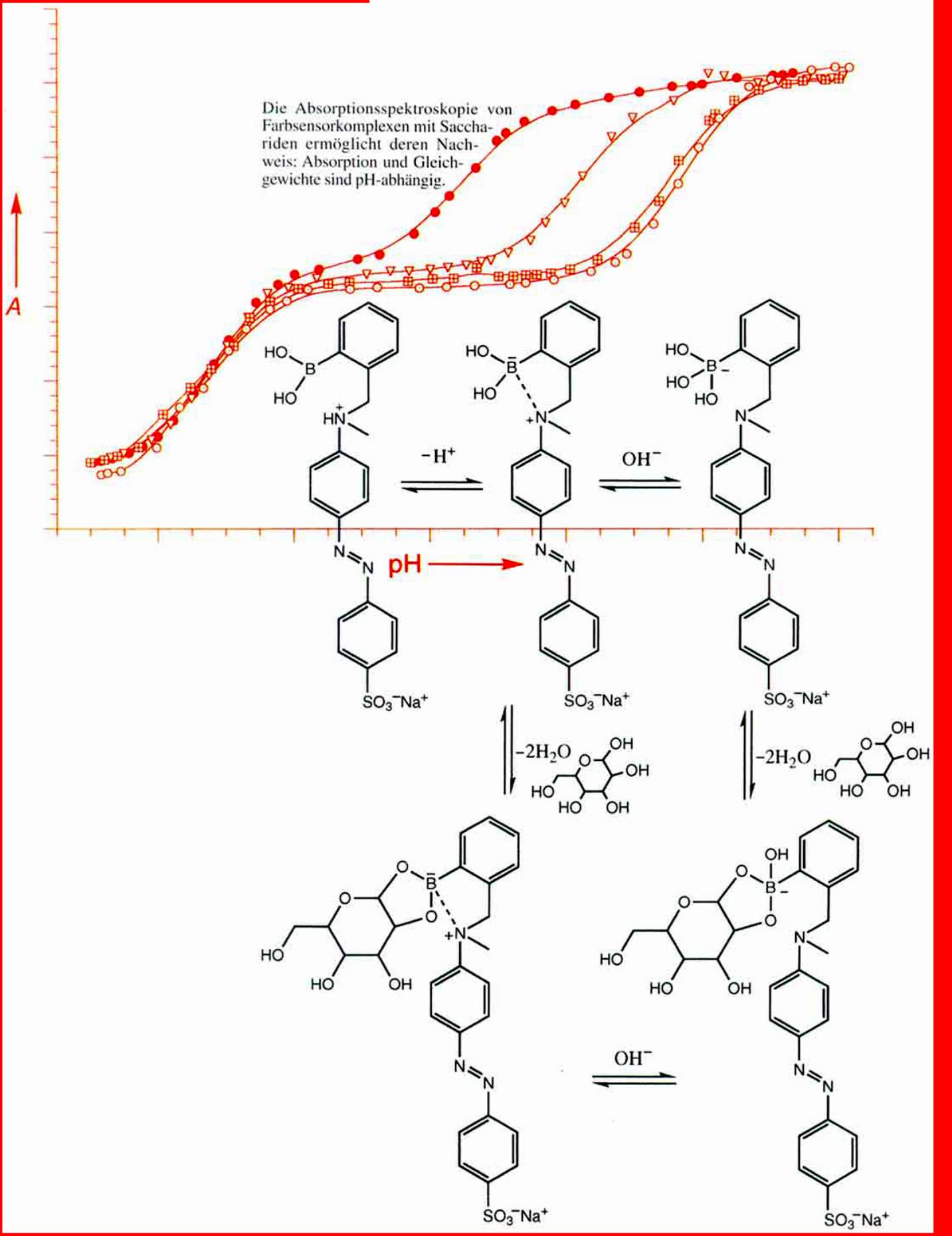


Die Absorptionsspektroskopie von Farbsensorkomplexen mit Sacchariden ermöglicht deren Nachweis: Absorption und Gleichgewichte sind pH-abhängig.



Saccharidnachweis mit Rezeptoren auf Boronsäurebasis

Tony D. James, K. R. A. Samankumara Sandanayake und Seiji Shinkai*

Das Schlüssel-Schloß-Prinzip natürlicher Systeme basiert auf komplexen Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen. Auch vielen synthetisch hergestellten Systemen, die als Modelle der natürlichen dienen, liegen Wasserstoffbrückenbindungen als wichtigste Bindungsart zugrunde. Besonders leicht zugänglich sind diese Systeme in Lösungsmitteln, die keine Wasserstoffbrücken ausbilden können und daher nicht mit dem Gastmolekül um die Bindungsstelle konkurrieren. Natürliche Systeme haben dagegen ihre Funktion

in Wasser, einem stark kompetitiven Lösungsmittel, zu erfüllen. Dennoch konnten auch synthetische Wasserstoffbrückenbindungssysteme entwickelt und erfolgreich ins wäßrige Medium übertragen werden. Dabei kann die Systemwahl von der Natur inspiriert werden, muß deren Plan aber nicht folgen. Dies ist kein Versuch, das „Schloß“ neu zu erfinden, denn das Schloß bleibt das gleiche, nur der vorhandene Schließmechanismus wird durch einen neuen ersetzt. Beim Literaturstudium stießen wir auf die seit mehr als 100 Jahren bekann-

ten Boronsäuren, die mit Diolen in basischem wäßrigem Milieu rasch und reversibel cyclische Ester bilden. Auch die Saccharide und andere verwandte „Schlüssel“ enthalten benachbarte Hydroxygruppen. Hier möchten wir zeigen, daß Saccharid-„schlüssel“ und Boronsäure-„schlösser“ die Tür zu einem neuen, aufregenden Forschungsgebiet öffnen.

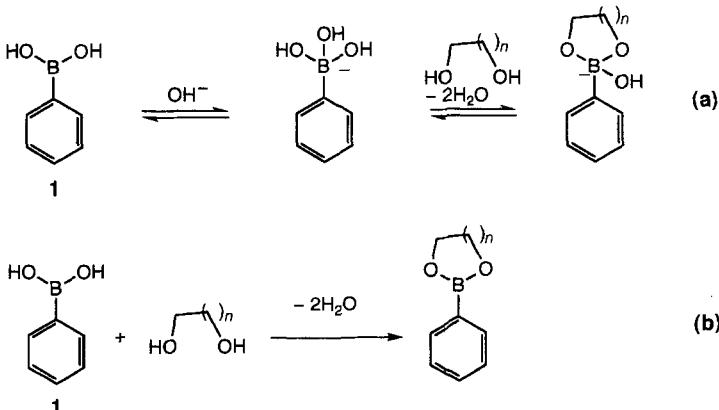
Stichworte: Boronsäuren · Fluoreszenz · Elektronentransfer · Molekulare Erkennung · Saccharide

1. Einleitung

Borverbindungen sind in der organischen Synthese seit vielen Jahren von Bedeutung^[1]. Aromatische Boronsäurederivate wurden dagegen erst in neuerer Zeit zum Aufbau von Rezeptoren z.B. für Saccharide eingesetzt.

Phenylboronsäure wurde erstmals 1880 von Michaelis und Becker synthetisiert^[2]; die ersten Untersuchungen zur Bindung von Diolen (Sacchariden) an Boronsäuren wurden jedoch erst 74 Jahre später publiziert: Kuivila et al. fanden 1954, daß Saccharide und Polyole durch Boronsäuren in Lösung gebracht werden, und postulierten die Bildung cyclischer Ester^[3]. Dieses Ergebnis war mit der bereits bekannten Fähigkeit von Boraten, Polyhydroxyverbindungen zu komplexieren, in Einklang^[4]. Später wurde gezeigt, daß auch Arsenate(III) und Tellurate mit Polyolen Komplexe bilden^[5]. Die erste Quantifizierung von Saccharid-Boronsäure-Wechselwirkungen wurde 1959 von Lorand und Edwards veröffentlicht^[6].

Die Struktur von Boronsäure-Saccharid-Komplexen in wäßriger Lösung ist aber immer noch umstritten^[7]. Boronsäuren reagieren mit 1,2- und 1,3-Diolen in nichtwäßrigen oder basischen wäßrigen Lösungsmitteln unter Bildung kovalenter Bin-



Schema 1. Esterbildung mit Boronsäuren. Reaktion (a) in basischem, wäßrigem Milieu; Reaktion (b) in aprotischem Milieu in Gegenwart eines Dehydratisierungsmittels.

dungen zu fünf- bzw. sechsgliedrigen cyclischen Estern (Schema 1). Saccharide bilden wegen ihrer starreren Konformation stabilere cyclische Ester als einfache acyclische Diole wie Ethylenglycol. Bei Sacchariden kann die Esterbildung wegen der möglichen Isomerisierung der Pyranose zur Furanose an unterschiedlichen Hydroxygruppen erfolgen. Die Selektivität der Phenylboronsäure 1 gegenüber Sacchariden wurde von Lorand und Edwards bestimmt (Tabelle 1)^[6]. Auf diese Selektivitätsreihenfolge, die für alle Monoboronsäuren zu gelten scheint, wird in diesem Aufsatz Bezug genommen.

* Prof. S. Shinkai, Dr. T. D. James, Dr. K. R. A. S. Sandanayake
Shinkai Chemirecognes Project, JRDC
2432-3 Aikawa, Kurume
Fukuoka 830 (Japan)
Telefax: Int. + 942/37-6125

Tabelle 1. Stabilitätskonstanten ($\lg K_s$) von Polyol-1-Komplexen.

Polyol	$\lg K_s$
D-Fructose	3.64
D-Galactose	2.44
D-Mannose	2.23
D-Glucose	2.04
Ethylenglycol	0.44

Das Interesse an der Erkennung biologisch wichtiger Moleküle durch synthetische molekulare Rezeptoren hat in jüngster Zeit zugenommen. Viele dieser Rezeptoren^[8-10], darunter mehrere Kohlenhydratrezeptoren^[9, 10], gehen mit ihrem Substrat Wasserstoffbrückenbindungen ein. Die Effizienz solcher Wechselwirkungen in nichtwässrigen Systemen wurde ausreichend belegt; in wässriger Lösung hingegen ist die kompetitive Wasserstoffbrückenbindung durch das Lösungsmittel ein schwerwiegender Nachteil. Kovalente Boronsäure-Saccharid-Wechselwirkungen sind in wässrigem Milieu leicht möglich und daher eine wichtige Alternative für die Erkennung von Sacchariden und verwandten Verbindungen. Obwohl bei der Entwicklung von Sensoren auf Boronsäurebasis bereits große Fortschritte gemacht wurden, ist noch ein größeres Verständnis der strukturellen und elektronischen Eigenschaften von Boronsäuren erforderlich.

Da Saccharide und verwandte Verbindungen im Stoffwechsel eine wesentliche Rolle spielen, ist der Nachweis biologisch wichtig.

Wichtiger Zucker (Glucose, Fructose, Galactose usw.) und die Bestimmung ihrer Konzentration in wässriger Lösung bei zahlreichen medizinischen und industriellen Vorgängen notwendig. Die Erkennung von D-Glucose ist von besonderem Interesse, da der Zusammenbruch des Glucosetransports beim Menschen mit Erkrankungen wie renaler Glykosurie^[11, 12], zystischer Fibrose^[13], Diabetes^[14, 15] sowie Krebserkrankungen^[16] in Verbindung gebracht wird. Zu den industriellen Anwendungen gehören die Überwachung von Fermentationsprozessen und die Bestimmung der Enantiomerenreinheit synthetischer Arzneimittel. Die derzeitigen enzymatischen Nachweismethoden für Zucker sind nur für wenige Saccharide spezifisch; außerdem sind Sensoren auf Enzymsbasis unter drastischen Reaktionsbedingungen instabil. Stabile Rezeptoren auf Boronsäurebasis können dagegen als Sensoren dienen, die selektiv und empfindlich für ein bestimmtes Saccharid sind.

Die Entwicklung von molekularen Rezeptoren auf Boronsäurebasis erwies sich als schwierig: Boronsäuren können als Gemisch aus Säure und Anhydrid vorliegen. Zudem werden Elementaranalysen von Boronsäurederivaten durch nichtbrennbare Rückstände erschwert^[17]. Ferner wurde die Spaltung von Boronsäuren durch Kupfersalze^[18], Silbersalze^[17] und sogar durch heißes Wasser beschrieben^[17]. Wir wollen hier diese Syntheseaspekte nicht behandeln, sondern einen Überblick über die Entwicklung von Saccharidsensoren auf Boronsäurebasis geben.

Seiji Shinkai wurde 1944 in der Präfektur Fukuoka, Japan, geboren und erhielt den BSc 1967 von der Kyushu University, Japan. Kurze Zeit nach seiner Promotion 1972 wurde er Lecturer an der Kyushu University. Es folgte eine Postdoktorandenzzeit bei T. C. Bruice an der University of California, Santa Barbara. 1975 ging er an die Kyushu University zurück und wurde 1988 zum Full Professor ernannt. Derzeit ist er außerdem Direktor des Shinkai Chemirecognics Project (eines Forschungsprojekts der JRDC = Research Development Corporation of Japan, einer Körperschaft der japanischen Regierung). Seine Forschungsschwerpunkte sind die Wirt-Gast-Chemie, die molekulare Erkennung, Flüssigkristalle und Enzymmodelle.



T. D. James



K. R. A. S. Sandanayake



S. Shinkai

K. R. A. Samankumara Sandanayake wurde 1961 in Colombo, Sri Lanka, geboren. Er studierte an der University of Colombo, Sri Lanka (BSc 1985), und promovierte 1989 bei A. P. de Silva an der Queen's University of Belfast über das Thema „Fluorescent macrocyclic sensors for alkali and other cations.“ Nach einer Postdoktorandenzzeit über chromoionophore, molekulare Sensoren bei I. O. Sutherland an der University of Liverpool schloß er sich dem Shinkai Chemirecognics Project an. Seine Forschungsinteressen liegen auf dem Gebiet der Wirt-Gast-Chemie, des Moleküldesigns und der molekularen Erkennung sowie der Polymere.

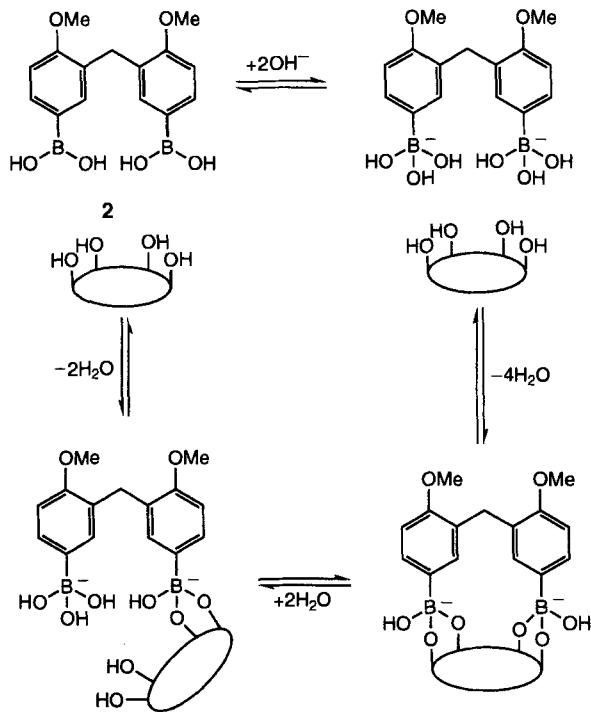
Tony D. James wurde 1964 in Broseley, Shropshire, England, geboren. Nach einem einjährigen Aufenthalt an der University of Massachusetts erhielt er 1986 den BSc von der University of East Anglia. Er promovierte 1991 bei T. M. Fyles an der University of Victoria über das Thema „Structure-activity studies of ion channel mimics“. Zur Zeit arbeitet er als Postdoktorand am Shinkai Chemirecognics Project mit. Zu seinen Forschungsinteressen gehören die molekulare Erkennung, Moleküllaggregate und molekulare Maschinen.

2. Saccharidnachweis durch Circulardichroismus-(CD)-Messungen

2.1. Homogene Systeme

Chiroptische Eigenschaften sind seit Mitte des neunzehnten Jahrhunderts bekannt und spielen eine wichtige Rolle in der Analytik der Nahrungsmittel- und Arzneimittelindustrie, beispielsweise bei der Kontrolle der Enantiomerenreinheit von Arzneimitteln, da das falsche Enantiomer verheerende Wirkungen haben kann. CD-Messungen sind ferner für den Nachweis und die Identifizierung optisch reiner Saccharide und zur Bestimmung der optischen Reinheit einer Probe von Nutzen. Ihre praktische Anwendung wird allerdings durch die für CD-Messungen erforderliche kostspielige Ausstattung eingeschränkt. Die durch chirale Induktion hervorgerufenen CD-Eigenschaften von Molekülkomplexen mit chiralen Gastmolekülen wie Sacchariden sind Grundlage einer Methode zur Bestimmung der Chiralität des Gastmoleküls; diese Methode ist bei nichtchromophoren Wirtmolekülen von Bedeutung.

Das Vorliegen mehrerer Hydroxygruppen mit geringen Reaktivitätsunterschieden führt bei der Konzeption von Saccharidrezeptoren zu Problemen. Allerdings ist die große Zahl an Hydroxygruppen auch von Vorteil, wenn diese beim Erkennungs-/Bindungsprozeß mitwirken. Bei einer bestimmten Anordnung zweier Boronsäureeinheiten im Molekül (wie in 2) kann ein Saccharid über sein „Kopf-“ und „Schwanzende“ in einem 1:1-Komplex gebunden werden (Schema 2). Durch diese kooperative Bindung zweier Boronsäureeinheiten an Mono- und einige Disaccharide in basischem,



Schema 2. Bildung des 1:1-Komplexes zwischen einem Monosaccharid und der Boronsäure 2.

wäßrigem Milieu entsteht ein starrer, cyclischer Komplex. Die damit verbundene asymmetrische Immobilisierung der beiden chromophoren Benzolringe läßt sich durch CD-Spektroskopie ablesen^[19–21]. D- und L-Saccharide zeigen eine positive bzw. negative Excitonkopplung (Abb. 1), wobei die höchste Assoziationskonstante $19\,000\text{ dm}^3\text{ mol}^{-1}$ für Glucose beträgt. D-Galactose zeigte als einziges der untersuchten D-Saccharide im CD-

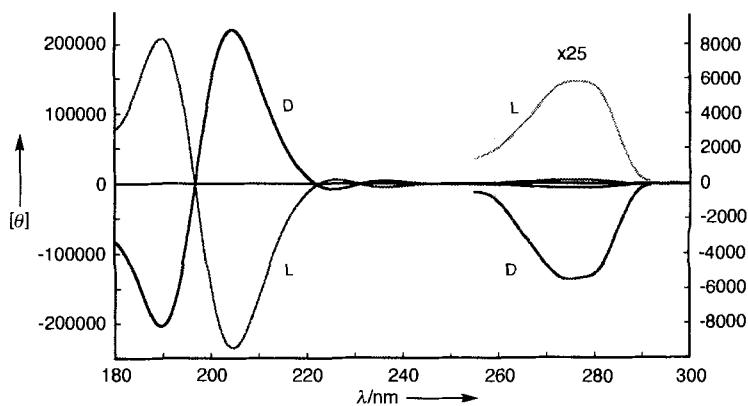


Abb. 1. CD-Spektren von 2 in Gegenwart von D-Glucose (D) und L-Glucose (L); $c(\text{Glucose}) = 2 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^{-3}$, $c(2) = 1 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^{-3}$, pH 11.3 mit 0.10 mol dm^{-3} Carbonatpuffer, 25°C , $[\theta]$: molare Elliptizität in $[\text{cm}^2\text{ dmol}^{-1}]$.

Spektrum eine negative Excitonkopplung. In Tabelle 2 sind die CD-spektroskopischen Daten und die Assoziationskonstanten verschiedener Saccharidkomplexe von 2 zusammengefaßt. Aus ihnen geht hervor, daß sich die absolute Konfiguration von Sacchariden aus dem Vorzeichen der CD-Spektren von 2 voraussagen läßt. Als primäre Bindungsstelle von α -D-Glucose an Boronsäuren wird im allgemeinen die 1,2-Dioleinheit angesessen^[6]. Die Pyranosestruktur des Komplexes aus D-Glucose und der Diboronsäure 2 wurde $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch bestimmt^[20]. Aus neueren ^{11}B -, ^{13}C - und $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Untersuchungen geht jedoch hervor, daß der Komplex D-Glucose in der Furanoseform enthält^[17].

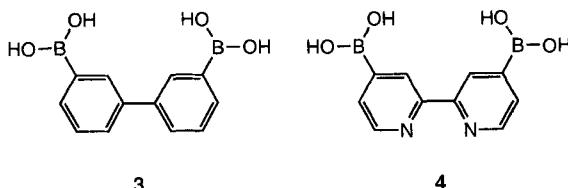
Da in der Diboronsäure 3 der Abstand zwischen den Boronsäureeinheiten größer ist als in 2, wurde eine starke Assoziation

Tabelle 2. Absorptions- und CD-Maxima für Monosaccharidkomplexe von 2 [a].

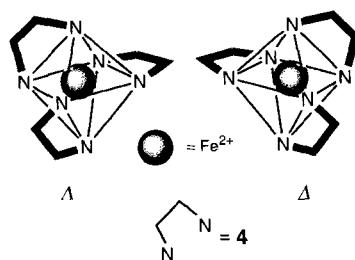
Saccharid	UV λ_{max} [nm]	CD λ_{max} [nm]	$[\theta]_{\text{max}}$ [b] [deg cm ² dmol ⁻¹]	Stöchiometrie	K [dm ³ mol ⁻¹]
D-Glucose	274	275	-5300	1:1	19000
	200	205	+231000		
D-Mannose	272	274	-400	1:1	60
	205	190	-214000		
D-Galactose	273	276	+410	1:1	2200
	200	191	-22000		
D-Talose	272	275	-3700	1:1	4600
	205	205	+247000		
	190	190	-196000		
D-Fructose	274	[c]	[c]	–	–
	200	[c]	[c]		

[a] 25°C , $c(2) = 1 \times 10^{-3}$ oder $2 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^{-3}$, pH 11.3 mit 0.10 mol dm^{-3} Carbonatpuffer. [b] $[\theta]_{\text{max}}$ -Werte wurden für 100% 1:1-Komplexbildung berechnet.

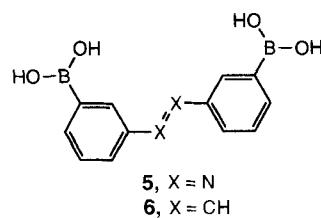
[c] Hier konnte keine CD-Bande detektiert werden.



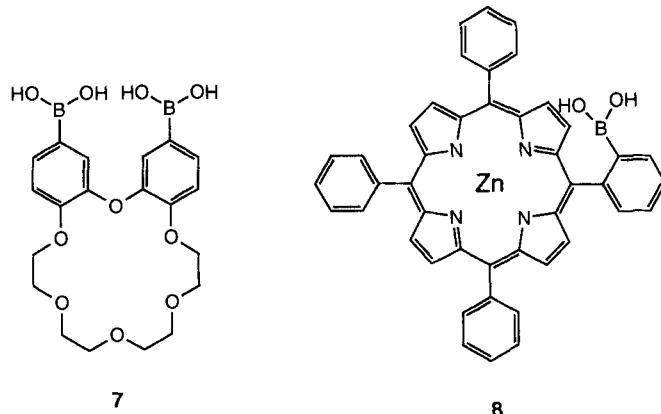
mit Disacchariden erwartet^[21, 22]. Die Assoziationskonstanten waren jedoch wesentlich kleiner als die der Monosaccharidkomplexe von **2**. Kalottenmodelle zeigten, daß der Abstand zwischen den beiden Boronsäureeinheiten in **3** kürzer ist als der zwischen den Hydroxygruppen an Kopf- und Schwanzende von Disacchariden. Die CD-Aktivität war folglich schwach und zur Bestimmung der Assoziationskonstanten ungeeignet. CD-aktive Saccharidkomplexe wurden hingegen mit der verwandten Diboronsäure **4** und ihrem Fe^{2+} -Komplex (als FeCl_2) erhalten^[23]. Die CD-Aktivität von **4** entstand durch die asymmetrische Immobilisierung der beiden Pyridinreste bei der Saccharidbindung. Der Fe^{2+} -**4**-Komplex lieferte eine CD-Bande im Be-



reich der Metall → Ligand-Charge-Transfer-Bande. Es zeigte sich, daß die Bildung von Δ - oder Λ -Komplex vom Saccharid abhängt: Beispielsweise hat der D-Maltosekomplex Λ -Chiralität, der D-Cellobiosekomplex dagegen Δ -Chiralität. Auch mit der 3,3'-Stilbendiboronsäure **6** wurde nach Disaccharidkomplexbildung eine CD-aktive Verbindung erhalten^[24]. Bessere Komplexe mit Disacchariden ergab die Diboronsäure **5**^[25]. Der größere Chromophor erleichtert den Nachweis von CD-Banden; auch die allosterische Änderung der Selektivität durch *cis*/*trans*-Isomerisierung von **5** wurde untersucht.



In der Natur beruhen zahlreiche biologische Funktionen, wie der Transport von Zuckern durch die Zellmembran in eine Zelle, auf allosterischen (oder kooperativen) Wechselwirkungen. Um diese Funktionen zu modellieren, wurde eine Saccharid-bindende Diboronsäureeinheit mit einem einfachen Kronenether verknüpft. Der Aufbau des allosterischen Systems **7** wurde durch die beobachtete starke kooperative Bindung von **2** initiiert^[26]. Die Fähigkeit von **2** zur Zuckerbindung könnte durch eine Änderung der Winkel zwischen den beiden Phenylringen über Sekundäreffekte gesteuert werden. **7** zeigt eine noch größere Assoziationskonstante ($31\,000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$) für Glucose in basischem, wässrigem Methanol (CD-Messungen) als **2**, da seine



¹Phenylringe leichter gegeneinander verdreht werden können. Die Bindung von Metallionen an den Kronenetherteil wurde H-NMR-spektroskopisch nachgewiesen. Sie induziert eine Verdrillung des Kronenethers, was zu negativer Allosterie führt. Abbildung 2 zeigt die Abnahme der CD-Intensität des D-Allose-7-Komplexes mit zunehmender Metallionenkonzentration.

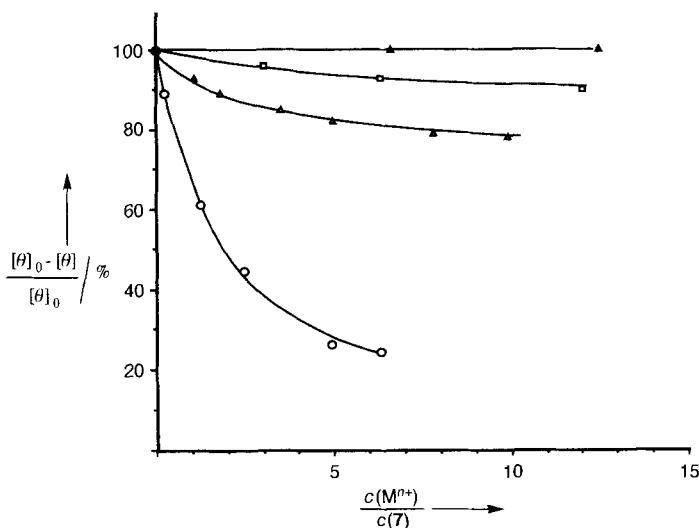


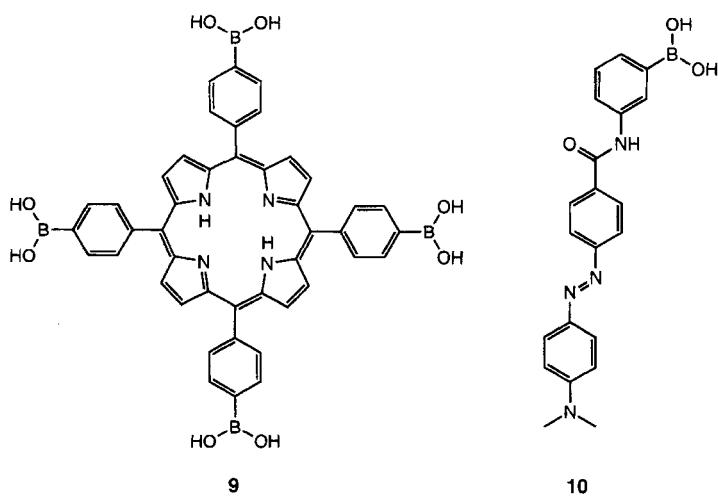
Abb. 2. Abnahme der CD-Intensität des D-Allose-7-Komplexes in Gegenwart von Metallperchloraten: \square Ca^{2+} , \triangle K^+ , Δ Mg^{2+} , \square $[\text{Li}^+]$, \square Na^+ , \square Rb^+ , \square Cs^+ ; $c(7) = 1.63 \times 10^{-3}$ mol dm^{-3} , $\text{pH} = 11.6$ mit 0.2% Cholinhydroxid als Base in 9/1 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ bei 25°C; $[0]_0$ und $[0]$: CD-Intensität ohne bzw. mit dem Metallsalz.

Glucosephosphate sind wichtige Verbindungen bei Energiespeicherprozessen. Das eine Boronsäureeinheit tragende Metalloporphyrin **8** erkannte Glucose-6-phosphat selektiv gegenüber Glucose-1-phosphat^[27]. Die Zweipunktbinding von Glucose-6-phosphat führt zu einem starren Komplex, der im CD-Spektrum ein starkes Excitonkopplungssignal zeigt. Man nimmt an, daß die hohe Affinität für Glucose-6-phosphat zum einen auf die starke Bindung der primären Bindungsstelle von Glucose (1,2-Diol) an die Boronsäure, zum anderen auf die anschließende sekundäre Wechselwirkung zwischen Phosphatrest und Metallzentrum zurückzuführen ist. Der Austausch der 1-Hydroxygruppe, die Teil der primären Bindungsstelle von Glucose ist, gegen einen Phosphatrest (→ Glucose-1-phosphat) schwächt die Saccharid-Boronsäure-Wechselwirkung und damit den Gesamtkomplex. Die Bindung des Phosphatrests an das Metallzentrum wurde durch Signalverschiebungen im ³¹P-NMR-

Spektrum nachgewiesen. Die Bedeutung der Zweipunktbinding geht auch daraus hervor, daß Komplexe von metallfreiem **8** mit Glucosederivaten oder von **8** mit Glucose selbst keine Excitonkopplungssignale im CD-Spektrum zeigten.

2.2. Heterogene Systeme

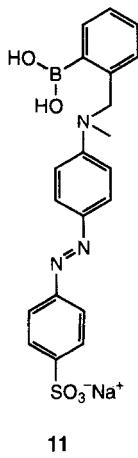
Von einigen chiralen Molekülen ist bekannt, daß sie chirale, helixförmige Aggregate bilden^[28]. Auch läßt sich in Aggregaten nichtchiraler Moleküle durch Wechselwirkungen mit chiralen Komponenten Chiralität induzieren^[29]: So bildeten sich helixförmige, chirale Aggregate, wenn das nichtchirale Tetraboronsäurederivat **9** mit Monosacchariden behandelt wurde^[30], was



CD-spektroskopisch nachgewiesen werden konnte. Ferner lässt sich das Vorzeichen der Excitonkopplung für das mit dem Zucker komplexierte Aggregat anhand der Zucker-induzierten, chiralen Orientierung des Komplexes vorhersagen. Auch das chromophore Boronsäurederivat **10** bildet in Lösungsmittelgemischen (Wasser/Dimethylformamid) Aggregate^[31], die bei Zugabe von Glucose CD-aktiv werden.

3. Saccharidnachweis durch Absorptionsspektroskopie

3.1. Homogene Systeme



Obwohl Farbstoffderivate von Boronsäuren seit langem bekannt sind^[32], wurde die Wirkung von Sacchariden auf die Farbe dieser Verbindungen erst kürzlich untersucht. Der molekulare Internal-Charge-Transfer (ICT)-Farbsensor **11**^[33] beruht auf der intramolekularen Wechselwirkung^[34] zwischen einer Boronsäure- und einer tertiären Amineinheit, die eine basische Umgebung um die Boronsäureeinheit erzeugt und damit die Boronsäure-Saccharid-Wechselwirkung erleichtert. Dieser Nachbargruppeneffekt senkt den pH-Wert, bei dem das Sensormolekül arbeitet^[35]. Die mit der Änderung des pK_a -Wertes der Boronsäureeinheit durch die Bildung eines Boronsäure-Saccharid-

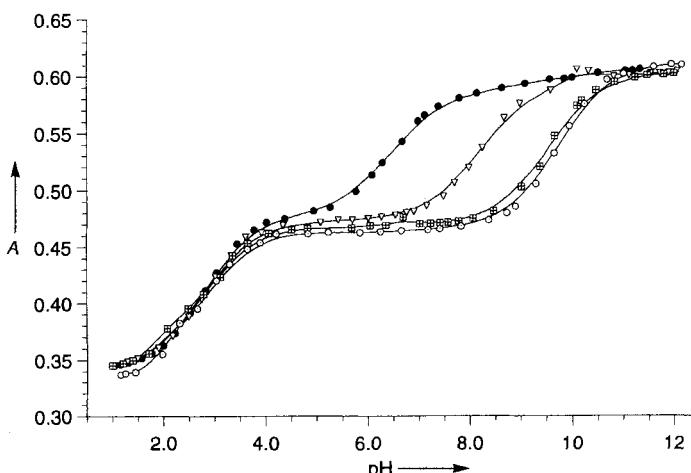
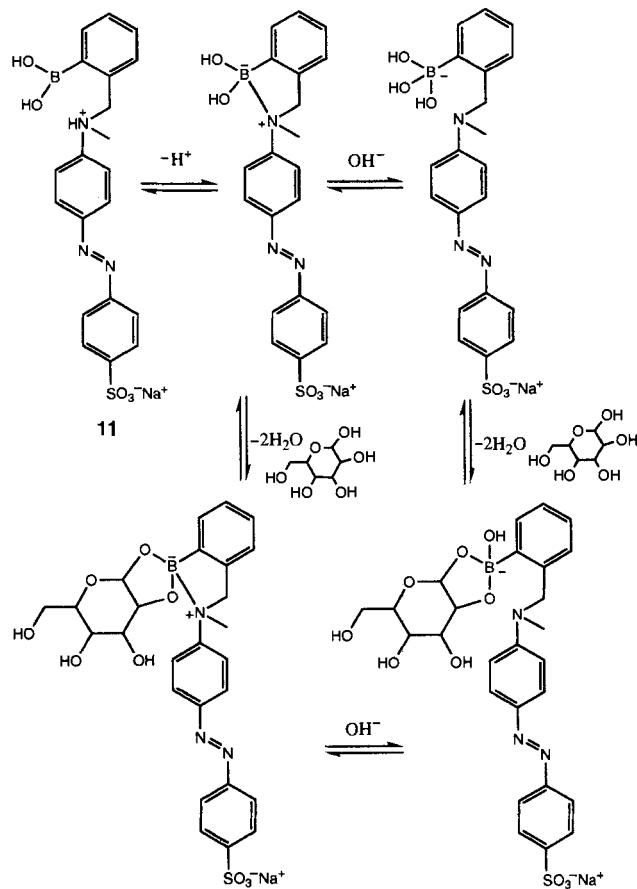


Abb. 3. Änderung der Absorption A von **11** ($\lambda_{\text{max}} = 468 \text{ nm}$) in Abhängigkeit vom pH-Wert in Gegenwart von 0.05 mol dm^{-3} NaCl und 0.05 mol dm^{-3} D-Fructose (●), D-Glucose (▽) oder Ethylenglycol (■) sowie ohne Saccharid (○).

Komplexes einhergehenden elektronischen Änderungen^[6] werden direkt auf die benachbarte Aminogruppe übertragen und führen zu einer Änderung der spektroskopischen Eigenschaften des ICT-Chromophors. In Abbildung 3 ist die Absorption in Abhängigkeit vom pH-Wert für **11** (wässriges Milieu, verschiedene Saccharide) dargestellt. Schema 3 zeigt die je nach pH-Wert vorherrschenden Gleichgewichte und die wichtigsten an der Reaktion beteiligten Verbindungen. Bei der Zugabe von



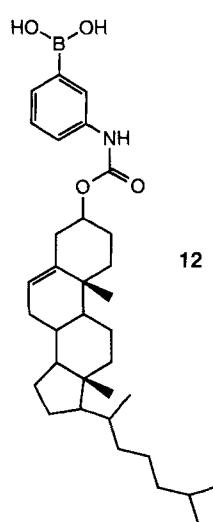
Schema 3. Komplexbildung von **11** mit einem Saccharid bei verschiedenen pH-Werten.

Sacchariden verschiebt sich der die Bor-Stickstoff-Wechselwirkung in **11** beschreibende pK_a -Wert; die größte Verschiebung wurde für Fructose ($\Delta pK_a = 3.31$), die kleinste für einfache Diole wie Ethylenglycol ($\Delta pK_a \approx 0$) gefunden (Abb. 3).

Bisher wurden bei der Komplexierung von Sacchariden mit Boronsäuren nur kleine Farbänderungen erreicht. Mit besseren Chromophoren und besseren Rezeptoren wird es möglich sein, selektive und empfindliche Farbsensoren zu entwickeln. Derartige Sensorsysteme werden in der Industrie breite Anwendung finden. Beispielsweise sollte es möglich sein, billige und stabile „Testpapiere“ für den Blutzuckernachweis zur Verfügung zu stellen.

3.2. Flüssigkristalline Systeme

Aus chiralen Molekülen aufgebaute Flüssigkristalle können Helixstrukturen bilden, bei denen die Farbe des Flüssigkristalls durch die Ganghöhe bestimmt wird. Eingelagerte Verbindungen



können sichtbare Farbänderungen hervorrufen und die spektralen Verschiebungen Rückschlüsse auf die Konfiguration dieser Verbindungen ermöglichen. Ein Flüssigkristall, der die Cholesterinboronsäure **12** enthält, ändert die Farbe bei der Zugabe von Sacchariden^[36]. Die Ganghöhe des Flüssigkristalls spiegelt die Chiralität des gebundenen Zuckers wider: Beispielsweise ändert sich die grüne Farbe des nicht-komplexierten Systems bei der Zugabe von D-Glucose in rot und von L-Glucose in blau. Eine direkte Korrelation zwischen der Farbe und der relativen Anordnung der an den Saccharidring gebundenen Boronsäureeinheiten wurde vorgeschlagen.

Dieses System könnte ebenso wie die absorptionsspektroskopischen Verfahren Anwendung als „Teststreifen“ finden. Leider hat es einen gravierenden Nachteil: seine Antwortzeit. Damit dieses System ein Saccharid in Lösung erkennt, muß dieses aus der wäßrigen Phase in die flüssigkristalline Phase des „Testpapiers“ diffundieren.

3.3. Heterogene Systeme

Bei der Zugabe von Sacchariden zu Moleküllaggregaten der Verbindung **10** in einem DMF-Wasser-Gemisch traten Farbänderungen auf^[31], die wohl auf eine durch die Saccharidbindung verursachte Desaggregation zurückzuführen sind.

4. Saccharidnachweis durch Fluoreszenzspektroskopie

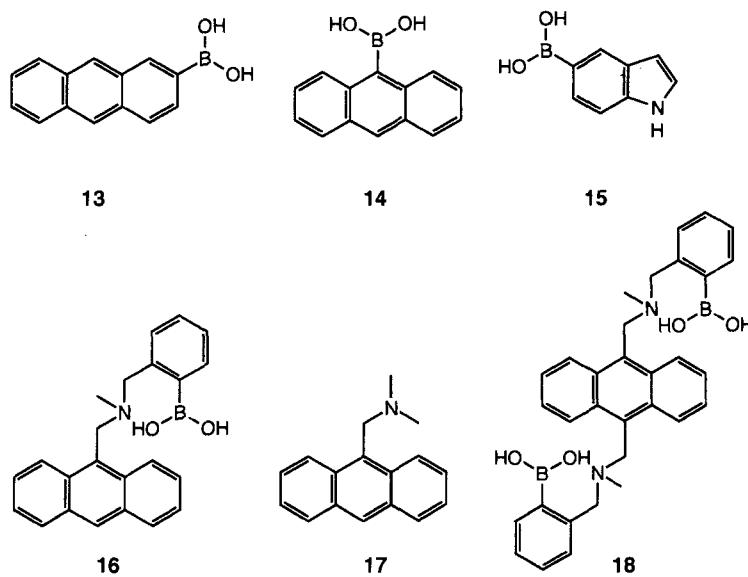
Vorteil des Fluoreszenzverfahrens ist seine Empfindlichkeit. Da nur geringe Mengen an Sensor erforderlich sind (im allgemeinen 10^{-6} M), spielen die Synthesekosten keine große Rolle. Außerdem sind Fluoreszenzspektrometer nicht teuer. Fluores-

zensensoren fanden ferner Anwendung bei der kontinuierlichen Überwachung mit optischen Fasern und bei der intrazellulären Kartierung mit konfokaler Mikroskopie.

4.1. Homogene Systeme

4.1.1. PET-Systeme

Fluoreszenzsensoren für Atome und Moleküle basieren oft auf dem photoinduzierten Elektronentransfer (PET)^[37, 38]. PET-Sensoren bestehen im allgemeinen aus einem Fluorophor und einem über einen kurzen Spacer angeknüpften Rezeptor. Änderungen im Oxidations-/Reduktionspotential des Rezeptors bei der Bindung von Gastmolekülen können den PET-Prozeß beeinflussen und Fluoreszenzänderungen hervorrufen. Die Fluoreszenz von **13** und **14** wurde durch Bindung eines Saccharids an die Boronsäureeinheit gelöscht^[39]. Der pK_a -Wert von **13** wurde durch das Saccharid verschoben. Das Ausmaß der Verschiebung stimmte mit der Selektivität von Phenylboronsäure überein^[61]. Man nimmt an, daß der PET vom Boronat-Ion die Ursache der Fluoreszenzlöschung ist. Obwohl das Boronat-Ion direkt an den Chromophor gebunden ist, war der PET nicht effizient (I (mit Saccharid)/ I_0 (ohne Saccharid) ≈ 0.7). Brenzcatechinderivate binden mit noch größerer Affinität an **13** und **14**. Der PET von der Brenzcatechingruppe verstärkte zusätzlich die Löschung der Anthracenfluoreszenz.



Eine entsprechende Fluoreszenzlösung trat bei 5-Indolylboronsäure **15** nach der Komplexierung mit Oligosacchariden auf^[40]. Die aus den Verschiebungen der ^{11}B -NMR-Signale abgeleiteten Änderungen des $\text{p}K_a$ -Werts der Boronsäure waren mit den Ergebnissen der Fluoreszenzuntersuchungen in Einklang. Die Stabilitätskonstanten der Komplexe von **15** mit Monosacchariden entsprachen denen der Phenylboronsäurekomplexe^[6]. Dagegen ergaben Oligosaccharide relativ niedrige Stabilitätskonstanten, auch wenn diese bei höheren Oligomeren wegen einer Sekundärwechselwirkung mit dem Indol-N-H etwas größer waren als bei den niedrigeren Oligomeren.

Die Entwicklung von Fluoreszenzsensoren auf der Basis von Boronsäure-Saccharid-Wechselwirkungen wurde durch das

Fehlen ausreichender elektronischer Änderungen in der Boronsäure- oder Saccharideinheit bei der Komplexierung beeinträchtigt. Eine leichte Komplexbildung zwischen Boronsäure und Saccharid findet nur bei den zur Bildung eines Boronat-Ions erforderlichen hohen pH-Werten statt. Um diese Nachteile zu umgehen, wurde der Fluoreszensensor **16**^[41], basierend auf der Struktur **17**^[42], entwickelt. Der Nachbargruppeneffekt der Aminogruppe senkt den pH-Wert, bei dem das Sensormolekül arbeitet^[35], und sorgt außerdem für ein elektronenreiches Zentrum für den PET^[37, 42]. Bei der Fluoreszenztitration von **16** in wäßrigem Milieu wird eine sehr große pK_a -Verschiebung zusammen mit einem sehr hohen „Einschalt“faktor für die Fluoreszenz bei Saccharidbindung beobachtet. Die erhöhte Acidität der Boronsäureeinheit verstärkt die Bor-Stickstoff-Bindung und unterdrückt den PET-Prozeß wirksam. Abbildung 4 zeigt die

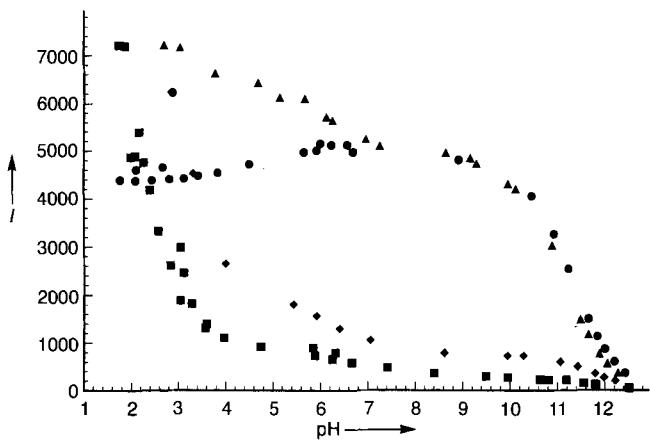


Abb. 4. Relative Fluoreszenzintensität I von **16** gegen den pH-Wert bei 25°C; 1.2×10^{-5} mol dm $^{-3}$ **16** in 0.05 mol dm $^{-3}$ Natriumchloridlösung. Saccharid oder Ethylenglycol: $c = 0.05$ mol dm $^{-3}$; ■ nur **16**; ● mit D-Glucose; ▲ mit D-Fructose; ♦ mit Ethylenglycol.

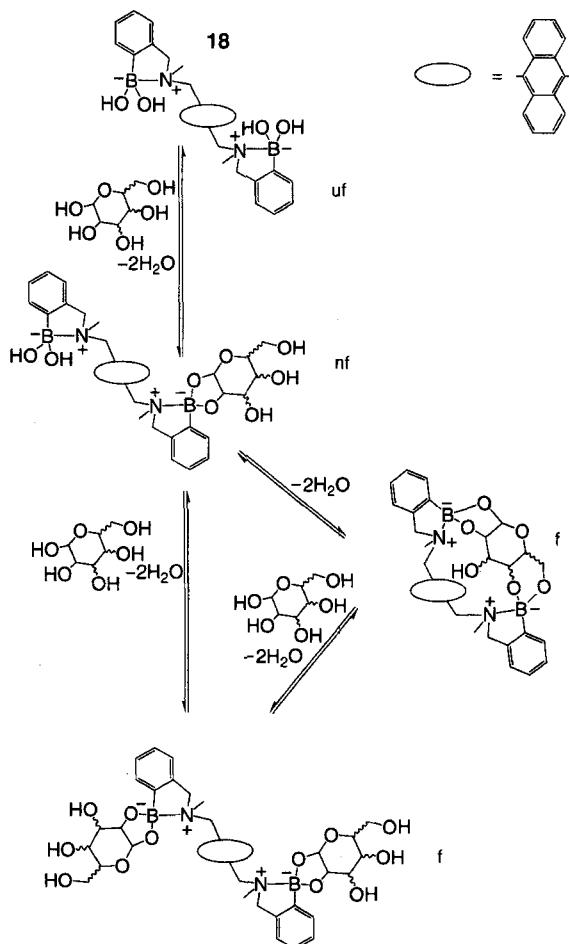
pH-Titration von **16** in wäßrigem Milieu mit und ohne Sacchariden. Die bei der Saccharidbindung auftretende sehr große pK_a -Verschiebung ermöglicht den Saccharidnachweis in einem breiten pH-Bereich. Die Selektivität von **16** stimmt mit der anderer Phenylboronsäuren überein^[6].

Da Glucose mindestens zwei Bindungsstellen aufweist, die sich von denen anderer Monosaccharide unterscheiden, sollte es möglich sein, sie selektiv zu komplexieren. Dies gelang mit dem spaltenförmigen („cleft-like“) **18**^[43, 44] (Tabelle 3, Schema 4)

Tabelle 3. Stabilitätskonstanten ($\lg K_a$) von Monosaccharid- und Ethylenglycolkomplexen der Boronsäuren **16**, **18** und **20** bei pH 7.77 (0.05 mol dm $^{-3}$ Phosphatpuffer).

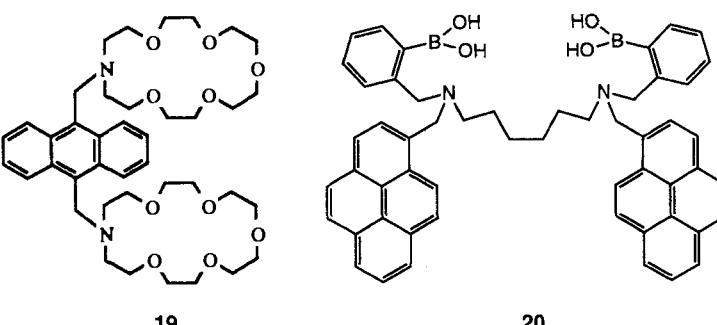
	16 [a]	18 [a]	20 [b]
D-Glucose	1.8	3.6	3.3
D-Fructose	3.0	2.5	[c]
D-Allose	2.5	2.8	2.9
D-Galactose	2.2	2.2	2.9
Ethylenglycol	0.4	0.2	-0.5

[a] Messungen in MeOH/H₂O (1/2). [b] Messungen in MeOH/H₂O (2/1). [c] Die Auftragung der relativen Fluoreszenzintensität gegen die Saccharidkonzentration konnte mit einer einfachen Benesi-Hildebrand-Gleichung unter Annahme eines 1:1-Komplexes nicht genau analysiert werden.



Schema 4. Komplexbildung zwischen Glucose und **18**; f: fluoreszierend; nf: nicht-fluoreszierend.

und mit noch höheren „Einschalt“faktoren als bei **16**. Nach der 1:1-Bindung von Glucose an **18** befindet sich der Zucker nahe dem aromatischen Anthracen. Insbesondere das C3-Proton der D-Glucose zeigt in Richtung der Anthracen- π -Elektronen, was zu einer großen diamagnetischen Verschiebung im ^1H -NMR-Spektrum führt (Abb. 5). Ähnliche Verschiebungen wurden auch für Komplexe des verwandten PET-Sensors **19** mit α, ω -Alkandiyldiammoniumionen beobachtet^[45]. Die Existenz eines 1:1-Komplexes aus **18** und D-Glucose wurde auch durch Massenspektrometrie bestätigt. Eine derartige kooperative Bindung von Sacchariden, insbesondere von Glucose, tritt bei sehr niedrigen Saccharidkonzentrationen auf. Nichtcyclische 1:1-Komplexe können hier fluoreszenzspektroskopisch nicht nachge-



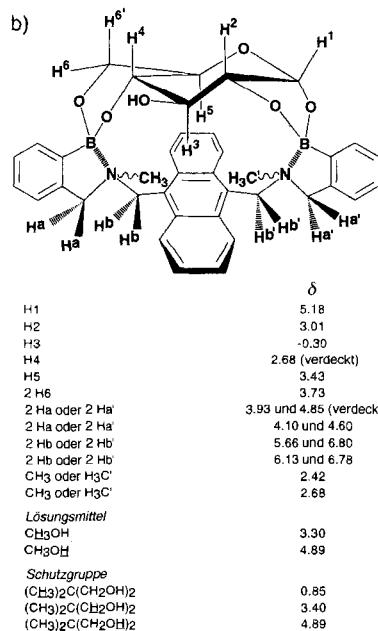
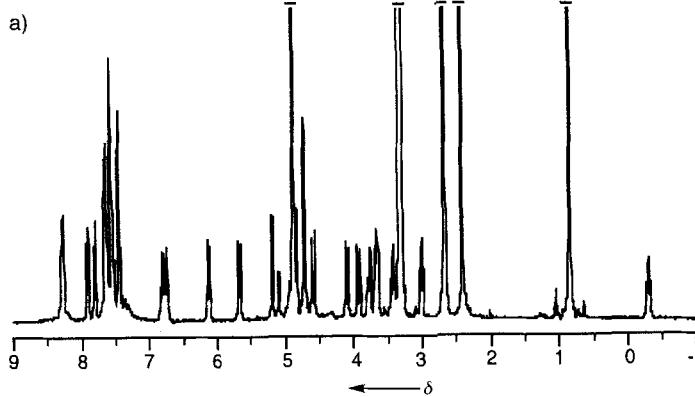
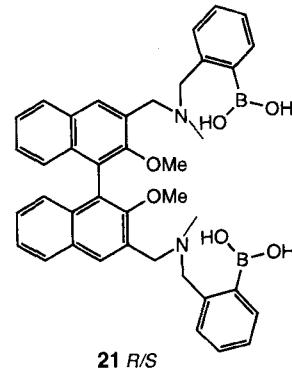


Abb. 5. ^1H -NMR-Spektrum (a) und -daten (b) des 1:1-Komplexes von D-Glucose mit 18. I = relative Fluoreszenzintensität. Die Schutzgruppe wird unter den Bedingungen des NMR-Versuchs abgespalten.

wiesen werden; nur die cyclischen 1:1- und die 1:2-Komplexe liefern ein Fluoreszenzsignal. Die wichtigsten der am Gleichgewicht beteiligten Verbindungen sind in Schema 4 dargestellt. Menschliches Blut enthält hauptsächlich drei Monosaccharide: D-Glucose (0.3–1.0 mM), D-Fructose (≤ 0.1 mM) und D-Galactose (≤ 0.1 mM). Untersuchungen zur kompetitiven Bindung zeigen, daß sich 18 für den Nachweis von Glucose unter physiologischen Bedingungen eignet.

Das Diboronsäurederivat 20 mit einem flexiblen Spacer zwischen den beiden Boronsäureeinheiten verhält sich ähnlich wie 18^[46]. Seine Pyrenfluorophore, die Excimere bilden können, liefern zwei Informationen, eine über die Saccharidkonzentration und eine über die Struktur des Komplexes. Die 1:1-Bindung eines Saccharids an 20 führt zu einer Zunahme der Fluoreszenzintensität des Monomers. Diese Fluoreszenzzunahme ist auf die Abnahme der Excimerbildung und die erhöhte Quantenausbeute durch Unterdrückung des PET-Prozesses zurückzuführen. Dagegen nahm bei der 1:2-Bindung von 20 an Saccharide das Fluoreszenzintensitätsverhältnis Excimer:Monomer zu.

In allen Fällen wurde bei niedrigen Saccharidkonzentrationen die Bildung eines 1:1-Komplexes beobachtet, während bei steigender Saccharidkonzentration der 1:2-Komplex bevorzugt war. Wie Tabelle 3 zeigt, wies 20 eine ähnliche Selektivität auf wie 18. Die für die Messungen verwendete höhere Methanolkonzentration führt jedoch zu etwas niedrigeren Stabilitätskonstanten als bei 18.



Der Erfolg mit den oben beschriebenen molekularen PET-Systemen führte zur Entwicklung von 21 (R und S) für die chirale Erkennung von Monosacchariden^[47]. Anregungen geben die Arbeiten von Irie et al. über die Steuerung der intermolekularen chiralen Fluoreszenzlösung bei 1,1'-Binaphthyl durch chirale Amine^[48] und die von Cram et al. über die Verwendung von 1,1'-Binaphthyl-derivaten^[49]. Die chirale Erkennung von Sacchariden durch 21 nutzt sowohl sterische als auch elektronische Faktoren. Die asymmetrische Immobilisierung der Aminogruppen in 1:1-Komplexen mit D- und L-Sacchariden führt zu unterschiedlichem PET-Verhalten, was sich im Fluoreszenzintensitätsmaximum der Komplexe äußert. Sterische Faktoren, die auf den chiralen Binaphthylbaustein zurückgehen, machen sich hauptsächlich in den Stabilitätskonstanten der Komplexe bemerkbar. Eine gegenseitige Abhängigkeit elektronischer und sterischer Faktoren ist aber nicht ausgeschlossen. Abbildung 6 zeigt Kurven der Titration von 21 (R- und S-Iso-

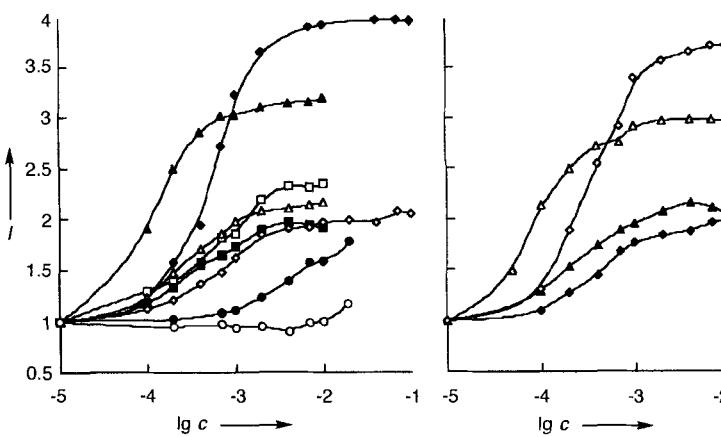


Abb. 6. Relative Fluoreszenzintensitäten I von (R)-21 (links) und (S)-21 (rechts) gegen $\lg c$ (Saccharid) bei 25°C ; 1.0×10^{-5} mol dm^{-3} 21 in $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1/2 bei $\text{pH } 7.77$, $\lambda_{\text{ex}} = 289$, $\lambda_{\text{em}} = 358$ nm. \blacklozenge D-Glucose, \diamond L-Glucose, \blacksquare D-Galactose, \blacksquare L-Galactose, \blacktriangle D-Fructose, \triangle L-Fructose, \bullet D-Mannose, \circ L-Mannose.

mer) mit D- und L-Sacchariden. 21, das einen längeren Spacer als das Anthracenderivat 18 aufweist, lieferte bei Fructose die beste chirale Erkennung: D-Fructose wurde von (R)-21 unter großer Fluoreszenzzunahme am besten gebunden. In Tabelle 4 sind die Stabilitätskonstanten für einige D- und L-Monosaccharidkomplexe aufgeführt. Die chirale Erkennung von Sacchariden durch Polyhydroxyverbindungen unter Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen ist beschrieben^[10]; eine Unterscheidung von

Tabelle 4. Komplexe aus *D*- und *L*-Sacchariden und (*R*)-/(*S*)-21: Stabilitätskonstanten und Fluoreszenzverstärkungen bei pH 7.77 (0.05 mol dm⁻³ Phosphatpuffer, MeOH/H₂O 1/2) [a].

Saccharid	lg $K(D)$ (± 0.05)	lg $K(L)$ (± 0.05)	$I_{em}(D)/I_{em}(L)$ [b]
Fructose	4.0 (3.7)	3.5 (4.0)	1.47 (0.69)
Glucose	3.3 (3.4)	3.1 (3.5)	1.93 (0.53)
Galactose	3.1	3.3	0.82
Mannose	<2.4	—	—

[a] Der Wert für (*S*)-21 ist jeweils in Klammern angegeben. [b] I_{em} : Fluoreszenzintensität.

Isomeren in wäßrigem Milieu durch Fluoreszenzmessung war unseres Wissens bis dahin jedoch nicht bekannt. Sie gelang hier dank einer Kombination sterischer und elektronischer Faktoren. Konkurrenzexperimente mit *D*- und *L*-Monosacchariden zeigen, daß mit 21 ein selektiver Nachweis von Saccharidisomeren möglich ist. Die Verfügbarkeit sowohl des *R*- als auch des *S*-Isomers dieses molekularen Sensors ist von Vorteil, da sowohl der Nachweis der *D*- als auch der *L*-Saccharide möglich ist.

4.1.2. Nicht-PET-Systeme

Die Fluoreszenzeigenschaften eines chromophoren Moleküls können sich durch Störung seines Elektronendonator- oder -acceptorteils ändern. Dies wurde bei der Entwicklung fluoreszierender ionischer und neutraler Verbindungen genutzt^[50]. Das

Cumarinderivat 22 wurde zur Fluoreszenzkartierung^[51] von Sacchariden in biologischen Proben entwickelt^[52]. Man nahm an, daß die Verstärkung der dativen Stickstoff-Bor-Bindung durch Bindung eines Saccharids den ICT-Chromophor des Cumarins beeinflussen könnte. Bei der Titration von Monosacchariden mit 22 traten jedoch nur kleine Änderungen im Fluoreszenzspektrum auf. Außerdem belegen die Assoziationskonstanten einfacher Monosaccharide eine erheblich geringere Stabilität der Saccharidkomplexe. Als Gründe für diese Stabilitätsabnahme werden sterische Faktoren zusammen mit der niedrigen Basizität der Aminogruppe von 22 angesehen.

Wie erwähnt, können Diboronsäuren Monosaccharide selektiv binden, wobei durch 1:1-Bindung ein starrer Molekülkomplex entsteht^[20–26], ein Effekt, der auch für Fluoreszenzsenso ren zum Nachweis von Disacchariden genutzt werden kann. Die Diboronsäure 6 komplexiert Disaccharide in basischem, wäßrigem Milieu selektiv unter Bildung cyclischer Komplexe, die die Fluoreszenzeigenschaften des Moleküls verändern^[24]. Angegnetes Stilben wird über eine Rotation um die Ethylen-doppelbindung strahlungslos deaktiviert. Die Hinderung dieser Rotation führt zu verstärkter Fluoreszenz^[53]. Entsprechend wird die Stilbenfluoreszenz von 6 durch Disaccharidbindung verstärkt. Für das Disaccharid Melibiose zeigt 6 höhere Selektivität als für gewöhnliche Disaccharide und manche Trisaccharide (Abb. 7). Die bei hohen Monosaccharidkonzentrationen auftretenden geringen Zunahmen der Fluoreszenzintensität werden auf eine

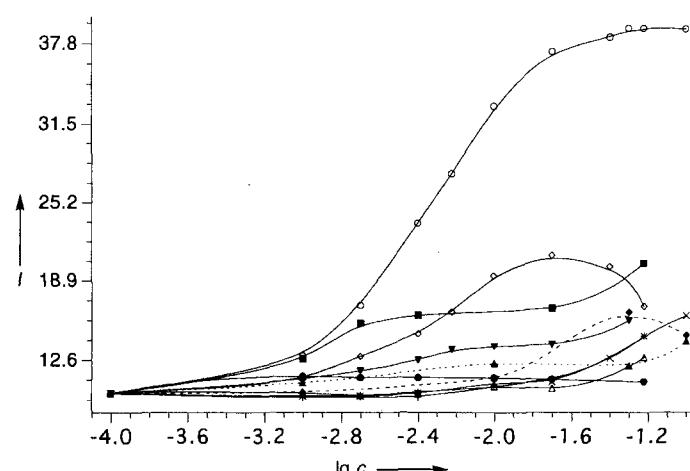
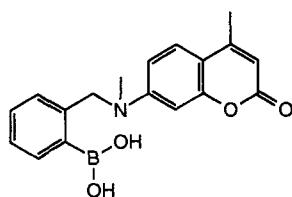


Abb. 7. Fluoreszenztitration der Diboronsäure 6 (1.0×10^{-5} mol dm⁻³) bei pH 10.6 (0.1 mol dm⁻³ Natriumcarbonat/Natriumhydrogencarbonat-Puffer) als Funktion von $\lg c$ (Disaccharid), $\lambda_{ex} = 310$, $\lambda_{em} = 358$ nm; I = relative Fluoreszenzintensität. \circ *D*-(+)-Melibiose, ∇ Isomaltose, \diamond Gentiofuranose, \times *D*-(+)-Lactose, \triangle *D*-(+)-Maltose, Δ *D*-(+)-Sucrose, \bullet *D*-(+)-Trehalose, \blacksquare Maltotriose, \diamond *D*-(+)-Glucose, \blacktriangle *D*-(+)-Mannose.

1:2-Komplexbildung zurückgeführt, die eine Behinderung der Rotation durch das Lösungsmittel verstärkt. Auch die bei hoher Saccharidkonzentration größere Viskosität soll die Stilbenfluoreszenz verstärken^[54].

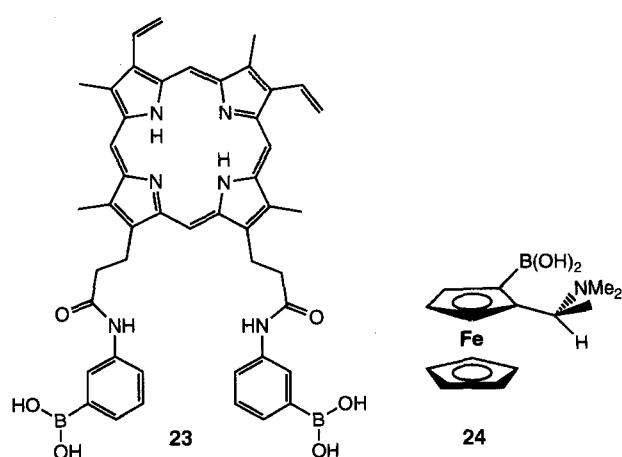
Aggregate fluoreszierender Verbindungen zeigen, hauptsächlich als Folge der „internen“ Lösung, keine Fluoreszenz. Molekülkräfte, die solche Aggregate zerstören, können deshalb eine Zunahme der Fluoreszenzintensität bewirken. Die in Dimethylformamid/Wasser gebildeten Aggregate des Porphyrins 23 konnten durch Zugabe von Sacchariden dispergiert werden^[55], was sich in einer sehr großen Fluoreszenzzunahme niederschlug. Eine geringe Saccharidselektivität wurde dabei beobachtet.



22

ungen im Fluoreszenzspektrum auf. Außerdem belegen die Assoziationskonstanten einfacher Monosaccharide eine erheblich geringere Stabilität der Saccharidkomplexe. Als Gründe für diese Stabilitätsabnahme werden sterische Faktoren zusammen mit der niedrigen Basizität der Aminogruppe von 22 angesehen.

Wie erwähnt, können Diboronsäuren Monosaccharide selektiv binden, wobei durch 1:1-Bindung ein starrer Molekülkomplex entsteht^[20–26], ein Effekt, der auch für Fluoreszenzsenso ren zum Nachweis von Disacchariden genutzt werden kann. Die Diboronsäure 6 komplexiert Disaccharide in basischem, wäßrigem Milieu selektiv unter Bildung cyclischer Komplexe, die die Fluoreszenzeigenschaften des Moleküls verändern^[24]. Angegnetes Stilben wird über eine Rotation um die Ethylen-doppelbindung strahlungslos deaktiviert. Die Hinderung dieser Rotation führt zu verstärkter Fluoreszenz^[53]. Entsprechend wird die Stilbenfluoreszenz von 6 durch Disaccharidbindung verstärkt. Für das Disaccharid Melibiose zeigt 6 höhere Selektivität als für gewöhnliche Disaccharide und manche Trisaccharide (Abb. 7). Die bei hohen Monosaccharidkonzentrationen auftretenden geringen Zunahmen der Fluoreszenzintensität werden auf eine



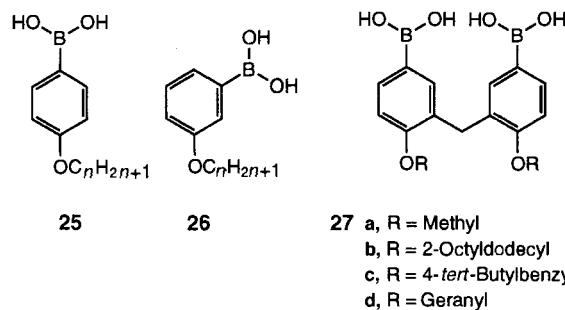
Unter praktischen Gesichtspunkten zu beachten ist, daß von den erwähnten fluoreszierenden Sensoren nur die mit einem zur Boronsäureeinheit benachbarten Stickstoffatom für den Glucosanachweis unter physiologischen Bedingungen geeignet sind, da sie in einem großen pH-Bereich funktionieren, der den physiologischen pH-Wert (ca. 7.7) einschließt.

5. Saccharidnachweis auf elektrochemischem Weg

Der elektrochemische Saccharidnachweis durch enzymatische Spaltung von Zuckern ist gut bekannt^[56]. Elektrochemisch aktive Saccharidrezeptoren auf Boronsäurebasis könnten bei einer Reihe von Sacchariden für Selektivität sorgen. Die chiralen Ferrocenboronsäurederivate (–)-24 und (+)-24 wurden synthetisiert und für den elektrochemischen Nachweis von Monosacchariden getestet^[57]. In Methanol/Wasser ergaben D-Fructose, D-Mannit und D-Sorbit mit (–)-24 Stabilitätskonstanten von 210, 150 bzw. 500 mol^{–1} dm³. Allerdings gelang mit den Isomeren (+)- und (–)-24 bisher noch keine signifikante chirale Unterscheidung; das Gebiet der elektrochemischen Erkennung durch Rezeptoren auf Boronsäurebasis ist daher noch unerforscht.

6. Saccharidnachweis an der Luft/Wasser-Grenzfläche

Molekularer Aufbau und Eigenschaften von Monoschichten sind gut untersucht^[58]. Insbesondere die ungewöhnlichen Merkmale von Langmuir-Blodgett (LB)-Filmen erregten Aufmerksamkeit. Der Druck eines LB-Films reagiert empfindlich auf Veränderungen an seinen Komponenten. Um den Effekt einer Saccharidbindung an der Luft/Wasser-Grenze zu untersuchen, wurden die Boronsäuren **25** und **26** ($n = 16$) synthetisiert.



seiert^[59]. Ihre Reaktivität gegenüber Sacchariden wurde durch Lösungsmittlextraktion (Feststoff/Lösungsmittel, neutrales Lösungsmittel/Lösungsmittel und basisches Lösungsmittel/Lösungsmittel) geprüft. Beide Verbindungen ließen sich durch Saccharide in der Reihenfolge D-Fructose > D-Glucose > D-Maltose > D-Saccharose zunehmend leichter extrahieren. Monoschichten aus **25** waren wegen ihrer kristallinen Natur instabil, was sich in nicht reproduzierbarem Oberflächendruck/Fläche (π/A)-Isothermen zeigte. Mit dem *meta*-Isomer **26** wurden hingegen reproduzierbare Ergebnisse erhalten. Durch Zugabe eines Saccharids bei pH 10 in die Subphase wurde die (π/A)-Isotherme von **26** verändert. Der größte Effekt trat bei der Komplexierung von Fructose auf (Abb. 8). Ähnlich verhielt sich das chirale Boronsäurederivat **12**^[60], das die Isomere von Fructose selektiv erkennen können sollte. Auch der Einfluß quartärer Ammoniumzentren auf die Saccharidbindung wurde untersucht^[61]. Diese erleichtern den Saccharidnachweis durch die Monoschicht bei neutralem pH-Wert, vermutlich weil zur Bo-

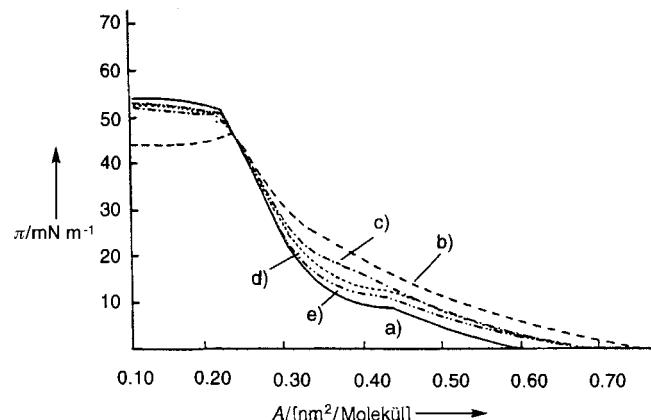


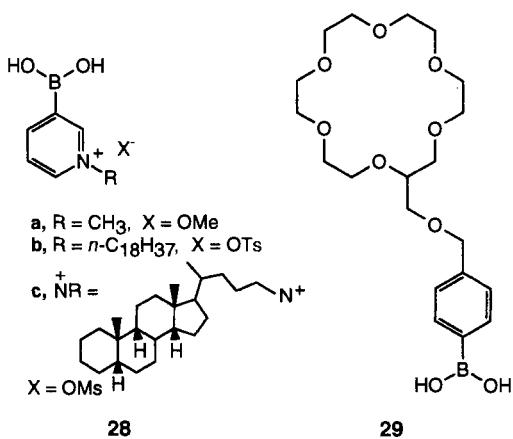
Abb. 8. Einfluß eines Saccharids auf die π/A -Isotherme einer Monoschicht von **26**. Die Saccharidkonzentration in der Subphase (pH 10.0 mit 0.20 mol dm^{–3} Carbo natpuffer) beträgt 10 mmol dm^{–3}; a) kein Saccharid, b) D-Fructose, c) D-Glucose, d) D-Maltose, e) D-Saccharose.

ronsäureeinheit benachbarte Ammonium-Ionen die Bildung des Boronat-Ions unterstützen. Ferner wurde die kooperative Bindung von Sacchariden an Monoschichten durch die Diboronsäurederivate **27 a–d** untersucht; das Bindungsverhalten stimmte mit dem in homogener Lösung überein^[62, 63]. Auch hier scheint die molekulare Erkennung durch Ammonium-Ionen (in der wässrigen Subphase) erleichtert zu werden^[63].

7. Saccharidtransport durch Membranen

Ein wirksamer Transport zuckerähnlicher, wasserlöslicher Arzneimittel durch die Zellmembran ist wesentlich für die künftige Entwicklung von Arzneimitteln. Es gibt viele biomimetische Systeme, die neutrale Verbindungen transportieren, aber nur wenige, die diese aktiv transportieren können^[64].

Die Tatsache, daß für die Bildung des Boronat-Ions ein alkalischer pH-Wert von Vorteil, ein saurer dagegen ungünstig ist, bietet die Möglichkeit, Glucose mittels eines pH-Gradienten aktiv zu transportieren. So wurden Boronsäure und ihre Derivate als Carrier für den Saccharidtransport durch Membranen eingesetzt^[65]: Beim Saccharidtransport durch Phenylboronsäurederivate wurde das Phenylboronat-Ion von hydrophoben Trioctylmethylammonium (TOMA)-Ionen, begleitet^[65]. Auch den Zuckern verwandte, biologisch wichtige Verbindungen wie Uridin wurden so effektiv transportiert^[66, 67]. Smith et al. beschrieben die Mitwirkung von Fluoridionen am Saccharidtransport^[68]. Als Grund für diese Beobachtung wurde die Bildung von Phenylfluoroboronaten^[69] angenommen. Damit besteht die Möglichkeit, Saccharid-ähnliche Verbindungen bei neutralem pH-Wert mit einem Fluoridionengradienten aktiv zu transportieren. Interessanterweise unterstützen andere Halogene den Transport nicht. Durch Einbau eines kationischen Zentrums in die Boronsäure wie in den Pyridiniumderivaten **28 a–c** könnte auf ein begleitendes Ammonium-Ion verzichtet werden. Tatsächlich transportiert die stark saure Pyridiniumboronsäure **28c** Saccharid-verwandte Verbindungen durch Membranen^[70]. Kürzlich wurde der Transport von Dopamin und verwandten Verbindungen durch den molekularen Rezeptor **29** beschrieben^[71]. In diesem Fall ist die kooperative Bindung



durch zwei Arten von Rezeptorstellen möglich. Auch der Transport von Aminosäurederivaten durch Boronsäuren ist bekannt^[72].

8. Weitere Anwendungen

Es ist bekannt, daß Boronsäurederivate bestimmte Enzyme inhibieren^[73]. Beispielsweise hemmt Phenylboronsäure die enzymatische Hydrolyse von *N*-Benzoyl-L-tyrosin-*p*-nitroanilid durch α -Chymotrypsin^[74]. Diese Inhibitorwirkung wurde durch Zugabe von Monosacchariden zum Reaktionsmedium in der Reihenfolge D-Talose > D-Fructose > D-Glucose > D-Mannose > D-Galactose verstärkt. Diese Reihenfolge unterscheidet sich von der entsprechenden Affinitätsreihenfolge. Die D-Isomere erwiesen sich als wirksamer als die L-Isomere. Ein Mittel zur Steuerung der Enzymaktivität sind dreizähnige Liganden wie **30**, die mit Boronsäuren Komplexe bilden und die Enzymaktivität wirksam regenerieren können^[75].

Chirale Polymere auf Saccharidbasis können Helices bilden. Die Diboronsäure **31** wurde mit einfachen Monosacchariden sowie mit Tetrahydroxyverbindungen polymerisiert^[76]. Die CD-Aktivität des Polymers, die sich von der monomeren Struktur **32** unterscheidet, ist ein Hinweis auf das Vorliegen einer organisierten Struktur. Bei diesem Polymer ist es unmöglich

lich festzustellen, ob es eine Kopf-Schwanz- oder eine Schwanz-Kopf-Struktur aufweist. Die Polymerbildung mit einem C_2 -symmetrischen chiralen Polyol könnte hier jedoch eine Möglichkeit zur Strukturaufklärung bieten.

Durch Prägen mit Templayen hergestellte Polymere wurden zur molekularen Erkennung eingesetzt^[77]: So wurden Boronsäure-Saccharid-Komplexe dazu verwendet, hochvernetzte Polymere mit Saccharidbindungsstellen herzustellen. Solche Systeme konnten zur Trennung von Saccharidderivaten genutzt werden^[35, 78].

Mit Boronsäureeinheiten modifiziertes Polylysin (D wie L) reagiert auf Saccharidbindung mit einer Änderung der Helixstruktur. Der Übergang des Polypeptides von der Helix zum Knäuel wird beispielsweise durch Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen oder elektrostatische Abstoßung ausgelöst^[79]. Die mit dem Polylysin verknüpfte Boronsäureeinheit bildete mit Monosacchariden Komplexe und änderte den pH-Wert des Helix-Knäuel-Übergangs^[80].

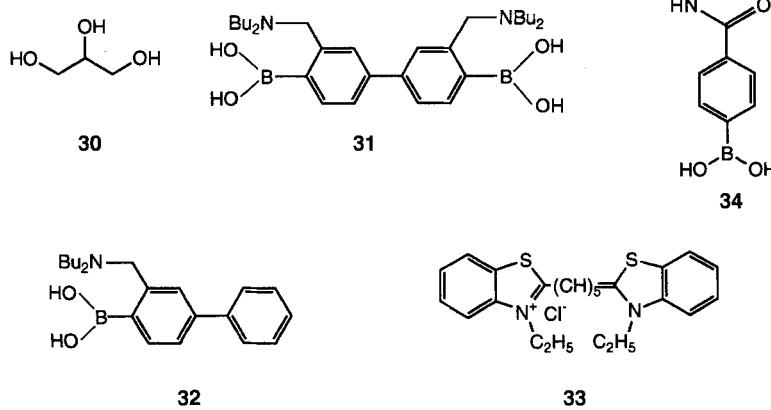
Große ionische Farbstoffe bilden mit Poly(α -aminosäuren) definierte Einschlußkomplexe^[81]. Die Komplexbildung zwischen dem Cyaninfarbstoff **33** und Boronsäure-modifiziertem Polylysin wird durch Saccharidbindung an die Boronsäureeinheit erleichtert^[82]. Die Bildung des Boronat-Ions wurde durch den Einschluß des Cyaninfarbstoffs asymmetrisch erleichtert und konnte deshalb CD-spektroskopisch verfolgt werden. Noch interessanter ist, daß sich die Farbe des polymeren Aggregats bei der Zugabe von Sacchariden änderte. Beispielsweise trat bei Zunahme der D-Fructosekonzentration von 0 auf 2.00 mmol dm⁻³ eine Farbänderung der Lösung von hellblau nach violett auf.

9. Schlußbemerkungen

Das Interesse an molekularen Saccharidrezeptoren auf Boronsäurebasis hat in den letzten Jahren gewaltig zugenommen. Wir sind davon überzeugt, daß dieses verhältnismäßig neue Gebiet in den kommenden Jahren die Aufmerksamkeit zahlreicher Wissenschaftler auf sich ziehen wird. Die Entwicklung von Saccharidrezeptoren/-sensoren auf Boronsäurebasis muß aber mit einem tiefen Verständnis der Chemie borhaltiger Verbindungen einhergehen.

TDJ dankt Dr. L. Sarson und Dr. P. Linnane für hilfreiche Ratschläge und Diskussionen bei der Erstellung dieses Manuskripts.

Eingegangen am 25. April,
veränderte Fassung am 13. November 1995 [A 113]
Übersetzt von Dr. Kathrin-Maria Roy, Langenfeld



- [1] a) M. Christophe, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 12521; b) M. F. LapPERT, *Chem. Rev.* **1956**, *56*, 959.
- [2] a) A. Michaelis, P. Becker, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1880**, *13*, 58; b) *ibid.*, **1880**, *15*, 180.
- [3] H. G. Kuivila, A. H. Keough, E. J. Soboczenski, *J. Org. Chem.* **1954**, *19*, 780.
- [4] a) J. Böesken, V. Rossem, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas Belg.* **1912**, *30*, 392; b) J. Böesken, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1913**, *46*, 2612.
- [5] G. L. Roy, A. L. Laferriere, J. O. Edwards, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1957**, *11*(4), 106.
- [6] J. P. Lorand, J. D. Edwards, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769.

- [7] J. C. Norrild, H. Eggert, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1479, zit. Lit.
- [8] Allgemeine Wasserstoffbrückenbindungssysteme: a) J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 261; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 245; b) A. D. Hamilton, D. van Engen, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5035; c) S. Goswami, A. D. Hamilton, *ibid.* **1989**, *111*, 3425; d) T. R. Kelly, P. M. Maguire, *ibid.* **1987**, *109*, 6549; e) T. R. Kelly, C. Zhao, G. J. Bridger, *ibid.* **1989**, *111*, 3744; f) M. C. Etter, T. W. Paunton, *ibid.* **1988**, *110*, 5896; g) M. C. Etter, D. A. Adsmond, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 589; h) V. Hedge, P. Madhukar, J. D. Madura, R. P. Thummel, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4549; i) T. W. Bell, L. Liu, *ibid.* **1988**, *110*, 3673; j) H. Furuta, J. L. Sessler, *ibid.* **1991**, *113*, 4706; k) A. Galan, D. Andreu, A. M. Echavarren, P. Prados, J. de Mendoza, *ibid.* **1992**, *114*, 1511.
- [9] Wasserstoffbrückenbindungssysteme für Saccharide und verwandte Verbindungen: a) Y. Aoyama, Y. Tanaka, S. Sugahara, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5397; b) Y. Tanaka, Y. Ubukata, Y. Aoyama, *Chem. Lett.* **1989**, 1905; c) Y. Kikuchi, Y. Tanaka, S. Sutarto, K. Kobayashi, H. Toi, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10302; d) K. Kobayashi, Y. Asakawa, Y. Kato, Y. Aoyama, *ibid.* **1992**, *114*, 10307; e) R. P. Bonar-Law, A. P. Davis, B. A. Murray, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1497; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1407; f) N. Greenspoon, E. Wachtel, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7233; g) K. Kano, K. Yoshiyasu, S. Hashimoto, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 801; h) C.-Y. Huang, L. A. Cabell, V. Lynch, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1900; i) C.-Y. Huang, L. A. Cabell, E. V. Anslyn, *ibid.* **1994**, *116*, 2778; j) A. V. Eliseev, H. J. Schneider, *ibid.* **1994**, *116*, 6081; k) P. B. Savage, S. H. Gellman, *ibid.* **1993**, *115*, 10448; l) G. Das, A. D. Hamilton, *ibid.* **1994**, *116*, 11139; m) J. M. Coteron, C. Vicent, C. Bosso, S. Penades, *ibid.* **1993**, *115*, 10066; n) Y. Kikuchi, K. Kobayashi, Y. Aoyama, *ibid.* **1992**, *114*, 1351.
- [10] Wasserstoffbrückenbindungssysteme zur chiralen Erkennung von Sacchariden: a) R. P. Bonar-Law, J. K. M. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 259; b) K. M. Bhattacharai, R. P. Bonar-Law, A. P. Davis, B. A. Murray, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 752; c) R. Liu, W. C. Still, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2573; d) J. Cuntze, L. Owens, V. Aleazar, P. Seiler, F. Diederich, *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 367.
- [11] L. J. Elsaas, L. E. Rosenberg, *J. Clin. Invest.* **1969**, *48*, 1845.
- [12] S. De Marchi, E. Cecchin, A. Basil, G. Proto, W. Donadon, A. Jengo, D. Schinella, A. Jus, D. Villalta, P. De Paoli, G. Santini, F. Tesio, *Am. J. Nephrol.* **1984**, *4*, 280.
- [13] P. Baxter, J. Goldhill, P. T. Hardcastle, C. J. Taylor, *Gut* **1990**, *31*, 817.
- [14] H. Yasuda, T. Kurokawa, Y. Fuji, A. Yamashita, S. Ishibashi, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, *1021*, 114.
- [15] R. N. Fedoak, M. D. Gershon, M. Field, *Gastroenterology* **1989**, *96*, 37.
- [16] T. Yamamoto, Y. Seino, H. Fukumoto, G. Koh, H. Yano, N. Inagaki, Y. Yamada, K. Inoue, T. Manabe, H. Imura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, *170*, 223.
- [17] W. Seaman, J. R. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1931**, *53*, 711.
- [18] A. D. Donald, F. Challenger, *J. Chem. Soc.* **1930**, 2171.
- [19] K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4089.
- [20] Y. Shiomi, M. Saisho, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 2111.
- [21] Y. Shiomi, K. Kondo, M. Saisho, T. Harada, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *Sup. Mol. Chem.* **1993**, *2*, 11.
- [22] K. Kondo, Y. Shiomi, M. Saisho, T. Harada, S. Shinkai, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8239.
- [23] K. Nakashima, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1994**, 1267.
- [24] K. R. A. S. Sandanayake, K. Nakashima, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1621.
- [25] T. D. James, Y. Shiomi, K. Kondo, S. Shinkai, vorgetragen auf dem XVIIIth International Symposium on Macrocyclic Chemistry **1993**, Universität Twente, Enschede, Niederlande, Abstract 94.
- [26] G. Deng, T. D. James, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4567.
- [27] T. Imada, K. Kijima, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2093.
- [28] R. G. Weiss, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 3413.
- [29] a) T. D. James, H. Kawabata, R. Ludwig, K. Murata, S. Shinkai, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 555; b) T. D. James, K. Murata, T. Harada, K. Ueda, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1994**, 273.
- [30] I. Imada, M. Murakami, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1557.
- [31] T. Nagasaki, H. Shinmori, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2201.
- [32] a) H. R. Snyder, C. Weaver, *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 232; b) H. R. Snyder, S. L. Meisel, *ibid.* **1948**, *70*, 774; c) H. Gilman, L. Santucci, D. Swayampati, R. Ranck, *ibid.* **1957**, *79*, 2898.
- [33] K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1083.
- [34] a) H. R. Snyder, M. S. Konecky, W. J. Jennarz, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3611; b) R. L. Letsinger, S. H. Dandegaonker, *ibid.* **1959**, *81*, 498; c) R. T. Hawkins, H. R. Snyder, *ibid.* **1960**, *82*, 3863.
- [35] a) G. Wulff, *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 2093; b) G. Wulff, W. Dederichs, R. Grotstollen, C. Jupe in *Affinity Chromatography and Related Techniques* (Hrsg.: T. C. J. Gribnau, J. Visser, R. J. F. Nivard), Elsevier, Amsterdam, **1982**, S. 207.
- [36] T. D. James, T. Harada, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 857.
- [37] a) A. J. Bryan, A. P. de Silva, S. A. de Silva, R. A. D. Rupasingha, K. R. A. S. Sandanayake, *Biosensors* **1989**, *4*, 169; b) R. Bissel, A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, P. L. M. Lynch, G. E. M. Maguire, K. R. A. S. Sandanayake, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, *21*, 187; c) T. D. James, P. Linnane, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, 281.
- [38] A. W. Czarnik, *Fluorescent Chemosensors Ion and Molecular Recognition*, ACS Books, Washington, **1993**; A. W. Czarnik, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 302.
- [39] J.-Y. Yoon, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5874; *Bioorg. Med. Chem.* **1993**, *1*, 267.
- [40] Y. Nagai, K. Kobayashi, H. Toi, Y. Aoyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 2965.
- [41] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 477.
- [42] A. P. de Silva, R. A. D. Rupasingha, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 1669.
- [43] Rezeptoren vom Spaltentyp wurden eingehend untersucht von J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 339.
- [44] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2287; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2207.
- [45] A. P. de Silva, K. R. A. S. Sandanayake, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1159; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1173.
- [46] K. R. A. S. Sandanayake, T. D. James, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1995**, 503.
- [47] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Nature* **1995**, *374*, 345.
- [48] M. Irie, T. Yorozu, K. Hayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2236.
- [49] D. J. Cram, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 1041; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 1039.
- [50] B. Valuer, E. Bardez, *Chem. Br.* **1995**, *31*(3), 216.
- [51] A. Minta, J. P. Y. Joseph, R. Y. Tsien, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 817.
- [52] K. R. A. S. Sandanayake, S. Imazu, T. D. James, M. Mikami, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1995**, 139.
- [53] N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, Benjamin, Menlo Park, CA, USA, **1978**.
- [54] Vgl. Zitat [25], zit. Lit.
- [55] a) H. Murakami, T. Nagasaki, I. Hamachi, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6273; b) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, 975.
- [56] W. Schuhmann, H.-L. Schmidt, *Adv. Biosensors* **1992**, *2*, 79.
- [57] A. Ori, S. Shinkai, vorgetragen beim Annual Chemical Congress, Kyoto, **1995**, Abstract 3G212.
- [58] A. Laschewsky, *Angew. Chem. Adv. Mater.* **1989**, *101*, 1606; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. Adv. Mater.* **1989**, *28*, 1574; *Adv. Mater.* **1989**, 392.
- [59] S. Shinkai, K. Tsukagoshi, Y. Ishikawa, T. Kunitake, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1039.
- [60] R. Ludwig, T. Harada, K. Ueda, T. D. James, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, 697.
- [61] R. Ludwig, K. Ariga, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1993**, 1413.
- [62] R. Ludwig, Y. Shiomi, S. Shinkai, *Langmuir* **1994**, *10*, 3195.
- [63] C. Dusemund, M. Mikami, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1995**, 157.
- [64] *Liquid Membranes: Chemical Applications*, (Hrsg. T. Araki, H. Tsukube), CRC press, Boca Raton, FL, USA, **1990**.
- [65] T. Shinbo, K. Nishimura, T. Yamaguchi, M. Sugiura, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 349.
- [66] B. F. Grotjohn, A. W. Czarnik, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2325.
- [67] G. T. Morin, M. P. Hughes, M.-F. Paugam, B. D. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8895.
- [68] M.-F. Paugam, B. D. Smith, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 3723.
- [69] a) L. Maya, *Inorg. Chem.* **1976**, *15*, 2179; b) R. E. Mesmer, A. C. Rutenberg, *ibid.* **1973**, *12*, 699; c) A. K. Sengupta, S. K. Mukherjee, *J. Ind. Chem. Soc.* **1970**, *47*, 679; d) C. Dusmond, K. R. A. S. Sandanayake, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 333.
- [70] L. M. Mohler, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2998.
- [71] M.-F. Paugam, L. S. Valencia, B. Boggess, B. D. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11203.
- [72] L. M. Mohler, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7037.
- [73] a) J. C. Powers, H. J. Wade, *Proteinase Inhibitors*, Elsevier, Amsterdam, **1986**; b) M. Philipp, M. L. Bender, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1971**, *68*, 478; c) C. A. Kettner, A. B. Shenvi, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 15106.
- [74] H. Suenaga, K. Nakashima, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 29.
- [75] H. Suenaga, K. Nakashima, M. Mikami, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1995**, 73.
- [76] M. Mikami, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 153.
- [77] G. Wulff, *Polymeric Reagents and Catalysts (ACS Symp. Ser.* **1986**, *308*, 186); *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1958; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1812.
- [78] G. Wulff, W. Vesper, *J. Chromatogr.* **1978**, *9*, 4396.
- [79] H. A. Scheraga, *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 195.
- [80] T. Nagasaki, T. Kimura, S. Arimori, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1994**, 1495.
- [81] a) H. Ihara, M. Shibata, C. Hirayama, *Chem. Lett.* **1992**, *1731*; b) L. Stryer, E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1411; c) M. Hatano, M. Yoneyama, Y. Sata, Y. Kawamura, *Biopolymers* **1973**, *12*, 2423.
- [82] T. Kimura, T. Takeuchi, T. Nagasaki, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 559.