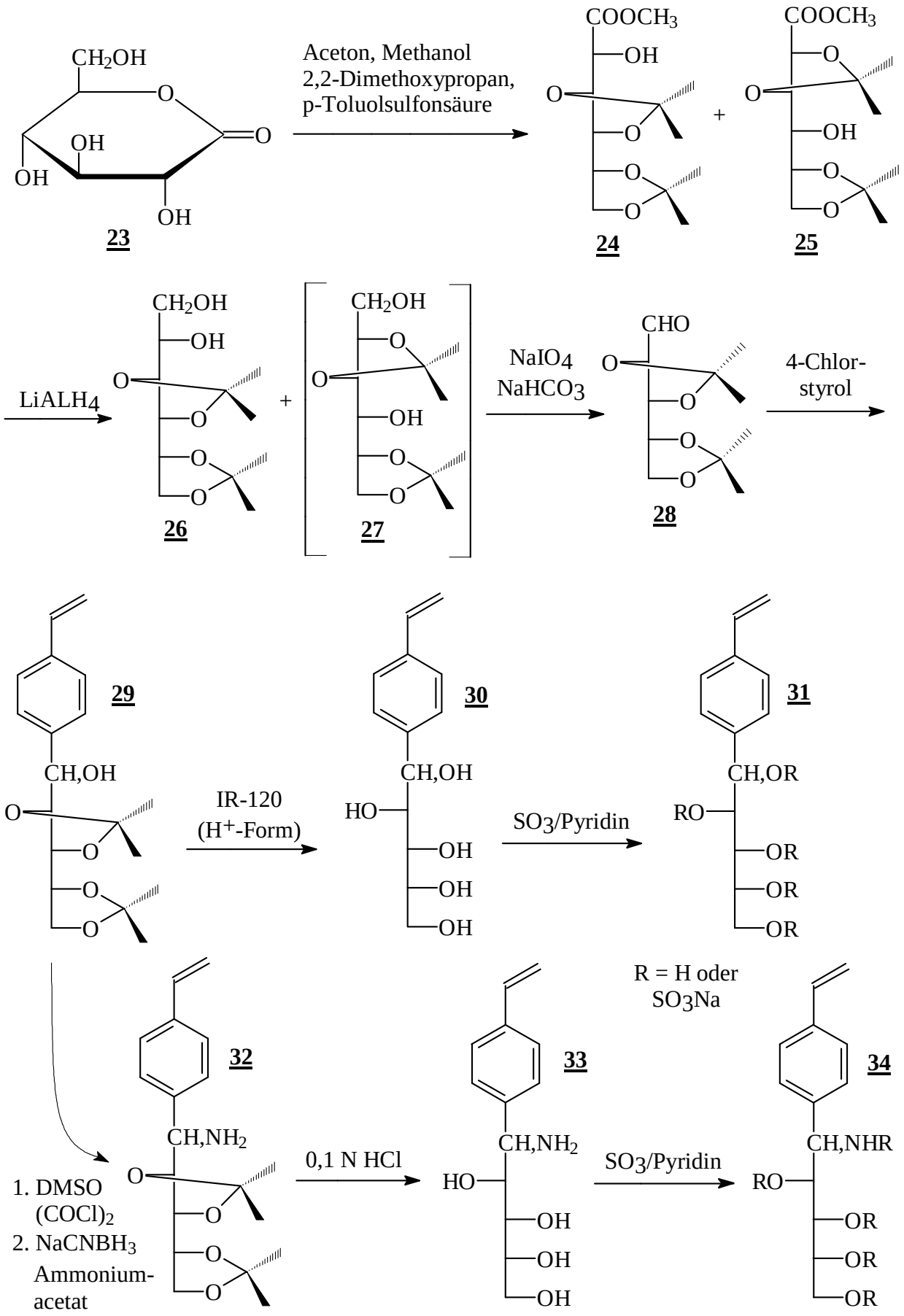


Abbildung 22: Synthese der Arabinosestyrylderivate (AraSty)

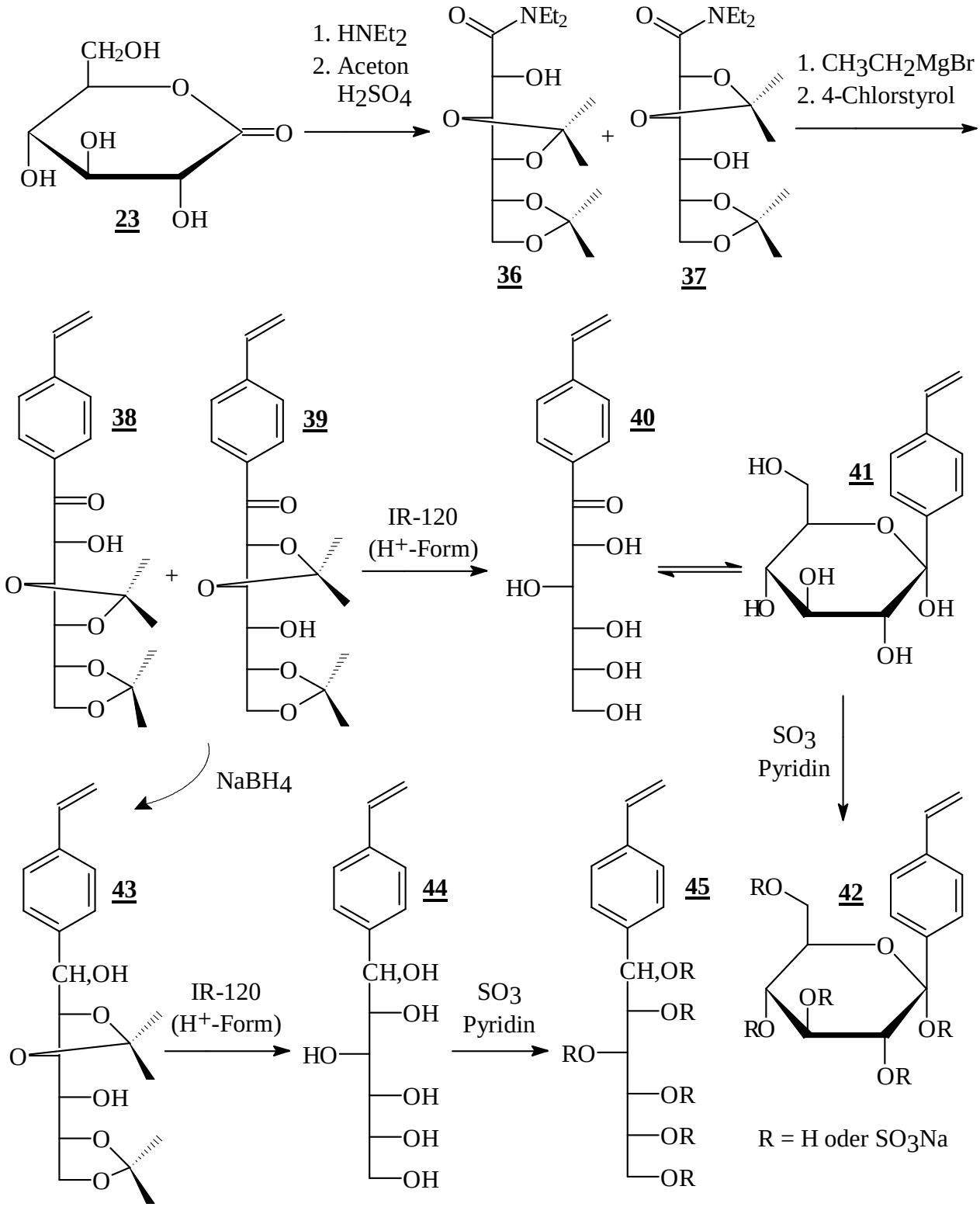


Abbildung 23: Synthese der Glucosestyrylderivate (GluSty)

Außerdem besteht die Möglichkeit, bei hohen Konzentrationen zu arbeiten, so daß die Befüllung der Reaktionsgefäße zwei- bis viermal so hoch liegen kann wie im Fall von Lithiumaluminiumhydrid bzw. anderen gängigen Hydriden. Die Ausbeute bei der Reduktion von **46** / **47** zu **48** / **49** mit Vitride liegt bei 80 % und damit deutlich über der entsprechenden Ausbeute von 30 % bei Einsatz von Lithiumaluminiumhydrid. Die regioisomeren, geschützten Amine können im nächsten Schritt mit 0,1 N Salzsäure zu **50** deacetalisiert[120] werden.

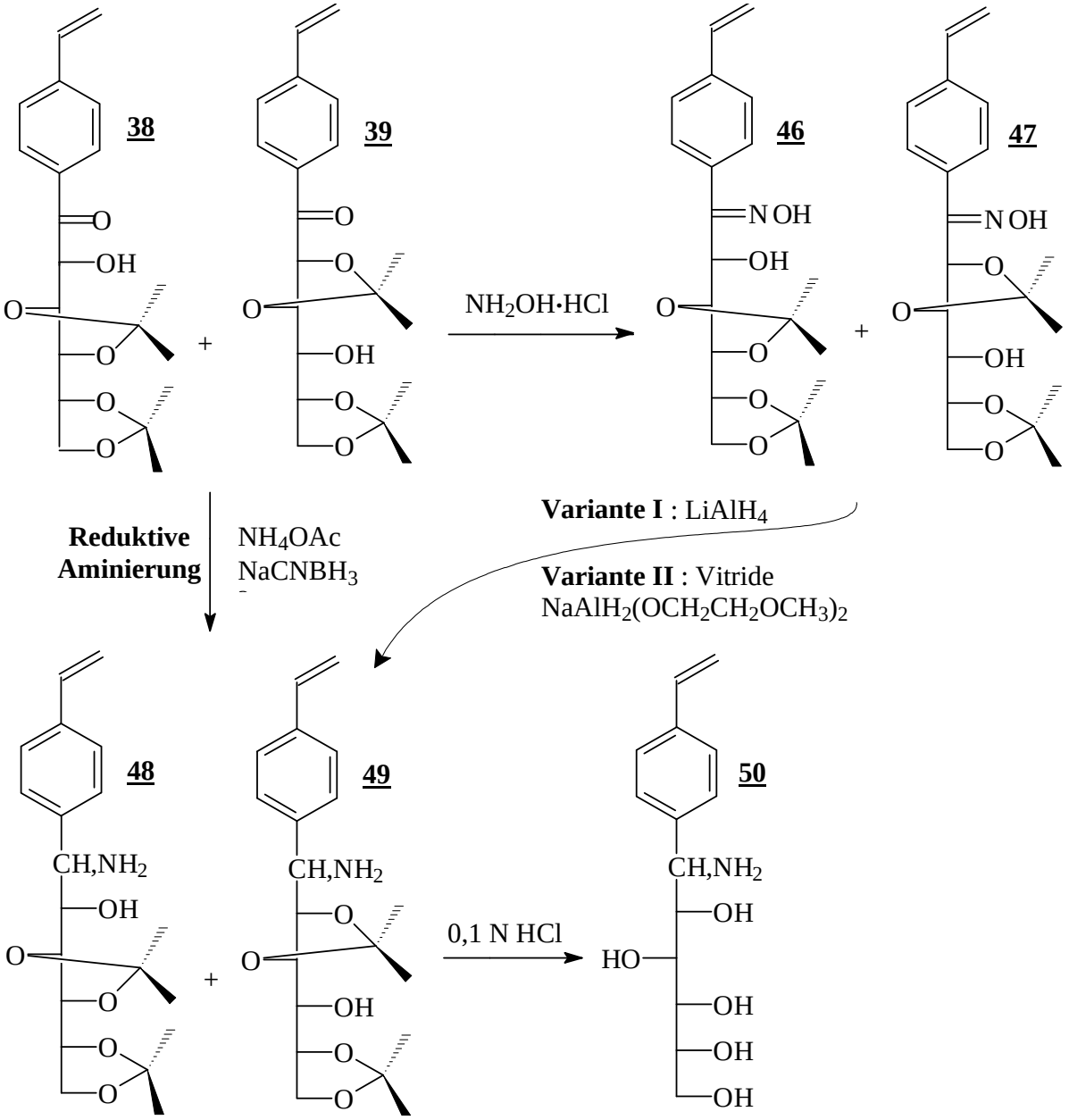


Abbildung 24: Synthese eines Glucosestyrylderivates mit einer N-Sulfatgruppe

In Abbildung 25 ist die Synthese der Galactosestyrylderivate dargestellt. Nach Einführung von Isopropyliden-Schutzgruppen durch Reaktion von D-Galactose **52** mit Aceton in Gegenwart von wasserfreiem Eisen-(III)-chlorid, wird die verbliebene primäre Hydroxylgruppe der 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galactopyranose **53** in einer Swern-Oxidation[124-126] mittels DMSO/Oxalylchlorid zum entsprechenden Aldehyd **54** oxidiert.

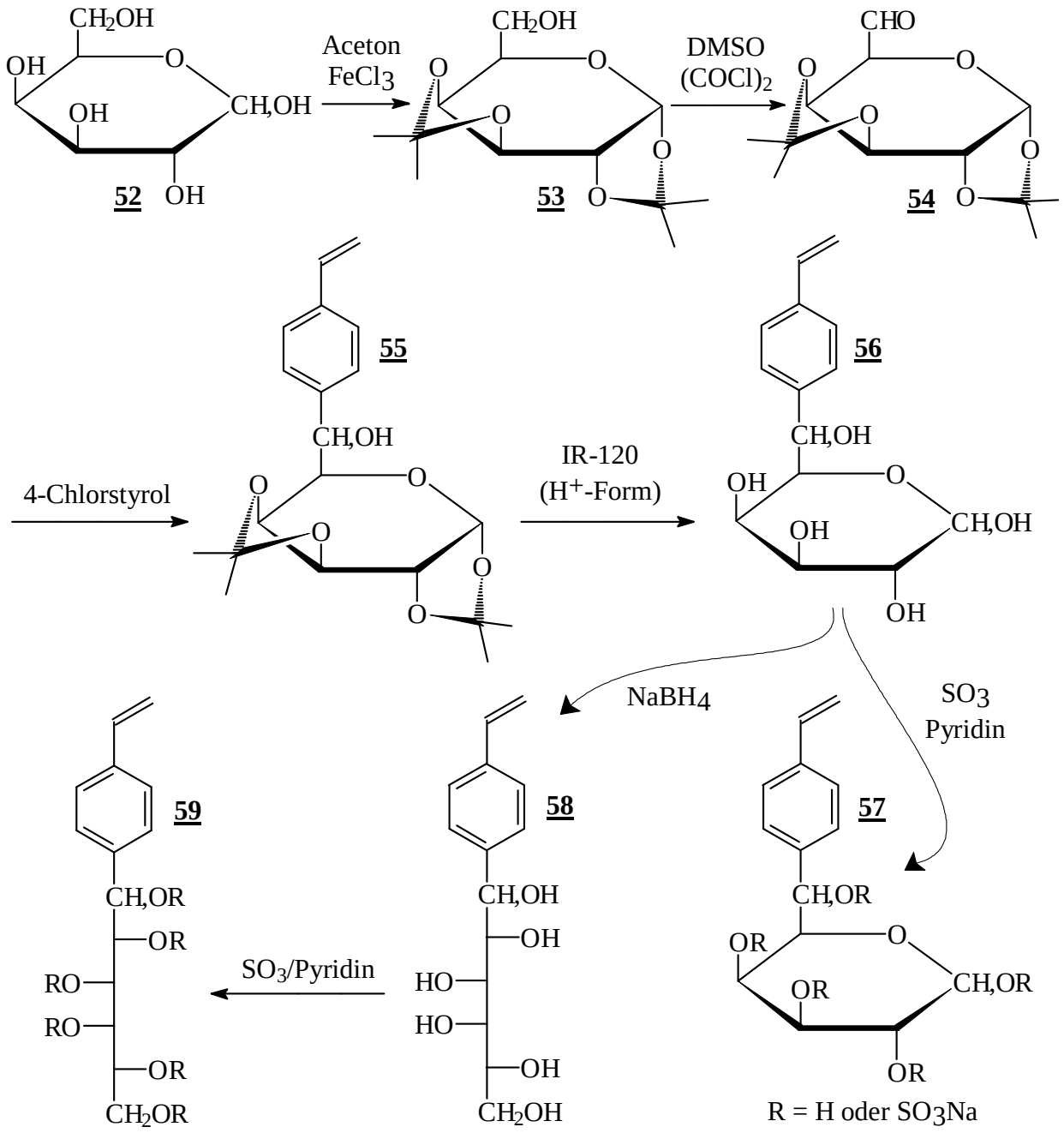


Abbildung 25: Synthese der Galactosestyrylderivate (GaSty)

Dieser wird in einer Grignardreaktion mit 4-Chlorstyrol zur 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-6-(4-vinylphenyl)-D,L-glycero-α-D-galactopyranose **55** umgesetzt[115]. Nach Entschützung wird das ringförmige Derivat **56** erhalten[116], das zu **57** sulfatiert wird oder nach Reduktion mit Natriumborhydrid und anschließender Einführung der Sulfatgruppen zu dem offenkettigen Zucker **59** reagiert.

Die Darstellung der Fructosestyrylderivate (**61** - **67**) (Abb. 26) verläuft analog zu dem zuvor beschriebenen Syntheseweg der Galactosestyrylmonomere.

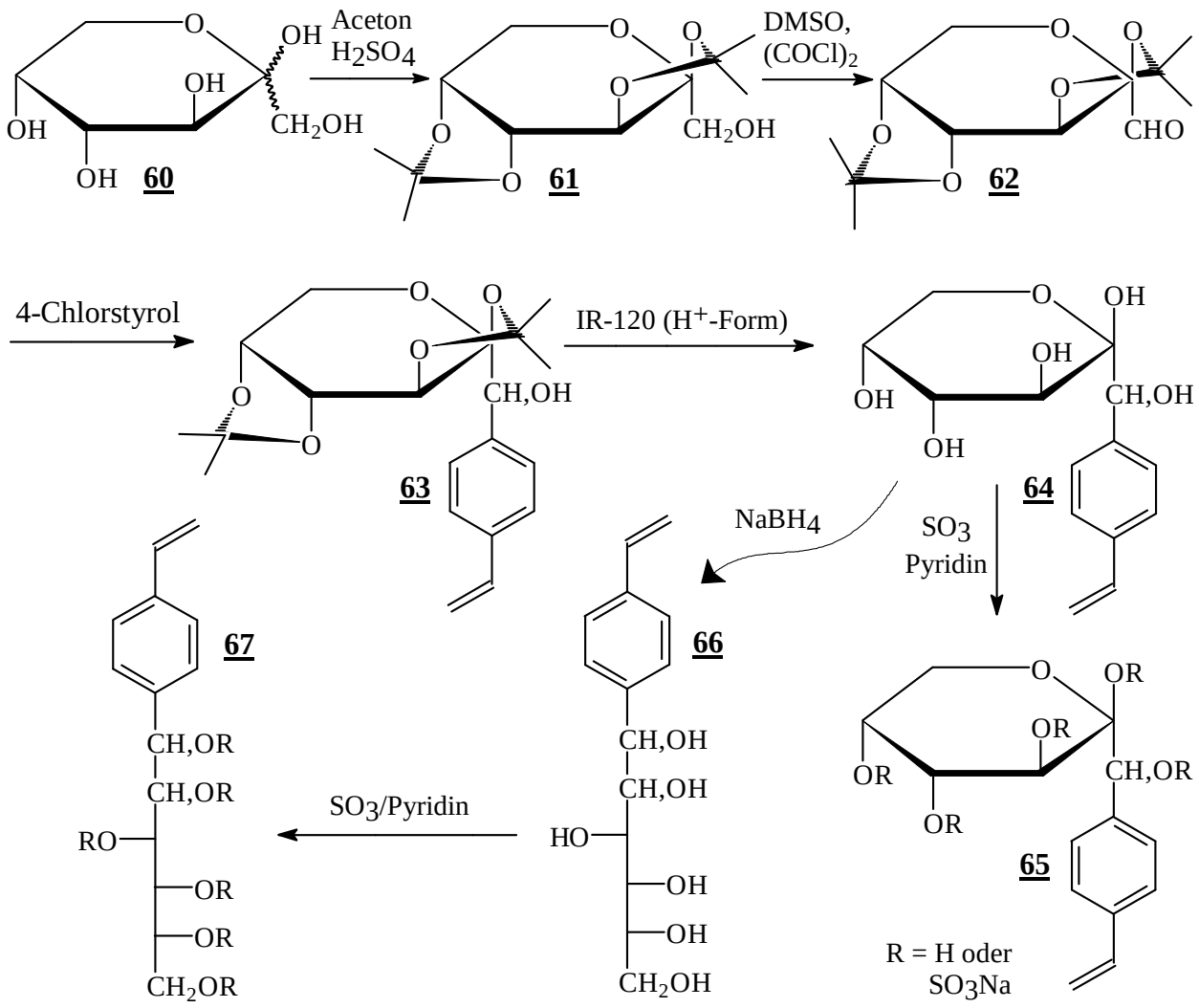


Abbildung 26: Synthese der Fructosestyrylderivate (FrucSty)

Zur Gewinnung des Na^+-p-Vinylbenzoats **13** wird eine Grignardreaktion mit 4-Chlorstyrol **68** und Trockeneis durchgeführt. Die dabei entstandene p-Vinylbenzoesäure[127] **69** wird anschließend mit einer äquimolaren Menge Natriumhydroxid in das entsprechende Carboxylat[81] **13** überführt (Abb. 27).

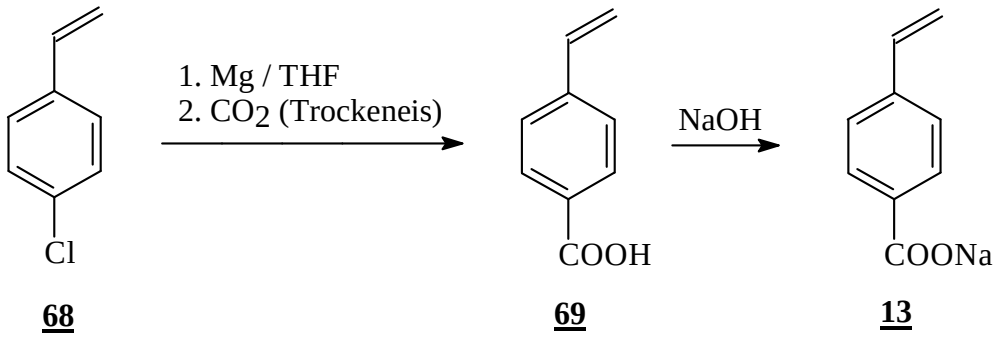
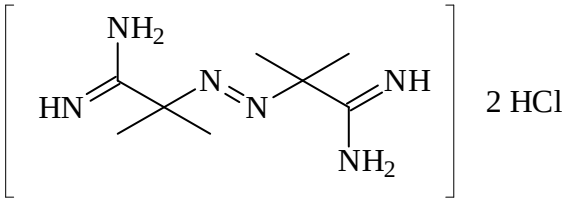


Abbildung 27: Herstellung des Na^+-p-Vinylbenzoats **13**

3. Herstellung der Polymere

Sämtliche Polymere sind über eine wäßrige, radikalische Lösungspolymerisation gewonnen worden. Das wasserlösliche 2,2´-Azobis(2-amidinopropan)-dihydrochlorid **70** wird als Initiator eingesetzt (Abb. 28). Da ein Zerfall dieses Starters erst oberhalb von 55°C einsetzt, muß die Polymerisationstemperatur oberhalb dieses Wertes liegen. In früheren Arbeiten[81,120] hat sich eine Temperatur von 60°C als ideal erwiesen, und sie wird aus diesem Grund auch hier stets gewählt. Zur Polymerisation werden die Monomere zusammen mit dem Initiator **70** in bidestilliertem Wasser gelöst und nach gründlicher Entgasung des Gemisches solange erhitzt, bis eine merkliche Viskositätserhöhung zu beobachten ist. In der Regel ist dies nach vierundzwanzig Stunden der Fall. Anschließend wird die Polymerisation durch Eintropfen der viskosen Polymerlösung in einen 10 – 15 fachen Überschuß an kaltem Ethanol abgebrochen. Nach Abtrennung der Polymere durch Zentrifugation bzw. Filtration, zweitägiger Trocknung bei Raumtemperatur über Phosphorpentoxid und abschließender Zerkleinerung im Mörser, werden weiße bis gelbliche Polymerpulver gewonnen.



70

Abbildung 28: Initiator 2,2´-Azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid (V50, ABAH)

Es existieren, wie in Abbildung 29 dargestellt, grundsätzlich zwei Wege, um zu sulfatierten Polymeren zu gelangen. Die sulfatierten Vinylzuckermonomere können direkt polymerisiert werden oder es besteht darüber hinaus die Möglichkeit, zunächst die unsulfatierten Zucker zu polymerisieren und anschließend polymeranalog die Sulfatgruppen einzuführen. Das letzte Verfahren besitzt den Vorteil, Polymere zu liefern, die ein besseres Fällungsverhalten in Ethanol zeigen, die höhere Molmassen aufweisen und frei von Monomerspuren sind.

Im Gegensatz dazu werden bei der Polymerisation sulfatierter Monomere in vielen Fällen Materialien mit deutlich niedrigeren Molekulargewichten erhalten, die im ^{1}H-NMR oft noch Vinylprotonen erkennen lassen. Die Fällung in Ethanol liefert hier in der Regel feine Pulver und die Polymere sind nur durch Zentrifugation zu isolieren. Im Fall der unsulfatierten Polymere gelangt man hingegen zu faserigen, gut filtrierbaren Materialien.

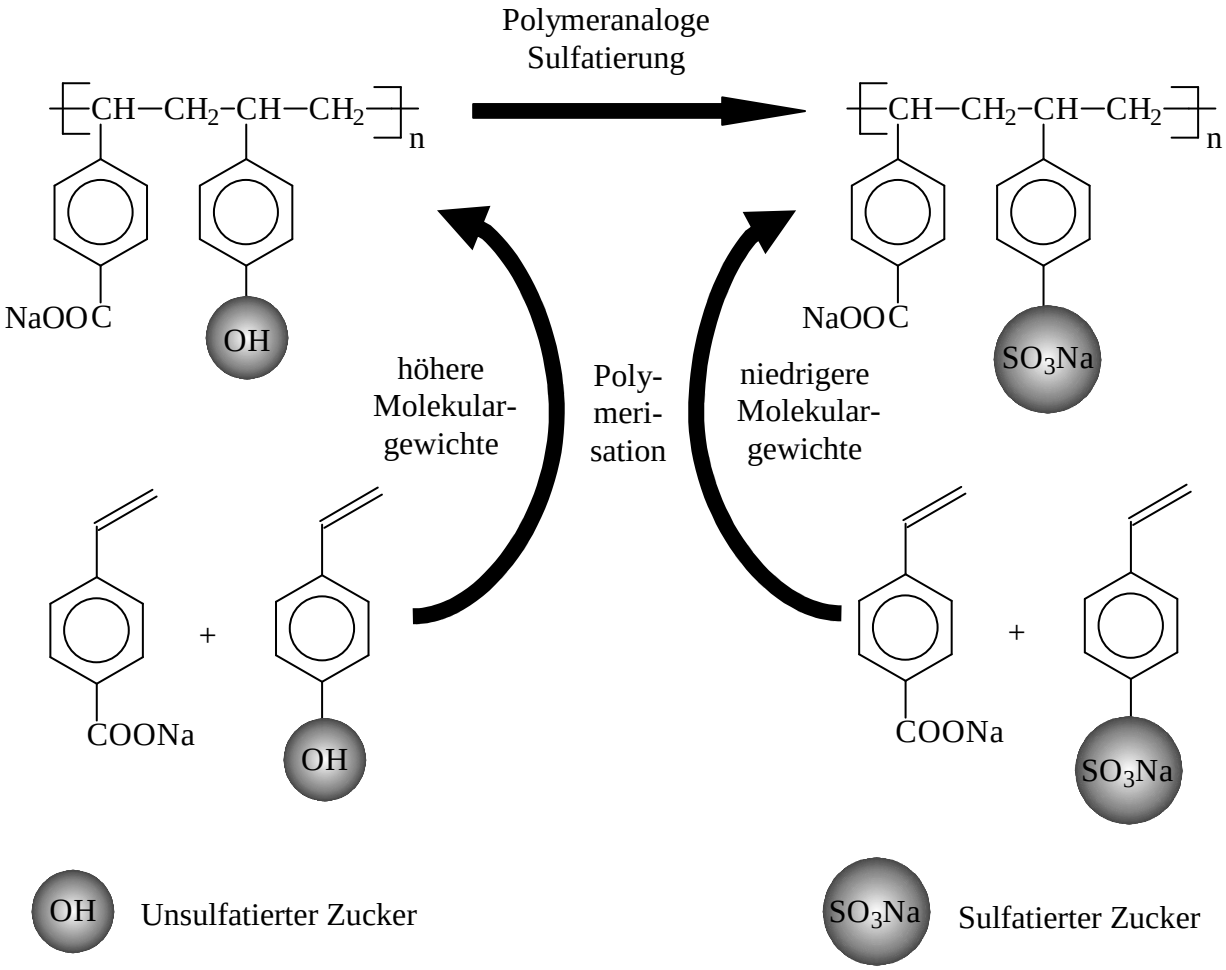
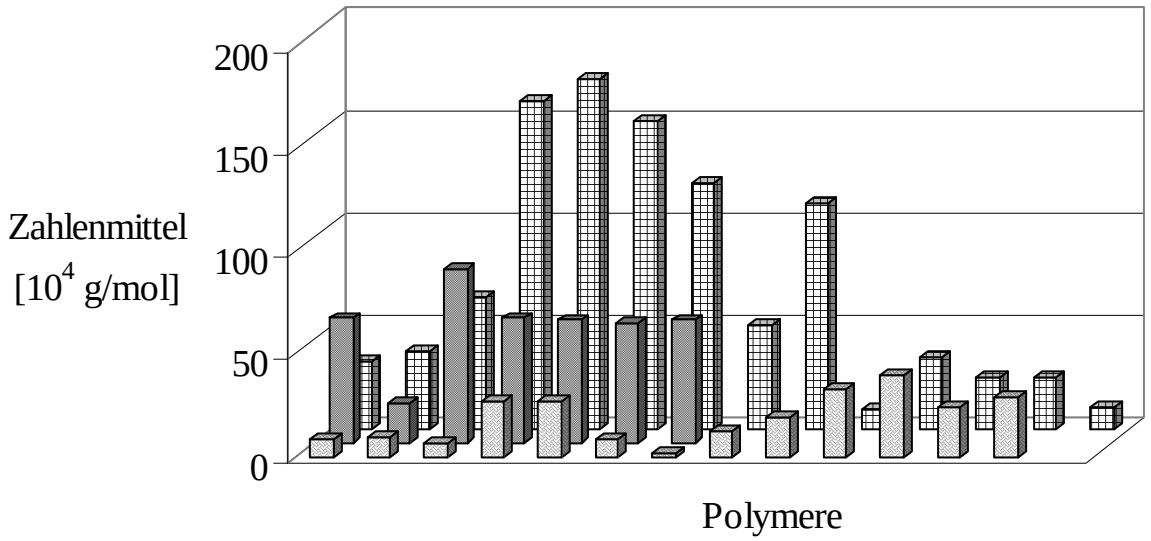


Abbildung 29: Gegenüberstellung der Polymerisation sulfatierter bzw. unsulfatierter Vinylzuckermonomere

Eine Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten ist vermutlich das Auftreten von Radikalkettenübertragungsreaktionen auf das Schwefelatom während der Polymerisation der sulfatierten Derivate, die zur Entstehung kürzerer Polymerketten führen. Darüberhinaus könnte die höhere Einheitlichkeit und Reinheit der unsulfatierten Monomere eine Rolle spielen.

Sulfatierte Zucker auf Glucosestyryl-, Arabinosestyryl-, Galactosestyryl- oder Fructosestyrylbasis sind stets Gemische aus Zuckern verschiedener Sulfatierungsgrade, die im Mittel um einen bestimmten Substitutionsgrad streuen. Zudem läßt sich in den wenigsten Fällen eine Aussage darüber treffen, welche OH-Gruppen sulfatiert sind und welche nicht. Eine Ausnahme bildet das sulfatierte Glycerinstyrylderivat, welches aufgrund der verminderten OH-Gruppenzahl einheitlicher herzustellen ist. Dieses ist, verglichen mit den anderen Derivaten, besser zu polymerisieren (Abb. 30).



Polymerisation sulfatierter Arabinose-, Glucose-, Fructose- und Galactosederivate
Polymerisation des sulfatiertern Glycerinderivates
polymeranaloge Sulfatierung

Abbildung 30: Einfluß des Sulfatierungsverfahrens auf das Molekulargewicht der Polymere (Polymerauftragung auf der x-Achse ist willkürlich erfolgt)

Die polymeranalogen Sulfatierungen verlaufen analog wie die Sulfatierungen der Monomere mit einem Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex in Pyridin. Im ersten Fall liegen heterogene Reaktionsgemische vor, während man im letzteren homogene Lösungen erhält. Durch IR-spektroskopische Untersuchungen läßt sich die Sulfatierung der Polymere nachweisen. Im Bereich von 1220-1260 cm^{-1} tritt die charakteristische S=O-Bande auf. Abbildung 31 zeigt die FT-IR-Spektren eines Polymers vor (**A**) und nach (**B**) Durchführung der polymeranalogen Sulfatierung.

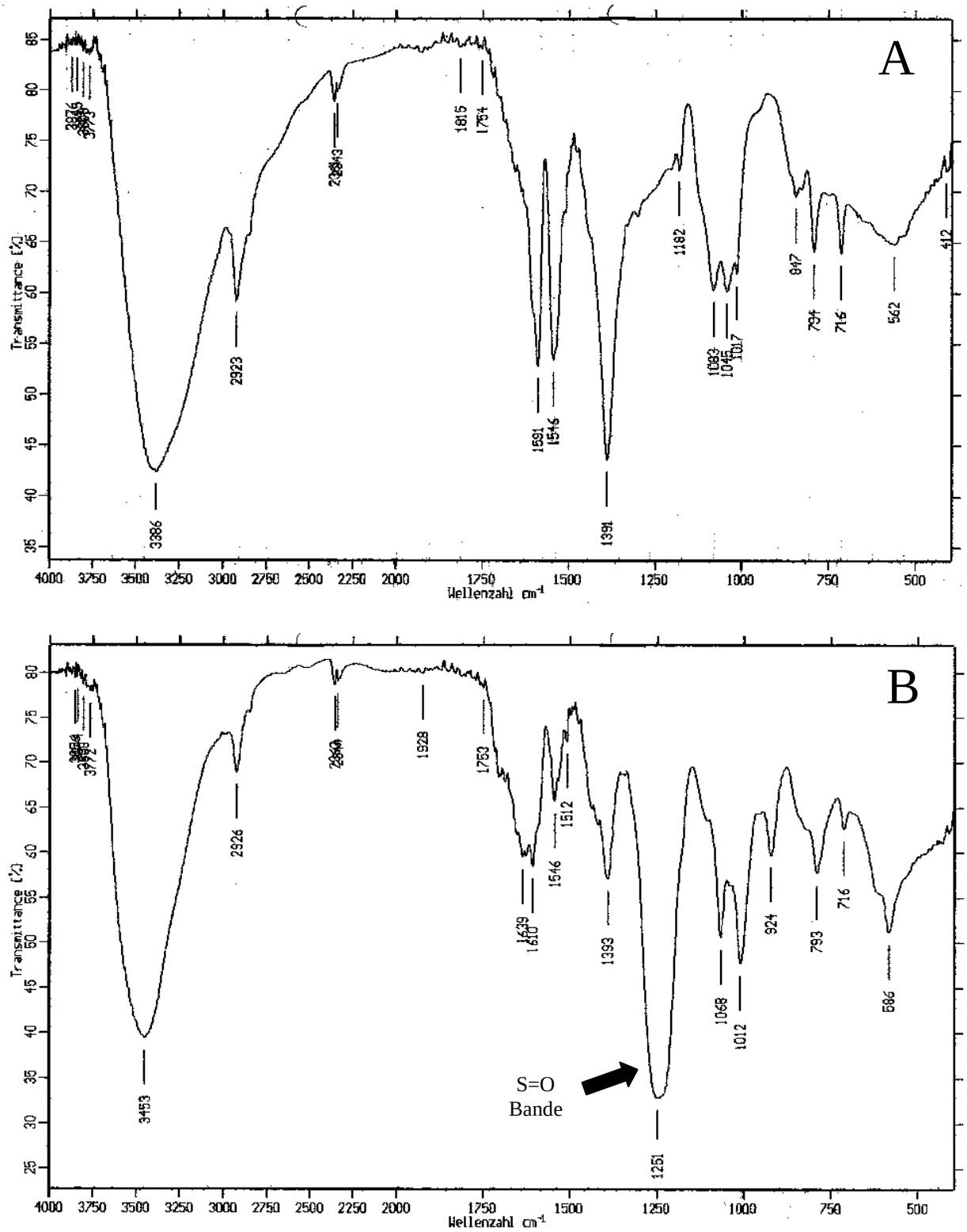
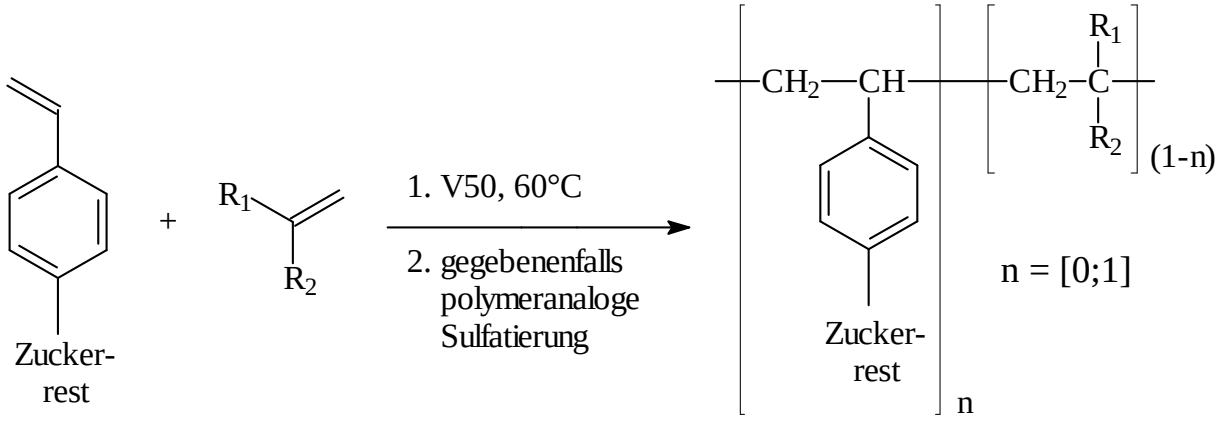


Abbildung 31: FT-IR-Spektren vor **A** und nach **B** der polymeranalogen Sulfatierung

Alle hergestellten Polymere lassen sich durch das in Abbildung 32 wiedergegebene allgemeine Syntheseschema beschreiben



30, **41**, **44**, **56**, **58**, **64**, **66**
unsulfatierte Vinylzucker

22, **31**, **42**, **45**, **57**, **59**, **65**, **67**
sulfatierte Vinylzucker

13 R_1 = H, R_2 = $(C_6H_4)COONa$
14 R_1 = H, R_2 = $(C_6H_4)SO_3Na$
15 R_1 = H, R_2 = COOH
16 R_1 = CH_3, R_2 = COOH

Abbildung 32: Allgemeines Syntheseschema für Vinylzuckerpolymere

Das Polymerisationsverhalten der Monomere wird nicht nur wie beschrieben durch deren Sulfatierungsgrad beeinflußt, sondern auch die Struktur des Zuckermonomers und die Art des Comonomers spielen eine entscheidende Rolle. Offenkettige Zucker lassen sich in der Regel besser polymerisieren als die entsprechenden ringförmigen Vertreter. Im ersten Fall werden weiße Materialien erhalten, deren Lösungen Staudingerindizes bis zu 400 ml/g aufweisen können. Polymere, die auf ringförmigen Derivaten basieren, sind hingegen oft gelblich gefärbt und ihre Lösungen sind deutlich weniger viskos. Staudingerindizes über 100 ml/g werden hier nicht erreicht. Darüberhinaus wirkt sich die Wahl der Säurekomponente auf das Eigenschaftsprofil der Polymere aus. Vinylzuckercopolymere mit Na^+-p-Styrylsulfonat **14** als Comonomer besitzen stets niedrige Staudingerindizes (20 bis 50 ml/g). Im Gegensatz hierzu werden hochviskose Lösungen bei Verwendung von Methacrylsäure **16** bzw. Acrylsäure **15** erhalten (> 200 ml/g). Am vielseitigsten läßt sich das Na^+-p-Vinylbenzoat **13** einsetzen, das sich auch in früheren Arbeiten bereits sehr gut bewährt hat [81,120]. Die Viskositäten und damit auch die Molekulargewichte dieser Polymere lassen sich in einem weiten Rahmen variieren ([η] = 5 bis 400 ml/g, M = 50000 bis 1700000 g/mol). Das Polymerisationsverhalten der Zuckermonomere mit **13** ist

sehr gut und die anschließende Fällung der Polymere in Ethanol verläuft problemlos. Aus diesem Grund basieren viele der in dieser Arbeit synthetisierten Polymere auf diesem System. Eine Übersicht über sämtliche Polymere, deren Struktur-Eigenschaftsbeziehungen im Rahmen dieser Arbeit diskutiert werden sollen, befindet sich in der folgenden Tabelle 6.

Vinylzucker		Comonomer		Polymere
Nr.	Abk.	Nr.	Abk.	Nr.
22	GlycSty	**13** **14** **16**	p-VBS p-SS MAS	P1 – P5 P6 P7
30 bzw. **31**	AraSty	**13** **14** **16**	p-VBS p-SS MAS	P8 – P14 P15, P16 P17, P18
41 bzw. **42**	GluSty (ringförmig)	**13**	p-VBS	P19, P20
44 bzw. **45**	GluSty (offenkettig)	**13** **14** **15** **16**	p-VBS p-SS AS MAS	P21 – P35 P36 – P39 P40, P41 P42, P43
56 bzw. **57**	GaSty (ringförmig)	**13**	p-VBS	P44 – P46
58 bzw. **59**	GaSty (offenkettig)	**13**	p-VBS	P47 – P49
64 bzw. **65**	FrucSty (ringförmig)	**13**	p-VBS	P50 – P53
66 bzw. **67**	FrucSty (offenkettig)	**13**	p-VBS	P54 – P56
keine Vinylzuckerkomponente		**13**	p-VBS	P57

Tabelle 6: Synthetisierte Vinylzuckerpolymere

4. Polymercharakterisierung bezüglich Copolymerzusammensetzung, Sulfatierungsgrad, Tetramereigenschaft, Molmasse und Staudingerindex

Die Copolymerzusammensetzung läßt sich entweder über die C,H-Analyse oder über eine Säure-Base-Titration der Carboxylgruppen mit Natronlauge ermitteln. Die C,H-Analyse eignet sich insbesondere für Polymere, deren Zuckereinheiten sulfatiert sind. In diesem Fall ist der Unterschied zwischen dem Kohlenstoffgehalt der Zuckereinheit (im allgemeinen %C = 20 – 30 %) und dem der Säureeinheit (%C = 46,60 / 55,80 / 63,54 %) besonders groß. Bei unsulfatierten Zuckereinheiten (%C = 59 – 68 %) ist diese Differenz jedoch in der Regel gering, so daß mit einer größeren Ungenauigkeit zu rechnen ist. Die Zusammensetzung unsulfatierter Polymere läßt sich besser über die Titration der Säuregruppen bestimmen. Die Titration ist für sulfatierte Polymere nicht geeignet, da die Sulfonsäuren ebenfalls zum Verbrauch der Natronlauge beitragen.

Im Fall der sulfatierten Copolymere lassen sich aus ihrem elementaranalytisch ermittelten Kohlenstoffgehalt %C(P) unter Einbeziehung der Kohlenstoffgehalte der beiden Monomere $\%C(M_1)$ und $\%C(M_2)$ die Massenanteile x bzw. (1-x) der beiden Bausteine im Polymer nach Gleichung (7) bestimmen.

$$x \cdot \%C(M_1) + (1 - x) \cdot \%C(M_2) = \%C(P)$$

$$\Leftrightarrow \quad x = \frac{\%C(P) - \%C(M_2)}{\%C(M_1) - \%C(M_2)} \tag{7}$$

Mit Hilfe dieser Massenprozente wird anschließend über die molaren Massen der Monomere $M(M_1)$ und $M(M_2)$ der jeweilige Monomeranteil $[M_1]$ bzw. $[M_2]$ im Copolymer in mol-% nach Gleichung (8) und (9) erhalten.

$$x = \frac{[M_1] \cdot M(M_1)}{[M_1] \cdot M(M_1) + (1 - [M_1]) \cdot M(M_2)}$$

$$\Leftrightarrow \quad [M_1] = \frac{x \cdot M(M_2)}{x \cdot (M(M_2) - M(M_1)) + M(M_1)} \tag{8}$$

$$\Rightarrow \quad [M_2] = 1 - [M_1] \tag{9}$$

In Tabelle 7 sind die Daten sämtlicher Polymere aufgelistet, deren Copolymerzusammensetzung elementaranalytisch bestimmt worden ist.

Poly-mer	Monomer-einheiten M_1 / M_2	%C(P)	%C(M_1)	%C(M_2)	M(M_1) [g/mol]	M(M_2) [g/mol]	[M_1] [mol -%]	[M_2] [mol -%]
P1	**22** / **13**	47,78	24,52	63,54	539	170,1	17,6	82,4
P2	**22** / **13**	42,63	24,52	63,54	539	170,1	26,7	73,3
P3	**22** / **13**	34,52	24,52	63,54	539	170,1	47,8	52,2
P4	**22** / **13**	32,29	24,52	63,54	539	170,1	55,9	44,1
P5	**22** / **13**	29,02	24,52	63,54	539	170,1	70,8	29,2
P6	**22** / **14**	32,15	24,52	46,60	539	206,2	42,0	58,0
P7	**22** / **16**	32,18	24,52	55,80	539	86,1	33,0	67,0
P12	**31** / **13**	47,50	23,48	63,54	665	170,1	14,6	85,4
P13	**31** / **13**	36,90	23,48	63,54	665	170,1	33,7	66,3
P14	**31** / **13**	31,48	23,48	63,54	665	170,1	50,6	49,4
P31	**45** / **13**	43,30	22,04	63,54	763	170,1	17,5	82,5
P32	**45** / **13**	30,12	21,29	63,54	790	170,1	44,9	55,1
P33	**45** / **13**	27,57	22,04	63,54	763	170,1	59,2	40,8
P34	**45** / **13**	43,86	37,46	63,54	449	170,1	53,8	46,2
P46	**57** / **13**	30,08	22,98	63,54	732	170,1	51,4	48,6
P49	**59** / **13**	32,54	27,14	63,54	620	170,1	60,9	39,1
P52	**65** / **13**	39,05	30,45	63,54	552	170,1	46,7	53,3
P53	**65** / **13**	30,59	24,72	63,54	680	170,1	58,6	41,4
P56	**67** / **13**	33,46	24,74	63,54	680	170,1	46,3	53,7

P: Polymer M_1: Monomer 1 M_2: Monomer 2 %C: Kohlenstoffgehalt M: Molmasse [M_1], [M_2]: Monomeranteile im Polymer

Tabelle 7: Elementaranalytisch bestimmte Copolymerzusammensetzungen

Unter der Annahme einer Genauigkeit der Kohlenstoffgehalte %C(P), %C(M_1) und %C(M_2) von ± 0,3 % und einer Unsicherheit von ± 8 g/mol für die Molmasse des sulfatierten Zuckers M(M_1) (vgl. Kap. 2 des theoretischen Teils) ergeben sich für die Monomeranteile [M_1] und [M_2] durchschnittliche Vertrauensgrenzen von ± 0,3 %.

Die Zahl der Carboxylgruppen kann in unsulfatierten Polymeren durch Titration mit c(NaOH) = 0,01 N Natronlauge mit Phenolphthalein als Indikator bestimmt werden. Hierzu wird eine bestimmte Menge Polymer in destilliertem Wasser gelöst. Anschließend werden die Na^+-Carboxylatgruppen durch Rühren mit saurem Ionenaustauscher in die Säureform überführt. Nach Abtrennen des Ionenaustauschers erfolgt die Titration, zusätzlich wird eine Blindlösung titriert. Mit Hilfe des Verbrauchs an Natronlauge in ml kann die Copolymerzusammensetzung in mol-% berechnet werden.

Die Stoffmenge der Säureeinheiten $n(M_2)$ läßt sich aus dem Verbrauch der Natronlauge bei der Titration der Polymerlösung V(P) und der Blindlösung V(Blind) (hier: V(Blind) = 0,2 ml) nach Gleichung (10) ermitteln.

$$n(M_2) = [V(P) - V(Blind)] \cdot c(NaOH) \qquad (10)$$

Die Stoffmenge der Zuckereinheiten $n(M_1)$ erhält man nach Gleichung (11) aus der Einwaage des Polymers m(P), der molaren Masse des Zuckerbausteins $M(M_1)$ sowie der Säureeinheit $M(M_2)$ und der zuvor errechneten Stoffmenge der Säureeinheiten $n(M_2)$.

$$n(M_1) = \frac{m(P) - M(M_2) \cdot n(M_2)}{M(M_1)} \qquad (11)$$

Schließlich lassen sich die Anteile der Monomere $[M_1]$ und $[M_2]$ im Polymer in mol-% nach den Gleichungen (12) und (13) bestimmen.

$$[M_2] = \frac{n(M_2)}{n(M_2) + n(M_1)} \quad \text{und} \quad [M_1] = \frac{n(M_1)}{n(M_2) + n(M_1)} \qquad (12) \text{ und } (13)$$

In Tabelle 8 sind die Daten sämtlicher Polymere aufgelistet, deren Copolymerzusammensetzung mittels Säure-Base-Titration bestimmt worden ist.

Polymer	Monomereinheiten M_1 / M_2	V(P) [ml]	m(P) [mg]	$M(M_1)$ [g/mol]	$M(M_2)$ [g/mol]	$[M_1]$ [mol-%]	$[M_2]$ [mol-%]
P8	**30** / **13**	13,8	40,0	254,3	170,1	32,0	68,0
P10	**30** / **13**	13,8	51,8	254,3	170,1	45,3	54,7
P15	**30** / **14**	13,2	49,2	254,3	206,2	40,4	59,6
P17	**30** / **16**	6,6	21,3	254,3	86,1	49,2	50,8
P19	**41** / **13**	11,4	50,2	282,3	170,1	49,8	50,2
P21	**44** / **13**	15,9	50,5	284,3	170,1	34,7	65,3
P25	**44** / **13**	11,7	53,8	284,3	170,1	51,1	48,9
P27	**44** / **13**	9,4	49,7	284,3	170,1	55,8	44,2
P29	**44** / **13**	9,6	50,0	284,3	170,1	56,5	43,5
P36	**44** / **14**	13,6	43,4	284,3	206,2	29,3	70,7
P38	**44** / **14**	10,6	52,0	284,3	206,2	50,8	49,2
P40	**44** / **15**	12,8	49,8	284,3	72,1	53,1	46,9
P42	**44** / **16**	10,6	40,2	284,3	86,1	51,3	48,7
P44	**56** / **13**	12,1	52,6	282,3	170,1	49,1	50,9
P47	**58** / **13**	12,8	55,7	284,3	170,1	48,9	51,1
P50	**64** / **13**	12,2	54,6	282,3	170,1	50,3	49,7
P54	**66** / **13**	11,8	52,2	284,3	170,1	49,9	50,1

V(P): Verbrauch 0,01 N NaOH $M(M_1)$, $M(M_2)$: Molmasse der Monomere M_1 und M_2
m(P): Einwaage Polymer $[M_1]$, $[M_2]$: Monomeranteile im Polymer

Tabelle 8: Bestimmung der Copolymerzusammensetzungen mittels Säure-Base-Titration

Der Verbrauch an Natronlaugelösung während der Titration des Polymers V(P) kann etwa zu ± 0,2 ml genau angegeben werden. Hierbei spielt die Ablesegenauigkeit an der Bürette (± 0,05 ml), das subjektive Erkennen des Umschlagpunktes des Indikators und die möglicherweise verlangsamte Einstellung des Säure-Base-Gleichgewichtes im Polymer eine Rolle. Die Einwaage des Polymers erfolgt zu ± 0,5 mg genau. Danach ergibt sich eine durchschnittliche Meßunsicherheit der Monomeranteile $[M_1]$ und $[M_2]$ von ± 0,3 mol-%.

Der Sulfatierungsgrad der Zuckereinheit M_1 im Polymer P nach einer polymeranalogen Sulfatierung läßt sich elementaranalytisch bestimmen, falls das Comonomer M_2 nicht sulfatiert werden kann.

Zuerst wird die Molmasse der sulfatierten Zuckereinheit $M(M_1s)$ nach Gleichung (14) berechnet, wobei u_C die Zahl der Kohlenstoffatome im Saccharidbaustein ist. Da der Kohlenstoffgehalt der Zuckereinheit $\%C(M_1s)$ in Gleichung (14) unbekannt ist, wird dieser durch Gleichung (15) substituiert. Dabei steht %C(P) für den elementaranalytisch ermittelten Kohlenstoffgehalt des sulfatierten Polymers, $\%C(M_2)$ ist der Kohlenstoffgehalt der Säureeinheit und x gibt den Massenanteil der Zuckereinheit im Polymer wieder.

$$M(M_1s) = \frac{u_C \cdot 12{,}011}{\%C(M_1s)} \cdot 100 \tag{14}$$

$$\%C(P) = x \cdot \%C(M_1s) + (1 - x) \cdot \%C(M_2)$$

$$\Leftrightarrow \%C(M_1s) = \frac{\%C(P) - (1 - x) \cdot \%C(M_2)}{x} \tag{15}$$

Der Massenanteil x des Zuckers kann mit Hilfe des über Säure-Base-Titration bestimmten Stoffmengenanteils $[M_1]$, die Molmasse der sulfatierten Zuckereinheit $M(M_1s)$ und das Molekulargewicht $M(M_2)$ des Säurebausteins ausgedrückt werden (Gleichung (16)).

$$x = \frac{[M_1] \cdot M(M_1s)}{[M_1] \cdot M(M_1s) + (1 - [M_1]) \cdot M(M_2)} \tag{16}$$

Gleichung (15) wird in (14) eingesetzt und ebenfalls nach dem Massenanteil x aufgelöst (Gleichung (17)).

$$M(M_1s) = \frac{u_C \cdot 12{,}011 \cdot x \cdot 100}{\%C(P) - (1 - x) \cdot \%C(M_2)}$$

$$\Leftrightarrow \quad M(M_1s) \cdot \%C(P) - M(M_1s) \cdot \%C(M_2) + x \cdot \%C(M_2) \cdot M(M_1s)$$

$$= u_C \cdot 12{,}011 \cdot x \cdot 100$$

$$\Leftrightarrow \quad M(M_1s)\cdot \%C(P) - M(M_1s)\cdot \%C(M_2)$$
$$= x\cdot\left[u_C\cdot 12{,}011\cdot 100 - \%C(M_2)\cdot M(M_1s)\right]$$

$$\Leftrightarrow \quad x = \frac{M(M_1s)\cdot \%C(P) - M(M_1s)\cdot \%C(M_2)}{u_C\cdot 12{,}011\cdot 100 - \%C(M_2)\cdot M(M_1s)} \tag{17}$$

Anschließend werden die Gleichungen (16) und (17) gleichgesetzt. Nach Vereinfachung durch Kürzen von $M(M_1s)$ und anschließendem Auflösen der Gleichung nach $M(M_1s)$ bekommt man eine Beziehung zur Bestimmung der Molmasse der sulfatierten Zuckereinheit im Polymer (Gleichung (18)).

$$\frac{[M_1]\cdot M(M_1s)}{[M_1]\cdot M(M_1s) + (1-[M_1])\cdot M(M_2)} = \frac{M(M_1s)\cdot \%C(P) - M(M_1s)\cdot \%C(M_2)}{u_C\cdot 12{,}011\cdot 100 - \%C(M_2)\cdot M(M_1s)}$$

$$\Leftrightarrow \; [M_1]\cdot M(M_1s)\cdot u_C\cdot 12{,}011\cdot 100 - [M_1]\cdot M(M_1s)\cdot \%C(M_2)\cdot M(M_1s)$$

$$= M(M_1s)\cdot \%C(P)\cdot [M_1]\cdot M(M_1s) + M(M_1s)\cdot \%C(P)\cdot (1-[M_1])\cdot M(M_2)$$

$$- M(M_1s)\cdot \%C(M_2)\cdot [M_1]\cdot M(M_1s) - M(M_1s)\cdot \%C(M_2)\cdot (1-[M_1])\cdot M(M_2)$$

$$\Leftrightarrow \; [M_1]\cdot u_C\cdot 12{,}011\cdot 100 = \%C(P)\cdot [M_1]\cdot M(M_1s)$$

$$+ \%C(P)\cdot (1-[M_1])\cdot M(M_2) - \%C(M_2)\cdot (1-[M_1])\cdot M(M_2)$$

$$\Leftrightarrow \quad M(M_1s) = \frac{[M_1]\cdot u_C\cdot 12{,}011\cdot 100 - \%C(P)\cdot (1-[M_1])\cdot M(M_2)}{\%C(P)\cdot [M_1]} + \frac{\%C(M_2)\cdot (1-[M_1])\cdot M(M_2)}{\%C(P)\cdot [M_1]} \tag{18}$$

Die sulfatierten Vinylzuckerpolymere sind sehr hygroskopisch, so daß sie stets Wasser enthalten. Dieses Hydratwasser muß bei der Berechnung des Sulfatierungsgrades der Zuckereinheit im Polymer mitberücksichtigt werden. Die Bestimmung erfolgt ähnlich, wie bereits bei den sulfatierten Monomeren in Kapitel 2 des theoretischen Teils erläutert. Die Anzahl der Hydratwassermoleküle n läßt sich ebenfalls nach Gleichung (6) ermitteln.

$$n = \frac{M(M_1s) - DS \cdot 103{,}053 - u_C \cdot 12{,}011 - u_O \cdot 15{,}999 - u_H(M_1s) \cdot 1{,}008}{18{,}01} \quad (6)$$

u_C ist die Zahl der Kohlenstoffatome und u_O die Zahl der Sauerstoffatome in der entsprechenden unsulfatierten Zuckereinheit, wobei es bei u_C keine Rolle spielt, ob der unsulfatierte oder der sulfatierte Baustein betrachtet wird, da die Kohlenstoffzahl sich durch die Sulfatierung nicht ändert. Der Sulfatierungsgrad DS kann durch die bekannte Gleichung (4) ausgedrückt werden.

$$DS = u_H(M_1u) - u_H(M_1s) \quad (4)$$

Die Zahl der Wasserstoffatome $u_H(M_1s)$ im Zucker ohne Berücksichtigung des Hydratwassers läßt sich durch die in Kapitel 2 bereits hergeleitete Gleichung (5) beschreiben.

$$u_H(M_1s) = \frac{M(M_1s) \cdot [1 - 0{,}08934 \cdot \%H(M_1s)] - M(M_1u) - 103{,}053 \cdot u_H(M_1u)}{-112{,}058} \quad (5)$$

Die Molmasse $M(M_1u)$ der unsulfatierten Zuckereinheit und die Anzahl Wasserstoffatome $u_H(M_1u)$ in dieser sind bekannt. Das Molekulargewicht des sulfatierten Zuckerbausteins $M(M_1s)$ ist nach Gleichung (18) berechnet worden. Somit fehlt nur noch der Wasserstoffgehalt $\%H(M_1s)$ der sulfatierten Zuckereinheit, um die Hydratwasseranzahl n, den Sulfatierungsgrad DS und die Zahl Wasserstoffatome im sulfatierten Saccharid (ohne Hydratwasser) zu bestimmen. $\%H(M_1s)$ kann nach Gleichung (19) über den Wasserstoffgehalt $\%H(P)$ im sulfatierten Polymer ausgedrückt werden. Der Massenanteil x der Zuckereinheit im Copolymer kann dabei über Gleichung (16) bestimmt werden.

$$\%H(P) = x \cdot \%H(M_1s) + (1 - x) \cdot \%H(M_2)$$

$$\Leftrightarrow \quad \%H(M_1s) = \frac{\%H(P) - (1 - x) \cdot \%H(M_2)}{x} \quad (19)$$

Mit Hilfe dieser Ableitungen können nun die Molmassen und die Sulfatierungsgrade der Zuckereinheiten im Polymer von sämtlichen hergestellten Materialien berechnet werden. Die Daten hierzu sind in den Tabellen 10 und 11 zusammengestellt.

Bei einer Meßunsicherheit von ± 0,3 % für den Kohlenstoffgehalt im Polymer %C(P) und einer Genauigkeit von ± 0,3 mol-% für den Zuckeranteil [M_1] betragen die durchschnittlichen Vertrauensgrenzen für die Molmasse des sulfatierten Zuckerbausteins ± 20 g/mol und für den Sulfatierungsgrad DS ± 0,2.

Ergänzend ist im Fall der Polymere P20 und P45 eine Schwefelelementaranalyse durchgeführt worden. Der berechnete Schwefelgehalt korreliert gut mit dem experimentell bestimmten (Tabelle 9).

Poly-mer	Schwefel-elementaranalyse	M(M_1s) [g/mol]	DS	x [Gew.-%]
P20	gef.: %S 8,5 – 9,4 ber.: %S 9,0	642,05	2,29	0,7892
P45	gef.: %S 8,0 – 8,7 ber.: %S 8,5	644,02	2,18	0,7850

M(M_1s): Molmasse der Zuckereinheit im Polymer DS: Sulfatierungsgrad der Zuckereinheit
x: Massenanteil der Zuckereinheit im Polymer

Tabelle 9: Schwefelelementaranalyse der Polymere P20 und P45

Poly-mer	Monomer-einheiten M_1 / M_2	Elementaranalyse des sulfatierten Polymers %C(P) und %H(P)	Summenformel der sulfatierten Zuckereinheit M_1s im Polymer $C_{uC}H_{uH(M1s)}O_{uO}(SO_3Na)_{DS}$*n H_2O	$M(M_1s)$ [g/mol]	$[M_1]$ [mol-%]
P9	**31** / **13**	gef.: %C 32,08 %H 3,92 ber.: %C 32,09 %H 3,96	$C_{13}H_{13,88}O_5(SO_3Na)_{4,12}$*9,22 H_2O	840,83	32,0
P11	**31** / **13**	gef.: %C 33,57 %H 4,20 ber.: %C 33,55 %H 4,24	$C_{13}H_{15,21}O_5(SO_3Na)_{2,79}$*6,13 H_2O	648,97	45,3
P16	**31** / **14**	gef.: %C 37,50 %H 4,79 ber.: %C 37,51 %H 4,81	$C_{13}H_{16,65}O_5(SO_3Na)_{1,35}$*5,46 H_2O	489,94	40,4
P18	**31** / **16**	gef.: %C 41,80 %H 5,81 ber.: %C 41,83 %H 5,83	$C_{13}H_{17,01}O_5(SO_3Na)_{0,99}$*2,63 H_2O	402,95	49,2
P20	**42** / **13**	gef.: %C 34,06 %H 4,52 ber.: %C 34,07 %H 4,55	$C_{14}H_{15,71}O_6(SO_3Na)_{2,29}$*6,99 H_2O	642,05	49,8
P22	**45** / **13**	gef.: %C 50,29 %H 5,16 ber.: %C 50,27 %H 5,17	$C_{14}H_{19,17}O_6(SO_3Na)_{0,83}$*2,79 H_2O	419,02	34,7
P23	**45** / **13**	gef.: %C 41,81 %H 4,45 ber.: %C 41,79 %H 4,48	$C_{14}H_{17,95}O_6(SO_3Na)_{2,05}$*4,18 H_2O	569,05	34,7
P24	**45** / **13**	gef.: %C 35,73 %H 4,13 ber.: %C 35,72 %H 4,16	$C_{14}H_{16,87}O_6(SO_3Na)_{3,13}$*6,46 H_2O	720,15	34,7
P26	**45** / **13**	gef.: %C 32,55 %H 4,05 ber.: %C 32,53 %H 4,09	$C_{14}H_{17,09}O_6(SO_3Na)_{2,91}$*5,05 H_2O	672,08	51,1
P28	**45** / **13**	gef.: %C 31,19 %H 4,04 ber.: %C 31,19 %H 4,08	$C_{14}H_{17,05}O_6(SO_3Na)_{2,95}$*5,19 H_2O	679,14	55,8

$M(M_1s)$: Molmasse der sulfatierten Zuckereinheit im Polymer $[M_1]$: Zuckeranteil in mol-% im Polymer DS: Sulfatierungsgrad

Tabelle 10: Ermittlung des Sulfatierungsgrades und der Molmasse der Zuckereinheit im Polymer

Poly-mer	Monomer-einheiten M_1 / M_2	Elementaranalyse des sulfatierten Polymers %C(P) und %H(P)	Summenformel der sulfatierten Zuckereinheit M_1s im Polymer $C_{uC}H_{uH(M1s)}O_{uO}(SO_3Na)_{DS}$*n H_2O	M(M_1s) [g/mol]	[M_1] [mol-%]
P30	**45** / **13**	gef.: %C 35,58 %H 3,98 ber.: %C 35,56 %H 4,02	$C_{14}H_{17,60}O_6(SO_3Na)_{2,40}$*2,59 H_2O	576,07	56,5
P37	**45** / **14**	gef.: %C 38,95 %H 4,71 ber.: %C 38,97 %H 4,72	$C_{14}H_{18,71}O_6(SO_3Na)_{1,29}$*6,25 H_2O	528,95	29,3
P39	**45** / **14**	gef.: %C 38,04 %H 4,80 ber.: %C 38,04 %H 4,83	$C_{14}H_{18,67}O_6(SO_3Na)_{1,33}$*3,71 H_2O	486,98	50,8
P41	**45** / **15**	gef.: %C 44,58 %H 5,58 ber.: %C 44,57 %H 5,60	$C_{14}H_{19,21}O_6(SO_3Na)_{0,79}$*1,10 H_2O	384,97	53,1
P43	**45** / **16**	gef.: %C 36,96 %H 4,80 ber.: %C 36,94 %H 4,83	$C_{14}H_{18,25}O_6(SO_3Na)_{1,75}$*1,90 H_2O	497,06	51,3
P45	**57** / **13**	gef.: %C 34,15 %H 4,70 ber.: %C 34,16 %H 4,73	$C_{14}H_{15,82}O_6(SO_3Na)_{2,18}$*7,71 H_2O	644,02	49,1
P48	**59** / **13**	gef.: %C 49,57 %H 5,92 ber.: %C 49,60 %H 5,93	$C_{14}H_{19,55}O_6(SO_3Na)_{0,45}$*3,24 H_2O	388,98	48,9
P51	**65** / **13**	gef.: %C 36,26 %H 4,93 ber.: %C 36,27 %H 4,95	$C_{14}H_{16,23}O_6(SO_3Na)_{1,77}$*7,06 H_2O	590,01	50,3
P55	**67** / **13**	gef.: %C 41,85 %H 4,28 ber.: %C 41,87 %H 4,31	$C_{14}H_{18,25}O_6(SO_3Na)_{1,75}$*1,50 H_2O	489,96	49,9

M(M_1s): Molmasse der sulfatierten Zuckereinheit im Polymer [M_1]: Zuckeranteil in mol-% im Polymer DS: Sulfatierungsgrad

Tabelle 11: Ermittlung des Sulfatierungsgrades und der Molmasse der Zuckereinheit im Polymer

Zur Ermittlung der Ausbeute bei der polymeranalogen Sulfatierung werden zunächst die Stoffmengen $n(M_1)$ und $n(M_2)$ der unsulfatierten Monomereinheiten M_1 und M_2 im unsulfatierten Polymer P_u mit Hilfe der Gleichungen (20) bis (22) berechnet, wobei y die Gesamtstoffmenge der beiden Einheiten im unsulfatierten Polymer ist. $M(M_1u)$ ist die Molmasse des unsulfatierten Zuckerbausteins, $M(M_2)$ das Molekulargewicht der Säureeinheit und $m(P_u)$ ist die als Edukt eingesetzte Menge an unsulfatiertem Polymer. Die darüber hinaus benötigten Monomeranteile im Polymer in mol-% $[M_1]$ und $[M_2]$ lassen sich wie bereits beschrieben über eine Säure-Base-Titration bestimmen.

$$m(P_u) = [M_1] \cdot y \cdot M(M_1u) + [M_2] \cdot y \cdot M(M_2)$$

$$\Leftrightarrow \quad y = \frac{m(P_u)}{[M_1] \cdot M(M_1u) + [M_2] \cdot M(M_2)} \qquad (20)$$

$$\Rightarrow \quad n(M_1) = y \cdot [M_1] \quad \text{und} \quad n(M_2) = y \cdot [M_2] \qquad (21) \text{ und } (22)$$

Anschließend kann die Ausbeute der polymeranalogen Sulfatierung aus der Masse des erhaltenen sulfatierten Polymers $m(P_s)$, den Molmassen der sulfatierten Zuckermonomereinheit $M(M_1s)$ und der Comonomereinheit $M(M_2)$ sowie aus den Stoffmengen der beiden Monomereinheiten $n(M_1)$ und $n(M_2)$ ermittelt werden (Gleichung (23)).

$$\text{Ausbeute}[\%] = \frac{m(P_s)}{n(M_1) \cdot M(M_1s) + n(M_2) \cdot M(M_2)} \cdot 100 \qquad (23)$$

Die Genauigkeit der Ausbeute bei der polymeranalogen Sulfatierung liegt im Bereich von ± 1 %. Dieser Wert ergibt sich unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen von ± 20 g/mol für $M(M_1s)$ und ± 0,3 % für $[M_1]$ und $[M_2]$.

Die Daten, die zur Bestimmung der Ausbeuten der polymeranalog sulfatierten Materialien erforderlich sind, befinden sich in Tabelle 12.

Poly-mer	Monomer-einheiten M_1 / M_2	$m(P_u)$ [g]	$m(P_s)$ [g]	$M(M_1u)$ [g/mol]	$M(M_1s)$ [g/mol]	$M(M_2)$ [g/mol]	$[M_1]$ [mol-%]	$[M_2]$ [mol-%]	Aus-beute [%]
P9	**31** / **13**	7,0	9,1	254,3	841	170,1	32,0	68,0	67
P11	**31** / **13**	7,0	10,2	254,3	649	170,1	45,3	54,7	78
P16	**31** / **14**	7,0	7,5	254,3	490	206,2	40,4	59,6	75
P18	**31** / **16**	7,5	6,6	254,3	403	86,1	49,2	50,8	61
P20	**42** / **13**	5,5	5,0	282,3	642	170,1	49,8	50,2	51
P22	**45** / **13**	5,0	4,6	284,3	720	170,1	34,7	65,3	94
P23	**45** / **13**	4,0	4,3	284,3	569	170,1	34,7	65,3	73
P24	**45** / **13**	4,0	4,6	284,3	419	170,1	34,7	65,3	66
P26	**45** / **13**	5,5	7,5	284,3	672	170,1	51,1	48,9	73
P28	**45** / **13**	4,0	5,3	284,3	679	170,1	55,8	44,2	80
P30	**45** / **13**	2,4	2,8	284,3	576	170,1	56,5	43,5	69
P37	**45** / **14**	6,5	4,8	284,3	529	206,2	29,3	70,7	57
P39	**45** / **14**	6,3	5,8	284,3	487	206,2	50,8	49,2	65
P41	**45** / **15**	3,5	2,0	284,3	385	72,1	53,1	46,9	37
P43	**45** / **16**	3,5	1,8	284,3	497	86,1	51,3	48,7	28
P45	**57** / **13**	5,5	6,2	282,3	644	170,1	49,1	50,9	63
P48	**59** / **13**	6,5	4,5	284,3	389	170,1	48,9	51,1	56
P51	**65** / **13**	4,3	4,7	282,3	590	170,1	50,3	49,7	65
P55	**67** / **13**	5,5	4,1	284,3	490	170,1	49,9	50,1	51

$m(P_u)$, $m(P_s)$: Einwaage unsulfatiertes bzw. Auswaage sulfatiertes Polymer

$M(M_1u)$, $M(M_1s)$: Molmasse unsulfatierte bzw. sulfatierte Zuckereinheit $[M_1]$, $[M_2]$,: Zucker- bzw. Säureanteil im Polymer

Tabelle 12: Ermittlung der Ausbeute bei polymeranalogen Sulfatierungen

Die Molmasse einer Tetramereinheit M(Tetramer) läßt sich mit Hilfe der Anteile der Monomere im Polymer in mol-% $[M_1]$ und $[M_2]$ und den Molmassen der Monomere in g/mol $M(M_1)$ und $M(M_2)$ berechnen (Gleichung (24)). Darüber hinaus lassen sich die Anzahl COONa/Tetramer über den Säureanteil im Polymer in mol-% $[M_2]$ und die Zahl der Carboxylgruppen pro Säureeinheit w bestimmen. Im Fall des Na^+-p-Styrylsulfonats als Säureeinheit ist w = 0. In allen anderen Fällen nimmt w einen Wert von 1 an (Gleichung (25)). Die Zahl der SO_3Na/Tetramer ergibt sich aus dem Zuckeranteil $[M_1]$ im Polymer in mol-% und dem Sulfatierungsgrad DS der Zuckereinheit im Polymer. Falls Na^+-p-Styrylsulfonat als Comonomer M_2 verwendet worden ist, wird dies über den zweiten Summanden berücksichtigt. Bei Einsatz von Na^+-p-Styrylsulfonat ist x = 1 in allen anderen Fällen ist x = 0 (Gleichung (26)).

$$\mathrm{M(Tetramer)} = 4 \cdot [\mathrm{M_1}] \cdot \mathrm{M(M_1)} + 4 \cdot [\mathrm{M_2}] \cdot \mathrm{M(M_2)} \tag{24}$$

$$\mathrm{COONa/Tetramer} = 4 \cdot [\mathrm{M_2}] \cdot \mathrm{w} \tag{25}$$

$$\mathrm{SO_3Na/Tetramer} = 4 \cdot [\mathrm{M_1}] \cdot \mathrm{DS} + 4 \cdot [\mathrm{M_2}] \cdot \mathrm{x} \tag{26}$$

$$\text{falls } \mathrm{M_2} = \mathrm{Na^+} - \text{p - Styrylsulfonat dann } \mathrm{w} = 0 \text{ und } \mathrm{x} = 1 \text{ sonst } \mathrm{w} = 1 \text{ und } \mathrm{x} = 0$$

Die Tetramermolmassen sind mit einer Meßungenauigkeit von durchschnittlich ± 35 g/mol behaftet. Die Sulfatgruppenzahl pro Tetramereinheit besitzt einen Fehler von etwa ± 0,4, während die Carboxylgruppenzahl pro Tetramereinheit genau angegeben werden kann. Diese Fehlergrenzen ergeben sich aus den Unsicherheiten für die Molmasse der sulfatierten Zuckereinheit $M(M_1s)$ von ± 8 g/mol (monomeranalog sulfatiert) bzw. ± 20 g/mol (polymeranalog sulfa-tiert). Ferner spielen die Vertrauensgrenzen für die Monomeranteile $[M_1]$ und $[M_2]$ von ± 0,3 mol-% und die des Sulfatierungsgrads DS von ± 0,2 eine Rolle.

Sämtliche Daten, die zur Berechnung der Tetramermolmassen, der Zahl SO_3Na/Tetramer und der Zahl COONa/Tetramer nötig sind, sind in den Tabellen 13 bis 15 wiedergegeben.

Poly-mer	Zuckereinheit				Säureeinheit			Tetramer	SO_3Na/ Tetramer	COONa/ Tetramer
	Nr.	$[M_1]$ [mol-%]	$M(M_1)$ [g/mol]	DS	Nr.	$[M_2]$ [mol-%]	$M(M_2)$ [g/mol]	M_{rep} [g/Tetramer]		
P1	**22**	17,6	539	3,0	**13**	82,4	170	940	2,1	3,3
P2	**22**	26,7	539	3,0	**13**	73,3	170	1075	3,2	2,9
P3	**22**	47,8	539	3,0	**13**	52,2	170	1386	5,7	2,1
P4	**22**	55,9	539	3,0	**13**	44,1	170	1505	6,7	1,8
P5	**22**	70,8	539	3,0	**13**	29,2	170	1725	8,5	1,7
P6	**22**	42,0	539	3,0	**14**	48,0	206	1383	7,4	0
P7	**22**	33,1	539	3,0	**16**	66,9	86	944	4,0	2,7
P9	**31**	32,0	841	4,1	**13**	68,0	170	1539	5,2	2,7
P11	**31**	45,3	649	2,8	**13**	54,7	170	1548	5,1	2,2
P12	**31**	14,6	665	3,7	**13**	85,4	170	969	2,1	3,4
P13	**31**	33,7	665	3,7	**13**	66,3	170	1347	5,0	2,7
P14	**31**	50,6	665	3,7	**13**	49,4	170	1682	7,5	2,0
P16	**31**	40,4	490	1,4	**14**	59,6	206	1283	4,6	0
P18	**31**	49,2	403	1,0	**16**	50,8	86	968	2,0	2,0
P20	**42**	49,8	642	2,3	**13**	50,2	170	1620	4,6	2,0
P21	**44**	34,7	284	0	**13**	65,3	170	839	0	2,6

$M(M_1)$, $M(M_2)$: Molmassen der Monomereinheiten M_1 bzw. M_2 M_{rep}: Molmasse der Tetramereinheit DS: Sulfatierungsgrad
$[M_1]$, $[M_2]$: Monomeranteile im Polymer

Tabelle 13: Bestimmung der Tetramermolmassen sowie der Einheiten COONa und SO_3Na pro Tetramereinheit

Poly-mer	Zuckereinheit				Säureeinheit			Tetramer	SO_3Na/ Tetramer	COONa/ Tetramer
	Nr.	$[M_1]$ [mol-%]	$M(M_1)$ [g/mol]	DS	Nr.	$[M_2]$ [mol-%]	$M(M_2)$ [g/mol]	M_{rep} [g/Tetramer]		
P22	**45**	34,7	419	0,8	**13**	65,3	170	1026	1,1	2,6
P23	**45**	34,7	569	2,1	**13**	65,3	170	1234	2,9	2,6
P24	**45**	34,7	720	3,1	**13**	65,3	170	1443	4,3	2,6
P26	**45**	51,1	672	2,9	**13**	48,9	170	1706	5,9	2,0
P27	**44**	55,8	284	0	**13**	44,2	170	934	0	1,8
P28	**45**	55,8	679	3,0	**13**	44,2	170	1816	6,7	1,8
P30	**45**	56,5	576	2,4	**13**	43,5	170	1598	5,4	1,7
P31	**45**	17,5	763	4,1	**13**	82,5	170	1095	2,9	3,3
P32	**45**	44,9	790	4,5	**13**	55,1	170	1794	8,1	2,2
P33	**45**	59,2	763	4,1	**13**	40,8	170	2084	9,7	1,6
P34	**45**	53,8	449	1,5	**13**	46,2	170	1280	3,2	1,8
P35	**44**	38,3	284,3	---	**13** **14**	19,6 42,1	170 206	916	1,7	0,8
P37	**45**	29,3	529	1,3	**14**	70,7	206	1203	4,4	0
P39	**45**	50,8	487	1,3	**14**	49,2	206	1395	4,6	0
P41	**45**	53,1	385	0,8	**15**	46,9	72	953	1,7	1,9

$M(M_1)$, $M(M_2)$: Molmassen der Monomereinheiten M_1 bzw. M_2 M_{rep}: Molmasse der Tetramereinheit DS: Sulfatierungsgrad
$[M_1]$, $[M_2]$: Monomeranteile im Polymer

Tabelle 14: Bestimmung der Tetramermolmassen sowie der Einheiten COONa und SO_3Na pro Tetramereinheit

Poly-mer	Zuckereinheit				Säureeinheit			Tetramer	SO_3Na/ Tetramer	COONa/ Tetramer
	Nr.	$[M_1]$ [mol-%]	$M(M_1)$ [g/mol]	DS	Nr.	$[M_2]$ [mol-%]	$M(M_2)$ [g/mol]	M_{rep} [g/Tetramer]		
P43	**45**	51,3	497	1,8	**16**	48,7	86	1187	3,7	1,9
P45	**57**	49,1	644	2,2	**13**	50,9	170	1611	4,3	2,0
P46	**57**	51,4	732	3,8	**13**	48,6	170	1835	7,8	1,9
P48	**59**	48,9	389	0,5	**13**	51,1	170	1108	1,0	2,0
P49	**59**	60,9	620	2,9	**13**	39,1	170	1776	7,1	1,6
P51	**65**	50,3	590	1,8	**13**	49,7	170	1525	3,6	2,0
P52	**65**	46,7	552	2,5	**13**	53,3	170	1394	4,7	2,1
P53	**65**	58,6	680	3,5	**13**	41,4	170	1875	8,2	1,7
P55	**67**	49,9	490	1,8	**13**	50,1	170	1319	3,6	2,0
P56	**67**	46,3	680	3,3	**13**	53,7	170	1625	6,1	2,1
P57	---	---	---	---	**13**	100	170	680	0	4,0

$M(M_1)$, $M(M_2)$: Molmassen der Monomereinheiten M_1 bzw. M_2 M_{rep}: Molmasse der Tetramereinheit DS: Sulfatierungsgrad
$[M_1]$, $[M_2]$: Monomeranteile im Polymer

Tabelle 15: Bestimmung der Tetramermolmassen sowie der Einheiten COONa und SO_3Na pro Tetramereinheit

Die Molekulargewichtsbestimmung der Polymere erfolgt über die Membranosmometrie. Die Messungen werden bei einer Temperatur von 30°C und bei einer Empfindlichkeit von 10 cm Lösungsmittelsäule in Wasser durchgeführt. Es wird eine Membran vom Typ Cellulose Triacetat (10000 Da) eingesetzt. Anschließend werden für jedes Polymer vier Lösungen im Konzentrations-bereich zwischen 0,02 und 0,002 g/ml angesetzt. Jede Lösung und das Lösungsmittel wird zehnmal vermessen, um den Fehler bei schwankenden Meßwerten möglichst gering zu halten. Zur Auswertung der Meßwerte bildet man für jede Konzentration den Quotienten aus dem Druck p in cm Lösungsmittelsäule und der Konzentration c in g/ml und extrapoliert diesen Quotienten gegen c=0. Das Zahlenmittel M_n erhält man schließlich nach Gleichung (27).

$$M_n = \frac{84780 \cdot T}{\frac{p}{c} \cdot \rho(LM)} \quad \text{für } c \rightarrow 0 \qquad (27)$$

T: Temperatur in Kelvin
ρ(LM): Dichte des Lösungsmittels (hier: 1 g/ml)

In dem Membranosmometer befindet sich ein empfindlicher Drucksensor, der nicht nur auf die osmotische Druckdifferenz zwischen Polymer- und Referenzlösung reagiert, sondern auch durch geringste Druck- und Temperaturschwankungen in der Umgebung beeinflußt wird. Die über die radikalische Lösungspolymerisation hergestellten Polymere besitzen in der Regel breitere Molmassenverteilungen und sie können mitunter noch Monomerspuren enthalten. Die niedermolekularen Bestandteile der Probe können im Verlauf der Messung durch die Membran in die Referenzlösung wandern, was eine Verminderung des osmotischen Druckes und eine scheinbare Molmassen-vergrößerung zur Folge hätte. Polymere mit besonders hohen Molekular-gewichten besitzen nur geringe Auswirkungen auf die Meßwerte, woraus eine größere Meßunsicherheit resultiert. Eine Erhöhung der Polymerkonzentration zur Vergrößerung der entsprechenden Effekte ist in vielen Fällen nicht möglich, da die Viskosität der Lösungen zu stark ansteigt und eine Messung unmöglich wird. Diese möglichen Fehlerquellen, neben Ungenauigkeiten bei der Einwaage der Polymere und der Herstellung der Lösungen, tragen dazu bei, daß die membranosmometrisch ermittelten Molmassen der Polymere mit einem relativ großen Fehler behaftet sind.

Mit zunehmendem Molekulargewicht nimmt die Meßungenauigkeit dabei zu. Die folgenden in Tabelle 16 angegebenen Vertrauensgrenzen sind sinnvoll.

Molekular-gewichtsbereich der Polymere	bis 500.000 g/mol	500.000 g/mol bis 1.000.000 g/mol	größer 1.000.000 g/mol
Vertrauensgrenze	± 10.000 g/mol	± 50.000 g/mol	± 100.000 g/mol

Tabelle 16: Meßunsicherheiten bei der membranosmometrischen Molmassenbestimmung

Die Molekulargewichte sämtlicher Polymere sind in Tabelle 17 zusammen-gestellt.

Polymer	Molmasse [g/mol]	Polymer	Molmasse [g/mol]	Polymer	Molmasse [g/mol]
P1	610.000	P20	500.000	P37	150.000
P2	600.000	P21	1.000.000	P39	100.000
P3	610.000	P22	1.200.000	P41	375.000
P4	590.000	P23	1.500.000	P43	640.000
P5	600.000	P24	1.700.000	P45	350.000
P6	200.000	P26	1.100.000	P46	102.000
P7	850.000	P27	700.000	P48	250.000
P9	1.000.000	P28	1.600.000	P49	274.000
P11	750.000	P30	330.000	P51	90.000
P12	400.000	P31	90.000	P52	96.000
P13	300.000	P32	200.000	P53	68.000
P14	250.000	P33	130.000	P55	250.000
P16	600.000	P34	340.000	P56	274.000
P18	550.000	P35	235.000	P57	20.000

Tabelle 17: Membranosmometrisch bestimmte Molekulargewichte der Polymere

Als wichtige Ergänzung zu den Molmassen der Polymere werden zusätzlich ihre intrinsischen Viskositäten bestimmt, die in der Regel mit den Molekular-gewichten gut korrelieren. Hierzu werden von jedem Polymer drei Lösungen in Glycinpufferlösung mit Konzentrationen zwischen 0,01 und 0,001 g/ml angesetzt. Dies sind lediglich grobe Richtwerte, die je nach Viskosität nach oben bzw. unten angepaßt werden müssen. Die Messungen finden bei 25°C statt. Zur Herstellung der Glycin-Pufferlösung werden 7,5 g Glycin und 5,9 g Natrium-chlorid in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung bei 20 °C auf 1000 ml aufgefüllt. Für pH = 9.7 werden 69 ml dieser Glycinlösung mit 31 ml 0,1 M Natronlauge vermischt. Der pH-Wert wird mit einem pH-Stäbchen überprüft.

Über die Bestimmung der Durchflußzeiten dieser Polymerlösungen durch Kapillaren im Vergleich zum Lösungsmittel Glycinpuffer können zunächst jeweils die spezifischen Viskositäten bei den jeweiligen Konzentrationen bestimmt werden (Gleichung (28)).

$$\eta_{spez} = \frac{t - t_k}{t_0} - 1 \qquad (28)$$

t, t_0: Durchflußzeit der Lösung bzw. des Lösungsmittels [s]
t_k: Korrekturglied, das zu berücksichtigen ist, falls die Durchflußzeit der Lösung kleiner als hundert Sekunden ist [s]
η_{spez}: spezifische Viskosität

Den Staudinger-Index [η] erhält man schließlich aus dem Achsenabschnitt der Funktion $\eta_{red} = f(c)$ (Gleichung(29)).

$$[\eta] = \lim_{c \to 0} \frac{\eta_{spez}}{c} = \lim_{c \to 0} \eta_{red} \qquad (29)$$

η_{red}: reduzierte Viskosität [ml/g]
[η]: Staudinger-Index [ml/g]
c: Konzentration der Lösungen [g/ml]

Die Meßgenauigkeit bei der Viskosimetrie ist im Vergleich zur Membranosmometrie höher. Das Verfahren ist weitgehend automatisiert und nach drei bis vier Durchläufen der Polymerlösung durch die Kapillare stellt sich in der Regel eine konstante Durchflußzeit ein, die auf ± 0,01 s genau abgelesen werden kann. Meßunsicherheiten, die gerätetechnisch bedingt sind, sind daher eher gering. Allenfalls bei der Einwaage der Polymere und der Herstellung der Lösungen können Fehler auftreten. Unter der Annahme einer Genauigkeit von ± 0,5 mg bei der Einwaage der Polymere ergibt sich für eine durchschnittliche Einwaage von 150 mg/10 ml eine Vertrauensgrenze von etwa 0,5 ml/g für den Staudingerindex [η].

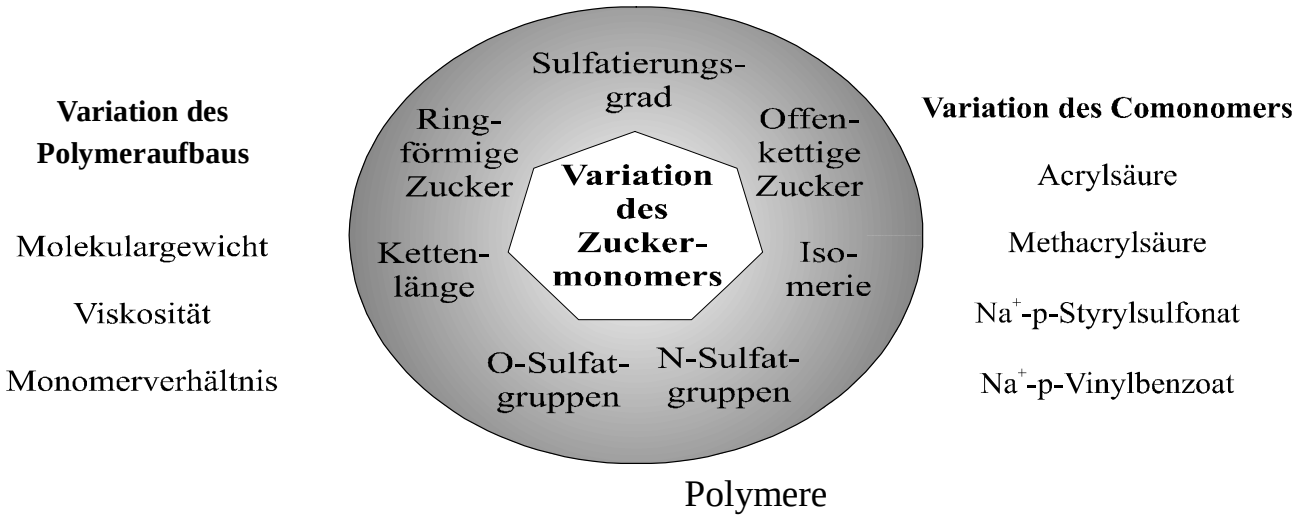
Polymer	[η] [ml/g]	Polymer	[η] [ml/g]	Polymer	[η] [ml/g]
P1	187,1	P20	96,8	P37	25,8
P2	105,6	P21	219,9	P39	19,6
P3	97,5	P22	224,8	P41	147,3
P4	55,4	P23	292,3	P43	296,0
P5	62,8	P24	321,7	P45	70,1
P6	29,7	P26	247,8	P46	16,4
P7	239,8	P27	136,4	P48	40,5
P9	267,5	P28	397,5	P49	47,0
P11	176,0	P30	89,2	P51	16,8
P12	114,6	P31	175,5	P52	17,7
P13	57,2	P32	33,9	P53	4,2
P14	16,7	P33	19,2	P55	40,1
P16	130,9	P34	55,4	P56	48,0
P18	217,1	P35	51,6	P57	142,1

Tabelle 18: Staudingerindices [η] der Polymere

5. Antikoagulative Eigenschaften, Bakterienadhäsion und Gleitreibungsminderung der Materialien

Heparin ist eines der besten bislang bekannten blutgerinnungshemmenden Mittel. Es sind zahlreiche Versuche unternommen worden, seine Wirksamkeit mit anderen Substanzen nachzuahmen. Dabei steht im Vordergrund, Materialien zu finden, die nach Möglichkeit kostengünstiger herzustellen sind, eine höhere Stabilität besitzen, weniger Nebenwirkungen zeigen als Heparin und trotzdem zufriedenstellende antithrombische Eigenschaften vorweisen. Einige heparin-analoge Polymere auf Vinylzuckerbasis erfüllen diese Kriterien. Allerdings sind noch keine klinischen Tests mit diesen Materialien durchgeführt worden, so daß keine Aussagen über ihre Toxizität und mögliche Nebenwirkungen gemacht werden können. Heparin ist ein Polysaccharid, das aus glycosidisch verknüpften D-Glucosamin-, L-Iduronsäure- und D-Glucuronsäure-Einheiten besteht, die sowohl *N*- als auch *O*-Sulfate, freie OH-Gruppierungen und Carboxylate enthalten. Die ersten sehr vielversprechenden heparinanalogen Vinylzuckerpolymere, die im Arbeitskreis Wulff hergestellt worden sind[81,82], haben sich sehr stark an diesem Aufbau orientiert. In der hier vorliegenden Arbeit sollen die von A. Brock[120] bereits begonnenen Untersuchungen zu Struktur-Eigenschafts-Beziehungen der Vinylzuckerpolymere fortgesetzt und vervollständigt werden. Hierzu werden zahlreiche Polymere synthetisiert und dabei jeweils unterschiedliche Parameter verändert. Eine Übersicht über die Variationsmöglichkeiten bietet Abbildung 33.

Abbildung 33: Variationsmöglichkeiten bei der Herstellung heparinanaloger



Die antikoagulativen Eigenschaften der Polymere werden vom Interdiszipli-nären Zentrum für Klinische Forschung der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen mit dem Forschungsgebiet „Biomaterialien und Material-Gewebsinter-aktion bei Implantaten“ (IZKF „Biomat“) untersucht. Hierzu werden die konzentrationsabhängigen Wirkungen der Polymere auf zwei charakteristische Gerinnungszeiten bestimmt, die sogenannte aktivierte partielle Thromboplastin-zeit (APTT) und die Thrombinzeit (TT).

Die partielle Thromboplastinzeit[128] (PTT) ist die Gerinnungszeit des rekalzi-fizierten Citratplasmas nach der Zugabe von partiellem Thromboplastin. Partielles Thromboplastin aktiviert die Gerinnungsfaktoren des intrinsischen Reaktionsweges der Blutgerinnungskaskade. Es ist eine Phospholipid-Suspension, die gewöhnlich von Gewebsthromboplastin aus homogenisiertem Säugetierhirn oder –lunge gewonnen wird. Unter einem Citratplasma[128] versteht man den flüssigen Überstand, der nach Zentrifugation eines Gemisches aus neun Teilen Vollblut und einem Teil 0,1 molarer Natriumcitratlösung erhalten wird. Der Citratzusatz bewirkt durch Ausfällen der Calciumionen, daß das Blut ungerinnbar wird. Zur Bestimmung der PTT müssen dem Citratplasma daher erneut Calciumionen (Rekalzifizierung) hinzugefügt werden. Zur Beschleunigung der Blutgerinnung können zusätzlich oberflächenaktive Substan-zen wie z.B. Kaolin hinzugegeben werden. In diesem Fall spricht man von der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit[128] (APTT). Eine Verkürzung der APTT deutet auf eine Aktivierung der Kontaktphase der Blutgerinnung hin. Eine verlängerte APTT wird beobachtet bei einem Mangel an Gerinnungs-faktoren (Faktoren I (Fibrinogen), II (Prothrombin), V, VIII, IX, X, XI oder XII), bei Vitamin-K Mangel und bei Anwesenheit von Antikoagulantien wie Heparin, Hirudin, Cumarinderivaten oder den hier synthetisierten Materialien auf Vinylzuckerbasis.

Die Thrombinzeit[128] (TT) ist die Zeit, die von der Zugabe von Thrombin zu einer Plasmaprobe aus Citrat-Vollblut bis zur Ausbildung eines Blutgerinnsels vergeht. Durch Zugabe von Thrombin wird das in der Probe vorhandene Fibrinogen durch Abspaltung der Fibrinopeptide A und B zu löslichem Fibrin umgewandelt. Diese Fibrinmonomere bilden rasch Aggregate höheren Molekulargewichtes unter Ausbildung eines Gerinnsels. Eine Verlängerung der TT tritt in Gegenwart von Antikoagulanzien (siehe oben), bei Fibrinogenmangel und bei Fibrinpolymerisationsstörungen auf.

Bei der praktischen Durchführung der Messungen werden die Vinylzucker-polymere in Phosphat-gepufferter Saline Lösung bei pH 7,4 über Nacht gelöst.

Am Folgetag wird eine Verdünnungsreihe angesetzt und zu jeweils 10 µl jeder Lösung 990 µl natriumcitrathaltiges Vollblut gegeben. Anschließend werden die Lösungen zwanzig Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, danach bei 3100 U/min für zehn Minuten zentrifugiert. Das so erhaltene Plasma wird zur Bestim-mung der APTT mit Calciumionen, partiellem Thromboplastin und dem Akti-vator Koalin und zur Ermittlung der TT mit einer definierten Menge Thrombin versetzt. Nach Zugabe dieser Substanzen werden die jeweiligen Gerinnungs-zeiten im Kugelkoagulometer gemessen. Für jede Lösung der Verdünnungsreihe werden sechs Meßwerte erhalten, da das Blut von drei Spendern verwendet wird und jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt werden.

Die Konzentrationen der Polymer- und Heparinlösungen sind in früheren Arbeiten stets in I.E./ml angegeben worden[81,120]. 5000 I.E./ml entsprechen dabei $2{,}308*10^{-3}$ mol/l Heparin bzw. Polymer. Bei den ersten Messungen sind für die Zuckerpolymere Molmassen von 100.000 g/mol verwendet worden. Das Molekulargewicht von Heparin ist mit 13.000 g/mol jedoch deutlich niedriger, so daß bei äquimolaren Einwaagen die Zuckerpolymerlösung sehr viel mehr wirksame funktionelle Gruppen enthält als die entsprechende Heparinlösung. Auf diese Weise wird die antikoagulative Wirksamkeit des untersuchten Polymers zu hoch bewertet. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten, ist daher in nachfolgenden Untersuchungen mit den Molmassen der Tetramer-einheiten der Polymere (ca. 600 bis 2000 g/mol) und Heparins (ca. 1300 g/mol) gerechnet worden. Zudem werden alle Konzentrationen in µmol/l Tetramer-einheit umgerechnet und auf die Definition der I.E./ml wird verzichtet. Auf diese Weise sollte man zu authentischeren und besser vergleichbaren Ergebnissen gelangen. Bei Angaben in µmol/l erhält man wichtige Aussagen über die Wirksamkeit einer Struktureinheit. Lediglich bei stark voneinander abweichenden Tetramermolmassen der Polymere ist mit einer schlechteren Vergleichbarkeit zu rechnen. Im allgemeinen betragen die Tetramermolmassen durchschnittlich 1500 g/mol und nur bei besonders niedrigen Zuckergehalten oder Sulfatierungsgraden treten größere Differenzen auf.

Ein Vergleich der Wirksamkeit von Heparin und der heparinanalogen Polymere auf Vinylzuckerbasis mit Hilfe der gemessenen Blutgerinnungszeiten ist kritisch zu betrachten. Solch ein Vergleich ist nur sinnvoll, wenn in beiden Fällen gleiche Wirkungsmechanismen für die Blutgerinnungshemmung vorliegen, was hier mit Sicherheit jedoch nicht gegeben ist. Daher wird in den folgenden Abbildungen auf die Heparinstandardkurve verzichtet, die stets steiler verläuft als die Vinylzuckerpolymerkurven. Klinische Tests sind erforderlich, um die Vinylzuckerpolymere in Bezug auf ihre Wirksamkeit im Vergleich zu Heparin

einordnen zu können. Beispielsweise kann im Tierversuch getestet werden, wie gut Heparin bzw. die hier synthetisisierten Polymere Thrombosen verhindern können („Thrombosemodell“). Im Rahmen dieser Arbeit sind solche Untersuchungen allerdings nicht vorgesehen.

Ein charakteristisches Merkmal von natürlichem Heparin sind seine Sulfatgruppen, die dem Molekül eine hohe negative Ladungsdichte verleihen. Vier bis fünf dieser funktionellen Gruppen sind durchschnittlich in einer Heparintetrasaccharideinheit enthalten. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, inwiefern sich bei den heparinanalogen Vinylzuckerpolymeren die Zahl der Sulfatgruppen auf die antikoagulativen Eigenschaften auswirkt. Zur Unter-suchung dieses Effektes ist unsulfatiertes Polymer P21 auf der Basis von Glucosestyryl **44** und Na^+-p-Vinylbenzoat **13** hergestellt worden. Anschließend sind Proben von P21 mit unterschiedlichen Moläquivalenten SO_3/Pyridin-Komplex umgesetzt worden, so daß Polymere mit verschiedenem Sulfatierungsgrad, aber gleichem Monomerverhältnis und identischer Kettenlänge erhalten wurden (→ Abb. 34, Tab. 19).

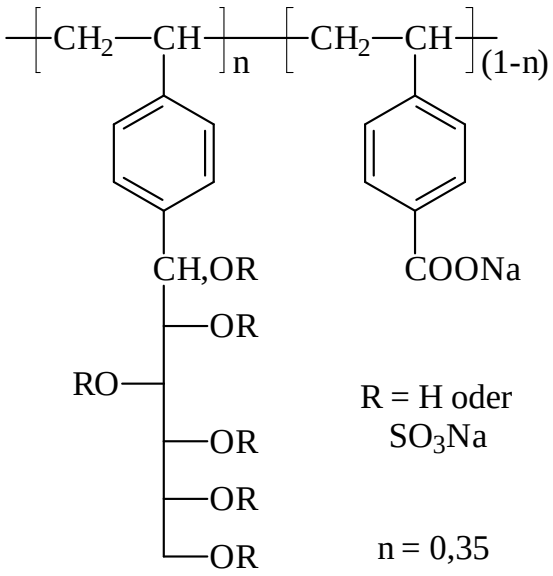


Abbildung 34:
Struktur der Polymere
P21 bis P24

Polymer[1]	SO_3/Pyridin (Moläquivalente[2])	DS (Zuckereinheit im Polymer)
P21	0	0
P22	2,0	0,8
P23	4,0	2,1
P24	6,0	3,1

1: 35 mol-% Glucosestyrylanteil **44** bzw. **45** , 65 mol-% Na^+-p-Vinylbenzoatanteil **13**

2: bezogen auf die Stoffmenge der Zuckereinheit im Polymer

Tabelle 19: Unterschiedliche Sulfatierungsgrade DS der Polymere P21 bis P24

Abbildung 35 zeigt die Ergebnisse, die sich bei der Variation des Sulfatierungsgrades ergeben haben. Je steiler die Kurven verlaufen, desto besser ist das betreffende Polymer in der Lage, die Blutgerinnung hinauszuzögern. Man erkennt, daß sich mit zunehmendem Sulfatgruppenanteil die antikoagulativen Eigenschaften der Polymere verbessern. Hierbei handelt es sich allerdings nicht um einen linearen Zusammenhang. Man beobachtet mit wachsendem Sulfatierungsgrad eine Sättigung, d. h. ab einer bestimmten Zahl Sulfatgruppen pro Zuckereinheit (hier: 2,1) führt die Einführung weiterer SO_3Na-Gruppen zu keiner zusätzlichen Wirksamkeitssteigerung mehr. Das unsulfatierte Vinylzuckerpolymer P21 besitzt kaum einen Einfluß auf die Blutgerinnungszeit.

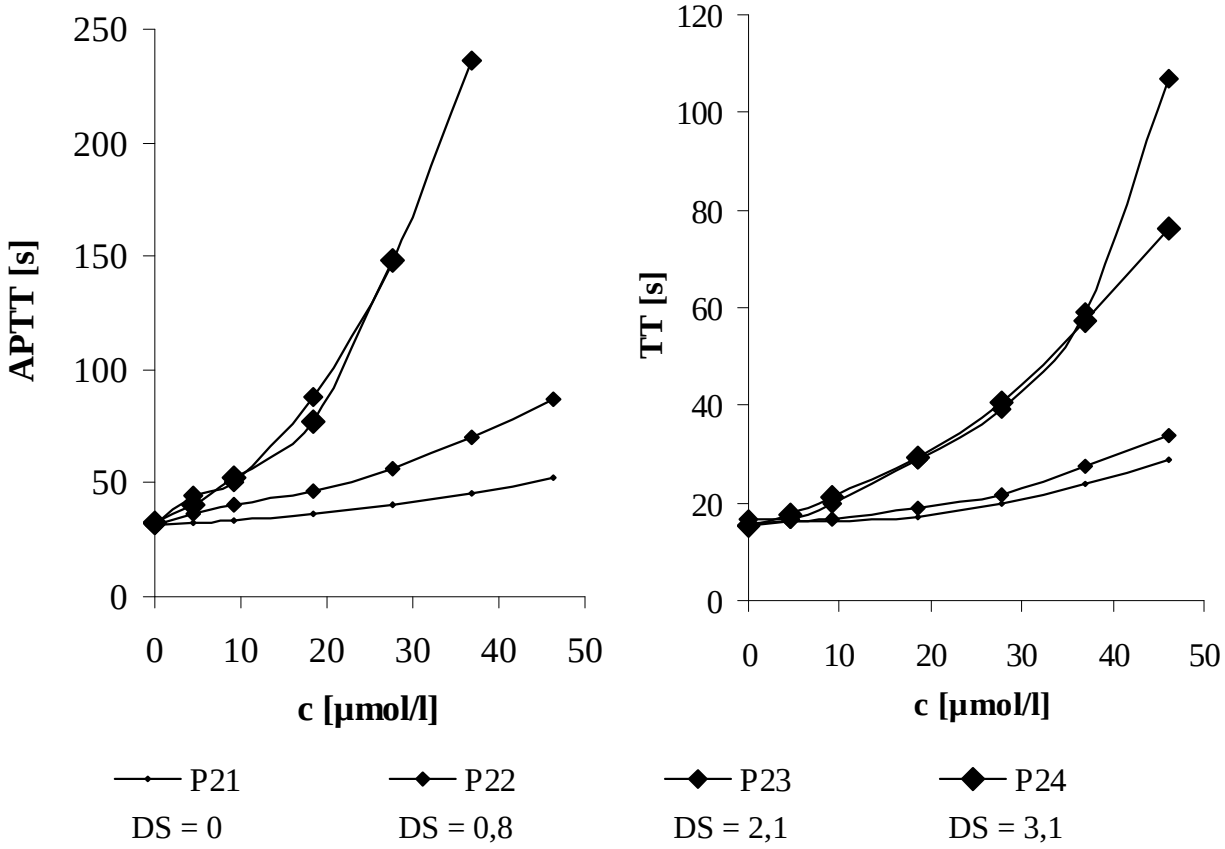


Abbildung 35: Einfluß des Sulfatierungsgrades (DS) auf die Blutgerinnungszeiten bei Polymeren auf Glucosestyrylbasis

Um den Einfluß des Sulfatierungsgrades auf die antithrombischen Eigenschaften der Materialien weiter zu beleuchten, sind in Abbildung 36 die Blutgerinnungszeiten verschiedener Polymere gegen die Zahl der Sulfatgruppen pro Tetramereinheit aufgetragen.

Um möglichst viele Polymere in dieser Auftragung mit einzubeziehen, wurden jeweils die Gerinnungszeiten bei einer Konzentration von 27,7 µmol/l ver-wendet. Dies ist die größtmögliche Polymerkonzentration, bei der sich die Blutgerinnungszeiten fast aller vermessenen Materialien innerhalb des Meß-bereiches von unterhalb 300 Sekunden befinden. Bei der Auftragung ist keine Rücksicht auf die Polymerzusammensetzung, die Struktur der Monomere, das Molekulargewicht und andere Eigenschaften der Polymere genommen worden. Es ist die Tendenz zu erkennen, daß etwa fünf bis acht Sulfatgruppen pro Tetramereinheit besonders günstig sind. Eine geringere Zahl von SO_3Na-Gruppierungen führt zu einer Abnahme der Wirksamkeit der entsprechenden Verbindungen.

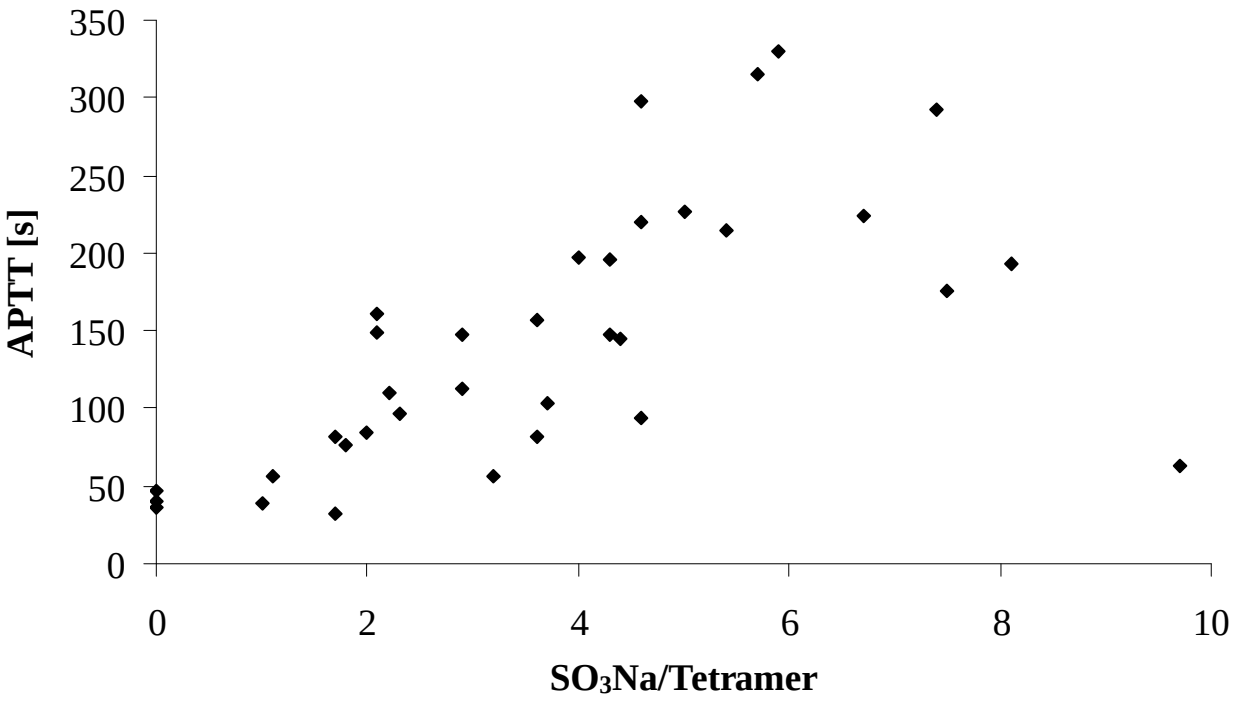


Abbildung 36:
Auftragung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit APTT gegen die Zahl der SO_3Na-Gruppierungen pro Tetramereinheit bei verschiedenartigen Vinylzuckerpolymeren

Zu ähnlichen Untersuchungsergebnissen ist die italienische Forschungsgruppe von *Agnese Magnani*[75,76] an der Universität in Siena gekommen. Sie hat verschieden sulfatierte Hyaluronsäuren $HyalS_{DS}$ hergestellt, wobei der Sulfatierungsgrad DS Werte von 1, 2, 2.5, 3, 3.5, 3.8 und 4 annehmen kann.

Die antikoagulativen Eigenschaften verbessern sich bei diesen Säuren ebenfalls mit zunehmendem Sulfatgehalt. Um merkliche Effekte zu erzielen, muß DS mindestens 2.5 sein. Die Hyaluronsäuren $HyalS_{3.5}$, $HyalS_{3.8}$ und $HyalS_4$ besitzen ähnliche Wirksamkeiten, d. h. auch in diesem Fall tritt eine Art Sättigung auf, die ab einem bestimmten Sulfatierungsgrad keine weiteren Eigenschaftsverbesserungen durch Einführung zusätzlicher Sulfatgruppen zur Folge hat.

Die Auswirkungen des Molekulargewichtes bzw. der intrinsischen Viskosität der Vinylzuckerpolymere auf ihre antikoagulativen Eigenschaften, ist ein weiterer Aspekt, der zur Aufklärung der Struktur-Eigenschaftsbeziehungen beitragen soll. Heparin zeigt nach Fraktionierung eine Abhängigkeit seiner antithrombischen Effekte vom Molekulargewicht[129]. Bei anderen Systemen wie β-1,3-Glucansulfaten[130] werden glockenförmige Kurven beobachtet. Die Wirksamkeiten nehmen dort mit zunehmendem Molgewicht zunächst zu, durchschreiten ein Maximum und fallen schließlich bei höheren Werten wieder ab.

Ein ähnliches Verhalten ist bei den hier synthetisierten Vinylzuckerpolymeren P26, P28, P30 und P33 erkennbar, die in Tabelle 20 näher charakterisiert sind. Diese Polymere setzen sich aus sulfatiertem Glucosestyryl **45** und dem Na^+-p-Vinylbenzoat **13** zusammen. Sie variieren in ihrem Molekulargewicht in einem Bereich von 130.000 bis 1.600.000 g/mol und besitzen Staudingerindizes zwischen 19,2 und 397,5 ml/g. Die Monomerzusammensetzungen sind in allen vier Fällen mit 51 bis 59 mol-% Zuckeranteil ähnlich. Die Sulfatierungsgrade der Vinylzuckerkomponenten ändern sich in einem Bereich, in dem keine wesentlichen Auswirkungen auf die Aktivität zu erwarten sind. Die unterschiedlichen Effekte der vier Polymere auf die Blutgerinnungszeiten sollten also ganz überwiegend durch ihre verschiedenen Molmassen bzw. intrinsischen Viskositäten hervorgerufen werden.

Polymer	Glucosestyryl **45**	Na^+-p-Vinylbenzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P26	DS = 2,9 / 51,1 mol-%	48,9 mol-%	1.100.000	247,8
P28	DS = 3,0 / 55,8 mol-%	44,2 mol-%	1.600.000	397,5
P30	DS = 2,4 / 56,5 mol-%	43,5 mol-%	330.000	89,2
P33	DS = 4,1 / 59,2 mol-%	40,8 mol-%	130.000	19,2

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 20: Charakterisierung von Polymeren auf Glucosestyrylbasis **45** mit variabler Molmasse und Staudingerindex

In Abbildung 37 ist zu erkennen, daß die Aktivitäten der heparinanalogen Polymere mit wachsender Molmasse und Staudingerindex steigen. Zufriedenstellende Effekte sind ab einem Molekulargewicht von etwa 300.000 g/mol und einem Staudingerindex von 90 ml/g erkennbar. Bei sehr hohen Werten im Fall von Polymer P28 beobachtet man allerdings wieder eine Verringerung der Wirksamkeit. Sehr hochmolekulare Materialien mit Staudingerindizes über 250 ml/g weisen zudem oft Löslichkeitsgrenzen auf.

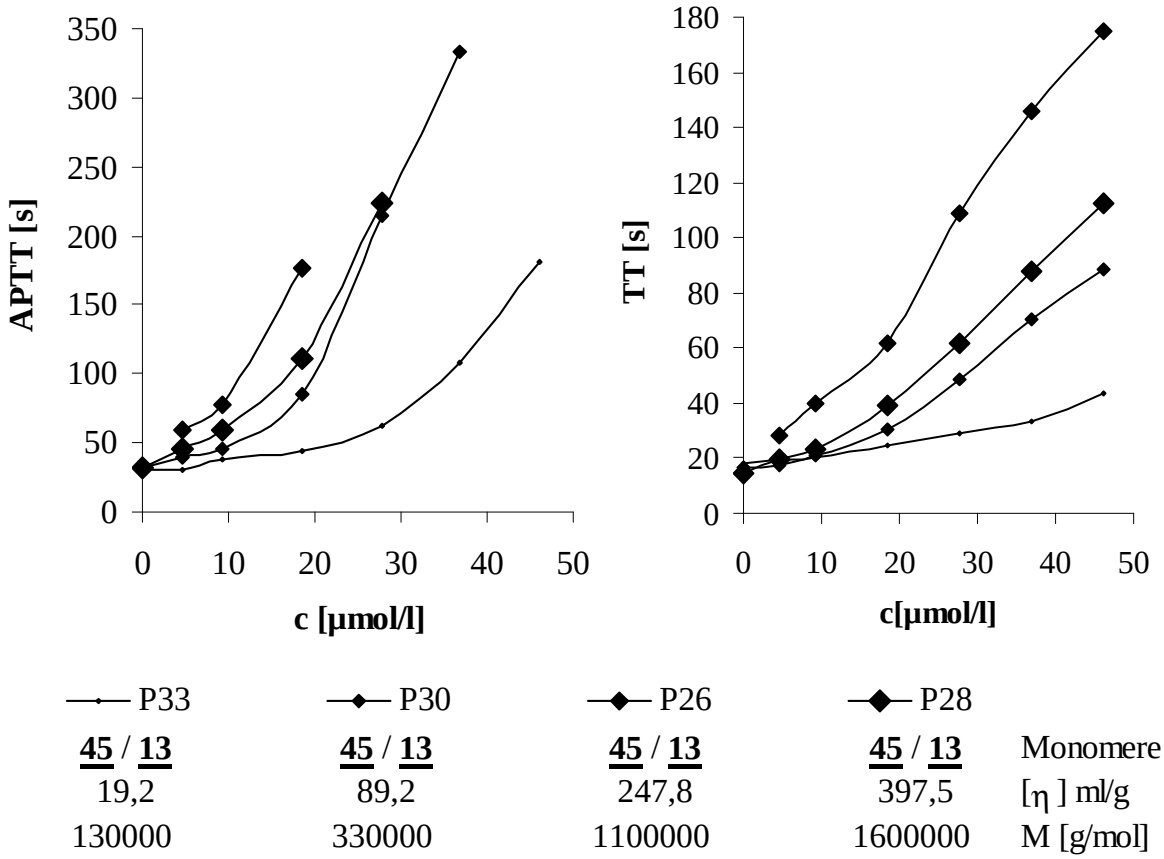


Abbildung 37: Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten vom Molekulargewicht M bzw. Staudingerindex [η] bei Polymeren auf Glucosestyrylbasis **45**

Polymere, die sich aus dem sulfatierten Arabinosestyryl **31** und Na^+-p-Vinylbenzoat **13** zusammensetzen, bestätigen diesen Sachverhalt ebenfalls. Polymer P9 besitzt einen vergleichbaren Arabinoseanteil und ähnlichen Sulfatierungsgrad wie Polymer P13 (→ Tab. 21). Aus diesem Grund ist die deutlich stärkere Wirksamkeit von Polymer P9 gegenüber P13 durch sein höheres Molekulargewicht und seine größere intrinsische Viskosität zu erklären (Abbildung 38). Offensichtlich wird diese Tendenz auch beim Vergleich der Proben P11 und P14. Diese Materialien besitzen eine ähnliche Monomerzusammensetzung wie Tabelle 21 zu entnehmen ist. Das höhermolekulare

Polymer P11 mit dem niedrigeren Sulfatierungsgrad besitzt auch hier die besseren antikoagulativen Eigenschaften. Dies bestätigt zudem, daß ab einer Sulfatgruppenzahl von etwa zwei der Einfluß des Sulfatierungsgrads von untergeordneter Bedeutung ist.

Poly-mer	Arabinosestyryl **31**	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P9	DS = 4,1 / 32,0 mol-%	68,0 mol-%	1.000.000	267,5
P11	DS = 2,8 / 45,3 mol-%	54,7 mol-%	750.000	176,0
P13	DS = 3,7 / 33,7 mol-%	66,3 mol-%	300.000	57,2
P14	DS = 3,7 / 50,6 mol-%	49,4 mol-%	250.000	16,7

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 21: Charakterisierung von Polymeren auf Arabinosestyrylbasis **31** mit variabler Molmasse und Staudingerindex

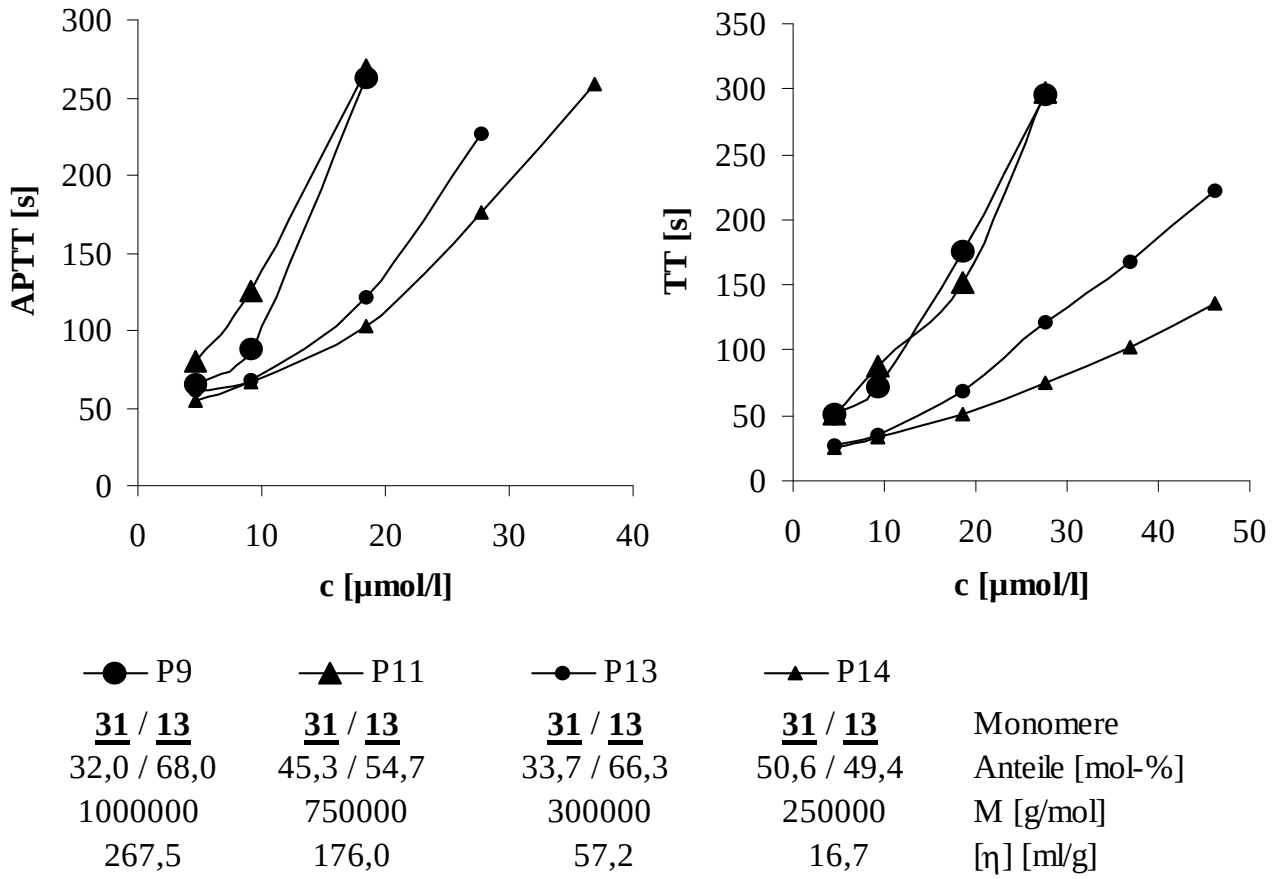


Abbildung 38: Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten vom Molekulargewicht M bzw. des Staudingerindizes [η] bei Polymeren auf Arabinosestyrylbasis **31**

Im Folgenden soll betrachtet werden, inwiefern sich die Eigenschaften der Materialien bei Variation des Comonomerverhältnisses ändern. In früheren Arbeiten[81,120] sind in der Regel Polymere mit etwa 50 mol-% Zuckeranteil und 50 mol-% Säureanteil hergestellt worden. Erste Untersuchungen diesbezüglich hat *A. Brock*[120] unternommen. Er hat festgestellt, daß sich die antikoagulativen Eigenschaften bei Polymeren auf Glucosestyrylbasis verschlechtern, wenn der Vinylzuckeranteil größer als 50 mol-% gewählt wird. Polymere mit 75 mol-% und 100 mol-% Zuckerkomponente zeigen praktisch keine Wirksamkeit mehr. Von Interesse ist, wie weit der Vinylzuckeranteil ohne Verlust der heparin-analogen Eigenschaften gesenkt werden kann. Hierzu sind die Polymere P31, P32, P33 und P57 hergestellt worden, die in ihrem Zuckeranteil von 0 bis 60 mol-% variieren (Tabelle 22).

Poly-mer	Glucosestyryl **45**	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P31	DS = 4,1 / 17,5 mol-%	82,5 mol-%	90.000	175,5
P32	DS = 4,5 / 44,9 mol-%	55,1 mol-%	200.000	33,9
P33	DS = 4,1 / 59,2 mol-%	40,8 mol-%	130.000	19,2
P57	---	100 mol-%	20.000	142,1

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 22: Charakterisierung von Polymeren mit variablem sulfatierten Glucosestyrylanteil **45**

Die vier Polymere besitzen aufgrund der unterschiedlichen Monomeranteile stärker voneinander abweichende Viskositäten. Ein zunehmender Na^+-p-Vinylbenzoatanteil **13** bewirkt einen Anstieg des Staudingerindex. Die Molekulargewichte bewegen sich allerdings alle in einem niedrigen Bereich, in dem nach den zuvor diskutierten Ergebnissen zum Molmasseneinfluß noch keine wesentlichen Auswirkungen auf die antikoagulativen Eigenschaften zu erwarten sind. Der Sulfatierungsgrad der Zuckereinheit ist in allen Fällen fast identisch. Mit steigendem Zuckeranteil nimmt die Zahl der Sulfatgruppen im Polymer zu, so daß gegebenenfalls mit einer Überlagerung der beiden Effekte Monomerverhältnis und Sulfatierungsgrad auf die Wirksamkeit zu rechnen ist. Dies ist hier offensichtlich nicht der Fall, da ein wachsender Zucker- und damit Sulfatgruppenanteil nicht zwangsläufig Eigenschaftsverbesserungen hervorruft.

Die Polymere mit 75 bzw. 100 mol-% Zuckeranteil und einer großen Zahl Sulfatgruppen besitzen, wie bereits erwähnt, keine Auswirkungen auf die Blutgerinnungszeiten. Bei den gemessen aktivierten partiellen Thromboplastinzeiten (APTT) und Thrombinzeiten (TT) der vier Polymere dominiert somit der Einfluß des Monomerverhältnisses auf die antikoagulativen Eigenschaften.

Die folgende Abbildung 39 verdeutlicht, daß Polymere mit Zuckeranteilen zwischen etwa 20 und 50 mol-% die besten Resultate liefern. Materialien mit niedrigeren (P57) bzw. höheren Zuckeranteilen (P33) besitzen wesentlich schlechtere Aktivitäten.

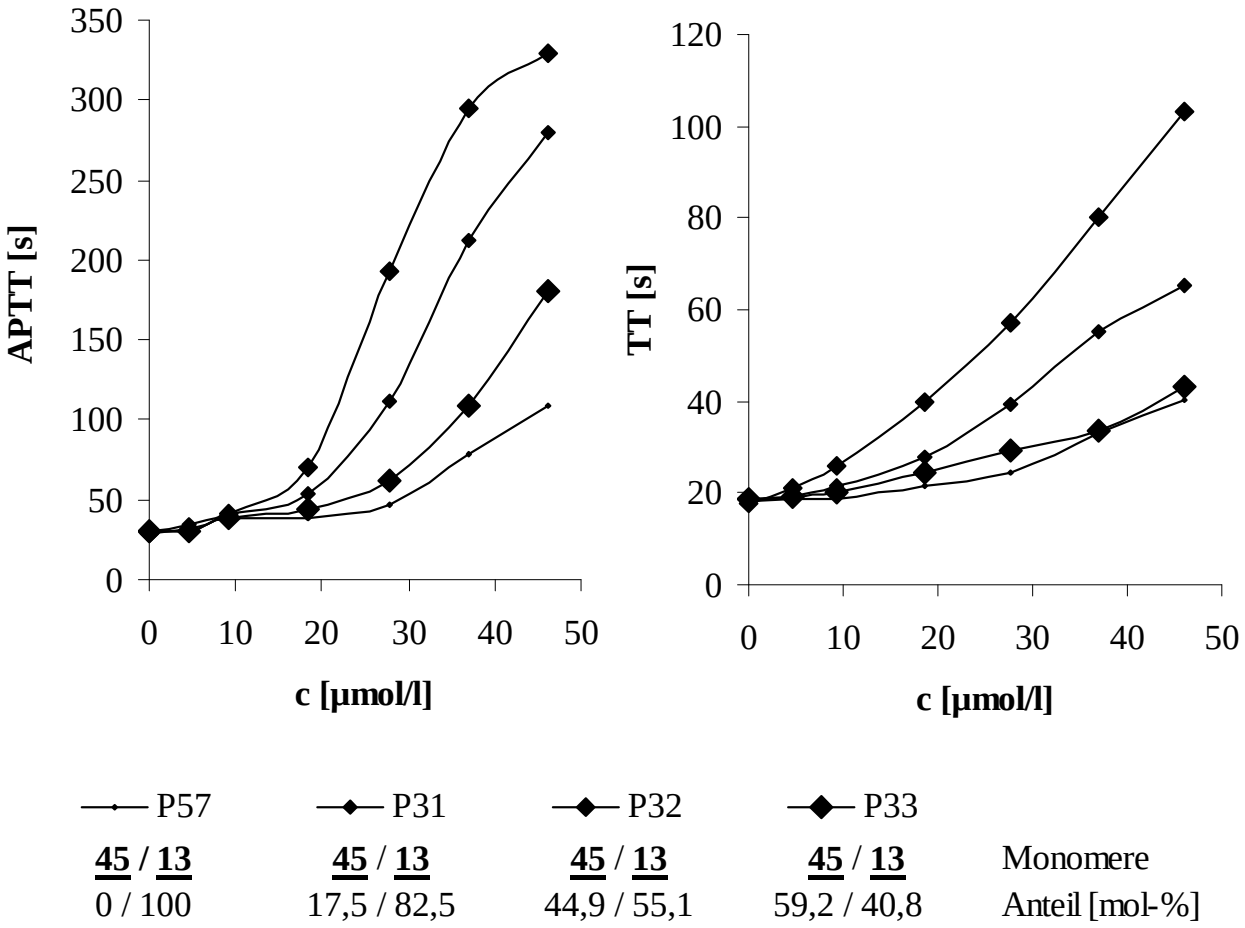


Abbildung 39: Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten vom Monomerverhältnis Glucosestyryl **45** zu Na^+-p-Vinylbenzoat **13**

Weiterhin ist es interessant, daß das Homopolymer P57 (100 mol-% Na^+-p-Vinylbenzoat **13**) trotz seiner geringen Aktivität immer noch besser wirkt als die unsulfatierten Polymere P21 und P27, die deutlich niedrigere Carboxylatanteile aufweisen (Tabelle 23, Abbildung 40).

Dieser Sachverhalt gibt auch einen Hinweis darauf, daß höhere Anteile an Na^+-p-Vinylbenzoat vorteilhaft sein können. Nach diesen Erkenntnissen kann daher die teurere Vinylzuckerkomponente ohne Wirksamkeitsverlust der Materialien sparsamer eingesetzt werden.

Poly-mer	Glucosestyryl **44** (DS = 0)	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P21	34,7 mol-%	65,3 mol-%	1.000.000	219,9
P27	55,8 mol-%	44,2 mol-%	700.000	136,4
P57	---	100 mol-%	20.000	142,1

DS = Sulfatierungsgrad, [η] = Staudingerindex, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie)

Tabelle 23: Charakterisierung von Polymeren mit variablem unsulfatierten Glucosestyrylanteil **44**

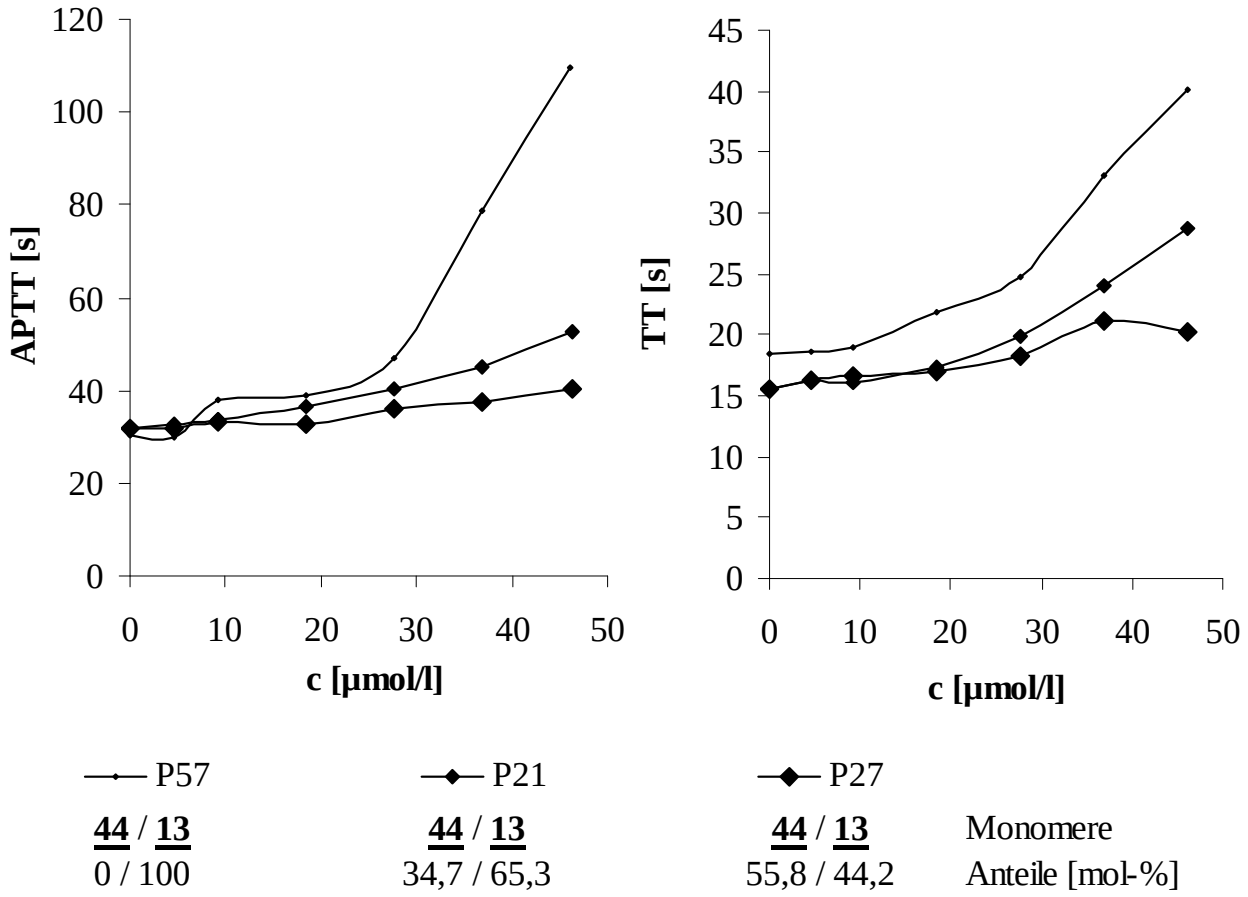


Abbildung 40: Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten vom Monomerverhältnis bei unsulfatierten Polymeren auf Glucosestyrylbasis **44**

Im Einklang mit dem zuvor diskutierten System auf Glucosestyrylbasis, bei dem Polymere mit 20 bis 50 mol-% Vinylzuckeranteil besonders hohe Aktivitäten besitzen, ist das im folgenden näher beschriebene Polymersystem aus Arabinosestyryl **31** und Na^+-p-Vinylbenzoat **13**. Abbildung 41 zeigt, daß keine entscheidenden Veränderungen der Blutgerinnungszeiten zu beobachten sind, wenn der Arabinosestyrylgehalt von 15 bis 50 mol-% variiert wird. Insbeson-dere bei Betrachtung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeiten (APTT) zeichnen sich alle drei Polymere, die in Tabelle 24 näher charakterisiert sind, durch ausgezeichnete Resultate aus. Allenfalls die Thrombinzeit der Probe P14 mit einem Arabinoseanteil von 50 mol-% zeigt gegenüber den anderen beiden Materialien eine etwas verminderte Wirksamkeit.

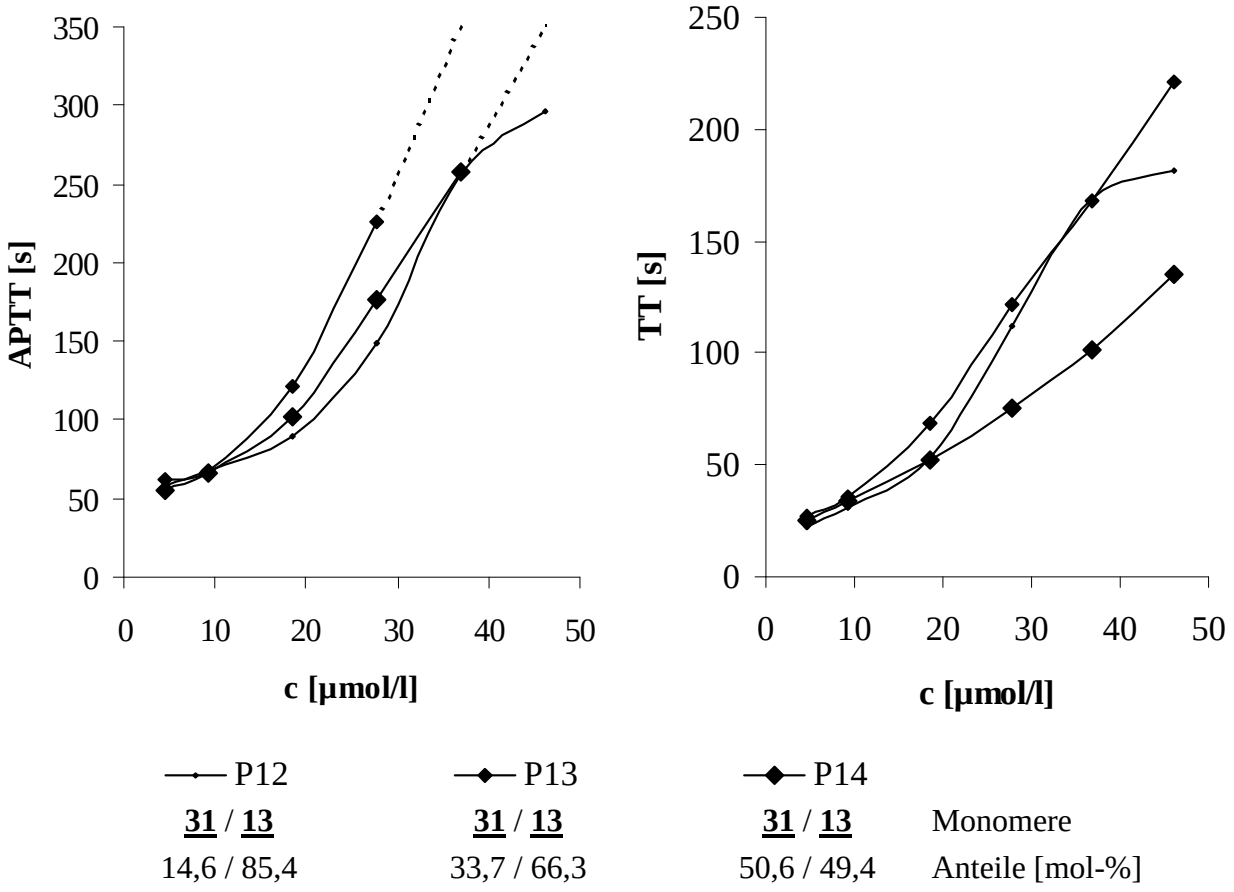


Abbildung 41: Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten vom Monomerverhältnis Arabinosestyryl **31** zu Na^+-p-Vinylbenzoat **13**

Poly-mer	Arabinosestyryl **31**	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P12	DS = 3,7 / 14,6 mol-%	85,4 mol-%	400.000	114,6
P13	DS = 3,7 / 33,7 mol-%	66,3 mol-%	300.000	57,2
P14	DS = 3,7 / 50,6 mol-%	49,4 mol-%	250.000	16,7

DS = Sulfatierungsgrad,
M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie),
[η] = Staudingerindex

Tabelle 24: Charakterisierung von Polymeren mit variablem Arabinosestyrylanteil **31**

Im Vergleich zu den beiden zuvor beschriebenen Polymersystemen aus Glucosestyryl **45** / Na^+-p-Vinylbenzoat **13** und Arabinosestyryl **31** / Na^+-p-Vinylbenzoat **13** besitzen Materialien, die sich aus dem kurzkettigen vollständig sulfatierten Glycerinstyrylderivat **22** und dem Na^+-p-Vinylbenzoat **13** zusammensetzen, ein anderes Eigenschaftsprofil.

Die Polymere P1 bis P5 (Tabelle 25) variieren in ihrem Gehalt an Glycerinstyrylderivat **22** in einem Bereich von etwa 18 bis 71 mol-%. Wie in Abbildung 42 zu sehen ist, verbessern sich die antikoagulativen Eigenschaften dieser Proben mit zunehmendem Zuckeranteil. Eine Verschlechterung der Eigenschaften bei Saccharidanteilen von mehr als 50 mol-% ist hier nicht festzustellen, wie dies bei Materialien mit Glucosestyrylbestandteilen zu beobachten ist. Besonders bei den Thrombinzeiten ist bei glycerinstyrylreichen Polymeren (P4 und P5) ein deutlicher Sprung nach oben in der Wirksamkeit zu erkennen. Die beiden Proben P4 und P5 mit 56 mol-% bzw. 71 mol-% Glycerinstyrylanteil **22** zeigen bereits in niedrigen Konzentrationen starke Auswirkungen auf die Blut-gerinnungszeiten. Da sehr lange Gerinnungszeiten oberhalb 300 Sekunden gerätetechnisch nicht mehr erfaßt werden können, kommt es im Fall der Polymere P4 und P5 zu einem frühzeitigen Abbruch der Meßreihe. Die gestrichelten Linien in Abbildung 42 sollen den theoretischen Weiterverlauf der Kurven andeuten. P4 und P5 zeichnen sich durch die höchsten Wirksamkeiten aus in Bezug auf alle im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten heparinanalogen Materialien.

Poly-mer	Glycerinstyryl **22**	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P1	DS = 3,0 / 17,6 mol-%	82,4 mol-%	610.000	187,1
P2	DS = 3,0 / 26,7 mol-%	73,3 mol-%	600.000	105,6
P3	DS = 3,0 / 47,8 mol-%	52,2 mol-%	610.000	97,5
P4	DS = 3,0 / 55,9 mol-%	44,1 mol-%	590.000	55,4
P5	DS = 3,0 / 70,8 mol-%	29,2 mol-%	600.000	62,8

DS = Sulfatierungsgrad,
M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie),
[η] = Staudingerindex

Tabelle 25: Charakterisierung von Polymeren mit variablem Glycerinstyrylanteil **22**

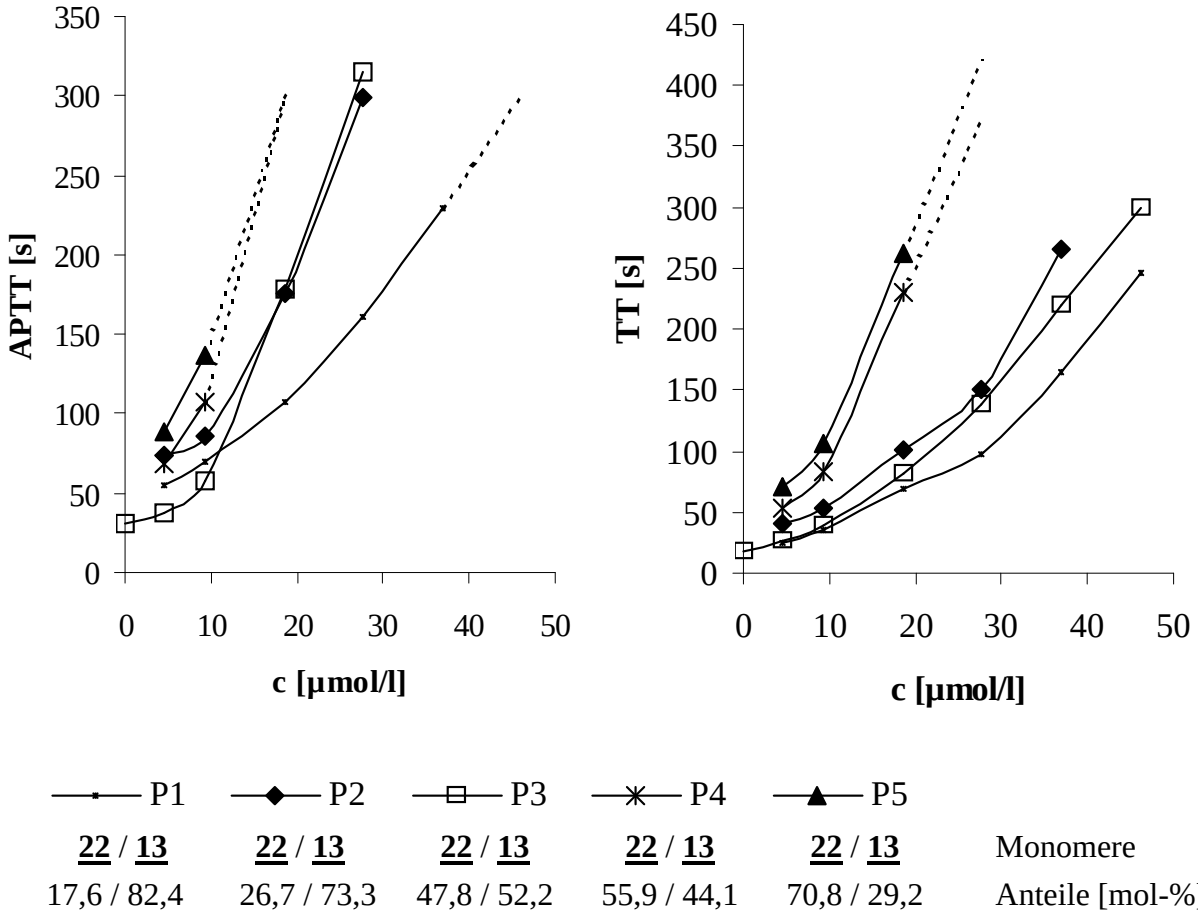


Abbildung 42: Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten vom Monomerverhältnis Glycerinstyryl **22** zu Na^+-p-Vinylbenzoat **13**

Die bisherigen Betrachtungen haben sich alle auf Copolymersysteme bezogen, die sich aus einer Vinylzuckerkomponente und Na^+-p-Vinylbenzoat **13** als Säureanteil zusammensetzen. Im Folgenden soll der Einfluß des Säurederivates auf die blutkompatiblen Eigenschaften der Materialien untersucht werden. Als Alternativen zu Na^+-p-Vinylbenzoat **13** werden die kommerziell erhältlichen Säuren Na^+-p-Styrylsulfonat **14**, Acrylsäure **15** und die Methacrylsäure **16** getestet, die ebenfalls in der Lage sind, Copolymere mit den Vinylzucker-monomeren zu liefern.

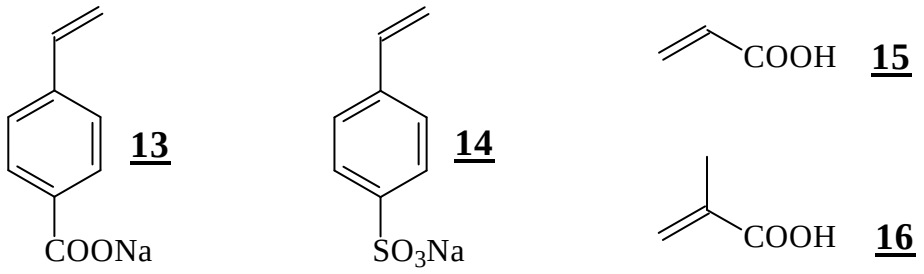


Abbildung 43: Verschiedene polymerisierbare Säuren bzw. deren Na^+-Salze

In Tabelle 26 sind verschiedene Polymere aufgeführt und charakterisiert, die auf Glucosestyryl **45** beruhen und zur Aufklärung des Säureeinflusses beitragen sollen.

Poly-mer	Glucosestyryl **45**	Säureeinheit	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P23	34,7 mol-% (DS = 2,1)	**13** / 65,3 mol-%	1.500.000	292,3
P26	51,1 mol-% (DS = 2,9)	**13** / 48,9 mol-%	1.100.000	247,8
P30	56,5 mol-% (DS = 2,4)	**13** / 43,5 mol-%	330.000	89,2
P33	59,2 mol-% (DS = 4,1)	**13** / 40,8 mol-%	130.000	19,2
P34	53,8 mol-% (DS = 1,5)	**13** / 46,2 mol-%	340.000	55,4
P37	29,3 mol-% (DS = 1,3)	**14** / 70,7 mol-%	150.000	25,8
P39	50,8 mol-% (DS = 1,3)	**14** / 49,2 mol-%	100.000	19,6
P41	53,1 mol-% (DS = 0,8)	**15** / 46,9 mol-%	375.000	147,3
P43	51,3 mol-% (DS = 1,8)	**16** / 48,7 mol-%	640.000	296,0

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 26: Charakterisierung der zur Untersuchung des Säureeinflusses betrachteten Polymere auf Glucosestyrylbasis **45**

Ein Vergleich der antikoagulativen Eigenschaften der Polymere P34 und P41 in Abbildung 44 zeigt, daß Polymer P34 basierend auf Na^+-p-Vinylbenzoat **13** dem Copolymer P41 mit Acrylsäure **15** deutlich überlegen ist. P41 beeinflußt bei ähnlichem Monomerverhältnis, Sulfatierungsgrad und sogar höherem Staudingerindex, verglichen mit P34, die Blutgerinnungszeiten nicht.

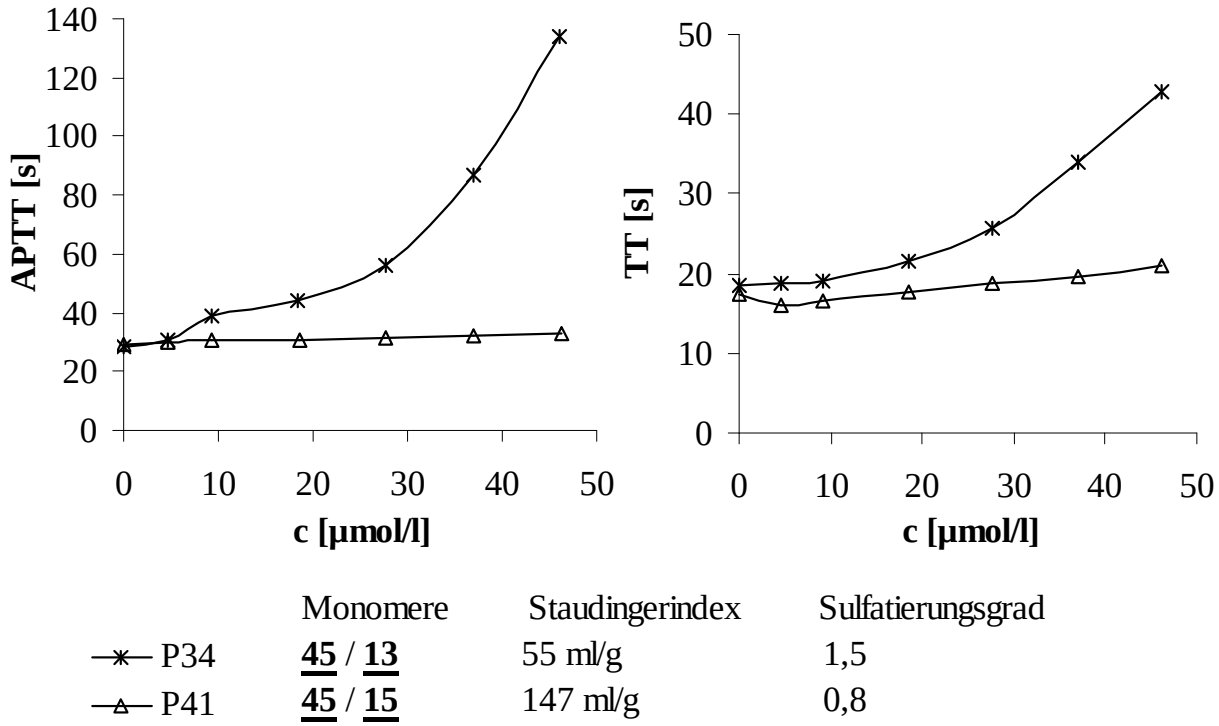
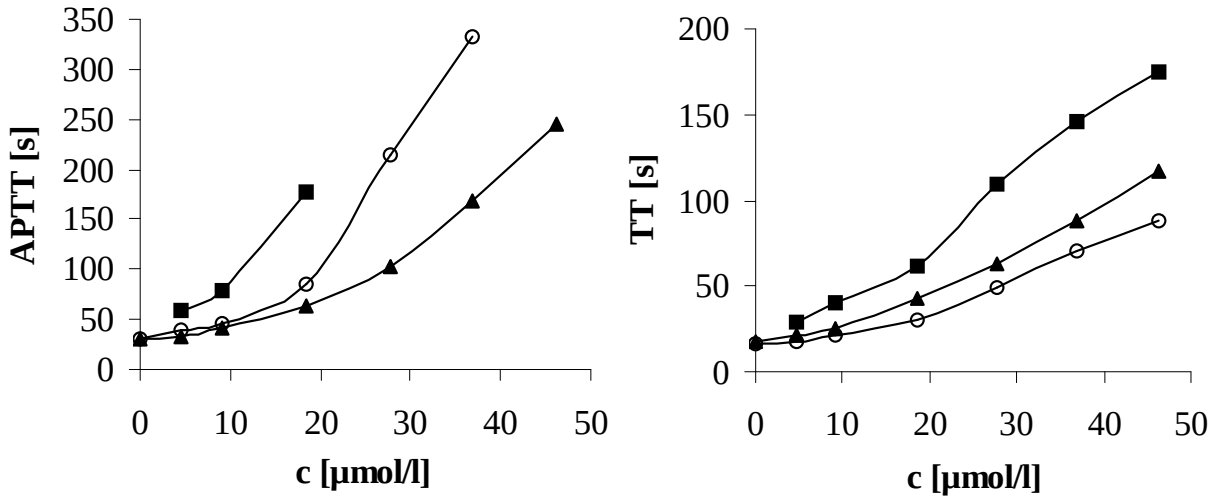


Abbildung 44: Einfluß der Säurekomponenten Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bzw. Acrylsäure **15** auf die Blutgerinnungszeiten bei Polymeren auf Glucosestyrylbasis **45**

Bei Verwendung von Methacrylsäure **16** als Comonomer (P43) anstelle der zuvor eingesetzten Acrylsäure **15** (P41) sollte aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit beider Säuren kein wesentlicher Unterschied auftreten. Die in Abbildung 45 beobachteten verbesserten antithrombischen Eigenschaften von P43 gegenüber P41 werden vermutlich durch den höheren Sulfatierungsgrad und Staudingerindex hervorgerufen. P43 zeigt geringere Aktivitäten verglichen mit P26, einem Polymer auf Na^+-p-Vinylbenzoatbasis **13**. Allerdings ist die größere Wirksamkeit von P26 gegenüber P43 in gewissem Maße auch durch seinen höheren Sulfatgruppengehalt hervorgerufen. Polymer P30, das ebenfalls Na^+-p-Vinylbenzoat **13** als Comonomer enthält, besitzt hingegen einen vergleichbaren Sulfatierungsgrad wie P43 und zeigt trotz sehr viel niedrigerem Staudingerindex

(89 ml/g gegenüber 296 ml/g bei P43) längere aktivierte partielle Thromboplastinzeiten. Bei Betrachtung der Thombinzeit wird der soeben beobachtete Effekt jedoch umgekehrt und P43 schneidet geringfügig besser ab als P30. Es kann somit keine eindeutige Aussage zugunsten einer der beiden Säuren gemacht werden. Allerdings ist das ungünstigere Polymerisationsverhalten der Methacrylsäure ein Argument gegen ihren Einsatz als preisgünstigere Alternative zu Na^+-p-Vinylbenzoat. Bei der Polymerisation von Methacrylsäure und insbesondere Acrylsäure mit Vinylzuckern treten bereits nach wenigen Minuten Erhitzen schwer verarbeitbare, hochviskose Lösungen auf. Die entstehenden Polymere lassen sich zudem nur unter hohen Ausbeuteverlusten polymeranalog sulfatieren (→ P41, P43).

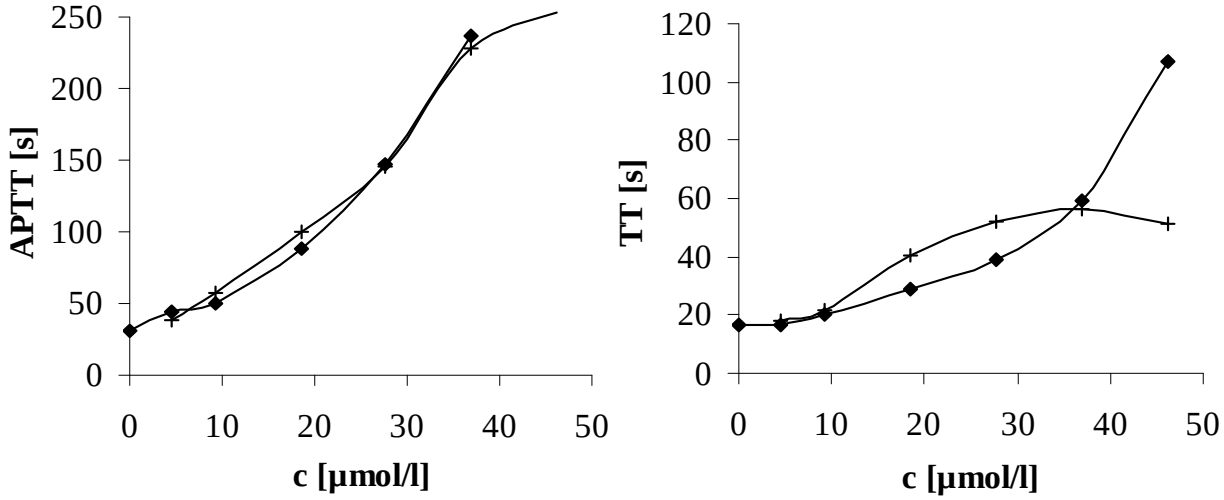


	Monomere	Staudingerindex	Sulfatierungsgrad
—■— P26	**45** / **13**	248 ml/g	2,9
—○— P30	**45** / **13**	89 ml/g	2,4
—▲— P43	**45** / **16**	296 ml/g	1,8

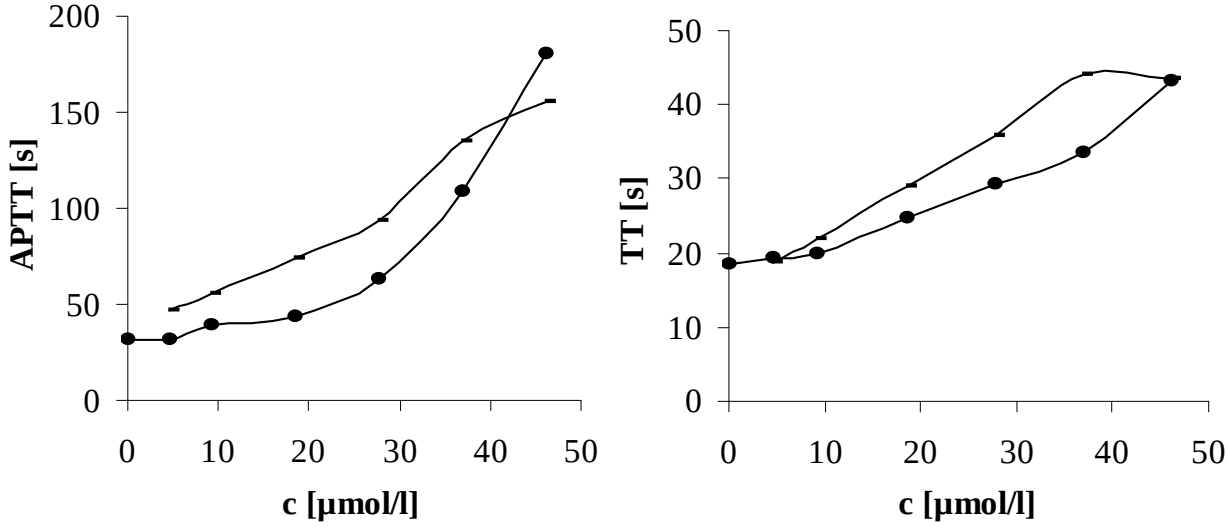
Abbildung 45: Einfluß der Säureeinheiten Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bzw. Methacrylsäure **16** auf die Blutgerinnungszeiten bei Polymeren auf Glucosestyrylbasis **45**

Eine wesentlich vielversprechendere Alternative ist das ebenfalls kommerziell erhältliche Na^+-p-Styrylsulfonat **14**. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu den Vinylzuckermonomeren verläuft die Copolymerisation unproblematisch. Zudem werden über diese Säureeinheit zusätzliche Sulfonatgruppen in das Polymer eingeführt, die sich günstig auf die blutkompatiblen Eigenschaften der Materialien auswirken.

In Abbildung 46 ist kein wesentlicher Unterschied zwischen Polymeren auf Na^+-p-Vinylbenzoat- **13** (P23, P33) bzw. Na^+-p-Styrylsulfonatbasis **14** (P37, P39) zu erkennen.



	Monomere	Staudingerindex	Sulfatierungsgrad
P23	**45** / **13**	292 ml/g	2,1
P37	**45** / **14**	26 ml/g	1,3



	Monomere	Staudingerindex	Sulfatierungsgrad
P33	**45** / **13**	19 ml/g	4,1
P39	**45** / **14**	20 ml/g	1,3

Abbildung 46: Einfluß der Säurekomponenten Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bzw. Na^+-p-Styrylsulfonat **14** auf die Blutgerinnungszeiten bei Polymeren auf Glucosestyrylbasis **45**

Beide zeichnen sich durch hohe Aktivitäten aus. Bei genauerer Analyse besitzen jedoch die Polymere mit Na^+-p-Styrylsulfonat **14** als Säureeinheit entweder einen niedrigeren Staudingerindex (26 ml/g gegenüber 292 ml/g) oder einen kleineren Sulfatierungsgrad (DS 1,3 gegenüber DS 4,1) verglichen mit den entsprechenden Materialien auf Na^+-p-Vinylbenzoatbasis **13**. Daher sind unter gleichen Bedingungen im ersteren Fall höhere Wirksamkeiten zu erwarten. Ähn-lich verhält es sich bei den in Tabelle 27 näher charakterisierten Polymeren P3 und P6, die auf Glycerinstyryl **22** beruhen. Wie in Abbildung 47 deutlich wird, erreicht Probe P6 mit Na^+-p-Styrylsulfonat **14** als Comonomer trotz der gerin-geren Molmasse und dem kleineren Staudingerindex die guten antikoagulativen Eigenschaften von Polymer P3, das auf Na^+-p-Vinylbenzoat **13** basiert.

Poly-mer	Glycerinstyryl **22**	Säureeinheit	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P3	47,8 mol-% (DS = 3,0)	**13** / 52,2 mol-%	610.000	97,5
P6	42,0 mol-% (DS = 3,0)	**14** / 58,0 mol-%	200.000	29,7

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 27: Charakterisierung der zur Untersuchung des Säureeinflusses betrachteten Polymere auf Glycerinstyrylbasis **22**

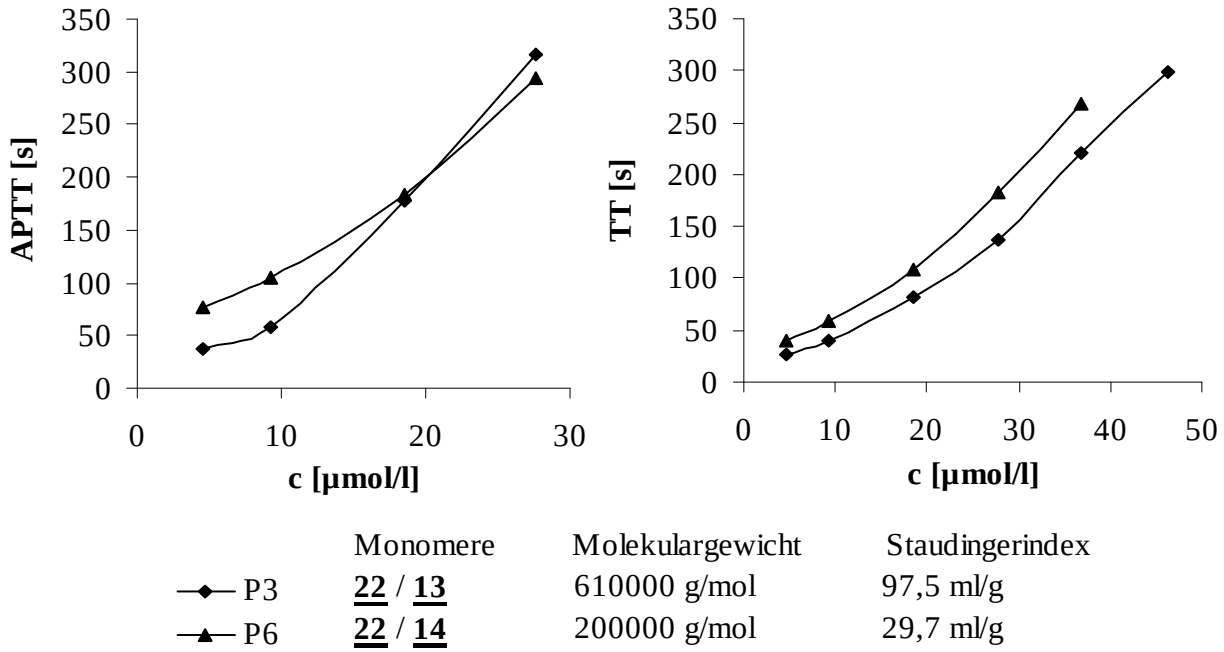


Abbildung 47: Einfluß der Säurekomponenten Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bzw. Na^+-p-Styrylsulfonat **14** auf die Blutgerinnungszeiten bei Polymeren auf Glycerinstyrylbasis **22**

Nach dieser Diskussion über die Bedeutung der Säureeinheit in Bezug auf die antikoagulativen Eigenschaften der Materialien, sollen im weiteren die Auswirkungen der Isomerie der Vinylzuckereinheit näher untersucht werden. Hierzu werden zunächst die Blutgerinnungszeiten der Polymere P20, P45 und P51 miteinander verglichen, deren besonderen Merkmale in Tabelle 28 wiedergegeben sind. Diese Polymere beruhen auf den in Abbildung 48 darge-stellten ringförmigen Zuckerderivaten **42** (Glucosestyryl), **57** (Galactosestyryl) und **65** (Fructosestyryl), die jeweils mit Na^+-p-Vinylbenzoat **13** copolymerisiert wurden.

Poly-mer	Ringförmige Zuckereinheit	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P20	**42** 49,8 mol-% (DS = 2,3)	50,2 mol-%	500.000	96,8
P45	**57** 49,1 mol-% (DS = 2,2)	50,9 mol-%	350.000	70,1
P51	**65** 50,3 mol-% (DS = 1,8)	49,7 mol-%	90.000	16,8

DS = Sulfatierungsgrad,
M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie),
[η] = Staudingerindex

Tabelle 28: Charakterisierung von Polymeren, die auf ringförmigen Vinylzuckermonomeren beruhen

In Abbildung 49 ist eine Rangfolge in der Wirksamkeit der auf ringförmigen Zuckerderivaten beruhenden Materialien zu beobachten. Das Glucosestyryl-polymer zeichnet sich durch die höchsten Aktivitäten aus, dicht gefolgt von dem Galactosestyrylpolymer, während das Fructosestyrylpolymer das Schlußlicht in dieser Reihe bildet. Diese beobachteten Unterschiede in den Blutgerinnungs-zeiten der drei Materialien werden allerdings eher durch die verschiedenen Staudingerindizes und Molmassen hervorgerufen, die ebenfalls in dieser Richtung sinken. Die geringe strukturelle Variation durch die Isomerie der Zuckereinheit ist hier sicherlich nicht die Ursache. Es ist allerdings in der Praxis schwierig, Polymere mit exakt gleichen Parametern herzustellen, d.h. Überein-stimmung in Sulfatierungsgrad, Molekulargewicht und Staudingerindex, die nur in der Wahl der Zuckerkomponente variieren. In der Regel überlagern sich daher zwei oder mehrere Effekte.

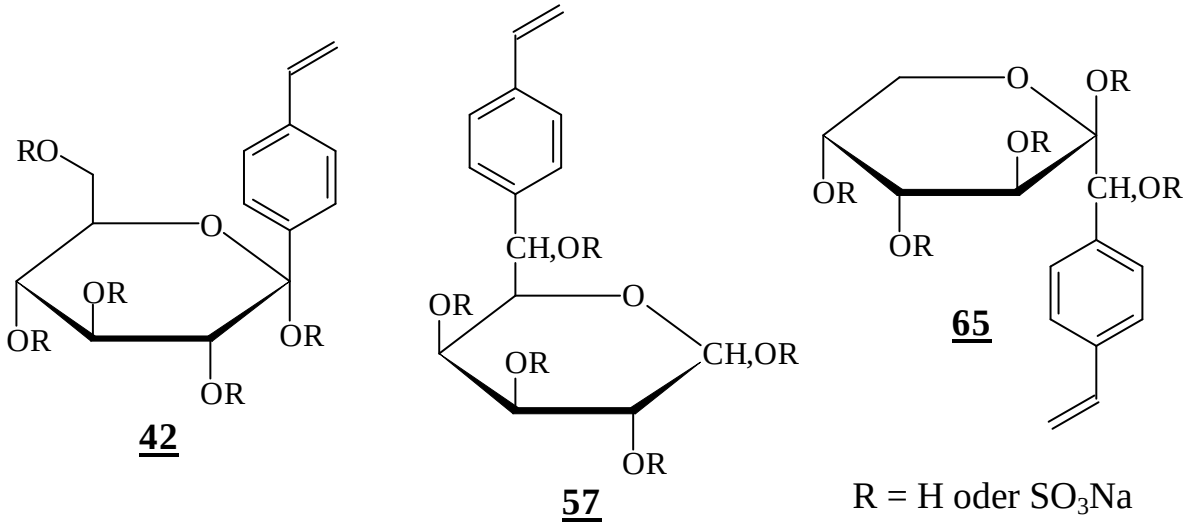
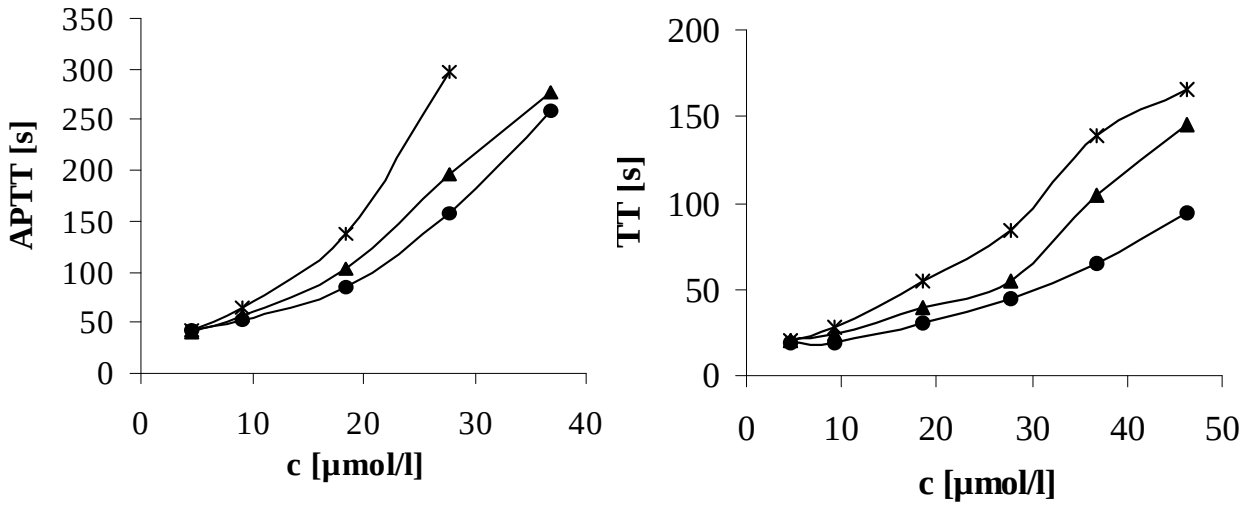


Abbildung 48: Vinylzuckermonomere mit ringförmiger Struktur



	Monomere	Staudingerindex	Sulfatierungsgrad
P20	GluSty **42** / p-VBS **13**	97 ml/g	2,3
P45	GaSty **57** / p-VBS **13**	70 ml/g	2,2
P51	FrucSty **65** / p-VBS **13**	17 ml/g	1,8

Abbildung 49: Einfluß der Isomerie (ringförmige Vinylzuckermonomere) auf die Blutgerinnungszeiten

Die verschiedenen isomeren ringförmigen Vinylzuckermonomere wirken sich, wie zuvor erläutert, nicht sehr unterschiedlich auf die heparinanalogen Eigenschaften aus. Es bleibt zu analysieren, welchen Effekt die im folgenden untersuchten Polymere P34, P48 und P55 (Tabelle 29), auf die Blutgerinnungszeiten ausüben. Diese Materialien beruhen im Gegensatz zu den vorher beschriebenen auf den in Abbildung 50 dargestellten isomeren, offenkettigen Vinylzuckermonomeren Glucosestyrylderivat **45**, Galactosestyrylmonomer **59** und Fructosestyryleinheit **67**, jeweils kombiniert mit Na^+-p-Vinylbenzoat **13**.

Poly-mer	Offenkettige Zuckereinheit	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P34	**45** 53,8 mol-% (DS = 1,5)	46,2 mol-%	340.000	55,4
P48	**59** 48,9 mol-% (DS = 0,5)	51,1 mol-%	250.000	40,5
P55	**67** 49,9 mol-% (DS = 1,8)	50,1 mol-%	250.000	40,1

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 29: Charakterisierung von Polymeren, die auf offenkettigen Vinylzuckermonomeren beruhen

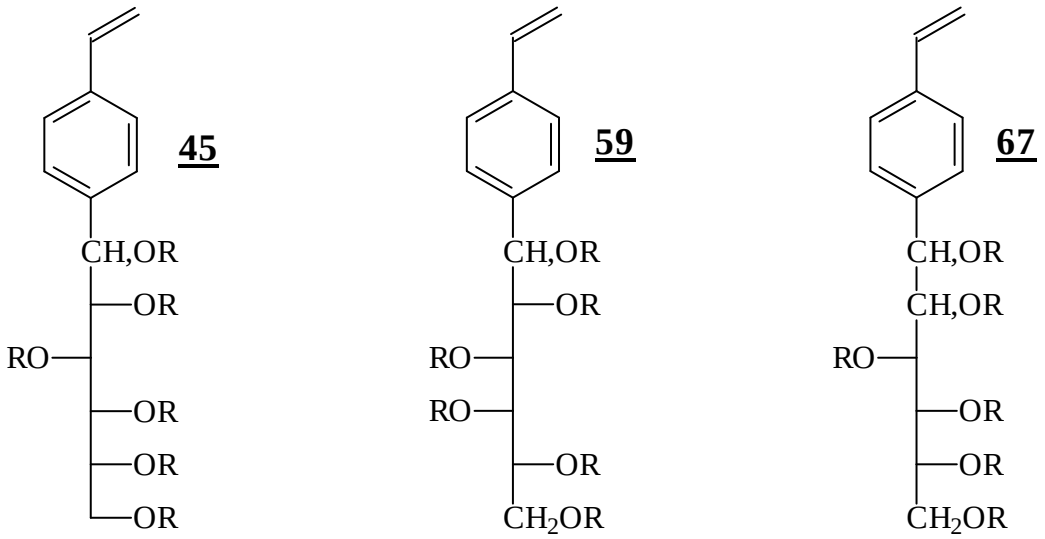
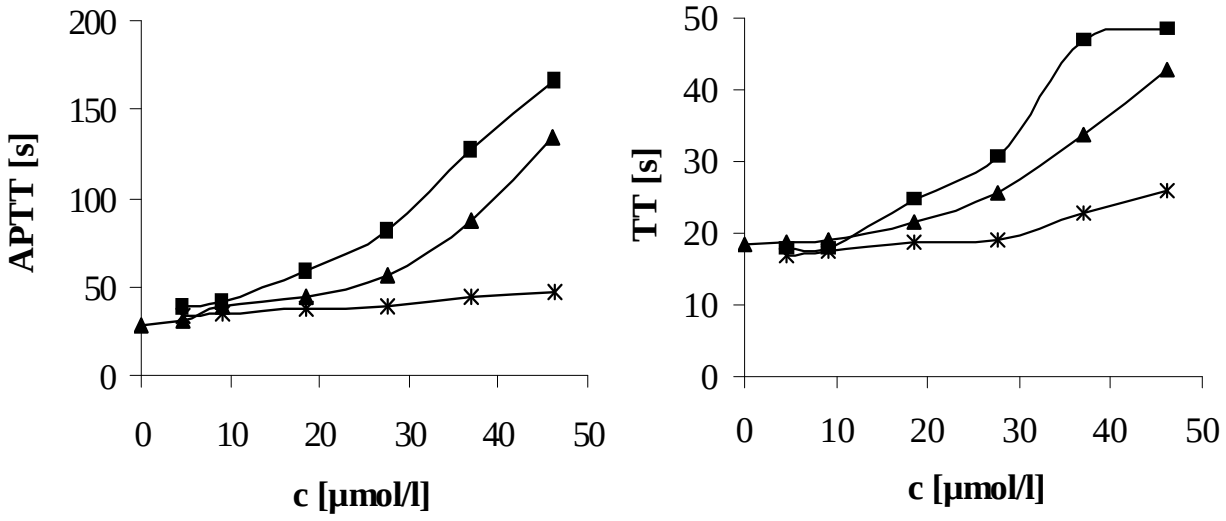


Abbildung 50: Vinylzuckermonomere mit offenkettiger Struktur (R = H oder SO_3Na)

Auch in diesem Fall sind die in Abbildung 51 sichtbaren Wirksamkeitsunterschiede der drei Polymere eher durch die voneinander abweichenden Sulfatierungsgrade zu erklären als durch die geringfügigen Strukturunterschiede der Vinylzuckermonomere.



	Monomere	Staudingerindex	Sulfatierungsgrad
—▲— P34	GluSty **45** / p-VBS **13**	55 ml/g	1,5
—✳— P48	GaSty **59** / p-VBS **13**	41 ml/g	0,5
—■— P55	FrucSty **67** / p-VBS **13**	40 ml/g	1,8

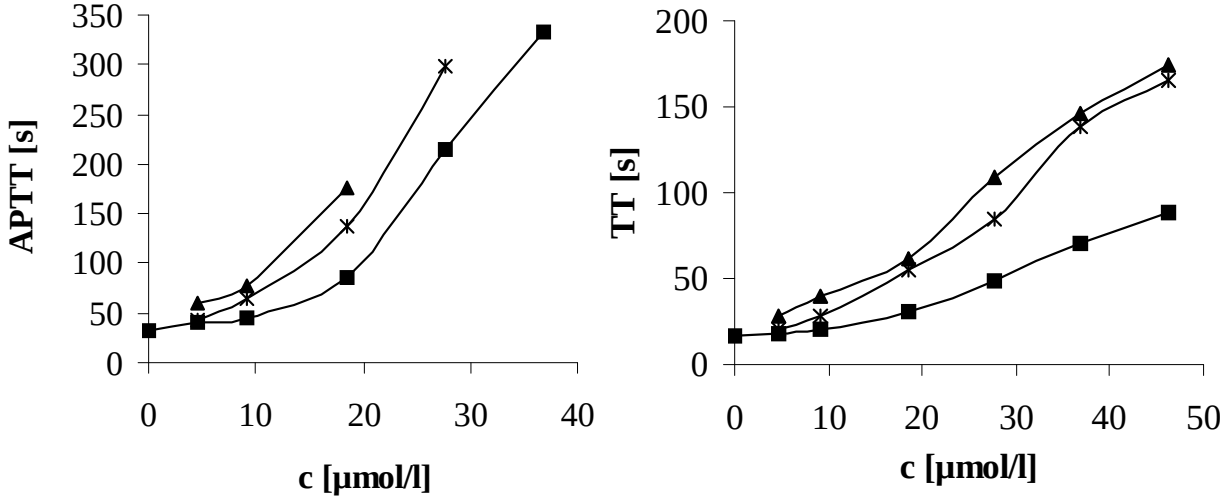
Abbildung 51: Einfluß der Isomerie (offenkettige Vinylzuckermonomere) auf die Blutgerinnungszeiten

Weiterhin ist interessant, wie sich die Verwendung offenkettiger Zuckerderivate im Vergleich zu den entsprechenden ringförmigen auf die Blutkompatibilität auswirkt. Bei einem Vergleich der Polymere P20, P26 und P30, die das ringförmige bzw. offenkettige Glucosestyrylderivat **42** bzw. **45** enthalten, zeigt sich in Abbildung 52 ein geringfügig günstigeres Verhalten im Fall des ringförmigen Vertreters. Bei der Thrombinzeit ist diese Beobachtung deutlicher erkennbar als bei der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit. Das auf dem ringförmigen Vertreter **42** basierende Polymer P20 erreicht trotz deutlich geringerem Staudingerindex fast die Wirksamkeit von P26, das auf dem offenkettigen Glucosestyryl **45** beruht. Außerdem besitzt P20 bessere antikoagulative Eigenschaften als P30 (System offenkettiges Glucosestyryl **45** / Na^+-p-Vinylbenzoat **13**), wobei in diesem Fall beide Polymere vergleichbare Parameter haben. Die längeren Blutgerinnungszeiten von P20 sind somit allein durch den strukturellen Unterschied begründet.

Poly-mer	Zuckereinheit	Na^+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P20	**42** 49,8 mol-% (DS = 2,3)	50,2 mol-%	500.000	96,8
P26	**45** 51,1 mol-% (DS = 2,9)	48,9 mol-%	1.100.000	247,8
P30	**45** 56,5 mol-% (DS = 2,4)	43,5 mol-%	330.000	89,2
P46	**57** 51,4 mol-% (DS = 3,8)	48,6 mol-%	102.000	16,4
P49	**59** 60,9 mol-% (DS = 2,9)	39,1 mol-%	274.000	47,0
P52	**65** 46,7 mol-% (DS = 2,5)	53,3 mol-%	96.000	17,7
P56	**67** 46,3 mol-% (DS = 3,3)	53,7 mol-%	274.000	48,0

DS = Sulfatierungsgrad,
M_n = Zahlenmittel (über Membranosmometrie bestimmt),
[η] = Staudingerindex

Tabelle 30: Charakterisierung von Polymeren, die einen Beitrag zur Aufklärung des Einflusses „ringförmige/offenkettige Vinylzuckermonomere“ leisten sollen

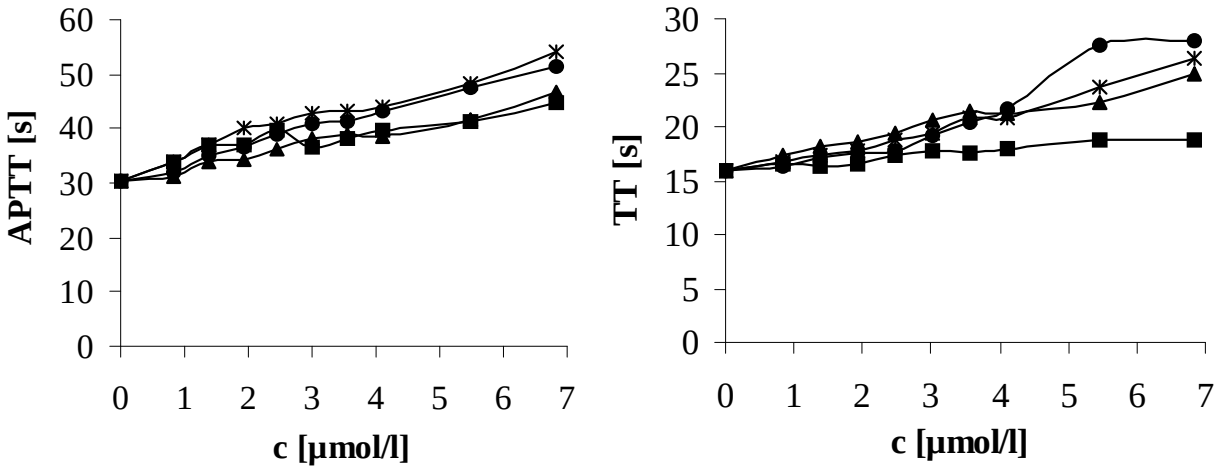


	Monomere	Staudingerindex	Sulfatierungsgrad
—✳— P20	GluSty (O) **42** / p-VBS **13**	97 ml/g	2,3
—▲— P26	GluSty (I) **45** / p-VBS **13**	248 ml/g	2,9
—■— P30	GluSty (I) **45** / p-VBS **13**	89 ml/g	2,4

Abbildung 52: Wirkung offenkettiger (|) bzw. ringförmiger (O) Glucosestyrylmonomere auf die Blutgerinnungszeiten

Bei Untersuchungen von Systemen auf Galactosestyryl- (P46, P49) und Fructosestyrylbasis (P52, P56) sind die in Abbildung 53 beobachtbaren Aktivitätsdifferenzen zwischen Polymeren mit offenkettigen (P49, P56) und ringförmigen Zuckern (P46, P52) jedoch vernachlässigbar klein. Die geringfügig längeren Blutgerinnungszeiten der auf offenkettigen Monomeren basierenden Proben P49 und P56 lassen sich über ihre etwas höheren Molekulargewichte und Staudingerindizes erklären.

Ferner hat auch hier die Isomerie der Zuckermonomere keine wesentlichen Auswirkungen auf die Aktivitäten. Insbesondere in den aktivierten partiellen Thromboplastinzeiten unterscheiden sich die Polymere mit den Galactosestyryl-derivaten kaum von denen mit den Fructosestyrylkomponenten, sowohl bei Betrachtung der ringförmigen als auch der offenkettigen Vertreter.



	Monomere	DS	[η]	Molgewicht
—▲— P46	GaSty (O) **57** / p-VBS **13**	3,8	16 ml/g	102000 g/mol
—●— P49	GaSty (I) **59** / p-VBS **13**	2,9	47 ml/g	275000 g/mol
—■— P52	FrucSty (O) **65** / p-VBS **13**	2,5	18 ml/g	96000 g/mol
—✳— P56	FrucSty (I) **67** / p-VBS **13**	3,3	48 ml/g	274000 g/mol

Abbildung 53: Wirkung offenkettiger (I) bzw. ringförmiger (O) Galactosestyryl- und Fructosestyrylderivate auf die Blutgerinnungszeiten

Die Auswirkungen der Kettenlänge der Vinylzuckereinheit auf die antikoagulativen Eigenschaften sind ein weiterer Aspekt, der zur Aufklärung der Struktur-Eigenschaftsbeziehungen wichtig ist. Polymere mit niedrigen Zuckeranteilen zwischen 15 und 18 mol-% (Tabelle 31, Abbildung 54) zeigen keine ausgeprägte Abhängigkeit der Wirksamkeit von der Kettenlänge der Zucker-einheit. Polymer P1, das auf Glycerinstyryl **22** mit einer Kettenlänge von drei Kohlenstoffatomen beruht unterscheidet sich kaum in seiner Aktivität von der Probe P12, die das Arabinosestyryl **31** mit fünf Kohlenstoffatomen in der Kette enthält. Lediglich P31 basierend auf Glucosestyryl **45** (6 C-Atome) zeigt bei den Thrombinzeiten geringere Effekte.

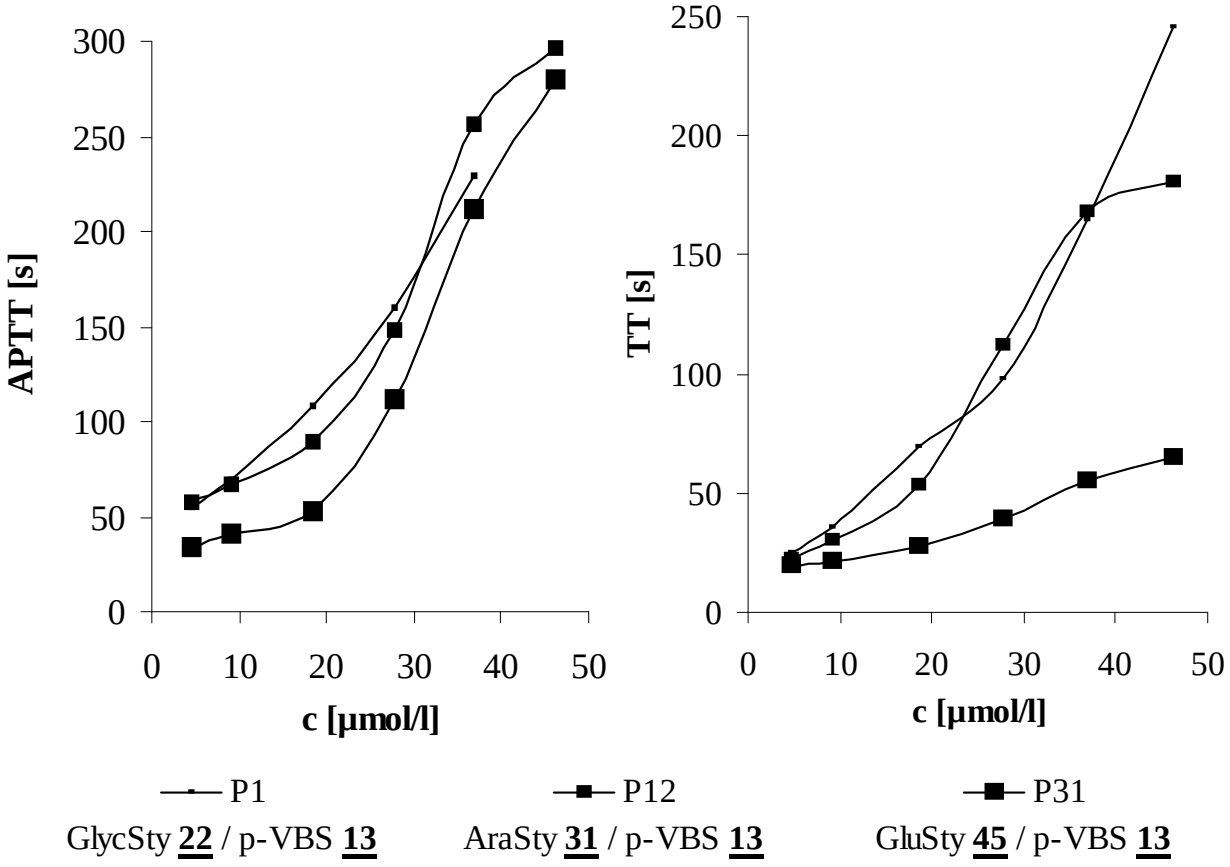


Abbildung 54: Einfluß der Kettenlänge der Vinylzuckereinheit auf die Blutgerinnungszeiten im System aus Vinylzucker / Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bei geringem Zuckergehalt (15 bis 18 mol-%) im Polymer

Poly-mer	Zuckereinheit	Na+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P1	**22** 17,6 mol-% (DS = 3,0)	82,4 mol-%	610.000	187,1
P12	**31** 14,6 mol-% (DS = 3,7)	85,4 mol-%	400.000	114,6
P31	**45** 17,5 mol-% (DS = 4,1)	82,5 mol-%	90.000	175,5

DS = Sulfatierungsgrad,
M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie),
[η] = Staudingerindex

Tabelle 31: Charakterisierung von Polymeren mit einem Saccharidanteil von 15 bis 18 mol-% und variabler Vinylzuckerkettenlänge

Die in Tabelle 32 aufgeführten Polymere P2, P13 und P23, die höhere Zuckeranteile zwischen 27 und 35 mol-% enthalten, lassen eine größere Abhängigkeit der Blutgerinnungszeiten von der Kettenlänge der Zuckereinheit erkennen als die zuvor diskutierten Materialien. Probe P2, das Polymer mit der kürzesten Zuckereinheit Glycerinstyryl **22**, liefert die besten Resultate. Polymer P23 auf der Basis von Glucosestyryl **45** besitzt hingegen trotz seiner verglichen mit den anderen Materialien sehr hohen Molmasse und großem Staudingerindex die geringsten Auswirkungen auf die Blutgerinnungszeiten. Die Blutkompatibi-lität nimmt somit mit abnehmender Kettenlänge der Vinylzuckereinheit zu, wie in Abbildung 55 zu sehen ist.

Poly-mer	Zuckereinheit	Na+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P2	**22** 26,7 mol-% (DS = 3,0)	73,3 mol-%	600.000	105,6
P13	**31** 33,7 mol-% (DS = 3,7)	66,3 mol-%	300.000	57,2
P23	**45** 34,7 mol-% (DS = 2,1)	65,3 mol-%	1.500.000	292,3

DS = Sulfatierungsgrad,
M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie),
[η] = Staudingerindex

Tabelle 32: Charakterisierung von Polymeren mit einem Saccharidanteil von 27 bis 35 mol-% und variabler Vinylzuckerkettenlänge

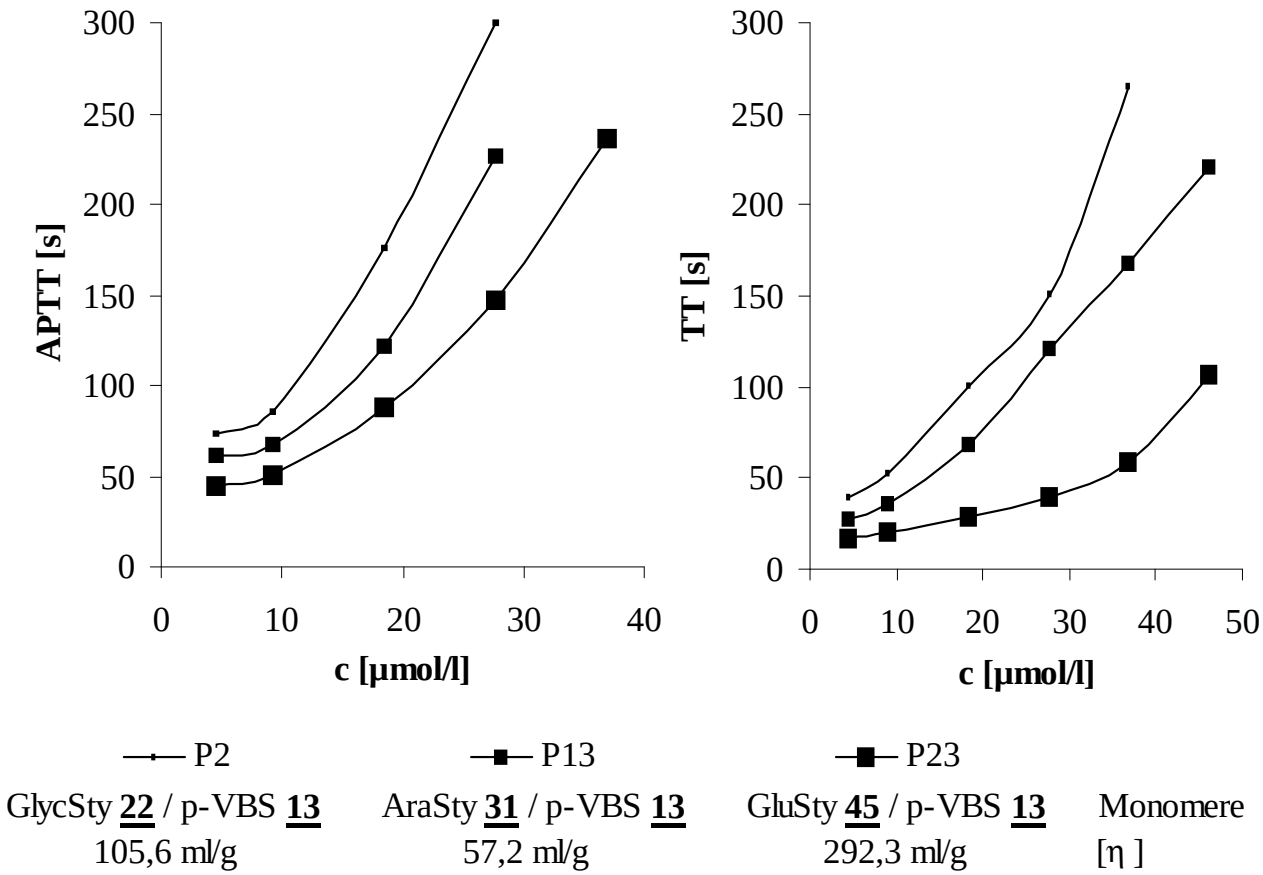


Abbildung 55: Einfluß der Kettenlänge der Vinylzuckereinheit auf die Blutgerinnungszeiten im System aus Vinylzucker / Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bei Polymeren mit mittlerem Zuckergehalt (27 bis 35 mol-%)

Noch deutlicher ist die zuvor beobachtete Tendenz bei Polymeren mit Zuckeranteilen von 45 bis 59 mol-% zu erkennen (Tabelle 33, Abbildung 56). In Abbildung 56 werden jeweils zwei Polymere miteinander verglichen, die in ihrer Zusammensetzung, Molekulargewicht, Staudingerindex und Sulfatierungs-grad ähnlich sind. Sie tragen jeweils das gleiche Legendensymbol, wobei das Polymer mit dem kürzerkettigen Zucker das ausgefüllte Symbol zugeordnet bekommt. Es ist auffällig, daß bei allen drei verglichenen Polymerpaaren (P11/P26, P3/P30, P14/P33), dasjenige besser abschneidet, welches die kürzere Zuckereinheit im Polymer aufweist. So führt die Verwendung von Arabinosestyryl **31** zu Materialien mit höheren Wirksamkeiten als der Einsatz von Glucosestyryl **45** (P11/P26, P14/P33). Auch Proben basierend auf Glycerinstyryl **22** liefern wesentlich bessere Resultate als solche, die auf Glucosestyryl **45** beruhen (P3/P30). Die Steigerung der antikoagulativen Eigenschaften mit abnehmender Kettenlänge der Zuckereinheit wird durch diese Vergleiche erneut bestätigt.

Poly-mer	Zuckereinheit	Na+-p-Vinyl-benzoat **13**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P11	**31** 45,3 mol-% (DS = 2,8)	54,7 mol-%	750.000	176,0
P26	**45** 51,1 mol-% (DS = 2,9)	48,9 mol-%	1.100.000	247,8
P3	**22** 47,8 mol-% (DS = 3,0)	52,2 mol-%	610.000	97,5
P30	**45** 56,5 mol-% (DS = 2,4)	43,5 mol-%	330.000	89,2
P14	**31** 50,6 mol-% (DS = 3,7)	49,4 mol-%	250.000	16,7
P33	**45** 59,2 mol-% (DS = 4,1)	40,8 mol-%	130.000	19,2

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 33: Charakterisierung von Polymeren mit einem Saccharidanteil von 45 bis 59 mol-% und variabler Vinylzuckerkettenlänge

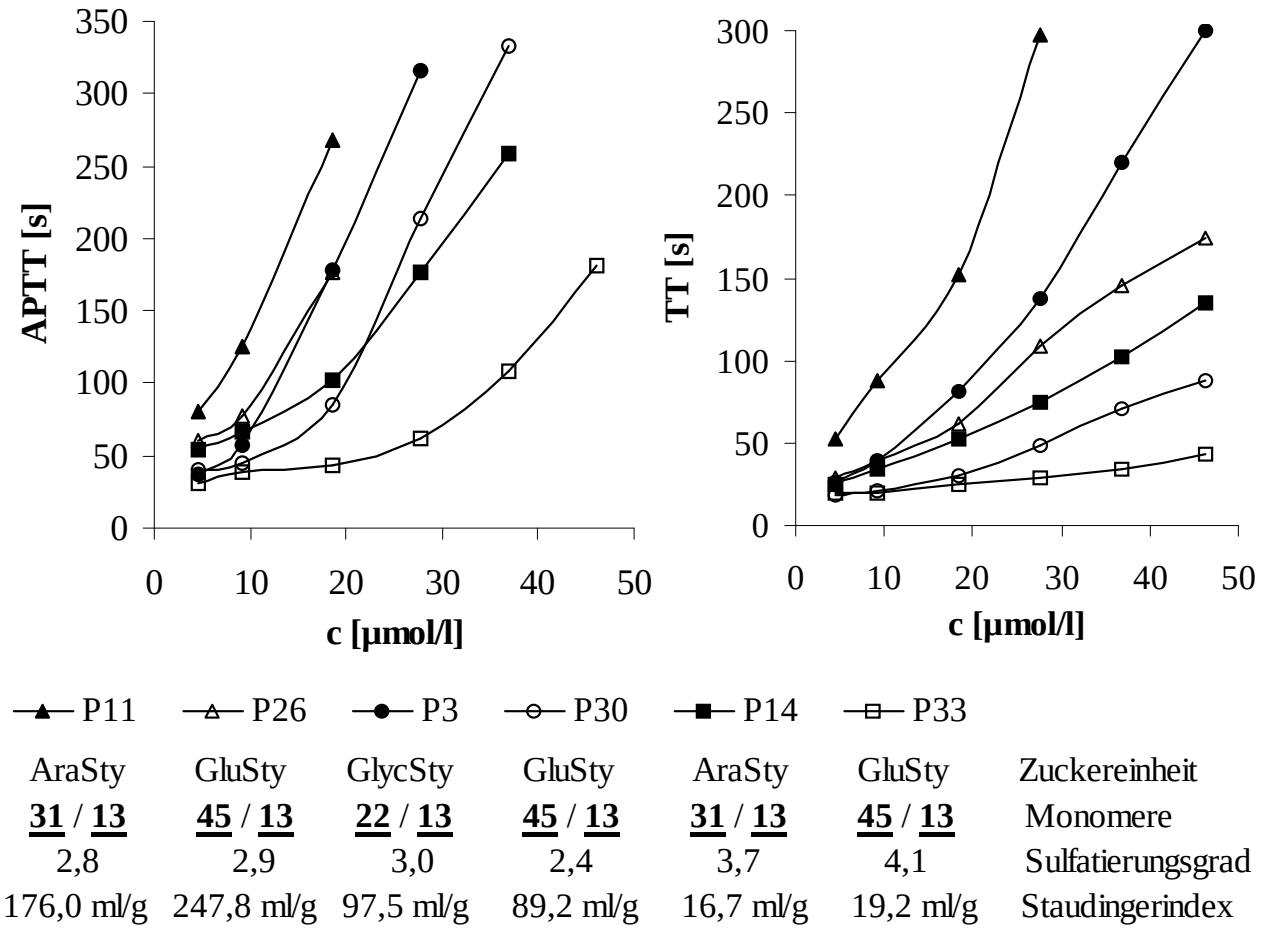


Abbildung 56: Einfluß der Kettenlänge der Vinylzuckereinheit auf die Blutgerinnungszeiten im System aus Vinylzucker / Na^+-p-Vinylbenzoat **13** bei Polymeren mit 45 bis 59 mol-% Zuckergehalt

Auch in einem anderen Polymersystem bestehend aus Vinylzuckereinheiten und Methacrylsäure **16** zeichnet sich eine Zunahme der Wirksamkeit mit abnehmender Zuckerkettenlänge ab, wie in Abbildung 57 deutlich wird. P31 (Arabinosestyryl **31**, 5 C-Atome) besitzt trotz etwas geringerem Sulfatierungsgrad und Staudingerindex bessere antikoagulative Eigenschaften als P43 (Glucoseeinheit **45**, 6 C-Atome) (Tabelle 34).

Poly-mer	Zuckereinheit	Methacryl-säure **16**	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]
P18	**31** 49,2 mol-% (DS = 1,0)	50,8 mol-%	550.000	217,1
P43	**45** 51,3 mol-% (DS = 1,8)	48,7 mol-%	640.000	296,0

DS = Sulfatierungsgrad, M_n = Zahlenmittel (Membranosmometrie), [η] = Staudingerindex

Tabelle 34: Charakterisierung von Polymeren auf Methacrylsäurebasis **16** mit variabler Vinylzuckerkettenlänge

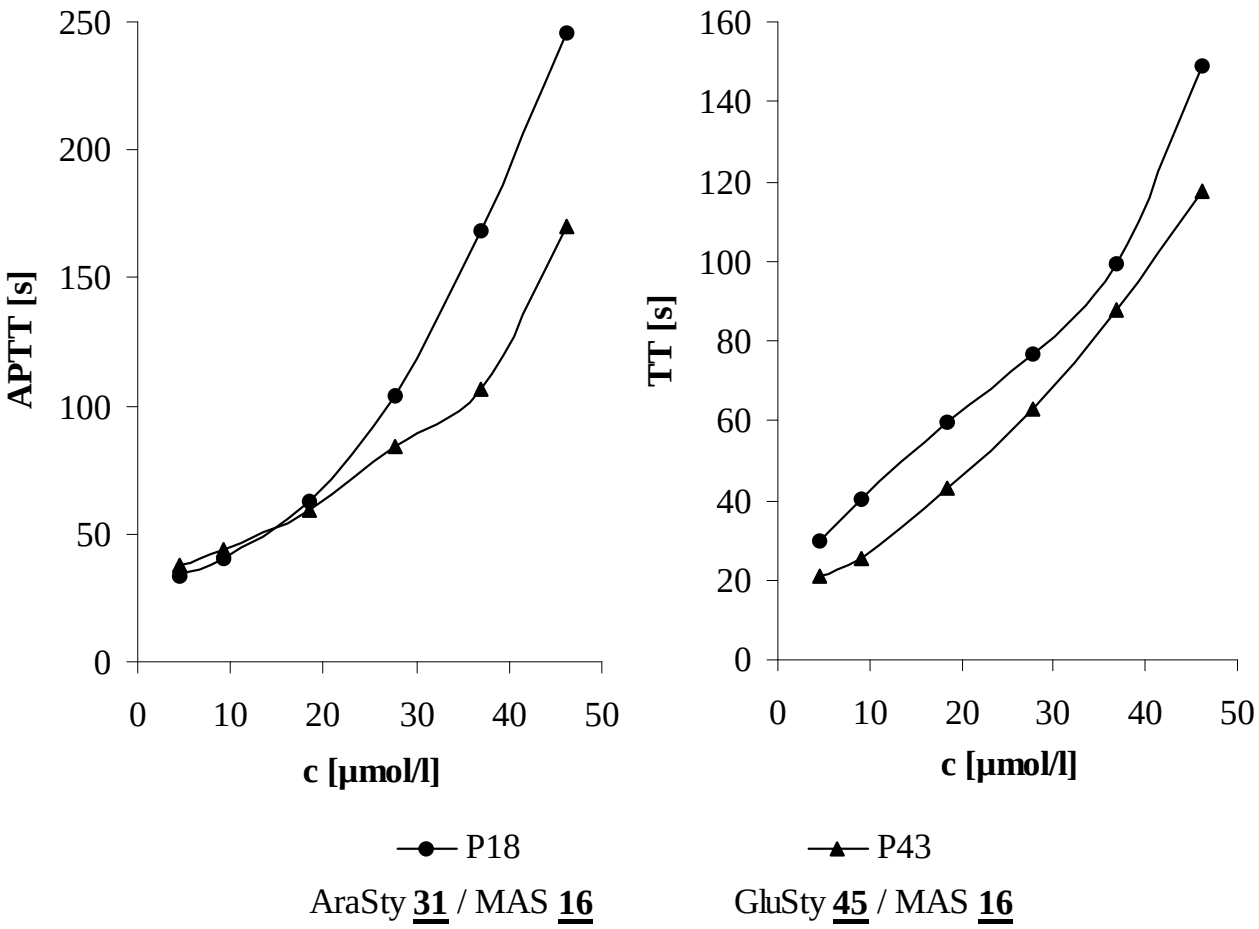
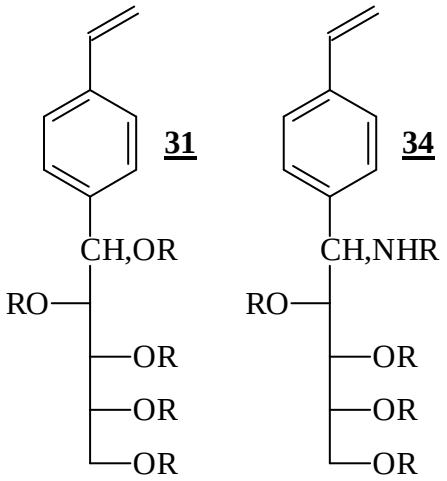


Abbildung 57: Einfluß der Kettenlänge der Vinylzuckereinheit auf die Blutgerinnungszeiten im System aus Vinylzucker / Methacrylsäure **16**

Natürliches Heparin besitzt neben Carboxylat-, Hydroxid- und *O*-Sulfatgruppierungen auch *N*-Sulfatgruppen. Wie *A. Brock*[120] in früheren Untersuchungen bereits festgestellt hat sind *N*-Sulfatgruppierungen im Fall der hier hergestellten heparinanalogen Materialien auf Vinylzuckerbasis nicht zwingend erforderlich. Proben mit *N*-sulfathaltigen Arabinosestyrylderivaten **34** ($P_{Br}2$, $P_{Br}3$) bewirken keine wesentliche Wirksamkeitssteigerung im Vergleich zu Materialien mit nur *O*-Sulfatgruppierungen **31** ($P_{Br}1$) (Abbildung 59). Daher kann auf die aufwendigere Synthese von stickstoffhaltigen Vinylzuckern verzichtet werden.



R = H oder SO_3Na

Abbildung 58: Arabinosestyrylmonomere **31** und **34**

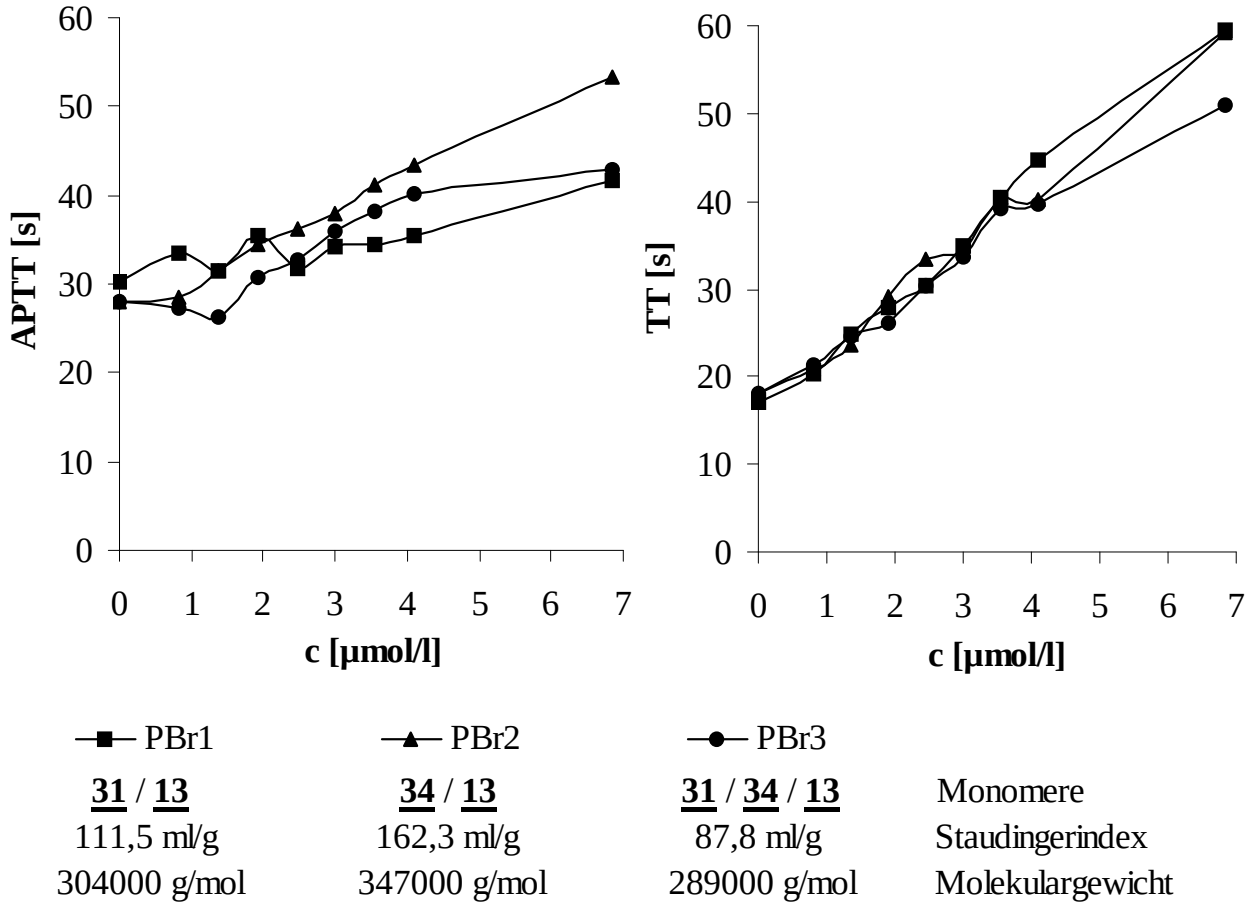


Abbildung 59: Auswirkung von *N*- und *O*-Sulfatgruppen auf die Blutgerinnungszeiten[120] bei Arabinosestyryl-Na^+-p-Vinylbenzoat(**13**)-Copolymeren

Um die Wirksamkeit der Vinylzuckerpolymere im Vergleich zu anderen Heparinoiden einschätzen zu können, sind folgende kommerziell erhältliche Substanzen zusätzlich vermessen worden. Zum einen ist das Natriumsalz des Chondroitin-6-sulfat getestet worden, das aus Haiknorpel isoliert wird und einen Schwefelgehalt von 7 % und einen Stickstoffanteil von 3 % besitzt. Die Molmasse ist vom Hersteller nicht angegeben (Abb. 60). Darüber hinaus wird das Natriumsalz von Dextransulfat auf seine Wirksamkeit hin untersucht, ein verzweigtes, sulfatiertes Polysaccharid auf Glucosebasis mit einem mittleren Molekulargewicht von 500.000 g/mol.

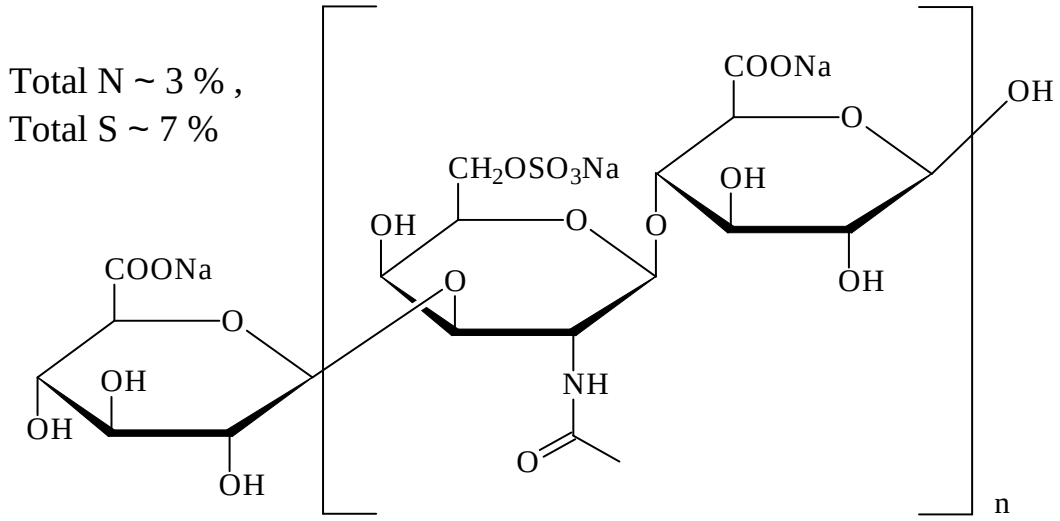
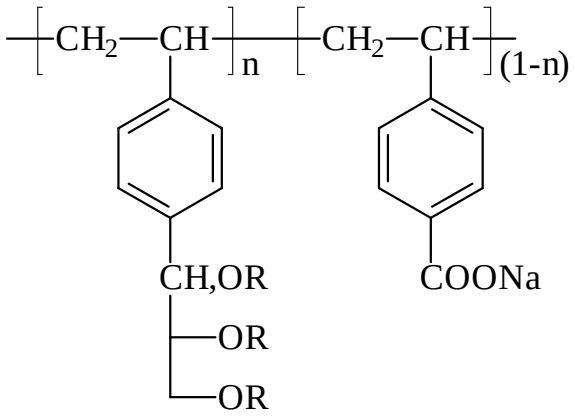


Abbildung 60: Chondroitin-6-sulfat Natriumsalz aus Haiknorpel

Die antikoagulativen Eigenschaften dieser zwei käuflichen Heparinoide werden im folgenden mit denen von Polymer P5 verglichen, das sich im Rahmen dieser Arbeit als eines der wirksamsten Materialien herausgestellt hat. Probe P5 setzt sich zu etwa 71 mol-% aus Glycerinstyryl **22** und zu 29 mol-% aus Na^+-p-Vinylbenzoat **13** zusammen. Es zeichnet sich gegenüber den beiden käuflichen Substanzen, die labile glycosidische Bindungen enthalten, durch eine höhere Hydrolysestabilität aus, aufgrund von ausschließlich stabilen C-C-Verknüpf-ungen. Die genaue Struktur und die nähere Charakterisierung von P5 sind in Abbildung 61 wiedergegeben. Die Aktivität von P5 liegt in einer ähnlichen Größenordung wie die von Dextransulfat und sie übertrifft die von Chondroitin-6-sulfat (Abbildung 62). Bei den besonders wirksamen Proben Dextransulfat und P5 sind zum Teil nur ein oder zwei Meßpunkte möglich, da aus gerätetechnischen Gründen Gerinnungszeiten oberhalb 300 Sekunden nicht mehr erfaßt werden können.

Darüber hinaus sind die Blutgerinnungszeiten von Heparin (durchschnittliches Molekulargewicht 13.000 g/mol) in Abbildung 62 miteingezeichnet. Hiernach sind die Aktivitäten von Heparin nur geringfügig besser als diejenigen von Dextransulfat. Die deutlich höhere Wirksamkeit von Heparin verglichen mit den Heparinoiden ist jedoch seit langer Zeit in vivo nachgewiesen. Der hier angestellte Aktivitätsvergleich in vitro sagt demnach nicht unbedingt etwas über die Wirksamkeit in vivo aus.



n = 0,71 R = H oder SO_3Na

Sulfatierungsgrad 3,0

SO_3Na/Tetramer 8,5

COONa/Tetramer 1,7

M_n = 600.000 g/mol

[η] = 62,8 ml/g

Abbildung 61: Struktur und Charakterisierung von Polymer P5

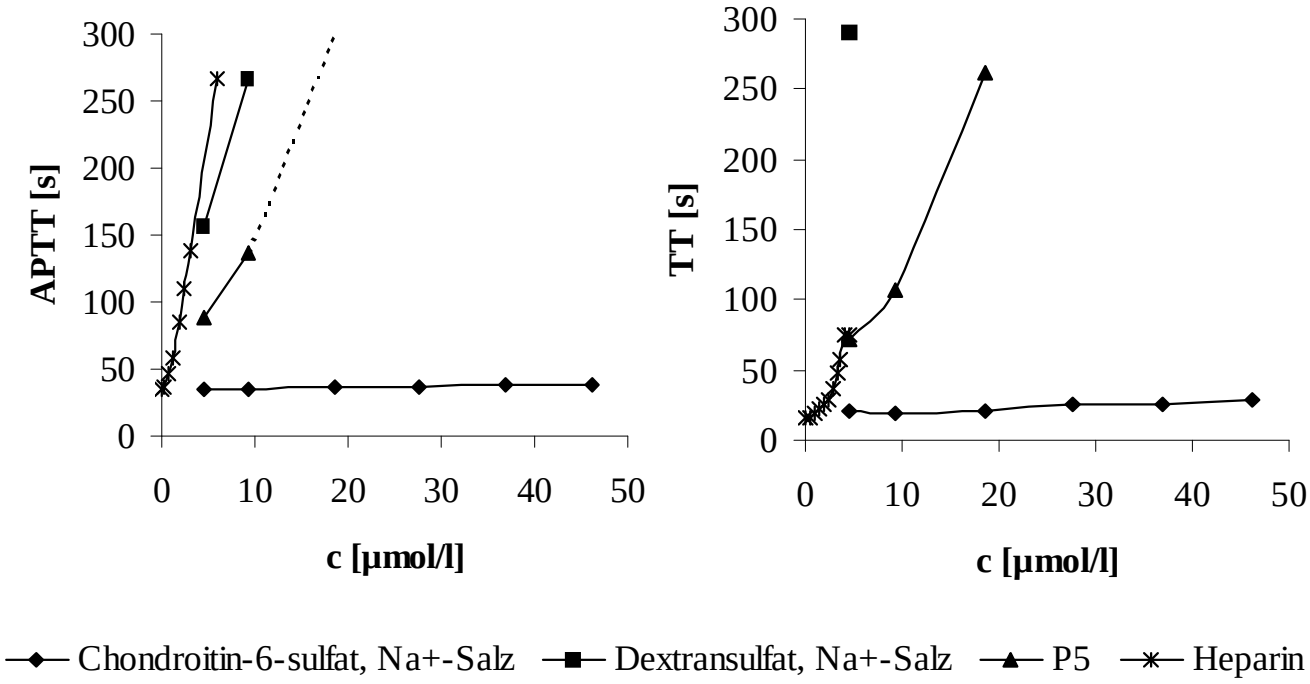


Abbildung 62: Vergleich der Blutgerinnungszeiten zweier käuflicher Heparinoide sowie Heparin mit denen von Polymer P5

Für mögliche Anwendungen in der Medizintechnik sind neben den sehr guten antikoagulativen Eigenschaften der Polymere auch niedrige Bakterien-adhäsionen und Gleitreibungen von Bedeutung. Auf diese Weise kann das Infektionsrisiko für den Patienten erheblich gesenkt werden und Reizungen oder gar Entzündungen, die rauhe Oberflächen hervorrufen können, werden unwahr-scheinlicher.

Die Bakterienadhäsionen werden nach einem von der CREAVIS GmbH entwickelten Verfahren untersucht, das auf dem folgenden Meßprinzip beruht: Die relative Zahl der an Kunststoffen adhärierten Mikroorganismen wird in der Praxis über die Menge des in den adhärierten Mikroorganismen vorliegenden Adenosintriphosphats (ATP) (Energiespeicher in biologischen Systemen) bestimmt. Nach Kontaktierung flächiger Kunststoffproben mit dem Teststamm werden die locker am Material haftenden Bakterien mit Pufferlösung weggespült und aus den festhaftenden Mikroorganismen wird das ATP extrahiert. Mit Hilfe eines enzymhaltigen Reagentiengemisches läßt sich die im ATP des Extraktes gespeicherte Energie als Licht freisetzen und in einem Lichtimpulsmeßgerät bestimmen. Die für die Folien gemessenen Lichtimpulse werden in % der für den betreffenden Standardkunststoff (hier: Polyamid 12) gemessenen Lichtimpulse angegeben.

Zur Beschichtung werden die PA 12 Folien zunächst 15 Sekunden in Aceton getaucht und getrocknet. Anschließend werden sie in einem Argonplasma mit 600 Watt Leistung zwei Minuten lang aktiviert, danach 20 Sekunden in eine wäßrige 2,5 %ige Polyethylenimin-Lösung (Lupasol P, Fa. BASF) getaucht und fünf Minuten bei 60 °C getrocknet. Schließlich werden die so präparierten Folien zwei Sekunden mit einer wäßrigen 5 %igen Zuckerpolymerlösung kontaktiert und eine Stunde bei 60 °C getrocknet.

Zur Ermittlung der Bakterienadhäsionen der Polymere werden die zucker-polymerbeschichtete PA 12 Folie, fünf Kontrollproben ohne Beschichtung und zwei sogenannte BLANKS (nur mit Phosphat-gepufferter-Saline-Lösung = PBS (0,05 mol/l K_2HPO_4, pH 7.2, mit 0,9 % NaCl) aber nicht mit Bakteriensuspension behandelte PA 12 Folien) untersucht. Eine Über-Nacht-Kultur des Teststammes Klebsiella pneumoniae in einer Hefeextrakt-Pepton-Glucose-Nährlösung (1:1:1) wird 3 x 15 Minuten bei 4000 Upm in Rotkäppchenröhrchen zentrifugiert. Der Überstand wird jedesmal mit der Pasteurpipette abgenommen und verworfen, das Pellet in sterilem PBS-Puffer erneut suspendiert.

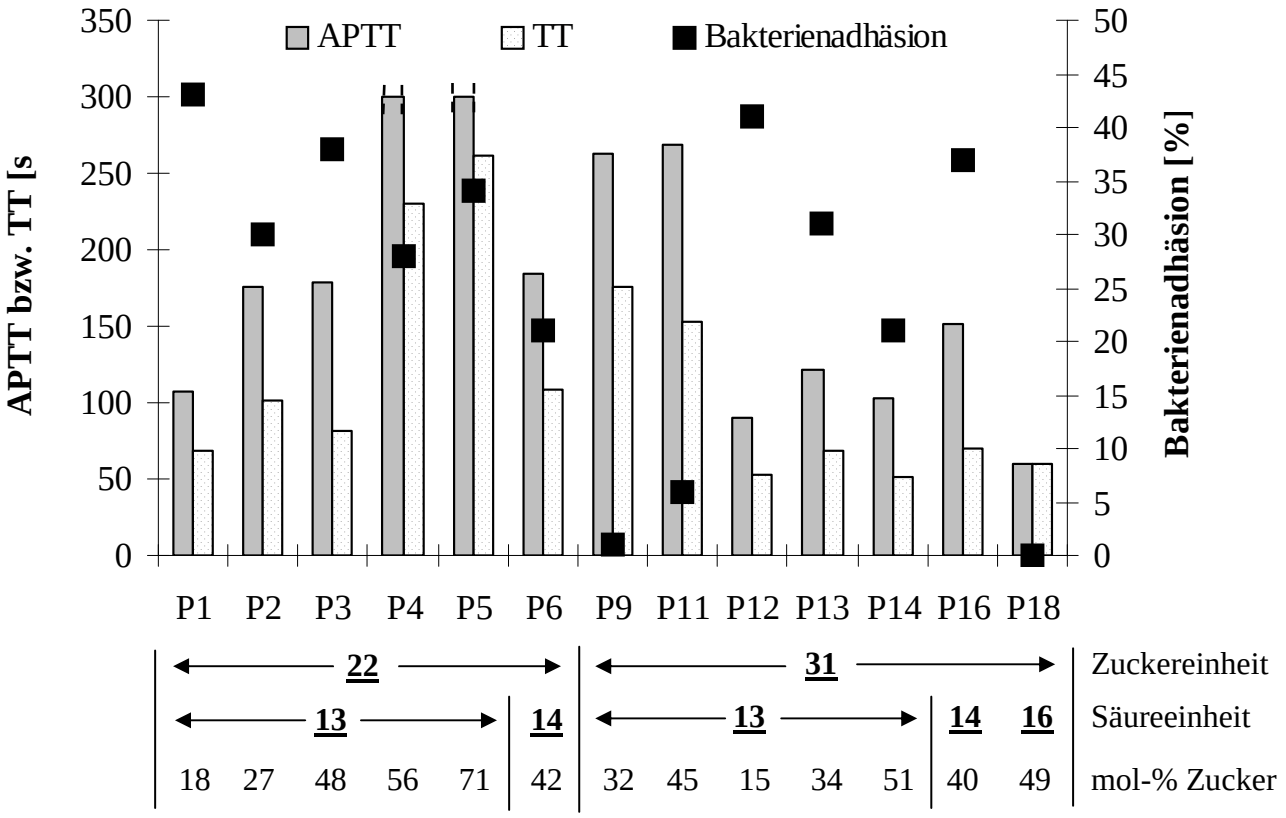
Der ursprüngliche Kolbeninhalt (30 bzw. 60 ml) wird aufkonzentriert (auf ca. 8 bzw. 16 ml) und so auf eine Zelldichte von etwa $5*10^{10}$ Zellen/ml eingestellt. Auf die Folienstücke werden 200 µl der Klebsiella pneumoniae Suspension in fein verteilten Tröpfchen aufgesetzt. Auf die BLANKS werden analog 200 µl PBS-Lösung aufgetragen. Die Proben werden ohne Schütteln zwei Stunden bei Raumtemperatur kontaktiert. Anschließend wird die Suspension im Wasserstrahlvakuum mit einer Pasteurpipette abgesaugt. Die Proben werden in einer Petrischale mit 10 ml sterilem PBS-Puffer bei 100 Upm für zwei Minuten im Rundschüttler gewaschen. Ebenso wird mit den fünf Kontrollproben verfahren (Verwendung von 20 ml PBS-Puffer). Nach Ablaufen der Waschflüssigkeit auf ein Saugpapier, werden die Folien mit der Oberseite nach unten in ein Becherglas mit 10 ml TRIS/EDTA-Extraktionspuffer gegeben (4 mmol/l Ethylendiamin-tetraacetat-Lösung vorlegen, durch Zugabe von 0,1 mol/l Trishydroxyethyl-aminomethan-Lösung auf pH 7,8 einstellen) und zwei Minuten bei 100°C im Wasserbad extrahiert. Ein Teil des Extraktes wird in Eppendorf-Cups umgefüllt und bis zur Bioluminescenz-Bestimmung des extrahierten Adenosintriphosphates (ATP) bei –20°C eingefroren. Zur Vermessung werden die Proben langsam wieder auf Raumtemperatur gebracht. In durchsichtige Zentrifugenröhrchen aus Polycarbonat werden 100 µl Reagenz aus dem Bioluminescenz-Kit CLS 2 (Fa. Boehringer Mannheim GmbH) gegeben, zehn Sekunden im Meßschacht des Lichtimpulsmeßgerätes Lumat 9501 (Fa. Prof. Berthold GmbH, Wildbuch) gelassen und dann der emittierte Lichtimpuls gemessen (= Leerwert). Danach werden 100 µl Probe zugegeben und sofort die emittierten Lichtimpulse bestimmt (= Probenwert). Der Leerwert wird vom Probenwert abgezogen, ebenso der BLANK. Die Werte der unbeschichteten Polyamid 12 Folien werden auf 100 % gesetzt und die Probenwerte relativ dazu berechnet. Die vermessenen relativen Lichtimpulse (RLU-Werte) können in die Zahl der an der Folie adhärierten Bakterien umgerechnet werden. Der Umrechnungsfaktor zwischen dem RLU-Wert und der Bakterienzahl wird ermittelt, indem ein Aliquot der Bakteriensuspension mit $5x10^{10}$ Zellen/ml in 10 ml heißer TRIS/EDTA-Lösung extrahiert und dann der ATP-Gehalt bestimmt wird.

Die Bakterienadhäsionen der Vinylzuckerpolymere zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der Struktur der Zuckereinheit (Abbildung 63). So besitzen Materialien, die auf Glycerinstyryl **22** basieren, Bakterienadhäsionen zwischen 20 und 45 %, während Polymere mit den Glucosestyrylderivaten **42** (ringförmig, sulfatiert), **44** (offenkettig, unsulfatiert) bzw. **45** (offenkettig, sulfatiert) wesentlich geringere Werte von 5 bis 20 % vorweisen. Die antikoagulativen Eigen-schaften der Copolymere mit dem Glycerinstyrylmonomer **22** sind allerdings unübertroffen gut. Dort sind im Fall der Polymere P4 und P5 die aktivierten partiellen Thromboplastinzeiten bereits bei der niedrigen Polymerkonzentration von 18,5 µmol/l höher als 300 Sekunden und liegen somit außerhalb des Meßbereiches. Allenfalls P26 (System GluSty **45** / p-VBS **13**) gelangt mit den Blutgerinnungszeiten in ähnliche Größenordnungen wie die geringer wirksamen Polymere (P1 - P3, P6) mit dem Glycerinderivatbestandteil **22**.

Auf Arabinosestyryl **31** beruhende Materialien haben Bakterienadhäsionen zwischen 0 und 40 %. Auffällig bei ihnen ist, daß an den höher molekularen Proben P9 (1.000.000 g/mol) und P11 (750.000 g/mol) mit 0 bis 5 % viel weniger Mikroorganismen haften bleiben als an den niedriger molekularen Polymeren P12 (400.000 g/mol), P13 (300.000 g/mol) und P14 (250.000g /mol), die Werte von 20 bis 40 % annehmen. P9 und P11 sind zudem aufgrund ihrer hervorragenden blutkompatiblen Eigenschaften hervorzuheben.

Weiterhin ist erkennbar, daß offensichtlich die Zuckereinheiten bakterizid wirken. In vielen Fällen ist tendenziell eine Abnahme der Bakterienadhäsionen mit zunehmendem Zuckergehalt zu beobachten. Dies ist zum Beispiel bei den Glycerinstyrylpolymeren P1 bis P5, den Arabinosestyrylmaterialien P12 bis P14 und bei den Glucosestyrylproben P37 / P39 sichtbar.

Ferner zeigt ein Vergleich von Materialien auf Galactosestyryl- bzw. Fructosestyrylbasis (P45, P48, P51, P55), daß die Proben mit den jeweils offenkettigen Vertretern (**58**, **66**) weniger Mikroorganismen adhärieren als diejenigen mit den ringförmigen Derivaten (**56**, **64**).



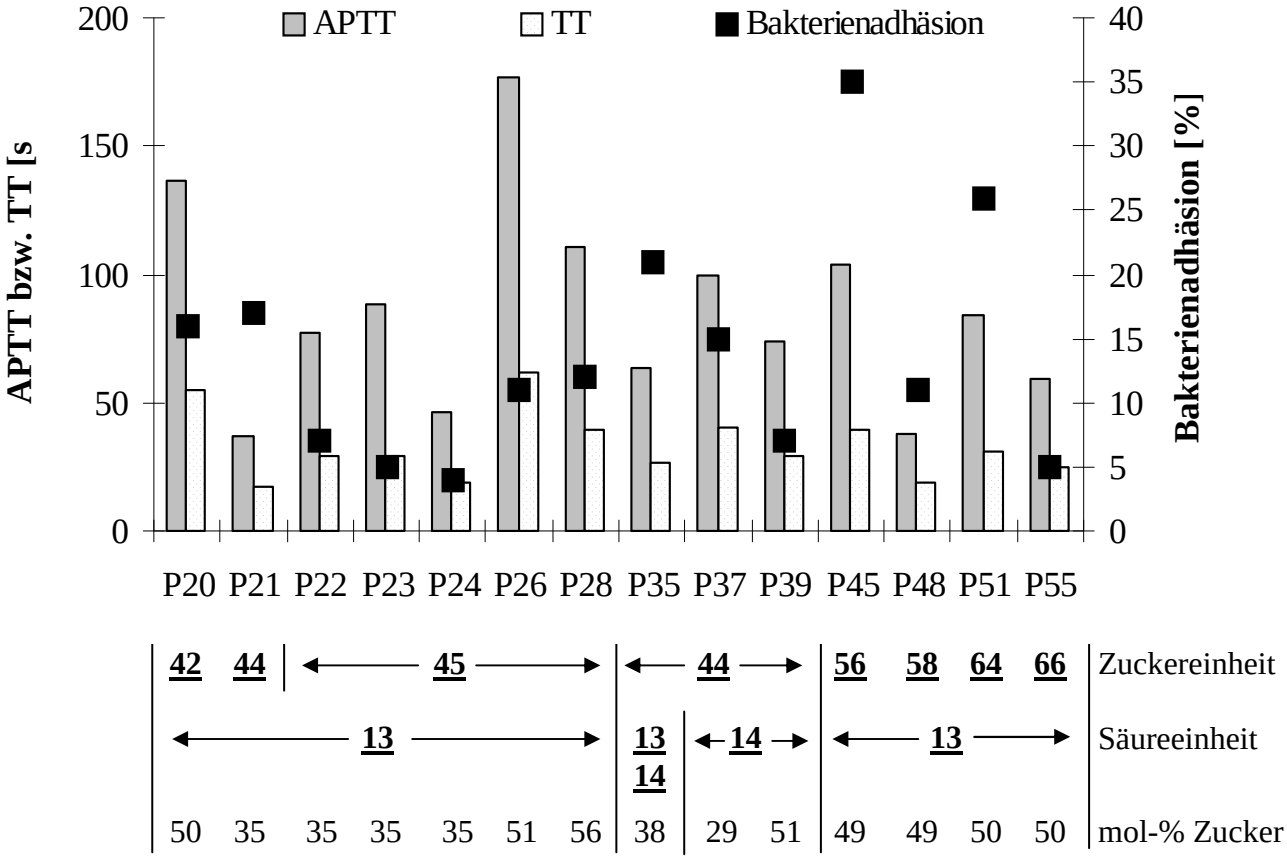


Abbildung 63: Gegenüberstellung von APTT bzw. TT (bei c = 18,5 µmol/l gemessen) und Bakterienadhäsion verschiedener Polymere

Eine weitere Charakterisierung der heparinanalogen Materialien erfolgt über deren Gleitreibungen. Die entsprechenden Messungen beruhen auch hier auf einem von der CREAVIS GmbH entwickelten Verfahren.

Zur Messung der Gleitreibungen der Materialien werden Folienstücke in Größe des Probekörpers aus der mit Zuckerpolymer beschichteten und getrockneten Folie ausgestanzt, mit Doppelklebeband auf dem Probekörper fixiert und für zehn Minuten gewässert. Der so präparierte Probekörper wird auf eine gewässerte PA 12 Platte aufgesetzt und das Zugseil der Maschine (Fa. Zwick Modell Z2.5 / TNS) am Probekörper eingehängt. Nach Starten der Maschine wird der Probekörper gleichmäßig über die gewässerte PA 12 Platte gezogen. Dabei muß zunächst die Haftreibung überwunden werden. Sobald sich der Prüfkörper in gleichförmiger Bewegung befindet kann die Gleitreibung bestimmt werden. Jede Messung wird fünfmal wiederholt. Die Auswertung erfolgt computergesteuert.

Die erhaltenen Gleitreibungskoeffizienten μ_D liegen für sämtliche Polymere in einem Bereich von 0,13 bis 0,48 (Mittelwert 0,31). Der Wert für eine unbehandelte Polyamid-12-Folie beträgt μ_D = 0,36. Eine Beschichtung mit Vinylzuckerpolymeren wirkt sich somit in der Regel nicht auf die Gleitreibungskoeffizienten aus. Zudem ist eine erkennbare Abhängigkeit der Werte von der Struktur der Zuckereinheit, dem Sulfatierungsgrad, dem Molekulargewicht des Polymers oder anderen Parametern nicht sichtbar.

In den Tabellen 35 und 36 sind die Bakterienadhäsionen und die Gleitreibungskoeffizienten der Vinylzuckerpolymere aufgeführt.

Polymer	BA [%]	μ_D	Polymer	BA [%]	μ_D
P1	43	0,28	P22	7	0,33
P2	30	0,26	P23	5	0,43
P3	38	0,31	P24	4	0,24
P4	28	0,26	P26	11	0,33
P5	34	0,27	P28	12	0,36
P6	21	0,27	P35	21	0,21
P7	---	0,32	P37	15	0,33
P9	1	0,34	P39	7	0,33
P11	6	0,34	P41	24	---
P12	41	0,29	P43	21	---
P13	31	0,39	P45	35	0,28
P14	21	0,27	P46	---	0,33
P16	37	0,33	P48	11	0,29
P18	0	0,39	P51	26	0,32
P20	16	0,13	P55	5	0,31
P21	17	0,48			

Tabelle 35: Bakterienadhäsionen (BA) und Gleitreibungskoeffizienten (μ_D) verschiedener Polymere

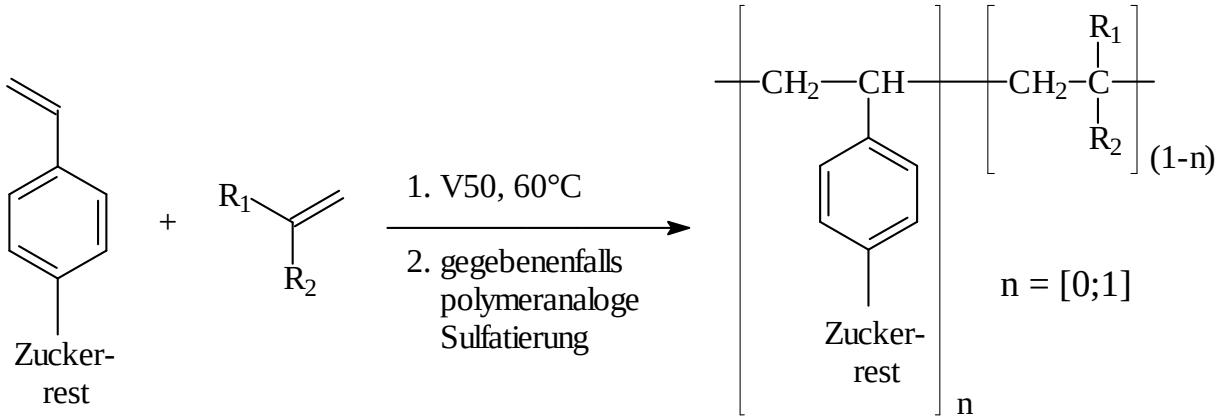
Poly-mer	Bakterienreduktion [%]		Gleitreibungskoeffizient	
	1 x Beschichtung	3 x Beschichtung	1 x Beschichtung	3 x Beschichtung
P46	53 - 74	84 - 95	0,22	0,24
P49	91 - 93	88 - 91	0,06	0,07
P52	41 - 55	90 - 98	0,3	0,3
P53	78 - 90	61 - 90	0,18	0,27
P56	96 – 99,9	92 - 97	0,07	0,13

Tabelle 36: Bakterienreduktionen und Gleitreibungskoeffizienten verschiedener Polymere

III. Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Herstellung und Charakterisierung heparinanaloger Polymere. Blutverträgliche Werkstoffe finden zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin. Dialysatoren, Blutbeutel, Katheter, Herzschrittmacher und künstliche Blutgefäße stellen nur eine kleine Auswahl an Einsatzmöglichkeiten für derartige Polymere dar. Erwünscht sind Materialien mit niedrigen Bakterienadhäsionen, sehr guten antikoagulativen Eigenschaften und hohen Stabilitäten unter physiologischen Bedingungen. Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten sulfatierten Polymere auf Vinylzuckerbasis erfüllen weitgehend diese Kriterien.

Die Aufstellung von Struktur-Eigenschaftsbeziehungen ist ein wesentlicher Bestandteil dieser Arbeit. Hierzu sind die Blutgerinnungszeiten (aktivierte partielle Thromboplastinzeit, Thrombinzeit) in Gegenwart unterschiedlich aufgebauter Copolymere bestimmt worden, deren allgemeine Struktur nachfolgende Abbildung widerspiegelt.



30, **41**, **44**, **56**, **58**, **64**, **66**
unsulfatierte Vinylzucker

22, **31**, **42**, **45**, **57**, **59**, **65**, **67**
sulfatierte Vinylzucker

13 R_1 = H, R_2 = $(C_6H_4)COONa$
14 R_1 = H, R_2 = $(C_6H_4)SO_3Na$
15 R_1 = H, R_2 = COOH
16 R_1 = CH_3, R_2 = COOH

Abbildung 64: Allgemeine Struktur der heparinanalogen Polymere

Alle Polymere sind über wäßrige Lösungspolymerisationen in Gegenwart des Starters 2,2´-Azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid **70** (V50) hergestellt worden. Die für die Heparinanalogie wichtigen Sulfatgruppen sind entweder über

eine bereits sulfatierte Zuckermonomereinheit oder nachträglich mittels einer polymeranalogen Sulfatierung in die Materialien eingeführt worden. Letzteres Verfahren besitzt den Vorteil, höhermolekulare Polymere in guten Ausbeuten zu liefern.

Zur Synthese der Polymere wurden verschiedene Säuren und Vinylzuckermonomere eingesetzt. Als Säureeinheit sind Na^+-p-Vinylbenzoat **13**, Na^+-p-Styrylsulfonat **14**, Acrylsäure **15** und Methacrylsäure **16** verwendet worden. Als sehr gute Alternative zum Na^+-p-Vinylbenzoat **13** hat sich das Na^+-p-Styrylsulfonat **14** erwiesen. Hieraus gewonnene Materialien zeigen ähnliche bzw. sogar verbesserte antikoagulative Eigenschaften verglichen mit Polymeren, die auf dem Säurederivat **13** beruhen. Methacrylsäure und insbesondere Acrylsäure sind aufgrund ihres ungünstigeren Copolymerisationsverhaltens dem Na^+-p-Vinylbenzoat unterlegen. Zudem zeigen Proben mit **15** bzw. **16** als saurem Comonomer in der Regel geringere Blutverträglichkeiten.

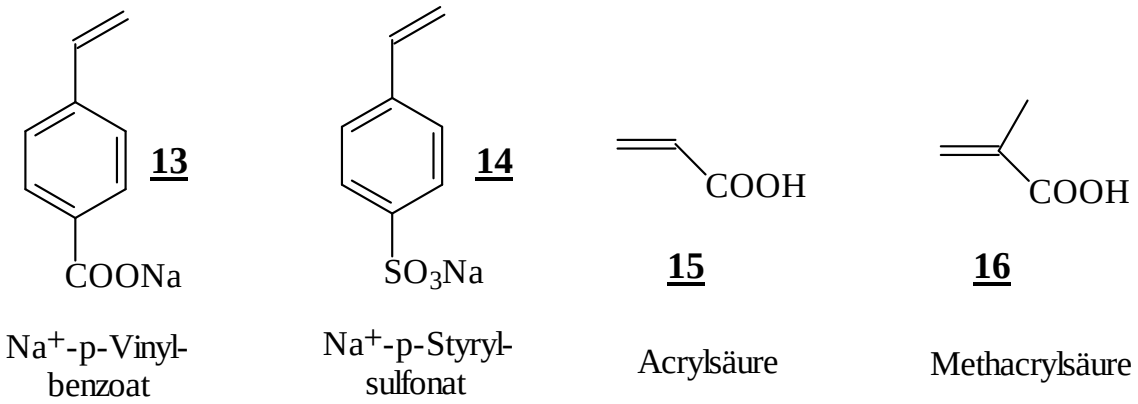


Abbildung 65: Verwendete Säuren bzw. deren Natriumsalze

Die eingesetzten Vinylzuckermonomere sind hierbei in ihrer Kettenlänge von drei bis sechs Kohlenstoffatomen variiert worden. Außerdem sind Zucker mit unterschiedlicher Isomerie, Zucker mit offen- oder ringförmigen Strukturen und Derivate mit nur *O*-Sulfatgruppierungen oder solche, die auch *N*-Sulfatgruppen enthalten zum Einsatz gekommen. Die Synthesen des deacetalisierten Glycerinstyrylderivates **21** und der isopropylidengeschützten Hydroxylamin- bzw. Aminglucosestyrylzucker **46** bzw. **48** sind neu entwickelt worden. Die Strukturen dieser Monomere sind in Abbildung 66 wiedergegeben. Sämtliche im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Kohlenhydrate sind in Abbildung 67 dargestellt.

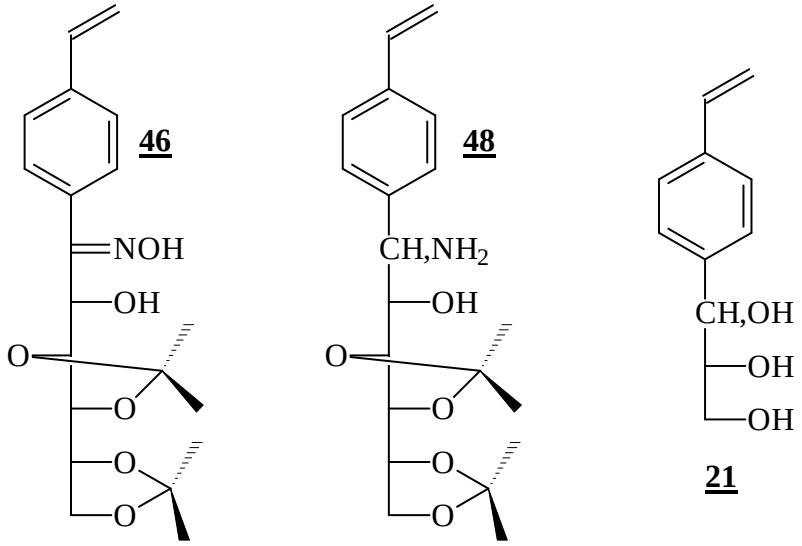


Abbildung 66: Monomere mit neu entwickeltem Syntheseweg

Zuckermonomere mit variierender Isomerie besitzen sowohl im Fall der offenkettigen (**45**, **59**, **67**) als auch der ringförmigen (**42**, **57**, **65**) Vertreter keinen signifikant verschiedenen Einfluß auf die Blutgerinnungszeiten der entsprechenden Polymere. Der Einsatz von Monomeren mit *N*-Sulfatgruppen bringt keinen Vorteil bezüglich der antikoagulativen Eigenschaften gegenüber solchen, die nur *O*-Sulfate enthalten. Auf die aufwendiger herzustellenden Aminozucker kann daher verzichtet werden, ohne Aktivitätseinbußen befürchten zu müssen. Ebenso ist der Aktivitätsunterschied bei der Verwendung offen-kettiger gegenüber ringförmigen Zuckerderivaten eher von untergeordneter Bedeutung. Allenfalls bei Materialien auf Glucosestyrylbasis läßt sich ein günstigeres Eigenschaftsprofil bei den Proben mit dem ringförmigen Zucker **42** beobachten, während Polymere, die auf Galactosestyryl- und Fructosestyryl-derivaten beruhen, dieses Verhalten nicht zeigen.

Die Kettenlänge der Zuckereinheit spielt mit zunehmendem Zuckeranteil im Polymer eine immer stärkere Rolle. Während sich die unterschiedliche Länge der Kohlenstoffkette im Kohlenhydrat bei niedrigen Zuckerbestandteilen von 20 mol-% kaum auf die Blutkompatibilitäten auswirkt, ist der Unterschied bei Materialien mit 30 mol-% bereits signifikant und bei solchen mit 50 mol-% Zuckeranteilen stark ausgeprägt. Hier ist eine deutliche Wirksamkeitssteigerung mit abnehmender Zuckermonomerkettenlänge zu beobachten.

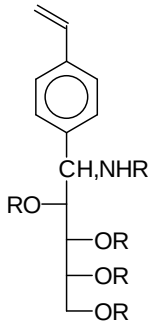
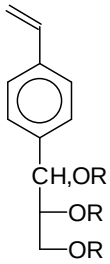
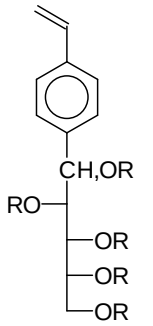
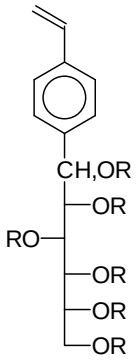
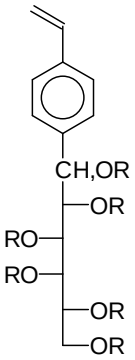
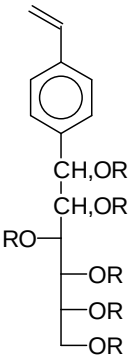
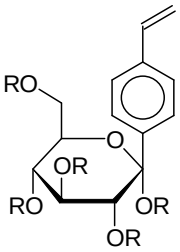
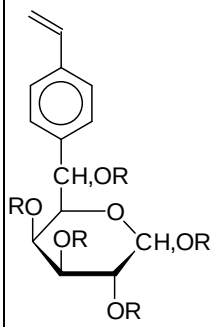
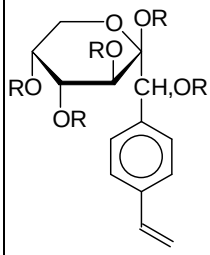
		Glycerin-**Sty**ryl	**Ara**binose-**Sty**ryl	**Glu**cose-**Sty**ryl	**Ga**lactose-**Sty**ryl	**Fruc**tose-**Sty**ryl
				Verschiedene Vinylzuckerisomere		
		Variation der Kettenlänge				
N-Sulfat	**offenkettig**		 **33** / **34**			
O-Sulfat	**offenkettig**	 **21** / **22**	 **30** / **31**	 **44** / **45**	 **58** / **59**	 **66** / **67**
O-Sulfat	**ringförmig**	R = H oder SO_3Na		 **41** / **42**	 **56** / **57**	 **64** / **65**

Abbildung 67: Variation der Zuckermonomere

Die Zahl der Sulfatgruppen im Polymer besitzt einen erheblichen Einfluß auf die heparinanalogen Eigenschaften. Untersuchte Materialien auf Glucosebasis zeigen eine Zunahme der Wirksamkeit mit steigendem Sulfatierungsgrad der Zuckereinheit. Ein unsulfatiertes Polymer wirkt sich nicht auf die Blutgerinnungszeiten aus. Ab dem Substitutionsgrad von 2.1 tritt eine Sättigung auf, das heißt die weitere Einführung von Sulfatgruppen führt zu keiner Verbesserung der Eigenschaften mehr. Bei Betrachtung sämtlicher in dieser Arbeit hergestellten Polymere unabhängig von der Art des Zuckermonomers, dem Molekulargewicht, dem Monomerverhältnis und anderen Parametern fallen Materialien mit fünf bis acht Sulfatgruppen pro Tetramereinheit durch besonders hohe Aktivitäten auf. Eine geringere Sulfatgruppenzahl führt zu abnehmenden Effekten.

Die antikoagulativen Eigenschaften sind darüber hinaus abhängig vom Molekulargewicht und dem Staudingerindex des Polymers. Die Blutkompatibili-tät verbessert sich mit zunehmender Molmasse bzw. intrinsischer Viskosität. Sehr hohe Werte führen allerdings zu einer Eigenschaftsverschlechterung und sind oft von einer verminderten Löslichkeit der Materialien begleitet.

Das Monomerverhältnis von Vinylzucker- und Säureeinheit ist ein weiterer Parameter, der sich wesentlich auf die Blutgerinnungszeiten auswirkt. Polymere auf Glucosestyrylbasis zeigen hervorragende Effekte bei Zuckergehalten im Bereich von 20 bis 50 mol-%. Während niedrigere oder höhere Zuckeranteile abnehmende Wirksamkeiten zur Folge haben. Ein anderes Eigenschaftsprofil wird hingegen bei Materialien auf Glycerinstyrylbasis **22** beobachtet. Hier verbessern sich die antithrombischen Aktivitäten kontinuierlich mit steigendem Zuckeranteil.

Neben den antikoagulativen Eigenschaften der Vinylzuckerpolymere sind auch die für medizinische Anwendungen wichtigen Bakterienadhäsionen und Gleitreibungen der Materialien bestimmt worden. Die Gleitreibungskoeffizienten bewegen sich bei allen Copolymeren in einem Bereich von 0,18 bis 0,48 und zeigen keine erkennbare Abhängigkeit von der Monomer- bzw. Polymereigenschaft. Die Bakterienadhäsionen von zuckerpolymerbeschichteten Platten aus Polyamid 12 sind deutlich vermindert gegenüber dem unbeschichteten Prüf-körper. Die Adhäsionen sämtlicher Proben nehmen Werte zwischen 0 bis 45 % verglichen mit unbehandeltem Polyamid 12 an. Polymere auf Glucosestyrylbasis adhärieren dabei weniger Mikroorganismen als solche mit dem Glycerinstyrylderivat. Zudem wirken sich ein größerer Zuckeranteil und eine hohe Molmasse günstig auf die Bakterienadhäsionen aus.

Im Fall der Materialien mit Galactose- und Fructoseanteilen sind darüber hinaus niedrigere Mikroorganismenzahlen bei den Proben mit den offenkettigen verglichen mit den ringförmigen Derivaten beobachtet worden.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, die für die Heparinanalogie wichtigen Strukturkriterien herauszustellen. In zukünftigen Projekten sollten Materialien auf der Grundlage von Glycerinstyrylmonomer **22** verstärkt in Betracht gezogen werden, die durch besonders gute antikoagulative Eigenschaften aufgefallen sind. Durch Einbau geringer Anteile des Arabinose- bzw. Glucosederivates **31** bzw. **45** könnte versucht werden, die höheren Bakterienadhäsionen dieser Proben zu erniedrigen. Weiterhin sollten Beschichtungsverfahren entwickelt werden, um die Zuckerpolymere dauerhaft und ohne Wirksamkeitsverlust auf medizinischen Geräten und Verbrauchsmaterialien fixieren zu können. Schließlich sind klinische Tests erforderlich, um Aussagen machen zu können über die Toxizität der Materialien, die Stabilität unter physiologischen Bedingungen und die Fähigkeit im lebenden Organismus wirksam Thrombosen zu verhindern.

IV. Experimenteller Teil

1. Apparatives

Elementaranalyse:	Pharmazeutisches Institut der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Gefriertrocknung:	Leybold-Heraeus GT2
FT-IR-Spektroskopie:	Bruker Vector 22
Labormühle:	Janke & Kunkel, IKA-Werke, A10
Massenspektroskopie:	EI-MS: Varian MAT-CH-50 MAT 311 A (70 eV) CI-MS: Finnigan INCOS 50
Membranosmometrie:	Knauer Membranosmometer; Sartorius Cellulosetriacetat-Membran, Porengröße 10 µm
NMR-Spektroskopie:	Varian EM 390 (90 MHz) Varian VXR 300 (300 Mhz) Bruker DRX 500 (500 MHz) TMS als interner Standard
Schmelzpunktbestimmung:	Schmelzpunktapparatur 510, Büchi
Viskosimetrie:	Mikro-Ubbelohde-Kapillarviskosimeter Typ I, Lauda Viskoboy
Zentrifuge:	Heraeus Macrofuge 6-4

2. Chemikalien

Acros-Chimica:	Acetaldehyd
	Bariumhydroxid
	1,4-Dichlorbenzol
	Diethylamin
	2,2-Dimethoxypropan
	Lithiumaluminiumhydrid
	D-Galactose
	Magnesiumspäne
	Natriummetaperiodat
	Phosphorpentoxid
Aldrich:	Dimethylsulfoxid-d_6
	4-tert.-Butylbrenzcatechin
	Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex
	Styrol-4-sulfonsäure Na^+-Salz
Baker:	Ammoniumacetat (wasserfrei)
Fluka:	Amberlite IR-120 (H^+-Form)
	Amberlite IR-120 (Na^+-Form)
	Amberlite IRA-400 (OH^--Form)
	Celite
	Chondroitin-6-sulfat, Natriumsalz
	Dextransulfat, Natriumsalz
	1,2-Dibromethan
	D-Gluconolacton
	Kaliumhydrogensulfat
	Methacrylsäure
	Schwefelsäure (95-97 %ig)
Grüssing:	Ethylenglycoldimethylether
	Magnesiumsulfat
	Triethylamin
B. Kraft GmbH:	Pufferlösung pH2
	Pyridin

Merck:	Acrylsäure
	Chloroform-d_1 (Uvasol)
	DC-Fertigplatten,
	(Kieselgel 60 F_{254}; 0.2 mm Schichtdicke)
	Deuteriumoxid (Uvasol)
	D-Fructose
	D-Mannitol
	Ethylbromid
	Kieselgel 60, (0.040-0.063 mm; 230-400 mesh ASTM)
	Natrium-bis-(2-methoxyethoxy)aluminiumdihydrid
	Natriumborhydrid
	Natriumcarbonat
	Natriumhydroxid
	Natriumsulfat
	p-Methoxyphenol
	Oxalylchlorid
	Salzsäure (37 %ig)
	Zinkchlorid (trocken)
Riedel-de-Haen:	Calciumhydrid
	Natriumchlorid
Roth:	Molsieb (3Å, 4Å)
	Seesand
	Wasser (bidestilliert)
Stockhausen:	V-50, [2,2´-Azobis-(2-amidinopropan)-dihydrochlorid]
Wako-Chemicals:	V-50, [2,2´-Azobis-(2-amidinopropan)-dihydrochlorid]

3. Lösungsmittel

Alle Lösungsmittel technischer Qualität werden zur Reinigung vor Gebrauch destilliert. Für Reaktionen, die wasserfreie Bedingungen erfordern, wird wie folgt verfahren. THF wird über Kaliumhydroxid vorgetrocknet, danach einige Tage über Calciumhydrid unter Rückfluß gekocht, anschließend unter inerten Bedingungen über Lithiumaluminiumhydrid solange zum Sieden erhitzt bis der hinzugefügte Indikator Triphenylmethan nach rot umschlägt und zum Schluß wird destilliert.

Zur Herstellung der Glycin-Pufferlösung, die bei der Viskosimetrie als Lösungsmittel für die Polymere eingesetzt wird, werden 7,5067 g Glycin und 5,85 g Natriumchlorid in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung bei 20 °C auf 1000 ml aufgefüllt. Für pH = 9.7 werden 69 ml Glycinlösung mit 31 ml 0.1 M Natronlauge vermischt. Der pH-Wert wird mit einem pH-Stäbchen überprüft.

4. Dünnschicht- und Säulenchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie werden Fertigfolien der Firma Merck (Kieselgel 60 F_{254}; 0.2 mm Schichtdicke) verwendet. Als Füllmaterial für die Säulenchromatographie dient Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm; 230-400 mesh ASTM, Merck)

Als Laufmittel kommen zum Einsatz:

Eluent A: Petrolether 40-60 / Diethylether (3:2)
Eluent B: n-Butanol / Ethanol / Wasser (3:1:1)
Eluent C: Pentan / Diethylether (1:1)

Die Detektion erfolgt mit Hilfe einer UV-Lampe, sowie mit den Systemen:
a) Ethanol / Schwefelsäure (96 %ig) (90:10)
b) Kaliumpermanganatlösung

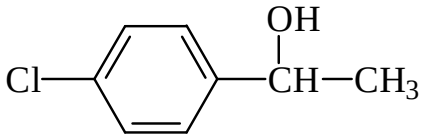
5. Darstellung und Charakterisierung der Monomere

5.1. 4-Chlorphenylmethylcarbinol[131]

In der mit Stickstoff gespülten Apparatur werden nach der Vorschrift von J. R. Leebrick[131] 48,6 g (2,0 mol) Magnesiumspäne in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran vorgelegt und eine Lösung von 294,0 g (2,0 mol) 1,4-Dichlorbenzol in 500 ml trockenem THF so schnell zugetropft, daß der Ansatz nach Start der Reaktion mit 2,0 ml 1,2-Dibromethan unter Rückfluß gehalten werden kann. Nach beendeter Zugabe wird zwei Stunden zum Sieden erhitzt, anschließend auf 15°C abgekühlt und eine Mischung von 88,1 g (2,0 mol) frisch destilliertem Acetaldehyd und 200 ml trockenem THF unter Eiskühlung so langsam zugetropft, daß die Innentemperatur unverändert bleibt. Danach wird noch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, bevor durch Zugabe von 500 ml Wasser hydrolysiert wird. Die ausgefallenen Magnesiumsalze werden durch Zutropfen von verdünnter Schwefelsäure wieder in Lösung gebracht. Die wäßrige Phase wird mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Carbonatlösung neutral gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Abschließend wird das Rohprodukt im Wasserstrahlvakuum fraktionierend destilliert.

Ausbeute:	213 g (68%)	Lit.[131]: 75%
Siedepunkt:	95°C/1,5 mbar	Lit.[131]: 122-128°C/26 mbar

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$)

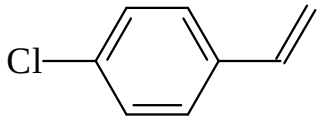
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,30	d	3	CH_3
3,65	s	1	OH
4,65	q	1	CH
7,17	m	4	aromatische H

5.2. 4-Chlorstyrol[132] 68

Nach einer Vorschrift von Overberger[132] werden in einer Apparatur bestehend aus einem 500 ml-Dreihalskolben mit einem 250 ml-Tropftrichter sowie einer 30 cm Vigreuxkolonne mit aufgesetztem Liebigkühler 12,5 g pulverisiertes Kaliumhydrogensulfat und 0,05 g 4-tert.-Butylbrenzcatechin bei einer Ölbad-temperatur von 220°C aufgeschmolzen. Nach Evakuierung auf 120 mbar wird eine Lösung von 145 g (0,925 mol) 4-Chlorphenylmethylcarbinol mit 0,05 g 4-tert.-Butylbrenzcatechin so schnell zugetropft, daß am oberen Ende der Kolonne 110-120°C gemessen werden. Kommt schließlich kein Destillat mehr über, wird das Vakuum auf 25 mbar verstärkt und das restliche Produkt-Wasser-Gemisch abdestilliert. Die erhaltene Emulsion wird mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum unter Zusatz von 4-tert.-Butylbrenzcatechin als Polymerisationsinhibitor fraktionierend destilliert. Die Vorlage wird gegen Licht geschützt und mit Eis gekühlt.

Ausbeute:	89 g (70%)	Lit.[132]: 80%
Siedepunkt:	45°C/0,2 mbar	Lit.[132]: 65°C/4 Torr

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
5,2	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$ J_{cis} = 10,5 Hz
5,65	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$ J_{trans} = 16,5 Hz
6,60	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,28	m	4	arom. H

5.3. Na^+-4-Vinylbenzoat[81,127] 13

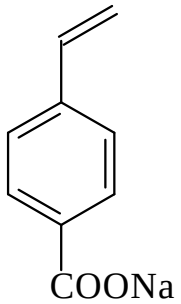
Unter inerten Bedingungen wird eine Lösung aus 100 g (0,722 mol) p-Chlorstyrol in 550 ml trockenem Tetrahydrofuran so zu 17,5 g (0,729 mol) Magnesiumspänen getropft, daß das Reaktionsgemisch leicht siedet (Starter: 2 ml Dibromethan). Nach beendeter Zugabe läßt man unter Rühren auf Raumtemperatur erkalten. Anschließend wird die Grignardlösung auf einen großen Überschuß mit trockenem Tetrahydrofuran gewaschenes Trockeneis gegeben. Nach Stehenlassen über Nacht wird der Ansatz durch Eingießen in Eiswasser hydrolysiert. Die Lösung wird mit 10 %-iger Salzsäure bis zu einem pH-Wert von 1 vorsichtig angesäuert. Die wäßrige Phase wird mit 200 ml Diethylether extrahiert, mit Natriumchlorid gesättigt und erneut dreimal mit je 100 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 100 ml 10 %-iger Natriumcarbonatlösung extrahiert und die vereinigten Sodaauszüge mit Diethylether gewaschen. Die wäßrige Phase wird mit konzentrierter Salzsäure vorsichtig angesäuert, erneut mit Natriumchlorid gesättigt und erschöpfend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer bei möglichst niedriger Temperatur bis zur Trockne eingeengt. Der resultierende Rückstand wird aus einem Ethanol/Wasser-Gemisch (Verhältnis 3:7) umkristallisiert.

40 g (0,27 mol) der auf diese Weise gewonnenen p-Vinylbenzoesäure werden mit 270 ml (0,27 mol) einer 1N Natronlauge versetzt. Nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur wird die wäßrige Phase mit Diethylether extrahiert, um die überschüssige p-Vinylbenzoesäure zu entfernen. Die wäßrige Lösung wird gefriergetrocknet, wobei man einen weißen Feststoff erhält.

Ausbeute: 65 % Lit.[81]: 52 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3070 cm^{-1}	$C=CH_2$
	3020 cm^{-1}	C=CH
	1580 cm^{-1}	COO^-, asymmetrisch
	1535 cm^{-1}	C=C, Aromaten
	1415 cm^{-1}	COO^-, symmetrisch

Die NMR-Daten stimmen mit denen von *S. Bellmann*[81] überein.



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
5,30/5,32	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 10,98 Hz
5,82/5,86	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 17,85 Hz
6,72/6,74/6,75/6,77	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,45/7,47/7,76/7,78	[AB]$_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, D_2O):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
116,91	1	CH=<u>C</u>H$_2$
127,07/130,43	4	aromatische <u>C</u>H
136,54/141,20	2	aromatische <u>C</u>
137,18	1	<u>C</u>H=CH$_2$
176,42	1	<u>C</u>OONa

5.4. Allgemeine Synthesevorschrift zur Deacetalisierung von Vinylzuckern[120]

Zur Entschützung werden 10 g der zähflüssigen Rohmonomere in 150 ml Ethanol aufgenommen, gegebenenfalls ausgefallene Polymeranteile abfiltriert und das Filtrat zu einem Gemisch von 500 ml Wasser, 80 ml Ethanol, 10 g Ionenaustauscher Amberlite IR-120 (H^+-Form) und 120 mg 4-Methoxyphenol innerhalb von vier Stunden bei 80 °C zugetropft. Danach wird noch zehn Stunden bei dieser Temperatur gerührt, anschließend der Ionenaustauscher abfiltriert und das Filtrat auf ca. 150 ml eingeengt. Nach Extraktion des Inhibitors mit Diethylether wird die wäßrige Phase gefriergetrocknet.

Ausbeute: 70 - 80 %

5.5. Allgemeine Synthesevorschrift zur Sulfatierung von deacetalisierten Vinylzuckern[120]

In einem mit Stickstoff gespülten Kolben werden die entschützten Monomere vorgelegt und durch Versetzen mit 40 ml trockenem Pyridin pro Gramm Vinylzucker im Stickstoffgegenstrom gelöst. Nach Zusatz von etwas Molsieb 4 Å wird eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt, bevor die gewünschte Moläquivalentmenge des SO_3/Pyridin-Komplexes zugegeben wird. Die Beendigung der Reaktion erfolgt nach 24 Stunden durch Hydrolyse mit dem halben Volumen an destilliertem Wasser. Der Ansatz wird mit gesättigter Bariumhydroxidlösung auf pH 7 eingestellt und vom Molsieb abdekantiert. Aus dem Filtrat wird das Pyridin azeotrop mit Wasser bei unter 40 °C entfernt, wobei die Einhaltung des pH-Wertes öfter kontrolliert und gegebenenfalls durch weitere Zugabe von Bariumhydroxidlösung korrigiert werden sollte. Überschüssige Bariumionen werden durch Einleiten eines CO_2-Gasstroms gefällt. Der Niederschlag wird durch Zentrifugieren abgetrennt. Schließlich wird das Zentrifugat mit Ionenaustauscher Amberlite IR-120 (Na^+-Form) gerührt, filtriert, eingeengt und gefriergetrocknet. Man erhält hierbei weiße bis gelbliche, amorphe Pulver. In Tabelle 37 sind die speziellen Reaktionsbedingungen für verschiedene Monomere angegeben. Das Verfahren zur Bestimmung des Sulfatierungsgrades aus der C,H-Analyse ist ausführlich im theoretischen Teil im Kapitel 2. beschrieben.

Unsulfatierter Vinylzucker		SO_3-Pyridin-Komplex		Pyridin	Sulfatierter Vinylzucker	
Nr.	m [g]	Moläqui-valente*	m [g]	[ml]	Nr.	DS
21	20	3,3	54,1	800	**22**	3,0
30	15	4,0	37,5	600	**31**	3,7
44	17	5,0	47,6	680	**45**	4,1
44	5	6,5	18,2	200	**45**	4,5
44	7	2,0	7,8	280	**45**	1,5
56	6	4,5	15,2	240	**57**	3,8
58	5	4,5	12,6	200	**59**	2,9
64	3	3,2	5,4	120	**65**	2,5
64	6	4,5	15,2	240	**65**	3,5
66	5	4,5	12,6	200	**67**	3,3

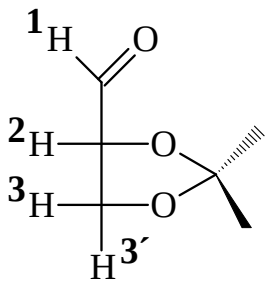
*: bezogen auf Stoffmenge des unsulfatierten Zuckers m: Einwaage DS: Sulfatierungsgrad

Tabelle 37: Reaktionsbedingungen für die Sulfatierung von Vinylzuckern

5.6. 2,3-O-Isopropyliden-D-glyceraldehyd[114] 19

104,6 g (0,574 mol) D-Mannitol **17**, 250 ml Ethylenglycoldimethylether und 170 ml (144,5 g = 1,387 mol) 2,2-Dimethoxypropan werden in einen Kolben gegeben und gerührt. Dazu wird 0,1042 g (0,549 mol) trockenes Zinnchlorid(II) gegeben und solange unter Rückfluß erhitzt bis nach etwa einer Stunde eine klare Lösung vorliegt. Danach hält man die Reaktionsmischung noch 30 min bei dieser Temperatur, kühlt anschließend auf Raumtemperatur ab und gibt 0,125 ml (1,583 mmol) Pyridin hinzu. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der weiße Feststoff wird in 750 ml Dichlormethan (dest.) aufgenommen und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und filtriert. Das Filtrat wird bei unter 25 °C mit 30 ml einer wäßrigen, gesättigten Natriumhydrogencarbonat-lösung versetzt. Anschließend gibt man innerhalb einer halben Stunde unter kräftigem Rühren 131,2 g (0,613 mol) festes Natriummetaperiodat hinzu. Nun wird noch zwei Stunden bei unter 30 °C gerührt, danach filtriert man den Feststoff ab und destilliert das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab. Das resultierende Öl wird im Vakuum fraktioniert destilliert. Das Produkt sollte innerhalb weniger Tage weiterverarbeitet werden, da es leicht trimerisiert.

Ausbeute:	56 g (37,5 %)	Lit.[114]: 38,9 %
Siedepunkt:	38°C/11 mbar	Lit.[114]: 72-74°C/30 Torr



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,40/1,47	s	6	CH_3
3,92 - 4,43	m	3	H-2, H-3, H-3´
9,70	d	1	H-1

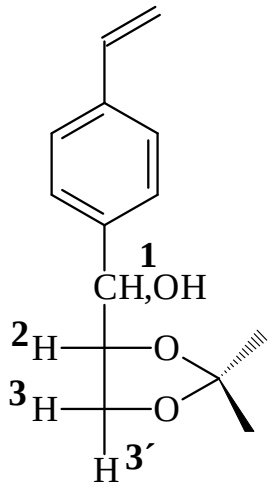
5.7. 2,3-O-Isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-D-threo(D-erythro)triol[115] 20

Unter inerten Bedingungen werden 57,4 g (0,414 mol) p-Chlorstyrol in 210 ml trockenem THF so zu 10 g Magnesiumspänen zugetropft, daß das Reaktionsgemisch gelinde siedet (gegebenenfalls Starterzugabe 2 ml 1,2-Dibromethan). Nach beendeter Zugabe läßt man unter Rühren auf Raumtemperatur erkalten. Bei einer Temperatur von maximal 15 °C werden 45 g (0,345 mol) des Aldehyds in 60 ml trockenem THF zu der Grignard-Lösung zugetropft. Man rührt weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur und läßt über Nacht abreagieren. Danach wird unter Eiskühlung zunächst mit gesättigter Ammoniumchloridlösung und schließlich mit 10 %iger Salzsäure bis zu einem pH-Wert von 5 hydrolysiert. Die Phasen werden schnell getrennt und die wäßrige Phase dreimal mit Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natrium-hydrogencarbonatlösung neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei möglichst niedriger Temperatur (<35 °C) am Rotationsverdampfer entfernt.

Ausbeute: 55 g (68 %) Lit.[115]: 68 %

IR-Spektroskopie:	3450 cm^{-1}	O-H
	3080 cm^{-1}	$C=CH_2$
	1630 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1510 cm^{-1}	C=C Aromat
	1370, 1380 cm^{-1}	$C(CH_3)_2$

NMR-Spektroskopie
(in Übereinstimmung mit den NMR-Daten von *J. Schmid*[115]):



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,30/1,33/1,42	s	6	CH_3
2,87	br.s	1	OH
3,13	br.s	1	OH
3,5 - 4,3	m	3	H-2, H-3, H-3´
4,45	d	1	H-1 (D-erythro)
4,75	d	1	H-1 (D-threo)
5,17	d	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{cis} = 10,5 Hz
5,67	d	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{trans} = 17,7 Hz
6,70	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,33	m	4	arom. H

5.8. 1-(4-Vinylphenyl)-D-erythro(D-threo)-triol 21

In einem 2 Liter Vierhalskolben mit zwei Tropftrichtern und einem Innenthermometer werden 600 ml Tetrahydrofuran (dest.), 600 ml Wasser (dest.), 20 g Ionenaustauscher (Amberlite H^+-Form) und ca. 200 mg p-Methoxyphenol bei 60 °C vorgelegt. Zu dieser Mischung wird innerhalb von fünf Stunden eine Lösung aus 20 g 2,3-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-D-threo(D-erythro)-triol (max. 0,08536 mol) in 300 ml Ethanol (dest.) und gleichzeitig über den zweiten Tropftrichter 200 ml Tetrahydrofuran (dest.) zugetropft. Eine Öffnung des Reaktionsgefäßes bleibt unverschlossen, um ein Herausdiffundieren des entstehenden Acetons zu gewährleisten. Nach weiteren zehn Stunden Rühren bei 60 °C ist die Entschützung abgeschlossen (DC-Kontrolle, Laufmittel Pentan: Diethylether 1:1, Produkt verbleibt am Auftragspunkt). Der Ionenaustauscher wird abfiltriert, die Lösung bis auf etwa 200 ml eingeengt und mit Diethylether zur Entfernung des Inhibitors zweimal ausgeschüttelt. Anschließend wird die wäßrige Phase gefriergetrocknet.

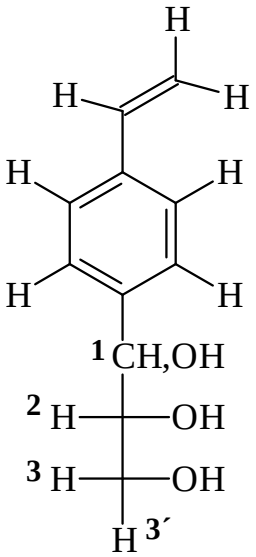
Ausbeute: 11,7 g (70,5%)

IR-Spektroskopie (KBr):	3353 cm^{-1}	O-H Valenz
	2927 cm^{-1}	C-H Valenz
	1630 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1037 cm^{-1}	C-H, Alkene
	1080 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie
(chemische Ionisation, NH_3): Basispeak m/z = 212 ($M + NH_4^+$)

$C_{11}H_{14}O_3$ (194,23 g/mol): berechnet: 68,02 %C, 7,27 %H, 0 %N
gefunden: 67,86 %C, 7,14 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,4	m	1	H-2
4,50 - 4,59	2 d	2	H-3, H-3´
5,10/5,11 , 5,25/5,26	2 d	1	H-1 (Haupt- und Nebenisomer)
5,20/5,22	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 10 Hz
5,77/5,80	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 16 Hz
6,68/6,71/6,72/6,74	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,31/7,32/7,38/7,39	$[AB]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
62,45/62,91	1	C-3 (Neben- und Hauptisomer)
72,56/73,64	1	C-2 (Neben- und Hauptisomer)
75,20/75,59	1	C-1 (Neben- und Hauptisomer)
113,40/113,47	1	CH=<u>C</u>H$_2$ (Neben- und Hauptisomer)
125,23/125,39/126,81/127,32	4	aromatische <u>C</u>H
135,49	1	<u>C</u>H=CH$_2$
136,52/143,18	2	aromatische <u>C</u>

5.9. Sulfatiertes 1-(4-Vinylphenyl)-D-erythro(D-threo)-triol 22

Die Sulfatierung erfolgt nach der allgemeinen Sulfatierungsvorschrift 5.5.

Ausbeute: 75 %

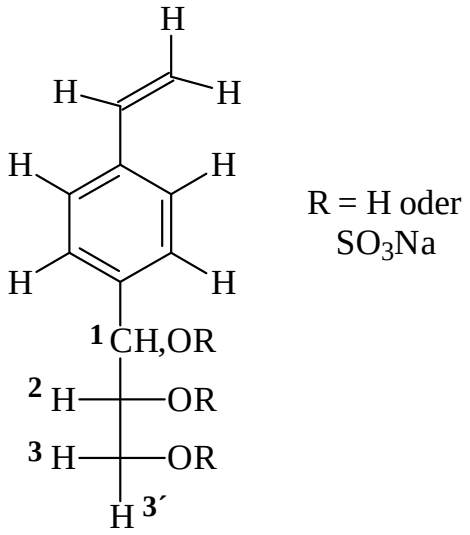
IR-Spektroskopie (KBr):	3503 cm^{-1}	O-H Valenz
	2980 cm^{-1}	C-H Valenz
	1636 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1236 cm^{-1}	S=O
	1014 cm^{-1}	C-H, Alkene
	1051 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie (FAB: Glycerin + NaI):

20 % m/z = 523 ($C_{11}O_3H_{11}(SO_3Na)_3 + Na^+$)
3 % m/z = 421 ($C_{11}O_3H_{12}(SO_3Na)_2 + Na^+$)
3 % m/z = 319 ($C_{11}O_3H_{13}(SO_3Na)_1 + Na^+$)

$C_{11}H_{11,05}O_3(SO_3Na)_{2,95}$*2,42 H_2O	berechnet:	24,52 %C, 2,97 %H, 0 %N
(538,83 g/mol):	gefunden:	24,52 %C, 2,91 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,6	m	1	H-2
3,8 - 4,2	m	2	H-3, H-3´
5,06/5,08 , 5,35/5,36	2 d	1	H-1 (Haupt- und Nebenisomer)
5,29/5,30	d	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{cis} = 10 Hz
5,61/5,64	d	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{trans} = 16 Hz
6,52/6,54/6,58/6,59	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,20/7,21/7,27/7,29	$[AB]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, D_2O):

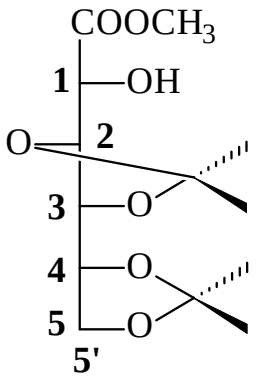
δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
63,37/64,59	1	C-3 (Neben- und Hauptisomer)
74,21/76,19	1	C-2 (Neben- und Hauptisomer)
76,75/77,09	1	C-1 (Neben- und Hauptisomer)
113,59/113,64	1	CH=$\underline{C}H_2$ (Neben- und Hauptisomer)
124,89/125,02/127,19/127,74	4	aromatische $\underline{C}$H
135,61	1	$\underline{C}$H=CH_2
136,83/138,14	2	aromatische $\underline{C}$

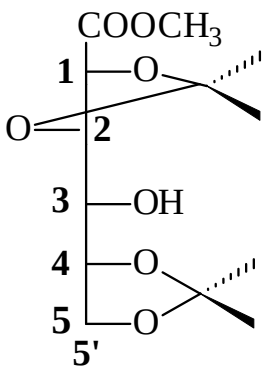
5.10. Methyl-3,4:5,6-di-O-isopropyliden-D-gluconat 24 und Methyl-2,3:5,6-di-O-isopropyliden-D-gluconat[118] 25

Ein Gemisch aus 35,6 g (0,2 mol) D-Gluconolacton **23**, 60 ml 2,2-Dimethoxypropan, 20 ml Aceton, 6 ml Methanol und 400 mg p-Toluolsulfonsäure wird nach der Vorschrift von Chittenden[118] 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die klare Lösung wird mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert, filtriert und eingeengt. Der erhaltene Sirup wird in 150 ml Dichlormethan gelöst, die Lösung mit 30 ml Wasser gewaschen und eingeengt. Das Rohprodukt wird im Vakuum fraktioniert destilliert.

Ausbeute:	50 g (86%)	Lit.[118]: 84%
Siedepunkt:	120°C/0,8 mbar	Lit.[118]: 122-124°C/0,7 Torr
n_D^{20}:	1,455	

NMR-Spektroskopie:





^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):

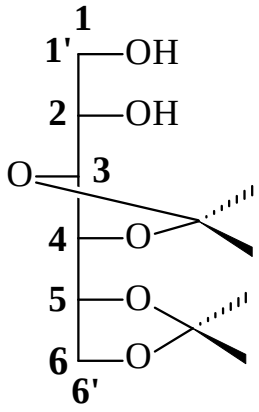
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,33-40	4s	12	$C(CH_3)_2$
3,03	d	1	OH
3,73	s	3	OCH_3
3,83-4,60	m	6	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-5'

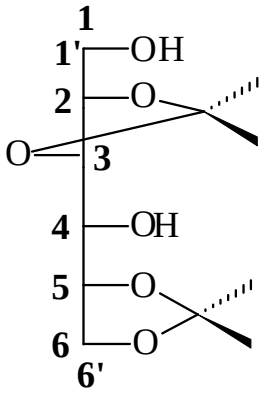
5.11. 3,4:5,6-Di-O-isopropyliden-D-sorbit 26 und 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-sorbit 27

Die Synthese erfolgt nach der von Venhoff[121,133] angegebenen Variation der Vorschrift von Chittenden[118]. Zu einer Suspension von 4,5 g (0,12 mol) Lithiumaluminiumhydrid in 50 ml trockenem THF wird eine Lösung aus 23,2 g des Gemisches **24** und **25** in 150 ml trockenem THF getropft. Anschließend wird die Mischung 16 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Zur Hydrolyse des überschüssigen Hydrides wird langsam eine eisgekühlte Mischung aus 400 ml 1,2-Dimethoxyethan und 400 ml Wasser zugegeben. Die ausgefallenen anorganischen Salze werden abzentrifugiert und mit THF gewaschen. Man vereinigt die organischen Phasen und engt am Rotationsverdampfer ein. Der zurückbleibende Sirup wird in Dichlormethan aufgenommen und nacheinander mit 10 %iger Ammoniumsulfat-Lösung und kaltgesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Es wird über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, am Rotationsverdampfer eingeengt und im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert. Ein maßstabgerechtes Scale-up der Synthese bis zur fünffachen Menge ist möglich.

Ausbeute:	15,7 g (85%)	Lit.[118]: 83%
Siedepunkt:	130°C/0,4 mbar	Lit.[121,133]: 120-126°C/0,2 Torr

NMR-Spektroskopie:





^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):

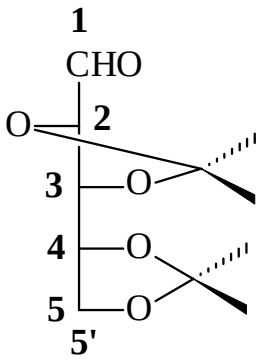
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,33-1,40	4 s	12	$C(CH_3)_2$
2,83	m	1	OH
3,63-4,30	m	8	H-1, H-1', H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'

5.12. 2,3:4,5-Di-O-isopropyliden-aldehydo-D-arabinose **28**

Die Vorschrift von Jackson[119] wird nach Venhoff[121,133] modifiziert. 13 g (0,049 mol) des Diolgemisches **26** und **27** werden in 100 ml Dichlormethan gelöst und portionsweise mit 15,6 g (0,073 mol) Natriumperiodat versetzt. Unter Rühren werden 5 ml kaltgesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung zugetropft. Bei 25-30°C wird zwei Stunden weitergerührt. Man gibt 25 g wasserfreies Magnesiumsulfat hinzu und rührt weitere 15 Minuten. Die festen, anorganischen Salze werden abfiltriert und mit Methylenchlorid gewaschen. Die Filtrate werden vereinigt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt **28** wird im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert. Eine Ansatzvergrößerung kann bis zur zehnfachen Menge erfolgen.

Ausbeute:	8,1 g (72%)	Lit.[121,133]: 75%
Siedepunkt:	84°C/0,35 mbar	Lit.[121,133]: 98-100°C/0,4 mbar

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):

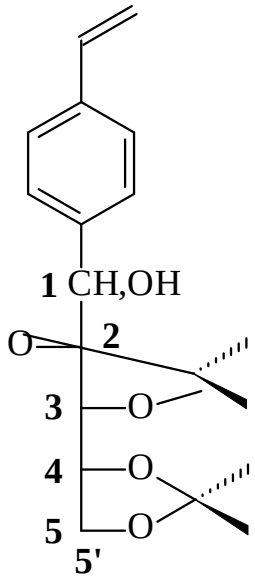
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,36-1,45	4 s	12	$C(CH_3)_2$
3,87-4,17	m	4	H-3, H-4, H-5, H-5'
4,37	d	1	H-2
9,77	s	1	H-1

5.13. 2,3:4,5-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-D-gluco(D-manno)-pentitol 29

Nach der Vorschrift von J. Schmid[115,133] werden 9,9 g (0,41 mol) Magnesium vorgelegt. 57 g (0,41 mol) 4-Chlorstyrol werden in 200 ml trockenem THF gelöst und nach Start der Reaktion mit 1,2-Dibromethan so zugetropft, daß das Reaktionsgemisch leicht siedet. Nach beendeter Zugabe wird noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend kühlt man mit Hilfe eines Eis-Kochsalzbades auf unter 15 °C ab. Dann werden 80 g (0,34 mol) des Aldehydes **28** in 200 ml trockenem THF zugetropft, wobei die Temperatur von 15 °C nicht überschritten werden soll. Danach werden zwei weitere Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man hydrolysiert durch Eingießen in Eiswasser. Die ausgefallenen Magnesiumsalze bringt man durch Zusatz von gesättigter Ammoniumchloridlösung und vorsichtiger Zudosierung von 10 %iger Salzsäure in Lösung. Dabei darf ein pH-Wert von 4 nicht unterschritten werden. Die wäßrige Phase wird mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der resultierende Rohsirup wird säulenchromatographisch mit Petrolether 40-60 / Diethylether 3:2 als Eluent gereinigt. Dabei werden Spuren des zuerst eluierenden 4-Chlorstyrols und entstandenes Polymer effektiv abgetrennt. Die produkthaltigen Fraktionen werden auf 200 ml eingeengt. Das reine Monomer **29** kristallisiert bei 8 °C aus und kann aus dem oben genannten Lösungsmittelgemisch umkristallisiert werden.

Ausbeute: 60-70 % Lit.[121,133]: 85%

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,31-1,38	4 s	12	$C(CH_3)_2$
3,2	d	1	OH
3,81-4,10	m	4	H-3, H-4, H-5, H-5'
4,19	dd	1	H-2
4,83	d	1	H-1
5,23	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{cis} = 10,9 Hz
5,74	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,70	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,38	m	4	aromatische H

J_{gem} = 0,9 Hz

5.14. 1-(4-Vinylphenyl)-D-gluco(D-manno)-pentitol[116] 30

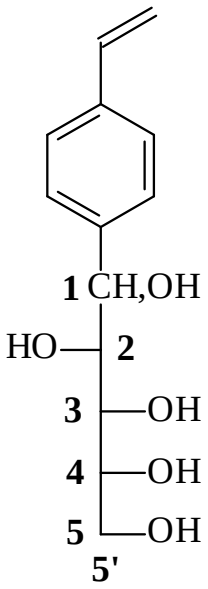
Die Entschützung erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.4.

Ausbeute: 75-80% Lit.[116]: 92 %

IR-Spektroskopie (KBr):

3460/3420/3350	O-H Valenz
3180	C=CH
2960/2920/2880	C-H
1630	C=C
1520	C=C aromatisch

NMR-Spektroskopie:
(Übereinstimmung mit NMR-Daten von *Diederichs*[116])



^{1}H-NMR (300 MHz, D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,10	dd	1	H-3 ; $J_{2,3}$ = 1,3 Hz ; $J_{3,4}$ = 8,7 Hz
3,43 und 3,73	m	3	H-4, H-5, H-5´
4,06	dd	1	H-2 ; $J_{2,3}$ = 1,3 Hz,
4,79	d	1	H-1 ; $J_{1,2}$ = 8,6 Hz,
5,33	dd	1	CH=C$\underline{H}_2$
			J_{cis} = 11 Hz ; J_{gem} = 1 Hz,
5,87	dd	1	CH=C$\underline{H}_2$; J_{trans} = 17,5 Hz
6,81	dd	1	C$\underline{H}$=CH_2
7,39 und 7,54	$[AX]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, D_2O) (Hauptisomer H, Nebenisomer N):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
64,07 (H); 64,31 (N)	1	C-5
71,01 (N); 71,06 (H)	1	C-3
72,04 (H); 72,09 (N)	1	C-4
74,06 (N); 74,54 (H)	1	C-2
76,10 (N); 76,18 (H)	1	C-1
115,53 (N); 115,72 (H)	1	CH=$\underline{C}H_2$
127,42/128,74 (N) ; 127,57/128,64 (H)	4	aromatische $\underline{C}$H
137,28 (H); 137,39 (N)	1	$\underline{C}$H=CH_2
138,26/140,48 (N) ; 138,54/140,89 (H)	2	aromatische $\underline{C}$

5.15. Sulfatiertes 1-(4-Vinylphenyl)-D-gluco(D-manno)-pentitol[81] 31

Die Sulfatierung erfolgt nach der allgemeinen Sulfatierungsvorschrift 5.5.

Ausbeute: 80 % Lit.[81]: 86 %

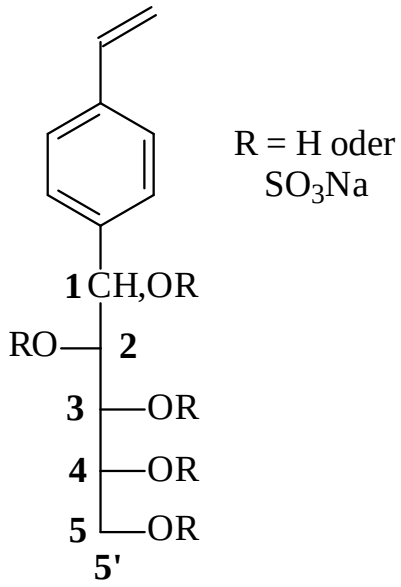
IR-Spektroskopie (KBr):

3380 cm^{-1}	O-H Valenz
2910 cm^{-1}	C-H Valenz
1625 cm^{-1}	HC=CH_2
1510 cm^{-1}	C=C, Aromaten
1230 cm^{-1}	S=O

Massenspektroskopie[81]: 22,6 % m/z = 379 ($C_{13}O_5H_{17}(SO_3Na)_1 + Na^+$)
FAB (Glycerin + NaI) Monomer mit DS = 1

$C_{13}H_{14,31}O_5(SO_3Na)_{3,69}$*1,89 H_2O (665,00 g/mol):	berechnet:	23,48 %C, 2,74 %H, 0 %N
	gefunden:	23,48 %C, 2,68 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie
(Übereinstimmung mit NMR-Daten von *S. Bellmann*[81]):



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,7)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,1 bis 4,3	m	6	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-5´
5,33	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$
5,87	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$; J_{cis} = 11 Hz ; J_{gem} = 1 Hz, J_{trans} = 17,5 Hz
6,81	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,38 – 7,55	$[AX]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,7)

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
70,0 – 77,7	5	C-1, C-2, C-3, C-4, C-5
115,74	1	CH=<u>C</u>H$_2$
127,59/128,63	4	aromatische <u>C</u>H
137,29	1	<u>C</u>H=CH$_2$
138,54/140,76	2	aromatische <u>C</u>

5.16. D-Gluconsäurediethylamid[115,120,133]

250 g D-Gluconolacton **23** (1,4 mol) werden in 500 ml frisch destilliertem Diethylamin unter Stickstoffatmosphäre suspendiert und 15 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Ansatz in eine große Schüssel überführt, so daß überschüssiges Diethylamin verdampfen kann. Dabei kristallisiert das Produkt innerhalb weniger Tage aus und wird abschließend im Vakuumtrockenschrank bei 60 °C getrocknet. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisation aus Ethanol.

Ausbeute:	324 g (92%)	Lit.[115,133] [111,124]: 86%
Schmelzpunkt:	98 °C	Lit.[115,133] [111,124]: 96-97 °C

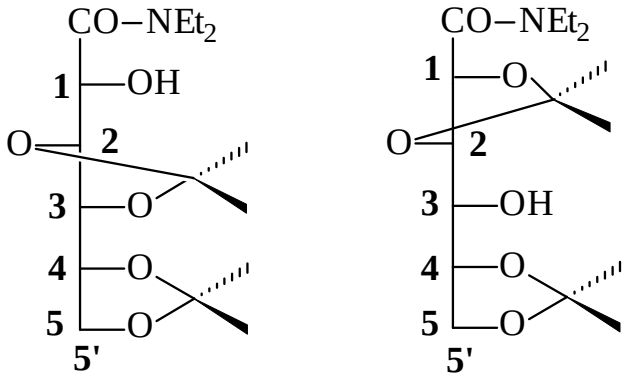
IR-Spektroskopie (KBr):	3350 cm^{-1}	O-H
	2960, 2920, 2870 cm^{-1}	C-H
	1625 cm^{-1}	C=O

5.17. 3,4:5,6-Di-isopropyliden-D-gluconsäurediethylamid 36 und 2,3:5,6-Di-isopropyliden-D-gluconsäurediethylamid 37

In Anlehnung an die Vorschriften der zuvor genannten Autoren[115,121,133] wird eine Lösung aus 1500 ml trockenem Aceton und 35 ml konzentrierter Schwefelsäure mit 80 g Gluconsäurediethylamid versetzt und 15 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Neutralisation der Säure wird der Ansatz in eine mit 300 g Eis versetzte Lösung aus 70 g Natriumhydroxid und 200 ml Wasser gegossen. Dabei ist durch starkes Rühren auf eine effektive Durchmischung der Natronlauge mit der Reaktionslösung zu achten, da sonst die noch nicht neutralisierte Säure zusammen mit dem zugegebenen Wasser die Isopropyliden-gruppen hydrolysiert. Aus dem selben Grund muß die Reaktionslösung in die Lauge gegossen werden, nicht umgekehrt. Das bei der Neutralisation auskristallisierende Natriumsulfat Decahydrat filtriert man ab. Das Aceton wird am Rotationsverdampfer entfernt und die verbleibende wäßrige Phase mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Ammoniumchloridlösung neutral gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Das erhaltene Rohproduktgemisch aus **36** und **37** wird im Ölpumpenvakuum fraktionierend destilliert.

Ausbeute:	83,5 g (79%)	Lit.[115,133]: 74%
Siedepunkt:	125°C/0,05 mbar	Lit.[115,133]: 125°C/0,05 mbar

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,12-1,21	t	6	CH_3 (Ethylgruppen)
1,33-1,45	4 s	12	$C(CH_3)_2$
2,58	d	1	OH (Nebenisomer)
3,19-3,65	m	4	$N{-}CH_2{-}$
3,85	d	1	OH (Hauptisomer)
4,54-4.83	m	6	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-5'

Variante der Synthesevorschrift 5.17.

Da die beiden vorstehenden Reaktionen 5.16. und 5.17. die gewünschten Produkte in hohen Ausbeuten und Reinheiten liefern, kann das Gluconsäure-diethylamid auch als nicht umkristallisiertes Rohprodukt in 5.17. eingesetzt werden. Nach der destillativen Reinigung der Produkte **36** und **37** erhöht sich deren Ausbeute auf 86 % bei gleichbleibender Reinheit.

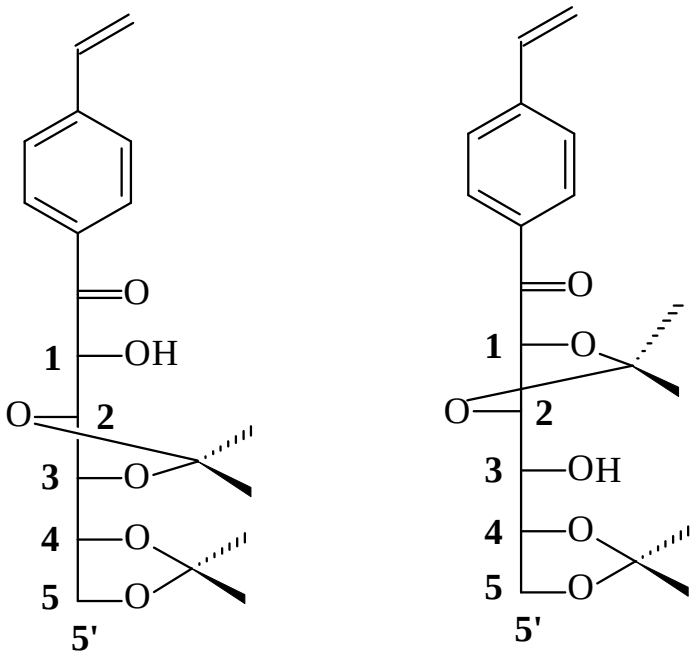
5.18. 3,4:5,6-Di-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-keto-D-glucose 38 und 2,3:5,6-Di-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-keto-D-glucose 39

Die zugrunde liegende Vorschrift von T. P. Venhoff[121,133] wurde modifiziert[120]. Unter Stickstoffatmosphäre werden 24,3 g (1,0 mol) Magnesiumspäne vorgelegt und eine Lösung von 109 g (1,0 mol, 74,6 ml) Ethylbromid in 950 ml trockenem Tetrahydrofuran nach Starten der Reaktion mit 1,2-Dibromethan so schnell zugetropft, daß der Ansatz unter Rückfluß gehalten wird. Nach beendeter Zugabe wird noch zwei Stunden zum Sieden erhitzt. Das auf Raumtemperatur abgekühlte Grignard-Reagenz wird unter Feuchtigkeitsausschluß in einen 1 Liter Maßkolben überführt und mit trockenem Tetrahydrofuran auf 1000 ml aufgefüllt. Die so hergestellte 1 M Lösung von Ethylmagnesiumbromid ist bei Raumtemperatur mehrere Wochen haltbar. In gleicher Vorgehensweise werden 138,5 g (1,0 mol) 4-Chlorstyrol in 950 ml trockenem Tetrahydrofuran mit 24,3 g (1,0 mol) Magnesiumspänen umgesetzt. Die Reaktionslösung wird nach beendeter Zugabe des Halogenides zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Auch dieses Grignard-Reagenz wird zu einer 1 M Lösung verdünnt. Das Vorratsgefäß muß vor Licht geschützt werden. Die Haltbarkeit der 4-Vinylphenylmagnesium-bromidlösung ist wegen der eintretenden Polymerisation auf ca. 14 Tage begrenzt.

81,0 g (0,245 mol) der regioisomeren Di-isopropyliden-D-gluconsäurediethylamide **36** und **37** werden in 120 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Zur Deprotonierung der Hydroxylgruppe werden 245 ml (0,245 mol) der zuvor hergestellten Ethylmagnesiumbromidlösung unter Eiskühlung so langsam zugetropft, daß die Innentemperatur nicht über maximal 15 °C ansteigt. Nach 15 Minuten Rühren werden bei derselben Temperatur 490 ml (0,49 mol) der vorbereiteten 1 M 4-Vinylphenylmagnesiumbromidlösung zugetropft und weitere 30 Minuten gerührt. Zur Hydrolyse werden langsam und unter permanenter pH-Kontrolle 80 ml halbkonzentrierte Salzsäure zudosiert. Anschließend wird mit einer Pufferlösung ein pH-Wert von 2 eingestellt. Dieser Schritt ist notwendig, um das bei der Grignard-Reaktion intermediär gebildete Halbaminal zum Keton zu spalten. Die Phasen werden getrennt und die wäßrige Lösung mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumhydrogencarbonatlösung neutral gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und bei 30 °C im Vakuum eingeengt. Zur Abtrennung von gebildetem Polymer wird der Rohsirup in 300 ml Ethanol gegossen, filtriert und erneut eingeengt. Nach Bedarf kann eine säulenchromatographische Feinreinigung mit Petrolether (40-60)/Diethylether 3:2 als Elutionsmittel erfolgen.

Ausbeute: 37 g (44%) Lit.[115,133]: 25%

NMR-Spektroskopie (Übereinstimmung mit den NMR-Daten von *A. Brock*[120]):



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,26-1,54	4 s	12	$C(CH_3)_2$
3,81	d	1	OH (Nebenisomer)
3,84	d	1	OH (Hauptisomer)
4,0-5,3	m	6	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-5'
5,42-5,46	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$ J_{cis} = 11 Hz
5,88-5,94	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$ J_{trans} = 18 Hz
6,72-6,82	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,7	m	4	aromatische H

Jgem = 1,0 Hz

5.19. 3,4;5,6-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-1-D-glucoseoxim 46
2,3;5,6-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-1-D-glucoseoxim 47

1,2 g (0,017 mol) Hydroxylaminhydrochlorid werden in einer Mischung aus 5 ml (0,062 mol) Pyridin und 5 ml Ethanol (abs.) gelöst. Zu dieser Lösung werden bei 25 °C 2 g der Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-keto-D-glucose Isomere **38** und **39** (0,00552 mol) gegeben. Nach einer Stunde Stehen bei Raumtemperatur, gibt man 24 mg p-Methoxyphenol hinzu und erhitzt eine Stunde auf dem Wasserbad. Das Reaktionsgemisch wird anschließend in 100 ml Eiswasser gegossen und dreimal mit Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und nach Filtration am Rotationsverdampfer eingeengt. Man erhält einen gelben Sirup als Rohprodukt, der säulenchromatographisch gereinigt werden kann (Laufmittel Pentan:Diethylether 1:1).

Ausbeute: 1,7 g (81,6%)

IR-Spektroskopie (KBr):

3404 cm^{-1}	O-H
2984, 2933 cm^{-1}	C-H
1385, 1375 cm^{-1}	$C(CH_3)_2$

Massenspektroskopie (chemische Ionisation, NH_3):
53 % m/z = 378 ($M + NH_4^+ - H_2O$)
Basispeak m/z = 248 ($M + NH_4^+ - H_2O - CHO(C_2H_3O_2)C(CH_3)_2$)

$C_{20}H_{27}NO_6$ (377,49 g/mol): berechnet: 63,64 %C, 7,21 %H, 3,71 %N
gefunden: 63,85 %C, 7,20 %H, 3,79 %N

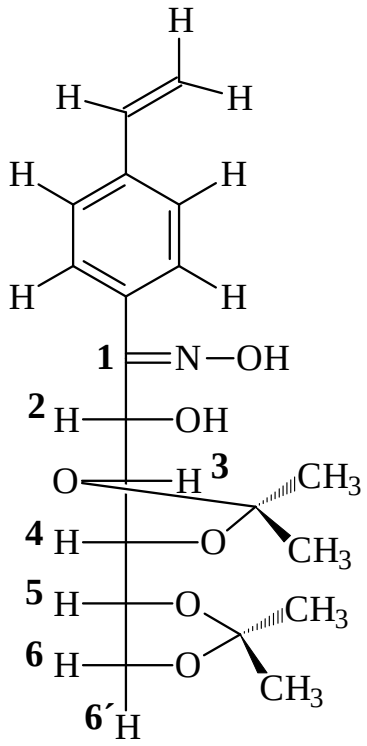
NMR-Spektroskopie (Hauptisomer):

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,35/1,41/1,42/1,47	s	12	$C\underline{H}_3$
3,27/3,30	breites s	1	CH-O<u>H</u>
3,95-4,01/4,09-4,18/ 4,38-4,43	m	6	H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
5,29/5,31	d	1	$CH=C\underline{H}_2$; J_{cis} = 10 Hz
5,35	breites s	1	N-O<u>H</u>
5,77/5,81	d	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{trans} = 18 Hz
6,69/6,72/6,73/6,75	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,41/7,43/7,60/7,62	$[AB]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
25,38/26,60/27,05/27,29	4	$\underline{C}H_3$
67,27	1	C-6
68,06	1	C-4
77,03	1	C-5
77,45	1	C-2
80,45	1	C-3
109,83/114,86	2	$\underline{C}(CH_3)_2$
110,10	1	$CH=\underline{C}H_2$
126,17/128,48	4	aromatische $\underline{C}H$
132,70/138,42	2	aromatische $\underline{C}$
136,22	1	$\underline{C}H=CH_2$
159,88	1	C-1



5.20. 3,4;5,6-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)- 1-amino-1-deoxy-D-glucose 48
2,3;5,6-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-1-amino-1-deoxy-D-glucose 49

Zu 3,3 ml Vitride (70%ige Lösung von $NaAlH_2(OCH_2CH_2OCH_3)_2$ in Toluol) in 1,3 ml Toluol (abs.) werden unter Stickstoffatmosphäre 1 g (0,00265 mol) des Oxims in 1,3 ml Toluol (abs.) langsam zugetropft. Dabei steigt die Temperatur durch exotherme Reaktion auf etwa 60 °C an. Die resultierende rote Lösung wird weitere 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung unter Rühren und Eiskühlung in 5-6 ml 20 %ige Natronlauge gegossen. Nachdem alle Salze in Lösung gegangen sind werden die Phasen getrennt und die wäßrige Phase wird mehrmals mit Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt, wobei ein hellgelber Sirup erhalten wird. Dieser kann säulenchromatographisch in Pentan:Diethylether (1:1) gereinigt werden.

Ausbeute: 80%

IR-Spektroskopie (KBr):	3380 cm^{-1}	OH, NH
	3070, 3050 cm^{-1}	C=CH
	2990, 2930, 2860 cm^{-1}	CH
	1510 cm^{-1}	C=C aromatisch
	1380, 1370 cm^{-1}	$C(CH_3)_2$

Massenspektroskopie (chemische Ionisation, NH_3):

Basispeak	m/z = 364 ($M + NH_4^+ - H_2O$)
48 %	m/z = 262 ($M + NH_4^+ - H_2O - (C_2H_4O_2)C(CH_3)_2$)
1%	m/z = 381 ($M + NH_4^+$)

$C_{20}H_{29}NO_5$ (363,45 g/mol):	berechnet:	66,09 %C, 8,04 %H, 3,85 %N
	gefunden:	66,51 %C, 8,15 %H, 3,59 %N

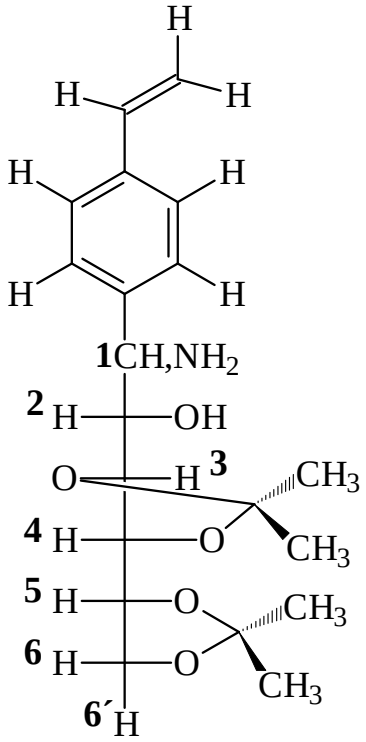
NMR-Spektroskopie (Hauptisomer):

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	**Multiplizität**	**Anzahl**	**Zuordnung**
1,33/1,38/1,39/1,40	s	12	$C\underline{H}_3$
1,97	breites s	2	$N\underline{H}_2$
2,97/2,99	d	1	$O\underline{H}$, $J_{H\text{-}2,\ H\text{-}8}$ = 6,6 Hz
3,83 - 4,28	m	7	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
5,21/5,21/5,24/5,25	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$; J_{cis} = 10,9 Hz / J_{gem} = 0,9 Hz
5,69/5,70/5,75/5,75	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{trans} = 17,6 Hz / J_{gem} = 0,9 Hz
6,64/6,68/6,70/6,74	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$ J_{cis} = 11 Hz / J_{trans} = 17,6 Hz
7,30/7,33/7,36/7,39	$[AB]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
25,28/26,58	4	$C(\underline{C}H_3)_2$
26,83/27,11		
67,62	1	C-6
70,70/76,52/76,95	5	C-1, C-2, C-3,
77,22/79,26		C-4, C-5
109,33/109,60	2	$\underline{C}(CH_3)_2$
113,69	1	$CH=\underline{C}H_2$
126,81/127,23	4	aromatische $\underline{C}H$
136,43	1	$\underline{C}H=CH_2$
136,55/142,81	2	aromatische $\underline{C}$



5.21. 1-Amino-1-deoxy-1-(4-vinylphenyl)-D-glycero-D-gulo-(D-ido)-hexitol[120] 50

15 g (0,04126 mol) des geschützten Vinylzuckermonomers **48** / **49** werden in 150 ml Ethanol (dest.) gelöst und mit 400 mg 4-Methoxyphenol versetzt. Danach wird langsam auf 80°C erhitzt und dabei tropfenweise insgesamt 900 ml (90 mmol) 0,1 N Salzsäure zugegeben. Nach 24 Stunden bei 80°C wird abgekühlt und die wäßrige Lösung mit einem großen Überschuß Anionenaustauscher IRA-400 (OH^--Form) gerührt. Nach einer Stunde wird der Ionenaustauscher abfiltriert, das Filtrat muß nun basisch reagieren. Anschließend wird die Lösung am Rotationsverdampfer auf kleines Volumen eingeengt und zur Entfernung des Inhibitors mehrmals mit Diethylether ausgeschüttelt. Danach wird die wäßrige Phase gefriergetrocknet.

Ausbeute: 7 g (60 %) Lit.[120]: 62 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3420 cm^{-1}	OH, NH
	3050 cm^{-1}	C=CH
	2950, 2930, 2860 cm^{-1}	CH
	1510 cm^{-1}	C=C aromatisch
	1070 cm^{-1}	C-OH

Elementaranalyse[120]:

$C_{14}H_{21}O_5N$*0,3 H_2O	berechnet:	58,24 %C, 7,54 %H, 4,85 %N
(M = 288,72 g/mol)	gefunden:	58,22 %C, 7,54 %H, 4,41 %N

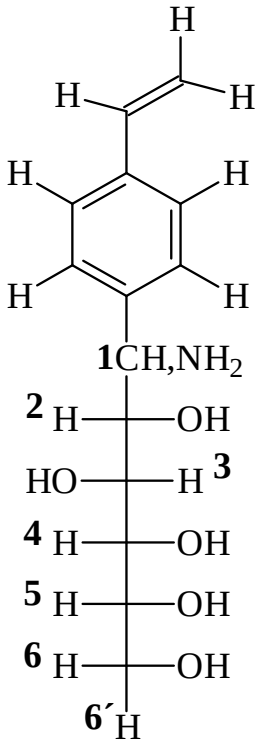
NMR-Spektroskopie (Hauptisomer H, Nebenisomer N):
(die NMR-Daten stimmen mit denen von *A. Brock*[120] überein)

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6 + D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,34 - 3,66	m	6	H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´ (H, N)
3,94/ 3,97	d	1	H-1 (H)
4,01/4,02	d	1	H-1 (N)´
5,21/5,25	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$ (H, N), J_{cis} = 11,1 Hz
5,77/5,82	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$ (H, N), J_{trans} = 17,6 Hz
6,67/6,71/ 6,73/6,77	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$ (H, N) J_{cis} = 11,1 Hz / J_{trans} = 17,6 Hz
7,32/7,35/ 7,39/7,42	[AB]$_2$	4	aromatische H (H)
7,32/7,35/ 7,40/7,43	[AB]$_2$	4	aromatische H (N)

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
54,01	1	C-1 (N)
57,56	1	C-1 (H)
63,17	1	C-6 (H)
63,72	1	C-6 (N)
68,32/71,11 73,22/76,52	4	C-2, C-3, C-4, C-5 (H)
69,72/70,44 70,86/76,40	4	C-2, C-3, C-4, C-5 (N)
113,33	1	CH=<u>C</u>H$_2$ (H, N)
125,48/127,56	4	aromatische <u>C</u>H (H)
125,53/127,05	4	aromatische <u>C</u>H (N)
135,15/145,65	2	aromatische <u>C</u> (N)
135,21/144,02	2	aromatische <u>C</u> (H)
136,42	1	<u>C</u>H=CH$_2$ (N)
136,47	1	<u>C</u>H=CH$_2$ (H)



5.22. 1-(4-Vinylphenyl)-keto-D-glucose[120] 41

Die Entschützung der isomeren Di-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-keto-D-glucose Monomere **38** und **39** erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.4.

Ausbeute: 70 – 80 % Lit.[120]: 70 – 75 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3370 cm^{-1}	OH
	3070/3050/3030/3000 cm^{-1}	C=CH
	2915/2850 cm^{-1}	CH
	1670 cm^{-1}	C=O
	1630 cm^{-1}	C=C
	1510 cm^{-1}	C=C aromatisch
	1110/1070/1030 cm^{-1}	C-OH

Elementaranalyse[120]:

$C_{14}H_{18}O_6$*0,7 H_2O	berechnet:	57,02 %C, 6,63 %H, 0 %N
(M = 294,90 g/mol)	gefunden:	57,03 %C, 6,58 %H, 0 %N

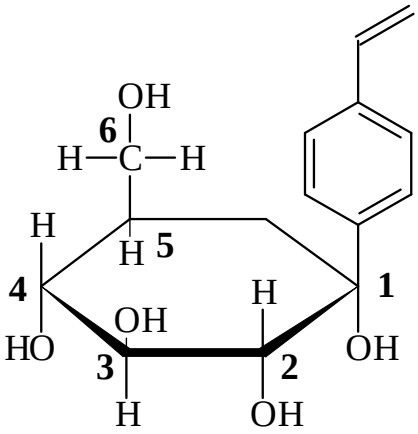
NMR-Spektroskopie: (Übereinstimmung mit NMR-Daten von *A. Brock*[120])

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
2,97/3,00/3,02	dd	1	H-2
3,24 – 3,30	m	1	H-4
3,54 – 3,73	m	4	H-3, H-5, H-6, H-6´
4,38/4,40/4,42	dd	1	OH-6
4,44/4,47	d	1	OH-2
4,69/4,70	d	1	OH-3
4,87/4,89	d	1	OH-4
5,21/5,25	d	1	CH=C$\underline{H}_2$, J_{cis} = 10,9 Hz
5,78/5,84	d	1	CH=C$\underline{H}_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,68/6,72/6,74/6,78	dd	1	C$\underline{H}$=CH_2 J_{cis} = 11,0 Hz / J_{trans} = 17,6 Hz
7,38/7,40/7,51/7,54	$[AB]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
61,08	1	C-6
70,37	1	C-4
73,05	1	C-5
74,33	1	C-3
76,64	1	C-2
97,50	1	C-1
113,73	1	CH=$\underline{C}H_2$
124,70/126,97	4	aromatische $\underline{C}$H
135,88/143,80	2	aromatische $\underline{C}$
136,48	1	$\underline{C}$H=CH_2



5.23. 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-D-gulo(D-ido)-hexitol[120] 44

Zur Reduktion werden 10 g (max. 28 mmol) der isomeren Di-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-keto-D-glucose Monomere **38** und **39** in 100 ml Ethanol eingetropft und ausgefallene Polymeranteile abfiltriert. Zu dem eisgekühlten Filtrat wird eine Lösung aus 0,76 g (20 mmol) Natriumborhydrid in 40 ml dest. Ethanol innerhalb von einer Stunde zugegeben. Nach weiteren zwei Stunden Rühren bei Raumtemperatur und quantitativ erfolgter Reduktion (DC-Kontrolle im Eluenten C) wird die Reaktionslösung auf die Hälfte eingeengt, mit 100 ml destilliertem Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und bei unter 35 °C Badtemperatur eingeengt. Man erhält als Rohprodukt einen gelben Sirup, der nach der allgemeinen Vorschrift 5.4. entschützt wird.

Ausbeute: 75 % Lit.[120]: 75 –80 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3410 cm^{-1}	OH
	3070 cm^{-1}	C=CH
	2950/2890/2860 cm^{-1}	CH
	1630 cm^{-1}	C=C
	1590 cm^{-1}	C=C aromatisch
	1090/1030 cm^{-1}	C-OH

Elementaranalyse[120]:

$C_{14}H_{20}O_6$*0,8 H_2O	berechnet:	56,29 %C, 7,29 %H, 0 %N
(M = 298,72 g/mol)	gefunden:	56,25 %C, 7,25 %H, 0 %N

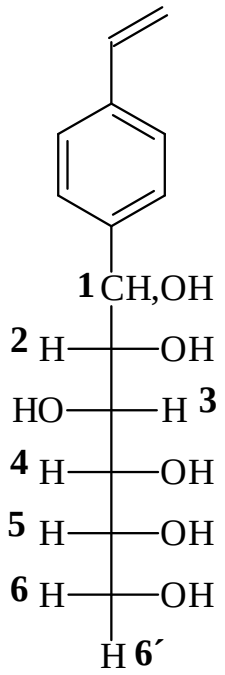
NMR-Spektroskopie: (Hauptisomer (H), Nebenisomer (N))
(Übereinstimmung mit NMR-Daten von *A. Brock*[120])

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6 + D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,32 – 3,61	m	6	H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
4,00 – 4,02			(H, N); H-3 (H)
4,51/4,53	d	1	H-1 (H)
4,67/4,69	d	1	H-1 (N)
5,21/5,25	d	1	CH=C$\underline{H}_2$ (H, N), J_{cis} = 10,7 Hz
5,77/5,83	d	1	CH=C$\underline{H}_2$ (H, N), J_{trans} = 17,6 Hz
6,67/6,71/6,73/6,77	dd	1	C$\underline{H}$=CH_2 (H, N)
			J_{cis} = 11,0 Hz / J_{trans} = 17,8 Hz
7,31/7,34/7,39/7,42	$[AB]_2$	4	aromatische H (H)
7,33/7,35/7,40/7,43	$[AB]_2$	4	aromatische H (N)

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
63,15	1	C-6 (N)
63,19	1	C-6 (H)
67,20/71,32/74,01/76,70	4	C-2, C-3, C-4, C-5 (H)
68,62/71,04/72,33/76,90	4	C-2, C-3, C-4, C-5 (N)
72,59	1	C-1 (N)
72,67	1	C-1 (H)
113,34	1	CH=$\underline{C}H_2$ (H)
113,34	1	CH=$\underline{C}H_2$ (N)
125,21/127,51	4	aromatische $\underline{C}$H (H)
125,41/126,96	4	aromatische $\underline{C}$H (N)
135,42/143,28	2	aromatische $\underline{C}$ (N)
135,42/143,96	2	aromatische $\underline{C}$ (H)
136,45	1	$\underline{C}$H=CH_2 (N)
136,52	1	$\underline{C}$H=CH_2 (H)



5.24. Sulfatiertes 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-D-gulo(D-ido)-hexitol[120] 45

Die Sulfatierung erfolgt nach der allgemeinen Sulfatierungsvorschrift 5.5.

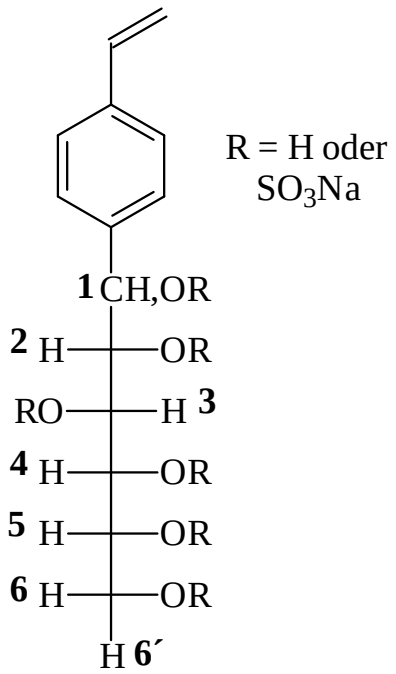
Ausbeute: 75 % Lit.[120]: 84 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3450 cm^{-1}	O-H
	3090 cm^{-1}	C=CH
	2960/2910/2860 cm^{-1}	C-H
	1640 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1510 cm^{-1}	C=C, Aromaten
	1240 cm^{-1}	S=O
	1080/1010 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie[120]: 2,4 % m/z = 409 ($C_{14}O_6H_{19}(SO_3Na)_1 + Na^+$)
FAB (Glycerin + NaI) Monomer mit DS =1

$C_{14}H_{16,90}O_6(SO_3Na)_{3,10}$*0,82 H_2O (615,50 g/mol): berechnet: 27,32 %C, 3,04 %H, 0 %N
gefunden: 27,32 %C, 3,29 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie: (Übereinstimmung mit NMR-Daten von *A. Brock*[120])



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,1)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,2 bis 4,8	m	7	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
5,11/5,13	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$ J_{cis} = 11 Hz ; J_{gem} = 1 Hz,
5,64/5,67	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$; J_{trans} = 17,5 Hz
6,57/6,59/6,60/6,62	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,25	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,1)

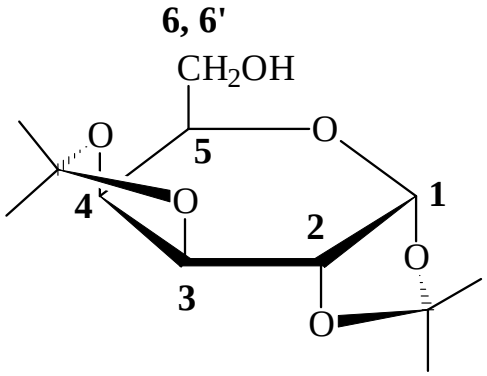
δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
64,54/66,25/66,66/67,88/69,99/ 70,97/74,40/74,72/76,66/79,15	6	C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6
114,90	1	CH=<u>C</u>H$_2$ (H)
126,24/127,01	4	aromatische <u>C</u>H
136,67	1	<u>C</u>H=CH$_2$
138,38/141,00	2	aromatische <u>C</u>

5.25. 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galactopyranose <u>53</u>

In Abwandlung der Arbeitsvorschrift von H. C. Srivastava[134] werden 50 g (0,28 mol) über P_2O_5 getrocknete Galactose in einer Lösung aus 40 g (0,24 mol) Eisen(III)chlorid und 1,8 l trockenem Aceton suspendiert und unter Feuchtigkeits-ausschluß 20 Stunden gerührt. Die Reaktionslösung wird in 1 Liter 10 %ige Kaliumcarbonatlösung gegossen. Der dabei gebildete Niederschlag wird abfiltriert. Das Aceton wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und die verbleibende wäßrige Phase viermal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wird durch fraktionierte Destillation gereinigt.

Ausbeute:	61 g (84 %)	Lit.[134]: 74 %
Siedepunkt:	102°C / 0,04 mbar	Lit.[134]: 129°C / 0,8 Torr

^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$) in Übereinstimmung mit Lit.[135,136]:



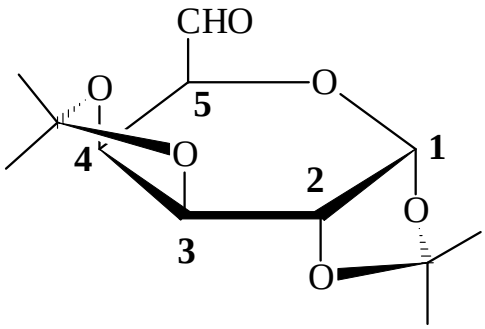
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,39-1,58	4s	12	$C(CH_3)_2$
2,50	s	1	OH
3,6-4,0	m	3	H-5, H-6, H-6'
4,25	dd	1	H-4
4,33	dd	1	H-2
4,60	dd	1	H-3
5,62	d	1	H-1

5.26. 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galacto-hexodialdo-1,5-pyranose 54

Die Oxidation wird in Abwandlung der Vorschrift von D. Swern[124] durchgeführt. Eine Lösung von 29,2 g (19,7 ml, 0,23 mol) Oxalylchlorid in 200 ml trockenem Methylenchlorid wird unter Stickstoffatmosphäre auf unter -50 °C mit einem Aceton / Trockeneisbad abgekühlt. Diese Temperatur muß bei den folgenden Arbeitsschritten eingehalten werden. Zu der Lösung werden 21,6 g (19,6 ml, 0,28 mol) Dimethylsulfoxid in 60 ml trockenem Methylenchlorid zugetropft. Nach 10 Minuten Rühren werden 54,4 g (0,21 mol) 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galactopyranose **53** in 200 ml Methylenchlorid zugetropft und weitere 15 Minuten gerührt. Anschließend werden 51,1 g Triethylamin (70,0 ml, 0,51 mol) zugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wird mit 400 ml Wasser versetzt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit 100 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 %iger Salzsäure, gesättigter Natrium-hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird das Produkt destilliert.

Ausbeute:	42,3 g (78 %)	Lit.[125]: 80 %
Siedepunkt:	85°C / 0,09 mbar	Lit.[137]: 79 °C / 0,04 Torr

^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):



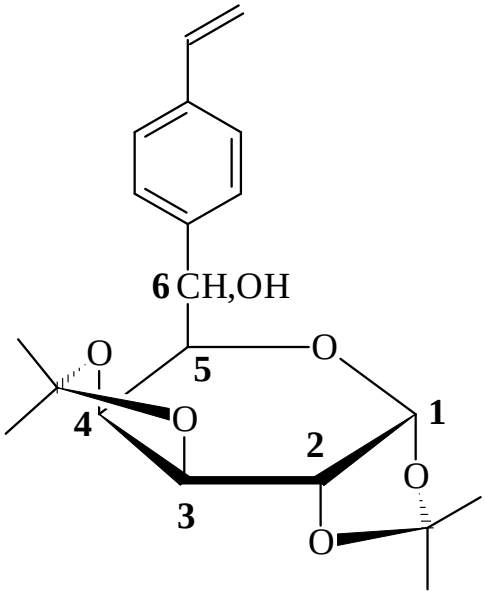
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,33-1,52	4 s	12	$C(CH_3)_2$
4,17	d	1	H-5
4,37	dd	1	H-2
4,56	dd	1	H-4
4,64	dd	1	H-3
5,65	d	1	H-1

5.27. 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-6-(4-vinylphenyl)-D,L-glycero-α-D-galactopyranose[115,121] 55

Unter inerten Bedingungen werden 30,3 g (0,22 mol) 4-Chlorstyrol in ca. 100 ml trockenem THF so zu 5,3 g (0,22 mol) Magnesiumspänen zugetropft, daß das Reaktionsgemisch gelinde siedet. Nach beendeter Zugabe läßt man unter Rühren auf Raumtemperatur erkalten. Bei einer Temperatur von maximal 25 °C werden 47 g (0,18 mol) 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galacto-hexodialdo-1,5-pyranose **54** zu der Grignard-Lösung getropft. Man rührt weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur und läßt über Nacht abreagieren. Danach wird zunächst mit Eiswasser hydrolysiert. Die ausgefallenen Magnesiumsalze werden vorsichtig durch Zugabe gesättigter Ammoniumchloridlösung und 10 %iger Salzsäure (pH 5 nicht unterschreiten) in Lösung gebracht. Die Phasen werden rasch getrennt und die wäßrige Phase wird dreimal mit Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird nach Zusatz von etwas p-Methoxyphenol (Inhibitior) am Rotationsverdampfer entfernt. Der resultierende gelbbraune Sirup kann säulenchromatographisch gereinigt werden (Laufmittel A, R_f = 0,47). Das Produkt wird dabei als weißer Schaum erhalten.

Ausbeute: 50 – 60 % Lit.[121]: 84 %

Die NMR-Daten entsprechen den bei *J. Schmid*[115] angegebenen Daten.



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (Hauptisomer (H), Nebenisomer (N))

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,28/1,34/1,48/1,51 (H)	4 s	12	$C(C\underline{H}_3)_2$
1,27/1,31/1,51/1,52 (N)	4 s	12	$C(C\underline{H}_3)_2$
3,48 (H) / 3,20 (N)	d	1	OH
3,90 (H) / 3,73 (N)	dd	1	H-5
4,29 (H) / 4,29 (N)	dd	1	H-2
4,39 (H) / 3,84 (N)	dd	1	H-4
4,57 (H) / 4,45 (N)	dd	1	H-3
4,90 (H) / 4,89 (N)	m / d	1	H-6
5,23 (H, N)	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{cis} = 10,9 Hz
5,54 (H) / 5,60 (N)	d	1	H-1
5,74 (H) / 5,75 (N)	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,70 (H) / 6,71 (N)	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,35 – 7,42 (H, N)	m	4	aromatische H

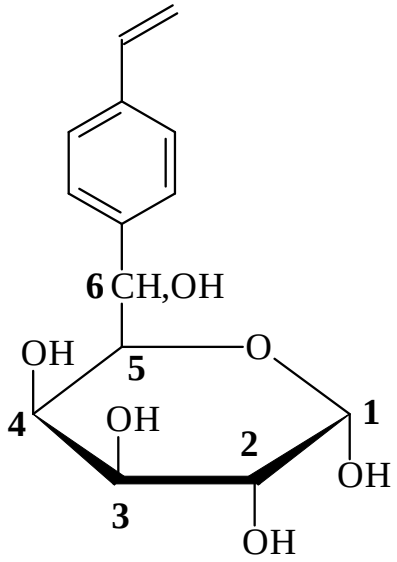
5.28. 6-(4-Vinylphenyl)-D,L-glycero-α,β-D-galactopyranose[116] 56

Die Entschützung von 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-6-(4-vinylphenyl)-D,L-glycero-α-D-galactopyranose erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.4.

Ausbeute: 78 % Lit.[116]: 80 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3320 cm^{-1}	OH
	2900 cm^{-1}	CH
	1625 cm^{-1}	C=CH
	1510 cm^{-1}	C=C aromatisch

Die NMR-Daten stimmen mit den von *H. Diederichs*[116] überein.



^{1}H-NMR (300 MHz, D_2O)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,26 – 3,94 / 4,10 – 4,36	2 m	2	H-2, H-5
4,41/4,61/5,11/5,38	4 d	1	H-1
4,84	m	1	H-6
5,32	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$
			J_{cis} = 11 Hz, J_{gem} = 3,2 Hz
5,85	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$
			J_{trans} = 17,6 Hz
6,77	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,35 – 7,52	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, D_2O) (verschiedene Stereoisomere)

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
70,67/70,97/71,09/71,14/71,60/72,17/72,25/73,53/ 73,69/74,48/74,57/74,61/75,72/75,77/75,93/76,28	2	C-2, C-5
79,38/81,04	1	C-6
95,04/95,09/99,33	1	C-1
117,34/117,50/117,55	1	CH=$\underline{C}H_2$
129,06/129,16/129,20/129,23/130,29/130,45	4	aromatische $\underline{C}$H
138,93/138,97	1	$\underline{C}H=CH_2$
140,08/140,13/140,39/140,46 141,41/141,60/143,33/143,46	2	aromatische $\underline{C}$

5.29. Sulfatierte 6-(4-Vinylphenyl)-D,L-glycero-α,β-D-galactopyranose 57

Die Sulfatierung von 6-(4-Vinylphenyl)-D,L-glycero-α,β-D-galactopyranose erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.5.

Ausbeute: 85 %

IR-Spektroskopie (KBr):

3451 cm^{-1}	O-H
1630 cm^{-1}	$HC=CH_2$
1241 cm^{-1}	S=O
1032 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie (FAB: Glycerin + NaI):

4 %	m/z = 713 ($C_{14}O_6H_{14}(SO_3Na)_4 + Na^+$)
14 %	m/z = 611 ($C_{14}O_6H_{15}(SO_3Na)_3 + Na^+$)
34 %	m/z = 509 ($C_{14}O_6H_{16}(SO_3Na)_2 + Na^+$)
42 %	m/z = 407 ($C_{14}O_6H_{17}(SO_3Na)_1 + Na^+$)

$C_{14}H_{14,16}O_6(SO_3Na)_{3,84}$*3,19 H_2O (731,74 g/mol):	berechnet:	22,98 %C, 2,83 %H, 0 %N
	gefunden:	22,98 %C, 2,77 %H, 0 %N

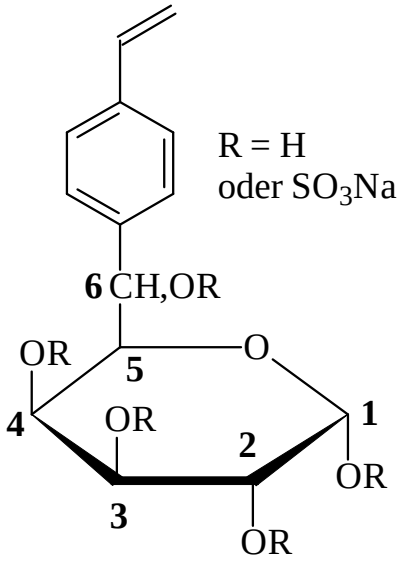
NMR-Spektroskopie:

^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O)
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,8)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,5 – 4,8	m	6	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6
5,15/5,17	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 11 Hz
5,70/5,73	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,61/6,63/6,64/6,66	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,30	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O) (verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,8)

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
70,77/70,97/71,69/72,23/ 73,37/75,20/75,32/75,60	4	C-2, C-3, C-4, C-5
90,97	1	C-6
100,16	1	C-1
115,08	1	CH=<u>C</u>H$_2$
126,91/128,02	4	aromatische <u>C</u>H
136,64	1	<u>C</u>H=CH$_2$
137,37/137,95/138,56	2	aromatische <u>C</u>



5.30. 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-L-gluco(L-manno)-hexitol <u>58</u>

Eine Lösung von 2,0 g (0,00708 mol) 6-(4-Vinylphenyl)-D,L-glycero-α,β-D-galactopyranose **<u>56</u>** in 70 ml Wasser (dest.) wird sehr langsam zu einer eisgekühlten, gerührten Lösung aus 0,54 g (0,0143 mol) Natriumborhydrid in 70 ml Wasser (dest.) getropft. Nach weiteren zwei Stunden Rühren bei 0°C, läßt man noch zwanzig Stunden bei Raumtemperatur rühren. Nach quantitativ erfolgter Reduktion (DC, Laufmittel Chloroform:Methanol 1:1, r_f (Edukt) > r_f (Produkt)) wird die Reaktion durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120, H^+-Form) beendet. Wenn die Lösung sauer reagiert wird der Ionenaustauscher entfernt und das Filtrat sehr vorsichtig fünf bis zehnmal unter Methanolzugabe fast bis zur Trockne eingeengt, um die Borsäure als Trimethylborat zu entfernen. Schließlich wird der Rückstand in Wasser aufgenommen, gegebenenfalls filtriert und gefriergetrocknet. Das Rohprodukt kann im Laufmittel Butanol:Ethanol:Wasser 3:1:1 säulenchromatographisch gereinigt werden.

Ausbeute: 1,2 g (59,1%)

IR-Spektroskopie (KBr): 3406 cm^{-1} OH
2932 cm^{-1} CH

Massenspektroskopie (chemische Ionisation, NH_3):
Basispeak m/z = 302 ($M + NH_4^+$)
20% m/z = 284 ($M + NH_4^+ - H_2O$)

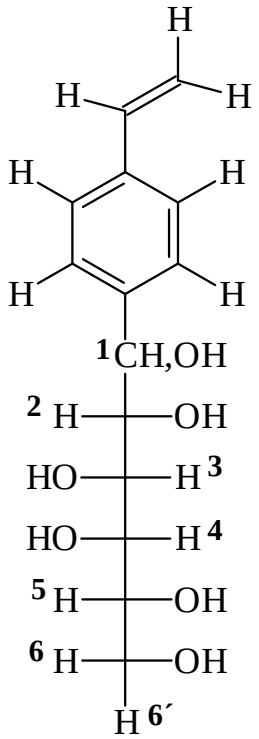
$C_{14}H_{20}O_6$*0,3 H_2O berechnet: 58,05 %C, 7,17 %H, 0 %N
(289,67 g/mol): gefunden: 58,05 %C, 7,24 %H, 0 %N

^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,41/3,43	d	1	H-5
3,71 - 4,10	m	3	H-6, H-6´, H-3
4,17/4,19	d	1	H-4
4,84/4,85	d	1	H-2
4,92/4,94	d	1	H-1
5,53/5,56	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 11 Hz
6,06/6,10	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,98/7,00/7,01/7,04	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,62/7,63/7,71/7,73	$[AB]_2$	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
62,26/62,77	2	C-5, C-6
67,67	1	C-2
71,06/71,11	2	C-3, C-4
78,16	1	C-1
114,42	1	CH=<u>C</u>H$_2$
125,36/125,51	4	aromatische <u>C</u>H
126,27/126,84		
136,02	1	<u>C</u>H=CH$_2$
136,07/140,87	2	aromatische <u>C</u>



5.31. Sulfatiertes 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-L-gluco(L-manno)-hexitol 59

Die Sulfatierung von 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-L-gluco(L-manno)-hexitol erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.5.

Ausbeute: 60 %

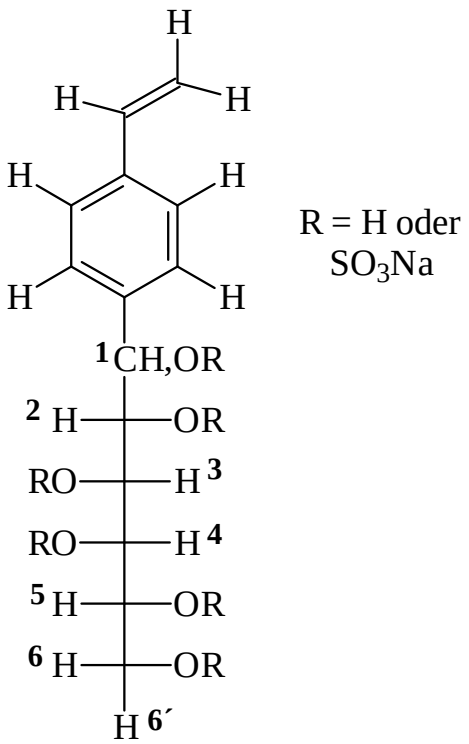
IR-Spektroskopie (KBr):	3447 cm^{-1}	O-H
	3000 cm^{-1}	C-H
	1636 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1236 cm^{-1}	S=O
	1070 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie (FAB: Glycerin + NaI):

4 %	m/z = 715 ($C_{14}O_6H_{16}(SO_3Na)_4 + Na^+$)
12 %	m/z = 613 ($C_{14}O_6H_{17}(SO_3Na)_3 + Na^+$)
18 %	m/z = 511 ($C_{14}O_6H_{18}(SO_3Na)_2 + Na^+$)
18 %	m/z = 409 ($C_{14}O_6H_{19}(SO_3Na)_1 + Na^+$)

$C_{14}H_{17,07}O_6(SO_3Na)_{2,93}$*2,02 H_2O	berechnet:	27,14 %C, 3,43 %H, 0 %N
(619,58 g/mol):	gefunden:	27,14 %C, 3,38 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 2,9)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,4 – 4,9	m	7	H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
5,06/5,08	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 11 Hz
5,60/5,63	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,52/6,54/6,55/6,58	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,22	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 2,9)

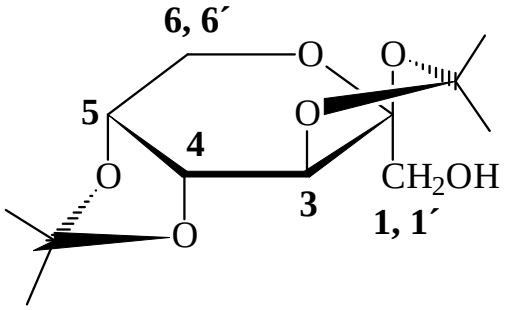
δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
62,41/63,26/64,66/68,13/69,64/75,02/79,93	5	C-2, C-3, C-4, C-5, C-6
95,54/96,37	1	C-1
114,97	1	CH=<u>C</u>H$_2$
126,72/128,22	4	aromatische <u>C</u>H
136,70	1	<u>C</u>H=CH$_2$
135,91/140,64	2	aromatische <u>C</u>

5.32. 2,3;4,5-Di-O-isopropyliden-β-D-arabino-fructopyranose <u>61</u>

Nach einer Vorschrift von T.P. Venhoff[133] werden 3,5 Liter technisches Aceton eisgekühlt und mit 174 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Unter Eiskühlung werden darin 180 g D-(-)-Fructose **<u>60</u>** gelöst, bevor nach ca. 8 min das Eisbad entfernt und die Lösung weitere 82 min gerührt wird. Bei 0 °C erfolgt dann die portionsweise Zugabe zu einer Lösung von 550 g Natriumhydroxid in 2,5 Liter destilliertem Wasser, um die Lösung alkalisch zu stellen, bevor sie im Vakuum eingeengt wird. Das Aceton muß vollständig abdestilliert werden, weil sich sonst bei der anschließenden Extraktion eine Emulsion bildet. Der Rückstand wird mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen eingeengt, zweimal mit je 250 ml Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Produkt wird im Ölpumpenvakuum unter Verwendung einer Luftbrücke destilliert. Das Destillat erstarrt zu weißen Kristallen.

Ausbeute:	212 g	Lit.[121]:	82 %
Schmelzpunkt:	95 –96 °C	Lit.[138]:	94 – 96 °C
Siedepunkt:	101 –104 °C / 0,1 mbar		

Die ^{1}H-NMR-Daten sind identisch mit den von *Maeda*[139].



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$)

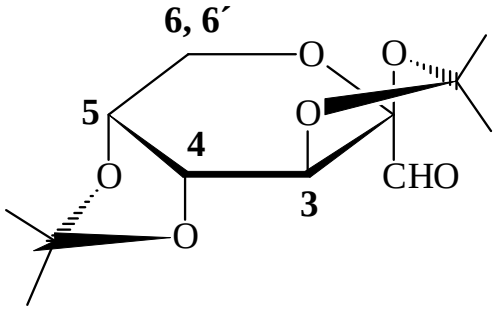
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,33/1,40/1,47/1,53	4 s	12	$C(C\underline{H}_3)_2$
2,27	m	1	OH
3,53 – 4,23	m	5	H-1, H-1´, H-5, H-6, H-6´
4,28	d	1	H-3
4,57	dd	1	H-4

5.33. 2,3;4,5-Di-O-isopropyliden-β-D-arabino-hexosulo-2,6-pyranose 62

Die Oxidation wird in Abwandlung der Vorschrift von D. Swern[124] durchgeführt. Eine Lösung von 32,7 ml (0,381 mol) Oxalylchlorid in 500 ml trockenem Methylenchlorid wird unter Stickstoffatmosphäre auf unter -50 °C mit einem Aceton / Trockeneisbad abgekühlt. Diese Temperatur muß bei den folgenden Arbeitsschritten eingehalten werden. Zu der Lösung werden 30 ml (0,423 mol) Dimethylsulfoxid in 40 ml trockenem Methylenchlorid zugetropft. Nach 10 Minuten Rühren werden 100 g (0,385 mol) 2,3;4,5-Di-O-isopropyliden-β-D-arabinofructopyranose in 60 ml Methylenchlorid zugetropft und weitere 15 Minuten gerührt. Anschließend werden 117 ml Triethylamin (0,844 mol) zugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wird mit 600 ml Wasser versetzt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit 200 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 %iger Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird das Produkt destilliert.

Ausbeute:	83 g (84 %)	Lit.[115]: 85 %
Siedepunkt:	100°C / 0,08 mbar	Lit.[137]: 79 –80°C / 0,04 Torr
n_D^{20}:	1,455	

Die ^{1}H-NMR-Daten sind identisch mit denen von *Horton*[137] und *Jones*[140].



^{1}H-NMR (90 MHz, $CDCl_3$):

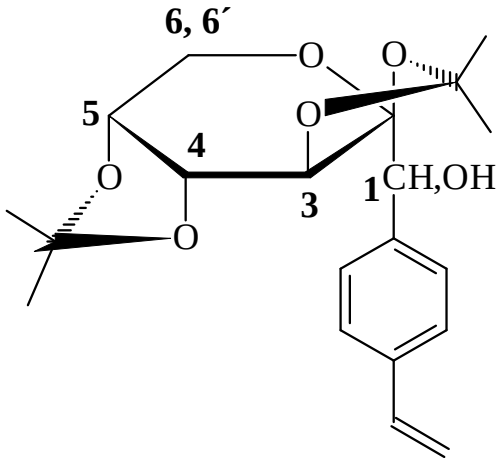
δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
1,33/1,40/1,43/1,55	4 s	12	$C(CH_3)_2$
3,82/3,97	AB-Teil von ABX	2	H-6, H-6´
4,23	m	1	H-5
4,50	d	1	H-3
4,58	dd	1	H-4

5.34. 2,3;4,5-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-D-manno(D-gluco)-hexulo-2,6-pyranose[133] 63

Unter inerten Bedingungen werden 30,3 g (0,22 mol) 4-Chlorstyrol in ca. 100 ml trockenem THF so zu 5,3 g (0,22 mol) Magnesiumspänen zugetropft, daß das Reaktionsgemisch gelinde siedet. Nach beendeter Zugabe läßt man unter Rühren auf Raumtemperatur erkalten. Bei einer Temperatur von maximal 25 °C werden 47 g (0,18 mol) 2,3;4,5-Di-O-isopropyliden-β-D-arabino-hexosulo-2,6-pyranose zu der Grignard-Lösung getropft. Man rührt weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur und läßt über Nacht abreagieren. Danach wird zunächst mit Eiswasser hydrolysiert. Die ausgefallenen Magnesiumsalze werden vorsichtig durch Zugabe gesättigter Ammoniumchloridlösung und 10 %iger Salzsäure (pH 5 nicht unterschreiten) in Lösung gebracht. Die Phasen werden rasch getrennt und die wäßrige Phase wird dreimal mit Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird nach Zusatz von etwas p-Methoxyphenol (Inhibitior) am Rotationsverdampfer entfernt. Der resultierende gelbbraune Sirup kann säulenchromatographisch gereinigt werden (Laufmittel A, R_f = 0,56).

Ausbeute: 50 – 60 % Lit.[133]: 79 %

Die NMR-Daten entsprechen den bei *J. Schmid*[133] angegebenen Daten.



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) (Hauptisomer (H), Nebenisomer (N))

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
0,97/1,38/1,48/1,58 (H)	4 s	12	$C(C\underline{H}_3)_2$
1,21/1,39/1,48/1,60 (N)	4 s	12	$C(C\underline{H}_3)_2$
3,08 (H) / 3,84 (N)	d	1	OH
4,22 (H) / 4,23 (N)	m / dd	1	H-5
4,61 (H) / 4,64 (N)	dd	1	H-4
4,51 (H) / 4,41 (N)	d	1	H-3
4,81 (H) / 4,72 (N)	d	1	H-1
3,77/3,92 (H) / 3,76/3,83 (N)	AB-Teil von ABX	2	H-6, H-6´
5,23 (H) / 5,20 (N)	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$ J_{cis} = 10,9 Hz
5,73 (H) / 5,72 (N)	dd	1	$CH=C\underline{H}_2$ J_{trans} = 17,6 Hz
6,69 (H) / 6,70 (N)	dd	1	$C\underline{H}=CH_2$
7,39 (H) / 7,40 (N)	m	4	aromatische H

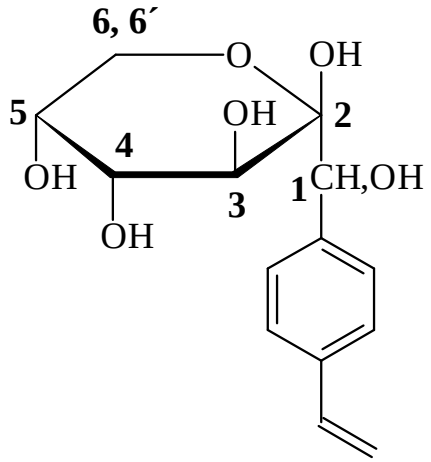
5.35. 1-(4-Vinylphenyl)-D-manno(D-gluco)-hexulo-2,6-pyranose[116] 64

Die Entschützung von 2,3;4,5-Di-O-isopropyliden-1-(4-vinylphenyl)-D-manno (D-gluco)-hexulo-2,6-pyranose erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.4.

Ausbeute: 75 % Lit. [116]: 80 %

IR-Spektroskopie (KBr):	3520/3400 cm^{-1}	OH
	2970/2940/2920/2890 cm^{-1}	CH
	1630 cm^{-1}	C=CH
	1510 cm^{-1}	C=C aromatisch

Die NMR-Daten stimmen mit den von *H. Diederichs*[116] überein.



^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6 + D_2O)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,28 – 4,73	m	6	H-1, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
5,22	br. d	1	CH=C<u>H</u>$_2$
			J_{cis} = 11,5 Hz
5,79	br. d	1	CH=C<u>H</u>$_2$
			J_{trans} = 17,7 Hz
6,71	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,36	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) (verschiedene Stereoisomere)

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
62,17/63,13	1	C-6
68,57/68,68/69,75/74,69/74,63/74,73/75,02/81,55	3	C-1, C-3, C-5
98,12/98,19/102,33	1	C-2
113,44	1	CH=<u>C</u>H$_2$
124,78/124,83/128,19/128,42	4	aromatische <u>C</u>H
136,55	1	<u>C</u>H=CH$_2$
135,47/140,77/140,81	2	aromatische <u>C</u>

5.36. Sulfatierte 1-(4-Vinylphenyl)-D-manno(D-gluco)-hexulo-2,6-pyranose 65

Die Sulfatierung von 1-(4-Vinylphenyl)-D-manno(D-gluco)-hexulo-2,6-pyranose erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.5.

Ausbeute: 80 %

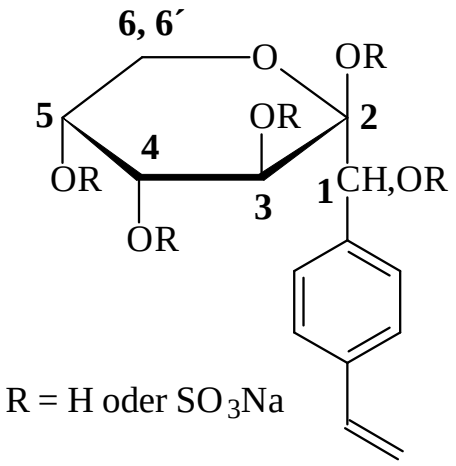
IR-Spektroskopie (KBr):	3474 cm^{-1}	O-H
	2982 cm^{-1}	C-H
	1636 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1253 cm^{-1}	S=O
	1071 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie (FAB: Glycerin + NaI):

12 %	m/z = 611 ($C_{14}O_6H_{15}(SO_3Na)_3 + Na^+$)
6 %	m/z = 509 ($C_{14}O_6H_{16}(SO_3Na)_2 + Na^+$)
9 %	m/z = 407 ($C_{14}O_6H_{17}(SO_3Na)_1 + Na^+$)

$C_{14}H_{14,49}O_6(SO_3Na)_{3,51}$*2,23 H_2O	berechnet:	24,72 %C, 2,81 %H, 0 %N
(680,23 g/mol):	gefunden:	24,72 %C, 2,75 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O)
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,5)

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,5 – 4,9	m	6	H-1, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6´
5,11/5,13	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 11,5 Hz
5,68/5,71	dd	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 17,7 Hz
6,58/6,61/6,62/6,64	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,32	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O)
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,5)

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
64,00	1	C-6
68,10/69,11/72,86/74,86/75,77/77,67/82,46	4	C-1, C-3, C-4, C-5
100,57/101,65/103,37	1	C-2
114,91	1	CH=<u>C</u>H$_2$
126,25/128,46	4	aromatische <u>C</u>H
136,82	1	<u>C</u>H=CH$_2$
136,59/138,06	2	aromatische <u>C</u>

5.37. 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-D-ido(D-galacto)(D-gulo)(D-talo)-hexitol <u>66</u>

Eine Lösung von 2,0 g (0,00708 mol) 1-(4-Vinylphenyl)-D-manno-(D-gluco)-hexulo-2,6-pyranose in 70 ml Wasser (dest.) wird sehr langsam zu einer eisgekühlten, gerührten Lösung aus 0,54 g (0,0143 mol) Natriumborhydrid in 70 ml Wasser (dest.) getropft. Nach weiteren zwei Stunden Rühren bei 0°C, läßt man noch zwanzig Stunden bei Raumtemperatur rühren. Nach quantitativ erfolgter Reduktion (DC, Laufmittel Chloroform:Methanol 1:1, r_f (Edukt) > r_f (Produkt)) wird die Reaktion durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120, H^+-Form) beendet. Wenn die Lösung sauer reagiert wird der Ionenaustauscher entfernt und das Filtrat sehr vorsichtig fünf bis zehnmal unter Methanolzugabe fast bis zur Trockne eingeengt, um die Borsäure als Trimethylborat zu entfernen. Schließlich wird der Rückstand in Wasser aufgenommen, gegebenenfalls filtriert und gefriergetrocknet. Das Rohprodukt kann im Laufmittel Butanol:Ethanol:Wasser 3:1:1 säulenchromatographisch gereinigt werden.

Ausbeute: 1,5 g (74,5 %)

IR-Spektroskopie (KBr): 3418 cm^{-1} OH
2927 cm^{-1} CH

Massenspektroskopie (chemische Ionisation, NH_3):
34 % m/z = 320 ($M + NH_4^+ + H_2O$)
37 % m/z = 302 ($M + NH_4^+$)
10 % m/z = 284 ($M + NH_4^+ - H_2O$)
Basispeak m/z = 200 ($M + NH_4^+ - H_2CO – 4\ H_2O$)

$C_{14}H_{20}O_6$*0,3 H_2O berechnet: 58,04 %C, 7,17 %H, 0 %N
(289,71 g/mol): gefunden: 57,96 %C, 7,44 %H, 0 %N

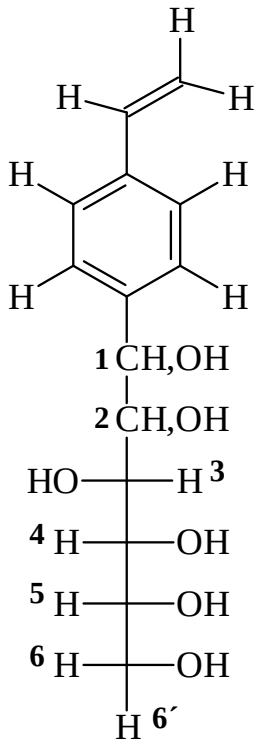
NMR-Spektroskopie:

^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):

δ / ppm	Multiplizität	Anzahl	Zuordnung
3,5 - 4,7	m	7	H-1, H-2, H-3, H-4 H-5, H-6, H-6´
5,21/5,24	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{cis} = 11 Hz
5,78/5,81	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$, J_{trans} = 17,6 Hz
6,69/6,71/6,72/6,74	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,35	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O):

δ / ppm	Anzahl	Zuordnung
63,71/64,82	2	C-5, C-6
69,57	1	C-2
70,01/70,98	2	C-3, C-4
73,69	1	C-1
113,30	1	CH=<u>C</u>H$_2$
124,94/128,03	4	aromatische <u>C</u>H
135,37	1	<u>C</u>H=CH$_2$
136,60/142,35	2	aromatische <u>C</u>



5.38. Sulfatiertes 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-D-ido(D-galacto)(D-gulo)(D-talo)-hexitol 67

Die Sulfatierung von 1-(4-Vinylphenyl)-D-glycero-D-ido(D-galacto)(D-gulo)(D-talo)-hexitol erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift 5.5.

Ausbeute: 60 %

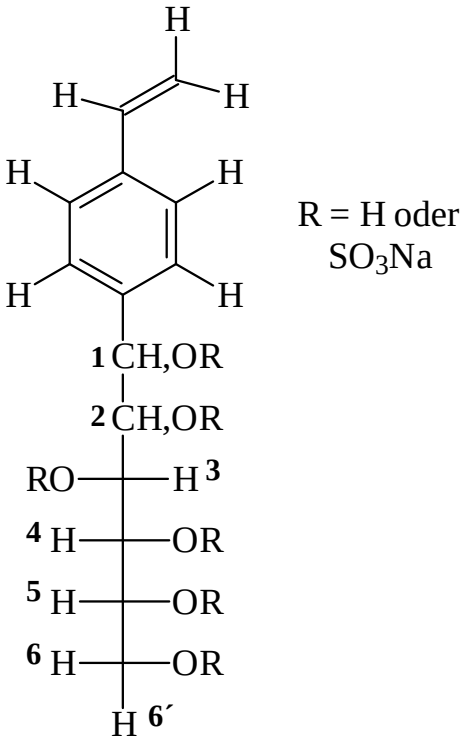
IR-Spektroskopie (KBr):	3449 cm^{-1}	O-H
	3000 cm^{-1}	C-H
	1638 cm^{-1}	$HC=CH_2$
	1236 cm^{-1}	S=O
	1069 cm^{-1}	C-OH

Massenspektroskopie (FAB: Glycerin + NaI):

1 %	m/z = 715 ($C_{14}O_6H_{16}(SO_3Na)_4 + Na^+$)
1 %	m/z = 613 ($C_{14}O_6H_{17}(SO_3Na)_3 + Na^+$)
3 %	m/z = 511 ($C_{14}O_6H_{18}(SO_3Na)_2 + Na^+$)
3 %	m/z = 409 ($C_{14}O_6H_{19}(SO_3Na)_1 + Na^+$)

$C_{14}H_{16,67}O_6(SO_3Na)_{3,33}$*3,08 H_2O	berechnet:	24,74 %C, 3,39 %H, 0 %N
(679,68 g/mol):	gefunden:	24,74 %C, 3,33 %H, 0 %N

NMR-Spektroskopie:



^{1}H-NMR (500 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,3)

δ / ppm	**Multiplizität**	**Anzahl**	**Zuordnung**
3,5 - 4,9	m	7	H-1, H-2, H-3, H-4 H-5, H-6, H-6´
5,16/5,18	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$ J_{cis} = 11 Hz
5,69/5,73	d	1	CH=C<u>H</u>$_2$ J_{trans} = 17,6 Hz
6,62/6,65/6,66/6,68	dd	1	C<u>H</u>=CH$_2$
7,32	m	4	aromatische H

^{13}C-NMR (125 MHz, D_2O):
(verschiedene Stereoisomere, durchschnittlicher Sulfatierungsgrad 3,3)

δ / ppm	**Anzahl**	**Zuordnung**
65,18/66,33/66,94/68,79/ 69,68/74,40/78,65	6	C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6
114,24	1	CH=<u>C</u>H$_2$
126,75/128,22	4	aromatische <u>C</u>H
133,95	1	<u>C</u>H=CH$_2$
136,73/139,64	2	aromatische <u>C</u>

6. Darstellung und Charakterisierung der Polymere

6.1. Radikalische, wäßrige Lösungspolymerisationen

Zur Herstellung der Copolymere werden die wasserlöslichen Monomere, der Radikalstarter V50 (2,2´-Azobis-(2-amidinopropan)dihydrochlorid) **70** und die entsprechende Menge bidestilliertes Wasser in einen Kolben mit aufgesetztem Dreiwegehahn und Septum gefüllt. Nach mehrmaliger Entgasung (unter kräftigem Rühren wiederholt Vakuum anlegen und anschließend mit Stickstoff belüften) wird die Lösung im vortemperierten Ölbad bei 60°C erhitzt. Zum Abbruch der Polymerisation wird der abgekühlte Ansatz in das 15 fache Volumen an kaltem Ethanol gegeben und das gefällte Polymer durch Zentrifugation isoliert. Anschließend werden die Polymere 1-2 Tage bei Raumtemperatur im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet, danach im Mörser zerkleinert und gegebenenfalls erneut getrocknet. Die genauen Polymerisationsbedingungen können den Tabellen 38 - 40 entnommen werden.

6.2. Polymeranaloge Sulfatierungen

Die polymeranalogen Sulfatierungen erfolgen analog wie die Sulfatierungen der Monomere (→ 5.5.). Dabei liegt im ersten Fall in der Regel ein heterogenes Reaktionsgemisch vor, während man im Gegensatz dazu im letzten Fall eine homogene Lösung erhält. Die Sulfatierung des Polymers läßt sich durch IR-spektroskopische Untersuchungen nachweisen. Nach erfolgreichem Reaktionsverlauf tritt die typische S=O-Bande bei 1220 - 1260 cm^{-1} auf. Die genauen Reaktionsbedingungen können in der Tabelle 41 nachgelesen werden.

6.3. Charakterisierung der Polymere

Neben Sulfatierungsgrad und Copolymerzusammensetzung (→ 6.1. und 6.2.) sind die Polymere über die Membranosmometrie, die Viskosimetrie, die Tetramermolmasse, die Zahl SO_3Na/Tetramer, die Zahl COONa/Tetramer, die Bakterienadhäsion, den Gleitreibungskoeffizienten und die FT-IR-Spektroskopie charakterisiert worden (→ Tabellen 42 - 44). Die Herleitung von mathematischen Beziehungen zur Ermittlung der einzelnen Parameter und Fehlerdiskussionen sind ausführlich im theoretischen Teil im Kapitel 4. beschrieben.

Polymer	Zuckermonomer				Comonomer				H_2O	Mono-mer-konzen-tration	Initiator		Poly-meri-sations-dauer	Aus-beute
	Nr.	[g]	DS	[mol-%] im Polymer	Nr.	[g]	DS	[mol-%] im Polymer	[ml]	[mol/l]	[mg]	[mol-%] bezogen auf Monomer	[h]	[%]
P1	**22**	3,5	3,0	17,6	**13**	4,8	---	82,4	60	0,58	47,5	0,5	24	86
P2	**22**	5,0	3,0	26,7	**13**	3,2	---	73,3	50	0,57	38,7	0,5	24	75
P3	**22**	5,5	3,0	47,8	**13**	1,9	---	52,2	37	0,59	18,0	0,3	90	96
P4	**22**	7,0	3,0	55,9	**13**	1,3	---	44,1	45	0,48	29,2	0,5	24	79
P5	**22**	7,5	3,0	70,8	**13**	0,6	---	29,2	40	0,47	25,4	0,5	24	76
P6	**22**	6,0	3,0	42,0	**14**	2,5	1,0	58,0	40	0,60	32,5	0,5	24	62
P7	**22**	7,0	3,0	33,1	**16**	1,2	---	66,9	55	0,51	37,9	0,5	24	84
P8	**30**	4,1	---	32,0	**13**	5,1	---	68,0	90	0,51	62,0	0,5	24	85
P10	**30**	7,6	---	45,3	**13**	2,2	---	54,7	85	0,50	58,1	0,5	24	80
P12	**31**	4,0	3,7	14,6	**13**	4,1	---	85,4	60	0,50	40,7	0,5	24	75
P13	**31**	5,3	3,7	33,7	**13**	2,5	---	66,3	45	0,51	31,0	0,5	24	65
P14	**31**	6,9	3,7	50,6	**13**	0,9	---	49,4	35	0,45	21,5	0,5	24	50
P15	**30**	5,1	---	40,4	**14**	4,1	1,0	59,6	80	0,50	54,2	0,5	24	86
P17	**30**	6,9	---	49,2	**16**	2,3	---	50,8	100	0,54	73,4	0,5	24	91

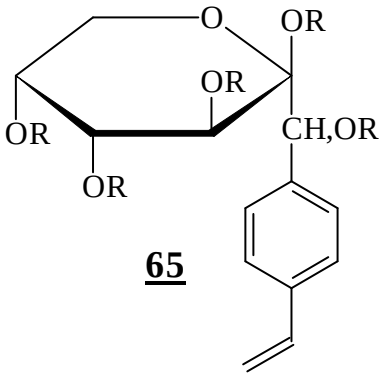
Tabelle 38: Ansatzgrößen und Polymerisationsbedingungen

Polymer	Zuckermonomer				Comonomer				H_2O	Mono-mer-konzen-tration	Initiator		Poly-meri-sations-dauer	Aus-beute
	Nr.	[g]	DS	[mol-%] im Polymer	Nr.	[g]	DS	[mol-%] im Polymer	[ml]	[mol/l]	[mg]	[mol-%] bezogen auf Monomer	[h]	[%]
P19	**41**	5,9	---	49,8	**13**	3,6	---	50,2	80	0,53	56,9	0,5	48	87
P21	**44**	10,0	---	34,7	**13**	11,1	---	65,3	170	0,59	13,6	0,05	65	91
P25	**44**	6,3	---	51,1	**13**	3,7	---	48,9	85	0,52	6,0	0,05	24	80
P27	**44**	4,0	---	55,8	**13**	2,4	---	44,2	51	0,55	15,3	0,2	48	92
P29	**44**	2,0	---	56,5	**13**	1,2	---	43,5	16	0,88	38,4	1,0	68	80
P31	**45**	3,7	4,1	17,5	**13**	3,3	---	82,5	55	0,44	19,6	0,3	90	65
P32	**45**	6,3	4,5	44,9	**13**	1,4	---	55,1	50	0,32	13,0	0,3	90	81
P33	**45**	6,1	4,1	59,2	**13**	0,9	---	40,8	45	0,29	10,8	0,3	90	56
P34	**45**	5,4	1,5	53,8	**13**	2,0	---	46,2	50	0,48	19,5	0,3	90	43
P35	**44**	1,7	---	38,3	**13** **14**	1,0 1,2	--- 1,0	19,6 42,1	20	0,91	49,2	1,0	90	70
P36	**44**	4,7	---	29,3	**14**	10,3	1,0	70,7	130	0,51	18,0	0,1	72	55
P38	**44**	5,5	---	50,8	**14**	4,0	1,0	49,2	75	0,52	52,5	0,5	48	76
P40	**44**	4,0	---	53,1	**15**	1,0	---	46,9	40	0,70	38,0	0,5	24	95

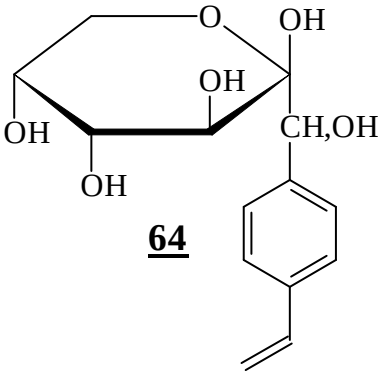
Tabelle 39: Ansatzgrößen und Polymerisationsbedingungen

Polymer	Zuckermonomer				Comonomer				H_2O	Mono-mer-konzen-tration	Initiator		Poly-meri-sations-dauer	Aus-beute
	Nr.	[g]	DS	[mol-%] im Polymer	Nr.	[g]	DS	[mol-%] im Polymer	[ml]	[mol/l]	[mg]	[mol-%] bezogen auf Monomer	[h]	[%]
P42	**44**	4,0	---	51,3	**16**	1,2	---	48,7	80	0,35	38,0	0,5	24	81
P44	**56**	6,0	---	49,1	**13**	3,6	---	50,9	80	0,53	57,6	0,5	24	80
P46	**57**	7,0	3,8	51,4	**13**	1,6	---	48,6	32	0,60	51,9	1,0	64	80
P47	**58**	5,8	---	48,9	**13**	3,4	---	51,1	80	0,51	54,8	0,5	48	83
P49	**59**	5,0	2,9	60,9	**13**	1,4	---	39,1	32	0,50	44,8	1,0	48	88
P50	**64**	6,0	---	50,3	**13**	3,6	---	49,7	80	0,53	57,6	0,5	24	49
P52	**65**	4,2	2,5	46,7	**13**	1,3	---	53,3	22	0,69	41,3	1,0	48	88
P53	**65**	7,0	3,5	58,6	**13**	1,8	---	41,4	35	0,59	55,8	1,0	64	74
P54	**66**	6,0	---	49,9	**13**	3,6	---	50,1	80	0,53	57,2	0,5	72	83
P56	**67**	5,5	3,3	46,3	**13**	1,4	---	53,7	34	0,48	45,3	1,0	48	84
P57	---	---	---	---	**13**	7,0	---	100	340	0,12	33,5	0,3	90	71

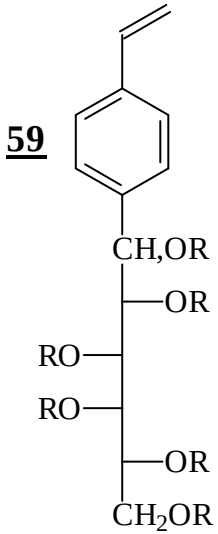
Tabelle 40: Ansatzgrößen und Polymerisationsbedingungen



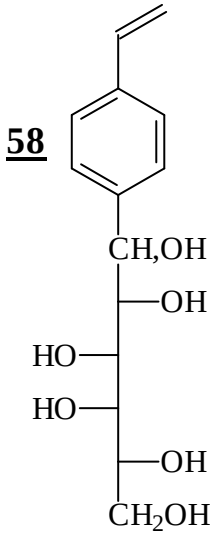
65



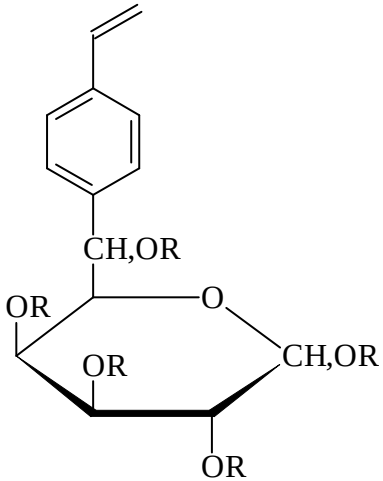
64



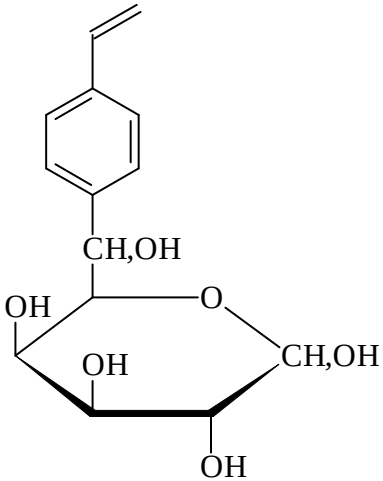
59



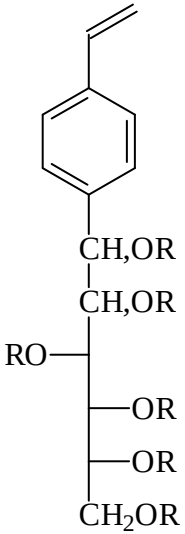
58



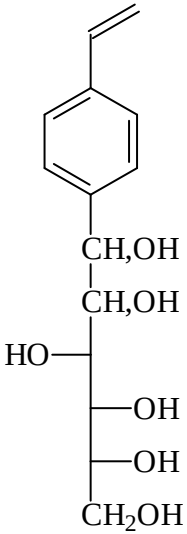
57



56



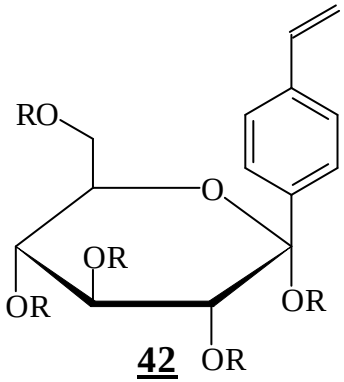
67



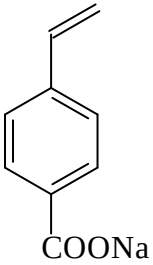
66

R = H oder SO_3Na

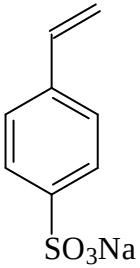
Abbildung 68: Strukturen der Monomere



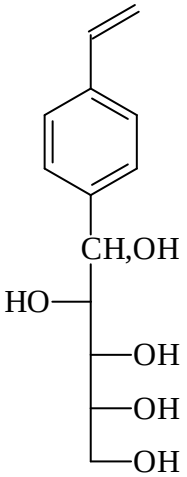
42



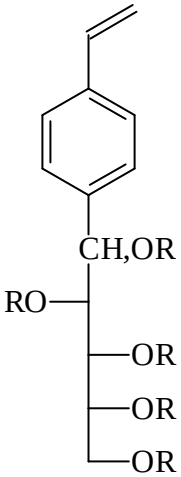
13



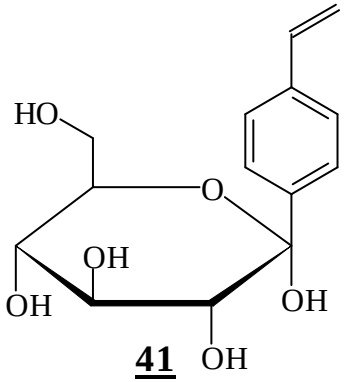
14



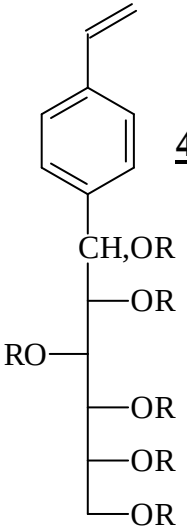
30



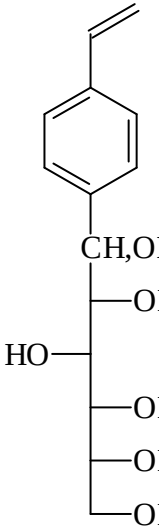
31



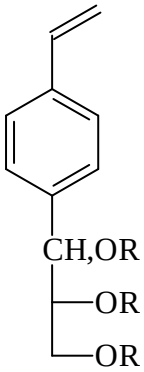
41



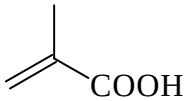
45



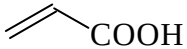
44



22



16



15

R = H oder SO_3Na

Abbildung 69: Strukturen der Monomere

Poly-mer	Unsulfatiertes Polymer			SO_3/Pyridin-Komplex		Pyridin	Ausbeute	Sulfatierungsgrad der Zuckereinheit im Polymer
	Bezeich-nung	m [g]	$n_{Zuckereinheiten}$ [mmol]	m [g]	Moläqui-valente	[ml]	[%]	
P9	P8	7,0	11,4	14,7	8,2	280	67	4,1
P11	P10	7,0	15,2	9,7	4,0	280	78	2,8
P16	P15	7,0	12,5	8,0	4,0	280	75	1,4
P18	P17	7,5	21,9	13,9	4,0	300	61	1,0
P20	P19	5,5	12,1	7,7	4,0	220	51	2,3
P22	P21	5,0	8,3	2,6	2,0	200	94	0,8
P23	P21	4,0	6,6	4,2	4,0	160	73	2,1
P24	P21	4,0	6,6	6,3	6,0	160	66	3,1
P26	P25	5,5	12,3	7,8	4,0	220	73	2,9
P28	P27	4,0	9,5	6,1	4,0	160	80	3,0
P30	P29	2,4	5,8	3,7	4,0	100	69	2,4
P37	P36	6,5	8,3	5,3	4,0	260	57	1,3
P39	P38	6,3	13,0	8,3	4,0	250	65	1,3
P41	P40	3,5	10,1	5,0	3,1	160	37	0,8
P43	P42	3,5	9,6	5,0	3,3	160	28	1,8
P45	P44	5,5	12,0	7,6	4,0	220	63	2,2
P48	P47	6,5	14,1	9,0	4,0	260	56	0,5
P51	P50	4,3	9,5	6,1	4,0	180	65	1,8
P55	P54	5,5	12,1	7,7	4,0	220	51	1,8

m: Einwaage $n_{Zuckereinheiten}$: Stoffmenge der Zuckereinheiten im unsulfatierten Polymer Moläquivalente sind auf $n_{Zuckereinheiten}$ bezogen

Tabelle 41: Polymeranaloge Sulfatierungen

Poly-mer	Membranosmo-metrie (H_2O)	Viscosimetrie (Glycinpuffer)	Tetramer	SO_3Na/ Tetramer	COONa/ Tetramer	Bakterien-adhäsion	Gleitreibungs-koeffizient	FT-IR S=O-Bande
	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]	M_{rep} [g/Tetramer]			[%]	μ_D	[cm^{-1}]
P1	610000	187,1	940	2,1	3,3	43	0,28	1237
P2	600000	105,6	1075	3,2	2,9	30	0,26	1234
P3	610000	97,5	1386	5,7	2,1	38	0,31	1258
P4	590000	55,36	1505	6,7	1,8	28	0,26	1254
P5	600000	62,8	1725	8,5	1,7	34	0,27	1252
P6	200000	29,7	1383	7,4	0	21	0,27	1180/1233
P7	850000	239,8	944	4,0	2,7	---	0,32	1255
P9	1000000	267,5	1539	5,2	2,7	1	0,34	1254
P11	750000	176,0	1548	5,1	2,2	6	0,34	1251
P12	400000	114,6	969	2,1	3,4	41	0,29	1260
P13	300000	57,2	1347	5,0	2,7	31	0,39	1258
P14	250000	16,7	1682	7,5	2,0	21	0,27	1256
P16	600000	130,9	1283	4,6	0	37	0,33	1222
P18	550000	217,1	968	2,0	2,0	0	0,39	1242
P20	500000	96,8	1620	4,6	2,0	16	0,13	1240
P21	1000000	219,9	839	0	2,6	17	0,48	---

[η]: Staudingerindex M_{rep}: Molmasse einer Tetramereinheit M_n: Zahlenmittel des Molekulargewichtes

Tabelle 42: Charakterisierungen

Poly-mer	Membranosmo-metrie (H_2O)	Viscosimetrie (Glycinpuffer)	Tetramer	SO_3Na/ Tetramer	COONa/ Tetramer	Bakterien-adhäsion	Gleitreibungs-koeffizient	FT-IR S=O-Bande
	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]	M_{rep} [g/Tetramer]			[%]	μ_D	[cm^{-1}]
P22	1200000	224,8	1026	1,1	2,6	7	0,33	1252
P23	1500000	292,3	1234	2,9	2,6	5	0,43	1252
P24	1700000	321,7	1443	4,3	2,6	4	0,24	1253
P26	1100000	247,8	1706	5,9	2,0	11	0,33	1251
P27	700000	136,4	934	0	1,8	---	---	---
P28	1600000	397,5	1816	6,7	1,8	12	0,36	1251
P30	330000	89,2	1598	5,4	1,7	---	---	1234
P31	90000	175,5	1095	2,9	3,3	---	---	1260
P32	200000	33,9	1794	8,1	2,2	---	---	1259
P33	130000	19,2	2084	9,7	1,6	---	---	1255
P34	340000	55,4	1280	3,2	1,8	---	---	1255
P35	235000	51,6	916	1,7	0,8	21	0,21	1183
P37	150000	25,8	1203	4,4	0	15	0,33	1186
P39	100000	19,6	1395	4,6	0	7	0,33	1219
P41	375000	147,3	953	1,7	1,9	24	---	1231
P43	640000	296,0	1187	3,7	1,9	21	---	1239

[η]: Staudingerindex M_{rep}: Molmasse einer Tetramereinheit M_n: Zahlenmittel des Molekulargewichtes

Tabelle 43: Charakterisierungen

Poly-mer	Membranosmo-metrie (H_2O)	Viscosimetrie (Glycinpuffer)	Tetramer	SO_3Na/ Tetramer	COONa/ Tetramer	Bakterien-adhäsion	Gleitreibungs-koeffizient	FT-IR S=O-Bande
	M_n [g/mol]	[η] [ml/g]	M_{rep} [g/Tetramer]			[%]	μ_D	[cm^{-1}]
P45	350000	70,1	1611	4,3	2,0	35	0,28	1250
P46	102000	16,4	1835	7,8	1,9	---	0,33	1256
P48	250000	40,5	1108	1,0	2,0	11	0,29	1277
P49	274000	47,0	1776	7,1	1,6	---	---	1255
P51	90000	16,8	1525	3,6	2,0	26	0,32	1252
P52	96000	17,7	1394	4,7	2,1	---	---	1258
P53	68000	4,2	1875	8,2	1,7	---	---	1254
P55	250000	40,1	1319	3,6	2,0	5	0,31	1248
P56	274000	48,0	1625	6,1	2,1	---	---	1255
P57	20000	142,1	680	0	4,0	---	---	---

[η]: Staudingerindex M_{rep}: Molmasse einer Tetramereinheit M_n: Zahlenmittel des Molekulargewichtes

Tabelle 44: Charakterisierungen

6.4. Antikoagulative Eigenschaften der Polymere

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P9	P11
c [µmol/l]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]
4,6	54,8 ±8,0	73,6 ±4,6	37,6 ±2,0	68,8 ±18,1	88,4 ±6,1	76,9 ±10,8	65,2 ±8,9	80,3 ±13,3
9,2	69,3 ±8,5	85,5 ±9,7	57,3 ±3,2	107,0	137,0 ±18,7	105,3 ±13,8	87,5 ±12,5	125,8 ±17,8
18,5	107,7 ±8,1	175,8 ±14,3	178,3 ±18,8	Ab-bruch	Ab-bruch	184,1 ±25,3	263,3 ±0,9	268,3 ±0,1
27,7	160,4 ±19,4	299,7 ±1,6	315,7 ±71,8	Ab-bruch	Ab-bruch	293,0 ±0,9	Ab-bruch	Ab-bruch
36,9	229,2 ±6,5	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch
46,2	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch
c [µmol/l]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]
4,6	24,8 ±2,3	40,1 ±4,4	26,0 ±3,5	52,9 ±8,9	71,2 ±5,3	40,3 ±6,1	51,4 ±9,9	51,9 ±8,7
9,2	35,4 ±6,0	52,3 ±2,3	39,7 ±1,1	83,6 ±8,3	106,6 ±4,8	59,9 ±7,3	71,7 ±7,6	87,6 ±8,5
18,5	69,0 ±4,8	101,0 ±5,0	81,1 ±3,1	229,8 ±35,0	261,8 ±16,5	109,0 ±17,4	176,0 ±52,2	152,6 ±28,3
27,7	98,1 ±5,3	151,0 ±7,3	137,7 ±7,1	Ab-bruch	Ab-bruch	182,8 ±24,1	295,9 ±1,0	296,8 ±7,0
36,9	164,3 ±13,8	265,2 ±25,5	220,4 ±15,6	Ab-bruch	Ab-bruch	268,0 ±40,2	Ab-bruch	Ab-bruch
46,2	245,6 ±4,8	Ab-bruch	299,5 ±18,0	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch
M_{Tetr} [g/mol]	940	1075	1386	1505	1725	1383	1539	1548

Tabelle 45: Aktivierte partielle Thromboplastinzeiten (APTT), Thrombinzeiten (TT) und Tetramermolmassen (M_{Tetr}) verschiedener Polymere

	P12	P13	P14	P16	P18	P20	P21	P22
c [µmol/l]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]
4,6	57,3 ±9,5	61,6 ±8,5	54,6 ±7,8	78,5 ±6,5	37,5 ±2,8	43,0 ±8,4	32,9 ±3,8	36,9 ±6,8
9,2	67,0 ±11,9	67,7 ±9,3	66,5 ±10,9	99,9 ±6,8	44,2 ±4,5	64,8 ±10,4	33,6 ±2,4	40,3 ±7,3
18,5	90,0 ±19,5	121,3 ±19,7	102,3 ±14,3	150,8 ±12,7	59,7 ±8,4	136,7 ±29,0	36,7 ±2,6	46,6 ±6,8
27,7	148,6 ±35,7	226,1 ±33,0	176,2 ±35,1	219,4 ±51,5	84,3 ±6,4	297,5 ±25,9	40,2 ±4,0	56,8 ±10,8
36,9	256,3 ±38,3	Ab-bruch	258,3 ±35,5	Ab-bruch	106,4 ±10,2	Ab-bruch	45,2 ±3,9	69,7 ±7,0
46,2	296,0 ±18,5	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	170,4 ±26,6	Ab-bruch	52,8 ±5,8	86,8 ±10,0
c [µmol/l]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]
4,6	22,0 ±1,4	27,1 ±2,5	25,4 ±2,1	30,7 ±4,8	29,7 ±3,9	21,0 ±2,7	16,3 ±0,7	16,1 ±0,3
9,2	30,5 ±5,4	35,6 ±4,6	33,7 ±3,9	43,2 ±4,8	40,2 ±7,4	28,1 ±2,7	16,1 ±0,6	16,8 ±0,1
18,5	53,1 ±8,4	68,6 ±2,8	51,8 ±5,9	69,5 ±7,7	59,6 ±8,0	55,2 ±7,0	17,3 ±1,4	19,0 ±1,7
27,7	112,0 ±34,7	121,4 ±27,6	75,0 ±8,3	91,0 ±15,8	76,8 ±14,9	84,5 ±6,7	19,8 ±1,0	21,7 ±2,3
36,9	168,5 ±17,8	168,1 ±20,1	101,7 ±13,0	111,9 ±4,5	99,1 ±28,8	138,4 ±12,8	24,1 ±2,0	27,4 ±2,7
46,2	181,0 ±8,8	221,4 ±14,2	135,2 ±27,9	112,4 ±3,2	148,8 ±54,4	165,5 ±3,5	28,7 ±3,8	34,0 ±0,9
M_{Tetr} [g/mol]	969	1347	1682	1283	968	1620	839	1026

Tabelle 46: Aktivierte partielle Thromboplastinzeiten (APTT), Thrombinzeiten (TT) und Tetramermolmassen (M_{Tetr}) verschiedener Polymere

	P23	P24	P26	P27	P28	P30	P31	P32
c [µmol/l]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]
4,6	44,3 ±10,3	40,7 ±8,3	59,8 ±11,2	32,0 ±2,8	45,2 ±3,9	40,3 ±1,6	34,1 ±2,1	31,9 ±1,3
9,2	50,7 ±9,0	52,4 ±12,7	78,1 ±1,4	33,3 ±3,0	59,1 ±4,1	45,0 ±4,8	41,5 ±2,2	40,8 ±1,6
18,5	88,4 ±12,8	77,0 ±16,9	176,9 ±19,4	32,5 ±1,4	110,5 ±10,9	85,3 ±8,5	53,1 ±3,9	70,4 ±1,9
27,7	147,5 ±14,5	148,1 ±67,8	Ab-bruch	35,9 ±2,6	224,3 ±28,0	214,3 ±60,7	112,2 ±16,2	193,3 ±11,1
36,9	236,3 ±35,5	Ab-bruch	Ab-bruch	37,7 ±2,7	Ab-bruch	332,8 ±49,6	211,8 ±15,2	294,8 ±20,0
46,2	Ab-bruch	Ab-bruch	Ab-bruch	40,5 ±2,3	Ab-bruch	Ab-bruch	280,4 ±23,3	Ab-bruch
c [µmol/l]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]
4,6	16,5 ±1,3	17,4 ±1,2	28,5 ±3,8	16,3 ±0,2	19,5 ±1,1	17,7 ±1,4	19,2 ±1,2	21,0 ±1,2
9,2	19,9 ±0,9	21,0 ±1,8	39,9 ±3,8	16,6 ±0,4	23,3 ±3,2	20,9 ±2,2	21,4 ±1,4	25,9 ±2,6
18,5	29,0 ±4,5	29,3 ±3,4	61,7 ±20,9	16,9 ±1,5	39,4 ±4,3	30,5 ±3,3	27,9 ±2,3	39,7 ±1,1
27,7	39,3 ±3,7	40,5 ±4,9	109,1 ±12,4	19,2 ±1,1	61,5 ±13,4	48,5 ±1,9	39,3 ±1,9	56,9 ±2,3
36,9	59,3 ±12,6	57,4 ±8,4	145,8 ±19,3	21,2 ±0,2	87,6 ±19,0	70,4 ±3,0	55,4 ±3,3	80,0 ±1,3
46,2	107,1 ±31,6	76,3 ±13,8	174,7 ±17,2	20,2 ±1,4	112,8 ±12,6	88,3 ±4,8	65,3 ±1,5	103,2 ±1,4
M_{Tetr} [g/mol]	1234	1443	1706	934	1816	1598	1095	1794

Tabelle 47: Aktivierte partielle Thromboplastinzeiten (APTT), Thrombinzeiten (TT) und Tetramermolmassen (M_{Tetr}) verschiedener Polymere

	P33	P34	P35	P37	P39	P41	P43	P45
c [µmol/l]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]
4,6	31,0 ±1,5	30,4 ±1,7	42,7 ±7,7	38,9 ±20,7	46,9 ±10,7	30,0 ±0,4	33,2 ±1,8	40,5 ±3,0
9,2	38,8 ±1,6	39,2 ±1,9	51,9 ±9,9	58,0 ±18,5	55,8 ±15,8	30,4 ±0,2	40,6 ±4,7	57,0 ±5,7
18,5	43,8 ±2,0	43,8 ±2,1	63,2 ±13,7	100,0 ±17,3	74,0 ±13,3	30,9 ±0,2	63,0 ±8,6	103,7 ±11,2
27,7	62,6 ±3,7	56,5 ±2,3	82,3 ±18,8	145,2 ±25,0	94,0 ±26,7	31,7 ±0,7	103,9 ±12,0	195,5 ±31,5
36,9	108,4 ±10,2	86,7 ±8,4	111,2 ±20,5	227,8 38,7	134,8 ±20,7	32,2 ±0,8	168,0 ±9,1	278,1 ±2,0
46,2	180,9 ±13,0	134,0 ±9,3	149,0 ±32,5	253,1 ±51,6	155,9 ±33,8	32,8 ±1,0	245,9 ±4,0	Ab-bruch
c [µmol/l]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]
4,6	19,3 ±1,0	18,8 ±0,9	17,8 ±1,7	17,9 ±1,2	18,8 ±2,1	16,1 ±0,9	20,9 ±1,1	19,9 ±1,3
9,2	20,0 ±1,1	19,0 ±1,3	19,1 ±1,4	21,4 ±1,7	22,0 ±2,2	16,7 ±1,1	25,3 ±2,0	24,2 ±3,2
18,5	24,7 ±2,5	21,6 ±1,7	26,4 ±3,9	40,4 ±4,1	29,0 ±4,9	17,7 ±0,7	42,8 ±5,3	39,4 ±4,6
27,7	29,3 ±1,5	25,7 ±0,7	37,9 ±4,1	52,4 ±4,3	35,9 ±5,9	18,9 ±0,6	62,9 ±3,5	54,6 ±22,3
36,9	33,5 ±4,3	33,9 ±1,2	47,6 ±1,3	56,4 ±5,6	44,1 ±4,1	19,7 ±0,2	87,9 ±6,8	104,9 ±9,3
46,2	43,2 ±1,7	42,7 ±2,1	51,6 ±1,8	51,1 ±5,1	43,4 ±4,6	21,0 ±1,0	117,5 ±0,8	145,7 ±12,0
M_{Tetr} [g/mol]	2084	1280	916	1203	1395	953	1187	1611

Tabelle 48: Aktivierte partielle Thromboplastinzeiten (APTT), Thrombinzeiten (TT) und Tetramermolmassen (M_{Tetr}) verschiedener Polymere

	P48	P51	P55	P57				
c [µmol/l]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]				
4,6	33,4 ±2,7	43,3 ±1,9	38,3 ±3,3	29,8 ±1,5				
9,2	35,5 ±2,6	52,8 ±1,9	42,2 ±4,1	37,9 ±1,6				
18,5	37,9 ±5,4	84,1 ±3,0	58,8 ±3,9	38,9 ±1,8				
27,7	38,3 ±6,7	157,3 ±12,8	81,5 ±10,2	47,1 ±2,4				
36,9	43,9 ±9,3	258,4 ±40,6	127,4 ±10,2	78,7 ±5,8				
46,2	47,0 ±8,9	Ab-bruch	167,0 ±24,7	109,5 ±9,2				
c [µmol/l]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]				
4,6	16,9 ±0,7	19,2 ±1,2	17,8 ±1,1	18,7 ±1,4				
9,2	17,4 ±1,4	19,7 ±1,2	17,9 ±1,8	18,9 ±1,2				
18,5	18,8 ±1,7	30,7 ±1,1	24,6 ±2,3	21,8 ±2,5				
27,7	19,2 ±2,8	45,1 ±5,3	30,5 ±3,7	24,7 ±0,7				
36,9	22,8 ±6,7	64,5 ±7,4	46,8 ±6,7	33,0 ±2,2				
46,2	26,0 ±4,4	93,9 ±6,3	48,3 ±9,1	40,1 ±0,7				
M_{Tetr} [g/mol]	1108	1525	1319	680				

Tabelle 49: Aktivierte partielle Thromboplastinzeiten (APTT), Thrombinzeiten (TT) und Tetramermolmassen (M_{Tetr}) verschiedener Polymere

	P46	P49	P52	P53	P56
c [µmol/l]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]	APTT [s]
0	30,3 (±3,2)	30,3 (±3,2)	30,3 (±3,2)	30,3 (±3,2)	30,3 (±3,2)
0,8	31,1 (±4,3)	31,8 (±5,5)	33,8 (±3,8)	30,6 (±4,8)	33,8 (±5,1)
1,4	33,7 (±4,4)	35,0 (±4,5)	37,2 (±3,4)	30,7 (±3,7)	37,0 (±5,5)
1,9	34,4 (±4,8)	36,7 (±3,5)	37,2 (±2,6)	31,7 (±3,7)	40,3 (±4,9)
2,5	36,1 (±4,6)	38,9 (±3,8)	39,9 (±2,6)	32,1 (±3,8)	40,9 (±4,7)
3,0	38,0 (±6,1)	40,8 (±3,8)	36,6 (±6,6)	33,1 (±3,8)	42,8 (±4,4)
3,6	38,8 (±5,9)	41,2 (±6,7)	38,2 (±5,1)	31,3 (±7,6)	43,3 (±6,0)
4,1	38,7 (±5,6)	43,3 (±6,2)	39,7 (±5,6)	34,2 (±5,6)	44,0 (±6,1)
5,5	41,7 (±6,0)	47,4 (±7,1)	41,4 (±5,4)	35,5 (±5,5)	48,5 (±7,0)
6,8	46,7 (±5,6)	51,5 (±6,7)	44,7 (±6,4)	37,4 (±5,3)	54,2 (±9,8)
c [µmol/l]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]	TT [s]
0	16,0 (±0,3)	16,0 (±0,3)	16,0 (±0,3)	16,0 (±0,3)	16,0 (±0,3)
0,8	17,4 (±1,4)	16,2 (±1,0)	16,6 (±0,4)	16,5 (±0,8)	16,8 (±1,5)
1,4	18,1 (±0,8)	17,2 (±0,9)	16,4 (±0,4)	16,0 (±0,3)	17,4 (±1,2)
1,9	18,6 (±0,9)	17,6 (±1,0)	16,4 (±0,3)	16,0 (±0,2)	17,7 (±1,1)
2,5	19,4 (±0,8)	17,8 (±1,4)	17,4 (±0,5)	16,1 (±0,2)	18,7 (±1,8)
3,0	20,5 (±0,8)	19,2 (±1,7)	17,7 (±0,5)	16,1 (±0,2)	19,5 (±1,7)
3,6	21,4 (±1,2)	20,4 (±2,1)	17,6 (±1,0)	16,1 (±0,8)	20,7 (±3,8)
4,1	21,3 (±0,7)	21,6 (±1,8)	18,0 (±1,1)	16,5 (±0,5)	20,8 (±3,4)
5,5	22,2 (±1,7)	27,5 (±5,1)	18,8 (±0,9)	16,2 (±0,5)	23,6 (±3,8)
6,8	24,9 (±1,5)	27,9 (±2,4)	18,8 (±3,5)	16,8 (±0,2)	26,2 (±5,1)
M_{Tetr} [g/mol]	1835	1776	1394	1875	1625

Tabelle 50: Aktivierte partielle Thromboplastinzeiten (APTT), Thrombinzeiten (TT) und Tetramermolmassen (M_{Tetr}) verschiedener Polymere

V. Literaturverzeichnis

[1] Joseph C Mc Auliffe & Ole Hindsgaul, *Chemistry & Industry* 3. März **1997**, *1*, 170

[2] Biomira Inc. (Nasdaq : BIOMF) (TSE, ME : BRA), Edmonton, AB, Canada, press release, 7. November 1996

[3] D. Platt, A. Raz, *J. Natl. Cancer Inst.* **1992**, *84*, 438

[4] K. J. Pienta, *Chemistry & Industry* **1995**, *87*, 348

[5] J. Ziegler, *J. Natl. Cancer Inst*. **1996**, *88*, 397

[6] J. M. Herbert, *Circulation Research* **1996**, *79*, 590

[7] J. A. Balfour, D. McTavish, *Drugs* **1993**, *46*, 1025

[8] P. J. Kingma, P. P. C. A. Menheere, J. P. Sels, A. C. Nieuwenhuijzen Kruseman, *Diabetes Care* **1992**, *15*, 478

[9] R. Smith, *Drugs Fut*. **1995**, *20*, 979

[10] D. Zopf, S. Roth, *Lancet* **1996**, *347*, 1017

[11] Neose Technologies, Inc. (Nasdaq : NTEC), Horsham, PA, US, press release, 21. November 1996

[12] S. Kondo, *J. Antibiot*. **1993**, *46*, 531

[13] M. A. Fischl, *J. Acquir. Immun. Defic. Syn.* **1994**, *7*, 139

[14] A. Keikawus, abstract Mo. B. 1121 from the „XI th international conference on AIDS“, Vancouver, 7 – 12 Juli 1996

[15] S. F. Egger, *Int. J. Immunopharmac*. **1996**, *18*, 113

[16] C. Harris, *Mol. Biother*. **1991**, *3*, 207

[17] T. J. Babineau, *Ann. Surg*. **1994**, *220*, 601

[18] Alpha-Beta Technology (Nasdaq : ABTI), Worchester, MA, US, press release, 16. September 1996

[19] E. Faught, *Neurology* **1996**, *46*, 1684

[20] J. S. Schneider, *Neurology* **1995**, *45*, 1149

[21] T. W. Barrowcliffe, E. A. Johnson, D. P. Thomas, Low molecular weight heparin, John Wiley & Sons, **1992**

[22] Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, 5. Auflage, **1993**, *8*, 414

[23] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, **1992**, Seite 1100, Kapitel 34, Lehrbuch, VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-6940 Weinheim

[24] J. Choay, J. C. Lormeau, M. Petitou, P. Sinay, J. Fareed, *J. Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1981**, *370*, 644

[25] J. Choay, M. Petitou, J. C. Lormeau, P. Sinay, B. Casu, G. Gatti, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *116*, 492

[26] M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, *Carbohydr. Res.* **1986**, *147*, 221

[27] L. Thunberg, G. Bäckström, U. Lindahl, *Carbohydr. Res.* **1982**, *100*, 393

[28] P. Sinay, J.-C. Jacquinet, M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, G. Torri, *Carbohydr. Res.* **1984**, *132*, C5-C9

[29] C. A. A. van Boeckel, T. Beetz, J. N. Vos, A. J. M. de Jong, S. F. van Aelst, R. H. van der Bosch, J. M. R. Mertens, F. A. van der Vlugt, *J. Carbohydr. Chem.* 1985**, *4*, 293**

[30] Y. Ichikawa, R. Monden, H. Kuzuhara, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 611

[31] P. Sinay, *Nature* **1999**, *398*, 377

[32] M. Verstraete, *Drugs* **1990**, *40*, 498

[33] C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1741

[34] P. Westerduin, J. E. M. Basten, M. A. Broekhoven, V. de Kimpe, W. H. A. Kuijpers, C. A. A. van Boeckel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 339

[35] M. Petitou, P. Duchaussoy, P. A. Driguez, G. Jaurand, J. P. Herault, J. C. Lormeau, C. A. A. van Boeckel, J. M. Herbert, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3186

[36] M. Petitou, J. P. Herault, A. Bernat, P. A. Driguez, P. Duchaussoy, J. C. Lormeau, J. M. Herbert, *Nature* **1999**, *398*, 417

[37] P.-S. Lei, P. Duchaussoy, P. Sizun, J.-M. Mallet, M. Petitou, P. Sinay, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1998**, *6*, 1337

[38] M. Petitou, J.-P. Herault, J.-C. Lormeau, A. Helmboldt, J.-M. Mallet, P. Sinay, J.-M. Herbert, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1998**, *6*, 1509

[39] J. E. M. Basten, C. M. Dreef-Tromp, B. de Wijs, C. A. A. van Boeckel, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1998**, *8*, 1201

[40] C. M. Dreef-Tromp, J. E. M. Basten, M. A. Broekhoven, T. G. van Dinther, M. Petitou, C. A. A. van Boeckel, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1998**, *8*, 2081

[41] M. Petitou, P.-A. Driguez, P. Duchaussoy, J.-P. Herault, J.-C. Lormeau, J.-M. Herbert, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, 9, 1161

[42] M. Petitou, P. Duchaussoy, P.-A. Driguez, J.-P. Herault, J.-C. Lormeau, J.-M. Herbert, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, 9, 1155

[43] P. Bourhis, F. Machetto, P. Duchaussoy, J.-P. Herault, J.-M. Mallet, J.-M. Herbert, M. Petitou, P. Sinay, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, 7, 2843

[44] S. T. Olson, H. R. Halvorson, I. Björk, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 6342

[45] M. Maccarana, U. Lindahl, *Glycobiology* **1993**, *3*, 271

[46] O. Moen, E. Fosse, E. Dregelid, V. Brockmeier, C. Andersson, K. Hogasen, P. Venge, T. E. Mollness, P. Kierulf, *Ann. Thorac. Surg*. **1996**, *62*, 1134

[47] C. Nojiri, T. Kido, T. Sugiyama, K. Horiuchi, T. Kijima, K. Hagiwara, E. Kuribayashi, A. Nogawa, K. Ogiwara, T. Akutsu, *ASAIO Journal* **1996**, *42*, M468 – M475

[48] T. Nakajima, S. Osawa, M. Ogawa, T. Sasaki, H. Izumoto, Y. Yagi, K. Kawazoe, *ASAIO Journal* **1996**, *42*, 301

[49] L. K. von Segesser, B. M. Weiss, M. Pasic, E. Garcia, M. I. Turina, *Ann. Thorac. Surg*. **1994**, *58*, 391

[50] E. Ovrum, E. A. Holen, G. Tangen, F. Brosstad, M. Abdelnoor, M.-A. L. Ringdal, R. Oystese, R. Istad, *Ann. Thorac. Surg*. **1995**, *60*, 365

[51] W. R. Wagner, P. C. Johnson, K. A. Thompson, G. C. Marrone, *Ann. Thorac. Surg*. **1994**, *58*, 734

[52] E. Ovrum, F. Brosstad, E. A. Holen, G. Tangen, M. Abdelnoor, *Circulation* **1995**, *92*, 2579

[53] V. L. Gott, J. D. Whiffen, R. C. Dutton, *Science* **1963**, *142*, 1297

[54] V. L. Gott, J. D. Whiffen, *J. Surg. Res*. **1965**, *5*, 51

[55] J. D. Whiffen, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs* **1966**, *12*, 164

[56] W. Regelson, *J. Polym. Sci*. **1979**, *66*, 483

[57] G. A. Grode, R. D. Falb, J. P. Crowley,
J. Biomed. Mater. Res., Symp. **1972**, *3*, 77

[58] L. S. Hersh, H. H. Weetall, J. W. Brown,
J. Biomed. Mater. Res., Symp. **1971**, *1*, 99

[59] R. I. Leininger, J. P. Crowley, R. D. Falb, G. A. Grode,
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs **1972**, *18*, 312

[60] R. I. Leininger, C. W. Cooper, M. M. Epstein, R. D. Falb, G. A. Grode,
Science **1966**, *152*, 1625

[61] B. D. Halpern, R. Shibakawa,
Interac. Liquid at solid substr. **1968**, *87*, 197

[62] M. V. Sefton, E. W. Merril, *J. Biomed. Mater. Res*. **1976**, *10*, 33

[63] D. Labarre, M. C. Boffa, M. Jozefowicz,
J. Polym. Sci. Symp. **1974**, *47*, 131

[64] D. Labarre, M. Jozefowicz, M. C. Boffa,
J. Biomed. Mater. Res. **1977**, *11*, 283

[65] C. H. Bamford, K. G. Al-Lamee, *Polymer* **1994**, *35*, 2844

[66] K. D. Park, T. Okano, C. Nojiri, S. W. Kim,
J. Biomed. Mater. Res. **1988**, *22*, 977

[67] N. S. Gunay, R. J. Linhardt, *Planta Medica* **1999**, *65*, 301

[68] S. Tokura, K. Itoyama, N. Nishi, S.-I. Nishimura, I. Saiki, I. Azuma,
Pure Appl. Chem. **1994**, *31*, 1701

[69] I. B. Cushing, R. V. Davis, E. J. Kratovil, W. MaccorQuodale,
J. Am. Chem. Soc. **1954**, *76*, 4590

[70] M. L. Wolfrom, T. M. Shen Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *81*, 1764

[71] R. L. Whistler, M. Kosic, *Arch. Biochem. Biophys.* **1971**, *14*, 106

[72] D. Horton, E. K. Just, *Carbohydr. Res.* **1973**, *29*, 173

[73] R. A. A. Muzzarelli, M. Piani, *Carbohydr. Res.* **1984**, *126*, 225

[74] S. Hirano, M. Tanaka, M. Hasegawa, K. Tobetto, A. Nishioka,
Carbohydr. Res. **1985**, *137*, 205

[75] A. Magnani, A. Albanese, S. Lamponi, R. Barbucci,
Thrombosis Research, **1996**, *81*, 383-395

[76] R. Barbucci, A. Magnani, S. Lamponi, M. Casolaro, *Macromol. Symp.* **1996**, *105*, 1

[77] J. E. Lovelock, J. S. Porterfield, *Nature* **1951**, *167*, 39

[78] C. Fougnot, J. Jozefonvicz, L. Bara, M. Samama, *Annals of Biomedical Engineering* **1979**, *7*, 429

[79] C. Fougnot, M. Jozefowicz, L. Bara, M. Samama, *Annals of Biomedical Engineering* **1979**, *7*, 441

[80] C. Fougnot, M. Jozefowicz, R. D. Rosenberg, *Biomaterials* **1984**, *5*, 89

[81] S. Bellmann, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1997**

[82] G. Wulff, S. Bellmann, H. Schmidt, L. Zhu, *Polym. Preprints* **1998**, *39*, 124

[83] A. Lendlein, *Chemie in unserer Zeit* **1999**, *5*, 279

[84] J. R. Turvey, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1965**, *62*, 549

[85] B. Casu, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1985**, *43*, 51

[86] K. Takiura, H. Yuki, S. Honda, Y. Kojima, L.-Y. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, *18(3)*, 429

[87] S. Vogt, T. Heinze, K. Röttig, D. Klemm, *Carbohydr. Res.* **1995**, *266*, 315

[88] G. C. Coleman, A. Holt, *Chemistry and Industry* **1962**, 364

[89] S. Langston, B. Bernet, A. Vasella, *Helvet. Chim. Acta* **1994**, *77*, 2341

[90] E. G. V. Percival, T. H. Soutar, *J. Am. Chem. Soc*. **1940**, 1475

[91] E. G. V. Percival, *J. Chem. Soc*. **1945**, 119

[92] K. Hatanaka, T. Yoshida, S. Miyahara, T. Sato, F. Ono, T. Uryu, H. Kuzuhara, *J. Med. Chem*. **1987**, *30*, 810

[93] A. G. Lloyd, *Biochem. J*. **1962**, *83*, 455

[94] R. L. Whistler, W.W. Spencer, J. N. BeMiller, *Methods Carbohydr. Chem*. **1963**, *2*, 298

[95] C. Bartolucci, L.Cellai, M. A. Iannelli, D. Lamba, L. Liverani, G. Mascellani, E. Perola, *Carbohydr. Res*. **1995**, *276*, 401

[96] R. L. Whistler, W. W. Spencer, *Methods Carbohydr. Chem*. **1964**, *4*, 297

[97] B. Casu, G. Grazioli, N. Razi, M. Guerrini, A. Naggi, G. Torri, P. Oreste, F. Tursi, G. Zoppetti, U. Lindahl, *Carbohydr. Res*. **1994**, *263*, 271

[98] Y. Suda, K. Bird, T. Shiyama, S. Koshida, D. Marques, K. Fukase, M. Sobel, S. Kusumoto, *Tetrahedr, Lett*. **1996**, *37(7)*, 1053

[99] R. N. Rej, K. G. Ludwig-Baxter, A. S. Perlin, *Carbohydr. Res*. **1991**, *210*, 299

[100] A. Rashid, W. Mackie, I. J. Colquhoun, D. Lamba, *Can. J. Chem*. **1990**, *68*, 1122

[101] R. A. Field, A. Otter, W. Fu, O. Hindsgaul, *Carbohydr. Res*. **1995**, *276*, 347

[102] Z. Liu, A. S. Perlin, *Carbohydr. Res*. **1992**, *236*, 121

[103] I. G. Leder, *J. Carbohydr. Chem*. **1993**, *12(1)*, 95

[104] R. R. Contreras, J. P. Kamerling, J. Breg, J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res*. **1988**, *179*, 411

[105] R. B. Duff, *J. Chem. Soc*. **1949**, 1597

[106] K. B. Guiseley, P. M. Ruoff, *J. Org. Chem*. **1961**, *26*, 1248

[107] D. T. Warner, L. L. Coleman, *J. Org. Chem*. **1958**, *23*, 1133

[108] P. J. Archbald, M. D. Fenn, A. B. Roy, *Carbohydr. Res*. **1981**, *93*, 177

[109] S. Peat, J. R. Turvey, M. J. Claney, T. P. Williams, *J. Chem. Soc*. **1960**, 4761

[110] R. Barbucci, A. Magnani, S. Lamponi, M. Casolaro, *Macromol. Symp*. **1996**, *105*, 1

[111] K. Katsuraya, N. Ikushima, N. Takahashi, T. Shoji, H. Nakashima, N. Yamamoto, T. Yoshida, T. Uryu, *Carbohydr. Res*. **1994**, *260*, 51

[112] T. Yoshida, Y. Yasuda, T. Mimura, Y. Kaneko, H. Nakashima, N. Yamamoto, T. Uryu, *Carbohydr. Res*. **1995**, *276*, 425

[113] B. Casu, G. Grazioli, N. Razi, M. Guerrini, A. Naggi, G. Torri, P. Oreste, F. Tursi, G. Zoppetti, U. Lindahl, *Carbohydr. Res*. **1994**, *263*, 271

[114] C. R. Schmid, J. D. Bryant, M. Dowlatzedah, J. L. Phillips, D. E. Prather, R. D. Schantz, N. L. Sear, C. S. Vianco, *J. Org. Chem*. **1991**, *56*, 4056

[115] J. Schmid, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1993**

[116] H. Diederichs, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1996**

[117] G. Wulff, H. Diederichs, *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, *199*, 141

[118] G. J. F. Chittenden, H. R. Regeling, E. Rouville, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, *106*, 461

[119] D. Y. Jackson, *Synth. Commun*. **1988**, *18*, 337

[120] A. Brock, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1998**

[121] T. P. Venhoff, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1993**

[122] J. Vit, B. Casensky, M. Mamula: U.S. 3,829,449, Aug. 13, **1974**

[123] J. Vit: U.S. 3,758,620, Nov. 6, **1969**

[124] A. J. Mancuso, S.-L. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem*. **1978**, *43*, 2480

[125] A. J. Mancuso, D. S. Brownfain, D. Swern, *J. Org. Chem*. **1979**, *44*, 4148

[126] A. J. Mancuso, D. Swern, *Synthesis* **1981**, 165

[127] R. Broos, D. Tavernier, M. Anteunis, *J. Chem. Educ.* **1978**, *55*, 813

[128] K. Dörner, *Klinische Chemie und Hämatologie* **1999**, S. 325, Kap. 9.4. 3. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart

[129] E. Holmer, K. Kurachi, G. Söderström, *Biocehem. J*. **1981**, *193*, 395

[130] S. Alban, G. Franz, *Pure & Appl. Chem*. **1994**, *66*, 2403

[131] J. R. Leebrick, H. E. Ramsden, *J. Org. Chem*. **1958**, *23*, 935

[132] C. G. Overberger, J. H. Saunders, *Org. Synth. Coll*. **1955**, Vol. III, 204

[133] G. Wulff, J. Schmid, T.P. Venhoff, *Macromol. Chem. Phys*. **1996**, *197*, 1285

[134] P. P. Singh, M. M. Gharia, F. Dasgupta, H. C. Srivastava, *Tetrahedr. Lett*. **1977**, *5*, 439

[135] P. Girard, H. Kagan, S. David, *Tetrahedron* **1971**, *27*, 5911

[136] D. Y. Xe, Z. J. Li, Y. Q. Liu, D. X. Qiu, M. S. Cai, *Synth. Commun*. **1992**, *22*, 2653

[137] D. Horton, R. E. Arrick, C. D. Baker, *Carbohydr. Res*. **1973**, *26*, 441

[138] G. Koßmehl, J. Volkheimer, *Liebigs Ann. Chem*. **1989**, 1127

[139] T. Maeda, K. Tori, S. Satoh, K. Tokuyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn*. **1969**, *42*, 2635

[140] R. W. Lowe, W. A. Szarek, J. K. N. Jones, *Carbohydr. Res*. **1973**, *28*, 281