

Cellulose-Modellverbindungen: Darstellung und Interaktion mit Boronsäuren



Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplom-Chemiker Marcel Meiland
geboren am 03. Januar 1983 in Eisenach

Gutachter: 1. Prof. Dr. Thomas Heinze, Friedrich-Schiller-Universität Jena
2. Prof. Dr. Alexander Schiller, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 21. Dezember 2011

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	VI
Probenbezeichnungen	VIII
1 Einleitung	1
2 Allgemeiner Teil	3
2.1 Vorkommen und Gewinnung von Cellulose	3
2.2 Struktur und Eigenschaften der Cellulose	4
2.3 Abbau der Cellulose	5
2.3.1 Mikrokristalline Cellulose	7
2.3.2 Cellodextrine	9
2.4 Chemische Modifizierung der reduzierenden Endgruppe von Cellulose	12
2.4.1 Umsetzungen an Cellodextrinen	13
2.4.2 Endgruppenmodifizierung an Cellulose und Cellulosederivaten	14
2.5 Wechselwirkungen von Bor- und Boronsäure mit Kohlenhydraten	16
2.5.1 Monosaccharide	16
2.5.2 Cellulose	19
3 Spezieller Teil	21
3.1 Niedermolekulare Cellulosen	21
3.1.1 Abbauntersuchungen	22
3.1.1.1 Homogener Abbau	22
3.1.1.2 Heterogener Abbau	26
3.1.2 Fraktionierung	27
3.1.3 Strukturcharakterisierung	32
3.2 Alkyl- β -D-celluloside	37
3.2.1 Monodisperse Verbindungen	37
3.2.1.1 Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D-cellobiosid	37
3.2.1.2 Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D-cellobiosid	38
3.2.2 Verbindungen mit definierter Kettenlänge	40
3.2.2.1 Synthese und Charakterisierung von 2,2,2-Trichloroethyl- β -D- ²⁵ cellulosid	41

3.2.2.2	Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D- ⁵ cellulosid	48
3.2.2.3	Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D- ¹⁰ cellulosid	53
3.3	Vergleich der NMR-Daten von Cellulose-Modellverbindungen	58
3.4	Boronsäureinteraktion mit Cellulose-Modellen	61
3.4.1	Methyl- α -D-glucopyranosid.....	61
3.4.1.1	Massenspektrometrische Untersuchungen	61
3.4.1.2	Synthese und NMR-Charakterisierung.....	62
3.4.1.3	Studien zur Hydrolysestabilität	68
3.4.2	Methyl- β -D-cellobiosid.....	70
3.3.3.1	Massenspektrometrische Studien	70
3.3.3.2	Synthese und NMR-Charakterisierung.....	74
3.4.3	Cellodextrine	82
3.4.4	Alkyl- β -D-celluloside	83
3.4.4.1	MALDI-TOF-MS-Studien	84
3.4.4.2	NMR-Charakterisierung	86
3.5	Borsäureinteraktion in alkalischer Lösung.....	93
4	Experimenteller Teil	96
4.1	Ausgangsmaterialien	96
4.2	Messmethoden.....	96
4.3	Synthesvorschriften	99
4.3.1	Abbau von Cellulose unter Erhalt der reduzierenden Endgruppe	99
4.3.1.1	Cellodextrine	99
4.3.1.2	Homogener Abbau.....	99
4.3.1.3	Heterogener Abbau.....	100
4.3.1.4	Fraktionierungen von niedermolekularer Cellulose	101
4.3.2	Synthese von Alkyl- β -D-cellulosiden.....	101
4.3.2.1	Methyl- β -D-cellobiosid.....	101
4.3.2.2	Methyl- β -D-celotriosid	102
4.3.2.3	2,2,2-Trichloroethyl- β -D- ²⁵ cellulosid	104
4.3.2.4	Methyl- β -D- ⁵ cellulosid	106
4.3.2.5	Methyl- β -D- ¹⁰ cellulosid	108
4.3.3	Umsetzungen der Cellulose-Modellverbindungen mit Phenylboronsäure	110
4.3.3.1	Methyl- α -D-glucopyranosid.....	110

4.3.3.2 Methyl- β -D-cellobiosid.....	112
4.3.3.3 Cellodextrine	113
4.3.3.4 Alkyl- β -D-cellulose	113
4.3.3.5 Massenspektrometrische Untersuchungen	114
4.3.4 Lösen von Cellulose in wässriger NaOH-Lösung	115
5 Zusammenfassung	116
Literaturverzeichnis	X
Danksagung	XVIII
Lebenslauf	XIX
Publikationsliste	XX
Selbstständigkeitserklärung	XXI

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	-	Abbildung
AcBr	-	Acetylbromid
AcOH	-	Eisessig
Ac ₂ O	-	Acetanhydrid
AGE	-	Anhydroglucoseeinheit
BMIMCl	-	1-Butyl-3-methylimidazoliumchlorid
CI	-	chemische Ionisation
clb	-	Cellobiosid
cld	-	Cellulosid
clt	-	Cellotriosid
CIS	-	„coordination induced shifts“ - Verschiebungswertdifferenzen
CM	-	Cellulose-Modellverbindung
CMB	-	Cellulose-Modellverbindung umgesetzt mit Phenylboronsäure
CTA	-	Cellulosetriacetat
DCM	-	Dichlormethan
DEPT	-	„distortionless enhancement by polarization transfer“
DHB	-	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DMA	-	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
DMF	-	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	-	Dimethylsulfoxid
DOSY	-	„diffusion ordered spectroscopy“
DP	-	durchschnittlicher Polymerisationsgrad
DP _n	-	zahlenmittlerer durchschnittlicher Polymerisationsgrad
DP _w	-	gewichtsmittlerer durchschnittlicher Polymerisationsgrad
DS	-	durchschnittlicher Substitutionsgrad
EI	-	Elektronenstoß-Ionisation
ESI	-	Elektrospray-Ionisation
EXSY	-	„exchange spectroscopy“
FAB	-	„fast atom bombardment“
FTIR	-	Fourier-Transform-Infrarot
glcp	-	Glucopyranosid
HMBC	-	„heteronuclear multiple bond coherence“

HSQC	-	„heteronuclear single quantum coherence“
K_S	-	Säurekonstante der Boronsäure
$K_{S'}$	-	Säurekonstante Diol-Boronsäure-Komplexes
$K_{\text{tet.}}$	-	Bildungskonstante des geladenen Diol-Boronat-Komplexes
$K_{\text{trig.}}$	-	Bildungskonstante des Diol-Boronsäure-Komplexes
<i>lmw</i>	-	niedermolekular („low molecular weight“)
LODP	-	„level-off degree of polymerization“
MALDI-TOF	-	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation mit Flugzeitanalyse
MCC	-	mikrokristalline Cellulose
MeOH	-	Methanol
MS	-	Massenspektrometrie, (-spektrum)
<i>m/z</i>	-	Masse-Ladungsverhältnis
NMR	-	Nuklearmagnetresonanz
NOESY	-	„nuclear Overhauser enhancement spectroscopy“
nREG	-	nicht-reduzierende Endgruppe
PBA	-	Phenylboronsäure
PDI	-	Polydispersitätsindex
pH-Wert	-	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
pK_S -Wert	-	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante
PMMA	-	Polymethylmethacrylat
ppm	-	„parts per million“
PS	-	Polystyren
Pun	-	Pullulan
REG	-	reduzierende Endgruppe
RT	-	Raumtemperatur
SEC	-	Größenausschlusschromatographie, (-gramm)
Tab.	-	Tabelle
TCE	-	2,2,2-Trichlorethanol
TBAF	-	Tetrabutylammoniumfluorid Trihydrat
TOCSY	-	„total correlation spectroscopy“
TPB	-	Triphenylboroxin
WAXS	-	Röntgenweitwinkelstreuung

Probenbezeichnungen

CM-1	-	niedermolekulare Cellulose ($DP_w = 36$)
CM-2	-	niedermolekulare Cellulose ($DP_w = 24$)
CM-3	-	niedermolekulare Cellulose ($DP_w = 111$)
CM-3_x	-	x-te Fraktion der niedermolekularen Cellulose CM-3
CM-4	-	niedermolekulare Cellulose ($DP_w = 72$)
CM-4_x	-	x-te Fraktion der niedermolekularen Cellulose CM-4
CM-5	-	niedermolekulare Cellulose ($DP_w = 35$)
CM-5_x	-	x-te Fraktion der niedermolekularen Cellulose CM-5
CM-6	-	Cellodextrine ($DP_w = 7$)
CM-6a	-	Cellodextrine ($DP_w = 5$)
CM-7	-	Cellodextrine ($DP_w = 20$)
CM-7a	-	Cellodextrine ($DP_w = 12$)
CM-8	-	niedermolekulare Cellulose ($DP_w = 51$)
CM-8_x	-	x-te Fraktion der niedermolekularen Cellulose CM-8
CM-9	-	Methyl- α -D-glucopyranosid (Me- α -D-glcp)
CM-10	-	Methyl- β -D-cellobiosid (Me- β -D-clb)
CM-11	-	Methyl- β -D-celotriosid (Me- β -D-clt)
CM-12	-	2,2,2-Trichloroethyl- β -D- ²⁵ cellulosid (TCE- β -D- ²⁵ cld)
CM-12.ac	-	2,2,2-Trichloroethyl-tri-O-acetyl- β -D- ²⁵ cellulosid
CM-13	-	Methyl- β -D- ⁵ cellulosid (Me- β -D- ⁵ cld)
CM-13_x	-	x-te Fraktion des Methyl- β -D- ⁵ cellulosid CM-13
CM-13.ac	-	Methyl-tri-O-acetyl- β -D- ⁵ cellulosid
CM-13.v1	-	Cellodextrin-peracetat
CM-13.v2	-	Tri-O-acetyl- α -D- ⁵ cellulosylbromid
CM-14	-	Methyl- β -D- ¹⁰ cellulosid (Me- β -D- ¹⁰ cld)
CM-14.ac	-	Methyl-tri-O-acetyl- β -D- ¹⁰ cellulosid
CM-14.v1	-	niedermolekulare Tri-O-acetyl-cellulose ($DP_w = 69$)
CM-14.v2	-	Tri-O-acetyl- α -D- ¹⁰ cellulosylbromid

CMB-1	-	Methyl-4,6- <i>O</i> -phenylboronat- α -D-glucopyranosid (Me- ^{4,6} (PhB)- α -D-glcp)
CMB-2	-	Methyl-2,3- <i>O</i> -(diphenylpyroboronat)-4,6- <i>O</i> -phenylboronat- α -D-glucopyranosid (Me- ^{2,3} (PhB) ₂ - ^{4,6} (PhB)- α -D-glcp)
CMB-3	-	Methyl-4,6- <i>O</i> -benzyliden-2,3- <i>O</i> -(diphenylpyroboronat)- α -D-glucopyranosid (Me- ^{4,6} (Bz)- ^{2,3} (PhB) ₂ - α -D-glcp)
CMB-4	-	Methyl-4',6'- <i>O</i> -phenylboronat- β -D-cellobiosid (Me- ^{4',6'} (PhB)- β -D-clb)
CMB-5a	-	Methyl-2,3- <i>O</i> -(diphenylpyroboronat)-2',3'- <i>O</i> -(diphenylpyroboronat)-4',6'- <i>O</i> -phenylboronat- β -D-cellobiosid (Me- ^{2,3} (PhB) ₂ - ^{2',3'} (PhB) ₂ - ^{4',6'} (PhB)- β -D-clb)
CMB-5b	-	Dimer von CMB-5a
CMB-6	-	Cellodextrin-phenylboronat (AGE:PBA 1:0,5)
CMB-7_x	-	2,2,2-Trichloroethyl- <i>O</i> -phenylboronat- β -D- ²⁵ cellulosid (unterschiedliche molare Verhältnisse AGE:PBA)
CMB-8_x	-	Methyl- <i>O</i> -phenylboronat- β -D- ¹⁰ cellulosid (unterschiedliche molare Verhältnisse AGE:PBA)
CMB-9	-	Methyl- <i>O</i> -phenylboronat- β -D-celлотriosid (AGE:PBA 1:0,93)
CMB-10	-	Methyl- <i>O</i> -phenylboronat- β -D- ⁵ cellulosid (AGE:PBA 1:0,53)

1 Einleitung

Selektive, effiziente und komplexe Modifizierungsschritte am Biopolymer Cellulose sind häufig nur nach definierter Aktivierung oder einem gezielten Lösen vor der Umsetzung möglich. Daher steht neben der Entwicklung neuartiger Medien zum Lösen von Cellulose das Verständnis der Prozesse, welche beim Auflösen des Polysaccharids in herkömmlichen Lösungsmitteln stattfinden, und der Strukturen, die zur intermediären Aktivierung der Hydroxylgruppen des Biopolymers führen, im Fokus der Forschung. So werden bei industriellen Verfahren zur Hydroxyalkylierung (Majewicz und Ropp 1980) und Carboxymethylierung (Majewicz 1981) von Zellstoff zur Gewinnung von wasserlöslichen Cellulosederivaten Borsäure und Borate eingesetzt. Obwohl bekannt ist, dass Produkte, die in Gegenwart von Borsäure und ihrer Derivate synthetisiert werden, klar wasserlöslich sind, gibt es kein detailliertes Verständnis zum Aktivierungsprozess und den gebildeten Intermediaten. Eine Untersuchung der Wechselwirkungen von Borsäure mit den OH-Gruppen des hochmolekularen Zellstoffs ist direkt im Gemisch aus wässriger NaOH-Lösung und Alkohol nicht möglich. Somit kann die Aktivierung mit borhaltigen Verbindungen nicht für den Prozess maßgeschneidert werden.

Im Gegensatz dazu wurden die Interaktionen der Borsäure mit den Hydroxylgruppen von Einfachzuckern bereits früh detailliert untersucht und zur Konfigurationsanalyse der Monosaccharide ausgenutzt (Böeseken 1949). Erste qualitative Studien zur Wechselwirkung wasserlöslicher Polysaccharide mit Borsäure bzw. ihrer Salze gehen auf Deuel et al. (1948) zurück (Abbildung 1.1 links). Dabei zitierten die Autoren das amtliche

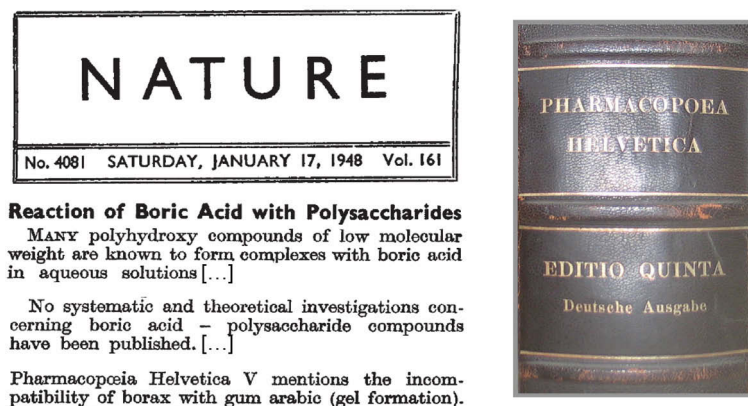


Abb. 1.1. Zeitschriftenausschnitt (links) zur „Reaktion von Borsäure mit Polysacchariden“ (Deuel et al. 1948) und Buchrücken des amtlichen Arzneibuchs „*Pharmacopoea Helvetica V*“ (rechts).

Arzneibuch „*Pharmacopoea Helvetica V*“ von 1933 (Abbildung 1.1 rechts), in dem mit der Anmerkung zur Gelbildung von natürlich vorkommendem „*Gummi arabicum*“ mit Borax erstmalig die Wechselwirkung von Borsäurederivaten mit Polysacchariden erwähnt wurde. Die beschriebenen Strukturen beschränken sich jedoch nur auf Umsetzungen der *cis*-Diol-Einheiten. Im Fall der Cellulose liegt eine *cis*-Stellung benachbarter OH-Gruppen nicht vor. Eine umfassende spektroskopische Charakterisierung der möglichen Interaktionen an Cellulose-Modellverbindungen, die Anhaltspunkte auf die intermediäre Aktivierung der Hydroxylgruppen des Polysaccharids liefern könnten, ist bisher nicht bekannt.

Ziel der Arbeit ist es daher einen grundlegenden Beitrag zum Verständnis der Borsäureinteraktion mit Cellulose zu leisten. Dazu werden auf der einen Seite sowohl reduzierende als auch nicht-reduzierende Cellulose-Modellverbindungen (CM) mit einem breiten Spektrum an durchschnittlichen Polymerisationsgraden (DP) dargestellt. Auf der anderen Seite soll die Wechselwirkung der Modellverbindungen mit Boronsäuren, die im Vergleich zu trivalenter Borsäure weniger zur Vernetzung von Celluloseketten neigen, Hinweise auf mögliche Übergangsstrukturen am Polymergerüst liefern. Eine Identifizierung von Intermediate erfolgt einerseits mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie. Andererseits sollen selektive und mehrdimensionale NMR-Untersuchungen das Vorkommen verschiedener Ringssysteme an den Glucoseeinheiten der Cellulose-Modelle belegen.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Vorkommen und Gewinnung von Cellulose

Der Begriff „*Cellulose*“ als Pflanzenbestandteil wurde erstmals 1839 in einem Bericht der Französischen Akademie (Brongniart et al. 1839) basierend auf den Arbeiten von Anselme Payen erwähnt. Cellulose ist mit einer Jahresproduktion von $1,5 \times 10^{12}$ Tonnen die mengenmäßig am häufigsten vorkommende organische Verbindung (Klemm et al. 2005) auf der Erde. In den Samenhaaren der Baumwollpflanze liegt das Polysaccharid in fast reiner Form vor. Jedoch kommt Cellulose hauptsächlich vergesellschaftet mit Lignin und anderen Polysacchariden (Hemicellulosen) als Strukturbildner in pflanzlichen Zellwänden vor. Neben den technisch bedeutsamen pflanzlichen Quellen können Algen wie „*Valonia*“ und Bakterien wie „*Acetobacter xylinum*“ Cellulose aus organischen Kohlenstoffquellen produzieren.

Um Zellstoffe („pulp“) aus Holz zu isolieren, müssen Begleitstoffe wie Hemicellulosen, Lignin und niedermolekulare Verbindungen durch unterschiedliche Aufschlussverfahren entfernt werden. Es wird zwischen Papierzellstoffen („paper grade pulp“) mit einem hohen Weißgrad und einer hohen mechanischen Festigkeit und Chemiezellstoffen („dissolving grade pulp“) mit einem Gehalt an α -Cellulose (cellulosischer Bestandteil unlöslich in 17,5 wt.-% NaOH-Lösung) größer als 90 % unterschieden. Der zur Umformung und Derivatisierung von Cellulose verwendete Chemiezellstoff kann zum einen nach dem sauren Sulfitverfahren (Gehalt an α -Cellulose etwa 90-92 %) erhalten werden. Eine weitere Variante beinhaltet eine saure Vorbehandlung der Holzteilchen und anschließend das alkalische Sulfatverfahren (Kraft-Aufschluss, Gehalt an α -Cellulose bis zu 96 %). Durch erneutes Behandeln im alkalischen Milieu kann der Gehalt an α -Cellulose auf 98 % erhöht werden (Sixta 2006).

Neben der Zellstoffgewinnung aus Holz sind verschiedene Einjahrespflanzen eine weitere Quelle für Cellulose. In diesem Zusammenhang ist Baumwolle mit einem Gehalt an Cellulose von 95 % der wichtigste Vertreter. Man unterscheidet beim Verarbeiten der Baumwollsamensamen zwischen der Spinnbaumwolle für die Textilindustrie, bestehend aus den langen Samenhaaren, und der Grundwolle („Linters“), die mechanisch vom Samen abgetrennt wird. Durch chemische Behandlung der Linters können Cellulosefasern erhalten werden, die neben einer hohen Kristallinität einen Gehalt an α -Cellulose von bis zu 99,7 % aufweisen (Temming et al. 1973).

2.2 Struktur und Eigenschaften der Cellulose

Unter Cellulose versteht man ein Kohlenhydrat, welches ausschließlich aus β -(1 \rightarrow 4)-glycosidisch verknüpften Anhydroglucoseeinheiten (AGE) besteht. Dabei nehmen diese Grundbausteine die energetisch günstige 4C_1 -Sesselkonformation ein (Rees und Skerrett 1968). Aufgrund der β -Verknüpfung liegt jede zweite AGE entlang der Molekülkette um 180° gedreht vor, sodass β -D-Cellobiose die Wiederholungseinheit von Cellulose darstellt (Abbildung 2.1). Die Molekülgröße der Cellulose wird mittels des durchschnittlichen Polymerisationsgrades (DP) angegeben.

Das unverzweigte Polysaccharid weist an jeder AGE drei reaktive Hydroxylgruppen auf, die als primäre (Position 6) und sekundäre Hydroxylgruppen (Position 2 und 3) unterschiedliches chemisches Verhalten zeigen. Da alle Substituenten äquatorial am Tetrahydropyran-Ring angeordnet sind, werden die sekundären Hydroxylgruppen auch als *trans*-1,2-Diol-Struktur bezeichnet. Zusätzlich befinden sich an der Cellulosekette sowohl eine reduzierende Endgruppe (REG) als auch eine nicht-reduzierende Endgruppe (nREG). Obwohl die REG vorwiegend in der cyclischen Halbacetalform vorliegt, zeigt sie die Eigenschaften eines Aldehyds. Demzufolge lässt sich die REG mit geeigneten Reagenzien selektiv umsetzen (Kasuya et al. 2002, Daus et al. 2010).

Die drei Hydroxylgruppen und der Ringsauerstoff der AGE, sowie der Sauerstoff der β -glycosidischen Verknüpfung ermöglichen die Ausbildung von intra- und intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Neben der Steifheit der Celluloseketten lässt sich damit die Unlöslichkeit des Polysaccharids in Wasser und üblichen organischen Lösemitteln erklären. Durch ein ausgeprägtes Netzwerk an intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen lagern sich die Celluloseketten zu sogenannten Elementarfibrillen zusammen. Nach dem Fransen-Fibrillar-Modell (Hearle 1958) aggregieren die Elementarfibrillen zu Mikrofibrillen, welche sich wiederum zu Makrofibrillen zusammenlagern und die Cellulosefasern formen. Das Modell beinhaltet weiterhin die Annahme, dass kristalline Bereiche in den Mikrofibrillen mit Bereichen niedrigerer Ordnung (amorph) verbunden sind. Außerdem beeinflusst diese

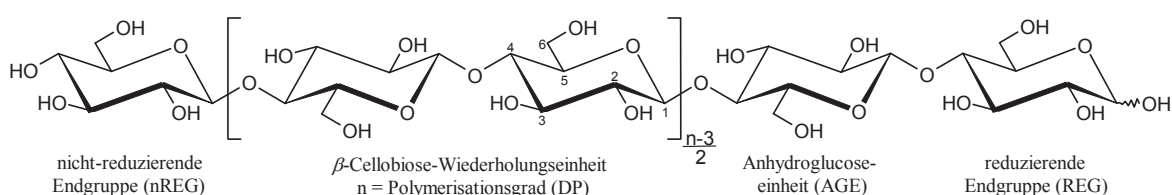


Abb. 2.1. Molekulare Struktur von Cellulose.

supramolekulare Struktur die Reaktivität des Polymers bei chemischen Umsetzungen. Eine kurzkettige Cellulose mit einem minimalen DP-Wert von 20-30 zeigt bereits dieses ausgeprägte Netzwerk an Wasserstoffbrückenbindungen und die daraus resultierenden Eigenschaften (Klemm et al. 2005).

2.3 Abbau der Cellulose

Cellulose kann man auf verschiedenen Wegen abbauen, z.B. chemisch, biochemisch, thermisch oder durch Strahlung. Bereits bei der Gewinnung von technisch wichtigen Cellulosen kommt es in Abhängigkeit vom Ursprung und der Behandlung der Rohstoffe zu einem Abbau der Makromoleküle. Wobei natürlich vorkommende Cellulosen DP-Werte bis zu 15000 besitzen, variiert die Anzahl der AGE bei kommerziell erhältlichen Cellulosen von 130 bis 3000 (Abbildung 2.2; Zhang und Lynd 2004, Klemm et al. 2005).

Aufgrund der supramolekularen Struktur der Cellulose lässt sich das Polysaccharid schwer hydrolysieren. Der Abbau verläuft dabei stufenweise unter Bildung folgender Zwischenstufen: mikrokristalline Cellulose (MCC), niedermolekulare Cellulose, Cellodextrine, Cellobiose und Glucose. Besonderes Cellodextrine, die Oligosaccharid-Analoga der Cellulose, finden Verwendung in diversen Bereichen der Grundlagenforschung (siehe Kapitel 2.3.2).

Der chemische Abbau von Cellulose kann sowohl mit Säuren als auch mit Basen durchgeführt werden. Im alkalischen Milieu kommt es dabei zu einer Quellung der Cellulosefasern und anschließend zu der sogenannten „Peeling-Reaktion“. Unter diesem Prozess versteht man den Abbau der Celluloseketten beginnend vom reduzierenden Ende.

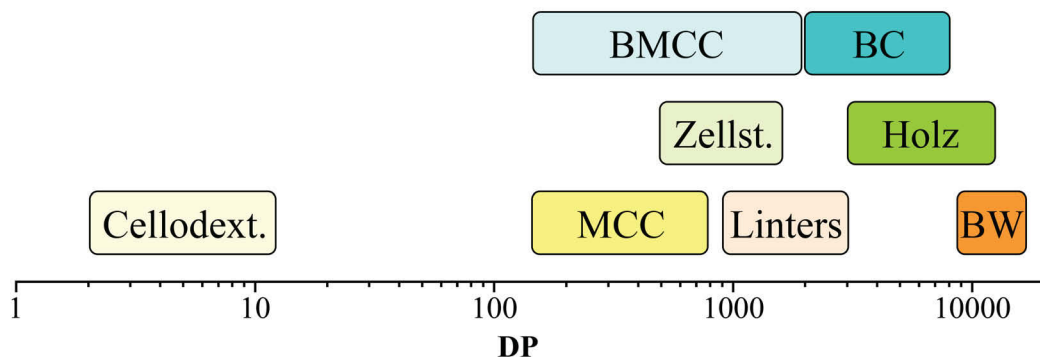


Abb. 2.2. Durchschnittlicher Polymerisationsgrad verschiedener Cellulosematerialien (BC: Bakteriencellulose, BMCC: Bakterien-Mikrokristalline Cellulose, MCC: Mikrokristalline Cellulose, BW: Baumwolle).

Im gequollenen Zustand werden dann auch die glycosidischen Verknüpfungen hydrolysiert (Knill und Kennedy 2003). In Gegenwart von Säuren ist es wichtig zwischen der heterogenen und der homogenen Hydrolyse zu unterscheiden. Studien zeigen, dass in verdünnten Säuren nur die amorphen Bereiche der Cellulose hydrolysiert werden. Man erhält nach diesem heterogenen Verfahren Abbauprodukte mit einer hohen Kristallinität aber kürzeren Celluloseketten (siehe Kapitel 2.3.1). Im Gegensatz dazu findet der Abbau in konzentrierten Säuren wie Phosphorsäure unter homogenen Bedingungen statt. Nach Quellen und Auflösen der Cellulose erfolgt die homogene Hydrolyse der glycosidischen Bindungen der Makromoleküle. Der Mechanismus der Hydrolyse kann als dreistufiger Prozess betrachtet werden (Abbildung 2.3). In einem ersten Schritt wird der glycosidische Sauerstoff rasch protoniert und anschließend durch Abspaltung eines Cellulose-Fragments (rot) ein Pyranosyl-Kation (blau) gebildet. An den Kohlenstoff in Position 1 addiert sich im nächsten Schritt ein Wassermolekül. Abschließend wird das zuvor eingeführte Proton durch heterolytische Spaltung regeneriert und das zweite Cellulose-Fragment mit neuer OH-Gruppe freigesetzt (Klemm et al. 1998).

Neben der chemischen Hydrolyse der Celluloseketten kann der Abbau auch enzymatisch erfolgen. Zum enzymatischen Kettenabbau werden bevorzugt wässrige Puffer-Systeme mit einem pH-Wert von 5 und Substratkonzentrationen zwischen 1 und 10 % verwendet.

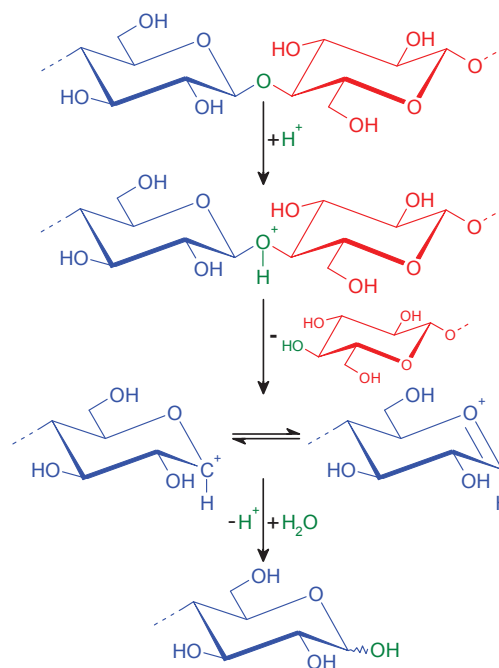


Abb. 2.3. Mechanismus der säure-katalysierten Hydrolyse von Cellulose.

Die Hauptbestandteile der celluloseabbauenden Enzyme (Cellulasen) sind Endoglucanasen, die das Polymer statistisch spalten, Exoglucanasen (Cellobiohydrolasen), welche Cellobiose-Einheiten vom Kettenende abspalten, und Glucosidasen, die Cellobiose schlussendlich in Glucose abbauen (Klemm et al. 1998).

2.3.1 Mikrokristalline Cellulose

Mikrokristalline Cellulose ist aufbereitete und teilweise abgebaute Cellulose. Bei dem Herstellungsverfahren wird Zellstoff kontrolliert mit verdünnten Mineralsäuren hydrolysiert (Reier 2000). Die Kommerzialisierung von MCC geht auf die „*American Viscose Corporation*“ (AVC) zurück, welche auch den Markennamen Avicel® einführte (Battista et al. 1961, Battista und Smith 1962).

Derzeit wird MCC hergestellt, indem Holzzellstoff in kleine Partikel geschnitten und anschließend unter Druck und Erwärmung in einem Reaktor mit Säure heterogen abgebaut wird. Wie in Abbildung 2.4 dargestellt, wird die Mischung filtriert und mit Wasser gewaschen. Im Hydrolyseprozess werden unlösliche anorganische Verbindungen (Hydroxide, Oxide und Sulfate) in lösliche Verbindungen umgewandelt und im Waschschrift entfernt. Abschließend wird die gereinigte und abgebaute Cellulose in Wasser suspendiert und durch ein Sprühtrocknungsverfahren in eine feinpulvrige Form überführt. Anwendung findet MCC neben der Verwendung als Ausgangsmaterial für Cellulosederivate sowohl in Forschungslaboratorien der pharmazeutischen Technologie als auch in der Kosmetik- und Lebensmittelindustrie.

Untersuchungen zur heterogenen Hydrolyse von nativen Zellstoffen mit verdünnten Mineralsäuren sind jedoch schon länger bekannt. Ein Verfahren, um die supramolekulare Struktur von Zellstoffen bzw. Cellulose-Regeneraten zu untersuchen, bediente sich ebenfalls eines solchen heterogenen Abbaus (Battista 1950, Battista et al. 1956). Wie bereits in Kapitel 2.2 beschrieben, bestehen Cellulose-Mikrofibrillen aus kristallinen sowie aus amorphen Bereichen. Durch die saure Hydrolyse der Cellulosesubstrate werden bevorzugt die Regionen mit niedrigerer Ordnung in lösliche Abbauprodukte überführt.

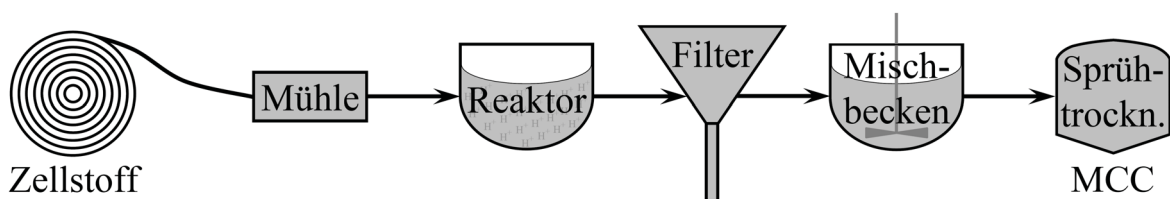


Abb. 2.4. Herstellungsverfahren von mikrokristalliner Cellulose (MCC; Reier 2000).

Die kristallinen Bereiche (Mikrokristallite) liegen folglich in der wässrigen Suspension voneinander getrennt vor und werden kaum von der Säure angegriffen. Der DP des unlöslichen Abbauprodukts fällt daher zunächst rasch ab und läuft dann einem Grenzwert entgegen. Dieser sogenannten „level-off degree of polymerization“ (LODP) variiert zwischen 170 und 500 Wiederholungseinheiten je nach eingesetztem Zellstoff (Håkansson und Ahlgren 2005) und ist nur in geringem Maße von den Hydrolysebedingungen abhängig. Der LODP ist dabei mit dem DP-Wert, der für MCC ermittelt werden kann, gleichzusetzen.

Schwefelsäure wird üblicherweise für die Herstellung von MCC verwendet. Jedoch steigt mit zunehmender Hydrolysezeit der Gehalt an negativ geladenen Sulfatgruppen auf der Oberfläche der Mikrokristallite (Dong et al. 1998). Aufgrund der Oberflächenladung ist es möglich Cellulose-Nanokristalle herzustellen, die nach Derivatisierung der an der Oberfläche befindlichen Hydroxylgruppen biologische Anwendung finden (Dong und Roman 2007). Um ungeladene MCC herzustellen, wird daher Salzsäure verwendet. Weiterhin korreliert die mittlere Kristallitlänge mit dem LODP, wenn man den Wert mit der Länge der Anhydroglucoseeinheit (0,51 nm) multipliziert. Jedoch liegen die entstehenden Mikrokristallite nur selten isoliert vor (Abbildung 2.5).

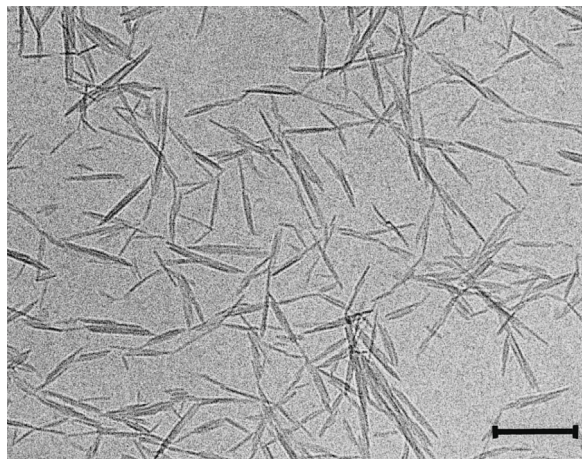


Abb. 2.5. Transmissionselektronische Aufnahme von mikrokristalliner Cellulose mit vorwiegend aggregierten Mikrokristalliten (Maßstab 200 nm; Dong et al. 1998).

2.3.2 Cellodextrine

Cellodextrine, die β -(1 \rightarrow 4)-verknüpften Oligomere der Cellulose, sind lösliche Substrate mit einem DP zwischen 2 und 12 (Zhang und Lynd 2005). Aufgrund der intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen nimmt die Wasserlöslichkeit der monodispersen Oligomere mit zunehmender Molmasse rasch ab und bei einem DP-Wert größer als 7 wird keine vollständige Löslichkeit mehr beobachtet (Tabelle 2.1; Huebner et al. 1978). Eine zumindest teilweise

Löslichkeit in heißem Wasser und Dimethylsulfoxid (DMSO) wird für polydisperse Cellooligosaccharide bis DP 13 beschrieben (Gagnaire et al. 1980, Zhang und Lynd 2004).

Cellodextrine treten als Zwischenstufen beim enzymatischen Abbau von Cellulose auf (siehe Kapitel 2.3) und werden daher direkt Cellulasen ausgesetzt, um den Mechanismus (Rouvinen et al. 1990) und die Kinetik (Hsu et al. 1980) der Hydrolyse zu untersuchen. Da Cellodextrine für den menschlichen Körper unverdaulich sind, ist ein pharmazeutischer Einsatz denkbar. Es wird beschrieben, dass sie den Cholesterinspiegel senken und sowohl Diabetes als auch Fettleibigkeit verhindern können (Wakabayashi et al. 1995). Jedoch verhindert der hohe Preis (Tabelle 2.1) eine breite Anwendung in den oben genannten Bereichen, auch wenn in vielen Fällen statt auf monodisperse Oligomere auf Mischungen zurückgegriffen werden könnte. Diese sind jedoch kommerziell nicht erhältlich.

Tab. 2.1. Eigenschaften (Huebner et al. 1978) und Preise (*Carbosynth Limited*) von monodispersen Cellodextrinen.

Verbindung	Molmasse [g·mol ⁻¹]	Schmelzpunkt [°C]	Löslichkeit ^a in H ₂ O [g·l ⁻¹]	Preis ^b [\$/mg]
Cellobiose	342,3	225	125-147	0,001
Cellotriose	504,4	206-209	<i>sehr gut</i>	8
Cellotetraose	666,6	252-253	78	15
Cellopentaose	828,7	266-268	4,8	18
Cellohexaose	990,9	275-278	10 ^c	40
Celloheptaose	1153,0	283-286	1 ^c	53

^a Raumtemperatur

^b Reinheit \geq 95 %

^c Erwärmung erforderlich

Obwohl die konvergente Synthese hin zu Cellooctose (Nishimura und Nakatsubo 1996) und der enzymatische Aufbau ausgehend von β -D-Cellobiosylfluorid hin zu Oligomeren (Kobayashi et al. 1991) möglich sind, dienen diese Darstellungsmöglichkeiten nur wissenschaftlichen Interessen, da sie keine ausreichenden Mengen an Produkten liefern können. Daher wird ausschließlich die saure Hydrolyse von Cellulose als Herstellungsverfahren angewendet. Die am meisten eingesetzte Methode ist der Abbau mit rauchender Salzsäure (Miller et al. 1960). Als ein alternatives Verfahren wird der Einsatz von verdünnter Schwefelsäure diskutiert (Voloch et al. 1984). Trotz der einfacheren Prozessführung stellen sich im Vergleich zum HCl-Abbau teils wesentlich niedrigere Ausbeuten ein (Zhang und Lynd 2004a). Cellodextrine sind überdies im Gramm-Maßstab durch die Hydrolyse von MCC mit einer Mischung aus konzentrierter Salzsäure und Schwefelsäure im Volumenverhältnis 80:20 zugänglich (Zhang und Lynd 2003).

Im Gegensatz zum HCl- und H₂SO₄-Abbau läuft die Hydrolyse mit Phosphorsäure mit einer vergleichbar kleinen Geschwindigkeit ab. Die Abhängigkeit des DP-Wertes der Cellulose gelöst in konzentrierter Phosphorsäure von der Hydrolysezeit und Temperatur wurde bereits früh intensiv erforscht (Martin und Pacsu 1956). Wird die Depolymerisation über mehrere Wochen bei Raumtemperatur durchgeführt, erhält man lösliche Cellodextrine in moderater Ausbeute (Isogai und Usada 1991). Durch Behandeln der Cellulose bei erhöhter Temperatur kann die Hydrolysezeit drastisch verkürzt und in einem sehr effizienten Verfahren können sehr gute Ausbeuten an polydispersen Cellodextrinen erhalten werden (Liebert et al. 2008).

Neben den vielfältigen Hydrolysevarianten gibt es auch Ansätze zur Trennung von polydispersen Cellodextrinmischungen. In einer Vergleichsstudie wurde herausgearbeitet, dass die Separation unter Verwendung von Cellulose als stationäre Phase die am wenigsten zeitaufwendige und kostengünstigste Methode zur Gewinnung von Cellotetra- und Cellopentaose im präparativen Maßstab ist (Akpınar und Penner 2008). Allerdings bleibt die Anwendung der Aktivkohle-Celite-Adsorptionschromatographie, trotz hohem Zeitaufwand von bis zu vier Tagen, die am häufigsten angewendete Methode zur Gewinnung von Cellodextrinen mit einem DP-Wert zwischen 3 und 7 im Gramm-Maßstab (Miller et al. 1960).

Die saure Hydrolyse (Acetolyse) von Cellulose in Gegenwart von Acetanhydrid ergab peracetylierte Cellooligosaccharide, was nach Deacetylierung der erstmaligen Darstellung von Cellodextrinen gleichkam (Dickey und Wolfrom 1949). Dieses Verfahren hin zu peracetylierten Oligomeren kann von Vorteil sein, wenn eine weitere chemische

Modifikation der Oligomere angestrebt wird. Andererseits ist eine konventionelle Säulenchromatographie (Silicagel) mit organischen Lösungsmitteln zur Isolierung der monodispersen Cellodextrin-peracetat im Labormaßstab realisierbar.

Um neben der Reinheit, welche durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ermittelt wird (Hicks et al. 1994), die Cellooligomerfraktionen strukturell zu untersuchen, findet die Massenspektrometrie (MS) und die Nuklearmagnetresonanzspektroskopie (NMR) Anwendung (Schmid et al. 1988). Als ausgezeichnete Methode zur Identifizierung der Zusammensetzung einer polydispersen Cellodextrinprobe und der Strukturcharakterisierung erweist sich die Anwendung eines Massenspektrometers mit Matrix-unterstützter Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) und Flugzeitanalyse (TOF). Die erhaltenen Ergebnisse stehen dabei im Einklang mit den Resultaten aus der Größenausschlusschromatographie (Liebert et al. 2008). Im Gegensatz dazu gibt die NMR-Spektroskopie Aufschluss über die Konformation der glycosidischen Bindung. Aufgrund der drastisch abnehmenden Löslichkeit (D_2O , $DMSO-d_6$) mit zunehmender Kettenlänge ist die Anwendung einer Mischung aus ionischer Flüssigkeit und $DMSO-d_6$ als NMR-Lösungsmittel vorteilhaft (Moulthrop et al. 2005). 1-Butyl-3-methylimidazoliumchlorid (BMIMCl) zeigt keine Interaktion mit dem Carbonyl-Kohlenstoff der REG (Liebert 2008) und ist somit sowohl für NMR-Untersuchungen mit Cellodextrinen als auch mit Cellulose geeignet (Abbildung 2.6).

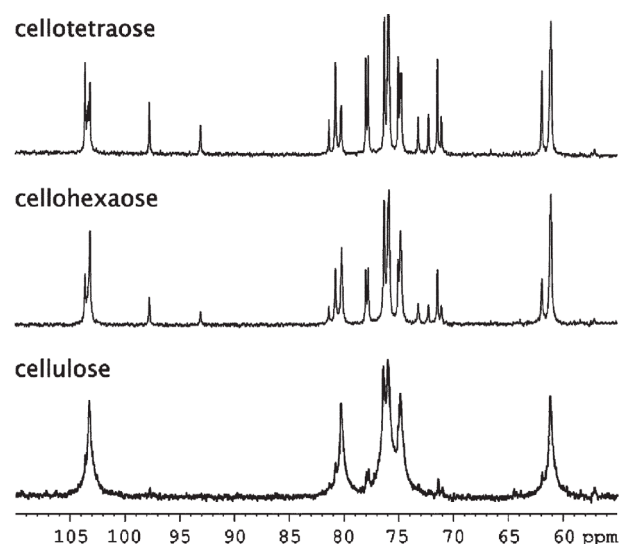


Abb. 2.6. ^{13}C -NMR Spektren von Cellodextrinen und Cellulose in BMIMCl/ $DMSO-d_6$ (Moulthrop et al. 2005).

2.4 Chemische Modifizierung der reduzierenden Endgruppe von Cellulose

Wie bereits in Kapitel 2.2 beschrieben, befindet sich an jeder Cellulosekette sowohl eine reduzierende (REG) als auch eine nicht-reduzierende Endgruppe (nREG) mit zwei Hydroxylgruppen zusätzlich zu den OH-Gruppen in Position 2, 3 und 6 der AGE (siehe Abbildung 2.1). Die zusätzliche Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 4 der nREG unterscheidet sich in ihrer Reaktivität kaum von der Reaktivität der anderen sekundären Hydroxylgruppen. Daher ist eine selektive Blockierung dieser OH-Gruppe im Fall von Cellobiose (Mackie et al. 2002) und Cellotriose (Ruiz et al. 2006) nur durch mehrstufige konvergente Synthese realisierbar. Sie ist bisher für längere Oligomere bzw. Cellulose nicht gelungen. Im Weiteren soll daher nur noch auf die selektive Umsetzung an der REG eingegangen werden.

Aufgrund des Gleichgewichtes zwischen cyclischer Halbacetal- und offenkettiger Aldehydform können zwei Arten von Reaktionen am REG auftreten; zum einen Redoxreaktionen unter Einbeziehung der Carbonylgruppe und zum anderen die Glycosylierung des anomeren Kohlenstoffs (Abbildung 2.7).

Eine Möglichkeit ist die reduktive Aminierung von niedermolekularen Cellulosen. Dabei wird in Anwesenheit von Reduktionsmitteln (H_2 , $NaBH_3CN$) die Aldehydgruppe in ein Amin überführt (Kasuya et al. 2002, Daus et al. 2010). Im Gegensatz dazu führt eine selektive Oxidation der Carbonylgruppe der REG, in Analogie zur Oxidation von D-Glucose zu D-Gluconsäure (Beyer 1991a), zu einer Carboxylgruppe am Ende der Cellulosekette. Beim Lösen und Weiterverarbeiten von Zellstoff in *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid (Lyocell-Prozess), was zugleich ein starkes Oxidationsmittel in der organischen Synthese ist, wird diese Oxidation beobachtet (Potthast et al. 2003).

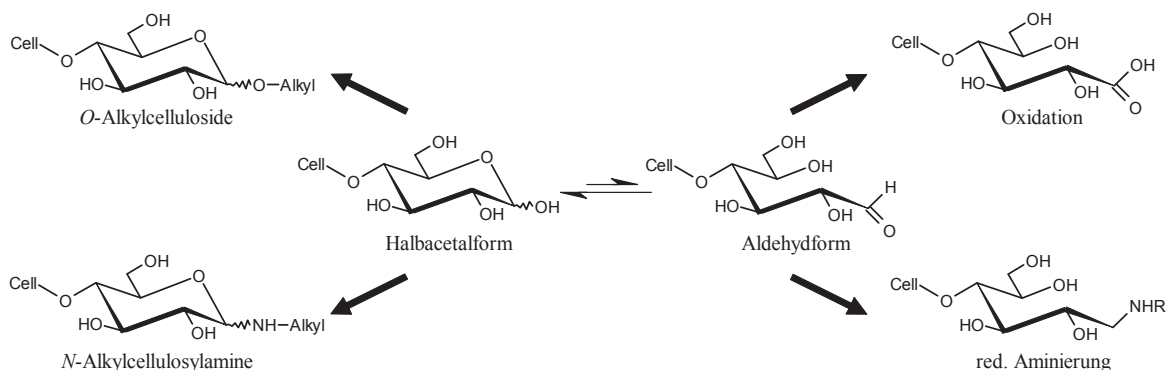


Abb. 2.7. Übersichtsschema über ausgewählte Reaktionen an der reduzierenden Endgruppe von Cellulose.

Die Glycosylierung an der REG von Cellulose kann unterteilt werden nach den Heteroatomen des gebundenen Aglycons. Die *N*-Glycosylamine der Cellulose oder *N*-Alkylcellulosylamine (Abbildung 2.7) spielen in der aktuellen Forschung eine wichtige Rolle als Zwischenprodukt zur Synthese von cellulosischen Diblock-Copolymeren (Kamitakahara et al. 2005, Enomoto-Rogers et al. 2011). Die bedeutsamere Verbindungsklasse sind aber die *O*-Glycoside, daher wird im Weiteren ausschließlich auf die Darstellung von *O*-Alkylcelluloside eingegangen.

2.4.1 Umsetzungen an Cellodextrinen

Der mit abnehmender Kettenlänge größer werdende Einfluss der Carbonylgruppe der REG muss bei einer Vielzahl von Studien mit Cellodextrinen als Modellverbindungen besonders beachtet werden. Untersuchungen zum Wasserstoffbrückensystem und der Komplexierung der Cellulose mit Metallionen können erheblich durch die im Gleichgewicht vorliegende Aldehydform beeinträchtigt werden (Rencurosi et al. 2002, Saalwaechter et al. 2000).

Um die Halbacetal-Struktur in ein *O*-Glycosid zu überführen, gibt es verschiedene Synthesestrategien, die alle eine Aktivierung des anomeren Kohlenstoffs und die Bildung einer Abgangsgruppe einschließen. Bei der Glycosidsynthese haben sich drei aktivierte Zwischenstufen etabliert:

- a) Glycosylhalogenide (Toshima 2008),
- b) Glycosyltrichloroacetimidate (Schmidt and Zhu 2008) und
- c) Glycosylacetate (Kim and Jeon 2008).

Monodisperse Cellooligosaccharide mit einer Vollacetal-Struktur sind nach chromatographischer Separation der Oligosaccharidgemische und anschließender Modifizierung über die oben genannten Zwischenstufen zugänglich. Das Produkt der Acetolyse von Cellulose zogen bereits Wolfrom und Haq (1964) zur mehrstufigen Synthese von nicht-reduzierenden Cellulose-Analoga mit DP-Werten von 2 bis 5 heran. Dieses Synthesekonzept wurde auf Methylglycoside mit bis zu sechs Wiederholungseinheiten ausgehend von Cellodextrinen der HCl-Hydrolyse erweitert. Die monodispersen Alkyl- β -D-celluloside wurden detailliert NMR-spektroskopisch charakterisiert und können als Referenz für die eigene Arbeit herangezogen werden (Flugge et al. 1999). Eine alternative Darstellung von Cellulose-Modellverbindungen mit blockierter Carbonylgruppe und bis zu 8 AGE gelang nach Pivaloyse von Cellulose-triacetat (Arndt et al. 2003).

Neben der selektiven Modifizierung des anomeren Kohlenstoffatoms sind Cellooligosaccharide mit Vollacetal-Struktur durch mehrstufige konvergente Synthese erhältlich (Xu und Vasella 1999, Mackie et al. 2002, Ruiz et al. 2006, Murty et al. 2006). Aufgrund des hohen präparativen Aufwands sind diese chemischen Verfahren auf Synthesen im Milligramm-Maßstab begrenzt. Enzymatische Methoden können eine Alternative sein. Es werden Präparationsvorschriften unter Verwendung von Enzymen wie Cellulase und Cellodextrin-Phosphorylase für Methyl- β -D-cellulose bis DP 6 beschrieben (Shoda et al. 1993, Samain et al. 1995, Fort et al. 2000).

2.4.2 Endgruppenmodifizierung an Cellulose und Cellulosederivaten

Die heterogene Alkoholyse von Cellulose hin zu nicht-reduzierenden Abbauprodukten, für die eine Alkylglycosid-Struktur vorhergesagt wird, wurde bereits früh in der Literatur beschrieben (Reeves et al. 1946). Jedoch konnte auch in späteren Arbeiten (Manley 1974) die Bildung von nicht-linearen Nebenprodukten, welche durch Vernetzung zwischen dem anomeren Kohlenstoffatom und den ungeschützten Hydroxylgruppen der AGE entstehen, nicht ausgeschlossen werden. Manley (1973) beschreibt den heterogenen Abbau von Cellulosetriacetat (CTA) in methanolischer Schwefelsäurelösung. Ein Strukturbeweis zur Bildung einer Vollacetal-Struktur an der REG der abgebauten Cellulose fehlt allerdings.

Im Gegensatz dazu wurden die Abbauprodukte der homogenen Hydrolyse von CTA als nicht-reduzierend gegenüber Fehlingscher Lösung beschrieben, sofern unter wasserfreien Bedingungen gearbeitet wird (Ward et al. 1954). Deshalb ist bei dieser grundlegenden Arbeit erstmalig von der Synthese definierter Alkylglycoside der Cellulose auszugehen. Alternativen zur Darstellung von Cellulosen mit blockierter Carbonylgruppe wurden kaum detaillierter untersucht. Nur die Einführung einer Phenoxygruppe durch Glycosylierung am anomeren Kohlenstoff von CTA ist beschrieben worden (Abbildung 2.8c). Jedoch konnte eine Vernetzung der Celluloseketten nicht spektroskopisch ausgeschlossen werden (Nakatsubo et al. 1987).

Für die Synthese von Block-Copolymeren, die abgebaute Cellulosenblöcke enthalten sollen, sind monofunktionale 1-Hydroxycellulosester von großem Interesse. Diese Cellulosesterblöcke wurden durch Halogenwasserstoffbehandlung unter Veresterungsbedingungen erhalten. Das entstandene Celluloseylhalogenid kann anschließend bei mittleren pH-Bedingungen in die monofunktionale 1-Hydroxy-Verbindung hydrolysiert werden (Abbildung 2.8a; Mezger und Cantow 1983, Glasser und Becker 1999).

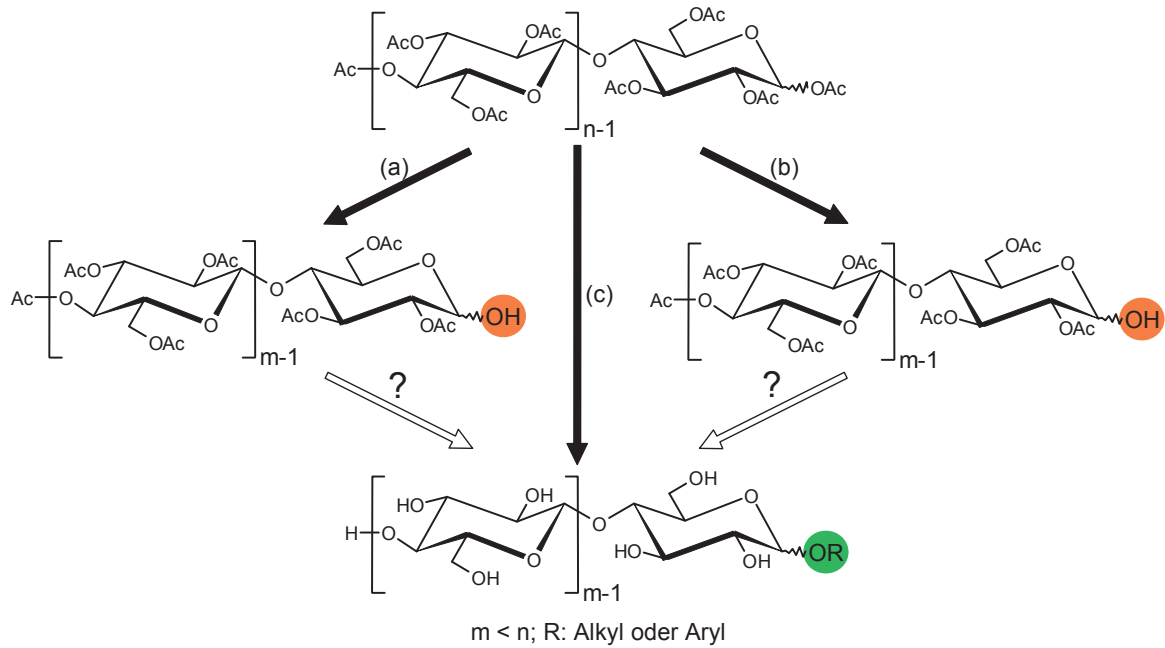


Abb. 2.8. Übersichtsschema zur Darstellung von Alkyl- bzw. Arylcellulosen ausgehend von Cellulosetriacetat (a: Halogenwasserstoffbehandlung und anschließende Hydrolyse des Cellulosehalogenids; b: selektive Deacetylierung am anomeren Kohlenstoff; c: Glycosylierung in Gegenwart einer Lewis-Säure).

Alternativ können diese 1-Hydroxycellulose-triester auch durch selektive Deacetylierung am anomeren Kohlenstoff zugänglich sein. Peracetylierte und zuvor abgebaute Cellulose behandelte man mit Benzylamin bei Raumtemperatur (Abbildung 2.8b). Für diese Verbindung wurde erstmalig ein struktureller Beweis für die Monofunktionalität mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie erbracht (Einfeldt et al. 2005).

Um ausgehend von diesen 1-Hydroxycellulose-triestern Alkylcellulose darzustellen, müsste in einem ersten Schritt die OH-Gruppe am anomeren Kohlenstoffatom alkyliert werden. Die abschließende Verseifung (Zemplén und Kunz 1923) würde zu den gewünschten Cellulose-Modellverbindungen mit Vollacetal-Struktur an der REG führen. Dieser Reaktionsweg ist allerdings bisher nicht betrachtet worden.

2.5 Wechselwirkungen von Bor- und Boronsäure mit Kohlenhydraten

2.5.1 Monosaccharide

Die Interaktion von Borsäure mit Diol-Strukturen der Kohlenhydrate wurde zwischen 1910 und 1940 in vielfältigen Arbeiten zur Konfigurationsanalyse ausgenutzt (Böeseken 1949). Einhergehend mit der Komplexbildung von bevorzugt 1,2- und 1,3-Diol-Strukturen beobachtete man einen Anstieg der Acidität und der Leitfähigkeit bei wässrigen Lösungen. Mit dieser Methode gelang es die Stellung der benachbarten OH-Gruppen an den Kohlenstoffatomen C-1 und C-2 der α -D- bzw. β -D-Glucopyranose zu bestimmen (Böeseken 1913). Daher ist es erstaunlich, dass diese Eigenschaften für Boronsäuren erst wesentlich später dokumentiert wurden. Kuivila et al. (1954) postulierten einen cyclischen Boronsäureester, der bei Zugabe von Phenylboronsäure (PBA) zu einer gesättigten Mannitol-Lösung entsteht. Dabei handelt es sich um das Analogon zur bekannten Struktur, die Borsäure mit der Polyhydroxyverbindung bildet.

Lorand und Edwards (1959) führten erste quantitative Studien (Gleichgewichtskonstanten der Komplexbildung) zur Interaktion von Boronsäuren mit Kohlenhydraten in wässriger Lösung durch. In den durchgeführten Arbeiten stellte man eine höhere Säurekonstante für den Diol-Boronsäure-Komplex ($K_{S'}$) als für reine Boronsäure (K_S) fest (Abbildung 2.9). Aufgrund der Tatsache, dass Boronsäuren im wässrig-basischen Medium

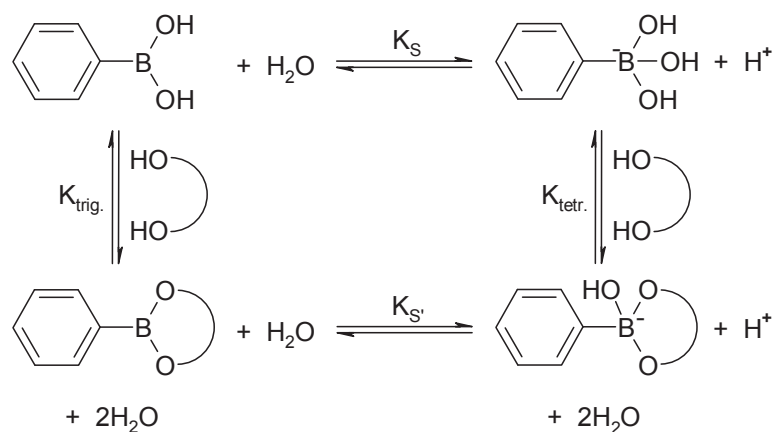


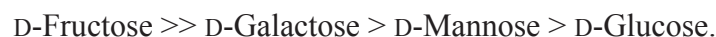
Abb. 2.9. Schematische Darstellung der an der Interaktion zwischen Phenylboronsäure und einer Diol-Struktur beteiligten Gleichgewichte (K_S : Säurekonstante der Boronsäure; $K_{S'}$: Säurekonstante des Diol-Boronsäure-Komplexes; $K_{\text{trig.}}$: Bildungskonstante des Diol-Boronsäure-Komplexes; $K_{\text{tetr.}}$: Bildungskonstante des geladenen Diol-Boronat-Komplexes).

eine erhöhte Affinität gegenüber Diolen aufweisen, wird davon ausgegangen, dass das tetraedrische Boronat die reaktive Spezies ist (Pizer und Tihal 1992). Die Bildungskonstante des geladenen Diol-Boronat-Komplexes ($K_{\text{tet.}}$) ist somit größer als die Gleichgewichtskonstante der Bildung des ungeladenen Diol-Boronsäure-Komplexes ($K_{\text{trig.}}$). Jedoch soll entsprechend Iwatsuki et al. (2007) die Reaktionsgeschwindigkeit zur Bildung trigonaler Boronsäurederivate aus aromatischen Diolverbindungen um ein Vielfaches höher sein. Sowohl diese kontroverse Diskussion über die Struktur der Derivate als auch die nicht einheitliche Verwendung der Begriffe „Komplex“, „Ligand“ oder „Ester“ sind ein Beleg dafür, dass die Wechselwirkung zwischen Bor- bzw. Boronsäuren mit Kohlenhydrate noch wenig verstanden ist.

Nichtsdestotrotz ist die kovalente, aber reversible Bindung von Boronsäuren an Diol-Strukturen sehr gut zur Erkennung von Monosacchariden geeignet (James et al. 2006). Die Bildung der Boronat- bzw. Boronsäurekomplexe findet im wässrigen Medium bevorzugt bei pH-Werten oberhalb des pK_s -Wertes der verwendeten Boronsäure statt. Eine Einschränkung bei der Nutzung von Boronsäuren als Saccharidsensoren ist die Bevorzugung bestimmter Diole. Zum einen besteht die allgemeine Präferenz von Furanosen gegenüber Pyranosen. Zum anderen zeigen Bor- und Boronsäure die folgende Reaktivitätsabstufung gegenüber Diol-Strukturen (van den Berg et al. 1994):



Basierend auf den Untersuchungen von Lorand und Edwards (1959) lässt sich darüber hinaus folgende Affinitätsabstufung von Monoboronsäuren gegenüber den vier wichtigsten Monosacchariden ableiten:



Das Verständnis der Interaktion von Boronsäure mit D-Glucose ist im Hinblick auf die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit und dem Interesse des medizinischen Sektors an Sensormolekülen zur Überwachung des Blutzuckerspiegels bei „*Diabetes mellitus*“ (James et al. 2006) von enormer Bedeutung. In Abbildung 2.10 sind daher die Wechselwirkungen der Phenylboronsäure mit D-Glucose im wässrigen und wasserfreien Milieu zusammengefasst. Fast zeitgleich wurde im Jahr 1995 sowohl die Bildung eines 1,2:4,6-Diboronat-Komplexes der α -D-Glucopyranose (James et al. 1995) als auch die Struktur eines 1,2:3,5,6-Diboronat-Komplexes der α -D-Glucofuranose (Norrild und Eggert 1995) in Gegenwart von Wasser beschrieben. Mittels ^1H - und ^{13}C -NMR-Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass sich der Pyranose-Komplex rasch in den

thermodynamisch stabileren Furanose-Komplex umwandelt, indem alle fünf Hydroxylgruppen kovalent an zwei Phenylboronsäuren gebunden sind (Abbildung 2.10; Bielecki et al. 1999). Die Bildung des analogen α -D-Glucofuranose-1,2:3,5,6-diborat-Komplexes wurde bereits von Foster (1957), der die Zonen-Elektrophorese von Kohlenhydraten in Gegenwart von Borsäure untersuchte, postuliert.

Unter neutralen wasserfreien Bedingungen beschrieben Norrild und Eggert (1995) zum einen die Ausbildung eines fünfgliedrigen cyclischen Phenylboronsäureesters unter Einbeziehung der Hydroxylgruppen in Position 1 und 2 der α -D-Glucofuranose, zum anderen bildet sich eine zusätzliche sechsgliedrige Ester-Struktur mit den OH-Gruppen an den Atomen C-3/5, falls das stöchiometrische Verhältnis von D-Glucose zu PBA größer als 1:2 ist (Abbildung 2.10). Die Stabilität des 1,2:3,5-Diboronsäureesters der α -D-Glucofuranose machten sich Bourne et al. (1972) und Wood und Siddiqui (1974) zunutze, um selektiv an Position 6 eine Methylierung bzw. eine Benzoylierung durchzuführen.

Im Fall von Cellulose und Cellodextrinen ist die Umwandlung der REG in eine Furanose-Form aufgrund der β -(1 \rightarrow 4)-glycosidischen Verknüpfung zur benachbarten AGE nicht möglich. Das Methyl- α - bzw. Methyl- β -D-glucopyranosid (Me- α/β -D-glcp), wobei bei beiden die Gleichgewichtsreaktion hin zur α -D-Glucofuranose unterbunden ist, eignen sich daher als Modellverbindung, um Aussagen über mögliche Interaktionen von Bor- und Boronsäuren mit den Hydroxylgruppen der AGE zu treffen. Bereits Sugihara und

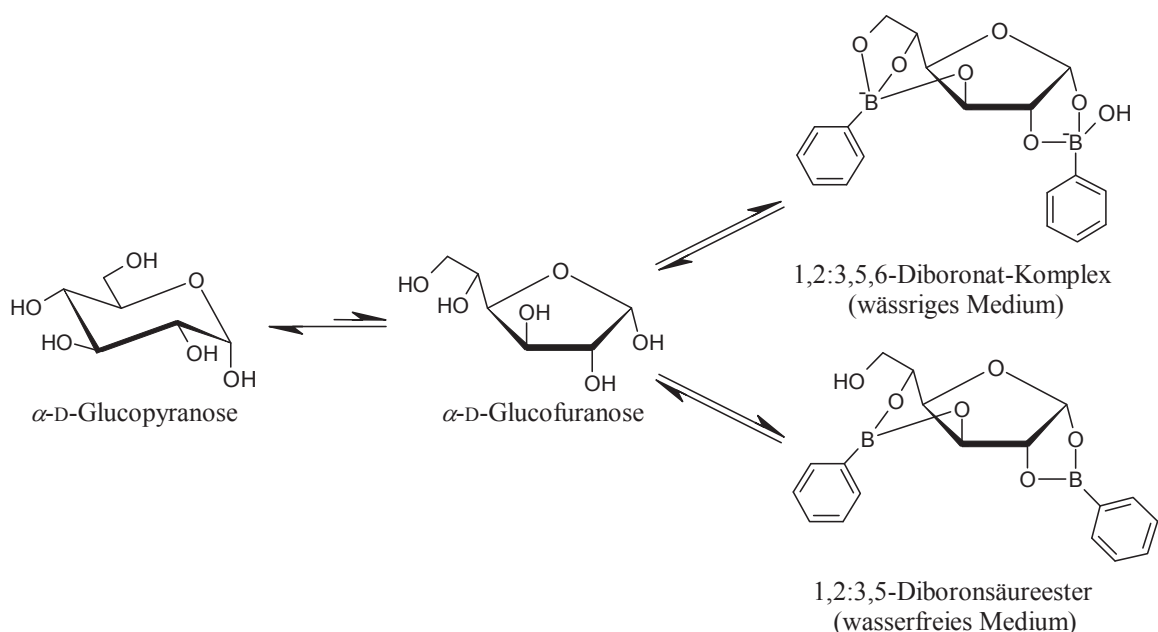


Abb. 2.10. Schematische Darstellung der Wechselwirkungen von Phenylboronsäuren mit D-Glucose im wässrig alkalischen Medium und unter wasserfreien Bedingungen.

Petersen (1956) beschrieben, dass beim Einsatz von Borsäure als Schutzgruppen-Reagenz die Benzoylierung selektiv an den Gruppen OH-2 und OH-3 des Methyl- β -D-glucopyranosids abläuft. Die Ausbildung eines sechsgliedrigen Borat-Komplexes mit den Hydroxylgruppen in Position 4 und 6 des Me- α / β -D-glcp wurde NMR-spektroskopisch auf vielfältigste Weise (^1H -, ^{11}B - und ^{13}C -NMR) nachgewiesen (Kennedy und How 1973, van den Berg et al. 1994, Miyazaki et al. 2003, Benner et al. 2007). Die ^{13}C -NMR-Signale der am cyclischen Borat-Komplex beteiligten Kohlenstoffatome werden im Vergleich zur Ausgangsverbindung deutlich zu höheren Werten verschoben (Chapelle und Verchere 1988). Des Weiteren ist die ^{11}B -NMR-Spektroskopie als aussagekräftige Methode zur Charakterisierung der Ringgröße von Borat- bzw. Boronat-Struktur am Kohlenhydrat geeignet.

In aprotischen Lösungsmitteln wurde eine Veresterung benachbarter sekundärer OH-Gruppen der Kohlenstoffe C-2 und C-3 des Me- α -D-glcp mit PBA beobachtet (Ferrier 1961, Ferrier 1978). Die postulierte siebengliedrige Diphenylpyroboronat-Struktur konnte später mittels massenspektrometrischer Untersuchungen belegt werden (Robinson und Eagles 1973). Ungeachtet dessen fehlt bisher ein NMR-spektroskopischer Beleg für solch ein großes Ringsystem an β -(1 \rightarrow 4)-Glucanen mit *trans*-1,2-Diol-Strukturen (Smoum et al. 2003).

2.5.2 Cellulose

Die Wechselwirkung von Polysacchariden mit Borsäure und ihrer Derivate wurde bereits früh erkannt und dokumentiert. Deuel und Neukom (1949) untersuchten qualitativ die Komplexbildung zwischen wasserlöslichen Polysacchariden und Borax und stellten entweder eine Viskositätszunahme der Lösung oder eine Gelbildung fest. Daraus schlussfolgerten sie, dass es zur Ausbildung dreidimensionaler Vernetzungen zwischen den *cis*-Diol-Strukturen der Kohlenhydrate und den Borat-Tetraedern kommt. Eine Zuordnung der am Diol-Borat-Komplex beteiligten OH-Gruppen wurde später für Dextran (Miyazaki et al. 2003), Galactomannan (Bishop et al. 2004), Scleroglucan (Palleschi et al. 2006) und Schizophyllan (Grisel und Muller 1997) getroffen. Mittels ^{11}B -NMR-Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass es sich bevorzugt um *cis*-1,2- bzw. *cis*-1,3-Diol-Strukturen an den beweglichen Seitenketten der Polyglucane handelt.

Eine *cis*-Stellung von benachbarten Hydroxylgruppen liegt im Fall des am häufigsten vorkommenden Polysaccharids Cellulose nicht vor. Jedoch wird die Interaktion von Borsäure und ihrer Derivate mit Cellulose und deren Oligomeren in vielfältiger Weise

dokumentiert. So konnte die Reinheit von Cellooligomeren nach chromatographischer Trennung auf einer mit Anionenaustauscher-Harz gefüllten Säule und einem Borat-Puffer als Eluent analysiert werden (Hamacher et al. 1985). Eine heterogene Veresterung von Cellulose mit Borsäure (Arslanov und Petropavlovskii 1996), Trialkylboraten (Bains und Arthur 1971) bzw. Triethylboran (Köster et al. 1975) wurde an verschiedenen Stellen postuliert. Allerdings fehlen spektroskopische Belege für mögliche Ester-Strukturen an den Hydroxylgruppen der Cellulose.

In technischen Verfahren zur Derivatisierung von Zellstoffen findet man häufig den Einsatz von löslichen Borverbindungen (Borsäure, Borax, Metaborsäure u.a.). Partlow (1964) ließ sich die Reinigung von Sulfitzellstoff mit Kaliumhydroxid unter Zusatz von 3-4 % Borsäure patentrechtlich schützen. Bei dem beschriebenen Verfahren findet keine Mercerisierung statt und das hergestellte Cellulosematerial konnte wirksamer acetyliert werden, wobei das erhaltene Celluloseacetat bessere Eigenschaften (Klarheit der Lösungen) aufwies. Eine Vorbehandlung von Zellstoff mit Borax bewirkt eine erhöhte Reaktivität gegenüber Acylierungs-Reagenzien (Abou-State et al. 1985, Wells et al. 1971). Bei der Veretherung von Cellulose mit Ethylenoxid im Slurry-Verfahren beobachtete man neben einer erhöhten Effizienz des Oxirans wesentlich bessere Löseeigenschaften der Produkte, wenn dem Ansatz 3-20 % Borax zugesetzt werden (Majewicz und Ropp 1980). Bei der Herstellung von Carboxymethylcellulose wurden vergleichbare Mengen an Borax (3-10 %) eingesetzt, um eine bessere Löslichkeit des Derivats in wässrigen Salz-Lösungen zu erreichen (Majewicz 1981).

Weiterhin beobachteten Chen et al. (2006) eine gesteigerte Adhäsion von Cellulose-Hydrogelen gegenüber einem Polyvinylamin-Film, wenn zuvor ein Teil der Amingruppen mit 4-Carboxyphenylboronsäure umgesetzt wurden. Eine vergleichbare Interaktion zwischen einer Cellulose-Membran und einem mit Phenylboronsäuren substituierten Dendrimer stellten Bonné et al. (2010) fest. Eine detaillierte Charakterisierung der möglichen Strukturen liefern jedoch auch diese Arbeiten nicht.

3 Spezieller Teil

3.1 Niedermolekulare Cellulosen

Natürlich vorkommende Cellulosen besitzen DP-Werte von 3000 bis 15000. Die niedrigsten DP-Werte von kommerziell erhältlichen und technisch relevanten Cellulosen liegen hingegen zwischen 100 und 200 AGE (siehe Kapitel 2.3). Obwohl für industrielle Anwendungen hohe Molmassen erwünscht sind, kann eine Vielzahl von Phänomenen wie Löseprozesse und die Interaktion von Cellulose und Cellulosederivaten mit anderen Biomolekülen mit diesen hochmolekularen Cellulose-Proben nicht untersucht werden. Darüber hinaus verringert ein hoher DP-Wert die Reaktivität des Polymers. Des Weiteren ist es vorstellbar, dass sowohl in biologischen als auch in medizinischen Anwendungen Cellulosederivate mit einem vergleichsweise geringen DP-Wert eine besondere Rolle spielen können. Demzufolge besteht ein großes Interesse an niedermolekularen (*lmw*) Cellulosen. Bisher finden Cellodextrine vereinzelt Anwendung als Cellulose-Modellverbindung (siehe Kapitel 2.3.2). Jedoch spiegeln diese das Polymer Cellulose in seiner Struktur und seinen Eigenschaften nicht tatsächlich wider, denn neben dem großen Einfluss der Carbonylgruppe auf die Reaktivität des Moleküls sind Cellodextrine begrenzt löslich in Wasser und Dimethylsulfoxid. Daher wurde die Darstellung von *lmw* Cellulosen mit genau definierten DP-Werten zwischen 15 und 130 untersucht. Diese Verbindungen sind hervorragend geeignet, um zum einen Polymer-Lösungsmittel- bzw. Polymer-Polymer-Wechselwirkungen analytisch zu erforschen. Zum anderen sind neuartige Cellulosederivate, die durch polymeranaloge Reaktionen mit den *lmw* Cellulosen erhalten werden, optimal mit modernen NMR-spektroskopischen Methoden charakterisierbar. Die im Folgenden dargelegten Untersuchungen beinhalten sowohl den Abbau in Phosphorsäure als auch die heterogene Hydrolyse in verdünnter Salzsäure. Es wird gezeigt, dass die jeweilige *lmw* Cellulose in *N,N*-Dimethylacetamid (DMA)/Lithiumchlorid (LiCl) als Lösungsmittel mit Aceton als Fällmedium fraktioniert werden kann, um den gewünschten DP-Wert genau einzustellen.

3.1.1 Abbauuntersuchungen

3.1.1.1 Homogener Abbau

Wird mikrokristalline Cellulose (MCC) in konzentrierter Phosphorsäure (85 wt.-%) suspendiert, tritt zunächst ein Quellen der Cellulose auf. Das vollständige Auflösen der aggregierten Mikrokristallite dauert in Abhängigkeit von der Temperatur wenige Stunden bis hin zu einigen Tagen. Fällt man diese Probe unmittelbar nach dem Auflösen aus, so zeigt sich nur eine geringe Abnahme des DP-Wertes im Vergleich zum Ausgangsmaterial (Zhang und Lynd 2004). Die Kristallinität solcher Substrate, die allgemein als „Phosphorsäure-gequollene Cellulose“ (PASC) bezeichnet werden, nimmt jedoch erheblich ab. Da der Abbau der Cellulose bereits vor dem vollständigen Auflösen in Phosphorsäure stattfindet, handelt es sich um eine Depolymerisation, die im heterogenen Zustand startet und mit fortschreitender Hydrolysezeit homogen verläuft. In der Literatur wird daher der Terminus „*homogene Hydrolyse*“ verwendet.

Die homogene Hydrolyse von MCC in H_3PO_4 bei 55 °C führt zu Abbauprodukten mit einem gewichtsmittleren durchschnittlichen Polymerisationsgrad (DP_w) von 15 (Liebert et al. 2008). In der gleichen Arbeit wurde mittels ^{31}P -entkoppelter ^1H -NMR-Spektroskopie belegt, dass sich während des Abbaus keine Phosphorsäurehalbestere der Oligosaccharide bilden. Wählt man Temperaturen zwischen 25 °C und 55 °C für den Celluloseabbau in H_3PO_4 können auch Produkte mit mehr als 15 AGE erhalten werden (Wei et al. 1996). Die in der Literatur beschriebenen Molmassen wurden durch Messung der Grenzviskosität in Kupferethyldiamin-Lösung bestimmt. Diese Methode ist jedoch für niedermolekulare Cellulosen aufgrund des großen experimentellen Fehlers bei niedrigen Viskositäten, wie sie für solche Verbindungen gefunden werden, nicht empfindlich genug. Darüber hinaus erhält man keine Information über die Molmassenverteilung. Isogai und Usada (1991) hingegen ermittelten die Molmassen ihrer Abbauprodukte, erhalten nach Hydrolyse mit H_3PO_4 bei Raumtemperatur, mithilfe der Größenausschlusschromatographie (SEC) nach vorheriger Carbanilierung. Neben einer sehr engen Molmassenverteilung der Cellooligomere wurden DP_w -Werte bis 15 gefunden. Eine Modifizierung der zu messenden Proben speziell im Fall niedermolekularer Cellulosen ist jedoch problematisch. Neben einer unvollständigen Derivatisierung wird während des Aufarbeitungsprozesses ein Verlust von Molekülen mit kleineren Molmassen beobachtet. Deshalb werden im Rahmen der vorliegenden Arbeit alle Cellulose-Proben ohne Derivatisierung mittels SEC (Eluent: DMA/LiCl) charakterisiert (Timpa 1991).

Neben dem gezielten Abbau zu *lmw* Cellulosen im DP_w -Bereich von 15 und 130 sollte der Polydispersitätsindex (PDI) der Proben zwischen 1,50 und 2,00 liegen. Um diese beiden Attribute zu realisieren, musste der Abbau der MCC in H_3PO_4 bei Raumtemperatur (RT) bzw. $8\text{ }^\circ\text{C}$ jeweils drei oder fünf Wochen durchgeführt werden. Die Konzentration der MCC in der H_3PO_4 -Lösung wurde auf etwa $0,6\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ eingestellt, dies entspricht einem molaren Verhältnis AGU: H_3PO_4 : H_2O von 1:22:25. Man erhält eine klare, hochviskose Lösung in der Regel zwei Tage nachdem die Cellulose zum Gemisch aus Säure und Wasser gegeben und mechanisch gerührt wurde. Anschließende Variation der Hydrolysezeit und Wahl der Temperatur führte zu den in Tabelle 3.1 zusammengefassten Ergebnissen.

Eine längere Hydrolysedauer ergibt erwartungsgemäß niedrigere DP_w -Werte. Die Reduzierung des Molekulargewichtes der *lmw* Cellulose geht dabei einher mit einer drastischen Abnahme der Ausbeute an wasser- und DMSO-unlöslichen Abbauprodukten. Eine Verlängerung der Hydrolyse von drei auf fünf Wochen hat eine Halbierung der Ausbeute zur Folge (**CM-1** und **CM-2**). Falls die Hydrolyse nach vollständigem Auflösen der MCC bei $8\text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt wird (**CM-3** und **CM-4**), sind neben den Ausbeuten auch die DP_w -Werte um das Zwei- bis Dreifache höher als bei der RT-Hydrolyse. Die Molmassenverteilungen sind für diese *lmw* Cellulosen mit PDI-Werten um 2,0 etwas breiter. Jedoch wird durch die Hydrolyse bei $8\text{ }^\circ\text{C}$ eine merkliche Verengung der Verteilung im Vergleich zu kommerziell erhältlicher MCC (PDI = 3,74) erreicht. Der obere DP_w -Bereich mit Werten von 70 bis 130 AGE wird bevorzugt in den Proben **CM-3**

Tab. 3.1. Bedingungen und Ergebnisse des Abbaus von mikrokristalliner Cellulose (MCC) in Phosphorsäure.

Probe	Konzentration ^a [$\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$]	Hydrolysezeit [d]	Temperatur [$^\circ\text{C}$]	Ausbeute ^b [%]	DP_w	PDI
MCC	-	-	-	-	330	3,74
CM-1	0,595	21	25	59	36	1,64
CM-2	0,635	35	25	30	24	1,68
CM-3	0,630	21	8	95	111	2,02
CM-4	0,635	35	8	77	72	2,12
CM-5	0,630	21	25	57	35	1,58

^a $n(\text{AGE})/V(\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O})$

^b Wasser- und DMSO-unlösliche Fraktion

und **CM-4** gefunden (siehe Kapitel 3.1.2). Um andererseits *lmw* Cellulosen mit DP_w -Werten von etwa 30 zu erhalten, stellte sich eine Hydrolysezeit von drei Wochen bei RT als optimal heraus (**CM-1** und **CM-5**). Proben mit diesem vergleichsweise niedrigen DP_w -Wert verhalten sich bereits wie das Polymer Cellulose und weisen die entsprechende supramolekulare Struktur und die daraus resultierenden Eigenschaften auf.

Obwohl die Zusammensetzung und die Gesamtausbeute der *lmw* Cellulosen durch die Hydrolysebedingungen bestimmt werden, ist die Aufarbeitung des Abbauproduktes entscheidend, um neben zusätzlichen Cellodextrinen mit DP_w -Werten zwischen 7 und 20 eine möglichst enge Molmassenverteilung zu erhalten. Das Vorgehen für die Probe **CM-5** (dreiwöchige Hydrolyse bei RT) ist in Abbildung 3.1 skizziert und wird im Weiteren diskutiert. Man fällt im ersten Schritt die Celluloselösung in der Vierfachen Menge an Wasser aus und trennt den erhaltenen Niederschlag **I** ab. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingengt, und anschließend in Aceton ausgefällt, um den Niederschlag **II** zu erhalten. Nach dem Waschen und Trocknen von **II** konnten

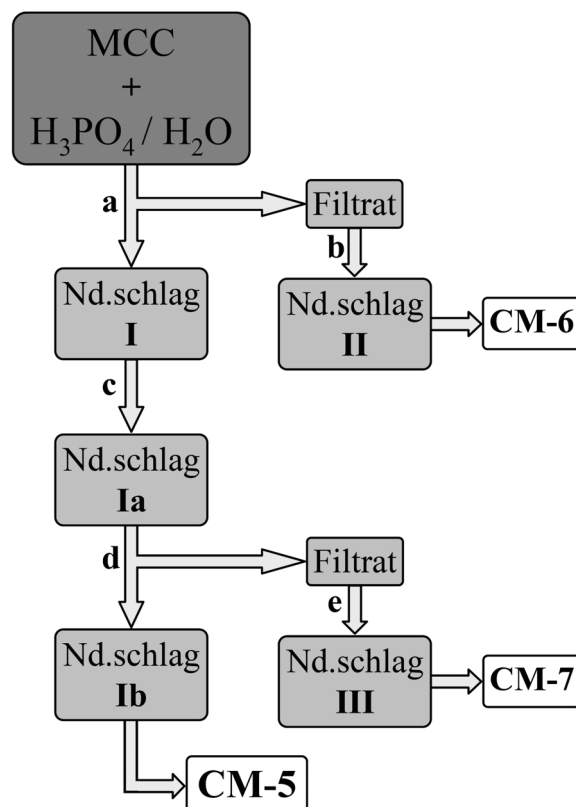


Abb. 3.1. Hydrolyse von mikrokristalliner Cellulose (MCC) und Aufarbeitung des Abbauproduktes (a: Ausfällen in Wasser; b: Einengen des Filtrats und Ausfällen in Aceton; c: Extrahieren mit Wasser (90 °C, 3 h); d: Extrahieren mit DMSO (100 °C, 3 h); e: Ausfällen in Aceton).

Cellodextrine (**CM-6**) mit einem DP_w von 7 und einem PDI von 1,29 erhalten werden. Als nächstes extrahierte man den Niederschlag **II** sowohl mit Wasser als auch mit DMSO bei Temperaturen von 90 °C bzw. 100 °C. Das DMSO-Extrakt wurde wiederum in Aceton ausgefällt, um nach Abtrennen und Trocknung des Niederschlags **III** teilweise in DMSO lösliche Cellodextrine (**CM-7**; $DP_w = 20$; $PDI = 1,48$) zu gewinnen. Das vollständig unlösliche Material **Ib** wurde solange mit Aceton gewaschen bis ein feines Pulver erhalten wurde. Nach Trocknung im Vakuum besitzt die Probe **CM-5** einen DP_w -Wert von 35 einhergehend mit einem PDI von 1,58. Für die beschriebene Probe **CM-5** beträgt die Ausbeute 57 %, zusätzlich dazu wurden nochmals 10 % Cellodextrine erhalten. Die Hydrolysezeit muss verlängert werden, falls ein höherer Anteil an Cellooligomeren mit DP_w -Werten bis 20 erwünscht ist. So erhielt man zum Beispiel 25 % Cellodextrine, wenn nach fünfwöchiger Hydrolyse (**CM-2**) aufgearbeitet wird.

In Abbildung 3.2 sind die Molmassenverteilungen der eingesetzten MCC und der Cellodextrine (**CM-6**, **CM-7**) bzw. der niedermolekularen Cellulose (**CM-5**) dargestellt. Zur Kalibration wurden Pullulan (Pun)-Standards verwendet. Der angestrebte DP_w -Bereich von 15 und 130 wird von den abgebauten Proben im unteren Bereich sehr gut abgedeckt. Das Maximum der SEC-Kurve von **CM-5** liegt bei etwa 30 und die der Halbwertsbreite zugehörigen Werte erstrecken sich von 15 bis 70 Wiederholungseinheiten. Die Kurvenmaxima der Cellodextrin-Fractionen liegen bei 6 bzw. 13. Darüber hinaus kann die enge Molmassenverteilung mit PDI-Werten kleiner als 1,60 der geringen Halbwertsbreite

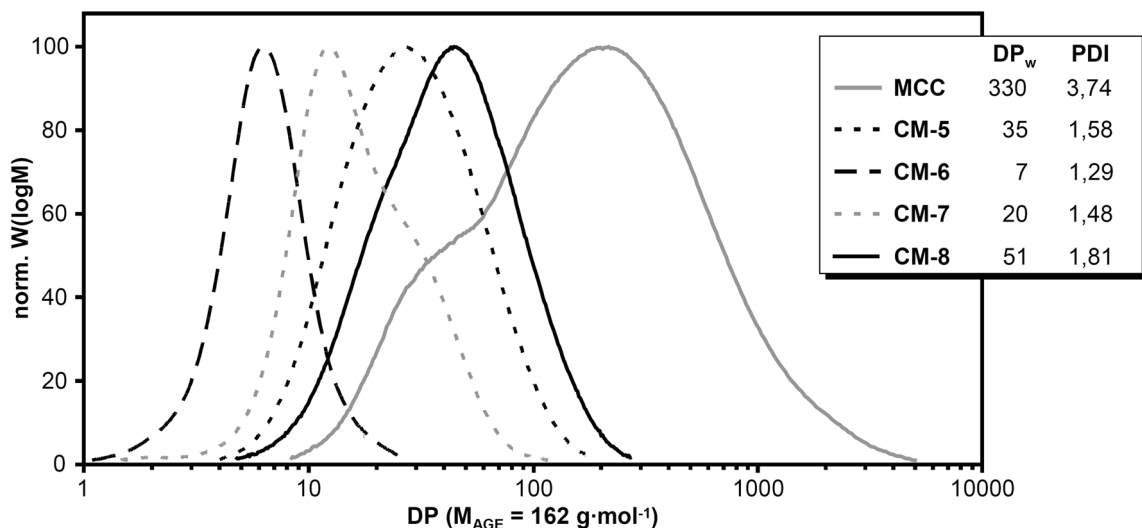


Abb. 3.2. Größenausschlusschromatogramme (SEC; gemessen in DMA/0,21 wt.-% LiCl; Pullulan-Standards zur Kalibration) der mikrokristallinen Cellulose (MCC), der niedermolekularen Cellulosen (**CM-5**, **CM-8**) und der Cellodextrine (**CM-6**, **CM-7**).

der Kurven entnommen werden. Werden *lmw* Cellulosen mit höheren DP_w -Werten benötigt, sollte die Hydrolyse bei 8 °C für drei bis fünf Wochen durchgeführt werden. Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung von *lmw* Cellulosen mit DP_w -Werten größer als 30 wird im Kapitel 3.1.1.2 beschrieben.

3.1.1.2 Heterogener Abbau

Cellulose kann durch Erhitzen in verdünnter Salzsäure zum „level-off degree of polymerization“ (LODP) abgebaut werden (Battista et al. 1956; für weiterführende Informationen Kapitel 2.3.1). Dabei handelt es sich um ein heterogenes Verfahren, bei dem die amorphen Bereiche der Ausgangscellulose als lösliche Abbauprodukte abgetrennt werden und die kristallinen Bereiche des eingesetzten Materials die niedermolekulare Cellulose ergeben. Da MCC ebenfalls nach heterogener Hydrolyse von nativen Zellstoffen mit verdünnten Mineralsäuren erhalten wird, führt ein erneuter Abbau von MCC zu keiner nennenswerten Abnahme des DP-Wertes. Im Gegensatz dazu besitzen heterogen abgebaute Zellstoffe einen stark verringerten DP-Wert. Die Abbauprodukte regenerierter bzw. mit NaOH-vorbehandelter Zellstoffe verfügen ebenfalls über wesentlich niedrigere DP-Wert als die der Ausgangsstoffe. Diese Tatsache sollen die Werte in Tabelle 3.2 veranschaulichen.

Tab. 3.2. Ergebnisse des heterogenen Abbaus von Fichtensulfit-Zellstoff, Bakterien-cellulose und Regeneratfaser.

Probe	DP_w	PDI
Fichtensulfitzellstoff (FiSi)	1080	6,14
FiSi-Regenerat ^a	980	4,49
FiSi <i>LODP</i>	190	4,02
FiSi-Regenerat <i>LODP</i>	54	1,74
Bakteriencellulose (BC)	2400	3,97
BC-Regenerat ^a	1420	3,32
BC <i>LODP</i>	290	4,01
BC-Regenerat <i>LODP</i>	44	1,53
Regeneratfaser ^b	1600	7,03
CM-8	51	1,81

^a 5 wt.-% Cellulose in 1-Ethyl-3-methylimidazoliumacetat

^b Tencel; *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid Verfahren

lichen. Der Fichtensulfitzellstoff bzw. die Bakteriencellulose wurde aus ionischer Flüssigkeit (1-Ethyl-3-methylimidazoliumacetat) regeneriert. Der LODP des nicht-behandelten Ausgangsmaterials liegt hierbei um das Vier- bis Sechsfache höher als der LODP der Regenerate. Dieser DP_w -Wert korreliert mit der Länge der im Substrat vorliegenden Mikrokristallite, da die amorphen Bereiche durch die Säurebehandlung in lösliche Produkte umgewandelt werden. Darüber hinaus wird durch Regeneration und anschließende HCl-Hydrolyse ein merklich kleinerer PDI zwischen 1,50 und 2,00 erreicht.

Für die weiteren Studien wurde auf eine kommerzielle Cellulose-Regeneratfasern (Tencel®; *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid Verfahren) zurückgegriffen. Der Abbau der Faser erfolgte in kochender 2,5 M Salzsäurelösung bei 103 °C für 15 min. Nach Aufarbeitung und Trocknung des Hydrolyseprodukts im Vakuum erhält man die *lmw* Cellulose-Probe **CM-8**. Die in Abbildung 3.2 dargestellte SEC-Kurve von **CM-8** hat ein Maximum bei etwa 50, was zugleich den DP_w -Wert von 51 markiert. Die zugehörigen DP-Werte entlang der Halbwertsbreite der Kurve erstrecken sich von 20 bis 100 Wiederholungseinheiten und decken somit den mittleren Bereich der Zielvorgabe für *lmw* Cellulosen sehr gut ab. Der PDI von 1,81 wird durch die monomodale Molmassenverteilung bestätigt.

3.1.2 Fraktionierung

Die Darstellung von *lmw* Cellulosen mit einem genau definierten DP_w -Wert und einem PDI deutlich unter 1,80 gelingt durch schrittweise Fraktionierung. Man kann DMA/LiCl als Cellulose-Lösemittel und Aceton als Fällmittel verwenden, wie es bereits für technische Zellstoffe beschrieben wurde (Eckelt et al. 2003). Dafür wird eine Lösung der *lmw* Cellulose-Probe (**CM-3/4/5** und **CM-8**) hergestellt (30 cm³ DMA und 1,8 g LiCl pro g Cellulose). Die Fällung konnte zunächst durch langsame Zugabe von bis zu 50 vol.-% Aceton erreicht werden. Jedoch löst sich dieser Niederschlag bei mechanischem Rühren des Gemischs wieder auf. Eine weitere Zugabe von kleinen Portionen des Fällmediums (60-75 vol.-%) ergab die erste Fraktion mit dem höchsten DP_w -Wert. Der Niederschlag wurde mittels Filtration oder Zentrifugation isoliert. Die sukzessive Zugabe von Aceton zum jeweils zurückbleibenden Filtrat/Zentrifugat und Abtrennung der ausfallenden Cellulose lieferte die weiteren Fraktionen mit abnehmenden DP_w -Wert und kleiner werdenden PDI. Ein gründliches Waschen der Probe mit Wasser und Aceton stellte sich als unerlässlich heraus, um reine und vor allem chloridfreie *lmw* Cellulosen zu erhalten.

Die Ergebnisse der Fraktionierung von **CM-5** und **CM-8** sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst. Im Fall der homogen in H_3PO_4 bei RT abgebauten *lmw* Cellulose-Probe **CM-5** wurden neun Fraktionen **CM-5_1** bis **CM-5_9** isoliert. Die DP_w -Werte der fraktionierten Proben variiert dabei von 12 bis 62. Dies entspricht in etwa den zur Halbwertsbreite zugehörigen DP-Werten des Ausgangsmaterials **CM-5** (siehe Kapitel 3.1.1.1). Die Fraktionen **CM-5_1** und **CM-5_2** besitzen die höchsten DP_w -Werte von ca. 60, wohingegen die Proben (**CM-5_7/8/9**) am Ende der fraktionierten Fällung DP_w -Werte von 12 bis 22 aufweisen. Diese Werte liegen im DP_w -Bereich der Cellodextrine **CM-7** (Abbildung 3.3), sind jedoch annähernd monodispers mit PDI-Werten kleiner als oder gleich 1,20. Da die Volumina an benötigtem Fällmedium reproduzierbar sind, ist eine Abtrennung der Fraktionen **CM-5_7/8/9** vom höhermolekularen Rest ($\text{DP}_w \geq 30$) in einem Schritt realisierbar.

Größenausschlusschromatogramme der Fraktionen (Beispiele in Abbildung 3.3) belegen die sehr enge Molmassenverteilung. Dabei besitzen die Proben **CM-5_5/6** ($\text{DP}_w = 30\text{-}39$) eine mit dem Ausgangsmaterial **CM-5** ($\text{DP}_w = 35$) vergleichbare Molmasse. Jedoch ist die SEC-Kurve von **CM-5_5** schmaler als die der unfraktionierten *lmw* Cellulose **CM-5**. Mathematisch ist dies in Form der PDI-Werte dokumentiert. Der PDI von **CM-5** ist mit 1,58 merklich höher als der PDI der Fraktionen **CM-5_5/6** ($\text{DP}_w = 1,30\text{-}1,36$). Da die

Tab. 3.3. Ergebnisse der Fraktionierung von niedermolekularer Cellulose **CM-5**.

Probe	Aceton [vol.-%]	Ausbeute [%]	DP_w	PDI
CM-5	-	-	35	1,58
CM-5_1	74	5	62	1,56
CM-5_2	76	13	57	1,50
CM-5_3	77	13	51	1,38
CM-5_4	78	8	46	1,36
CM-5_5	79	16	39	1,36
CM-5_6	80	19	30	1,30
CM-5_7	81	19	22	1,20
CM-5_8	83	6	18	1,21
CM-5_9	86	2	12	1,18

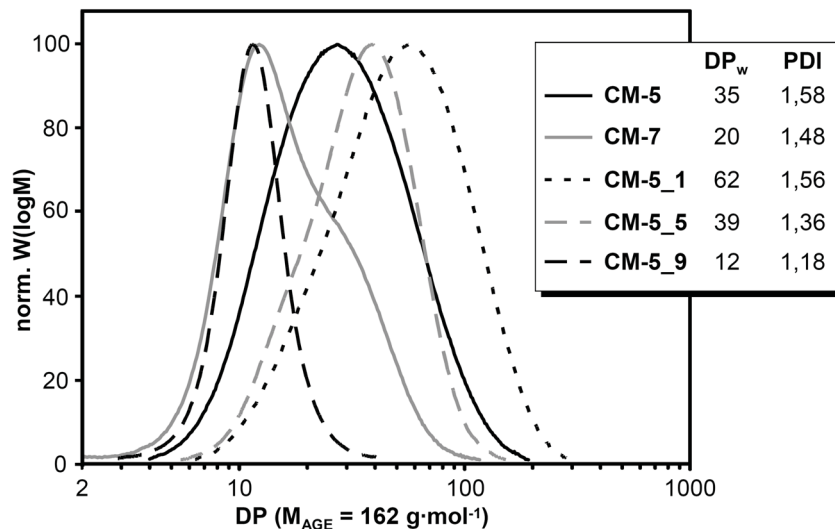


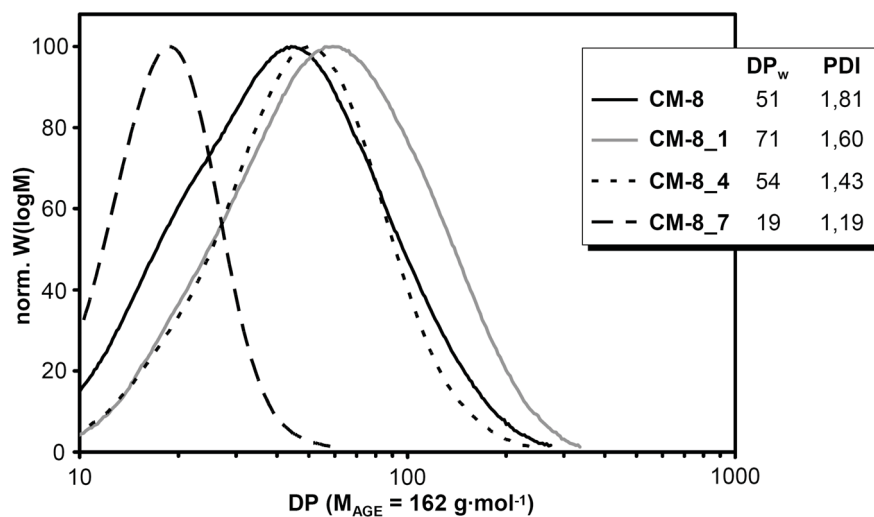
Abb. 3.3. SEC (DMA/0,21 wt.-% LiCl; Pullulan-Standard) der niedermolekularen Cellulose **CM-5**, der Cellodextrine **CM-7** und der erhaltenen Fraktionen.

SEC-Kurven der höhermolekularen Fraktionen (**CM-5_1/2/3**) annähernd deckungsgleich sind, kann man diese Proben vereinigen. Somit wurde eine *lmw* Cellulose mit einem DP_w-Wert von 54 und einer Gesamtausbeute von 30 % erhalten.

Die Fraktionierung des Hydrolyseproduktes **CM-8**, erhalten durch heterogenen Salzsäureabbau von Regeneratfasern (siehe Kapitel 3.1.1.2), wurde unter den gleichen Bedingungen durchgeführt, wie sie für **CM-5** beschrieben sind. Allerdings war der erforderliche Anteil an Aceton im Fällbad geringer, um die Fraktionen mit der größten Molmasse abzutrennen. Von der ersten bis zur letzten Fraktion wird ein DP_w-Bereich von 74 bis 19 Wiederholungseinheiten abgedeckt (Tabelle 3.4). Aus den SEC-Daten ist außerdem zu erkennen, dass die zuerst erhaltenen Fraktionen **CM-8_1/2/3** größere DP_w-Werte von 65 bis 74 als das Ausgangsmaterial **CM-8** (DP_w = 51) aufweisen. Die Molmassenverteilung für diese Fraktionen (PDI = 1,60-1,52) ist jedoch merklich enger als die des unfraktionierten Materials (PDI = 1,81). Die in Abbildung 3.4 gezeigten SEC-Kurven veranschaulichen, dass beispielsweise die Fraktion **CM-8_4** im Vergleich zur Ausgangsprobe **CM-8** eine auffallend engere Molmassenverteilung aufweist. Die am Ende der Fraktionierung erhaltenen Proben **CM-8_6/7** mit DP_w-Werten zwischen 19 und 29 können durch Zugabe von mehr als 75 vol.-% Aceton abgetrennt werden. Die signifikante Abnahme der DP_w-Werte ist für entsprechende SEC-Kurven ebenfalls der Abbildung 3.4 zu entnehmen.

Tab. 3.4. Ergebnisse der Fraktionierung von niedermolekularer Cellulose **CM-8**.

Probe	Aceton [vol.-%]	Ausbeute [%]	DP _w	PDI
CM-8	-	-	51	1,81
CM-8_1	65	22	71	1,60
CM-8_2	67	13	74	1,55
CM-8_3	70	20	65	1,52
CM-8_4	72	16	54	1,43
CM-8_5	75	14	43	1,35
CM-8_6	77	11	29	1,31
CM-8_7	81	5	19	1,19

**Abb. 3.4.** SEC (DMA/0,21 wt.-% LiCl; Pullulan-Standard) der niedermolekularen Cellulose **CM-8** und der erhaltenen Fraktionen.

Zu einem unvollständigen Abbau der amorphen Bereiche kann es kommen, wenn die in Kapitel 3.1.1.2 beschriebenen Hydrolysebedingungen für den heterogenen Abbau von Cellulose-Regeneratfasern insbesondere die Hydrolysezeit und die Temperatur nicht eingehalten werden. Das Chromatogramm einer solchen unvollständig abgebauten *lmw* Cellulose ist in Abbildung 3.5 (schwarze Kurve) dargestellt. Aufgrund der geringen Intensität des höhermolekularen Anteils mit DP-Werten größer als 500 kann leicht eine Verwechslung mit dem Lösungsmittelsignal der SEC-Anlage auftreten. Der unvollständig

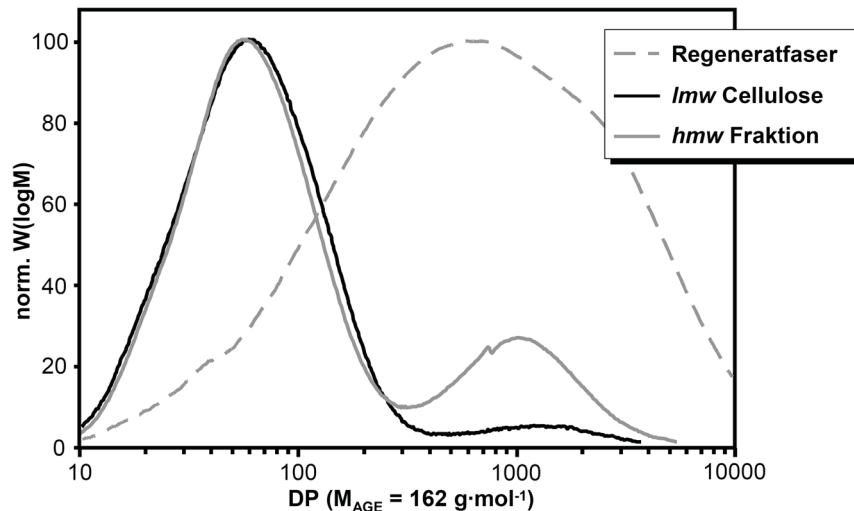


Abb. 3.5. SEC (DMA/0,21 wt.-% LiCl; Pullulan-Standard) der Regeneratfaser, einer unvollständig abgebauten niedermolekularen (*lmw*) Cellulose und die höhermolekulare (*hmw*) Fraktion.

abgebaute Anteil der Probe kann jedoch wesentlich besser identifiziert werden, wenn eine fraktionierte Fällung aus DMA/LiCl durchgeführt wird. Es handelt sich dabei um Cellulose-Mikrokristallite, die nach unzureichender Hydrolyse nicht isoliert von den amorphen Bereichen der Faser vorliegen. Die grau dargestellte SEC-Kurve der ersten Fraktion dokumentiert ausgezeichnet den höhermolekularen Anteil, da das zweite lokale Maximum bei einem DP-Wert von 1100 liegt und damit in den DP-Bereich der verwendeten Regeneratfaser fällt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die fraktionierte Fällung von **CM-5** und **CM-8** ausgezeichnet zur Darstellung von *lmw* Cellulosen im Labormaßstab eignet und DP_w -Werte von 15 bis 75 zugänglich sind. Dabei führt die Fraktionierung der homogen abgebauten Cellulose-Probe **CM-5** zu *lmw* Cellulosen im DP_w -Bereich von 12 bis 62, was bis an die DP_w -Werte der Cellodextrine heranreicht. Auf der anderen Seite decken die Fraktionen des Hydrolyseproduktes **CM-8** einen DP_w -Bereich bis 75 Wiederholungseinheiten ab. Sind allerdings *lmw* Cellulosen mit einem DP_w -Wert größer als 75 und einer engen Molmassenverteilung von Interesse, kann man auf die Abbauprodukte der homogenen Hydrolyse in H_3PO_4 bei $8^\circ C$ (**CM-3** und **CM-4**) zurückgreifen. Die jeweils ersten beiden Fraktionen der Fällung in DMA/LiCl besitzen annähernd gleiche DP_w -Werte (Tabelle 3.4). Daher ist die Abtrennung des höhermolekularen Anteils als Niederschlag durch Zugabe von ca. 70-72 vol.-% Aceton in einem Schritt außerordentlich effektiv. Der in dem Fall nicht gewünschte niedermolekulare

Tab. 3.4. Die Ergebnisse der Fraktionierung der niedermolekularen Cellulosen **CM-3** ($DP_w = 111$) und **CM-4** ($DP_w = 72$).

Probe	Aceton [vol.-%]	Ausbeute [%]	DP_w	PDI
CM-3	-	-	111	2,02
CM-3_1	67	20	121	2,00
CM-3_2	71	65	127	1,72
CM-3_3	75	10	81	1,62
CM-3_4	82	5	37	1,46
CM-4	-	-	72	2,12
CM-4_1	67	60	90	2,18
CM-4_2	71	14	87	2,07
CM-4_3	75	15	73	2,15
CM-4_4	78	9	36	1,71
CM-4_5	83	2	17	1,55

Anteil verbleibt im Lösungsmittelgemisch. Die Fraktionierung von **CM-4** ergibt eine vereinigte Probe (**CM-4_1** + **CM-4_2**) mit einem DP_w -Wert von 90 und einer Ausbeute von etwa 75 %. Das gleiche Verfahren führt bei der *lmw* Cellulose **CM-3** zu einer höhermolekularen Fraktion (**CM-3_1** + **CM-3_2**) mit etwa 130 Wiederholungseinheiten (85 % Ausbeute). Im Gegensatz zu kommerziell erhältlichen Cellulosen besitzen die hier beschriebenen *lmw* Cellulosen einen merklich kleineren PDI.

3.1.3 Strukturcharakterisierung

Die FTIR-Spektren aller *lmw* Cellulose-Proben wurden mit dem Spektrum von MCC verglichen. In Abbildung 3.6 sind die Spektren der kommerziellen MCC und der Proben **CM-5** und **CM-8** übereinandergelegt. Man erkennt keine Unterschiede, somit ist von keiner Funktionalisierung während der verschiedenen Abbaumethoden auszugehen. Die Ergebnisse der Elementaranalyse stützen diesen Befund, da die Zusammensetzung von **CM-5** (C: 43,1 %; H: 6,3 %) und **CM-8** (C: 42,8 %; H: 6,3 %) kaum von der der MCC (C: 43,0 %; H: 6,3 %) abweicht.

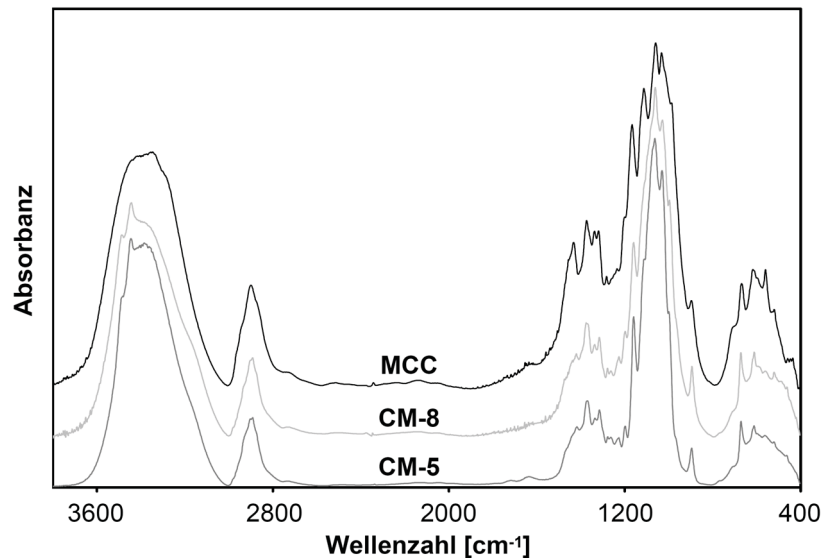


Abb. 3.6. FTIR-Spektren von niedermolekularer (**CM-5**, **CM-8**) und mikrokristalliner Cellulose (MCC).

In Abbildung 3.7 sind die Ergebnisse der Röntgenweitwinkelstreuung (WAXS) der homogen abgebauten Probe **CM-5** und der heterogen abgebauten Probe **CM-8** im Vergleich zur verwendeten MCC dargestellt. Den Streubildern kann entnommen werden, dass die hergestellten *lmw* Cellulosen **CM-5** und **CM-8** die typischen strukturellen Merkmale von Cellulose-Regeneraten besitzen. Denn im Gegensatz dazu zeigt MCC, bei der es sich um ein partiell hydrolysiertes natives Cellulosematerial handelt, die charakteristischen Reflexe für eine Cellulose I Struktur. Der (101)-Reflex liegt bei $2\theta = 15,2^\circ$, der (10-1)-Reflex bei $16,9^\circ$, der (002)-Reflex bei $23,0^\circ$ und der (040)-Reflex bei $35,0^\circ$ (vgl. Abbildung 3.7). Das Vorliegen der thermodynamisch stabileren Modifikation Cellulose II erscheint für die aus Cellulose-Regeneratfasern erhaltene Probe **CM-8** schlüssig. Im Fall der durch homogenen Abbau von MCC erhaltenen Probe **CM-5** ist die Änderung der Kristallstruktur von Cellulose I zu Cellulose II deutlich den zugehörigen Streubildern zu entnehmen. Die gut aufgelöste Aufspaltung der (10-1)- und (002)-Reflexe bei $2\theta = 20,5^\circ$ und $22,4^\circ$ wird für Cellulose-Proben nur selten so gut aufgelöst beobachtet. Auffällig ist weiterhin die schwache Auflösung des (040)-Reflexes bei $2\theta = 35,2^\circ$, welcher in den Streubildern der *lmw* Cellulosen darüber hinaus noch stark verbreitert erscheint. Daraus lässt sich für die im Rahmen der Arbeit dargestellten *lmw* Cellulosen eine geringe Kristalllänge schlussfolgern. Der (040)-Reflex im Streubild der MCC ist im Unterschied dazu wesentlich schärfer aufgelöst.

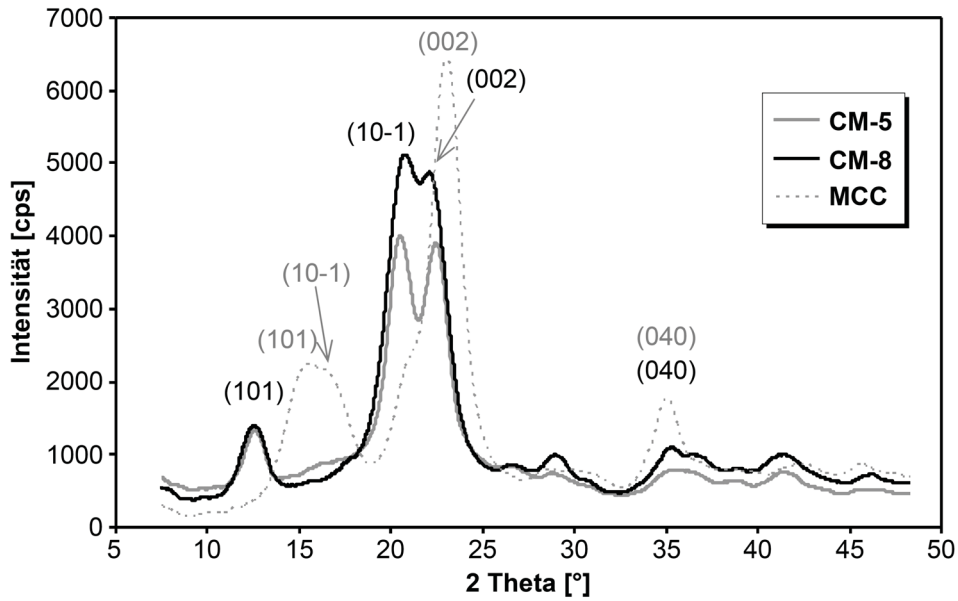


Abb. 3.7. Röntgenweitwinkelstreubild (WAXS) der niedermolekularen (**CM-5**, **CM-8**) und der mikrokristallinen Cellulose (MCC) und Zuordnung der Reflexe (schwarz: **CM-5**, **CM-8**; grau: MCC).

Zur Software gestützten Berechnung der anderen Kristallitgrößenäquivalente wurden der (101)-Reflex bei $2\ \text{Theta} = 12,5^\circ$ als Maß für die Kristallitbreite und der (10-1)-Reflex bei $2\ \text{Theta} = 20,5^\circ$ als Maß der Höhe herangezogen (Lenz et al. 1986). Diese Art der Auswertung ergab Kristallitbreiten von 6,5 nm für **CM-5** und 5,2 nm für **CM-8**. Die Höhe der Mikrokristallite liegt für **CM-5** bei 5,2 nm und für **CM-8** bei 3,7 nm. Diese Kristallitdimensionen liegen im Größenordnungsbereich der Literaturwerte für Cellulose-Regeneratfasern (Fink et al. 1995). Die Kristallitlänge konnte aufgrund der Probenspezifika nicht hinreichend bestimmt werden, da hierzu die Peakbreite des (040)-Reflexes bei $2\ \text{Theta} = 35,2^\circ$ in einer parallel ausgerichteten Faserschar gemessen werden müsste. Die Probe lag jedoch pulverförmig vor.

Weiterhin unterscheiden sich die *lmw* Cellulosen **CM-5** und **CM-8** hinsichtlich ihrer Röntgen-Kristallinität x_c von den jeweiligen Ausgangsmaterialien. Die Werte wurden nach einer Auswertung der Streubilder, die auf Ruland (1961) und Vonk (1973) zurückgeht, ermittelt. Für die homogen abgebaute Probe **CM-5** liegt der x_c -Wert bei 57 %, im Vergleich dazu hat die in der Hydrolyse verwendete MCC ein x_c -Wert von 78 %. Eine konträre Änderung der Werte wurde für den heterogenen Abbau beobachtet. Die eingesetzte Regeneratfaser besitzt einen x_c -Wert von 54 % und das Abbauprodukt **CM-8** eine Kristallinität von 78 %.

Die molekulare Struktur der *lmw* Cellulosen wurde mittels NMR-Spektroskopie untersucht. Nebenreaktionen während des homogenen Abbaus mit H_3PO_4 konnten für alle Proben ausgeschlossen werden, da kein Signal bei 63 ppm in den ^{13}C - bzw. DEPT (135)-NMR-Spektren lokalisierbar ist. Ein Peak bei dieser Verschiebung würde für einen Phosphatester in Position 6 der AGE sprechen. Eine Bestätigung dieser Annahme lieferte die Phosphor-Bestimmung nach Mikrowellenaufschluss der homogen abgebauten Probe **CM-5** mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES). In den Proben konnten nur Spuren an Phosphor (0,047 %) detektiert werden. Während die Cellodextrine **CM-6** und **CM-7** aufgrund ihrer zumindest teilweisen Löslichkeit in $\text{DMSO-}d_6$ gemessen werden konnten, ist dies für die *lmw* Cellulosen nicht möglich. Die Aufnahme von NMR-Spektren in $\text{DMSO-}d_6$ /Tetrabutylammoniumfluorid Trihydrat (TBAF) war für kurzkettige Cellulose-Modellverbindungen ebenso nicht möglich, da vermutlich eine Oxidation der Cellulosekette ausgehend von der reduzierenden Endgruppe (REG) stattfindet. Die Beteiligung von zuvor aktiviertem DMSO ist für vielfältige Oxidationen beschrieben (Mancuso und Swern 1981). Es tritt schnell eine dunkle Verfärbung der Lösung ein, insbesondere wenn die Proben zur Verbesserung der Auflösung bei 70 °C vermessen werden. Eine Verfärbung der Lösung wird hingegen für Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**) in $\text{DMSO-}d_6$ /TBAF nicht beobachtet. Dies belegt, dass der oxidative Abbau nur stattfindet, wenn eine Halbacetal-Struktur an der REG vorliegt.

Aufgrund dieser Tatsache wurde in weiteren NMR-spektroskopischen Untersuchungen ein Gemisch aus ionischer Flüssigkeit und $\text{DMSO-}d_6$ als Lösungsmittel verwendet. 1-Butyl-3-methylimidazoliumchlorid (BMIMCl) zeigt zum einen keine Interaktion mit der REG und zum anderen liegen die Signale der Imidazolium-Kohlenstoffatome außerhalb des für Kohlenhydrate (105-55 ppm) in Frage kommenden Frequenzbereiches. Im $[^1\text{H}, ^{13}\text{C}]$ -NMR-Korrelationsspektrum von **CM-5** können neben den Kohlenstoffatomen der internen AGE auch Signale der Endgruppen ermittelt werden (Abbildung 3.8). Die sechs heteronuklearen 1J -Kopplungen (C/H-1i/2i/3i/4i/5i/6i) der internen AGE treten bei 101,7; 72,8; 74,1; 78,7; 74,5 und 59,4 ppm entlang der ^{13}C -Achse auf. Die gefundenen Werte stimmen mit den Verschiebungswerten der Kohlenstoffatome von Cellulose in nicht-derivatisierenden NMR-Lösungsmitteln überein. Neben dem Crosspeak für C/H-1i findet man drei weitere Signale, die Kohlenstoffatomen in Position 1 zugeordnet wurden. Das Signal bei 102,2 ppm wies man dabei dem Kohlenstoffatom in Position 1 der nicht-reduzierenden Endgruppe (nREG) zu. Die Signale bei 91,3 bzw. 96,1 ppm gehören zum

anomeren Kohlenstoff der REG, bei der die Hydroxylgruppe entweder axial (C/H-1 α) oder äquatorial (C/H-1 β) steht (Abbildung 3.8). Außerdem werden die ^1H -Signale der verschiedenen Protonen in Position 1 lokalisiert. Die Dupletts beobachtet man bei 4,91 (H-1 α); 4,49 (H-1i); 4,37 (H-1n) und 4,34 ppm (H-1 β). Zusätzlich sind im Spektrum noch 1J -Kopplungen (C/H-3n/4n/5n) der nREG bei 75,9; 69,5 und 76,2 ppm erkennbar. Eine detaillierte Zuordnung der Kohlenstoffsignale für *lmw* Cellulose (CM-5) und Cellodextrine (CM-6) kann Kapitel 3.3 entnommen werden.

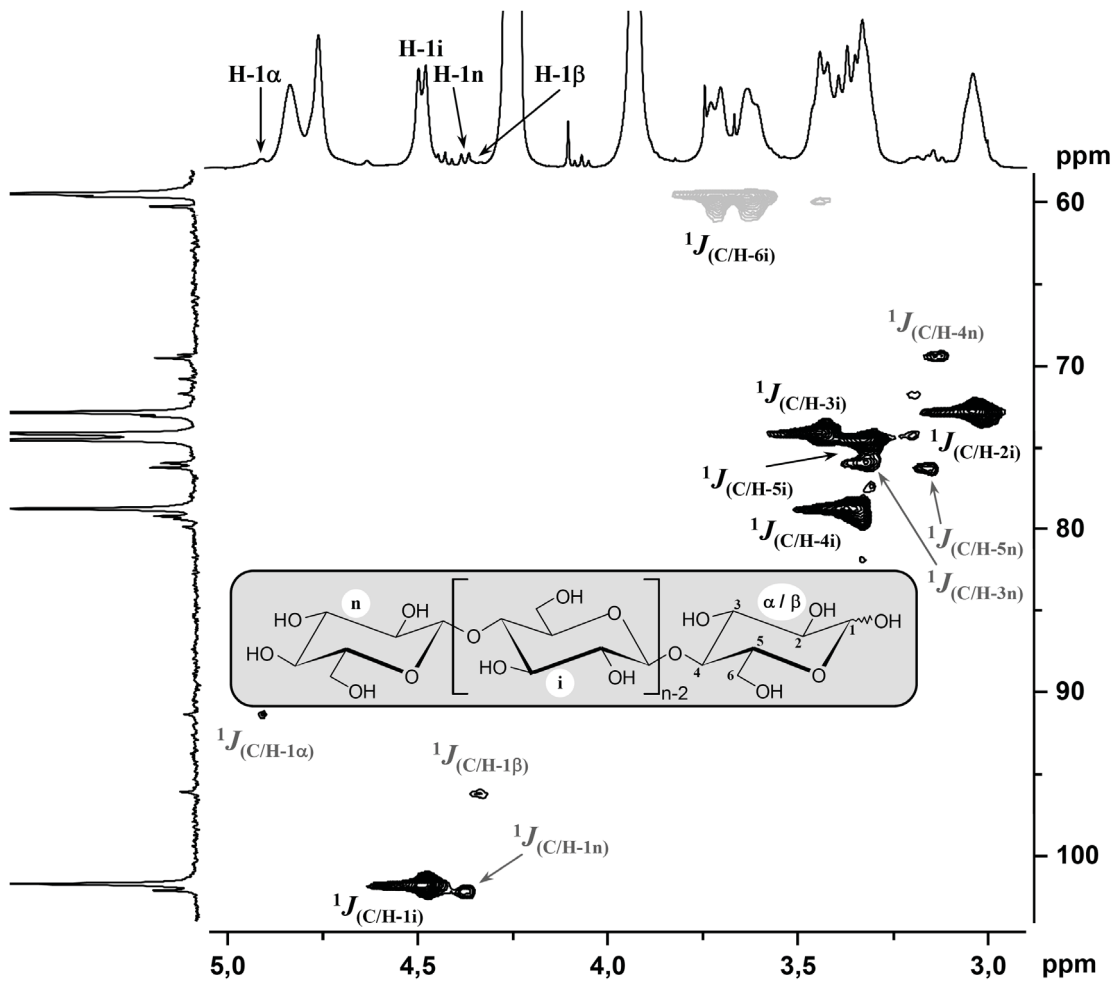


Abb. 3.8. [^1H , ^{13}C]-NMR-Korrelationspektrum (HSQC-DEPT) von CM-5 in BMIMCl/DMSO- d_6 und Zuordnung der Kohlenstoffatome zu verschiedenen Anhydroglucoseeinheiten (n: nicht-reduzierende Endgruppe; i: interne Anhydroglucoseeinheit; α/β : reduzierende Endgruppe).

3.2 Alkyl- β -D-cellulose

Die in diesem Kapitel beschriebenen nicht-reduzierenden Cellulose-Modellverbindungen werden unterschieden in monodisperse Alkyl- β -D-cellulose (DP = 2 bzw. 3) und in Cellulose-Modelle mit einer definierten Kettenlänge zwischen 5 und 25 Wiederholungseinheiten.

3.2.1 Monodisperse Verbindungen

3.2.1.1 Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D-cellobiosid

Eine effiziente Synthese des Methyl- β -glycosids von D-Cellobiose ausgehend vom unmodifizierten Disaccharid wurde auf der Basis der Arbeiten von Fairweather et al. (2004) und Hunsen et al. (2005) entwickelt. Im ersten Schritt führte man eine Acetobromierung von D-Cellobiose über *in situ* Generierung von Bromwasserstoff im quartären Gemisch aus Acetanhydrid, Eisessig, Acetylbromid und Methanol durch (Abbildung 3.9). Es wurde das Hepta-*O*-acetyl- α -D-cellobiosylbromid in guten Ausbeuten erhalten. Dieses setzte man unter *Koenigs-Knorr*-Bedingungen in Gegenwart unlöslicher Silbersalze zum korrespondierenden Methyl- β -glycosid um. Abschließende Deacetylierung nach Zemplén lieferte das gewünschte Methyl- β -D-cellobiosid (Me- β -D-clb). Umkristallisation aus Ethanol lieferte das reine Me- β -D-clb (**CM-10**), wie NMR-Untersuchungen bestätigten. Eine vollständige Zuordnung der Protonen- und Kohlenstoffsignale konnte durch Kombination von 1D-TOCSY („total correlation spectroscopy“)-Messungen bei unterschiedlichen selektiven Anregungsfrequenzen und der Auswertung heteronuklearer NMR-Korrelationsspektren (HSQC und HMBC) erzielt werden. Die detaillierte Zuordnung der Verschiebungswerte ist in Kapitel 3.3 zusammengefasst.

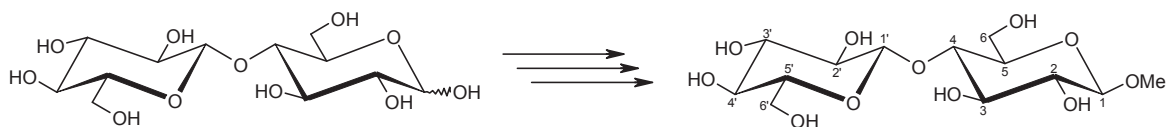


Abb. 3.9. Synthese von Methyl- β -D-cellobiosid (**CM-10**; 1. AcOH/Ac₂O/HClO₄, RT 45 min; AcBr/MeOH, RT 16 h; 2. Dichlormethan, MeOH, Molekularsieb 3 Å, Ag₂CO₃, RT 5 h; 3. MeOH, NaOMe-Lösung, RT 16 h).

3.2.1.2 Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D-celotriosid

Während D-Cellobiose kommerziell in größeren Mengen verfügbar ist, musste für die Synthese des nächst längeren Homologen, dem Methyl- β -D-celotriosid zunächst die monodisperse Verbindung als Halbacetal dargestellt werden. Dafür wurde MCC einer sauren Hydrolyse (Acetolyse) in Gegenwart von Acetanhydrid, Eisessig und Schwefelsäure im Verhältnis 10:10:1 für 24 Stunden bei 40 °C unterworfen (siehe Kapitel 2.3.2, Wolfrom und Thompson 1963b). Das getrocknete Rohprodukt der peracetylierten Cellodextrine lässt sich durch unterschiedliche Löslichkeit in Aceton in Fraktionen auftrennen. Die acetonlöslichen und kurzkettigen Cellodextrin-peracetate wurden anschließend in einer aufwendigen Prozedur säulenchromatographisch auf Silicagel getrennt (Abbildung 3.10). Das Ziel war die Isolierung des D-Celotriose-undecaacetates. Es ist jedoch auch möglich das Tetramer auf diesem Weg zu separieren (Malet et al. 1995).

Die peracetylierte D-Celotriose wurde in Eisessig durch Behandlung mit Bromwasserstoff in das korrespondierende α -Glycosylbromid überführt. Dabei ist auf eine möglichst kurze Reaktionszeit zu achten, da es bereits nach 1 h zu einem merklichen Abbau des Trimers kommt. Die weiteren Stufen der Darstellung von Methyl- β -D-celotriosid (Me- β -D-clt, **CM-11**) wurden analog der in Kapitel 3.2.1.1 beschriebenen Synthese von **CM-10** durchgeführt.

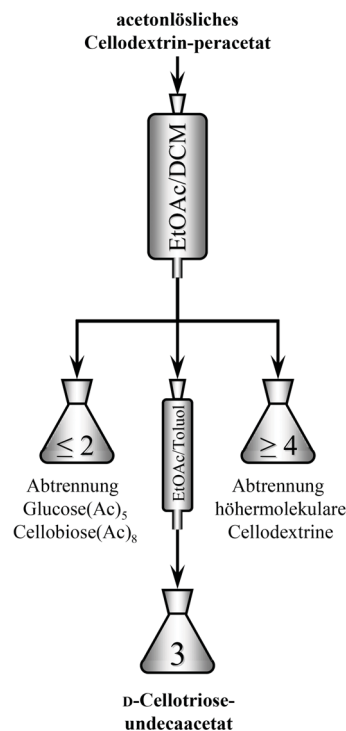


Abb. 3.10. Schematische Darstellung der säulenchromatographischen Trennung des Rohproduktes der Acetolyse von MCC.

Die Monodispersität des Ausgangsmaterials wurde mittels Massenspektrometrie (ESI) belegt. Man detektiert ausschließlich ein Molekülion $[M + Na]^+$ für D-Cellotriose-undecaacetat bei m/z 989,1 (berechnete mittlere Molmasse $989,3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Die deacetylierte Zielverbindung **CM-11** wurde zunächst mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie charakterisiert. Die detektierte Massenzahl (m/z 540,95) stimmt dabei mit der berechneten monoisotopischen Masse von 541,17 gut überein. Da man keine Signale für das Methylglycosid der Glucose und Cellobiose findet, kann ein Abbau während der Synthese ausgeschlossen werden. Außerdem wurde kein Ion detektiert, was für eine unvollständige Einführung der Methoxylgruppe an der REG sprechen würde.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von Me- β -D-clt in Abbildung 3.11 zeigt, dass die Blockierung der REG stereoselektiv abläuft. Man erkennt nur Kohlenstoffsignale über 100 ppm, die eine β -glycosidische Bindung der Methoxylgruppe an am anomeren Kohlenstoffatom der REG belegen. Weiterhin liegen die jeweiligen Signale der Kohlenstoffe in gleicher Ringposition sehr eng zusammen. Einzige Ausnahmen bilden die Kohlenstoffe in Position 3, 4 und 5 der nREG. Die genaue Zuordnung der weiteren ^{13}C -NMR-Signale erfolgt in Kapitel 3.3.

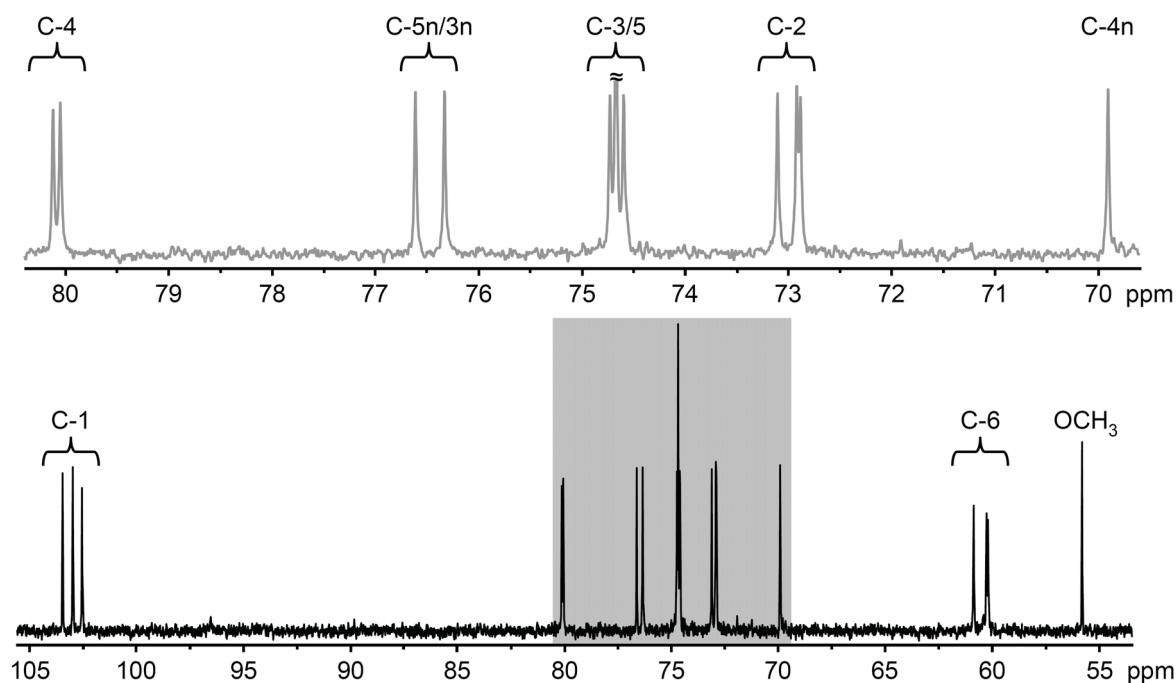


Abb. 3.11. ^{13}C -NMR-Spektrum von Methyl- β -D-cellotriosid (**CM-11**) in $\text{DMSO-}d_6$.

3.2.2 Verbindungen mit definierter Kettenlänge

Bisher wurde die Darstellung von *lmw* Cellulosen, Cellodextrinen und den Methyl- β -glycosiden von D-Cellobiose und D-Celotriose (**CM-1** bis **CM-11**) geschildert. In diesem Kapitel werden Synthesewege hin zu Cellulose-Modellverbindungen mit einer Alkoxygruppe in β -Konfiguration an der REG beschrieben. Die Cellulose-Modelle sollen dabei zahlenmittlere durchschnittliche Polymerisationsgrade (DP_n) im Bereich von 5 bis 25 und eine enge Molmassenverteilung aufweisen. Sie dienen somit als Referenzsubstanzen zu den Cellodextrinen und *lmw* Cellulosen mit Halbacetal-Struktur. Als Ausgangsmaterialien für die Synthese mit einer möglichst geringen Anzahl an Reaktionsschritten kamen MCC und kommerzielles Cellulosetriacetat (CTA, DS = 2,85) in Frage. Jeder beschriebene Syntheseweg beinhaltet neben einem optimierten Abbauprozess zum gewünschten DP_n -Wert eine stereospezifische Glycosylierung, um die Alkoxygruppe in β -Stellung am anomeren Kohlenstoff einzuführen.

Als effizienteste Methode zur Blockierung der REG wurde die für per-*O*-acetylierte Monosaccharide beschriebene direkte Glycosylierung mit 2,2,2-Trichlorethanol (TCE) unter Lewis-Säure-Katalyse (Magnusson et. al 1981) untersucht. In Abbildung 3.12 ist der Mechanismus einer solchen 1,2-*trans*-Glycosylierung für per-*O*-acetylierte Cellulose dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Acetatgruppe in Nachbarschaft zum anomeren Kohlenstoffatom in die nucleophile Substitution eingreift. Nachdem im ersten Schritt die Abgangsgruppe, entweder ein Acetat-Anion oder eine CTA-Fragment, unter Lewis-Säure-Katalyse abgespalten wird, stabilisiert die 2-*O*-Acetylgruppe das reaktive Carbeniumion als ringförmiges 1,2-Acetoxoniumion. Der nucleophile Angriff am anomeren Kohlenstoff in Position 1 kann somit nur von oben erfolgen. Die Reaktion endet, indem das Nucleophil

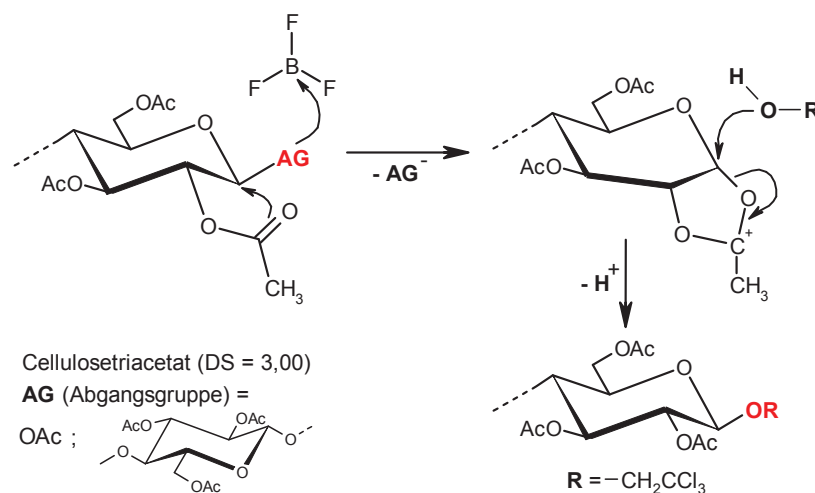


Abb. 3.12. Mechanismus der 1,2-*trans*-Glycosylierung am Beispiel von Cellulosetriacetat.

in *trans*-Stellung zum 1,3-Dioxolan-Ring addiert und dieser sich wieder in die 2-*O*-Acetylgruppe umwandelt.

Außerdem sollte $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ als starke Lewis-Säure gleichermaßen als Glycosylierungsreagenz und zur gezielten Depolymerisation von CTA in einem Schritt zum Einsatz kommen, wie es bereits für die Pivaloyse hin zu Cellooligomeren beschrieben ist (Arndt et al. 2003).

3.2.2.1 Synthese und Charakterisierung von 2,2,2-Trichloroethyl- β -D-²⁵cellulosid

Als Ausgangsstoff für die Celluloside wurde Tri-*O*-acetyl-cellulose aus MCC durch homogener Veresterung in DMA/LiCl hergestellt (Abbildung 3.13 Reaktion (a)). Eine hohe Reinheit des synthetisierten CTA ist unbedingt notwendig, um einen unspezifischen Abbau oder gar eine Vernetzung über nicht umgesetzte Hydroxylgruppen auszuschließen. Das CTA, welches nach Umfällen, Mahlen in einer Kugelmühle und ausgiebigem Trocknen im Vakuum erhalten wurde, besitzt einen DP_n -Wert von 110. Im FTIR-Spektrum der peracetylierten Cellulose werden keine Signale für OH-Valenzschwingungen gefunden. Zusätzlich bestätigt die nochmalige Perpropionylierung der Probe, dass der durchschnittliche Substitutionsgrad (DS) an Acetylgruppen für das im Weiteren verwendete Ausgangsmaterial 3,00 beträgt.

Der Einfluss der $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ Konzentration und der Hydrolysezeit auf den DP_n -Wert der Abbauprodukte wurde zuerst untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.5 zusammengefasst. Die erste Reihe von Experimenten (Eintrag 1-4) wurde in wasserfreiem Dichlormethan (DCM) mit 2,2,2-Trichlorethanol (TCE) als Sauerstoff-Nucleophil durchgeführt. Das molare Verhältnis AGE: $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ variierte zwischen 1:1 und 1:4. Die Hydrolysezeit wurde zwischen 14 und 48 Stunden gewählt. Sowohl die Erhöhung des Anteils an Lewis-Säure als auch eine längere Reaktion führten zu niedrigeren DP_n -Werten der Hydrolyseprodukte. Dabei ist ein drastischer Ausbeuteverlust bei einer Hydrolysezeit von 48 Stunden (Eintrag 3) und einem molaren Verhältnis von 1:4 (Eintrag 4) zu beobachten. Die gewünschten Produkte im DP_n -Bereich kleiner als 30 wurden zwar erhalten, jedoch zeigten die SEC bimodale Verteilungen und PDI-Werte schwankten um 2,0. Daher ist von einem nichtstatistischen und unvollständigen Abbau des CTA auszugehen. Spuren von Wasser im Reaktionsgemisch könnten ein Grund dafür sein.

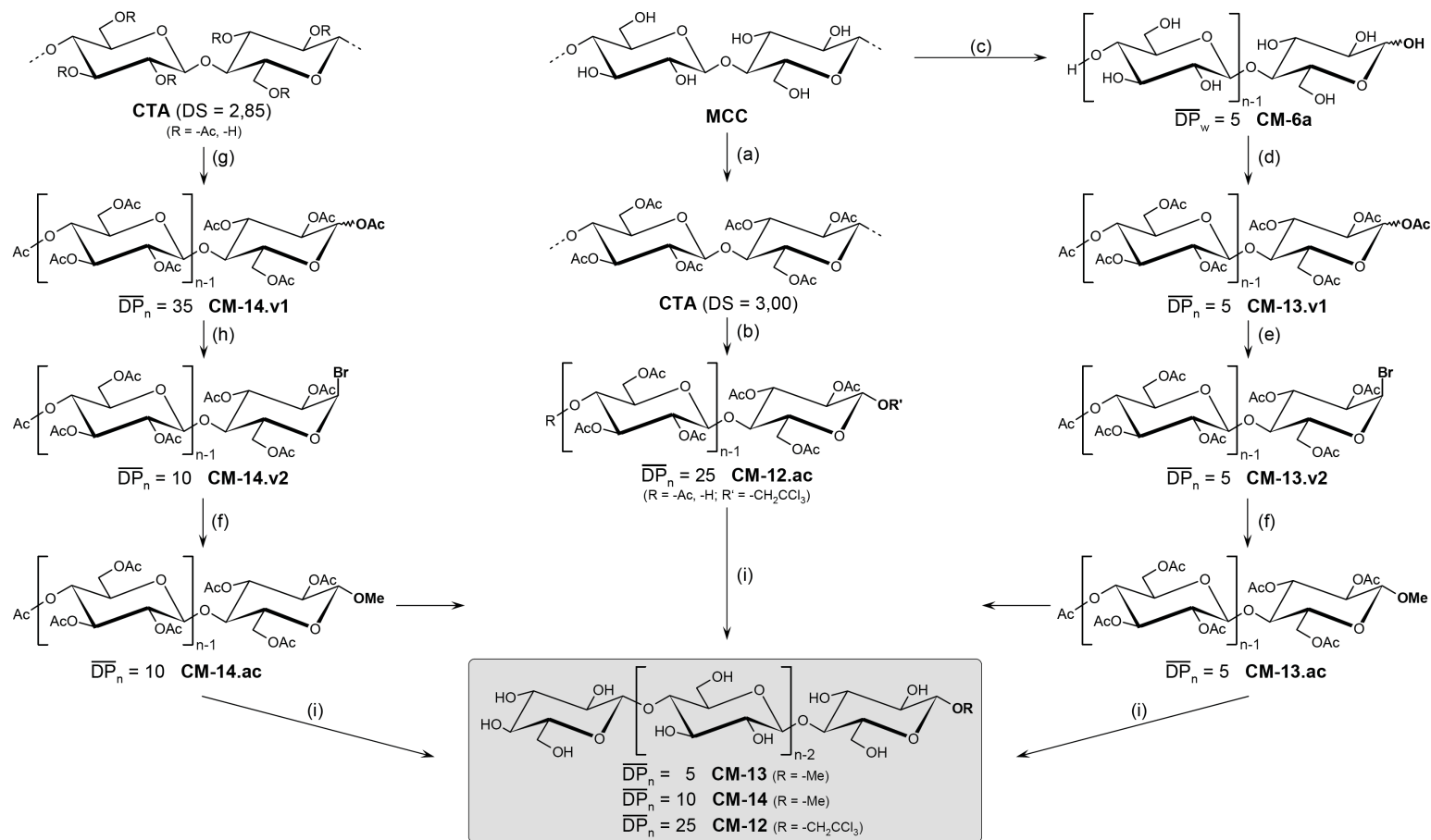


Abb. 3.13. Synthese der Alkyl- β -D-cellulose mit unterschiedlicher Kettenlänge **CM-12**, **CM-13** und **CM-14** (Struktur der Zielverbindung repräsentiert die drei möglichen Anhydroglucoseeinheiten) ausgehend von mikrokristalliner Cellulose (MCC) und Cellulosetriacetat (CTA): (a) DMA/LiCl, Acetylchlorid, 80 °C 2 h; (b) Dichlormethan (DCM), 2,2,2-Trichlorethanol/BF₃·Et₂O, RT 20 h; (c) H₃PO₄ 85 %, 55 °C 16 h; (d) Ac₂O/Natriumacetat, 140 °C 1,5 h; (e) AcOH/33 % HBr in AcOH, RT 0,5 h; (f) DCM, MeOH, Molekularsieb 3 Å, Ag₂CO₃, RT 40 h; (g) AcOH/Ac₂O/HClO₄, 40 °C 16 h; (h) DCM, Ac₂O/33 % HBr in AcOH, RT 16 h; (i) MeOH/DCM, NaOMe-Lösung, RT.

Tab. 3.5. Bedingungen und Ergebnisse des Abbaus von Cellulosetriacetat (DS = 3,00) in Dichlormethan (DCM) und 2 vol.-% 2,2,2-Trichlorethanol.

Eintrag	mol. Verhältnis AGE:BF ₃ ·Et ₂ O	Hydrolysezeit [h]	Ausbeute [%]	DP _n	PDI
1	1:1,6	14	80	46	1,93
2	1:2,0	24	70	31	1,94
3	1:2,0	48	43	28	2,03
4	1:4,0	24	36	22	2,00
5^a	1:1;6	24	62	24	1,46

^a Verwendung von DCM_{ultratrocken} anstelle von DCM_{wasserfrei}

Infolgedessen wurde ultratrockenes DCM anstelle von wasserfreiem DCM unter Inertgas-Atmosphäre verwendet. Man erhält so ein Hydrolyseprodukt (Eintrag 5, Tabelle 3.5) mit einem DP_n-Wert von 24. Darüber hinaus zeigte das Elugramm der SEC in DMA/LiCl eine enge monomodale Verteilung mit einem PDI kleiner als 1,50.

Optimale Bedingungen zur Darstellung von 2,2,2-Trichloroethyl-tri-*O*-acetyl-β-D-²⁵cellulosid (**CM-12.ac**) im größeren Maßstab sind ein molares Verhältnis AGE:BF₃·Et₂O von 1:1,1 und eine Hydrolysezeit von 20 Stunden bei RT (Abbildung 3.13 Reaktion (b)). Die Konzentration des TCE lag bei 2 vol.-%. Die peracetylierte Probe **CM-12.ac** hat einen DP_n von 27 gemessen mittels SEC in DMA/LiCl unter Verwendung von Polystyren (PS)-Standards (Abbildung 3.14). Der PDI von 1,43 wird durch die monomodale Molmassenverteilung bestätigt.

Das resultierende 2,2,2-Trichloroethyl-β-D-²⁵cellulosid (TCE-β-D-²⁵cld, **CM-12**) erhält man nach Deacetylierung unter Zemplén-Bedingungen durch Einwirkung von Natriummethanolat auf eine Lösung von **CM-12.ac** in DCM und Methanol (Abb. 3.13 Reaktion (i)). Der DP_n von **CM-12** kann mittels des durch Elementaranalyse bestimmten Chlorgehaltes nach folgender Formel berechnet werden:

$$\overline{DP}_n = \frac{3 \cdot M_{Cl} \cdot 100\% - M_{TCE}}{M_{AGU}} = \frac{10635,81 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \% - 149,40 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}}{162,14 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}}$$

Eine Doppelbestimmung des Chlorgehaltes von **CM-12** ergibt einen DP_n-Wert von 20 ± 1, was vergleichbar mit den Daten der SEC-Messung mit Pullulan (Pun)-Standards in

DMA/LiCl ist ($DP_n = 24$). In Abbildung 3.14 sind die SEC-Kurven, aufgetragen über dem Polymerisationsgrad (Kalibration: Pun bzw. PS), von **CM-12** und **CM-12.ac** kongruent. Daraus lässt sich schließen, dass die DP-Werte der hier beschriebenen Proben und deren peracetylierten Verbindungen vergleichbar sind und während der Deacetylierung kein Abbau der Celluloseketten auftritt.

Eine dritte Methode zur Bestimmung des DP_n -Wertes bietet die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, wie es bereits für niedermolekulare CTA bekannt (Einfeldt et al. 2005), allerdings bisher nicht für Cellulose beschrieben ist. In der hier durchgeführten Berechnung wurden die NMR-Daten der deacetylierten Verbindung **CM-12** herangezogen (vgl. Ausschnitt in Abbildung 3.17). Der DP_n -Wert, berechnet nach Linienformanalyse auf Basis der Integrale der einzelnen Methin-Protonen (H-1 β und H-1i), beträgt 24 ± 4 und liegt somit im Größenordnungsbereich der zuvor beschriebenen Werte.

Ein experimenteller Beweis für die vollständige Blockierung der Carbonylgruppe mit TCE in Probe **CM-12** konnte mittels Fehlingscher Probe erbracht werden. In Abbildung 3.15 sind die Ergebnisse der Testreaktion veranschaulicht. Für D-Glucose und *lmw* Cellulose **CM-5** ($DP_n = 22$) ist eindeutig das als rotbraune Niederschlag anfallende Kupfer(I)-oxid zu erkennen. Dieses durch Reduktion gebildete Kupfer(I)-oxid fehlt vollständig sowohl für die Vergleichsverbindung Methyl- α -D-glucopyranosid (Me- α -D-glc_p, **CM-9**) als auch das TCE- β -D-cellulosid **CM-12** und kann somit als Beleg für eine Vollacetal-Struktur an der REG dienen.

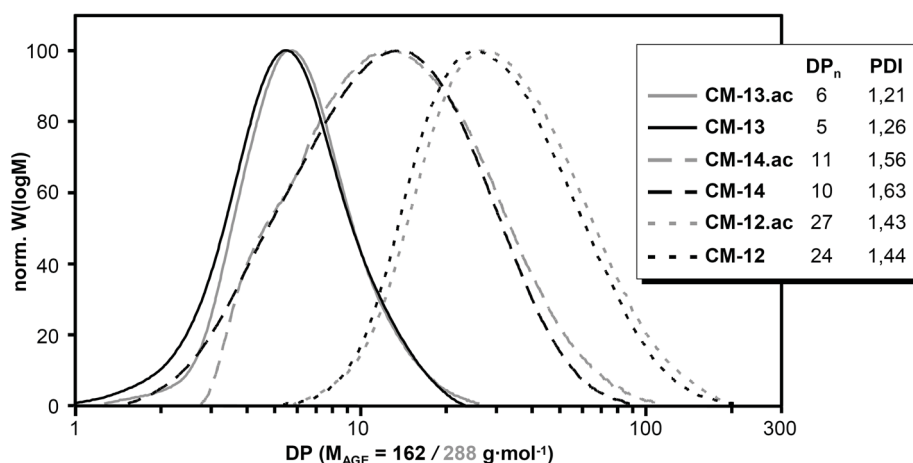


Abb. 3.14. SEC (DMA/0,21 wt.-% LiCl) der Alkyl- β -D-cellulose **CM-12** bis **CM-14** (Pullulan-Standard, schwarz) und der dazugehörigen peracetylierten Verbindungen **CM-12.ac** bis **CM14.ac** (Polystyren-Standard, grau).

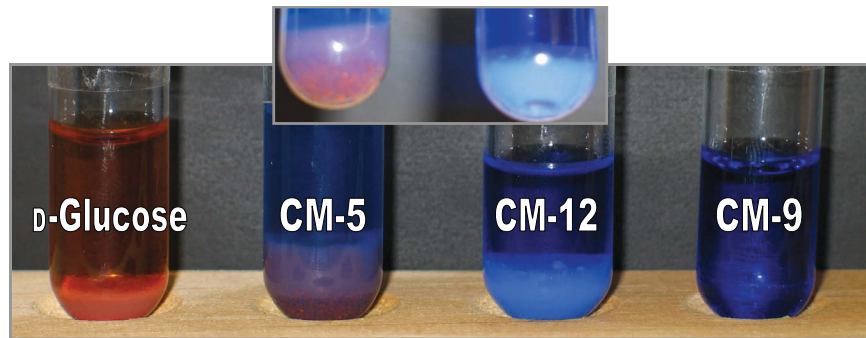


Abb. 3.15. Nachweis der reduzierenden Wirkung von D-Glucose, niedermolekularer Cellulose (**CM-5**), 2,2,2-Trichloroethyl- β -D-²⁵cellulosid (**CM-12**) und Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**) mit Fehlingscher Lösung.

Für die eindeutige Strukturcharakterisierung wurde zunächst das acetylierte Cellulosid **CM-12.ac** mit MALDI-TOF-MS untersucht. Im Spektrum sind Peaks für Molekülionen zu finden, die der Zielverbindung mit einer 2,2,2-Trichloroethyl-Schutzgruppe am anomeren Kohlenstoff der REG entsprechen. Die DP-Werte der intensivsten Signale im Linear-Modus erstrecken sich von 10 bis 28. Dabei ist in Betracht zu ziehen, dass bei dieser Messmethode Ionen mit hohen Molekülmassen unterdrückt und somit nicht detektiert werden. Die m/z -Werte der Molekülionen von **CM-12.ac** mit höchster Intensitäten (Reflektor-Modus) sind in Tabelle 3.6 zusammengefasst. Diese m/z -Werte der detektierten monoisotopischen Peaks für die $[M + Na]^+$ -Ionen (Signal mit dem kleinsten m/z -Wert innerhalb des Isotopenmusters; vgl. Abbildung 3.16) stimmen sehr gut mit der theoretisch berechneten exakten Masse überein. Die exakte Masse wird häufig auch als monoisotopische Masse bezeichnet. Man berechnet sie aus der exakten Masse des jeweils am häufigsten vorkommenden Isotops der im Molekülion vorliegenden Elemente (z.B. ¹H, ¹²C, ¹⁸O, ³⁵Cl).

Für jeden DP-Wert wurden drei verschiedene acetylierte Abbauprodukte detektiert. Allerdings ergeben die mittels MS detektierten Molekülionen nach Deacetylierung die gleiche Zielverbindung, das TCE- β -D-²⁵cld (**CM-12**). Die um jeweils eine Acetylgruppe variierenden Molmassen ($\Delta m/z = 42$) für gleiche DP-Werte des acetylierten Cellulosids und der Ursprung der Molekülionen **I-III** werden im Weiteren erläutert und sind in Abbildung 3.16 veranschaulicht.

Tab. 3.6. Theoretisch berechnete und mittels MALDI-TOF-MS (Reflektor-Modus) detektierte Molmassen für 2,2,2-Trichloroethyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-12.ac**).

Detektiert als		[M + Na] ⁺
DP = 13 III	Exakte Masse	3851,01
H-[CTA*] _n -OCH ₂ CCl ₃	Molmasse	3854,63
„Acetat-Defekt“	detektiert	3874,17
DP = 13 II	Exakte Masse	3893,02
H-[CTA] _n -OCH ₂ CCl ₃	Molmasse	3896,66
	detektiert	3916,21
DP = 13 I	Exakte Masse	3935,03
Ac-[CTA] _n -OCH ₂ CCl ₃	Molmasse	3938,70
	detektiert	3958,22
DP = 14 III	Exakte Masse	4139,09
H-[CTA*] _n -OCH ₂ CCl ₃	Molmasse	4142,88
„Acetat-Defekt“	detektiert	4162,42
DP = 14 II	Exakte Masse	4181,11
H-[CTA] _n -OCH ₂ CCl ₃	Molmasse	4184,91
	detektiert	4204,45
DP = 14 I	Exakte Masse	4223,11
Ac-[CTA] _n -OCH ₂ CCl ₃	Molmasse	4226,95
	detektiert	4246,46

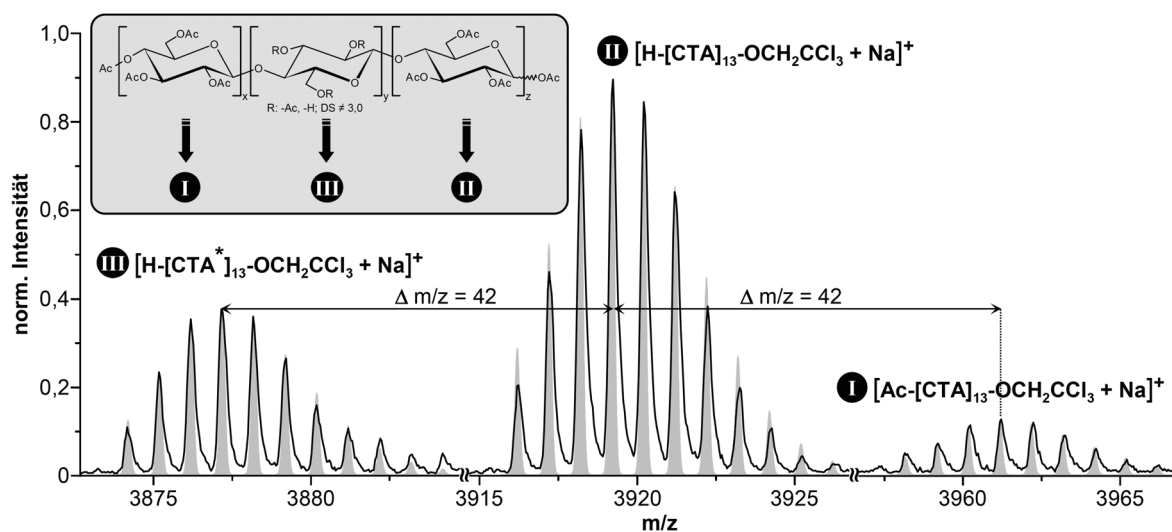


Abb. 3.16. Ausschnitte des MALDI-TOF-Massenspektrums von 2,2,2-Trichloroethyl-tri-*O*-acetyl- β -D-²⁵cellulosid (**CM-12.ac**, grau: berechnete Isotopenmuster, Kasten: Ursprung der detektierten Molekülonen **I-III**).

Neben der Einführung der 2,2,2-Trichloroethyl-Schutzgruppe an der REG von CTA werden die β -(1 \rightarrow 4)-glycosidischen Verknüpfungen hydrolytisch durch Bortrifluorid gespalten. Am Kohlenstoff in Position 4 des resultierenden Cellulose-Fragments verbleibt das Sauerstoffatom und eine OH-Gruppe wird generiert. Da während des Abbaus der DP_n -Wert um das Vierfache abnimmt (110 \rightarrow 27), wurde dieses Molekülion **II** (m/z 3916) mit der 2,2,2-Trichloroethoxy-Gruppe und einem Proton an den Enden der Cellulosekette als intensivitätsstärkstes Signal detektiert. Für den Fall einer fehlenden Acetylgruppe am Celluloserückgrat („Acetat-Defekt“ in Tabelle 3.6 bzw. als CTA* in Abbildung 3.16 markiert) kann das Auftreten von Molekülion **III** (m/z 3874) mit einer um $42 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ kleineren monoisotopischen Masse erklärt werden. Falls die vormalige nREG mit einer Acetatgruppe in Position 4 des CTA im gebildeten Cellulosid-Fragment präsent ist, wurde ein Signal für das Ion **I** mit einer um $42 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ höhere monoisotopische Masse (m/z 3958) im Vergleich zu **II** detektiert. Als zusätzlichen strukturellen Beleg konnte der Vergleich von Verteilung und Intensität der Signale für die Molekülionen **I-III** mit den berechneten Isotopenmustern (grau hinterlegt in Abbildung 3.16) herangezogen werden. Zudem wurden im MALDI-TOF-Spektrum keine Peaks gefunden, die für nicht an der REG umgesetzte niedermolekulare CTA-Fragmente sprechen würden.

Den ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von **CM-12.ac** (siehe Kapitel 4.3.2.3) können keine Signale für α - und β -Acetat-Strukturen an der REG entnommen werden. Aufgrund der vergleichsweise geringen Molmasse sind die Spektren sehr gut aufgelöst und eine Zuordnung der Hauptsignale konnte in Übereinstimmung mit Buchanan et al. (1987) erfolgen. Dass die kleineren Peaks der REG nur geringfügig von diesen Signalen abweichen, ist ein erster Beleg für eine β -glycosidische Struktur am anomeren Kohlenstoff. Im DEPT (135)-NMR-Spektrum des acetylierten Cellulosids ist ein negatives Signal bei 80,3 ppm zu erkennen. Dieses Methylengruppen-Signal kann der 2,2,2-Trichloroethyl-Schutzgruppe unter Einbeziehung des ^{13}C -NMR-Vergleichsspektrums von TCE ($\delta = 76,4 \text{ ppm}$) eindeutig zugeordnet werden.

Die erfolgreiche Blockierung der Carbonylgruppe an der REG bei simultanem Abbau der Cellulosekette lässt sich zusätzlich durch das [^1H , ^{13}C]-NMR-Korrelationsspektrum des deacetylierten Cellulosid **CM-12** belegen (Abbildung 3.17). Die Zuordnungen der sechs heteronuklearen 1J -Kopplungen (C/H-1i/2i/3i/4i/5i/6i) der internen AGE und der Kopplungen für die nREG (C/H-1n/3n/4n/5n/6n) untermauern die strukturelle Einheitlichkeit des Celluloserückgrats. Darüber hinaus wurden zwei zusammengehörige

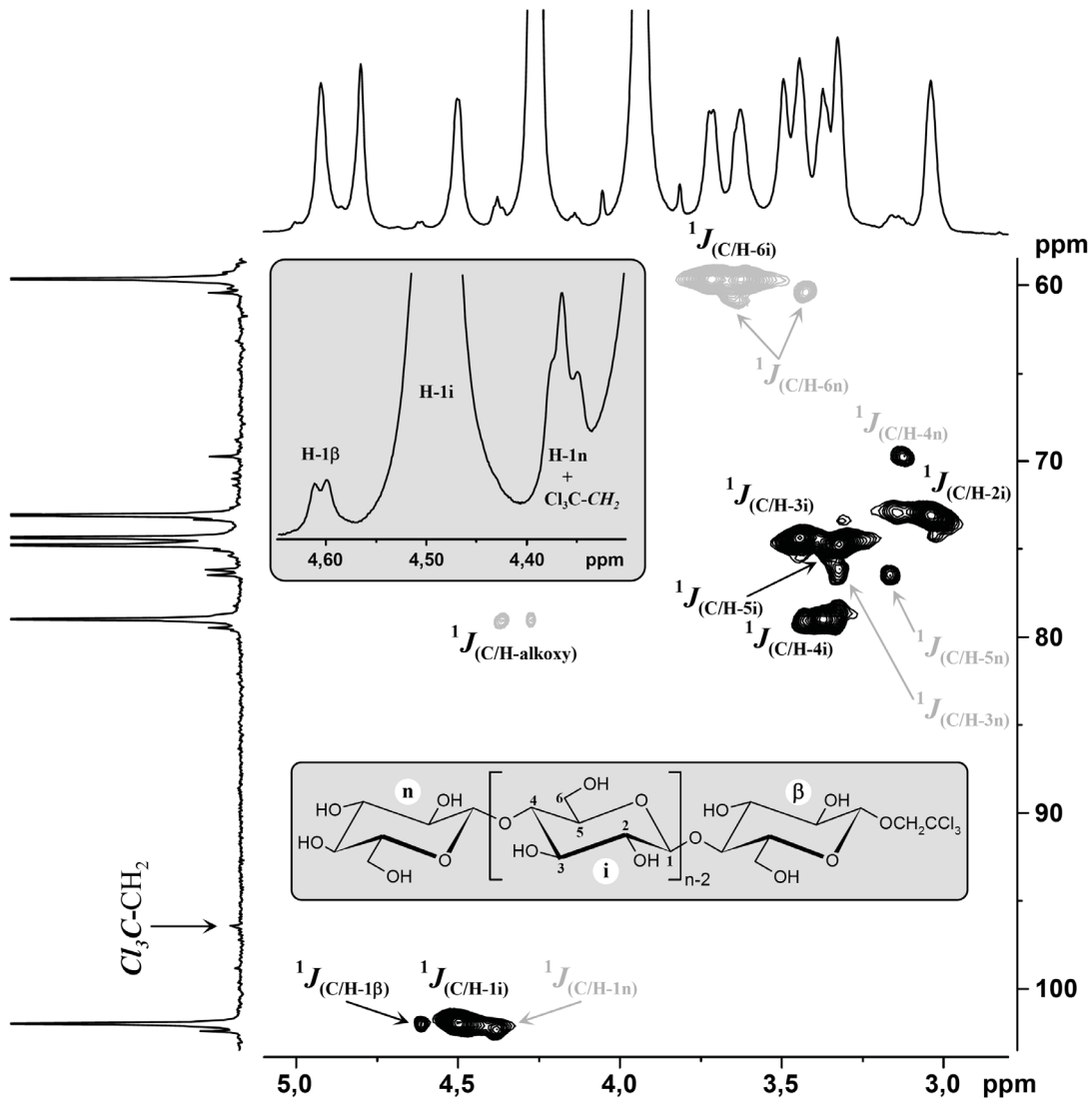


Abb. 3.17. [^1H , ^{13}C]-NMR-Korrelationsspektrum (HSQC-DEPT) mit ^1H -NMR-Spektrenausschnitt (grau hinterlegt) von **CM-12** in BMIMCl/ DMSO- d_6 und Zuordnung der Kohlenstoffatome zu verschiedenen Anhydroglucoseeinheiten (n: nicht-reduzierende Endgruppe; i: interne Anhydroglucoseeinheit; β : reduzierende Endgruppe).

Crosspeaks mit entgegengesetztem Vorzeichen bei 79,1 ppm entlang der ^{13}C -Achse detektiert. Diese Signale können in Übereinstimmung mit den NMR-Daten der acetylierten Verbindung **CM-12.ac** eindeutig den Methylenprotonen einer 2,2,2-Trichloroethoxygruppe zugewiesen werden. Aufgrund des diastereotopen Charakters dieser Protonen (4,36 ppm und 4,26 ppm) ist die Verknüpfung mit dem anomeren Kohlenstoff beweisen, da ungebundenes TCE eine solche Aufspaltung nicht zeigt. In TCE befinden sich die Protonen in keiner chiralen Umgebung. Da nur ein entsprechendes Paar an Methylenprotonen in diesem Frequenzbereich gefunden wurde, ist die durchgeführte

Glycosylierung stereoselektiv (β -selektiv). Die Schutzgruppe befindet sich axial am anomeren Kohlenstoffatom, denn die 1J -Kopplung zwischen den Atomen H-1 β und C-1 β wurde bei 4,61 ppm bzw. 102,0 ppm detektiert. Diese Verschiebungswerte liegen im Bereich der Werte für die Atome H-1i und C-1i (4,49 ppm und 102,0 ppm) der internen AGE, welche bekanntlich Bestandteil einer β -glycosidischen Verknüpfung sind.

Eine Aufspaltung der Kohlenstoffsignale in Position 1 der internen AGE und der REG im ^{13}C -NMR-Spektrum (Spektrometerfrequenz von 600 MHz) von **CM-12** wird nicht beobachtet. Des Weiteren tritt keine Isolierung der Crosspeaks der REG von den größeren Signalen der internen AGE im abgebildeten 2D-Spektrum auf. Diese Tatsache macht das TCE- β -D- ^{25}cld (**CM-12**) zu einer wichtigen Cellulose-Modellverbindung für NMR-Untersuchungen. Als Alternative wurde im Rahmen der Arbeit Methanol als Reagenz eingesetzt, wobei jedoch für Abbaureaktionen mit dem wesentlich weniger nucleophilen Alkohol keine vergleichbaren Produkte gewonnen werden konnten.

3.2.2.2 Synthese und Charakterisierung von Methyl- β -D- 5 cellulosid

Alkyl- β -D-celluloside mit Kettenlängen von weniger als 25 AGE sollten auf analogem Weg ausgehend von zuvor peracetylierten Cellodextrinen mit DP_n -Werten von 5 (**CM-6**) bzw. 10 bis 15 (**CM-7**) hergestellt werden. Um den Abbau der Oligosaccharidketten, welcher mit der Glycosylierung in Gegenwart von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ einhergeht, zu minimieren, wurde die Reaktionszeit so kurz wie möglich gewählt. Die Herstellung von Cellodextrinen (**CM-6a**) im großen Maßstab (45 g) konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit optimiert werden. Dafür wurde der Abbau in konzentrierter Phosphorsäure (Liebert et al. 2008) abgewandelt. Die Depolymerization erfolgte bei einer Cellulose-Konzentration von $0,56 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-1}$. Nach einer Stunde Quellung bei RT wurde die Hydrolyse 16 Stunden bei $55 \text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt. Nach Abtrennen der wasserlöslichen Fraktion wurde die Probe nach Wolfrom und Thompson (1963a) in Acetanhydrid mit wasserfreiem Natriumacetat als Katalysator acetyliert (siehe Abbildung 3.13). Die Reinigung der acetylierten Cellodextrine und eine Verengung der Molmassenverteilung erfolgten durch mehrmalige Umkristallisation. Unvollständig acetylierte Verunreinigungen sowie niedermolekulare Fraktionen blieben in der alkoholischen Lösung zurück. Das aufgearbeitete Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**) hat einen DP_n -Wert von 6 und einen PDI von 1,19 (SEC, PS-Standard). Der aus dem MALDI-TOF-Massenspektrum (vgl. Abbildung 3.19 unten) erhaltene DP_n -Wert liegt ebenfalls bei 6.

Die Glycosylierung von **CM-13.v1** in Gegenwart von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ und TCE wurde mittels MALDI-TOF-MS überprüft. In Abbildung 3.18 sind Ausschnitte des Massenspektrums der erhaltenen Probe mit den Daten des peracetylierten TCE- β -D-²⁵cld (**CM-12.ac**) aus Kapitel 3.2.2.1 überlagert. Neben der Detektion der Molekülonen **I-III**, welche die Blockierung des anomeren Kohlenstoffs als Vollacetal belegen, findet man Signale für nicht umgesetztes Cellodextrin-peracetat (Ion **IV**). Die ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchung des Glycosylierungsprodukts offenbarte, dass die α -Acetate am Kohlenstoff C-1 der REG inert sind und nur die β -Acetate (1,2-*trans*-Konfiguration) als Glycosyldonoren fungieren. Diese Beobachtung wurde bereits für Glycosylierungen von peracetylierten Monosacchariden mit anderen Lewis-Säuren beschrieben (Paulsen und Paal 1984). Da es jedoch nicht möglich ist durch Peracetylierung von Cellodextrinen reine β -Acetate zu gewinnen, führt diese Syntheseroute nicht zu den gewünschten Alkyl- β -D-cellulosiden.

Die Synthese der Zielverbindungen (DP_n -Werten von 5 bzw. 10-15) mit der geringsten Anzahl an Reaktionsschritten ist damit die Darstellung über die in Kapitel 3.2.1 beschriebene *Koenigs-Knorr*-Glycosylierung der peracetylierten α -Cellulosylbromide (siehe Abbildung 3.13). Dafür wurde das Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**) in das Tri-*O*-acetyl- α -D-⁵cellulosylbromid (**CM-13.v2**) durch Bromwasserstoff-Behandlung in Eisessig überführt. Aufgrund der verschiedenen Nebenreaktionen, die TCE wegen der hohen Säurestärke ($\text{pK}_\text{S} = 12,3$; Garegg et al. 1985) eingehen kann, wurde Methanol als

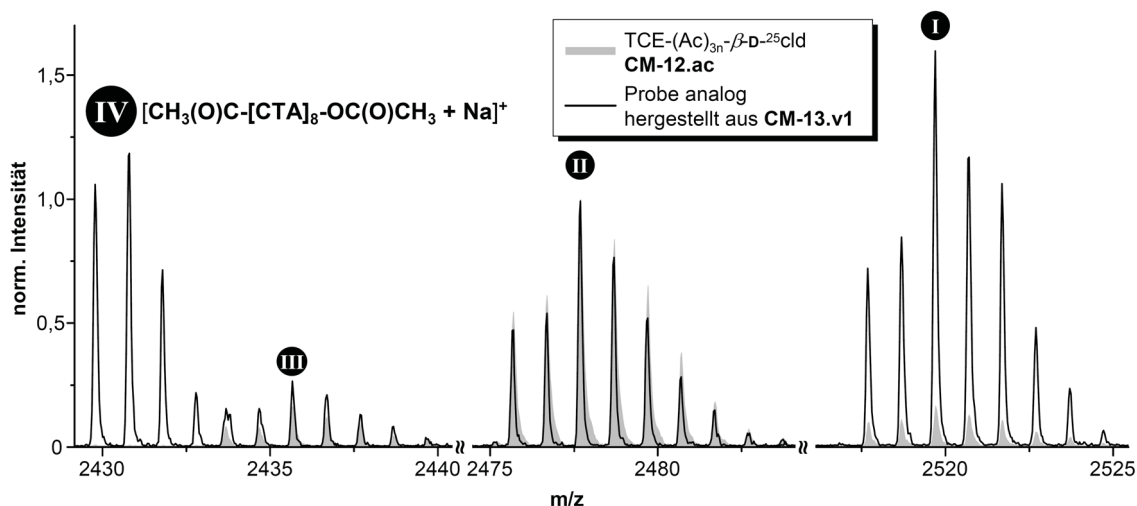


Abb. 3.18. Ausschnitte der MALDI-TOF-Massenspektren von 2,2,2-Trichloroethyl-tri-*O*-acetyl- β -D-²⁵cellulosid (**CM-12.ac**, grau) und einer analog hergestellten Probe aus Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**, schwarz); es ist auf das Signal mit m/z 2478 normiert worden.

einfachster Glycosylakzeptor verwendet. Man erhält nach einer Reaktionszeit von 40 Stunden das Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13.ac**).

Die Ausbildung der Methoxygruppe in Position 1 der REG wurde mittels MALDI-TOF-MS verfolgt. Die Massenspektren der Verbindungen **CM-13.v1**, **CM-13.v2** und **CM-13.ac** sind in Abbildung 3.19 veranschaulicht. Die detektierten Molekülonen mit jeweils einer anderen funktionellen Gruppe am anomeren Kohlenstoff C-1 (Acetat, Bromid, Methoxyl) erstrecken sich über einen DP-Bereich von 3 bis 10. Das intensivitätsstärkste Signal in den Spektren kann einem Ion mit 5 AGE zugeordnet werden. Da keine Verschiebung der Intensitätsverhältnisse hin zu niedrigeren DP-Werten zu erkennen ist, findet während der Endgruppenmodifizierung kein Abbau statt. Darüber hinaus wurde sowohl mit MALDI-TOF-MS als auch mit SEC (siehe Abbildung 3.14) eine enge Molmassenverteilung beobachtet. In Tabelle 3.7 sind die *m/z*-Werte für den monoisotopischen Peak der detektierten $[M + Na]^+$ -Ionen (DP 4-8; Reflektor-Modus) der synthetisierten Verbindungen **CM-13.v1**, **CM-13.v2** und **CM-13.ac** zusammengestellt. Die berechneten exakten Massen für die jeweilige Summenformel der Ionen stimmen mit den detektierten *m/z*-Werten der Molekülonen überein.

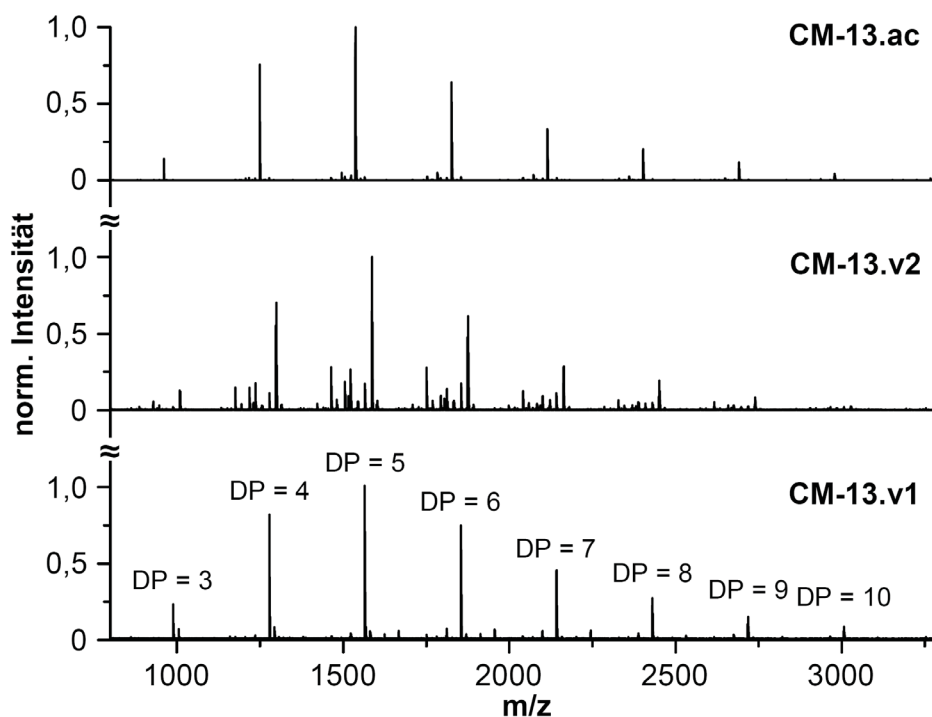


Abb. 3.19. MALDI-TOF-Massenspektren (Reflektor-Modus) von Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**), Tri-*O*-acetyl- α -D-⁵cellulosylbromid (**CM-13.v2**) und Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13.ac**).

Tab. 3.7. Theoretisch berechnete und mittels MALDI-TOF-MS (Reflektor-Modus) detektierte Molmassen für Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**), Tri-*O*-acetyl- α -D-⁵cellulosylbromid (**CM-13.v2**) und Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13.ac**).

Verbindung		CM-13.v1	CM-13.v2	CM-13.ac
Detektiert als		[M + Na] ⁺	[M + Na] ⁺	[M + Na] ⁺
DP = 4	Exakte Masse	1254,37	1274,27	1226,37
	Molmasse	1255,09	1275,95	1227,08
	detektiert	1277,35	1297,25	1249,54
DP = 5	Exakte Masse	1542,45	1562,36	1514,46
	Molmasse	1543,34	1564,20	1515,33
	detektiert	1565,44	1585,35	1537,69
DP = 6	Exakte Masse	1830,54	1850,44	1802,54
	Molmasse	1831,59	1852,45	1803,58
	detektiert	1853,55	1873,43	1825,80
DP = 7	Exakte Masse	2118,62	2138,53	2090,63
	Molmasse	2119,84	2140,70	2091,83
	detektiert	2141,62	2161,50	2113,94
DP = 8	Exakte Masse	2406,71	2426,61	2378,71
	Molmasse	2408,09	2428,95	2380,08
	detektiert	2429,71	2449,58	2402,02

Die Überlagerung der [¹H, ¹³C]-NMR-Korrelationsspektren (HSQC-DEPT) von Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13.ac**) und Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**) im Verschiebungsbereich der anomeren Protonen bzw. Kohlenstoffe ermöglicht es, die Blockierung der REG als Vollacetal zu determinieren (Abbildung 3.20). Im Fall von **CM-13.v1** detektiert man drei ¹J-Kopplungen in dieser Region: zwei für anomere Kohlenstoffatome (C/H-1 α & 1 β), die entweder in α - oder in β -Stellung eine Acetatgruppe tragen; und eine für den internen anomeren Kohlenstoff (C/H-1i/n). Im Gegensatz dazu zeigt das Methylglycosid **CM-13.ac** nur zwei Crosspeaks (C/H-1i/n & 1 β -OMe) zwischen 102 und 100 ppm entlang der ¹³C-Achse. Demzufolge war die Endgruppenmodifikation zur β -Vollacetal-Struktur an der REG erfolgreich. Zum Abschluss wurde eine Deacetylierung, wie sie bereits im Rahmen der Arbeit beschrieben wurde, durchgeführt und das erhaltene Methyl- β -D-⁵cellulosid (Me- β -D-⁵cld, **CM-13**) NMR-spektroskopisch charakterisiert. Die detaillierte Zuordnung der Verschiebungswerte zu den jeweiligen Kohlenstoffatomen ist in Kapitel 3.3 zusammengefasst. Eine Integration der einzelnen

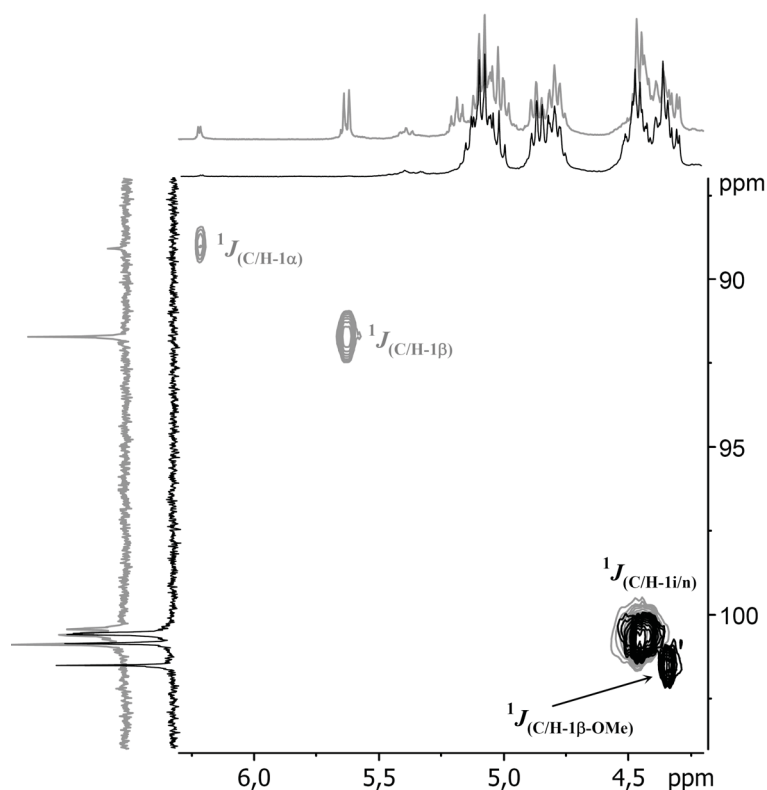


Abb. 3.20. Überlagerung der $[^1\text{H}, ^{13}\text{C}]$ -NMR-Korrelationsspektren (HSQC-DEPT) von Methyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13**, schwarz) und Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**, grau) in BMIMCl/DMSO-*d*₆.

Protonensignale für das Atom H-1 der nREG und der internen AGE im ^1H -NMR-Spektrum von **CM-13** ermöglichte es, den DP_n -Wert auf einem alternativen Weg zu bestimmen. Der ermittelte DP_n -Wert von 6 stimmt mit dem Wert der SEC (siehe Abbildung 3.14) und den detektierten Molekülonen in den MALDI-TOF-MS der peracetylierten Verbindungen (siehe Abbildung 3.19) überein.

Um zu bestimmen, welche unterschiedlichen Kettenlängen in der Probe **CM-13** vorliegen, wurde zunächst eine Fraktionierung über Sephadex G15[®] durchgeführt (Abbildung 3.21). Das SEC aufgenommen in $\text{H}_2\text{O}/\text{NaN}_3$ (Pun-Standard) zeigt, dass das verwendete Dextran-Gel zur Abtrennung der höhermolekularen Fraktion (niedrigere Elutionsvolumina) geeignet ist. Die anderen drei Fraktionen unterscheiden sich in ihrem DP_n -Werten etwa um je eine AGE. Den MALDI-TOF-Massenspektren von **CM-13_3** und **CM-13_4**, welche zusammen etwa 70 % der getrennten Probe ausmachen, kann entnommen werden, dass diese beiden Fraktionen zu 85-90 % aus Methyl- β -glycosiden mit 5-7 Wiederholungseinheiten bestehen. Der geringe PDI spiegelt die Dominanz dieser drei Kettenlängen in der Probenzusammensetzung wider.

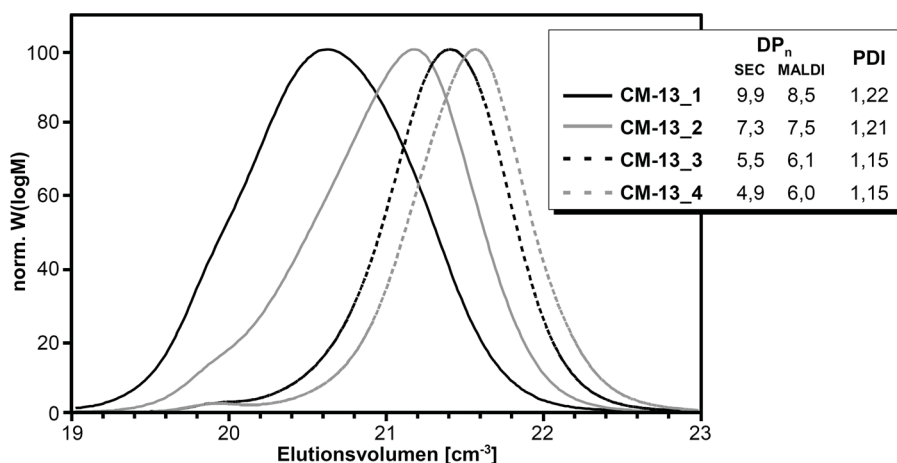


Abb. 3.21. SEC ($\text{H}_2\text{O}/0,05 \text{ wt.-% NaN}_3$; Pullulan-Standard) der Fraktionen von Methyl- $\beta\text{-D-}^5$ cellulosid **CM-13_1** bis **CM-13_4**.

3.2.2.3 Synthese und Charakterisierung von Methyl- $\beta\text{-D-}^{10}$ cellulosid

Zur Darstellung des Alkyl- $\beta\text{-D-}$ cellulosids im DP_n -Bereich zwischen 10 und 15 verwendete man einen zweistufigen Celluloseabbau. Zunächst wurde niedermolekulare Tri-*O*-acetylcellulose ($\text{DS} = 3,00$) durch ein modifiziertes Peracetylierungsverfahren nach Tanghe et al. (1963) aus kommerziellem CTA ($\text{DS} = 2,85$) hergestellt. Die entscheidenden Unterschiede zur Originalvorschrift waren die deutlich längere Reaktionszeit und eine Temperatur von $40 \text{ }^\circ\text{C}$, um neben der Peracetylierung einen zusätzlichen Abbau des Celluloserückgrats zu erreichen. Das im Gemisch aus Eisessig und Acetanhydrid gelöste Celluloseacetat wurde mit $0,3 \text{ vol.-%}$ Perchlorsäure versetzt und zu verschiedenen Zeiten entnahm man Proben, um den Fortschritt des Kettenabbaus zu untersuchen. Aus den Ergebnissen der Versuchsreihe im 2 g -Maßstab (Tabelle 3.8) stellte sich eine optimale Hydrolysezeit von 18 h heraus. Bei einer Vergrößerung des Reaktionsansatzes (10 g) waren jedoch etwas kürzere Hydrolysezeiten (16 h) nötig, um eine niedermolekulare Tri-*O*-acetylcellulose im DP_n -Bereich zwischen 30 und 40 zu erhalten. Die erhaltene Probe **CM-14.v1** hat einen DP_n -Wert von 33 bei einem PDI von 2,07. In Abbildung 3.13 ist das weitere Vorgehen zur Funktionalisierung der REG beschrieben. Im Vergleich zur Bromideinführung in Kapitel 3.2.2.2 wurde eine deutlich längere Reaktionszeit gewählt, um den zweiten Abbauschritt zu realisieren. Neben der Einführung des Bromids in α -Stellung des Atoms C-1 der REG wurden dadurch DP_n -Werte von 10 bis 15 erreicht. Die Reaktion führte man in wasserfreiem Dichlormethan unter Veresterungsbedingungen in Gegenwart von Acetanhydrid und Bromwasserstoff gelöst in Eisessig als Reagenz durch (siehe Abbildung 3.13 Reaktion (h)). Als optimale Hydrolysezeit wurden 16 Stunden ermittelt.

Das peracetylierte α -Cellulosylbromid **CM-14.v2** wurde anschließend mit Methanol als Glycosylakzeptor zum Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-¹⁰cellulosid (**CM-14.ac**) umgesetzt (siehe Abbildung 3.13 Reaktion (f)). Die Deacetylierung zur nicht-reduzierenden Cellulose-Modellverbindung **CM-14** erfolgte unter Einwirkung von Natriummethanolat im Gemisch aus Methanol und Dichlormethan (Abbildung 3.13 Reaktion (i)).

Basierend auf den MALDI-TOF-MS-Untersuchungen der Verbindungen **CM-14.v1**, **CM-14.v2** und **CM-14.ac** konnte geschlussfolgert werden, dass keine Vernetzung der Celluloseketten stattfindet. Diese Erkenntnis kann zum einen darauf zurückgeführt werden, dass **CM-14.v1** (DS = 3,00) keine freien Hydroxylgruppen am Rückgrat aufweist, die eine unerwünschte Vernetzung eingehen könnten. Glasser und Becker (1999) demonstrierten demgegenüber die Bildung von verzweigten cellulosischen Segmenten, wenn im Abbauschritt mit Bromwasserstoff Celluloseester mit einem DS kleiner 3,0 eingesetzt werden. Die Überlagerung der MALDI-TOF-Massenspektren von **CM-14.v1** und **CM-14.ac** liefert einen weiteren Beleg dafür, dass es zum gewünschten Abbau und zu keiner Vernetzung der Celluloseketten kommt (Abbildung 3.22). Neben der Verschiebung der intensitätsstärkeren Signale hin zu niedrigeren Molmassen kann dem vergrößerten Ausschnitt der Spektrenüberlagerung die Massendifferenz zwischen Molekülonen der beiden Verbindungen bei gleichem DP von $\Delta m/z = 28$ entnommen werden. Dieser Wert entspricht genau der Massendifferenz zwischen einer Acetat- ($59 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) und einer Methoxylgruppe ($31 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) und kann somit als Beleg der erfolgreichen Blockierung der

Tab. 3.8. Hydrolysezeit und Ergebnisse des Abbaus von kommerziellem Cellulosetriacetat (DS = 2,85) im Gemisch AcOH/Ac₂O unter Zugabe von 0,3 vol.-% HClO₄.

$t_{\text{Hydrolyse}}$ [h]	DP _n	DP _w	PDI
0	610	1480	2,41
2	175	500	2,87
4	92	275	2,98
6	71	178	2,49
12	52	119	2,29
18	35	75	2,12
24	29	58	2,02
38	23	43	1,90

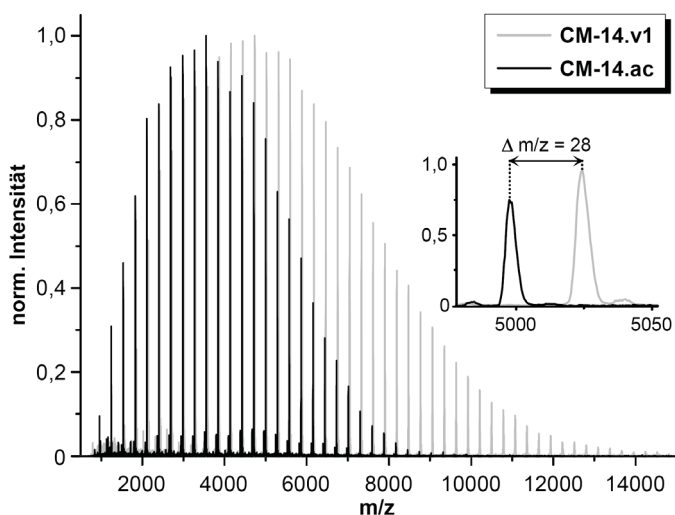


Abb. 3.22. MALDI-TOF-Massenspektren (Linear-Modus) von niedermolekularer Tri-*O*-acetyl-cellulose (**CM-14.v1**, grau) und Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-14.ac**, schwarz). Der Ausschnitt zeigt die Massendifferenz von Molekülonen mit gleichem DP-Wert.

REG als Vollacetal herangezogen werden. Die Molekülonen im Spektrum von **CM-14.ac** mit den höchsten Intensitäten (1,0-0,8) decken einen DP-Bereich von 7 bis 16 ab, wobei der höchste Peak für ein Ion mit 12 AGE spricht. Die detektierten *m/z*-Werte der $[M + Na]^+$ -Ionen der Verbindungen **CM-14.v2** und **CM-14.ac** im DP-Bereich von 10 bis 14 sind in Tabelle 3.9 zusammengefasst. Die Werte für die jeweiligen Peak-Maxima stimmen sehr gut mit den theoretisch berechneten mittleren Molmassen (Berechnungsgrundlage sind die mittleren Molmassen der Elemente) überein, welche zum Vergleich herangezogen werden müssen, wenn die MALDI-TOF-Messung wie in diesem Fall im Linear-Modus erfolgte.

Sowohl die Auswertung der SEC-Kurve von **CM-14.ac** als auch die des deacetylierten Methyl- β -D-¹⁰cellulosids (Me- β -D-¹⁰cld, **CM-14**) ergeben nahezu identische DP_n-Werte zwischen 10 und 11 (siehe Abbildung 3.14). Die Auswertung des ¹H-NMR-Spektrums von Me- β -D-¹⁰cld liefert einen DP_n-Wert von 12 und bestätigt somit die SEC-Werte und den im MALDI-TOF-MS detektierten DP-Bereich. Für die Berechnung wurden die Integrale für die Protonen H-1i der internen AGE und H-1n der nREG herangezogen. Die weitere NMR-spektroskopische Charakterisierung verifiziert die spezifische Einführung der Methoxylgruppe in β -Stellung am anomeren Kohlenstoff der REG. Neben den intensitätsschwächeren Kohlenstoffsignalen der nREG können die Signalmuster der REG und der internen AGE im ¹³C-NMR-Spektrum von **CM-14** kaum getrennt werden. Daher eignet sich das Me- β -D-¹⁰cld sehr gut als nicht-reduzierende Cellulose-Modellverbindung,

die in Wasser und den typischen organischen Lösemitteln (z.B. DMSO und DMA) nahezu unlöslich ist.

Tab. 3.9. Theoretisch berechnete und mittels MALDI-TOF-MS (Linear-Modus) detektierte Molmassen für Tri-*O*-acetyl- α -D-⁵cellulosylbromid (**CM-14.v2**) und Methyl-tri-*O*-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-14.ac**).

Verbindung		CM-14.v2	CM-14.ac
Detektiert als		[M + Na] ⁺	[M + Na] ⁺
DP = 10	Exakte Masse	3002,78	2954,88
	Molmasse	3005,46	2956,58
	detektiert	3028,66	2979,78
DP = 11	Exakte Masse	3290,87	3242,97
	Molmasse	3293,71	3244,84
	detektiert	3316,71	3268,55
DP = 12	Exakte Masse	3578,95	3531,05
	Molmasse	3581,96	3533,09
	detektiert	3604,53	3556,79
DP = 13	Exakte Masse	3867,04	3819,14
	Molmasse	3870,21	3821,34
	detektiert	3893,06	3844,75
DP = 14	Exakte Masse	4155,12	4107,22
	Molmasse	4158,46	4109,59
	detektiert	4181,01	4132,77

3.3 Vergleich der NMR-Daten von Cellulose-Modellverbindungen

Da in den folgenden Kapiteln zur Borsäure- bzw. Boronsäureinteraktion mit Cellulose und Cellulose-Modellverbindungen das Hauptaugenmerk auf NMR-spektroskopische Untersuchungen gelegt wird, sind in Tabelle 3.10 die ^{13}C -NMR Daten der verwendeten Verbindungen zusammengestellt. Die Zuordnung der Verschiebungswerte für die reduzierenden Cellulose-Modelle (**CM-5** und **CM-6**) insbesondere die Signale der Endgruppen (Kürzel: α , β und n) erfolgte durch Abgleichen mit Literaturwerten (Gast et al. 1980, Moulthrop et al. 2005, Schmid et al. 1988). Im Fall der nicht-reduzierenden Verbindungen mit Vollacetal-Struktur am anomeren Kohlenstoff wurden die ^1H - und ^{13}C -NMR-Signale durch Kombination von selektiven 1D-TOCSY- (Anregung der verschiedenen Resonanzfrequenzen der Atome H-1) und heteronuklearen Korrelationsexperimenten zugeordnet. Vollständig konnte dies für das Methyl- β -D-cellobiosid (**CM-10**) und das Methyl- β -D-celotriosid (**CM-11**) durchgeführt werden. Die Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale von weiteren Modellverbindungen (**CM-12/13/14**) geschah in Anlehnung an die zuvor charakterisierten Strukturen und bekannten NMR-Daten (Flugge et al. 1999). Dabei wurde folgende Besonderheit festgestellt: Die Signale der Kohlenstoffatome in Position 1 von verschiedenen Anhydroglucoseeinheiten (β , i, n) liegen im ^{13}C -NMR-Spektrum der untersuchten Methyl- β -glycoside (**CM-10/11/13/14**) stets in der Reihenfolge $\text{C-1}\beta > \text{C-1n} > \text{C-1i}$ vor. Hingegen ist im Fall des TCE- β -D- ^{25}cld (**CM-12**) das Signal des $\text{C-1}\beta$ zu höherem Feld verschoben und wird nicht getrennt vom C-1i aufgelöst, so dass sich in diesem Fall die nachstehende Reihenfolge $\text{C-1n} > \text{C-1i} \approx \text{C-1}\beta$ ergibt (Tab. 3.10). Diese Veränderung des Signalmusters findet sich auch in den ^1H -NMR-Spektren der Methyl- bzw. TCE- β -glycoside wieder (siehe ^1H -NMR-Spektren-Ausschnitt in Abb. 3.17). Das ^1H -NMR-Signal des Protons $\text{H-1}\beta$ von TCE- β -D- ^{25}cld ist im Vergleich zum Proton $\text{H-1}\beta$ der Methyl- β -glycoside zu deutlich höheren Werten verschoben ($4,13 \rightarrow 4,61$ ppm). Dies konnte mittels der NMR-Software PERCH bestätigt werden.

Die in Abbildung 3.23 dargestellten ^{13}C -NMR-Spektren zeigen die Signallage der verschiedenen Kohlenstoffatome. Es ist zu erkennen, dass die Blockierung der REG als Vollacetal (siehe Kapitel 3.2) die Signalanzahl in den Spektren verringert. Die Spektren können in drei Bereiche eingeteilt werden. Im ersten Bereich zwischen 104 und 91 ppm erscheinen ausschließlich die Signale der Kohlenstoffe in Position 1. Die Signale des Kohlenstoffatoms mit primärer OH-Funktion (C-6) findet man bei etwa 60 ppm. Die

Tab. 3.10. ^{13}C -NMR-Daten (in ppm) der hergestellten Cellulose-Modellverbindungen: Cellodextrin (**CM-6**), niedermolekulare (*lmw*) Cellulose (**CM-5**), Methyl- α -D-glucopyranosid (Me- α -D-glcp, **CM-9**), Methyl- β -D-cellobiosid (Me- β -D-clb, **CM-10**), Methyl- β -D-celotriosid (Me- β -D-clt, **CM-11**), Methyl- β -D- 5 cellulosid (Me- β -D- 5 cld, **CM-13**), Methyl- β -D- 10 cellulosid (Me- β -D- 10 cld, **CM-14**) und 2,2,2-Trichloroethyl- β -D- 25 cellulosid (TCE- β -D- 25 cld, **CM-12**) gemessen in DMSO- d_6 bzw. BMIMCl/DMSO- d_6 .

	reduzierenden Cellulose-Modelle								nicht-reduzierenden Cellulose-Modelle																
	Cellodextrin CM-6				<i>lmw</i> Cellulose CM-5				Me- α -D-glcp CM-9		Me- β -D-clb CM-10			Me- β -D-clt CM-11			Me- β -D- 5 cld CM-13			Me- β -D- 10 cld CM-14			TCE- β -D- 25 cld CM-12		
	α	β	i	n	α	β	i	n	α	β	n	β	i	n	β	i	n	β	i	n	β	i	n		
C-1	91,7	96,4	102,3	102,6	91,3	96,1	101,7	102,2	C-1	99,6	103,5	103,0	103,4	102,5	103,0	103,1	101,9	102,3	103,0	101,9	102,3	102,0	102,0	102,4	
C-2	71,1	<i>n.d.</i> ^a	72,8	73,0	70,8	<i>n.d.</i>	72,8	73,1	C-2	71,9	73,0	73,2	72,9	72,9	73,1	73,3	73,0 ^b	72,9	73,3	73,1 ^c	72,8	73,4	73,1	<i>n.d.</i>	
C-3	71,8	<i>n.d.</i>	74,4	76,2	71,7	<i>n.d.</i>	74,1	75,9	C-3	73,3	74,9	76,4	74,73-74,59	76,3	74,4	74,3	76,2	74,35	74,30	76,2	<i>n.d.</i>	74,4	76,2		
C-4	80,4	80,1	79,6	69,9	79,8	79,3	78,7	69,5	C-4	70,3	80,3	70,0	80,1	80,0	69,9	79,3	78,9 ^c	69,8	79,3	78,8 ^f	69,8	79,5	79,0	69,8	
C-5	69,5	<i>n.d.</i>	74,6	76,4	69,3	<i>n.d.</i>	74,5	76,2	C-5	72,5	74,7	76,7	74,73-74,59	76,6	74,6	74,7 ^d	76,4	74,6	74,7 ^e	76,4	<i>n.d.</i>	74,8	76,5		
C-6	60,5	60,5	60,1	60,8	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>	59,4	60,2	C-6	60,9	60,4	61,0	60,3	60,2	60,9	59,8	59,7	60,4	59,8	59,7	60,4	<i>n.d.</i>	59,7	60,5	
									OAlkyl	54,2	55,8		55,8		55,1		55,1		55,1		96,5 + 79,1				

^a nicht detektiert

^c C-4i spaltet in zwei Signale auf: 79,08 und 78,90 ppm

^e Hauptsignal für C-2i bei 73,07 ppm, aber zwei Schultern bei 73,11 und 73,03 ppm

^g Hauptsignal für C-5i bei 74,75 ppm, Nebensignal bei 74,67 ppm

^b C-2i spaltet in drei Signale auf: 73,11; 73,07 und 73,02 ppm

^d C-5i spaltet in zwei Signale auf: 74,74 und 74,67 ppm

^f Hauptsignal für C-4i bei 78,82 ppm, Nebensignal bei 79,03 ppm

meisten Peaks werden im Bereich zwischen 81 und 69 ppm detektiert. Es wird eine wiederkehrende Reihenfolge der Signale für die Kohlenstoffatome $C-4 > C-5 \approx C-3 > C-2$ beobachtet. Von diesen Werten heben sich folgende Signale der nREG ab: Die Peaks der Atome $C-5_n$ und $C-3_n$ liegen bei tieferem Feld im Vergleich zu den Kohlenstoffsignalen $C-5_i$ und $C-3_i$ und der Peak für das Atom $C-4_n$ wird aufgrund der fehlenden glycosidischen Bindung bei etwa 70 ppm detektiert. In den ^{13}C -NMR-Spektren der Cellodextrine (**CM-6**) und der Methyl- β -D-celluloside (**CM-13/14**) ist darüber hinaus eine Aufspaltung der Kohlenstoffsignale der internen AGE zu erkennen (vgl. Tabelle 3.10 und Abbildung 3.23). Diese Aufspaltung wird für die *lmw* Cellulose (**CM-5**; $\text{DP}_n = 22$) und das TCE- β -D- ^{25}cld (**CM-12**; $\text{DP} = 24$) nicht beobachtet.

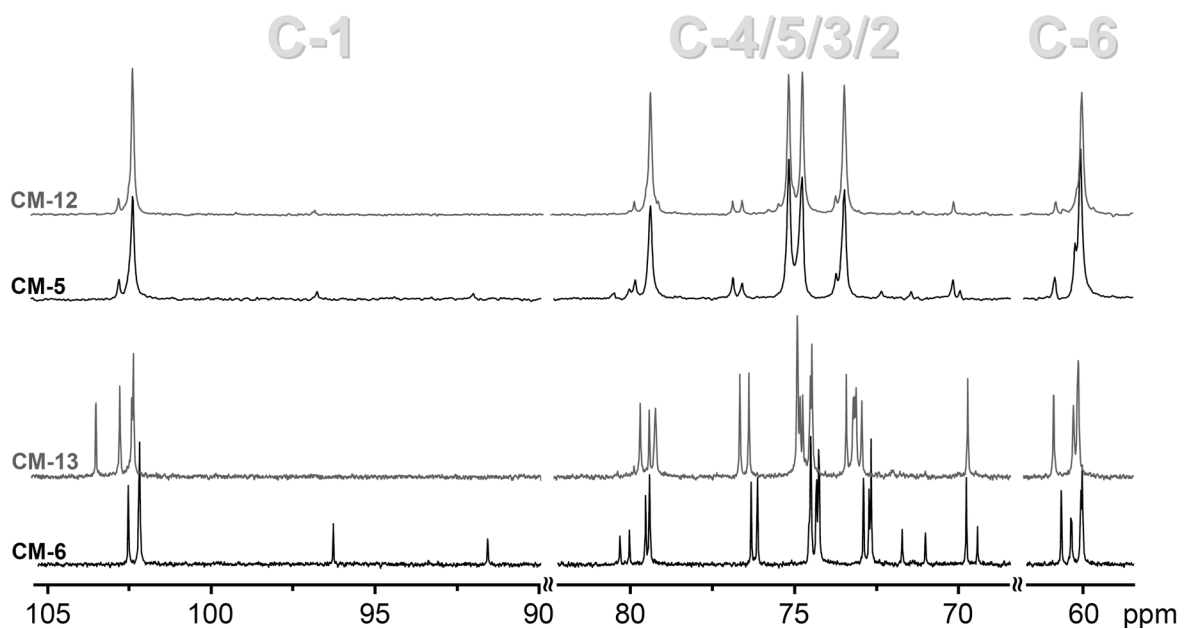


Abb. 3.23. ^{13}C -NMR-Spektren von Cellodextrin (**CM-6**), Methyl- β -D- 5 cellulosid (**CM-13**), niedermolekulare Cellulose (**CM-5**) und 2,2,2-Trichloroethyl- β -D- 25 cellulosid (**CM-12**) in $\text{DMSO-}d_6$ bzw. $\text{BMIMCl/DMSO-}d_6$.

3.4 Boronsäureinteraktionen mit Cellulose-Modellen

Aufgrund der vergleichsweise schnell ablaufenden Gleichgewichtsreaktionen zwischen Borsäure und den Hydroxylgruppen der Cellulose in wässrigen Suspensionen auf der einen Seite und der starken Neigung der trivalenten Borsäure zur Vernetzung von Celluloseketten auf der anderen wurde die Wechselwirkung von Phenylboronsäure (PBA) mit dem Methyl- α -D-glucopyranosid und den im Rahmen der Arbeit dargestellten Cellulose-Modellverbindungen (vgl. Kapitel 3.1-3.3) detaillierter untersucht. Durch die Existenz von nur zwei Valenzen im Fall der Boronsäuren sollte die strukturelle Vielfalt der Interaktionen eingeschränkt werden, aber dennoch fundierte Aussagen zur Art der Wechselwirkung von Borsäurederivaten mit den OH-Gruppen der Cellulose möglich sein.

3.4.1 Methyl- α -D-glucopyranosid

3.4.1.1 Massenspektrometrische Untersuchungen

Um die Interaktionen von PBA mit der einfachsten Cellulose-Modellverbindung, dem Me- α -D-glcp, besser zu verstehen, wurden das Methylglycosid und PBA in verschiedenen Molverhältnissen in Wasser gelöst. Der Rückstand konnte nach Verdampfung des Wassers im MS-Probenziegel mittels Elektronenstoß-Ionisation (EI) massenspektrometrisch charakterisiert werden. Die äquimolare Umsetzung des Me- α -D-glcp (**CM-9**) mit PBA ergab im MS ein Molekülion mit m/z 280, welches dem Methyl-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (Me-^{4,6}(PhB)- α -D-glcp, **CMB-1**; vgl. Abbildung 3.25) zugeordnet werden kann. Als Beleg für die Ringgröße der Boronat-Struktur konnte ein Fragmention **I** bei m/z 160 detektiert werden. Diese Massenzahl stimmt mit der sechsgliedrigen 1,3,2-Dioxaborinan-Struktur überein. Wird nun ein Überschuss an PBA für die Veresterung von **CM-9** verwendet, registriert man neben Fragmention **I** das repräsentative Molekülion mit m/z 470 und ein weiteres signifikantes Fragmention **II** mit m/z 250. Das jeweils dazugehörige Isotopenmuster und die Strukturen der detektierten Ionen sind in Abbildung 3.24 dargestellt. Diese beiden Masse-Ladungsverhältnisse belegen die Existenz einer siebengliedrigen Diphenylpyroboronat-Struktur an den *trans*-ständigen OH-Gruppen der Kohlenstoffe C-2 und C-3 des Methylglycosids. Als weiterer Hinweis kann der Vergleich des gemessenen Isotopenmusters mit den theoretisch berechneten Intensitäten herangezogen werden (graue Balken in Abb. 3.24), da die charakteristische Isotopenverteilung des Bors ($^{10}\text{B}:^{11}\text{B} = 1:4,2$) signifikant für borhaltige Verbindungen ist.

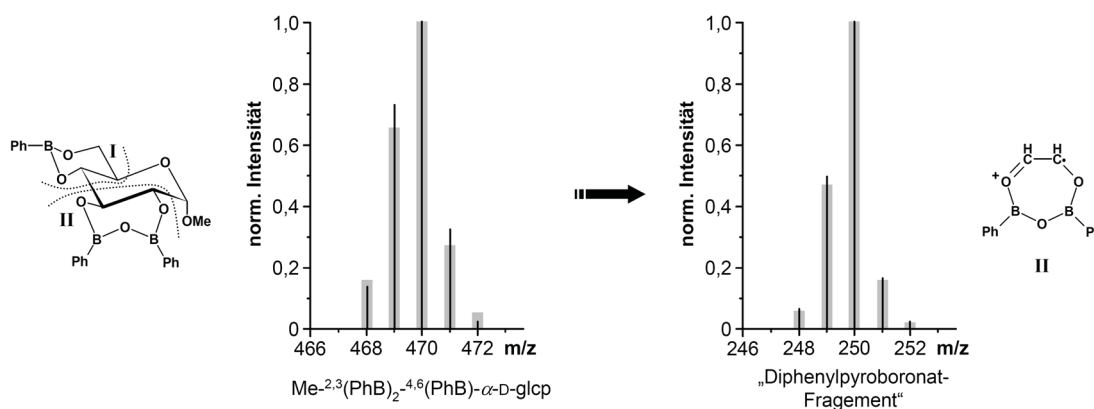


Abb. 3.24. Vergleich des detektierten Isotopenmusters mit den theoretisch berechneten Intensitäten (grau) für das Molekülion von Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid ($\text{Me-}^{2,3}(\text{PhB})_2\text{-}^{4,6}(\text{PhB})\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$, **CMB-2**; links) und das Fragmention **II** (rechts).

Die Intensität des (M-1)-Peaks nimmt mit steigender Anzahl an Boratomen zu. Die sehr gute Übereinstimmung der experimentellen mit den berechneten Werte bestätigen für das Molekülion von Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid ($\text{Me-}^{2,3}(\text{PhB})_2\text{-}^{4,6}(\text{PhB})\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$, **CMB-2**) und das Fragmention **II** die siebengliedrige 1,3,5,2-Trioxadiborepan-Struktur. Diese massenspektrometrischen Untersuchungen untermauern, dass die in aprotischen Lösungsmitteln beschriebenen Ester-Strukturen (Robinson und Eagles 1973) auch in wässriger Lösung von $\text{Me-}\alpha\text{-D-glcp}$ und PBA zumindest als Vorstufen (Komplexe) im Gleichgewicht mit anderen Strukturen vorliegen müssen, damit nach Verdampfen des Wassers ein sieben- und ein sechsgliedriger Boronsäureester entstehen kann.

3.4.1.2 Synthese und NMR-Charakterisierung

Im Gegensatz zu den MS-Untersuchungen kann die NMR-Spektroskopie einen unmittelbaren Beleg für die Existenz verschiedener Boronat-Strukturen am intakten Kohlenhydratmolekül liefern. Bisher konnte eine Veresterung der *trans*-1,2-Diol-Struktur der Kohlenstoffatome C-2/3 mit Bor- bzw. Boronsäuren NMR-spektroskopisch nicht beobachtet werden (Smoum et al. 2003). Daher wurde eine schrittweise Veresterung des $\text{Me-}\alpha\text{-D-glcp}$ (**CM-9**) mit PBA in aprotischen Lösungsmitteln durchgeführt, indem das bei der Reaktion entstehende Wasser als Azeotrop abdestilliert wurde. Die Produkte konnten nach Trocknung mittels NMR-Spektroskopie charakterisiert werden. Die Synthese der Phenylboronate **CMB-1** und **CMB-2** ist in Abbildung 3.25 dargestellt. Im ersten Schritt

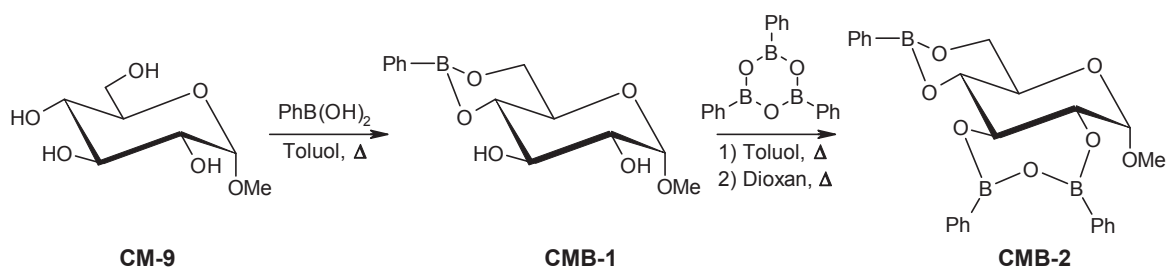


Abb. 3.25. Synthese von Methyl-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-1**) und Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-2**) ausgehend von Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**).

entfernte man das Reaktionswasser mit Molekularsieb, welches sich in einer Soxhlet-Apparatur befand. Die PBA reagierte mit den OH-Gruppen in Position 4 und 6 des Glucopyranosids **CM-9** und man erhielt $\text{Me}^{-4,6}(\text{PhB})\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$ (**CMB-1**) in annähernd quantitativer Ausbeute. Das vollständig veresterte $\text{Me}^{-2,3}(\text{PhB})_2\text{-}^{4,6}(\text{PhB})\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$ (**CMB-2**) konnte nach zweistufiger Veresterung von **CMB-1** mit Triphenylboroxin (TPB, cyclisches Anhydrid der PBA) synthetisiert werden.

Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der in Abbildung 3.25 veranschaulichten Verbindungen wurden alle in $\text{DMSO-}d_6$ aufgenommen, um bestmögliche Vergleichbarkeit zu erzielen. Das Spektrum von $\text{Me-}\alpha\text{-D-glcp}$ (**CM-9**) zeigt wie zu erwarten Signale für die vier Protonen der OH-Gruppen und ein Dublett für den Wasserstoff H-1 bei 4,51 ppm (Abbildung 3.26a). Die Zuordnung erfolgte mittels NMR-Korrelationsexperimenten. Nach der ersten Stufe der Veresterung mit PBA konnte die Bildung des $\text{Me}^{-4,6}(\text{PhB})\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$ (**CMB-1**) aus dem Verschwinden der NMR-Signale für die Wasserstoffe OH-4/6 geschlussfolgert werden (Abbildung 3.26b). Im Spektrum von **CMB-1** ist zu erkennen, dass vor allem die Protonen der nicht derivatisierten Hydroxylgruppen eine merkliche Tieffeldverschiebung ($\Delta \delta_{\text{H}} = 0,37\text{-}0,57$ ppm) erfahren. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **CMB-2**, welches nach dem zweiten Veresterungsschritt erhalten wurde, zeigt hingegen nur noch ein Dublett mit geringer Kopplungskonstante (Abbildung 3.26c). Die Peaks für OH-Protonen sind vollständig verschwunden, was nur durch eine vollständige Veresterung aller funktionellen Gruppen des $\text{Me-}\alpha\text{-D-glcp}$ erklärt werden kann. Das verbliebene Signal (4,95 ppm) wurde dem Proton am anomeren Kohlenstoff eindeutig zugeordnet und ist im Vergleich zu dem Signal zum Atom H-1 des $\text{Me-}\alpha\text{-D-glcp}$ um 0,44 ppm zu tieferem Feld verschoben. Diese Untersuchungen liefern den ersten NMR-spektroskopischen Beweis, dass an einer Glucopyranose die *trans*-ständigen OH-Gruppen der Kohlenstoffe C-2/3 mit

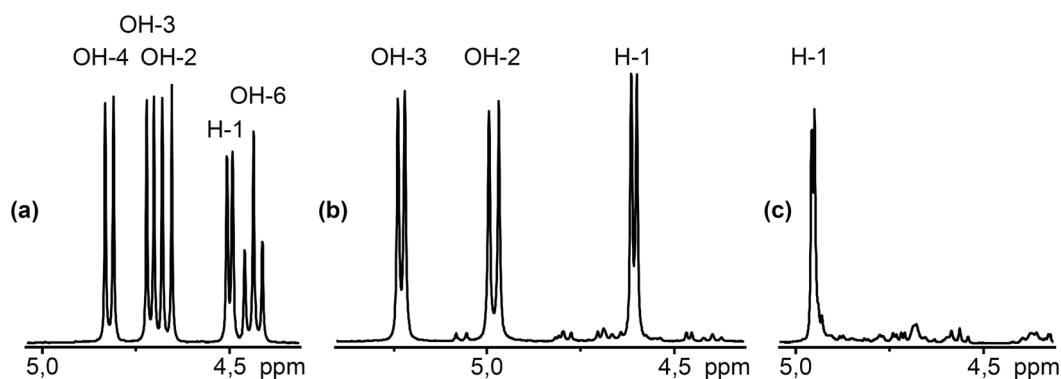


Abb. 3.26. ^1H -NMR-Spektrenausschnitte des Bereiches der Hydroxyl- und anomeren Protonen von (a) Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**); (b) Methyl-4,6-O-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-1**) und (c) Methyl-2,3-O-(diphenylpyroboronat)-4,6-O-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-2**) in $\text{DMSO-}d_6$.

zwei Boronsäuremolekülen in Form der mit MS vorhergesagten siebengliedrigen Pyroboronat-Struktur umgesetzt wurden. Dieser Befund konnte durch die Veresterung von Methyl-4,6-O-benzyliden- α -D-glucopyranosid ($\text{Me-}^{4,6}(\text{Bz})\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$) bestätigt werden. Das entsprechende $\text{Me-}^{4,6}(\text{Bz})\text{-}^{2,3}(\text{PhB})_2\text{-}\alpha\text{-D-glcp}$ (**CMB-3**) wurde auf ähnliche Weise durch Umsetzung mit TPB erhalten und das ^1H -NMR-Spektrum zeigt die vergleichbare Tieffeldverschiebung des Signals für das Atom H-1 resultierend aus der Derivatisierung der benachbarten *trans*-1,2-Diol-Struktur in Position 2 und 3. Wiederum sind keine Peaks für unumgesetzte Hydroxylgruppen zu erkennen. Dennoch können ^1H -NMR-Studien nicht als alleiniger Beleg für die Existenz dieses siebengliedrigen Diphenylpyroboronatrings dienen.

Als aussagekräftige Methode zur Bestimmung der Ringgröße von Boronat-Strukturen kam die ^{11}B -NMR-Spektroskopie zum Einsatz (Smoum et al. 2003). Aufgrund der hohen Linienbreiten von ^{11}B -NMR-Spektren erwies es sich als vorteilhaft Modellverbindungen mit fünf-, sechs- und siebengliedrigen Boronat- bzw. Pyroboronat-Strukturen herzustellen. Es wurden die Phenylboronsäureester des 1,2-Ethandiols (Fünfring), 1,3-Propandiols (Sechsring) und *trans*-Cyclohexan-1,2-diols (Siebenring) hergestellt (Sugihara und Bowman 1958, Bowie und Musgrave 1963) und deren ^{11}B -NMR-Spektren zum Vergleich mit den Spektren der im Rahmen der Arbeit dargestellten Phenylboronate des $\text{Me-}\alpha\text{-D-glcp}$ herangezogen. In Abbildung 3.27a sind die ^{11}B -NMR-Spektren der unterschiedlich großen Boronat-Modelle dargestellt. Die Umsetzung von PBA (pink) zu einer fünfgliedrigen Boronat-Struktur (orange) führt zu einer Tieffeldverschiebung des NMR-Signals im

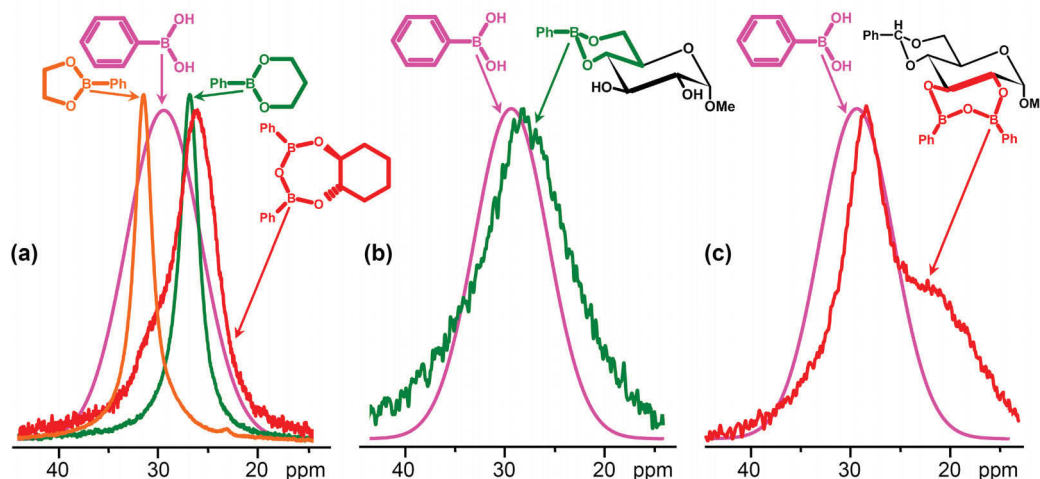


Abb. 3.27. ^{11}B -NMR-Spektren von (a) Phenylboronsäureestern des 1,2-Ethandiols (orange), 1,3-Propandiols (grün) und *trans*-Cyclohexan-1,2-diols (rot); (b) Methyl-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-1**, grün) und (c) Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)- α -D-glucopyranosid (**CMB-3**, rot) im Vergleich zu Phenylboronsäure (pink) in $\text{DMSO-}d_6$.

Vergleich zum Peak von PBA. Im Gegensatz dazu befindet sich das Signal des 2-Phenyl-1,3,2-dioxaborinans (grün) bei niedrigeren Werten. Die Resonanzfrequenz der siebengliedrigen Modellverbindung (rot) ist allerdings am stärksten hochfeldverschoben. Diese NMR-Daten wurden nun herangezogen, um die Ringgrößen der Verbindungen **CMB-1** und **CMB-3**, die jeweils nur eine Boronsäureester-Struktur enthalten sollten, zu charakterisieren. Das ^{11}B -NMR-Spektrum von $\text{Me-}^{4,6}(\text{PhB})\text{-}\alpha\text{-D-glc}$ (**CMB-1**, Abbildung 3.27b) zeigt ein Signal bei 28 ppm, welches mit der Peaklage der sechsgliedrigen Modellverbindung übereinstimmt. Im Fall der Modifikation von $\text{Me-}^{4,6}(\text{Bz})\text{-}\alpha\text{-D-glc}$ mit TPB zu **CMB-3** findet man im ^{11}B -NMR-Spektrum (Abbildung 3.27c) eine deutlich ausgeprägte Schulter, deren lokales Maximum bei etwa 22 ppm liegt. Damit ist der siebengliedrige Diphenylpyroboronatring unter Einbeziehung der *trans*-1,2-Diolgruppe an den Atomen C-2/3 des Glucopyranosids mittels der ^{11}B -NMR-Technik erstmalig eindeutig belegbar.

Ein zusätzlicher Hinweis für die Bildung des Siebenrings mit zwei Boronsäuremolekülen erhält man durch Auswertung des zweidimensionalen NOESY (nuclear overhauser enhancement spectroscopy)-NMR-Spektrums von **CMB-3** (Abbildung 3.28). Für niedermolekulare Verbindungen wie das zu untersuchende Phenylboronat gilt, dass die Rotationskorrelationszeit τ_c vergleichsweise klein ist und positive NOE-Signale beobachtet werden (Friebolin 2005). Daher war es möglich die negativen Austausch-Signale

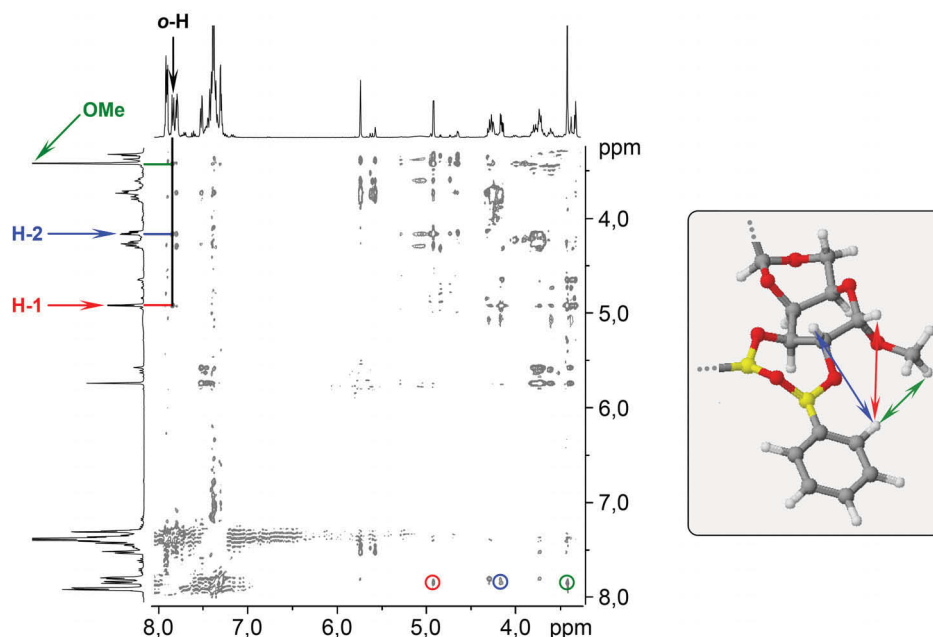


Abb. 3.28. [^1H , ^1H]-NMR-Korrelationsspektrum (NOESY) von Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)- α -D-glucopyranosid (**CMB-3**) in $\text{DMSO-}d_6$. Das Kugel-Stab-Modell der Verbindung veranschaulicht die im Spektrum eingezeichneten Kopplungen.

(EXSY (exchange spectroscopy)-NMR) in Abbildung 3.28 auszublenden und somit eine bessere Auswertung des Spektrums zu ermöglichen. Die farblich hervorgehobenen Crosspeaks geben die nicht-kovalenten Kopplungen des Aromatenprotons in *ortho*-Stellung (*o*-H, $\delta_{\text{H}} = 7,85$ ppm) des Phenylboronat-Restes mit den Protonen des Kohlenhydrats wieder. Demnach kommt dieses *o*-H-Atom den Protonen vom anomeren Kohlenstoff (H-1), dem benachbarten Kohlenstoff C-2 und den Methyl-Protonen der Methoxylgruppe räumlich nahe. Die Kopplungen durch den Raum sind in Abbildung 3.28 in Form eines Kugel-Stab-Modells der Verbindung veranschaulicht. Diese räumliche Nähe der erwähnten Protonen kann nur in einer Pyroboronat-Struktur an den Atomen C-2/3 des Glucopyranosids begründet sein.

Basierend auf diesen eindeutigen Belegen zur vollständigen Veresterung des Me- α -D-glcp (**CM-9**) wurden die ^{13}C -NMR-Spektren der dargestellten Phenylboronate (**CMB-1**, **CMB-2** und **CMB-3**) hinsichtlich Signalverschiebungen, die auf die Umsetzung der Hydroxylgruppen mit PBA zurückzuführen sind, untersucht. In Tabelle 3.11 sind die NMR-Daten der Verbindungen und die Verschiebungswertdifferenzen („coordination-induced shifts“ CIS) zusammengefasst. Der Vergleich des Signalmusters von Me- α -D-glcp (**CM-9**) mit denen der Phenylboronate **CMB-1** und **CMB-2** zeigt, dass die direkt mit den

Tab. 3.11. ^{13}C -NMR-Daten und durch Veresterung resultierende Verschiebungswertdifferenzen (in ppm) der hergestellten Phenylboronate: Methyl-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-1**); Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-2**) und Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)- α -D-glucopyranosid (**CMB-3**) gemessen in $\text{DMSO-}d_6$.

	CMB-1		CMB-2		CMB-3	
	δ	$\Delta \delta_1^a$	δ	$\Delta \delta_2^a$	δ	$\Delta \delta_3^b$
C-1	100,5	+ 0,9	99,7	+ 0,1	99,7	- 0,7
C-2	72,0	+ 0,1	76,1	+ 4,2	76,3	+ 4,0
C-3	71,4	- 1,9	74,6	+ 1,3	72,2	+ 2,4
C-4	75,1	+ 4,8	73,6	+ 3,3	80,5	- 0,8
C-5	64,1	- 8,4	63,6	- 8,9	61,8	- 0,5
C-6	63,9	+ 3,0	63,9	+ 3,0	68,1	± 0
OMe	54,8	+ 0,6	55,1	+ 0,9	55,1	+ 0,4

^a Differenz zwischen $\delta_{\text{CMB-1/2}}$ und $\delta_{\text{CMB-9}}$

^b Differenz zwischen $\delta_{\text{CMB-3}}$ und $\delta_{4,6\text{-Bz-glc}}$

veresterten OH-Gruppen verknüpften Kohlenstoffatome (z.B. C-4/6 von **CMB-1** oder C-2/3 von **CMB-2**) eine Tieffeldverschiebung zwischen 2 und 5 ppm erfahren (Abbildung 3.29). Die Kohlenstoffe in Nachbarschaft zu diesen Atomen (z.B. C-3 von **CMB-1**) oder zwischen den Kohlenstoffatomen (C-5 von **CMB-1**) mit Boronat-Substitution werden bis zu 9 ppm zu höherem Feld verschoben. Im Fall des vollständig veresterten Glucopyranosids **CMB-2** findet man eine Tieffeldverschiebung für alle Kohlenstoffsignale ausgenommen die Atome C-1 und C-5 (vgl. Tabelle 3.11 und Abbildung 3.29 rechts). Somit eignen sich diese charakteristischen CIS sehr gut, um die Interaktion von Boronsäuren mit weiteren Cellulose-Modellverbindungen, wie dem Methyl- β -D-cellobiosid und den Alkyl- β -D-cellulosiden, zu untersuchen. Denn sowohl eine Wechselwirkung an der primären als auch den sekundären Hydroxylgruppen resultiert in einer merklichen Tieffeldverschiebung der ^{13}C -NMR-Signale.

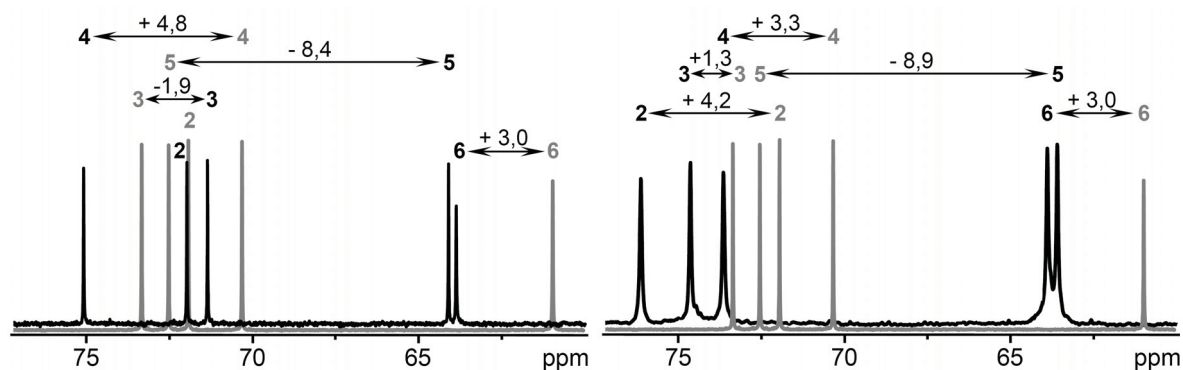


Abb. 3.29. Überlagerung der ^{13}C -NMR-Spektren von Methyl-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-1**, links) und Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-2**, rechts) mit dem ^{13}C -NMR-Spektrum des Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**, grau) in $\text{DMSO}-d_6$ und Kennzeichnung der Verschiebungswertdifferenzen (CIS).

3.4.1.3 Studien zur Hydrolysestabilität

Um das Potential der Phenylboronate des Me- α -D-glcp oder auch anderer Oligo- und Polyglucane als nützliche Intermediate zur Aktivierung bzw. als Schutzgruppe für Hydroxylgruppen einzuschätzen, wurde die Stabilität der Phenylboronat-Strukturen in Gegenwart von Wasser untersucht. Dafür konnte eine Art Titration mittels ^1H -NMR-Spektroskopie verfolgt werden.

Nach Messung des Spektrums von Me- $^{2,3}(\text{PhB})_2$ - $^{4,6}(\text{PhB})$ - α -D-glcp (Abbildung 3.30a) erfolgte die Zugabe von 2 μl Wasser in das NMR-Röhrchen. Das Volumen an Wasser entsprach dabei der Stoffmenge des eingewogenen Diphenylpyroboronats (0,11 mmol). Im Gegensatz zum Ausgangsspektrum ist das Signal für das Proton H-1** bei 4,95 ppm (anomeres Proton von Me- $^{2,3}(\text{PhB})_2$ - $^{4,6}(\text{PhB})$ - α -D-glcp) im ^1H -NMR-Spektrum (Abbildung 3.30b), welches vier Minuten nach Wasserzugabe gemessen wurde, fast ausgelöscht. Stattdessen werden einige neue Signale für OH-Gruppen und ein Dublett bei 4,69 ppm beobachtet, welches dem Proton H-1* von Me- $^{4,6}(\text{PhB})$ - α -D-glcp zugeordnet werden konnte. Da bereits ein Moläquivalent Wasser ausreichte, um den siebengliedrigen Diboronatring an den Atomen C-2/3 zu spalten, ist die Hydrolysebeständigkeit dieser Strukturen an *trans*-1,2-Diolgruppen von Glucanen als sehr gering einzuschätzen. Eine erneute Zugabe von fünf Äquivalenten Wasser nach 15 Minuten resultierte im vollständigen Auslöschen des Signals für das Proton H-1** und neben dem Dublett für H-1* konnte bereits das Signal für das anomere Proton von Me- α -D-glcp (H-1) detektiert

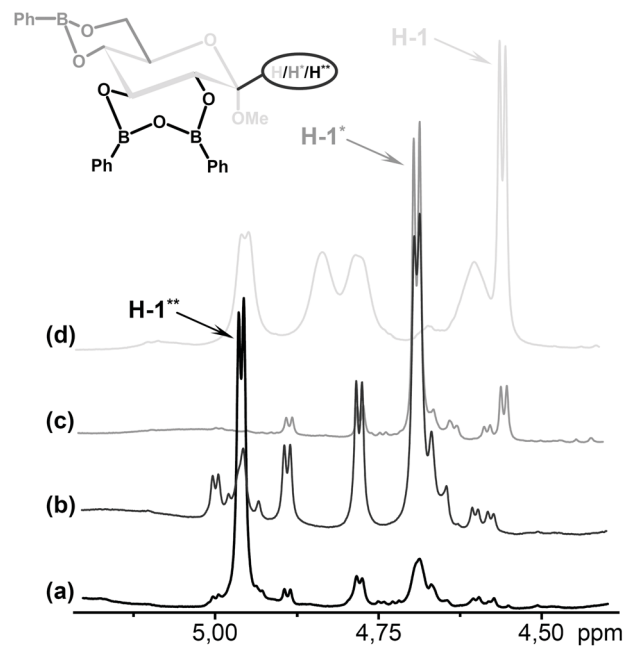


Abb. 3.30. ^1H -NMR-Spektrenausschnitte des Bereiches der Hydroxyl- und anomeren Protonen von (a) Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-2**); und nach Zugabe von (b) einem; (c) fünf bzw. (d) 30 Moläquivalenten H_2O in $\text{DMSO-}d_6$.

werden (Abbildung 3.30c). Die Aufnahme eines weiteren ^1H -NMR-Spektrums (ohne Abbildung) nach 90 Minuten ohne Zugabe von Wasser ergab keine Veränderung im Vergleich zum Spektrum in Abbildung 3.30c. Somit ist das 4,6-*O*-Phenylboronat gegenüber einem Überschuss an Wasser inert. Erst eine Menge von 30 Moläquivalenten ($V = 60 \mu\text{l}$; 10 vol.-%) Wasser in der DMSO -Lösung führte dazu, dass alle Hydroxylgruppen des Me- α -D-glcp als breite Signale und das Dublett des Protons H-1 bei 4,56 ppm im Spektrum erscheinen (Abbildung 3.30d).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Diphenylpyroboronat-Struktur der *trans*-1,2-Diolgruppe im Gegensatz zum sechsgliedrigen Boronatrium in Position 4 und 6 des Glucopyranosids in Gegenwart kleiner Mengen Wasser (weniger 1 vol.-%) sehr instabil ist. Deshalb kann diese intermediäre Funktionalisierung der sekundären OH-Gruppen an den Kohlenstoffen C-2/3 mit PBA ausgenutzt werden, um eine temporäre Modifikation und somit eine Aktivierung von Cellulose-Modellverbindungen (z.B. Cellodextrine) oder sogar Cellulose zu erreichen. Die festgestellte Labilität der Siebenring-Struktur kann ebenso als Begründung dienen, dass diese Art der Boronsäure-Interaktion in wässrigen Lösungen nicht NMR-spektroskopisch fassbar ist. Die stabilere 4,6-*O*-Phenylboronat-Struktur an der nREG spielt jedoch für Cellulose-Modelle mit großem DP-Wert kaum eine Rolle.

3.4.2 Methyl- β -D-cellobiosid

Bisherige NMR-Untersuchungen zur Interaktion von D-Cellobiose mit PBA in alkalischen Lösungen ließen erkennen, dass sich ein fünfgliedriger Boronat-Komplex mit OH-Gruppen in Position 1 und 2 der REG bildet. Für die REG wurde eine α -Glucopyranose mit Twist-Konformation postuliert, damit sich die Hydroxylgruppen des anomeren C-Atoms und des Kohlenstoffs in Position 2 in einer Ebene befinden (Nicholls und Paul 2004). Kuzuhara und Emoto (1966) nutzten PBA als Schutzgruppenreagenz im nicht-wässrigen Medium bei der Umlagerung von Cellobiose in Lactose aus. Es wurde jedoch kein spektroskopischer Beleg für die Art der Boronsäureinteraktion erbracht. Eigene Untersuchungen wurden am Methyl- β -D-cellobiosid (Me- β -D-clb, **CM-10**), der Wiederholungseinheit der Cellulose mit Vollacetal-Struktur am anomeren Kohlenstoff der REG, durchgeführt, um die Borsäure- bzw. Boronsäureinteraktion als Aktivierungsmöglichkeit für sekundäre Hydroxylgruppen von Oligo- und Polyglucanen zu beurteilen. Im Unterscheid zum bisher untersuchten Me- α -D-glcp (siehe Kapitel 3.4.1) muss der primären OH-Gruppe in Position 6 der REG als mögliche Stelle zur Vernetzung besondere Beachtung geschenkt werden.

3.4.2.1 Massenspektrometrische Studien

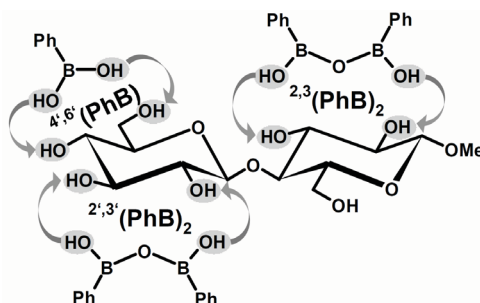
Lösungen von Me- β -D-clb und TPB sowohl in aprotischen Lösungsmitteln als auch in Wasser wurden im MS-Probenziegel verdampft und mittels verschiedener Ionisationsmethoden massenspektrometrisch auf Boronat-Strukturen untersucht. Die Spektren, gemessen unter Verwendung von EI, zeigten für die molare Verhältnisse Me- β -D-clb zu TPB größer als 1:1 Fragmentationen bei m/z 250. Ionen mit diesem Masse-Ladungsverhältnis sind ein erster Hinweis für die Existenz eines siebengliedrigen Diphenylpyroboronatrings an der *trans*-1,2-Diol-Struktur der Atome C-2/3 (vgl. Ion **II** in Kapitel 3.4.1.1). MS-Experimente, bei denen Wasser als Reaktandgas für die chemische Ionisation (CI) Verwendung fand, bestätigten diese Annahme. Darüber hinaus wurde ein Molekülion mit m/z 632 identifiziert. Dieses Signal konnte eindeutig einem mit PBA derivatisierten Me- β -D-clb zugewiesen werden. Eine Veresterung fand an den OH-Gruppen der Position 4' und 6' (sechsgliedriges Phenylboronat) und an einer der beiden *trans*-1,2-Diol-Strukturen der Kohlenstoffe C-2/3 bzw. C-2'/3' (siebengliedriges Diphenylpyroboronat) statt (Eintrag 3, Tabelle 3.12). Das Vorkommen von drei Molekülen Boronsäure im oben genannten Molekülion mit m/z 632 beweist das Isotopenmuster des Signals, da der (M-1)-Peak eine Intensität von etwa 60 % des Molpeaks besitzt. Aufgrund

der Isotopenverteilung des Bors ($^{10}\text{B}:^{11}\text{B} = 1:4,2$) ist dies für borhaltige Verbindungen ein charakteristisches Merkmal zur Abschätzung der Anzahl von Boratomen im Molekülion.

Massenspektren, aufgenommen mittels FAB (fast atom bombardment)-Ionisation, zeigten erneut das Signal mit m/z 632 und ein Peak bei m/z 546 für ein weiteres Molekülion (Eintrag 2, Tabelle 3.12), welches ausschließlich eine Diphenylpyroboronat-Struktur an den OH-Gruppen der Positionen 2 und 3 bzw. 2' und 3' enthält. Mittels Nano-Elektrospray-Ionisation (ESI) detektiert man nur ein 4',6'-*O*-Phenylboronat (m/z 442, Eintrag 1, Tabelle 3.12). Somit wurde unter Zuhilfenahme konventioneller Ionisationsmethoden neben dem endständigen sechsgliedrigen Boronatring das Vorkommen einer Pyroboronat-Struktur am Cellobiosid festgestellt. Die Umsetzung von zwei *trans*-1,2-Diol-Strukturen an benachbarten Glucoseeinheiten konnte jedoch nicht beobachtet werden.

Demzufolge wurden im Rahmen der Arbeit MALDI-TOF-MS-Untersuchungen durchgeführt. Die Probenvorbereitung erfolgte nach der „Multi-Layer-Spotting“-Technik mit drei Schichten: Zuerst 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) gelöst in THF, anschließend Natriumiodid gelöst in Aceton und nach Antrocknen beider Lösung tropfte man die

Tab. 3.12. Phenylboronat-Strukturen des Methyl- β -D-cellobiosids (**CM-10**) und deren Detektierbarkeit mit verschiedenen spektroskopischen Methoden.



Eintrag	Abkürzung der Struktur	Molmasse [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]	detektiert mit ^a
1	Me- ^{4',6'} (PhB)- β -D-clb (CMB-4)	442	NMR, ESI, MALDI-TOF
2	Me- ^{2,3} (PhB) ₂ - β -D-clb <i>oder</i> Me- ^{2',3'} (PhB) ₂ - β -D-clb	546	ESI, FAB, MALDI-TOF
3	Me- ^{2,3} (PhB) ₂ - ^{4',6'} (PhB)- β -D-clb <i>oder</i> Me- ^{2',3'} (PhB) ₂ - ^{4',6'} (PhB)- β -D-clb	632	FAB, CI, MALDI-TOF
4	Me- ^{2,3} (PhB) ₂ - ^{2',3'} (PhB) ₂ - β -D-clb	736	MALDI-TOF
5	Me- ^{2,3} (PhB) ₂ - ^{2',3'} (PhB) ₂ - ^{4',6'} (PhB)- β -D-clb (CMB-5a)	822	NMR

^a Methoden: Elektrospray-Ionisation (ESI); fast atom bombardment (FAB); chemische Ionisation (CI)

wässrige Probenlösung (Mischung aus Me- β -D-clb und TPB) als dritte Schicht auf den Probensteller. Die Entfernung des Wassers, was mit der Veresterung der OH-Gruppen mit Boronsäure einhergeht, führte man unter vermindertem Druck im Exsikkator und später direkt im Spektrometer durch.

Abbildung 3.31 zeigt ein MALDI-TOF-Massenspektrum (Reflektor-Modus) einer eingedampften wässrigen Probe bestehend aus Me- β -D-clb und TPB im molaren Verhältnis 1:0,6 und die Angabe der gerundeten Massenzahlen für die signifikanten Molpeaks. Auffallend sind die wiederkehrenden Differenzen $\Delta m/z = 86$ und $\Delta m/z = 104$ zwischen diesen Massenzahlen, die in einem zusätzlichen PBA-Rest begründet liegen. Folglich korrelieren die Molekülonen $[M + Na]^+$ bei m/z 465, m/z 569, m/z 655 und m/z 759 mit Phenylboronaten des Cellobiosids, welche eine steigende Anzahl an Boronsäureeinheiten tragen (Einträge 1-4, Tabelle 3.12). Die detektierten Masse-Ladungsverhältnisse bestätigten die Umsetzung der sekundären OH-Gruppen in Position 2 und 3 zusätzlich zum erwarteten sechsgliedrigen 4',6'-*O*-Phenylboronat. Zudem untermauert das Signal mit m/z 759, dass eine Veresterung auch an beiden *trans*-1,2-Diol-Strukturen des Cellobiosids stattfindet. Die Bildung von zwei siebengliedrigen Pyroboronatrigen an benachbarten Glucoseeinheiten wurde damit erstmalig belegt. Einer Mehrfach-Funktionalisierung ist somit auch für eine Oligomer- oder Polymerkette denkbar. Der Wechsel der Matrix hin zu

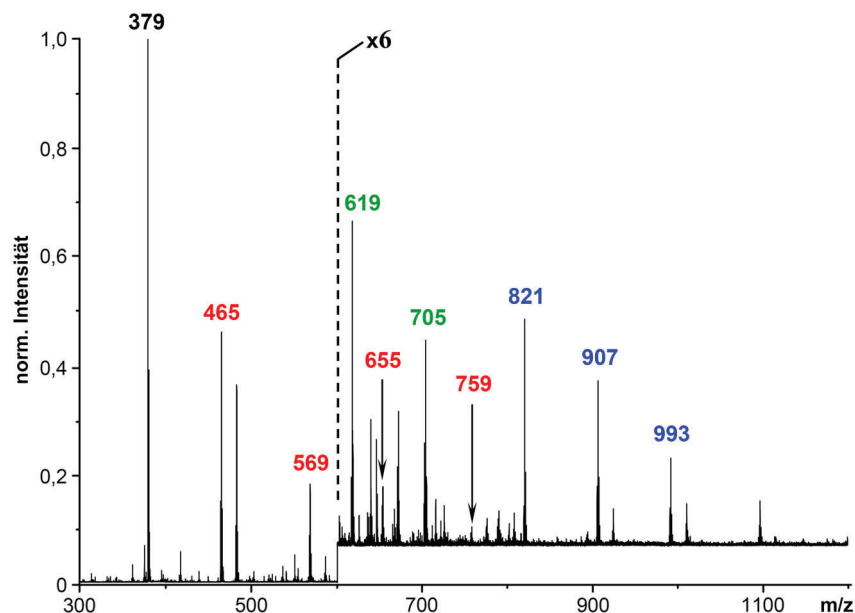


Abb. 3.31. MALDI-TOF-Massenspektrum (Bereich $m/z > 600$ Sechsfach vergrößert) einer wässrigen Lösung von Methyl- β -D-cellobiosid (CM-10) und Triphenylboroxin (molares Verhältnis 1:0,6; Matrix: 2,5-Dihydroxybenzoesäure in Tetrahydrofuran; Salz: NaI in Aceton; Reflektor-Modus).

α -Cyano-4-hydroxycimtsäure bestätigte ebenfalls die Existenz von zwei Diphenylpyroboronat-Strukturen am Cellobiosid, was einen Einfluss der verwendeten Matrix auf die Veresterung des Kohlenhydrats ausschließt. Als zusätzlichen Beweis wurde wiederum ein Vergleich der gemessenen Isotopenmuster mit den theoretisch berechneten Intensitäten herangezogen. Wie in Abbildung 3.32 dargestellt, findet man eine sehr gute Übereinstimmung für alle bereits erwähnten Molekülonen $[M + Na]^+$ des Massenspektrums. Dennoch lieferte die MALDI-TOF-MS auch nach Erhöhung des PBA-Gehalts der Probenlösung keinen Beleg für ein Veresterungsprodukt mit einem sechs- und zwei siebengliedrigen Boronat- bzw. Pyroboronatrigen (Eintrag 5, Tabelle 3.12). Das Fehlen eines solchen Signals für $[M + Na]^+$ mit m/z 845 schließt jedoch das Vorkommen einer solchen Verbindung nicht aus.

Neben der Bildung verschiedener Boronatrige an Me- β -D-clb zeigten vor allem die Massenspektren der Lösungen mit höheren PBA-Gehalten die Tendenz zur Entstehung größerer Addukte. Die Dimerisierung von zwei Molekülen Me- β -D-clb mit einer unterschiedlich großen Anzahl an PBA-Resten wurde einerseits aus den Molpeaks bei m/z 821, m/z 907 und m/z 993 (blaue Massenzahlen in Abbildung 3.31) geschlussfolgert. Andererseits sind die Molekülonen mit m/z 619 und m/z 705 (grüne Massenzahlen in Abbildung 3.31) auf Addukte zurückzuführen, die aus je einem Molekül Me- β -D-clb und DHB, verbunden über eine bzw. zwei PBA-Einheiten, bestehen.

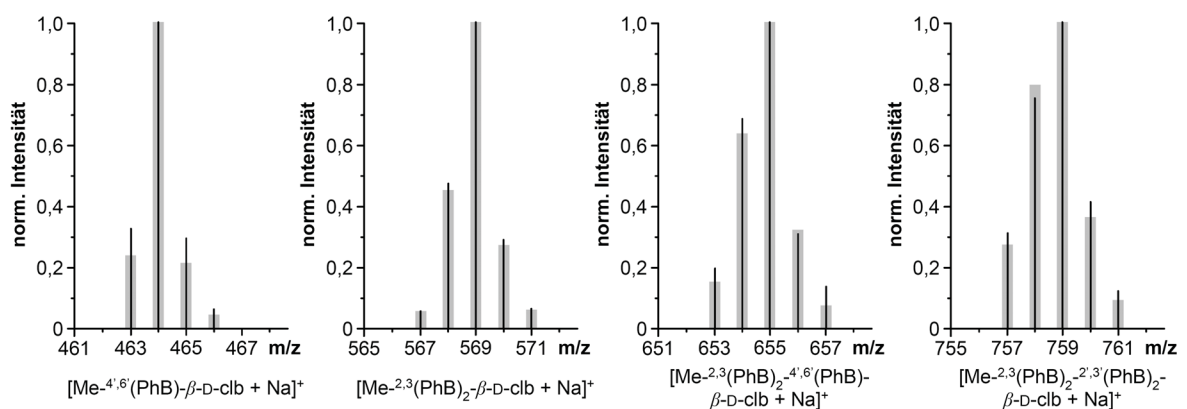


Abb. 3.32. Vergleich des detektierten Isotopenmusters (MALDI-TOF-MS) mit den theoretisch berechneten Intensitäten (grau) für verschiedene Molekülonen $[M + Na]^+$ des Methyl- β -D-cellobiosids mit Phenylboronat-Strukturen.

3.3.3.2 Synthese und NMR-Charakterisierung

Basierend auf den etablierten Methoden zur Darstellung von Phenylboronaten des Me- α -D-glcp (**CMB-1** bis **CMB-3**; siehe Kapitel 3.4.1.2) wurden Synthesen hin zu Phenylboronaten des Me- β -D-clb (**CM-10**) durchgeführt und die erhaltenen Verbindungen NMR-spektroskopisch charakterisiert. Die erste Stufe der Veresterung von **CM-10** mit PBA (molares Verhältnis 1:1,1) erfolgte in Dioxan (Abbildung 3.33). Das während der Reaktion entstandene Wasser wurde mittels azeotroper Destillation entfernt. Das ^1H -NMR-Spektrum des synthetisierten Phenylboronates **CMB-4** zeigte im Vergleich zu den sieben Signalen der OH-Gruppen des unumgesetzten Cellobiosids **CM-10** nur noch fünf Peaks für Hydroxylprotonen. Anhand des Trends der Signalverschiebung im ^{13}C -NMR-Spektrum der Probe (vgl. charakteristische CIS für Me- α -D-glcp) konnte auf die Ausbildung eines sechsgliedrigen Boronatrings an den Kohlenstoffen C-4' und C-6' der nREG geschlossen werden. Das in Abbildung 3.34 gezeigte zweidimensionale HMBC-NMR-Spektrum des Methyl-4',6'-O-phenyl-boronat- β -D-cellobiosids (**CMB-4**) veranschaulicht die Art der Wechselwirkung und ist für die Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale von Bedeutung. Das stark hochfeldverschobene Signal des Kohlenstoffatoms C-5' zeigt im 2D-NMR-Spektrum eine Kopplung über zwei Bindungen (2J) mit den Protonen des Kohlenstoffs in Position 6 der nREG. Diese beiden Peaks der Protonen H-6'a/b sind aufgrund der Veresterung der Hydroxylgruppe des Kohlenstoffs in Position 6' im Vergleich zu den korrespondierenden Signalen des reinen Cellobiosids (**CM-10**) um 0,5 ppm zu tieferem

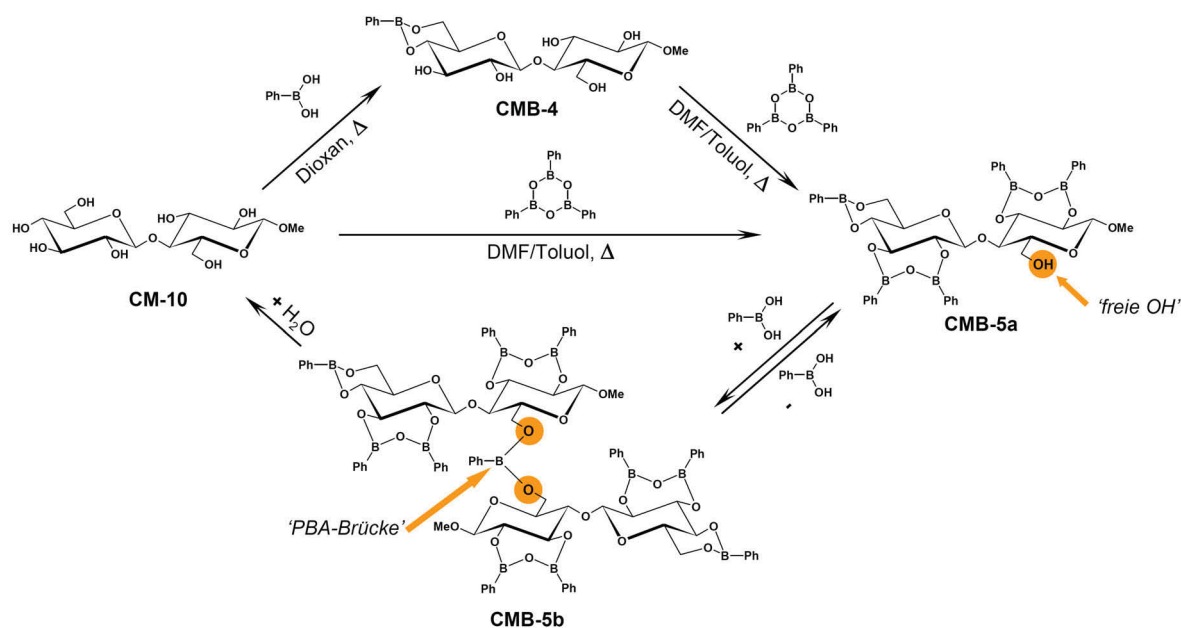


Abb. 3.33. Synthese der Phenylboronate **CMB-4**, **CMB-5a** und **CMB-5b** des Methyl- β -D-cellobiosids (**CM-10**).

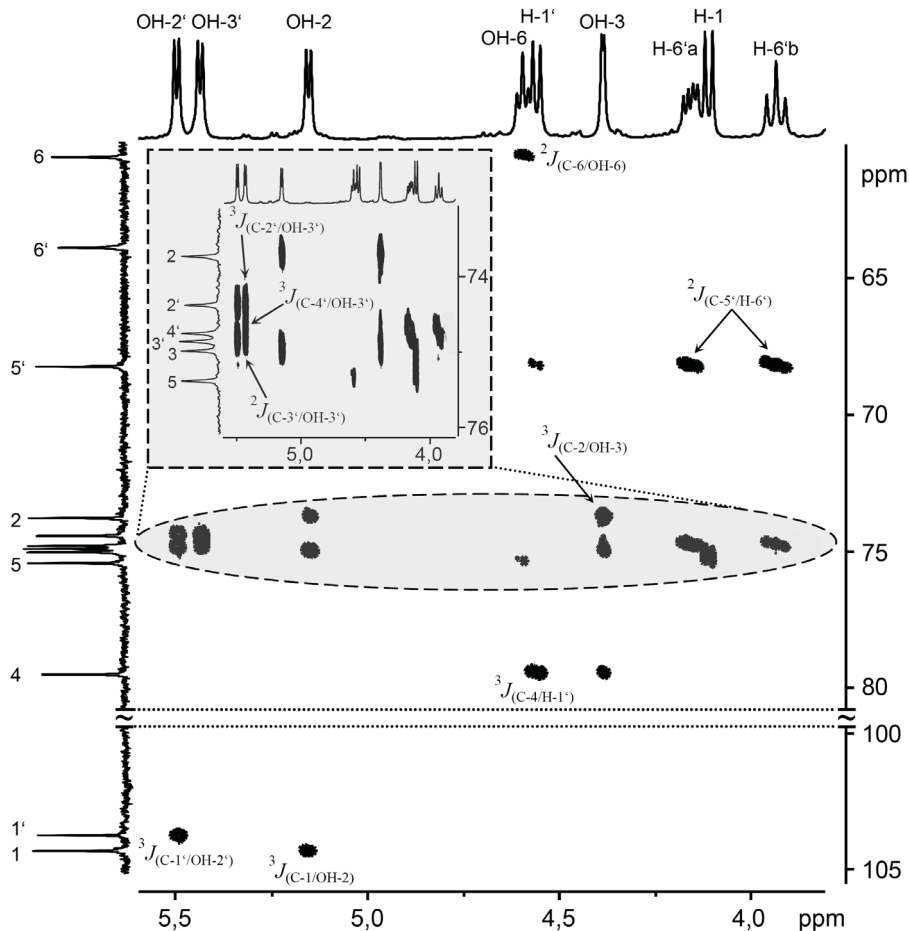


Abb. 3.34. [^1H , ^{13}C]-NMR-Korrelationsspektrum (HMBC) von Methyl-4',6'-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-4**) in $\text{DMSO-}d_6$.

Feld verschoben. Das Signal des OH-Protons in Position 6 der REG konnte aufgrund der 2J -Kopplung zum unveränderten Peak des Atoms C-6 eindeutig identifiziert werden. Über die glycosidische Bindung hinweg existiert die 3J -Kopplung zwischen den Atomen H-1' und C-4. Im Gegensatz dazu zeigt das Proton des anomeren Kohlenstoffs der REG eine Kopplung zum Kohlenstoffatom der Methoxylgruppe. Die Crosspeaks zwischen 100 und 105 ppm entlang der ^{13}C -Achse liefern den Hinweis auf die benachbarten sekundären Hydroxylgruppen OH-2 bzw. OH-2'. Der vergrößerte Ausschnitt in Abbildung 3.34 deckt die Bindungsverhältnisse zwischen den OH-Gruppen in Position 3 und 3' auf. Für diese beiden Hydroxylgruppen werden je drei Crosspeaks zu den Atomen C-2, C-3 und C-4 der jeweiligen Glucoseeinheit beobachtet. Durch weitere 2D-NMR-Techniken (HSQC-DEPT, TOCSY) war es trotz der hohen Anzahl an ^{13}C -NMR-Signalen im Bereich zwischen 73 und 76 ppm möglich, eine vollständige Zuordnung aller ^1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungswerte für das Me- $^{4',6'}$ (PhB)- β -D-clb (**CMB-4**) zu treffen (Tabelle 3.13 und 3.14).

Tab. 3.13. $^1\text{H-NMR}$ -Daten (in ppm) des Methyl- β -D-cellobiosids (**CM-10**) und der hergestellten Phenylboronate: Methyl-4',6'-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-4**); Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-2',3'-*O*-(diphenylpyroboronat)-4',6'-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-5a**) und dessen Dimer (**CMB-5b**) gemessen in $\text{DMSO-}d_6$.

	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	OH-2	OH-3	OH-6	OCH ₃
CM-10	4,09	2,99	3,30	3,30	3,26	3,73/3,61	5,10	4,64	4,54	3,38
CMB-4	4,11	3,03	3,35	3,43	3,29	3,76/3,67	5,15	4,38	4,59	3,40
CMB-5a	4,59	4,01	4,35	4,17	3,61	4,16/4,02	-	-	4,87	3,60
CMB-5b	4,62	4,02	4,39	4,18	3,84	4,69/4,61	-	-	-	3,54
	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'	OH-2'	OH-3'	OH-6'	OH-6'
CM-10	4,25	2,98	3,15	3,04	3,18	3,68/3,41	5,17	4,95	4,92	4,54
CMB-4	4,56	3,17	3,42	3,68	3,64	4,16/3,94	5,50	5,43	-	-
CMB-5a	5,07	3,98	4,21	4,10	3,79	4,24/4,16	-	-	-	-
CMB-5b	5,12	4,02	4,20	4,12	3,69	4,14/4,04	-	-	-	-

Tab. 3.14. $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten und durch Veresterung resultierende Verschiebungswertdifferenzen (in ppm) des Methyl-4',6'-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-4**) und der Phenylboronat-Probe (**CMB-5**) gemessen in $\text{DMSO-}d_6$.

REG	CMB-4		CMB-5		nREG	CMB-4		CMB-5	
	δ	$\Delta \delta_1^a$	δ	$\Delta \delta_2^b$		δ	$\Delta \delta_1^a$	δ	$\Delta \delta_2^b$
C-1	103,6	+ 0,1	102,5	- 1,0	C-1'	103,0	± 0	102,0	- 1,0
C-2	73,2	+ 0,2	76,7	+ 3,7	C-2'	73,8	+ 0,6	77,0	+ 3,8
C-3	74,4	- 0,5	78,6	+ 3,7	C-3'	74,3	- 2,1	78,0	+ 1,6
C-4	78,9	- 1,4	76,0	- 4,3	C-4'	74,2	+ 4,2	73,9	+ 3,9
C-5	74,8	+ 0,1	a 74,6 b 73,6	a - 0,1 b - 1,1	C-5'	67,6	- 9,1	66,9	- 9,8
C-6	60,0	- 0,4	a 59,1 b 60,6	a - 1,3 b + 0,2	C-6'	63,3	+ 2,3	63,4	+ 2,4
OMe	56,0	± 0	a 56,2 b 56,0	+ 0,1					

^a Differenz zwischen $\delta_{\text{CMB-4}}$ und $\delta_{\text{CM-10}}$

^b Differenz zwischen $\delta_{\text{CMB-5}}$ und $\delta_{\text{CM-10}}$

Im Fall der Veresterung von Me- β -D-clb mit PBA im molaren Verhältnis 1:3,5 wurde auf Grundlage der zuvor angestellten MS- und NMR-Untersuchungen ein Produkt erwartet, welches neben dem Sechsring an den OH-Gruppen der C-Atome in Position 4' und 6' eine siebengliedrige Diphenylpyroboronat-Struktur an einer der beiden *trans*-1,2-Diolgruppen des Disaccharids aufweist (siehe Eintrag 3, Tabelle 3.12). Obwohl das ^{13}C -NMR-Spektrum einer solchen Probe komplex ist, konnte anhand der Signale für die Methoxyl-Kohlenstoffe (OMe) festgestellt werden, dass zumindest vier verschiedene Phenylboronate im gemessenen Gemisch vorliegen müssen. Die Anzahl der ^{13}C -NMR-Signale im Bereich zwischen 70 und 80 ppm war allerdings zu hoch, um eine präzise Zuordnung unter Zuhilfenahme von 2D-NMR-Methoden durchführen zu können. Dennoch wurde in Übereinstimmung mit den zuvor beschriebenen CIS der Kohlenstoffsignale der Atome C-2/3 des Me- α -D-glcp (Tiefeldverschiebung um 2-4 ppm) geschlussfolgert, dass bedingt durch das Auftreten mehrerer Peaks zwischen 77 und 79 ppm eine Veresterung an der *trans*-1,2-Diol-Struktur stattgefunden hat. In den ^{13}C -NMR-Spektren der Proben, die mit einem Molverhältnis Cellobiosid zu PBA gleich und kleiner als 1:3,5 hergestellt wurden, detektierte man kein zweites tiefeldverschobenes Signal für einen Kohlenstoff in Position 6. Daher wurde für diese Proben eine Vernetzung von zwei Cellobiosidmolekülen über die primäre OH-Gruppe der REG explizit ausgeschlossen. Die komplexe Natur der ^{13}C -NMR-Spektren kann somit nur dem Gleichgewicht zwischen verschiedenen Spezies mit einem oder zwei siebengliedrigen Pyroboronatrigen zugeordnet werden.

Die vollständige Veresterung des Me- β -D-clb (molares Verhältnis **CM-10** zu PBA 1:5,5) bzw. des Me- $^{4,6'}$ (PhB)- β -D-clb (**CMB-4**) mit einem Überschuss an TPB lieferte das Phenylboronat **CMB-5** (siehe Abbildung 3.33). Aus dem Auftreten von zwei Singulets für Methyl-Protonen der anomeren Methoxylgruppe im ^1H -NMR-Spektrum von **CMB-5** wurde das gemeinsame Vorliegen zweier Phenylboronat-Verbindungen (**CMB-5a** und **CMB-5b**) geschlussfolgert. Mittels der 1D-NOESY-NMR-Experimente, bei denen jeweils bei der Frequenz der erwähnten Methyl-Protonen angeregt wurde, konnten die Dubletts der räumlich benachbarten anomeren Protonen (H-1) der REG beider Verbindungen identifiziert werden (Abbildung 3.35; $\delta_{\text{H-1(CMB-5a)}} = 4,59$ ppm; $\delta_{\text{H-1(CMB-5b)}} = 4,62$ ppm). Eine Zuordnung der Protonensignale des Atoms H-1' der nREG wurde anhand der Intensitätsverhältnisse der OMe-Singulets und den Dubletts des Protons H-1 durchgeführt. Die Integrale der angesprochenen Signale sind für die Verbindung **CMB-5b** kleiner und somit handelt es sich beim am weitesteten hochfeldverschobenen Signal ($\delta = 5,12$ ppm) im

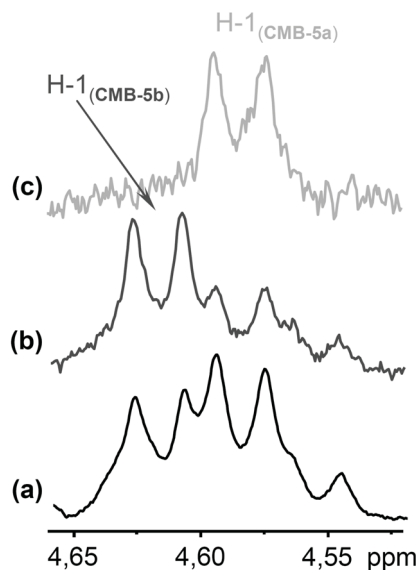


Abb. 3.35. Zuordnung der anomeren Protonen H-1 der Phenylboronat-Probe **CMB-5** mittels 1D-NOESY-NMR-Spektroskopie in DMSO- d_6 : (a) ^1H -NMR-Spektrum; (b) sel. NOESY-NMR-Spektrum (Anregungsfrequenz $\delta = 3,54$ ppm) und (c) sel. NOESY-NMR-Spektrum ($\delta = 3,60$ ppm).

^1H -NMR-Spektrum um das Proton H-1'(CMB-5b). Die eindeutige Identifikation aller anomeren Protonensignale ermöglichte die Auswertung einer Reihe von 2D- $[\text{H}, \text{H}]$ -TOCSY-NMR-Spektren mit verschiedenen Mischzeiten (12, 40 und 90 ms) und somit die Zuordnung der restlichen Resonanzfrequenzen. Die Verschiebungswerte der Atome H-2/3 und H-2'/3' konnten durch Abgleichen der Spektren, aufgenommen nach 12 und 40 ms Mischzeit, erhalten werden. Das „total correlation spectroscopy“-NMR-Experiment mit der längsten Mischzeit ($t_{\text{mix}} = 90$ ms) diente der Zuordnung der Peaks der Protonen H-4/5 bzw. H-4'/5' (Tabelle 3.13). Die Methylenprotonen der Kohlenstoffe in Position 6 kann man anhand des HSQC-DEPT-NMR-Spektrums von **CMB-5** (Abbildung 3.36) identifizieren. Die Crosspeaks mit entgegengesetztem Vorzeichen (blau) verweisen zweifelsfrei auf die Signallage der verschiedenen Methylenprotonen H-6 und H-6'. Mittels der heteronuklearen Kopplung (HSQC-DEPT) ist ebenfalls eine Verifizierung der Verschiebungswerte für die Protonen an den benachbarten Kohlenstoffen C-5 bzw. C-5' möglich.

Damit konnte im ^1H -NMR-Spektrum von **CMB-5** nur ein breiter Peak für ein vermeintliches Hydroxylproton lokalisiert werden ($\delta = 4,87$ ppm; vgl. 1D-Spektrum in Abbildung 3.36). Das 2D-TOCSY-NMR-Experiment ($t_{\text{mix}} = 40$ ms) gibt Aufschluss darüber, dass sich die OH-Gruppe am C-Atom in Position 6 der REG von Verbindung **CMB-5a** befinden muss. Im Gegensatz dazu fehlt für Verbindung **CMB-5b** eine Kopplung

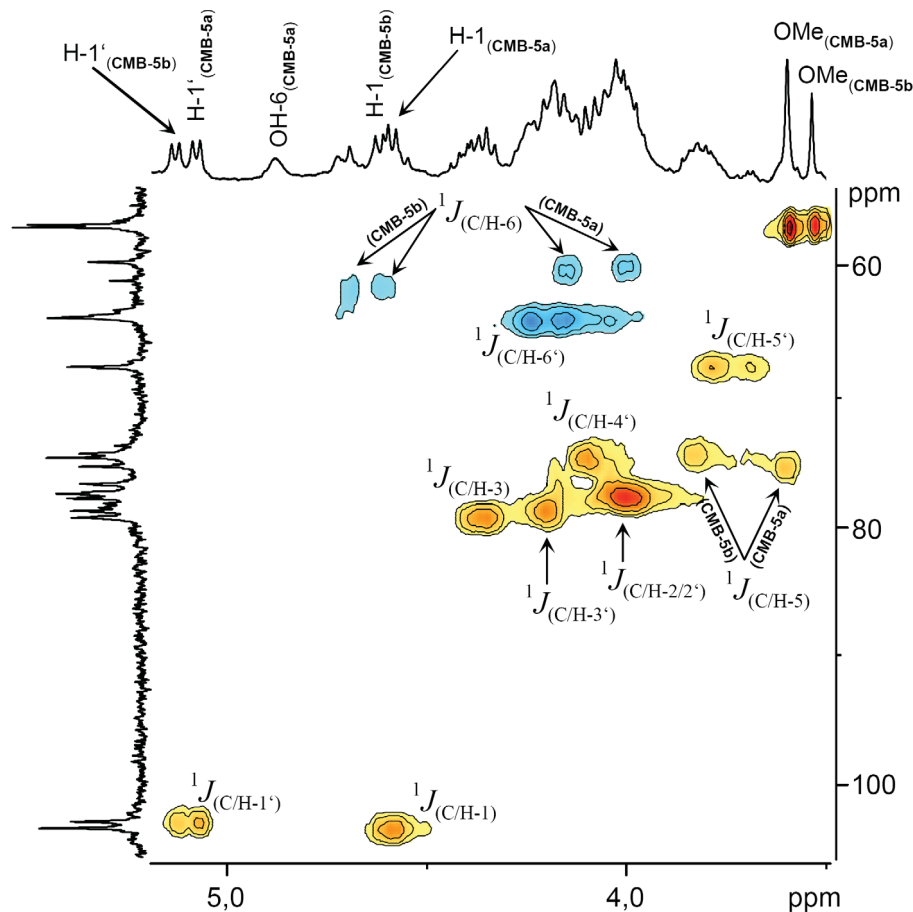


Abb. 3.36. [^1H , ^{13}C]-NMR-Korrelationspektrum (HSQC-DEPT) einer Phenylboronat-Probe bestehend aus $\text{Me}^{-2,3}(\text{PhB})_2^{-2',3'}$ $(\text{PhB})_2^{-4',6'}$ (PhB) - β -D-clb (**CMB-5a**) und dessen Dimer (**CMB-5b**) in $\text{DMSO}-d_6$.

zwischen der primären OH-Gruppe und dem Proton am gleichen Kohlenstoffatom. Demzufolge besitzt Verbindung **CMB-5b** keine freie primäre Hydroxylgruppe mehr. Die Veresterung der OH-Gruppe von **CMB-5a** hin zum vollständig veresterten Me- β -D-clb **CMB-5b** konnte zusätzlich belegt werden, da die Protonensignale des Atoms $\text{H-6}_{(\text{CMB-5b})}$ im Vergleich zum Atom $\text{H-6}_{(\text{CMB-5a})}$ um 0,5-0,6 ppm zu tieferem Feld verschoben sind. Daher schlussfolgerte man, dass in beiden Verbindungen alle sekundären Hydroxylgruppen umgesetzt wurden. Dies ist gleichbedeutend mit der Existenz zweier siebengliedriger Diphenylpyroboronat-Strukturen an *trans*-1,2-Diolgruppen von benachbarten Glucoseeinheiten. Das Fehlen der primären OH-Gruppe für die Verbindung **CMB-5b** kann somit nur durch Dimerisierung von zwei Molekülen **CMB-5a** über einer „PBA-Brücke“ erklärt werden (vgl. Abbildung 3.33). Dieser Vermutung wurde zunächst mittels heteronuklearer NMR-Korrelationsspektroskopie (HSQC-DEPT, Abbildung 3.36) nachgegangen. Die Signale aller Kohlenstoffatome außer C-5 und C-6 der REG zeigen annähernd gleiche Kopplungen (vgl. Tabelle 3.14), was der getroffenen Annahme über die

Interaktion der primären Hydroxylgruppe entspricht. Dass es sich um die in Abbildung 3.33 dargestellte Gleichgewichtsreaktion zwischen der dimeren Verbindung **CMB-5b** und dem $\text{Me-}^{2,3}(\text{PhB})_2\text{-}^{2',3'}(\text{PhB})_2\text{-}^{4',6'}(\text{PhB})\text{-}\beta\text{-D-clb}$ (**CMB-5a**) und um keine Vernetzung mehrerer Phenylboronat-Strukturen zu einer polymeren Verbindung handelt, wurde abschließend mit dem „diffusion ordered spectroscopy“ (DOSY)-NMR-Experiment belegt. Die DOSY-NMR ist ein Verfahren, bei dem Bestandteile von Gemischen aufgrund ihres unterschiedlichen Diffusionsverhaltens in Lösung in Form eines zweidimensionalen Spektrums erfasst werden können. Die Protonensignale (F_2 -Dimension) der verschiedenen Komponenten werden dabei in Abhängigkeit des Diffusionsgradienten D (F_1 -Dimension) aufgetragen (Berger und Braun 2004). Der Diffusionsgradient, welcher hauptsächlich von der Molmasse abhängig ist, unterscheidet sich bei den beiden Verbindungen **CMB-5a/b** in der untersuchte Probe nur geringfügig. Somit ist die Differenz der Molmassen der beiden Komponenten vergleichsweise gering, was ausschließlich mit einer Dimerisierung zweier Moleküle **CMB-5a** erklärt werden kann. Die Bildung einer polymeren Struktur konnte damit für Phenylboronate des $\text{Me-}\beta\text{-D-clb}$ ausgeschlossen werden.

In den ^{13}C -NMR-Spektren von Abbildung 3.37 sind die veränderten Signalmuster der Kohlenstoffatome für die bisher diskutierten Verbindungen (**CM-10**, **CMB-4** und **CMB-5**) veranschaulicht. Die vollständige Zuordnung aller Kohlenstoffatomsignale erlaubt es die Verschiebungswertdifferenzen (CIS) für Atome, die an Boronsäureester-Strukturen beteiligt sind oder sich in Nachbarschaft zu diesen Atomen befinden, gegenüberzustellen (siehe Tabelle 3.14). Wie dem Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren von $\text{Me-}\beta\text{-D-clb}$ (Abbildung 3.37a) und dem $4',6'\text{-O-Phenylboronat}$ **CMB-4** (Abbildung 3.37b) zu entnehmen ist, erfahren die Peaks der Kohlenstoffe in Position 2/3 und 2' keine merkliche, aus der Bildung des Boronatrings resultierende, Hoch- bzw. Tieffeldverschiebung. Eine Signalverschiebung wird nur für Atome der nREG beobachtet. Insbesondere die Atome C-4'/6' sind tieffeldverschoben und die Kohlenstoffe C-3'/5' findet man bei niedrigeren Werten im Vergleich zum unumgesetzten Cellobiosid (**CM-10**) wieder. Somit werden zwischen 79 und 75 ppm keine Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum detektiert, eine Ausnahme bildet der Kohlenstoff in Position 4 der REG, wenn die sekundären OH-Gruppen an beiden Glucoseeinheiten nicht derivatisiert wurden. Eine Veresterung dieser *trans*-ständigen Hydroxylgruppen führt zur Tieffeldverschiebung der beteiligten Kohlenstoffatome (C-2/3 und C-2'/3') in den zuvor nicht belegten Bereich des Spektrums (**CMB-5**, Abbildung 3.37c).

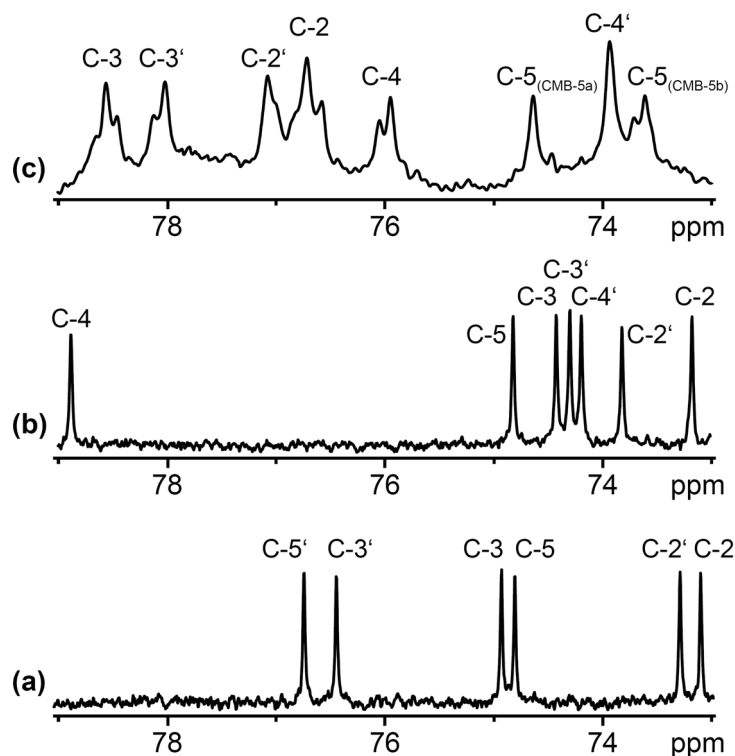


Abb. 3.37. Ausschnitte der ^{13}C -NMR-Spektren von (a) Methyl- β -D-cellobiosid (**CM-10**); (b) Methyl-4',6'-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-4**) und (c) der Phenylboronat-Probe bestehend aus $\text{Me}^{-2,3}(\text{PhB})_2^{-2',3'}(\text{PhB})_2^{-4',6'}(\text{PhB})$ - β -D-clb (**CMB-5a**) und dessen Dimer (**CMB-5b**) in $\text{DMSO}-d_6$.

Die Auswertung der CIS eignet sich somit sehr gut, um detaillierte Aussagen zur Interaktion von Borsäurederivaten mit den *trans*-1,2-Diol-Strukturen von Cellooligomeren oder Cellulose zu treffen. Wie zuvor gezeigt, findet zuerst die Bildung eines sechsgliedrigen Boronatoms an den OH-Gruppen in Position 4 bzw. 6 der nREG statt, was zu keiner ^{13}C -NMR-Signalverschiebung in den Bereich zwischen 79 und 75 ppm führt, da die Peaks der Kohlenstoffe C-3 und C-5 der nREG zu höherem Feld verschoben werden. Erst bei molaren Verhältnissen der Cellulose-Modellverbindung zu PBA größer als 1:1 kann mit einer Wechselwirkung mit den restlichen sekundären Hydroxylgruppen gerechnet werden. Wie man im Fall des Me - β -D-clb (**CM-10**) NMR-spektroskopisch belegen konnte, tritt bis zu einem molaren Verhältnis von 1:3,5 keine Vernetzung über primäre OH-Gruppen ein. Es werden ausschließlich Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum detektiert, die mit der Bildung einer siebengliedrigen Diphenylpyroboronat-Struktur korrelieren.

3.4.3 Cellodextrine

Basierend auf den Untersuchungen zur Wechselwirkung des Me- α -D-glcp (**CM-9**) und des Me- β -D-clb (**CM-10**) mit PBA (siehe Kapitel 3.4.1 und 3.4.2) wurde die Veresterung von Cellodextrinen mit Boronsäure mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie untersucht. Die Veresterung von **CM-7a** wurde im Lösungsmittelgemisch aus DMSO und Toluol mit variierenden Mengen an TPB als Reagenz durchgeführt. Für molare Verhältnisse PBA pro AGE kleiner als 1:0,8 waren NMR-Untersuchungen möglich. Bei höheren Stoffmengen an Reagenz fielen entweder die Produkte während der Reaktion aus oder es konnten nur schlecht aufgelöste Spektren erhalten werden.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum des Cellodextrin-phenylboronates (**CMB-6**, AGE:PBA 1:0,5) in Abbildung 3.38 (rechts) belegt eindeutig die Bildung der sechsgliedrigen Boronat-Struktur an der nREG. Es werden scharfe Signale für die Atome C-4n und C-6n (für die Atomzuordnung vgl. Strukturformel in Abb. 3.38), welche zu höheren Werten verschoben sind (CIS 2-4 ppm), und ein stark hochfeldverschobener Peak des Kohlenstoffs in Position 5 der nREG (CIS 9 ppm) beobachtet. Einen Anhaltspunkt für eine Vernetzung der Oligomerketten über die primären OH-Gruppen in Position 6 stellt man bei der für **CMB-6** verwendeten Menge an Boronsäure (AGE:PBA 1:0,5) nicht fest. Die mögliche Vernetzung unter Beteiligung der primären Hydroxylgruppen sollte leicht durch einen breiten Peak bei etwa 62 ppm identifizierbar sein.

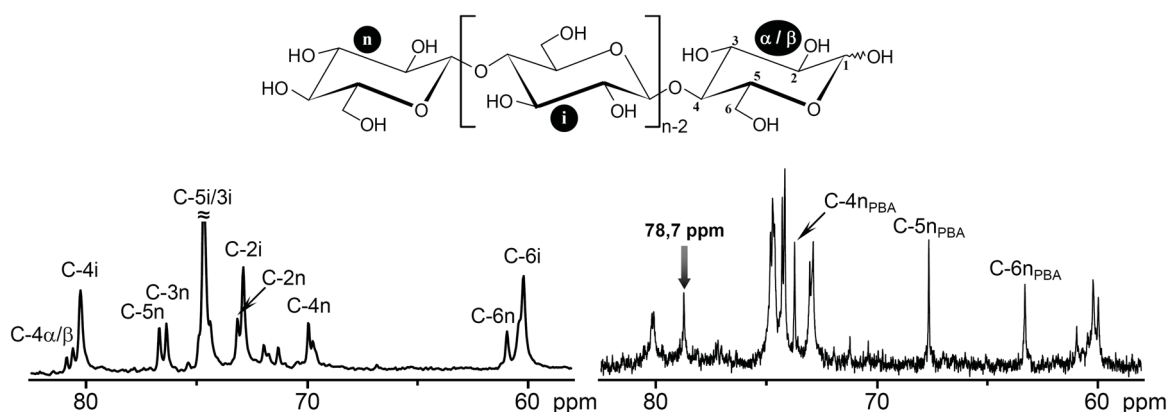


Abb. 3.38. Ausschnitte der ^{13}C -NMR-Spektren von Cellodextrin (**CM-7a**, $\text{DP}_w = 12$; links) und Cellodextrin-phenylboronat (**CMB-6**, AGE:PBA 1:0,5; rechts) in $\text{DMSO-}d_6$ und Zuordnung der Kohlenstoffsignale zu verschiedenen Anhydroglucoseeinheiten (oben; n: nicht-reduzierende Endgruppe, i: interne Anhydroglucoseeinheit, α/β : reduzierende Endgruppe).

Im Bereich zwischen 79 und 75 ppm erscheint im Spektrum der Phenylboronat-Probe **CMB-6** ein Peak (78,7 ppm), der als erster Hinweis für eine Interaktion der Boronsäure mit der *trans*-1,2-Diol-Struktur der Kohlenstoffatome C-2/3 gedeutet werden kann. Für reine Cellodextrine (**CM-7a**, $DP_w = 12$) werden in diesem Bereich des ^{13}C -NMR-Spektrums zwei Peaks detektiert (Abbildung 3.38 links). Dabei handelt es sich um die Signale der Kohlenstoffatome in Position 3 und 5 der nREG. Geht man davon aus, dass die dominierende Wechselwirkung bei kleinen molaren Verhältnissen von PBA an den Hydroxylgruppen OH-4 und OH-6 der nREG stattfindet, werden diese beiden Signale um 2 ppm (C-3n) bzw. 8-9 ppm (C-5n) zu tieferem Feld verschoben. Somit befinden sich nach Bildung des 4n,6n-*O*-Phenylboronates keine Signale im erwähnten Frequenzbereich des NMR-Spektrums. Tritt nach Erhöhung des molaren Verhältnisses an PBA eine Wechselwirkung mit den *trans*-1,2-Diolgruppen der Glucoseeinheiten auf, sollten entweder die Signale der beteiligten Kohlenstoffe C-2/3 oder das zuvor bei etwa 80 ppm detektierte Signal des Atoms C-4i in den Bereich (75-79 ppm) verschoben werden. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass das Auftreten des Signals bei 78,7 ppm aus einer Boronsäure-Wechselwirkung unter Beteiligung der Hydroxylgruppe OH-1 des anomeren Kohlenstoffs der REG resultiert. Dies sollte durch detaillierte Untersuchungen zur Interaktion von Boronsäuren mit nicht-reduzierenden Cellulose-Modellverbindungen aufgeklärt werden.

3.4.4 Alkyl- β -D-cellulose

Für die Interaktion von Cellodextrinen als auch von Alkyl- β -D-Cellulosiden mit Bor- und Boronsäuren sind keine spektroskopischen Untersuchungen bekannt. Daher wurden massenspektrometrische Experimente an wasserlöslichen Methyl- β -D-Cellulosiden (**CM-11** bzw. Fraktionen von **CM-13**) und Studien an Lösungen der längerkettigen nicht-reduzierenden Cellulose-Modellverbindungen (**CM-12** bzw. **CM-14**) in Gegenwart von Boronsäure mittels NMR-Spektroskopie durchgeführt. Die zuvor gewonnenen Erkenntnisse zur Auswertung der ^{13}C -NMR-Spektren in Form der repräsentativen Verschiebungswertdifferenzen (CIS) konnten genutzt werden, um Aussagen zur Art der Boronsäureinteraktion zu treffen. Der Konkurrenz zwischen der Vernetzung von Celluloseketten und der Wechselwirkung mit den sekundären Hydroxylgruppen entlang der Moleküle in Abhängigkeit des DP-Wertes der Cellulose-Modellverbindungen (**CM-12** mit $DP_n = 24$; **CM-14** mit $DP_n = 10$; **CM-13** mit $DP_n = 5$ und **CM-11** mit $DP = 3$) sollte besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden.

3.4.4.1 MALDI-TOF-MS-Studien

Die Probenvorbereitung erfolgte, wie bereits in Kapitel 3.4.2.1 beschrieben, nach der „Multi-Layer-Spotting“-Technik. Zunächst wurden wässrige Lösungen von Methyl- β -D-celotriosid (**CM-11**) und Triphenylboroxin mit variierenden Molverhältnissen (AGE:PBA 1:0,5 bis 1:2) hergestellt und nach Verdampfen des Wassers massenspektrometrisch untersucht. Abbildung 3.39 zeigt das MALDI-TOF-Massenspektrum der Probe mit einem molaren Verhältnis 1:1,5. Es ist zu erkennen, dass einerseits noch unumgesetztes Celotriosid ($[M + Na]^+$ -Ion bei m/z 541) vorliegt. Andererseits detektierte man eine Vielzahl von Molekülonen, die mit unterschiedlichen Phenylboronat-Strukturen am Celooligomer korrelieren. Der intensivitätsstärkste Peak unter den in Abbildung 3.39 grau markierten Signalen hat einen m/z -Wert von 627, was für die dominierende Wechselwirkung in Form des sechsgliedrigen 4'',6''-*O*-Phenylboronates an der nREG der Modellverbindung spricht. Darüber hinaus wurden aber auch Molekülonen detektiert, die entweder eine (m/z 731 und 817) oder sogar zwei Diphenylpyroboronat-Strukturen (m/z 921 und 1007) an einer der drei Glucoseeinheiten besitzen. Somit konnte auch im Fall des Me- β -D-clt (**CM-11**) die Wechselwirkung von zwei Molekülen PBA mit der *trans*-1,2-Diolgruppe in Position 2 und 3 der Glucoseeinheiten eindeutig belegt

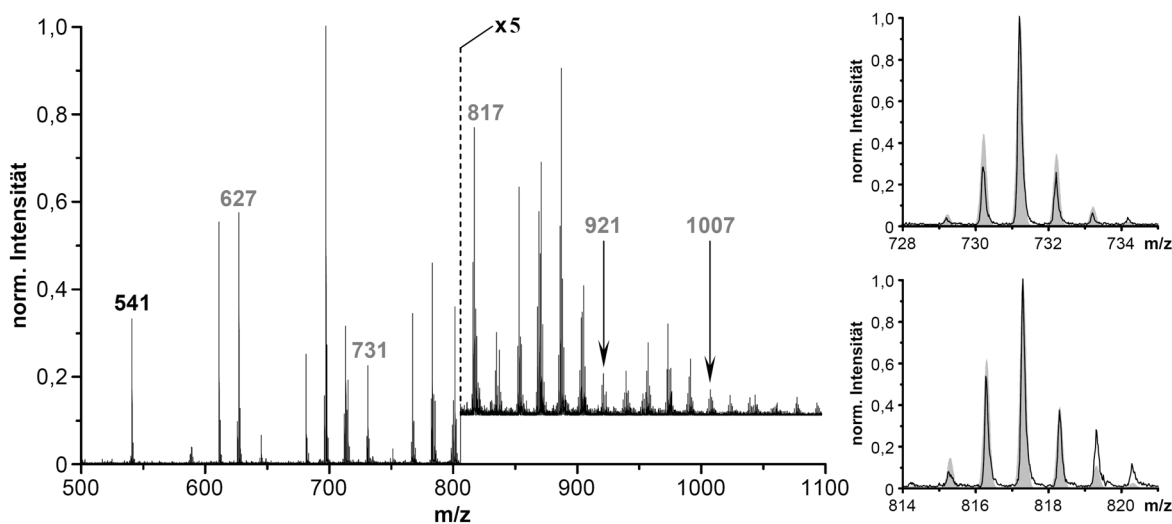


Abb. 3.39. MALDI-TOF-Massenspektrum (links; Bereich $m/z > 800$ Fünffach vergrößert) einer wässrigen Lösung von Methyl- β -D-celotriosid (**CM-11**) und Triphenylboroxin (AGE:PBA 1:1,5; Matrix: 2,5-Dihydroxybenzoesäure in Tetrahydrofuran; Salz: NaI in Aceton; Reflektor-Modus) und Vergleich mit theoretisch berechneten Intensitäten (grau) für die Molekülonen mit m/z 731 bzw. 817 (rechts).

werden. Da die eingedampften, mit MS untersuchten Proben aus wässriger Lösung erhalten wurden, kann davon ausgegangen werden, dass bereits in Lösung eine Aktivierung der sekundären Hydroxylgruppen in Position 2 und 3 stattgefunden haben muss. Denn nur wenn in Lösung ein vergleichbarer, jedoch spektroskopisch nicht fassbarer Komplex zwischen den Gruppen OH-2/3 der Glucoseeinheiten und den Boronsäuremolekülen vorliegt, ist die Bildung der im MS identifizierten 2,3-*O*-Pyroboronat-Struktur möglich. Das Vorkommen des siebengliedrigen Diboronattrings an den Atomen C-2/3 der AGE konnte durch Abgleichen der Intensitäten des detektierten Isotopenmusters mit den theoretisch berechneten Intensitäten für die Molekülionen mit m/z 731 (ein Diboronatring) und m/z 817 (ein Diboronatring und ein Boronatring an der nREG) bestätigt werden (Abbildung 3.39 rechts, berechnetes Spektrum grau hinterlegt). Es wurde eine sehr gute Übereinstimmung gefunden. Im Fall von m/z 817 können die Intensitätsabweichungen des (M+2)- und (M+3)-Peaks vom theoretischen Wert mit einer Signalüberlagerung begründet werden.

Die in Kapitel 3.2.2.2 beschriebenen, wasserlöslichen Fraktionen des Methyl- β -D-⁵cellulosids (CM-13_1 bis CM-13_4) lassen sich auf vergleichbare Weise mittels MALDI-TOF-MS erforschen. Exemplarisch ist das Massenspektrum einer wässrigen Lösung von CM-13_3 (DP_n = 6) und Triphenylboroxin (molares Verhältnis AGE:PBA 1:1,6) in Abbildung 3.40 dargestellt. Im Vergleichsspektrum von CM-13_3, aufgenommen

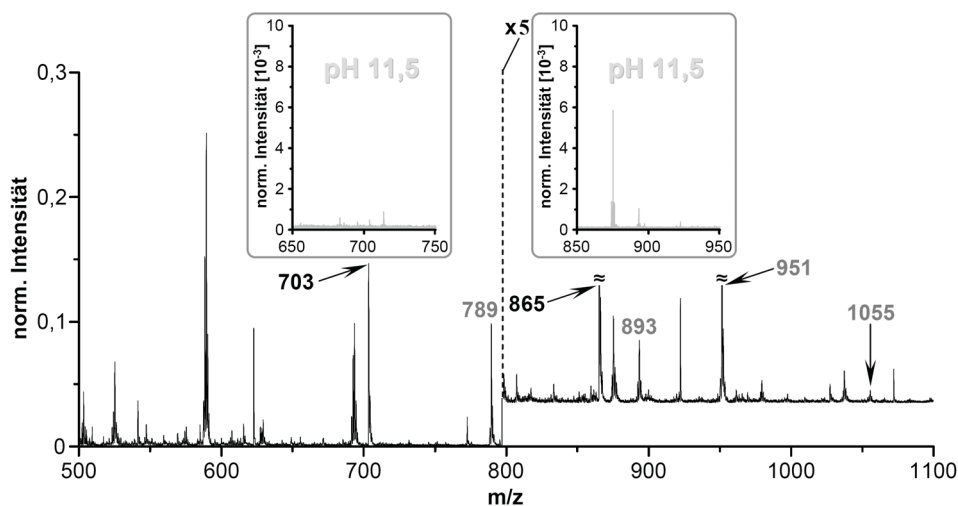


Abb. 3.40. MALDI-TOF-Massenspektrum (links; Bereich $m/z > 800$ Fünffach vergrößert) einer wässrigen Lösung von Methyl- β -D-⁵cellulosid (CM-13_3) und Triphenylboroxin (AGE:PBA 1:1,6; Matrix: 2,5-Dihydroxybenzoesäure in Tetrahydrofuran; Salz: NaI in Aceton; Reflektor-Modus) und Spektrenausschnitte einer analogen Probe in alkalischer Lösung.

nach Probenvorbereitung mittels „Multi-Layer-Spotting“-Technik, wurden nur Moleküle für Methyl- β -D-cellulose mit vier bzw. fünf AGE detektiert. Zur Auswertung des Massenspektrums der boronsäurehaltigen Probe brauchten daher nur Massenzahlen von Boronat-Strukturen berücksichtigt zu werden, die mit diesen Kettenlängen der Oligomere korrelieren. Sowohl für das Cellulosid mit einem DP-Wert von 4 als auch für das nicht-reduzierende Cellooligomer mit fünf Wiederholungseinheiten wurden Peaks detektiert, die einer Derivatisierung der nREG mit PBA entsprechen. Die Masse-Ladungsverhältnisse für die $[M + Na]^+$ -Ionen des 4n,6n-O-Phenylboronates der beiden Cellulose betragen 789 bzw. 951 (Abbildung 3.40). Die m/z-Werte von 893 (DP 4) und 1055 (DP 5) belegen darüber hinaus die Existenz der siebengliedrigen Diphenylpyroboronat-Struktur an jeweils einer *trans*-1,2-Diolgruppe der Glucoseeinheiten. Damit wurden die Erkenntnisse, die bisher für monodispersen Modellverbindungen (CM-9, CM-10 und CM-11) gewonnen wurden, auch für Gemische an Cellulosen mit vier bis sechs Wiederholungseinheiten bestätigt. Neben der Bildung des sechsgliedrigen Boronatrings unter Einbeziehung der OH-Gruppen in Position 4 und 6 der nREG wurde für alle untersuchten Cellulose-Modellverbindungen die Interaktion von PBA mit den restlichen sekundären OH-Gruppen und keine Vernetzung über die primären Hydroxylgruppen der internen AGE bzw. der REG beobachtet.

Weiterhin wurde der Einfluss des pH-Wertes der Lösung auf mögliche Veränderungen im resultierenden Massenspektrum studiert. Fand man im Spektrum der pH-neutralen Lösungen noch vergleichsweise große Signale für unumgesetztes Cellulosid (m/z 703 bzw. 865), sind diese Signale im Spektrum der Lösungen von pH 11,5 vollständig ausgelöscht (Spektrenausschnitte in Abbildung 3.40). Die Beobachtung, dass unter alkalischen Bedingungen eine größere Affinität der PBA zu Diol-Strukturen besteht, wurde bereits für die Wechselwirkungen von Saccharidsensoren auf Boronsäure-Basis gemacht (Lorand und Edwards 1959, James et al. 2006) und konnte anhand der durchgeführten Experimente auch für die Interaktion von Cellooligomeren mit Boronsäuren festgestellt werden.

3.4.4.2 NMR-Charakterisierung

Für die Untersuchung der Veresterung von OH-Gruppen der nicht-reduzierenden Cellulose-Modellverbindungen mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie wurde das molare Verhältnis an PBA so variiert, dass nach Blockierung der nREG als 4n,6n-O-Phenylboronat die konkurrierenden Wechselwirkungen der Vernetzung über primäre

Hydroxylgruppen bzw. der Aktivierung oder Veresterung der sekundären OH-Gruppen bewertet werden kann.

Zunächst kam die Veresterung des TCE- β -D-²⁵cld (**CM-12**) mit PBA im Gemisch aus ionischer Flüssigkeit (1-Butyl-3-methylimidazoliumchlorid, BMIMCl) und DMSO zur Anwendung. Das Gleichgewicht wurde durch Schlepptmitteldestillation (Toluol) hin zu den Boronsäureestern der Cellulose-Modellverbindungen verschoben. Dabei erwies es sich als vorteilhaft deuterierte Lösungsmittel einzusetzen, damit die Reaktionsprodukte nicht zusätzlich isoliert werden müssen. Abbildung 3.41 zeigt die Überlagerung der DEPT-NMR-Spektren von **CM-12** und der resultierenden Phenylboronat-Proben **CMB-7_1** bis **CMB-7_4**. Im Spektrum des noch unumgesetzten Cellulosids (**CM-12**, Abbildung 3.41a) sind die Peaks der Kohlenstoffatome der nREG (C-3n/4n/5n/6n) zugeordnet. Nach Umsetzung von **CM-12** mit Boronsäure im molaren Verhältnis AGE zu PBA von 1:0,08 (pro Mol Cellulosid mit DP_n = 25 zwei Mol PBA) konnten im Spektrum von **CMB-7_1** (Abbildung 3.41b) noch keine Signale detektiert werden, die für eine Bildung des sechsgliedrigen Phenylboronates an der nREG sprechen. Jedoch wurden im Spektrum der

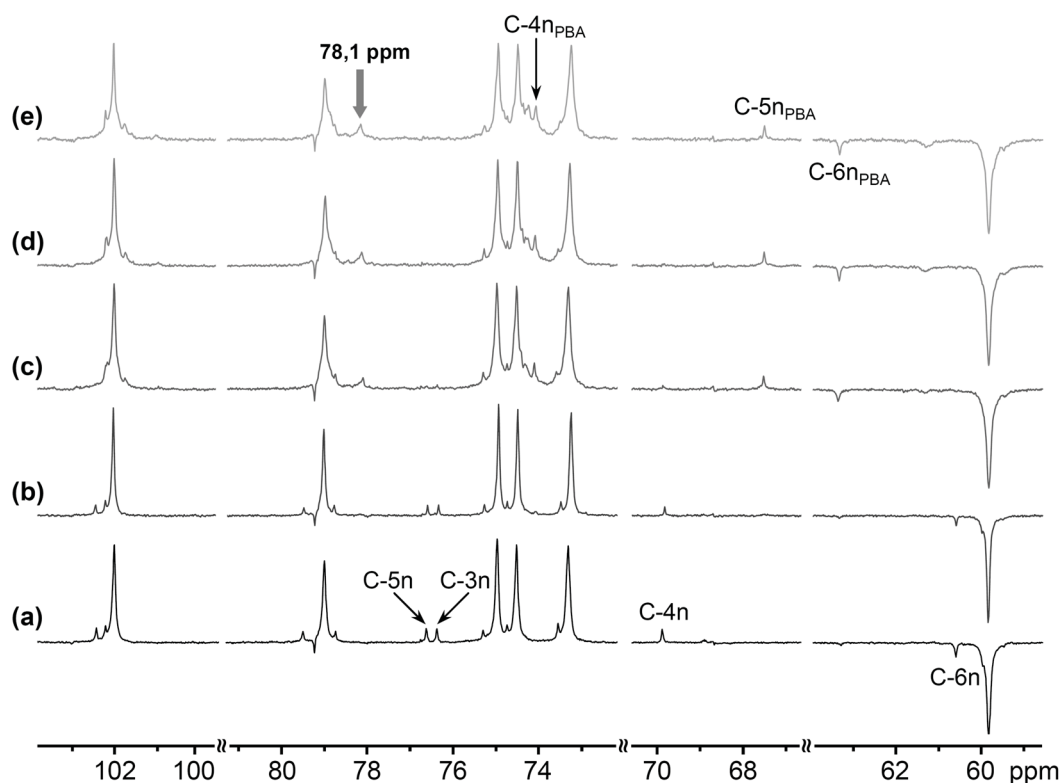


Abb. 3.41. DEPT (135)-NMR-Spektren von (a) 2,2,2-Trichloroethyl- β -D-²⁵cellulosid (**CM-12**); (b) 2,2,2-Trichloroethyl-*O*-phenylboronat- β -D-²⁵cellulosid (**CMB-7_1**, AGE:PBA 1:0,08); (c) **CMB-7_2** (1:0,31); (d) **CMB-7_3** (1:0,53) und (e) **CMB-7_4** (1:0,76) in BMIMCl/DMSO-*d*₆.

Probe **CMB-7_2** (Abbildung 3.41c, acht Mol PBA pro Mol Cellulosid) Peaks gefunden, die man Kohlenstoffatomen des endständigen Boronatrings zuordnet. Abgesichert wurde die Zuordnung mittels der charakteristischen CIS. Die Differenz für das Signal des Atoms C-4n beträgt +4,2 ppm, für C-5n -9,0 ppm und für C-6n +2,7 ppm, was eindeutig im Größenordnungsbereich der CIS der Phenylboronate des Me- α -D-glcp (**CMB-1** bis **CMB-3**, vgl. Tabelle 3.11) und des Me- β -D-clb (**CMB-4** und **CMB-5**, vgl. Tabelle 3.14) liegt. Durch Erhöhung des molaren Verhältnisses an PBA erzielte man eine vollständige Umsetzung der Hydroxylgruppen in Position 4 und 6 der nREG (Abbildung 3.41d/e). In Proben mit einem Molverhältnis AGE:PBA größer als 1:0,5 (**CMB-7_3** und **CMB-7_4**) wurde darüber hinaus ein breiter Peak bei 61,3 ppm detektiert. Bei dem Signal handelt es sich um ein Kohlenstoffatom C-6 in Nachbarschaft zu einer OH-Gruppe, die an der Vernetzung zweier Celluloseketten über eine „PBA-Brücke“ beteiligt ist. Daraus resultiert der positive CIS von 1,6 ppm. In Anbetracht der hohen Cellulosid-Konzentration (13 wt.-%) sowie der Tatsache, dass eine weitere Erhöhung des Gehalts an PBA (1:0,76; Abbildung 3.41e) zu keiner merklichen Vergrößerung des Signals bei 61,3 ppm führt, kann geschlussfolgert werden, dass es sich bei der Vernetzung der Celluloseketten nur um eine vergleichsweise langsame Nebenreaktion handelt. Eine Unterdrückung der Ausbildung von Vernetzungspunkten über Boronsäuremoleküle sollte nach dem *Ruggli-Zieglerschen*-Verdünnungsprinzip (Beyer 1991) möglich sein. So kann die Veresterungsreaktion in stärker verdünnter Lösung durchgeführt werden. Da sich eine Verringerung der Probenkonzentration negativ auf das Signal-Rausch-Verhältnis der NMR-Spektren auswirkt, waren entsprechende NMR-Experimente jedoch nicht möglich.

Das Auftreten eines Peaks bei 78,1 ppm insbesondere in den Spektren der Proben (**CMB-7_3** und **CMB-7_4**), welche einen höheren Anteil an PBA haben (Abbildung 3.41d/e), kann ebenfalls mit einer möglichen Interaktion zwischen Boronsäure und sekundären Hydroxylgruppen entlang der Cellulosidmoleküle korrelieren (siehe Kapitel 3.4.3).

Die DEPT-NMR-Spektren der Phenylboronate **CMB-8_1** bis **CMB-8_4** des Me- β -D-¹⁰cld (**CM-14**), erhalten nach analoger Probenvorbereitung wie für **CMB-7**, und das Vergleichsspektrum von **CM-14** sind in Abbildung 3.42 dargestellt. Die vollständige Veresterung der OH-Gruppen an den Atomen C-4n bzw. C-6n der nREG tritt im Fall des nicht-reduzierenden Oligomers mit DP_n = 10 erst bei einem molaren Verhältnis AGE:PBA von 1:0,78 ein (Abbildung 3.42e). Die CIS für die am sechsgliedrigen Boronating

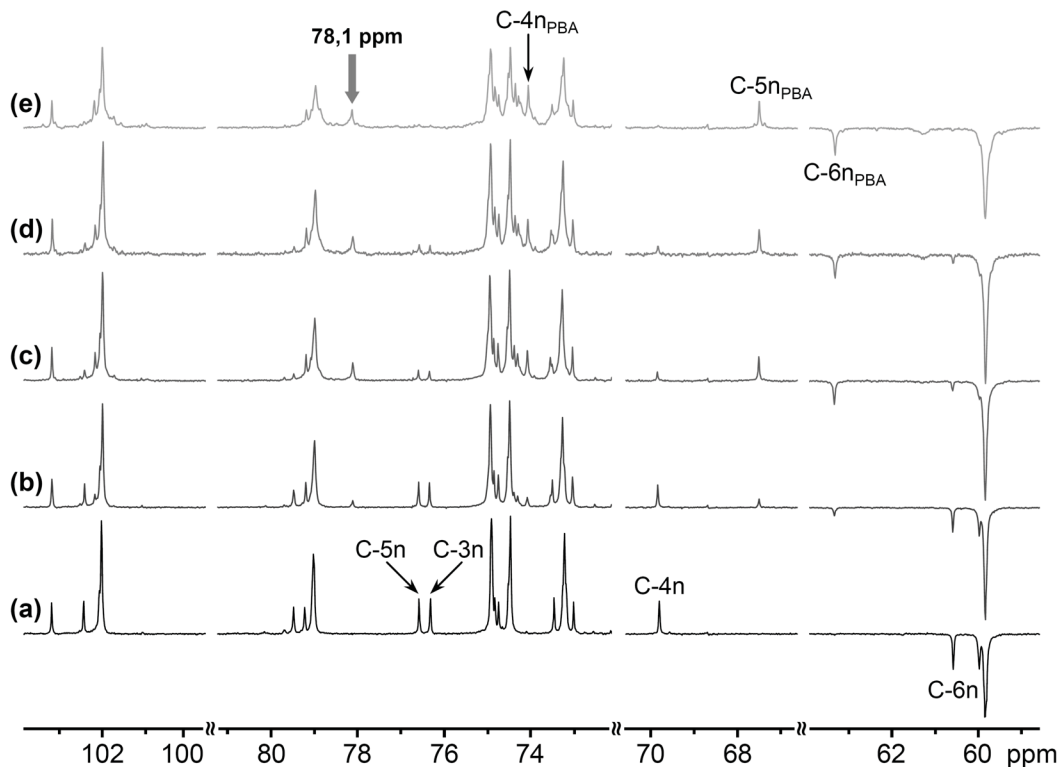


Abb. 3.42. DEPT (135)-NMR-Spektren von (a) Methyl- β -D- 10 cellulosid (**CM-14**); (b) Methyl-*O*-phenylboronat- β -D- 10 cellulosid (**CMB-8_1**, AGE:PBA 1:0,08); (c) **CMB-8_2** (1:0,32); (d) **CMB-8_3** (1:0,53) und (e) **CMB-8_4** (1:0,78) in BMIMCl/DMSO- d_6 .

beteiligten Kohlenstoffatome betragen +4,2 ppm (C-4n) bzw. +2,8 ppm (C-6n) und -8,9 ppm (C-5n). Diese Werte stimmen sehr gut mit den bisher gefundenen Differenzen für die Atome der nREG überein. Die Vernetzung (breites Signale bei 61,3 ppm) beobachtete man wiederum erst bei molaren Verhältnissen AGE:PBA größer als 1:0,5. Hingegen ist der Peak bei 78,1 ppm deutlicher aufgelöst als in den Spektren der Proben **CMB-7** (vgl. Abbildung 3.41).

Eine Überlagerung der DEPT-NMR-Spektren der Phenylboronate von Me- β -D-clt (**CMB-9**), des Me- β -D- 5 cld (**CMB-10**) und der Probe **CMB-8_4** (Abbildung 3.43) soll den Einfluss der Kettenlänge auf die spektroskopische Auflösung verdeutlichen. Das Spektrum der Probe **CMB-9** (Abbildung 3.43a), welche nach Veresterung des Me- β -D-clt (**CM-11**) mit Boronsäure im Verhältnis AGE zu PBA von 1:0,93 erhalten wurde, zeigt als dominierende Hauptstruktur den sechsgliedrige Boronatrium an der nREG. Andererseits erkennt man im Spektrum keinerlei Anzeichen für eine Vernetzung des Trisaccharids mit PBA über die verbliebenen primären Hydroxylgruppen.

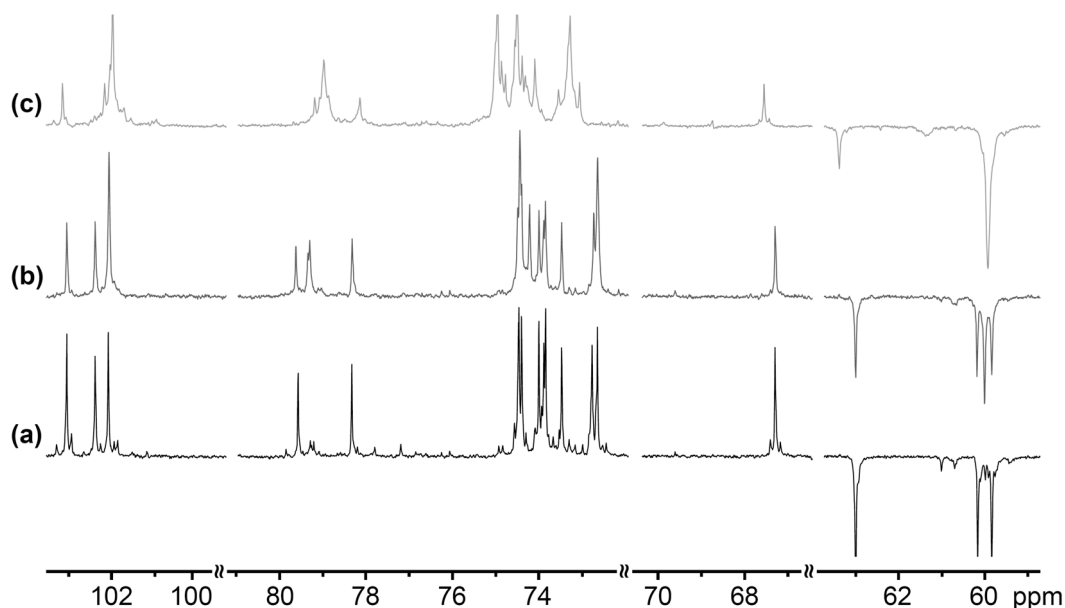


Abb. 3.43. DEPT (135)-NMR-Spektren von (a) Methyl-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-9**, AGE:PBA 1:0,93) (b) Methyl-*O*-phenylboronat- β -D-⁵cellulosid (**CMB-10**, 1:0,53) und (c) Methyl-*O*-phenylboronat- β -D-¹⁰cellulosid (**CMB-8_4**, 1:0,78) in DMSO-*d*₆ bzw. BMIMCl/DMSO-*d*₆.

Für die Zuordnung der ¹H- und weiterer ¹³C-NMR-Signale wurden eindimensionale NMR-Spektren und zweidimensionale heteronukleare NMR-Korrelationsspektren des Phenylboronates **CMB-9** aufgenommen. Durch zusätzliche selektive NMR-Experimente (1D-TOCSY) konnte die in Abbildung 3.44 dargestellte Zuordnung der Protonenresonanzen getroffen werden. Das Proton H-1 der REG wurde mittels HMBC identifiziert. Die Signallage des Atoms H-1'' der nREG kann aus dem selektiven 1D-TOCSY-NMR-Spektrum (Abbildung 3.44b) nach Anregung bei der Frequenz des Protons H-6''b (Zuordnung aus HSQC-DEPT) erhalten werden. Nach dem Ausschlussverfahren ordnete man das Dublett bei 4,39 ppm (Abbildung 3.44c) dem anomeren Proton H-1' der internen AGE zu. Durch Überlagerung von 2D-HSQC-TOCSY-NMR-Spektren mit unterschiedlichen Mischzeiten ($t_{\text{mix}} = 12 \text{ ms}$; 25 ms und 50 ms) wurden die ¹³C-NMR-Signale den Kohlenstoffatomen der unterschiedlichen Glucoseeinheiten zugewiesen. Abbildung 3.45 zeigt eine solche Überlagerung und die daraus resultierenden Konnektivitäten der Kohlenstoffatome. Mittels dieser Auswertung gelang die eindeutige Zuordnung aller Kohlenstoffresonanzfrequenzen, mit Ausnahme der Atome C-5 bzw. C-6 der REG und der internen AGE. Der im Bereich zwischen 79 und 75 ppm auftretende Peak (78,4 ppm) konnte somit zweifelsfrei dem Kohlenstoffatom in Position 4 der internen AGE

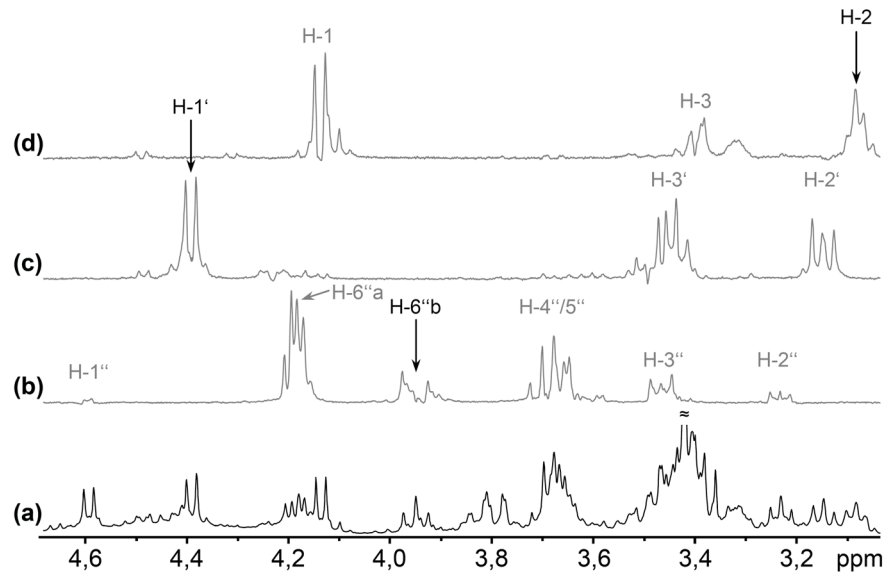


Abb. 3.44. Überlagerung des (a) ^1H -NMR-Spektrums mit den selektiven 1D-TOCSY-NMR-Spektren: (b) Anregungsfrequenz $\delta_{\text{H-6''b}} = 3,95$ ppm; (c) $\delta_{\text{H-1'}} = 4,39$ ppm und (d) $\delta_{\text{H-2}} = 3,08$ ppm von **CMB-9** in $\text{DMSO-}d_6$.

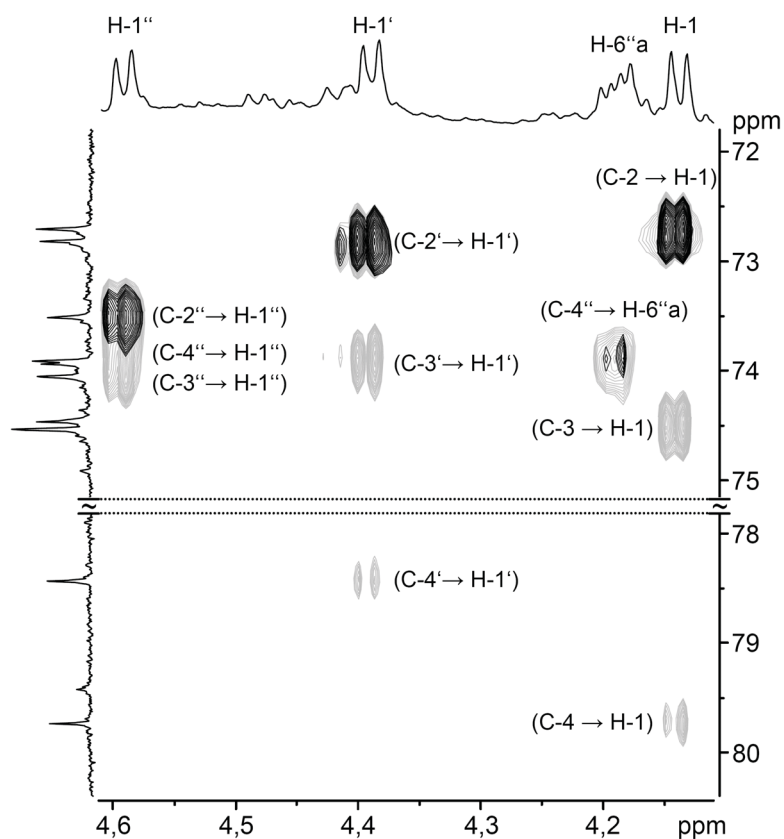


Abb. 3.45. Überlagerung der $[^1\text{H}, ^{13}\text{C}]$ -NMR-Korrelationsspektren (HSQC-TOCSY) von Methyl-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-9**; schwarz: $t_{\text{mix}} = 25$ ms, grau: $t_{\text{mix}} = 50$ ms) in $\text{DMSO-}d_6$ und Kennzeichnung der jeweiligen Konnektivitäten.

zugewiesen werden. Die Signale der Atome C-2/3 aller Glucoseeinheiten erfahren keinen merklichen CIS im Vergleich zur Ausgangsverbindung **CM-11**, somit ist für die Phenylboronat-Probe **CMB-9** (AGE:PBA 1:0,93) eine Umsetzung der sekundären OH-Gruppen mit PBA NMR-spektroskopisch nicht eindeutig belegbar. Da mittels MALDI-TOF-MS die 2,3-*O*-Diphenylpyroboronat-Strukturen an derartigen Cellulosiden mit DP-Werten bis 5 detektierbar sind, ist deren Auftreten auch an Modellverbindungen mit höheren DP-Werten denkbar. Allerdings ist der siebengliedrige Pyroboronatring anhand der durchgeführten NMR-Untersuchungen in DMSO-*d*₆ bzw. BMIMCl/DMSO-*d*₆ nicht spektroskopisch nachweisbar. Eine Erhöhung des molaren Verhältnisses führte indes zu nicht auswertbaren Spektren, was wahrscheinlich im Einklang mit der Ausbildung einer Vielzahl von „PBA-Brücken“ steht. Im Weiteren sollen die gewonnenen Erkenntnisse zur Boronsäureinteraktion mit Cellulose-Modellverbindungen auf die Herstellung von wässrig-alkalischen Celluloselösungen unter Zusatz von Borsäure angewendet werden.

3.5 Borsäureinteraktion in alkalischer Lösung

Auf Basis der für Cellulose-Modellverbindungen ermittelten Daten wurde versucht Cellulose in borsäurehaltigen Systemen zu lösen, um die bisher gefundenen Interaktionen der Boronsäuren zu übertragen bzw. zu verifizieren. So sollte mikrokristalline Cellulose in wässrig-alkalischen Lösungen unter Zusatz von definierten Mengen an Borsäure gelöst werden. Als optimale Methode zur Auflösung von Cellulose in NaOH-haltigen Lösungen erwies sich die Anwendung des sogenannten 'Frier-Tau-Zyklus' (Isogai und Atalla 1998). Nach Abkühlung einer Suspension von MCC in 8 wt.-%iger wässriger NaOH auf $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ und anschließendem Auftauen auf RT konnten klare Lösungen erhalten werden. Die Zugabe der Borsäure (0,4-5 wt.-%) muss dabei vor dem Suspendieren der MCC erfolgen, weil eine spätere Zugabe zu einem unvollständigen Auflösen der Cellulose bzw. zur Bildung von Gelen führt, was für Vernetzungsreaktionen zwischen Celluloseketten sprechen würde. Abbildung 3.46 zeigt die Cellulose-Suspension vor dem Abkühlen und die klaren Lösungen mit variierendem Borsäuregehalt nach dem Auftauen. Die Stoffmenge an NaOH wurde im Bezug zur Stoffmenge an Borsäure sukzessive bis auf etwa 11 wt.-% erhöht. Klare Lösungen konnten bis zu einem Gehalt an MCC von 4 wt.-% erhalten werden.

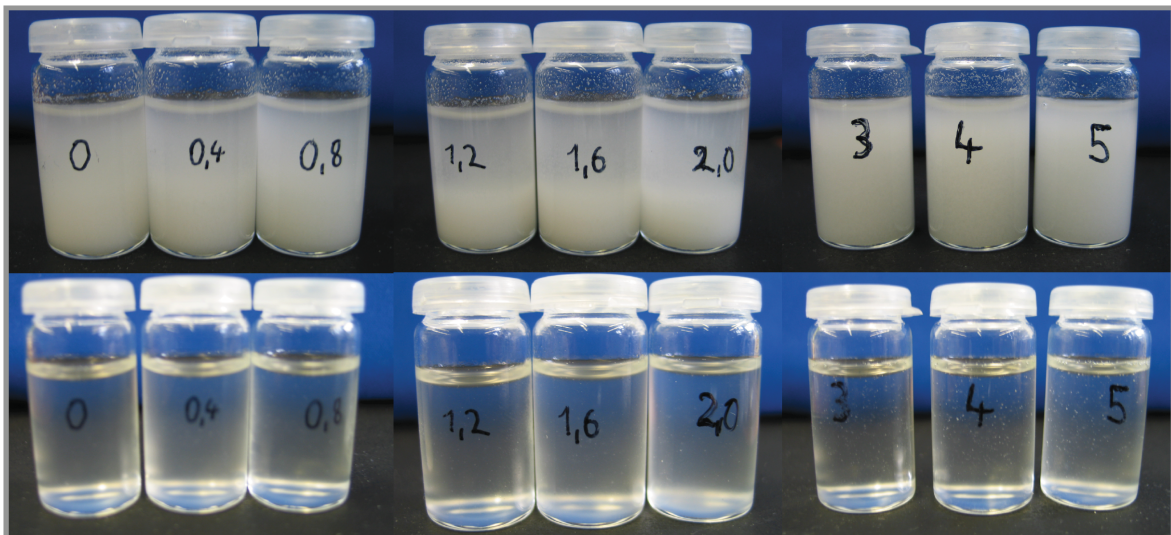


Abb. 3.46. Mikrokristalline Cellulose (2,5 wt.-%) in NaOH-Lösung (8-11 wt.-%) mit zunehmendem Borsäuregehalt (0-5 wt.-%; von links nach rechts) direkt nach Zugabe der Cellulose (oben) und nach 20 Minuten bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (unten).

NMR-spektroskopisch kann eine Aktivierung der Hydroxylgruppen anhand der Tieffeldverschiebung der ^{13}C -NMR-Signale der Kohlenstoffatome mit primären bzw. sekundären OH-Gruppen (C-6, C-2 und C-3) verfolgt werden. Die Änderungen des Verschiebungswertes können für die Kohlenstoffatome in Position 2 und 3 zwischen 1,0 und 1,5 ppm betragen (Isogai 1997). Um nun zu untersuchen, ob eine Aktivierung der Cellulose durch Borsäure mittels der NMR-Spektroskopie detektierbar ist, wurden jeweils Lösungen der in Kapitel 3.1 und 3.2 dargestellten Cellulose-Modellverbindungen mit und ohne Zusatz an Borsäure hergestellt. Die Lösungen konnten wie zuvor beschrieben nach dem Frier-Tau-Zyklus erhalten werden. Die NaOH-Konzentration betrug 8 wt.-% und der Gehalt an Cellulose wurde im Vergleich zu den Vorversuchen auf 7 wt.-% erhöht.

In Abbildung 3.47 sind die DEPT (135)-NMR-Spektren der *lmw* Cellulose **CM-3_2** ($\text{DP}_w = 127$, $\text{PDI} = 1,72$) und der gleichen Probe mit Zusatz von 2 wt.-% Borsäure dargestellt. Dies entspricht einem molaren Verhältnis AGE zu Borsäure von 1:0,75 und liegt somit im Größenordnungsbereich des Molverhältnisses AGE:PBA der Phenylboronat-Proben in Kapitel 3.4.4.2, bei denen keine Vernetzung der Celluloseketten beobachtet wurde. Die Spektren zeigen eine hohe spektrale Auflösung. Es sind Signale für alle Kohlenstoffatome der AGE erkennbar. Die intensitätsschwachen Peaks bei 77-78 ppm bzw. 71 ppm können in beiden Spektren eindeutig den Kohlenstoffen C-3 und C-5 bzw. C-4 der nREG zugeordnet werden. In den untersuchten Lösungen der Cellulose-Modellverbindung mit 2 wt.-% Borsäure findet keine dauerhafte Vernetzung der

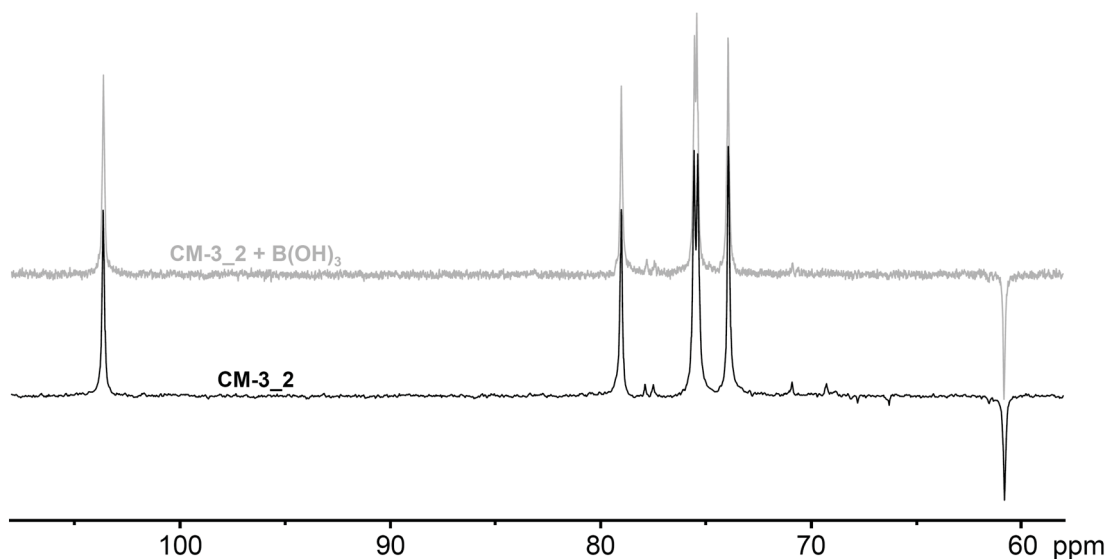


Abb. 3.47. DEPT (135)-NMR-Spektren von niedermolekularer Cellulose (**CM-3_2**; $\text{DP}_w = 127$, $\text{PDI} = 1,72$) und **CM-3_2** versetzt mit 2 wt.-% Borsäure in D_2O mit 8 wt.-% NaOH.

Celluloseketten über die primäre Hydroxylgruppe in Position 6 der AGE statt, denn eine solche Interaktion würde man im ^{13}C -NMR-Spektrum in Form eines breiten Signals bei etwa 62 ppm beobachten, wie es die Untersuchungen zu den Phenylboronaten des Me- β -D-clb und der Alkyl- β -D-cellulose belegen. Ein Peak bei dieser Resonanzfrequenz fehlt allerdings. Vergleicht man die Signallagen in beiden Spektren, wird keine Tief- bzw. Hochfeldverschiebung resultierend aus der Zugabe von Borsäure beobachtet. Ähnliches gilt für den Spektrenvergleich (Abbildung 3.48) der nicht-reduzierenden Modellverbindung TCE- β -D- ^{25}cld (**CM-12**) in NaOH/D₂O-Lösung mit und ohne Borsäure.

Somit ist die Interaktion der sekundären OH-Gruppen mit Borsäure für diese längerkettigen Cellulose-Modellverbindungen ebenfalls nicht detektierbar (vgl. Kapitel 3.4.4.2). Der Grund scheint abermals eine für die NMR-Technik zu schnell ablaufende Gleichgewichtsreaktion zu sein. Auf der Basis der in Modellversuchen gewonnenen Erkenntnisse kann man jedoch von intermediären Wechselwirkungen sowohl an sekundären als auch an primären Hydroxylgruppen ausgehen.

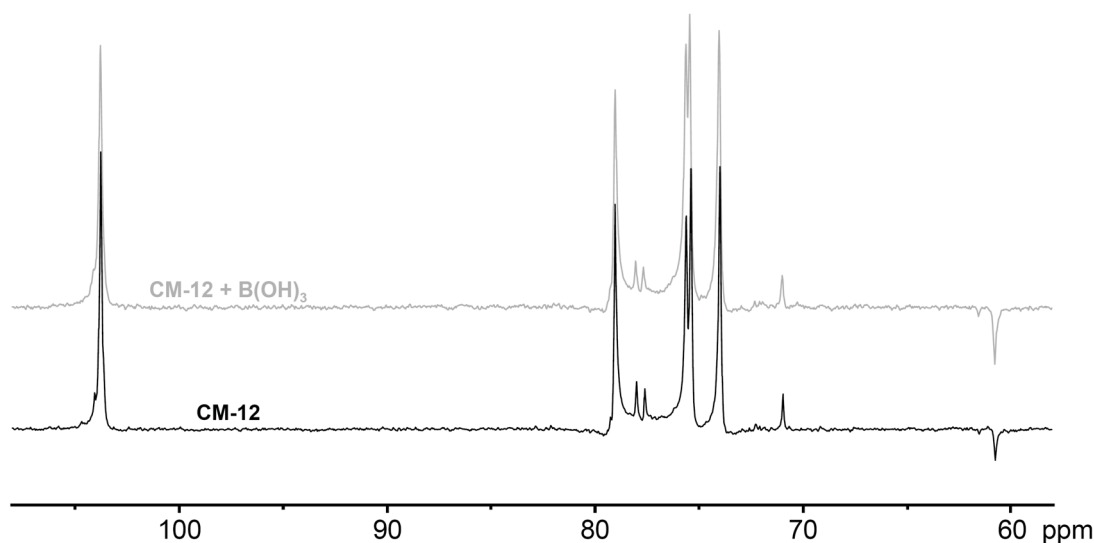


Abb. 3.48. DEPT (135)-NMR-Spektren von 2,2,2-Trichloroethyl- β -D- 25 cellulosid (**CM-12**; DP_w = 35, PDI = 1,44) und **CM-12** versetzt mit 2 wt.-% Borsäure in D₂O mit 8 wt.-% NaOH.

4 Experimenteller Teil

4.1 Ausgangsmaterialien

Als Ausgangscellulosen verwendete man mikrokristalline Cellulose (Avicel[®] PH-101, *Sigma-Aldrich*, SEC (DMA/LiCl; Pun): $DP_w = 330$; $PDI = 3,74$), Cellulosetriacetat (*Fluka*, $M = 72000-74000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) und Cellulose-Regeneratfasern (Tencel[®], *N-Methyl-morpholin-N-oxid* Verfahren, Thüringer Institut für Textil- und Kunststoffforschung). Die Cellulose-Fasern wurden zum Entfernen der Avivage 12 h mit Dichlormethan extrahiert und in einer Schneidmühle zerkleinert. Alle Cellulosen wurden vor Verwendung für 8 h im Hochvakuum bei 105 °C getrocknet.

Das eingesetzte Triphenylboroxin (TPB) wurde erhalten, indem man Phenylboronsäure (PBA, *Sigma-Aldrich*) im Hochvakuum bei 200 °C für 5 h über Kaliumhydroxid trocknete. Nach Sublimation bei $2\cdot 10^{-2}$ mbar und 180 °C konnte ein weißes Pulver erhalten werden, welches einen Restgehalt an PBA von 20-30 % (ermittelt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie, $M_{\text{PhBO}} = 106 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) besitzt.

1-Butyl-3-methylimidazoliumchlorid (BMIMCl, > 99 %) wurde bei der *IoLiTec GmbH*, Deutschland erworben. Nicht für die Synthese verwendete Lösungsmittel wurden aus dem hauseigenen Chemikalienlager bezogen und nach einfacher Destillation am Rotationsverdampfer eingesetzt. Alle weiteren Chemikalien und Lösungsmittel wurden bei *Sigma-Aldrich*, *Acros Organics*, *Merck* oder *TCI Europe* mit einem für Synthesen geeigneten Reinheitsgrad erworben und ohne weitere Reinigung verwendet, wenn nicht anderweitig angegeben.

4.2 Messmethoden

Elementaranalyse

Die Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffanalysen erfolgte mit einem *LECO* CHNS-932 Analysator. Zur Bestimmung des Chlorgehaltes wurde die Analysensubstanz durch Verbrennung aufgeschlossen (Schöniger 1956) und gegen eine 0,02 M AgNO₃-Lösung potentiometrisch titriert. Die berechneten und gefundenen Werte werden in Masseprozent angegeben.

Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (FTIR)

Zur Aufnahme der FTIR-Spektren kam das *NICOLET AVATAR 370 DTGS*-Spektrometer unter Verwendung der KBr-Technik zum Einsatz.

Massenspektrometrie (MS)

Massenspektren wurden zum einen mit dem Massenspektrometer *SSQ 710* der Firma *Finnigan MAT* mit der Elektronenstoß-Ionisation (EI) bei einer Spannung von 70 eV, der chemischen Ionisation (CI), der „fast atom bombardment“-Methode (FAB) und mittels der Elektrospray-Ionisation (ESI) aufgenommen.

MALDI-TOF-Massenspektren wurden mit dem *Ultraflex III TOF/TOF*-Massenspektrometer (*Bruker Daltonics*, Bremen, Germany; Nd:YAG-Laser und einer Kollisionszelle). Die Kalibrierung erfolgte mit Polymethylmethacrylat-Standards (PMMA, $M_n = 410, 2500, 5000$ oder $10000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; *PSS Polymer Standards GmbH*, Mainz, Germany). Die Probenvorbereitung erfolgte nach der „Dried Droplet Methode“ (Räder und Schrepp 1998), indem jeweils der Analyt ($10 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) und die Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB, $20 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) in Chloroform gelöst wurde. Anschließend wurden Analyt- und Matrixlösung vereinigt und 1 mm^3 dieser Mischung auf den Probensteller aufgetragen.

Nuklearmagnetresonanzspektroskopie (NMR)

^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren wurden sowohl an einem *Bruker Avance 250 MHz*-Spektrometer (250 bzw. 62,9 MHz), einem *Bruker Avance 400 MHz*-Spektrometer (400 bzw. 100,6 MHz) oder einem *Bruker Avance 600 MHz*-Spektrometer (600 bzw. 150,9 MHz) aufgenommen. ^{11}B - und zweidimensionale NMR-Messungen wurden ausschließlich am *Bruker Avance 400 MHz*- bzw. *Avance 600 MHz*-Spektrometer durchgeführt.

Die Probenkonzentration in CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$ oder D_2O betrug mindestens $40 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Für die Messung im Gemisch 1-Butyl-3-methylimidazoliumchlorid (BMIMCl)/ $\text{DMSO-}d_6$ wurden mindestens $90 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ gelöst und die Spektren bei $70 \text{ }^\circ\text{C}$ gemessen. Alle Spektren wurden auf die Resonanzsignale der jeweils verwendeten Lösungsmittel kalibriert.

Größenausschlusschromatographie (SEC)

Die Größenausschlusschromatogramme wurden mit einer *Agilent 1200 Series LC* Anlage gemessen (SEC-Pumpe G1310A; RI-Detektor G1362A; Säulen: *PSS Gram30* und *PSS Gram1000* in Serie; Flussrate: $1 \text{ cm}^3\cdot\text{min}^{-1}$; Eluent: *N,N*-Dimethylacetamid (DMA) mit

0.21 % (w/v) Lithiumchlorid; 40 °C). Die Kalibrierung erfolgte mit Pullulan- (Pun) oder Polystyren- (PS) Standards.

Im Fall von nicht-derivatisierten Cellulose-Proben wurde wie folgt verfahren. 20 mg Probe wurden in 0,5 cm³ DMA (wasserfrei) suspendiert und 1,5 h bei 130 °C aktiviert. Nach Abkühlung der Suspension auf 80 °C gibt man 42 mg LiCl (getrocknet) hinzu und lässt noch eine weitere Stunde bei 50 °C rühren. Nach 12-24 h bei Raumtemperatur (RT) stellte sich eine klare Lösung ein. Nach schrittweiser Verdünnung mit 1,5 cm³ DMA wurden 0,1 cm³ von dieser Lösung abgenommen und mit DMA auf 1 cm³ aufgefüllt. Man erhält eine Lösung mit einer Cellulose-Konzentration von 1 g/dm³ und einer LiCl-Konzentration von 2,1 g/dm³, diese Lösung wurde anschließend mit der oben beschriebenen Anlage vermessen.

Röntgenweitwinkelstreuung (WAXS)

Die Messung der Streubilder erfolgte mit dem Röntgendiffraktometer D8 Advance (*Bruker AXS GmbH*; Generator: Kristalloflex K760-A21; Detektor: LynxEye (PSD)).

Zur Probenvorbereitung wurde die zu vermessende Substanz in einem tiefen Probenröhrchen mit einer Lösung aus Nitrocellulose in Diethylether (4 wt.-%) versetzt und mit einem Spatel gut durchmischt. Die entstandene Suspension füllte man in eine 3 mm tiefe Pressform und belastete nach Auflegen einer Deckplatte die Probe für 12 h. Die so präparierten Probenkörper wurden nach Trocknung auf ein Maß von 20 × 15 mm zurechtgeschnitten und zentrisch im Strahlengang des Goniometers platziert. Die Hauptmessung erfolgte im Winkelbereich von $5^\circ \leq 2\theta \leq 105^\circ$. Zur Bestimmung der Röntgen-Kristallinität x_c erfolgte mittels zwei weitere Messungen zur Bestimmung der experimentellen Absorption. Dafür wurde jeweils ein PMMA- bzw. PS-Blättchen ($d = 2$ mm) vor die Probe gesetzt und im Winkelbereich von $8^\circ \leq 2\theta \leq 25^\circ$ die Streuung aufgenommen. Die weitere Auswerteprozedur wurde nach Ruland (1961) und Vonk (1973) durchgeführt.

4.3 Synthesevorschriften

4.3.1 Abbau von Cellulose unter Erhalt der reduzierenden Endgruppe

4.3.1.1 Cellodextrine

In einen Doppelmantel-Glasreaktor mit Ankerrührer legte man mikrokristalline Cellulose (45 g) vor. Bei RT wurde unter langsamem Rühren Phosphorsäure (500 cm³; 85 wt.-%) hinzugegeben. Nach 1 h Quellen und mehrmaligen Zerkleinern der Cellulose-Konglomerate wurde auf 55 °C erwärmt und 16 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen fällte man die Lösung in Aceton (4000 cm³). Filtrieren und Waschen des Niederschlags mit Aceton (3500 cm³) ergab das Rohprodukt. Dieses im Vakuum getrocknete Rohprodukt (37 g) wurde in entionisiertem Wasser (700 cm³) aufgeschlämmt und die wässrige Lösung durch Zentrifugation abgetrennt. Zum Ausfällen der wasserlöslichen Bestandteile gab man die eingeeengte Lösung (100 cm³) in Aceton (1000 cm³). Der angefallene Niederschlag wurde abgetrennt, gewaschen und im Vakuum getrocknet. Nach erneutem Auflösen in Wasser, Filtration und Gefriertrocknung erhält man wasserlösliche Cellodextrine (**CM-6a**; 17 g; 38 %).

SEC (DMA/LiCl; Pun): DP_w = 5; DP_n = 3; PDI = 1,51.

4.3.1.2 Homogener Abbau

Allgemeine Vorgehensweise

Mikrokristalline Cellulose (25 g; M_{AGE} = 162,14 g·mol⁻¹; 154 mmol) wurde zu einem Gemisch aus Phosphorsäure (235 cm³; 85 wt.-%) und entionisiertem Wasser (10 cm³) gegeben. Nach mechanischem Rühren bei RT für 2-5 Tage wurde eine klare Lösung erhalten. Diese Lösung wurde 3-5 Wochen nach Herstellung unter Rühren in Wasser (1000 cm³) gegeben. Der erhaltene Niederschlag **I** wurde abgetrennt und mit verdünnter Phosphorsäure-Lösung (8 wt.-%) gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden am Rotationsverdampfer auf ca. 100 cm³ eingeeengt und anschließend in Aceton (1200 cm³) ausgefällt. Der angefallene Niederschlag **II** wurde abgetrennt. Nach Waschen mit Aceton und Trocknen im Vakuum wurden wasserlösliche Cellodextrine (**CM-6**; 1,5 g; 6 %) erhalten.

SEC (DMA/LiCl; Pun): DP_w = 7; DP_n = 5; PDI = 1,29.

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ(ppm) = 102,6 (C-1n); 102,3 (C-1i); 96,4 (C-1β); 91,7 (C-1α); 80,4 (C-4α); 80,1 (C-4β); 79,6 (C-4i); 76,4 (C-5n); 76,2 (C-3n); 74,6 (C-5i); 74,4 (C-3i);

73,0 (C-2n); 72,8 (C-2i); 71,8 (C-3 α); 71,1 (C-2 α); 69,9 (C-4n); 69,5 (C-5 α); 60,8 (C-6n); 60,5 (C-6 β + C-6 α); 60,1 (C-6i).

Den oben erwähnte Niederschlag **I** wäscht man mit reichlich Wasser, Natriumbicarbonat-Lösung (8 wt.-%) und erneut Wasser, bis das Filtrat neutral ist. Das ungetrocknete Rohprodukt **I** wurde in Wasser (400 cm³) aufgeschlämmt und 3 h bei 90 °C gerührt. Der wasserunlösliche Teil wurde mittels Filtration oder Zentrifugation abgetrennt und solange mit Aceton gewaschen, bis das Rohprodukt **Ia** pulverig war. Die Filtrate wurden verworfen. Nach Trocknen des wasserunlöslichen Rohproduktes **Ia** (15,5 g; 62 %) wurde dieses in Dimethylsulfoxid (300 cm³) suspendiert und 3 h bei 100 °C gerührt. Die noch warme Suspension wurde zentrifugiert und der unlösliche Teil **III** dreimal mit Aceton gewaschen. Das Zentrifugat fällte man in Aceton (1200 cm³), um es anschließend durch Filtration abzutrennen. Nach Waschen und Trocknen der Rohprodukte wurden wasserunlösliche Cellodextrine (**CM-7**; 1,0 g; 4 %) und niedermolekulare Cellulose (**CM-5**; 14,2 g; 57 %) erhalten.

CM-7: SEC (DMA/LiCl; Pun): DP_w = 20; DP_n = 14; PDI = 1,48.

CM-5: SEC (DMA/LiCl; Pun): DP_w = 35; DP_n = 22; PDI = 1,58.

Elementaranalyse: C 43,10; H 6,33; P 0,047; Berechnet für (C₆H₁₀O₅)_n: C 44,44, H 6,22.

¹³C-NMR (BMIMCl/DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 102,2 (C-1n); 101,7 (C-1i); 96,1 (C-1 β); 91,3 (C-1 α); 79,8 (C-4 α); 79,3 (C-4 β); 78,7 (C-4i); 76,2 (C-5n); 75,9 (C-3n); 74,5 (C-5i); 74,1 (C-3i); 73,1 (C-2n); 72,8 (C-2i); 71,7 (C-3 α); 70,8 (C-2 α); 69,5 (C-4n); 69,3 (C-5 α); 60,2 (C-6n); 59,4 (C-6i).

4.3.1.3 Heterogener Abbau

20 g Cellulose-Regeneratfasern wurden in 2,5 M Salzsäure-Lösung (75 cm³) suspendiert und anschließend zu einer kochenden 2,5 M Salzsäure-Lösung (V_{ges} = 750 cm³) gegeben. Die Suspension wurde unter Rückfluss zum Sieden erhitzt und 15 Minuten auf dieser Temperatur gehalten. Die abgebaute Cellulose wurde heiß filtriert, mit entionisiertem Wasser, wässriger Ammoniak-Lösung (5 wt.-%) und erneut Wasser gewaschen, bis das Filtrat neutral war. Trocknen im Vakuum ergab niedermolekulare Cellulose (**CM-8**; 15 g; 75 %).

SEC (DMA/LiCl; Pun): DP_w = 51; DP_n = 29; PDI = 1,81.

Elementaranalyse: C 42,76; H 6,31; Berechnet für (C₆H₁₀O₅)_n: C 44,44, H 6,22.

4.3.1.4 Fraktionierung von niedermolekularer Cellulose

Getrocknete, niedermolekulare Cellulose (**CM-5** oder **CM-8**; 10 g) wurde in DMA (300 cm³) suspendiert und 1,5 h bei 130 °C (Ölbadtemperatur) aktiviert. Nach Abschalten der Wärmezufuhr wurde das Wasser-DMA-Azeotrop unter verminderten Druck entfernt und anschließend bei einer Ölbadtemperatur von 80 °C LiCl (18 g; 2 h bei 130 °C getrocknet) zugegeben. Danach wurde die Lösung unter mechanischem Rühren auf RT über Nacht abgekühlt. Die entstandene Cellulose-Lösung wurde filtriert und Aceton portionsweise unter Rühren hinzugegeben. Ab 60-75 vol.-% Aceton bildete sich ein Niederschlag aus, welcher die Cellulose-Fraktion mit dem höchsten Molekulargewicht enthält. Die Fraktion wurde mittels Filtration bzw. Zentrifugation abgetrennt und erneut Aceton hinzugegeben. Die Abtrennung des Niederschlags und das erneute Ausfällen wiederholte man, bis kein Produkt mehr aus dem Lösungsmittelgemisch ausfällt. Auf diesem Weg erhält man fünf oder mehr Fraktionen. Die Fraktionen wurden mit Aceton und Wasser gewaschen und anschließend getrocknet.

4.3.2 Synthese von Alkyl- β -D-cellulosen

4.3.2.1 Methyl- β -D-cellobiosid

Zu einer Suspension von D-Cellobiose (5,0 g; 14,6 mmol) in Essigsäure (50 cm³) wurden Acetanhydrid (13,25 cm³; 14,4 mmol) und zehn Tropfen Perchlorsäure gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 45 min bei RT gerührt. Nach Zugabe von Acetylbromid (3,25 cm³; 43,9 mmol) und Methanol (2,0 cm³; 59,7 mmol) wurde über Nacht bei RT und unter Lichtausschluss gerührt. Die erhaltene, gelbe Lösung wurde in Eiswasser (250 g) gegeben, der ausgefallene weiße Feststoff abfiltriert und in Dichlormethan (100 cm³) aufgenommen. Die Lösung wurde dreimal mit 0,5 M Natriumbicarbonat-Lösung (je 35 cm³) und zweimal mit Wasser (je 30 cm³) pH-neutral gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man Hepta-O-acetyl- α -D-cellobiosylbromid. Der getrocknete Feststoff (7,0 g; 10,0 mmol) wurde zu Silbercarbonat (3,15 g, 11,4 mmol), Molekularsieb 3 Å (3,0 g) in Methanol (getrocknet über Mg; 35 cm³) und Dichlormethan (wasserfrei; 35 cm³) gegeben. Die Mischung wurde 5 h unter Lichtausschluss gerührt und durch Silicagel (Ethylacetat) abfiltriert. Nach Einengen des Filtrats wurde Methyl-hepta-O-acetyl- β -D-cellobiosid erhalten. Der getrocknete Feststoff (6,2 g; 9,5 mmol) wurde in Methanol (100 cm³) gelöst und Natriummethanolat-Lösung (30%; 2 cm³) zugegeben. Nach Rühren bei RT über Nacht

wurde die Lösung mit Kationenaustauscher [Amberlite IR-120 (H⁺)] angesäuert, die Lösung filtriert und das Filtrat eingengt. Nach Umkristallisieren des Rohproduktes aus Ethanol erhält man Methyl- β -D-cellobiosid (**CM-10**; 2,7 g; 52 %) als kristalliner Feststoff.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5,17 (1H; d; OH-2'); 5,10 (1H; d; OH-2); 4,95 (1H; d; OH-3'); 4,92 (1H; d; OH-4'); 4,64 (1H; br; OH-3); 4,54 (2H; m; OH-6 + OH-6'); 4,25 (1H; d; H-1'); 4,09 (1H; d; H-1); 3,76-3,67 (2H; H-6a + H-6'a); 3,61 (1H; m; H-6b); 3,41 (1H; m; H-6'b); 3,38 (3H; s; OMe); 3,32-3,22 (3H; H-3, H-4, H-5); 3,21-3,11 (2H; H-5' + H-3'); 3,04 (1H; m; H-4'); 3,03-2,96 (2H; H-2 + H-2').

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 103,5 (C-1); 103,0 (C-1'); 80,3 (C-4); 76,7 (C-5'); 76,4 (C-3'); 74,9 (C-3); 74,7 (C-5); 73,2 (C-2'); 73,0 (C-2); 70,0 (C-4'); 61,0 (C-6'); 60,4 (C-6); 56,0 (OMe).

4.3.2.2 Methyl- β -D-celotriosid

Essigsäure-Abbau von Cellulose

Unter Eiskühlung wurde zu einer Lösung von Essigsäure (100 cm³), Acetanhydrid (100 cm³) und Schwefelsäure (10 cm³) mikrokristalline Cellulose (25 g; M_{AGE} = 162,14 g·mol⁻¹; 154 mmol) gegeben. Anschließend wurde langsam auf 40 °C erhitzt und 24 h bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde in Eiswasser (800 g) gefällt, filtriert und zweimal mit Eiswasser (je 400 g) gewaschen. Nach Trocknung des Rohproduktes über KOH im Exsikkator und im Vakuum-Trockenschrank wurde eine Separation der peracetylierten Cellooligomere in Aceton (100 cm³) durchgeführt. Die erhaltene Aceton-Lösung engte man zur Trockne ein. Vakuumtrocknung lieferte 31,1 g (70 %) peracetylierte Cellooligomere.

Chromatographische Trennung der peracetylierten Cellooligomere

Die acetonlöslichen, peracetylierten Cellooligomere wurden säulenchromatographisch (Säule 10 x 30 cm, Silicagel 60, Eluent: Gradient 1:2 - 2:1 Ethylacetat zu Dichlormethan) getrennt. Die angefallenen Fraktionen der Säulenchromatographie wurden mittels Dünnschichtchromatographie und SEC identifiziert und Fraktionen mit gleicher Zusammensetzung zu Rohfraktionen vereinigt. Durch jeweilige Trennung der Rohfraktionen auf einer zweiten Chromatographiesäule (5 x 60 cm, Silicagel 60, Eluent 1:1 Ethylacetat zu Toluol) und Umkristallisation aus Ethanol erhält man D-Celotriose-undecaacetat.

MS (ESI): m/z = 989,1 [M+Na]⁺; berechnet für C₄₀H₅₄O₂₇Na: 989,3.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 6,23 (0,9H; d; $J = 3,8$ Hz; H-1 α); 5,64 (0,1H; d; $J = 8,3$ Hz; H-1 β); 5,41 (1H; t; 9,8 Hz; H-3); 5,22-4,76 (6H; H-2, H-2' + H-3', H-2'' + H-3'' + H-4''); 4,67-4,28 (5H; H-6a, H-1' + H-6'a, H-1'' + H-6''a); 4,20-3,91 (4H; H-5 + H-6b, H-6'b, H-6''b); 3,86-3,69 (2H; H-4, H-4'); 3,68-3,52 (2H; H-5', H-5''); 2,31-1,80 (33H; CH_3 -Acetat); $\text{DP}_n = 3$ (bestimmt mittels $^1\text{H-NMR}$).

Umsetzung von D-Cellotriöse-undecaacetat zu Methyl- β -D-cellotriosid

D-Cellotriöse-undecaacetat (2,0 g; 2,07 mmol) wurde in Eisessig (8 cm³) gelöst und eine Lösung von 33 wt.-% Bromwasserstoff in Essigsäure (6,4 cm³, 36,6 mmol) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 25 min unter Lichtausschluss und Argonatmosphäre gerührt. Nach Zugabe von Dichlormethan (50 cm³) wurde die organische Phase mit Eiswasser (100 cm³) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (2 x 50 cm³) zurückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumbicarbonat-Lösung (8 wt.-%; 2 x 50 cm³) und Wasser (2 x 50 cm³) neutral gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde Deca-O-acetyl- α -D-cellotriosylbromid erhalten. Das getrocknete Produkt (1,92 g; 1,95 mmol) wurde zu Silbercarbonat (0,61 g, 2,21 mmol) und Molekularsieb 3 Å (1,0 g) in Methanol (getrocknet über Mg; 15 cm³) und Dichlormethan (wasserfrei; 30 cm³) gegeben. Die Mischung wurde 4 h unter Lichtausschluss gerührt und durch Silicagel (Dichlormethan) abfiltriert. Nach Einengen des Filtrats wurde das Rohprodukt in Ethylacetat gelöst und durch Verreiben mit Hexan auskristallisiert. Das abgetrennte und getrocknete, kristalline Pulver (1,50 g; 1,60 mmol) wurde in Methanol (wasserfrei; 70 cm³) gelöst und Natriummethanolat-Lösung (0,5 M; 2 cm³) zugegeben. Nach Rühren bei RT für 45 min wurde der sich bildende Niederschlag filtriert und nach Trocknung aus einem Gemisch Ethanol-Wasser umkristallisiert. Methyl- β -D-cellotriosid (**CM-11**; 0,65 g; 61 %) erhält man als weißes kristallines Pulver.

MALDI-TOF MS: $m/z = 540,95$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺; berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_{16}\text{Na}$: 541,17.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 5,28 (1H; d; OH-2'); 5,11 (1H; d; OH-2''); 5,03 (1H; d; OH-2); 4,90-4,86 (2H; OH-3'' + OH-4''); 4,68 (1H; d; OH-3'); 4,60-4,45 (4H; OH-3, OH-6, OH-6', OH-6''); 4,33 (1H; d; $J = 8,0$ Hz; H-1'); 4,25 (1H; d; $J = 8,0$ Hz; H-1''); 4,10 (1H; d; $J = 8,0$ Hz; H-1); 3,82-3,67 (3H; H-6a, H-6'a, H-6''a); 3,66-3,54 (2H; H-6b + H-6'b); 3,43 (1H; H-6''b); 3,41-3,24 (H-3 + H-5, H-3' + H-5'); 3,39 (s; OMe); 3,38-3,31 (H-4, H-4'); 3,20 (1H; H-5''); 3,16 (1H; H-3''); 3,07 (1H; m; H-4'); 3,11-2,96 (3H; H-2, H-2', H-2'').

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 103,4 (C-1); 103,0 (C-1''); 102,5 (C-1'); 80,12 (C-4); 80,05 (C-4'); 76,6 (C-5''); 76,3 (C-3''); 74,73 + 74,67 + 74,59 (C-3 + C-5, C-3' + C-5'); 73,1 (C-2''); 72,92 (C-2); 72,88 (C-2'); 69,9 (C-4''); 60,9 (C-6''); 60,3 (C-6); 60,2 (C-6'); 55,8 (OMe)

4.3.2.3 2,2,2-Trichloroethyl- β -D- 25 cellulosid

Synthese von Tri-O-acetyl-cellulose

Getrocknete, mikrokristalline Cellulose (6 g; $M_{\text{AGE}} = 162,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 37 mmol) wurde in DMA (180 cm^3) für 1,5 h bei 130 °C (Ölbadtemperatur) aktiviert. Nach Abschalten der Wärmezufuhr entfernte man das Wasser-DMA-Azeotrop unter verminderten Druck. Nach Abkühlen der Suspension auf 80 °C wurde LiCl (10,8 g; 2 h bei 130 °C getrocknet) zugegeben. Beim Abkühlen auf RT stellte sich eine klare Cellulose-Lösung ein. Es wurde Acetylchlorid (13,2 cm^3 ; 185 mmol) bei RT zugegeben und bei 80 °C für 2 h unter Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Das Polymer fällt man in Ethanol (1000 cm^3) aus und trennte es mittels Filtration ab. Nach dreimaligem Waschen mit Ethanol, zweimaligem Umfällen durch Lösen in Chloroform und anschließendem Ausfällen in Ethanol wurde die Polymerprobe im Vakuum bei 100 °C für 12 h getrocknet. Man erhält Tri-O-acetyl-cellulose (9,6 g, 90 %).

SEC (DMA/LiCl; PS): $\text{DP}_w = 243$; $\text{DP}_n = 110$; PDI = 2,19.

FTIR (KBr): kein ν (OH); 2964 ν (C-H); 1756 ν (CO_{Ester}); 1233 ν (C-O-C $_{\text{Ester}}$) cm^{-1} .

^1H -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 5,06 (H-3); 4,78 (H-2); 4,39 (H-1 + H-6a); 4,04 (H-6b); 3,70 (H-4); 3,54 (H-5); 2,15-1,90 (CH_3 -Acetat).

Synthese von 2,2,2-Trichloroethyl-tri-O-acetyl- β -D- 25 cellulosid

In einer Kugelmühle gemahlene Tri-O-acetyl-cellulose wurde bei 100 °C im Vakuum für 24 h getrocknet, um alle flüchtigen Bestandteile und Spuren von Wasser zu entfernen. Diese Probe (9,1 g; $M_{\text{AGE}} = 288,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 31,6 mmol) wurde in Dichlormethan (ultratrocken aus „Solvent Purification System“; 285 cm^3) gelöst und 2,2,2-Trichlorethanol (5,5 cm^3 ; 57,1 mmol) hinzugegeben. Bortrifluorid-diethyletherat (5 g; 35,2 mmol), gelöst in Dichlormethan (ultratrocken; 15 cm^3), wurde zur Lösung zugetropft. Nach mechanischem Rühren unter Schutzgas-Atmosphäre für 20 h bei RT wurde die Reaktionsmischung in Methanol (1800 cm^3) gegeben. Der erhaltene Niederschlag wurde mittels Zentrifugation abgetrennt und mit Methanol (5 x 200 cm^3) gewaschen. Durch

Trocknung im Vakuum wurde 2,2,2-Trichloroethyl-tri-*O*-acetyl- β -D-²⁵cellulosid (**CM-12.ac**; 6,9 g; 76 %) erhalten.

SEC (DMA/LiCl; PS): DP_w = 39; DP_n = 27; PDI = 1,43.

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 5,09 (t; H-3); 4,77 (t; H-2); 4,47 (d; H-1); 4,38 (d; H-6a); 4,08 (dd; H-6b); 3,72 (t; H-4); 3,57 (br; H-5); 2,12-1,94 (CH₃-Acetat).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 170,0-169,0 (CO-Acetat); 100,3 (C-1); 80,3 (CH₂CCl₃); 76,1 (C-4); 73,1 (C-5); 72,6 (C-3); 72,2 (C-2); 62,2 (C-6); 20,6-20,2 (CH₃-Acetat).

MALDI-TOF MS: Signale der [M+Na]⁺-Ionen für DP 8-40 detektiert.

Synthese von 2,2,2-Trichloroethyl- β -D-²⁵cellulosid

Das acetylierte Cellulosid (**CM-12.ac**; 6,0 g; M_{AGE} = 288,25 g·mol⁻¹; 20,8 mmol) wurde in einer Mischung aus Methanol (wasserfrei; 60 cm³) und Dichlormethan (wasserfrei; 130 cm³) gelöst. Zu dieser Lösung wurde Natriummethanolat-Lösung (5 M; 2 cm³; 15,0 mmol) gegeben und die erhaltene Suspension für 16 h bei RT gerührt. Nach Verdünnen der Suspension mit Methanol (600 cm³) wurde filtriert und der Feststoff sofort im Gemisch von Methanol (100 cm³) und Wasser (100 cm³) aufgeschlämmt, um die Suspension mit durch Zugabe von 1 M Salzsäure-Lösung zu neutralisieren. Der Niederschlag wurde filtriert und mit Wasser und Aceton gewaschen, bis man ein pulveriges Produkt erhält. Trocknung im Vakuum ergab 2,2,2-Trichloroethyl- β -D-²⁵cellulosid (**CM-12**; 3,1 g; 92 %).

SEC (DMA/LiCl; Pun): DP_w = 35; DP_n = 24; PDI = 1,44.

Elementaranalyse: C 41,77; H 6,13; Cl 3,22 ± 0,1; DP_n = 20 ± 1; Berechnet für [H(C₆H₁₀O₅)₂₀OCH₂CCl₃]: C 43,20; H 6,03; Cl 3,14.

¹H-NMR (BMIMCl/DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5,35 (OH-2); 4,91 (OH-3); 4,79 (OH-6); 4,61 (1,0H; H-1 β); 4,49 (21,8H; H-1i); 4,40-4,32 (H-1n + CH₂CCl₃); 4,26 (CH'₂CCl₃); 3,70 (H-6i); 3,65 (H-6n); 3,62 (H-6i'); 3,46-3,40 (H-3i + H-6n'); 3,36 (H-4i); 3,31 (H-5i + H-3n); 3,18-3,08 (H-5n + H-4n); 3,03 (H-2i); DP_n = 24 ± 4 (bestimmt mittels ¹H-NMR).

¹³C-NMR (BMIMCl/DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 102,4 (C-1n); 102,0 (C-1i + C-1 β); 96,5 (CH₂CCl₃); 79,5 (C-4 β); 79,1 (CH₂CCl₃); 79,0 (C-4i); 76,5 (C-5n); 76,2 (C-3n); 74,8 (C-5i); 74,4 (C-3i); 73,4 (C-2 β); 73,1 (C-2i); 69,8 (C-4n); 60,5 (C-6n); 59,7 (C-6i).

4.3.2.4 Methyl- β -D-⁵cellulosid*Synthese von Cellodextrin-peracetat*

Die Peracetylierung wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Wolfrom und Thompson (1963a) durchgeführt. Eine Suspension von wasserfreiem Natriumacetat (4 g) in Acetanhydrid (100 cm³) wurde auf 120 °C erwärmt und wasserlösliche Cellodextrine (**CM-6a**; 12 g) portionsweise hinzugegeben. Nachdem die Reaktion angesprungen war, erkennbar durch starkes Aufkochen der Lösung und Auflösen der Feststoffe, erhitzte man die Lösung für 1,5 h bei 140 °C. Die Lösung wurde auf RT abgekühlt und in Eiswasser (1000 cm³) gegeben. Filtration und Waschen mit Eiswasser, gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung (500 cm³) und nochmals Eiswasser ergab das Rohprodukt (20,3 g; 95 %). Zur Reinigung kristallisierte man viermal aus Isopropanol (je 100 cm³; Aktivkohle) um und filtrierte die Lösung jeweils heiß. Es wurde Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**; 10,5 g; 49 %) erhalten.

SEC (DMA/LiCl; PS): DP_w = 7; DP_n = 6; PDI = 1,19.

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 6,22 (0,2H; d; J = 3,6 Hz; H-1 α); 5,64 (0,8H; d; J = 8,4 Hz; H-1 β); 5,50-3,40 (38,8H; H-AGE); 2,10-1,85 (58,0H; CH₃-Acetat); DP_n = 6 (bestimmt mittels ¹H-NMR).

MALDI-TOF MS: Signale der [M+Na]⁺-Ionen für DP 3-10 detektiert; DP_w = 7, DP_n = 6, PDI = 1,16.

Synthese von Tri-O-acetyl- α -D-⁵cellulosylbromid

Zu Cellodextrin-peracetat (**CM-13.v1**; 10,0 g; M_n = 1800 g·mol⁻¹; 5,56 mmol), gelöst in Eisessig (50 cm³), wurde 33 wt.-% Bromwasserstoff in Essigsäure (15 cm³, 85,6 mmol) langsam zugetropft und für 0,5 h unter Schutzgasatmosphäre gerührt. Zur Reaktionslösung wurde Dichlormethan (400 cm³) gegeben und die organische Phase mit Eiswasser (120 cm³), kalter, gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung (2 x 100 cm³) und nochmals Eiswasser (2 x 100 cm³) gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Einengen der organischen Phase wurde der Rückstand durch Verreiben mit Petrolether in ein weißes Pulver überführt. Trocknung im Vakuum ergab Tri-O-acetyl- α -D-⁵cellulosylbromid (**CM-13.v2**; 8,8 g; 87 %).

SEC (DMA/LiCl; PS): DP_w = 7; DP_n = 6; PDI = 1,13.

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 6,51 (1,0H; d; J = 4,2 Hz; H-1 α); 5,55-3,45 (36,9H; H-AGE); 2,20-1,90 (52,0H; CH₃-Acetat); DP_n = 6 (bestimmt mittels ¹H-NMR).

MALDI-TOF MS: Signale der [M+Na]⁺-Ionen für DP 3-9 detektiert.

Synthese von Methyl-tri-O-acetyl- β -D-⁵cellulosid

Das getrocknete Cellulosylbromid (**CM-13.v2**; 8,0 g; $M_n = 1850 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 4,32 mmol) wurde in einem Gemisch von Methanol (wasserfrei; 20 cm³) und Dichlormethan (wasserfrei; 100 cm³) gelöst. Zu der Lösung wurde Molekularsieb 3 Å (3,0 g) und Silbercarbonat (2,65 g; 9,61 mmol) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 40 h unter Ausschluss von Licht und Feuchtigkeit bei RT gerührt. Nach Filtration der Feststoffe durch Silicagel wurde die Lösung mit Dichlormethan (400 cm³) verdünnt und durch Waschen mit kalter, gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung (120 cm³) und Eiswasser (2 x 100 cm³) aufgearbeitet. Entfernung des Lösungsmittels, Verreiben mit Petrolether und Trocknen im Vakuum lieferte Methyl-tri-O-acetyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13.ac**; 6,7 g; 86 %) als weißes Pulver.

SEC (DMA/LiCl; PS): $DP_w = 7$; $DP_n = 6$; PDI = 1,21.

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 5,20-4,97 (H-3); 4,93-4,72 (H-2); 4,58-4,26 (H-1 + H-6); 4,15-3,96 (H-6'); 3,81-3,66 (H-4); 3,66-3,50 (H-5); 3,44 (s; OMe); 2,16-1,88 (CH₃-Acetat).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 170,7-169,0 (CO-Acetat); 101,5 (C-1 β); 100,9 (C-1n); 100,6 (C-1i); 76,6-76,2 (C-4i + C-4 β); 73,1-72,6 und 72,2-71,9 (C-5; C-3; C-2); 68,0 (C-4n); 62,3-61,6 (C-6); 57,0 (OMe); 21,0-20,4 (CH₃-Acetat).

MALDI-TOF MS: Signale der $[M+Na]^+$ -Ionen für DP 3-10 detektiert; $DP_w = 7$, $DP_n = 6$, PDI = 1,15.

Synthese von Methyl- β -D-⁵cellulosid

Das acetylierte Methyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13.ac**; 6,5 g; $M_{AGE} = 288,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 22,5 mmol) wurde in einer Mischung aus Methanol (wasserfrei; 40 cm³) und Dichlormethan (wasserfrei; 110 cm³) gelöst und Natriummethanolat-Lösung (5,4 M; 2,4 cm³; 13,0 mmol) hinzugegeben. Die erhaltene Suspension wurde 2 h bei RT mechanisch gerührt und anschließend mit kaltem Methanol (200 cm³) verdünnt. Der ausgefallene Feststoff wurde durch Zentrifugation abgetrennt und in kaltem Methanol suspendiert, um die Suspension durch Zugabe von 1 M Salzsäure-Lösung zu neutralisieren. Abfiltrieren des Feststoffes und Waschen des Niederschlags mit Aceton ergab ein pulveriges Produkt. Das Filtrat wurde verworfen. Nach Trocknen im Vakuum erhielt man Methyl- β -D-⁵cellulosid (**CM-13**; 2,0 g; 55 %).

SEC (DMA/LiCl; Pun): $DP_w = 6$; $DP_n = 5$; PDI = 1,26.

$^1\text{H-NMR}$ (BMIMCl/DMSO- d_6): δ (ppm) = 5,38-4,60 (OH); 4,50 (3,6H; d; $J = 8,0$ Hz; H-1i); 4,38 (1,0H; d; $J = 8,0$ Hz; H-1n); 4,13 (d; $J = 7,6$ Hz; H-1 β); 3,76-3,54 (H-6i; H-6n; H-6i'); 3,50-3,38 (H-3 β + H-3i); 3,48-3,39 (H-6n'); 3,43-3,30 (H-4i + H-4 β); 3,36-3,27 (H-5i + H-3n); 3,32 (s; OMe); 3,26-3,20 (H-5 β); 3,20-3,13 (H-5n); 3,18-3,09 (H-4n); 3,07-2,96 (H-2i; H-2n; H-2 β); $\text{DP}_n = 6$ (bestimmt mittels $^1\text{H-NMR}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (BMIMCl/DMSO- d_6): δ (ppm) = 103,1 (C-1 β); 102,3 (C-1n); 101,9 (C-1i); 79,3 (C-4 β); 79,1 (C-4i); 78,9 (C-4i); 76,4 (C-5n); 76,2 (C-3n); 74,74 (C-5i); 74,67 (C-5i); 74,58 (C-5 β); 74,37 (C-3 β); 74,31 (C-3i); 73,3 (C-2 β); 73,11 (C-2i); 73,07 (C-2i); 73,02 (C-2i); 72,9 (C-2n); 69,8 (C-4n); 60,4 (C-6n); 59,83 (C-6 β); 59,68 (C-6i); 55,1 (OMe).

Fraktionierung über Sephadex G15[®]

CM-13 (100 mg) wurde in entionisiertem Wasser (4 cm³) suspendiert. Nach Zentrifugieren der Suspension wurde die Lösung auf eine Trennsäule (Säule 2 x 16 cm, Sephadex G15[®], Eluent: Wasser) aufgetragen. Ein Totvolumen von 50 cm³ wurde abgenommen und zehn Fraktionen zu je 10 cm³ aufgefangen. Nach Gefriertrocknung charakterisierte man die Fraktionen mittels SEC und MALDI-TOF-MS und vereinigte sie nach Auswertung der Elutionskurven. Sieben Wiederholungen dieser Trennung ergaben: **CM-13_1** (36 mg; 6 %), **CM-13_2** (170 mg; 27 %), **CM-13_3** (223 mg; 35 %), **CM-13_4** (199 mg; 32 %).

4.3.2.5 Methyl- β -D- 10 cellulosid

Synthese von niedermolekularer Tri-O-acetyl-cellulose

Cellulosetriacetat (umgefällt aus Chloroform in Isopropanol; 10 g) wurde in einem Gemisch aus Essigsäure (180 cm³) und Acetanhydrid (20 cm³) für 5 h bei 60 °C gelöst. Nach Abkühlen der Lösung auf 40 °C gab man unter starkem Rühren Perchlorsäure (70 wt.-%; 0,6 cm³; gelöst in 2,4 cm³ Essigsäure) hinzu. Die Lösung wurde für 16 h auf dieser Temperatur gehalten und anschließend in Eiswasser (1500 cm³) gegossen. Die abgebaute und peracetylierte Cellulose fiel aus und wurde durch Filtration abgetrennt. Das Rohprodukt wurde mehrmals mit kalter gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung, Eiswasser und Isopropanol gewaschen. Das Polymer trocknete man bei 60 °C für 12 h im Vakuum, mahl es pulverig und trocknete es nochmals bei 100 °C für 3 h. Es wurde niedermolekulare Tri-O-acetyl-cellulose (**CM-14.v1**; 9,5 g; 90 %) erhalten.

SEC (DMA/LiCl; PS): $\text{DP}_w = 69$; $\text{DP}_n = 33$; PDI = 2,07.

MALDI-TOF MS: Signale der $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ionen für DP 6-50 detektiert.

Synthese von Tri-O-acetyl- α -D-¹⁰cellulosylbromid

Eine Lösung von niedermolekularer Tri-O-acetyl-cellulose (**CM-14.v1**; 2,0 g; $M_{AGE} = 288,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 6,94 mmol) in Dichlormethan (wasserfrei; 20 cm³) wurde auf 0 °C abgekühlt und Acetanhydrid (3 cm³) hinzugegeben. Man tropfte 33 wt.-% Bromwasserstoff in Essigsäure (7,5 cm³, 42,8 mmol) innerhalb 20 Minuten zu. Nachdem die Reaktionsmischung 16 h bei RT unter Schutzgasatmosphäre gerührt wurde, verdünnte man die Lösung mit Dichlormethan (180 cm³). Die organische Phase wurde mit Eiswasser (100 cm³), kalter, gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung (2 x 70 cm³) und nochmals Eiswasser (2 x 60 cm³) gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Einengen der organischen Phase wurde der ölige Rückstand mit Petrolether verrieben, um ein weißes Pulver zu erhalten. Trocknung im Vakuum ergab Tri-O-acetyl- α -D-¹⁰cellulosylbromid (**CM-14.v2**; 1,77 g; 89 %).

SEC (DMA/LiCl; PS): $DP_w = 14$; $DP_n = 9$; PDI = 1,58.

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 6,51 (1,0H; d; $J = 4,0 \text{ Hz}$; H-1 α); 5,55-3,50 (59,3H; H-AGE); 2,10-1,90 (76,3H; CH₃-Acetat); $DP_n = 8$ (bestimmt mittels ¹H-NMR).

MALDI-TOF MS: Signale der $[M+Na]^+$ -Ionen für DP 4-25 detektiert.

Synthese von Methyl-tri-O-acetyl- β -D-¹⁰cellulosid

Das getrocknete Cellulosylbromid (**CM-14.v2**; 8,5 g; $M_n = 3000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 2,83 mmol) wurde in einem Gemisch von Methanol (wasserfrei; 15 cm³) und Dichlormethan (wasserfrei; 105 cm³) gelöst. Bei RT wurde Molekularsieb 3 Å (2,5 g) und Silbercarbonat (1,65 g; 5,98 mmol) hinzugegeben und 40 h unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Nach Abtrennung der Feststoffe durch Zentrifugation wurde die Lösung mit Dichlormethan (500 cm³) verdünnt. Die organische Phase extrahierte man mit kalter gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung (150 cm³) und Eiswasser (2 x 120 cm³). Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck lieferte das Rohprodukt. Durch Verreiben mit Petrolether wurde Methyl-tri-O-acetyl- β -D-¹⁰cellulosid (**CM-14.ac**; 7,8 g; 93 %) erhalten.

SEC (DMA/LiCl; PS): $DP_w = 17$; $DP_n = 11$; PDI = 1,56.

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 5,16-4,98 (H-3); 4,91-4,72 (H-2); 4,52-4,26 (H-1 + H-6); 4,12-3,97 (H-6'); 3,77-3,64 (H-4); 3,64-3,48 (H-5); 3,43 (s; OMe); 2,18-1,86 (CH₃-Acetat).

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 170,6 -169,0 (CO-Acetat); 101,5 (C-1 β); 100,9 (C-1n); 100,5 (C-1i); 76,6-76,1 (C-4i + C-4 β); 73,1-72,5 und 72,2-71,6 (C-5; C-3; C-2); 68,0 (C-4n); 62,3-61,7 (C-6); 57,0 (OMe); 21,0-20,4 (CH_3 -Acetat).

MALDI-TOF MS: Signale der $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ionen für DP 3-25 detektiert.

Synthese von Methyl- β -D- 10 cellulosid

Das acetylierte Methyl- β -D- 10 cellulosid (**CM-14.ac**; 6,9 g; $M_{\text{AGE}} = 288,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 23,9 mmol) wurde in einer Mischung aus Methanol (wasserfrei; 25 cm^3) und Dichlormethan (wasserfrei; 115 cm^3) gelöst und Natriummethanolat-Lösung (5,4 M; $2,6 \text{ cm}^3$; 14,0 mmol) hinzugegeben. Die sich bildende Suspension rührte man 2 h bei RT und verdünnte sie mit kaltem Methanol (250 cm^3). Der Feststoff wurde mittels Zentrifugation abgetrennt und nach erneutem Suspendieren in kaltem Methanol (250 cm^3) durch Zugabe von 1 M Salzsäure-Lösung neutralisiert. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Aceton gewaschen. Vakuumtrocknung des Rückstandes ergab Methyl- β -D- 10 cellulosid (**CM-14**; 3,23 g; 83 %).

SEC (DMA/LiCl; Pun): $\text{DP}_w = 16$; $\text{DP}_n = 10$; PDI = 1,63.

^1H -NMR (BMIMCl/DMSO- d_6): δ (ppm) = 5,44-4,60 (OH); 4,50 (10,0H; d; $J = 8,0 \text{ Hz}$; H-1i); 4,38 (1,0H; d; $J = 7,6 \text{ Hz}$; H-1n); 4,13 (d; $J = 7,6 \text{ Hz}$; H-1 β); 3,75-3,56 (H-6i; H-6n; H-6i'); 3,49-3,40 (H-3i); 3,45-3,41 (H-6n'); 3,42-3,31 (H-4i + H-4 β); 3,36-3,28 (H-5i + H-3n); 3,31 (s; OMe); 3,20-3,13 (H-5n); 3,17-3,10 (H-4n); 3,07-2,97 (H-2i; H-2n; H-2 β); $\text{DP}_n = 12$ (bestimmt mittels ^1H -NMR).

^{13}C -NMR (BMIMCl/DMSO- d_6): δ (ppm) = 103,0 (C-1 β); 102,3 (C-1n); 101,9 (C-1i); 79,3 (C-4 β); 79,0 (C-4i); 78,8 (C-4i); 76,4 (C-5n); 76,2 (C-3n); 74,75 (C-5i); 74,67 (C-5i); 74,57 (C-5 β); 74,35 (C-3 β); 74,30 (C-3i); 73,3 (C-2 β); 73,11 (C-2i); 73,07 (C-2i); 73,03 (C-2i); 72,8 (C-2n); 69,8 (C-4n); 60,4 (C-6n); 59,82 (C-6 β); 59,68 (C-6i); 55,1 (OMe).

4.3.3 Umsetzungen der Cellulose-Modellverbindungen mit Phenylboronsäure

4.3.3.1 Methyl- α -D-glucopyranosid

Synthese von Methyl-4,6-O-phenylboronat- α -D-glucopyranosid

Phenylboronsäure (1,0 g; 8,2 mmol) wurde in Toluol (75 cm^3) gelöst. Die Lösung entwässerte man unter zu Hilfenahme eines Wasserabscheiders. In einem Rundkolben mit Soxhlet-Apparatur gefüllt mit Molekularsieb 3 \AA und Rückflusskühler wurde Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**; 1,45 g; 7,5 mmol) und die vorbereitete Phenylboronsäure-

Lösung vorgelegt. Nach erneuter Zugabe von Toluol (100 cm³) erhitzte man 4 h im Rückfluss unter Schutzgasatmosphäre. Das Lösungsmittel wurde unter verminderten Druck entfernt. Nach Trocknen im Vakuum erhält man Methyl-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-1**; 2,05 g; 98 %).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 7,74 (2H; d; *o*-H_{PBA}); 7,44 (1H; t; *p*-H_{PBA}); 7,35 (2H; t; *m*-H_{PBA}); 5,24 (1H; d; 3-OH); 4,99 (1H; d; 2-OH); 4,67 (1H; d; H-1); 4,14 (1H; dd; H-6a); 3,92 (1H; t; H-6b); 3,75 (1H; m; H-5); 3,65 (1H; t; H-4); 3,57 (1H; m; H-3); 3,38 (1H; m; H-2); 3,32 (3H; s; OMe).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 133,7 (*o*-C); 130,7 (*p*-C); 127,4 (*m*-C); 100,5 (C-1); 75,1 (C-4); 72,0 (C-2); 71,4 (C-3); 64,1 (C-5); 63,9 (C-6); 54,8 (OMe).

Synthese von Methyl-2,3-O-(diphenylpyroboronat)-4,6-O-phenylboronat- α -D-glucopyranosid

CMB-1 (500 mg; 1,78 mmol) und Triphenylboroxin (200 mg; 1,89 mmol) wurden in Toluol (100 cm³) gelöst. Anschließend wurde wie bei der Synthese von **CMB-1** verfahren und erhält ein Gemisch (670 mg) von Methyl-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)-4,6-*O*-phenylboronat- α -D-glucopyranosid (**CMB-2**) und **CMB-1**. Die Reaktion wurde mit zusätzlichem Triphenylboroxin (100 mg; 0,94 mmol) und dem Gemisch, gelöst in Dioxan (wasserfrei; 40 cm³), wiederholt. Das sich bildende Wasser wurde mit Molekularsieb 3 Å in einer Soxhlet-Apparatur entfernt. Nach 5 h Rühren und Erhitzen im Rückfluss destillierte man das Lösungsmittel ab und trocknete den Rückstand im Vakuum, um **CMB-2** (760 mg; 90 %) zu erhalten.

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 7,93-7,80 (6H; 3 x d; *o*-H_{PBA}); 7,43-7,33 (9H; m; *m*-H_{PBA} + *p*-H_{PBA}); 4,95 (1H; d; H-1); 4,23 (1H; dd; H-6a); 4,19 (1H; H-4); 4,16 (1H; H-2); 4,03 (1H; t; H-6b); 3,99 (1H; H-3); 3,92 (1H; m; H-5); 3,42 (3H; s; OMe).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 133,9-133,4 (*o*-C); 130,8-128,5 (*p*-C); 127,5-127,0 (*m*-C); 99,7 (C-1); 76,1 (C-2); 74,6 (C-3); 73,6 (C-4); 63,9 (C-6); 63,6 (C-5); 55,1 (OMe).

Synthese von Methyl-4,6-O-benzyliden-2,3-O-(diphenylpyroboronat)- α -D-glucopyranosid

Triphenylboroxin (306 mg; 2,88 mmol) und Methyl-4,6-*O*-benzyliden- α -D-glucopyranosid (300 mg; 1,06 mmol) wurden in Toluol (30 cm³) gelöst und für 1,5 h bei 130 °C gerührt. Das entstandene Wasser destillierte man als azeotrope Mischung Toluol-Wasser (18 cm³) ab. Das restliche Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt.

Vakuumtrocknung des Rückstandes lieferte Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2,3-*O*-(diphenylpyroboronat)- α -D-glucopyranosid (**CMB-3**; 480 mg; 96 %).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7,93-7,78 (m; *o*-H_{PBA}); 7,54-7,30 (m; H_{Aromat}); 5,74 (1H; s; CH Ph); 4,92 (1H; d; H-1); 4,28 (1H; m; H-3); 4,25 (1H; m; H-6a); 4,16 (1H; dd; H-2); 3,82 (1H; m; H-6b); 3,77 (1H; m; H-5); 3,73 (1H; m; H-4); 3,43 (3H; s; OMe).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 133,9-126,1 (C_{PBA} + C_{Benzyliden}); 100,7 (CH-Ph); 99,7 (C-1); 80,5 (C-4); 76,3 (C-2); 72,2 (C-3); 68,1 (C-6); 61,8 (C-5); 55,1 (OMe).

4.3.3.2 Methyl- β -D-cellobiosid

Synthese von Methyl-4',6'-O-phenylboronat- β -D-cellobiosid

Phenylboronsäure (197 mg; 1,6 mmol) und **CM-10** (500 mg; 1,4 mmol) wurden in Dioxan (100 cm³) gelöst. In einem Rundkolben mit Soxhlet-Apparatur gefüllt mit Molekularsieb 3 Å und Rückflusskühler wurde die Lösung 5 h im Rückfluss unter Schutzgasatmosphäre erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknung im Vakuum wurde Methyl-4',6'-*O*-phenylboronat- β -D-cellobiosid (**CMB-4**; 590 mg; 95 %) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7,75 (2H; d; *o*-H_{PBA}); 7,45 (1H; t; *p*-H_{PBA}); 7,35 (2H; t; *m*-H_{PBA}); 5,50 (1H; d; OH-2'); 5,43 (1H; d; OH-3'); 5,15 (1H; d; OH-2); 4,59 (1H; t; OH-6); 4,56 (1H; d; H-1'); 4,38 (1H; d; OH-3); 4,16 (1H; dd; H-6'a); 4,11 (1H; d; H-1); 3,94 (1H; t; H-6'b); 3,76 (1H; dd; H-6a); 3,71 (3H; H-6b, H-4', H-5'); 3,46-3,38 (5H; H-4, H-3', OMe); 3,37-3,26 (2H; H-3+ H-5); 3,17 (1H; m; H-2'); 3,03 (1H; m; H-2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 133,8 (*o*-C); 130,8 (*p*-C); 127,4 (*m*-C); 103,6 (C-1); 103,0 (C-1'); 78,9 (C-4); 74,8 (C-5); 74,4 (C-3); 74,3 (C-3'); 74,2 (C-4'); 73,8 (C-2'); 73,2 (C-2); 67,6 (C-5'); 63,3 (C-6'); 60,0 (C-6); 56,0 (OMe).

Vollständige Veresterung von Methyl- β -D-cellobiosid mit TPB

CM-10 (150 mg; 0,42 mmol) und Triphenylboroxin (255 mg; 2,41 mmol) wurden in einer Mischung aus *N,N*-Dimethylformamid (15 cm³) und Toluol (35 cm³) gelöst. Anschließend wurde analog der Synthese von **CMB-4** verfahren (Soxhlet-Apparatur mit Molekularsieb 3 Å). Vollständiges Entfernen der Lösungsmittel durch Kälteedestillation und Vakuumtrocknung des Rückstandes lieferte eine Probe (330 mg; 95 %), bestehend aus **CMB-5a** und **CMB-5b**.

CMB-5a: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7,93-7,89 (*o*-H_{PBA}); 7,42-7,33 (*m*-H_{PBA} + *p*-H_{PBA}); 5,07 (H-1'); 4,87 (OH-6); 4,59 (H-1); 4,35 (H-3); 4,27-3,93 (H-4, H-6, H-2 + H-3', H-6', H-4', H-2'); 3,79 (H-5'); 3,61 (H-5); 3,60 (OMe).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 133,5-133,0 (*o*-C); 129,0 (*p*-C); 127,3-126,9 (*m*-C); 102,5 (C-1); 102,0 (C-1'); 78,6 (C-3); 78,0 (C-3'); 77,0 (C-2'); 76,7 (C-2); 76,0 (C-4); 74,6 (C-5); 73,9 (C-4'); 66,9 (C-5'); 63,4 (C-6'); 59,1 (C-6); 56,2 (OMe).

CMB-5b: ^1H -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7,93-7,89 (*o*-H_{PBA}); 7,42-7,33 (*m*-H_{PBA} + *p*-H_{PBA}); 5,12 (H-1'); 4,73-4,55 (H-6); 4,62 (H-1); 4,39 (H-3); 4,27-3,93 (H-4, H-2 + H-3', H-6', H-4', H-2'); 3,84 (H-5); 3,69 (H-5'); 3,54 (OMe).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 133,5-133,0 (*o*-C); 129,0 (*p*-C); 127,3-126,9 (*m*-C); 102,5 (C-1); 102,0 (C-1'); 78,6 (C-3); 78,0 (C-3'); 77,0 (C-2'); 76,7 (C-2); 76,0 (C-4); 73,9 (C-4'); 73,6 (C-5); 66,9 (C-5'); 63,4 (C-6'); 60,6 (C-6); 56,0 (OMe).

4.3.3.3 Cellodextrine

Cellodextrin (**CM-7a**; 100 mg; 0,62 mmol; DP_n = 8, DP_w = 12) wurde in DMSO (10 cm³) gelöst. Nach Erhitzen der Lösung auf 80 °C gibt man Triphenylboroxin (35 mg; 0,33 mmol; gelöst in 15 cm³ Toluol) hinzu. Unter verminderten Druck wurde Toluol als Schlepplmittel für das entstehende Wasser entfernt. Nach erneuter Zugabe von Toluol (2 x 10 cm³) wiederholte man die Destillation des Azeotrops Toluol-Wasser. Entfernen des DMSO mittels Kälte-destillation und Vakuumtrocknung ergab Cellodextrin-phenylboronat (**CMB-6**; 125 mg; 93 %).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 135,1-127,8 (C_{PBA}); 103,0-102,7 (C-1i); 80,2 (C-4i); 78,7; 75,0-73,0 (C-2i, C-3i, C-5i); 74,2 (C-3n_{PBA}); 73,7 (C-4n_{PBA}); 67,6 (C-5n_{PBA}); 63,3 (C-6n_{PBA}); 60,9-60,2 (C-6i).

4.3.3.4 Alkyl- β -D-cellulose

NMR-Untersuchungen im Gemisch von ionischer Flüssigkeit und DMSO

Es wurde **CM-12** bzw. **CM-14** (100 mg; 0,62 mmol) in BMIMCl (400 mg) gelöst, indem die heterogene Mischung für 1 h auf 80 °C erhitzt wurde. Die erhaltene Lösung verdünnte man mit DMSO- d_6 (0,3 cm³). Triphenylboroxin (5-50 mg; 0,05-0,47 mmol), gelöst in einer Mischung aus Toluol- d_8 (0,45 cm³) und DMSO- d_6 (0,2 cm³), wurde tropfenweise hinzugegeben. Das entstehende Toluol-Wasser-Azeotrop wurde durch Schlepplmittel-destillation bei vermindertem Druck abgetrennt. Anschließend tropfte man erneut Toluol- d_8 (0,2 cm³) zu und das Azeotrop destillierte man ab. Nach zwei Wiederholungen dieses Vorgangs wurden die Proben (**CMB-7_1** bis **CMB-7_4** und **CMB-8_1** bis **CMB-8_4**) NMR-spektroskopisch charakterisiert.

NMR-Untersuchungen in DMSO

Es wurde **CM-11** bzw. **CM-13_3** (40 mg; 0,25 mmol) in DMSO-*d*₆ (1,0 cm³) gelöst. Triphenylboroxin (10-25 mg; 0,09-0,24 mmol), gelöst in einer Mischung aus Toluol-*d*₈ (0,4 cm³) und DMSO-*d*₆ (0,4 cm³), wurde tropfenweise hinzugegeben. Das entstehende Toluol-Wasser-Azeotrop trennte man durch Schlepptitteldestillation bei vermindertem Druck ab. Anschließend wurde erneut Toluol-*d*₈ (0,2 cm³) zutropft und das Azeotrop abdestilliert. Nach zwei Wiederholungen dieses Vorgangs charakterisierte man die Proben **CMB-9** und **CMB-10** NMR-spektroskopisch.

CMB-9: ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 7,85-7,29 (H_{PBA}); 4,59 (H-1''); 4,39 (H-1'); 4,18 (H-6''a); 4,13 (H-1); 3,95 (H-6''b); 3,88-3,76 (H-6a + H-6'a); 3,73-3,63 (H-6b, H-6'b, H-4'', H-5''); 3,52-3,29 (H-3 + H-4 + H-5, H-3' + H-4' + H-5'); 3,42 (OMe); 3,23 (H-2''); 3,15 (H-2'); 3,08 (H-2).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 103,2 (C-1); 102,6 (C-1''); 102,3 (C-1'); 79,7 (C-4); 78,4 (C-4'); 74,6-74,4 (C-5 + C-5'); 74,5 (C-3); 74,1 (C-3''); 73,9 (C-3' + C-4''); 73,5 (C-2''); 72,8 (C-2'); 72,7 (C-2); 67,4 (C-5''); 63,0 (C-6''); 60,1 + 59,8 (C-6 + C-6'); 55,4 (OMe).

4.3.3.5 Massenspektrometrische Untersuchungen

MS (EI)-Untersuchungen

Das getrocknete Methyl- α -D-glucopyranosid (**CM-9**; 0,04 mmol) und Triphenylboroxin (0,02-0,055 mmol) wurden in entionisiertem Wasser (1,0 cm³) gelöst. Die Lösungen wurden in einen MS-Probentiegel überführt und im Hochvakuum (300 °C, Heizrate: 300 K·min⁻¹) verdampft.

MALDI-TOF MS Untersuchungen

Es wurden wässrige Lösungen (10 g·dm⁻³), welche **CM-10**, **CM-11** oder **CM-13_1** bis **CM-13_4** und Triphenylboroxin in verschiedenen molaren Verhältnissen enthielten, hergestellt. Diese zu vermessenden Probenlösungen wurden 1 h bei RT gerührt. Die Probenvorbereitung erfolgte nach der „Multi-Layer-Spotting“-Technik, indem die gelöste Matrix DHB (20 g·dm⁻³ in Chloroform) auf den Probenteller aufgetragen wurde. Als zweite Schicht wurde NaI, gelöst in Aceton, aufgetragen. Nach Antrocknen dieser Lösungen wurde 1 mm³ wässrige Probenlösung aufgetropft. Die Lösungen auf dem Probenteller ließ man anschließend 20 Minuten im Vakuum eindampfen. Zur Vermessung

der Proben kam das Ultraflex III TOF/TOF-Massenspektrometer im Reflektor-Modus zum Einsatz.

4.3.4 Lösen von Cellulose in wässriger NaOH-Lösung

Mikrokristalline Cellulose (2,5 wt.-% bzw. 4,0 wt.-%) wurde zu vorbereiteten, alkalischen Lösungen gegeben. Die Lösungen enthielten jeweils zwischen 0 wt.-% und 5 wt.-% Borsäure und in Bezug zur Borsäure-Konzentration 8 wt.-% bis 11 wt.-% Natriumhydroxid. Die Aufschlämmung rührte man kurz, um sie anschließend für 20 Minuten bei -18 °C zu lagern. Nach Durchmischen der Suspension bei RT wurde die Lösung wieder auf -18 °C heruntergekühlt. Dieser Vorgang wurde so lange wiederholt, bis sich eine Lösung einstellte.

Lösen von Cellulose-Modellverbindungen für NMR-Untersuchungen

Die zu untersuchende Verbindung (**CM-3_2** oder **CM-12**; 80 mg) wurde zu einer Lösung, bestehend aus entionisiertem Wasser (500 mg), deuteriertem Wasser (500 mg), Natriumhydroxid (95 mg) mit oder ohne Borsäure (24 mg), gegeben. Anschließend wurde durch abwechselndes Abkühlen bzw. Einfrieren der Lösung bei -18 °C und Durchmischen bei RT eine klare Lösung erhalten. Nach Filtration der Lösung durch einen Spritzenvorsatzfilter (0,45 µm; Nylon) wurde die Lösung NMR-spektroskopisch charakterisiert.

5 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Darstellung maßgeschneiderter Cellulose-Modellverbindungen und ihre Verwendung zur Untersuchung der Wechselwirkung mit Borsäure und ihrer Derivate. Die Erkenntnisse aus diesen Studien sollen dazu beitragen, die Borsäureinteraktion, die technisch für die Aktivierung von Cellulose genutzt wird, zu verstehen. Auf der einen Seite gelang es nicht-reduzierende Cellulose-Modellverbindungen (Alkyl- β -D-celluloside) mit DP_n -Werten von 5, 10 und 25 nach mehrstufiger Synthese herzustellen. Der simultane Abbau von Tri-*O*-acetyl-cellulose und die Blockierung der Carbonylgruppe hin zum 2,2,2-Trichloroethyl- β -D-²⁵cellulosid erfolgten unter Lewis-Säure-Katalyse. Die Methyl- β -D-celluloside mit DP_n -Werten von 5 und 10 waren nach Hydrolyse mit Mineralsäuren und abschließender *Koenigs-Knorr*-Glycosylierung zugänglich. Die vollständige Modifizierung der reduzierenden Endgruppe (REG) als β -Vollacetal-Struktur konnte mittels MALDI-TOF-MS und NMR eindeutig belegt werden.

Auf der anderen Seite war es nötig geeignete Methoden zu entwickeln, um niedermolekulare (*lmw*) Cellulosen im Multigramm-Maßstab zu erhalten. Je nach Hydrolysebedingungen sollten Proben mit DP_w -Werten zwischen 15 und 130 zugänglich sein. Die heterogene Hydrolyse von Cellulose-Regeneratfasern in Salzsäure lieferte abgebaute Cellulose mit einem DP_w -Wert von 51. Die Probe deckt somit den mittleren DP_w -Bereich für *lmw* Cellulosen sehr gut ab. Die Depolymerization von mikrokristalliner Cellulose in konzentrierter Phosphorsäure führte hingegen in Abhängigkeit der Hydrolyseparameter Zeit und Temperatur zu abgebauten Cellulosen, die sich über einen weiten DP_w -Bereich von 24 bis 111 erstrecken. Die Molmassenverteilung der Proben konnte verkleinert werden, indem das Hydrolyseprodukt einem speziellen Aufarbeitungsprozess, der aus mehreren Separations- und Extraktionsschritten bestand, unterworfen wurde. Dadurch waren Cellodextrine mit 5 bis 20 Anhydroglucoseeinheiten (AGE) erhältlich. Die schrittweise Fraktionierung der *lmw* Cellulosen, gelöst in *N,N*-Dimethylacetamid/Lithiumchlorid, durch Zugabe eines Fällmediums ermöglichte es, Modellverbindungen darzustellen, die neben einer engen Molmassenverteilung einen genau definierten DP_w -Wert besitzen. Die Strukturcharakterisierung der *lmw* Cellulosen erfolgte mittels FTIR, WAXS und NMR und zeigte, dass es während der verschiedenen Hydrolysemethoden zu keiner Funktionalisierung des Celluloserückgrats kommt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Wechselwirkung von Boronsäuren mit Cellulose-Modellverbindungen untersucht. Sowohl massenspektrometrische Studien der wässrigen Lösungen von Methyl- α -D-glucoopyranosids versetzt mit Phenylboronsäure(PBA) als auch die ein- und zweidimensionale NMR-spektroskopische Charakterisierung, der nach Veresterung mit PBA erhaltenen Phenylboronate des Glucoopyranosids, belegten, dass eine Derivatisierung aller Hydroxylgruppen dieser Modellverbindung möglich ist. Neben der Ausbildung des sechsgliedrigen 4,6-*O*-Phenylboronatrings kommt es zur Umsetzung der *trans*-1,2-Diolgruppe der Kohlenstoffatome in Position 2 und 3 in Form einer siebengliedrigen Diphenylpyroboronat-Struktur.

MALDI-TOF-MS-Studien zu Phenylboronaten des Methyl- β -D-cellobiosids zeigten, dass die Bildung mehrerer Diboronatringe an benachbarten Glucoseeinheiten realisierbar ist. Bei höheren Konzentrationen an PBA erfolgte eine Vernetzung des Disaccharids über die primäre Hydroxylgruppe in Position 6 der REG. Dies konnte mittels selektiver und mehrdimensionaler NMR-Experimente nachgewiesen werden. Die charakteristischen Verschiebungswertdifferenzen („coordination-induced shifts“ CIS), die in den ^{13}C -NMR-Spektren der Phenylboronate im Vergleich zu dem Spektrum der jeweiligen Modellverbindung auftreten, resultieren dabei aus der Derivatisierung der primären und sekundären OH-Gruppen. Die Auswertung dieser Tief- bzw. Hochfeldverschiebung von Kohlenstoffsignalen eignete sich sehr gut, um die Interaktion von Boronsäuren mit höhermolekularen Cellulose-Modellverbindungen definierten Strukturen zuzuordnen.

Das Vorkommen der siebengliedrigen Pyroboronat-Struktur an Alkyl- β -D-cellulosiden konnte anhand der durchgeführten NMR-Untersuchungen in DMSO- d_6 bzw. BMIMCl/DMSO- d_6 nicht mehr spektroskopisch nachgewiesen werden, da hier das zeitliche Auflösungsvermögen nicht ausreichte. Allerdings wurden derartige Diboronatringe an Cellulosiden mit DP-Werten bis 5 mittels MALDI-TOF-MS detektiert. Die NMR-Studien zeigten darüber hinaus, dass eine Vernetzung der Celluloseketten über die primären OH-Gruppen erst ab einem Molverhältnis AGE:PBA größer als 1:0,5 eintritt.

Auf der Basis dieser Untersuchungen wurde das Lösen von mikrokristalliner Cellulose in NaOH-haltigen Medien mit bis zu 5 wt.-% Borsäure realisiert. Die NMR-Untersuchungen solcher Lösungen ergaben, dass Interaktionen der Borsäure mit sekundären Hydroxylgruppen zwar wiederum nicht detektierbar sind, allerdings die unerwünschte Vernetzung von Celluloseketten über die OH-Gruppe in Position 6 für Gehalte bis 2 wt.-% ausgeschlossen werden kann.

Literaturverzeichnis

- Abou-State, M. A.; Helmy, S. A.; El-Din, N. M. S. *Angew. Makromol. Chem.* **1985**, *131*, 177-185.
- Akpinar, O.; Penner, M. H. *J. Food Agri. Environ.* **2008**, *6*, 55-61.
- Arndt, P.; Bockholt, K.; Gerdes, R.; Huschens, S.; Pyplo, J.; Redlich, H.; Samm, K. *Cellulose* **2003**, *10*, 75-83.
- Arslanov, S. S.; Petropavlovskii, G. A. *Russ. J. Appl. Chem. (englische Übersetzung)* **1996**, *69*, 1401-1404.
- Bains, M. S.; Arthur Jr., J. C. *Carbohydr. Res.* **1971**, *19*, 365-371.
- Battista, O. A. *Ind. Eng. Chem.* **1950**, *42*, 502-507.
- Battista, O. A.; Coppick, S.; Howsmon, J. A.; Morehead, F. F.; Sisson, W. A. *Ind. Eng. Chem.* **1956**, *48*, 333-335.
- Battista, O. A.; Hill, D.; Smith, P. A. *U.S.-Patent 2.978.446* (4. April **1961**).
- Battista, O. A.; Smith, P. A. *Ind. Eng. Chem.* **1962**, *54*, 20-29.
- Benner, K.; Kluefers, P.; Labisch, O. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 2801-2805.
- Berger, S.; Braun, S. 11.19 DOSY. In: *200 and More NMR Experiments* Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, pp. 515-517.
- Beyer, H. 3.4 Große Kohlenstoffringe. In: *Lehrbuch der Organischen Chemie 22. Auflage* Hirzel-Verlag, Stuttgart, **1991**, pp. 411-413.
- Beyer, H. 4.1.2 Reaktionen von Monosacchariden. In: *Lehrbuch der Organischen Chemie 22. Auflage* Hirzel-Verlag, Stuttgart, **1991a**, pp. 430-433.
- Bielecki, M.; Eggert, H.; Norrild, J. C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, *3*, 449-455.
- Bishop, M.; Shahid, N.; Yang, J.; Barron, A. R. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2004**, *17*, 2621-2634.

- Bonné, M. J.; Galbraith, E.; James, T. D.; Wasbrough, M. J.; Edler, K. J.; Jenkins, A. T. A.; Helton, M.; McKee, A.; Thielemans, W.; Psillakis, E.; Marken, F. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 588-594.
- Bourne, E. J.; McKinley, I. R.; Weigel, H. *Carbohydr. Res.* **1972**, *25*, 516-517.
- Bowie, R. A.; Musgrave, O. C. *J. Chem. Soc.* **1963**, 3945-3949.
- Brongniart, A.; Pelouze, T.-J.; Dumas, J. B. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1839**, *8*, 51-53.
- Buchanan, C. M.; Hyatt, J. A.; Lowman, D. W. *Macromolecules* **1987**, *20*, 2750-2754.
- Böeseken, J. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1949**, *4*, 189-210.
- Böeseken, J. *Berichte* **1913**, *46*, 2612-2628.
- Chapelle, S.; Verchere, J.-F. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 4469-4482.
- Chen, W.; Lu, C.; Pelton, R. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 701-702.
- Daus, S.; Elschner, T.; Heinze, T. *Cellulose* **2010**, *17*, 825-833.
- Deuel, H.; Neukom, H.; Weber, F. *Nature* **1948**, *161*, 96-97.
- Deuel, H.; Neukom, H. *Makromol. Chem.* **1949**, *3*, 13-30.
- Dickey, E. E.; Wolfrom, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 825-828.
- Dong, S.; Roman, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13810-13811.
- Dong, X. M.; Revol, J.-F.; Gray, D. G. *Cellulose* **1998**, *5*, 19-32.
- Eckelt, J.; Stryuk, S.; Wolf, B. A. *Cellulose* **2003**, *10*, 5-12.
- Einfeldt, L.; Guenther, W.; Klemm, D.; Heublein, B. *Cellulose* **2005**, *12*, 15-24.
- Enomoto-Rogers, Y.; Kamitakahara, H.; Yoshinaga, A.; Takano, T. *Cellulose* **2011**, *18*, 1005-1114.
- Fairweather, J. K.; McDonough, M. J.; Stick, R. V.; Tilbrook, D. M. G. *Aust. J. Chem.* **2004**, *57*, 197-205.
- Ferrier, R. J. *J. Chem. Soc.* **1961**, 2325-2330.
- Ferrier, R. J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1978**, *35*, 31-80.

- Fink, H.-P.; Hofmann, D.; Philipp, B. *Cellulose* **1995**, *2*, 51-70.
- Flugge, L. A.; Blank, J. T.; Petillo, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7228-7238.
- Fort, S.; Christiansen, L.; Schuelein, M.; Cottaz, S.; Driguez, H. *Israel J. Chem.* **2000**, *40*, 217-221.
- Foster, A. B. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1957**, *12*, 81-115.
- Friebolin, H. 10. The Nuclear Overhauser Effect. In: *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy* Wiley-VCH, Weinheim, **2005**, pp. 289-303.
- Gast, J. C.; Atalla, R. H.; McKelvey, R. D. *Carbohydr. Res.* **1980**, *84*, 137-146.
- Gagnaire, D.; Mancier, D.; Vincendon, M. *J. Polym. Sci.: Part A Polym. Chem. Ed.* **1980**, *18*, 13-25.
- Garegg, P. J.; Konradsson, P.; Kvarnström, I.; Norberg, T.; Svensson, S. C. T.; Wigilius, B. *Acta Chem. Scand. B* **1985**, *39*, 569-577.
- Glasser, W.G.; Becker, U. *Cellulose* **1999**, *6*, 283-289.
- Grisel, M.; Muller, G. *Macromol. Symp.* **1997**, *114*, 127-132.
- Håkansson, H.; Ahlgren, P. *Cellulose* **2005**, *12*, 177-183.
- Hamacher, K.; Schmid, G.; Sahm, H.; Wandrey, C. *J. Chromatogr.* **1985**, *319*, 311-318.
- Hearle, J. W. S. *J. Polym. Sci.* **1958**, *28*, 432-435.
- Hicks K. B.; Hotchkiss Jr., A. T.; Sasaki, K.; Irwin, P. L.; Doner, L. W.; Nagahashi, G.; Haines, R. M. *Carbohydr. Polym.* **1994**, *25*, 305-313.
- Hsu, T.-A.; Gong, C.-S.; Tsao, G.-T. *Biotechnol. Bioeng.* **1980**, *22*, 2305-2320.
- Huebner, A.; Ladisch, M. R.; Tsao, G. T. *Biotechnol. Bioeng.* **1978**, *20*, 1669-1677.
- Hunsen, M.; Long, D. A.; D'Ardenne, C. R.; Smith, A. L. *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 2670-2674.
- Isogai, A. *Cellulose* **1997**, *4*, 99-107.
- Isogai, A.; Atalla, R. H. *Cellulose* **1998**, *5*, 309-319.

- Isogai, A.; Usuda, M. *Mokuzai Gakkaishi* **1991**, *37*, 339-344.
- Iwatsuki, S.; Nakajima, S.; Inamo, M.; Takagi, H. D.; Ishihara, K. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 354-356.
- James, T. D.; Sandanayake, K. R. A. S.; Iguchi, R.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8982-8987.
- James, T. D.; Phillips, M. D.; Shinkai, S. *Boronic Acids in Saccharide Recognition* RSC, Cambridge, **2006**.
- Kasuya, N.; Kusaka, Y.; Habu, N.; Ohnishi, A. *Cellulose* **2002**, *9*, 263-269.
- Kennedy, G. R.; How, M. J. *Carbohydr. Res.* **1973**, *28*, 13-19.
- Kim, K. S.; Jeon, H. B. Further anomeric esters (Glycosylation with glycosyl acetates). In: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2008**, pp. 525-543.
- Klemm, D.; Philipp, B.; Heinze, T.; Heinze, U.; Wagenknecht, W. 2.3 Degradation of Cellulose. In: *Comprehensive cellulose chemistry Volume 1: Fundamentals and Analytical Methods* Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, pp. 83-129.
- Klemm, D.; Heublein, B.; Fink, H.-P.; Bohn, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3358-3393.
- Knill, C. J.; Kennedy, J. F. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *51*, 281-300.
- Kobayashi, S.; Kashiwa, K.; Kawasaki, T.; Shoda, S.-I. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3079-3084.
- Köster, R.; Amen, K.-L.; Dahlhoff, W. V. *Liebigs Ann. Chem.* **1975**, 752-788.
- Kuivila, H. G.; Keough, A. H.; Soboczeniski, E. J. *J. Org. Chem.* **1954**, *19*, 780-783.
- Kuzuhara, H.; Emoto, S. *Agric. Biol. Chem.* **1966**, *30*, 122-125.
- Lenz, J.; Schurz, J.; Wrentschur, E.; Geymayer, W. *Angew. Makromol. Chem.* **1986**, *138*, 1-19.
- Liebert, T. *Macromol. Symp.* **2008**, *262*, 28-38.
- Liebert, T.; Seifert, M.; Heinze, T. *Macromol. Symp.* **2008**, *262*, 140-149.

- Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769-774.
- Mackie, I. D.; Rohrling, J.; Gould, R. O.; Pauli, J.; Jager, C.; Walkinshaw, M.; Potthast, A.; Rosenau, T.; Kosma, P. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 161-166.
- Magnusson, G.; Noori, G.; Dahmen, J.; Frejd, T.; Lave, T. *Acta Chem. Scand. B* **1981**, *35*, 213-216.
- Majewicz, T. G.; Ropp, W. S. *U.S.-Patent 4.298.728* (3. Juni **1980**).
- Majewicz, T. G. *U.S.-Patent 4.306.061* (15. Dezember **1981**).
- Malet, C.; Viladot, J. L.; Ochoa, A.; Gallégo, B.; Brosa, C.; Planas, A. *Carbohydr. Res.* **1995**, *274*, 285-301.
- Mancuso, A. J.; Swern, D. *Synthesis* **1981**, *3*, 165-185.
- Manley, R. St. J. *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.* **1973**, *11*, 2303-2306.
- Manley, R. St. J. *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.* **1974**, *12*, 1347-1354
- Martin, R. A.; Pacsu, E. *Text. Res. J.* **1956**, *26*, 192-204.
- Meller, A. *Tappi* **1951**, *34*, 171-179.
- Mezger, T.; Cantow, H.-J. *Angew. Makromol. Chem.* **1983**, *116*, 13-27.
- Miller, G. L.; Dean, J.; Blum, R. *Arch. Biochem. Biophys.* **1960**, *91*, 21-26.
- Miyazaki, Y.; Yoshimura, K.; Miura, Y.; Sakashati, H.; Ishimura, K. *Polyhedron* **2003**, *22*, 909-916.
- Moulthrop, J. S.; Swatloski, R. P.; Moyna, G.; Rogers, R. D. *Chem. Commun.* **2005**, 1557-1559.
- Murty, K. V. S. N.; Xie, T.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **2006**, *89*, 675-730.
- Nakatsubo, F.; Maeda, K.; Murakami, K. *Bull. Kyoto Univ. Forests* **1987**, *59*, 301-309.
- Nicholls, M. P.; Paul, P. K. *C. Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1334-1441.
- Nishimura, T.; Nakatsubo, F. *Carbohydr. Res.* **1996**, *294*, 53-64.
- Norrild, J. C.; Eggert, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1479-1484.

- Paulsen, H.; Paal, M. *Carbohydr. Res.* **1984**, *135*, 53-69.
- Palleschi, A.; Coviello, T.; Bocchinfuso, G.; Alhaique, F. *Int. J. Pharm.* **2006**, *322*, 13–21.
- Partlow, E. V. *DE-Patent 1 243 506* (21. Februar **1964**).
- Pizer, R.; Tihal, C. *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3243-3247.
- Potthast, A.; Röhrling, J.; Rosenau, T.; Borgards, A.; Sixta, H.; Kosma, P. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 743-749.
- Räder, H. J.; Schrepp, W. *Acta Polym.* **1998**, *49*, 272-293.
- Rees, D. A.; Skerrett, R. J. *Carbohydr. Res.* **1968**, *7*, 334-348.
- Reeves, R. E.; Schwartz, W. M.; Giddens, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1383-1385.
- Reier, G. E. *Avicel[®] PH Microcrystalline Cellulose*, Produktbroschüre der Firma FMC BioPolymer, **2000**, 1-27.
- Rencurosi, A.; Roehrling, J.; Pauli, J.; Potthast, A.; Jaeger, C.; Perez, S.; Kosma, P.; Imberty, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4277-4281.
- Robinson, D. S.; Eagles, J. *Carbohydr. Res.* **1973**, *26*, 204-207.
- Rouvinen, J.; Bergfos, T.; Teeri, T.; Knowles, J. K. C.; Jones, J. A. *Science* **1990**, *249*, 380-385.
- Ruiz, M. D.; Querner, J.; Adorjan, I.; Kosma, P.; Rosenau, T. *Macromol. Symp.* **2006**, *232*, 68-72.
- Ruland, W. *Acta Cryst.* **1961**, *14*, 1180-1185.
- Saalwaechter, K.; Burchard, W.; Klufers, P.; Kettenbach, G.; Mayer, P.; Klemm, D.; Dugarmaa, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 4094-4107.
- Samain, E.; Lancelonpin, C.; Ferigo, F.; Moreau, V.; Chanzy, H.; Heyraud, A.; Driguez, H. *Carbohydr. Res.* **1995**, *271*, 217-226.
- Schmid, G.; Biselli, M.; Wandrey, C. *Anal. Biochem.* **1988**, *175*, 573-583.
- Schmidt, R. R.; Zhu, X. Glycosyl trichloroacetimidates. In: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2008**, pp. 451-524.

- Schöniger, W. *Microchim. Acta* **1956**, *44*, 869-876.
- Shoda, S.; Kawasaki, T.; Obata, K.; Kobayashi, S. *Carbohydr. Res.* **1993**, *249*, 127-137.
- Sixta, H. *Handbook of pulp* Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- Smoum, R.; Rubinstein, A.; Srebnik, M. *Magn. Reson. Chem.* **2003**, *41*, 1015-1020.
- Sugihara, J. M.; Bowman, C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2443-2446.
- Sugihara, J. M.; Petersen, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 1760-1763.
- Tanghe, L. J.; Genung, L. B.; Mench, W. J. Acetylation of cellulose. In: *Methods of Carbohydrate Chemistry Volume 3: Cellulose* Acad. Press, New York, **1963**, pp. 193-198.
- Temming, H.; Grunert, H.; Huckfeldt, H. *Temming Linters – Technical Information on Cotton Cellulose, English translation of the 2nd revised German edition*, Peter Temming AG, Glückstadt, **1973**.
- Timpa, J. D. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 270-275.
- Toshima, K. Glycosyl halides. In: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2008**, pp. 429-449.
- van den Berg, R.; Peters, J. A.; van Bekkum, H. *Carbohydr. Res.* **1994**, *253*, 1-12.
- Voloch, M.; Ladisch, M. R.; Cantarilla, M.; Tsao, G. T. *Biotechnol. Bioeng.* **1984**, *26*, 557-559.
- Vonk, C. G. *J. Appl. Cryst.* **1973**, *6*, 148-152.
- Wakabayashi, S.; Kishimoto, Y.; Matsuoka, A. *J. Endocrinol.* **1995**, *114*, 533-538.
- Ward Jr., K.; Tu, C.-C.; Lakstigala, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 6102-6106.
- Wei, S.; Kumar, V.; Banker, G. S. *Int. J. Pharm.* **1996**, *142*, 175-181.
- Wells, F. L.; Schattner, W. C.; Ekwel, L. E. *Tappi*, **1971**, *54*, 525-529.
- Wolfrom, M. L.; Thompson, A. Acetylation. In: *Methods of Carbohydrate Chemistry Volume 2: Reaction of Carbohydrates* Acad. Press, New York, **1963a**, pp. 211-215.
- Wolfrom, M. L.; Thompson, A. Acetolysis. In: *Methods of Carbohydrate Chemistry Volume 3: Cellulose* Acad. Press, New York, **1963b**, pp. 143-150.

Wolfrom, M. L.; Haq, S. *Tappi* **1964**, *47*, 183-185.

Wood, P J.; Sidiqi, I. R. *Carbohydr. Res.* **1974**, *36*, 247-256.

Xu, J.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta.* **1999**, *82*, 1728-1752.

Zemplén, G.; Kunz, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, *56*, 1705-1710.

Zhang, Y.-H. D.; Lynd, L. R. *Anal. Biochem.* **2003**, *233*, 225-232.

Zhang, Y.-H. D.; Lynd, L. R. *Biotechnol. Bioeng.* **2004**, *88*, 797-824.

Zhang, Y.-H. D.; Lynd, L. R. *U.S.-Patent 2004/217063A1* (4. November **2004a**).

Zhang, Y.-H. D.; Lynd, L. R. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1510-1515.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mir während der Promotion hilfreich zur Seite standen.

Prof. Dr. Thomas Heinze möchte ich für die Möglichkeit danken, meine Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe anfertigen zu dürfen. Seine stets gewährte freundliche Unterstützung und die vielen hilfreichen Ratschläge trugen maßgeblich zum Gelingen der Arbeit bei.

Dr. Tim Liebert danke ich für die interessante und anspruchsvolle Aufgabenstellung im Rahmen der von ihm geleiteten Nachwuchsgruppe und die Chance meine eigenen Forschungsinteressen zu verwirklichen. Danken möchte ich ihm für die anregenden Diskussionen, die stetige Motivation und das in mich gesetzte Vertrauen.

Weiterhin bedanke ich mich bei Martin Gericke, Sarah Köhler, Peggy Laudeley, Karin Muchina, sowie allen anderen Kollegen des Kompetenzzentrums Polysaccharidforschung für die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre während der letzten fünf Jahre.

Für die Finanzierung meiner Promotionsstelle danke ich dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz sowie der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe.

Den Mitarbeitern des Institutes für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie, insbesondere Frau Sentis (IR und NMR), Frau Friedrich (NMR), Anja Baumgärtel (MALDI-TOF-MS), und Dr. Grit Festag (SEC) bin ich für die unzähligen durchgeführten Messungen, Reparaturen und sonstigen Dienstleistungen zu großem Dank verpflichtet. Hervorheben möchte ich besonders Dr. Wolfgang Günther für sein gezeigtes Interesse an meiner Arbeit, zu deren Gelingen er mit einer Vielzahl an NMR-Experimenten entscheidend beigetragen hat. Dr. Thomas Schulze vom Thüringischen Institut für Textil- und Kunststoff-Forschung e.V. (Rudolstadt) danke ich für die Durchführung der WAXS-Messungen.

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei meiner Familie, meinem engsten Freundeskreis und meiner Freundin Nadja für das entgegengebrachte Vertrauen, die vielfältige Unterstützung und die Möglichkeit in meiner Freizeit den nötigen Ausgleich zum Promotionsalltag gefunden zu haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 3. Januar 1983
Geburtsort: Eisenach
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

Ausbildung

09/1989 – 06/2001 Grundschule Mihla und Nazza
Ernst-Abbe-Gymnasium Eisenach
math.-naturwissens. Spezialschulteil des Albert-Schweitzer-
Gymnasiums Erfurt
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife (Note 1,1)

07/2001 – 04/2002 Grundwehrdienst 3./Panzerbataillon 64 Wolfhagen

10/2002 – 10/2007 Studium der Chemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
(Vertiefungsfächer Makromolekulare Chemie und Bioorganische/
Bioanorganische Chemie)

01/2007 – 10/2007 Diplomarbeit: „Wechselwirkung von Borsäure und Borsäure-
derivaten mit Kohlenhydraten“ bei Prof. Dr. Th. Heinze am Institut
für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie
Abschluss: Diplom-Chemiker (Note 1,4)

11/2007 – 07/2011 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Friedrich-Schiller-Universität
Jena und Promotion in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Th. Heinze
am Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie

seit 09/2011 Assistent des Laborleiters und Mitarbeiter für Qualitätskontrolle der
Firma Herbacin cosmetic GmbH, Wutha-Farnroda

Mihla, 13.09.2011

(Marcel Meiland)

Publikationsliste

Publikationen

Marcel Meiland, Thomas Heinze, Wolfgang Guenther, Tim Liebert „Seven-membered ring boronates at *trans*-diol moieties of carbohydrates“ *Tetrahedron Letters* **2009**, 50(4), 469-473.

Marcel Meiland, Thomas Heinze, Wolfgang Guenther, Tim Liebert „Studies on the boronation of methyl- β -D-cellobioside – a cellulose model“ *Carbohydrate Research* **2010**, 345(2), 257-263.

Marcel Meiland, Tim Liebert, Thomas Heinze „Tailoring the Degree of Polymerization of Low Molecular Weight Cellulose“ *Macromolecular Materials and Engineering* **2011**, 296(9), 802-809.

Marcel Meiland, Tim Liebert, Anja Baumgärtel, Ulrich S. Schubert, Thomas Heinze „Alkyl β -D-cellulosides: non-reducing cellulose mimics“ *Cellulose* **2011**, DOI: 10.1007/s10570-011-9581-4.

Posterbeiträge

Sarah Köhler, Marit Seifert, Martin Gericke, Jana Wotschadlo, Marcel Meiland, Thomas Heinze, Tim Liebert „Innovative Concepts for Shaping and Modification of Cellulose using Ionic Liquids“ 10. Symposium - Nachwachsende Rohstoffe für die Chemische Industrie, Oldenburg, 27.-28.03.2007

Sarah Köhler, Marit Seifert, Martin Gericke, Jana Wotschadlo, Marcel Meiland, Thomas Heinze, Tim Liebert „Innovative Concepts for Shaping and Modification of Cellulose using Ionic Liquids“ 102. ZELLCHEMING Hauptversammlung, Cellulose-Symposium, Wiesbaden, 25.06.2007

Marcel Meiland, Thomas Heinze, Tim Liebert „Seven-Membered Ring Boronates at *trans*-Diol Moieties of Carbohydrates“ 10th Tetrahedron Symposium – Challenges in Organic and Bioorganic Chemistry, Paris, 23.-29.06.2009

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen angefertigt habe.

Mihla, 13.09.2011

(Marcel Meiland)