

# Entwicklung niedermolekularer Scavenger für V-Stoffe

Vom Fachbereich Chemie der  
Technischen Universität Kaiserslautern  
zur Verleihung des akademischen Grades  
"Doktor der Naturwissenschaften"  
genehmigte Dissertation

D386



Datum der wissenschaftlichen Aussprache: 28.04.2017

Vorgelegt von  
**Christian Schneider**  
geboren in Landstuhl

**Betreuer: Prof. Dr. S. Kubik**  
Kaiserslautern 2017



Die vorliegende Arbeit wurde unter der Betreuung von Prof. Dr. Stefan Kubik im Zeitraum von September 2013 bis August 2016 am Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern angefertigt.

Dekan:

Prof. Dr. Werner R. Thiel

Promotionskommission:

Vorsitzender der Promotionskommission:

Prof. Dr. Helmut Sitzmann

1. Gutachter:

Prof. Dr. Stefan Kubik

2. Gutachter:

Jr.-Prof. Dr. Frederic W. Patureau

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet sowie Literaturzitate kenntlich gemacht habe.

Außerdem versichere ich, dass diese Arbeit weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht

C. Schneider, A. Bierwisch, M. Koller, F. Worek, S. Kubik "Entgiftung von VX und anderen V-Stoffen in Wasser bei 37 °C und pH 7.4 durch substituierte Sulfonatocalix[4]arene", *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 12859-12863; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12668-12672.



Für meine Familie und Lena

## **Danksagung**

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Stefan Kubik für die Aufnahme in den Arbeitskreis und die Bereitstellung des interessanten und perspektivenreichen Themas. Des Weiteren möchte ich ihm für die Zeit und Geduld danken, die er in unzähligen hilfreichen Diskussionen aufbrachte.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei Herrn Prof. Dr. Franz Worek, Herrn Dr. Georg Reiter, Frau Dr. Marianne Koller, Frau Anne Bierwisch und Herrn Tilo Kliemt vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr für die konstruktive und angenehme Zusammenarbeit im Rahmen des Kooperationsprojekts.

Herrn Jr.-Prof. Dr. Frederic W. Patureau danke ich für die Arbeit als zweiter Berichterstatter und Herrn Prof. Dr. Helmut Sitzmann für die Übernahme des Vorsitzes der Promotionskommission.

Ich danke allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern im Arbeitskreis Kubik, Sebastian Anders, Beatrice Andrae, Julia Bartl, Daniel Bauer, Alexander Ganß, Laura Gilberg, Michaela Klische, Arnold Leidner, Viktoria Leonhardt, Ligia Mesquita, Disha Mungalpara, Stefanie Noé, Lena Reinke, Björn Schäfgen, Astrid Schaly, Stephanie Scheib, Theresa Schitter, Steffen Schlicher, Fabian Sommer, Serap Yapar und Michael Zengerle für die gute Arbeitsatmosphäre, die Hilfe bei alltäglichen Laborproblemen und nicht zuletzt für viele unterhaltsame Stunden außerhalb des Labors.

Ein besonderer Dank geht an Michael Zengerle für die geleistete Vorarbeit in diesem Projekt sowie an Beatrice Andrae, Daniel Bauer, Arnold Leidner und Björn Schäfgen für die gute Zusammenarbeit und die hilfreichen Diskussionen.

Meinen Forschungspraktikanten Sebastian Anders, Mike Müller, Tahnee Lang, Beatrice Andrae und Lena Reinke danke ich für ihren Fleiß, ihr Engagement und die präparativen Beiträge zu dieser Arbeit.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Uwe Bergsträßer und allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitskreise von Herrn Prof. Dr. Lukas J. Gooßen, Herrn Prof. Dr.-Ing. Jens Hartung und Herrn Jr.-Prof. Dr. Frederic W. Patureau für die freundliche Zusammenarbeit und die Unterstützung bei Problemen aller Art.

Bei Herrn Dr. Harald Kelm und Frau Christiane Müller möchte ich mich für die Aufnahme der NMR-Spektren sowie deren Hilfestellung bei speziellen NMR-Messungen bedanken.

Für die Durchführung von GC-MS-Analysen und Elementaranalysen sowie für die Unterstützung bei der Durchführung des Naturstoffpraktikums bedanke ich mich bei den aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Analytik-Abteilung der Organischen Chemie, Frau Ruth Bergsträßer, Frau Elke Biehl, Frau Birgit Dusch, Frau Jana Ellmer, Frau Janina Klingkowski und Herrn Patrick Unger.

Vielen Dank möchte ich auch Frau Susanne Zeigner aus dem Sekretariat und Frau Heike Schramm aus dem Dekanat für Hilfe und Beratung bei administrativen Aufgaben aussprechen.

Den Mitarbeitern der Fachbereichsabteilung Physikalische Chemie danke ich für die Mitbenutzung des MALDI/TOF-Massenspektrometers und des ATR-IR-Geräts sowie Frau Annika Steiner und Herrn Johannes Lang für die Aufnahme der ESI/TOF-Massenspektren.

Den Mitarbeitern der Chemikalienausgabe, Herrn Ludvik Napast, Herrn Jürgen Rahm und Herrn Frank Schröder danke ich für die Versorgung mit Chemikalien, die Wartung und Reparatur defekter Geräte sowie die tatkräftige Unterstützung am jährlichen ChemCup.

Den Mitarbeitern der Zentralen Glasbläserei danke ich für die Anfertigung und Reparatur vieler Glasgeräte sowie den Mitarbeitern der Zentralen Metallwerkstätten für die Anfertigung diverser Werkstücke.

Nicht vergessen möchte ich hier die Mitarbeiter der Sonderabfallsammelstelle, deren Beitrag zur Laborarbeit nicht zu unterschätzen ist, weswegen ich ihnen ebenfalls meinen Dank ausspreche.

Nicht zuletzt bedanke ich mich sehr herzlich bei meiner Familie, meinen Freunden und allen, die mich in den letzten Jahren begleitet haben. Durch ihre Motivation, Hilfsbereitschaft und Unterstützung haben sie grundlegend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.



## Liste der verwendeten Abkürzungen

ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AMP	Adenosinmonophosphat
aq.	wässrig
ATP	Adenosintriphosphat
BuChE	Butyrylcholinesterase
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CB	Cyclobutadien
CB(OH)	Hydroxycyclobutadien
CB(OH) <sub>2</sub>	1,2-Dihydroxycyclobutadien
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol
CDx	Cyclodextrin
Clx	Calixaren
CuAAC	Kupfer-katalysierte 1,3-dipolare Azid-Alkin-Cycloaddition
d	Tag(e)
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DMF	Dimethylformamid
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
ESI	Elektronenspray-Ionisation
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
G	Gibbs-Energie
$\Delta G_A$	Änderung der Gibbs-Energie bei der Komplexbildung
ges.	gesättigt
h	Stunde(n)
H	Enthalpie
$\Delta H_A$	Änderung der Enthalpie bei der Komplexbildung
hBuChE	humane Butyrylcholinesterase
hCaE	humane Carboxylesterase
HCl	Salzsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
hPON1	humane Paraoxonase1
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante
K	Gleichgewichtskonstante

$K_A$	Komplexstabilitätskonstante
$k_{cat}$	Wechselzahl, turnover-number
$K_M$	Michaelis-Menten-Konstante
MALDI	Matrix-assistierte Laser-Desorptions-Ionisation
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
NaAsc	Natriumascorbat
NaOH	Natriumhydroxid
NOP	Neurotoxisches Organophosphonat
org.	organisch
PyCloP	Chlorotripyrrolidinophosphonium Hexafluorophosphat
re-hBuChE	rekombinante BuChE
S	Entropie
$\Delta S_A$	Änderung der Entropie bei der Komplexbildung
SC[n]A	Polysulfoniertes Calix[n]aren
T	Temperatur
T3P	2,4,6-Tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphorinan-2,4,6-trioxid
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBTA	Tris((1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methan)amin
TBTU	O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluoroborat
TOF	Time of Flight
VX	O-Ethyl-S-2-diisopropylaminoethylmethylphosphonothioat
wässr.	wässrig
WW	Wechselwirkungen

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
1.1. Organophosphate und Organophosphonate .....	1
1.2. Toxizität von NOPs und Therapiemethoden.....	4
2. Stand der Forschung .....	8
2.1. Bioscavenger .....	8
2.1.1. Stöchiometrische Bioscavenger .....	8
2.1.2. Pseudokatalytische Bioscavenger .....	9
2.1.3. Katalytische Bioscavenger .....	10
2.2. Synthetische Scavenger .....	14
2.2.1. Cyclodextrin-Derivate.....	15
3. Aufgabenstellung.....	19
4. Eigene Ergebnisse und Diskussion.....	21
4.1. Synthese der Calixaren-Vorstufen .....	22
4.1.1. Darstellung der sulfonierten Calix[4]arene.....	22
4.1.2. Diskussion.....	27
4.2. Synthese von Scavengern mittels Palladium-katalysierter Verfahren .....	28
4.2.1. Synthese der Vorstufen für palladiumkatalysierte Kreuzkupplungen.....	28
4.2.2. Synthese von Scavengern durch palladium-katalysierte Kreuzkupplungen .....	32
4.2.3. Syntheseversuche mittels Kupfer-katalysierter 1,3-dipolarer Cycloaddition .....	35
4.2.4. Diskussion.....	39
4.3. Synthese von Scavengern mittels Amidkupplung.....	41
4.3.1. Synthese von Carbonsäuren mit 1 <i>H</i> -1,2,3-Triazol-Einheiten .....	41
4.3.2. Synthese von Carbonsäuren mit Benzol- oder Pyridin-Einheiten als Linker.....	44
4.3.3. Synthese von Scavengern durch Amidkupplung.....	47
4.3.4. Diskussion.....	59
4.4. Synthese von Scavengern mittels Additionsreaktionen.....	66
4.4.1. Synthese der Vorstufen .....	66
4.4.2. Synthese von Scavengern unter Ausbildung einer Harnstoffgruppe.....	68
4.4.3. Diskussion.....	69
4.5. Ergebnisse der Aktivitätsuntersuchungen und Diskussion.....	71
4.5.1. Zusammenfassung der Publikation .....	73
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	83



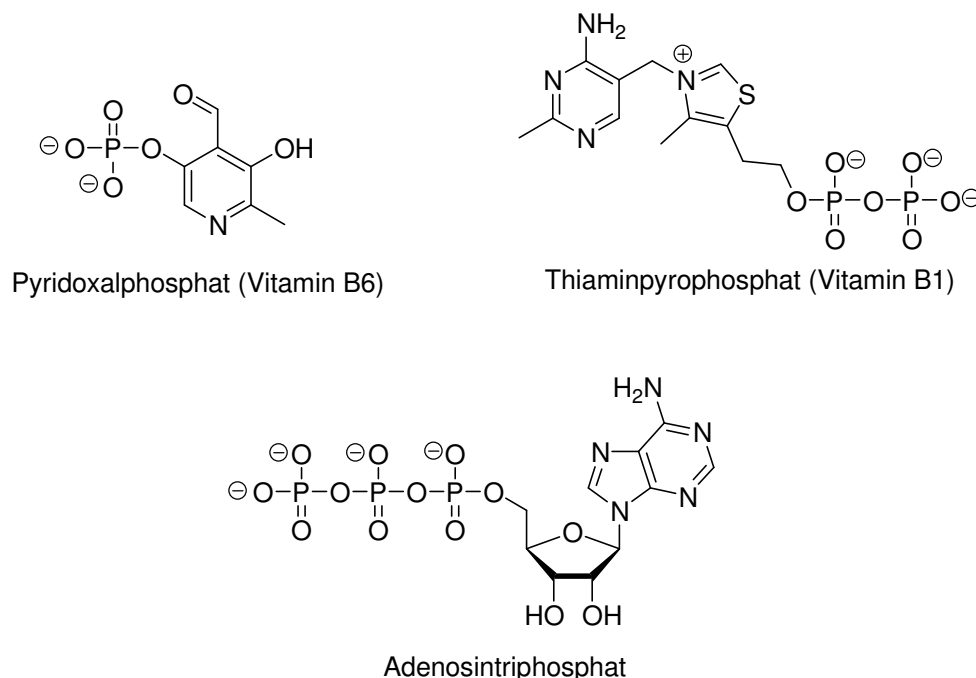
6. Experimenteller Teil .....	86
6.1. Apparatives und Vorbemerkungen.....	86
6.2. Synthesen .....	88
7. Literaturverzeichnis.....	119
8. Anhang.....	125

## 1. Einleitung

### 1.1. Organophosphate und Organophosphonate

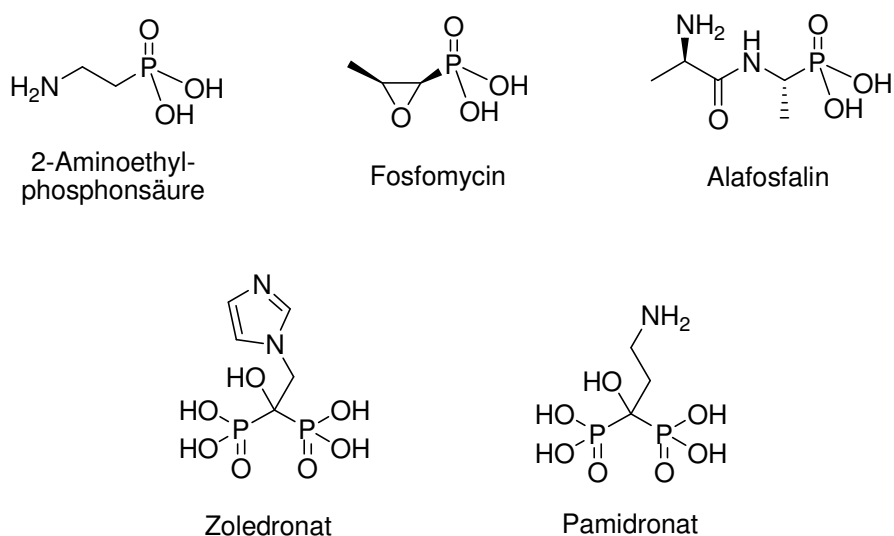
Unter Organophosphaten und Organophosphonaten versteht man eine Klasse von Verbindungen, bei denen es sich um Ester und andere Derivate der Phosphor- bzw. Phosphonsäure handelt.<sup>[1]</sup> Neben den bereits erwähnten Estern können auch Amide oder schwefelhaltige Analoga zur dieser Verbindungsklasse gezählt werden, was eine enorme strukturelle Vielfalt zur Folge hat.<sup>[2][3]</sup>

In der belebten Natur sind Organophosphate, also die Derivate der Phosphorsäure, ubiquitär verbreitet und spielen überlebenswichtige Rollen für den Organismus. Beispiele hierfür sind Adenosinphosphate. Adenosintriphosphat nimmt eine Schlüsselrolle für den Energiehaushalt der Zelle ein, während cyclisches Adenosinmonophosphat maßgeblich an der Signalübermittlung innerhalb der Zelle beteiligt ist. Des Weiteren findet man Phosphatgruppen in der DNA als verbrückende Einheit zwischen zwei Desoxyribosen und in Phospholipiden. Außerdem liegen viele Coenzyme in ihrer aktiven Form als Mono- oder Diphosphatester vor. Beispiele hierfür stellen die Vitamine B6 (Pyridoxal) und B1 (Thiamin) dar, die in ihrer aktiven Form Phosphat- bzw. Diphosphatestergruppen enthalten und die essentiell für den Aminosäure- und Glucosestoffwechsel sind (Abbildung 1).<sup>[4][5]</sup>



**Abbildung 1:** Pyridoxalphosphat, Thiaminpyrophosphat und Adenosintriphosphat als Beispiele für natürlich vorkommende Mono-, Di- und Triphosphorsäureester.

Im Gegensatz dazu sind Organophosphonate, also die Derivate der Phosphonsäure, in der belebten Natur seltener. Die erste natürlich vorkommende Verbindung aus dieser Stoffklasse wurde 1959 entdeckt. Dabei handelt es sich um 2-Aminoethylphosphonsäure, die aus Bakterien aus dem Pansen von Schafen isoliert wurde.<sup>[6][7]</sup> Später konnte nachgewiesen werden, dass die Verbindung in der Zellmembran zahlreicher Einzeller in Form eines Phosphonolipids vorkommt.<sup>[8]</sup> Außerdem konnten weitere natürlich vorkommende Organophosphonate gefunden werden, von denen beispielsweise Fosfomycin und Alafosfalin antibakterielle Eigenschaften aufweisen (Abbildung 2).<sup>[8]</sup>

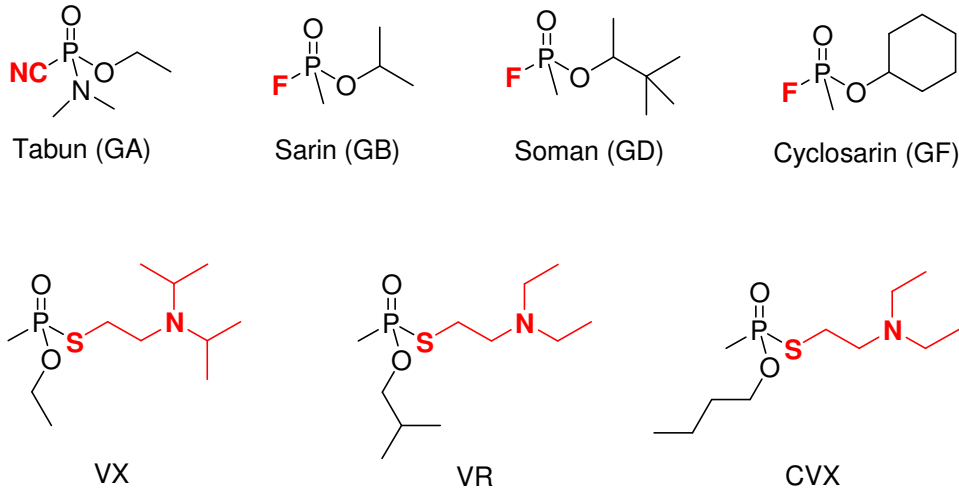


**Abbildung 2:** Natürlich vorkommende Organophosphonate und Wirkstoffe mit Phosphonsäuregruppen.

Sowohl Organophosphate als auch Organophosphonate finden auch technische Anwendungen, z. B. als Additive in Waschmitteln und der Textilindustrie.<sup>[7]</sup> Durch gezielte Synthese von modifizierten Phosphor- und Phosphonsäure-Derivaten können deren Eigenschaften justiert werden, sodass neue Einsatzfelder entstehen, beispielsweise auch in der Medizin. So werden synthetische Bisphosphonate wie Zoledronat und Pamidronat zur Behandlung von Osteoporose und anderen Knochenkrankheiten eingesetzt (Abbildung 2).<sup>[9][10]</sup>

Es fällt auf, dass in den gezeigten Organophosphonaten nur derjenige Rest variiert wird, der die P-C-Bindung trägt, während die Phosphonsäuregruppen unverändert bleiben. Es ist allerdings möglich, auch die Hydroxygruppen der Phosphonsäureeinheit durch andere Reste zu substituieren und dadurch neue Eigenschaften zu generieren. Ersetzt man beispielsweise eine der OH-Gruppen durch eine geeignete Abgangsgruppe, so gelangt man zur Grundstruktur neurotoxischer Organophosphonate (NOPs). Diese Stoffe sind synthetischen Ursprungs und in der Regel aus einem pentavalenten Phosphoratom aufgebaut, an dem ein Sauerstoffatom, eine Abgangsgruppe und zwei weitere Substituenten gebunden sind.<sup>[2][11]</sup>

Typischerweise werden Fluorid, Cyanid oder Thioverbindungen als Abgangsgruppe gewählt, während die zweite Hydroxygruppe durch einen Alkoxy- oder Stickstoffsubstituenten ersetzt wird (Abbildung 3).



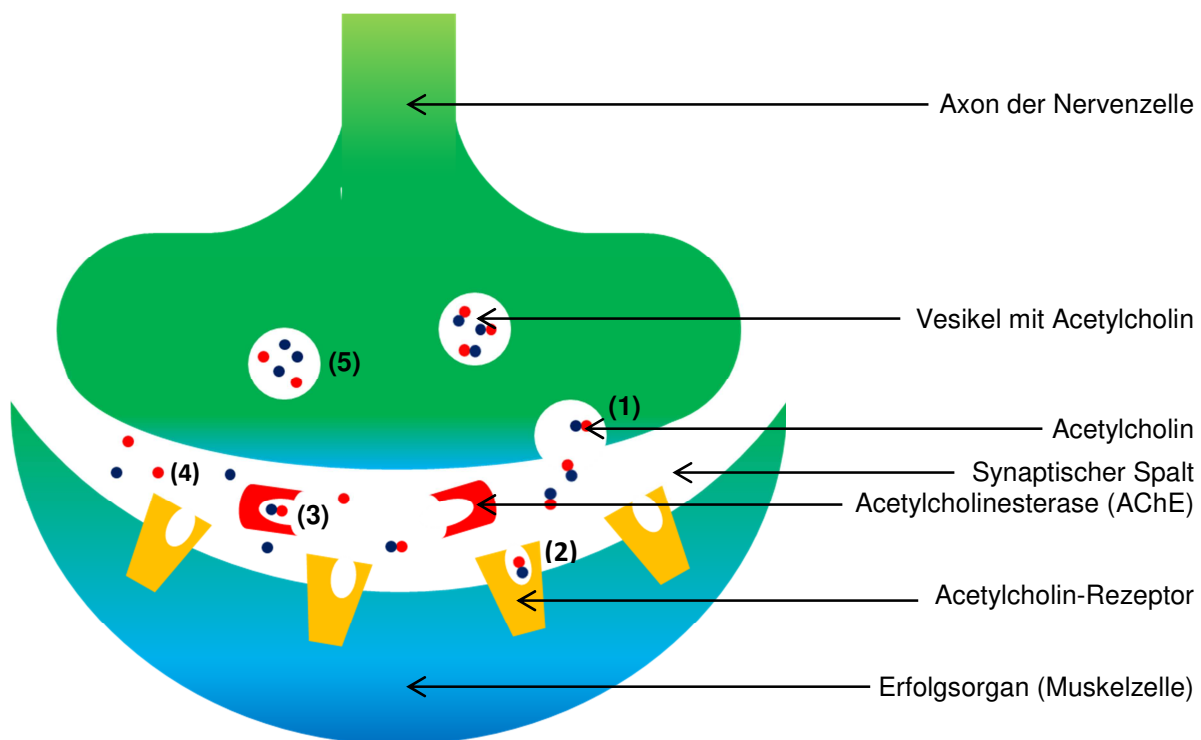
**Abbildung 3:** Strukturformeln verschiedener neurotoxischer Organophosphonate (die Abgangsgruppen sind rot dargestellt).

Anhand ihrer Struktur können die oben gezeigten NOPs in verschiedene Klassen eingeteilt werden. Handelt es sich bei den Abgangsgruppen um Cyanid oder Fluorid, so spricht man von G-Stoffen (German Agents).<sup>[2]</sup> Diese Verbindungen gingen aus Arbeiten zur Synthese neuer Pflanzenschutzmitteln hervor und wurden in den 30er und 40er Jahren des vergangenen Jahrhunderts in Deutschland entwickelt (Tabun 1936, Sarin 1938, Soman 1944).<sup>[3]</sup> NOPs, die eine Thioestergruppe enthalten, fasst man unter dem Begriff V-Stoffe (Venomous Agents) zusammen. Deren prominentester Vertreter stellt das VX dar.<sup>[3][11]</sup> Die V-Stoffe zeichnen sich gegenüber den G-Stoffen durch ihre deutlich höhere Toxizität und Persistenz aus.<sup>[2][12]</sup>

Aufgrund ihrer hohen Toxizität ( $LD_{50}(VX) = 8.4 \mu\text{g}/\text{kg}$ , Meerschweinchen, subkutan<sup>[13]</sup>) fanden diese Giftstoffe das Interesse des Militärs und große Mengen der Verbindungen wurden während des Kalten Krieges hergestellt und gelagert.<sup>[12][14]</sup> Bedauerlicherweise kam es in der Geschichte auch zu Einsätzen von NOPs. Beispiele hierfür sind der Angriff der irakischen Armee auf die Stadt Halabdscha 1988 mit 3500-5000 Toten sowie der Terroranschlag auf die Tokioter U-Bahn 1995 mit 13 Toten und mehreren hundert Verletzten.<sup>[14][15][16]</sup> Ein aktuelles Beispiel ist der Einsatz von Sarin in der Region Ghouta im syrischen Bürgerkrieg 2013, der Schätzungen zufolge zwischen 280 und 1700 Menschenleben kostete.<sup>[17]</sup>

## 1.2. Toxizität von NOPs und Therapiemethoden

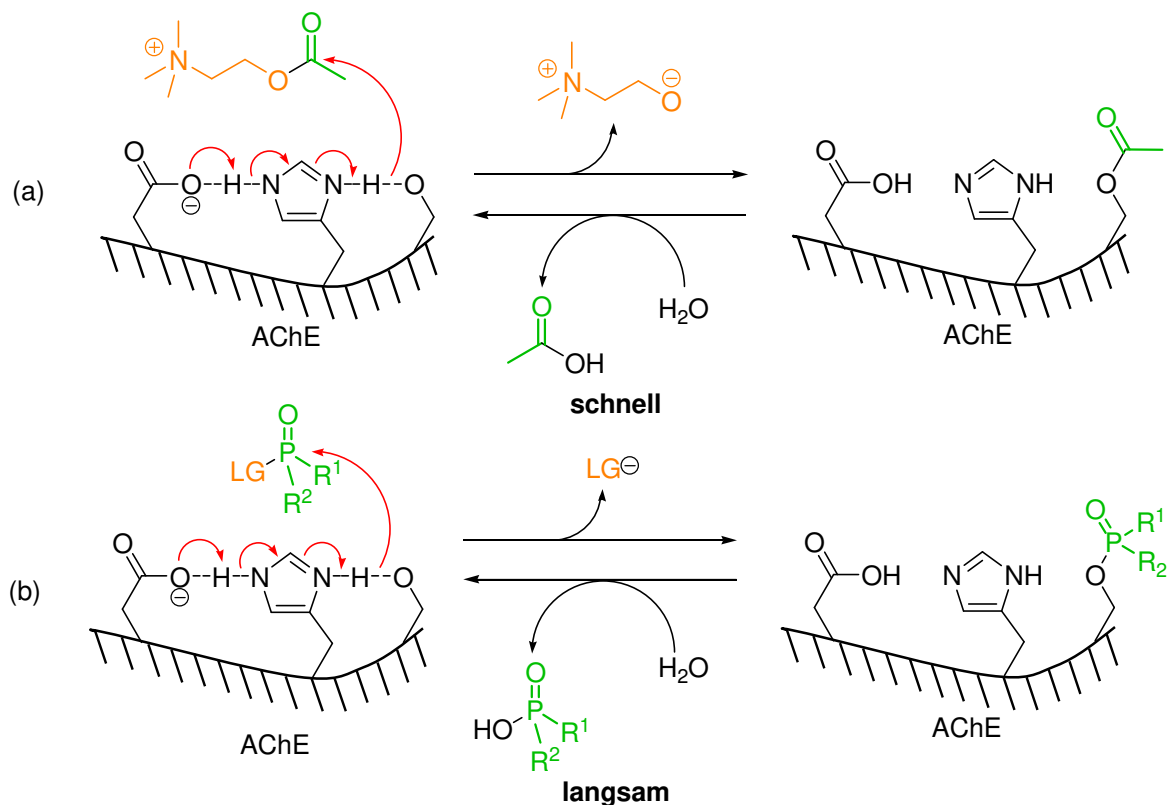
Die toxische Wirkung von NOPs beruht auf der irreversiblen Hemmung des Enzyms Acetylcholinesterase (AChE) und damit einhergehend einer inneren Vergiftung mit körpereigenem Acetylcholin (ACh).<sup>[18][19][20]</sup> Bei Acetylcholin handelt es sich um einen Neurotransmitter, der unter anderem für die Reizübertragung vom Nerv zum Muskel verantwortlich ist. In einem gesunden Organismus wird als Folge eines Nervenimpulses Acetylcholin in den synaptischen Spalt ausgeschüttet. Dort bindet es an die entsprechenden Rezeptoren auf der Oberfläche der Muskelzelle, wodurch ein unspezifischer Ionenkanal geöffnet wird und ein Generatorpotential entsteht. Dieses Generatorpotential führt zur Öffnung spannungsgesteuerter Calcium-Ionenkanäle, wodurch eine Muskelkontraktion bewirkt wird.<sup>[21]</sup> Um eine dauerhafte Muskelkontraktion zu vermeiden, muss der Botenstoff ACh abgebaut werden (Abbildung 4). Diese Aufgabe wird vom Enzym AChE übernommen, das im aktiven Zentrum über eine katalytische Triade verfügt, die ACh in die Bausteine Acetat und Cholin spaltet.<sup>[22]</sup>



**Abbildung 4:** Aufbau der motorischen Endplatte und Darstellung der Reizübertragung vom Nerv zum Muskel: Acetylcholin wird in den synaptischen Spalt ausgeschüttet (1) und bindet an seinen Rezeptor (2). Das freie Acetylcholin im synaptischen Spalt wird vom Enzym Acetylcholinesterase gebunden (3) und zu Cholin und Acetat abgebaut (4). Diese Bausteine können wieder in die Nervenzelle aufgenommen werden und erneut in Acetylcholin überführt werden.

Der Abbau von ACh erfolgt dabei über einen nukleophilen Angriff der Hydroxygruppe des Serinrests der katalytischen Triade, wobei dieser acetyliert wird.<sup>[18][20]</sup> Der so entstandene

Ester kann unter physiologischen Bedingungen von Wasser unter Freisetzung von Acetat gespalten werden, so dass die Funktionsfähigkeit des Enzyms wiederhergestellt wird (Abbildung 5, (a)).<sup>[2][14]</sup> Ist allerdings ein NOP anwesend, so wird der Serinrest der AChE an der OH-Gruppe phosphonyliert.<sup>[19]</sup> Diese Reaktion erfordert neben einer Struktur des NOPs, die in der Bindungstasche des Enzyms komplexiert werden kann, eine geeignete Abgangsgruppe am P-Atom. Aus diesem Grund zeigen die in Abbildung 2 gezeigten Organophosphonate keine neurotoxische Wirkung. Im Gegensatz zum Acetatester kann der gebildete Phosphonsäureester unter physiologischen Bedingungen nur langsam hydrolysiert werden, so dass die für die katalytische Wirksamkeit der AChE verantwortliche Hydroxygruppe am Serinrest nicht schnell genug wieder freigesetzt wird (Abbildung 5, (b)).<sup>[2]</sup> Dadurch verfügt das Enzym nicht mehr über eine ausreichende Aktivität, um das vorhandene Acetylcholin abzubauen. Dementsprechend verbleibt der Neurotransmitter im synaptischen Spalt und bindet weiterhin an seinen Rezeptor. Infolgedessen bleiben die Ionenkanäle der Muskelzelle geöffnet und es kommt zu einer dauerhaften Kontraktion, was zu einer starren Lähmung der Muskulatur führt.<sup>[19][22]</sup> Zu den frühen Symptomen einer solchen Vergiftung gehören Schweißausbrüche, koordinative Störungen, starker Speichelfluss und verengte Pupillen, allerdings können bei fehlender Behandlung auch schwere neurologische Störungen und letztlich auch der Tod durch Atemlähmung eintreten.<sup>[14]</sup>



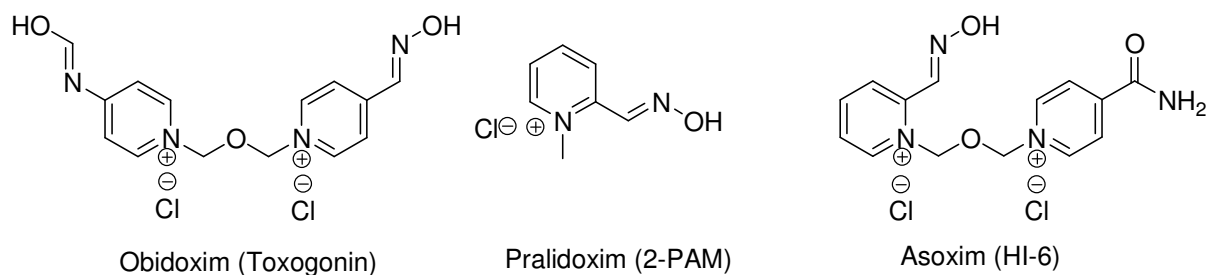
LG = Abgangsgruppe, R<sup>1</sup> = O-Alkyl, R<sup>2</sup> = Alkyl, Dimethylamin

**Abbildung 5:** Abbau von ACh durch AChE (a) und Inhibierung des Enzyms durch ein NOP (b).

Aktuell erfolgt die Behandlung von NOP-Vergiftung durch eine Kombination von drei Wirkstoffkomponenten. Unter anderem beinhaltet die Standardtherapie die Gabe von Atropin.<sup>[19][22]</sup> Dabei handelt es sich um einen kompetitiven Antagonisten, der an die Acetylcholin-Rezeptoren bindet ohne eine Öffnung der Ionenkanäle auszulösen. Infolgedessen kann der im Überschuss vorliegende Neurotransmitter keine Reizübertragung mehr bewirken, wodurch der akute Effekt der NOP-Vergiftung abgemildert wird. Aufgrund der Tatsache, dass Atropin nur mit den ACh-Rezeptoren wechselwirkt, nicht aber mit dem entsprechenden Organophosphonat oder der AChE, kann es universell für jeden Kampfstoff eingesetzt werden.<sup>[18][22]</sup> Der Nachteil bei der Gabe von Atropin besteht darin, dass es sich bei dem Stoff ebenfalls um eine neurotoxische Verbindung handelt. Durch die Blockade der ACh-Rezeptoren wird eine schlaffe Lähmung ausgelöst, so dass bei einer Überdosierung mit ernststen Schäden bis hin zum Tod gerechnet werden muss.

Als weitere Komponente zur Behandlung von NOP-Vergiftungen werden so genannte Reaktivatoren verabreicht.<sup>[23][24]</sup> Dabei handelt es sich um niedermolekulare Verbindungen, die über eine oder mehrere nukleophile Gruppen verfügen. Diese Stoffe sollen den Phosphonsäureester der inhibierten AChE spalten, indem sie nukleophil am Phosphoratom angreifen, so dass der Serinrest wieder freigesetzt wird. Somit wird die Aktivität des Enzyms wiederhergestellt und das überschüssige Acetylcholin im synaptischen Spalt kann abgebaut werden.

Typischerweise verwendet man als Reaktivatoren Verbindungen, die über ein hartes Sauerstoffnukleophil und einen alkylierten Pyridiniumring verfügen (Abbildung 6).<sup>[23]</sup> Als Nukleophile haben sich besonders  $\alpha$ -Effekt-Nukleophile bewährt.<sup>[25][26]</sup> Dabei handelt es sich um Verbindungen, in denen das eigentliche nukleophile Zentrum an ein Heteroatom mit einem freien Elektronenpaar gebunden ist.<sup>[27][28]</sup> Ein Beispiel für  $\alpha$ -Effekt-Nukleophile stellen Oxime dar. Die Pyridiniumeinheit in den Reaktivatoren soll durch die positive Ladung dafür sorgen, dass der Wirkstoff im aktiven Zentrum der Acetylcholinesterase gebunden wird und somit die Effizienz der Reaktion gesteigert wird.<sup>[23]</sup>



**Abbildung 6:** Strukturformeln einiger Reaktivatoren für inhibierte AChE.

In toxikologischen *in-vivo*-Studien hat sich gezeigt, dass die Effizienz der bekannten Reaktivatoren sowohl vom eingesetzten Kampfstoff als auch von der untersuchten Spezies abhängt.<sup>[24]</sup> Aus diesem Grund kann keiner der zur Verfügung stehenden Reaktivatoren als universeller Wirkstoff für NOP-Vergiftungen eingesetzt werden.

Der dritte Therapiebestandteil besteht in der Gabe eines Antikonvulsivums, typischerweise Diazepam. Dieser Wirkstoff soll die Effekte und die Folgen von Krämpfen lindern, die als Symptom einer Intoxikation mit Organophosphonaten auftreten.<sup>[24][29]</sup>

Wie man erkennt, zielen die bisherigen Therapiemethoden darauf ab, die Symptome der Vergiftung zu lindern bzw. den entstandenen Schaden im Körper zu beheben. Darüber hinaus handelt es sich bei Atropin – wie bereits erwähnt – selbst um eine neurotoxische Verbindung, so dass die Behandlung mit diesem Stoff als risikoreich zu beurteilen ist.<sup>[30]</sup>

Bisher steht somit keine universelle und sichere Therapie für Vergiftungen mit Organophosphonaten zur Verfügung. In den letzten Jahren wurde aus diesem Grund an neuen Behandlungsmethoden geforscht, so zum Beispiel an der Verwendung von Butyrylcholinesterase (BuChE).<sup>[31][32]</sup> Dabei handelt es sich um ein Enzym, das natürlich im menschlichen Körper vorkommt und analog zu AChE von NOPs inhibiert wird, allerdings ohne die oben beschriebenen Symptome einer Vergiftung auszulösen. Da das Organophosphonat bei der Reaktion mit dem Enzym kovalent gebunden wird, können durch die intravenöse Gabe von BuChE vergiftungsrelevante NOP-Konzentrationen im Körper deutlich reduziert werden. Idealerweise geschieht das, bevor die Giftstoffe überhaupt ihr Zielgewebe erreichen und dort Schaden anrichten können. Man bezeichnet solche Verbindungen auch als Scavenger.

Dieser Ansatz ist allerdings nicht auf BuChE beschränkt. Im Prinzip eignen sich alle Moleküle als Scavenger, die in der Lage sind, ein NOP-Molekül im Körper abzufangen.<sup>[33]</sup> So sind auch Enzyme bekannt, die Organophosphorverbindungen enzymatisch abbauen können (→ Kapitel 2.1.3.). Das hat zur Folge, dass diese Enzyme nicht verbraucht werden und daher geringere Mengen für die vollständige NOP-Entgiftung erforderlich sind. Allerdings besitzen Enzyme auch viele Nachteile (Bereitstellung, Lagerfähigkeit, Immunologie; → Kapitel 2.1.3), so dass es wünschenswert erscheint, synthetische Moleküle zu entwickeln, die ebenfalls in der Lage sind, NOPs im Körper zunächst zu binden und dann abzubauen. In der Supramolekularen Chemie kennt man zahlreiche Moleküle, die mit organischen Gästen in wässriger Lösung Einschlusskomplexe bilden, sogenannte Wirtmoleküle.<sup>[34][35]</sup> Diese können verwendet werden, um NOPs zu binden und stellen damit vielversprechende Ausgangsverbindungen für die Entwicklung synthetischer Scavenger dar. Modifiziert man diese Wirtmoleküle mit einer nukleophilen Gruppe, kann dadurch das NOP abgebaut werden. Mit diesem Ansatz stünde dann ein Molekül zur Verfügung, das – analog zu den genannten Enzymen – die Kampfstoffe im Körper zuerst abfangen und dann abbauen kann.



## 2. Stand der Forschung

Die Behandlung von NOP-Vergiftungen stellt Mediziner vor eine große Herausforderung. Dabei bietet die Verwendung von Scavengern, die die Kampfstoffe im Körper abbauen können, eine vielversprechende Alternative zu den bisherigen Therapiemethoden. Die Forschungsanstrengungen in diesem Zusammenhang fokussieren sich zurzeit auf die Entwicklung von Bioscavengern und synthetischen niedermolekularen Scavengern.

### 2.1. Bioscavenger

Bei Bioscavengern handelt es sich um Enzyme, die mit NOPs reagieren und diese so unschädlich machen. Je nach der Art der Reaktion kann zwischen drei Scavengertypen unterschieden werden, nämlich stöchiometrischen, pseudo-katalytischen und katalytischen Bioscavengern.<sup>[36][37][38]</sup>

#### 2.1.1. Stöchiometrische Bioscavenger

Zu der Klasse der stöchiometrischen Bioscavenger gehören Enzyme, die NOPs aus dem Gewebe entfernen, indem sie von ihnen inhibiert werden. Pro Äquivalent des Kampfstoffes wird also ein Äquivalent des Scavengers benötigt. Als stöchiometrische Scavenger eignen sich Enzyme aus der Gruppe der Cholinesterasen (z. B. Acetylcholinesterase und Butyrylcholinesterase), die intravenös verabreicht werden.

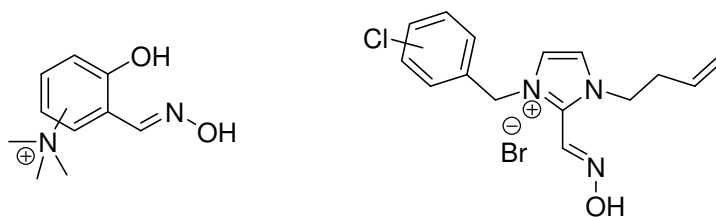
Bereits 1971 wurde entdeckt, dass humane Butyrylcholinesterase (hBuChE) in der Lage ist, die Symptome einer NOP-Vergiftung zu lindern.<sup>[31]</sup> Allerdings wird aufgrund der stöchiometrischen Wirkungsweise eine große Menge des Scavengers benötigt. Beispielsweise müsste im Falle einer Soman-Vergiftung mit einer zweifachen LD<sub>50</sub>-Menge in einem Menschen etwa 200 mg des Enzyms verabreicht werden, um den Patienten zu retten.<sup>[39]</sup> In *in-vivo*-Studien konnte gezeigt werden, dass bei prophylaktischer Gabe von BuChE in einer Dosis von 7.5 mg/kg ein Schwein, das 1 h Sarin-Dampf ausgesetzt wurde, vor dem Tod bewahrt wird.<sup>[40]</sup> Solche Mengen eines Enzyms in ausreichender Menge bereitzustellen, erweist sich in der Praxis als Problem. Da die Wirksamkeit des Bioscavengers allerdings unbestritten ist, richtete sich der Blick der Forschung zunächst auf die möglichst effektive und kostengünstige Herstellung dieser Verbindungen.<sup>[36]</sup> Hierfür wurden verschiedene Systeme zur Genexpression genutzt.<sup>[37][38]</sup> Gegenwärtig wird hBuChE entweder aus der Milch transgener Ziegen oder aus einem transgenen Mutanten von *Nicotiniana Benthiana*, einer Tabakpflanze, gewonnen.<sup>[41][42]</sup> Auf diese Weise gewinnt man rekombinante hBuChE (re-hBuChE), die zwar über eine vergleichbare Aktivität wie hBuChE verfügt, jedoch eine erhebliche verringerte Stabilität in Blutplasma zeigt.<sup>[38]</sup> Durch Maskierung

des Enzyms in Form von PEGylierung konnte die Stabilität des Scavengers erhöht werden. Darüber hinaus löst das Derivat keine Immunantwort des Organismus aus.<sup>[43]</sup> Eine besondere Herausforderung liegt in der Behandlung von Vergiftungen mit NOPs aus der Gruppe der V-Stoffe. Diese zeigen neben ihrer hohen Persistenz einen stark lipophilen Charakter, so dass sie vor allem über die Haut aufgenommen werden und sich zunächst im Fettgewebe anreichern.<sup>[44]</sup> Von dort diffundieren sie dann langsam in den Blutkreislauf, so dass über lange Zeit eine letale Dosis im Körper besteht.<sup>[38]</sup> In *in-vivo*-Studien wurden Meerschweinchen mit der 2.5-fachen LD<sub>50</sub>-Menge an VX perkutan inkubiert und bekamen zwei Stunden nach der Intoxikation 72 mg/kg PEGylierte re-hBuChE. Es zeigte sich, dass alle Versuchstiere überlebten.<sup>[32]</sup> Anhand dieser Ergebnisse lässt sich sagen, dass es sich bei PEGylierter re-hBuChE um den fortgeschrittensten Bioscavenger handelt, der derzeit zur Verfügung steht. Darüber hinaus befindet er sich als Wirkstoff gegenwärtig in der klinischen Phase der Zulassung als Medikament (Protexia).<sup>[32]</sup>

All diese Erfolge bleiben aber mit zwei Nachteilen behaftet: Da der Scavenger stöchiometrisch wirkt, muss die aufgenommene Menge an Nervenkampfstoffen relativ genau bekannt sein, um eine Unterdosierung des Enzyms zu verhindern. Es liegt in der Natur der Anwendung dieser Giftstoffe, dass dies in der Regel nicht der Fall ist. Darüber hinaus werden zu große Mengen der Verbindung für die Medikation benötigt (im oben genannten Beispiel mit VX ~5 g/Patient). Es ist daher wünschenswert und auch notwendig einen Bioscavenger zu entwickeln, der eine katalytische Entgiftung der NOPs im Körper bewirkt.

### 2.1.2. Pseudokatalytische Bioscavenger

Ein eleganter Ansatz zur Verbesserung der Aktivität stöchiometrischer Bioscavenger besteht darin, eine weitere Verbindung zu verabreichen, die den inhibierten Scavenger wieder reaktivieren kann. Zu diesem Zweck eignen sich Oxime, die auch in der klassischen Therapie von NOP-Vergiftungen eingesetzt werden. Im aktiven Zentrum von BuChE liegt analog zur AChE nach der Inhibierung mit einem NOP ein phosphonylierter Serinrest vor. Das verabreichte Oxim kann darum auch das aktive Zentrum des inhibierten Bioscavengers regenerieren, woraufhin dieser für eine weitere Abbaureaktion zur Verfügung steht.<sup>[45]</sup> Auf diese Weise ist es möglich, dass stöchiometrische Bioscavenger mehr als ein Äquivalent an NOP abbauen können, wodurch sich die benötigte Menge des Enzyms zur erfolgreichen Therapie signifikant reduziert. In der Praxis zeigen die gängigen Oxime, die als Reaktivatoren bei Vergiftungen mit chemischen Kampfstoffen eingesetzt werden allerdings keine ausreichende Aktivität zur Regenerierung des aktiven Zentrums der BuChE.<sup>[46]</sup> Darum wurden in jüngerer Vergangenheit zahlreiche neue Verbindungen entwickelt, die die Aktivität inhibierter BuChE regenerieren können (Abbildung 7).<sup>[47][48]</sup>



**Abbildung 7:** Allgemeine Struktur neuer Oxime, die zur Reaktivierung inhibierter BuChE entwickelt wurden.

*In-vivo*-Studien mit Mäusen, die entweder Sarin oder VX ausgesetzt wurden, zeigten, dass ein System aus hBuChE und einem der in Abbildung 7 gezeigten Oxime die Anzahl der Todesfälle verringert.<sup>[49][50]</sup> Allerdings besteht hier – analog zu Reaktivatoren für körpereigene AChE – das Problem, dass für unterschiedliche NOPs auch unterschiedliche Aktivitäten der verwendeten Oxime beobachtet wurden. Aus diesem Grund eignen sich auch pseudokatalytische Bioscavenger bislang noch nicht zur universellen Therapie von NOP-Vergiftungen.

### 2.1.3. Katalytische Bioscavenger

Eine weitere Strategie zur Verringerung der benötigten Scavenger-Dosis in der Behandlung von NOP-Vergiftungen besteht darin, katalytisch wirksame Enzyme zu verwenden. In den vergangenen 20 Jahren wurden viele Enzyme entdeckt, die NOPs katalytisch hydrolysieren und damit entgiften können.<sup>[51][52]</sup> Solche Enzyme kommen beispielsweise in Form von humaner Paraoxonase1 (hPON1) sogar endogen im menschlichen Körper vor. Allerdings ist ihre Konzentration zu niedrig bzw. ihre Aktivität gegenüber NOPs zu gering, als dass sie einen Schutz darstellen würden.<sup>[38]</sup> Aus diesem Grund wurde versucht, auf gentechnischem Weg unterschiedliche Enzyme so zu modifizieren, dass sie über eine ausreichend hohe Hydrolyseaktivität verfügen.

Ein naheliegender Ansatz besteht darin, AChE oder BuChE mit einer zweiten nukleophilen Gruppe im aktiven Zentrum zu versehen.<sup>[53][54]</sup> Diese zweite Gruppe soll den bei der Inhibierung gebildeten Phosphonsäureester umgehend wieder spalten und so die Enzymaktivität wieder herstellen. Zwar konnte auf diese Weise ein BuChE-Mutant erhalten werden, der sein aktives Zentrum eigenständig wieder regeneriert, allerdings reicht die Aktivität nicht aus, um einen Einsatz als Bioscavenger zu erlauben.<sup>[38][54]</sup> Analog dazu verliefen Versuche, ein zweites nukleophiles Zentrum in der Nähe der katalytischen Triade von humaner Carboxylesterase (hCaE) einzubauen. Zwar konnte das so modifizierte Enzym Cyclosarin katalytisch abbauen, allerdings mit einer Halbwertszeit von etwa einer Stunde, was für einen Einsatz als Bioscavenger nicht ausreicht.<sup>[55][56]</sup>

Die vielversprechendsten Ergebnisse wurden bisher erzielt, wenn Enzyme verwendet werden, die bereits eine gewisse Wirksamkeit zur Hydrolyse von NOPs besitzen. Diese Enzyme gehören zur Klasse der Phosphotriesterasen (PTE) und weisen ein bimetallisches aktives Zentrum auf.<sup>[38][51]</sup> Durch gerichtete Evolution und rationales Design können diese Enzyme so verändert werden, dass sie Eigenschaften erhalten, die eine Anwendung als katalytische Bioscavenger erlauben. Dazu gehört beispielsweise eine angemessene Verweildauer im Organismus sowie eine hohe Wirksamkeit gegenüber den NOPs. Als Kennzahl für die Wirksamkeit solcher Verbindungen wird meistens die katalytische Effizienz herangezogen, die sich aus dem Verhältnis von Wechselzahl oder turnover-number ( $k_{\text{cat}}$ ) zur Michaelis-Menten-Konstante ( $K_M$ ) ergibt. Zu den effizientesten Enzymen, die aus der Natur bekannt sind gehört unter anderem auch die Acetylcholinesterase mit einer katalytischen Effizienz von  $k_{\text{cat}}/K_M = 3 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ .<sup>[57]</sup>

Ein Beispiel für ein Enzym, das NOPs hydrolysiert, stellt eine aus *Brevundimonas diminuta* (früher: *Pseudomonas diminuta*) gewonnene PTE dar. Der Wildtyp dieses Enzyms baut Paraoxon – ein Organophosphat, das als Insektizid verwendet wird – mit einer katalytischen Effizienz von  $k_{\text{cat}}/K_M = 2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  ab.<sup>[58]</sup> Einer Anwendung als Bioscavenger stehen jedoch zwei Hindernisse im Weg: Zum einen verläuft die Entgiftungsreaktion mit V-Stoffen deutlich langsamer ( $k_{\text{cat}}/K_M$  für VX  $\approx 6 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ), zum anderen werden die weniger toxischen Enantiomere der NOPs bevorzugt abgebaut.<sup>[51][59]</sup> Das Enzym muss also gentechnisch so verändert werden, dass die Enantiomere Selektivität umgekehrt und die katalytische Effizienz gegenüber NOPs gesteigert wird.

Solche Arbeiten wurden in der Gruppe von *Rauscher*<sup>[59][60]</sup> durchgeführt. In ihren Arbeiten konnten sie zeigen, dass durch rationales Design PTE-Mutanten (L7ep3a I106G, **(E1)**) zugänglich sind, die die Hydrolyse von VX und VR wesentlich stärker beschleunigen als der Wildtyp des Enzyms.<sup>[60]</sup> Die beschriebenen  $k_{\text{cat}}/K_M$ -Werte für VX und VR sind  $1.2 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  beziehungsweise  $1.6 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (Tabelle 1). Daneben wurden weitere Mutanten generiert, die vor allem eine Anwendung gegen G-Stoffe erlauben sollten. Aus diesen Arbeiten ging ein Enzym (H257/L303T, **(E2)**) hervor, das in der Lage ist, Sarin, Soman und Cyclosarin mit  $k_{\text{cat}}/K_M$ -Werten von  $1.2 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $3.0 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  und  $5.0 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  abzubauen (Tabelle 1).<sup>[61]</sup>

In einer Kooperation der Gruppen von *Baker* und *Tawfik*<sup>[62]</sup> wurde unter dem Namen C23 (**(E3)**) ein weiterer PTE-Mutant hergestellt. Dieses Enzym entgiftet das toxischere (S)-VX mit  $k_{\text{cat}}/K_M = 5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ , was einer Steigerung der Aktivität um etwa das 500-fache im Vergleich zum Wildtyp entspricht (Tabelle 1). *In-vivo*-Untersuchungen mit Meerschweinchen, die mit VX vergiftet wurden, zeigten, dass die Gabe von **E3** 5 Minuten nach der Intoxikation alle Versuchstiere vor dem Tod bewahrt.<sup>[63]</sup> Obwohl dieser Mutant eine wesentlich geringere Aktivität gegenüber VR und CVX aufweist, können auch Vertreter der G-Stoffe effizient

entgiftet werden.<sup>[51][62]</sup> Dadurch handelt es sich bei **E3** um den bisher aussichtsreichsten Kandidaten zur Entwicklung eines universell einsetzbaren katalytischen Bioscavengers.

Das zweite Enzym aus der Familie der Phosphotriesterasen, das gentechnisch modifiziert wurde um zu katalytischen Bioscavengern zu gelangen, ist hPON1. Dabei handelt es sich um ein so genanntes promiskuitives Enzym, das – je nach Orientierung der zwei Calcium-Ionen im aktiven Zentrum – verschiedene Substrate zur Reaktion bringen kann.<sup>[38][64]</sup> Auch bei diesem Enzym bevorzugt die Wildtyp-Form die weniger toxischen (*R*)-Enantiomere der NOPs.

In der Gruppe von *Tawfik*<sup>[65]</sup> wurden auch Versuche durchgeführt, um katalytische Bioscavenger auf Basis von hPON1 zu entwickeln. Auch in diesem Zusammenhang gelang es, die Enantioselektivität des Wildtyps umzukehren und die enzymatische Effizienz zur Entgiftung von G-Stoffen zu erhöhen. So wurden für den hPON1-Mutanten IIG1 (**E4**)  $k_{cat}/K_M$ -Werte für die Hydrolyse von Sarin, Soman und Cyclosarin von  $3.2 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $5.1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  und  $3.4 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  erhalten (Tabelle 1).<sup>[65]</sup> Aufgrund dieser vielversprechenden Ergebnisse wurden *in-vivo*-Studien an Meerschweinchen durchgeführt, die mit Cyclosarin vergiftet wurden. Die prophylaktische Gabe einer Dosis von 1 mg/kg an **E4** verhinderte sowohl das Auftreten von Symptomen als auch den Tod bei sämtlichen Versuchstieren.<sup>[66]</sup>

Ein weiteres Beispiel für die Entwicklung eines gentechnischen Zugangs zu katalytischen Bioscavengern auf der Basis von hPON1 stammt aus der Gruppe von *Kirby*.<sup>[67]</sup> Durch rationale Doppel-Modifizierung des aktiven Zentrums konnten zwei Mutanten (H115W/F347W (**E5**) und H115W/Y71A (**E6**)) erhalten werden, die sowohl G- als auch V-Stoffe abbauen, allerdings nicht mit der katalytischen Effizienz, die die zuvor vorgestellten Bioscavenger aufweisen (Tabelle 1).<sup>[60][62]</sup>

**Tabelle 1:** Vergleich der enzymatischen Effizienz zum Abbau unterschiedlicher NOPs verschiedener Enzym-Mutanten, die auf ihre Verwendung als katalytische Bioscavenger getestet wurden.

	$k_{cat}/K_M / 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$				
	VX	VR	GB	GD	GF
<b>E1</b> (Rauschel) <sup>[60]</sup>	12	2.6	-	-	-
<b>E2</b> (Rauschel) <sup>[61]</sup>	-	-	1200	300	500
<b>E3</b> (Baker/Tawfik) <sup>[62]</sup>	50	7.8	1500	83	46
<b>E4</b> (Tawfik) <sup>[65]</sup>	-	-	32	510	340
<b>E5</b> (Kirby) <sup>[67]</sup>	1.2	-	100	-	-
<b>E6</b> (Kirby) <sup>[67]</sup>	1.4	-	10	22	-

Tabelle 1 zeigt, dass der PTE-Mutant C23 (**E3**) das breiteste Anwendungsspektrum zeigt und darüber hinaus auch den effizientesten Bioscavenger für V-Stoffe darstellt.<sup>[62]</sup> Auch für

katalytische Bioscavenger gelten allerdings die für alle Enzyme typischen Einschränkungen. Aus *in-vivo*-Untersuchungen konnte z. B. abgeschätzt werden, dass mit der vorhandenen katalytischen Effizienz von **E3** bei der VX-Vergiftung eines Menschen mit 70 kg Körpergewicht 350 mg des Enzyms verabreicht werden müssten.<sup>[51][63]</sup> Diese für eine Therapie noch zu hohe Dosis kann nur dadurch abgesenkt werden, dass die katalytische Effizienz des Scavengers gentechnisch weiter verbessert wird. So würde eine Erhöhung des  $k_{cat}/K_M$ -Wertes von  $5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  auf  $5 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  die notwendige Dosis von 350 mg auf 35 mg senken.<sup>[51]</sup> Die Grenze von  $k_{cat}/K_M = 5 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  kann allgemein als Richtwert für katalytische Bioscavenger aufgefasst werden. Dementsprechend wird klar, dass keines der in Tabelle 1 aufgeführten Enzyme diese Vorgabe für den Abbau von V-Stoffen erfüllt. Entsprechend besteht bei der Entwicklung katalytischer Bioscavenger nach wie vor Forschungsbedarf.

Neben der bislang zu geringen katalytischen Effizienz und damit einhergehend zu hohen Dosen für eine erfolversprechende Therapie, existieren einige weitere Probleme bezüglich der Bereitstellung der Verbindungen. Die Expression sowohl von bakterieller PTE als auch von hPON1, beispielsweise in *Escherichia Coli*, ist nach wie vor mit Schwierigkeiten verbunden.<sup>[68]</sup> Daher fehlen noch Möglichkeiten, die Enzyme in größerem Maßstab herzustellen. Außerdem sind bakterielle PTE und hPON1 schon ab geringen Konzentrationen instabil und benötigen Cofaktoren, was einen Einsatz als Medikament schwierig macht.<sup>[69][70]</sup> Neben Herstellung und Lagerung stellt auch die eventuelle Immunogenität der bakteriellen PTE ein Problem dar. Zuletzt schränkt die zügige Metabolisierung dieser Verbindungen *in vivo* ihren Einsatz ein. Aufgrund ihres vorgesehenen Anwendungsprofils zur Therapie von NOP-Vergiftung wäre es wünschenswert, wenn die Enzyme nach der Verabreichung mehrere Tage im Blutkreislauf zur Verfügung stehen würden.<sup>[51]</sup> In Tierversuchen stellte sich heraus, dass der hPON1-Mutant **E4** über einen Zeitraum von drei Stunden stabile Konzentrationen im Blutplasma erzeugt und damit eventuell diese Vorgabe erfüllen kann.<sup>[66]</sup> Im Gegensatz dazu zeigte sich schon in früheren Untersuchungen, dass die Wildtyp Form von bakterieller PTE in Mäusen mit einer Halbwertszeit von weniger als einer Stunde metabolisiert wird.<sup>[71]</sup> In anderen *in-vivo*-Tests zeigte sich, dass der aus bakterieller PTE hervorgegangene Bioscavenger **E3** – in Meerschweinchen mit einer Halbwertszeit von etwa zwei Stunden abgebaut wird.<sup>[63]</sup>

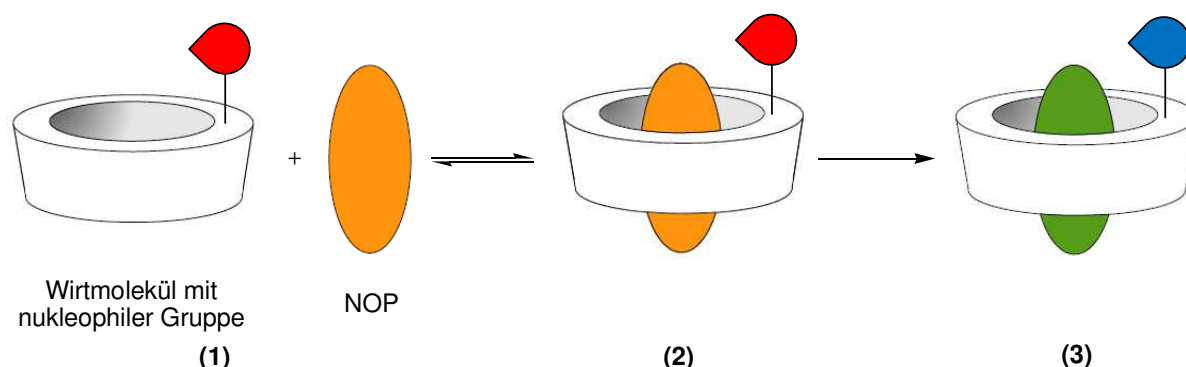
Die Ergebnisse und Fortschritte, die innerhalb der letzten Jahrzehnte gemacht wurden, zeigen, dass Bioscavenger das Potential besitzen, bisherige Verfahren zur Therapie von NOP-Vergiftungen zu verdrängen oder zu ergänzen. Dennoch müssen zuvor noch Probleme bezüglich der Bereitstellung, Immunogenität und Verweildauer der Verbindungen gelöst werden. Allerdings ist selbst im Falle einer Lösung dieser Probleme damit zu rechnen, dass

die Herstellung der Enzyme sowohl teuer als auch aufwendig und ihre Haltbarkeit begrenzt bleibt.<sup>[36]</sup>

Aus diesem Grund wurden Versuche unternommen, niedermolekulare Verbindungen zu synthetisieren, die die Funktionsweise der Bioscavenger imitieren können. Im Idealfall weisen diese Verbindungen keines der typischen Probleme auf, mit denen man sich bei der Arbeit mit Enzymen konfrontiert sieht und können unter Umständen deutlich günstiger technisch hergestellt werden.

## 2.2. Synthetische Scavenger

Ein naheliegender Gedanke zur Darstellung synthetischer Scavenger liegt darin, synthetische Wirtmoleküle zu verwenden.<sup>[72][73]</sup> Genau wie Enzyme sind diese Verbindungen in der Lage, mit kleineren Molekülen, hier also mit NOPs, Komplexe zu bilden.<sup>[74][75]</sup> Durch synthetische Methoden können funktionelle Gruppen installiert werden, die dann mit dem komplexierten NOP reagieren und dieses so entgiften (Abbildung 8).



**Abbildung 8:** Potentielle Wirkungsweise eines niedermolekularen Scavengers: **(1)** Das Wirtmolekül mit der nukleophilen Gruppe (rot) und das toxische NOP (orange) bilden in einer Gleichgewichtsreaktion einen Einschusskomplex **(2)**. In diesem Komplex läuft der nukleophile Angriff irreversibel ab und es entsteht die entgiftete (grün) Phosphorverbindung **(3)**. Dieses Abbauprodukt kann im Wirtmolekül komplexiert bleiben oder wieder freigesetzt werden. Je nach Art der Reaktionsweise kann auch die nukleophile Gruppe verändert werden, im Beispiel wurde die nukleophile Gruppe verbraucht (blau). Handelt es sich um einen katalytischen synthetischen Scavenger bleibt die nukleophile Gruppe nach der Reaktion unverändert.

Die Bindung des Gastes beeinflusst wesentlich die Kinetik dieser Abbaureaktion. Die Geschwindigkeit einer Reaktion zweier Komponenten (hier: nukleophile Gruppe und NOP) wird in der Regel durch ein Geschwindigkeitsgesetz zweiter Ordnung beschrieben. Bilden die beiden Komponenten aber zuvor einen Komplex, erfolgt zwischen ihnen quasi eine intramolekulare Reaktion und das Zeitgesetz entspricht dem einer Reaktion erster Ordnung. In solchen Fällen spricht man von einer Reaktion pseudo-erster Ordnung.<sup>[76]</sup> Die

Reaktionsgeschwindigkeit hängt dann nur noch von der Konzentration des Komplexes ab, die im Falle einer effektiven Bindung näherungsweise mit der Konzentration des Wirtmoleküls gleichgesetzt werden kann. Daraus resultiert eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit des NOP-Abbaus. In den vergangenen Jahren konnte gezeigt werden, dass auf Basis dieses Konzepts leistungsfähige synthetische Scavenger zugänglich sind.

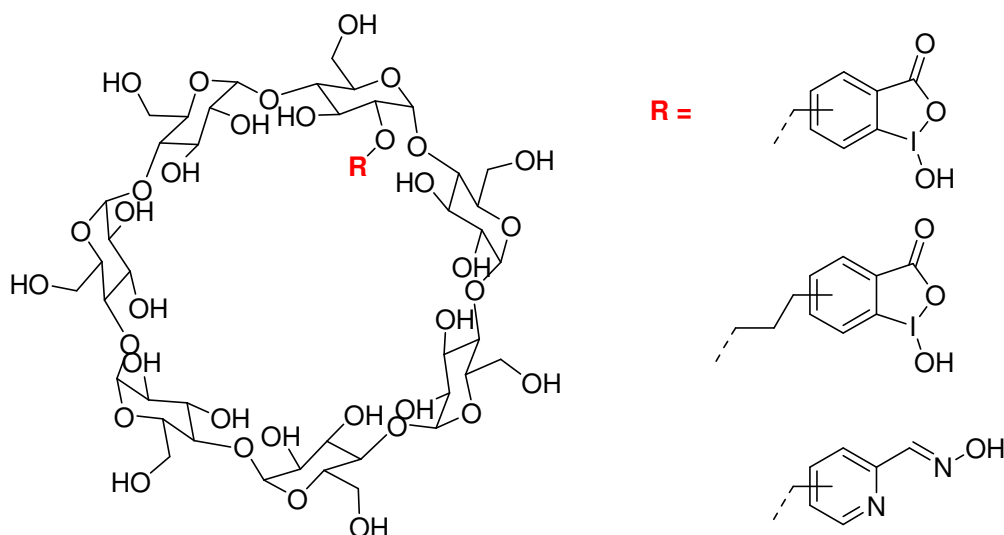
### 2.2.1. Cyclodextrin-Derivate

Bei Cyclodextrinen (CDx) handelt es sich um ringförmige Abbauprodukte von Stärke.<sup>[77]</sup> Die Makrocyclen sind aus einer unterschiedlichen Anzahl von 1,4- $\alpha$ -glykosidisch verknüpften Glucose-Einheiten aufgebaut.<sup>[78][79]</sup> Die bekanntesten Vertreter dieser Stoffgruppe sind  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -CDx, in deren Ringstruktur jeweils 6, 7 oder 8 Glucose-Bausteine enthalten sind. Die  $\alpha$ -Konfiguration der anomeren Zentren der Glucoseeinheiten verleiht den Molekülen eine ringförmige Struktur in Gestalt eines Kegelstumpfes mit einem inneren Hohlraum.<sup>[77]</sup> Die Hydroxygruppen der Glucosebausteine sind über oder unter dem Ring angeordnet und verleihen dem Molekül eine polare Oberfläche, woraus die Wasserlöslichkeit der Verbindungen resultiert. Die Oberfläche des inneren Hohlraums ist dagegen eher unpolar. Aufgrund dieser Eigenschaften bilden Cyclodextrine Einschlusskomplexe mit unpolaren Gästen in wässriger Lösung.<sup>[78][80]</sup> Daher bieten sich diese Wirte für die Komplexierung der lipophilen Nervenkampfstoffe unter physiologischen Bedingungen an.<sup>[80]</sup>

Bereits 1970 wurde erkannt, dass der Abbau von Sarin in wässriger alkalischer Lösung schneller verläuft, wenn  $\alpha$ -Cyclodextrin anwesend ist.<sup>[81]</sup> Ferner wurde festgestellt, dass die beiden Enantiomere von Sarin unterschiedlich schnell abgebaut werden. Das ist ein Hinweis darauf, dass die Bindung des NOPs in der chiralen Kavität des Cyclodextrins einen entscheidenden Einfluss auf die nachfolgende Abbaureaktion ausübt (Abbildung 8).<sup>[11]</sup>

In der jüngeren Vergangenheit wurde versucht, die intrinsische entgiftende Wirkung von Cyclodextrinen auf NOPs durch Einführung geeigneter funktioneller Gruppen am Rand der Cyclodextrinkavität zu verbessern.<sup>[82]</sup> Beispiele sind  $\beta$ -Cyclodextrinderivate, in denen die 2-OH-Gruppe verethert wurde, wobei der Etherrest eine nukleophile Gruppe trägt (Abbildung 9).<sup>[83][84][85]</sup> Als nukleophile Zentren wurden dabei Iodosobenzoate und Pyridinaldoxime verwendet, die in unterschiedlichen Positionen über den Linker mit dem Cyclodextrinring verbunden wurden.

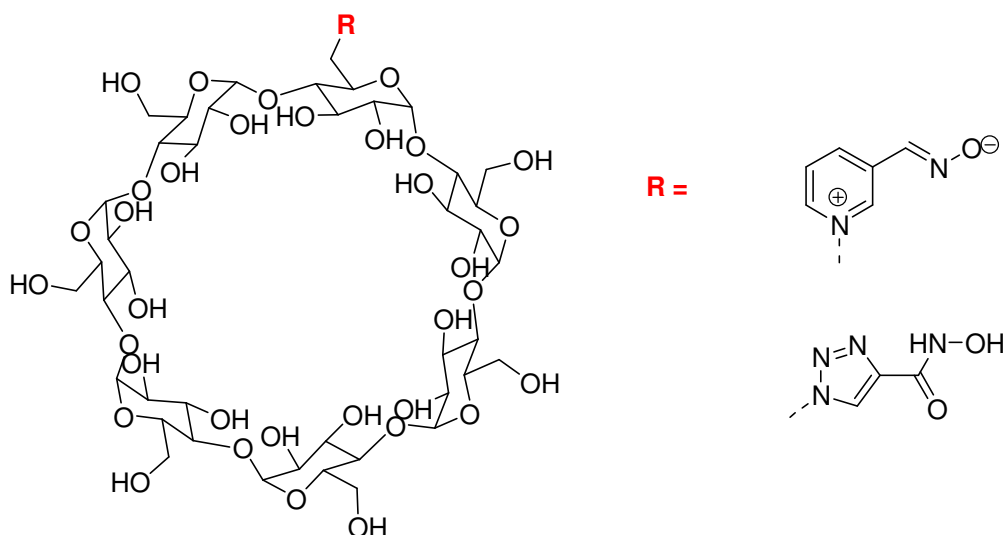




**Abbildung 9:** Struktur einiger synthetischer Scavenger basierend auf  $\beta$ -Cyclodextrin mit Substituenten in 2-Position einer Glucoseeinheit.

Einige dieser Verbindungen wurden auf ihre Entgiftungseigenschaften gegenüber Cyclosarin (GF), Tabun (GA) und VX getestet. Die eingesetzten Iodosobenzoate können Cyclosarin mit Halbwertszeiten von weniger als einer Minute abbauen.<sup>[85][86]</sup> Die entsprechenden Pyridinaldoxime zeigten zwar einen beschleunigenden Effekt auf die Hydrolyse von GF, mit einer Halbwertszeit von 15-20 Minuten sind diese Verbindungen jedoch nicht aktiv genug, um als Scavenger verwendet werden zu können.<sup>[83]</sup> Gegenüber GA konnte eine Halbwertszeit von etwa 8 min für ein Derivat mit einem Iodosobenzoatrest beobachtet werden.<sup>[86]</sup> Ein beschleunigender Effekt auf die Hydrolyse von VX konnte bei keinem der dargestellten Cyclodextrin-Derivate nachgewiesen werden.<sup>[83][84][86]</sup> Auffällig an diesen Ergebnissen ist, dass GF von allen Derivaten am schnellsten abgebaut wird, wobei je nach Struktur der nukleophilen Gruppe unterschiedliche Halbwertszeiten ermittelt wurden. Dieser strukturelle Einfluss auf die Entgiftungsgeschwindigkeit wurde bei GA nicht beobachtet.<sup>[83][85]</sup> Außerdem werden im Falle von GF die beiden Enantiomere mit unterschiedlicher Geschwindigkeit entgiftet, wohingegen bei GA keine Enantiomerelektivität beobachtet werden konnte.

Im Arbeitskreis *Kubik* wurde ebenfalls die Eignung von  $\beta$ -Cyclodextrin-Derivaten als NOP-Scavenger untersucht. Dabei enthielten die meisten synthetisierten Derivate die nukleophile Gruppe in 6-Position einer oder mehrerer Glucoseeinheiten.<sup>[87][88][89]</sup> In diesen Arbeiten wurden Pyridiniumaldoxime und Hydroxamsäuren als nukleophile Zentren verwendet (Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Struktur einiger synthetischer Scavenger basierend auf  $\beta$ -Cyclodextrin, die in 6-Position substituiert wurden.

Die Pyridiniumaldoxime eignen sich vor allem zum Abbau von GF, wobei der effektivste Scavenger die Oximgruppe in 3-Position des Pyridiniumrings trägt.<sup>[87]</sup> Das beschriebene  $\beta$ -Cyclodextrin-Derivat baut GF mit einer so hohen Geschwindigkeit ab, dass keine zuverlässige Halbwertszeit bestimmt werden konnte. Darüber hinaus wurde der Scavenger auch *in-vivo* getestet, wobei sich zeigte, dass die Verabreichung der Verbindung Meerschweinchen vor den Symptomen einer GF-Vergiftung schützt.<sup>[90]</sup>

Gegenüber Tabun zeigten dieselben Aldoxime eine deutlich geringere Aktivität mit Halbwertszeiten von 10-35 Minuten.<sup>[88]</sup> Monosubstituierte Cyclodextrine mit Hydroxamsäuregruppen erreichten Entgiftungsgeschwindigkeiten mit Halbwertszeiten von etwa 8 Minuten für GA, was den Werten von Scavengern mit Iodosobenzoat-Einheiten entspricht.<sup>[89]</sup> Durch Substitution aller sieben 6-OH-Gruppen mit der Hydroxamsäureeinheit konnte die Halbwertszeit der Hydrolysereaktion sogar auf 3 min verringert werden.

Mit keinem der getesteten Scavenger konnte eine signifikante Beschleunigung der Entgiftung von VX beobachtet werden.

Es fällt auf, dass alle CDx-Derivate in der Lage sind GF enantioselektiv abzubauen. Das ist ein Hinweis darauf, dass eine enantioselektive Komplexierung des NOPs in der chiralen Kavität des Wirtmoleküls stattfindet, wodurch ein Enantiomer bevorzugt abgebaut wird.<sup>[87]</sup> Die besonders hohe Beschleunigung der GF-Entgiftung steht im Einklang mit der Tatsache, dass  $\beta$ -Cyclodextrin bekanntermaßen Cyclohexanol bindet ( $K_A = 700 \text{ M}^{-1}$  bei  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  in Wasser<sup>[80][91]</sup>) und darum auch eine Affinität für die lipophile Seitenkette im GF-Molekül besitzen sollte (Abbildung 3). Daher erscheint es plausibel, dass der Komplex aus GF und Cyclodextrin eine Rolle bei der Entgiftung des NOPs spielt.

Diese Annahme stimmt mit einer Untersuchung überein, in der die Entgiftungsgeschwindigkeit des in Abbildung 10 gezeigten Oxims gegenüber verschiedenen Sarinderivaten untersucht wurde.<sup>[92]</sup> Hierbei ergab sich, mit der Affinität des Cyclodextrinrings für den Alkoholrest im verwendeten Sarinderivat korreliert. Dies ist ein weiteres Indiz dafür, dass die effiziente initiale Bindung eines NOPs an den Scavenger einen begünstigenden Einfluss auf die Entgiftung ausübt.

Für GA ist aufgrund seiner Struktur keine ausgeprägte Neigung zur Ausbildung von Einschlussverbindungen mit Cyclodextrinen zu erwarten.<sup>[80]</sup> Aus diesem Grund kann nicht davon ausgegangen werden, dass der Tabun-Scavenger-Komplex eine wesentliche Rolle in der Abbaureaktion spielt. Analoge Argumente erklären, warum  $\beta$ -Cyclodextrin-Derivate nicht in der Lage sind, VX abzubauen. Unter physiologischen Bedingungen liegt das tertiäre Amin in der Seitenkette von VX protoniert vor. Dadurch wird in der eigentlich lipophilen Seitenkette ein Ammoniumion erzeugt. Cyclodextrine bilden jedoch mit polaren geladenen Gästen keine stabilen Komplexe, weshalb sie für die Entwicklung von Scavengern für V-Stoffe wenig geeignet erscheinen.<sup>[80]</sup>

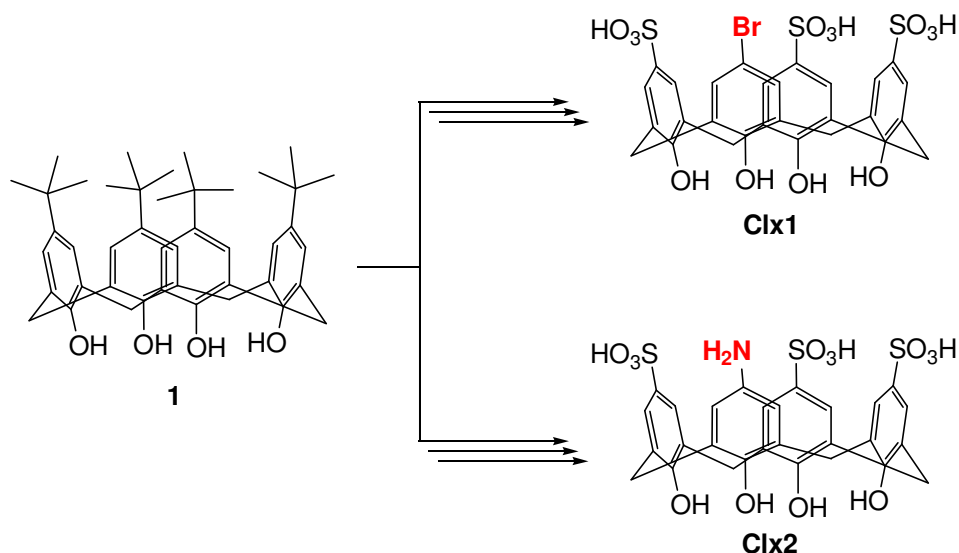
Um dem Abhilfe zu schaffen, sollte nach einer neuen Wirtstruktur gesucht werden, die eine höhere Affinität für VX in Wasser aufweist. Ein vielversprechender Ansatz zur Entwicklung neuer Scavenger liegt dementsprechend darin, einen neuen Makrocyclus zu verwenden, von dem bekannt ist, dass er Kationen binden kann.

### 3. Aufgabenstellung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, neue Verbindungen zu synthetisieren, die in der Lage sind, VX unter physiologischen Bedingungen effizient abzubauen und somit die vorhandene Lücke im Anwendungsspektrum synthetischer Scavenger zu schließen.

Konkret sollen Calix[4]arene als Gerüstmolekül verwendet werden, weil bekannt ist, dass diese mit Kationen in Wasser stabile Komplexe bilden können.<sup>[93]</sup> Um zu wasserlöslichen Wirtmolekülen zu gelangen, die unter physiologischen Bedingungen untersucht und eingesetzt werden können, bietet sich die Verwendung polysulfonierter Calix[4]arene (SC[4]A) an. Für ein monosubstituiertes Sulfonatocalix[4]aren wurde beispielsweise kürzlich gezeigt, dass es Trimethyllysin in Wasser mit einer Bindungskonstante von  $64.000 \text{ M}^{-1}$  komplexiert.<sup>[94]</sup> Da in Trimethyllysin eine Ammoniumgruppe vorliegt, besteht eine strukturelle Ähnlichkeit zu protoniertem VX. Aus diesem Grund ist es denkbar, dass sulfonierte Calix[4]arene auch VX unter physiologischen Bedingungen binden.

Daher sollen die Calix[4]arenderivate **C1x1** und **C1x2** zuerst in einer literaturbekannten Reaktionssequenz ausgehend von 5,11,17,23-Tetra-*tert*-butylcalix[4]aren (**1**) dargestellt werden (Schema 1). Anschließend sollen diese Ausgangsverbindungen in einem geeigneten Verfahren mit einer aktiven Einheit versehen werden, die den Abbau von NOPs ermöglicht.

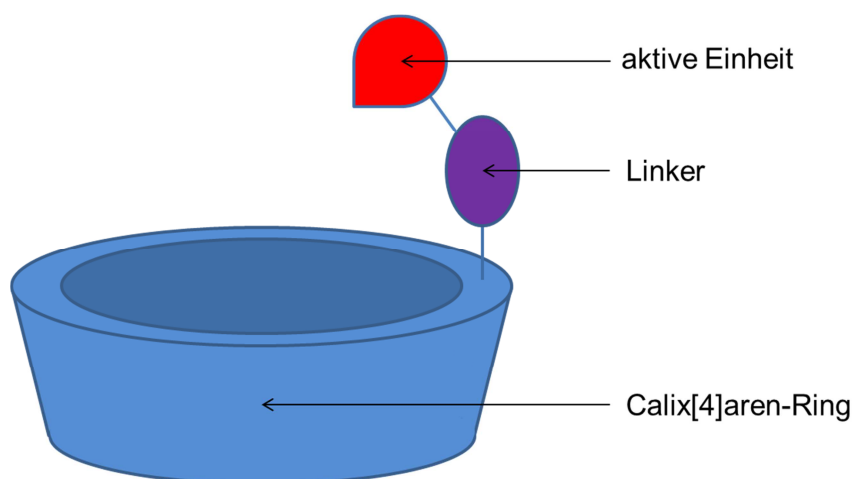


Schema 1.

Mit der Brom- bzw. der Aminogruppe in **C1x1** bzw. **C1x2** stehen zwei Substituenten an einer Phenoleinheit des Calixarenrings zur Verfügung, die sich für Derivatisierungsreaktionen eignen. Denkbar sind palladiumkatalysierte Kreuzkupplungsreaktionen im Falle von **C1x1** sowie Reaktionen, in denen die nukleophile Natur der Aminogruppe in **C1x2** ausgenutzt wird.

Man gelangt auf diese Weise zu Scavengern, in denen die aktive Einheit über einen Linker am Calixarenring gebunden ist (Abbildung 11).

Die selektive Modifizierung von sulfonierten Calix[4]arenen wurde bislang nur spärlich erforscht. Daher stehen detaillierte Reaktionsprotokolle, auf die zur Synthese der Scavenger zurückgegriffen werden kann bis auf wenige Ausnahmen nicht zur Verfügung. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten dementsprechend auch Reaktionen erarbeitet werden, mit denen SC[4]As modifiziert werden können. Identifizierte Reaktionen sollten dann genutzt werden, um die gewünschten Scavenger darzustellen.



**Abbildung 11:** Allgemeine Struktur der Zielverbindungen: Eine aktive Einheit (rot) ist über einen Linker (violett) mit dem sulfonierten Calix[4]aren-Ring verbunden.

Als nukleophile Einheiten, die in den Calixarenring eingeführt werden können, eignen sich allgemein alle funktionellen Gruppen, die über einen nukleophilen Charakter verfügen. In vorhergehenden Arbeiten zeigte sich allerdings, dass Hydroxamsäuregruppen die Entgiftung von NOPs besonders effizient vermitteln. Aus diesem Grund sollten bevorzugt Calixaren-Derivate mit Hydroxamsäuregruppen synthetisiert werden.

Die dargestellten Zielverbindungen sollten am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr in München bezüglich ihrer Entgiftungsaktivität untersucht werden. Anhand der hierbei gewonnenen Erkenntnisse sollte im Rahmen der Arbeit eine kontinuierliche Weiterentwicklung der Scavenger erfolgen und Synthesen aktiver Scavenger optimiert werden. Weiterhin sollte durch die Darstellung und Untersuchung strukturanaloger Referenzverbindungen versucht werden, Struktur-Wirkungs-Beziehungen abzuleiten.

## 4. Eigene Ergebnisse und Diskussion

### Vorbemerkungen

Der vorliegende Ergebnisteil ist in 5 Abschnitte aufgeteilt, die sich hauptsächlich der Synthese der gewünschten Scavenger widmen. Im Anschluss an die Beschreibungen der durchgeführten Synthesen findet sich jeweils ein Unterabschnitt, in dem die erzielten Ergebnisse diskutiert werden.

Kapitel 4.1. behandelt die Synthesen der Calixarene, die als Ausgangsverbindungen für die entsprechenden Scavengersynthesen dienen.

Kapitel 4.2. beinhaltet Versuche zur Synthese von Scavengern mit Übergangsmetall-katalysierten Verfahren.

Kapitel 4.3. behandelt die Scavengersynthesen unter Verwendung von Amidkupplungen.

Kapitel 4.4. beinhaltet die Scavengersynthesen unter Verwendung von Additionsreaktionen.

In Kapitel 4.5. werden die Ergebnisse der Untersuchungen am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr in München beschrieben.

Sämtliche Verbindungen, die im Laufe der Arbeit eine Rolle spielten, wurden durchnummeriert (**1, 2, 3, ...**). Lediglich die Calix[4]aren-Derivate, die als Ausgangsverbindungen für die Scavengersynthesen dienen, erhielten mit **C1x1, C1x2** und **C1x3** eigene Bezeichnungen.

Ferner wurden alle Verbindungen, die auf ihre Eignung zum Abbau von NOPs untersucht werden sollten, unabhängig von ihrer Wirksamkeit als Scavenger bezeichnet. Alle diese Verbindungen erhielten eigene Nummern, denen jeweils ein S vorangestellt wurde (**S1, S2, S3, ...**).

Weiterhin ist zu beachten, dass unmittelbar nach der Kupplungsreaktion eines Substituenten mit einem Calixaren in den meisten Scavengern die nukleophile Gruppe noch mit einer Schutzgruppe versehen war. Solche Verbindungen wurden durch ein der eigentlichen Verbindungsnummer nachgestelltes a gekennzeichnet (**S1a, S2a, S3a, ...**).

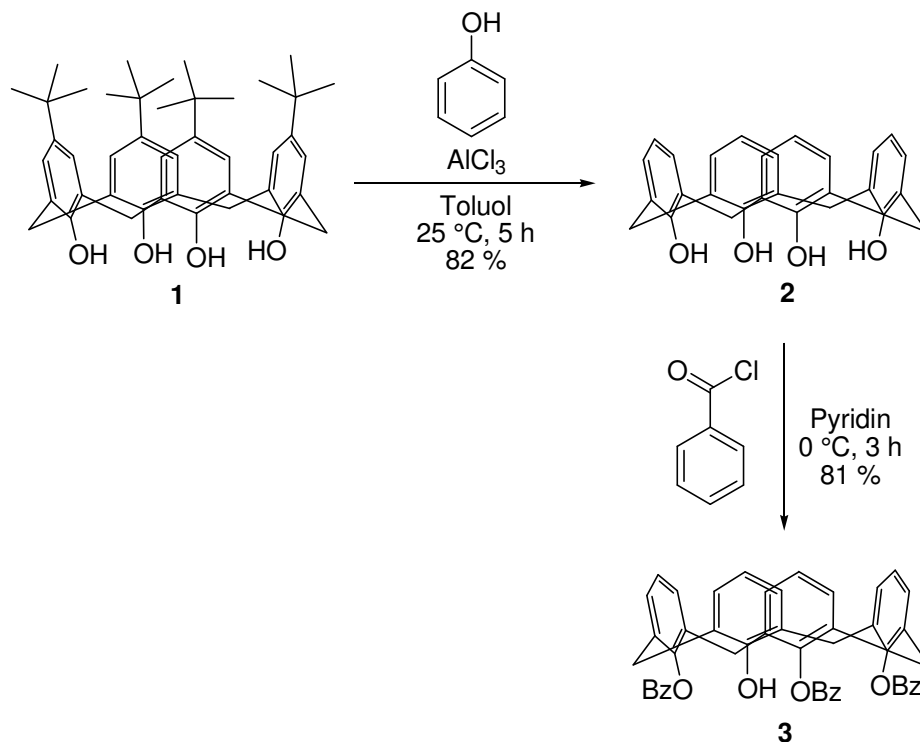
Nach der Entfernung der Schutzgruppe und der Aufreinigung mittels HPLC wurden die Scavenger mit protonierten Sulfonsäuregruppen erhalten. Diese Form der Scavenger wird durch ein nachgestelltes b kenntlich gemacht (**S1b, S2b, S3b, ...**).

Die nachgestellten Buchstaben entfallen erst bei Scavengern, die nach der Reinigung als Natriumsalze isoliert wurden.

## 4.1. Synthese der Calixaren-Vorstufen

### 4.1.1. Darstellung der sulfonierten Calix[4]arene

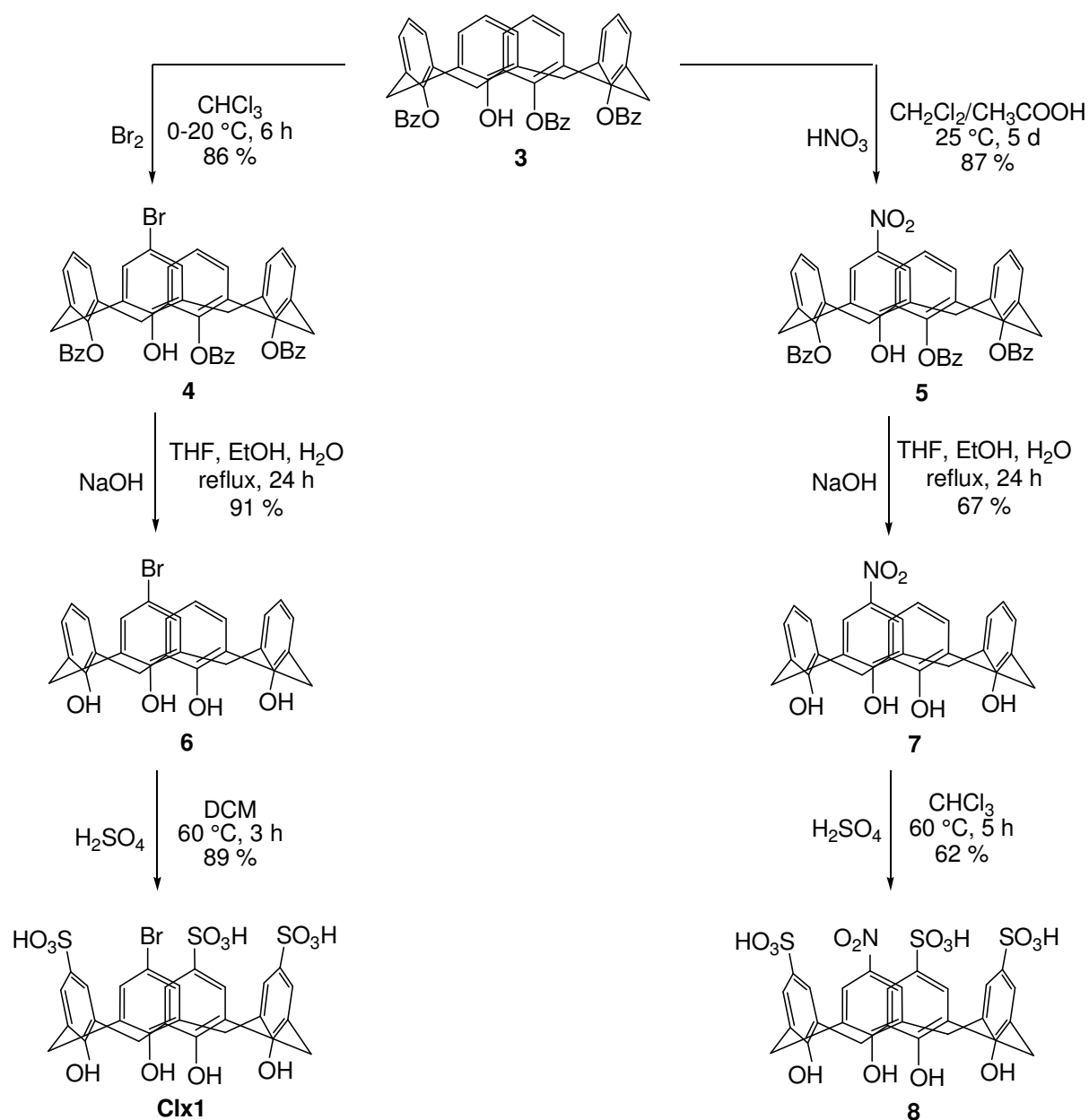
Als erster Schritt zur Synthese der gewünschten Scavenger musste kommerziell erhältliches 5,11,17,23-Tetra-*tert*-butylcalix[4]aren (**1**) in eine wasserlösliche Verbindung überführt werden, die über eine geeignete Gruppe für die spätere Modifizierung verfügt. Das gelang in einer mehrstufigen Synthesesequenz, wobei zunächst die *tert*-Butylgruppen von **1** in einer Retro-Friedel-Crafts-Reaktion in Gegenwart von Aluminiumtrichlorid entfernt wurden.<sup>[95]</sup> Das so erhaltene Calix[4]aren (**2**) wurde anschließend mit Benzoylchlorid zur Reaktion gebracht.<sup>[96]</sup> Dabei entstand selektiv 25,26,27-Tribenzoyloxycalix[4]aren (**3**), in dem noch eine freie Hydroxygruppe am Calixarenring verbleibt (Schema 2). Die dargestellten Verbindungen **2** und **3** konnten jeweils durch Umkristallisation aus einem Methanol/Chloroform-Gemisch gereinigt werden.



Schema 2.

Die Umsetzung von **3** mit Brom lieferte 5-Brom-26,27,28-tribenzoyloxycalix[4]aren (**4**).<sup>[97]</sup> Außerdem wurde ausgehend von **3** auch eine Nitrierung mit Salpetersäure in Essigsäure durchgeführt, wodurch 5-Nitro-26,27,28-tribenzoyloxycalix[4]aren (**5**) erhalten wurde.<sup>[98]</sup> In einer nachfolgenden Verseifung der Benzoylgruppen mit Natriumhydroxid wurden alle 4 Hydroxygruppen in den Calixarenderivaten **4** und **5** wieder freigesetzt.<sup>[97][98]</sup> Die jeweiligen Produkte 5-Bromcalix[4]aren (**6**) und 5-Nitrocalix[4]aren (**7**) konnten durch Umkristallisation

aufgereinigt werden. Die Reaktion von **6** mit Schwefelsäure in Dichlormethan lieferte die erste Zielverbindung, 5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**Clx1**), während über eine analoge Reaktionsführung mit **7**, allerdings in Chloroform als Lösungsmittel, 5-Nitro-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**8**) hergestellt werden konnte (Schema 3).<sup>[94]</sup> Die Produkte fielen aus der Reaktionsmischung aus und konnten durch Abzentrifugieren und Waschen gereinigt werden.

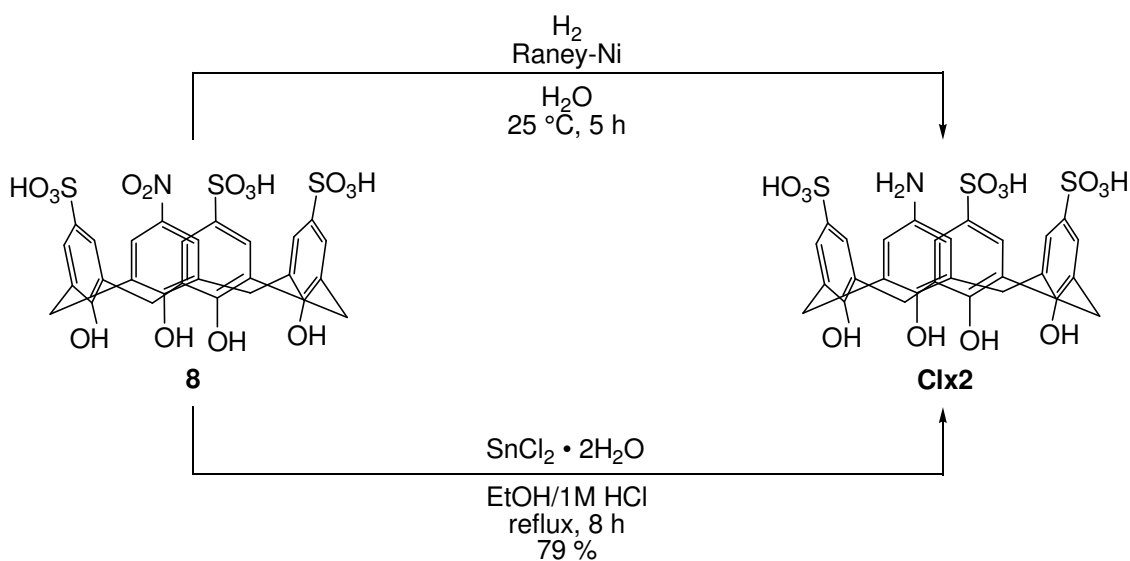


Schema 3.

Zuletzt wurde die Nitrogruppe in **8** reduziert, um zu einer Aminofunktion zu gelangen, die später in nukleophilen Substitutionsreaktionen derivatisiert werden sollte. Für die



entsprechende Umsetzung zu 5-Amino-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**Clx2**) existiert eine literaturbekannte Synthesemethode unter Verwendung von Raney-Nickel und elementarem Wasserstoff.<sup>[94]</sup> Da diese Methode jedoch nur unzuverlässige Ergebnisse lieferte, wurde eine alternative Darstellungsweise erarbeitet. Die Reduktion von Nitro- zu Aminogruppen in Ethanol in Gegenwart von Zinn(II)chlorid Dihydrat wurde bereits für ein wasserunlösliches Calixaren-Derivat beschrieben.<sup>[99]</sup> Diese Reaktion ließ sich auf die Reduktion von **8** übertragen, wenn sie in Gegenwart von wässriger HCl durchgeführt wurde (Schema 4). Unter diesen Reaktionsbedingungen fiel **Clx2** aus der Reaktionsmischung aus, was die Aufarbeitung erleichtert, und es konnten reproduzierbare Ausbeuten erhalten werden.



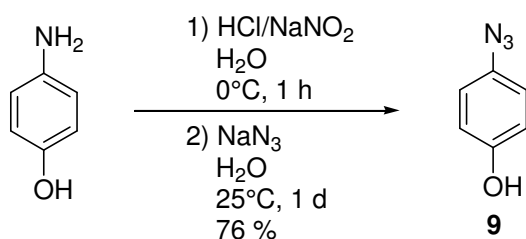
**Schema 4.**

Mit **Clx1** stand ein Calixaren-Derivat zur Verfügung, das sich beispielsweise für die Derivatisierung mittels palladiumkatalysierter Kreuzkupplungen eignet. Die Aminogruppe in **Clx2** wurde dagegen mittels nukleophiler Substitutions- oder Additionsreaktionen umgesetzt, um Substituenten in den Calixarenring einzuführen.

Eine weitere beliebte Methode zur Verknüpfung zweier Molekülbausteine ist die Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC) unter Ausbildung 1,4-substituierter 1*H*-1,2,3-Triazole.<sup>[100][101]</sup> Diese Reaktion hat sich auch bei der Darstellung von NOP-Scavengern auf Basis von Cyclodextrinen bewährt.<sup>[88][89]</sup> Aus diesem Grund sollte sie auf die Darstellung Calix[4]aren-basierter Scavenger übertragen werden. Als Ausgangsverbindung wurde entsprechend 5-Azido-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**Clx3**) benötigt.

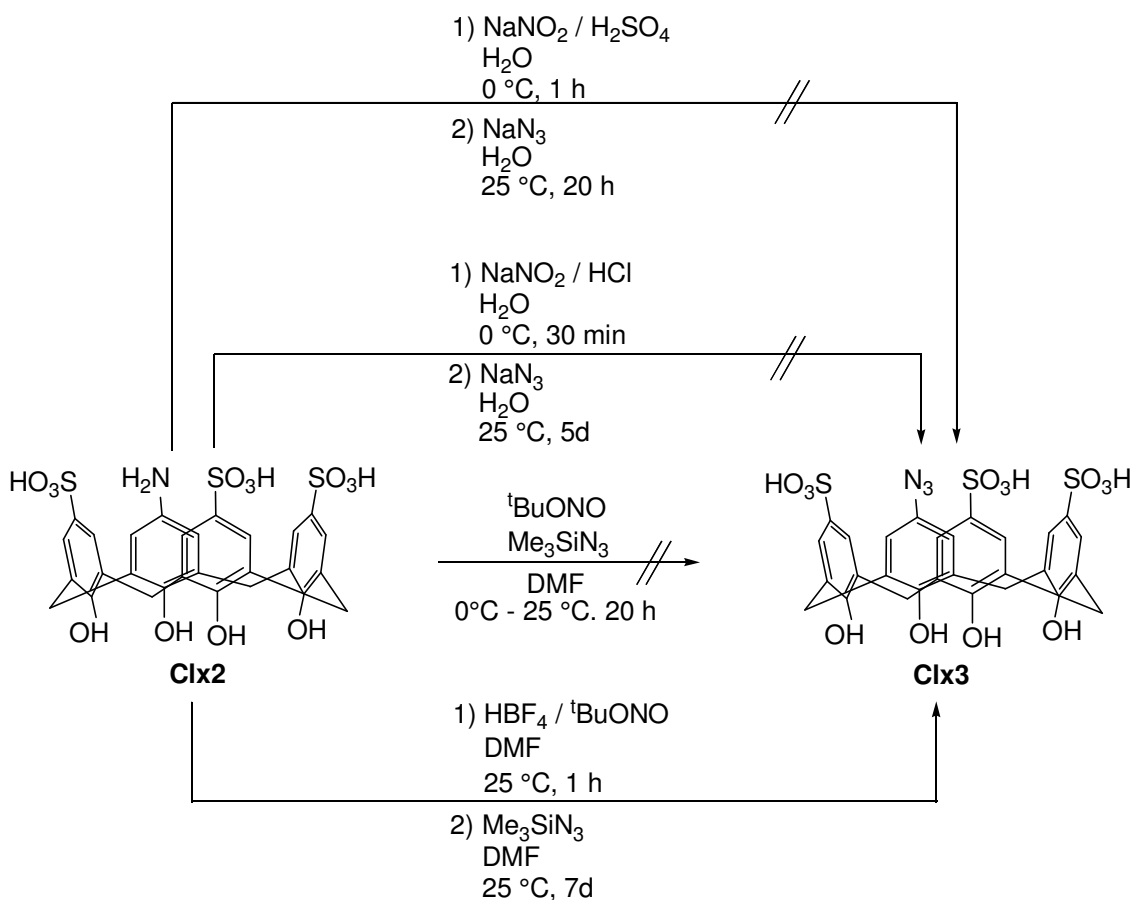
Synthesen aromatischer Azide beruhen unter anderem auf einer Methode analog zur Sandmeyer-Reaktion.<sup>[102][103]</sup> Hierbei wird zunächst eine Aminogruppe in das entsprechende Diazoniumsalz überführt und anschließend eine Azidquelle zugegeben, wobei das gewünschte Produkt entsteht.<sup>[104]</sup> In einer Testreaktion wurde 4-Aminophenol mit

Natriumnitrit in 2M Salzsäure und nachfolgender Zugabe von Natriumazid zum gewünschten Produkt 4-Azidphenol (**9**) umgesetzt (Schema 5).<sup>[105]</sup>



**Schema 5.**

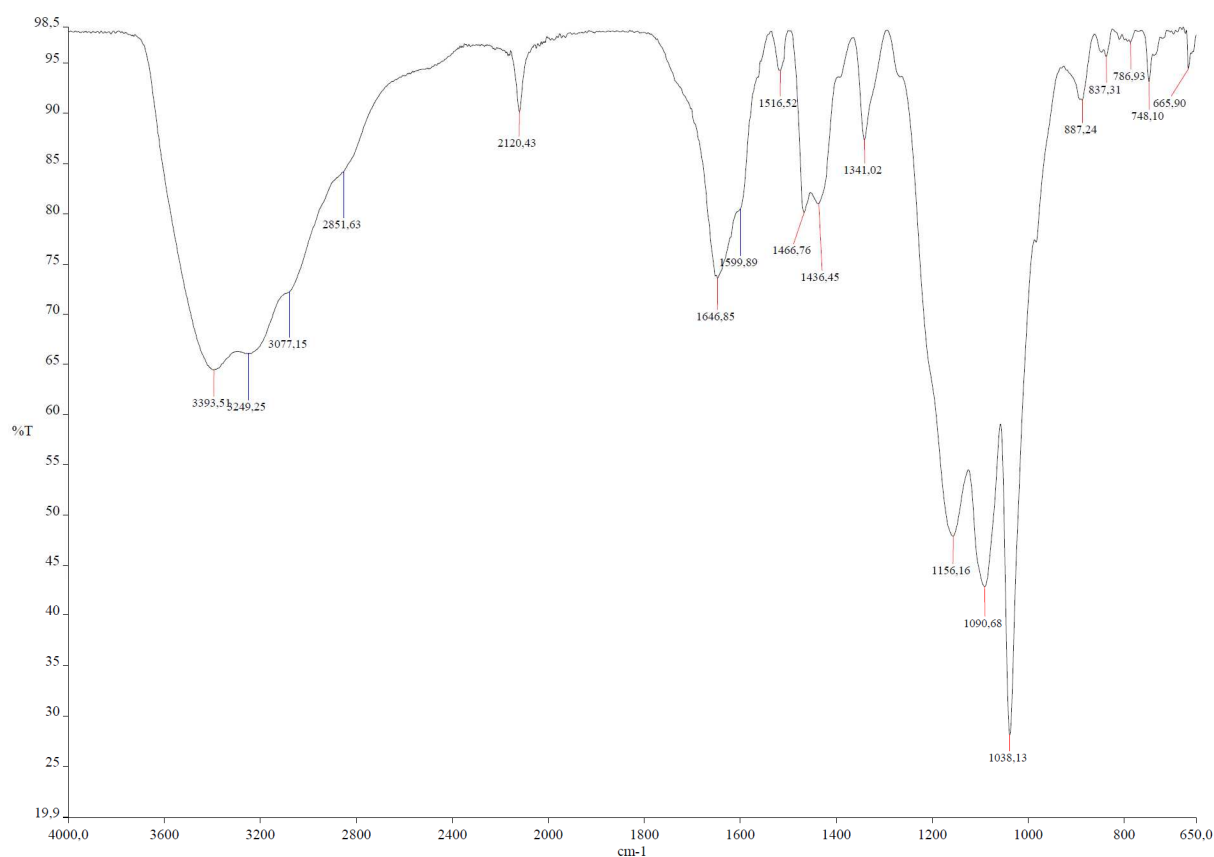
Die Reaktion verlief in guten Ausbeuten, weshalb als Nächstes versucht wurde, die Ergebnisse auf die Synthese von **Clx3** ausgehend von **Clx2** zu übertragen. Leider stellte sich heraus, dass mit der oben beschriebenen Methode keine Umsetzung des Calixarens erfolgte. Aus diesem Grund wurden die Reaktanden und die Reaktionsbedingungen variiert (Schema 6).<sup>[102][106]</sup>



**Schema 6.**

Sämtliche Testreaktionen, die mit Natriumnitrit und Natriumazid unter sauren Bedingungen in wässriger Lösung durchgeführt wurden, schlugen fehl. Auch wenn als Lösungsmittel DMF und als Nitrit bzw. Azidquelle *tert*-Butylnitrit bzw. Trimethylsilylazid verwendet wurden, konnte keine Reaktion der Edukte beobachtet werden.

Schließlich lieferte die Umsetzung von **C1x2** mit *tert*-Butylnitrit in Gegenwart von Tetrafluorborsäure in DMF und die nachfolgende Zugabe von Trimethylsilylazid Hinweise darauf, dass das gewünschte Produkt **C1x3** gebildet wurde. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wurde zwar deutlich, dass es sich bei dem erhaltenen Feststoff um ein Produktgemisch handelte, allerdings wurde im IR-Spektrum der Substanz eine Bande für die Azidgruppe bei  $2120\text{ cm}^{-1}$  gefunden (Abbildung 12).



**Abbildung 12.** IR-Spektrum des Produktgemisches, das beim Syntheseversuch von **C1x3** erhalten wurde. Die Bande für die Azidgruppe ist bei  $2120\text{ cm}^{-1}$  zu sehen.

Das als Edukt eingesetzte Azid verfügt über einen unpolaren Charakter, während **C1x3** in organischen Lösungsmitteln unlöslich ist. Daher konnten die Edukte durch Waschen mit unpolaren Lösungsmitteln zuverlässig vom Produkt abgetrennt werden. Es kann daher ausgeschlossen werden, dass die Azidbande im IR-Spektrum auf eine Verunreinigung mit dem Edukt Trimethylsilylazid zurückzuführen ist. Die Isolierung des Reinstoffes gelang bisher allerdings nur mittels HPLC und in geringen Ausbeuten.

### 4.1.2. Diskussion

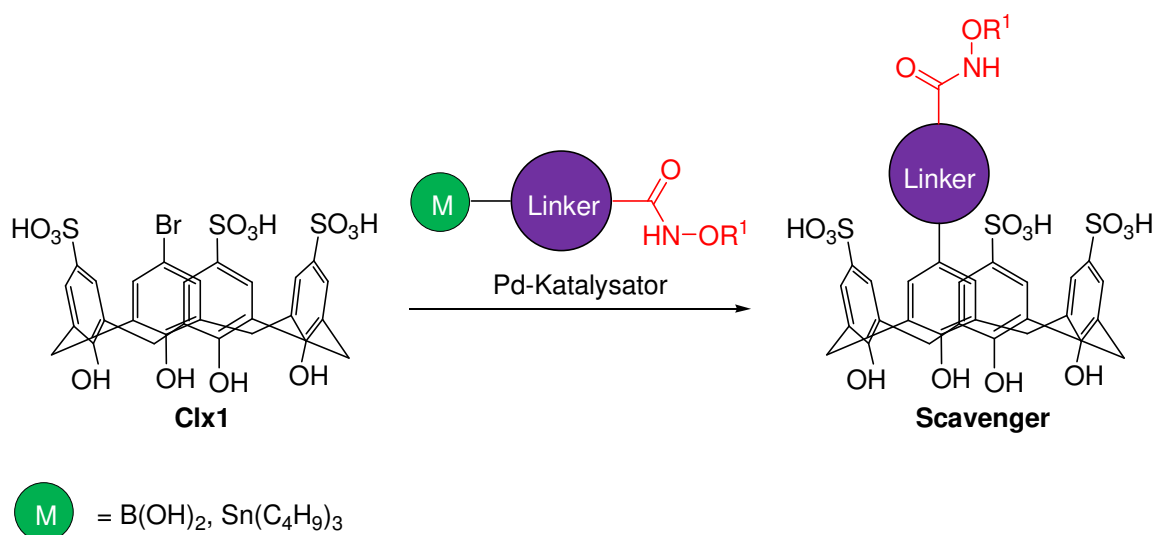
Die Synthese der Calix[4]aren-Vorstufe **C1x1** wurde anhand literaturbekannter Reaktionsvorschriften durchgeführt. Die Darstellung des Endprodukts beinhaltete insgesamt fünf Reaktionsschritte und das Produkt entstand selektiv in einer Gesamtausbeute von 44 %. Die gesamte Reaktionssequenz kam außerdem ohne die Verwendung chromatographischer Methoden zur Aufreinigung der Zwischenprodukte aus. Dies erlaubte die zügige Herstellung von **C1x1** im Gramm-Maßstab ausgehend von der kommerziell erhältlichen Ausgangsverbindung 5,11,17,23-Tetra-*tert*-butylcalix[4]aren (**1**).

Die Synthese von **C1x2** verlief weniger zufriedenstellend, da eine deutlich geringere Gesamtausbeute von lediglich 16 % erzielt wurde. Grund hierfür waren die geringen Ausbeuten der Stufen nach der Nitrierung. Darüber hinaus fällt ein zusätzlicher Reaktionsschritt an, in dem die Nitrogruppe noch zum Amin reduziert werden musste. Die Reduktion der Nitrogruppe mit Raney-Nickel verlief unbefriedigend und wenig reproduzierbar. Daher wurde zur finalen Reduktion ein anderes Verfahren erprobt. In Anlehnung an eine literaturbekannte Vorschrift wurde die Nitrogruppe mittels  $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  in das gewünschte Amin überführt.<sup>[99]</sup> Diese Syntheseoption lieferte zuverlässige Ergebnisse und hatte darüber hinaus den Vorteil, dass das entstehende Produkt aus der Reaktionsmischung ausfiel, wodurch sich die Aufarbeitung vereinfachte. Daher wurde die Reduktion mit Zinn(II)chlorid Dihydrat als bevorzugte Methode zur Reduktion der Nitrogruppe verwendet. Insgesamt konnte somit eine robuste Reaktionssequenz entwickelt werden, die ohne chromatographische Aufreinigungsmethoden auskam. Analog zum Brom-Calixaren **C1x1** war daher auch die zügige Darstellung des Amino-Calixarens **C1x2** ausgehend von **1** im Gramm-Maßstab möglich.

Darüber hinaus wurden Versuche durchgeführt, die Aminogruppe in **C1x2** in ein Azid zu überführen. Das gewünschte Produkt **C1x3** war unter Verwendung verschiedener Syntheseprotokolle zunächst nicht zugänglich. Durch Verwendung von  $\text{HBF}_4 / \text{tBuONO}$  zur Diazotierung und Trimethylsilylazid als Azidquelle wurde jedoch ein Verfahren entwickelt, bei dem **C1x3** als Produktgemisch anfiel. Mittels Massenspektrometrie und IR-Spektroskopie wurden Hinweise erhalten, dass das gewünschte Produkt **C1x3** in diesem Gemisch enthalten ist. Ein geeignetes Reinigungsverfahren für das Azid wurde im Rahmen der Arbeit nicht entwickelt, da parallel vielversprechendere Ergebnisse zur Scavengersynthese auf Calixarenbasis mittels Amidkupplungen erhalten wurden.

## 4.2. Synthese von Scavengern mittels Palladium-katalysierter Verfahren

Palladium-katalysierte Kupplungsreaktionen stellen eine Möglichkeit zur Verknüpfung zweier Molekülbausteine dar. Dementsprechend sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit metallorganische Vorstufen dargestellt werden, in denen eine Hydroxamsäuregruppe enthalten ist. Diese sollten dann mit 5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**Clx1**) umgesetzt werden, um zu potentiellen Scavengern zu gelangen (Abbildung 13).



**Abbildung 13.** Allgemeine Reaktionsgleichung einer Palladium-katalysierten Kupplung zur Darstellung eines Scavengers auf Calix[4]arenbasis.

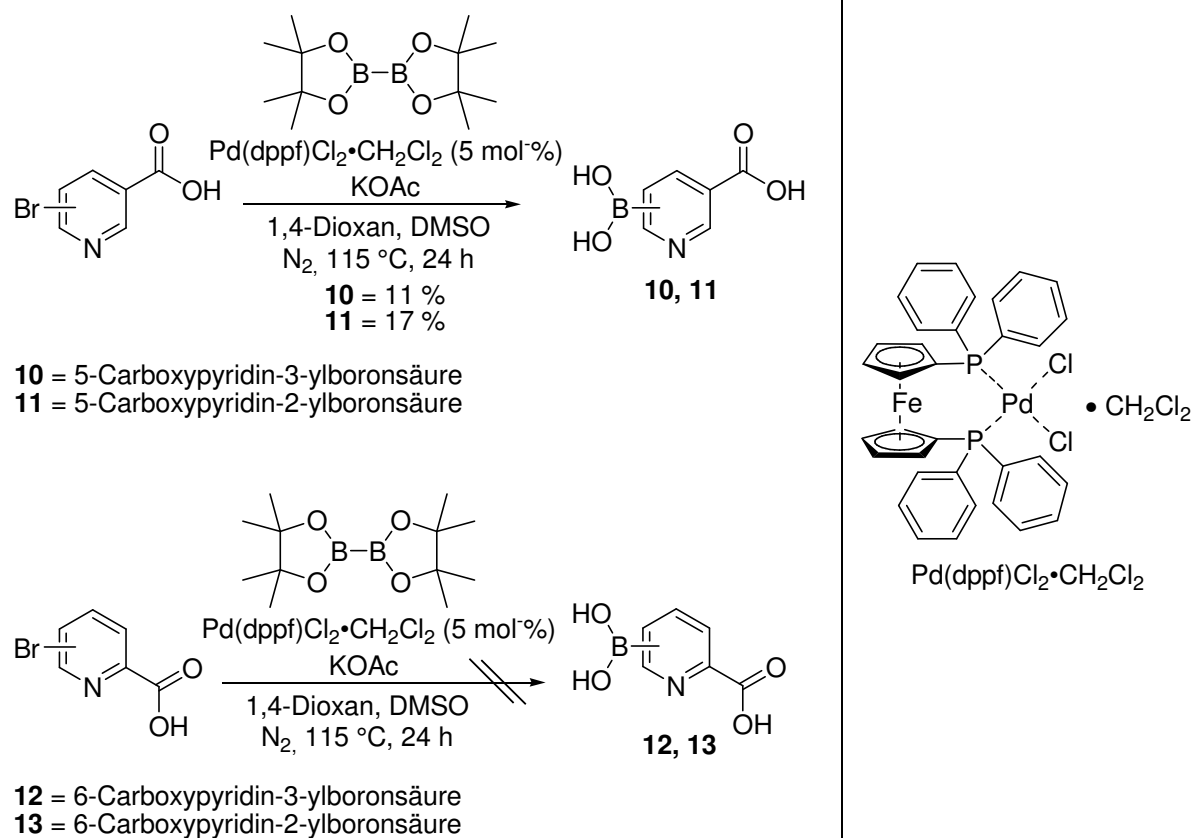
Als Linker wurden aromatische Einheiten verwendet, da diese als Substrate für eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung geeignet sind.

### 4.2.1. Synthese der Vorstufen für palladiumkatalysierte Kreuzkupplungen

In der Literatur wurde bereits ein Syntheseprotokoll zur Umsetzung von **Clx1** und verschiedenen Organobor-verbindungen in einer Suzuki-Kupplung beschrieben.<sup>[94]</sup> Daher lag es nahe, zunächst die Eignung von Suzuki-Kupplungen zur Synthese der gewünschten Scavengern zu untersuchen.

Die bromierten Derivate von Picolin- und Nicotinsäure sind kommerziell erhältlich. Daher wurde versucht, die Ausgangsmaterialien 5-Bromnicotinsäure, 6-Bromnicotinsäure, 5-Brompicolinsäure und 6-Brompicolinsäure in die entsprechenden Boronsäure-Derivate 5-Carboxypyridin-3-ylboronsäure (**10**), 5-Carboxypyridin-2-ylboronsäure (**11**), 6-Carboxypyridin-3-ylboronsäure (**12**) und 6-Carboxypyridin-2-ylboronsäure (**13**) zu überführen (Schema 7). Als Borquelle wurde in diesen Synthesen Bis(pinacolato)diboron und als

Katalysator das Dichlormethanaddukt von [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]palladium(II)-dichlorid ( $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) verwendet.<sup>[107]</sup>

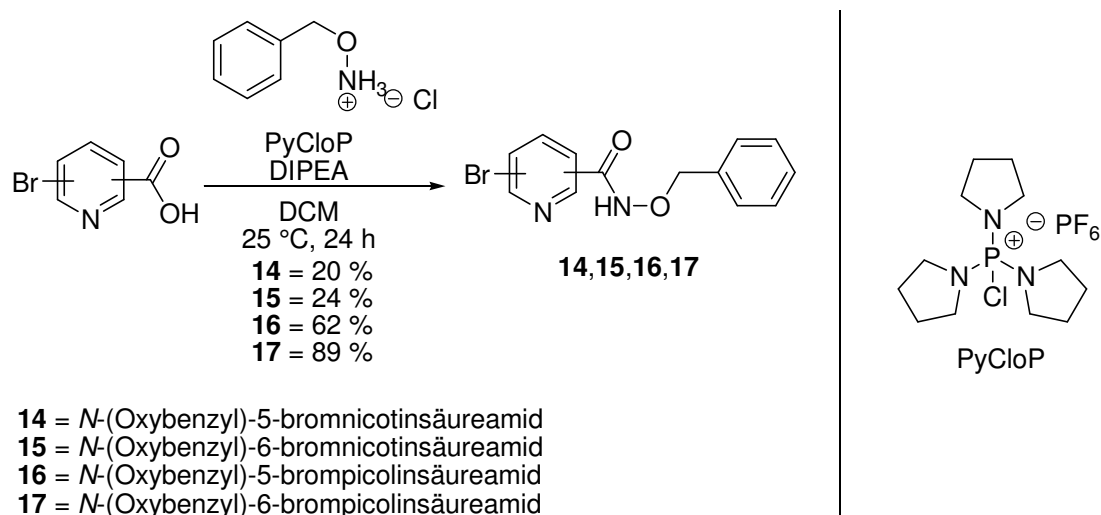


Schema 7.

Unter den gewählten Bedingungen konnten lediglich die Nicotinsäure-Derivate in die entsprechenden Boronsäuren überführt werden, während für die Picolinsäure-Derivate keine Umsetzung beobachtet wurde. Darüber hinaus konnten die Produkte **10** und **11** nur in geringen Ausbeuten und nicht analysenrein erhalten werden. Beide Produkte konnten aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit weder säulenchromatographisch noch durch Extraktion von den in der Reaktionsmischung anwesenden Salzen getrennt werden. Auch Versuche zur Umkristallisation führten nicht zum Erfolg. Allerdings konnten die Produkte isoliert werden, indem sie in Wasser gelöst wurden und der pH-Wert anschließend durch Zugabe von wässriger HCl auf etwa 3 eingestellt wurde. In diesem Fall fielen die Produkte **10** und **11** aus der Reaktionsmischung aus. Auf diese Weise wurden jedoch keine analysenreinen Produkte erhalten.

Um die von den freien Carbonsäuren verursachten Probleme bei der Aufarbeitung zu umgehen, wurde alternativ versucht, die benzylgeschützten Hydroxamsäurederivate **14-17** für die Herstellung der Boronsäuren zu verwenden. Diese Hydroxamsäuren wurden ausgehend von den bromierten Nicotin- und Picolinsäurederivaten durch Amidkupplung mit

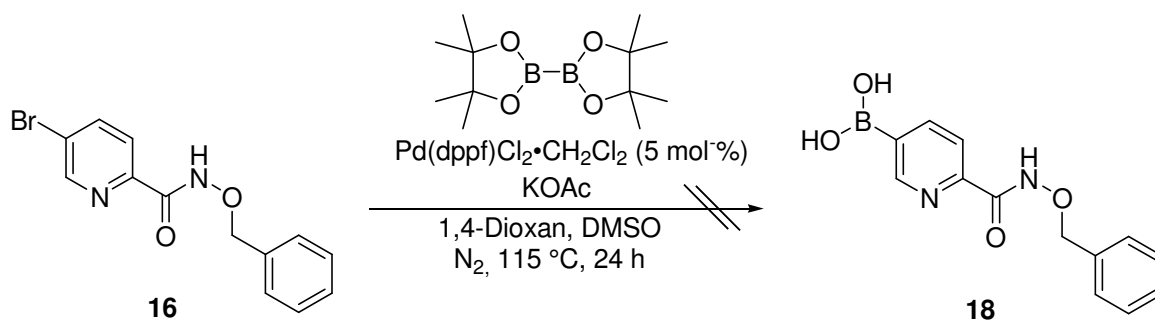
*O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid erhalten. Von den getesteten Kupplungsreagenzien (EDC · HCL, TBTU, PyCloP) erwies sich lediglich PyCloP als geeignet, die Reaktion zu vermitteln. Deshalb wurden die bromierten Pyridincarbonsäuren mit PyCloP als Kupplungsreagenz einer Amidkupplung mit *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid unterworfen (Schema 8). Auf diese Weise konnten die entsprechenden Produkte *N*-(Benzyloxy)-5-bromnicotinsäureamid (**13**), *N*-(Benzyloxy)-6-bromnicotinsäureamid (**14**), *N*-(Benzyloxy)-5-brompicolinsäureamid (**15**) und *N*-(Benzyloxy)-6-brompicolinsäureamid (**16**) erhalten werden.



Schema 8.

Die Produkte wurden säulenchromatographisch gereinigt und analysenrein erhalten. Dabei waren die Ausbeuten von **16** und **17** mit 62 % bzw. 89 % befriedigend bis gut. Die von Nicotinsäure abgeleiteten Hydroxamsäurederivate **14** und **15** wurden aber nur mit unbefriedigenden Ausbeuten von etwa 20 % erhalten.

Im nächsten Schritt sollte in den erhaltenen Produkten das Bromatom am Pyridinring in einer palladiumkatalysierten Transmetallierung in eine Boronsäuregruppe überführt werden. In einer Testreaktion, in der **16** zu 6-(Benzyloxycarbamoyl)pyridin-3-ylboronsäure (**18**) umgesetzt werden sollte, wurden die gleichen Reaktionsbedingungen gewählt, die zur Synthese von **10** und **11** verwendet wurden (Schema 9).<sup>[107]</sup> Bei der Umsetzung von **16** wurde anstelle der Bildung von **18** die Reaktion zu einem anderen Produkt beobachtet. Strukturelle Hinweise darauf, dass **18** nicht gebildet wurde finden sich im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Verbindung. Hier wurden keine Signale für die Benzylschutzgruppe beobachtet, was darauf hindeutet, dass diese im Reaktionsverlauf entfernt wurde. Die Identität des isolierten Produktes konnte nicht eindeutig geklärt werden, da weder NMR- oder IR-spektroskopisch noch massenspektrometrisch eine eindeutige Charakterisierung möglich war.



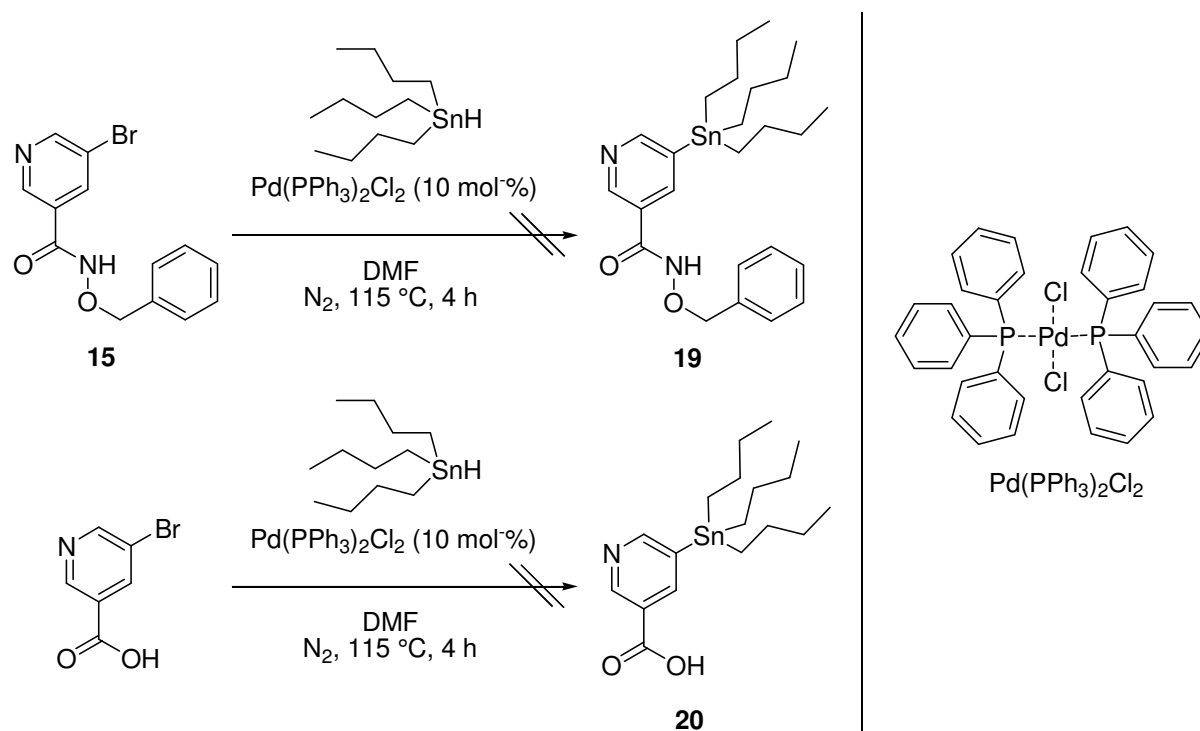
Schema 9.

Die gewünschten Boronsäurederivate mit einer geschützten Hydroxamsäureeinheit wurden unter den gewählten Bedingungen nicht erhalten.

Neben Boronsäurederivaten können auch andere metallorganische Vorstufen in einer Palladium-katalysierten Kreuzkupplung verwendet werden.<sup>[108]</sup> Dazu zählen unter anderem Organozinnverbindungen, die in Stille-Kupplungen verwendet werden.<sup>[109]</sup> Aus diesem Grund sollte versucht werden, die bromierten Ausgangsverbindungen, die nicht zu den entsprechenden Boronsäuren umgesetzt werden konnten, in die jeweiligen Stannyle zu überführen.

Entsprechend wurde eine Testreaktion zur Transmetallierung von *N*-(Oxybenzyl)-5-bromnicotinsäureamid (**15**) mit Tributylzinnhydrid als Zinnquelle und Bis(triphenylphosphan)-palladium(II)dichlorid (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) als Katalysator durchgeführt, wobei als Produkt *N*-(Benzyloxy)-5-(tributylstannyl)nicotinsäureamid (**19**) erhalten werden sollte.<sup>[110]</sup> In einer weiteren Testreaktion wurde unter den gleichen Reaktionsbedingungen versucht, 5-Bromnicotinsäure in 5-(Tributylstannyl)nicotinsäure (**20**) zu überführen (Schema 10).





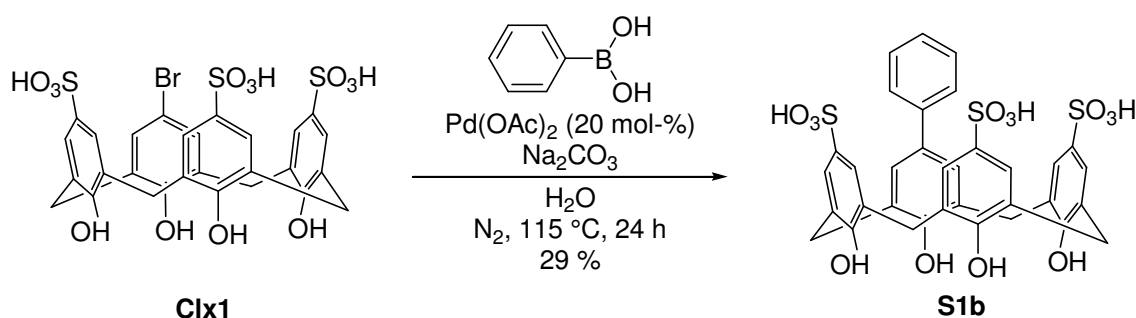
Schema 10.

Beim Versuch zur Synthese von **19** wurde mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie festgestellt, dass im isolierten Produkt keine Benzylschutzgruppe mehr vorhanden ist. Für die Umsetzung der ungeschützten Carbonsäure zu **20** wurde mittels IR- und  $^{13}\text{C}$ -Spektroskopie beobachtet, dass im erhaltenen Produkt keine Carboxylgruppe mehr vorliegt. Die Struktur der Produkte ließ sich aus den erhaltenen analytischen Daten nicht ableiten. Die Synthese von zinnhaltigen Vorstufen zur späteren Umsetzung in einer Stille-Kupplung verlief daher erfolglos.

#### 4.2.2. Synthese von Scavengern durch palladium-katalysierte Kreuzkupplungen

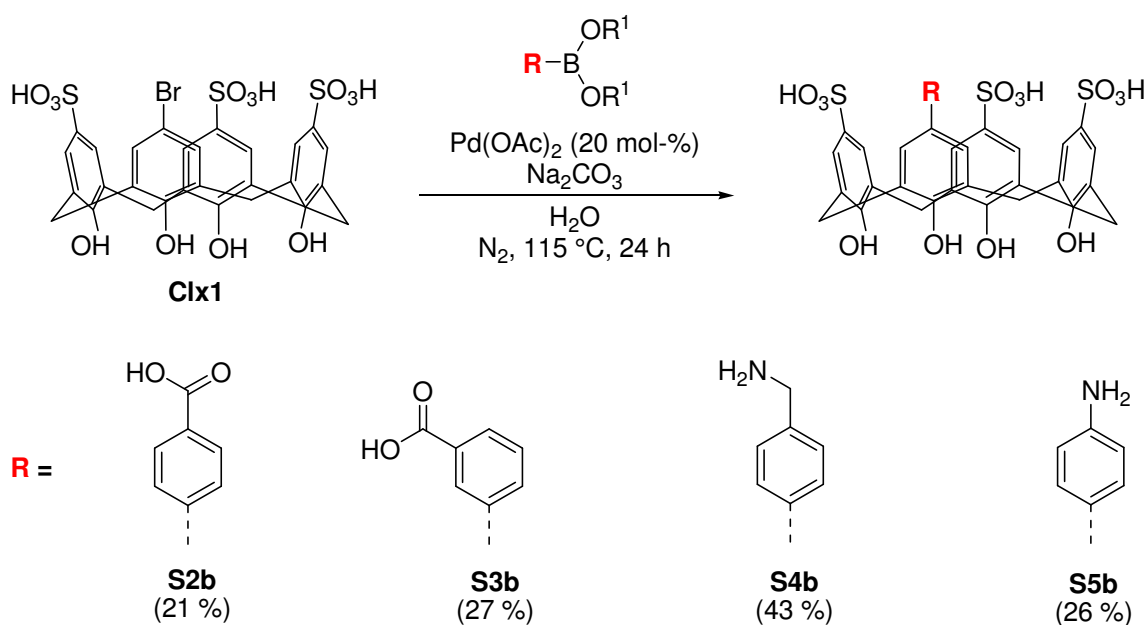
Neben den in Kapitel 4.2.1. erwähnten hydroxamsäurehaltigen Vorstufen, deren Synthese nicht erfolgreich war, sind einige Organoborverbindungen mit nukleophilen Gruppen kommerziell erhältlich. Diese wurden mittels Suzuki-Kupplung mit **C1x1** umgesetzt. Zunächst wurden die Reaktionsbedingungen an der Umsetzung von Phenylboronsäure mit **C1x1** getestet. Das Produkt 5-Phenyl-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**S1b**) wurde auf analogem Weg bereits in der Gruppe von F. Hof dargestellt.<sup>[94]</sup> Die Literaturvorschrift verwendet für die Umsetzung ein Katalysatorsystem aus Palladium(II)-acetat, Natriumcarbonat, und Tetrabutylammoniumbromid (TBAB). Hierbei erwies sich aber die Abtrennung von TBAB mittels präparativer HPLC als schwierig. In einem zweiten Ansatz wurde daher auf diesen

Zusatz verzichtet und das Produkt konnte so in einer Ausbeute von 29 % erhalten werden (Schema 11).



**Schema 11.**

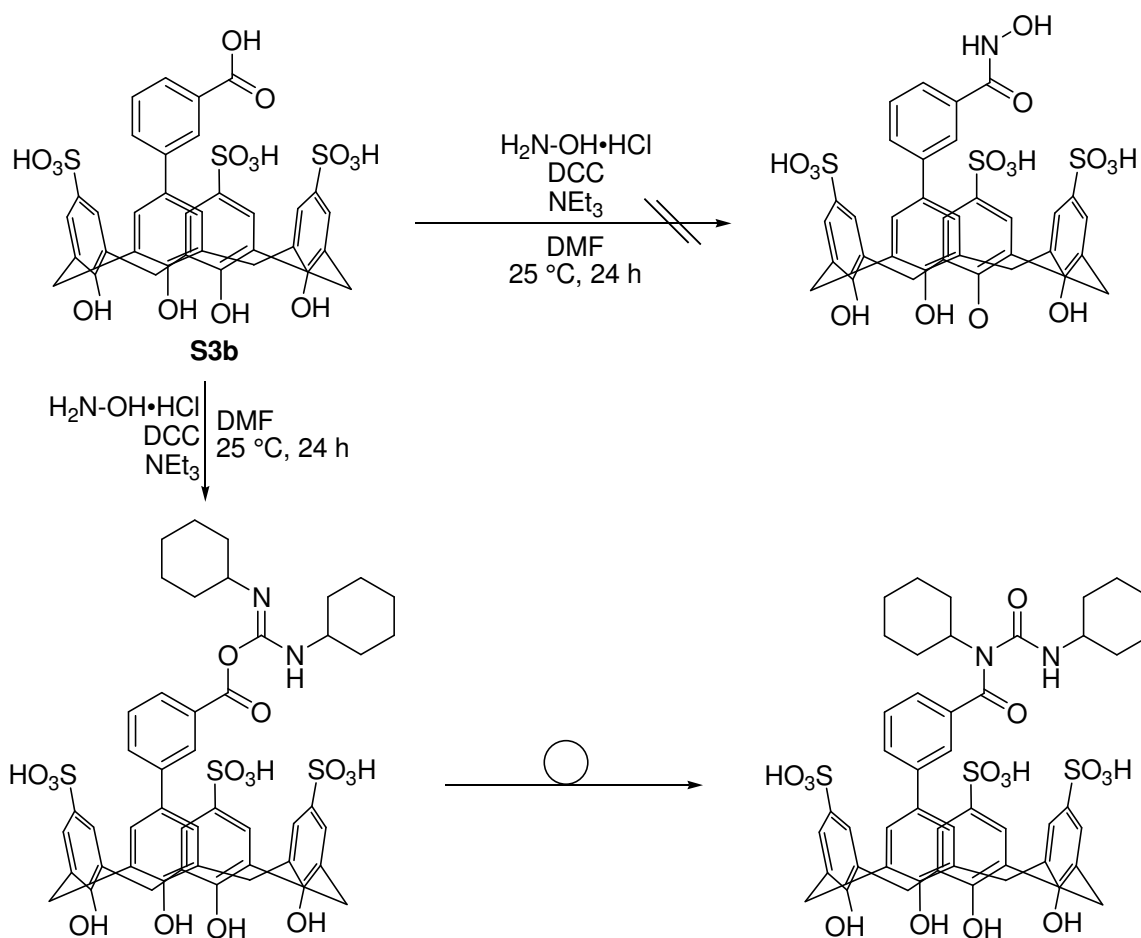
Analog zur oben beschriebenen Reaktionsführung wurden weitere kommerziell erhältliche Organoborverbindungen mit **Clx1** gekuppelt (Schema 12). Mit den Carbonsäureestern 4-(Ethoxycarbonyl)phenylboronsäure und 3-(Ethoxycarbonyl)phenylboronsäure gelang die Kupplung zu den entsprechenden Scavengern 5-(4-Carboxyphenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**S2b**) und 5-(3-Carboxyphenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**S3b**). Unter den basischen Reaktionsbedingungen wurden die eingesetzten Carbonsäureester verseift und die freien Carbonsäuren als Produkt erhalten. Die stickstoffhaltigen Scavenger 5-(4-(Aminomethyl)phenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**S4b**) und 5-(4-Aminophenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**S5b**) konnten durch Kupplung von **Clx1** und 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3-dioxo-2-borolan-2-yl)phenylamin und 4-((4,4,5,5-tetramethyl-1,3-dioxo-2-borolan-2-yl)phenyl)methanamin gewonnen werden.



**Schema 12.**

Es wurde weiterhin versucht, **S3b** durch Reaktion mit Hydroxylamin Hydrochlorid unter Kupplungsbedingungen in eine Hydroxamsäure zu überführen. Die Reaktion wurde in DMF durchgeführt, da nur in diesem Lösungsmittel alle Edukte der Reaktion gelöst werden konnten. Als Kupplungsreagenzien wurden DCC, EDC·HCl und TBTU untersucht.

Bei der Reaktion von **S3b** wurde anstelle der gewünschten Hydroxamsäure laut massenspektrometrischer Analyse der Reaktionsmischung der in Schema 13 gezeigte acylierte Harnstoff gebildet. Verbindungen dieser Art entstehen typischerweise bei Kupplungen mit DCC aus dem initial gebildeten Aktivester durch Umlagerung.<sup>[111]</sup>



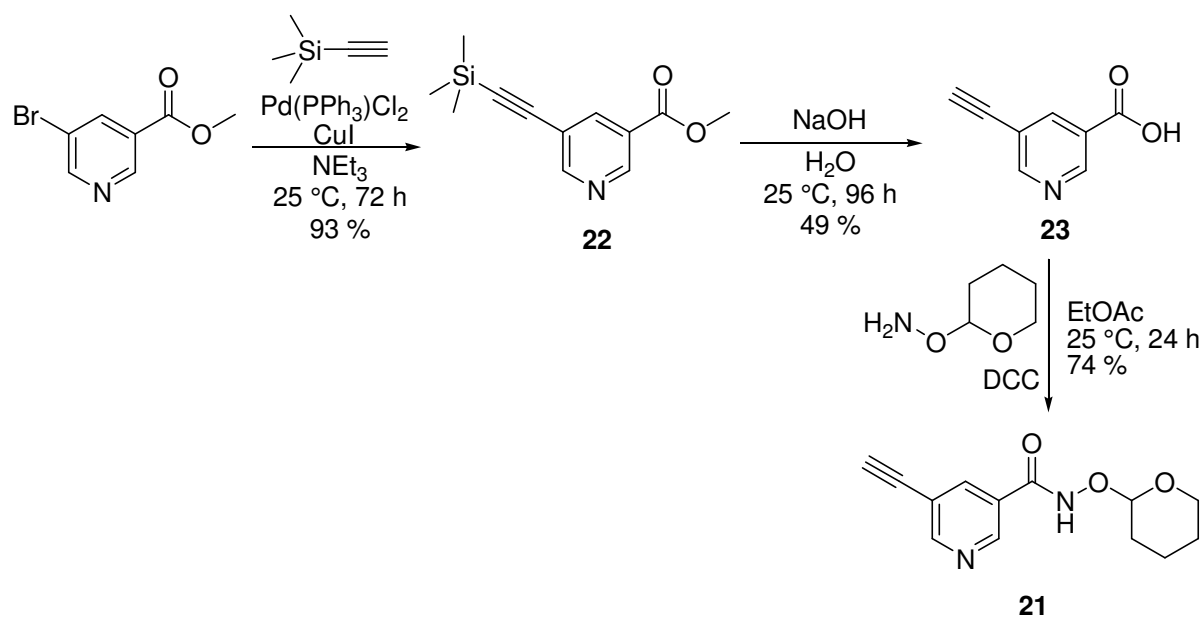
Schema 13.

In anderen Testreaktionen, in denen anstelle von DCC die Kupplungsreagentien EDC · HCl bzw. TBTU verwendet wurden, konnte kein Umsatz von **S3b** festgestellt werden.

### 4.2.3. Syntheseversuche mittels Kupfer-katalysierter 1,3-dipolarer Cycloaddition

In den vorangegangenen Arbeiten zu NOP-Scavengern auf Cyclodextrin-Basis hatte sich die Kupfer-katalysierte 1,3-dipolare Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) als Methode zur Verknüpfung von Makrocyclus und nukleophilem Rest bewährt.<sup>[112]</sup> Mit dem zuvor dargestellten **C1x3** sollten nun Tests durchgeführt werden, in denen ein Alkin mit der Azidgruppe verbunden wird. Dazu wurde 5-Ethynyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)nicotinamid (**21**) als Alkin verwendet, das in vorangegangenen Arbeiten bereits erfolgreich mit einem Cyclodextrinazid zu einem hydroxamsäurehaltigen Cyclodextrinderivat gekuppelt werden konnte.<sup>[112]</sup> Die Synthese von **21** folgte der beschriebenen Strategie.

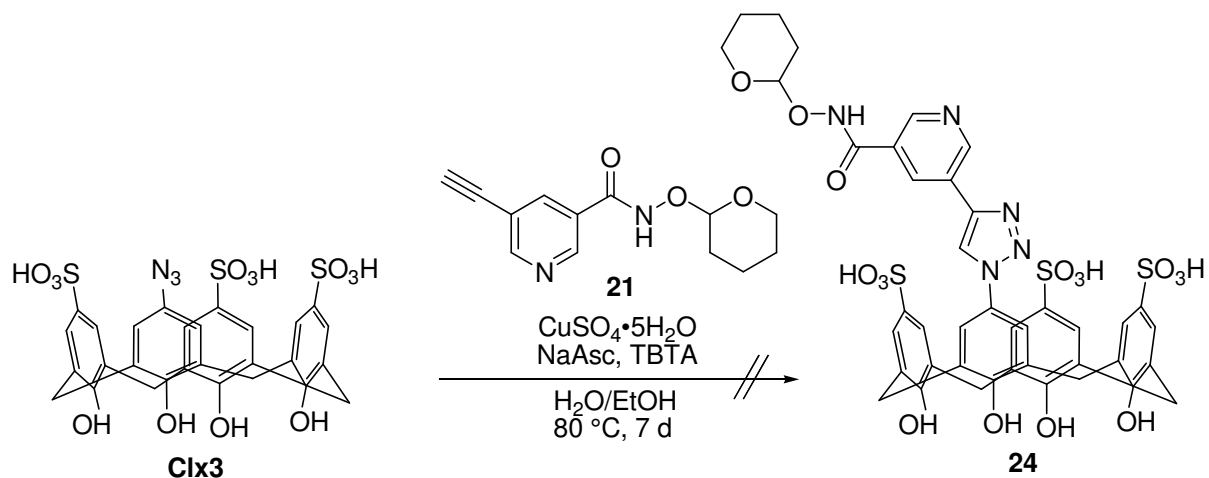
Zunächst wurde Methyl-5-bromnicotinoat in einer Sonogashira-Kupplung mit Trimethylsilylethin zu Methyl-5-(2-(trimethylsilyl)ethynyl)nicotinoat (**22**) umgesetzt (Schema 14). In der nachfolgenden Verseifung des Carbonsäureesters mit wässriger Natriumhydroxidlösung wurde auch die Trimethylsilylgruppe entfernt. Als Produkt wurde 5-Ethynyl-nicotinsäure (**23**) erhalten, die im letzten Schritt mit *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin und DCC zum gewünschten Endprodukt **21** umgesetzt wurde (Schema 14).



Schema 14.

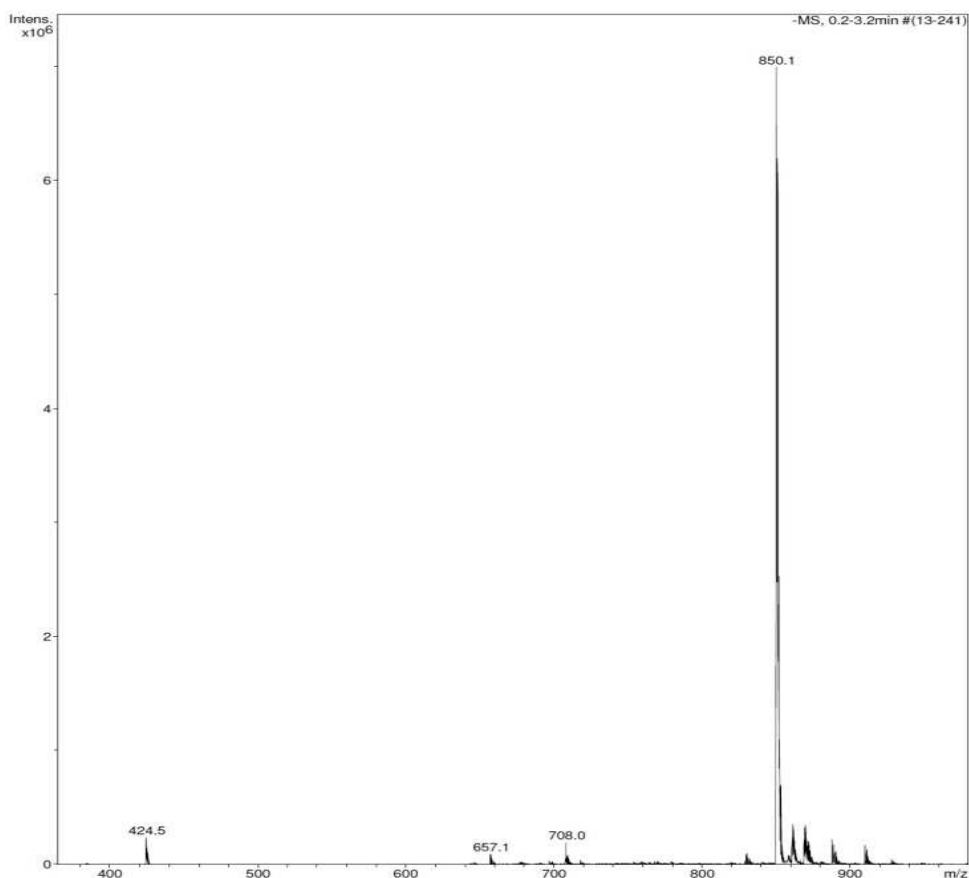
Die Umsetzung von **C1x3** und **22** sollte in Anlehnung an literaturbekannte Reaktionsvorschriften durchgeführt werden.<sup>[112]</sup> Dazu wurde zunächst **C1x3** in Form des erhaltenen Stoffgemisches mit **21** in Gegenwart eines Katalysatorsystems aus Kupfersulfat

Pentahydrat, Tris((1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amin (TBTA) und Natriumascorbat (NaAsc) umgesetzt (Schema 15).



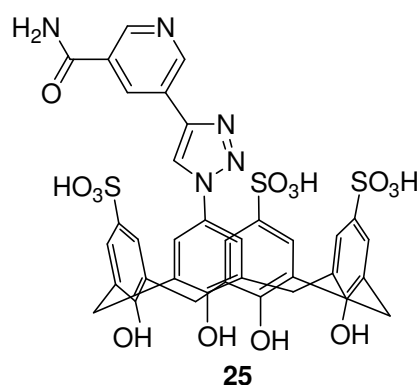
**Schema 15.**

Die Aufreinigung des Produkts durch HPLC lieferte geringe Mengen einer Verbindung, die mittels NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie untersucht wurde.



**Abbildung 14:** Massenspektrum von Verbindung **24** (ESI-TOF, negativer Modus) Die gefundene Masse von 850.1 passt zu einer Verbindung, die anstelle der Hydroxamsäuregruppe ein Amid enthält.

Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wurde deutlich, dass die THP-Schutzgruppe während der Reaktion entfernt wurde. Alle anderen Signale konnten dem gewünschten Produkt zugeordnet werden. In ESI-Messungen wurden jedoch Signale erhalten, die nicht zur entschützten Verbindung **24** passen, sondern immer 16 Dalton zu niedrig waren. Das deutet darauf hin, dass die N-O-Bindung im Molekül unter Bildung einer Amidgruppe gespalten wurde, so dass an Stelle des gewünschten Produkts 5-(4-(5-Carbamoylpyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**25**) erhalten wurde (Abbildung 15).



**Abbildung 15:** Struktur von **25**.

Um dieses Ergebnis zu überprüfen, wurde eine Nachweisreaktion für Hydroxamsäuren in Anlehnung an die Angeli-Rimini-Reaktion durchgeführt.<sup>[113]</sup> Dazu wurde eine Lösung der zu untersuchenden Verbindung in Wasser hergestellt und mit einer wässrigen Lösung von Eisen(III)chlorid versetzt. Enthält die Testverbindung eine Hydroxamsäuregruppe, so bildet sie einen Komplex mit dem Eisen(III)-Ion, was sich in einer Rotfärbung der Lösung zeigt.<sup>[114]</sup> Um die Selektivität des Nachweises zu überprüfen, wurden Proben unterschiedlich funktionalisierter Verbindungen eingesetzt (Abbildung 16), in denen unterschiedliche funktionelle Gruppen präsent sind (Tabelle 2, Abbildung 16).

#### 4. Eigene Ergebnisse

**Tabelle 2:** Ergebnisse des Farbtests für Hydroxamsäuregruppen für unterschiedlich funktionalisierte Verbindungen.

Eintrag	Lösungsmittel <sup>[a]</sup>	Verbindung	Ergebnis <sup>[b]</sup>
0	H <sub>2</sub> O	-	-
1	MeOH	-	-
2	MeOH	Phenol	negativ
3	MeOH/H <sub>2</sub> O	<b>C1x1</b>	negativ
4	MeOH/H <sub>2</sub> O	5-Nitro-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren ( <b>8</b> )	negativ
5	MeOH/H <sub>2</sub> O	<i>N</i> -Hydroxyglycinamid	positiv
6	MeOH/H <sub>2</sub> O	L-Prolinamid	negativ
7	MeOH	Isobutylamin	negativ
8	MeOH	3-Bromanilin	negativ
9	MeOH/H <sub>2</sub> O	<b>25</b>	negativ
10	MeOH/H <sub>2</sub> O	<b>S6b</b> <sup>[c]</sup>	positiv

[a]: Die Lösungsmittel wurden entweder rein oder als Gemisch im Verhältnis 1:1 verwendet. Die angegebene Verbindung wurde gelöst ( $c = 1 \text{ mM}$ ) und anschließend mit wässriger FeCl<sub>3</sub>-Lösung (10 mM) versetzt. [b]: Das Ergebnis bezieht sich auf die beobachtete Farbreaktion. Negativ bedeutet in diesem Zusammenhang keine Veränderung nach Zugabe von FeCl<sub>3</sub>-Lösung, positiv bedeutet Rotfärbung der Lösung. [c]: siehe Kapitel 4.3.



**Abbildung 16:** Vergleich der in Tabelle 2 angegebenen Nachweisreaktionen für Hydroxamsäuregruppen.

Wie man Tabelle 2 und Abbildung 16 entnehmen kann, entsteht bei Zugabe von FeCl<sub>3</sub>-Lösung zu reinem Wasser und zu reinem Methanol jeweils eine gelbe Lösung (Eintrag 0 und 1). Im Falle der Hydroxamsäure *N*-Hydroxyglycinamid führt die Zugabe von Eisen(III)chlorid-Lösung dagegen, wie erwartet, zur Ausbildung eines roten Komplexes (Eintrag 5). Um falsche positive Ergebnisse auszuschließen, die eventuell durch andere im Molekül vorhandene funktionelle Gruppen verursacht werden können, wurden weitere Proben untersucht.

Die Anwesenheit von Phenol oder der trisulfonierten Calix[4]aren-Derivate **C1x1** und **8** lieferte keine Rotfärbung der Lösung (Einträge 2, 3, 4). Das gleiche Ergebnis wurde für unterschiedliche Amine und Amide erhalten (Einträge 6, 7, 8). Die Zugabe von FeCl<sub>3</sub>-Lösung zu der Probe, die das durch Alkin-Azid-Cycloaddition erhaltene Calixarenderivat enthielt, führte nicht zu einer Farbveränderung. Bei einem Calixaren mit einer Hydroxamsäuregruppe, dem Scavenger **S6b**, dessen Synthese im folgenden Kapitel behandelt wird, verlief der Test jedoch positiv.

#### 4.2.4. Diskussion

Das synthetische Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, ein modulares, einfaches Verfahren zur Darstellung hydroxamsäurehaltiger Calix[4]arenderivate zu entwickeln. Hierfür wurde die Eignung Übergangsmetall-katalysierter Verfahren untersucht.

Mittels Suzuki-Reaktion konnten 5 Zielverbindungen ausgehend von kommerziell erhältlichen Boronsäuren und **C1x1** synthetisiert werden (**S1b-S5b**). Die Darstellung gelang in Anlehnung an eine literaturbekannte Synthesevorschrift.<sup>[94]</sup> In den folgenden Versuchen sollte diese Vorschrift auch auf die Synthese hydroxamsäurehaltiger Scavenger ausgedehnt werden. Da entsprechende Boronsäuren, in denen eine Hydroxamsäuregruppe vorhanden ist, kommerziell nicht erhältlich sind, wurde versucht, solche Vorstufen selbst herzustellen. Experimente zur Darstellung solcher Boronsäurederivate ausgehend von Bromnicotinsäure oder Brompicolinsäure führten jedoch nicht zum Erfolg.

Die Hydroxamsäurederivate **14-17** konnten zwar synthetisiert werden, die nachfolgende Transmetallierung lieferte jedoch nicht die gewünschten Produkte (Schema 8, Schema 9). Mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie konnte festgestellt werden, dass in den Spektren der erhaltenen Produkte keine Signale vorhanden sind, die der Benzylschutzgruppe zugeordnet werden können. Das gleiche Ergebnis wurde beim Versuch erhalten, Verbindung **15** in ein Organostannyl zu überführen (Schema 10). Beide Reaktionen wurden bei einer Temperatur von 115 °C und in Gegenwart eines Palladium-Katalysators durchgeführt. Es finden sich zahlreiche Literaturstellen, in denen die Spaltung einer N-O-Bindung unter ähnlichen Bedingungen beschrieben wird.<sup>[115][116]</sup> Hierbei dient die N-O-Bindung im Molekül als internes Oxidationsäquivalent, das bei der oxidativen Addition eines Substrats an einen Palladiumkatalysator gespalten wird. Berücksichtigt man diese Erkenntnisse, so scheint es denkbar, dass während der Transmetallierungsreaktion eine Nebenreaktion abläuft, in der die Hydroxamsäuregruppe abgebaut wird. Somit kann der Verlust der Benzylschutzgruppe erklärt werden. Dementsprechend konnten sowohl die hydroxamsäurehaltigen Vorstufen für eine Suzuki-Reaktion als auch für eine Stille-Reaktion nicht dargestellt werden.



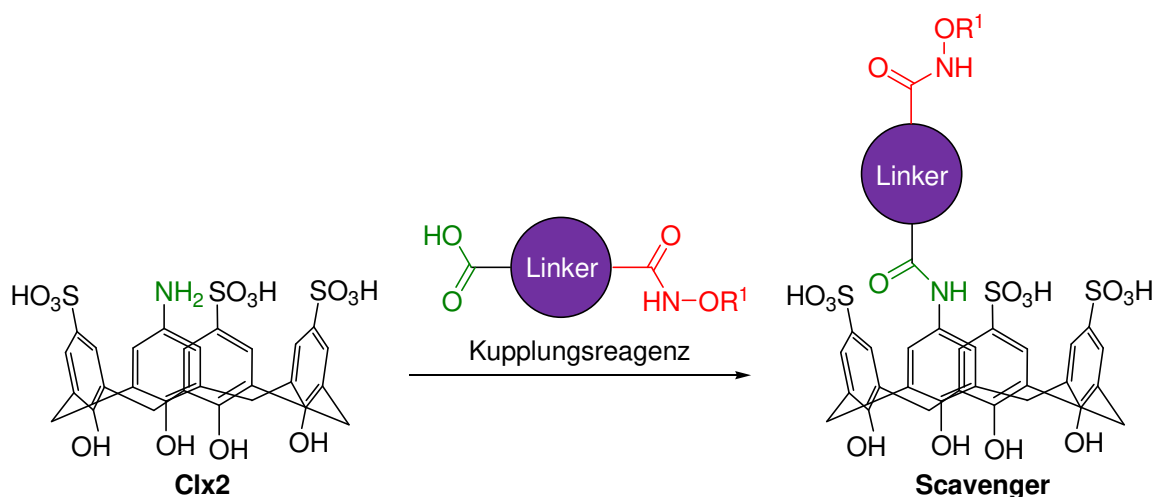
Auch die Einführung von Hydroxamsäuregruppen in Calixarenderivate mit freien Carbonsäuren mittels Amidkupplung führte nicht zum gewünschten Ergebnis. Beide Strategien könnten jedoch möglicherweise durch sorgfältige Optimierung der Reaktionsbedingungen oder Wahl anderer Substrate zum Erfolg geführt werden. Da in dieser Arbeit aber ein möglichst modularer Zugang zu funktionalisierten Calixarenen im Vordergrund stand, bei dem nicht jeder einzelne Schritt zeitaufwendig optimiert werden sollte, wurden diese Arbeiten im Rahmen der Arbeit nicht durchgeführt.

Aus den zuvor durchgeführten Arbeiten im Arbeitskreis *Kubik* ist bekannt, dass Hydroxamsäuren unter den Bedingungen der CuAAC umgesetzt werden können.<sup>[89][112]</sup> Daher wurde eine Testreaktion durchgeführt, in der das Azidocalix[4]aren **C1x3** mit dem zuvor dargestellten Alkin **21** zur Reaktion gebracht wurde. Allerdings führte auch diese Strategie nicht zum Erfolg. Zwar konnte mittels NMR-Spektroskopie und analytischer HPLC nachgewiesen werden, dass eine Kupplung abläuft, jedoch wurde auch während dieser Reaktion die Schutzgruppe entfernt. Darüber hinaus wurde durch massenspektrometrische Analyse festgestellt, dass die Molekülmasse des erhaltenen Produkts nicht zur gewünschten Hydroxamsäure **24** sondern zu einem entsprechenden Amid **25** passt.

Um diese Vermutung zu überprüfen, wurde nach einer Methode gesucht, um freie Hydroxamsäuren in Lösung nachzuweisen. Eine bekannte Nachweisreaktion detektiert Hydroxamsäuregruppen durch Zugabe von Eisen(III)chlorid, wodurch ein rot gefärbter Komplex entsteht. Die Anwendung dieses Tests auf eine Reihe unterschiedlich funktionalisierter Verbindungen zeigte, dass er sehr spezifisch für Hydroxamsäuregruppen ist. Phenol, die Calixarenderivate **C1x1** und **8**, Amide oder Amine ergeben in der Testreaktion keine Farbveränderung. Bei dem Produkt, das in der Alkin-Azid-Cycloaddition erhaltenen wurde, verlief der Test negativ, bei einem anderen Calixarenderivat mit Hydroxamsäuregruppe (**S6b**) jedoch positiv. Hieraus wurde geschlossen, dass es sich bei dem Produkt um das in Abbildung 15 dargestellte Amid **25** und nicht um die gewünschte Hydroxamsäure **24** handelt. Weitere Versuche zur Synthese von Scavengern unter den Bedingungen der CuAAC wurden daher nicht durchgeführt.

### 4.3. Synthese von Scavengern mittels Amidkupplung

**Clx2** diene als Ausgangsverbindung für Scavenger, in denen die nukleophile Einheit über eine Amidgruppe mit dem Calixarenring verbunden ist. Abbildung 17 zeigt die zugrundeliegende Reaktion in allgemeiner Form.

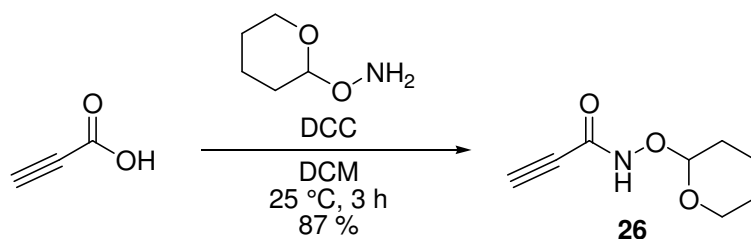


**Abbildung 17:** Allgemeine Reaktionsgleichung einer Amidkupplung zur Darstellung eines Scavengers auf Calix[4]arenbasis.

Für die Scavengersynthesen wurden entsprechende Carbonsäuren oder Carboxylate benötigt, die zusätzlich im Molekül eine Hydroxamsäuregruppe enthalten. Diese Carbonsäuren wurden auf verschiedenen Wegen synthetisiert.

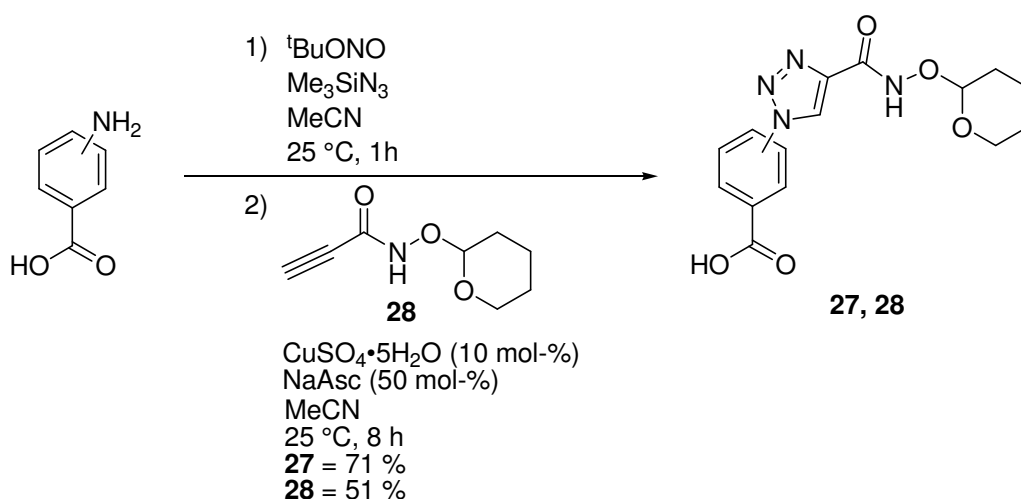
#### 4.3.1. Synthese von Carbonsäuren mit 1*H*-1,2,3-Triazol-Einheiten

Gemäß eines literaturbekannten Syntheseprotokolls wurden verschiedene Aminobenzoesäuren in einer Eintopfreaktion in die entsprechenden (1*H*-1,2,3-Triazolyl)benzoesäuren überführt.<sup>[102]</sup> An die enthaltenen 1*H*-1,2,3-Triazol-Einheiten ist die Hydroxamsäuregruppe in geschützter Form gebunden, wobei als Schutzgruppe die 2-Tetrahydropyranyl-Gruppe (THP) gewählt wurde. Die entsprechende Alkin-Vorstufe, *N*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)propinsäureamid (**26**) wurde in einer literaturbekannten Synthese ausgehend von Propinsäure und *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin dargestellt (Schema 16).<sup>[117]</sup>



Schema 16.

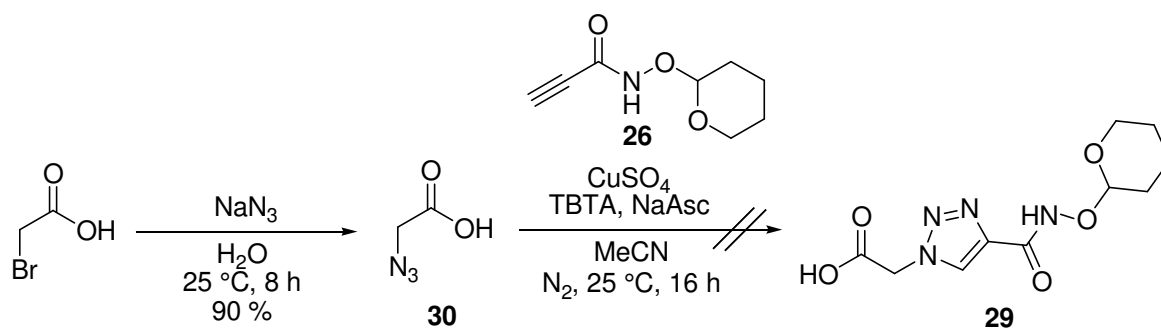
Das Alkin **26** wurde anschließend zur Darstellung der gewünschten Carbonsäuren eingesetzt. Dazu wurde eine Aminobenzoesäure mit *tert*-Butylnitrit und Trimethylsilylazid versetzt. Im Anschluss wurde das gebildete Azid in einer Eintopfreaktion mit **26** zum entsprechenden 1,2,3-Triazolderivat gekuppelt (Schema 17).<sup>[102]</sup>



Schema 17.

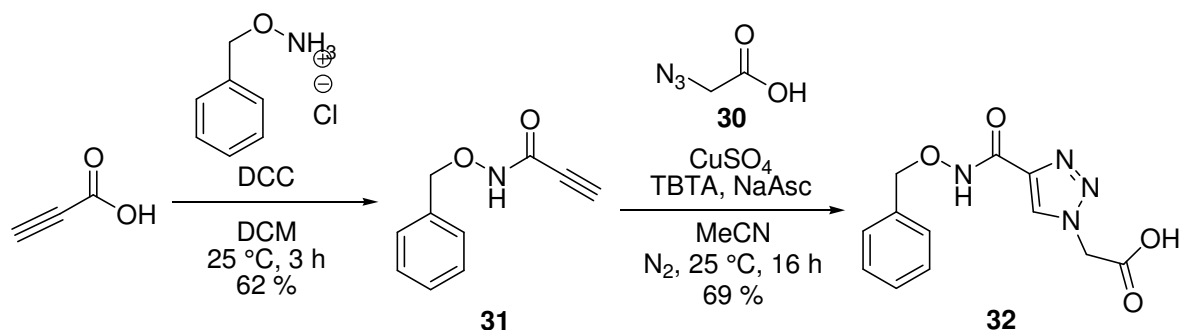
Ausgehend von 3-Aminobenzoesäure wurde **27** und ausgehend von 4-Aminobenzoesäure **28** erhalten. Da die Produkte aus der Reaktionslösung ausfielen, konnten sie durch Abfiltrieren und Waschen gereinigt werden.

Auf vergleichbare Weise sollte das Essigsäurederivat **29** ausgehend von einer aliphatischen Carbonsäure dargestellt werden. Zu diesem Zweck wurde Bromessigsäure mit Natriumazid zu 2-Azidoessigsäure (**30**) umgesetzt (Schema 18).<sup>[118]</sup> Im nächsten Schritt wurde **30** mit dem Alkin **26** in einer CuAAC-Reaktion zur Reaktion gebracht (Schema 18).



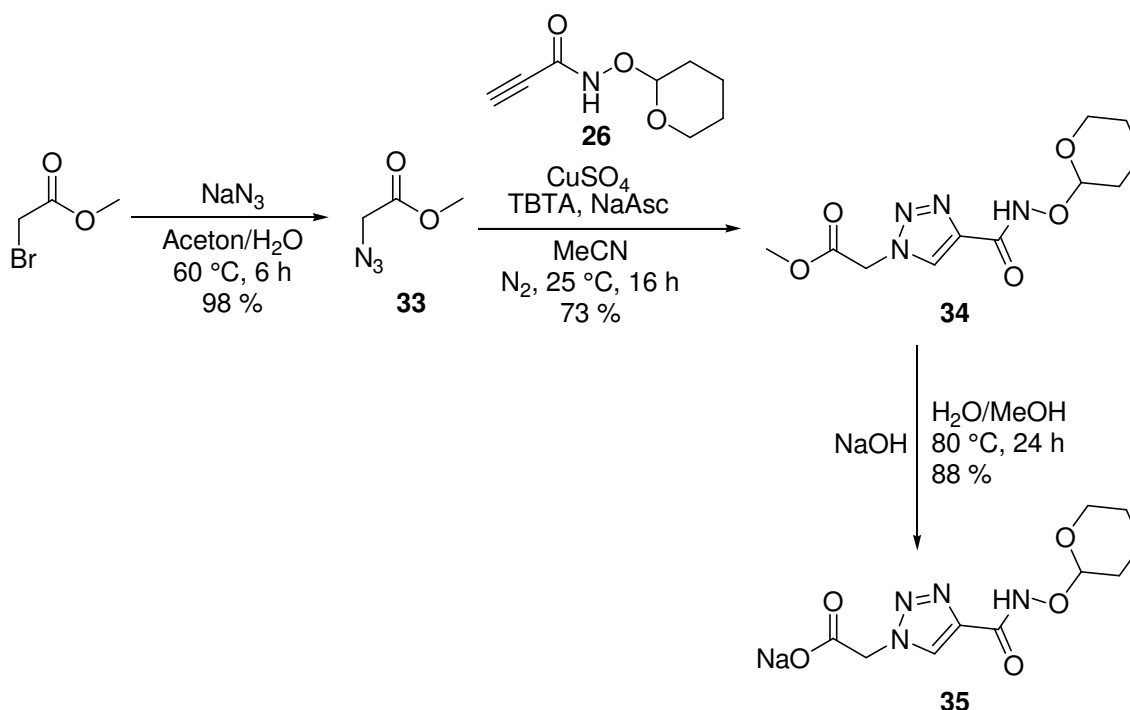
Schema 18.

Auch bei dieser Reaktion fiel ein Feststoff aus der Reaktionsmischung aus. Die  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Charakterisierung des Produkts ergab, dass es keine THP-Schutzgruppe enthielt, wobei nicht klar war, ob die Entschützung während der Reaktion oder während der Aufarbeitung erfolgte. Alternativ wurde versucht, eine analoge Hydroxamsäure herzustellen, die aber mit einer weniger säurelabilen Schutzgruppe versehen ist. Hierfür wurde *O*-Benzyloxyamin Hydrochlorid mit Propinsäure in Gegenwart von DCC zu *N*-(Benzyloxy)propinsäureamid (**31**) gekuppelt. Verbindung **31** wurde daraufhin einer CuAAC-Reaktion mit 2-Azidoessigsäure (**30**) unterworfen (Schema 19). Auf diese Weise konnte das gewünschte Produkt **32** analysenrein erhalten werden.



Schema 19.

Parallel hierzu wurde ein alternativer Weg zur Darstellung des THP-haltigen Derivats **29** entwickelt (Schema 20). Hierbei wurde Methyl-2-bromacetat mit Natriumazid zu Methyl-2-azidoacetat (**33**) umgesetzt.<sup>[119]</sup> Die anschließende Reaktion mit **26** lieferte den Ester **34**. Nach Verseifung mit NaOH wurde das gewünschte Produkt **35** erhalten, in dem die Carbonsäure in Form des Natriumsalzes vorliegt.



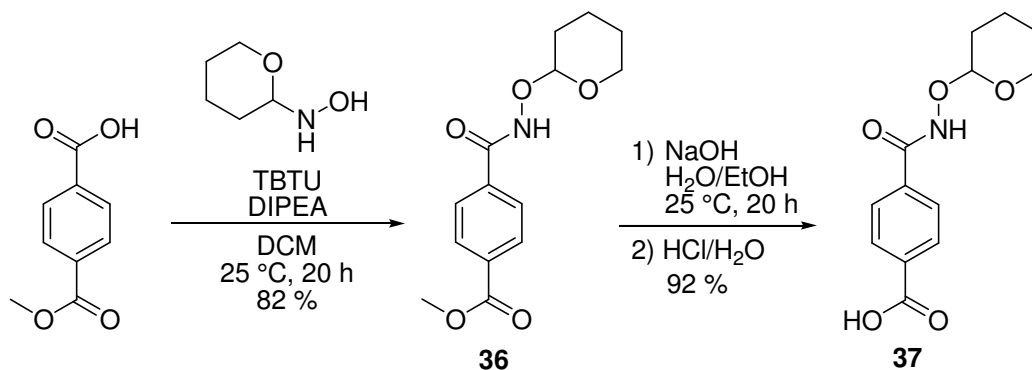
Schema 20.

Verbindung **35** erwies sich als stabil und lagerfähig und konnte dementsprechend in nachfolgenden Amidkupplungen verwendet werden.

#### 4.3.2. Synthese von Carbonsäuren mit Benzol- oder Pyridin-Einheiten als

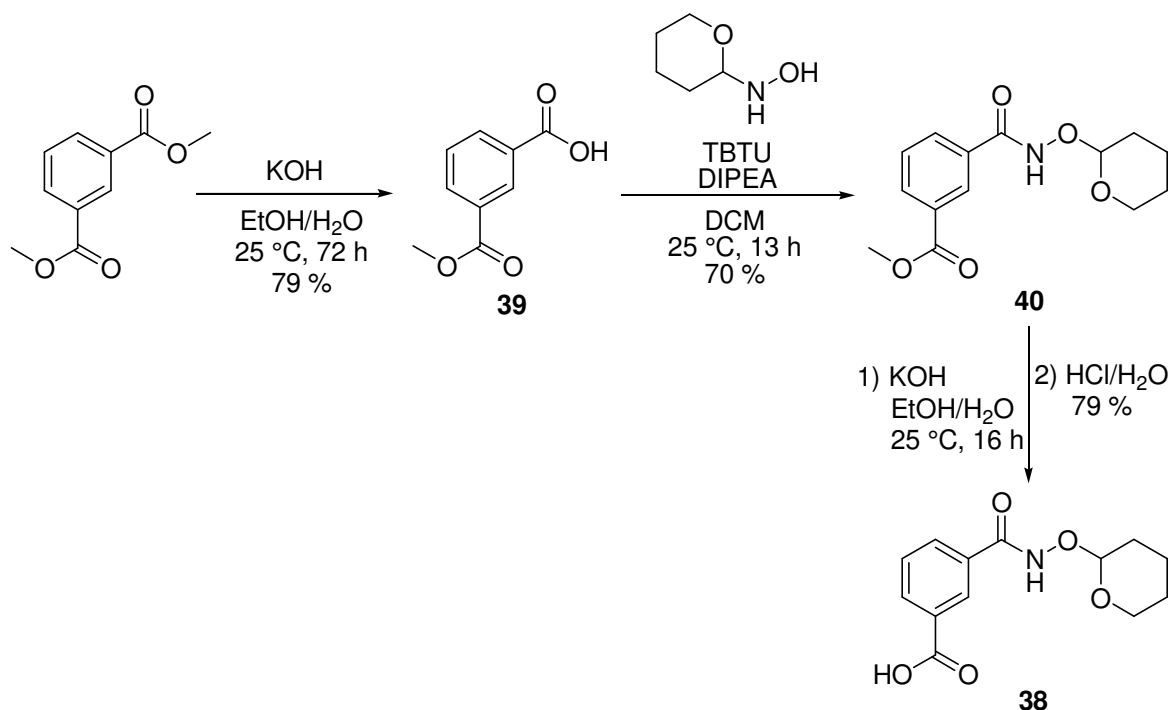
##### Linker

Weitere funktionalisierte Carbonsäurevorstufen wurden erhalten, indem aromatische Dicarbonsäuren als Ausgangsmaterial dienten. 4-Methoxycarbonylbenzoesäure wurde in einer Amidkupplung mit *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin und TBTU als Kupplungsreagenz in den Ester **36** überführt. **36** wurde anschließend mit NaOH verseift (Schema 21). Dabei entstand das Natriumsalz von 4-((Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoesäure (**37**), das durch Lösen in Wasser und Ansäuern mit HCl in die freie Carbonsäure überführt wurde.



Schema 21.

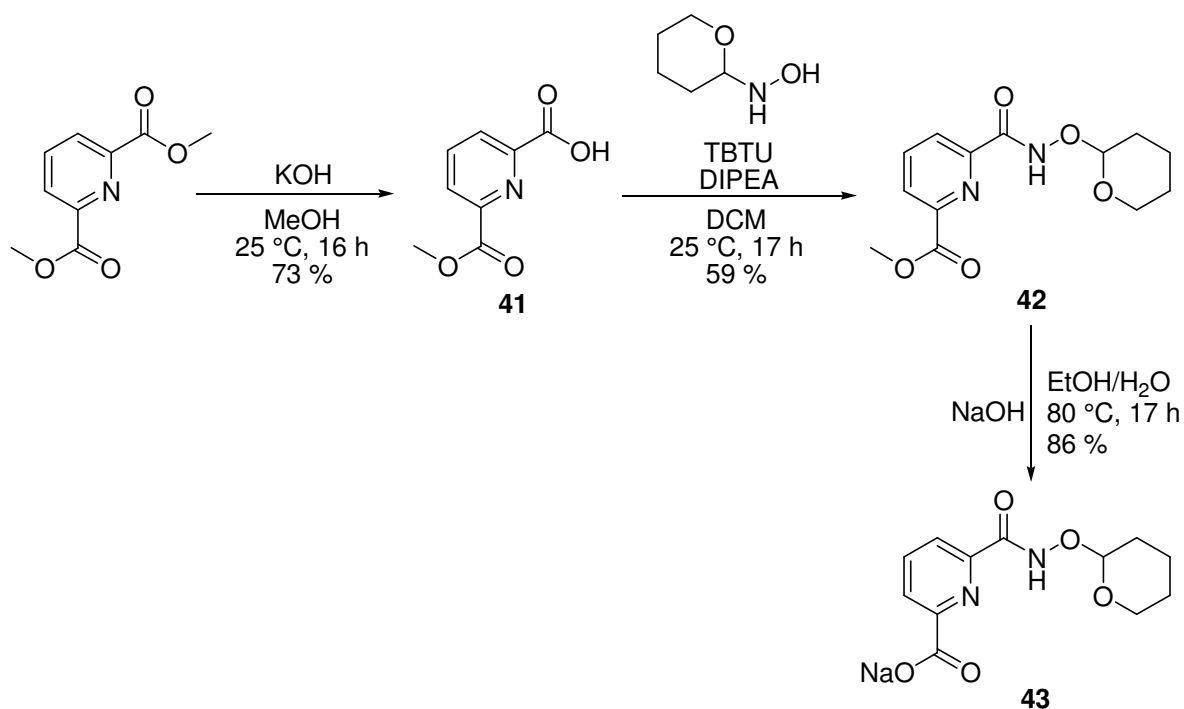
In einer ähnlichen Reaktion wurde das analoge Produkt **38** gewonnen. Allerdings wurde hier der Diester Dimethylphenyl-1,3-dicarboxylat als Ausgangsverbindung verwendet und in einem ersten Reaktionschritt in Gegenwart von KOH zu 3-(Methoxycarbonyl)benzoesäure (**39**) umgesetzt.<sup>[120]</sup> Anschließend erfolgte die Kupplung mit  $O$ -(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)hydroxylamin zu **40**. Zuletzt wurde die Estergruppe in Verbindung **40** mit KOH verseift und dadurch das Kaliumsalz des Zielprodukts **38** dargestellt (Schema 22). Das Kaliumsalz wurde auf analoge Weise wie **37** in die freie Carbonsäure überführt.



Schema 22.

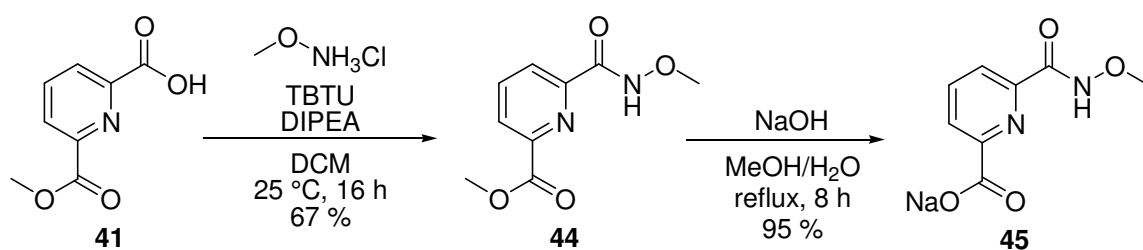
Auf ähnliche Art und Weise wurde außerdem eine von 2,6-Pyridindicarbonsäure abgeleitete Carbonsäure mit einer Hydroxamsäuregruppe dargestellt. Hierfür wurde Dimethylpyridin-2,6-dicarboxylat mit KOH in 6-(Methoxycarbonyl)picolinsäure (**41**) überführt.<sup>[121]</sup> Daraufhin

erfolgte die Kupplung mit *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin zur geschützten Hydroxamsäure **42**. Die Verseifung der verbliebenen Estergruppe lieferte schließlich das gewünschte Endprodukt **43** (Schema 23). Im Gegensatz zu den Produkten **37** und **38** konnte die Zielverbindung nicht durch Zugabe von HCl ausgefällt werden und wurde stattdessen als Natriumsalz isoliert.



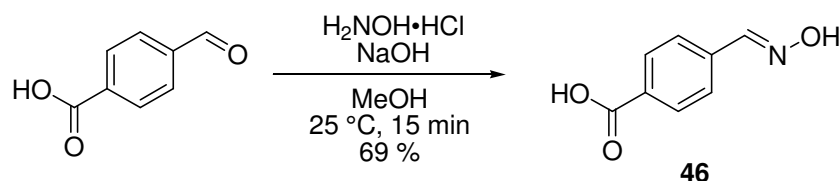
Schema 23.

Zu Referenzzwecken wurde außerdem eine entsprechende Carbonsäure synthetisiert, in der die Hydroxamsäuregruppe anstelle der THP-Schutzgruppe eine Methylgruppe trägt. Dazu wurde der Hemiester **41** mit Methoxyamin Hydrochlorid zu Methyl-6-(methoxycarbamoyl)picolinat (**44**) gekuppelt. Anschließend wurde **44** mit NaOH verseift, wodurch das gewünschte Produkt Natrium-6-(methoxycarbamoyl)picolinat (**45**) erhalten wurde (Schema 24). Wie im Falle von Verbindung **43** wurde das Produkt in Form des Natriumsalzes isoliert.



Schema 24.

Zusätzlich wurde auch eine funktionalisierte Carbonsäure mit einer Oximgruppe an Stelle der Hydroxamsäuregruppe synthetisiert. Dazu wurde Hydroxylamin Hydrochlorid mit 4-Formylbenzoesäure in Gegenwart von Natriumhydroxid zu 4-((Hydroxyimino)-methyl)benzoesäure (**46**) umgesetzt (Schema 25).<sup>[122]</sup>



Schema 25.

Die in diesem Kapitel vorgestellten Vorstufen mit Carbonsäuren dienen als Ausgangsverbindungen für die Kupplung mit dem Amin **C1x2**.

#### 4.3.3. Synthese von Scavengern durch Amidkupplung

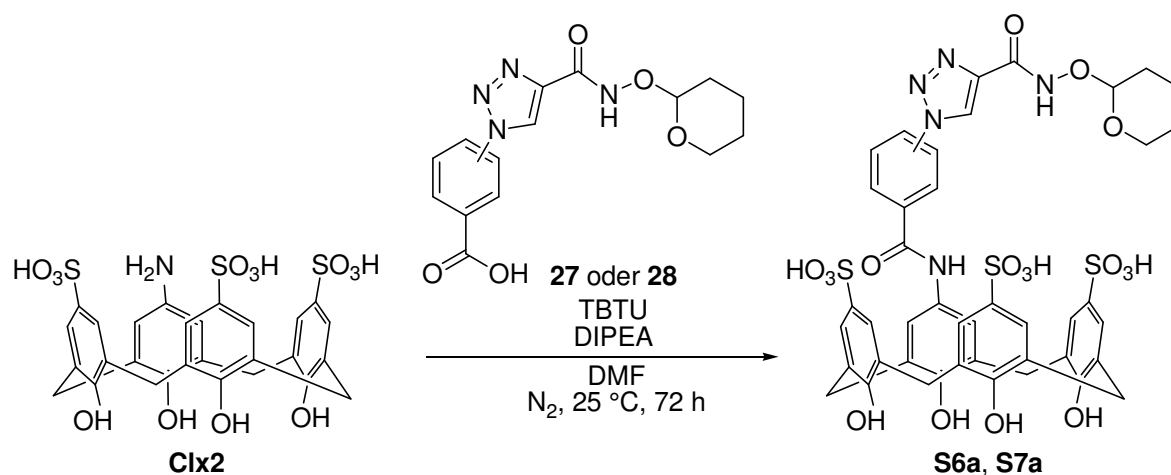
Zur Darstellung der Scavenger aus **C1x2** und den zuvor synthetisierten Carbonsäuren wurde ein mehrstufiges Verfahren verwendet. Der erste Schritt bestand in einer Amidkupplung, mit der das Calixaren und die Carbonsäure miteinander verknüpft wurden. Im Anschluss daran wurde die Schutzgruppe der Hydroxamsäure entfernt. Diese beiden Schritte wurden standardmäßig in einer sequentiellen Eintopfreaktion durchgeführt. Danach wurde das Produkt mittels HPLC aufgereinigt und optional mit einem Ionentauscher behandelt, um die Sulfonsäuregruppen des Calixarenrings in die entsprechenden Natriumsulfonate zu überführen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte kein universelles Verfahren entwickelt werden, das für die Synthese aller Scavenger gleichermaßen geeignet ist. Stattdessen wurden mehrere Reaktionsführungen angewendet, die sich jeweils für bestimmte Carbonsäurederivate als geeignet erwiesen.

#### Kupplung der Vorstufen **27** und **28**.

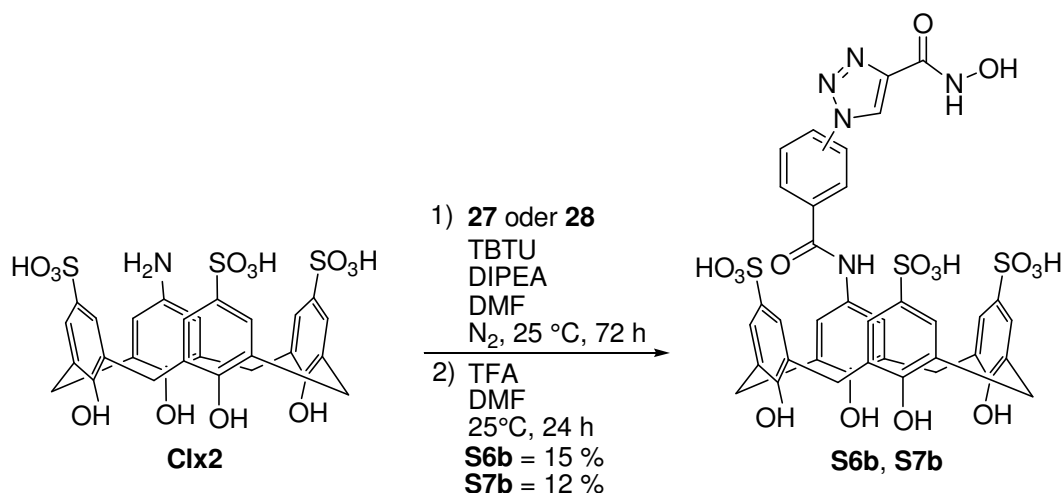
Zur Umsetzung der Vorstufen **27** und **28**, in denen ein Triazolinkler enthalten ist, wurde eine Testreaktion mit TBTU als Kupplungsreagenz durchgeführt. Mittels analytischer HPLC und MALDI-Massenspektrometrie konnte die Umsetzung der Edukte und die Bildung der gewünschten Produkte nachgewiesen werden. Daher wurden die Kupplungsreaktionen in präparativem Maßstab wiederholt (Schema 26).





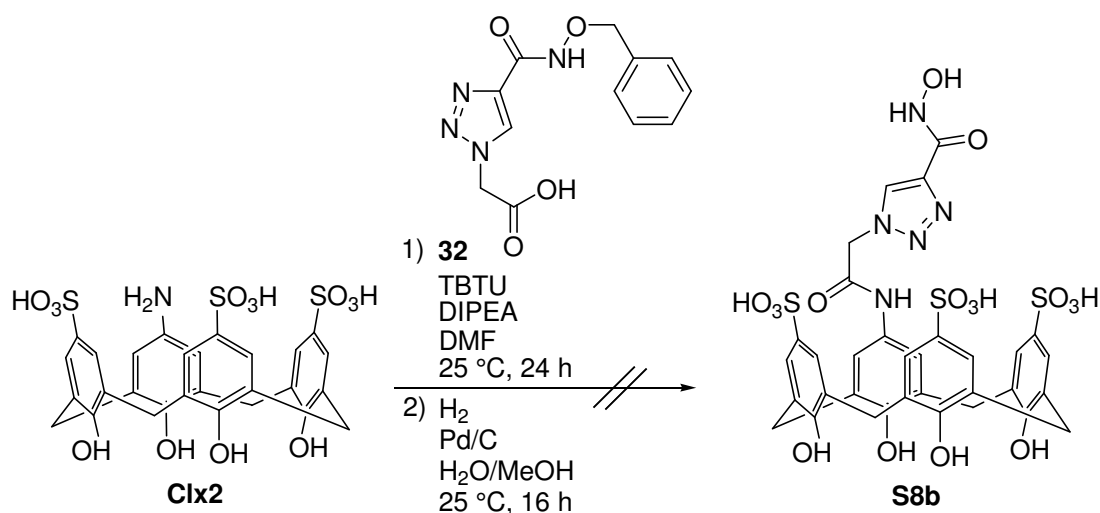
Schema 26.

Mit TBTU als Kupplungsreagenz, DIPEA als Base und DMF als Lösungsmittel gelang die Darstellung der Produkte **S6a** und **S7a**. Die Produkte wurden nicht isoliert, sondern zunächst jeweils unter Abspaltung der THP-Schutzgruppe in die freien Hydroxamsäuren überführt. Dazu wurde Trifluoressigsäure (TFA) zugegeben, wobei die Produkte **S6b** und **S7b** erhalten wurden (Schema 27). Durch Reinigung mittels HPLC konnten diese Scavenger in analysenreiner Form isoliert werden.



Schema 27.

Zur Darstellung von **S8b** ausgehend von **32** wurden die gleichen Kupplungsbedingungen angewendet. Anhand der Verfolgung des Reaktionsverlaufes mittels analytischer HPLC wurde ein vollständiger Umsatz der Edukte in der initialen Kupplungsreaktion detektiert. Für die anschließende Abspaltung der Benzylschutzgruppe wurde das Rohprodukt zusammen mit Palladium auf Aktivkohle in einer Wasser/Methanol-Mischung aufgenommen und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt (Schema 28).

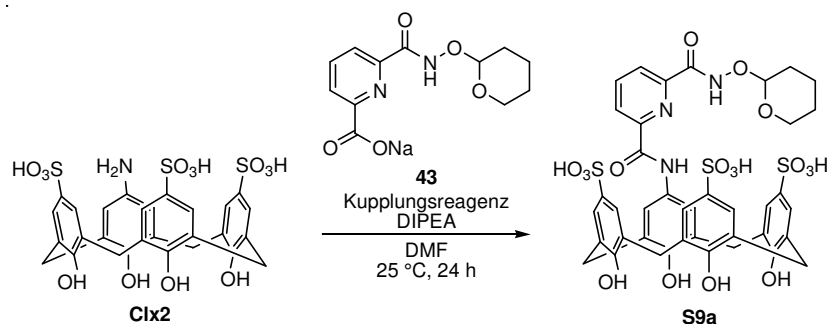


Schema 28.

Bei der Aufarbeitung mittels HPLC wurden allerdings nur verunreinigte Produkte erhalten. Die Produktfraktionen wurden mit <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie und MALDI-Massenspektrometrie untersucht. Im NMR-Spektrum wurde für keine der untersuchten Fraktionen ein Signalsatz erhalten, der einem Calixarenring zugeordnet werden kann. Zusätzlich wurde im Massenspektrum kein Signal beobachtet, das eine ausreichende hohe Masse zeigt, um einem Calixarenderivat zugeordnet zu werden. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Calixarenring unter den Bedingungen der Entschützungsreaktion zersetzt wurde. Der Scavenger **S8b** konnte auf die beschriebene Weise also nicht dargestellt werden.

#### Kupplung der Vorstufen **37**, **38**, **43**, **45** und **46**.

Mit dem Syntheseprotokoll, das zur Herstellung der Scavenger **S6b** und **S7b** verwendet wurde, gelang die Umsetzung anderer Carbonsäurevorstufen nicht. Aus diesem Grund wurden mehrere Testreaktionen durchgeführt, um ein Syntheseverfahren zu entwickeln, mit dem eine größere Bandbreite an Substraten zur Reaktion gebracht werden kann. Als Modellreaktion wurde die Amidkupplung zwischen **C1x2** und **43** in DMF gewählt. Als Erstes wurden verschiedene Kupplungsreagenzien eingesetzt und der Reaktionsverlauf mittels analytischer HPLC verfolgt (Tabelle 3).

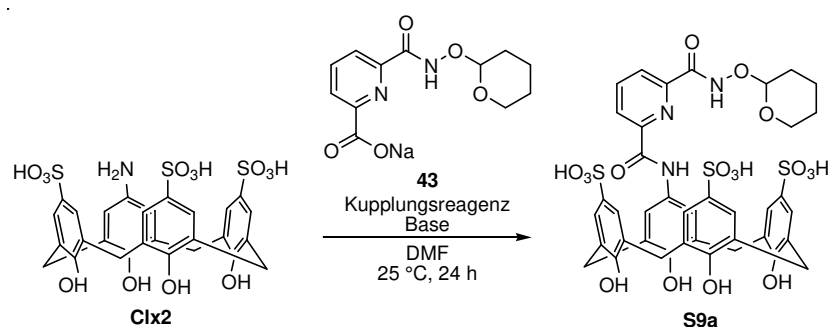
**Tabelle 3:** Testreaktionen zur Darstellung von **S9a** unter Verwendung unterschiedlicher Kupplungsreagenzien

Eintrag	Kupplungsreagenz	Umsetzung von Clx2
1 <sup>[a]</sup>	DCC	Nein
2 <sup>[a]</sup>	EDC·HCl	Nein
3 <sup>[a]</sup>	T3P	Nein
4 <sup>[a]</sup>	TBTU	Ja
5 <sup>[b]</sup>	PyCloP	Ja

Reaktionsbedingungen: [a]: **Clx2** (22.1  $\mu\text{mol}$ ), **43** (22.1  $\mu\text{mol}$ ), DIPEA (133  $\mu\text{mol}$ ), DMF (2 ml).  
 [b]: **Clx2** (22.1  $\mu\text{mol}$ ), **43** (44.2  $\mu\text{mol}$ ), DIPEA (133  $\mu\text{mol}$ ), DMF (2 ml).

In den durchgeführten Testreaktionen wurden als Kupplungsreagentien DCC, EDC·HCl, TBTU, T3P und PyCloP eingesetzt. Aus Tabelle 3 geht hervor, dass lediglich bei Verwendung von TBTU und PyCloP eine Umsetzung des Calixarens **Clx2** erfolgt (Einträge 4, 5). Mittels MALDI-Massenspektrometrie konnte nachgewiesen werden, dass unter diesen Bedingungen das gewünschte Produkt **S9a** gebildet wurde.

Als Nächstes wurde der Einfluss der Base untersucht. Typischerweise werden in Amidkupplungen Stickstoffbasen wie DIPEA verwendet.<sup>[123][124]</sup> Aufgrund seiner guten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln kann aber auch Caesiumcarbonat als Base eingesetzt werden.<sup>[125]</sup> Daher wurde eine Reihe von Reaktionen durchgeführt, in denen die Base variiert wurde (Tabelle 4). Es wurde beobachtet, dass bei der Verwendung von  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  keine Umsetzung des Calixarens **Clx2** erfolgt (Einträge 1, 2). Unter Verwendung von DIPEA als Base konnte mittels analytischer HPLC jedoch ein vollständiger Umsatz des Calixaren-Derivats detektiert werden.

**Tabelle 4:** Testreaktionen zur Darstellung von **S9a** unter Verwendung unterschiedlicher Kupplungsreagenzien und Basen.

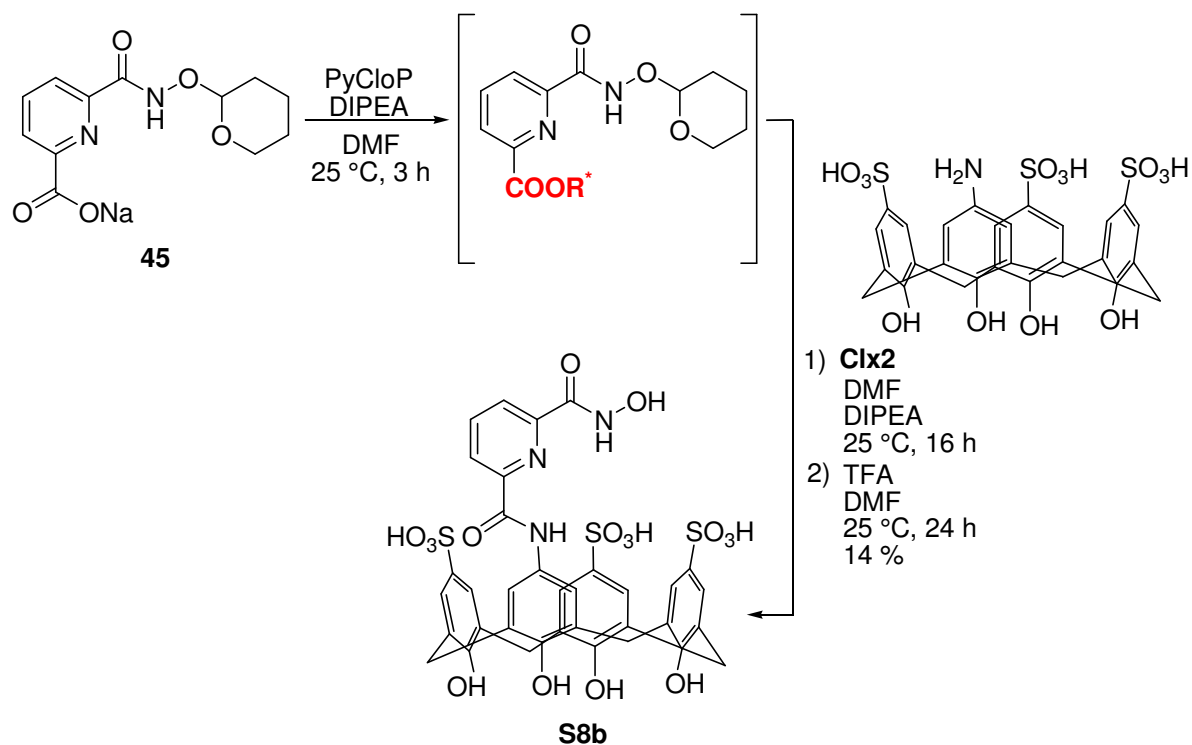
Eintrag	Base	Kupplungsreagenz	Umsetzung von Clx2
1 <sup>[a]</sup>	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	TBTU	Nein
2 <sup>[b]</sup>	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	PyCloP	Nein
3 <sup>[a]</sup>	DIPEA	TBTU	Ja
4 <sup>[b]</sup>	DIPEA	PyCloP	Ja

Reaktionsbedingungen: [a]: **Clx2** (22.1 μmol), **43** (22.1 μmol), Base (133 μmol), DMF (2 ml)  
 [b]: **Clx2** (22.1 μmol), **43** (44.2 μmol), Base (133 μmol), DMF (2 ml)

Darüber hinaus wurde beobachtet, dass in Anwesenheit von Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> die Abbauprodukte von TBTU entstehen, allerdings ohne dass eine Kupplung zwischen **Clx2** und **43** stattfindet. Daraufhin wurde eine weitere Testreaktion durchgeführt, in der 4-Aminophenylsulfonsäure an Stelle von **Clx2** mit **43** in Gegenwart von TBTU und Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> umgesetzt wurde. Hierbei wurde mittels analytischer HPLC eine Produktbildung beobachtet. Diese Ergebnisse deuten an, eine spezifische Reaktion zwischen **Clx2**, TBTU und Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> für das Ausbleiben der gewünschten Kupplungsreaktion verantwortlich ist, welche mit 4-Aminophenylsulfonsäure nicht stattfindet. Da auch bei Verwendung von PyCloP und Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> keine Umsetzung der Edukte beobachtet wurde, besteht Grund zur Annahme, dass auch in diesem Fall eine solche Nebenreaktion abläuft.

Um die Gefahr einer Reaktion zwischen **Clx2** und dem Kupplungsreagenz, auch bei Verwendung von DIPEA als Base, zu minimieren, wurde in den folgenden Umsetzungen die Carbonsäure zunächst präaktiviert. Das heißt, dass die Carboxylate zunächst in Abwesenheit von **Clx2** mit dem Kupplungsreagenz umgesetzt wurden. Erst dann wurde **Clx2** zugegeben, um die Kupplungsreaktion zu ermöglichen. Auf diese Weise wurde gewährleistet, dass bei Zugabe von **Clx2** kein freies Kupplungsreagenz mehr vorliegt. Als Kupplungsreagenz wurde das reaktivere PyCloP verwendet, da es in den Testreaktionen mit DIPEA als Base zuverlässigere Ergebnisse lieferte als TBTU.

Nachdem die Amidkupplung abgelaufen war, wurde TFA zugegeben, wobei die THP-Gruppe abgespalten und die freie Hydroxamsäure erhalten wurde (Schema 29).

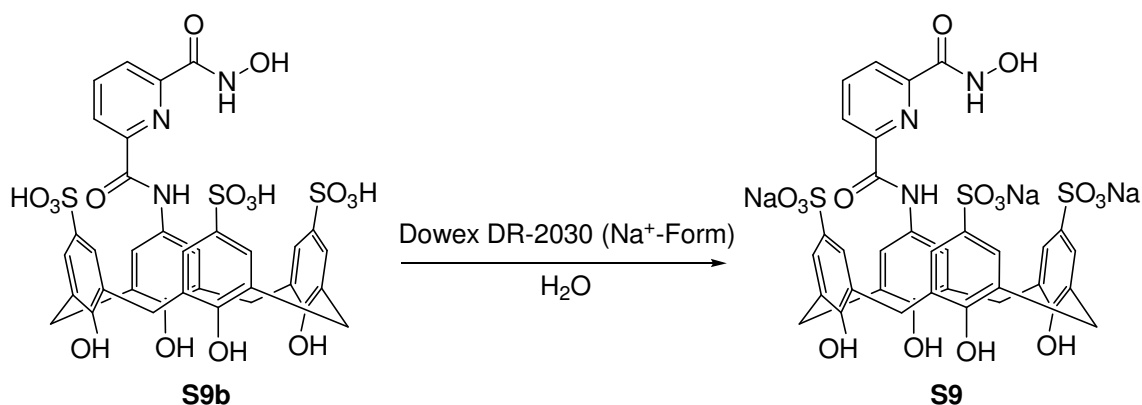


COOR\* = aktivierte Carbonsäure

Schema 29.

In der Literatur wurde berichtet, dass PyCloP mit DMF unter Bildung von Chloriminiumionen reagieren kann.<sup>[126]</sup> Diese können mit aromatischen Resten im Substrat unter Formylierung reagieren. Produkte, die aus dieser Reaktion hervorgehen, wurden in den durchgeführten Synthesen nicht beobachtet. Außerdem wurden zwei Äquivalente der Carbonsäuren pro Äquivalent Kupplungsreagenz verwendet, um einerseits diese Nebenreaktion zu unterdrücken. Andererseits sollte auf diese Weise die Bildung von Anhydriden als aktivierte Carbonsäurederivate ermöglicht werden, die in einer nachfolgenden Reaktion mit **Clx2** zu den gewünschten Scavengern abreagieren.<sup>[127]</sup>

Bei einer Untersuchung der Langzeitstabilität der so dargestellten Scavenger wurde festgestellt, dass die Verbindungen sich innerhalb von 1-3 Monaten zersetzen. Die massenspektrometrische Analyse lieferte Hinweise, dass es auch im Feststoff zur Hydrolyse der Hydroxamsäure zur entsprechenden Carbonsäure kommt. Hierfür wurde der saure Charakter der Sulfonsäuregruppen verantwortlich gemacht.<sup>[114]</sup> Darum wurde nach der Reinigung mittels HPLC ein zusätzlicher Aufarbeitungsschritt eingefügt, in dem die SO<sub>3</sub>H-Gruppen mit einem Ionentauscher in die entsprechenden Natriumsulfonate überführt wurden (Schema 30).

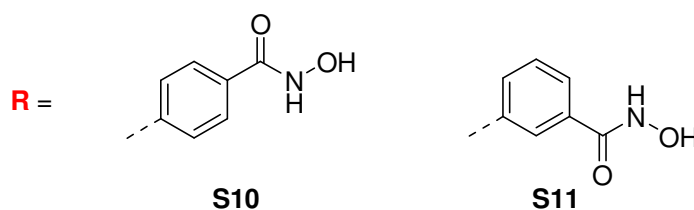
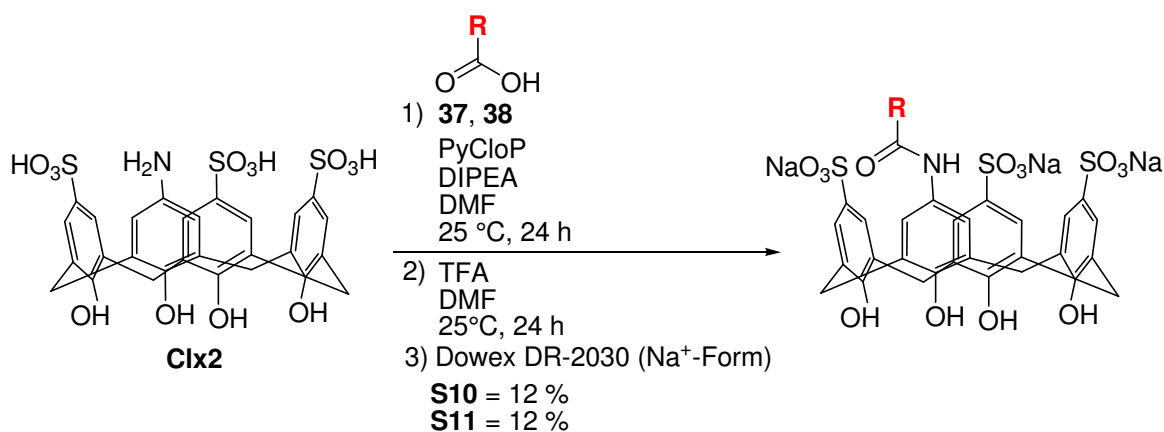


Schema 30.

Mit diesem Verfahren wurde **S9** analysenrein erhalten. Dieses und die anderen dargestellten Natriumsalze erwiesen sich als lagerstabil.

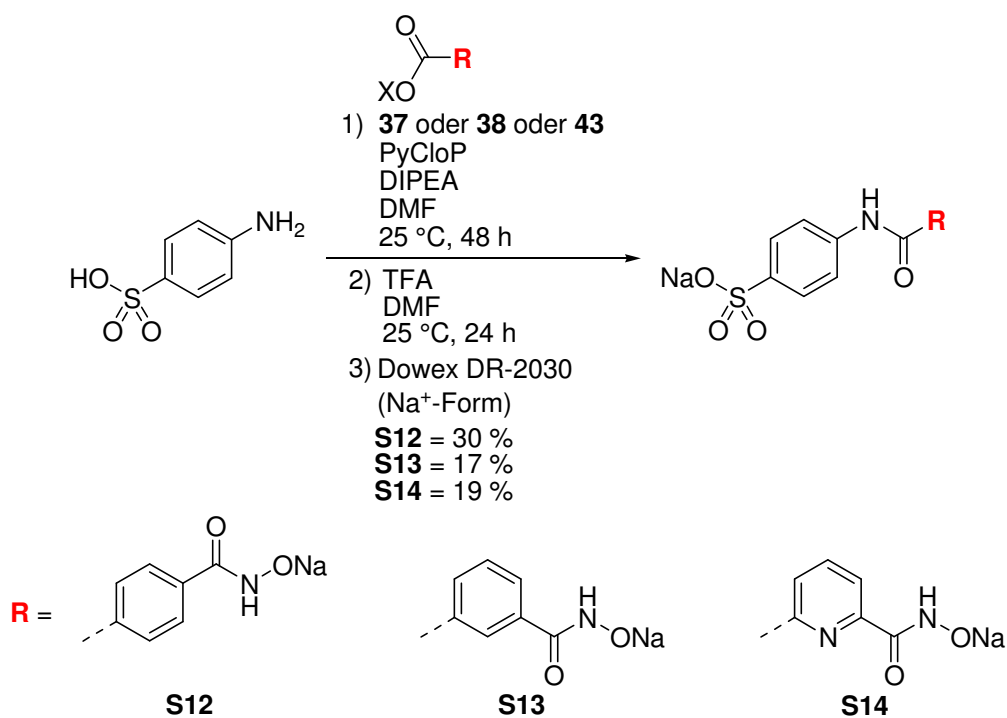
Aus den Ergebnissen lässt sich folgende Methode ableiten, die zur Umsetzung weiterer Carbonsäurevorstufen verwendet wurde:

Zunächst wurde die jeweilige Vorstufe in einer Amidkupplung mit **Clx2** in Anwesenheit von PyCloP und DIPEA verknüpft. Nachdem diese Reaktion abgelaufen war, wurde TFA zugegeben, um die THP-Schutzgruppe zu entfernen und die Hydroxamsäure freizusetzen. Anschließend wurde das Rohprodukt mittels HPLC gereinigt. Zuletzt wurde das erhaltene Produkt mit einem Ionentauscher behandelt, um die freien Sulfonsäuregruppen in die entsprechenden Natriumsulfonate zu überführen. Mit diesem Syntheseprotokoll gelang die Darstellung weiterer Scavenger:



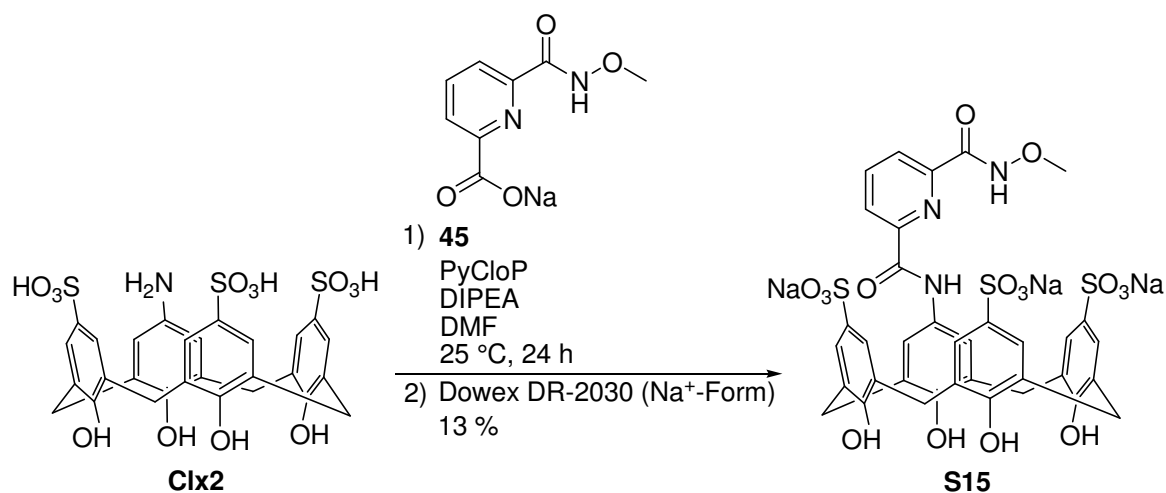
Schema 31.

Die Vorstufen **37** und **38** wurden zu **S10** und **S11** umgesetzt (Schema 31). Darüber hinaus wurde auf diese Weise auch eine Serie von Referenzverbindungen hergestellt, in denen (4-Aminophenyl)sulfonsäure anstelle von **C1x2** eingesetzt wurde (Schema 32). Hierbei wurde **37** in **S12**, **38** in **S13** und **43** in **S14** überführt.



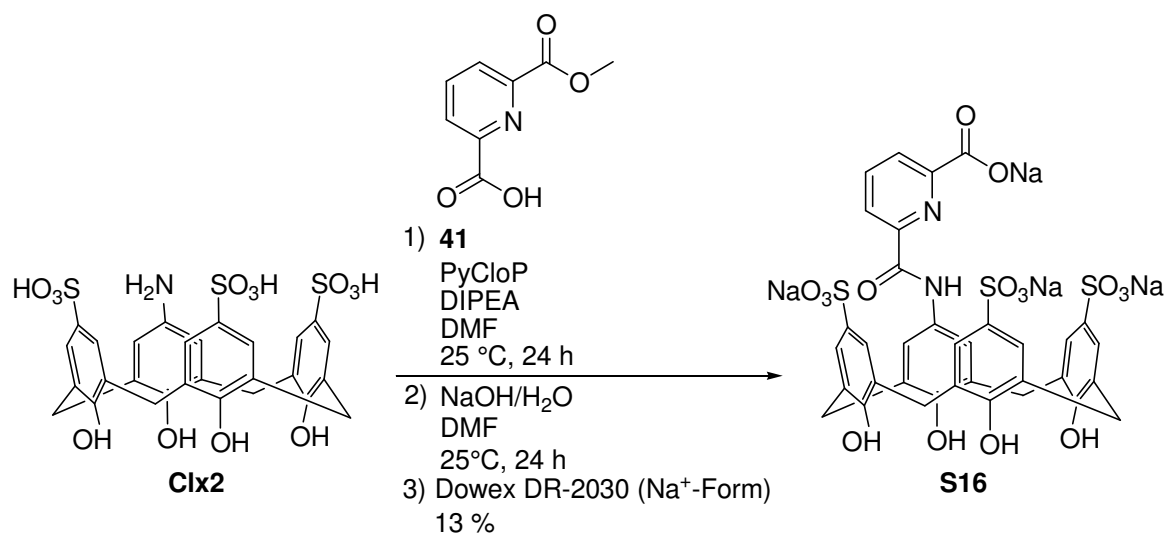
Schema 32.

Eine weitere Referenzverbindung wurde durch Kupplung von 6-(Methoxycarbonyl)picolinat (**45**) mit **C1x2** dargestellt. Da in **45** keine THP-Schutzgruppe enthalten ist, konnte die Entschützung mit TFA bei der Synthese von **S15** entfallen (Schema 33).



Schema 33.

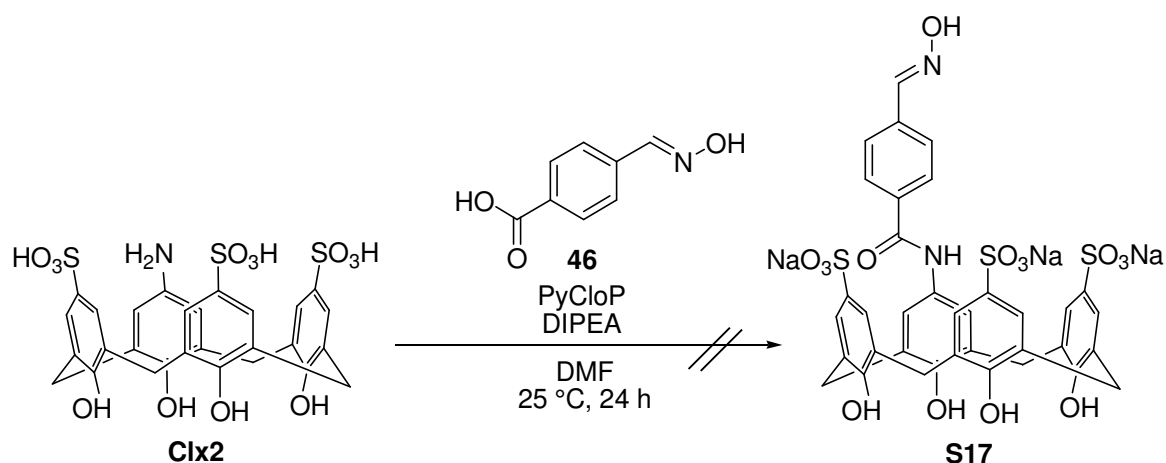
Zusätzlich wurde eine Referenzverbindung mit einer Carbonsäuregruppe hergestellt. Dazu wurde 6-(Methoxycarbonyl)picolinsäure (**41**) mit **Clx2** gekuppelt und der enthaltene Ester anschließend mit Natriumhydroxid verseift (Schema 34). Als Produkt wurde **S16** analysenrein erhalten.



Schema 34.

Außerdem sollte 4-((Hydroxyimino)methyl)benzoesäure (**46**) mit dem Standardverfahren zu dem oximhaltigen Scavenger **S17** umgesetzt werden (Schema 35).



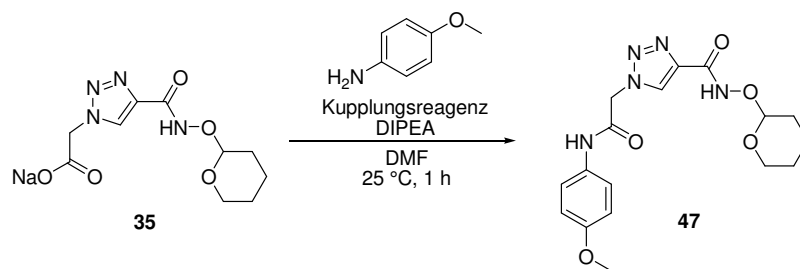


Schema 35.

Nach der Aufreinigung mittels HPLC konnte jedoch nur ein verunreinigtes Rohprodukt isoliert werden. Das  $^1\text{H-NMR}$  des erhaltenen Feststoffes deutet an, dass es sich hierbei um ein Gemisch handelt, in dem neben dem gewünschten Produkt eine weitere Verbindung vorliegt, in der die Oximgruppe zum Aldehyd hydrolysiert wurde.

#### Kupplung der Vorstufe 35.

Die Umsetzung von **35** mit **Clx2** zu **S8** gelang mit dem Standardverfahren nicht. Auch nach drei Tagen Reaktionszeit konnte keine Umsetzung der Edukte festgestellt werden. Daher wurden zuerst an einem Modellsystem unterschiedliche Kupplungsreagenzien getestet und der jeweilige Reaktionsverlauf chromatographisch verfolgt. Anstelle von **Clx2** wurde 4-Methoxyanilin verwendet und mit **35** umgesetzt. Als Kupplungsreagenzien wurden TBTU und PyCloP untersucht, wobei für jedes Reagenz ein Ansatz mit Präaktivierung durchgeführt wurde und ein Ansatz, bei dem die Säure, das Amin und das Kupplungsreagenz gleichzeitig zum Reaktionsgemisch gegeben wurden (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Testreaktionen zur Umsetzung der Vorstufe **35** mit 4-Methoxyanilin.

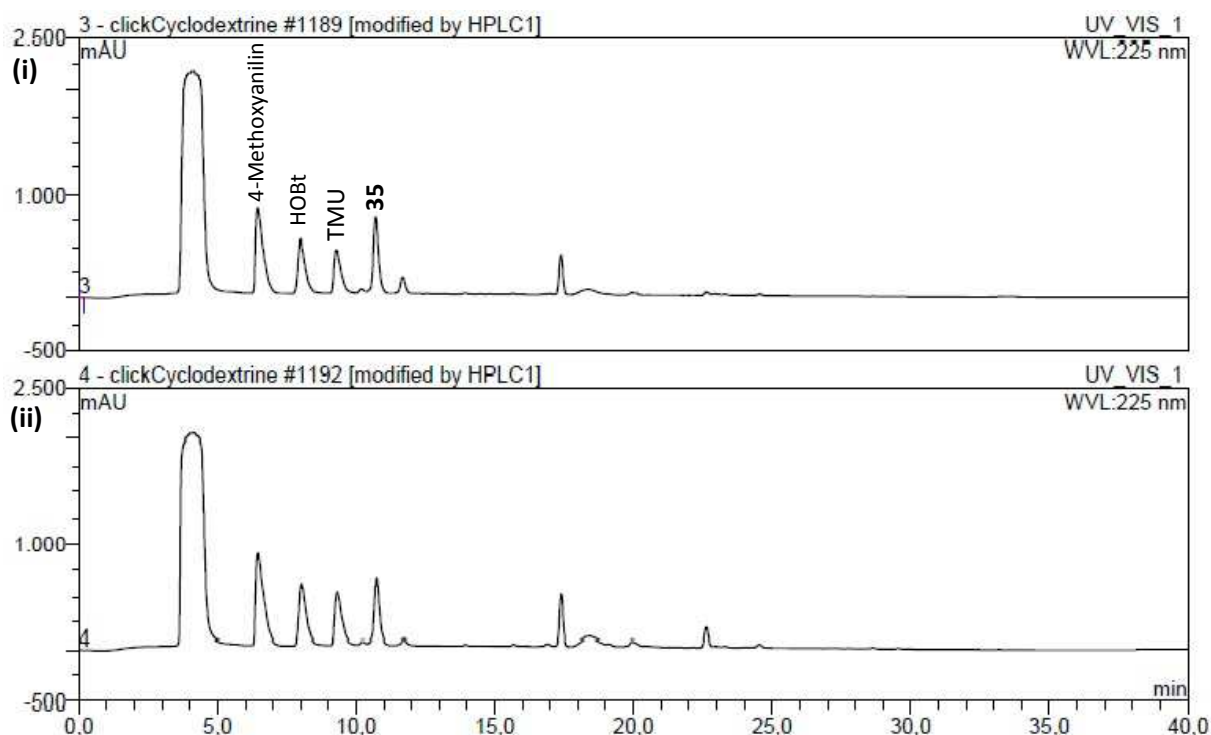
Eintrag	Kupplungsreagenz	Methode	Umsetzung von 4-Methoxyanilin
1 <sup>[a]</sup>	TBTU	Ohne Präaktivierung	Ja
2 <sup>[a]</sup>	TBTU	Präaktivierung	Nein
3 <sup>[b]</sup>	PyCloP	Ohne Präaktivierung	Ja
4 <sup>[b]</sup>	PyCloP	Präaktivierung	Nein

Reaktionsbedingungen: [a] 4-Methoxyanilin (81.2  $\mu\text{mol}$ ), **35** (81.2  $\mu\text{mol}$ ), TBTU (81.2  $\mu\text{mol}$ ), DIPEA (244  $\mu\text{mol}$ ), DMF (2 ml); [b] 4-Methoxyanilin (81.2  $\mu\text{mol}$ ), **35** (162  $\mu\text{mol}$ ), PyCloP (81.2  $\mu\text{mol}$ ), DIPEA (244  $\mu\text{mol}$ ), DMF (2 ml).

Wie in Tabelle 5 gezeigt, wurde ein Umsatz von 4-Methoxyanilin nur dann registriert, wenn die Reaktion ohne Präaktivierung durchgeführt wurde (Einträge 1, 3). Die bisherige Strategie der Präaktivierung dagegen führt im Falle der Vorstufe **35** nicht zum Erfolg (Einträge 2, 4). Bei der Verwendung von TBTU unter Präaktivierung wurden im Chromatogramm der Reaktionsmischung die Abbauprodukte von TBTU detektiert, obwohl keine Kupplung von 4-Methoxyanilin an **35** erfolgte (Abbildung 18).

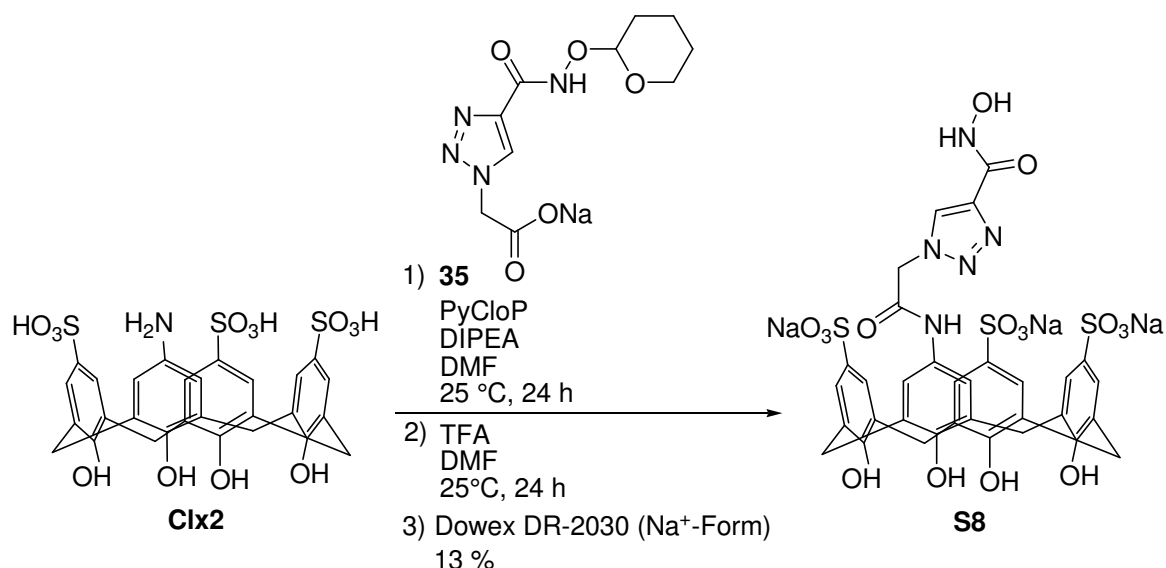
Die Reaktion unter Verwendung von PyCloP lieferte das gleiche Ergebnis. Auch hier konnte kein Ablauf der Reaktion detektiert werden, wenn das Carboxylat zuerst mit dem Kupplungsreagenz aktiviert und dann erst das Amin zugegeben wird (Eintrag 4).

Löst man hingegen alle Reaktanden in DMF und gibt anschließend DIPEA hinzu, gelingt die Umsetzung von **35** mit 4-Methoxyanilin sowohl mit TBTU als auch mit PyCloP und das entsprechende Produkt **47** kann massenspektrometrisch im Reaktionsgemisch nachgewiesen werden (Einträge 1, 3). Als Nächstes wurde dementsprechend versucht, dieses Ergebnis auf die Synthese des gewünschten Scavengers **S8** zu übertragen.



**Abbildung 18:** Chromatogramme der Reaktionsmischung in der Umsetzung von 4-Methoxyanilin und **35** mit TBTU als Kupplungsreagenz: **(i)** zeigt das Chromatogramm der Reaktionsmischung nach Aktivierung von **35** mit TBTU für 3 h und anschließender Zugabe von Methoxyanilin. Es ist zu erkennen, dass zu diesem Zeitpunkt noch alle Edukte vorliegen, jedoch schon auch Hydroxybenzotriazol (HOBt) und Tetramethylharnstoff (TMU) gebildet wurden. **(ii)** zeigt das Chromatogramm der Reaktionsmischung nach 18 h. Eine Umsetzung der Edukte erfolgte nur in geringem Umfang.

Aus Gründen der Löslichkeit musste der Ablauf der Zugabe an Reaktanden noch abgewandelt werden. Letzten Endes konnte die gewünschte Kupplung durchgeführt werden, wenn zunächst **C1x2**, **35** und DIPEA in DMF vorgelegt und mit einer Lösung des Kupplungsreagenzes in DMF versetzt wurden. Dabei wurde die Umsetzung der Edukte sowohl bei der Verwendung von TBTU als auch von PyCloP als Kupplungsreagenz beobachtet. Die Entschützung der Hydroxamsäuregruppe erfolgte durch Zugabe von TFA. Die Aufarbeitung des Produkts erfolgte durch HPLC und anschließende Überführung in das Natriumsalz mittels Ionenauschersäule (Schema 36). Auf diese Weise konnte der gewünschte Scavenger **S8** dargestellt werden.



Schema 36.

#### 4.3.4. Diskussion

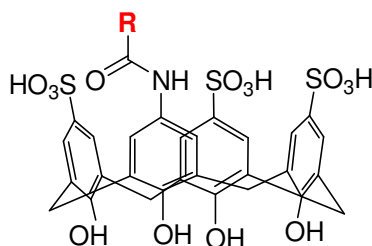
Die benötigten Vorstufen konnten erfolgreich synthetisiert werden. Lediglich bei dem Essigsäurederivat **29** ergaben sich Schwierigkeiten, die durch Anpassung der Reaktionsführung umgangen werden konnten.

Ausgehend von **C1x2** konnten durch Amidkupplungen sechs Calix[4]aren-Derivate mit Hydroxamsäureeinheiten sowie fünf Referenzverbindungen erfolgreich hergestellt und vollständig charakterisiert werden. Die Darstellung eines oximhaltigen Scavengers hingegen gelang nicht. Die spektroskopischen Daten weisen darauf hin, dass die Oximgruppe unter den sauren Bedingungen während der Aufarbeitung hydrolysiert wurde.

Die Darstellung der hydroxamsäurehaltigen Scavenger erfolgte über ein dreistufiges Verfahren. Im ersten Schritt wurde die Verknüpfung der jeweiligen Vorstufe mit **C1x2** mittels Amidkupplung durchgeführt. Der zweite Schritt bestand in der Zugabe von TFA zur Entfernung der THP-Schutzgruppe. Anschließend wurden die Verbindungen mittels HPLC gereinigt und zuletzt durch Behandlung mit einem Ionentauscher in die entsprechenden Natriumsulfonate überführt. Während die Entschützung, die Reinigung und die Neutralisation der Sulfonsäuregruppen für alle Scavenger unter den gleichen Bedingungen durchgeführt werden konnten, mussten für die initiale Amidkupplung unterschiedliche Syntheseverfahren entwickelt werden.

Die Umsetzung der Vorstufen **27** und **28**, in denen eine Triazolgruppe enthalten ist, konnte mit TBTU als Kupplungsreagenz durchgeführt werden (Tabelle 6).

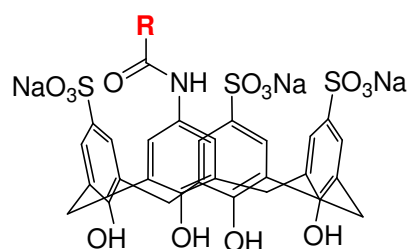
**Tabelle 6:** Scavenger auf Calix[4]arenbasis, die über eine Amidkupplung mit TBTU als Kupplungsreagenz dargestellt werden konnten.



Eintrag	Verwendete Vorstufe	Kupplungsreagenz	R (Scavenger)
1	<p style="text-align: center;"><b>27</b></p>	TBTU	<p style="text-align: center;"><b>S6b</b></p>
2	<p style="text-align: center;"><b>28</b></p>	TBTU	<p style="text-align: center;"><b>S7b</b></p>

Außerdem gelang die Umsetzung von **C1x2** mit der benzylgeschützten Vorstufe **29**. Allerdings führte hier die hydrogenolytische Abspaltung der Schutzgruppe nicht zum gewünschten Scavenger **S8b**. Stattdessen weist die NMR-spektroskopische Untersuchung der isolierten Produkte darauf hin, dass sich der Calixarenring unter den reduktiven Bedingungen der Entschützung zersetzt hat.

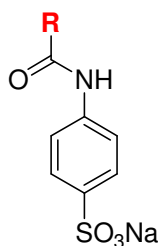
Die anderen Scavenger wurden durch Verwendung von PyCloP als Kupplungsreagenz erhalten (Tabelle 7). Die Kontrolle des Reaktionsverlaufes mittels analytischer HPLC lieferte Hinweise darauf, dass es zu einer Nebenreaktion zwischen **C1x2** und dem verwendeten Kupplungsreagenz kommen kann, die den Reaktionsfortschritt behindert. Darum erwies sich bei den aromatischen Carbonsäuren ein Syntheseprotokoll als günstig, bei dem die Vorstufen präaktiviert wurden und dann erst der Zusatz von **C1x2** erfolgt. Unter diesen Bedingungen wird verhindert, dass der beobachtete Abbau des Kupplungsreagenzes, der durch **C1x2** vermittelt wird, in größerem Umfang stattfindet. Mit diesem Syntheseprotokoll gelang die Umsetzung von **C1x2** mit den in Tabelle 7 gezeigten Carbonsäuren.

**Tabelle 7:** Scavenger auf Calix[4]arenbasis, die über eine Amidkupplung mit PyCloP als Kupplungsreagenz dargestellt werden konnten.

Eintrag	Verwendete Vorstufe	Kupplungsreagenz	R (Scavenger)
1	<p><b>37</b></p>	PyCloP	<p><b>S10</b></p>
2	<p><b>38</b></p>	PyCloP	<p><b>S11</b></p>
3	<p><b>41</b></p>	PyCloP	<p><b>S16</b></p>
4	<p><b>43</b></p>	PyCloP	<p><b>S9</b></p>
5	<p><b>45</b></p>	PyCloP	<p><b>S15</b></p>

Außerdem konnte auf diese Weise (4-Aminophenyl)sulfonsäure mit **37**, **38** und **43** zu Referenzverbindungen ohne Calixarenring gekuppelt werden (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Referenzverbindungen auf Basis von (4-Aminophenyl)sulfonsäure, die über eine Amidkupplung mit PyCloP als Kupplungsreagenz dargestellt werden konnten.

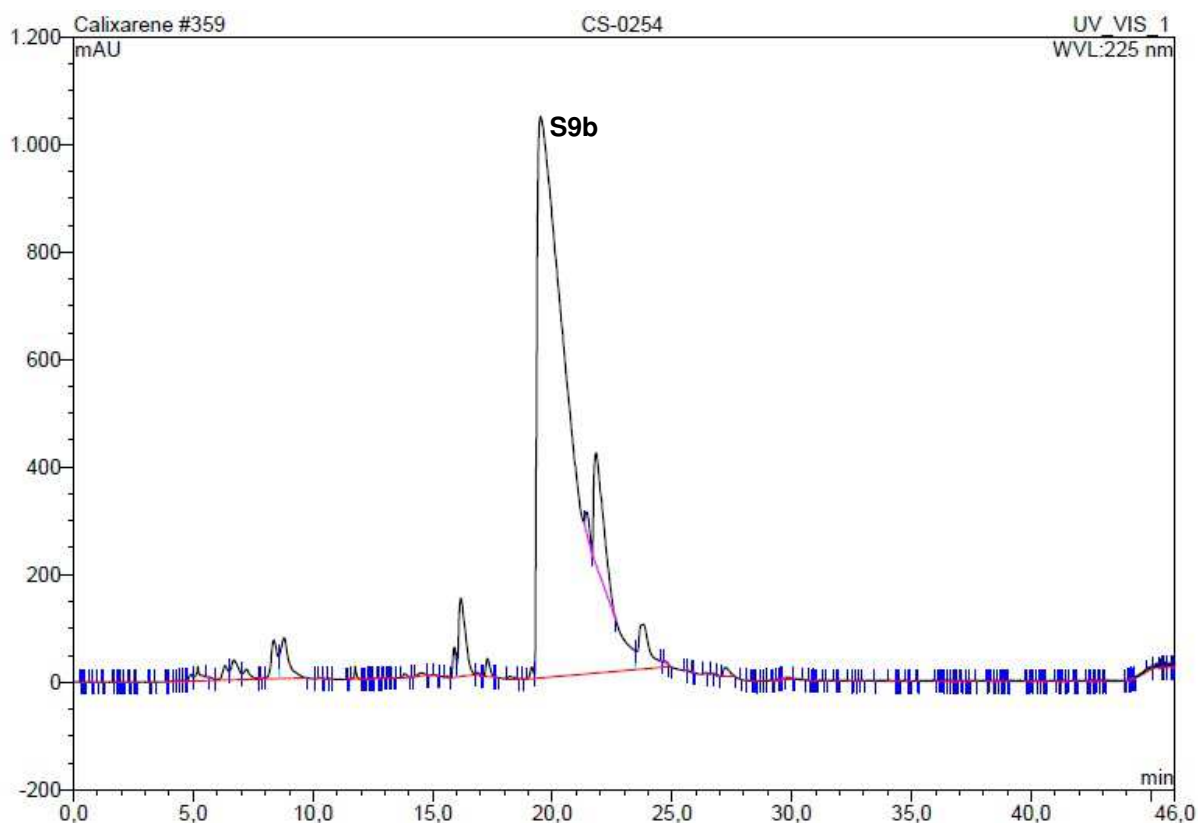


Eintrag	Verwendete Vorstufe	Kupplungsreagenz	R (Scavenger)
1	<p><b>37</b></p>	PyCloP	<p><b>S12</b></p>
2	<p><b>38</b></p>	PyCloP	<p><b>S13</b></p>
3	<p><b>43</b></p>	PyCloP	<p><b>S14</b></p>

Zur Umsetzung der aliphatischen Carbonsäure **35** mit **C1x2** eignete sich das oben beschriebene Verfahren nicht. In Testreaktionen, deren Reaktionsverlauf mittels analytischer HPLC verfolgt wurde, zeigte sich, dass während der Präaktivierung das Kupplungsreagenz abgebaut wurde. Der Grund hierfür wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht gefunden. Die Synthese des Scavengers **S8** konnte jedoch ohne Präaktivierung der Carbonsäure erfolgreich durchgeführt werden.

Die erarbeiteten Verfahren zur Kupplung von **C1x2** mit Carbonsäurederivaten führten zwar zu den gewünschten Ergebnissen, dennoch bieten sie Potential für Verbesserungen.

Zunächst fällt auf, dass ähnlich wie bei den zuvor durchgeführten Suzuki-Kupplungen durchweg geringe Ausbeuten erzielt wurden (7-15%). Ein Grund dafür könnte in der aufwendigen Aufarbeitung liegen, die auch die Reinigung mittels präparativer HPLC beinhaltet. Ein typisches Chromatogramm eines Rohprodukts ist in Abbildung 19 gezeigt. Hierbei handelt es sich um den Scavenger **S9b**, der durch eine Amidkupplung mit PyCloP erhalten wurde.



**Abbildung 19:** Chromatogramm der Aufreinigung des Rohprodukts, in dem Scavenger **S9b** enthalten ist.

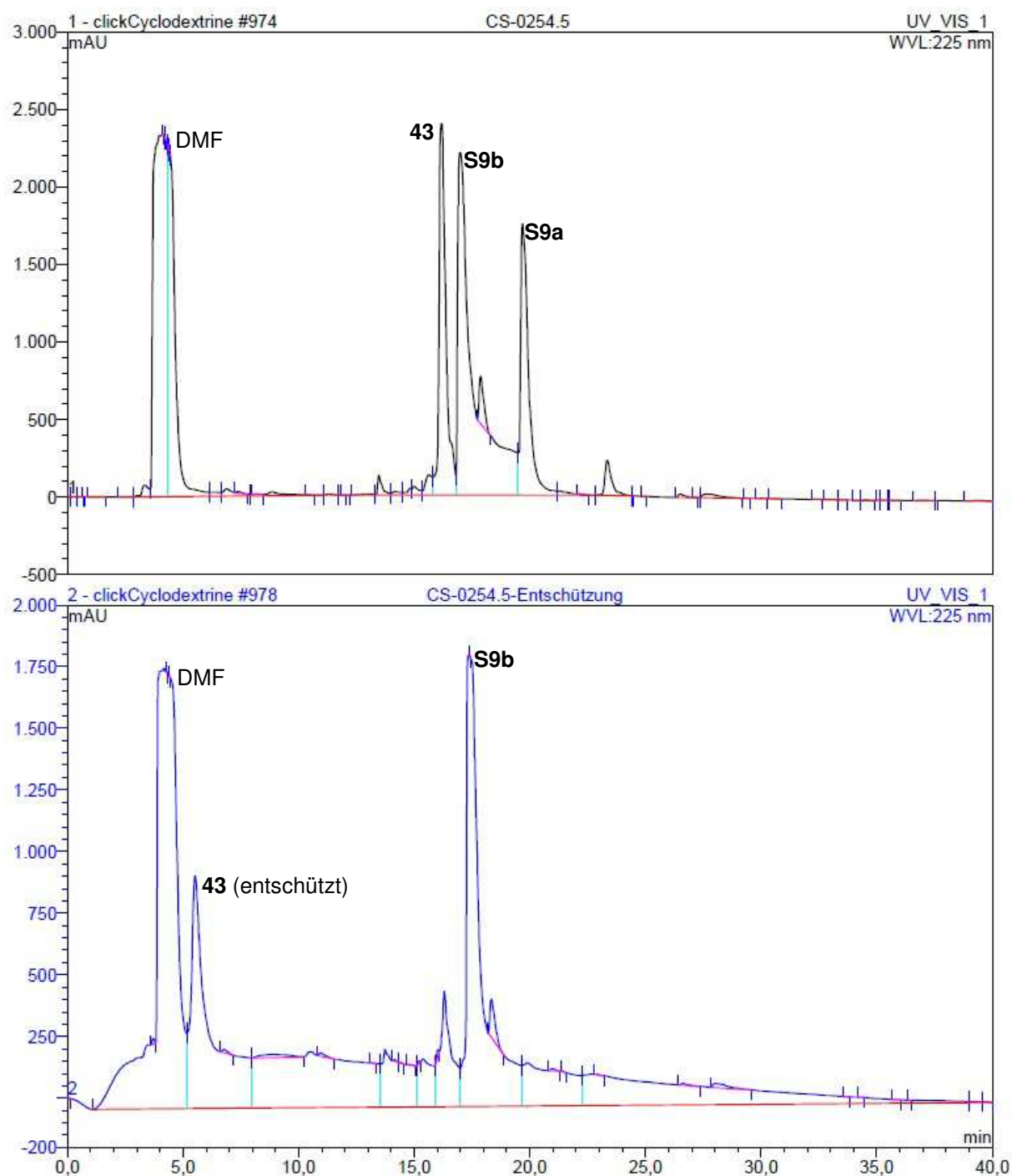
Wie man sieht, überlagert der Produktpeak mit weiteren Komponenten, weswegen nur ein Teil davon für die Isolierung des Produkts herangezogen werden konnte. Das wiederum führt zu Ausbeuteverlusten.

Außerdem ist es denkbar, dass es während der Kupplungsreaktion zur Bildung von Nebenprodukten kommt. Allerdings wurde jede Reaktion mittels analytischer HPLC überwacht. Hierbei zeigte sich, dass die entsprechenden Scavenger als Hauptprodukt entstanden und nur geringe Mengen an Nebenprodukten gebildet wurden.

In Abbildung 20 sind beispielhaft Chromatogramme dargestellt, die bei der Kupplung von **43** mit **C1x2** zum Scavenger **S9a** und der nachfolgenden Entschützung zu **S9b** erhalten wurden. Das erste Chromatogramm zeigt die Zusammensetzung der Reaktionsmischung nachdem die Kupplungsreaktion abgelaufen war. Wie man sieht, enthält die Lösung drei Hauptkomponenten. Dabei handelt es sich um überschüssiges Edukt **43**, den THP-geschützten Scavenger **S9a** sowie das entschützte Produkt **S9b**. Die Bildung von **S9b** ist darauf zurückzuführen, dass zur Trennung mittels HPLC ein saures Laufmittel verwendet wurde und daher die THP-Schutzgruppe von **S9a** während der chromatographischen Trennung schon teilweise abgespalten wurde.



#### 4. Eigene Ergebnisse



**Abbildung 20:** Chromatogramme für die Überwachung des Reaktionsverlaufes zur Darstellung von **S9b**.

Das zweite Chromatogramm zeigt die Zusammensetzung der Reaktionsmischung nach der Zugabe von TFA. Die Entschützung war hier vollständig abgelaufen und die Lösung enthielt als Hauptkomponente den Scavenger **S9b**. Darüber hinaus wurde das überschüssige Edukt **43** ebenfalls entschützt. In beiden Chromatogrammen ist deutlich zu erkennen, dass nur wenige Nebenprodukte in geringer Menge in den Reaktionsgemischen vorhanden waren.

Die geringen Ausbeuten der Reaktionen können daher nicht auf einen sehr uneinheitlichen Reaktionsverlauf zurückgeführt werden.

Betrachtet man die Ergebnisse der Amidkupplungen, so kann festgestellt werden, dass diese Methode bessere Ergebnisse liefert als Übergangsmetall-katalysierte Verfahren. Durch diese Synthesemethode war erstmals die Darstellung substituierter sulfonierter Calix[4]arene möglich, die eine Hydroxamsäure enthalten. Solche Verbindungen waren zuvor in der Literatur noch nicht beschrieben oder hergestellt worden.

Allerdings konnte keine universelle Reaktionsvorschrift erhalten werden, die es gestattet, sowohl aliphatische als auch aromatische Carbonsäuren umzusetzen. Die Veränderung der Reihenfolge in welcher die Reaktanden zugegeben wurden, führte dennoch zur Kupplung beider Verbindungsklassen mit **C1x2**. Das primäre synthetische Ziel der vorliegenden Arbeit – die Darstellung polysulfonierter Calix[4]arene mit Hydroxamsäuresubstituenten – konnte durch die Nutzung von Amidkupplungsreaktionen erreicht werden.

#### 4.4. Synthese von Scavengern mittels Additionsreaktionen

Das Calixaren **C1x2** sollte ebenfalls als Ausgangsverbindung für die Synthese von Scavengern verwendet werden, in denen der Calixarenring und der Substituent mit der Hydroxamsäuregruppe über Harnstoffeinheiten miteinander verbunden sind (Abbildung 21).<sup>[128][129]</sup>

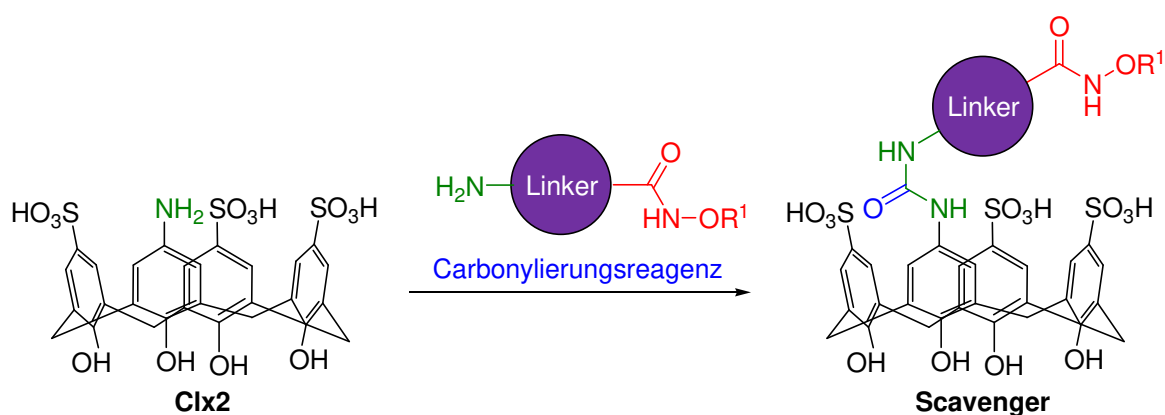
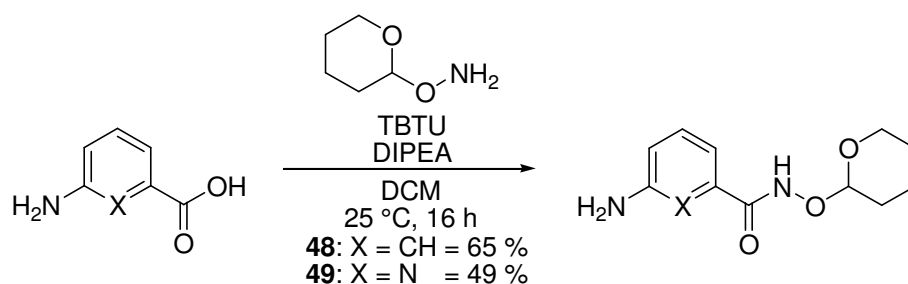


Abbildung 21: Darstellung von Scavengern unter Ausbildung einer Harnstoffeinheit.

Für diese Synthesen wurden Vorstufen benötigt, die neben einer geschützten Hydroxamsäuregruppe eine Aminogruppe enthalten, welche mit Hilfe eines Carbonylierungsreagens in ein Isocyanat überführt werden kann. An die Isocyanatgruppe kann dann die Aminogruppe von **C1x2** unter Ausbildung einer Harnstoffgruppe addieren.<sup>[130][131]</sup>

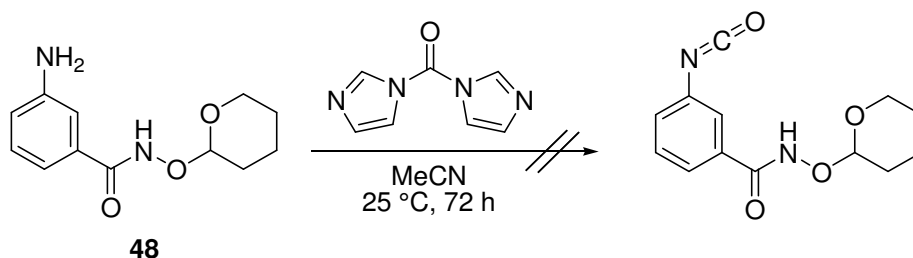
##### 4.4.1. Synthese der Vorstufen

Ausgehend von 3-Aminobenzoesäure und 6-Aminopicolinsäure wurden die gewünschten Vorstufen 3-Amino-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)benzamid (**48**) und 6-Amino-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)picolinamid (**49**) dargestellt (Schema 37).



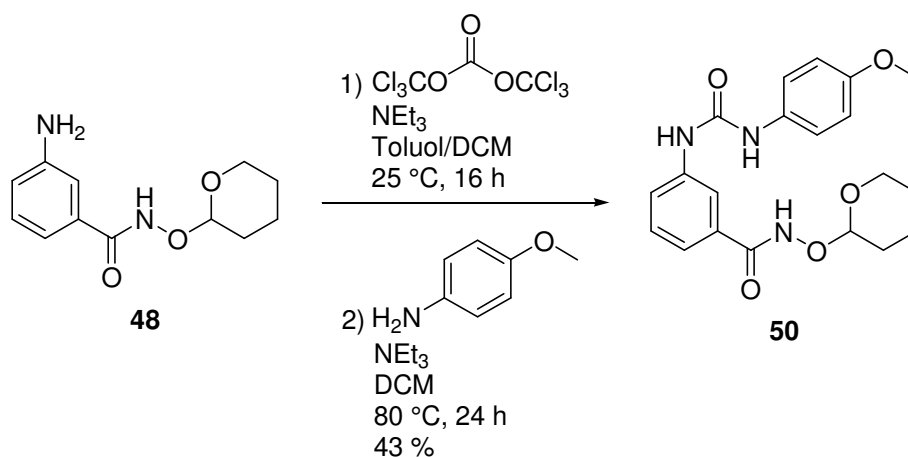
Schema 37.

Dazu wurden die Edukte unter Verwendung von TBTU mit *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin gekuppelt. Die Endprodukte konnten mithilfe säulenchromatographischer Reinigung analysenrein erhalten werden. Im nächsten Schritt wurde versucht, die Aminogruppe in eine Isocyanatgruppe zu überführen. Dazu wurde **48** in Acetonitril gelöst und 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) zugegeben.<sup>[132]</sup> Obwohl dünnschichtchromatographisch der vollständige Umsatz von **48** detektiert wurde, konnte im IR-Spektrum der isolierten Verbindung keine Bande für eine Isocyanatgruppe gefunden werden. Das bedeutet, dass das gewünschte Isocyanat nicht erhalten wurde (Schema 38). Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Verbindung wurde allerdings kein Signal für die Aminogruppe von **48** gefunden. Das könnte bedeuten, dass eine Reaktion zwischen dem Amin und dem Carbonylierungsreagenz stattgefunden hat. Dabei wurde aber nicht das gewünschte Isocyanat erhalten, sondern ein Carbaminsäurederivat, in dem eine Imidazoleinheit an der Carbonylgruppe verbleibt.



Schema 38.

Ebenso konnte bei Umsetzung von **48** mit CDI in Gegenwart von 4-Methoxyanilin als Surrogat für **C1x2** die Bildung eines entsprechenden Harnstoffes nicht beobachtet werden. Allerdings wurde bei der Reaktion von **48** mit Triphosgen in einer Toluol/Dichlormethan-Mischung gefolgt von Zugabe von 4-Methoxyanilin das gewünschte Produkt **50** gebildet (Schema 39).<sup>[133]</sup>

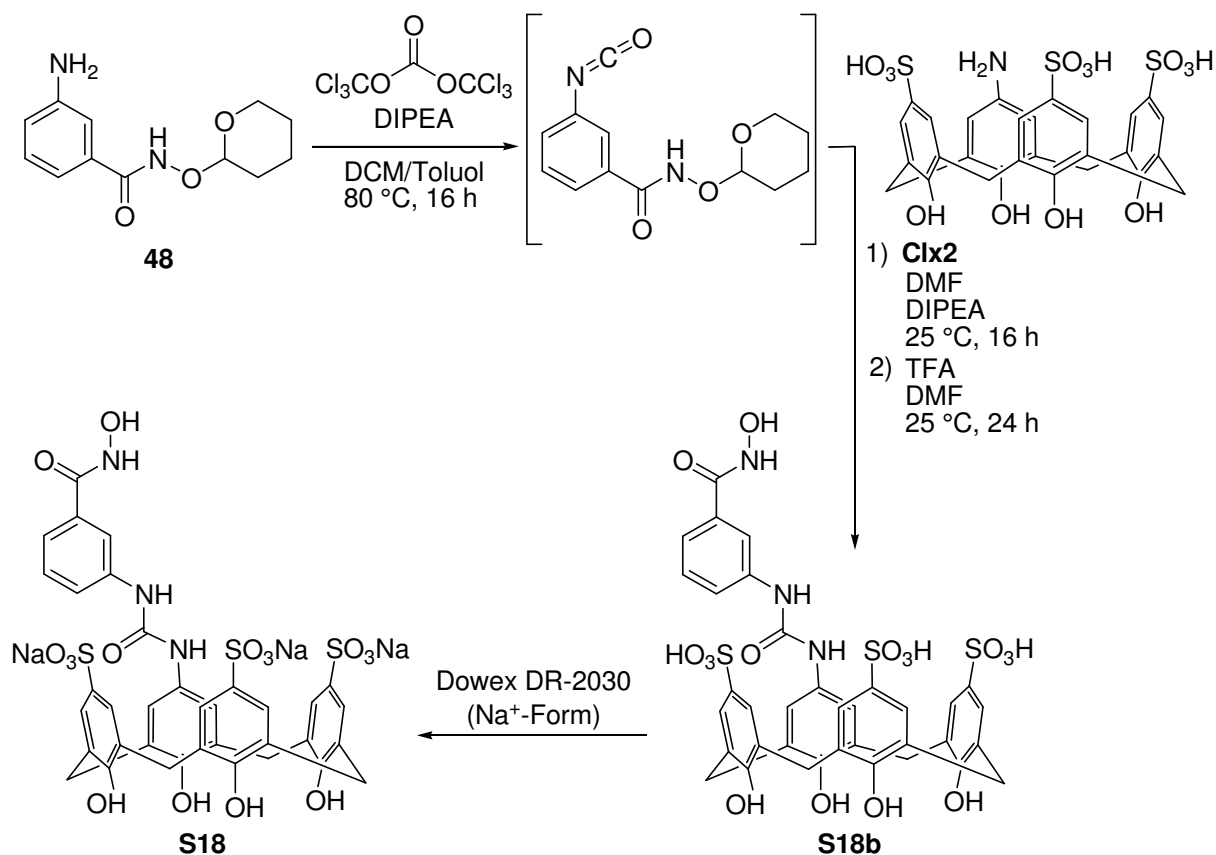


Schema 39.

Somit stand ein Verfahren zur Verfügung, um zwei Amine unter Ausbildung einer Harnstoffgruppe zu kuppeln, welches nun auf die Darstellung von Scavengern mit Calixareneinheiten übertragen werden sollte.

#### 4.4.2. Synthese von Scavengern unter Ausbildung einer Harnstoffgruppe

Zur Kupplung der Vorstufe **48** mit **Clx2** wurde **48** zunächst – analog zur Kupplung mit 4-Methoxyanilin – durch Reaktion mit Triphosgen in das entsprechende Isocyanat überführt. Im Unterschied zur Testreaktion wurde hierzu DIPEA anstelle von Triethylamin als Base verwendet. Weiterhin wurde **Clx2** aus Löslichkeitsgründen zusammen mit DIPEA in DMF suspendiert. Diese Suspension wurde anschließend zur Isocyanatlösung gegeben. Die weitere Umsetzung (Entschützung, Neutralisation) und Aufarbeitung sollte in Anlehnung an die Synthese der Scavenger mit Amidgruppe erfolgen (Schema 40).



Schema 40.

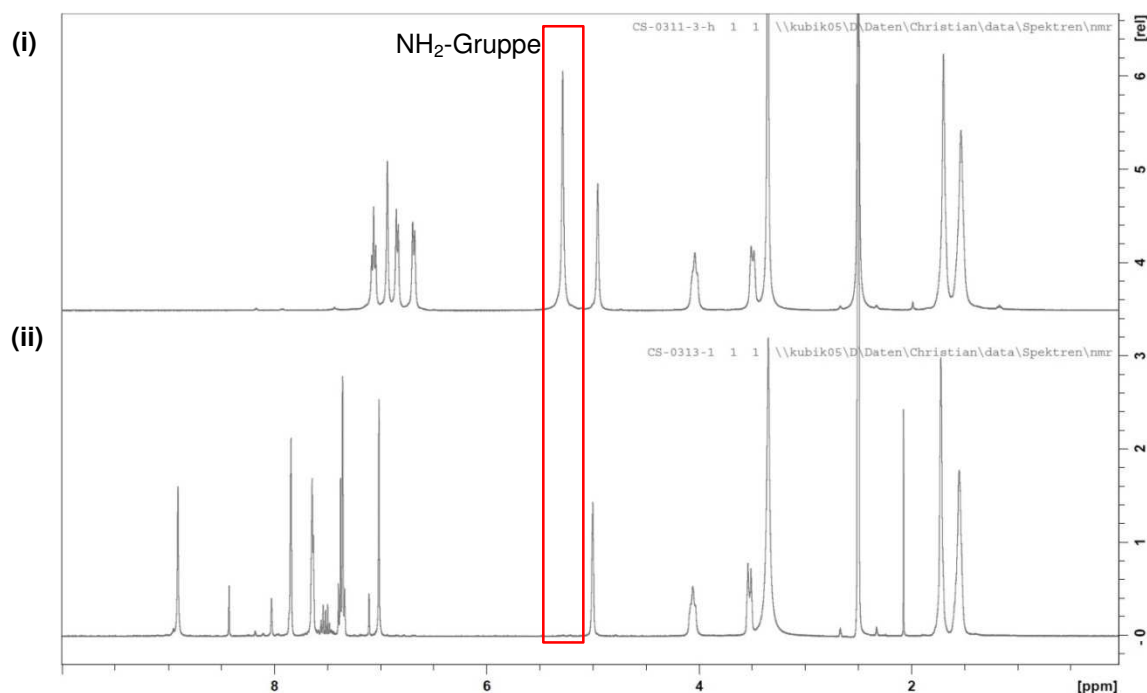
Das bei dieser Reaktion erhaltene Rohprodukt ist allerdings in allen untersuchten Lösungsmitteln (Wasser, Methanol, Ethanol, THF, DMF, DMSO) nur schlecht löslich. Aus diesem Grund konnte es nur in geringen Mengen mittels HPLC aufgereinigt werden, so dass lediglich etwa 4 mg **S18b** gewonnen wurden. Das genügte zwar um durch MALDI-Massenspektrometrie und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie die Identität des Produkts zu belegen,

allerdings reichte die Menge an Substanz weder für die Überführung in das Natriumsalz aus, noch für die Untersuchung zur Wirksamkeit gegenüber NOPs in München.

Bei der Verknüpfung des Pyridinderivats **49** mit **C1x2** wurde ebenfalls ein schwer lösliches Rohprodukt erhalten, so dass auch hier die Aufreinigung an der geringen Löslichkeit scheiterte.

#### 4.4.3. Diskussion

Die Darstellung der Amine **48** und **49**, die als Vorstufen verwendet wurden, verlief erfolgreich. Bei der Umsetzung von **48** mit CDI wurde jedoch keine Bildung des gewünschten Isocyanats beobachtet, obwohl CDI bekanntermaßen entsprechende Umsetzungen unter milden Bedingungen erlaubt.<sup>[134]</sup> Allerdings zeigte die Kontrolle des Reaktionsverlaufs, dass eine Reaktion von **48** stattgefunden hat. Darüber hinaus war im NMR-Spektrum des Rohprodukts kein Signal mehr zu sehen, das der NH<sub>2</sub>-Gruppe zugeordnet werden kann (Abbildung 22).



**Abbildung 22:** Darstellung der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren (DMSO-d<sub>6</sub>) von **48** (i) und dem Rohprodukt, das bei der Umsetzung von **48** mit CDI erhalten wurde (ii). Die Protonen der Aminogruppe im unteren Spektrum sind nicht mehr zu erkennen (roter Kasten).

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine Reaktion an der Aminogruppe von **48** stattgefunden hat. Da allerdings im IR-Spektrum keine Bande für die Isocyanatgruppe beobachtet wurde und die Signale im NMR-Spektrum zwischen 7 und 9 ppm keiner Struktur sicher zugeordnet werden konnten, bleibt die Natur dieser Reaktion spekulativ.

Unter Verwendung von Triphosgen als Carbonylierungsreagenz konnte **48** in das gewünschte Produkt **50** überführt werden. Dieses Ergebnis wurde auf die Synthese der gewünschten Calix[4]arendervative übertragen. Dabei wurden zunächst in einem Eintopfverfahren die Vorstufen **48** und **49** mit Triphosgen in Gegenwart einer Base zur Reaktion gebracht. Anschließend wurde eine Suspension des Amino-Calixarens **C1x2** zugegeben, wodurch die gewünschten Scavenger mit einer Harnstoffgruppe als Linker gebildet werden sollten. Nachdem die Kupplungsreaktionen abgelaufen waren, erfolgte jeweils die Abspaltung der THP-Schutzgruppe durch Zugabe von Trifluoressigsäure zum Reaktionsgemisch.

Die Synthese der Scavenger mit Harnstoffgruppe **S18b** und **S19b** gelang anhand dieser Reaktionsführung was die Analyse durch NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie belegt. Jedoch zeigten beide Produkte eine derart geringe Löslichkeit in allen getesteten Lösungsmitteln, dass eine Aufreinigung mittels HPLC nicht durchgeführt werden konnte. Aus diesem Grund wurden auch keine ausreichenden Mengen der Produkte erhalten, um damit Aktivitätsstudien betreiben zu können.

Ausgehend von den Ergebnissen, die in Kapitel 4.4. beschrieben wurden, kann festgehalten werden, dass die Synthese von Harnstoffen – ausgehend von zwei unterschiedlichen Aminen und einem Carbonylierungsreagenz – grundsätzlich zur Darstellung von NOP-Scavengern auf Calix[4]aren-Basis geeignet ist. Einer Anwendung in der Praxis standen allerdings die ungenügende Löslichkeit der erhaltenen Produkte im Weg, die allerdings bei anderen Verbindungen möglicherweise weniger stark ausgeprägt sein kann.

## 4.5. Ergebnisse der Aktivitätsuntersuchungen und Diskussion

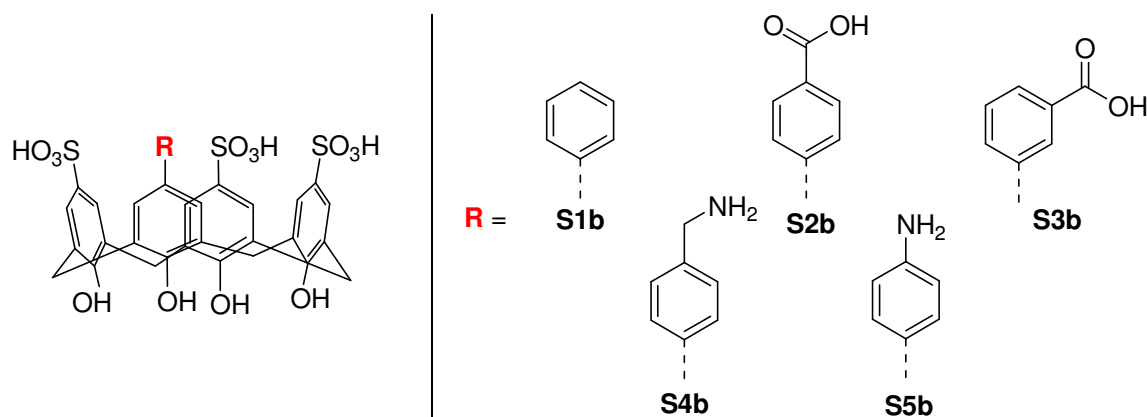
Die potentiellen Scavenger, deren Synthese in den Kapiteln 4.2., 4.3. und 4.4. beschrieben wurde, wurden an das Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr in München geschickt. Dort wurden die Verbindungen von Frau Anne Bierwisch in einem modifizierten Ellman-Assay auf ihre Fähigkeit untersucht, neurotoxischer Organophosphonate zu entgiften.<sup>[135][92]</sup> Insgesamt wurden dazu dreizehn Calixarenderivate und drei Referenzverbindungen ohne Calixarenring getestet. Das primäre Ziel dieser Arbeit lag – wie bereits in den Kapiteln 2 und 3 dargestellt – in der Synthese eines Scavengers, der in der Lage ist, VX zu entgiften. Deshalb wurde bei der Untersuchung das Hauptaugenmerk auf die Charakterisierung des Einflusses der Scavenger auf die Entgiftung von VX gelegt. Als Kennzahl für die Effizienz der Entgiftung wurde die Halbwertszeit des Abbaus des entsprechenden NOPs unter den Bedingungen des verwendeten enzymatischen *in-vitro* Assays ermittelt.

Alle Aktivitätsmessungen wurden in einer TRIS-HCl-Pufferlösung bei einem pH-Wert von 7.4 und 37 °C durchgeführt. Bei Scavengern, in denen die Sulfonsäuregruppen am Calixarenring in protonierter Form vorliegen, wurden der Lösung 3 Äquivalente Natriumhydroxid zugegeben, um Natriumsulfonate zu erzeugen. Daher macht es keinen Unterschied, ob der jeweilige Scavenger ursprünglich als Natriumsulfonat oder als freie Sulfonsäure synthetisiert wurde.

Im Rahmen des Screenings erwiesen sich für die Verbindungen **S9** und **S11** als effiziente Scavenger für VX (Abbildung 25). Es wurde eine Halbwertszeit für die Entgiftungsreaktion von etwa 4 Minuten im Falle von **S9** bestimmt. Daher wurden in München zahlreiche weitere Studien durchgeführt, die die Wechselwirkungen von V-Stoffen mit den Calixarenen und den Abbaumechanismus betreffen. Die Ergebnisse dieser Studien wurden publiziert. Die wesentlichen Inhalte dieser Publikation werden in Kapitel 4.5.1 zusammengefasst.

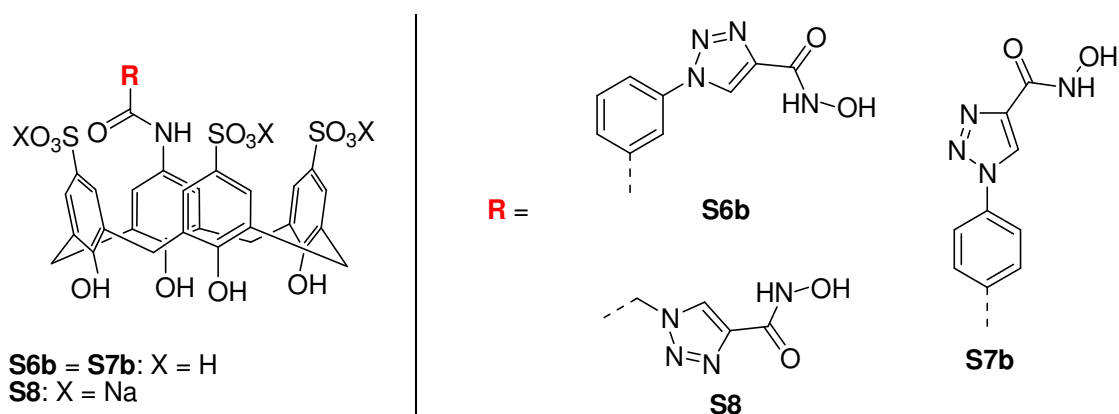
Die Calixaren-Derivate, die aus Suzuki-Kupplungen hervorgegangen sind, wurden ebenfalls auf ihre Eignung zur Entgiftung von VX untersucht. Zur besseren Übersicht sind diese Verbindungen noch einmal in Abbildung 23 aufgeführt. Keiner der Scavenger, die mit Suzuki-Kupplungen dargestellt wurden, zeigt eine signifikante Aktivität zum Abbau von VX. Es wurden für alle Verbindungen Halbwertszeiten >120 min für die VX-Entgiftung ermittelt. Keine dieser Verbindungen enthält eine funktionelle Gruppe mit ausgeprägter bzw. ausreichend hoher Nukleophilie, was wahrscheinlich die Ursache für die fehlende Aktivität ist.





**Abbildung 23:** Übersicht der Scavenger, die durch eine Suzuki-Kupplung dargestellt wurden.

In Abbildung 24 sind weitere Verbindungen aufgeführt, die über eine Amidkupplung dargestellt wurden und in denen die Hydroxamsäure an einen 1*H*-1,2,3-Triazolring gebunden ist. Die erhaltenen Halbwertszeiten zur Entgiftungsreaktion von VX sind in Tabelle 9 aufgeführt.



**Abbildung 24:** Übersicht der Scavenger, die aus einer Amidkupplung hervorgegangen sind und eine 1*H*-1,2,3-Triazol-Einheit als verbrückende Gruppe beinhalten.

**Tabelle 9:** Halbwertszeiten der VX-Abbaureaktion in Gegenwart der entsprechenden Scavenger

Scavenger	Halbwertszeit / min
<b>S6b</b>	>120
<b>S7b</b>	>120
<b>S8</b>	66

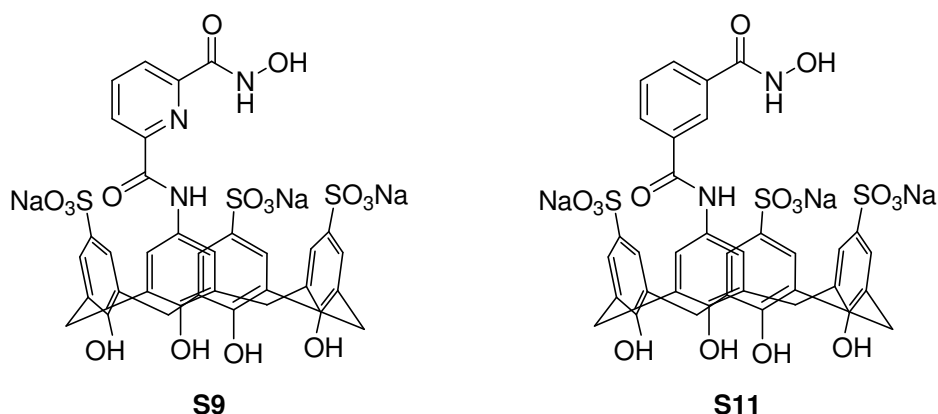
Wie man erkennt, wird die VX-Entgiftung nur von **S8** in signifikantem Maßstab beeinflusst. Alle diese Verbindungen enthalten die Hydroxamsäuregruppe in 4-Position eines 1*H*-1,2,3-

Triazolrings, sie unterscheiden sich aber in der Struktur der Linker (Abbildung 24). Die kurze CH<sub>2</sub>-Gruppe in **S8** scheint die Hydroxamsäuregruppe in eine für die Reaktion mit VX geeignete Position zu bringen, während die aromatischen Linker in **S6b** und **S7b** möglicherweise zu groß und/oder zu starr sind. Somit zeigt sich, dass die räumliche Struktur der Substituenten am Calixarenring einen signifikanten Einfluss auf die Abbaugeschwindigkeit ausübt.

Cyclodextrin-Derivate, die mit Hydroxamsäuresubstituenten als aktive Einheit ausgestattet sind, entgiften VX mit Halbwertszeiten von weit über 120 min.<sup>[112]</sup> Das bedeutet, dass die hier vorgestellten Calix[4]aren-Derivate **S8**, **S9** und **S11** den zuvor dargestellten niedermolekularen VX-Scavengern deutlich überlegen sind. Die Verwendung von sulfonierten Calix[4]arenen als Basis für VX-Scavenger erweist sich damit als Schritt in die richtige Richtung. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der zuvor getroffenen Annahme, dass die initiale Bindung des NOPs einen entscheidenden Einfluss auf die nachfolgende Abbaureaktion hat. Da sulfonierte Calixarene bessere Rezeptoren für Ammoniumkationen darstellen als Cyclodextrine, binden sie auch an VX mit höherer Affinität.<sup>[80][93]</sup> Das wiederum erleichtert den nukleophilen Angriff der aktiven Einheit und hat eine schnellere Entgiftung des NOPs zu Folge.

##### 4.5.1. Zusammenfassung der Publikation

Es konnte gezeigt werden, dass VX durch sulfonierte Calix[4]aren-Derivate mit Hydroxamsäuregruppen an einem geeigneten Substituenten bei pH 7.4 und 37 °C in Wasser effizient entgiftet werden kann. Die erzielten Halbwertszeiten betragen etwa 4 Minuten für den effektivsten Scavenger **S9**. Das entspricht einer Beschleunigung der Entgiftungsreaktion um das 3500-fache im Vergleich zur Spontanhydrolyse von VX. In Gegenwart des strukturanalogen Scavengers **S11**, in dem eine Benzoessäuregruppe statt einer Picolinsäuregruppe als Linker vorliegt, wurde eine etwas längere Halbwertszeit von etwa 7 Minuten gemessen. Die beiden Verbindungen sind in Abbildung 25 dargestellt.

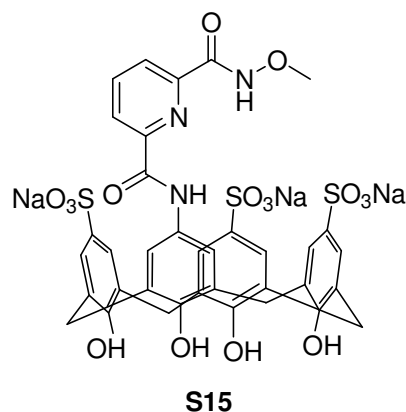


**Abbildung 25:** Darstellung der beiden effektivsten Scavenger zum VX-Abbau auf Calix[4]aren-Basis.

Die Referenzverbindungen **S10**, **S12**, **S13**, **S14**, **S15** und **S16** haben dagegen keinen Einfluss auf die Entgiftung von VX. So führt der Ersatz der Hydroxamsäure in **S9** durch eine Carboxylgruppe in **S16** zum Verlust der Entgiftungsaktivität. Ein analoges Ergebnis wird erhalten, wenn die Hydroxamsäure von der 3-Position in **S11** in die 4-Position in **S10** verschoben wird. Die Referenzverbindungen **S12**, **S13** und **S14** auf Basis von (4-Aminophenyl)sulfonsäure zeigten keinen beschleunigenden Effekt auf die Entgiftung von VX, obwohl hier die gleichen Substituenten vorliegen wie in **S9** und **S11**. Dadurch konnte gezeigt werden, dass der Calixarenring essentiell für die Abbaureaktion ist. Des Weiteren sind auch die räumliche Struktur des Substituenten und die Art der nukleophilen Gruppe von großer Bedeutung.

Da die Scavenger **S9** und **S11** VX effizient entgiften, wurde ihr Einfluss auf die Entgiftung anderer V-Stoffe untersucht. Dabei konnte eine Struktur-Wirkungs-Beziehung beobachtet werden. Methylphosphonate, wie VX, VR und CVX, werden vom Scavenger **S9** ebenfalls mit Halbwertszeiten im Bereich von etwa 3 Minuten abgebaut. Für Ethylphosphonate, also NOPs mit einer Ethylgruppe am Phosphoratom, wurden dagegen etwas höhere Halbwertszeiten von etwa 15 Minuten gefunden. Beim Scavenger **S11** wurde ein analoger Trend beobachtet, wobei in Gegenwart dieses Scavengers auch die Entgiftung von Methylphosphonaten langsamer abläuft als in Gegenwart von **S9**.

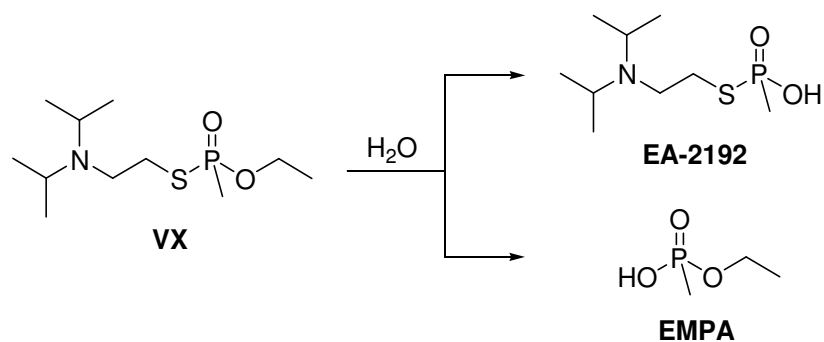
Neben den Aktivitätsuntersuchungen wurde auch die Bindung von VX an den Calixarenring untersucht. Dazu wurden NMR-Titrationen mit dem Kampfstoff und der Referenzverbindung **S15** durchgeführt (Abbildung 26). In **S15** liegt eine Methylgruppe am Sauerstoffatom der Hydroxamsäureeinheit vor, so dass die Verbindung inaktiv bezüglich der Entgiftung von VX ist.



**Abbildung 26:** Struktur der Referenzverbindung **S15**, die zur Durchführung der Bindungsstudien verwendet wurde.

Zunächst wurde eine qualitative Bindungsstudie durchgeführt, in der das NMR-Spektrum von reinem VX mit dem NMR-Spektrum einer Lösung von VX und **S15** verglichen wurde. Dabei wurde beobachtet, dass die Signale des NOPs in Gegenwart von **S15** eine Verschiebung zu hohem Feld, also zu kleineren ppm-Werten zeigen. Das bedeutet, dass ein Komplex aus VX und dem Calixaren-Derivat gebildet wird. Die Hochfeldverschiebung der VX-Signale ist am stärksten ausgeprägt für das Signal der Methylgruppen der Isopropylreste in VX. Das deutet darauf hin, dass die Ammoniumgruppe von VX bevorzugt in der Kavität des Calixarens komplexiert wird. Um diese Bindung zu quantifizieren, wurde eine NMR-Titration durchgeführt. Dabei wurde ermittelt, dass VX mit einer Bindungskonstante von  $\log(K_A) = 4.11 \pm 0.12$  von **S15** in wässriger Lösung bei 25 °C gebunden wird.

Darüber hinaus wurden auch mechanistische Studien zur Abbaureaktion mittels Massenspektrometrie und  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektroskopie durchgeführt. Zunächst wurde die Spontanhydrolyse von VX in Wasser untersucht. Dabei wurde im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum beobachtet, dass zwei neue phosphorhaltige Produkte entstehen. Diese wurden den Hydrolyseprodukten Ethylmethylphosphonsäure (EMPA) und *S*-(2-(Diisopropylamino)-ethyl)methylphosphonothioat (EA-2192) zugeordnet (Abbildung 27).<sup>[12][136]</sup>



**Abbildung 27:** Spontanhydrolyse von VX in Wasser

Bei der Entgiftung von VX in Gegenwart von **S9** wurde nur die Bildung von EMPA beobachtet. Die Bildung des toxischen Hydrolyseprodukts EA-2192 kann durch **S9** also vollständig unterdrückt werden. Das steht im Einklang mit anderen Ergebnissen, in denen gezeigt wurde, dass Hydroxamsäuren VX ausschließlich in EMPA überführen.<sup>[137]</sup>

Die massenspektrometrische Analyse des Reaktionsgemisches ließ auch Rückschlüsse zum Verlauf der VX-Entgiftung zu. So wurde massenspektrometrisch als nicht-phosphorhaltiges Endprodukt ein Harnstoffderivat beobachtet, das aus der Reaktion zwischen TRIS und einem Derivat von **S9** entsteht, in dem eine Isocyanatgruppe anstelle der Hydroxamsäuregruppe vorliegt. Hieraus wurde abgeleitet, dass die VX-Entgiftung auf einer Phosphonylierung von **S9** beruht, an die sich eine Lossen-Umlagerung anschließt.<sup>[138][139]</sup> Bei der Phosphonylierung kommt es zur selektiven Spaltung der P-S-Bindung von VX. Das so gebildete Intermediat zersetzt sich sofort unter Abspaltung von EMPA unter Bildung eines Nitrens. Diese Verbindung lagert zum Isocyanat um, welches anschließend typischen Folgereaktionen unterliegt, z. B. der Reaktion mit TRIS.<sup>[140]</sup> Die Hydroxamsäure wird also bei der Reaktion mit VX irreversibel modifiziert, so dass stöchiometrische Mengen von **S9** für eine vollständige VX-Entgiftung benötigt werden.

Publikation

**Detoxification of VX and Other V-Type Nerve Agents in Water at 37 °C and pH 7.4 by Substituted Sulfonatocalix[4]arenes**

C. Schneider, A. Bierwisch, M. Koller, F. Worek, S. Kubik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12668–12672

Die Supporting Information zum Artikel finden sich im Anhang der vorliegenden Arbeit.

Im Rahmen der Publikation bestand meine Aufgabe in der Entwicklung, Synthese und Aufreinigung der vorgestellten Calixaren-Derivate sowie der untersuchten Modellverbindungen. Frau Anne Bierwisch war für die Durchführungen der Aktivitätsmessungen und Untersuchungen zur Bindungsstärke und zum Abbaumechanismus verantwortlich. Frau Dr. Marianne Koller ist für die massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Analytik am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr in München zuständig und unterstützte bei den entsprechenden Messungen und deren Interpretation. Die Aufgabe von Herrn Prof. Dr. Franz Worek bestand in der Koordination und der wissenschaftlichen Betreuung der Arbeiten in München. Herr Prof. Dr. S. Kubik war als Projektleiter mit der Koordination und wissenschaftlichen Betreuung der Arbeiten in Kaiserslautern betraut.



Antidote Development Hot Paper

International Edition: DOI: 10.1002/anie.201606881  
German Edition: DOI: 10.1002/ange.201606881

## Detoxification of VX and Other V-Type Nerve Agents in Water at 37 °C and pH 7.4 by Substituted Sulfonatocalix[4]arenes

Christian Schneider, Anne Bierwisch, Marianne Koller, Franz Worek, and Stefan Kubik\*

**Abstract:** Sulfonatocalix[4]arenes with an appended hydroxamic acid residue can detoxify VX and related V-type neurotoxic organophosphonates with half-lives down to 3 min in aqueous buffer at 37 °C and pH 7.4. The detoxification activity is attributed to the millimolar affinity of the calixarene moiety for the positively charged organophosphonates in combination with the correct arrangement of the hydroxamic acid group. The reaction involves phosphorylation of the hydroxamic acid followed by a Lossen rearrangement, thus rendering the mode of action stoichiometric rather than catalytic. Nevertheless, these calixarenes are currently the most efficient low-molecular-weight compounds for detoxifying persistent V-type nerve agents under mild conditions. They thus represent lead structures for novel antidotes that allow treatment of poisonings by these highly toxic chemicals.

With a percutaneous LD<sub>50</sub> value of 10 mg/human, the organophosphonate (OP) *O*-ethyl *S*-[2-(diisopropylamino)ethyl] methylphosphonothioate (VX; Figure 1) is one of the most toxic and most persistent chemical warfare agents.<sup>[1]</sup> Analogues that likewise have the amino group in the side

chain and the relatively stable phosphono–thioester bond are similarly harmful.

The toxicity of nerve agents is mainly related to their high propensity to covalently modify a serine residue in the active site of the enzyme acetylcholinesterase (AChE).<sup>[2]</sup> In this form, AChE is unable to perform its function, namely to degrade the neurotransmitter acetylcholine, whose accumulation leads to severe toxic effects on the central and peripheral nervous system and ultimately to death.

A promising concept to treat poisonings by nerve agents involves the use of proteins, so called bioscavengers, that detoxify OPs before clinical signs occur.<sup>[3]</sup> Bioscavengers have drawbacks, however, for example, low in vivo stability and immunogenicity, thus rendering synthetic scavengers attractive alternatives.<sup>[4]</sup> With only a few exceptions,<sup>[5]</sup> studies on synthetic scavengers have so far concentrated on cyclodextrin derivatives.<sup>[6]</sup> Their mode of action is expected to resemble that of proteins, with an initial complexation step that positions the phosphorus atom of the nerve agent close to a substituent on the cyclodextrin ring to facilitate the reaction. Despite notable success in this context,<sup>[6]</sup> cyclodextrins that detoxify V-type nerve agents have so far remained elusive. A possible explanation could be that V-type nerve agents are poor substrates for cyclodextrins because of their protonated side chain amino groups and, hence, polar nature at physiological pH values.<sup>[7]</sup> If this assumption is correct, hosts for ammonium ions in water should be more promising scaffolds for scavengers for V-type nerve agents. This idea is consistent with established design principles of supramolecular catalysts and reagents.<sup>[8]</sup>

Ajami and Rebek proposed the use of resorcina-rene-derived cavitands as OP scavengers.<sup>[5c]</sup> They described the synthesis of functionalized derivatives that could be used as a basis for such scavengers,<sup>[9]</sup> but detoxification studies were not reported. Our approach involved the use of sulfonatocalix[4]arenes that are also strong cation binders in water.<sup>[10,11]</sup> These calixarenes were decorated with a substituent containing a hydroxamic acid, which is known to detoxify OPs.<sup>[12,13]</sup> Synthesis involved the coupling of monoamine **1**<sup>[11a]</sup> to carboxylic acids with a protected hydroxamic acid. Deprotection followed by chromatographic purification and ion exchange afforded the products as sodium salts. Scheme 1 shows the synthesis of **2a** as an example (for synthetic details, see the Supporting Information).

Of the compounds screened, **2a** and **2b** (Figure 2) exhibited highly promising properties. Analogues **2c–e** were then prepared as reference compounds. In addition, the sulfanilic acid derivatives **3a–c** were considered to study the extent to which the calixarene moiety contributes to the activity of **2a** and **2b**.

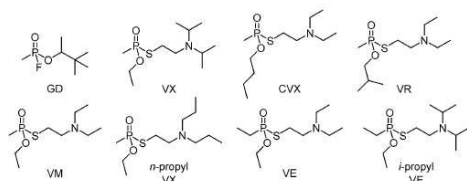


Figure 1. Structures of soman (GD) and the investigated V-type nerve agents.

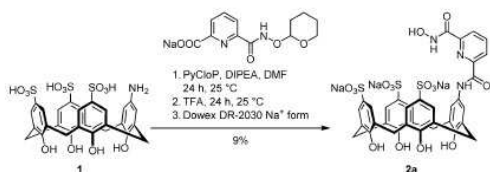
[\*] Dipl.-Chem. C. Schneider, Prof. Dr. S. Kubik  
Fachbereich Chemie—Organische Chemie  
Technische Universität Kaiserslautern  
Erwin-Schrödinger-Strasse, 67663 Kaiserslautern (Germany)  
E-mail: kubik@chemie.uni-kl.de

M. Sc. A. Bierwisch, Dr. M. Koller, Prof. Dr. F. Worek  
Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr  
Neuherbergstrasse 11, 80937 München (Germany)

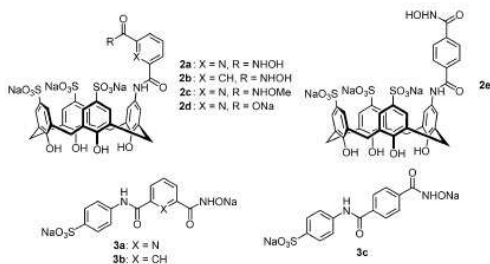
Supporting information and the ORCID identification number(s) for the author(s) of this article can be found under <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201606881>.

© 2016 The Authors. Published by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, and is not used for commercial purposes.



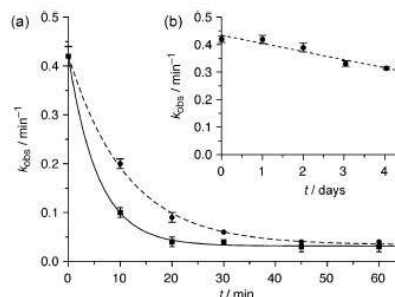


**Scheme 1.** Synthesis of **2a** from **1** and the sodium salt of *O*-tetrahydropranyl (THP) protected 6-(hydroxycarbonyl)picolinic acid.



**Figure 2.** Structures of the investigated calixarenes and the corresponding reference compounds.

A previously established enzymatic *in vitro* assay was used to obtain quantitative information about the detoxification activities of the prepared compounds (for details, see the Supporting Information).<sup>[14]</sup> Specifically, a nerve agent was incubated in Tris-HCl buffer (0.1 M, pH 7.40) at 37 °C with an excess of a test compound. Aliquots of the solution were removed at regular time intervals to quantify their inhibitory effect on human AChE using a modified Ellman assay.<sup>[14]</sup> AChE inhibition, described quantitatively by first-order inhibition rate constants  $k_{\text{obs}}$  decreased during incubation because of scavenger-mediated detoxification and spontaneous hydrolysis of the nerve agent. Fitting the time dependence of  $k_{\text{obs}}$  to monoexponential decay curves yielded rate constants  $k$  that reflect how fast a nerve agent loses the ability to inhibit AChE (Figure 3). Correcting these rate constants for the rates of spontaneous hydrolysis, determined by performing the assay with the same OP in the absence of any



**Figure 3.** a) Decay curves of the first-order inhibition rate constants  $k_{\text{obs}}$  observed when VX (10  $\mu\text{M}$ ) was treated with **2a** (500  $\mu\text{M}$ , solid line) or **2b** (500  $\mu\text{M}$ , dashed line) in Tris-HCl buffer (0.1 M, pH 7.40) at 37 °C. b) The rate of the spontaneous hydrolysis of VX under the same conditions in the absence of a scavenger. Note the different time scales.

scavenger, gave rate constants  $k_{\text{detox}}$ , which were used to calculate the half-lives  $t_{1/2}$  of detoxification. Tris-HCl buffer was chosen as the medium because we typically also consider G-type nerve agents in the screening, whose spontaneous hydrolysis is too fast in phosphate buffer to allow reliable kinetic analyses.<sup>[13–15]</sup> Selected measurements were also performed in phosphate buffer to assess the influence of the buffer on the detoxification of the V-type nerve agents. It is worth noting that all of our detoxification studies involved the use of real nerve agents and not of less toxic simulants.

Table 1 shows that the two calixarene-based hydroxamic acids **2a** and **2b** mediate VX detoxification with half-lives of about 5 min in Tris-HCl buffer, which is approximately 3500 times faster than the spontaneous hydrolysis of VX under the same conditions. VX detoxification induced by **2a** is similarly fast in phosphate buffer. Analogues **2c** and **2d**, in which the hydroxamic acid group is methylated at the oxygen atom or replaced by a carboxylate group, respectively, are inactive. Shifting the hydroxamic acid group from the 3-position of the aromatic substituent in **2b** to the 4-position in **2e** also causes activity to disappear, and none of the reference compounds **3a–c** lacking the calixarene unit detoxify VX within the timeframe of the measurement. Notably, the activity of compounds **2a** and **2b** is not restricted to VX; structurally

**Table 1:** Half-lives  $t_{1/2}$  [min] of the detoxification of V-type nerve agents and soman (GD; see Table S1 for concentrations) mediated by **2a–e** and **3a–c** (500  $\mu\text{M}$ ) in Tris-HCl buffer (0.1 M, pH 7.40) at 37 °C. Measurements were performed at least three times and results are given as means  $\pm$  the standard deviation.

	VX	CVX	VR	VM	<i>n</i> -propyl-VX	VE	<i>i</i> -propyl-VE	GD
<b>2a</b>	3.7 $\pm$ 0.4	2.8 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.6	2.9 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.2	15.1 $\pm$ 0.4	17.0 $\pm$ 0.6	17.7 $\pm$ 0.9
<b>2a</b> <sup>[a]</sup>	2.9 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.1	n.d. <sup>[b]</sup>	n.d.	n.d.	n.d.	5.8 $\pm$ 0.2
<b>2b</b>	7.5 $\pm$ 0.3	25.0 $\pm$ 0.7	28.6 $\pm$ 0.4	20.3 $\pm$ 0.4	25.3 $\pm$ 0.8	105.2 $\pm$ 4.7	40.5 $\pm$ 1.4	49.5 $\pm$ 3.4
<b>2c</b>	> 120 <sup>[c]</sup>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	> 120
<b>2d</b>	> 120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	> 120
<b>2e</b>	> 120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	91.2 $\pm$ 6.8
<b>3a</b>	> 120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	27.2 $\pm$ 2.4
<b>3b</b>	> 120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	46.6 $\pm$ 2.8
<b>3c</b>	> 120	> 120	> 120	> 120	> 120	> 120	> 120	37.6 $\pm$ 4.1

[a] Determined in phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4). [b] Not determined. [c] Detoxification too slow to allow determination of a reliable half-life.

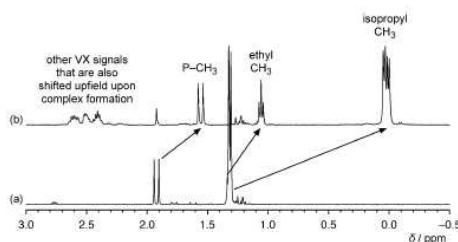


related V-type nerve agents are also detoxified. The rates of detoxification of the methyl phosphonates in the presence of **2a** were almost equally fast, while the ethyl phosphonates VE and *i*-propyl-VE are detoxified significantly slower. In the case of **2b**, the V-type nerve agents with linear alkyl groups in the side chains are detoxified less efficiently than VX, and going from the methyl phosphonates to the ethyl phosphonates causes another drop in activity. Equimolar mixtures of the sulfanilic acid **3a** and the calixarenes **1** or **2c** proved to be inactive, thus showing that the covalent linkage between the calixarene unit and the substituent in **2a** is required for effective detoxification.

For comparison, the effects of the prepared compounds on the detoxification of soman (GD) were also assessed. Table 1 shows that the O-methylated hydroxamic acid **2c** also does not mediate the detoxification of GD, which suggests that the free hydroxamic OH group is required for the reaction. The carboxylate group in **2d** is presumably not sufficiently nucleophilic to have an effect. All the other compounds detoxify GD to some extent, irrespective of whether they contain a calixarene moiety or not. The half-lives of GD detoxifications by **2a** and **3a** or by **2b** and **3b** are very similar. Thus, the detoxification of the neutral GD does not seem to benefit from the calixarene ring. By contrast, this ring is essential for the detoxification of the cationic V-type nerve agents, as none of the sulfanilic acid derivatives exhibited notable activity. The lack of activity of the simple hydroxamic acids is consistent with the higher stability of phosphonothioates with respect to GD (the rate constants of spontaneous hydrolysis are  $6.3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  for GD and  $5.2 \times 10^{-5} \text{ min}^{-1}$  for VX under the chosen conditions). The ability of **2a** and **2b** to overcompensate this stability difference and allow them to detoxify V-type nerve agents even faster than GD, could, therefore, be an indication that the predicted interactions between the calixarenes and cationic OPs indeed facilitate detoxification.

To test this assumption, binding studies were performed by using VX and the inactive calixarene derivative **2c** as binding partners. Qualitative information about complex formation was obtained by comparing the  $^1\text{H}$  NMR spectrum of VX with that of VX in the presence of 2 equiv of **2c** in phosphate buffer (0.1M in  $\text{D}_2\text{O}$ , pD 7.81). Phosphate buffer was used to avoid signals from organic buffer molecules in the  $^1\text{H}$  NMR spectra. Figure 4 shows that the presence of **2c** has a pronounced effect on the resonances of the VX protons (for the effect of complexation on the receptor signals, see Figure S4). All the VX protons are shielded, with the strongest upfield shift of 1.3 ppm observed for the signals of the isopropyl- $\text{CH}_3$  groups. The shifts become smaller as the distance of the respective proton from the diisopropylamino group increases, but effects are even evident for the resonances of the ethyl- $\text{CH}_3$  and P- $\text{CH}_3$  protons. Another notable feature is the splitting of the isopropyl- $\text{CH}_3$  signal into two doublets, which indicates that the stabilization of the tetrahedral ammonium group of VX upon complexation causes the isopropyl- $\text{CH}_3$  groups to become diastereotopic.

The profound signal shifts observed in the  $^1\text{H}$  NMR spectrum are clear indications for the binding of VX to **2c**. Moreover, the extents of the shifts suggest that complex



**Figure 4.** Sections of the  $^1\text{H}$  NMR spectra of a) VX (2.93 mM) in phosphate buffer (0.1 M in  $\text{D}_2\text{O}$ , pD 7.81) and b) of a mixture of **2c** and VX in a 2:1 molar ratio. Characteristic shifts of the isopropyl, ethyl, and phosphonate methyl signals of VX are indicated.

geometries are preferred, with the cationic ammonium group located inside the calixarene cavity. As a consequence, the phosphorus atom of the nerve agent should be preferentially oriented near the hydroxamic acid group of the scavenger, thus facilitating reaction. An NMR titration under the same conditions yielded a binding constant  $\log K_a$  of  $4.11 \pm 0.12$  for the complex between **2c** and VX, thus confirming the appreciable affinity of the sulfonatocalix[4]arene for positively charged nerve agents in water.

Efficient complexation of the nerve agents could, therefore, explain the detoxification activities of the calixarene-based scavengers. The different activities observed for **2a**, **2b**, and **2c** may be related to differences in the nucleophilicities of their substituents or to structural aspects of the complexes formed. The former is less likely because benzohydroxamic acid and corresponding pyridine derivatives do not typically exhibit large differences in their  $\text{p}K_a$  values or rates of reaction in the presence of OPs.<sup>[5a,b,12a]</sup> We therefore attribute the higher activity of **2a** with respect to **2b**, and also the different rates with which the investigated nerve agents are detoxified, to structural effects of the respective complexes. The loss of activity when moving the hydroxamic acid from the 3- to the 4-position of the aromatic substituent may likewise be caused by the inability of the hydroxamic acid in the VX complex with **2c** to efficiently reach the phosphorous atom of the nerve agent.

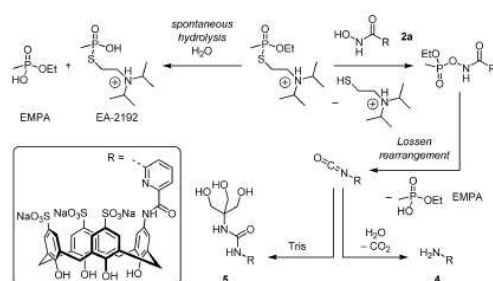
Information about the pathways underlying the detoxification was obtained by following the reactions between VX and calixarenes **2a** and **2b** by  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy and mass spectrometry.  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy showed that the spontaneous hydrolysis of VX (2.93 mM) in Tris-HCl buffer (0.1M, pH 7.40) at  $37^\circ\text{C}$  is associated with a progressive decrease in the VX signal. Concomitantly, signals appeared showing the formation of ethyl methylphosphonic acid (EMPA) and the toxic metabolite of VX, *S*-(2-(diisopropylamino)ethyl) methylphosphonothioate (EA-2192). About 25% of the VX was hydrolyzed after 24 h under these conditions, with the EMPA/EA-2192 ratio amounting to 5.7:1.

Incubating VX (2.93 mM) in Tris-HCl buffer (0.1M, pH 7.40) at  $37^\circ\text{C}$  with 1 equiv of **2a** led to a notable 78% drop in VX concentration within the first hour of the experiment and a drop of 94% when using 2 equiv of **2a**, thus confirming the high detoxification ability of this scav-



enger. The decrease in the VX concentration after 1 h was also significant in the case of **2b**, but somewhat smaller. VX degradation was complete after 24 h in the presence of 2 equiv of either calixarene. In contrast, the residual VX reached a plateau at 5% and 20% when only 1 equiv of **2a** and **2b** was present, respectively, which could be attributed to product inhibition, as the 2-(diisopropylamino)ethanethiol group released during VX detoxification can be expected to bind to the calixarene ring with a similar affinity as VX. Importantly, scavenger-induced VX degradation is associated only with the formation of EMPA, thus indicating that the calixarenes mediate the selective cleavage of the P–S bond of VX and efficiently suppress formation of the toxic metabolite EA-2192. Since analogous results were obtained for **3a** and **3c**, the selectivity of the reaction seems to be characteristic for hydroxamic acids, as also observed in other studies,<sup>[4a]</sup> and not related to the calixarene moiety.

Mass spectrometry showed that VX degradation mediated by **2a** is associated with the formation of amine **4** and Tris adduct **5** shown in Scheme 2. Analogous products were



**Scheme 2.** Reaction pathways of spontaneous VX hydrolysis in Tris-HCl (Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane) buffer (0.1 M, pH 7.40, 37 °C) and VX detoxification mediated by **2a**.

observed when **2b** was reacted with VX. As a consequence, both scavengers are consumed during the reaction, thereby rendering their mode of action stoichiometric. The products observed indicate that the reaction includes a Lossen rearrangement, as also observed for the reaction of other organophosphates with hydroxamic acids.<sup>[12]</sup> The isocyanates resulting from this rearrangement are either hydrolyzed or react with nucleophiles, in our experiments buffer molecules, to yield the corresponding adducts.

Concluding, this study introduces a very promising concept for the development of synthetic scavengers for highly stable and persistent V-type nerve agents. Calixarenes **2a** and **2b** mediate effective detoxification of VX and other V-type nerve agents in aqueous buffer at 37 °C and pH 7.4 with so far unmatched activity for synthetic compounds. The observed high detoxification rates can be attributed to the combined presence of a recognition unit that binds to cationic nerve agents and a properly arranged nucleophilic group that mediates the selective cleavage of the P–S bond of the nerve agent. Relating the activities of **2a** and **2b** to those of

bioscavengers, for example, on the basis of  $k_{cat}/K_M$  values, is difficult because the calixarenes are stoichiometric scavengers, while bioscavengers for VX act catalytically. Data compiled in a recent review show, however, that half-lives of detoxification in the range of a few seconds are required for scavengers to be potentially useful in vivo.<sup>[3b]</sup> Thus, **2a** and **2b** cannot replace bioscavengers yet, but their activities might allow them to be used to supplement current nerve agent therapies by shortening the period of toxicologically relevant poison concentrations. In addition, they should allow decontamination of skin or sensitive equipment under much milder conditions than those normally associated with VX detoxification.<sup>[1]</sup> Clearly, these calixarenes also represent highly promising lead structures for synthetic scavengers, whose activities can likely be improved in the future by fine-tuning both the recognition unit and the reactive group.

#### Acknowledgements

This research was supported by a contract with the German Armed Forces (E/UR2W/CF511/9A803). The generous funding is gratefully acknowledged. We also thank T. Kliemt for technical assistance.

**Keywords:** calixarenes · chemical warfare agents · detoxification · hydroxamic acids · scavengers

**How to cite:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12668–12672  
*Angew. Chem.* **2016**, *128*, 12859–12863

- [1] a) Y.-C. Yang, J. A. Baker, J. R. Ward, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1729–1743; b) S. S. Talmage, A. P. Watson, V. Hauschild, N. B. Munro, J. King, *Curr. Org. Chem.* **2007**, *11*, 285–298; c) B. M. Smith, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 470–478; d) Y. J. Jang, K. Kim, O. G. Tsay, D. A. Atwood, D. G. Churchill, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, PR1–PR76; e) Y.-C. Yang, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 109–115.
- [2] a) K. Tuovinen, *Toxicology* **2004**, *196*, 31–39; b) T. C. Marrs, R. L. Maynard, F. R. Sidell, *Chemical Warfare Agents: Toxicology and Treatment*, Wiley, Chichester, **2007**.
- [3] a) D. E. Lenz, D. Yeung, J. R. Smith, R. E. Sweeney, L. A. Lumley, D. M. Cerasoli, *Toxicology* **2007**, *233*, 31–39; b) F. Worek, H. Thiermann, T. Wille, *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 143–148; c) F. Nachon, X. Brazzolotto, M. Trovaslet, P. Masson, *Chem.-Biol. Interact.* **2013**, *206*, 536–544.
- [4] M. R. Sambrook, S. Notman, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 9251–9267.
- [5] a) L. Louise-Leriché, E. Păunescu, G. Saint-André, R. Baati, A. Romieu, A. Wagner, P.-Y. Renard, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 3510–3523; b) G. Saint-André, M. Kliachyna, S. Kodepelly, L. Louise-Leriché, E. Gillond, P.-Y. Renard, F. Nachon, R. Baati, A. Wagner, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 6352–6361; c) D. Ajami, J. Rebeck, Jr., *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 3936–3942; d) Y. Ruan, H. A. Taha, R. J. Yoder, V. Maslak, C. M. Hadad, J. D. Badjić, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 3240–3249; e) J. R. Hiscock, M. R. Sambrook, P. B. Cranwell, P. Watts, J. C. Vincent, D. J. Xuereb, N. J. Wells, R. Raja, P. A. Gale, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 6217–6220; f) G. H. Dennison, M. R. Sambrook, M. R. Johnston, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 195–197; g) S. Chen, Y. Ruan, J. D. Brown, C. M. Hadad, J. D. Badjić, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 17337–17342; h) Y. Ruan, E. Dalkiliç, P. W. Peterson, A. Pandit, A. Dastan, J. D. Brown, S. M. Polen, C. M. Hadad, J. D. Badjić, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 4251–4256; i) J. R. Hiscock,

- M. R. Sambrook, N. J. Wells, P. A. Gale, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 5680–5684.
- [6] S. Letort, S. Balieu, W. Erb, G. Gouhier, F. Estour, *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 204–228.
- [7] M. V. Rekharsky, Y. Inoue, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875–1918.
- [8] a) R. Breslow, S. D. Dong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1997–2011; b) J. K. M. Sanders, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1378–1383; c) P. Molenveld, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 75–86; d) R. J. Hooley, J. Rebek, Jr., *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 255–264.
- [9] M. Degardin, E. Busseron, D.-A. Kim, D. Ajami, J. Rebek, Jr., *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11850–11852.
- [10] a) F. Perret, A. N. Lazar, A. W. Coleman, *Chem. Commun.* **2006**, 2425–2438; b) F. Perret, A. W. Coleman, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7303–7319; c) D.-S. Guo, Y. Liu, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1925–1934.
- [11] a) K. D. Daze, M. C. F. Ma, F. Pineux, F. Hof, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1512–1515; b) F. Hof, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 10093–10108.
- [12] a) B. E. Hackley, Jr., R. Plapinger, M. Stolberg, T. Wagner-Jauregg, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 3651–3653; b) M. A. Stolberg, W. A. Mosher, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2618–2620; c) R. Swidler, R. E. Plapinger, G. M. Steinberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 3271–3274; d) M. Silva, R. S. Mello, M. A. Farrukh, J. Venturini, C. A. Bunton, H. M. S. Milagre, M. N. Eberlin, H. D. Fiedler, F. Nome, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8254–8260.
- [13] F. Brandhuber, M. Zengerle, L. Porwol, A. Bierwisch, M. Koller, G. Reiter, F. Worek, S. Kubik, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 3425–3427.
- [14] A. Bierwisch, M. Zengerle, H. Thiermann, S. Kubik, F. Worek, *Toxicol. Lett.* **2014**, *224*, 209–214.
- [15] M. Zengerle, F. Brandhuber, C. Schneider, F. Worek, G. Reiter, S. Kubik, *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 1543–1554.

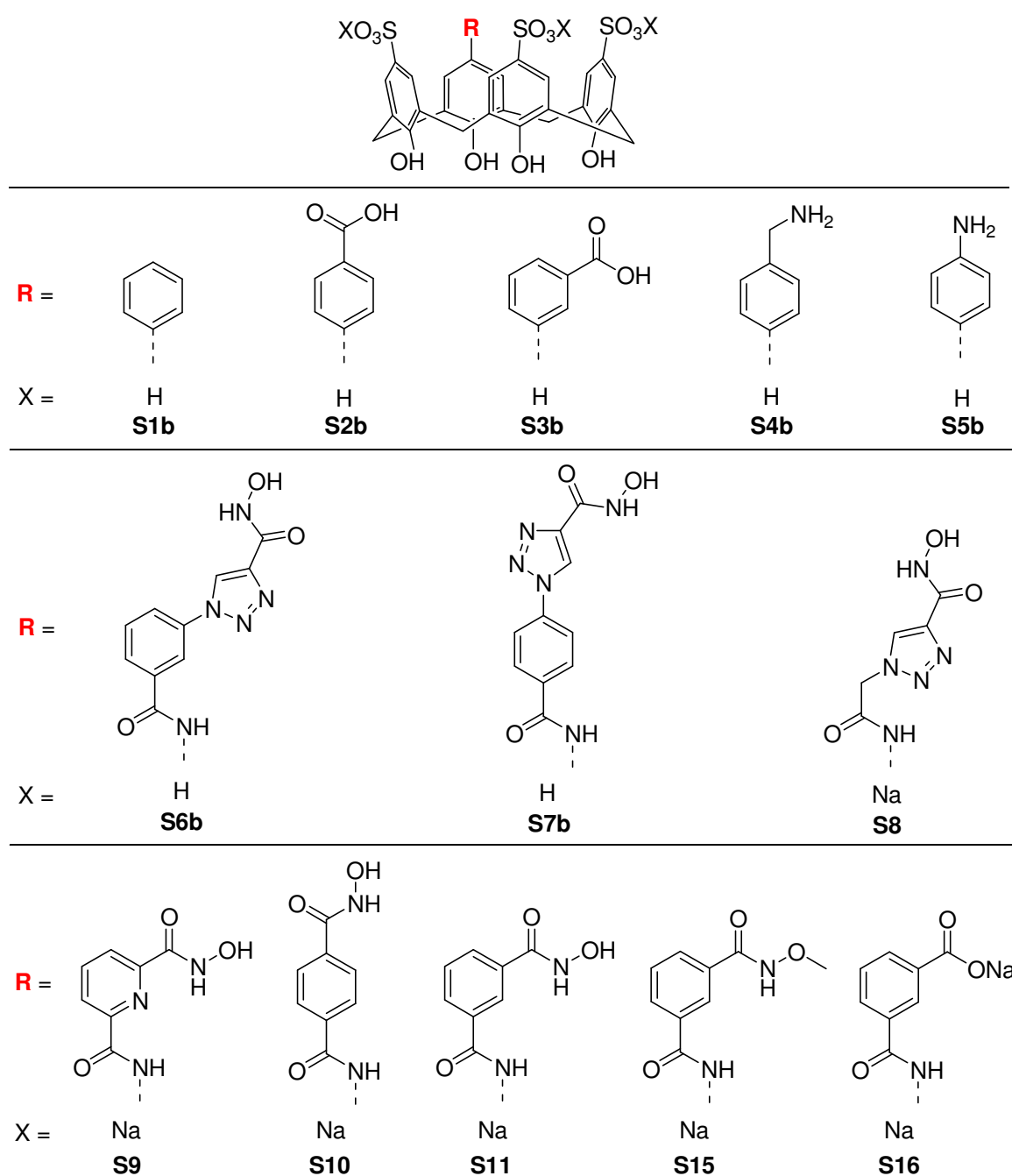
Received: July 18, 2016

Published online: September 15, 2016

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden neue wasserlösliche und funktionalisierte Calix[4]aren-Derivate synthetisiert, deren Einfluss auf die Entgiftung von VX und anderen V-Stoffen untersucht wurde.

Konkret wurden die in Abbildung 28 gezeigten Verbindungen erfolgreich synthetisiert und am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr in München bezüglich ihrer Eignung als niedermolekulare Scavenger weiter charakterisiert.



**Abbildung 28:** Strukturen der Calixaren-Derivate, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisiert und deren Einfluss auf die Entgiftung von VX und weiteren V-Stoffen untersucht wurde.

Von den Scavengern zeigten **S9** und **S11** den größten Einfluss auf die VX-Entgiftung. So beträgt die Halbwertszeit der Entgiftung von VX in Gegenwart von **S9** etwa 4 min unter den Bedingungen des verwendeten Assays. Die Reaktion ist damit ca. 3500 mal schneller als die Spontanhydrolyse des NOPs. Außerdem wird der toxische Metabolit EA-2192 in Gegenwart von **S9** nicht gebildet. Scavenger **S11** ist etwas weniger aktiv als **S9**. Beide Scavenger bauen auch andere V-Stoffe wie VR und CVX effizient ab, wobei für **S9** grundsätzlich niedrigere Halbwertszeiten ermittelt wurden als für **S11**.

Neben **S9** und **S11** zeigte **S8** ebenfalls eine beschleunigende Wirkung auf die Entgiftung von VX, die aber deutlich geringer ausfiel als die der anderen beiden Scavenger. Alle anderen synthetisierten Verbindungen zeigten keinen signifikanten Effekt.

Bindungsstudien und der Vergleich der Aktivität von **S9** und **S11** mit Referenzverbindungen ohne Makrocyclus gaben Hinweise auf eine Bindung von VX an den Calixarenring. Ferner konnte durch mechanistische Studien gezeigt werden, dass es während der Reaktion zwischen den Hydroxamsäuren und VX zu einer Desaktivierung des Scavengers kommt, es sich also um einen stöchiometrischen Scavenger handelt.

Damit konnten im Rahmen dieser Arbeit die ersten niedermolekularen Scavenger entwickelt werden, die die Entgiftung von V-Stoffen in Wasser bei pH 7.4 und 37 °C in signifikantem Umfang beschleunigen.

Zukünftige Forschungsprojekte können auf den Ergebnisse dieser Arbeit aufbauen. Ziele dieser Projekte müssen die Senkung der Halbwertszeit und die Entwicklung katalytischer Scavenger sein.

Zur Darstellung katalytisch wirkender Scavenger bieten sich Iodosobenzoate als funktionelle Gruppen an.<sup>[141]</sup> Allerdings muss betont werden, dass sich Hydroxamsäuren als aktive Einheit bewährt haben. Nicht nur, dass sie in der Lage sind, den VX-Abbau effizient durchzuführen, sie setzen dabei auch ausschließlich das ungiftige EMPA als Abbauprodukt frei.

Um mit den vorhandenen katalytischen Bioscavengern (PTE- und hPON1-Mutanten) konkurrieren zu können, müsste außerdem die Halbwertszeit der Scavenger noch weiter gesenkt werden, etwa in den Bereich von 10 Sekunden.<sup>[51]</sup> Das entspricht einer Steigerung der bisher erreichten Abbaurate um etwa das 20-fache. Durch Verwendung eines Makrocylus, der eine höhere Affinität gegenüber VX zeigt könnte die Abbaugeschwindigkeit mit der gleichen aktiven Einheit noch weiter erhöht werden. In diesem Zusammenhang bieten sich die von *Rebek* beschriebenen Cavitanden an.<sup>[25][142]</sup>

Darüber hinaus wäre nach wie vor ein universeller synthetischer Scavenger erstrebenswert, der in der Lage ist, G- und V-Stoffe gleichermaßen effektiv zu entgiften. Auch dieses

Anliegen könnte durch die Verwendung von Cavitanden als bindende Einheit erfüllt werden, da diese Makrocyclen auch unpolare Gäste komplexieren können.

Die Zukunft hält also noch viel Potential für Arbeiten zur Entwicklung synthetischer NOP-Scavenger bereit, um letztendlich zu Verbindungen zu kommen, die katalytisch wirken und sowohl G- als auch V-Stoffe entgiften können.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Apparatives und Vorbemerkungen

*Kernresonanzspektren* ( $^1\text{H-NMR}$  und  $^{13}\text{C-NMR}$ ): Alle Spektren wurden bei 20 °C an den FT-NMR-Geräten Avance III 200, Avance III 400 der Fa. Bruker aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen der Signale sind in Einheiten der  $\delta$ -Skala angegeben (ppm). Die jeweiligen Multiplizitäten werden durch folgende Abkürzungen angegeben: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, br = breites Signal. Die Signale der verwendeten Lösungsmittel wurden als interner Standard bei der Interpretation der Spektren verwendet ( $\text{CDCl}_3$  = 7.26 ( $^1\text{H-NMR}$ ), 77.16 ( $^{13}\text{C-NMR}$ );  $\text{DMSO}$  = 2.50 ( $^1\text{H-NMR}$ ), 39.52 ( $^{13}\text{C-NMR}$ );  $\text{MeOD}$  = 3.31 ( $^1\text{H-NMR}$ ), 49.00 ( $^{13}\text{C-NMR}$ )).

*Säulenchromatographie*: Als Füllmittel der verwendeten Silicasäulen diente Kieselgel der Fa. Sigma-Aldrich mit der Korngröße 0,063-0,200 mm.

*Dünnschichtchromatographie*: Es wurden Kieselgel-Aluminiumfolien 60 F254 der Fa. Merck verwendet. Die angegebenen  $R_f$ -Werte beziehen sich auf die genannten Folien.

*CHNS-Elementaranalysator*: Zur Messung der CHN-Analysen wurde ein Elementaranalysator vario micro cube der Fa. Elementar Analysensysteme GmbH in Hanau verwendet.

*HPLC-Verfahren*: Es wurde ein UltiMate 3000 Gerät der Fa. Dionex mit einer BetaBasic-18-Säule der Fa. Thermo-Scientific verwendet (präparativ: 5  $\mu\text{m}$  Korngröße, 250 x 22 mm; analytisch: 5  $\mu\text{m}$  Korngröße, 250 x 4.6 mm). Zur Isolierung der Produkte mittels HPLC wurde Wasser, dem 0.1 Vol.-% Trifluoressigsäure zugegeben wurde, und Acetonitril als organischer Anteil des Laufmittels verwendet. Zur Trennung wurden folgende Gradienten verwendet:

Methode 1: 0-5 Minuten, 15 % organischer Anteil; 5-38 Minuten, linearer Anstieg auf 36 % organischer Anteil; 38-40 Minuten, linearer Anstieg auf 70 % organischer Anteil; 40-43 Minuten, 70 % organischer Anteil, 43-44 Minuten, lineare Abnahme auf 15 % organischer Anteil; 44-46 Minuten, 15 % organischer Anteil.

Methode 2: 0-5 Minuten, 2 % organischer Anteil; 5-30 Minuten, linearer Anstieg auf 15 % organischer Anteil; 30-33 Minuten, linearer Anstieg auf 70 % organischer Anteil; 33-40 Minuten, 70 % organischer Anteil; 40-46 Minuten, lineare Abnahme auf 2 % organischer Anteil, 46-47 Minuten, 2 % organischer Anteil.

*Infrarotspektroskopie:* Die IR-Spektren wurden am FT-ATR-IR-Spektrometer Spectrum 100 der Fa. Perkin Elmer gemessen. Die Lage der Banden ist in Wellenzahlen angegeben, die jeweiligen Signalintensitäten sind durch folgende Abkürzungen gekennzeichnet: s = stark, m = mittel, w = schwach.

*MALDI-Massenspektrometrie:* Zur Aufnahme der Massenspektren wurde das MALDI-TOF-Gerät Daltonics Ultraflex der Fa. Bruker verwendet. Als Matrix wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure verwendet.

*ESI-Massenspektrometrie:* Zur Aufnahme der Massenspektren wurde das ESI-Gerät Esquire 3000 der Fa. Bruker verwendet.

*Schmelzpunktbestimmung:* Zur Schmelzpunktbestimmung wurde das Gerät SPM-X 300 der Fa. Müller verwendet.

*Ionentauscher:* Zur Deprotonierung der Sulfonsäuregruppen der Produkte wurde Dowex DR-2030 (protonierte Form) verwendet. Der Ionentauscher wurde in eine Säule gefüllt, mit Wasser (200 ml), 1 M HCl (100 ml) und erneut mit Wasser (200 ml) gewaschen. Danach wurde der Ionentauscher durch Behandlung mit 2 M NaOH-Lösung (100 ml) in die Na<sup>+</sup>-Form überführt. Anschließend wurde mit Wasser (200 ml), Methanol (200 ml) und Wasser (100 ml) gewaschen. Das Produkt wurde in wenig Wasser (etwa 2 ml) gelöst und auf die Ionentauschersäule aufgetragen. Anschließend wurde in kleinen Portionen mit Wasser (insgesamt 200 ml) eluiert. Das Lösungsmittel der produkttragenden Fraktionen wurde destillativ entfernt und so das gewünschte Produkt in Form des Natriumsalzes erhalten.

*Chemikalien:* Die verwendeten Reagenzien wurden, sofern verfügbar, von den gängigen kommerziellen Anbietern bezogen (Sigma Aldrich, ABCR, Carl Roth, TCI, Acros Organics) und ohne vorhergehende Aufreinigung eingesetzt. Die Lösungsmittel wurden, falls benötigt, über Standardverfahren getrocknet.

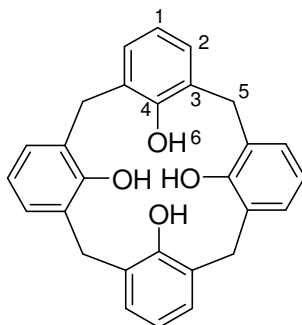


## 6.2. Synthesen

In der Publikation (Kapitel 4.6. und Anhang) sind Synthesen einiger der in Kapitel 4 vorgestellten Scavenger und Vorstufen beschrieben. Es handelt sich dabei um die Scavenger **S9**, **S10**, **S11**, **S15** und **S16**, die Referenzverbindungen **S12**, **S13** und **S14**, sowie die Vorstufen **37**, **38**, **39**, **40**, **41**, **42**, **43**, **44**, **45** und **46**. Diese Synthesen sind der entsprechenden Supporting Information im Anhang der Arbeit zu entnehmen. Hier werden nur die Synthesen der nicht in der Publikation enthaltenen Verbindungen beschrieben.

### Calix[4]aren (**2**)<sup>[95]</sup>

5,11,17,23-*tert*-Butylcalix[4]aren (24.0 g, 37.0 mmol) und Phenol (4.87 g, 51.8 mmol) wurden in Toluol (370 ml) suspendiert und für 10 min unter Argonatmosphäre gerührt. Unter kräftigem mechanischem Rühren wurde Aluminiumtrichlorid (27.6 g, 207 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung für 5 h bei 25 °C gerührt. Anschließend wurde die rote Suspension auf Eis (600 g) gegossen und mit Dichlormethan (1.2 l) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 1 M HCl (3 x 250 ml) und Wasser (2 x 250 ml) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde destillativ entfernt und der Rückstand mit Diethylether (100 ml) versetzt. Anschließend wurde das Gemisch für 1 h auf -18 °C gekühlt. Der unlösliche Feststoff wurde abfiltriert, erneut mit Diethylether (200 ml) versetzt und im Mörser zerrieben. Die Mischung wurde für 2 d auf -18 °C gekühlt. Der unlösliche Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

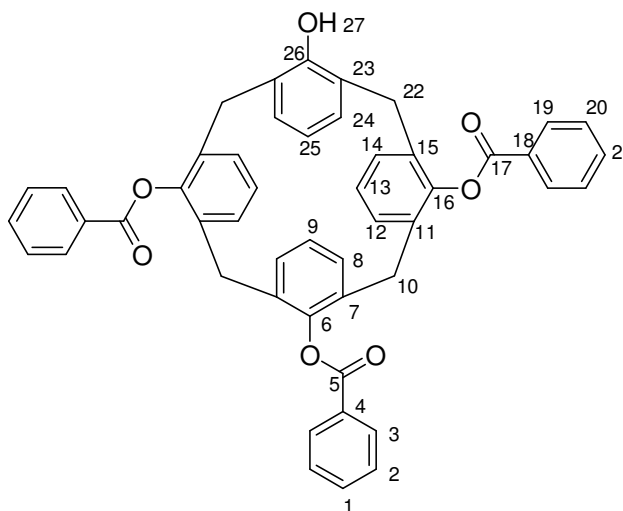


Ausbeute: 12.9 g (30.3 mmol, 82 %) farbloser Feststoff.  $R_f = 0.53$  [ $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hexan = 1:4 (v/v)]. Schmelzpunkt: >250 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 10.23$  (s, 4 H, 6-H), 7.08 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 8 H, 2-H), 6.76 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 4 H, 1-H), 4.29 (br, 4 H, 5-H), 3.57 (br, 4 H, 5-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 148.9$  (C-4), 129.1 (C-3), 128.4 (C-2), 122.4 (C-1), 31.8 (C-5). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 25,26,27-Tribenzoyloxycalix[4]aren (**3**)<sup>[96]</sup>

Calix[4]aren **2** (11.5 g, 27.1 mmol) wurde in Pyridin (140 ml) aufgenommen. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit Benzoylchlorid (32.8 g, 233 mmol, 26.8 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C für 4 h gerührt und anschließend in Wasser

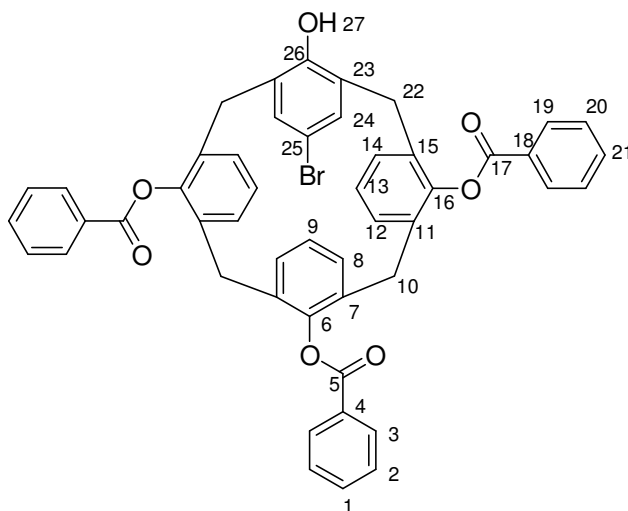
(1.7 l) gegeben. Der ausgefallene gelbliche Feststoff wurde abfiltriert und aus Methanol/Wasser (1:1(v/v)) umkristallisiert.



Ausbeute: 16.1 g (21.9 mmol, 81 %) gelblicher Feststoff.  $R_f = 0.27$  [ $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hexan = 1:4 (v/v)]. Schmelzpunkt:  $>250$  °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8.09$  (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, 4 H, 19-H), 7.73 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 2 H, 21-H), 7.49-7.57 (m, 5 H, 1-H, 20-H), 7.19-7.23 (m, 4 H, 2-H, 8-H), 7.05 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 2 H, 24-H), 7.00 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, 2 H, 3-H), 6.89 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 2 H, 14-H), 6.69-6.76 (m, 2 H, 9-H, 25-H), 6.55-6.61 (m, 4 H, 12-H, 13-H), 5.45 (s, 1 H, 27-H), 3.48-3.91 (m, 8 H, 10-H, 22-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 164.6$  (C-17), 164.1 (C-5), 152.9 (C-26), 148.4 (C-6), 146.8 (C-16), 133.9 (C-21), 133.6 (C-1), 133.3 (C-11), 133.0 (C-7), 132.7 (C-15), 131.4 (C-12), 130.9 (C-8), 130.9 (C-19), 130.5 (C-14), 129.6 (C-3), 129.3 (C-24), 128.9 (C-2), 128.8 (C-20), 128.2 (C-4), 127.9 (C-18), 127.9 (C-23), 126.1 (C-13), 125.3 (C-9), 119.9 (C-25), 37.5 (C-10), 32.5 (C-22). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Brom-26,27,28-tribenzoyloxycalix[4]aren (**4**)<sup>[97]</sup>

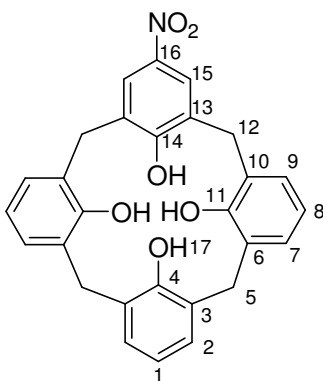
25,26,27-Tribenzoyloxycalix[4]aren **3** (15.0 g, 20.4 mmol) wurde in Chloroform (450 ml) gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von einer Stunde wurde Brom (12.0 g, 74.9 mmol, 3.85 ml) zugetropft und die Reaktionsmischung anschließend für 5 h bei 25 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der Rückstand mit gesättigter Thiosulfatlösung (200 ml) versetzt. Die Suspension wurde mit Chloroform (3 x 200 ml) extrahiert und das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen ohne vorheriges Trocknen destillativ entfernt. Der Rückstand wurde aus Chloroform/Methanol (1:1(v/v)) umkristallisiert.



Ausbeute: 14.3 g (17.5 mmol, 86 %) gelblicher Feststoff.  $R_f = 0.51$  [ $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hexan = 3:7 (v/v)]. Schmelzpunkt:  $>250$  °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8.03$  (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, 4 H, 19-H), 7.76 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 2 H, 21-H), 7.51-7.66 (m, 5 H, 1-H, 20-H), 7.30-7.37 (m, 4 H, 2-H, 8-H), 7.09 (s, 2 H, 24-H), 7.06 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.1$  Hz, 2 H, 3-H), 6.85 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 2 H, 14-H), 6.59-6.75 (m, 5 H, 9-H, 12-H, 13-H), 5.25 (s, 1 H, 27-H), 3.48-3.80 (m, 8 H, 10-H, 22-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 164.5$  (C-17), 164.0 (C-5), 152.2 (C-26), 148.4 (C-6), 147.2 (C-16), 134.0 (C-21), 133.8 (C-1), 133.5 (C-24), 133.3 (C-11), 132.0 (C-7), 131.7 (C-15), 131.5 (C-12), 131.0 (C-8), 131.0 (C-14), 130.9 (C-19), 129.9 (C-23), 129.7 (C-3), 129.0 (C-20), 128.8 (C-2), 128.2 (C-4), 128.0 (C-18), 126.2 (C-13), 125.2 (C-9), 111.7 (C-25), 37.4 (C-10), 33.2 (C-22). Die spektroskopischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Nitrocalix[4]aren (7)<sup>[98]</sup>

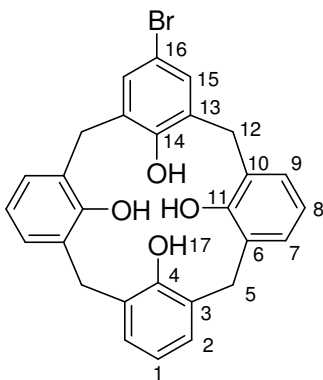
25,26,27-Tribenzoyloxycalix[4]aren (16.0 g, 21.7 mmol) wurde in einer Mischung aus Chloroform (325 ml) und Essigsäure (110 ml) gelöst und mit 65 %iger Salpetersäure (2.11 g, 21.7 mmol, 1.51 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 5 d bei 25 °C gerührt und anschließend das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der ölige Rückstand wurde unter Vakuum getrocknet und in Chloroform (300 ml) aufgenommen. Die Lösung wurde mit Wasser (3 x 300 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, und das Lösungsmittel der organischen Phase destillativ entfernt. Der Feststoff wurde in einer Mischung aus THF (1000 ml), EtOH (600 ml) und Wasser (400 ml) gelöst und unter Rühren mit Natriumhydroxid (52.9 g, 1.48 mol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h unter Rückfluss erhitzt, wobei sich die Lösung schwarz verfärbt. Die organischen Bestandteile des Lösungsmittels wurden destillativ entfernt und die verbleibende wässrige Phase mit konzentrierter Salzsäure angesäuert. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und aus Chloroform/Methanol (1:1 (v/v)) umkristallisiert.



Ausbeute: 5.82 g (12.4 mmol, 58 %) brauner Feststoff.  $R_f = 0.16$  [ $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hexan = 1:4 (v/v)]. Schmelzpunkt:  $>250$  °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 10.16$  (br, 4 H, 17-H), 7.99 (s, 2 H, 15-H), 7.11 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 4 H, 7-H), 7.06 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 2 H, 2-H), 6.80 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 2 H, 8-H), 6.74 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, 1 H, 1-H), 4.27 (br, 4 H, 5-H, 10-H), 3.61 (br, 4 H, 5-H, 10-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 155.2$  (C-14), 148.6 (C-4), 148.6 (C-11), 142.1 (C-16), 129.7 (C-2), 129.4 (C-13), 129.3 (C-7), 129.2 (C-9), 128.6 (C-6), 128.0 (C-10), 126.7 (C-3), 124.9 (C-15), 122.9 (C-8), 122.7 (C-1), 31.7 (C-12), 31.7 (C-5). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Bromcalix[4]aren (6)<sup>[97]</sup>

5-Brom-25,26,27-tribenzoyloxycalix[4]aren **4** (14.0 g, 17.2 mmol) wurde in einer Mischung aus THF (1250 ml), EtOH (450 ml) und Wasser (200 ml) gelöst und unter Rühren Natriumhydroxid (35.0 g, 877 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h unter Rückfluss erhitzt, wobei sich die Lösung von grün zu rot verfärbte. Die organischen Komponenten des Lösungsmittels wurden destillativ entfernt und die verbleibende wässrige Lösung mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert. Der dabei ausfallende Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und anschließend aus Chloroform/Methanol (1:1 (v/v)) umkristallisiert.

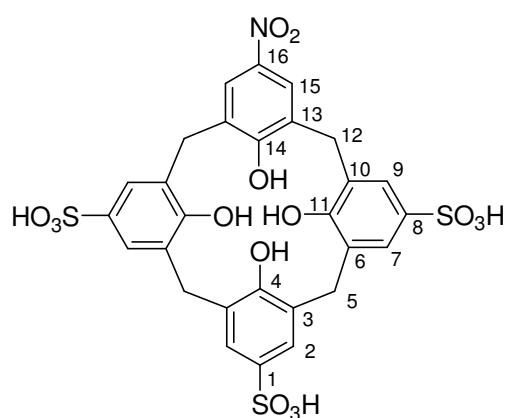


Ausbeute: 7.83 g (15.6 mmol, 91 %) beiger Feststoff.  $R_f = 0.69$  [ $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hexan = 3:7 (v/v)]. Schmelzpunkt:  $>250$  °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 10.14$  (s, 4 H, 17-H), 7.16 (s, 2 H, 15-H), 7.05-7.11 (m, 6 H, 2-H, 7-H, 9-H), 6.73-6.79 (m, 3 H, 1-H, 8-H), 4.25 (br, 4 H, 5-H, 12-H), 3.53 (br, 4 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 148.9$  (C-11), 148.7 (C-

4), 148.2 (C-14), 131.6 (C-13), 130.5 (C-15), 129.4 (C-10), 129.2 (C-3), 129.1 (C-6), 128.5 (C-9), 128.2 (C-2), 127.5 (C-7), 122.6 (C-1), 122.5 (C-8), 114.0 (C-16), 31.8 (C-12), 31.6 (C-5). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Nitro-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**8**)<sup>[94]</sup>

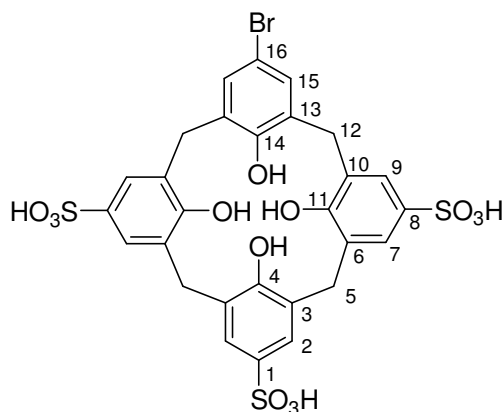
5-Nitrocalix[4]aren **7** (2.24 g, 4.77 mmol) wurde in Chloroform (200 ml) aufgenommen und die Lösung zum Sieden erhitzt. Unter Rühren wurde konzentrierte Schwefelsäure (8.77 g, 89.5 mmol, 4.77 ml) zugegeben und die Reaktionsmischung für 3 h unter Rückfluss gerührt, wobei ein öliger Feststoff ausfiel. Das Lösungsmittel wurde abdekantiert, der Rückstand mit DCM (3 x 50 ml) gewaschen. Der Feststoff wurde in Ethylacetat (30 ml) suspendiert und abfiltriert und im Anschluss mit DCM (3 x 50 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet.



Ausbeute: 2.12 g (2.96 mmol, 62 %) brauner Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 7.99 (s, 2 H, 15-H), 7.57 (d, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, 2 H, 9-H), 7.56 (d, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, 2 H, 7-H), 7.48 (s, 2 H, 2-H), 3.97 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.3 Hz, 8 H, 5-H, 12-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 155.4 (C-14), 151.9 (C-11), 151.0 (C-4), 141.2 (C-16), 136.2 (C-8), 135.9 (C-1), 128.5 (C-6), 128.1 (C-10), 128.1 (C-3), 127.5 (C-13), 126.7 (C-7), 126.6 (C-9), 126.6 (C-2), 125.1 (C-15), 30.5 (C-12), 30.4 (C-5). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (**C1x1**)<sup>[94]</sup>

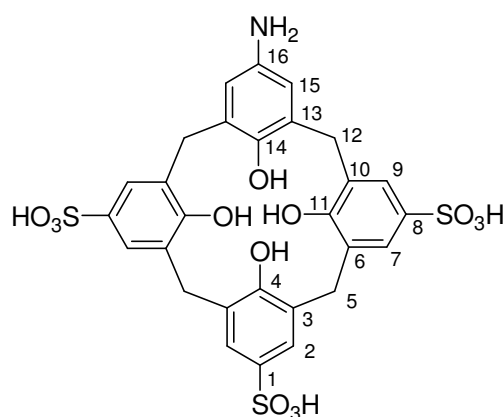
5-Bromcalix[4]aren **6** (3.00 g, 5.96 mmol) wurde in DCM (80 ml) gelöst und unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Unter Rühren wurde konzentrierte Schwefelsäure zugegeben und die Reaktionsmischung für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Dabei fiel das Produkt als öliger Feststoff aus der Lösung aus. Das Lösungsmittel wurde abdekantiert und der verbleibende Rückstand mit DCM (3 x 50 ml) gewaschen. Der Feststoff wurde in Ethylacetat (30 ml) suspendiert, abfiltriert und mit Diethylether (3 x 50 ml) gewaschen. Im Anschluss wurde das erhaltene Produkt im Vakuum getrocknet.



Ausbeute: 3.94 g (5.30 mmol, 89 %) blass-rosafarbener Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 8.08 (s, 2 H, 2-H), 7.66 (ds,  $^4J_{\text{HH}}$  = 2.1 Hz, 2 H, 7-H), 7.59 (s, 2 H, 9-H), 6.25 (br, 2 H, 15-H), 3.72-4.27 (m, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD} = 9:1$  (v/v)):  $\delta$  = 152.5 (C-15), 151.8 (C-11), 148.6 (C-4), 137.6 (C-8), 135.3 (C-1), 132.3 (C-15), 129.7 (C-6), 129.5 (C-3), 129.4 (C-13), 129.3 (C-10), 128.1 (C-9), 127.8 (C-2), 127.6 (C-7), 113.4 (C-16), 31.6 (C-12), 30.7 (C-5). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Amino-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (Clx2)<sup>[94]</sup>

Zu einer Suspension von 5-Nitro-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren **8** (4.00 g, 5.64 mmol) und Zinnchlorid Dihydrat (6.36 g, 28.2 mmol) in EtOH (100 ml) wurde so lange 1 M HCl zugegeben, bis eine homogene Lösung entstand. Die Reaktionsmischung wurde unter Rückfluss für 8 h gerührt und der ausgefallene Feststoff anschließend abfiltriert. Der Filterkuchen wurde mit Ethanol (3 x 25 ml) und Diethylether (2 x 25 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

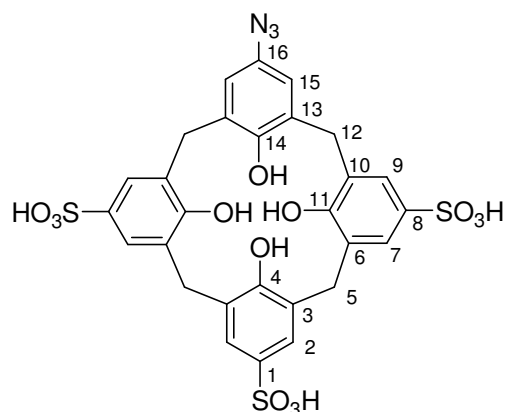


Ausbeute 3.01 g (4.43 mmol, 79 %) graubrauner Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}, 9:1$  (v/v)):  $\delta$  = 7.67 (s, 2 H,  $^4J_{\text{HH}}$  = 2.1 Hz, 7-H), 7.65 (d, 2 H,  $^4J_{\text{HH}}$  = 2.1 Hz, 9-H), 7.58 (s, 2 H, 2-H), 7.19 (s, 2 H, 14-H), 4.05 (br, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}, 9:1$  (v/v)):  $\delta$  = 153.1 (C-11), 151.8 (C-4), 149.9 (C-14), 137.6 (C-1), 137.0 (C-8), 131.0 (C-16), 129.4 (C-6), 129.2 (C-3), 129.1 (C-10), 127.6 (C-7), 127.5 (C-2), 127.4

(C-9), 124.5 (C-13), 124.4 (C-15), 31.4 (C-12), 31.2 (C-5). MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 680 (39.9 %) [M+H]<sup>+</sup>, 702 (100 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 718 (21.0 %) [M+K]<sup>+</sup>, 724 (80.9 %) [M+2Na-H]<sup>+</sup>, 740 (38.4 %) [M+Na+K-H]<sup>+</sup>, 746 (20.4 %) [M+3Na-2H]<sup>+</sup>, 762 (16.7 %) [M+2Na+K-H]<sup>+</sup>. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Azido-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (Clx3)

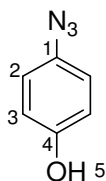
5-Amino-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren **Clx2** (500 mg, 736  $\mu$ mol) wurde in DMF (5 ml) suspendiert und mit Tetrafluoroborsäure (50 w% in Wasser, 645 mg, 7.35 mmol, 915  $\mu$ l) versetzt. Die Suspension wurde im Eisbad auf 0 °C gekühlt und es wurde *tert*-Butylnitrit (152 mg, 1.47 mmol, 175  $\mu$ l) zugetropft. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung wurde für 1.5 h bei 25 °C gerührt. Anschließend wurde die Suspension erneut auf 0 °C gekühlt und eine Lösung von Trimethylsilylazid (1.69 g, 14.7 mmol) in DMF (5 ml) zugetropft. Die Suspension wurde bei 25 °C für 12 d gerührt, wobei die Entstehung eines Gases beobachtet werden konnte. Danach wurde die Reaktionsmischung filtriert und in Ethylacetat (30 ml) gegossen. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit Ethylacetat (2 x 30 ml) und Dichlormethan (2 x 30 ml) gewaschen.



Ausbeute: 434 mg verunreinigtes Produkt. Schmelzpunkt: Zersetzung bei 218 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 8.00 (s, 2 H, 15-H), 7.59 (s, 4 H, 7-H, 9-H), 7.50 (s, 2 H, 2-H), 4.01 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, 8 H, 5-H, 12-H). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3393 (m, OH), 3077 (w, sp<sup>2</sup>-C-H), 2120 (m, N<sub>3</sub>), 1646 (m, C=C), 1156 (s, C-O) cm<sup>-1</sup>.

### 4-Azidophenol (9)<sup>[105]</sup>

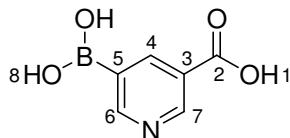
Eine Lösung von Natriumnitrit (3.79 g, 55.0 mmol) in Wasser (15 ml) wurde unter Rühren zu einer eisgekühlten Lösung von 4-Aminophenol (5.00 g, 46.0 mmol) in wässriger HCl-Lösung (2 M, 100 ml) getropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C für 20 min gerührt und danach mit einer Lösung von Natriumazid (4.49 g, 69.0 mmol) in Wasser (15 ml) versetzt. Die Lösung wurde für 24 h bei 25 °C gerührt und anschließend mit EtOAc extrahiert (3 x 100 ml). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt.



Ausbeute: 4.72 g (35.9 mmol, 76 %) schwarzer Teer.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 9.53 (s, 1 H, 5-H), 6.90-6.96 (m, 2 H, 2-H), 6.76-6.82 (m, 2 H, 3-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 155.0 (C-4), 129.6 (C-1), 120.2 (C-2), 116.6 (C-3). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3229 (m, OH), 2106 (s,  $\text{N}_3$ ), 1211 (s, C-O). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Carboxypyridin-3-ylboronsäure (10)

In einer Mischung von 1,4-Dioxan und DMSO (4 ml, 19:1 (v/v)) wurden unter Stickstoffatmosphäre 5-Bromnicotinsäure (362 mg, 1.80 mmol), Bis(pinacolato)dibor (549 mg, 2.16 mmol), Kaliumacetat (530 mg, 5.40 mmol) und [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]palladium(II)dichlorid (73.5 mg, 90.0  $\mu\text{mol}$ ) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde für 19 h bei 110 °C gerührt und anschließend mit Wasser (50 ml) und Dichlormethan (50 ml) versetzt. Die beiden Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (2 x 50 ml) extrahiert. Der pH-Wert der vereinigten wässrigen Phasen wurde durch Zugabe von Kaliumhydrogensulfat auf 3 eingestellt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser (1 x 20 ml) gewaschen.

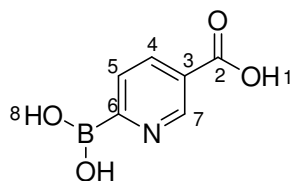


Ausbeute: 107 mg (641  $\mu\text{mol}$ , 36 %) farbloser Feststoff.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 9.07 (ds,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz, 1 H, 7-H), 9.05 (ds,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1 H, 6-H), 8.63 (ts,  $^4J_{\text{HH}} = 2.0$  Hz, 1 H, 4-H), 8.56 (s, 2 H, 8-H). Das Produkt konnte nicht analysenrein dargestellt werden.

### 6-Carboxypyridin-3-ylboronsäure (11)

6-Bromnicotinsäure (362 mg, 1.80 mmol), Bis(pinacolato)dibor (549 mg, 2.16 mmol), Kaliumacetat (530 mg, 5.40 mmol) und [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]palladium(II)dichlorid (73.5 mg, 90.0  $\mu\text{mol}$ ) wurden unter Stickstoffatmosphäre in einer Mischung von 1,4-Dioxan und DMSO (4 ml, 19:1 (v/v)) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde für 23 h bei 110 °C gerührt. Anschließend wurde Wasser (50 ml) und Dichlormethan (50 ml) zugegeben und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde mit Wasser extrahiert (2 x 50 ml). Danach wurde durch Zugabe von Kaliumacetat der pH-Wert der wässrigen Phase auf 2 eingestellt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der erhaltene Rückstand mit Wasser (25 ml) und Methanol (25 ml) gewaschen. Das Rohprodukt wurde im Anschluss aus Wasser/Aceton (1:1 (v/v)) umkristallisiert.





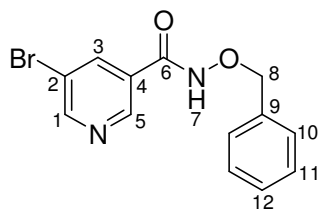
Ausbeute: 52.1 mg (312  $\mu\text{mol}$ , 17 %) farbloser Feststoff.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 9.19 (s, 2 H, 8-H), 8.95 (ds,  $^4J_{\text{HH}}$  = 5.2 Hz, 1 H, 7-H), 8.63 (dd,  $^3J_{\text{HH}}$  = 8.0 Hz,  $^4J_{\text{HH}}$  = 1.6 Hz, 1 H, 4-H), 7.88 (m, 1 H, 5-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 164.9 (C-2), 149.3 (C-6), 146.7 (C-7), 141.7 (C-4), 128.4 (C-3), 125.8 (C-5). Das Produkt konnte nicht analysenrein dargestellt werden.

### Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der *N*-(Oxybenzyl)brompyridin-carbonsäureamiden

Die entsprechende Brompyridincarbonsäure (400 mg, 2.40 mmol) und *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (1.15 g, 7.19 mmol) wurden in DCM (20 ml) gelöst und mit DIPEA (1.55 g, 12.0 mmol, 2.04 ml) versetzt. Unter Rühren wurde eine Lösung von PyCloP (1.01 g, 2.40 mmol) in Dichlormethan (20 ml) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei 25 °C gerührt bis dünnschichtchromatographisch kein Edukt mehr nachgewiesen werden konnte. Das Lösungsmittel wurde anschließend destillativ entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit DCM/Diethylether = 1:1 als Eluent gereinigt. Das Lösungsmittel der produkttragenden Fraktionen wurde destillativ entfernt und der Rückstand mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (20 ml) und Ethylacetat (20 ml) versetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit Ethylacetat (2 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt.

### *N*-(Oxybenzyl)-5-bromnicotinsäureamid (14)

5-Bromnicotinsäure wurde entsprechend der allgemeinen Vorschrift umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

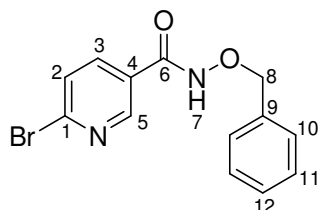


Ausbeute: 150 mg (488  $\mu\text{mol}$ , 20 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 127 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 12.07 (s, 1 H, 7-H), 8.88 (ds,  $^4J_{\text{HH}}$  = 1.7 Hz, 7-H), 8.86 (ds,  $^4J_{\text{HH}}$  = 1.5 Hz, 1 H, 1-H), 8.31 (s, 1 H, 3-H), 7.35-7.47 (m, 5 H, 10-H, 11-H, 12-H), 4.94 (s, 2 H, 8-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 161.3 (C-6), 153.0 (C-5), 146.7 (C-1), 137.3 (C-3), 135.7 (C-9), 129.7 (C-4), 129.1 (C-11), 128.5 (C-12), 128.4 (C-10), 120.1 (C-2),

77.3 (C-8). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3171 (m, N-H), 3026 (w,  $\text{sp}^2$ -C-H), 2941 (w,  $\text{sp}^3$ -C-H), 1641 (s, C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$  (M.W.: 306.00): C 50.84; H 3.61; N 9.12, gefunden C 51.12; H 3.77; N 9.21. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 306.8 (20.1 %)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 363.1 (100 %)  $[(2\text{M}+\text{Na})+\text{CB}(\text{OH})]^{++}$ .

### ***N*-(Oxybenzyl)-6-bromnicotinsäureamid (15)**

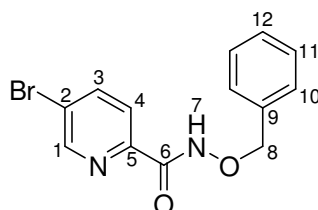
6-Bromnicotinsäure wurde entsprechend der allgemeinen Vorschrift umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 23 h.



Ausbeute: 176 mg (572  $\mu\text{mol}$ , 24 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 166 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 12.06 (s, 1 H, 7-H), 8.69 (s, 1 H, 5-H), 8.02 (d, <sup>3</sup> $J_{\text{HH}}$  = 6.7 Hz, 1 H, 3-H), 7.80 (d, <sup>3</sup> $J_{\text{HH}}$  = 8.2 Hz, 1 H, 2-H), 7.37-7.47 (m, 5 H, 10-H, 11-H, 12-H), 4.94 (s, 2 H, 8-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 161.9 (C-6), 149.0 (C-5), 144.3 (C-1), 138.1 (C-3), 135.7 (C-9), 129.1 (C-11), 128.5 (C-12), 128.4 (C-10), 128.2 (C-2), 127.8 (C-4), 77.2 (C-8). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3196 (m, N-H), 3047 (w,  $\text{sp}^2$ -C-H), 2999 (w,  $\text{sp}^3$ -C-H), 1636 (s, C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$  (M.W.: 306.00): C 50.84; H 3.61; N 9.12, gefunden C 50.51; H 3.86; N 9.27. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 363.0 (100 %)  $[2(\text{M}+\text{Na})+\text{CB}(\text{OH})]$ .

### ***N*-(Oxybenzyl)-5-brompicolinsäureamid (16)**

5-Brompicolinsäure wurde entsprechend der allgemeinen Vorschrift umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

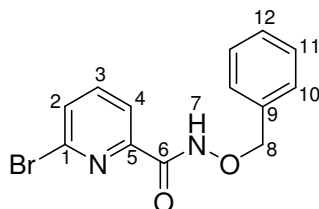


Ausbeute: 458 mg (1,49 mmol, 62%), weißer Feststoff. Schmelzpunkt: 114 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 12.17 (s, 1 H, 7-H), 8.75 (ds, <sup>4</sup> $J_{\text{HH}}$  = 2.0 Hz, 1 H, 1-H), 8.27 (dd, <sup>3</sup> $J_{\text{HH}}$  = 8.4 Hz, <sup>4</sup> $J_{\text{HH}}$  = 2.3 Hz, 1 H, 3-H), 7.93 (d, <sup>3</sup> $J_{\text{HH}}$  = 8.4 Hz, 1 H, 4-H), 7.32-7.46 (m, 5 H, 10-H, 11-H, 12-H), 4.93 (s, 2 H, 8-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 160.8 (C-6), 149.4 (C-1), 148.2 (C-5), 140.5 (C-3), 135.8 (C-9), 128.8 (C-11), 128.3 (C-12), 128.3 (C-10), 124.0 (C-4), 123.6 (C-2), 77.1 (C-8). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3229 (m, N-H), 3098, 3031 (m,  $\text{sp}^2$ -C-H), 2955 (w,  $\text{sp}^3$ -C-H), 1682 (s, C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$  (M.W.: 306.00): C 50.84;

H 3.61; N 9.12, gefunden C 51.04; H 3.85; N 9.12. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 306.1 (100 %) [M+H]<sup>+</sup>, 328.0 (15.9 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 344.0 (13.2 %) [M+K]<sup>+</sup>.

### ***N*-(Oxybenzyl)-6-brompicolinsäureamid (17)**

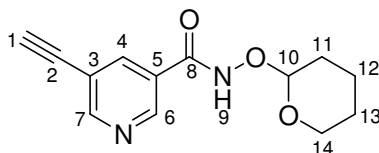
6-Brompicolinsäure wurde entsprechend der allgemeinen Vorschrift umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 21 h.



Ausbeute: 652 mg (2,12 mmol, 89%), farbloses Öl. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 12.06 (s, 1 H, 7-H), 8.00 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, 4-H), 7.94 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.7 Hz, 1 H, 3-H), 7.86 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, 1 H, 2-H), 7.32-7.48 (m, 5 H, 10-H, 11-H, 12-H), 4.93 (s, 2 H, 8-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 160.3 (C-6), 150.7 (C-5), 141.0 (C-1), 140.3 (C-3), 135.7 (C-9), 131.3 (C-2), 128.9 (C-11), 128.4 (C-12), 128.3 (C-10), 121.9 (C-4), 77.1 (C-8). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3245 (w, N-H), 3065, 3030 (w, sp<sup>2</sup>-C-H), 2941 (w, sp<sup>3</sup>-C-H), 1679 (s, C=O) cm<sup>-1</sup>. CHN berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (M.W.: 306.00): C 50.84; H 3.61; N 9.12, gefunden C 50.93; H 4.00; N 9.20. MS (MALDI/TOF): m/z (%) = 306.2 (100 %) [M+H]<sup>+</sup>, 328.3 (10.9 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 344.2 (7.5) [M+K]<sup>+</sup>.

### **5-Ethynyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-nicotinamid (21)**<sup>[112]</sup>

Zu einer Lösung von *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin (128 mg, 1.09 mmol) in Ethylacetat (10 ml) wurde 5-Ethynilnicotinsäure (148 mg, 1.01 mmol) gegeben. Unter Rühren und Eisbadkühlung wurde eine Lösung von DCC (226 mg, 1.09 mmol) in EtOAc (5 ml) zu der Reaktionsmischung getropft. Anschließend wurde das Eisbad entfernt und für 24 h bei 25 °C gerührt. Der ausgefallene farblose Feststoff wurde abfiltriert und das Lösungsmittel des Filtrats destillativ entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/Hexan = 4:1 (v/v)).

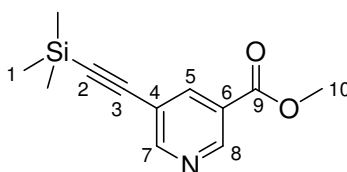


Ausbeute: 183 mg (744 μmol, 74 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 110 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 11.92 (s, 1 H, 9-H), 8.90 (ds, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 8.82 (ds, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, 1 H, 7-H), 8.19 (ts, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, 4-H), 5.02 (s, 1 H, 10-H), 4.57 (s, 1 H, 1-H), 4.01-4.06 (m, 1 H, 14-H), 4.49-3.58 (m, 1 H, 14'-H), 1.56-1.73 (m, 6 H, 11-H, 12-H, 13-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 161.7 (C-8), 154.4 (C-6), 147.9 (C-7), 137.6 (C-4), 127.7

(C-5), 118.6 (C-3), 101.2 (C-10), 85.2 (C-1), 79.6 (C-2), 61.4 (C-14), 27.8 (C-11), 24.7 (C-13), 18.2 (C-12). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  = 3247 (m, NH), 3137 (m, sp-C-H), 2947 (s, sp<sup>3</sup>-C-H), 1634 (s, C=O), 1113 (s, C-O) cm<sup>-1</sup>. CHN berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (M.W.: 246.10): C 63.40; H 5.73; N 11.38, gefunden: C 63.33; H 5.94; N 11.37. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 246.9 (100 %) [M+H]<sup>+</sup>. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten

### Methyl-5-(2-(trimethylsilyl)ethynyl)nicotinoat (22)<sup>[112]</sup>

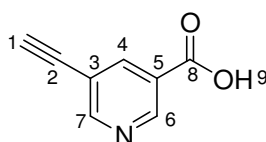
Methyl-5-bromnicotinoat (500 mg, 2.33 mmol), Kupferiodid (44.6 mg, 233  $\mu$ mol) und Dichlorbis(triphenylphosphan)palladium(II) (64.8 mg, 92.3  $\mu$ mol) wurden unter Stickstoffatmosphäre in Triethylamin (10 ml) gelöst und für 30 min bei 25 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung portionsweise mit Ethynyltrimethylsilan (337 mg, 3.44 mmol, 486  $\mu$ l) versetzt und für 72 h gerührt. Die Lösung wurde bis zur Trockne eingeeengt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/Hexan = 2:3 (v/v)).



Ausbeute: 504 mg (2.16 mmol, 93 %) gelber Feststoff. Schmelzpunkt: 48 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 9.05 (s, 1 H, 8-H), 8.89 (s, 1 H, 7-H), 8.26 (s, 1 H, 5-H), 3.89 (s, 3 H, 10-H), 0.26 (s, 9 H, 1-H). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-Ethynylnicotinsäure (23)<sup>[143]</sup>

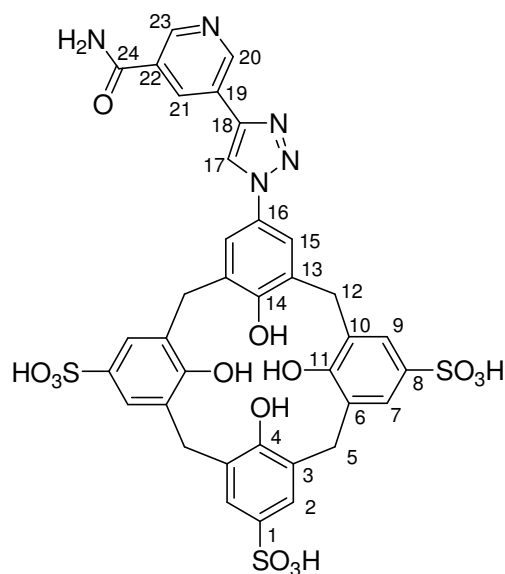
Methyl-5-(2-(trimethylsilyl)ethynyl)nicotinoat (500 mg, 2.14 mmol) wurde in wässriger Natriumhydroxidlösung (2 M, 26 ml) gegeben und für 96 h bei 25 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit EtOAc gewaschen (2 x 50 ml) und die wässrige Phase mit Kaliumhydrogensulfat angesäuert. Der dabei ausfallende Feststoff wurde abfiltriert und in Ethylacetat (20 ml) aufgenommen. Danach wurde die Lösung mit Wasser (2 x 20 ml) und gesättigter Natriumchloridlösung (2 x 20 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.



Ausbeute: 148 mg (1.01 mmol, 47 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 98 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 9.04 (ds, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, 1 H, 6-H), 8.89 (ds, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, 1 H, 7-H), 8.27 (ts, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, 1 H, 4-H), 4.58 (s, 1 H, 1-H). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-(4-(5-Carbamoylpyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (25)

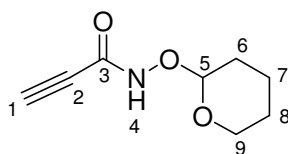
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 5-Azido-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren **Clix3** (200 mg, 284  $\mu\text{mol}$ ), Kupfersulfat Pentahydrat (14.1 mg, 56.6  $\mu\text{mol}$ ), TBTA (30 mg, 56.6  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumascorbat (28.1 mg, 142  $\mu\text{mol}$ ) in einer Wasser/Ethanol-Mischung (11 ml, 1:1 (v/v)) aufgenommen. Die Lösung wurde für 1.5 h bei 25 °C gerührt und 5-Ethynyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-nicotinamid **21** (69.7 mg, 283  $\mu\text{mol}$ ) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 4 d bei 25 °C gerührt und anschließend wurde Kupfersulfat Pentahydrat (70.7 mg, 283  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumascorbat (56.1 mg, 283  $\mu\text{mol}$ ) nachdosiert. Die Temperatur wurde auf 80 °C erhöht und für weitere 6 d gerührt. Es wurde erneut Kupfersulfat Pentahydrat (70.7 mg, 283  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumascorbat (56.1 mg, 283  $\mu\text{mol}$ ) nachdosiert und bei 80 °C für weitere 7 d gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert, in einer Ethanol/Wasser-Mischung (18 ml, 2:1 (v/v)) aufgeschlämmt und erneut abfiltriert. Die vereinigten Filtrate wurden mit ges. Natriumsulfidlösung (650  $\mu\text{l}$ ) versetzt und der ausgefallene schwarze Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingeeengt und der Rückstand mittels HPLC aufgereinigt (Methode 1).



Ausbeute: 11.8 mg (13.9  $\mu\text{mol}$ , 5 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 9.23 (s, 1 H, H-23), 9.11 (s, 1 H, 20-H), 8.99 (s, 1 H, 17-H), 8.77 (s, 1 H, 21-H), 7.58 (s, 2 H, 15-H), 7.52 (s, 2 H, 2-H), 7.42 (s, 4 H, 7-H, 9-H), 3.89 (s, 8 H, 5-H, 12-H). MS (MALDI/TOF $^+$ ): m/z (%) = 852.4 (100 %)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 874.3 (17.0 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 890.3 (16.2 %)  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 896.3 (57.6 %)  $[\text{M}-\text{H}+2\text{Na}]^+$ , 912.3 (53.7 %)  $[\text{M}-\text{H}+\text{Na}+\text{K}]^+$ , 918.3 (15.9 %)  $[\text{M}-2\text{H}+3\text{Na}]^+$ , 928.3 (5.7 %)  $[\text{M}-\text{H}+2\text{K}]^+$ , 934.3 (25.5 %)  $[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}+2\text{K}]^+$ , 940.3 (5.2 %)  $[\text{M}-3\text{H}+4\text{Na}]^+$ , 950.3 (7.1 %)  $[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}+2\text{K}]^+$ , 956.3 (9.3 %)  $[\text{M}-3\text{H}+3\text{Na}+\text{K}]^+$ . MS (ESITOF $^-$ ): m/z (%) = 850.1 (100 %)  $[\text{M}-\text{H}]^-$ . Aufgrund der geringen Ausbeute und der Tatsache, dass es sich nicht um die gewünschte Hydroxamsäure handelt, wurde keine weitere Charakterisierung durchgeführt.

***N*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)propinsäureamid (**26**)<sup>[117]</sup>**

Zu einer eisgekühlten Lösung von Propinsäure (500 mg, 7.14 mmol, 442  $\mu$ l) und *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin (920 mg, 7.85 mmol) in DCM (14 ml) wurde eine Lösung von DCC (1.62 g, 7.85 mmol) in DCM (14 ml) getropft. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung für 3 h bei 25 °C gerührt. Der farblose Niederschlag wurde abfiltriert und das Lösungsmittel des Filtrats destillativ entfernt. Der erhaltene orangefarbene Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/n-Hexan = 1:1 (v/v)). Das Lösungsmittel der produkttragenden Fraktionen wurde abdestilliert und das gewünschte Produkt als farbloses Öl erhalten.



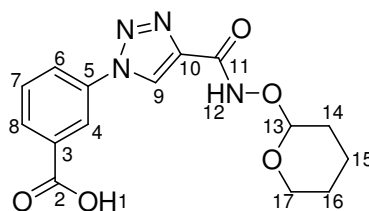
Ausbeute: 1.12 g (5.81 mmol, 81 %) farbloses Öl. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.83 (br, 1 H, 4-H), 5.00 (s, 1 H, 5-H), 3.92-3.97 (m, 1 H, 9-H), 3.65-3.68 (m, 1 H, 9'-H), 2.88 (s, 1 H, 1-H), 1.54-1.85 (m, 6 H, 6-H, 7-H, 8-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 149.9 (C-3), 103.0 (C-5), 76.1 (C-1), 74.6 (C-2), 62.8 (C-9), 27.9 (C-6), 25.0 (C-8), 18.5 (C-7). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

**Allgemeine Vorschrift zur CuAAC mit Aminobenzoesäuren**

Die Aminobenzoesäure (549 mg, 4.00 mmol) wurde in Acetonitril (6 ml) vorgelegt und unter Eisbadkühlung nacheinander tropfenweise mit *tert*-Butylnitrit (618 mg, 6.00 mmol, 713  $\mu$ l) und Trimethylsilylazid (552 mg, 4.80 mmol, 636  $\mu$ l) versetzt. Das Eisbad wurde entfernt und die Lösung für 1 h bei 25 °C gerührt. Danach wurde eine Lösung von *N*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)propinsäureamid (**29**) (677 mg, 4.00 mmol) in Acetonitril (4 ml) zugegeben. Die Lösung wurde daraufhin zuerst mit einer Lösung von Kupfersulfat Pentahydrat (99.9 mg, 400  $\mu$ mol) in Wasser (0.4 ml) und dann mit einer Lösung von Natriumascorbat (396 mg, 2.00 mmol) in Wasser (0.4 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für bei 25 °C gerührt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit Diethylether (3 x 20 ml) und Wasser (3 x 20 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

**3-(4-((Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)carbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)benzoesäure (**27**)**

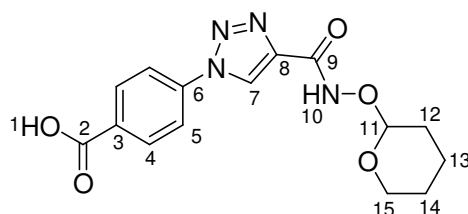
3-Aminobenzoesäure wurde gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 8 h.



Ausbeute: 944 mg (2.84 mmol, 71 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: Zersetzung bei 228 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 13.43 (br, 1 H, 1-H), 11.97 (s, 1 H, 12-H), 9.43 (s, 1 H, 9-H), 8.47 (s, 1 H, 4-H), 8.22 (dd,  $^3J_{\text{HH}}$  = 8.1 Hz,  $^4J_{\text{HH}}$  = 1.3 Hz, 1 H, 8-H), 8.07 (d,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.8 Hz, 1 H, 6-H), 7.75 (t,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.9 Hz, 1 H, 7-H), 5.06 (s, 1 H, 13-H), 4.11-4.17 (m, 1 H, 17-H), 3.48-3.57 (m, 1 H, 17'-H), 1.56-1.73 (m, 6 H, 14-H, 15-H, 16-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 166.3 (C-2), 157.0 (C-11), 141.9 (C-10), 136.5 (C-5), 132.7 (C-3), 130.5 (C-7), 129.7 (C-6), 125.5 (C-9), 124.7 (C-8), 121.0 (C-4), 100.8 (C-13), 61.1 (C-17), 27.7 (C-14), 24.7 (C-16), 18.0 (C-15). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3222 (m, N-H), 2937 (m,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1694 (s, C=O), 1637 (m, C=C), 1241 (s, (C-O)  $\text{cm}^{-1}$ ). CHN berechnet für  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_5$  (M.W. 332.17): C 54.21; H 4.85; N 16.86, gefunden C 54.05; H 4.72; N 16.70. MS (MALDI/TOF):  $m/z$  (%) = 248.8 (53.7 %)  $[\text{M-THP+H}]^+$ , 333.0 (0.7 %)  $[\text{M+H}]^+$ , 355.0 (100 %)  $[\text{M+Na}]^+$ , 371.0 (52.3 %)  $[\text{M+K}]^+$ .

#### 4-((Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)carbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)benzoesäure (28)

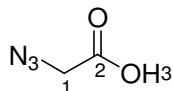
4-Aminobenzoesäure wurde gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 8 h.



Ausbeute: 678 mg (2.04 mmol, 51 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: Zersetzung bei 178 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 13.34 (br, 1 H, 1-H), 11.99 (s, 1 H, 12-H), 9.44 (s, 1 H, 9-H), 8.11-8.16 (m, 4 H, 4-H, 5-H), 5.06 (s, 1 H, 11-H), 4.14 (s, 1 H, 15-H), 3.50-3.53 (m, 1 H, 15'-H), 1.55-1.73 (m, 6 H, 12-H, 13-H, 14-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 166.4 (C-2), 157.0 (C-9), 142.1 (C-8), 139.2 (C-6), 131.2 (C-3), 131.1 (C-4), 125.4 (C-7), 120.4 (C-5), 100.8 (C-11), 61.1 (C-15), 27.7 (C-12), 24.7 (C-14), 18.0 (C-13). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3132 (m, N-H), 2942 (m,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1679 (s, C=O), 1273 (s, C-O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_5$  (M.W. 332.17): C 54.21; H 4.85; N 16.86, gefunden C 54.15; H 4.86; N 16.83. MS (MALDI/TOF):  $m/z$  (%) = 248.8 (43.5 %)  $[\text{M-THP+H}]^+$ , 355.0 (100 %)  $[\text{M+Na}]^+$ , 371.0 (24.9 %)  $[\text{M+K}]^+$ .

**2-Azidoessigsäure (30)**<sup>[118]</sup>

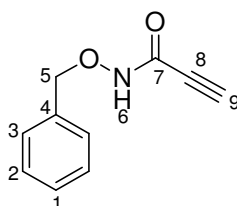
Bromessigsäure (3.00 g, 21.6 mmol) und Natriumazid (4.97 g, 76.4 mmol) wurden in Wasser (6 ml) gelöst und bei 25 °C für 8 h gerührt. Anschließend wurde Wasser (19 ml) zugegeben und der pH-Wert mit konz. Salzsäure auf 0 eingestellt. Danach wurde die wässrige Lösung mit Ethylacetat extrahiert (3 x 20 ml). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt.



Ausbeute: 1.97 g (19.5 mmol, 90 %) farbloses Öl. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.42 (br, 1 H, 3-H), 3.97 (s, 2 H, 1-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 174.0 (C-2), 50.1 (C-1). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3048 (m, OH), 2105 (s, N<sub>3</sub>), 1718 (s, C=O), 1181 (s, C-O) cm<sup>-1</sup>. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

**N-(Benzyloxy)propinsäureamid (31)**

O-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (1.25 g, 7.85 mmol) wurde in gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (20 ml) aufgenommen und für 1 h gerührt. Die wässrige Lösung wurde im Anschluss mit Dichlormethan (3 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in Dichlormethan (10 ml) aufgenommen und mit Propinsäure (500 mg, 7.14 mmol, 442 µl) versetzt. Die Lösung wurde im Eisbad auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise eine Lösung von DCC (1.62 g, 7.85 mmol) in Dichlormethan (14 ml) zugegeben. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung für 3 h bei 25 °C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockne eingeeengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/Hexan = 1:1).

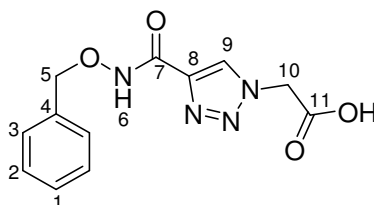


Ausbeute: 854 mg (4.87 mmol, 62 %) farbloses Öl. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.26 (s, 1 H, 6-H), 7.38-7.42 (m, 5 H, 1-H, 2-H, 3-H), 4.95 (s, 2 H, 5-H), 2.84 (s, 1 H, 9-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 150.4 (C-7), 134.7 (C-4), 129.5 (C-2), 129.2 (C-1), 128.9 (C-3), 78.8 (C-9), 76.1 (C-5), 74.5 (C-8).



**2-(4-(Benzyloxycarbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)essigsäure (32)**

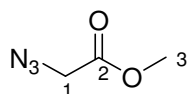
2-Azidoessigsäure **30** (101 mg, 1.00 mmol), Kupfersulfat Pentahydrat (25.0 mg, 100  $\mu$ mol) und Natriumascorbat (79.2 mg, 400  $\mu$ mol) wurden unter Stickstoffatmosphäre in Acetonitril (2 ml) suspendiert. Eine Lösung von *N*-(Benzyloxy)propionsäureamid **31** (175 mg, 1.00 mmol) in Acetonitril (2 ml) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung wurde bei 25 °C für 8 h gerührt. Danach wurde Wasser (400  $\mu$ l) zugegeben, wobei eine rote Lösung entstand. Es wurde für weitere 14 h gerührt und die Reaktionsmischung anschließend in Wasser (25 ml) gegossen. Die Lösung wurde mit wässriger Natriumsulfidlösung (0.5 M, 400  $\mu$ l) versetzt und der dabei ausgefallene schwarze Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde bis auf 5 ml eingeeengt und mit Diethylether (30 ml) versetzt. Anschließend wurde so viel Methanol zugegeben, dass sich die beiden Phasen mischen. Der dabei ausfallende farblose Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet.



Ausbeute: 189 mg (685  $\mu$ mol, 69 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 11.91 (s, 1 H, 6-H), 8.36 (s, 1 H, 9-H), 7.33-7.56 (m, 5 H, 1-H, 2-H, 3-H), 4.91 (s, 2 H, 5-H), 4.74 (s, 2 H, 10-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  = 167.3 (C-11), 158.1 (C-7), 140.0 (C-8), 135.9 (C-4), 128.8 (C-2), 128.3 (C-3), 128.3 (C-1), 127.6 (C-9), 77.2 (C-5), 53.7 (C-10). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3152 (m, OH), 3011 (w,  $\text{sp}^2\text{-C-H}$ ), 2947 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1661 (s, C=O), 1596 (s, C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . MS (MALDI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 276.9 (66.7 %)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 298.9 (100 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 314.9 (32.7 %)  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .

**Methyl-2-azidoacetat (33)**<sup>[119]</sup>

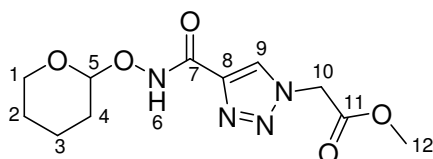
Methyl-2-bromacetat (2.00 g, 13.1 mmol, 1.32 ml) und Natriumazid (1.56 g, 24.0 mmol) wurden in einer Aceton/Wasser-Mischung (40 ml, 3:1 (v/v)), gelöst und bei 60 °C für 6 h gerührt. Die organischen Bestandteile des Lösungsmittels wurden abdestilliert und die wässrige Phase mit Wasser (30 ml) und Dichlormethan (30 ml) versetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit Dichlormethan extrahiert (2 x 30 ml). Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt.



Ausbeute: 1.48 g (12.9 mmol, 98 %) farbloses Öl.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 3.89 (s, 2 H, 1-H), 3.81 (s, 3 H, 3-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 168.9 (C-2), 52.7 (C-1), 50.4 (C-3). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2960 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 2102 (s,  $\text{N}_3$ ), 1743 (s, C=O), 1202 (s, C-O)  $\text{cm}^{-1}$ . Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

**Methyl-2-(4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)carbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetat (34)**

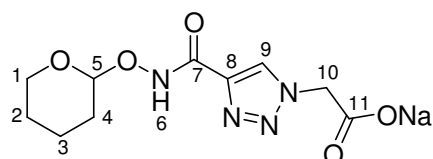
Methyl-2-azidoacetat **33** (230 mg, 2.00 mmol), Kupfersulfat Pentahydrat (50.0 mg, 200  $\mu$ mol) und Natriumascorbat (158 mg, 800  $\mu$ mol) wurden unter Schutzgasatmosphäre in einer Acetonitril/Wasser-Mischung (5 ml, 4:1 (v/v)) gelöst und für 20 Min. bei 25 °C gerührt. Danach wurde eine Lösung von *N*-((Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)propionsäureamid **26** (338 mg, 2.00 mmol) in Acetonitril (4 ml) zugetropft und die Reaktionsmischung bei 25 °C für 5 h gerührt. Anschließend wurde Wasser (20 ml) und Ethylacetat (20 ml) zugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert (3 x 10 ml). Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde aus Hexan/Ethylacetat umkristallisiert.



Ausbeute: 411 mg (1.45 mmol, 73 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 119 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 11.86 (s, 1 H, 6-H), 8.59 (s, 1 H, 9-H), 5.49 (s, 2 H, 10-H), 5.02 (s, 1 H, 5-H), 4.08-4.14 (m, 1 H, 1-H), 3.72 (s, 3 H, 12-H), 3.48-3.51 (m, 1 H, 1'-H), 1.54-1.70 (m, 6 H, 2-H, 3-H, 4-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 167.5 (C-11), 157.3 (C-7), 140.9 (C-8), 128.3 (C-9), 100.7 (C-5), 61.1 (C-1), 52.7 (C-12), 50.6 (C-10), 27.7 (C-4), 24.7 (C-2), 18.0 (C-3) ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3300 (w, N-H), 2954 (m, sp<sup>3</sup>-C-H), 1770 (s, C=O), 1661 (s, C=O). CHN berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (M.W. 284.11) C, 46.48; H, 5.67; N, 19.71; gefunden C, 46.28; H, 5.55; N, 19.86. MS (MALDI/TOF): *m/z* (%) = 200.7 (100 %) [M-THP+H]<sup>+</sup>, 306.9 (75.4 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 322.9 (54.8 %) [M+K]<sup>+</sup>.

**Natrium 2-(4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)carbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetat (35)**

Eine Lösung von Methyl-2-(4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)carbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetat **34** (300 mg, 1.06 mmol) in Methanol (8 ml) wurde mit einer Lösung von Natriumhydroxid (42.2 mg, 1.06 mmol) in Wasser (4 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 16 h bei 70 °C gerührt und danach das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der Rückstand wurde mit Ethylacetat (30 ml) versetzt und die unlöslichen Bestandteile abfiltriert. Der Filterkuchen wurde mit Ethylacetat (3 x 20 ml) und Diethylether (1 x 20 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

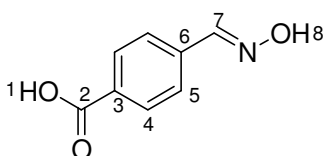


Ausbeute: 272 mg (931  $\mu$ mol, 88 %) grünlicher Feststoff. Schmelzpunkt: Zersetzung bei 194 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 11.72 (s, 1 H, 6-H), 8.29 (s, 1 H, 9-H), 4.99 (s,

1 H, 5-H), 4.69 (s, 2 H, 10-H), 4.06-4.11 (m, 1 H, 1-H), 3.47-3.50 (m, 1 H, 1'-H), 1.53-1.70 (m, 6 H, 2-H, 3-H, 4-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}+\text{EtOAc}$ ):  $\delta = 18.4$  (C-3), 25.0 (C-4), 28.1 (C-2), 53.9 (C-10), 63.5 (C-1), 103.5 (C-5), 128.8 (C-9), 140.2 (C-8), 160.6 (C-7), 173.4 (C-11).

#### 4-((Hydroxyimino)methyl)benzoesäure (46)<sup>[122]</sup>

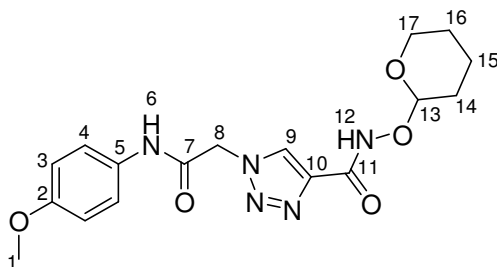
4-Formylbenzoesäure (1.00 g, 6.66 mmol) und Hydroxylamin Hydrochlorid (552 mg, 7.99 mmol) wurden in einen Mörser gegeben und gründlich durchmischt. Natriumhydroxid (320 mg, 7.99 mmol) und Methanol (32 Tropfen) wurden zugegeben und 2 min gemörsert. Die Mischung wurde dann 5 min ruhen gelassen und anschließend Methanol (32 Tropfen) nachdosiert und erneut für 2 min gemörsert. Der Feststoff wurde mit Wasser (3 x 10 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet.



Ausbeute 759 mg (4.60 mmol, 69 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 209 °C.  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta = 12.95$  (s, 1 H, 1-H), 11.57 (s, 1 H, 8-H), 8.22 (s, 1 H, 7-H), 7.95 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz, 2 H, 4-H), 7.70 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz, 2 H, 5-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta = 167.1$  (C-2), 147.6 (C-7), 137.3 (C-6), 131.2 (C-3), 129.8 (C-4), 126.5 (C-5). Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

#### 1-(2-(4-Methoxyphenylamino)-2-oxoethyl)-N-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamid (47)

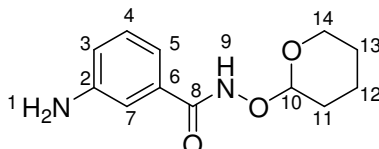
4-Methoxyanilin (5.00 mg, 40.6  $\mu\text{mol}$ ), Natrium-2-(4-((tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)-carbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetat **35** (23.7 mg, 81.2  $\mu\text{mol}$ ) und PyCloP (17.1 mg, 40.6  $\mu\text{mol}$ ) wurden in DMF (2 ml) suspendiert und tropfenweise mit DIPEA (21.1 mg, 162  $\mu\text{mol}$ , 28.2  $\mu\text{l}$ ) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei 25 °C gerührt.



Da es sich lediglich um eine Testreaktion zur Bestimmung geeigneter Reaktionsparameter zur Umsetzung des verwendeten Natriumcarboxylats handelte, wurde keine Bestimmung der Ausbeute oder genauere Charakterisierung der Verbindung vorgenommen.

**3-Amino-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)benzamid (48)**

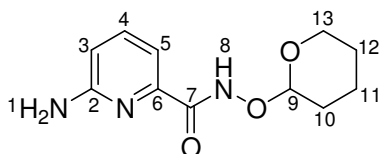
3-Aminobenzoessäure (1.80 g, 13.1 mmol), *N*-((Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)amin (1.53 g, 13.1 mmol) und TBTU (4.21 g, 13.1 mmol) wurden in Dichlormethan (50 mL) suspendiert und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde tropfenweise DIPEA (3.40 g, 26.3 mmol, 4.60 mL) zugegeben und die Lösung für 30 min. bei 0 °C gerührt. Das Eisbad wurde entfernt und die entstandene Lösung bei 25 °C für weitere 14 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt (SiO<sub>2</sub>, (v/v)).



Ausbeute: 2.01 g (8.51 mmol, 65 %) farbloser Feststoff. Schmelzpunkt: 137 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 11.39 (s, 1 H, 9-H), 7.06 (t, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, 4-H), 6.94 (s, 1 H, 7-H), 6.84 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, 5-H), 6.69 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, 3-H), 5.28 (s, 2 H, 1-H), 4.95 (s, 1 H, 10-H), 4.02-4.06 (m, 1 H, 14-H), 3.48-3.51 (m, 1 H, 14'-H), 1.53-1.70 (m, 6 H, 11-H, 12-H, 13-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 166.2 (C-8), 148.8 (C-2), 133.3 (C-6), 128.8 (C-4), 116.7 (C-5), 114.2 (C-3), 112.6 (C-7), 100.7 (C-10), 61.2 (C-14), 27.9 (C-11), 24.8 (C-13), 18.3 (C-12). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = cm<sup>-1</sup>. 3366 (m, NH), 3189 (m, NH), 2944 (m, sp<sup>3</sup>-C-H), 1621 (s, C=O), 1113 (s, C-O). CHN berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (M.W. 236.12): C 61.00; H 6.83; N 11.86, gefunden C 60.72; H 6.80; N 11.73. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 152.3 (93.4 %) [M+CB(OH)+H]<sup>+</sup>, 236.4 (46.4 %) [M+H]<sup>+</sup>, 258.3 (100 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 274.3 (56.5 %) [M+K]<sup>+</sup>, 320.3 (22.8 %) [M+CB(OH)<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>, 342.3 (19.3 %) [M+CB(OH)<sub>2</sub>+Na]<sup>+</sup>, 358.3 (12.4 %) [M+CB(OH)<sub>2</sub>+K]<sup>+</sup>, 494.1 (9.9 %) [2M+Na]<sup>+</sup>.

**6-Amino-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)picolinamid (49)**

6-Aminopicolinsäure (1.54 g, 11.1 mmol), *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamin (1.30 g, 11.1 mmol) und TBTU (3.56 g, 11.1 mmol) wurden in Dichlormethan (50 ml) suspendiert und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde DIPEA (2.87 g, 22.2 mmol, 3.88 ml) zugetropft, das Eisbad entfernt, und die entstehende klare Lösung für 24 h bei 25 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt (SiO<sub>2</sub>, EtOAc).

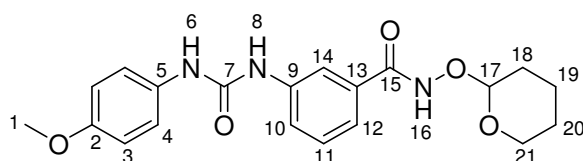


Ausbeute: 1.28 g (5.40 mmol, 49 %). Schmelzpunkt: 130 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 11.09 (s, 1 H, 8-H), 7.52 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.2 Hz, 1 H, 4-H), 7.09 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, 1 H, 5-H),

6.63 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz, 1 H, 3-H), 6.09 (s, 2 H, 1-H), 4.99 (s, 1 H, 9-H), 4.06-4.11 (m, 1 H, 13-H), 3.49-3.52 (m, 1 H, 13'-H), 1.53-1.70 (m, 6 H, 10-H, 11-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta = 162.0$  (C-7), 158.7 (C-2), 147.8 (C-6), 138.1 (C-4), 111.7 (C-5), 110.4 (C-3), 100.9 (C-9), 61.3 (C-13), 27.8 (C-10), 24.8 (C-12), 18.2 (C-11). IR (ATR):  $\tilde{\nu} = 3337$  (m, NH), 2946 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1672 (s, C=O), 1617 (s, C=C), 1031 (s, C-O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$  (M.W.: 237.11): C 55.69; H 6.37; N 17.71, gefunden: C 55.57; H 6.18; N 17.75. MS (MALDI/TOF):  $m/z$  (%) = 153.3 (90.8 %)  $[\text{M}+\text{CB}(\text{OH})+\text{H}]^{++}$ , 237.2 (91.8 %)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 259.2 (100 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 275.1 (96.1 %)  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 321.4 (36.0 %)  $[\text{M}+\text{CB}(\text{OH})_2+\text{H}]^+$ , 343.4 (17.6 %)  $[\text{M}+\text{CB}(\text{OH})_2+\text{Na}]^+$ , 359.0 (9.8 %)  $[\text{M}+\text{CB}(\text{OH})_2+\text{K}]^+$ , 496.2 (63.3 %)  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 1-(3-((Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)carbamoyl)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)harnstoff (50)

Unter Stickstoffatmosphäre wurde Triphosgen (208 mg, 707  $\mu\text{mol}$ ) in Toluol (20 ml) gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung von 3-Amino-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)benzamid **48** (500 mg, 2.12 mmol) und Triethylamin (429 mg, 4.24 mmol, 588  $\mu\text{l}$ ) in Dichlormethan (10 ml) zugegeben. Das Eisbad wurde entfernt und die Lösung für 30 min bei 25 °C gerührt. Danach wurde die Reaktionsmischung auf 80 °C erhitzt und bei dieser Temperatur für weitere 24 h gerührt. Die Lösung wurde auf 25 °C abkühlen gelassen, bevor eine Lösung von 4-Methoxyanilin (261 mg, 2.12 mmol) in Dichlormethan (10 ml) zugegeben wurde. Die Reaktionsmischung wurde anschließend bei 80 °C für weitere 24 h gerührt. Wasser (20 ml) wurde zugegeben und für 10 Minuten bei 25 °C gerührt. Danach wurden die Phasen getrennt und die organische Phase bis zur Trockne eingedunstet. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hexan = 4:1 (v/v)).



Ausbeute: 350 mg (909  $\mu\text{mol}$ , 43 %) gelblicher Feststoff. Schmelzpunkt: 187 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta = 11.59$  (s, 1 H, 16-H), 8.77 (s, 1 H, 8-H), 8.49 (s, 1 H, 6-H), 7.81 (s, 1 H, 14-H), 7.59-7.64 (m, 1 H, 12-H), 7.30-7.38 (m, 4 H, 4-H, 10-H, 11-H), 6.87 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 9.1$  Hz, 2 H, 3-H), 4.99 (s, 1 H, 17-H), 4.02-4.08 (m, 1 H, 21-H), 3.71 (s, 3 H, 1-H), 3.51-3.55 (m, 1 H, 21'-H), 1.55-1.72 (m, 6 H, 18-H, 19-H, 20-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta = 164.5$  (C-15), 154.6 (C-2), 152.7 (C-7), 140.1 (C-9), 133.1 (C-13), 132.6 (C-11), 128.8 (C-5), 121.0 (C-10), 120.2 (C-12), 120.2 (C-4), 117.1 (C-14), 114.0 (C-3), 100.9 (C-17), 61.3 (C-21), 55.2 (C-1), 27.9 (C-18), 24.8 (C-20), 18.3 (C-19). IR (ATR):  $\tilde{\nu} = 3328$  (m, NH), 3161 (m, NH), 3003 (w,  $\text{sp}^2\text{-C-H}$ ), 2941 (m,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1625 (s, C=O), 1607 (s, C=O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (M.W.: 403.18): C 59.54; H 6.25; N 10.42, gefunden:

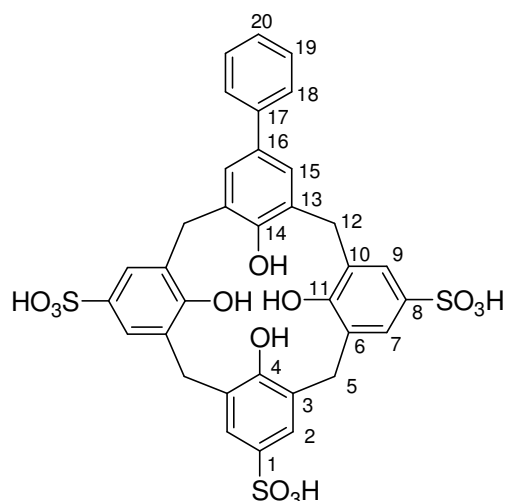
C 59.93; H 6.17; N 10.03. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%): = 301.9 (100 %) [M-THP+H]<sup>+</sup>, 408.1 (62.6 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 424.1 (40.1 %) [M+K]<sup>+</sup>.

### Allgemeine Vorschrift zur Durchführung der Suzuki-Kupplungen<sup>[94]</sup>

5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren, das entsprechende Boronsäurederivat (1 Äq.), Palladium(II)acetat (0.2 Äq.) und Natriumcarbonat (3.8 Äq.) wurden in einem Reaktionsvial mit Septum unter Stickstoffatmosphäre in Wasser gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 115 °C erhitzt und für 24 h gerührt. Die unlöslichen Bestandteile wurden abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Dichlormethan (2 x 25 ml) und Ethylacetat (1 x 30 ml) gewaschen und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser (2-4 ml) aufgenommen und mittels HPLC aufgereinigt (Methode 1).

### 5-Phenyl-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren (S1)<sup>[94]</sup>

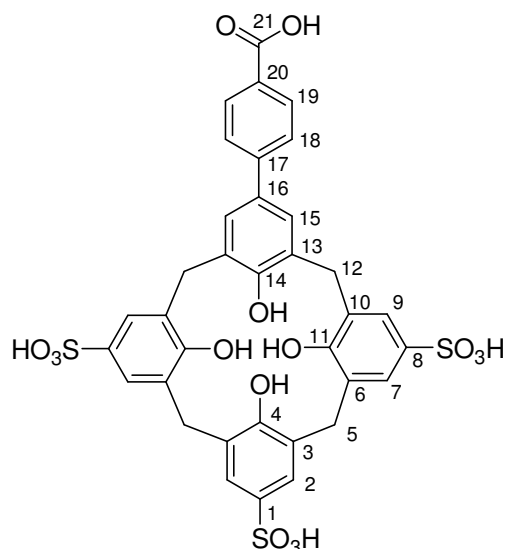
5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (300 mg, 403 µmol) wurde mit Phenylboronsäure (49.1 mg, 403 µmol), Palladium(II)acetat (18.1 mg, 80.6 µmol) und Natriumcarbonat (162 mg, 1.53 mmol) in Wasser (12.5 ml) gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.



Ausbeute: 86.9 mg (117 µmol, 29 %) brauner Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 7.88 (ds, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, 2 H, 7-H), 7.80 (ds, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, 2 H, 9-H), 7.55 (s, 2 H, 2-H), 6.87 (s, 2 H, 15-H), 6.32 (s, 2 H, 18-H), 5.06 (br, 2 H, 19-H), 4.35 (br, 1 H, 20-H), 3.98 (br, 8 H, 5-H, 12-H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 153.0 (C-11), 151.7 (C-4), 148.1 (C-14), 137.7 (C-1), 137.2 (C-8), 135.6 (C-17), 129.7 (C-6), 129.5 (C-3), 129.1 (C-10), 128.8 (C-19), 128.8 (C-13), 128.3 (C-18), 127.8 (C-15), 127.7 (C-7), 127.4 (C-2), 127.2 (C-16), 126.9 (C-9), 31.6 (C-5, C-12). IR (ATR): ν̄ = 3231 (s, OH), 2964 (w, sp<sup>3</sup>-C-H), 1108 (s, C-O) cm<sup>-1</sup>. CHN berechnet für C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>O<sub>13</sub>S<sub>3</sub> \* 14 H<sub>2</sub>O (M.W. 992.98): C 41.13; H 5.69; S 9.69, gefunden: C 40.84; H 5.51; S 9.48. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 763.2 (100 %) [M+Na]<sup>+</sup>, 779.1 (15.2 %) [M+K]<sup>+</sup>, 785.2 (46.6 %) [M-H+2Na]<sup>+</sup>, 801.2 (16.3 %) [M-H+K+Na]<sup>+</sup>. Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

**5-(4-Carboxyphenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (S2)<sup>[94]</sup>**

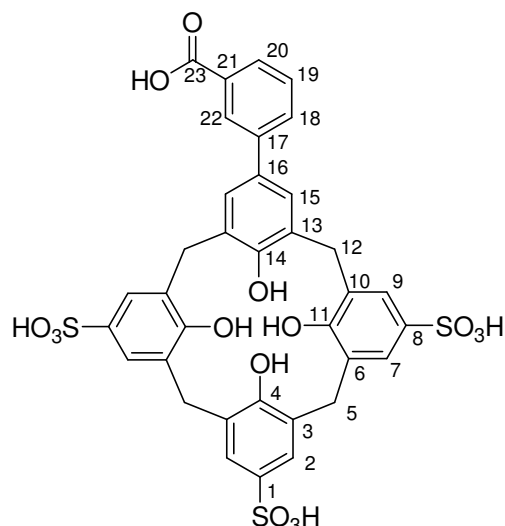
5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (400 mg, 538  $\mu\text{mol}$ ) wurde mit (4-Ethoxycarbonylphenyl)boronsäure (104 mg, 538  $\mu\text{mol}$ ), Palladium(II)acetat (24.2 mg, 108  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumcarbonat (217 mg, 2.04 mmol) in Wasser (12.5 ml) gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.



Ausbeute: 88.8 mg (113  $\mu\text{mol}$ , 21 %) beiger Feststoff. Schmelzpunkt:  $>250\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 7.83 (d,  $^3J_{\text{HH}}$  = 8.2 Hz, 2 H, 19-H), 7.57 (s, 2 H, 7-H), 7.56 (s, 2 H, 9-H), 7.46 (s, 2 H, 2-H), 7.42 (d,  $^3J_{\text{HH}}$  = 8.2 Hz, 2 H, 18-H), 7.27 (s, 2 H, 15-H), 3.93 (br, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD} = 9:1$  (v/v)):  $\delta$  = 170.3 (C-21), 151.9 (C-11), 151.0 (C-4), 148.6 (C-14), 144.5 (C-17), 136.0 (C-1), 135.6 (C-8), 133.6 (C-16), 130.0 (C-19), 128.3 (C-6), 128.2 (C-3), 128.1 (C-10), 128.0 (C-15), 127.9 (C-18), 127.5 (C-20), 126.5 (C-15), 126.5 (C-7), 126.4 (C-2), 126.4 (C-9), 30.7 (C-5), 30.5 (C-12). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3192 (s, OH), 2955 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1680 (m, C=O), 1106 (s, C-O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{35}\text{H}_{28}\text{O}_{15}\text{S}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (M.W. 946.92): C 44.39; H 4.90; S 10.16, gefunden: C 44.40; H 4.90; S 9.86. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): m/z (%) = 807.5 (3.6 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 829.5 (57.5 %)  $[\text{M}-\text{H}+2\text{Na}]^+$ , 851.5 (94.0 %)  $[\text{M}-2\text{H}+3\text{Na}]^+$ , 873.6 (100 %)  $[\text{M}-3\text{H}+4\text{Na}]^+$ , 895.5 (21.0 %)  $[\text{M}-4\text{H}+5\text{Na}]^+$ . Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

**5-(3-Carboxyphenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (S3)**

5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (400 mg, 538  $\mu\text{mol}$ ) wurde mit (3-Ethoxycarbonylphenyl)boronsäure (104 mg, 538  $\mu\text{mol}$ ), Palladium(II)acetat (24.2 mg, 108  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumcarbonat (217 mg, 2.04 mmol) in Wasser (12.5 ml) gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.

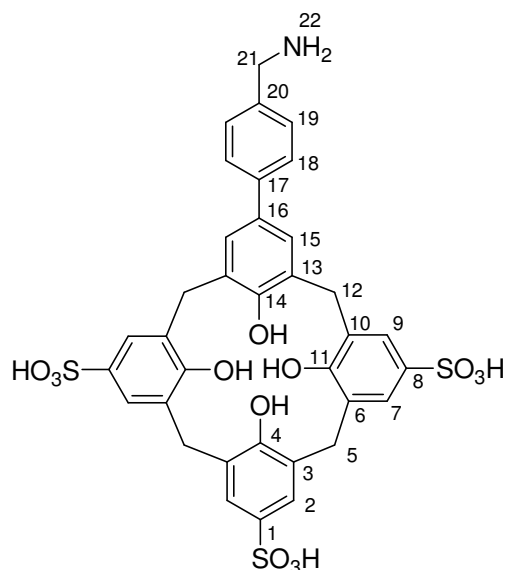


Ausbeute: 115 mg (146  $\mu\text{mol}$ , 27 %) beiger Feststoff. Schmelzpunkt:  $>250\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 7.79 (ds,  $^4J_{\text{HH}} = 1.9\text{ Hz}$ , 2 H, 7-H), 7.68 (ds,  $^4J_{\text{HH}} = 2.1\text{ Hz}$ , 2 H, 9-H), 7.37 (s, 2 H, 2-H), 7.13 (br, 1 H, 18-H), 6.99 (s, 2 H, 15-H), 6.51 (br, 1 H, C-22), 5.92 (br, 1 H, 19-H), 4.96 (br, 1 H, 20-H), 4.01 (br, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 169.9 (C-23), 152.8 (C-11), 152.6 (C-4), 150.6 (C-14), 136.3 (C-17), 135.6 (C-1), 135.4 (C-8), 133.0 (C-18), 128.4 (C-22), 128.4 (C-13), 128.2 (C-20), 128.1 (C-19), 128.0 (C-6), 127.9 (C-16), 127.8 (C-3), 127.7 (C-10), 127.5 (C-21), 127.4 (C-15), 126.8 (C-7), 126.6 (C-2), 126.5 (C-9), 30.6 (C-5), 30.6 (C-12). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3183 (m, OH), 2950 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1685 (m, C=O), 1606 (m, C=C), 1110 (s, C-O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{35}\text{H}_{28}\text{O}_{15}\text{S}_3 \cdot 5,5\text{ H}_2\text{O}$  (M.W.: 883.86): C 48.38; H 4.87; S 11.07, gefunden: C 48.63; H 4.85; S 10.71. MS (MALDI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 807.5 (100 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 823.5 (37.7 %)  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 829.6 (18.1 %)  $[\text{M}-\text{H}+2\text{Na}]^+$ , 845.5 (12.9 %)  $[\text{M}-\text{H}+\text{Na}+\text{K}]^+$ .

#### 5-(4-Aminomethylphenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (S4)<sup>[94]</sup>

5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (200 mg, 269  $\mu\text{mol}$ ) wurde mit (4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan)phenyl)methylamin Hydrochlorid (72.5 mg, 269  $\mu\text{mol}$ ), Palladiumacetat (12.1 mg, 53.8  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumcarbonat (108 mg, 1.02 mmol) in Wasser (12.5 ml) gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.

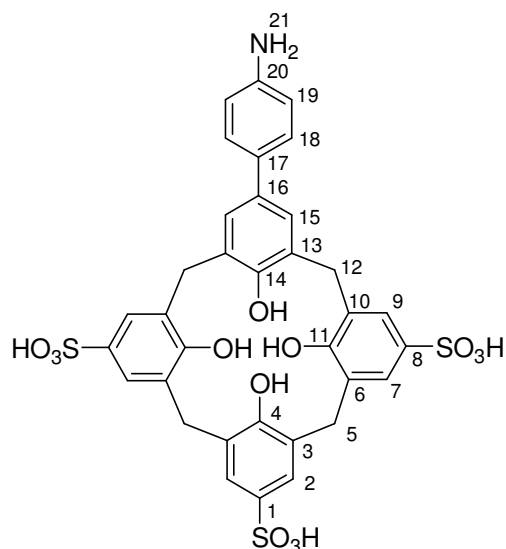




Ausbeute: 88.2 mg (115  $\mu\text{mol}$ , 43 %) beiger Feststoff. Schmelzpunkt:  $>250\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 7.78$  (s, 2 H, 7-H), 7.71 (s, 2 H, 9-H), 7.54 (s, 2 H, 2-H), 7.11 (s, 2 H, 15-H), 6.77 (br, 2 H, 18-H), 6.22 (br, 2 H, 19-H), 4.03 (br, 8 H, 5-H, 12-H), 2.78 (br, 2 H, 21-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 152.4$  (C-11) 150.8 (C-4), 147.4 (C-14), 138.9 (C-20), 136.3 (C-1), 135.9 (C-8), 133.4 (C-17), 130.0 (C-16), 128.7 (C-15), 128.5 (C-6), 128.2 (C-3), 128.0 (C-10), 127.9 (C-18), 127.3 (C-19), 126.4 (C-7), 126.4 (C-2), 126.4 (C-13), 126.3 (C-9), 41.9 (C-21), 30.8 (C-5), 30.5 (C-12). CHN berechnet für  $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_{13}\text{S}_3 \cdot 5,5 \text{H}_2\text{O}$  (M.W. 868.89): C 48.38; H 4.87; N 1.61; S 11.07, gefunden: C 48.63; H 4.85; N 1.73; S 10.71. MS (MALDI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 753.5 (100 %)  $[\text{M-NH}_2]^+$ , 770.5 (16.1 %)  $[\text{M+H}]^+$ , 792.5 (2.1 %)  $[\text{M+Na}]^+$ . Die analytischen Daten entsprechen den Literaturwerten.

### 5-(4-Aminophenyl)-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (S5)

5-Brom-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (300 mg, 403  $\mu\text{mol}$ ) wurde mit (4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan)aminobenzol (88.3 mg, 403  $\mu\text{mol}$ ), Palladium(II)acetat (18.1 mg, 80.7  $\mu\text{mol}$ ) und Natriumcarbonat (162 mg, 1.53 mmol) in Wasser (12.5 ml) gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.



Ausbeute: 77.7 mg (103  $\mu\text{mol}$ , 26 %) grauer Feststoff. Schmelzpunkt:  $>250\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 7.54$  (s, 2 H, 7-H), 7.51 (s, 2 H, 9-H), 7.38-7.40 (m, 4 H, 2-H, C-18), 7.23 (d, 2 H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.5$  Hz, 19-H), 7.19 (s, 2 H, 15-H), 3.86 (br, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 151.6$  (C-11), 150.7 (C-4), 148.1 (C-14), 140.3 (C-20), 136.2 (C-1), 135.9 (C-8), 133.6 (C-16), 128.4 (C-15), 128.1 (C-6), 128.1 (C-3), 128.0 (C-10), 127.8 (C-17), 126.5 (C-7), 126.5 (C-2), 126.5 (C-9) 126.5 (C-18), 126.3 (C-13), 123.1 (C-19), 30.9 (C-5), 30.4 (C-12). IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\tilde{\nu} = 3412$  (w, NH), 3146 (m, OH), 2945 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1595 (w, C=C)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{NO}_{13}\text{S}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O} \cdot \text{CF}_3\text{COOH}$  (M.W.: 977.19): C 44.26; H 4.23; N 1.43; S 9.85, gefunden: C 44.10; H 4.43; N 1.39; S 9.97. MS (MALDI/TOF):  $m/z$  (%) = 755.6 (100 %)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 778.7 (43.5 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 794.6 (12.8 %)  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .

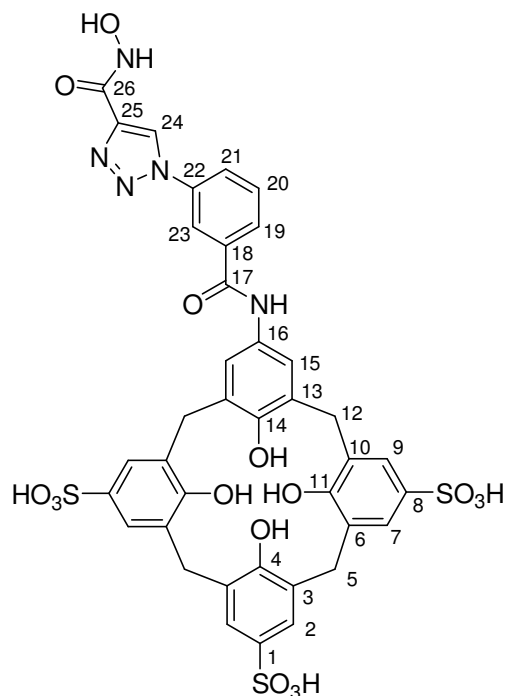
### Allgemeine Vorschrift zur Amidkupplung mit TBTU

5-Amino-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (300 mg, 402  $\mu\text{mol}$ ), das Carbonsäurederivat (134 mg, 402  $\mu\text{mol}$ ) und TBTU (129 mg, 402  $\mu\text{mol}$ ) wurden unter Stickstoffatmosphäre in trockenem DMF (10 ml) vorgelegt. Die Reaktionsmischung wurde tropfenweise mit DIPEA (311 mg, 2.41 mmol, 409  $\mu\text{l}$ ) versetzt und im Anschluss bei  $25\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Die Suspension wurde dann in Ethylacetat (35 ml) gegossen und die unlöslichen Bestandteile abzentrifugiert. Das überstehende Lösungsmittel wurde abdekantiert und der Rückstand mit Ethylacetat (2 x 35 ml) gewaschen. Der Feststoff wurde in Wasser (40 ml) aufgenommen und der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 1 M wässriger Natriumhydroxidlösung auf 12 eingestellt. Die wässrige Lösung wurde mit Ethylacetat (3 x 25 ml), Dichlormethan (2 x 25 ml) und erneut mit Ethylacetat (1 x 25 ml) gewaschen. Anschließend wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 1 M HCl-Lösung auf 0-1 eingestellt und für 12 h bei  $25\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Danach wurde der pH-Wert erneut durch Zugabe von 1 M wässriger Natriumhydroxidlösung auf 12 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 x 25 ml) gewaschen und das Lösungsmittel eingeeengt (2-4 ml). Die Lösung wurde mit konzentrierter Salzsäure

angesäuert, die unlöslichen Bestandteile abzentrifugiert und die überstehende Lösung mittels HPLC aufgereinigt (Methode 1).

### 5-(3-(4-(Hydroxycarbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)phenylamido)-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren (S6b)

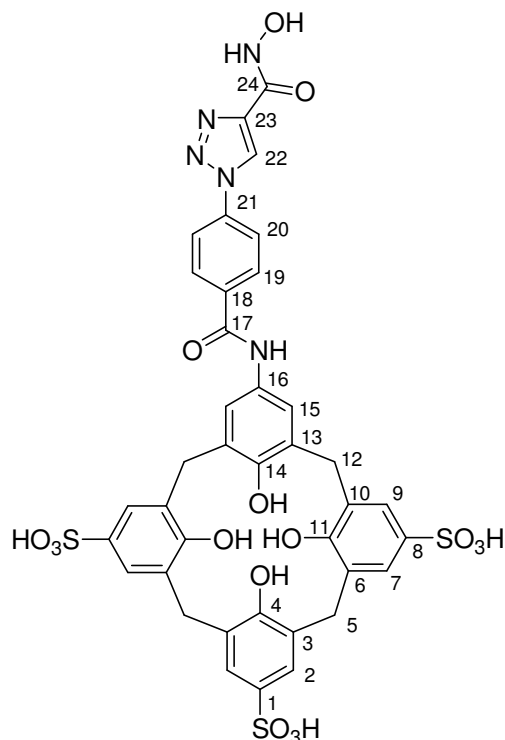
3-(4-((Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-carbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)benzoesäure **27** und 5-Amino-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren wurden gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.



Ausbeute: 54.9 mg (60.3  $\mu\text{mol}$ , 15 %) beiger Feststoff. Schmelzpunkt:  $>250\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD} = 9:1$  (v/v)):  $\delta = 8.87$  (s, 1 H, 24-H), 8.28 (s, 1 H, 23-H), 7.90-7.99 (m, 2 H, 19-H, 21-H), 7.61 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 8.0$  Hz, 1 H, 20-H), 7.53 (s, 4 H, 7-H, 9-H), 7.50 (s, 2 H, 2-H), 7.30 (s, 2 H, 15-H), 3.88 (br, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 163.0$  (C-26), 162.7 (C-17), 151.7 (C-11), 151.4 (C-4), 150.0 (C-14), 146.0 (C-25), 136.0 (C-1), 135.8 (C-8), 135.2 (C-24), 131.1 (C-21), 129.8 (C-18), 129.5 (C-16), 128.3 (C-6), 128.1 (C-13), 128.0 (C-3), 128.0 (C-10), 127.9 (C-20), 127.6 (C-22), 126.6 (C-7), 126.6 (C-2), 126.5 (C-9), 126.4 (C-19), 122.7 (C-15), 119.6 (C-23), 30.7 (C-5), 30.5 (C-12). IR (ATR):  $\tilde{\nu} = 3134$  (m, NH), 1713 (w, N=N), 1638 (w, C=O), 1147 (s, C-O)  $\text{cm}^{-1}$ . CHN berechnet für  $\text{C}_{38}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_{16}\text{S}_3 \cdot \text{TFA} \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (M.W.: 1131.98): C 42.44; H 3.92; N 6.19; S 8.50, gefunden: C 42.68; H 3.78; N 6.37; S 8.64. MS (MALDI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 894.2 (11.7 %)  $[\text{M}-\text{O}+\text{H}]^+$ , 910.2 (29.3 %)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 916.2 (38.9 %)  $[\text{M}-\text{O}+\text{Na}]^+$ , 932.2 (100 %)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 938.3 (29.1 %)  $[\text{M}-\text{O}-\text{H}+2\text{Na}]^+$ , 948.2 (41.0 %)  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 954.3 (78.3 %)  $[\text{M}-\text{H}+2\text{Na}]^+$ , 970.2 (47.2 %)  $[\text{M}-\text{H}+\text{Na}+\text{K}]^+$ , 976.3 (11.4 %)  $[\text{M}-2\text{H}+3\text{Na}]^+$ .

### 5-(4-(4-(Hydroxycarbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)phenylamido)-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren (S7b)

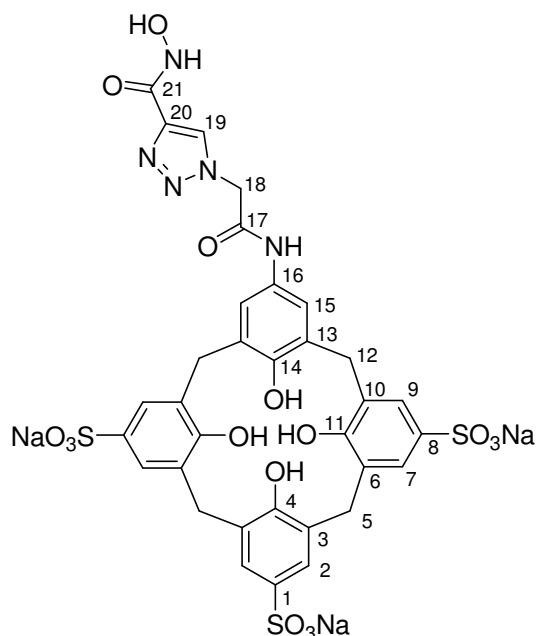
4-(4-((Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-carbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)benzoesäure **28** und 5-Amino-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren wurden gemäß der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.



Ausbeute: 43.9 mg (48.2  $\mu\text{mol}$ , 12 %) grauer Feststoff. Schmelzpunkt:  $>250\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 8.72$  (s, 1 H, 22-H), 7.72-7.90 (m, 4 H, 19-H, 22-H), 7.61 (ds,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 2 H, 7-H), 7.58 (ds,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 2 H, 9-H), 7.51 (s, 2 H, 2-H), 7.23 (s, 2 H, 15-H), 3.96 (m, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 164.4$  (C-24), 164.0 (C-17), 152.0 (C-11), 150.9 (C-14), 150.8 (C-4), 145.3 (C-23), 138.0 (C-22), 136.4 (C-1), 135.8 (C-8), 131.4 (C-18), 129.0 (C-13), 128.5 (C-6), 128.5 (C-16), 128.4 (C-3), 128.2 (C-10), 126.6 (C-21), 126.5 (C-7), 126.3 (C-2), 126. (C-9), 124.6 (C-15), 121.8 (C-20), 120.5 (C-19), 30.5 (C-5), 30.3 (C-5). IR (ATR):  $\tilde{\nu} = 3174$  (m, NH), 2947 (m,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1702 (w, N=N), 1656 (m, C=O), 1117 (s, C-O). CHN berechnet für  $\text{C}_{38}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_{16}\text{S}_3 \cdot 2 \text{DMF} \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (M.W.: 1164.17): C 45.40; H 4.94; N 8.42; S 8.26, gefunden: C 45.43; H 4.56; N 8.21; S 8.37. MS (MALDI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 894.1 (3.2 %)  $[\text{M-O+H}]^+$ , 910.0 (9.0 %)  $[\text{M+H}]^+$ , 916.1 (13.5 %)  $[\text{M-O+Na}]^+$ , 932.1 (47.3 %)  $[\text{M+Na}]^+$ , 938.1 (22.6 %)  $[\text{M-O-H+2Na}]^+$ , 948.0 (26.8 %)  $[\text{M+K}]^+$ , 954.1 (100 %)  $[\text{M-H+2Na}]^+$ , 970.0 (93.1 %)  $[\text{M-H+Na+K}]^+$ , 976.0 (56.9 %)  $[\text{M-2H+3Na}]^+$ , 986.0 (24.2 %)  $[\text{M-H+2K}]^+$ , 992.0 (72.2 %)  $[\text{M-2H+2Na+K}]^+$ , 998.0 (22.0 %)  $[\text{M-3H+4Na}]^+$ , 1008.0 (31.7 %)  $[\text{M-2H+Na+K}]^+$ , 1014.0 (38.9 %)  $[\text{M-3H+Na+K}]^+$ , 1030.0 (23.6 %)  $[\text{M-3H+2Na+2K}]^+$ .

### 5-(2-(4-(Hydroxycarbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)acetamido)-11,17,23-tri(natrium-sulfonato)calix[4]aren (S8)

5-Amino-11,17,23-trisulfonatocalix[4]aren (300 mg, 402  $\mu\text{mol}$ ) und Natrium-2-(4-((tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)carbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)acetat **35** (235 mg, 804  $\mu\text{mol}$ ) wurden in DMF (6 ml) suspendiert und mit DIPEA (312 mg, 2.41 mmol, 420  $\mu\text{l}$ ) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 1.5 h bei 25 °C gerührt und danach eine Lösung von PyCloP (169 mg, 402  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (4 ml) zugetropft. Die Suspension wurde für 16 h bei 25 °C gerührt. Im Anschluss wurde Trifluoressigsäure (463 mg, 4.06 mmol, 311  $\mu\text{l}$ ) zugegeben und für weitere 24 h bei 25 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde dann mit DIPEA versetzt, bis der pH-Wert bei etwa 7 lag und in Diethylether (200 ml) gegossen. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit Ethylacetat (3 x 30 ml) und Diethylether (1 x 30 ml) gewaschen. Der Filterkuchen wurde in Wasser (30 ml) aufgenommen und der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 2 M wässriger Natriumhydroxidlösung auf 12 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (4 x 30 ml) gewaschen und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser (2-4 ml) aufgenommen und mit Trifluoressigsäure angesäuert. Die unlöslichen Bestandteile wurden abzentrifugiert und die überstehende Lösung mittels HPLC aufgereinigt (Methode 1). Das Lösungsmittel der produkttragenden Fraktionen wurde abdestilliert und das erhaltene Rohprodukt mittels Ionentauschersäule in das Trinatriumsalz überführt.



Ausbeute: 73.2 mg (80.2  $\mu\text{mol}$ , 27 %) bräunlicher Feststoff. Schmelzpunkt: >250 °C.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD} = 9:1$  (v/v)):  $\delta = 8.48$  (s, 1 H, 19-H), 7.62 (s, 2 H, 7-H), 7.60 (s, 2 H, 9-H), 7.56 (s, 2 H, 2-H), 7.21 (s, 2 H, 15-H), 5.40 (s, 2 H, 18-H), 4.00 (br, 8 H, 5-H, 12-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD} = 9:1$  (v/v)):  $\delta = 166.4$  (C-21), 165.3 (C-17), 154.2 (C-11), 154.0 (C-4), 151.2 (C-14), 147.7 (C-20), 136.3 (C-1), 136. (C-8), 131.1 (C-16), 130.6 (C-6), 130.3 (C-3), 130.1 (C-10), 129.8 (C-13), 129.2 (C-19), 127.4 (C-7), 127.2 (C-2), 127.2 (C-2), 123.7

(C-15), 53.4 (C-18), 32.0 (C-5), 31.7 (C-12). IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3415 (m, OH), 3241 (m, NH), 2958 (w,  $\text{sp}^3\text{-C-H}$ ), 1673 (s, C=O), 1173 (s, C-O). CHN berechnet für  $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{Na}_3\text{O}_{16}\text{S}_3 \cdot \text{NaTFA} \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (M.W.: 1265.21): C 33.18; H 4.07; N 5.53; S 7.59, gefunden: C 33.10; H 3.89; N 5.28; S 8.02. MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>):  $m/z$  (%) = 832.1 (27.5 %)  $[\text{M-O+H}]^+$ , 848.1 (45.5 %)  $[\text{M+H}]^+$ , 870.1 (4.9 %)  $[\text{M-O+K}]^+$ , 880.4 (100 %)  $[\text{M+Na}]^+$ , 892.1 (1.6 %)  $[\text{M-O+Na+K}]^+$ , 902.4 (1.4 %)  $[\text{M-H+2Na}]^+$ .

### **5-(3-(3-((Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)carbamoyl)phenyl)ureido)-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren (S18b)**

Triphosgen (58.2 mg, 196  $\mu\text{mol}$ ) wurde unter Eisbadkühlung und Stickstoffatmosphäre in Toluol (10 ml) gelöst. Unter Rühren wurde eine Lösung von 3-Amino-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)benzamid **48** (140 mg, 589  $\mu\text{mol}$ ) und DIPEA (152 mg, 1.18 mmol, 168  $\mu\text{l}$ ) in Dichlormethan (10 ml) zugetropft. Das Eisbad wurde entfernt und die Lösung für 30 min bei 25 °C gerührt. Anschließend wurde die Temperatur auf 80 °C erhöht und die Reaktionsmischung bei dieser Temperatur für 24 h gerührt. Danach wurde die Lösung auf 25 °C abkühlen gelassen und mit einer Suspension von 5-Amino-11,17,23-trisulfonato-calix[4]-aren (300 mg, 402  $\mu\text{mol}$ ) und DIPEA (227 mg, 1.76 mmol, 306  $\mu\text{l}$ ) in DMF (30 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde bei 80 °C für 24 h gerührt. Dann wurde Trifluoressigsäure (335 mg, 2.94 mmol, 225  $\mu\text{l}$ ) zugegeben und für weitere 24 h bei 25 °C gerührt. Danach wurde die Reaktionsmischung in Diethylether (200 ml) gegossen. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit Ethylacetat (3 x 30 ml) und Diethylether (1 x 20 ml) gewaschen. Anschließend wurde der Feststoff in Wasser (30 ml) aufgenommen und der pH-Wert mit 2 M wässriger Natriumhydroxidlösung auf 12 eingestellt. Die Lösung wurde mit Ethylacetat (4 x 30 ml) gewaschen und das Lösungsmittel der wässrigen Phase destillativ entfernt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser (2-4 ml) aufgenommen und die Lösung mit Trifluoressigsäure angesäuert. Die unlöslichen Bestandteile wurden abfiltriert und das gelöste Rohprodukt mittels HPLC aufgereinigt (Methode 1).



## 7. Literaturverzeichnis

- [1] A. Holleman, E. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, De Gruyter, Berlin, **1995**.
- [2] R. T. Delfino, T. S. Ribeiro, J. D. Figueroa-Villar, *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 407–428.
- [3] K. Kim, O. G. Tsay, D. A. Atwood, D. G. Churchill, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5345–5403.
- [4] D. Nelson, M. Cox, *Lehninger Biochemie*, Springer, Berlin, **2011**.
- [5] D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt, *Lehrbuch der Biochemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
- [6] M. Horiguchi, M. Kandatsu, *Nature* **1959**, *184*, 901–902.
- [7] E. Valsami-Jones, *Phosphorus in Environmental Technology: Principles and Applications*, IWA Publishing, London, **2004**.
- [8] N. G. Ternan, J. W. Mc Grath, G. Mc Mullan, J. P. Quinn, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *14*, 635–647.
- [9] R. G. G. Russell, *Bone* **2011**, *49*, 2–19.
- [10] W. Jahnke, G. Bold, A. L. Marzinzik, S. Ofner, X. Pellé, S. Cotesta, E. Bourgier, S. Lehmann, C. Henry, R. Hemmig, F. Stauffer, J. C. D. Hartweg, J. R. Green, J.-M. Rondeau, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 14783–14787; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14575–14579.
- [11] S. Letort, S. Balieu, W. Erb, G. Gouhier, F. Estour, *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 204–228.
- [12] Y. C. Yang, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 109–115.
- [13] M. Defence, C. D. Establishment, P. Down, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1977**, *114*, 109–114.
- [14] R. C. Gupta, *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*, Academic Press, London, **2009**.
- [15] C. A. O'Leary, *Middle East Rev. Int. Aff.* **2002**, *6*, 17–29.
- [16] R. Pangi, *Stud. Confl. Terror.* **2002**, *25*, 421–448.
- [17] Human Rights Watch, *Attacks on Ghouta. Analysis of Alleged Use of Chemical Weapons in Syria*, HRW, **2013**.
- [18] M. Eddleston, N. A. Buckley, P. Eyer, A. H. Dawson, *Lancet* **2008**, *371*, 597–607.
- [19] T. C. Marrs, *Pharmacol. Ther.* **1993**, *58*, 51–66.
- [20] N. Aurbek, H. Thiermann, L. Szinicz, P. Eyer, F. Worek, *Toxicology* **2006**, *224*, 91–99.
- [21] M. Freissmuth, S. Offermanns, S. Böhm, *Pharmakologie und Toxikologie: Von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*, Springer, Berlin, **2016**.
- [22] M. Jokanovic, *Toxicol. Lett.* **2009**, *190*, 107–115.
- [23] G. Mercey, T. Verdelet, J. Renou, M. Kliachyna, R. Baati, F. Nachon, L. Jean, P. Y. Renard, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 756–766.
- [24] R. M. Dawson, *J. Appl. Toxicol.* **1994**, *14*, 317–331.
- [25] D. Ajami, J. Rebeck, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 3936–3942.
- [26] N. J. Fina, J. O. Edwards, *Int. J. Chem. Kin.* **1973**, *5*, 1–26.
- [27] S. Hoz, E. Buncel, *Isr. J. Chem.* **1985**, *26*, 313–319.
- [28] E. Buncel, I.-H. Um, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7801–7825.
- [29] K. Tuovinen, *Toxicology* **2004**, *196*, 31–39.



- [30] M. Eddleston, A. Dawson, L. Karalliedde, W. Dissanayake, A. Hittarage, S. Azher, N. A. Buckley, *Crit. Care* **2004**, *8*, 391–397.
- [31] H. W. Goedde, K. Altland, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1971**, *179*, 695–703.
- [32] H. Mumford, J. K. Troyer, *Toxicol. Lett.* **2011**, *206*, 29–34.
- [33] K. N. Houk, A. G. Leach, S. P. Kim, X. Zhang, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5020–5046 ;*Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4872–4897.
- [34] X. Ma, Y. Zhao, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7794–7839.
- [35] G. V. Oshovsky, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2418–2445 ;*Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2366–2393.
- [36] P. W. Elsinghorst, F. Worek, H. Thiermann, T. Wille, *Expert Opin. Drug Discovery* **2013**, *8*, 1467–1477.
- [37] D. E. Lenz, D. Yeung, J. R. Smith, R. E. Sweeney, L. A. Lumley, D. M. Cerasoli, *Toxicology* **2007**, *233*, 31–39.
- [38] F. Nachon, X. Brazzolotto, M. Trovaslet, P. Masson, *Chem. Biol. Interact.* **2013**, *206*, 536–544.
- [39] Y. Ashani, S. Pistinner, *Toxicol. Sci.* **2004**, *77*, 358–367.
- [40] A. Saxena, W. Sun, P. A. Dabisch, S. W. Hulet, N. B. Hastings, E. M. Jakubowski, R. J. Mioduszewski, B. P. Doctor, *Biochem. Pharmacol.* **2011**, *82*, 1984–1993.
- [41] Y.-J. Huang, Y. Huang, H. Baldassarre, B. Wang, A. Lazaris, M. Leduc, A. S. Bilodeau, A. Bellemare, M. Côté, P. Herskovits, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 13603–13608.
- [42] B. C. Geyer, L. Kannan, P.-E. Garnaud, C. A. Broomfield, C. L. Cadieux, I. Cherni, S. M. Hodgins, S. A. Kasten, K. Kelley, J. Kilbourne, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 20251–20256.
- [43] Y. J. Rosenberg, A. Saxena, W. Sun, X. Jiang, N. Chilukuri, C. Luo, B. P. Doctor, K. D. Lee, *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *187*, 279–286.
- [44] J. R. Wetherell, S. J. Armstrong, R. W. Read, G. F. Clough, *Toxicol. Mech. Methods* **2008**, *18*, 313–321.
- [45] D. M. Maxwell, A. Saxena, R. K. Gordon, B. P. Doctor, *Chem. Biol. Interact.* **1999**, *119–120*, 419–428.
- [46] N. Aurbek, H. Thiermann, F. Eyer, P. Eyer, F. Worek, *Toxicology* **2009**, *259*, 133–139.
- [47] Z. Kovarik, M. Katalinić, G. Šinko, J. Binder, O. Holas, Y. S. Jung, L. Musilova, D. Jun, K. Kuča, *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *187*, 167–171.
- [48] D. Jun, L. Musilova, M. Pohanka, Y. S. Jung, P. Bostik, K. Kuca, *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11*, 2856–2863.
- [49] Z. Radić, T. Dale, Z. Kovarik, S. Berend, E. Garcia, L. Zhang, G. Amitai, C. Green, B. Radić, B. M. Duggan, D. Ajami, J. Rebek Jr., P. Taylor, *Biochem. J.* **2013**, *450*, 231–42.
- [50] M. Katalinić, N. Maček Hrvat, K. Baumann, S. Morasi Piperčić, S. Makarić, S. Tomić, O. Jović, T. Hrenar, A. Miličević, D. Jelić, S. Žunec, I. Primožik, Z. Kovarik, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2016**, *310*, 195–204.
- [51] F. Worek, H. Thiermann, T. Wille, *Toxicol. Lett.* **2016**, *244*, 143–148.

- [52] T. C. Otto, J. R. Scott, M. A. Kauffman, S. M. Hodgins, R. C. Ditargiani, J. H. Hughes, E. P. Sarricks, G. A. Saturday, T. A. Hamilton, D. M. Cerasoli, *Chem. Biol. Interact.* **2013**, *203*, 186–190.
- [53] P. Masson, F. Nachon, C. A. Broomfield, D. E. Lenz, L. Verdier, L. M. Schopfer, O. Lockridge, *Chem. Biol. Interact.* **2008**, *175*, 273–280.
- [54] C. Millard, O. Lockridge, C. Broomfield, *Biochemistry* **1995**, 15925–15933.
- [55] A. C. Hemmert, T. C. Otto, M. Wierdl, C. C. Edwards, C. D. Fleming, M. MacDonald, J. R. Cashman, P. M. Potter, D. M. Cerasoli, M. R. Redinbo, *Mol. Pharmacol.* **2010**, *77*, 508–516.
- [56] A. C. Hemmert, T. C. Otto, R. A. Chica, M. Wierdl, J. S. Edwards, S. L. Lewis, C. C. Edwards, L. Tsurkan, C. L. Cadieux, S. A. Kasten, et al., *PLoS One* **2011**, *6*, e17441.
- [57] A. S. F. Ramos, S. Techert, *Biophys. J.* **2005**, *89*, 1990–2003.
- [58] J. M. Kuo, M. Y. Chae, F. Raushel, *Biochemistry* **1997**, *36*, 1982–1988.
- [59] A. N. Bigley, C. Xu, T. J. Henderson, S. P. Harvey, F. M. Raushel, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10426–10432.
- [60] A. N. Bigley, M. F. Mabanglo, S. P. Harvey, F. M. Raushel, *Biochemistry* **2015**, *54*, 5502–5512.
- [61] P. C. Tsai, N. Fox, A. N. Bigley, S. P. Harvey, D. P. Barondeau, F. M. Raushel, *Biochemistry* **2012**, *51*, 6463–6475.
- [62] I. Cherny, P. Greisen, Y. Ashani, S. D. Khare, G. Oberdorfer, H. Leader, D. Baker, D. S. Tawfik, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 2394–2403.
- [63] F. Worek, T. Seeger, G. Reiter, M. Goldsmith, Y. Ashani, H. Leader, J. L. Sussman, N. Aggarwal, H. Thiermann, D. S. Tawfik, *Toxicol. Lett.* **2014**, *231*, 45–54.
- [64] M. Ben-David, G. Wiczorek, M. Elias, I. Silman, J. L. Sussman, D. S. Tawfik, *J. Mol. Biol.* **2013**, *425*, 1028–1038.
- [65] M. Goldsmith, Y. Ashani, Y. Simo, M. Ben-David, H. Leader, I. Silman, J. L. Sussman, D. S. Tawfik, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 456–466.
- [66] F. Worek, T. Seeger, M. Goldsmith, Y. Ashani, H. Leader, J. S. Sussman, D. Tawfik, H. Thiermann, T. Wille, *Arch. Toxicol.* **2014**, *88*, 1257–1266.
- [67] S. D. Kirby, J. R. Norris, J. Richard Smith, B. J. Bahnson, D. M. Cerasoli, *Chem. Biol. Interact.* **2013**, *203*, 181–185.
- [68] C. Roodveldt, D. S. Tawfik, *Protein Eng., Des. Sel.* **2005**, *18*, 51–58.
- [69] E. Carletti, L. Jacquamet, M. Loiodice, D. Rochu, P. Masson, F. Nachon, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2009**, *24*, 1045–1055.
- [70] F. Renault, T. Carus, C. Cléry-Barraud, M. Elias, E. Chabrière, P. Masson, D. Rochu, *J. Chromatogr. B* **2010**, *878*, 1346–1355.
- [71] Y. Ashani, N. Rothschild, Y. Segall, D. Levanon, L. Raveh, *Life Sci.* **1991**, *49*, 367–374.
- [72] J. W. Steed, J. L. Atwood, *Supramolecular Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [73] A. D. McNaught, A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, **2014**.
- [74] J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 91–116; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89–112.
- [75] Z. Dong, Q. Luo, J. Liu, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 7890–908.
- [76] W. Stroberg, S. Schnell, *Math. Biosci.* **2016**, Article in Press.

- [77] J. Szejtli, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743–1753.
- [78] G. Wenz, *Angew. Chem* **1994**, *106*, 851–870; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 803–822.
- [79] F. Bellia, D. La Mendola, C. Pedone, E. Rizzarelli, M. Saviano, G. Vecchio, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2756–2781.
- [80] M. V. Rekharsky, Y. Inoue, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875–1918.
- [81] C. van Hoodonk, J. C. A. E. Breebart-Hansen, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1970**, *89*, 289–299.
- [82] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977–1996.
- [83] R. Le Provost, T. Wille, L. Louise, N. Masurier, S. Müller, G. Reiter, P.-Y. Renard, O. Lafont, F. Worek, F. Estour, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3026–32.
- [84] R. K. Kalakuntla, T. Wille, R. Le Provost, S. Letort, G. Reiter, S. Müller, H. Thiermann, F. Worek, G. Gouhier, O. Lafont, F. Estour, *Toxicol. Lett.* **2013**, *216*, 200–205.
- [85] S. Müller, F. Estour, R. K. Kalakuntla, R. Le Provost, O. Lafont, F. Worek, H. Thiermann, G. Reiter, *Toxicol. Lett.* **2013**, *216*, 206–212.
- [86] T. Wille, O. Tenberken, G. Reiter, S. Müller, R. Le Provost, O. Lafont, F. Estour, H. Thiermann, F. Worek, *Toxicology* **2009**, *265*, 96–100.
- [87] M. Zengerle, F. Brandhuber, C. Schneider, F. Worek, G. Reiter, S. Kubik, *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 1543–1554.
- [88] F. Brandhuber, M. Zengerle, L. Porwol, O. Tenberken, H. Thiermann, F. Worek, S. Kubik, G. Reiter, *Toxicology* **2012**, *302*, 163–171.
- [89] F. Brandhuber, M. Zengerle, L. Porwol, A. Bierwisch, M. Koller, G. Reiter, F. Worek, S. Kubik, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 3425–3427.
- [90] F. Worek, T. Seeger, M. Zengerle, S. Kubik, H. Thiermann, T. Wille, *Toxicol. Lett.* **2014**, *226*, 222–227.
- [91] M. V Rekharsky, F. P. Schwarz, Y. B. Tewari, R. N. Goldberg, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 4098–4103.
- [92] A. Bierwisch, M. Zengerle, H. Thiermann, S. Kubik, F. Worek, *Toxicol. Lett.* **2014**, *224*, 209–214.
- [93] A. Späth, B. König, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, No. 32.
- [94] K. D. Daze, M. C. F. Ma, F. Pineux, F. Hof, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1512–1515.
- [95] B. Mokhtari, K. Pourabdollah, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, *32*, 3979–3990.
- [96] M. Lee, K. Yang, C. Tsou, C. Shu, L. Lin, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8095–8099.
- [97] X. Hu, Y. Li, H. Yang, Y. Luo, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7463–7465.
- [98] K. C. Nam, D. S. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.* **1994**, *15*, 284–286.
- [99] A. M. A. van Wageningen, E. Snip, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, H. Boerrigter, *Liebigs Ann.* **1997**, *1997*, 2235–2245.
- [100] V. V Rostovtsev, L. G. Green, V. V Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2708–2711 ; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- [101] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- [102] K. Barral, A. D. Moorhouse, J. E. Moses, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809–1811.
- [103] E. F. Scriven, K. Turnbull, *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297–368.
- [104] J. C. Kauer, R. A. Carboni, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2633–2637.

- [105] B. Y. Ryu, T. Emrick, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9838-9841; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9644–9647.
- [106] J. Bendig, *J. für Prakt. Chemie* **1988**, *330*, 492–496.
- [107] S. T. Wroblewski, J. Das, J. Duan, J. Guo, J. Hynes, B. Jiang, J. Kempson, S. Lin, Z. Lu, W. J. Pitts, et al., *Bristol-Myers Squibb Company, Princeton, New Jersey, US*, **2012**, WO2012/125893A1.
- [108] P. J. Stang, F. Diederich, *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **1997**.
- [109] J. K. Stille, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 504-519; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 508–524.
- [110] B. T. O'Neill, D. Yohannes, M. W. Bundesmann, E. P. Arnold, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4201–4204.
- [111] D. F. DeTar, R. Silverstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *88*, 1013–1019.
- [112] M. Zengerle, Dissertation, Cyclodextrine als Wirkstoffe zur Behandlung akuter Organophosph(on)atvergiftungen, Technische Universität Kaiserslautern, **2013**.
- [113] A. Hassner, R. Wiederkehr, A. J. Kascheres, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 1962–1964.
- [114] L. Bauer, O. Exner, *Angew. Chem.* **1974**, *86*, 419–428; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1974**, *13*, 376-384
- [115] F. W. Patureau, F. Glorius, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 2021-2023; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1977–1979.
- [116] Y. Tan, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3676–3677.
- [117] T. Suzuki, Y. Ota, Y. Kasuya, M. Mutsuga, Y. Kawamura, H. Tsumoto, H. Nakagawa, M. G. Finn, N. Miyata, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6969-6972; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6817–6820.
- [118] I. Choi, Y. K. Kim, D. H. Min, S. Lee, W. S. Yeo, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16718–16721.
- [119] S. S. Bag, S. Jana, A. Yashmeen, S. De, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 5242–5245.
- [120] S. Umbreen, M. Brockhaus, H. Ehrenberg, B. Schmidt, *European J. Org. Chem.* **2006**, 4585–4595.
- [121] K. G. Hull, M. Visnick, W. Tautz, A. Sheffron, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12405–12414.
- [122] C. B. Aakeröy, S. S. Abhijeet, N. E. Kanishka, C. L. Spartz, J. Desper, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 112989–11291.
- [123] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827–10852.
- [124] E. Valeur, M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606–631.
- [125] T. Flessner, S. Doye, *J. Prakt. Chem.* **1999**, *341*, 186–190.
- [126] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2003**.
- [127] J. Costa, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2437–2446.
- [128] F. Bigi, R. Maggi, G. Sartori, *Green Chem.* **2000**, *2*, 140–148.
- [129] P. Gale, T. Gunnlaugsson, V. Amendola, L. Fabbri, L. Mosca, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3889–3915.
- [130] O. Mogck, V. Böhmer, W. Vogt, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8489–8496.
- [131] Y. Rudzevich, Y. Cao, V. Rudzevich, V. Böhmer, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 3346–3354.
- [132] Y. Zhang, M. Anderson, J. L. Weisman, M. Lu, C. J. Choy, V. A. Boyd, J. Price, M. Sigal, J. Clark, M. Connelly, et al., *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 460–465.

- [133] D. Liu, Z. Tian, Z. Yan, L. Wu, Y. Ma, Q. Wang, W. Liu, H. Zhou, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2960–2967.
- [134] H. A. Staab, *Angew. Chem.* **1956**, *68*, 754.
- [135] C. Schneider, A. Bierwisch, M. Koller, F. Worek, S. Kubik, *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 12859-12863 ;*Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12668–12672.
- [136] K. A. Daniel, L. A. Kopff, E. V. Patterson, *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 321–328.
- [137] A. Bierwisch, M. Koller, F. Worek, S. Kubik, *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 5831–5838.
- [138] H. L. Yale, *Chem. Rev.* **1943**, *33*, 209–256.
- [139] S. Yoganathan, S. J. Miller, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 602–605.
- [140] Y. Hoshino, N. Ohtsuka, T. Okada, K. Honda, *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 5304–5307.
- [141] H. Morales-Rojas, R. A. Moss, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2497–2521.
- [142] S. M. Biros, E. C. Ullrich, F. Hof, L. Trembleau, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2870–2876.
- [143] P. Jain, J. T. Slama, L. A. Perez-Haddock, T. F. Walseth, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7599–7612.

## 8. Anhang



### Supporting Information

#### **Detoxification of VX and Other V-Type Nerve Agents in Water at 37 °C and pH 7.4 by Substituted Sulfonatocalix[4]arenes**

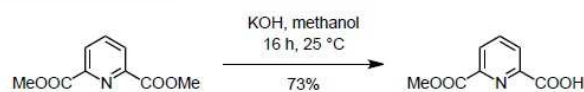
*Christian Schneider, Anne Bierwisch, Marianne Koller, Franz Worek, and Stefan Kubik\**

anie\_201606881\_sm\_miscellaneous\_information.pdf

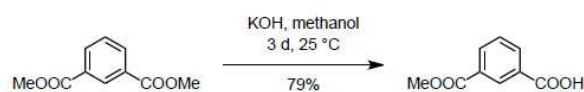
### Synthetic Procedures

**General details.** Analyses were carried out as follows: melting points, Müller SPM-X 300; NMR, Bruker Avance 200, Bruker Avance III 400, and Bruker Avance 600 (spectra were referenced to the residual solvent signals (DMSO- $d_6$ :  $\delta_H = 2.50$  ppm,  $\delta_C = 39.5$  ppm;  $CDCl_3$ :  $\delta_H = 7.26$  ppm,  $\delta_C = 77.2$  ppm;  $CD_3OD$ :  $\delta_H = 3.31$  ppm,  $\delta_C = 49.0$ );<sup>1</sup> IR, FT-ATR-IR-Spectrometer Spectrum 100, Perkin Elmer; MALDI/TOF-MS, Bruker Daltonics Ultraflex TOF/TOF (matrix: 2,5-dihydroxybenzoic acid in acetone); ESI-MS, Esquire 3000, Bruker; elemental analysis, Elementar vario Micro cube; analytical HPLC: Dionex P680; column, Thermo Fisher, BetaBasic-18, 250 x 4.6 mm, 5  $\mu$ m particle size; flow, 1 mL/min; eluent, aqueous: 0.1 vol% TFA in water; organic: acetonitrile; gradient: 0-3 min, 10% organic, 3-31 min, linear increase of organic to 50%, 31-36 min, 50% organic; 36-37 min, linear decrease of organic to 10%, 37-40 min, 10% organic; preparative HPLC, Dionex UltiMate 3000; column, Thermo Fisher, BetaBasic-18, 250 x 21.2 mm, 5  $\mu$ m particle size; flow, 12 mL/min; eluent, aqueous: 0.1 vol% TFA in water; organic: acetonitrile; gradient 1: 0-5 min, 15% organic; 5-38 min, linear increase of organic to 36%; 38-40 min, linear increase of organic to 70% organic; 40-43 min, 70% organic; 43-44 min, linear decrease of organic to 15% organic; 44-46 min, 15% organic; gradient 2: 0-5 min, 2% organic; 5-30 min, linear increase of organic to 15%; 30-33 min, linear increase of organic to 70%; 33-40 min, 70% organic; 40-46 min, linear decrease of organic to 2%; 46-47 min, 2% organic; ion exchange resin: Dowex DR-2030  $H^+$  form. The following abbreviations are used: DIPEA, diisopropylethylamine; TBTU, *O*-(benzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*-tetramethyluronium tetrafluoroborate; PyCloP, chlorotripyridinophosphonium hexafluorophosphate; EMPA, ethyl methylphosphonate; EA-2192, *S*-(2-(diisopropylamino)ethyl) methylphosphonothioate.

**General Procedure for the Ion Exchange.** The ion exchange resin is washed in a column with water (200 mL), hydrochloric acid (1 M, 100 mL) and with water (200 mL). It is then converted to the  $Na^+$  form by washing with aqueous NaOH (2 M, 100 mL). Afterward, it is washed with water (200 mL), methanol (200 mL), and water (100 mL). The product obtained after HPLC is dissolved in water (2 mL), subjected to the resin, and eluted by adding water in small portions. Fractions are collected and those containing the product are evaporated to dryness.

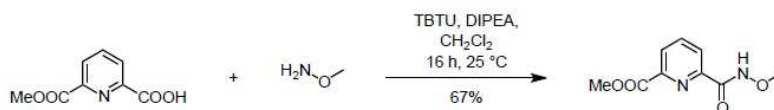
**6-(Methoxycarbonyl)picolinic acid.**<sup>2</sup>

Potassium hydroxide (1.35 g, 20.7 mmol) was slowly added to a solution of dimethyl pyridine-2,6-dicarboxylate (3.36 g, 17.2 mmol) in methanol (110 mL) at 0 °C. The ice bath was removed and the mixture was stirred for 16 h at room temperature. The solvent was removed in vacuo and the residue suspended in ethyl acetate (50 mL). Insoluble material was filtered off and dissolved in water (40 mL). The resulting solution was adjusted to pH 2 with hydrochloric acid (1 M). Afterward, the solution was extracted with ethyl acetate (4 × 20 mL), the combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, and the solvent was evaporated to afford the product as a colorless solid. Yield: 2.29 g (12.6 mmol, 73%); m.p.: 148 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.1 Hz), 8.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.1 Hz), 8.13 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz), 4.03 (s, 3H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 164.2, 163.5, 146.9, 146.5, 139.8, 129.0, 126.9, 53.3 ppm.

**3-(Methoxycarbonyl)benzoic acid.**

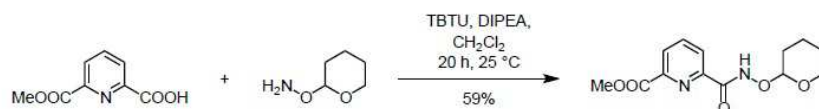
Potassium hydroxide (4.03 g, 61.8 mmol) was slowly added to a solution of dimethyl isophthalate (10.0 g, 51.5 mmol) in methanol (320 mL) at 0 °C. The ice bath was removed and the mixture was stirred for 3 d at room temperature. The solvent was removed in vacuo and the residue suspended in water (80 mL). Insoluble material was filtered off and filtrate extracted with dichloromethane (3 × 60 mL). The aqueous layer was adjusted to pH 1 with hydrochloric acid (1 M). The precipitate was filtered off and dried in vacuo affording the product as a colorless solid. Yield: 7.31 g (40.6 mmol, 79%); m.p.: 191 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 13.33 (br, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.14-8.18 (m, 2H), 7.64 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz), 3.87 (s, 3H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 166.5, 165.6, 133.8, 133.3, 131.4, 130.1, 129.8, 129.4, 52.5 ppm.



**Methyl 6-(methoxycarbonyl)picolinate.**

DIPEA (4.27 g, 33.0 mmol, 5.61 ml) was added dropwise to a suspension of 6-(methoxycarbonyl)picolinic acid (2.00 g, 11.0 mmol), methoxyamine hydrochloride (0.92 mg, 11.0 mmol) and TBTU (4.25 g, 13.3 mmol) in dichloromethane (40 mL). The reaction mixture became homogeneous and was stirred for 16 h at 25 °C. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography (SiO<sub>2</sub>, ethyl acetate). The isolated product was dissolved in ethyl acetate, the solution was washed with aqueous NaHCO<sub>3</sub> (0.1 M, 3 x 30 ml), dried over MgSO<sub>4</sub>, and evaporated to afford the product as a colorless solid. Yield: 1.55 g (7.37 mmol, 67%); m.p.: 77 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 11.94 (s, 1H), 8.17-8.22 (m, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.72 (s, 3H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 164.7, 160.8, 150.0, 146.7, 139.3, 127.4, 125.6, 63.3, 52.8 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3502 (m), 2941 (w), 1724 (s), 1676 (s) cm<sup>-1</sup>; MS (ESI/TOF<sup>+</sup>): *m/z* (%) = 232.8 (100), 248.8 (17), 442.9 (38); CHN calculated for C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (M.W. 228.07) C, 47.37; H, 5.30; N, 12.28; found C, 47.17; H, 5.34; N, 12.32.

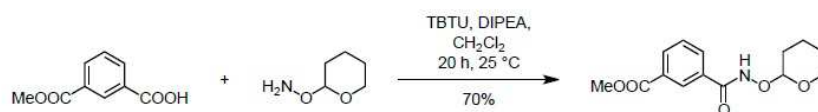
**General Procedure for the Coupling Reactions With *O*-(Tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamine.** The respective carboxylate (11.0 mmol), *O*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)hydroxylamine (1.29 g, 11.0 mmol), and TBTU (3.53 g, 11.0 mmol) are suspended in dichloromethane (40 mL). DIPEA (3.75 mL, 22.0 mmol) is added and the resulting solution is stirred for 20 h at room temperature. The solvent is evaporated and the residue is purified chromatographically.

**Methyl 6-(((tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)carbonyl)picolinate.**

The product was prepared from 6-(methoxycarbonyl)picolinic acid and purified by using ethyl acetate as eluent. Yield: 1.82 g (6.50 mmol, 59%); m.p.: 94 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 11.75

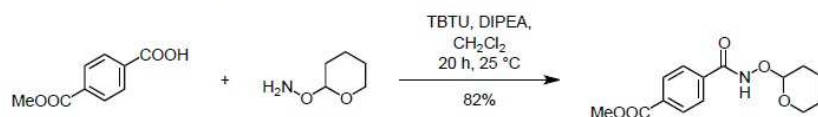
(s, 1H), 8.16-8.23 (m, 3H), 5.19 (s, 1H), 4.13-4.19 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.49-3.55 (m, 1H), 1.55-1.73 (m, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 164.7, 161.1, 150.1, 146.7, 139.3, 127.4, 125.6, 100.8, 61.2, 52.8, 27.8, 24.8, 18.0 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3294 (w), 3078 (w), 2960 (m), 1725 (s), 1666 (s)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 303.0 (42), 583.1 (100); CHN calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$  (M.W. 280.11) C, 55.71; H, 5.75; N, 9.99; found C, 55.68; H, 5.73; N, 10.03.

**Methyl 3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate.**



The product was prepared from 3-(methoxycarbonyl)benzoic acid and purified by using ethyl acetate/hexane, 1:1 (v/v) as eluent. Yield: 2.17 g (7.77 mmol, 70%); m.p.: 115 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 11.89 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.11 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.8 Hz), 8.04 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.9 Hz), 7.64 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.8 Hz), 5.02 (s, 1H), 4.03-4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.52-3.55 (m, 1H), 1.55-1.73 (m, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 165.7, 163.3, 132.8, 132.1, 132.0, 129.8, 129.1, 127.9, 101.0, 61.3, 52.4, 27.9, 24.7, 18.2 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3181 (w), 2949 (m), 1725 (s), 1648 (s)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 317.8 (10), 581.0 (100%), 597.0 (21); CHN calculated for  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_5$  (M.W. 279.11) C, 60.21; H, 6.14; N, 5.02; found C, 60.29; H, 6.14; N, 5.01.

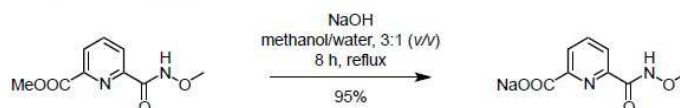
**Methyl 4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate.**



The product was prepared from commercial 4-(methoxycarbonyl)benzoic acid and purified by using ethyl acetate/hexane, 1:1 (v/v) as eluent. Yield: 2.53 (9.06 mmol, 82%); m.p.: 79 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 11.86 (s, 1H), 8.04 (m, 2H); 7.88 (m, 2H), 5.01 (s, 1H), 4.02-4.08 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.51-3.54 (m, 1H), 1.55-1.72 (m, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 165.7, 163.4, 136.5, 132.1, 129.3, 127.7, 101.0, 61.4, 52.4, 27.8, 24.7, 18.2 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3553 (m), 2944 (m), 1703 (s), 1655 (s)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 279.8 (5), 301.8 (10), 317.8 (23), 581.0

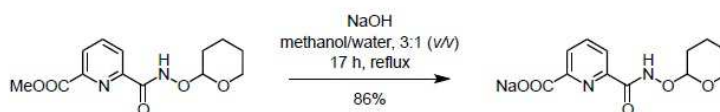
(100), 597.0 (8); CHN calculated for  $C_{14}H_{17}NO_5$  (M.W. 280.11) C, 60.21; H, 6.14; N, 4.93; found C, 60.24; H, 6.15; N, 4.93.

**Sodium 6-(methoxycarbonyl)picolinate.**



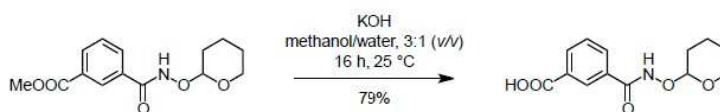
Methyl 6-(methoxycarbonyl)picolinate (1.00 g, 4.76 mmol) and NaOH (0.19 g, 4.76 mmol) were dissolved in methanol/water, 3:1 (v/v) (40 mL). After heating to reflux for 8 h the solvent was removed and the residue was suspended in acetone (30 mL). The insoluble colorless product was filtered off and washed with acetone (3 x 30 mL). Yield: 0.98 g (4.50 mmol, 95%); m.p.: decomposition from 177 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 8.16-8.03 (m, 3H), 3.88 (s, 3H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 172.6, 164.1, 153.3, 148.3, 140.1, 128.0, 124.6, 65.1 ppm.

**Sodium 6-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)picolinate.**

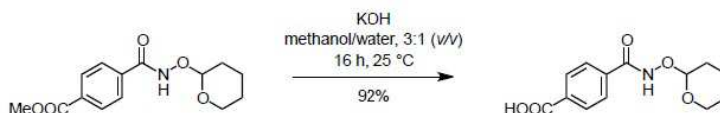


Methyl 6-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)picolinate (1.00 g, 3.57 mmol) was dissolved in methanol/water, 3:1 (v/v) (40 mL). Sodium hydroxide (0.14 mg, 3.57 mmol) was added and the mixture was heated to reflux for 17 h. The solvent was evaporated and the residue was dissolved in water (40 mL). The solution was washed with dichloromethane (4 x 25 mL) and ethyl acetate (1 x 30 mL). The solvent of the aqueous layer was evaporated and the residue was dissolved in ethanol (25 mL). Insoluble material was filtered off and the filtrate was evaporated to dryness affording the product as a colorless solid. Yield: 0.88 (3.07 mmol, 86%); m.p.: decomposition from 185 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  = 8.06 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8\text{ Hz}$ ), 7.89-7.95 (m, 2H), 5.10 (s, 1H), 4.09-4.15 (m, 1H), 1.53-1.75 (m, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  = 167.5, 161.8, 156.1, 148.8, 137.6, 125.9, 121.9, 100.5, 61.1, 27.9, 24.8, 18.2 ppm.

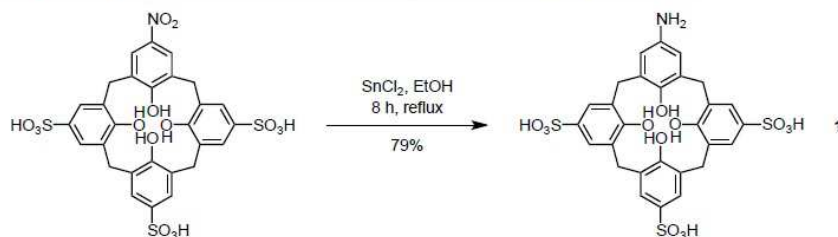


**3-(((Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoic acid.**

Methyl 3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (2.00 g, 7.16 mmol) was dissolved in methanol/water, 3:1 (v/v) (40 mL). Potassium hydroxide (1.12 g, 17.2 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for 16 h. The solvent was evaporated and the residue was dissolved in water (30 mL), insoluble material was filtered off, and the filtrate was washed with dichloromethane (3 × 20 mL) and ethyl acetate (1 × 25 mL). The aqueous layer was adjusted to pH 1 with hydrochloric acid (1 M), the precipitate was filtered off and dried. Yield: 1.51 g (5.69 mmol, 79%); m.p.: decomposition from 182 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.27 (br, 1H), 11.86 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.10 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.7 Hz), 8.00 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.8 Hz), 7.61 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}}$  = 7.7 Hz), 5.01 (s, 1H), 4.03-4.08 (m, 1H), 3.52-3.55 (m, 1H), 1.55-1.72 (m, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 166.8, 163.5, 132.7, 132.3, 131.6, 131.0, 129.0, 128.1, 101.0, 61.3, 27.9, 24.8, 18.2 ppm.

**4-(((Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoic acid.**

Methyl 4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (2.00 g, 7.16 mmol) was dissolved in methanol/water, 3:1 (v/v) (40 mL). Potassium hydroxide (1.12 g, 17.2 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for 20 h. The solvent was evaporated and the residue was dissolved in water (30 mL), insoluble material was filtered off, and the filtrate was washed with dichloromethane (3 × 20 mL) and ethyl acetate (1 × 25 mL). The aqueous layer was adjusted to pH 3 with hydrochloric acid (1 M), the precipitate was filtered off and dried. Yield: 1.74 g (6.56 mmol, 92%); m.p.: decomposition from 180 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 11.81 (s, 1H), 8.01 (m, 2H), 7.85 (m, 2H), 5.01 (s, 1H), 4.06 (br, 1H), 1.55-1.72 (m, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 166.9, 163.5, 136.0, 134.0, 129.4, 127.5, 101.0, 61.4, 27.9, 24.8, 18.3 ppm.

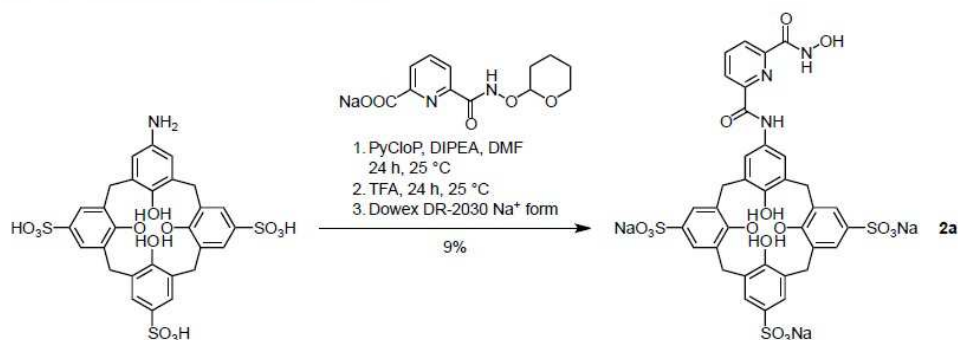
**5-Amino-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonatocalix[4]arene (1).**

Hydrochlorid acid (1 M) was added to a suspension of 5-nitro-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonato-calix[4]aren<sup>3</sup> (4.00 g, 5.64 mmol) and tin(II) chloride dihydrate (6.36 g, 28.2 mmol) in ethanol (100 mL) until the reaction mixture became homogeneous. It was heated to reflux for 8 h and the precipitate was filtered off. The obtained solid was washed with ethanol (3 × 25 mL) and diethyl ether (2 × 25 mL) and dried in vacuo. Yield: 3.01 g (4.43 mmol, 79%); m.p.: >250 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 7.67 (s, 2H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz), 7.65 (d, 2H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz), 7.58 (s, 2H), 7.19 (s, 2H), 4.05 (br, 8H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 153.1, 151.8, 149.9, 137.6, 137.0, 131.0, 129.4, 129.2, 129.1, 127.6, 127.5, 127.3, 124.5, 124.4, 31.4, 31.2 ppm; MS (MALDI/TOF): *m/z* (%) = 680.1 (52), 702.1 (100), 718.1 (8) 724.1 (27), 740.1 (6).

**General Procedure for the Preparation of the Calixarene Derivatives.** The respective carboxylate or its sodium salt (882 μmol) and PyCloP (186 mg, 441 μmol) are dissolved in DMF (5 mL). DIPEA is added dropwise (225 μL, 1.32 mmol) and the resulting mixture is stirred for 3 h at room temperature. Afterward, it is added to a mixture of **1** (300 mg, 441 μmol) and DIPEA (299 μL, 1.76 mmol) in DMF (5 mL). After stirring for 24 h at room temperature the reaction mixture is treated with TFA (340 μL, 4.45 mmol) and stirred for further 24 h. DIPEA (50 μL) is added followed by diethyl ether (200 mL). The precipitate is filtered off and washed with ethyl acetate (3 × 20 mL) and diethyl ether (2 × 20 mL). It is suspended in (30 mL) and the pH of the suspension is adjusted to pH 12 with aqueous NaOH. The resulting solution is washed with ethyl acetate (4 × 20 mL) and then evaporated to dryness in vacuo. The product is dissolved in a small amount of water, the solution is brought to pH 5 by addition of TFA and subjected to preparative HPLC (gradient 1). Pure fractions are collected, evaporated to dryness, and the residue is converted into the corresponding sodium salt according to the general procedure for the ion exchange. The salt thus obtained is washed with ethanol

(3 × 15 mL), diethyl ether (3 × 15 mL), and dried in vacuo. CHN analyses indicated that the calixarenes thus isolated still contain sodium trifluoroacetate, which was confirmed by  $^{19}\text{F}$  NMR spectroscopy.

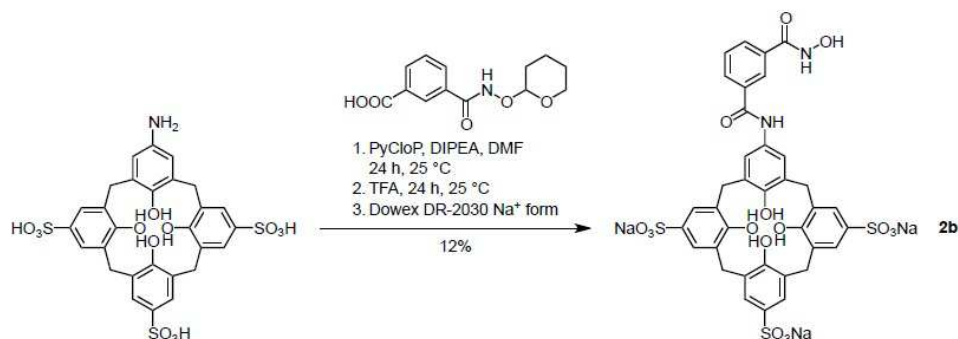
**Trisodium 5-(6-(hydroxycarbonyl)-2-pyridinecarboxamido)-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonatocalix[4]arene (2a).**



From **1** and sodium 6-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbonyl)picolinate according to the general procedure. Yield: 43 mg (39  $\mu\text{mol}$ , 9%) light yellow solid; m.p.:  $>250$  °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 8.29 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz), 8.17-8.21 (m, 2H), 7.59 (d, 2H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz), 7.54 (d, 2H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz), 7.52 (s, 2H), 7.35 (s, 2H) 4.47 (br, 2H), 4.30 (br, 2H), 3.55 (br, 4H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 164.6, 163.3, 159.0, 156.8, 149.4, 148.6, 140.8, 134.8, 133.3, 132.5, 132.0, 131.4, 131.1, 130.6, 126.8, 126.8, 126.7, 126.0, 125.8, 123.9, 33.4, 32.1 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3420 (m), 3288 (m), 2942 (w), 1661 (m), 1542 (m)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>):  $m/z$  (%) = 828.4 (51), 844.4 (51), 850.4 (78), 866.4 (100), 872.4 (37), 888.4 (63), 904.4 (27), 910.4 (10); CHN calculated for  $\text{C}_{35}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{Na}_3\text{O}_{16}\text{S}_3\cdot\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (M.W. 1117.82) C, 39.76; H, 3.06; N, 3.76; S, 8.61; found C, 39.63; H, 3.25; N, 3.77; S, 8.62.

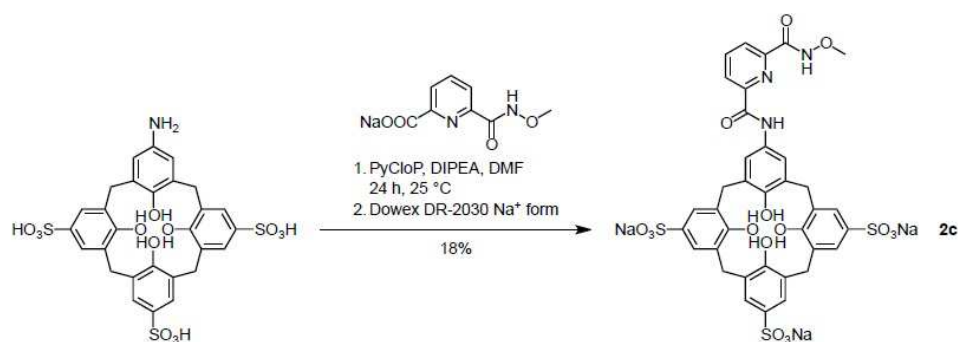


**Trisodium 5-(6-(hydroxycarbamoyl)benzenecarboxamido)-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonatocalix[4]arene (2b).**



From **1** and 3-(((tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)carbonyl)benzoic acid according to the general procedure. Yield: 64 mg (52 μmol, 12%) light brown solid; m.p.: >250 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 8.08 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz), 7.90 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz), 7.64 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz), 7.55-7.61 (m, 4H), 7.55 (s, 2H), 7.26 (s, 2H), 3.44-4.67 (br, 8H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, 101 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 169.2, 168.4, 156.9, 155.7, 148.9, 135.7, 135.3, 134.6, 132.8, 131.8, 131.7, 131.5, 131.3, 131.1, 130.9, 130.6, 130.5, 127.0, 127.0, 126.9, 126.8, 124.4, 32.8, 32.1 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3409 (m), 3267 (m), 2931 (w), 1646 (m), 1551 (m) cm<sup>-1</sup>; MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): *m/z* (%) = 827.3 (49), 843.3 (32), 849.3 (63), 865.3 (100), 881.3 (28), 887.3 (36), 903.3 (17), 909.3 (6); CHN calculated for C<sub>36</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>16</sub>S<sub>3</sub>·CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Na·10H<sub>2</sub>O (M.W. 1224.93) C, 37.26; H 3.87; N 2.29; S 7.85; found: C, 37.08; H, 3.65; N, 2.23; S, 7.59.

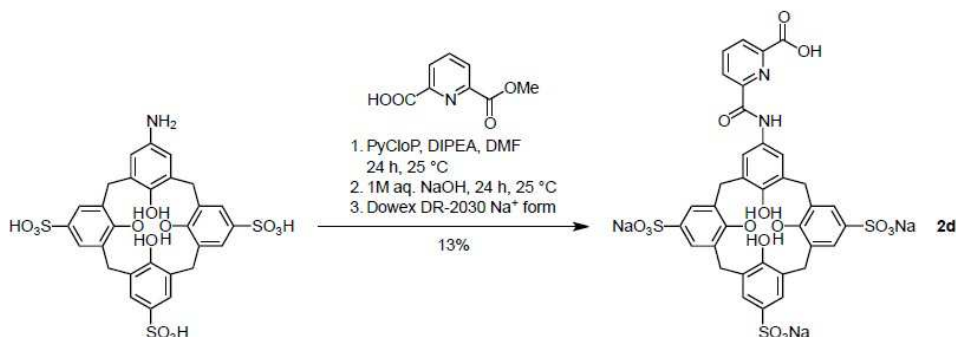
**Trisodium 5-(6-(methoxycarbonyl)-2-pyridinecarboxamido)-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonatocalix[4]arene (2c).**



DIPEA (225  $\mu\text{L}$ , 1.32 mmol) was added dropwise to a solution of methyl 6-(methoxycarbonyl) picolinate (192 mg, 882  $\mu\text{mol}$ ) and PyCloP (186 mg, 441  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (5 mL). The reaction mixture was stirred at 25  $^{\circ}\text{C}$  for 3 h before it was added to a suspension of **1** (300 mg, 441  $\mu\text{mol}$ ) and DIPEA (300  $\mu\text{mol}$ , 1.73 mmol) in DMF (5 mL). After stirring for 24 h at 25  $^{\circ}\text{C}$  the mixture was poured into diethyl ether (200 mL). The precipitate was filtered off, washed with ethyl acetate (3 x 20 mL) and diethyl ether (2 x 20 mL), and was then dissolved in water (30 mL). The suspension was brought to pH 12 with aqueous NaOH (2 M). The aqueous phase was washed with ethyl acetate (4 x 25 mL). The product was dissolved in a small amount of water, the solution was brought to pH 5 by addition of TFA and subjected to preparative HPLC (gradient 1). Pure fractions were collected and evaporated. The residue was dissolved in water (2 mL) and subjected to ion exchange. The salt thus obtained was washed with ethanol (3 x 15 mL), diethyl ether (3 x 15 mL), and dried in vacuo. Yield: 90 mg (78  $\mu\text{mol}$ , 18%) yellow solid; m.p.:  $>250$   $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 8.29-8.32 (m, 1H), 8.19-8.21 (m, 2H), 7.59 (d, 2H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.0$  Hz), 7.55 (d, 2H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.1$  Hz), 7.52 (s, 2H), 7.36 (s, 2 H), 4.46 (br, 2H), 4.30 (br, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.55 (br, 4H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 164.5, 163.4, 159.0, 156.7, 149.4, 149.3, 140.9, 134.8, 133.3, 132.5, 132.0, 131.4, 131.2, 130.6, 126.8, 126.8, 126.7, 126.1, 123.9, 65.1, 33.4, 32.3 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3348 (m), 2938 (w), 1677 (s), 1590 (m), 1547 (m), 1443 (m)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (MALDI/TOF $^+$ ):  $m/z$  (%) = 828.2 (54), 850.2 (100), 858.2 (49), 866.2 (41), 872.2 (48), 880.2 (82), 888.2 (41), 896.2 (33), 902.2 (42), 918.2 (26); CHN calculated for  $\text{C}_{36}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{Na}_3\text{O}_{16}\text{S}_3 \cdot \text{CF}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (M.W. 1149.87) C, 39.69; H, 3.33; N, 3.65; S, 8.37; found: C, 39.56; H, 3.42; N, 3.56; S, 8.32.

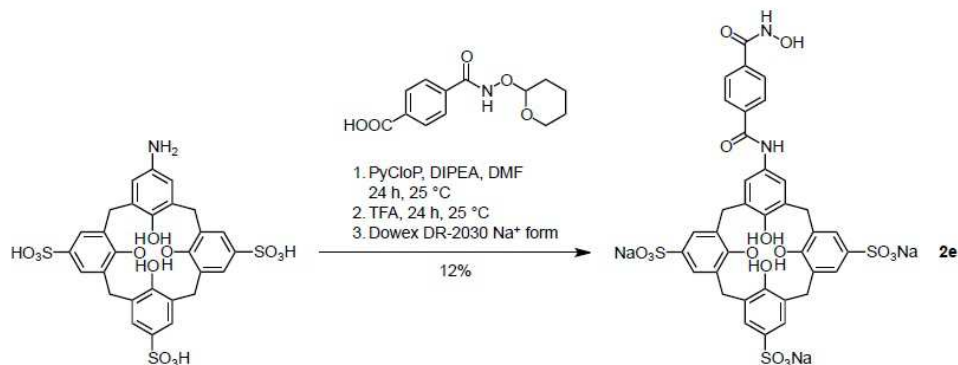


**Trisodium 5-(6-carboxy-2-pyridinecarboxamido)-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonatocalix[4]arene (2d).**



DIPEA (230  $\mu$ L, 1.32 mmol) was added dropwise to a solution of 6-(methoxycarbonyl)picolinic acid (160 mg, 882  $\mu$ mol) and PyCloP (186 mg, 441  $\mu$ mol) in DMF (5 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 3 h before it was added to a suspension of **1** (300 mg, 441  $\mu$ mol) and DIPEA (306  $\mu$ L, 1.76 mmol) in DMF (5 mL). After stirring for 24 h at 25 °C aqueous NaOH (1 M, 882  $\mu$ L, 882  $\mu$ mol) was added and stirring was continued for 24 h. The mixture was poured into diethyl ether (200 mL). The precipitate was filtered off, washed with ethyl acetate (3 x 20 mL) and diethyl ether (2 x 20 mL), and was then dissolved in water (30 mL). The solution was brought to pH 12 with aqueous NaOH (2 M) and the aqueous phase was then washed with ethyl acetate (4 x 20 mL). The product was dissolved in a small amount of water, the solution was brought to pH 5 by addition of TFA and subjected to preparative HPLC (gradient 1). Pure fractions were collected and evaporated. The residue was dissolved in water (2 mL) and subjected to ion exchange. The salt thus obtained was washed with ethanol (3 x 15 mL), diethyl ether (3 x 15 mL), and dried in vacuo. Yield: 66 mg (57  $\mu$ mol, 13%) off-white solid; m.p.: >250 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 8.22 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz), 8.18 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz), 8.13 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz), 7.61 (d, 2H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz), 7.58 (d, 2H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz), 7.56 (s, 2H), 7.51 (s, 2H), 4.00 (br, 8H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 172.3, 165.1, 156.6, 155.6, 152.4, 149.7, 148.5, 140.3, 135.4, 134.7, 131.5, 131.5, 131.3, 130.8, 130.7, 127.9, 127.1, 127.0, 127.0, 125.2, 123.1, 32.8, 32.3 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3316 (w), 2929 (w), 1615 (m), 1583 (m) cm<sup>-1</sup>; MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>): *m/z* (%) = 829.5 (89), 851.5 (100), 867.5 (57), 873.5 (39), 889.5 (39), 905.5 (3), 911.5 (6); CHN calculated for C<sub>35</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>16</sub>S<sub>3</sub>·CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Na·5H<sub>2</sub>O (M.W. 1120.82) calculated: C 39.65; H 3.15; N 2.50; S 8.58; found C 39.93; H 3.65; N 2.51; S 8.48.

**Trisodium 5-(4-(hydroxycarbonyl)benzenecarboxamido)-25,26,27,28-tetrahydroxy-11,17,23-trisulfonatocalix[4]arene (2e).**

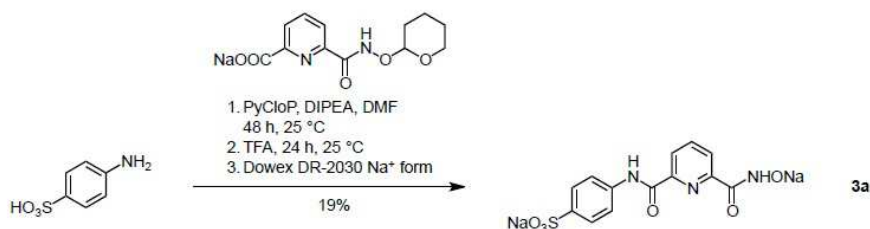


From **1** and 4-(((tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoic acid according to the general procedure. Yield: 58 mg (52  $\mu\text{mol}$ , 12%) light brown solid; m.p.: >250 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 7.85 (m, 2H), 7.77 (m, 2H), 7.56 (d, 2H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz), 7.54 (d, 2H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz), 7.53 (s, 2H), 7.24 (s, 2H), 4.15-4.55 (br, 4H), 3.38-3.76 (br, 4H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 171.7, 169.5, 158.6, 156.8, 149.8, 137.4, 134.8, 133.6, 132.4, 132.0, 131.4, 131.2, 130.9, 128.6, 128.2, 127.9, 126.8, 126.7, 124.3, 33.4, 32.4 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3418 (m), 2934 (w), 1605 (m)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (MALDI/TOF<sup>+</sup>):  $m/z$  (%) = 849.3 (43), 865.3 (74), 871.3 (51), 881.3 (11), 887.3 (100), 903.3 (38), 909.3 (38), 925.3 (18), 931.2 (9), 947.2 (7); CHN calculated for  $\text{C}_{36}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{16}\text{S}_3 \cdot \text{CF}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 4.5\text{H}_2\text{O}$  (M.W. 1125.84) C, 40.54; H, 3.22; N, 2.49; S, 8.54; found C, 40.95; H, 3.65; N, 2.44; S, 8.40.

**General Procedure for the Synthesis of the Sulfanilic Acid Derivatives.** Sulfanilic acid (100 mg, 577  $\mu\text{mol}$ ), PyClOP (243 mg, 577  $\mu\text{mol}$ ), and the corresponding carboxylic acid (1.15 mmol) are dissolved in DMF (10 mL) followed by the addition of DIPEA (402  $\mu\text{L}$ , 2.31 mmol). The reaction mixture is stirred at 25 °C for 48 h. After the addition of TFA (314  $\mu\text{L}$ , 4.10 mmol), stirring is continued for another 24 h at 25 °C. DIPEA (50  $\mu\text{L}$ ) is added and the reaction mixture is poured into diethyl ether (200 mL). The precipitate is filtered off and washed with ethyl acetate (3 x 20 mL) and diethyl ether (1 x 20 mL). The residue is dissolved in water (30 mL) and the solution is brought to pH 12 by adding aqueous NaOH (2 M). The aqueous phase is washed with ethyl acetate (4 x 20 mL)

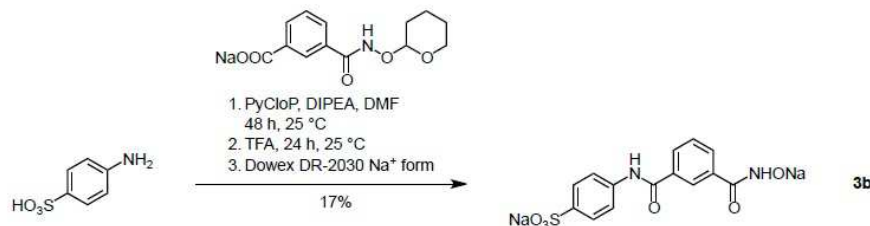
and evaporated. The residue is dissolved in water (2 mL) and the solution is brought to pH 5 with TFA. Insoluble material is filtered off and the solution subjected to HPLC (gradient 2). The isolated product is again dissolved in water (2 mL) and converted into the sodium salt by ion exchange. After evaporation of the solution, the product is washed with ethanol (3 x 15 mL), diethyl ether (2 x 15 mL), and dried in vacuo.

**Disodium 6-(4-sulfonatophenylcarbamoyl)picolinoylaminoxide (3a).**



From sulfanilic acid and sodium 6-(((tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)picolinate. Yield: 41 mg (108 mmol, 19%); m.p.: >250 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 8.23-8.25 (m, 1H), 8.12-8.15 (m, 2H), 7.79 (s, 4H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 164.7, 163.5, 149.0, 148.5, 140.9, 140.3, 140.2, 127.4, 126.3, 126.2, 122.4 ppm; IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 3246 (w), 1678 (s), 1524 (s) cm<sup>-1</sup>; MS (ESI/TOF<sup>-</sup>): *m/z* (%) = 167.3 (54), 335.8 (100), 346.3 (17), 357.7 (12); CHN calculated for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S·2H<sub>2</sub>O (M.W. 417.31) C, 37.42; H, 3.14; N, 10.07; S, 7.68; found C, 37.48; H, 3.01; N, 9.53; S, 7.34.

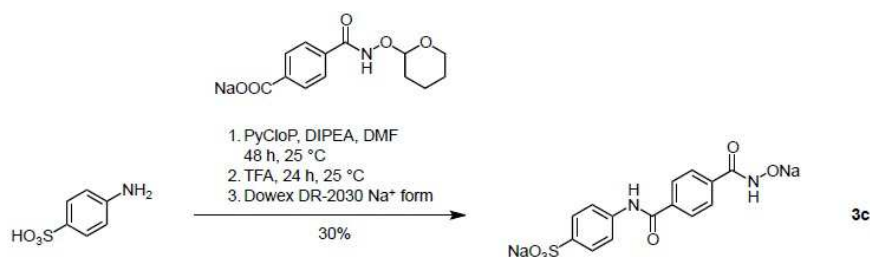
**Disodium 3-(4-sulfonatophenylcarbamoyl)benzoylaminoxide (3b).**



From sulfanilic acid and 3-(((tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoic acid. Yield: 38 mg (99 mmol, 17%); m.p.: >250 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD, 9:1 (v/v)): δ = 8.18 (s, 1H), 8.06 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3 Hz), 7.92 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.6 Hz), 7.82 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.9 Hz), 7.64-7.57 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 169.2, 168.2, 140.8, 140.4, 135.5, 133.0, 131.9, 131.7, 130.5, 127.5, 127.1, 122.7 ppm; IR (ATR):  $\bar{\nu}$  = 3282 (m), 3068 (w), 1650 (s), 1520 (s)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI/TOF $^-$ ):  $m/z$  (%) = 166.8 (99), 334.8 (100), 345.8 (13), 356.7 (15); CHN calculated for  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$  (M.W. 389.02): C, 43.19; H, 2.85; N, 7.20; S, 8.24; found C, 43.04; H, 3.11; N, 7.04; S, 7.91.

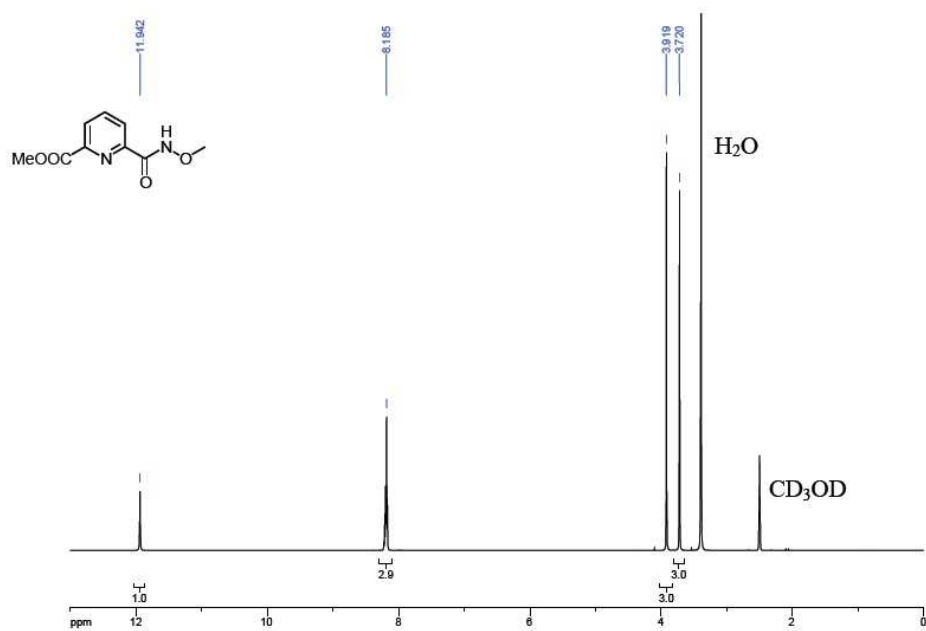
**Disodium 4-(4-sulfonatophenylcarbamoyl)benzoylaminoxide (3c).**



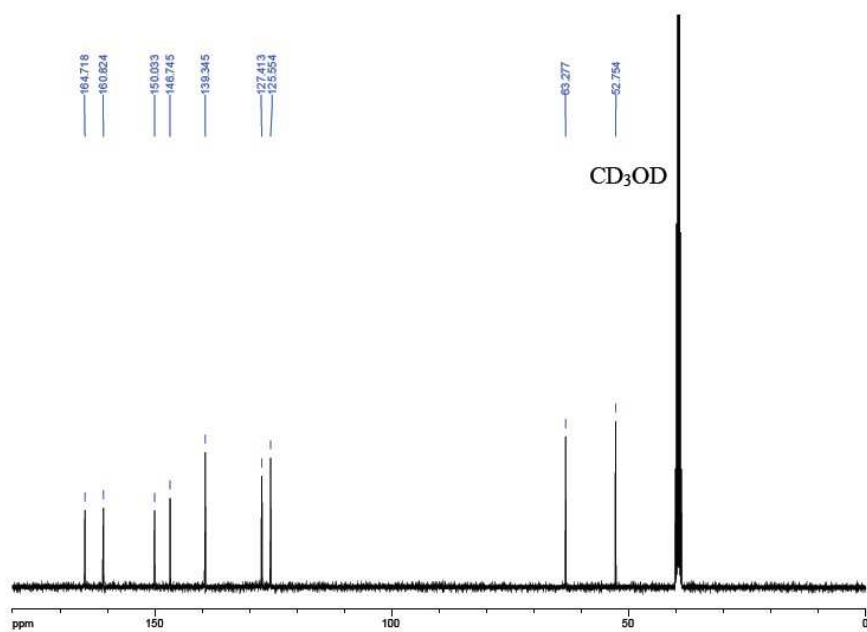
From sulfanilic acid and 4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoic acid. Yield: 66 mg (173  $\mu\text{mol}$ , 30%); m.p.: >250 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO}-d_6$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 7.85 (m, 2H), 7.77 (m, 2H), 7.64 (s, 4H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO}-d_6$ , 9:1 (v/v)):  $\delta$  = 168.0, 165.6, 142.2, 140.7, 138.4, 136.7, 128.9, 127.9, 127.6, 121.8 ppm; IR (ATR):  $\bar{\nu}$  = 3298 (m), 3080 (w), 3050 (w), 1654 (s), 1620 (s), 1524 (s)  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI/TOF $^-$ ):  $m/z$  (%) = 166.8 (71), 334.8 (100), 345.8 (7), 356.7 (8); CHN calculated for  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$  (M.W. 389.02): C, 43.19; H, 2.85; N, 7.20; S, 8.24; found C, 43.64; H, 2.95; N, 7.26; S, 8.28.



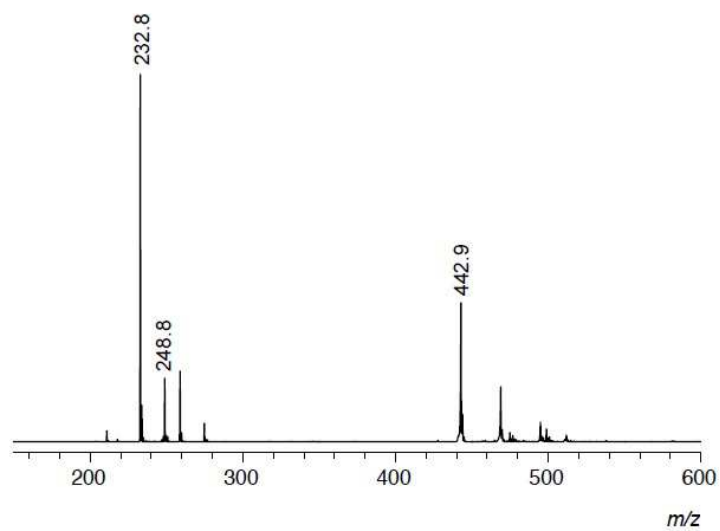
$^1\text{H NMR}$ : Methyl 6-(methoxycarbonyl)picolinate (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).



$^{13}\text{C NMR}$ : Methyl 6-(methoxycarbonyl)picolinate (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

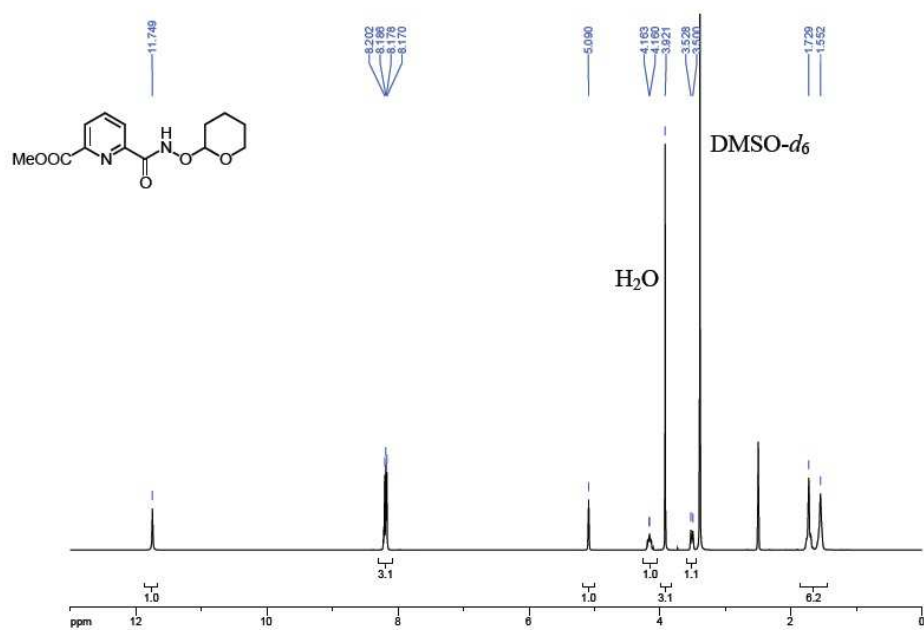


ESI/TOF MS: Methyl 6-(methoxycarbonyl)picolinate (positive mode).

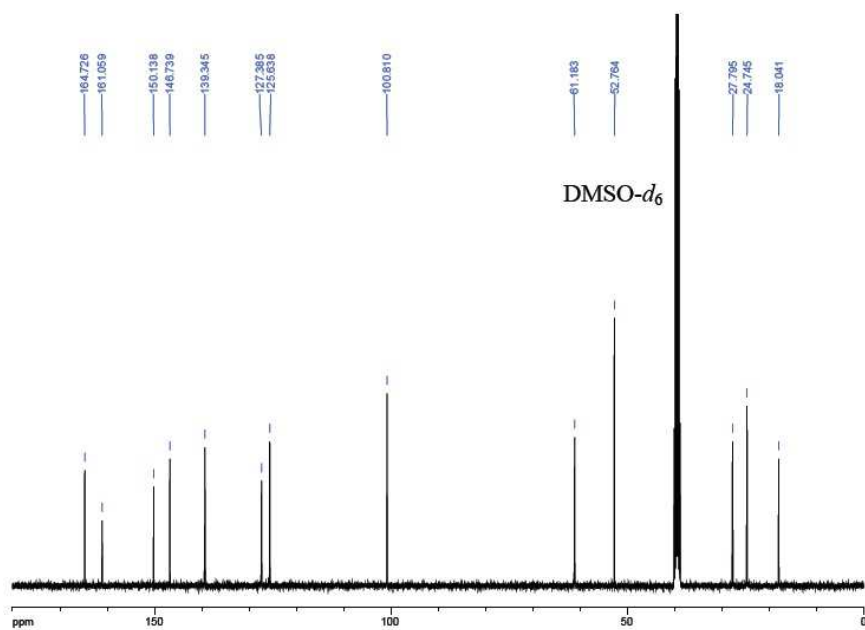


		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M+Na]^+$	$C_9H_{10}N_2NaO_4^+$	233.1	232.8
$[M+K]^+$	$C_9H_{10}KN_2O_4^+$	249.1	248.8
$[2M+Na]^+$	$(C_9H_{10}N_2O_4)_2Na^+$	443.1	442.9

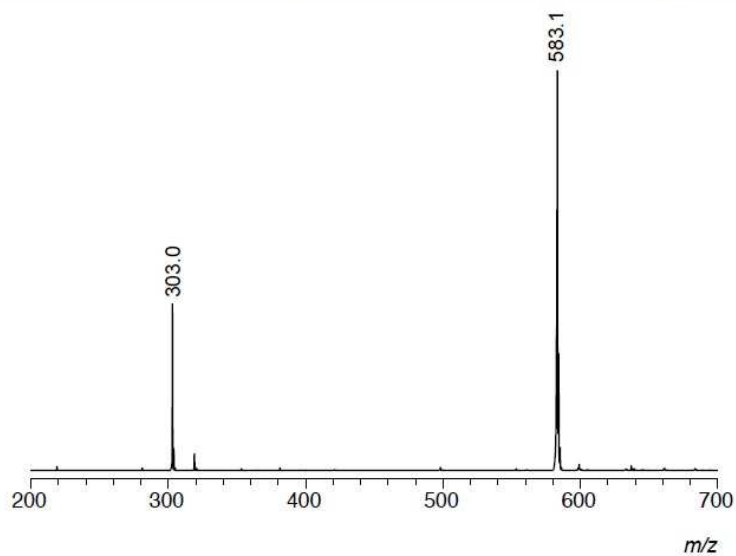
$^1\text{H}$  NMR: Methyl 6-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)picolinate (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).



$^{13}\text{C}$  NMR: Methyl 6-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)picolinate (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).



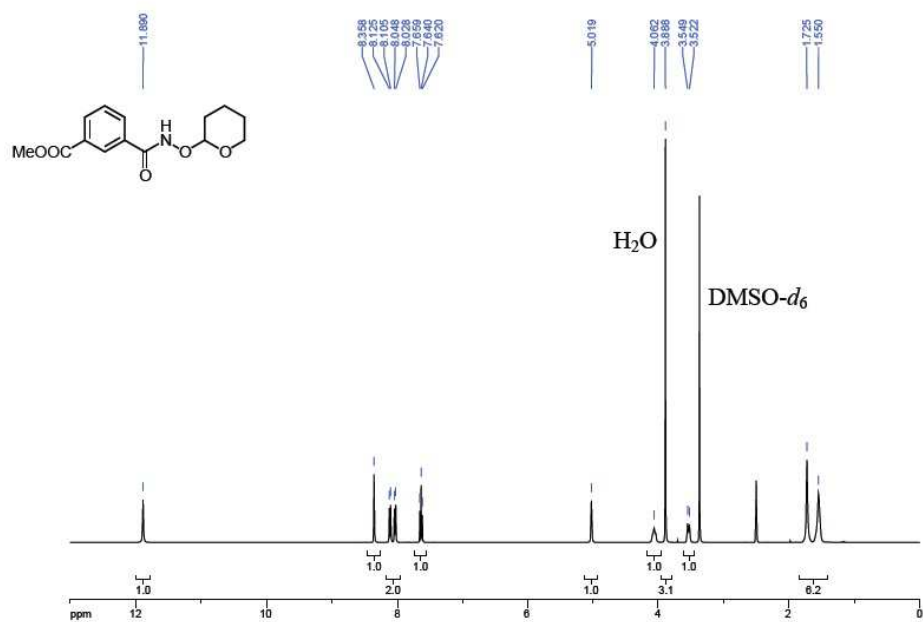
ESI/TOF MS: Methyl 6-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)picolinate (positive mode).



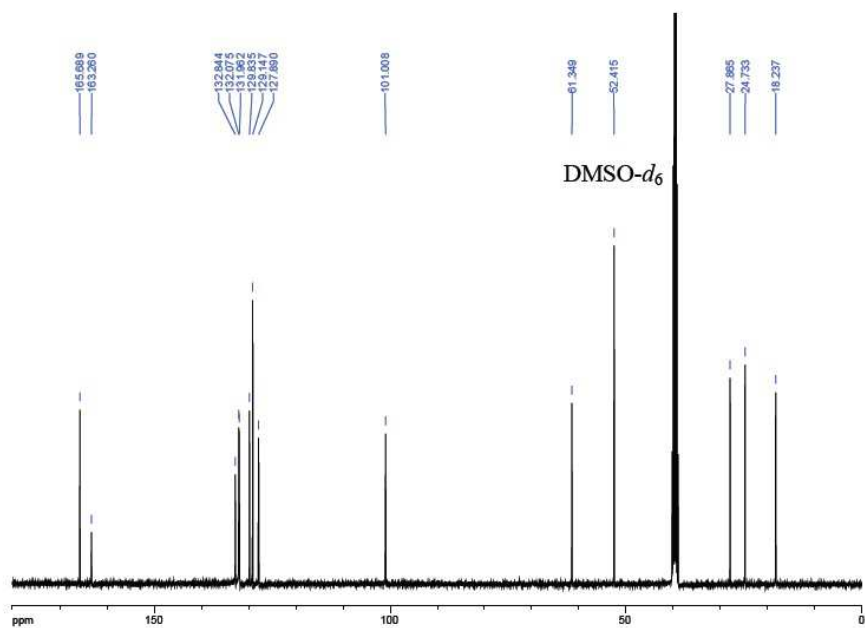
		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
[M+Na] <sup>+</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> NaO <sub>5</sub> <sup>+</sup>	303.1	303.0
[2M+Na] <sup>+</sup>	(C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> Na <sup>+</sup>	583.2	583.1



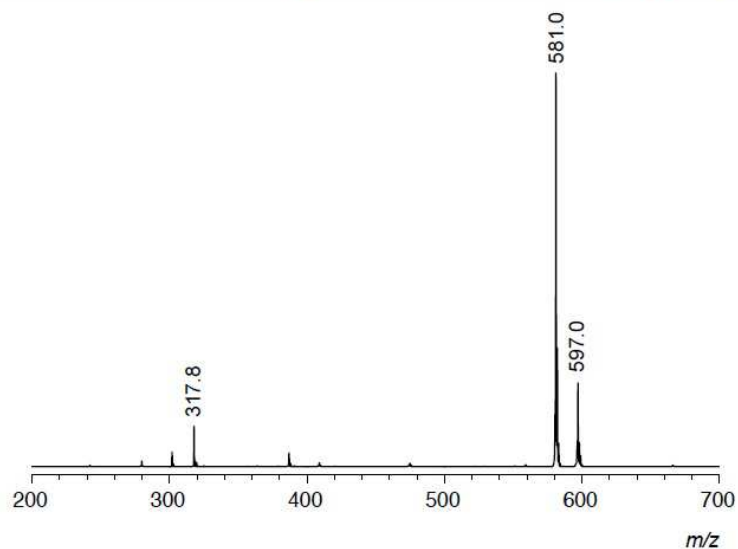
$^1\text{H NMR}$ : Methyl 3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).



$^{13}\text{C NMR}$ : Methyl 3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

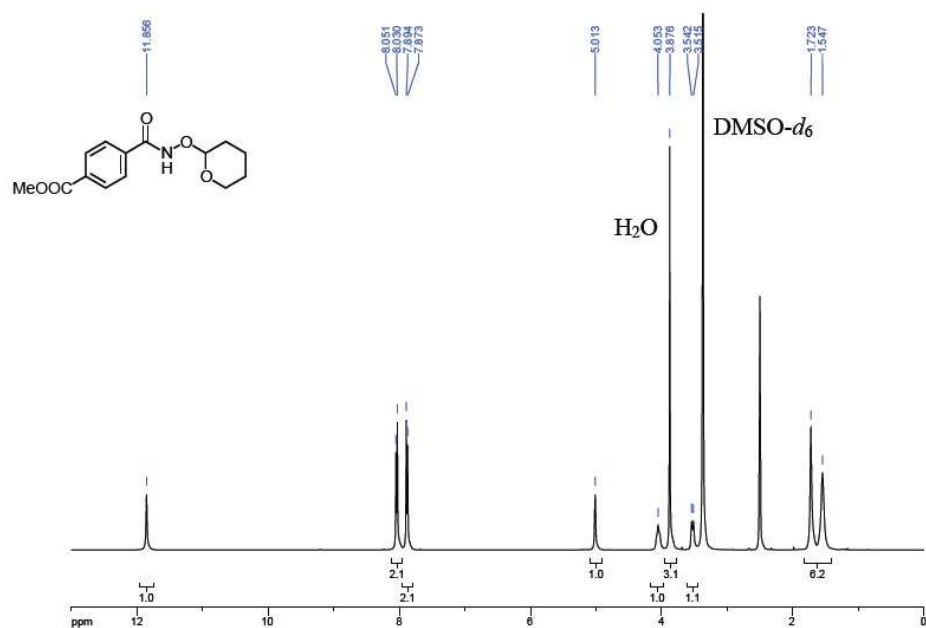


ESI/TOF MS: Methyl 3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (positive mode).

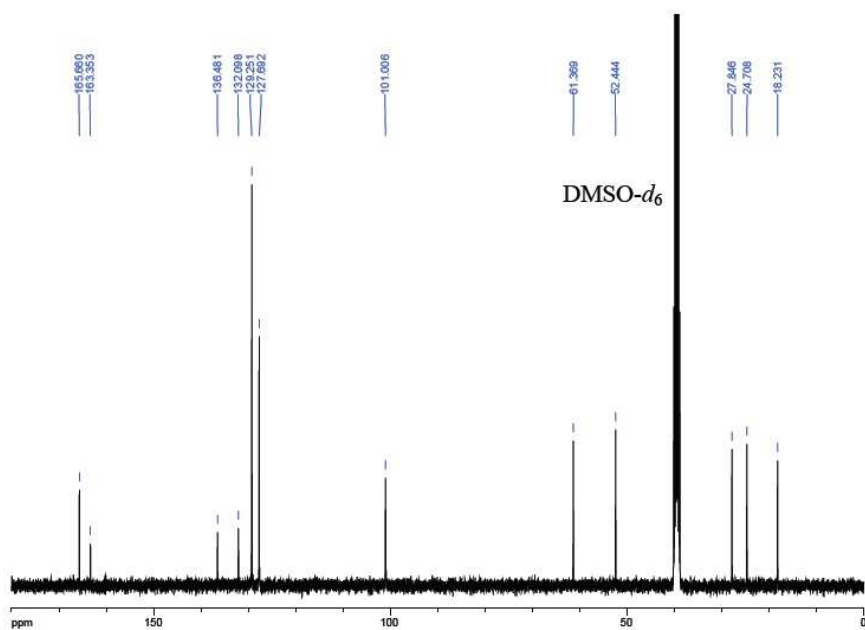


		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
[M+K] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> KNO <sub>5</sub> <sup>+</sup>	318.0	317.8
[2M+Na] <sup>+</sup>	(C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> Na <sup>+</sup>	581.2	581.0
[2M+K] <sup>+</sup>	(C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> K <sup>+</sup>	597.2	597.0

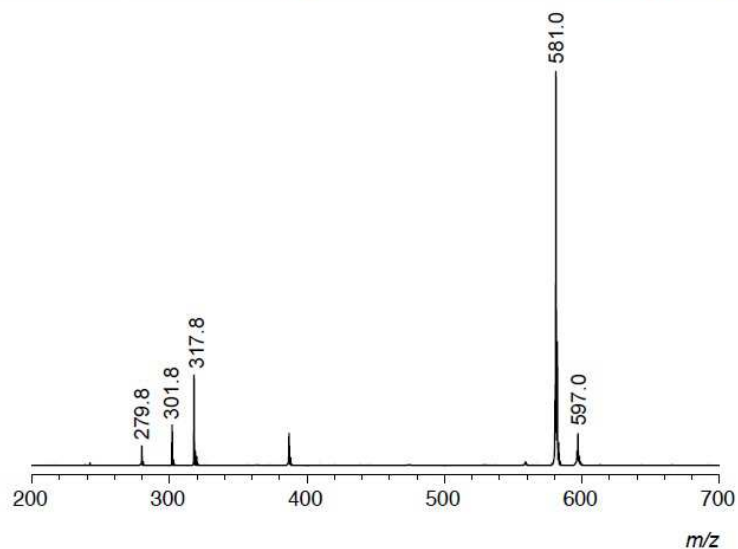
$^1\text{H NMR}$ : Methyl 4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).



$^{13}\text{C NMR}$ : Methyl 4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

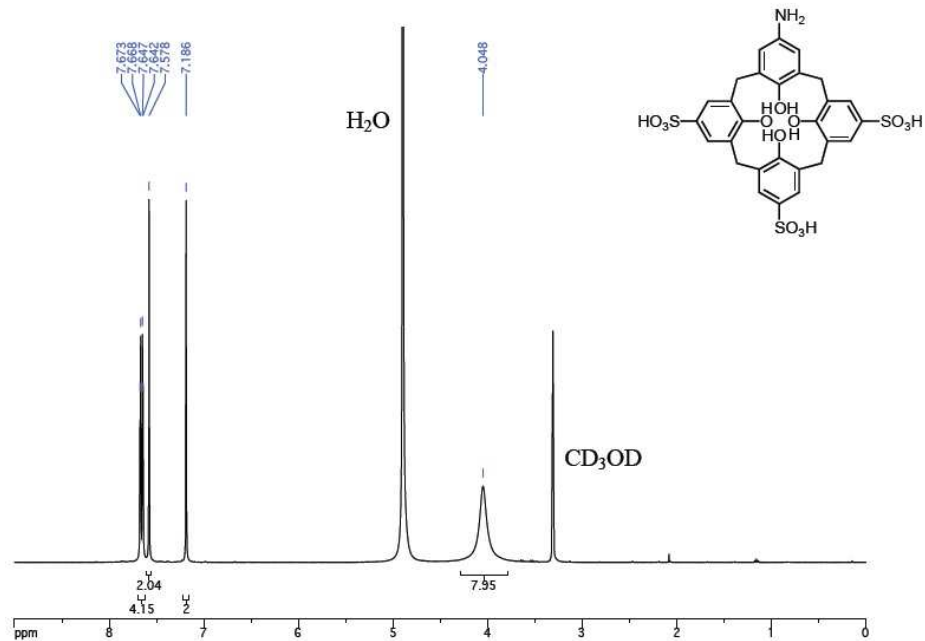


ESI/TOF MS: Methyl 4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbamoyl)benzoate (positive mode).

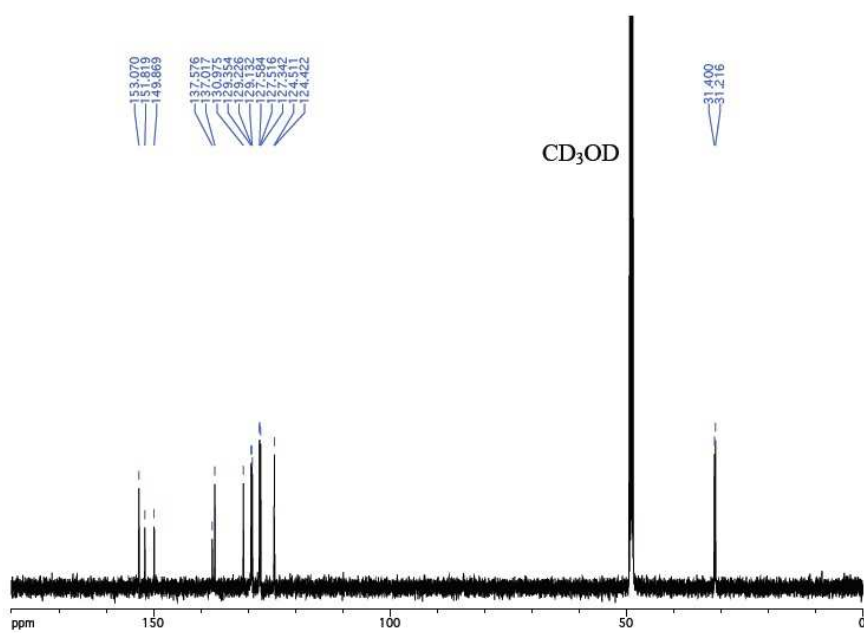


		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>5</sub> <sup>+</sup>	280.1	279.8
[M+Na] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NNaO <sub>5</sub> <sup>+</sup>	302.1	301.8
[M+K] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> KNO <sub>5</sub> <sup>+</sup>	318.0	317.8
[2M+Na] <sup>+</sup>	(C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> Na <sup>+</sup>	581.2	581.0
[2M+K] <sup>+</sup>	(C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> K <sup>+</sup>	597.2	597.0

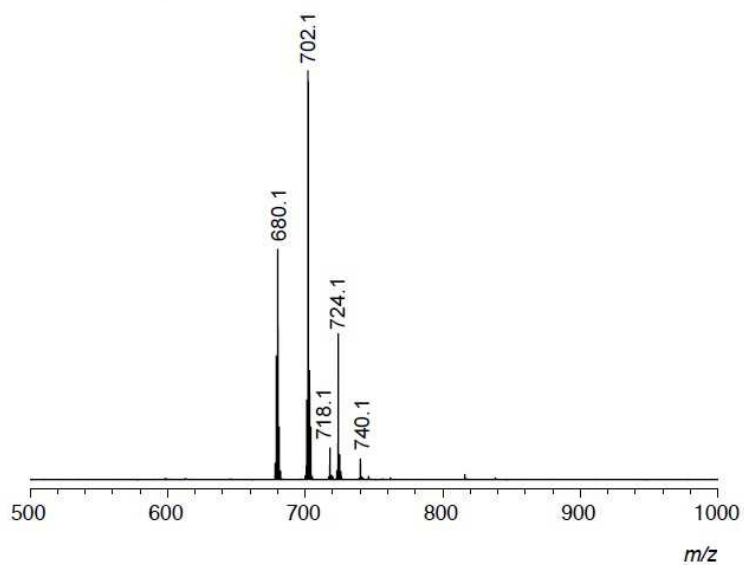
$^1\text{H NMR}$ : **1** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



$^{13}\text{C NMR}$ : **1** (151 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).

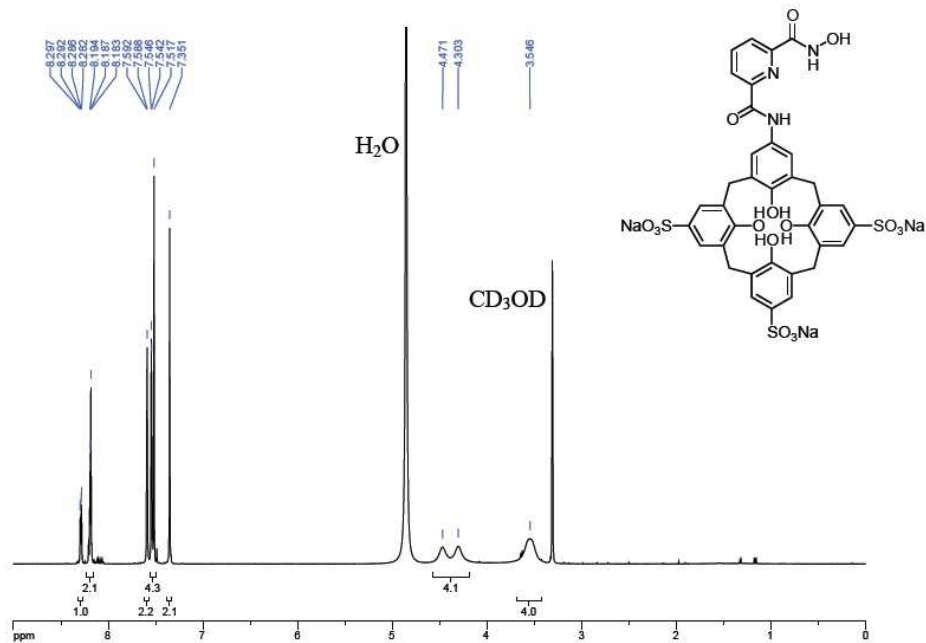


MALDI/TOF MS: 1 (positive mode).

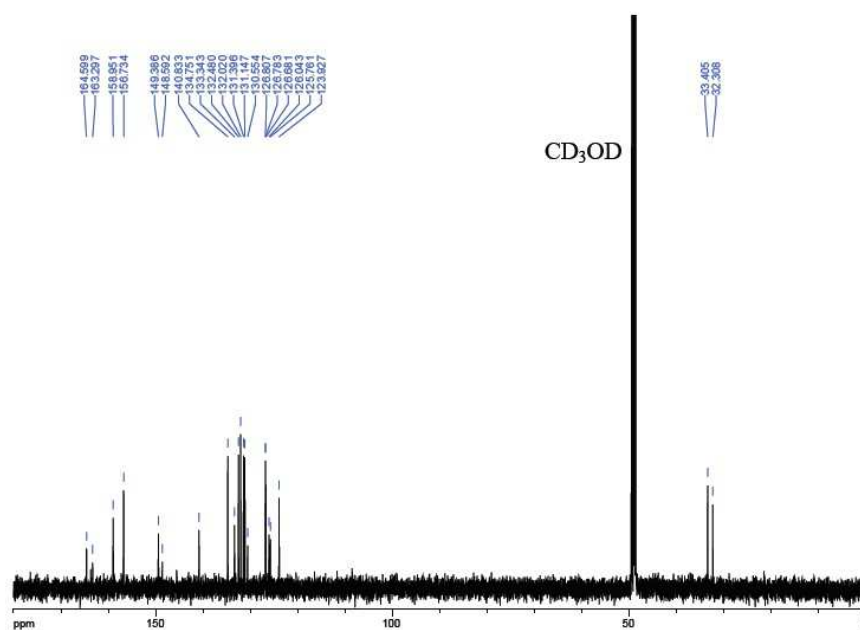


		$m/z$ calcd.	$m/z$ exp.
$[M+H]^+$	$C_{28}H_{26}NO_{13}S_3^+$	680.1	680.1
$[M+Na]^+$	$C_{28}H_{25}NNaO_{13}S_3^+$	702.0	702.1
$[M+K]^+$	$C_{28}H_{25}KNO_{13}S_3^+$	718.0	718.1
$[M-H+2Na]^+$	$C_{28}H_{24}NNa_2O_{13}S_3^+$	724.0	724.1
$[M-H+Na+K]^+$	$C_{28}H_{24}KNNaO_{13}S_3^+$	740.0	740.1

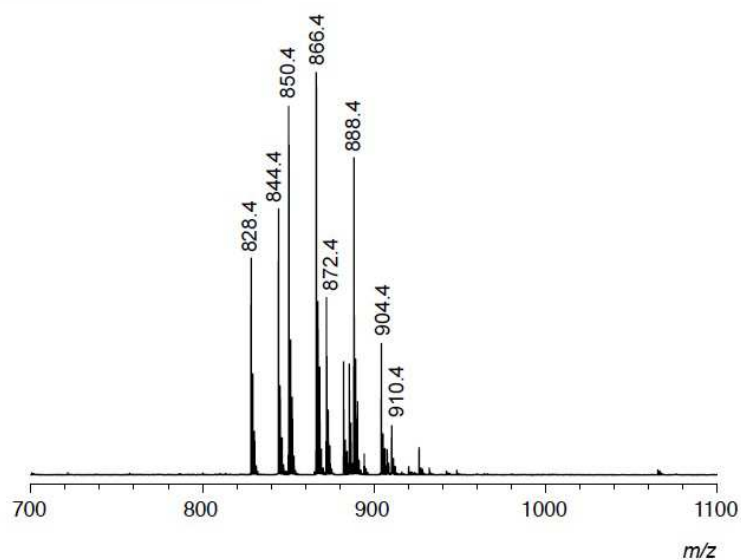
$^1\text{H NMR}$ : **2a** (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



$^{13}\text{C NMR}$ : **2a** (151 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



MALDI/TOF MS: **2a** (positive mode).

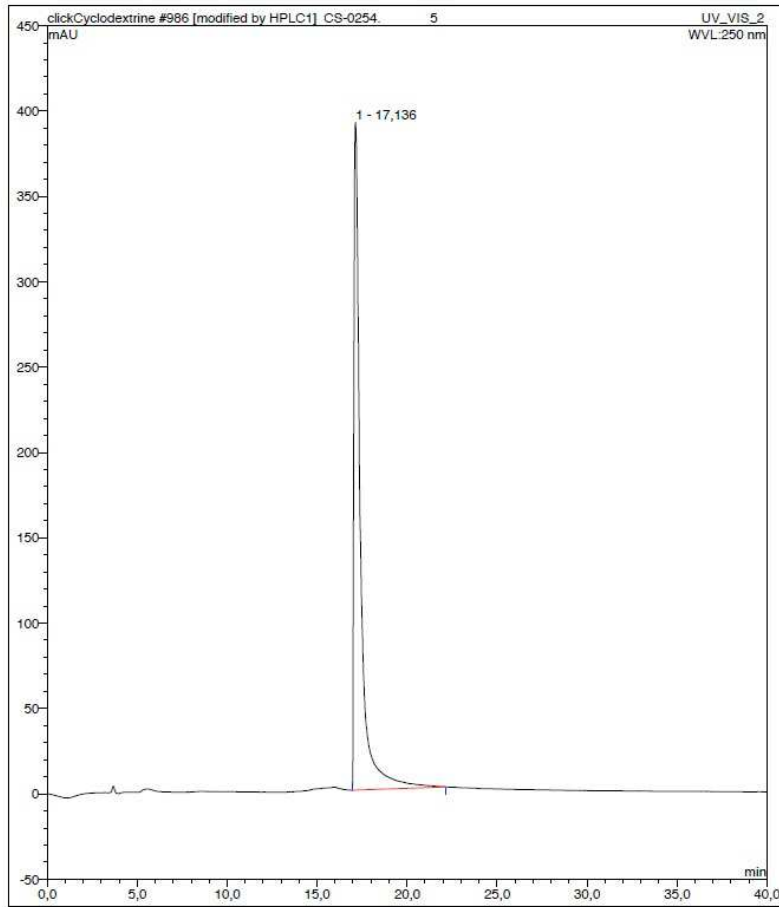


		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M-O-3Na+4H]^+$	$C_{35}H_{30}N_3O_{15}S_3^+$	828.1	828.4
$[M-3Na+4H]^+$	$C_{35}H_{30}N_3O_{16}S_3^+$	844.1	844.4
$[M-O-2Na+3H]^+$	$C_{35}H_{29}N_3NaO_{15}S_3^+$	850.1	850.4
$[M-2Na+3H]^+$	$C_{35}H_{29}N_3NaO_{16}S_3^+$	866.1	866.4
$[M-O-Na+2H]^+$	$C_{35}H_{28}N_3Na_2O_{15}S_3^+$	872.0	872.4
$[M-Na+2H]^+$	$C_{35}H_{28}N_3Na_2O_{16}S_3^+$	888.0	888.4
$[M-2Na+2H+K]^+$	$C_{35}H_{28}KN_3NaO_{16}S_3^+$	904.0	904.4
$[M+H]^+$	$C_{35}H_{27}N_3Na_3O_{16}S_3^+$	910.0	910.4

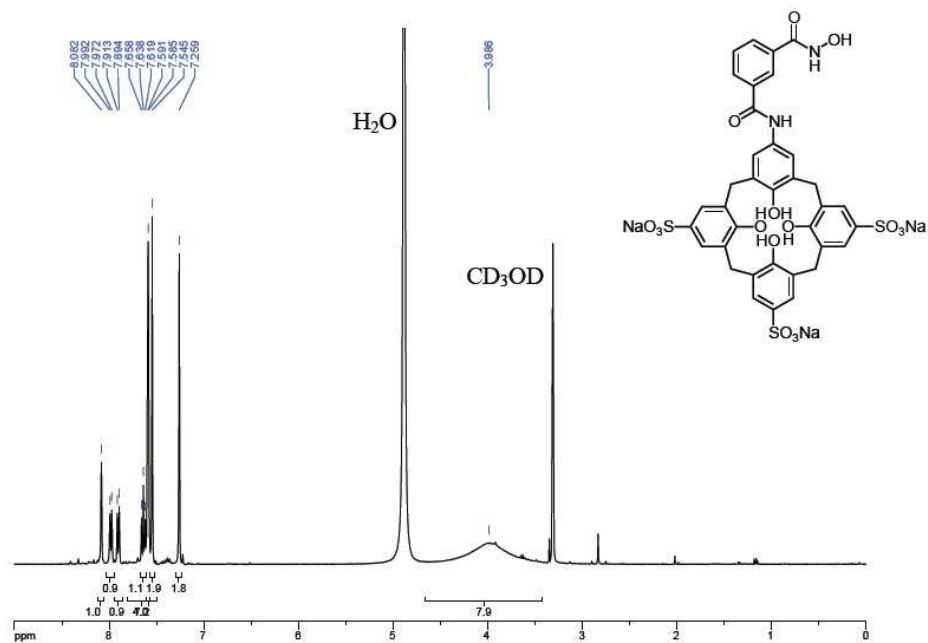
The ions attributed to formal monodeoxy products likely derive from reduction of the hydroxamic acid by the 2,5-dihydroxybenzoic acid matrix.



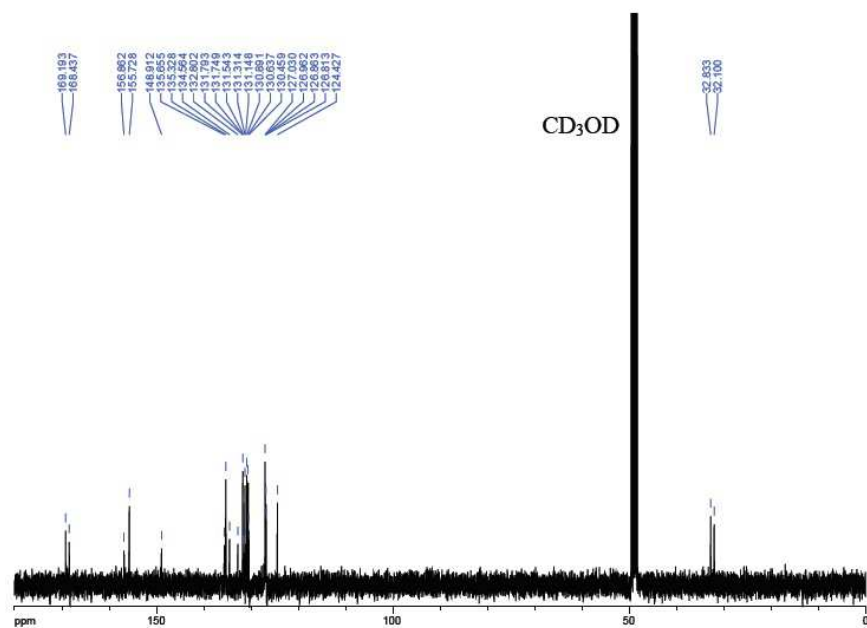
HPLC: 2a.



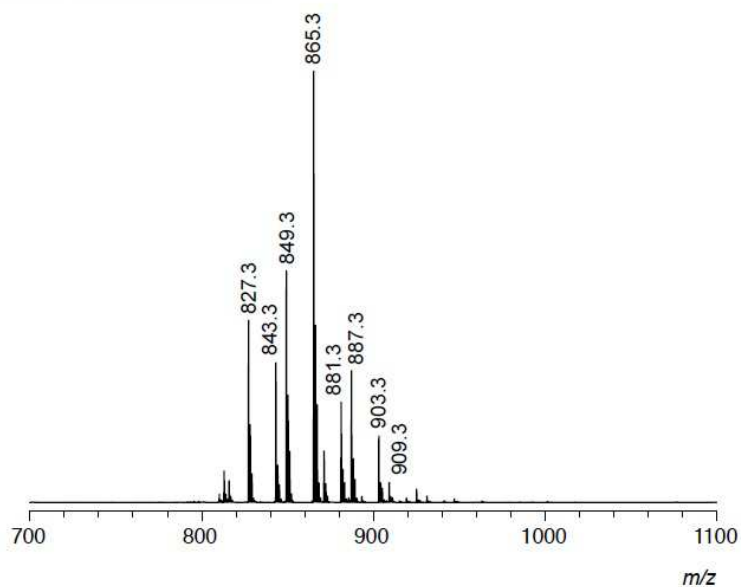
$^1\text{H NMR}$ : **2b** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



$^{13}\text{C NMR}$ : **2b** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



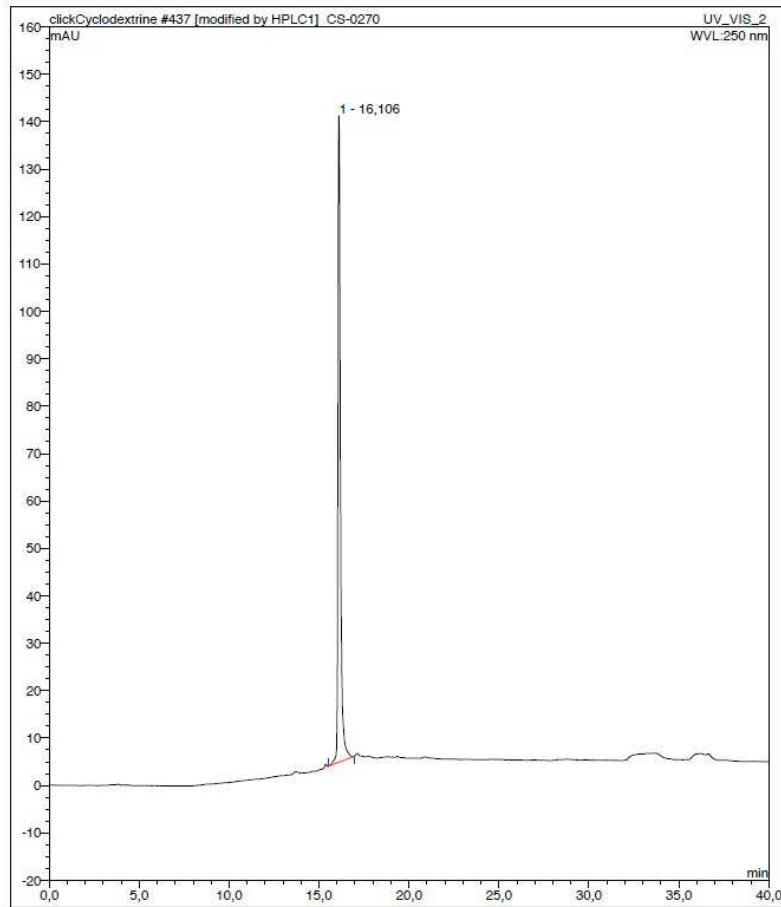
MALDI/TOF MS: **2b** (positive mode).



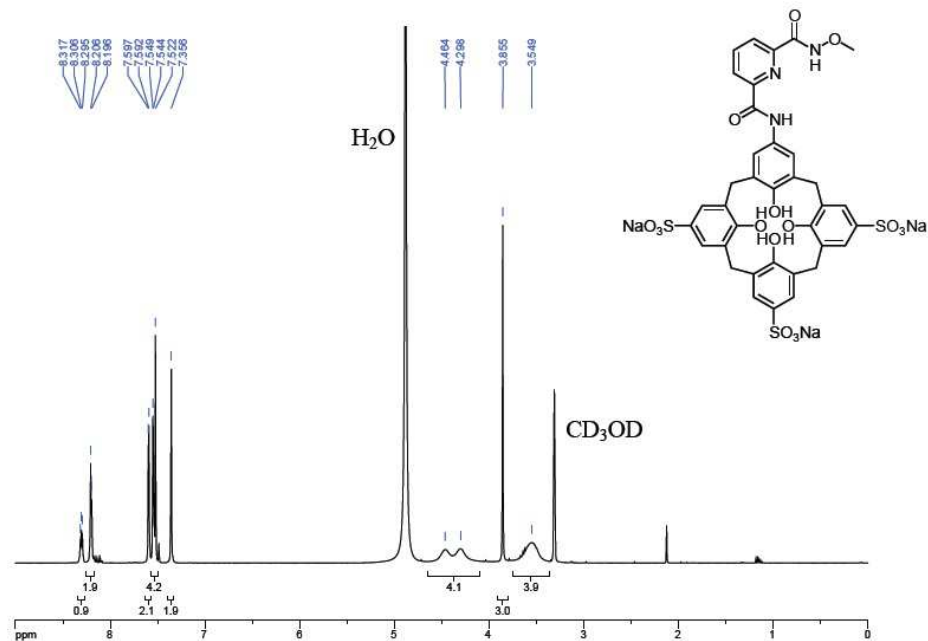
		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M-O-3Na+4H]^+$	$C_{36}H_{31}N_2O_{15}S_3^+$	827.1	827.3
$[M-3Na+4H]^+$	$C_{36}H_{31}N_2O_{16}S_3^+$	843.1	843.3
$[M-O-2Na+3H]^+$	$C_{36}H_{30}N_2NaO_{15}S_3^+$	849.1	849.3
$[M-2Na+3H]^+$	$C_{36}H_{30}N_2NaO_{16}S_3^+$	865.1	865.3
$[M-3Na+3H+K]^+$	$C_{36}H_{30}KN_2O_{16}S_3^+$	881.0	881.3
$[M-Na+2H]^+$	$C_{36}H_{29}N_2Na_2O_{16}S_3^+$	887.0	887.3
$[M-2Na+2H+K]^+$	$C_{36}H_{29}KN_2NaO_{16}S_3^+$	903.0	903.3
$[M+H]^+$	$C_{36}H_{28}N_2Na_3O_{16}S_3^+$	909.0	909.3

The ions attributed to formal monodeoxy products likely derive from reduction of the hydroxamic acid by the 2,5-dihydroxybenzoic acid matrix.

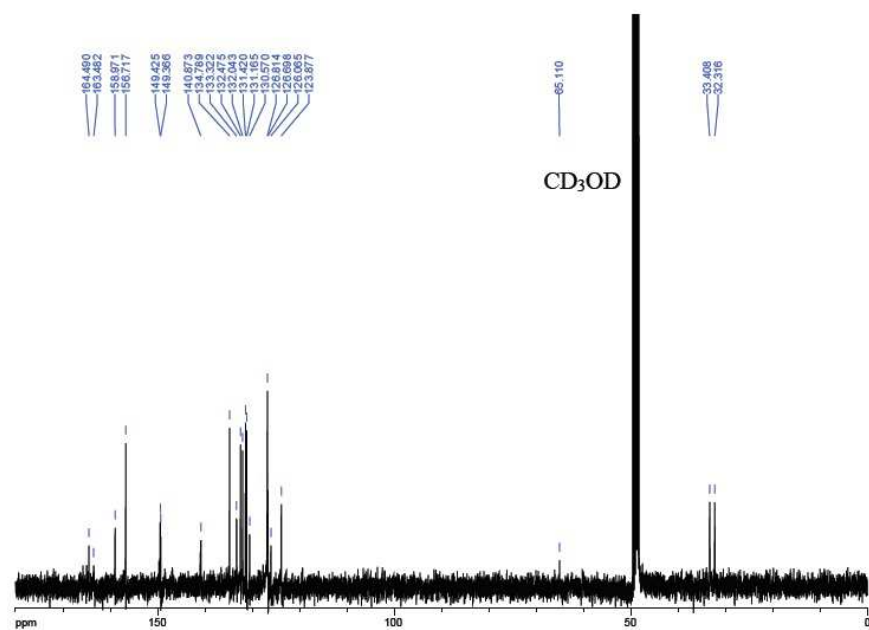
HPLC: 2b.

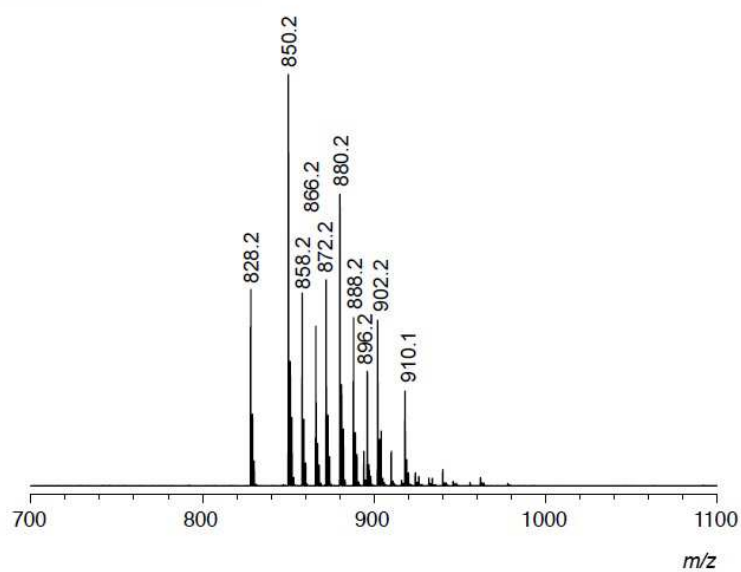


$^1\text{H NMR}$ : **2c** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



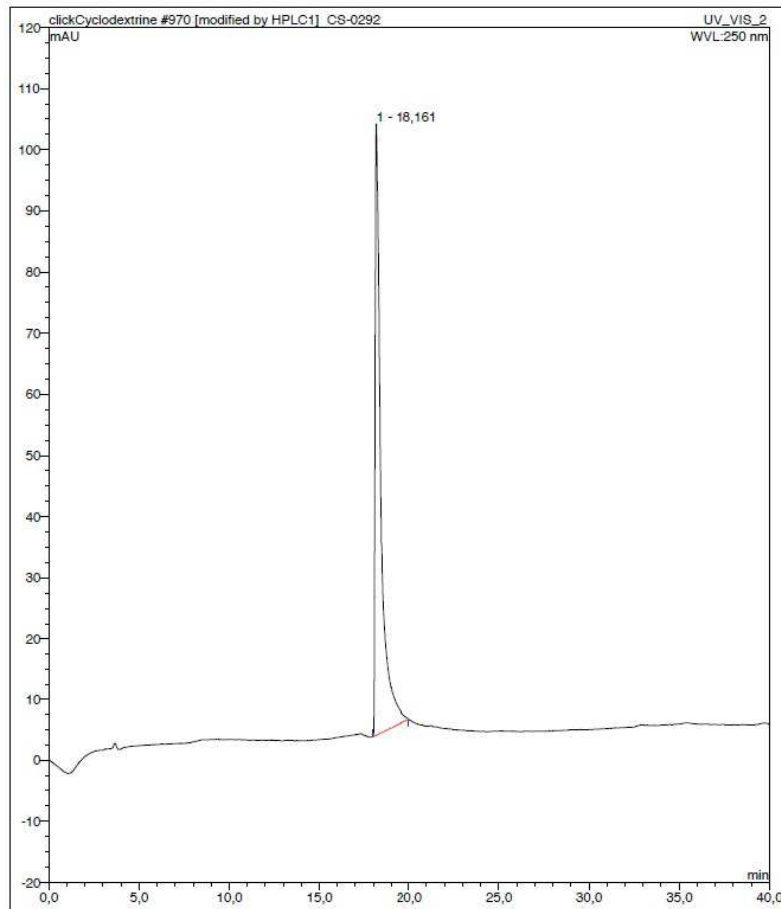
$^{13}\text{C NMR}$ : **2c** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



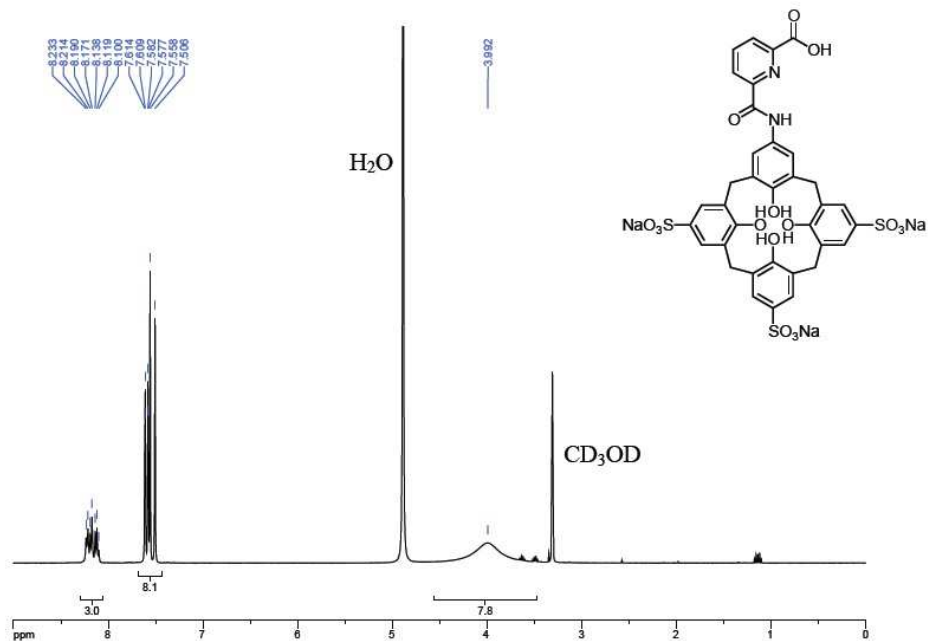
MALDI/TOF MS: **2c** (positive mode).

		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M-3Na-OCH_2+4H]^+$	$C_{35}H_{30}N_3O_{15}S_3^+$	828.1	828.2
$[M-2Na-OCH_2+3H]^+$	$C_{35}H_{29}N_3NaO_{15}S_3^+$	850.1	850.2
$[M-3Na+4H]^+$	$C_{36}H_{32}N_3O_{16}S_3^+$	858.1	858.2
$[M-3Na-OCH_2+K+3H]^+$	$C_{35}H_{29}KN_3O_{15}S_3^+$	866.0	866.2
$[M-Na-OCH_2+2H]^+$	$C_{35}H_{28}N_3Na_2O_{15}S_3^+$	872.0	872.2
$[M-2Na+3H]^+$	$C_{36}H_{31}N_3NaO_{16}S_3^+$	880.1	880.2
$[M-2Na-OCH_2+K+2H]^+$	$C_{35}H_{28}KN_3NaO_{15}S_3^+$	888.0	888.2
$[M-3Na+K+3H]^+$	$C_{36}H_{31}KN_3O_{16}S_3^+$	896.1	896.2
$[M-Na+2H]^+$	$C_{36}H_{30}N_3Na_2O_{16}S_3^+$	902.1	902.2
$[M-2Na+K+2H]^+$	$C_{36}H_{30}KN_3NaO_{16}S_3^+$	918.0	918.2

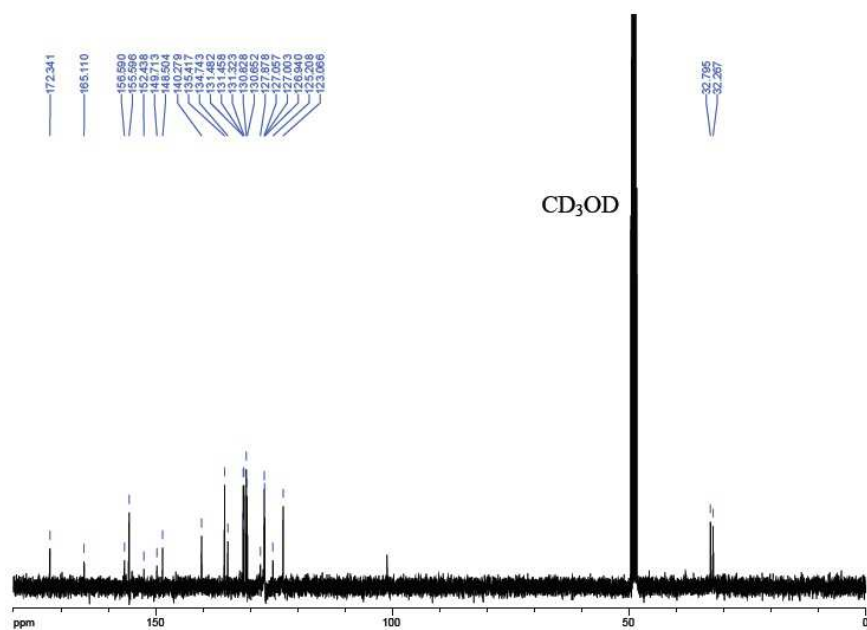
HPLC: 2c.



$^1\text{H NMR}$ : **2d** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).

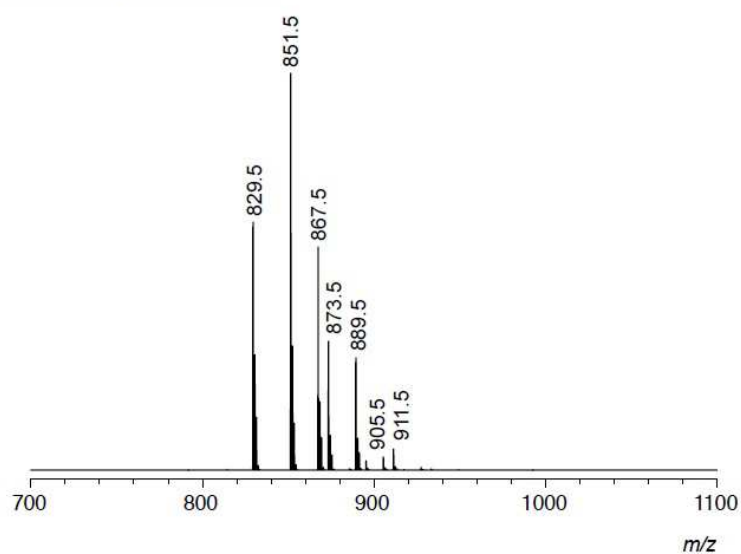


$^{13}\text{C NMR}$ : **2d** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).





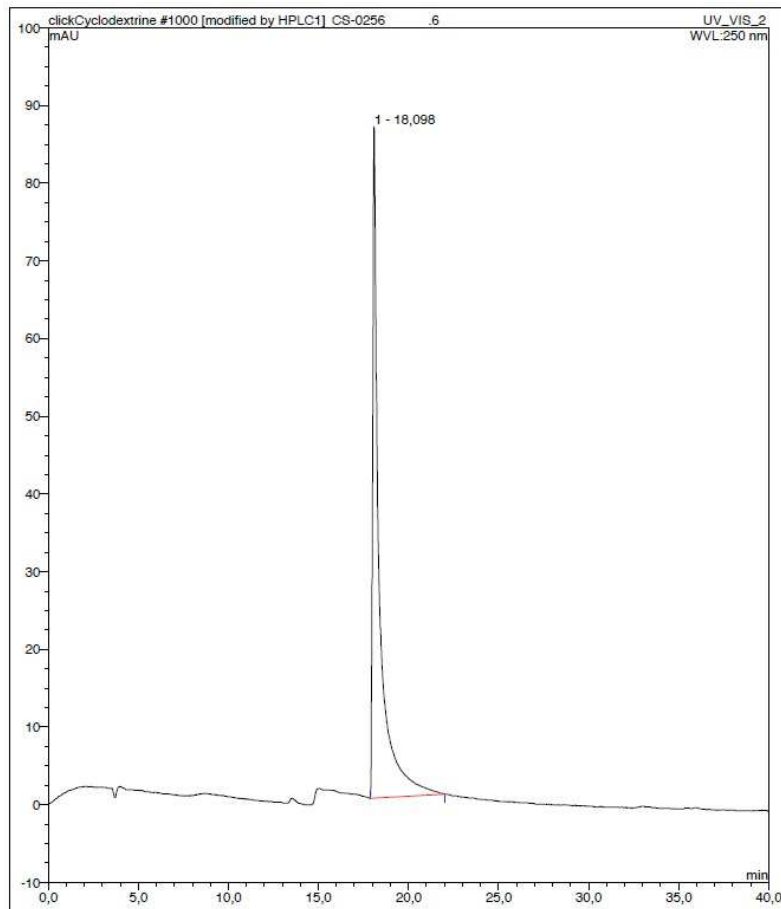
MALDI/TOF MS: **2d** (positive mode).



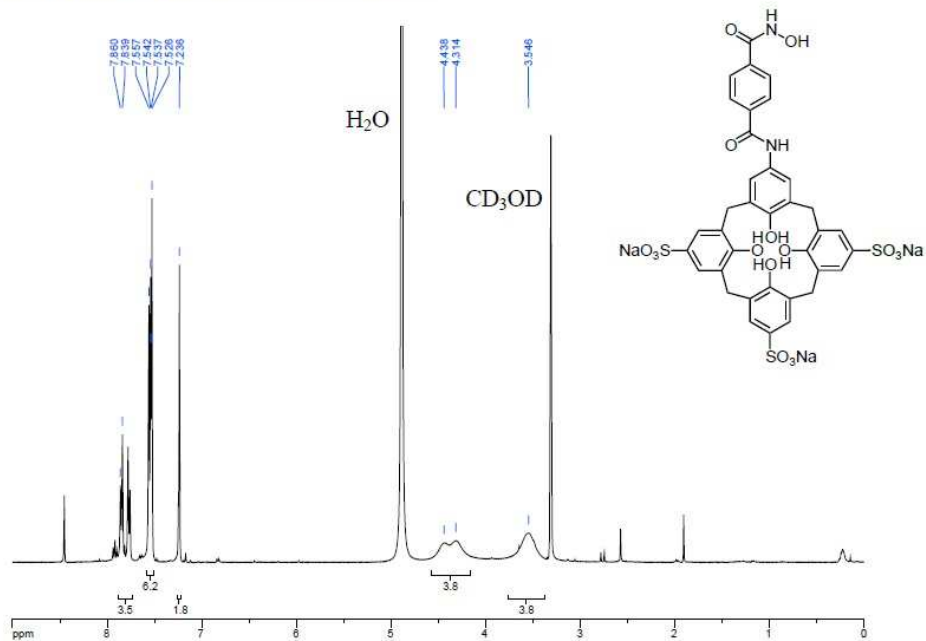
		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M-3Na+4H]^+$	$C_{35}H_{29}N_2O_{16}S_3^+$	829.1	829.5
$[M-2Na+3H]^+$	$C_{35}H_{28}N_2NaO_{16}S_3^+$	851.0	851.5
$[M-3Na+K+3H]^+$	$C_{35}H_{28}N_2KO_{16}S_3^+$	867.0	867.5
$[M-Na+2H]^+$	$C_{35}H_{27}N_2Na_2O_{16}S_3^+$	873.0	873.5
$[M-2Na+K+2H]^+$	$C_{35}H_{27}KN_2NaO_{16}S_3^+$	889.0	889.5
$[M-3Na+2K+2H]^+$	$C_{35}H_{27}K_2N_2O_{16}S_3^+$	905.0	905.5
$[M-Na+K+H]^+$	$C_{35}H_{26}KN_2Na_2O_{16}S_3^+$	911.0	911.5

The ions denoted  $-OCH_2$  likely derive from reduction of the hydroxamic acid ester by the 2,5-dihydroxybenzoic acid matrix.

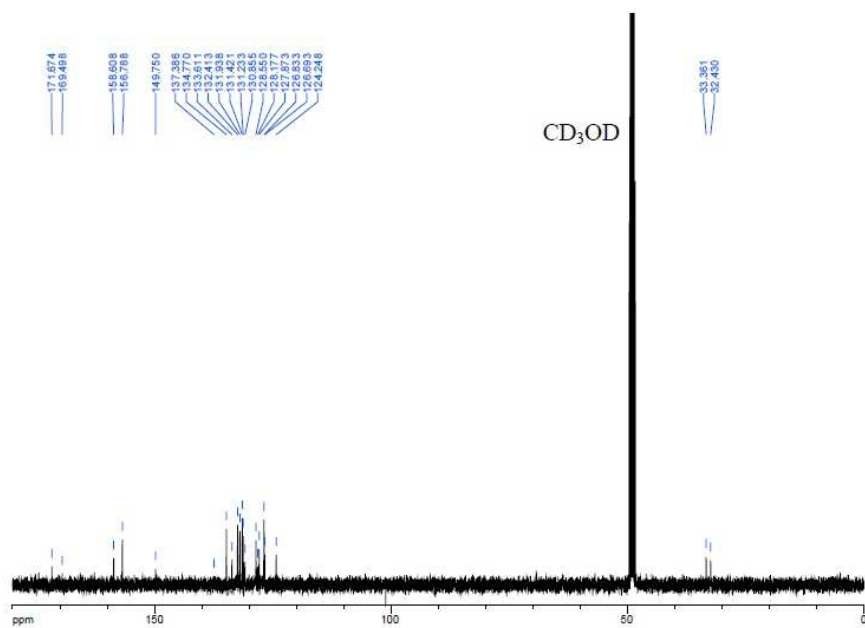
HPLC: 2d.



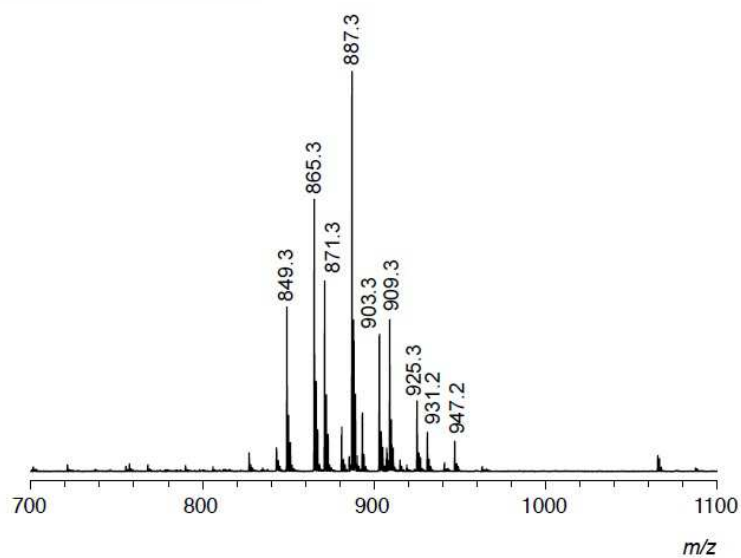
$^1\text{H NMR}$ : **2e** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



$^{13}\text{C NMR}$ : **2e** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



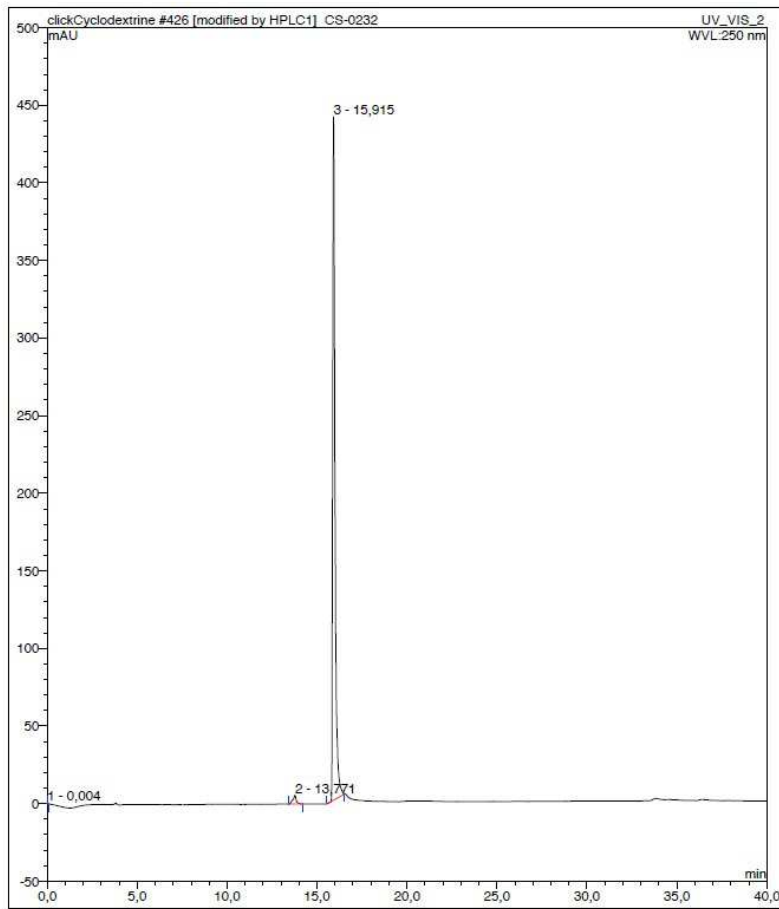
MALDI/TOF MS: 2e (positive mode).



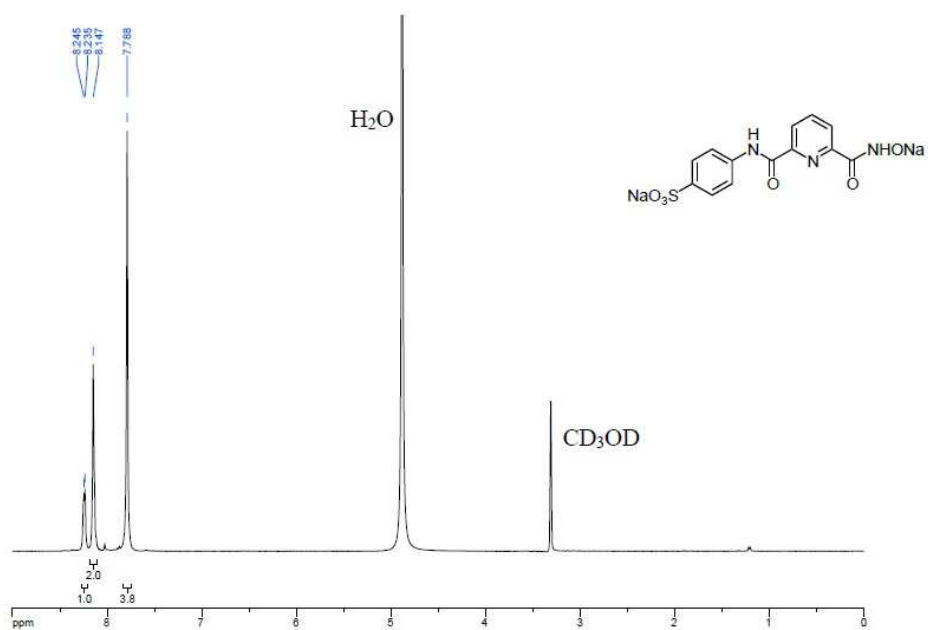
		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M-O-2Na+3H]^+$	$C_{36}H_{30}N_2NaO_{15}S_3^+$	849.1	849.3
$[M-2Na+3H]^+$	$C_{36}H_{30}N_2NaO_{16}S_3^+$	865.1	865.3
$[M-O-Na+2H]^+$	$C_{36}H_{29}N_2Na_2O_{15}S_3^+$	871.1	871.3
$[M-Na+2H]^+$	$C_{36}H_{29}N_2Na_2O_{16}S_3^+$	887.0	887.3
$[M-2Na+2H+K]^+$	$C_{36}H_{29}KN_2NaO_{16}S_3^+$	903.0	903.3
$[M+H]^+$	$C_{36}H_{28}N_2Na_3O_{16}S_3^+$	909.0	909.3
$[M-Na+H+K]^+$	$C_{36}H_{28}KN_2Na_2O_{16}S_3^+$	925.0	925.3
$[M+Na]^+$	$C_{36}H_{27}N_2Na_4O_{16}S_3^+$	931.0	931.2
$[M+K]^+$	$C_{36}H_{27}KN_2Na_3O_{16}S_3^+$	947.0	947.2

The ions attributed to formal monodeoxy products likely derive from reduction of the hydroxamic acid by the 2,5-dihydroxybenzoic acid matrix.

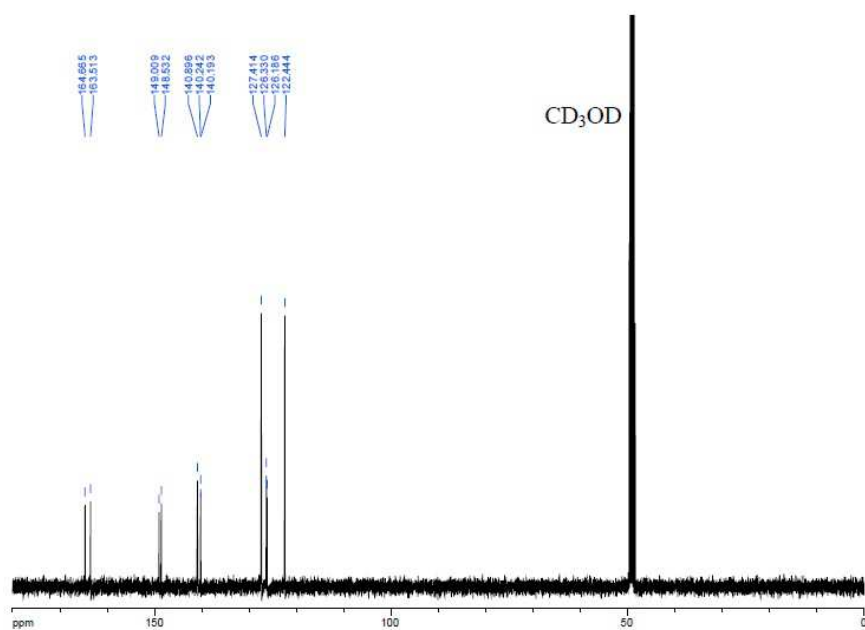
HPLC: 2e.

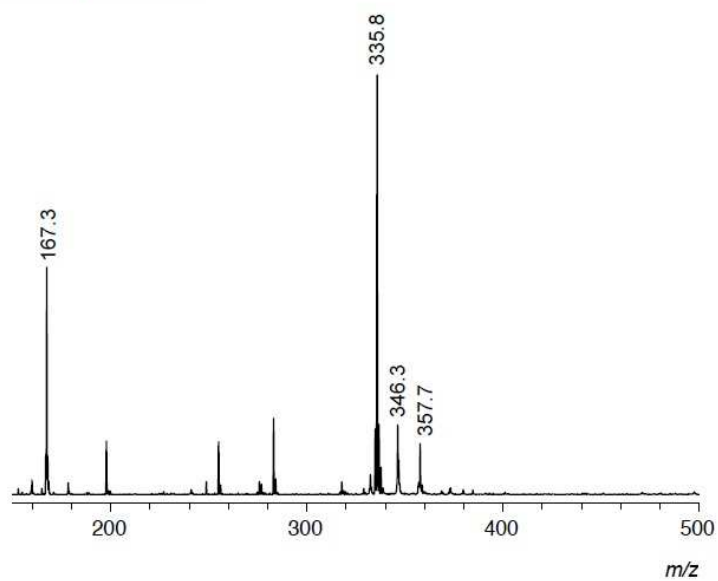


$^1\text{H NMR}$ : **3a** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



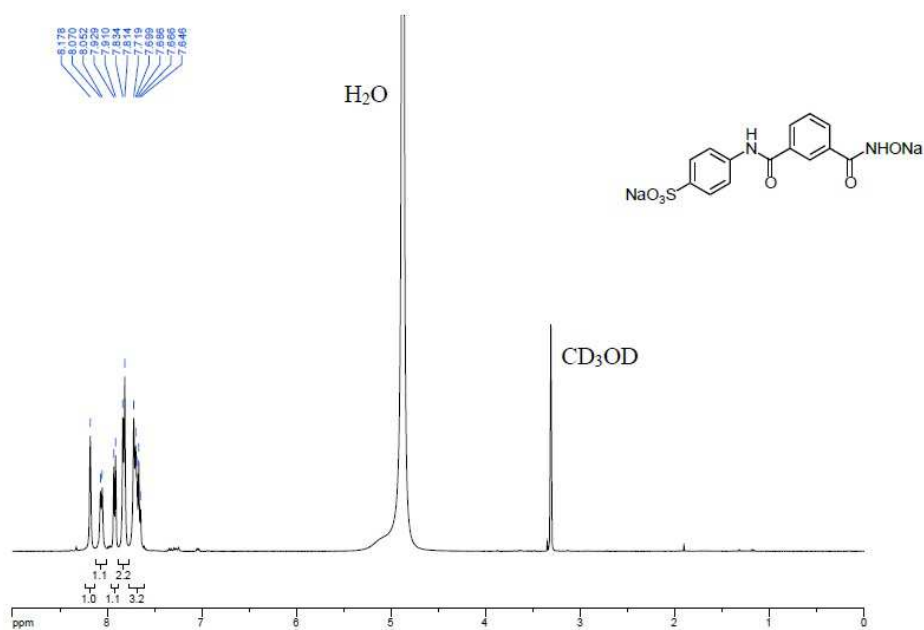
$^{13}\text{C NMR}$ : **3a** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



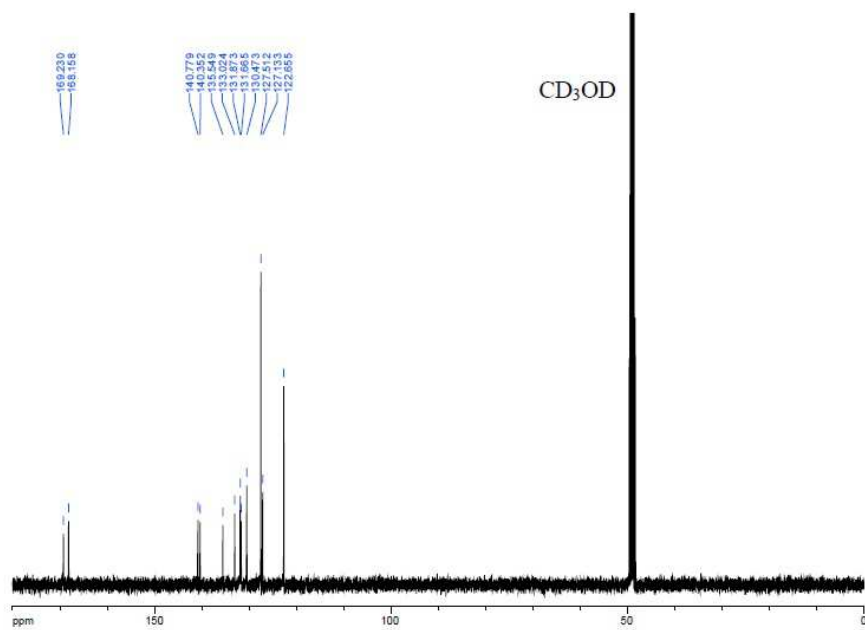
ESI/TOF MS: **3a** (negative mode).

		$m/z$ calcd.	$m/z$ exp.
$[M-2Na]^{2-}$	$C_{13}H_9N_3O_6S^{2-}$	167.5	167.3
$[M-2Na+H]^-$	$C_{13}H_{10}N_3O_6S^-$	336.0	335.8
$[(M-Na)(M-2Na+H)]^{2-}$	$C_{13}H_9N_3NaO_6S^- + C_{13}H_{10}N_3O_6S^-$	347.0	346.3
$[M-Na]^-$	$C_{13}H_9N_3NaO_6S^-$	358.0	357.7

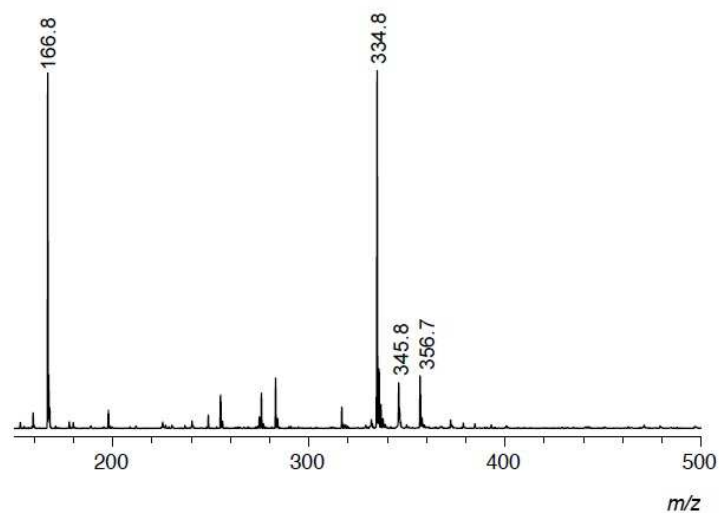
$^1\text{H NMR}$ : **3b** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).



$^{13}\text{C NMR}$ : **3b** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ , 9:1 (v/v)).

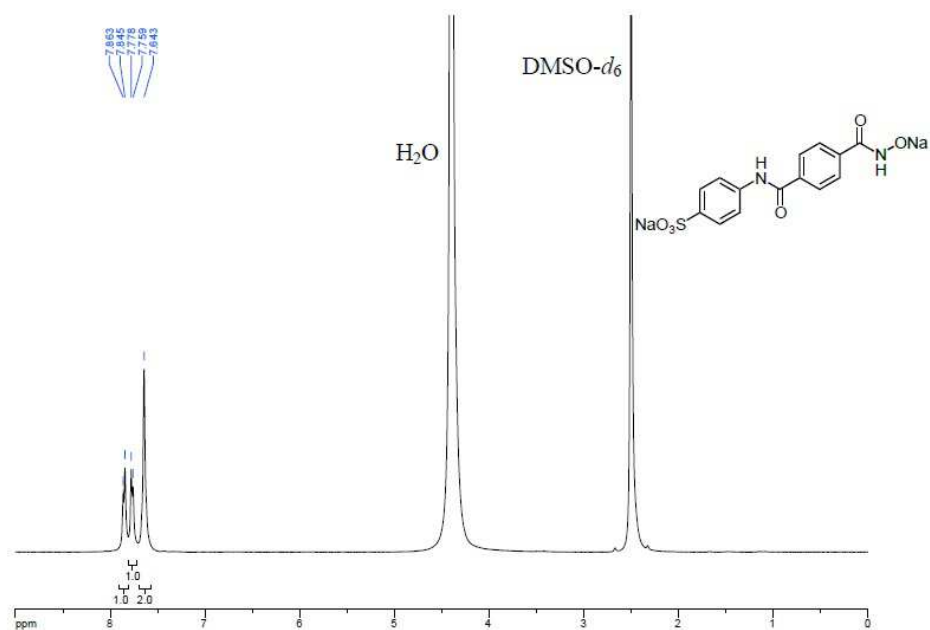




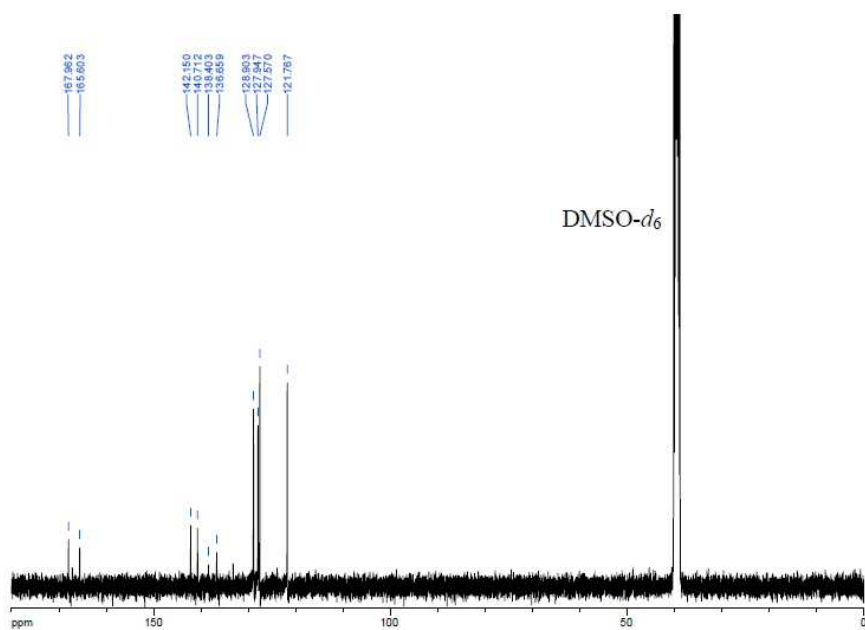
ESI/TOF MS: **3b** (negative mode).

		<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
$[M-2Na]^{2-}$	$C_{14}H_{10}N_2O_6S^{2-}$	167.0	166.8
$[M-2Na+H]^{-}$	$C_{14}H_{11}N_2O_6S^{-}$	335.0	334.8
$[(M-Na)(M-2Na+H)]^{2-}$	$C_{14}H_{10}N_2NaO_6S^{-} + C_{14}H_{11}N_2O_6S^{-}$	346.0	345.8
$[M-Na]^{-}$	$C_{14}H_{10}N_2NaO_6S^{-}$	357.0	356.7

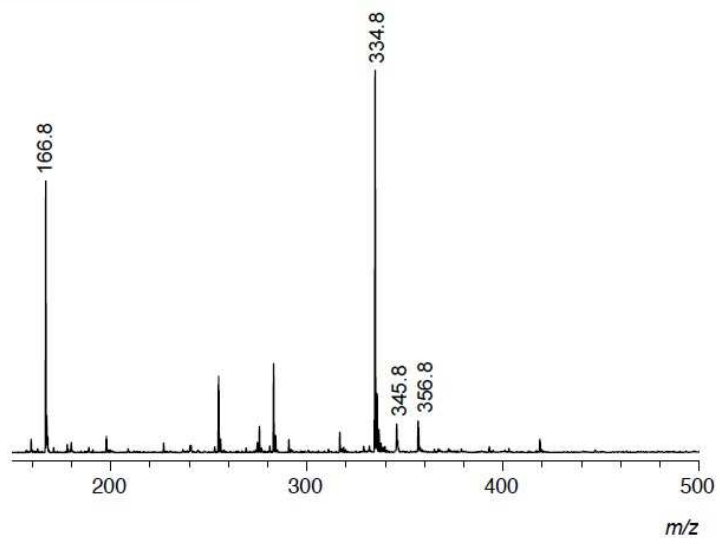
$^1\text{H NMR}$ : **3c** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO-}d_6$ , 9:1 (v/v)).



$^{13}\text{C NMR}$ : **3c** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO-}d_6$ , 9:1 (v/v)).



ESI/TOF MS: 3c (negative mode).



		$m/z$ calcd.	$m/z$ exp.
$[M-2Na]^{2-}$	$C_{14}H_{10}N_2O_6S^{2-}$	167.0	166.8
$[M-2Na+H]^-$	$C_{14}H_{11}N_2O_6S^-$	335.0	334.8
$[(M-Na)(M-2Na+H)]^{2-}$	$C_{14}H_{10}N_2NaO_6S^- + C_{14}H_{11}N_2O_6S^-$	346.0	345.8
$[M-Na]^-$	$C_{14}H_{10}N_2NaO_6S^-$	357.0	356.7

Kinetic Measurements**CAUTION**

Chemical warfare nerve agents are regulated by the chemical weapons convention and related national regulation. These compounds are highly toxic and have to be handled with extreme care and appropriate safety precautions. All experiments in this work were performed in approved fume hoods. Remaining nerve agents and contaminated material were decontaminated with 50% sodium hypochlorite prior to disposal.

**Materials.** Acetylthiocholine iodide (ATCh), 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) and tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS) were obtained from Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Germany). Disodium hydrogenphosphate dihydrate, potassium dihydrogenphosphate dihydrate, and hydrochloric acid were purchased from Roth (Karlsruhe, Germany). The organophosphates GD, VX, CVX, VR, VM, *n*-propyl-VX, VE, *i*-propyl-VE (purity > 90% by  $^1\text{H}$  NMR und  $^{31}\text{P}$  NMR) were made available by the German Ministry of Defence (Bonn, Germany). Stock solutions of the OPs (GD, VX, CVX, VR: 0.1% v/v and VM, *n*-propyl-VX, VE, *i*-propyl-VE: 1% v/v) were prepared in acetonitrile and stored at room temperature. They were diluted with phosphate or TRIS-HCl buffer (0.1 M, pH 7.4) and stored on ice just before use (for concentrations, see Table S1). Hemoglobin-free human erythrocyte ghosts served as AChE source and were prepared as described previously.<sup>4</sup>

Concentrations of the nerve agents were chosen such that the enzyme remains inhibited during the course of the kinetic measurements (60 min) to a substantial extent, allowing effects of scavengers on the detoxification of the nerve agent to be clearly detectable. At the same time, the nerve agent concentration should not be too high to ensure that scavenger-mediated detoxification reduces the active OP concentration to levels insufficient to cause complete inhibition of the amount of enzyme used in the assay. OP concentrations therefore vary for the different nerve agents and have to be carefully optimized in every case. Table S1 specifies the concentration of every nerve agent used in the measurements.

Table S1: Concentrations of the organophosphonate stock solutions, of the solutions after dilution with phosphate or TRIS-HCl buffer, and of the respective organophosphonate in the assay.

organophosphonate	concentration of the stock solution	concentration after after dilution	concentration in the assay
GD	5.49 mM	40 $\mu$ M	10 $\mu$ M
VX	3.74 mM	40 $\mu$ M	10 $\mu$ M
CVX	3.74 mM	40 $\mu$ M	10 $\mu$ M
VR	3.74 mM	40 $\mu$ M	10 $\mu$ M
VM	41.79 mM	60 $\mu$ M	15 $\mu$ M
<i>n</i> -propyl-VX	37.40 mM	120 $\mu$ M	30 $\mu$ M
VE	39.47 mM	120 $\mu$ M	30 $\mu$ M
<i>i</i> -propyl-VE	35.54 mM	80 $\mu$ M	20 $\mu$ M

Scavengers were used in excess to allow the time-dependent decrease of the AChE inhibition potency of the nerve agent to be mathematically described on the basis of pseudo-first order kinetics. The same scavenger concentration was used (500  $\mu$ M) as in our work on cyclodextrin-derived scavengers.<sup>[4]</sup>

**Kinetic Measurements.** A solution of the respective test compound (150  $\mu$ L, 1 mM) in phosphate or TRIS-HCl buffer (0.1 M, pH 7.40) was mixed with TRIS-HCl buffer (75  $\mu$ L, 0.1 M, pH 7.40), an OP stock solution (75  $\mu$ L), and incubated at 37  $^{\circ}$ C ( $t = 0$ ). For measurements involving equimolar amounts of **1** and **3a** or **2c** and **3a**, a solution of **3a** (75  $\mu$ L, 2 mM) in TRIS-HCl buffer (0.1 M, pH 7.40) was mixed with a solution of either **1** or **2c** (75  $\mu$ L, 2 mM) in the same solvent. TRIS-HCl buffer (75  $\mu$ L, 0.1 M, pH 7.40) and the VX stock solution (75  $\mu$ L, 3.74 mM) were added, and the mixture incubated at 37  $^{\circ}$ C ( $t = 0$ ).

Aliquots of the solution (25  $\mu$ l) were transferred in regular time intervals ( $t = 0$ -60 min) to 37  $^{\circ}$ C thermostated polystyrene cuvettes containing TRIS-HCl buffer (3.0 mL, 0.1 M, pH 7.40), AChE (10  $\mu$ L), and DTNB (100  $\mu$ L, 0.3 mM final concentration). After the addition of ATCh (50  $\mu$ L, 0.45 mM final concentration), the change of absorption at 436 nm was followed spectrophotometrically (UV-VIS spectrophotometer UV-2600, Shimadzu, Kyoto, Japan) for 5 min. The recorded curves were fitted to  $y = y_{\max}(1 - e^{-k_{\text{obs}}x})$  by non-linear regression analysis using Prism<sup>®</sup> 5.04 (GraphPad Software,



San Diego, CA, USA) to calculate the first-order inhibition rate constants  $k_{\text{obs}}$ . The obtained values of  $k_{\text{obs}}$  were plotted vs. the time of incubation to which they correspond. First-order detoxification constants  $k_{\text{detox}}$  were obtained by fitting the resulting decay curves to  $y = m \cdot e(-kx) + A$  and correcting  $k$  for the rate of spontaneous OP hydrolysis. The plateau value  $A$  was fitted for reactions with half-lives  $t_{1/2} < 10$  min, otherwise it was fixed at zero.

The rates of spontaneous hydrolysis  $k_{\text{hyd}}$  of the respective OP were determined by performing analogous experiments in the absence of a test compound. In the case of V-type nerve agents the reaction was followed for at least 4 d to allow reliable evaluation of the data. The rates of hydrolysis of VR and CVX were assumed to be the same as the one of VX. Finally, half-lives  $t_{1/2}$  were calculated according to  $t_{1/2} = \ln 2 / k_{\text{detox}}$ . All experiments were performed at least in triplicate.

Figure S1 shows the protocol of the kinetic measurements in a schematic fashion. Table S2 and Table S3 summarize the results of the measurements. Figure S2 shows the curves recorded in the Ellman assay for the detoxification of VE in the presence of **2a** as an example. The eight graphs in Figure S3 depict the time-dependent changes of  $k_{\text{obs}}$  observed when incubating the different nerve agents with **2a**. These curves were used for the determination of  $k$  and subsequently of  $k_{\text{detox}}$  and  $t_{1/2}$ .

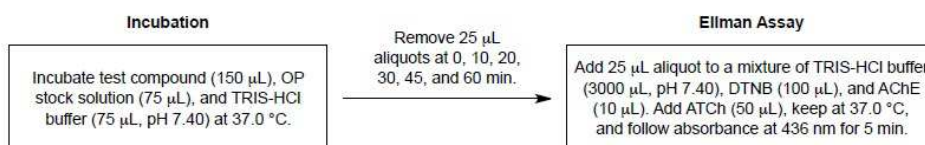


Figure S1: Schematic protocol of the kinetic measurements.

Table S2: Rate constants  $k_{\text{detox}}$ ,  $k_{\text{hyd}}$ , and half-lives  $t_{1/2}$  for the investigated combinations of test compounds and nerve agents in phosphate buffer (0.1 M, pH 7.40)

OP	test compound	$k \times 10^3$ / min <sup>-1</sup>	$k_{\text{hyd}} \times 10^3$ / min <sup>-1</sup>	$k_{\text{detox}} \times 10^3$ / min <sup>-1</sup>	$t_{1/2}$ / min
VX	<b>2a</b>	237.50 ± 8.33	1.24 ± 0.01	236.26 ± 8.34	2.9 ± 0.1
CVX	<b>2a</b>	309.48 ± 12.54	1.24 ± 0.01	308.24 ± 12.55	2.2 ± 0.1
VR	<b>2a</b>	304.00 ± 21.84	1.24 ± 0.01	302.76 ± 21.85	2.3 ± 0.2
GD	<b>2a</b>	156.15 ± 4.56	36.36 ± 0.55	119.79 ± 5.11	5.8 ± 0.2

Table S3: Rate constants  $k_{\text{detox}}$ ,  $k_{\text{hyd}}$ , and half-lives  $t_{1/2}$  for the investigated combinations of test compounds and nerve agents in TRIS-HCl buffer (0.1 M, pH 7.40)

OP	test compound	$k \times 10^3$ / min <sup>-1</sup>	$k_{\text{hyd}} \times 10^3$ / min <sup>-1</sup>	$k_{\text{detox}} \times 10^3$ / min <sup>-1</sup>	$t_{1/2}$ / min
VX	2a	185.63 ± 23.79	0.05 ± 0.01	185.57 ± 23.80	3.7 ± 0.4
	2b	92.90 ± 3.70		92.85 ± 3.71	7.5 ± 0.3
	2c	0.42 ± 0.32		0.37 ± 0.33	> 120
	2d	0.13 ± 0.26		0.08 ± 0.27	> 120
	2e	0.27 ± 0.35		0.22 ± 0.36	> 120
	3a	1.61 ± 0.49		1.56 ± 0.50	> 120
	3b	1.95 ± 0.28		1.90 ± 0.29	> 120
	3c	0.50 ± 0.26		0.45 ± 0.27	> 120
	2c + 3a	0.95 ± 0.38		0.90 ± 0.39	> 120
1 + 3a	1.17 ± 0.44	1.12 ± 0.45	> 120		
CVX	2a	250.65 ± 13.70	0.05 ± 0.01	250.60 ± 13.71	2.8 ± 0.1
	2b	27.78 ± 0.78		27.73 ± 0.79	25.0 ± 0.7
	3c	0.37 ± 0.33		0.32 ± 0.34	> 120
VR	2a	202.23 ± 42.76	0.05 ± 0.01	202.18 ± 42.77	3.4 ± 0.6
	2b	24.32 ± 0.34		24.27 ± 0.35	28.6 ± 0.4
	3c	0.45 ± 0.55		0.40 ± 0.56	> 120
VM	2a	238.50 ± 46.85	0.11 ± 0.01	238.39 ± 46.86	2.9 ± 0.5
	2b	34.20 ± 0.75		34.19 ± 0.76	20.3 ± 0.4
	3c	0.74 ± 0.64		0.63 ± 0.65	> 120
<i>n</i> -propyl-VX	2a	285.33 ± 19.22	0.15 ± 0.01	285.17 ± 19.23	2.4 ± 0.2
	2b	27.52 ± 0.92		27.37 ± 0.93	25.3 ± 0.8
	3c	0.87 ± 0.58		0.72 ± 0.59	> 120
VE	2a	45.82 ± 1.34	0.03 ± 0.02	45.79 ± 1.36	15.1 ± 0.4
	2b	6.63 ± 0.29		6.60 ± 0.31	105.2 ± 4.7
	3c	0.34 ± 0.39		0.31 ± 0.41	> 120
<i>i</i> -propyl-VE	2a	40.91 ± 1.44	0.04 ± 0.01	40.87 ± 1.45	17.0 ± 0.6
	2b	17.17 ± 0.59		17.13 ± 0.60	40.5 ± 1.4
	3c	0.33 ± 0.36		0.29 ± 0.37	> 120
GD	2a	45.40 ± 1.86	6.31 ± 0.24	39.09 ± 2.14	17.7 ± 0.9
	2b	20.30 ± 0.78		13.99 ± 1.02	49.5 ± 3.4
	2c	7.23 ± 0.56		0.92 ± 0.80	> 120
	2d	6.76 ± 0.38		0.45 ± 0.62	> 120
	2e	13.91 ± 0.37		7.60 ± 0.61	91.2 ± 6.8
	3a	31.78 ± 2.26		25.47 ± 2.50	27.2 ± 2.4
	3b	21.18 ± 0.72		14.87 ± 0.96	46.6 ± 2.8
	3c	24.74 ± 2.04		18.43 ± 2.28	37.6 ± 4.1

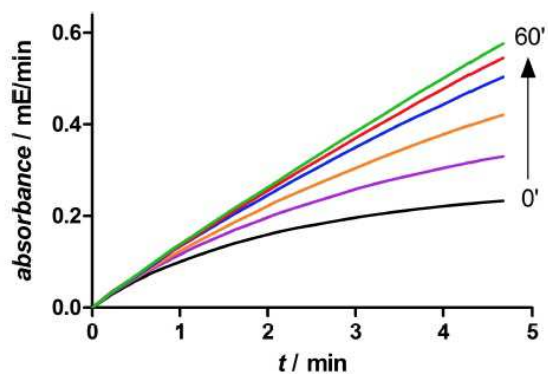
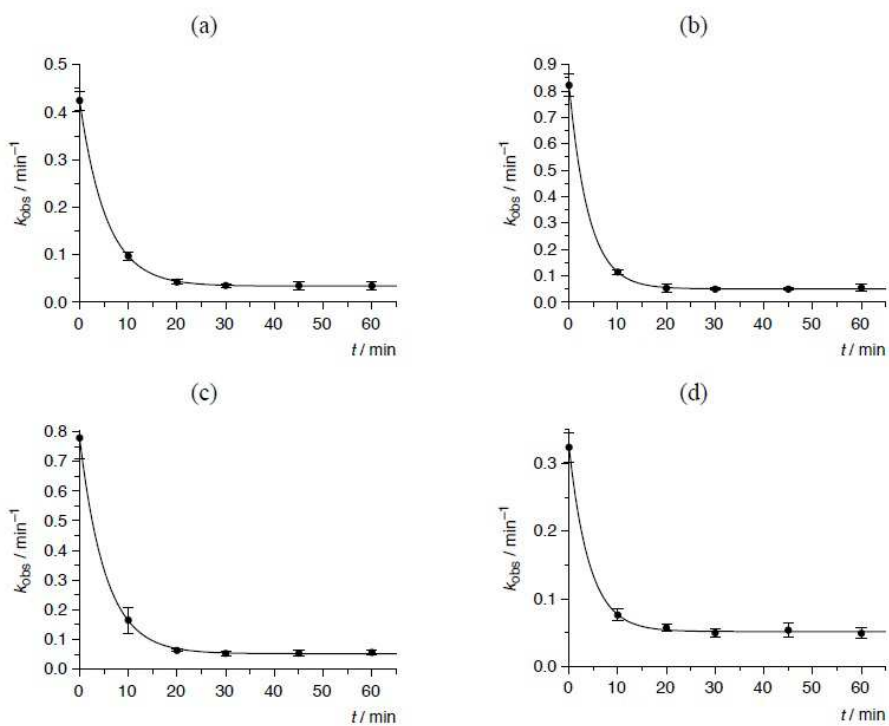


Figure S2: Curves recorded in the Ellman assay for the detoxification of VE in the presence of **2a**. These curves were used to determine  $k_{\text{obs}}$  at the respective time the sample were taken from the incubation solution.





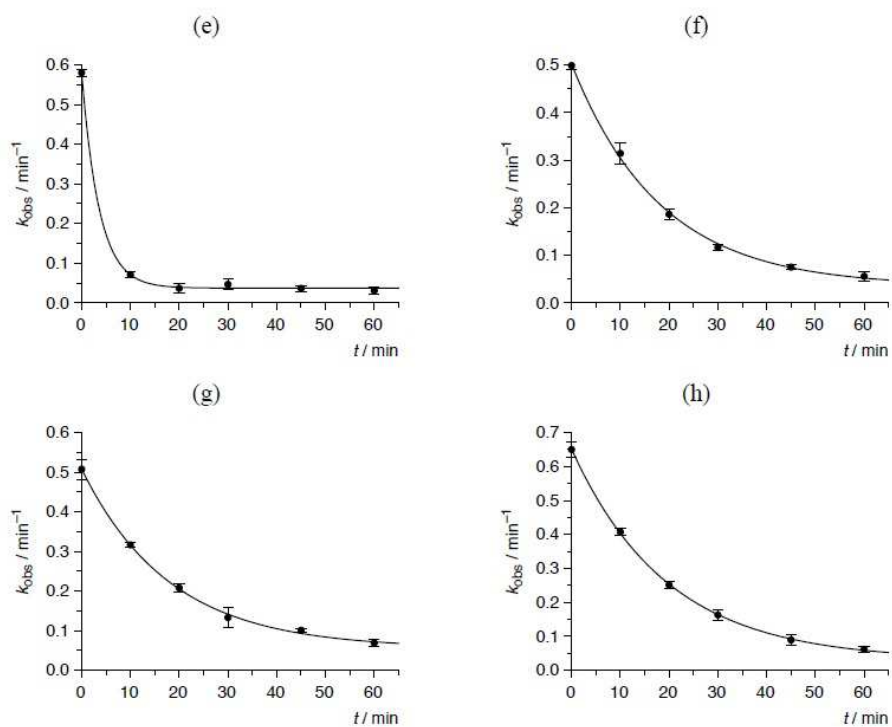


Figure S3: Decay curves of the first-order inhibition rate constants  $k_{\text{obs}}$  observed when incubating VX (a) CVX (b), VR (c), VM (d), *n*-propyl-VX (e), VE (f), *i*-propyl-VE (g), and GD (h) with **2a** under the conditions specified in the procedure of the kinetic measurements.

### Qualitative Binding Study

The spectra of the qualitative binding study were recorded under the same conditions as those of the NMR titration (see next section).

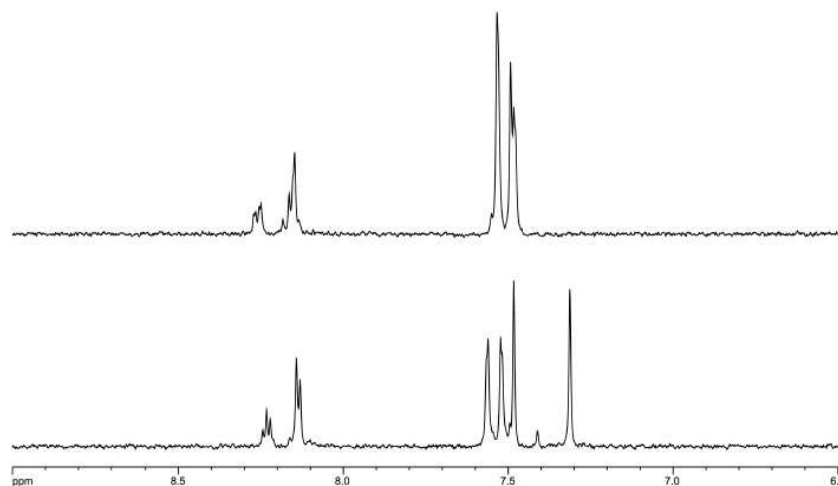


Figure S4: Aromatic region of the  $^1\text{H}$  NMR spectra of **2c** (0.58 mM) in the absence (bottom) and the presence (top) of 5 equiv of VX in phosphate buffer (0.1 M in  $\text{D}_2\text{O}$ , pD 7.81).

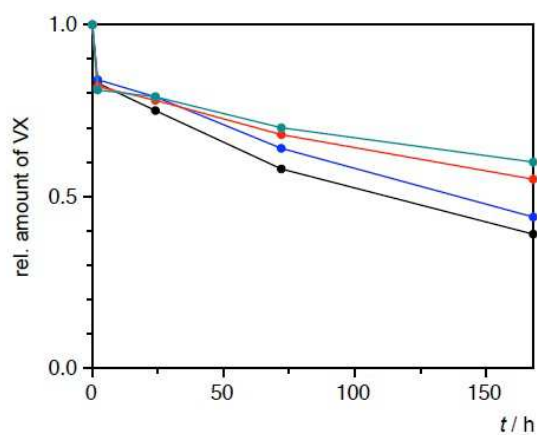


Figure S5: Time-dependent decrease of the VX concentration relative to the appearance of all degradation product in the absence (black) and in the presence of 0.5 equiv (blue), 1 equiv (red), and 2 equiv (green) of **2c** calculated from the integrals of the respective peaks in the  $^{31}\text{P}$  NMR spectra.

NMR Titration

Stock solutions of **2c** ( $C_{36}H_{28}N_3Na_3O_{16}S_3 \cdot CF_3CO_2Na \cdot 5H_2O$ , M.W. 1149.87, 6.5 mM) in phosphate buffer (0.1 M in  $D_2O$ , pD 7.81) and of VX (>95% by  $^1H$  NMR and  $^{31}P$  NMR, M.W. 267.37 g/mol, 30 mM) in 0.001 vol% MeOH/ $D_2O$  (v/v) were prepared. Eleven NMR tubes were prepared containing 65  $\mu L$  of the VX solution and increasing amounts of the host solution (0-600  $\mu L$ ). All samples were made up to 665  $\mu L$  with phosphate buffer (0.1 M in  $D_2O$ , pD 7.81) and well shaken. Afterward,  $^1H$  NMR spectra were recorded at 310 K by using a Bruker Avance III NMR spectrometer equipped with a 5 mm inverse Z-gradient broad-band probe head (Rheinstetten, Germany) operating at 400 MHz. For each spectrum 32 scans were used. iNMR (version 5.4.9; Mestrelab Research) was used for data processing and analysis.

Table S4: Amounts and concentrations of the binding partners in the individual samples.

$n(VX)$ / $\mu mol$	$n(2c)$ / $\mu mol$	vol / $\mu L$	$c(VX)$ / mM	$c(2c)$ / mM	$c(2c) / c(VX)$
1.95	0.00	665	2.93	0.00	0.0
1.95	0.39	665	2.93	0.58	0.2
1.95	0.78	665	2.93	1.17	0.4
1.95	1.17	665	2.93	1.76	0.6
1.95	1.56	665	2.93	2.35	0.8
1.95	1.95	665	2.93	2.93	1.0
1.95	2.34	665	2.93	3.52	1.2
1.95	2.73	665	2.93	4.11	1.4
1.95	3.12	665	2.93	4.70	1.6
1.95	3.51	665	2.93	5.28	1.8
1.95	3.90	665	2.93	5.86	2.0

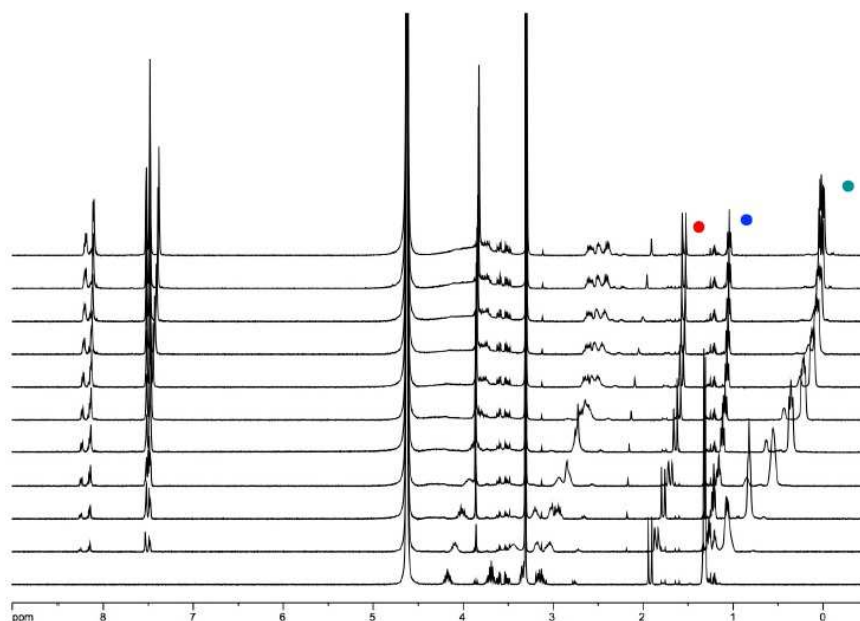


Figure S6:  $^1\text{H}$  NMR spectra of the NMR titration. The bottom spectrum is the one of free VX (2.93 mM). The other spectra from bottom to top contain increasing amounts of **2c**. The dots mark the signals of the P-CH<sub>3</sub> (red), ethyl CH<sub>3</sub> (blue), and isopropyl CH<sub>3</sub> (green) protons used for calculating the stability constant of the complex.

Table S5: Resonances of the P-CH<sub>3</sub>, ethyl CH<sub>3</sub>, and isopropyl CH<sub>3</sub> signals in the individual  $^1\text{H}$  NMR spectra in ppm.

$c(\mathbf{3c}) / c(\text{VX})$	$\delta$ (iPrCH <sub>3</sub> )	$\Delta\delta$ (iPrCH <sub>3</sub> )	$\delta$ (EtCH <sub>3</sub> )	$\Delta\delta$ (EtCH <sub>3</sub> )	$\delta$ (PCH <sub>3</sub> )	$\Delta\delta$ (PCH <sub>3</sub> )
0.0	1.3171	0.0000	1.3196	0.0000	1.9230	0.0000
0.2	1.0733	0.2438	1.2698	0.0498	1.8515	0.0715
0.4	0.8224	0.4947	1.2164	0.1032	1.7768	0.1462
0.6	0.5576	0.7595	1.1599	0.1597	1.6978	0.2252
0.8	0.3589	0.9582	1.1200	0.1996	1.6418	0.2812
1.0	0.2213	1.0958	1.0919	0.2277	1.6031	0.3199
1.2	0.1220	1.1951	1.0726	0.2470	1.5767	0.3463
1.4	0.0775	1.2396	1.0643	0.2553	1.5656	0.3574
1.6	0.0507	1.2664	1.0601	0.2595	1.5602	0.3628
1.8	0.0345	1.2826	1.0582	0.2614	1.5581	0.3649
2.0	0.0249	1.2922	1.0576	0.2620	1.5575	0.3655

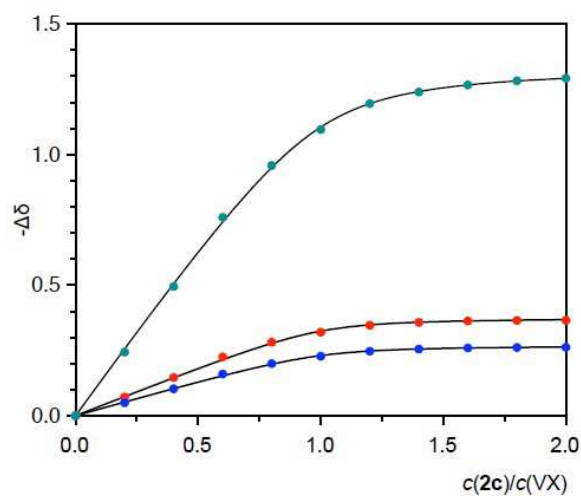


Figure S7: Binding isotherms of the NMR titration. The dots denote the experimental signal shifts of the P-CH<sub>3</sub> (red), ethyl CH<sub>3</sub> (blue), and isopropyl CH<sub>3</sub> (green) protons and the lines the isotherms calculated on the basis of a 1:1 complex stoichiometry.

Table S6: Summary of the results of the NMR titrations.

Signal	$\log K_a$	$\Delta\delta_{\max} / \text{ppm}$
<i>i</i> -PrCH <sub>3</sub>	$3.97 \pm 0.06$	$1.337 \pm 0.011$
EtCH <sub>3</sub>	$4.15 \pm 0.11$	$0.269 \pm 0.003$
PCH <sub>3</sub>	$4.20 \pm 0.12$	$0.375 \pm 0.004$

### Mechanistic Study

Stock solutions of scavenger (6.3 mM) in TRIS/HCl buffer (0.1 M, pH 7.4) and of VX (>95% by  $^1\text{H}$  NMR and  $^{31}\text{P}$  NMR, M.W. 267.37 g/mol, 30 mM) in  $\text{D}_2\text{O}$  were prepared. NMR samples were prepared by adding the VX solution (65  $\mu\text{L}$ ) to the scavenger solution (300  $\mu\text{L}$  for 1 equiv, 600  $\mu\text{L}$  for 2 equiv) in an NMR tube and making up the mixture 665  $\mu\text{L}$  with TRIS/HCl buffer (0.1 M, pH 7.4) if necessary. For the measurements without scavenger the VX solution (65  $\mu\text{L}$ ) was diluted with 600  $\mu\text{L}$  of TRIS/HCl buffer (0.1 M, pH 7.4). The samples were well shaken and stored in a water bath at 37  $^\circ\text{C}$ .  $^{31}\text{P}$  NMR spectra were recorded at 310 K at specific times (0, 1 d, 3 d, 7d) by using a Bruker Avance III NMR spectrometer equipped with a 5 mm inverse Z-gradient broad-band probe head (Rheinstetten, Germany) operating at 162 MHz. For each spectrum 512 scans were used. TopSpin (version 3.0; Bruker, Rheinstetten, Germany) was used for data processing and analysis.

Mass scans of the solutions were recorded with an Agilent 6420 Triple Quadrupole mass spectrometer with dynamic multiple reaction monitoring (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Aliquots (5  $\mu\text{L}$  for measurement of spontaneous VX hydrolysis and 7.4  $\mu\text{L}$  for all other measurements) were removed from the NMR tube and diluted with distilled water in a ratio of 1:135 for the measurements with the scavenger and to 1:1000 for the measurements with just VX. The resulting solutions were injected by using a Harvard Apparatus model 11 Plus syringe (diameter: 4.61 mm) pump (Harvard Bioscience Inc., Holliston, MA, USA) at a flow rate of 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Full scan spectra ( $m/z$  50-1700) were acquired in +ESI and -ESI mode in separate runs. The following parameters were used: positive ion mode, ion source temperature 250  $^\circ\text{C}$ , nitrogen drying gas flow, 7.0 L/min, nitrogen drying gas pressure, 30 psi, capillary voltage, 5500 V; negative ion mode: ion source temperature 300  $^\circ\text{C}$ , nitrogen drying gas flow, 3.0 L/min, nitrogen drying gas pressure, 15 psi, capillary voltage, -4000 V. Acquisition and analysis of mass scans was performed by using the Agilent MassHunter Workstation Software.



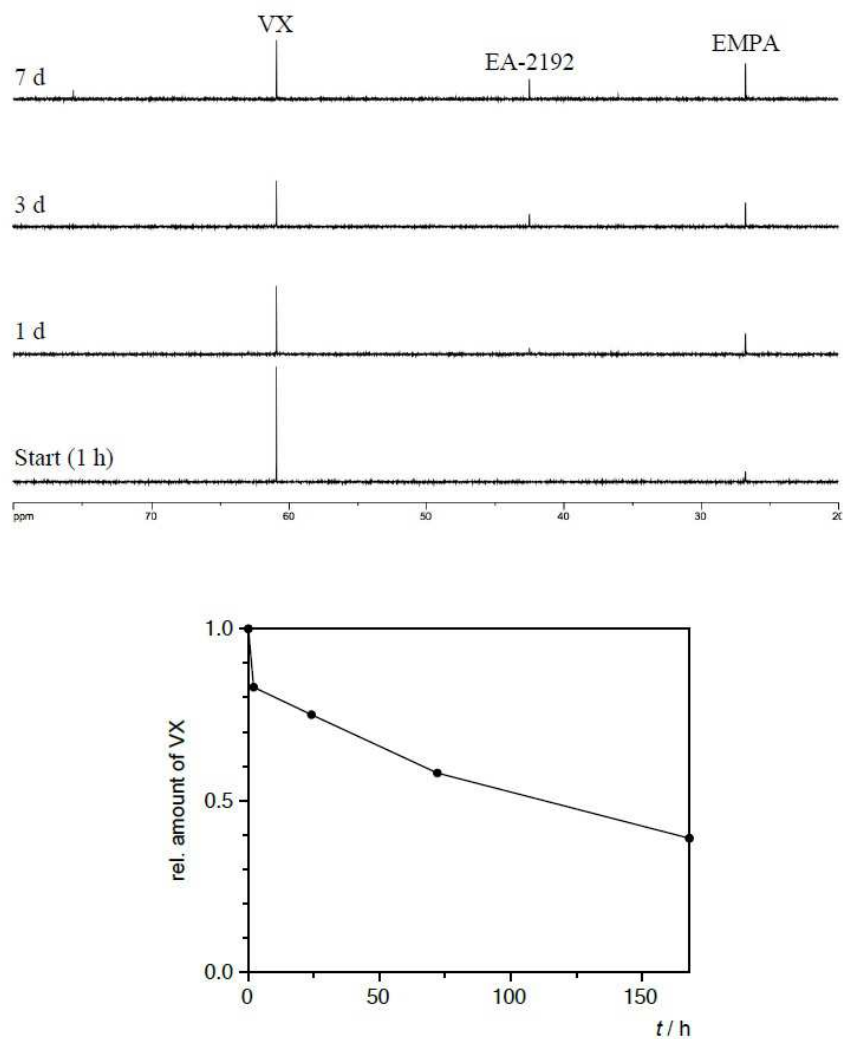
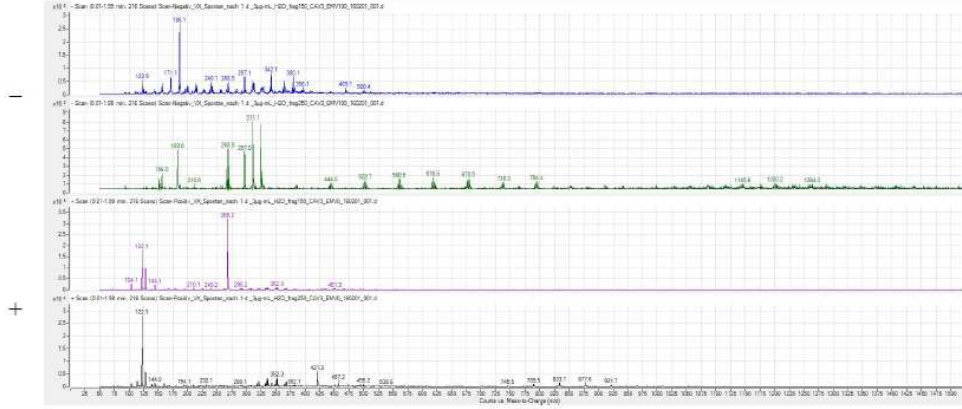
VX degradation (spontaneous hydrolysis)<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) in TRIS-HCl buffer

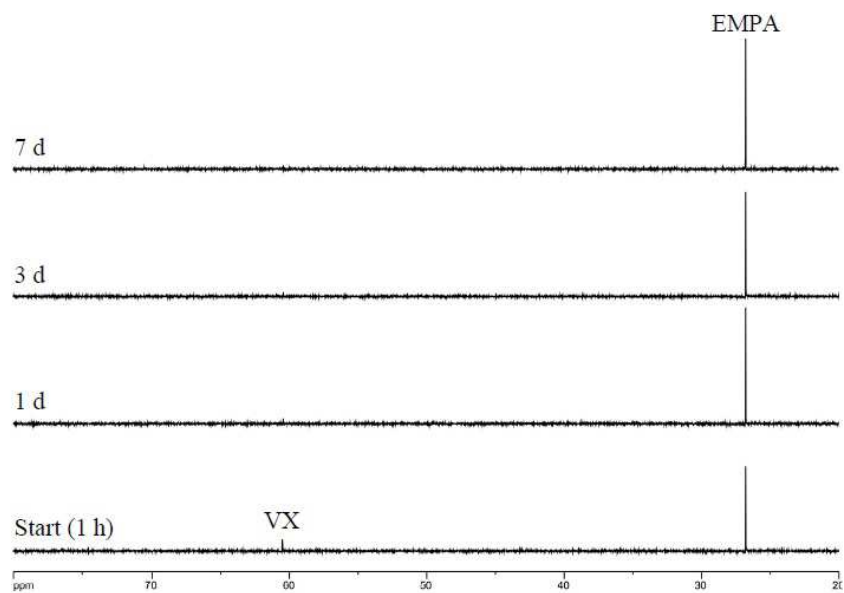
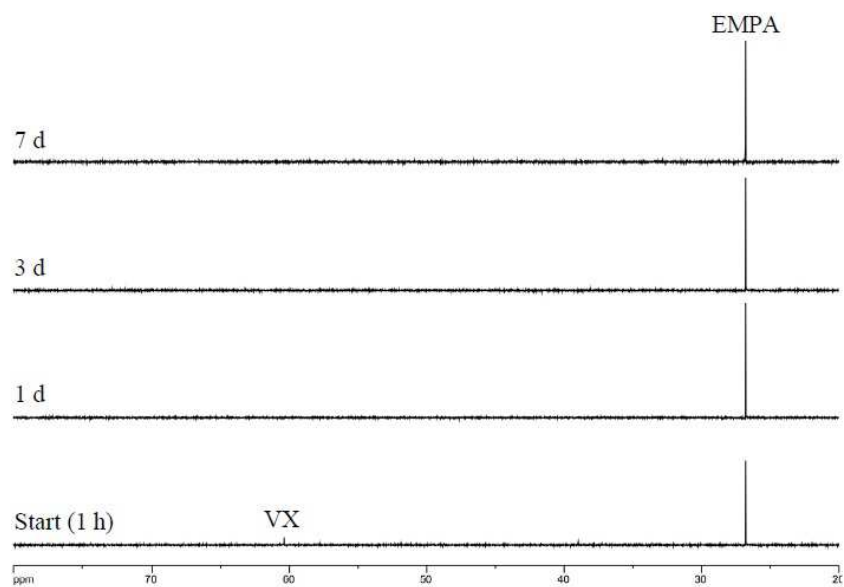
Figure S8: Time-dependent decrease of the VX concentration relative to the appearance of all degradation product calculated from the integrals of the respective peaks in the <sup>31</sup>P NMR spectra. The second data point refers to the time the first spectrum was recorded.

ESI-MS: VX in TRIS-HCl buffer



			<i>m/z calcd.</i>	<i>m/z exp.</i>
				186.1
				268.8
-	peaks could not be assigned			297.0
				311.1
				325.1
+	[TRIS+H] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N + H <sup>+</sup>	122.1	122.1
	[VX+H] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>2</sub> PS + H <sup>+</sup>	268.2	268.2



VX degradation by 2a<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) + 1 equiv 2a in TRIS-HCl buffer<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) + 2 equiv 2a in TRIS-HCl buffer

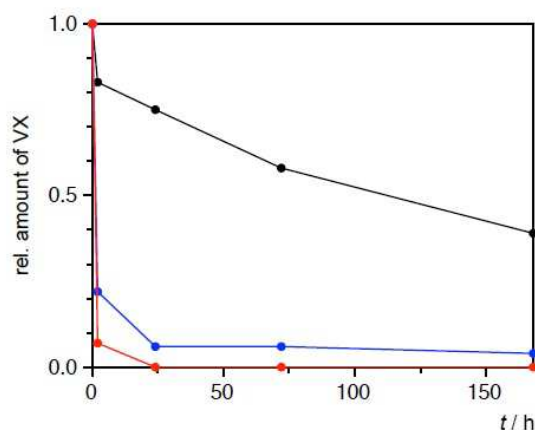
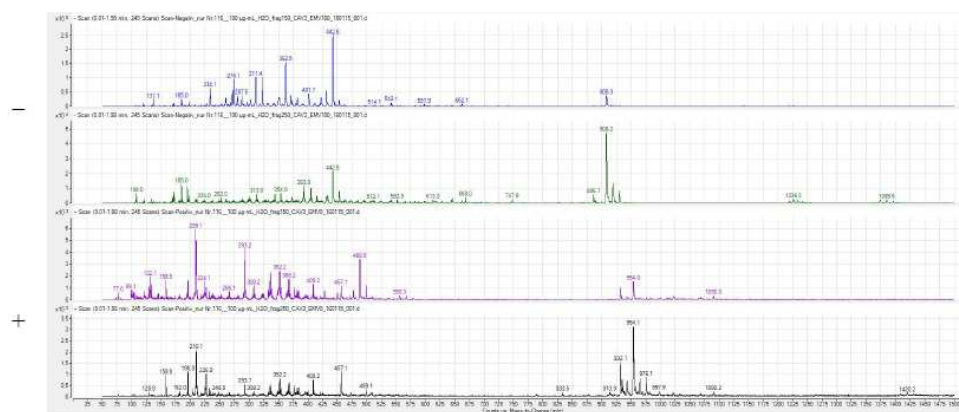
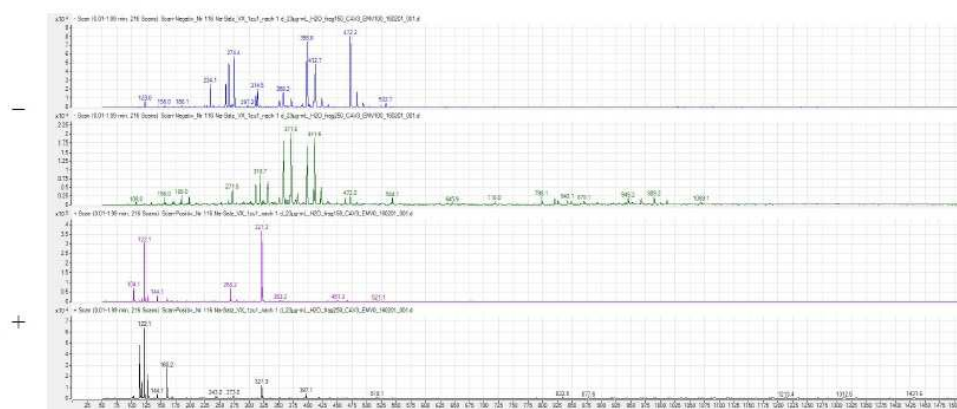


Figure S9: Time-dependent decrease of the VX concentration relative to the appearance of all degradation product in the absence (black) and in the presence of 1 equiv (blue) and 2 equiv (red) of **2a** calculated from the integrals of the respective peaks in the  $^{31}\text{P}$  NMR spectra. The second data points refer to the time the first spectra were recorded.

#### ESI-MS: **2a** in TRIS-HCl buffer

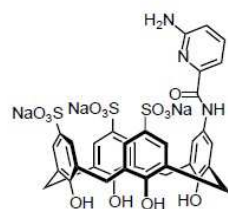


		$m/z$ calcd.	$m/z$ exp.	
-	$[\mathbf{2a-Na-H}]^{2-}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{S}_3^{2-}$	442.5	442.6
	$[\mathbf{2a-Na}]^{-}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{S}_3^{-}$	886.0	886.0
	$[\mathbf{2a-H}]^{-}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{Na}_3\text{O}_{16}\text{S}_3^{-}$	908.0	908.1
	$[\mathbf{2a-H+3Na}]^{2+}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{Na}_6\text{O}_{16}\text{S}_3^{2+}$	488.5	488.5
+	$[\mathbf{2a+Na}]^{+}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{Na}_4\text{O}_{16}\text{S}_3^{+}$	932.0	932.0
	$[\mathbf{2a-H+2Na}]^{+}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{Na}_5\text{O}_{16}\text{S}_3^{+}$	954.0	954.0

ESI-MS: VX + 1 equiv **2a** in TRIS-HCl buffer after 24 h

		<i>m/z</i> calcd.	<i>m/z</i> exp.
-	[Isocyanate-3Na] <sup>3-</sup>	C <sub>35</sub> H <sub>24</sub> N <sub>3</sub> O <sub>15</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	274.0 274.4
-	[Isocyanate-3Na+H-SO <sub>3</sub> ] <sup>2-</sup>	C <sub>35</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>12</sub> S <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	371.5 371.7
-	[Amine-3Na+H] <sup>2-</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>14</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	398.5 398.6
-	[Isocyanate-3Na+H] <sup>2-</sup>	C <sub>35</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>15</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	411.5 411.6
-	[TRIS-Adduct-3Na+H] <sup>2-</sup>	C <sub>39</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>18</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	472.1 472.2
-	[Amine-3Na+2H] <sup>-</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>28</sub> N <sub>3</sub> O <sub>14</sub> S <sub>3</sub> <sup>-</sup>	798.1 798.1
-	[Amine-Na] <sup>-</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>26</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>14</sub> S <sub>3</sub> <sup>-</sup>	842.0 842.1
-	[TRIS-Adduct-Na] <sup>-</sup>	C <sub>39</sub> H <sub>35</sub> N <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>18</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	989.1 989.2
+	[TRIS+H] <sup>+</sup>		122.0
+	[(iPr <sub>2</sub> NC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> S) <sub>2</sub> +H] <sup>+</sup>		321.0

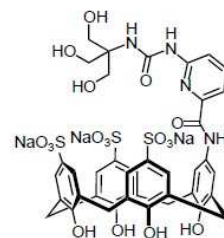
The shaded entries denote peaks already present in the spectra of the individual compounds.



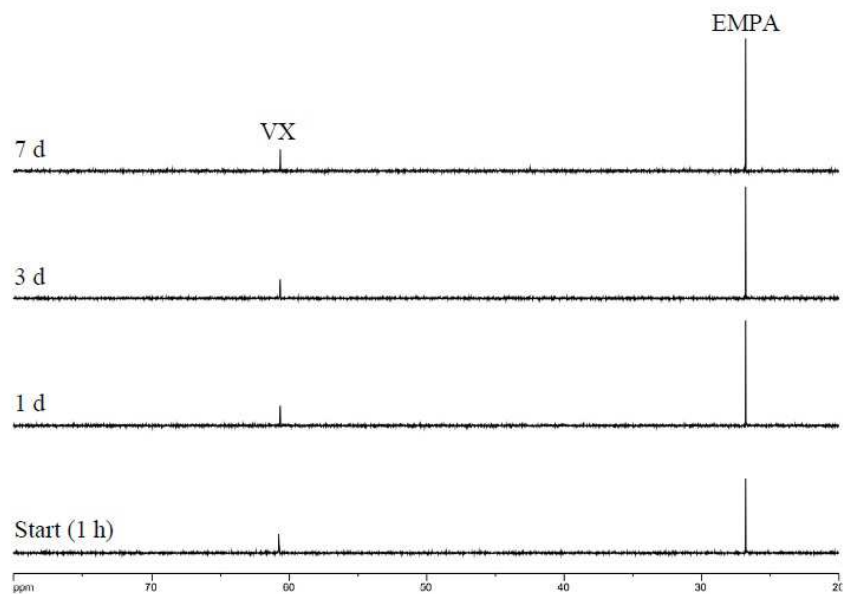
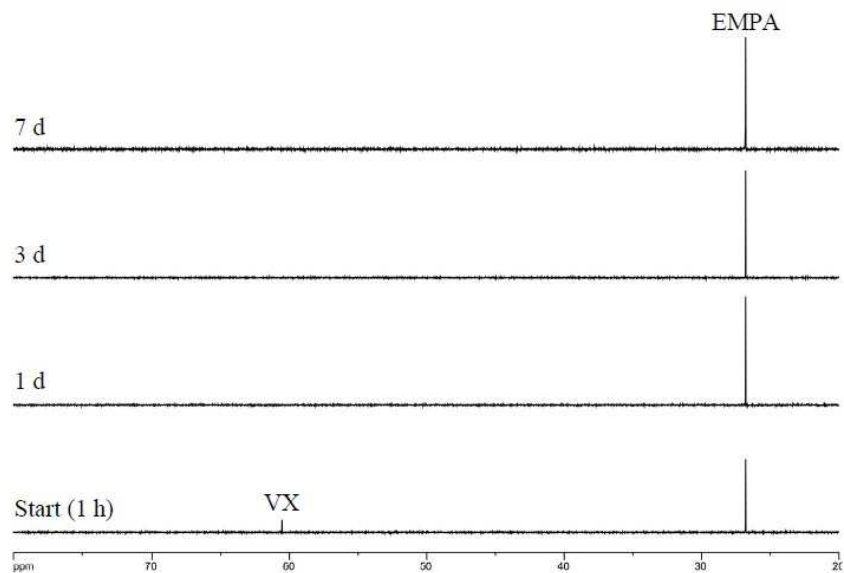
amine



isocyanate



TRIS-adduct

VX degradation by 2b<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) + 1 equiv **2b** in TRIS-HCl buffer<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) + 2 equiv **2b** in TRIS-HCl buffer

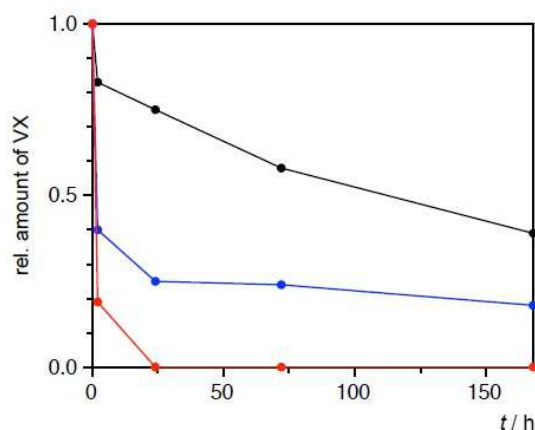
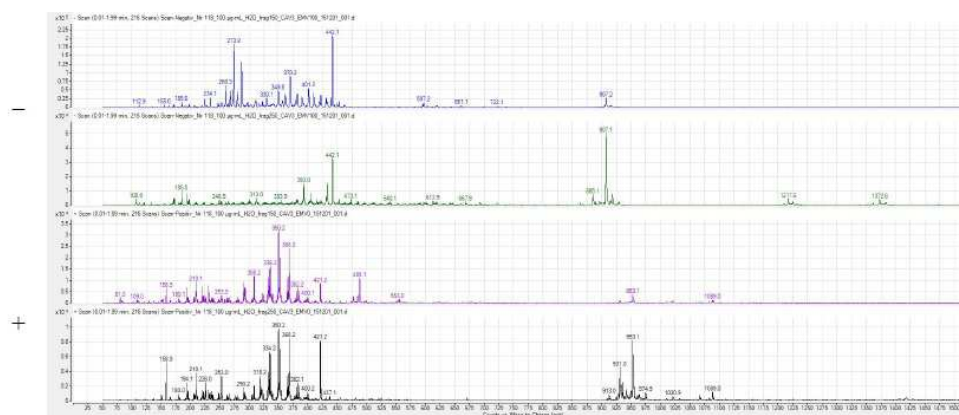


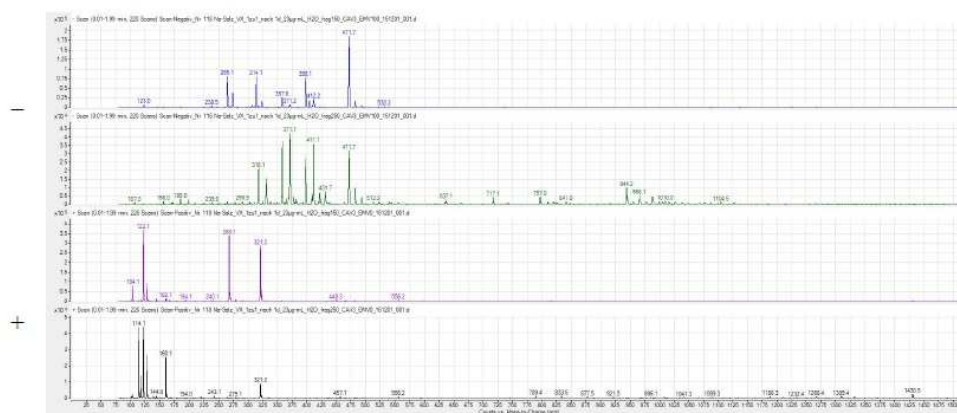
Figure S10: Time-dependent decrease of the VX concentration relative to the appearance of all degradation product in the absence (black) and in the presence of 1 equiv (blue) and 2 equiv (red) of **2b** calculated from the integrals of the respective peaks in the  $^{31}\text{P}$  NMR spectra. The second data points refer to the time the first spectra were recorded.

#### ESI-MS: **2b** in TRIS-HCl buffer



			<i>m/z</i> calcd.	<i>m/z</i> exp.
-	$[\mathbf{2b-Na-H}]^{2-}$	$\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{S}_3^{2-}$	442.0	442.1
	$[\mathbf{2b-H}]^{-}$	$\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{16}\text{S}_3^{-}$	907.0	907.2
+	$[\mathbf{2b+Na}]^{+}$	$\text{C}_{36}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{Na}_4\text{O}_{16}\text{S}_3^{+}$	931.0	931.1
	$[\mathbf{2b-H+2Na}]^{+}$	$\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{Na}_5\text{O}_{16}\text{S}_3^{+}$	953.0	953.1

ESI-MS: VX + 1 equiv **2b** in TRIS-HCl buffer after 24 h

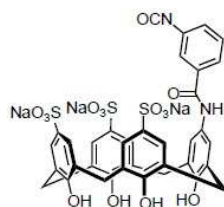


		<i>m/z</i> calcd.	<i>m/z</i> exp.	
-	[Isocyanate-3Na+H-SO <sub>3</sub> ] <sup>2-</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>12</sub> S <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	371.0	371.1
-	[Amine-3Na+H] <sup>2-</sup>	C <sub>35</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>14</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	398.0	398.1
-	[Isocyanate-3Na+H] <sup>2-</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>15</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	411.0	411.1
-	[TRIS-Adduct-3Na+H] <sup>2-</sup>	C <sub>40</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O <sub>18</sub> S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	471.6	471.7
-	[TRIS-Adduct-3Na+2H] <sup>-</sup>	C <sub>40</sub> H <sub>38</sub> N <sub>3</sub> O <sub>18</sub> S <sub>3</sub> <sup>-</sup>	944.1	944.1
+	[TRIS+H] <sup>+</sup>			122.0
+	[VX+H] <sup>+</sup>			268.0
+	[(iPr <sub>2</sub> NC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> S) <sub>2</sub> +H] <sup>+</sup>			321.0

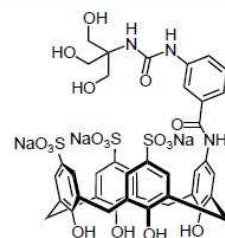
The shaded entries denote peaks already present in the spectra of the individual compounds.



amine



isocyanate



TRIS-adduct



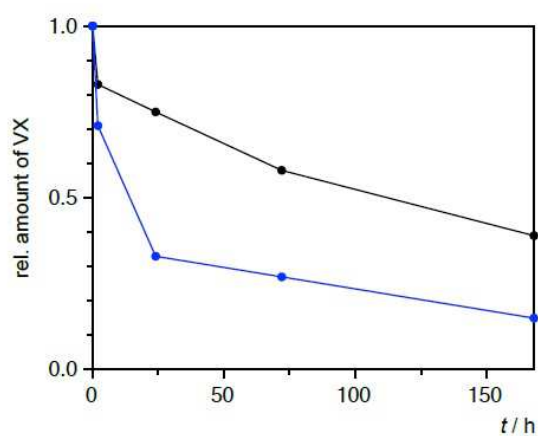
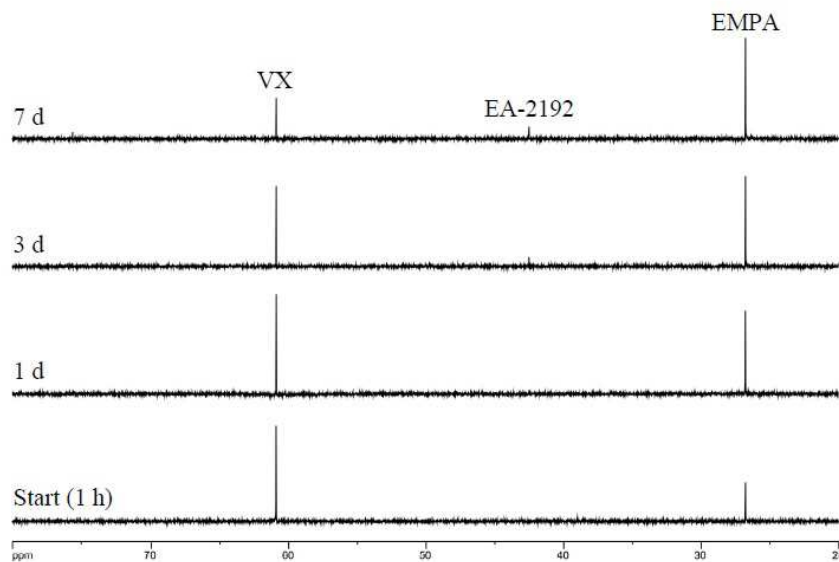
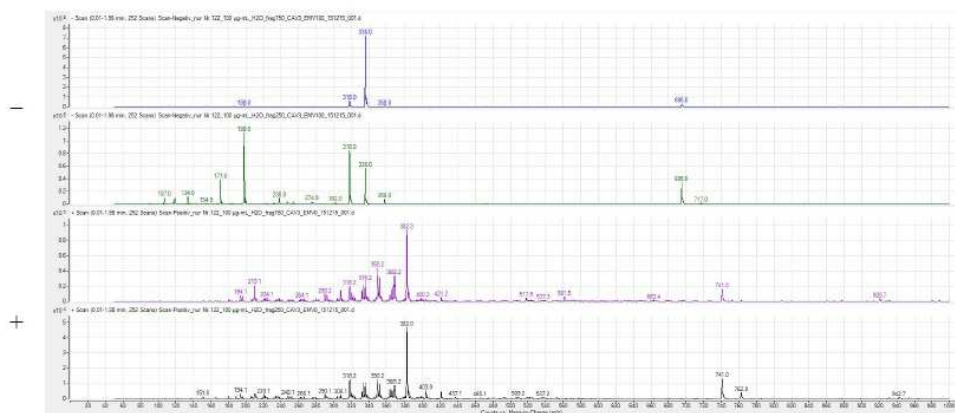
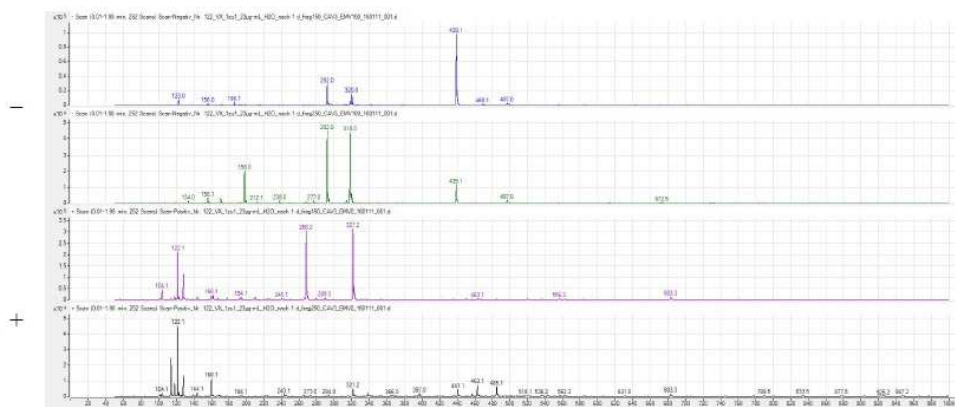
VX degradation by 3a<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) + 1 equiv **3a** in TRIS-HCl buffer

Figure S11: Time-dependent decrease of the VX concentration relative to the appearance of all degradation product in the absence (black) and in the presence of 1 equiv (blue) of **3a** calculated from the integrals of the respective peaks in the <sup>31</sup>P NMR spectra. The second data points refer to the time the first spectra were recorded.

ESI-MS: **3a** in TRIS-HCl buffer

		<i>m/z</i> calcd.	<i>m/z</i> exp.
-	<b>[3a-Na-(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na)]<sup>-</sup></b>	C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>4</sub> S <sup>-</sup>	198.0
-	<b>[3a-2Na+H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup></b>	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S <sup>-</sup>	318.0
-	<b>[3a-2Na+H]<sup>-</sup></b>	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S <sup>-</sup>	336.0
-	<b>[(3a)<sub>2</sub>-3Na+2H]<sup>-</sup></b>	(C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S) <sub>2</sub> <sup>2-</sup> + Na <sup>+</sup>	695.0
+	<b>[3a + H]<sup>+</sup></b>	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sup>+</sup>	382.0
+	<b>[(3a)<sub>2</sub>-Na+2H]<sup>+</sup></b>	(C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sup>+</sup> ) <sub>2</sub> - Na <sup>+</sup>	741.0



ESI-MS: VX + 1 equiv **3a** in TRIS-HCl buffer after 24 h

		<i>m/z</i> <i>calcd.</i>	<i>m/z</i> <i>exp.</i>
	<b>[3a-Na-(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na)]</b>		198.0
-	[Amine-Na] <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sup>-</sup>	292.0
	[Isocyanate-Na] <sup>-</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S <sup>-</sup>	318.0
	[TRIS-Adduct-Na] <sup>-</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> S <sup>-</sup>	439.1
	[TRIS+H] <sup>+</sup>		122.0
+	[VX+H] <sup>+</sup>		268.0
	[(iPr <sub>2</sub> NC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> S) <sub>2</sub> +H] <sup>+</sup>		321.0

The shaded entries denote peaks already present in the spectra of the individual compounds.



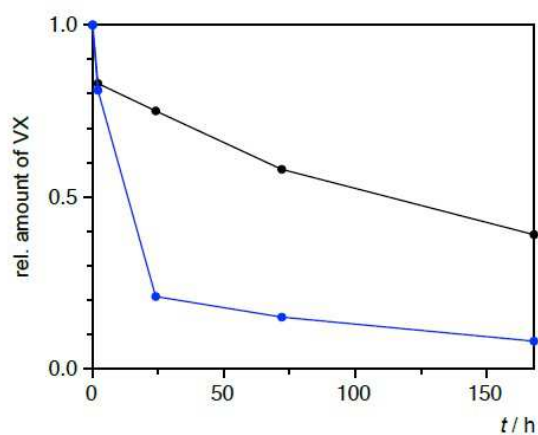
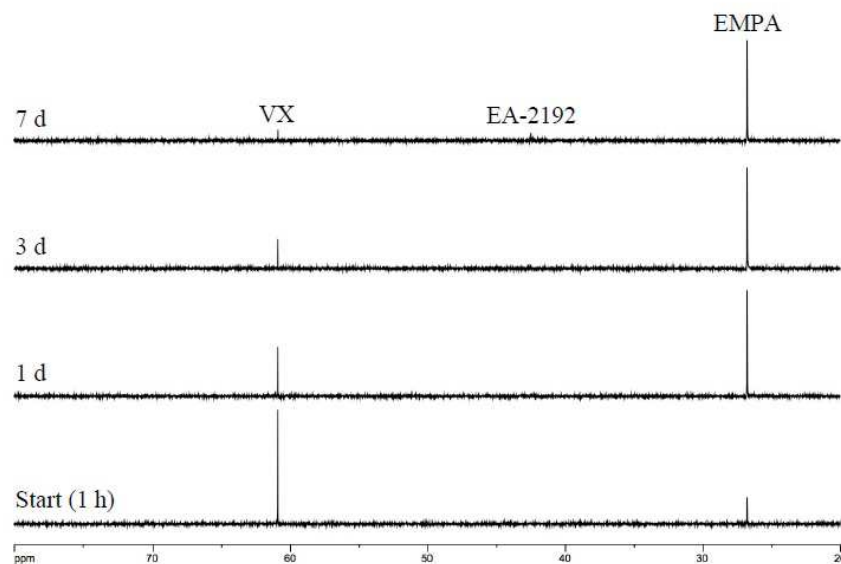
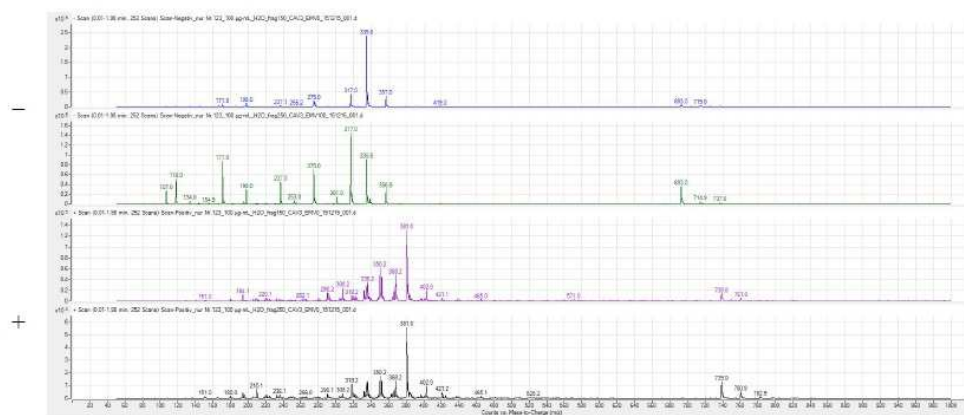
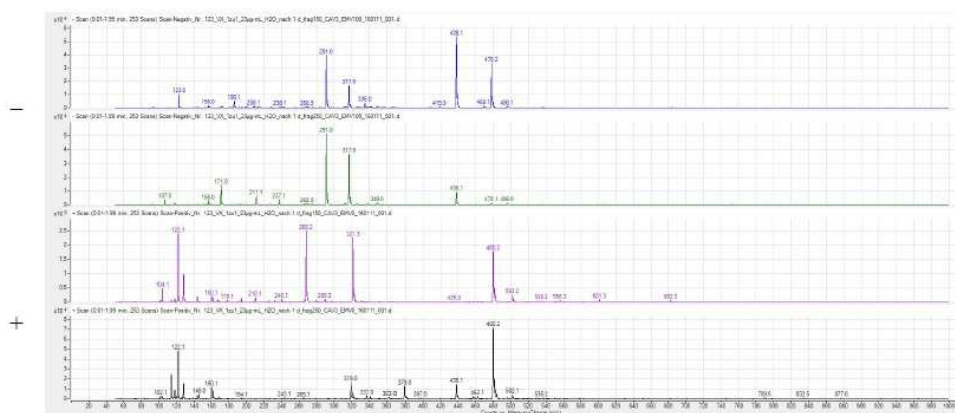
VX degradation by 3c<sup>31</sup>P NMR: Time-dependent spectra of VX (2.93 mM) + 1 equiv 3c in TRIS-HCl buffer

Figure S12: Time-dependent decrease of the VX concentration relative to the appearance of all degradation product in the absence (black) and in the presence of 1 equiv (blue) of 3c calculated from the integrals of the respective peaks in the <sup>31</sup>P NMR spectra. The second data points refer to the time the first spectra were recorded.

## ESI-MS: 3c in TRIS-HCl buffer



		<i>m/z</i> calcd.	<i>m/z</i> exp.	
-	$[\mathbf{3c}\text{-Na}-(\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2\text{Na})]^-$	$\text{C}_7\text{H}_4\text{NO}_4\text{S}^-$	198.0	198.0
	$[\mathbf{3c}\text{-Na-CONHONa}]^-$	$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_4\text{S}^-$	275.0	275.0
	$[\mathbf{3c}\text{-2Na+H-H}_2\text{O}]^-$	$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_5\text{S}^-$	317.0	317.0
	$[\mathbf{3c}\text{-2Na+H}]^-$	$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}^-$	335.0	335.0
	$[\mathbf{3c}\text{-Na}]^-$	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{NaO}_6\text{S}^-$	357.0	356.9
	$[(\mathbf{3c})_2\text{-3Na+2H}]^-$	$(\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_6\text{S})_2 + \text{Na}^+$	693.1	693.0
+	$[\mathbf{3c} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}^+$	381.0	381.0
	$[(\mathbf{3c})_2\text{-Na+2H}]^+$	$(\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}^+)_2 - \text{Na}^+$	739.0	739.0

ESI-MS: VX + 1 equiv **3c** in TRIS-HCl buffer after 24 h

			<i>m/z</i> calcd.	<i>m/z</i> exp.
-	[Amine-Na] <sup>-</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sup>-</sup>	291.0	291.0
-	[Isocyanate-Na] <sup>-</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sup>-</sup>	317.0	317.0
-	[TRIS-Adduct-Na] <sup>-</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub> S <sup>-</sup>	438.1	438.1
-	[TRIS-Adduct+H <sub>2</sub> O-H] <sup>-</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>8</sub> S <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> O	478.1	478.2
+	[TRIS+H] <sup>+</sup>			122.0
+	[VX+H] <sup>+</sup>			268.0
+	[(iPr <sub>2</sub> NC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> S) <sub>2</sub> +H] <sup>+</sup>			321.0
+	[TRIS-Adduct+H <sub>2</sub> O+H] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>8</sub> S <sup>+</sup> + H <sub>2</sub> O	480.1	480.2

The shaded entries denote peaks already present in the spectra of the individual compounds.



References

- 1 H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997** *62*, 7512-7515.
- 2 K. G. Hull, M. Visnick, W. Tantz, A. Sheffron, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12405-12414.
- 3 B. Mokhtari, K. Pourabdollah, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, *32*, 3979-3990.
- 4 A. Bierwisch, M. Zengerle, H. Thiermann, S. Kubik, F. Worek, *Toxicol. Lett.* **2014**, *224*, 209-214.

## LEBENS LAUF

Name Christian Schneider

### Bildungsweg

- |                   |  |
|-------------------|--|
| 09.2013-04.2017   | <p><b>Promotion</b><br/>         Technische Universität Kaiserslautern, Betreuer: Prof. Dr. Stefan Kubik<br/>         „Entwicklung niedermolekularer Scavenger für neurotoxische Organophosphonate“</p>  |
| 12.2012-07.2013   | <p><b>Diplomarbeit</b><br/>         Technische Universität Kaiserslautern, Betreuer: Prof. Dr. Stefan Kubik<br/>         „Untersuchungen zur Bindung von Organophosphonaten an <math>\beta</math>-Cyclodextrine mit Wasserstoffbrückendonatoren entlang des Hohlraums“</p> |
| 04.2008-07.2013   | <p><b>Studium im Studiengang Diplom-Chemie</b><br/>         Technische Universität Kaiserslautern</p>  |
| 08.1998 - 03.2007 | <p><b>Sickingen-Gymnasium</b>, Landstuhl<br/>         Abschluss: Allgemeine Hochschulreife</p>   |

### Studienbegleitende Praktika

- |                   |   |
|-------------------|---|
| 04.2012 - 06.2012 | <p>Forschungspraktikum, Technische Universität Kaiserslautern<br/>         Arbeitsgruppe Prof. Dr. L. J. Gooßen<br/>         „Aminolyse von Enolestern zur abfallarmen Amidsynthese“</p>  |
| 02.2012 - 03.2012 | <p>Forschungspraktikum, Technische Universität Kaiserslautern<br/>         Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. Sitzmann<br/>         „Beiträge zur Synthese ungesättigter Eisenkomplexe“</p>   |
| 04.2011 - 06.2011 | <p>Forschungspraktikum, Technische Universität Kaiserslautern<br/>         Arbeitsgruppe Prof. Dr. S. Kubik<br/>         „Synthese substituierter <math>\beta</math>-Cyclodextrine zur Hydrolyse toxischer Organophosphonate“</p> |