

**Neue Untersuchungen über
Polymerisationsmechanismen von
 α -Aminosäure-N-carboxyanhydriden**

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Colin v. Lossow
aus Köln

Hamburg 2005

1. Gutachter: Prof. Dr. H. R. Kricheldorf

2. Gutachter: Prof. Dr. W.-M. Kulicke

Für Julia

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2002 bis November 2004 am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. R. Kricheldorf durchgeführt.

Danksagungen

Ich danke Herrn Prof. Dr. H. R. Kricheldorf für die Überlassung des Themas, zahlreiche Anregungen, Tipps und Diskussionen, das stete Interesse am Fortgang dieser Arbeit und für die Bereitstellung von Laboratorien, Geräten und Chemikalien.

Mein Dank gilt Herrn Dr. Gert Schwarz für die Messung der MALDI-TOF-Massenspektren und für die vielen interessanten Gespräche.

Herrn Dr. Christoph Wutz und Frau Inge Schult danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren.

Frau Clarissa Erdmann und Frau Ilona Inselmann danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und die Unterstützung bei diversen Synthesen.

Frau Dr. Lali Vakhtangishvili und Herrn Mazen Garaleh möchte ich für die stete Hilfsbereitschaft und die freundschaftliche Zusammenarbeit, die ich vermissen werde, danken.

Allen Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die geleistete Hilfe, die gute Zusammenarbeit und die zahlreichen Diskussionen.

Herrn Dr. Nicolai Nagorny danke ich für die aufopfernde Hilfsbereitschaft in fachlichen aber auch privaten Angelegenheiten.

Herrn Dr. Oliver Petermann und Herrn Prasad Khabari danke ich für die Motivation und moralische Unterstützung während der Zeit dieser Arbeit.

Meinen Eltern danke ich ganz herzlich für ihre Unterstützung während meines Studiums.

Mein besonderer Dank gilt meiner Frau Julia und meiner Tochter Sophia für ihre Geduld und Anteilnahme während der Fertigstellung dieser Arbeit.

Publikationsübersicht

Veröffentlichungen, die aus dieser Arbeit hervorgegangen sind:

Mechanism of NCA Polymerization 9

"Primary Amine-Initiated Polymerizations of Alanine-NCA and Sarcosine-NCA"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

Macromol. Chem. Phys. **205**, 918 (2004)

Macrocycles 47

"Cyclic Polysarcosines via Combined Ring-Opening Polymerization and Step-Growth Polymerization"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

Macromol. Chem. Phys., eingereicht

Mechanism of NCA Polymerization 10

"Primary Amine and Solvent-Induced Polymerizations of L- or D,L-Phenylalanine N-Carboxyanhydride"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

Macromol. Chem. Phys., in Druck

Mechanism of NCA Polymerization 11

"Cyclic Polypeptides by Solvent-Induced Polymerizations of α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides (NCAs)"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

Macromolecules, eingereicht

Mechanism of NCA Polymerization 12

"Cyclic Polypeptides by Imidazole-Initiated Polymerizations of α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

J. Polym. Sci. Part A, eingereicht

Mechanism of NCA Polymerization 13

"Cyclopeptides by tert. Amine-Initiated Ring-Opening Polymerizations of α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

Manuskript in Vorbereitung

Mechanism of NCA Polymerization 14

"Formation of Cyclic Polypeptides in thermal Polymerizations of α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides"

H. R. Kricheldorf, C. v. Lossow, G. Schwarz

Manuskript in Vorbereitung

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Ala	Alanin
AMM	activated monomer mechanism - Mechanismus über aktivierte Monomere
Bzl	Benzyl
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
ca.	circa
d	Dublett
Da	Dalton
DAD	1,12-Diaminododekan
DATT	1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridekan
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMAP	4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DP	Polymerisationsgrad
\overline{DP}	durchschnittlicher Polymerisationsgrad
et al.	et altera - und andere
etc.	et cetera - und weitere
Gl.	Gleichung
L-Glu	L-Glutaminsäure
h	hora - Stunde
iPr	isopropyl
Jh.	Jahrhundert
Leu	Leucin
m	Multiplett
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight
MDI	4,4'-Diisocyanatdiphenylmethan
MHz	Megahertz
M/I	Monomer/Initiator
M_n	zahlenmittleres Molekulargewicht
MS	Massenspektrometrie
MSA	Methansulfonsäure
N/B-Verhältnis	Nucleophilie/Basizitäts-Verhältnis
NCA	α -Aminosäure-N-carboxyanhydrid
NMP	N-Methylpyrrolidon
NMR	Nuclear Magnetic Resonance- kernmagnetische Resonanzspektroskopie

Nr.	Nummer
PE	Petrolether
Phe	Phenylalanin
ppm	parts per million
η_{inh}	inhärente Viskosität
ROP	ring-opening polymerization - ringöffnende Polymerisation
s	Singulett
Sar	Sarkosin
SBI	Sebacinsäurebisimidazolid
SHSE	Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester
t	Triplett
T	Temperatur
T_m	Schmelzpunkt
TMS	Tetramethylsilan
T_s	Siedepunkt
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMU	Tetramethylharnstoff
Val	Valin
z.B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Einführung.....	1
1.2	Biologisch abbaubare Polymere	2
1.3	Polypeptide.....	4
1.4	α -Aminosäure-N-carboxyanhydride.....	6
1.5	Polymerisation von α -Aminosäure-N-carboxyanhydriden	8
1.5.1	Amin-Mechanismus.....	9
1.5.2	Carbamat-Mechanismus.....	10
1.5.3	Polymerisation über aktivierte Monomere (AMM).....	11
1.5.4	Zwitterionischer Mechanismus.....	13
2	Problemstellung.....	15
3	Hauptteil	17
3.1	Benzylamin-initiierte Polymerisation von Sar-NCA, D,L-Ala-NCA und L-Ala-NCA	17
3.1.1	Benzylamin-initiierte Polymerisation von Sar-NCA.....	19
3.1.2	Benzylamin-initiierte Polymerisation von L-Ala-NCA.....	22
3.1.3	Benzylamin-initiierte Polymerisation von D,L-Ala-NCA.....	28
3.2	Zyklische Polysarkosine via kombinierte ringöffnende Polymerisation von Sar-NCA und anschließende Stufenwachstumspolymerisation.....	31
3.3	Polymerisation von Phenylalanin-NCA, Valin-NCA und Leucin-NCA mit primären Aminen.....	44
3.3.1	Benzylamin-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA.....	45
3.3.2	n-Hexylamin-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA.....	48
3.3.3	Anilin-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA.....	52
3.3.4	Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin	54
3.3.5	Polymerisation von Valin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin	57
3.3.6	Polymerisation von L- und D,L-Leucin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin	59

3.4	Lösungsmittel-induzierte Polymerisation.....	63
3.4.1	Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA.....	65
3.4.2	Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA.....	70
3.4.3	Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von Sarkosin-, L-Alanin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA.....	71
3.4.4	Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA.....	74
3.5	Imidazol-initiierte Polymerisationen.....	81
3.5.1	Imidazol-initiierte Polymerisationen von Phenylalanin-, Valin- und Leucin-NCA in verschiedenen Lösungsmitteln	82
3.5.2	Imidazol-initiierte Polymerisationen in 1,4-Dioxan	84
3.6	Polymerisation von α-Aminosäure-NCAs mit tertiären Aminen.....	97
3.6.1	Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs mit Pyridinen.....	102
3.6.2	Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs mit Trialkylaminen.....	111
3.7	Thermische Polymerisation von α-Aminosäure-NCAs	115
3.7.1	Thermische Polymerisation von D,L-Phenylalanin-, L-Alanin-, Sarkosin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA.....	119
3.8	Polymerisation von α-Aminosäure-NCAs in wässrigen Systemen.....	123
3.8.1	Polymerisation von Alanin-, Phenylalanin-, Valin- und Leucin-NCA in wässrigen Systemen.....	124
4	Experimenteller Teil.....	128
4.1	Chemikalien und Geräte.....	128
4.1.1	Meßmethoden und Geräte	128
4.1.2	Chemikalien und Lösungsmittel	129
4.2	Synthese der N-(Methoxycarbonyl)-aminosäuren	137
4.2.1	N-(Methoxycarbonyl)-L-alanin	137
4.2.2	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-alanin	138
4.2.3	N-(Methoxycarbonyl)-sarkosin	138
4.2.4	N-(Methoxycarbonyl)-L-phenylalanin.....	138
4.2.5	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-phenylalanin.....	138
4.2.6	N-(Methoxycarbonyl)-L-valin	138
4.2.7	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-valin	139
4.2.8	N-(Methoxycarbonyl)-L-leucin	139
4.2.9	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-leucin	139

4.3	Synthese der N-(Methoxycarbonyl)-aminosäuretrimethylsilylester.....	140
4.3.1	N-(Methoxycarbonyl)-L-alanintrimethylsilylester.....	140
4.3.2	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-alanintrimethylsilylester.....	141
4.3.3	N-(Methoxycarbonyl)-sarkosintrimethylsilylester.....	141
4.3.4	N-(Methoxycarbonyl)-L-phenylalanintrimethylsilylester.....	142
4.3.5	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-phenylalanintrimethylsilylester.....	142
4.3.6	N-(Methoxycarbonyl)-L-valintrimethylsilylester.....	143
4.3.7	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-valintrimethylsilylester.....	143
4.3.8	N-(Methoxycarbonyl)-L-leucintrimethylsilylester.....	144
4.3.9	N-(Methoxycarbonyl)-D,L-leucintrimethylsilylester.....	144
4.4	Synthese der α-Aminosäure-N-carboxyanhydride (NCA)	145
4.4.1	L-Alanin-NCA	146
4.4.2	D,L-Alanin-NCA.....	147
4.4.3	Sarkosin-NCA	147
4.4.4	L-Phenylalanin-NCA.....	147
4.4.5	D,L-Phenylalanin-NCA.....	147
4.4.6	L-Valin-NCA	148
4.4.7	D,L-Valin-NCA.....	148
4.4.8	L-Leucin-NCA.....	148
4.4.9	D,L-Leucin-NCA.....	148
4.4.10	γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA	149
4.5	Synthese der Kupplungsreagenzien.....	151
4.5.1	Synthese von Sebacinsäurebisimidazolid.....	151
4.5.2	Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester	153
4.6	Synthese der Hydantoinsäuren aus den Aminosäuren.....	153
4.6.1	Hydantoinsäure aus D,L-Phenylalanin.....	154
4.6.2	Hydantoinsäure aus D,L-Leucin.....	154
4.7	Polymersynthesen	155
5	Zusammenfassungen.....	161
5.1	Zusammenfassung der Dissertation.....	161
5.2	Summary.....	165
6	Literaturverzeichnis	169

1 Einleitung

1.1 Einführung

Der Mensch lebt heutzutage mehr denn je in einer Welt der makromolekularen Verbindungen, die zum Teil natürlichen Ursprungs sind und zum Teil synthetisch hergestellt werden. Die Natur produziert Biopolymere mit den verschiedensten Funktionen, wie z.B. Cellulose als Gerüstsubstanz oder Stärke, um Energie zu speichern. Als weitere Beispiele lassen sich die DNA als Träger der Erbinformation oder Kollagene als Faserproteine nennen. Daneben hat die Makromolekulare Chemie synthetische Polymere hervorgebracht, die eine herausragende Bedeutung für unseren heutigen Lebensstandard besitzen.

Erstaunlicherweise wurde die Makromolekulare Chemie als Wissenschaft erst spät nach dem ersten Weltkrieg voll anerkannt. Dies lag daran, dass hochmolekulare Naturstoffe zunächst als Assoziante von kleinen Molekülen angesehen wurden^[1]. Vor allem Hermann Staudinger ist es zu verdanken, dass den Polymerwissenschaften der Durchbruch gelang^[2]. Er entwickelte die grundlegenden Vorstellungen über die chemische Struktur der Makromoleküle^[3-5], die die stürmische wissenschaftliche Entwicklung und technische Produktion der Kunststoffe seit Mitte des 20. Jahrhunderts ermöglichten. Allein im Jahr 2000 betrug die weltweit hergestellte Menge an Kunststoffen 180 Millionen Tonnen^[6]. Kunststoffe lassen sich in nahezu allen Wirtschaftsbereichen einsetzen, wobei ihr jeweiliges Eigenschaftsprofil gezielt an die speziellen Anforderungen angepasst wird.

Der Einsatz von Kunststoffen anstelle alternativer Materialien verschafft aus ökologischer Sicht Vorteile, da Herstellungskosten, Müllgewicht, Energieverbrauch und Umweltbelastungen weitaus geringer sind^[7], und der Gesamtanteil am Müllaufkommen nur ca. 1 % beträgt^[8]. Trotzdem stehen wir heute vor dem Problem der Müllbeseitigung, denn die Kunststoffabfälle verrotten nicht oder nur sehr langsam. Der Anteil der Kunststoffe im städtischen Müllaufkommen beträgt z.B. 6 - 10 % des Gewichts aber 20 - 30 % des Volumens^[9].

Einen Weg zur Müllbeseitigung stellt das Kunststoffrecycling^[8,10] dar, das jedoch nicht unumstritten ist. So betragen die Kosten für das werkstoffliche Recycling ca. 1-1.5 €/kg^[11]. Zusätzlich verlieren die Polymere mit jeder Aufarbeitung an Qualität und sind deshalb praktisch kaum wieder zu vermarkten^[12]. Auch die Müllverbrennung verursacht Kosten und zusätzliche Umweltbelastungen durch Kohlendioxidproduktion und Verbrennungsrückstände, die gesondert gelagert werden müssen.

Eine alternative Methode der Müllbeseitigung besteht in der Verwendung von natürlich abbaubaren Polymeren. Diese alternativen Polymere sollen während des Gebrauchs

die an sie gestellten Anforderungen erfüllen. Anschließend zerfallen sie nach ihrer Deponierung in relativ kurzer Zeit in niedermolekulare, nicht toxische Bestandteile, die in den natürlichen Stoffkreislauf aufgenommen werden. Im Idealfall bleiben nur H₂O und CO₂ übrig^[13]. Der Abbau der Polymere kann dabei auf chemischem, biologischem oder photochemischem Weg erfolgen^[14]. Die Schwierigkeiten bei diesen Polymeren liegen vor allem in der Vereinbarkeit von Stabilität während der Nutzung und biologischer Abbaubarkeit, sowie in der Realisierung konkurrenzfähiger Herstellungskosten. Es besteht dennoch ein zunehmendes Interesse an diesen Polymeren^[12,14-21].

1.2 Biologisch abbaubare Polymere

Biologisch abbaubare Polymere zeichnen sich dadurch aus, dass sie durch Wasser (Hydrolyse) oder durch enzymatische Einwirkung an bestimmten Stellen der Polymerkette gespalten werden. Die resultierenden niedermolekularen Verbindungen werden dann auf natürlichem Wege zu nicht toxischen Substanzen weiter abgebaut, im Idealfall Wasser und Kohlendioxid^[22,23]. Im Herbst 1998 ist eine Definition über die biologische Abbaubarkeit von Kunststoffen in der Vornorm DIN V 54 900 "Prüfung der Kompostierbarkeit von Kunststoffen" gefasst worden.

Ein großes Anwendungspotential finden biologisch abbaubare Kunststoffe z.B. in der Landwirtschaft, der Fischerei oder der Verpackungsindustrie, wo sie in Form von Abdeckfolien, Schläuchen, Pflanzencontainern, Fangnetzen, Flaschen, Tüten, Folien usw. herkömmliche Kunststoffe substituieren können^[11,21,24,25] und zur Vermeidung von Kunststoffmüll beitragen. Ungünstig wirkt sich hierbei der wirtschaftliche Nachteil aus, der durch die relativ hohen Herstellungskosten gegenüber den Massenkunststoffen besteht.

Der medizinische Sektor stellt ein weiteres Einsatzgebiet für biologisch abbaubare Kunststoffe dar. Hier ergeben sich durch den Einsatz von abbaubaren Materialien wie Nahtmaterial, Implantaten, Nägeln, Schrauben und Polymermatrices für "Drug-Delivery-Systeme"^[26,27] ganz andere Perspektiven gegenüber herkömmlichen Kunststoffen. Die Herstellungskosten biologisch abbaubarer Kunststoffe treten in diesem Fall gegenüber ihren Möglichkeiten und Vorteilen in den Hintergrund, und so haben sie sich auf dem medizinischen Sektor inzwischen etabliert.

Biologisch abbaubare Polymere lassen sich in natürliche und synthetische Polymere unterscheiden. Die natürlichen wie z. B. Polypeptide oder Polysaccharide werden in biologischen Systemen in der Regel durch enzymatische Hydrolyse abgebaut^[21,28]. Synthetische Polymere werden dagegen hauptsächlich nicht-enzymatisch durch Hydrolyse zu Oligomeren und schließlich Monomeren abgebaut.

Die folgenden Tabellen enthalten einige Beispiele für enzymatisch bzw. nicht-enzymatisch abbaubare Polymere^[28].

Tabelle 1.1 Enzymatisch abbaubare Polymere

Polymer	Beispiele	Enzyme	Abbauprodukt
Polypeptide		Proteasen	α -Aminosäuren
natürliche Polypeptide	Kollagen, Gelatine, Albumin		
synthetische Polypeptide	Poly-L-alanin, Poly-L-lysin		
Polysaccharide	Amylose, Dextrane,	Amylase	Glucose
	Chitin	Lysozyme	N-Acetyl-glucosamine
Biopolyester	Poly- β -hydroxybutyrat (PHB)	Esterasen	β -Hydroxybuttersäure

Tabelle 1.2 Nicht enzymatisch abbaubare Polymere

Polymer	Beispiele	Abbauprodukt
aliphatische Polyester	Polyglykolid (PGA)	Glykolsäure
	Polylactid (PLA)	Milchsäure
	Poly- ϵ -caprolacton (PCL)	6-Hydroxycapronsäure
Polyorthoester	2,2-Diethoxytetrahydrofuran-co-1,6-hexandiol	Alkohole
Polyanhydride	Polysebacinsäureanhydrid	Sebacinsäure
Polycarbonate	Poly-(1,3-dioxan-2-on)	Trimethylenglykol
Anorganische Polymere	Polyphosphazene	Phosphorsäure, Ammoniak, usw.

Zur Gruppe der enzymatisch abbaubaren Polymere zählen auch die Polypeptide. In der Zeit zwischen 1930 und 1975 wurden Poly-(α -aminosäuren) und synthetische Copolymere von α -Aminosäuren (synthetische Polypeptide) intensiv als Modelle von natürlichen Polypeptiden und Proteinen untersucht^[29-31]. Aufgrund des gestiegenen Interesses an biologisch abbaubaren bzw. biokompatiblen Polymeren ist auch wieder das Interesse an synthetischen Polypeptiden gestiegen^[32-37].

1.3 Polypeptide

Biologische Systeme produzieren Proteine, die die Eigenschaft besitzen, komplexe Strukturen zu bilden und dabei dennoch einen hohen Ordnungsgrad aufzuweisen^[38]. Diese Copolymere sind Polypeptide, deren Eigenschaften von der präzisen Zusammensetzung und der Sequenz der Aminosäuren abhängen. Dabei ergeben sich ganz unterschiedliche Polymere, wie z.B. lösliche Globuline aber auch faserartige Proteine, wie sie in der Seide von Spinnenweben, deren Festigkeit jede synthetische Faser übertrifft^[39-41], enthalten sind.

Derzeitige Forschungsinteressen zielen darauf ab, diese natürlichen Polypeptide in ihren Eigenschaften nachzuahmen bzw. völlig neuartige synthetische Polypeptide zu entwickeln^[42]. Für derartige Polymere bestehen vielfältige Anwendungsgebiete. So können sie z.B. in der Biotechnologie für künstliche Gewebe oder Drug-Delivery-Systeme eingesetzt werden^[43-54]. Für Anwendungen als Drug-Delivery-Systeme werden auch Blockcopolymere entwickelt, die sich aus Polypeptidblöcken und Blöcken aus biologisch abbaubaren Polyestern wie Polycaprolacton oder Polylactid zusammensetzen^[35, 37, 55-67]. Eine andere Anwendungsmöglichkeit für Polypeptide ist in der Biomineralisation gegeben. Auf Oberflächen lokalisierte Polypeptide werden als Schlüsselkomponenten für die Kontrolle der Biomineralisation angesehen^[68-73]. Weitere Verwendungsmöglichkeiten bestehen im Bereich der biomedizinischen Anwendungen (Klebstoffe, Biosensoren, medizinische Analyse, Gentransport)^[70, 74-84].

Um in diesen Anwendungen erfolgreich sein zu können, müssen die Polypeptide in der Lage sein, sich selbst in präzisen Nanostrukturen anzuordnen^[42, 85-86]. Polypeptide haben gegenüber konventionellen synthetischen Polymeren den Vorteil, dass sie in der Lage sind, sich in stabilen geordneten Konformationen anzuordnen^[87-91]. Hierfür ist es wichtig, dass die synthetisierten Polymere von definierter Struktur sind und enge Molekulargewichtsverteilungen aufweisen.

In der Vergangenheit wurden chemische Polymerisationen von Aminosäuren zu hochmolekularen Polymeren von zahlreichen Nebenreaktionen beeinflusst^[32, 88, 92-96], so dass keine Kontrolle über Struktur und Verteilung vorlag, und der Einsatz dieser Materialien limitiert war^[97,98]. Neuere Synthesestrategien machen es inzwischen möglich, komplexe Polymere mit kontrollierter Molekulargewichtsverteilung herzustellen^[43].

Synthesen von Polypeptiden lassen sich in biologische und chemische unterscheiden, wobei die resultierenden Polymere grundlegend verschieden sind. Biologische Herstellungsmethoden^[42,99-100] wie die rekombinante DNA-Methode erzeugen exakte Moleküle mit definierter Kettenlänge, Sequenz und Zusammensetzung. Diese Methoden sind extrem nützlich, wenn es auf die genau definierte Struktur des

Polymers auf Monomerebene ankommt. In größeren Mengen wurden z.B. über die rekombinante DNA-Methode Enzyme, Seiden, Elastine und andere Polypeptide hergestellt^[39-41,101,102]. Nachteilig wirkt sich bei dieser Methode der hohe Aufwand bei der Genherstellung aus. Zusätzlich ist es schwierig, künstliche bzw. D-Aminosäuren in Peptide einzubauen.

Hochmolekulare Polypeptide, die über chemische Synthesen hergestellt werden, zeichnen sich dagegen durch statistische Molekulargewichtsverteilungen und limitierte Kontrolle der Sequenz aus. Diese Polymere eignen sich daher eher für Anwendungen, bei denen die Ordnung der Struktur im Nano- bis Mikrometerbereich wichtig ist^[42]. Synthetische Poly- α -aminosäuren und Polypeptide können auf zwei Wegen hergestellt werden: entweder über Polykondensation von aktivierten Aminosäuren und Oligopeptiden oder über die ringöffnende Polymerisation (ROP) von α -Aminosäure-N-carboxyanhydriden (NCA)^[31,103-105].

Die 1963 zuerst von Merrifield beschriebene Festphasenpeptidsynthese^[106,107] liefert zwar sequenzspezifische Polypeptide, eignet sich jedoch nicht zur direkten Herstellung von hochmolekularen Polymeren (>100 Aminosäureeinheiten), da durch unvollständige Entschützung und Verknüpfung Fehler in der Kette bzw. Kettenverkürzung unvermeidbar sind. Zusätzlich ist sie arbeits- und kostenintensiv, da für jeden Kettenwachstumsschritt mindestens vier Schritte durchgeführt werden müssen^[42] und teure Reagenzien verwendet werden.

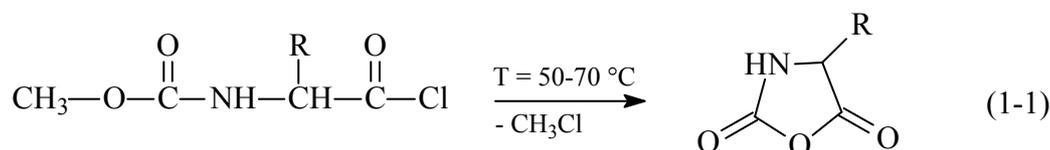
Die Methode, die das größte Potential für die Herstellung von hochmolekularen Polypeptiden besitzt, ist die Polymerisation von α -Aminosäure-N-carboxyanhydriden (NCA). Diese Methode erfordert die einfachsten Reagenzien und liefert mit guten Ausbeuten hochmolekulare Polypeptide in größeren Mengen, ohne dass Racemisierungen an den chiralen Zentren auftreten. Die Vielzahl der NCA, die bereits hergestellt wurden (>200)^[104] ermöglicht eine große Vielfalt an verschiedenen Polypeptiden. Ein zusätzlicher Vorteil dieser Methode liegt darin, dass künstliche Aminosäuren sowie D-Aminosäuren einfach in die Polymerkette eingebaut werden können. Seit Mitte des 20. Jh. ist die NCA-Polymerisation die am häufigsten angewandte Technik zur Herstellung von größeren Mengen an hochmolekularen Polypeptiden^[108]. Bei den hergestellten Polymeren handelte es sich bisher hauptsächlich um Homopolymere, statistische Copolymere und Pfropfcopolymere. Das Potential dieser Methode wird durch die Präsenz von Nebenreaktionen limitiert. Diese führen zum einen zu breiten Molekulargewichtsverteilungen, und zum anderen verhindern sie die Synthese von reinen definierten Blockcopolymeren^[42,104,105,109-114]. Außerdem ist die Kontrolle der Endgruppen für eine eventuelle anschließende Derivatisierung wichtig.

Die Eliminierung der Nebenreaktionen stellt also die größte Herausforderung in diesem Polymerisationssystem dar.

Im Folgenden wird ein Überblick über Herstellung und Polymerisationsmechanismen der NCAs gegeben.

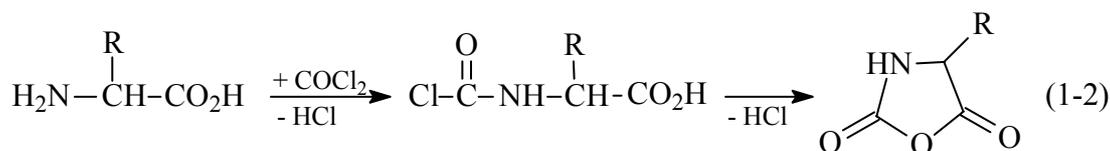
1.4 α -Aminosäure-N-carboxyanhydride

α -Aminosäure-N-carboxyanhydride wurden 1906 zuerst von Leuchs^[115-117] beschrieben. Dieser stellte bei dem Versuch, N-(Methoxycarbonyl)- bzw. N-(Ethoxycarbonyl)-aminosäurechloride destillativ zu reinigen, fest, dass bei Erwärmung im Vakuum eine Zyklisierungsreaktion stattfand, die im Ergebnis NCAs und Alkylchloride lieferte (Gl. 1-1). Hieraus entwickelte sich eine Synthesemethode für NCAs, die nach ihrem Entdecker als "**Leuchs-Methode**" benannt wurde.



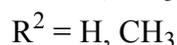
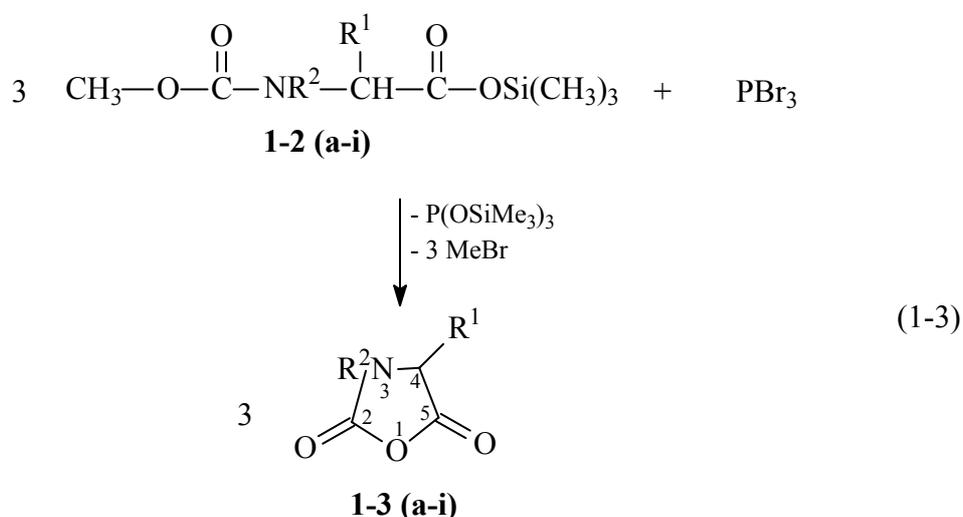
Aufgrund der relativ hohen Temperaturen, die bei der Reaktion benötigt werden, kann es bei einigen NCAs zu Zersetzungen kommen. Dies führte zu einigen Weiterentwicklungen dieser Methode. So wurden verschiedene Halogenierungsmittel bzw. verschiedene Alkylreste der Urethangruppen erprobt. Dabei stellte sich heraus, dass Aminosäurebromide reaktiver als -chloride waren^[115-120]. Des Weiteren ließ sich eine zunehmende Reaktivität bei Verwendung der folgenden Alkylreste in der Urethangruppe feststellen: Ethyl < Methyl < Allyl < Benzyl^[121]. Beispielsweise reagieren N-(Benzyloxycarbonyl)-aminosäurebromide bei niedrigeren Temperaturen als die Originalverbindungen von Leuchs^[120,121].

Eine andere Methode zur Herstellung der NCAs, die heute am meisten verbreitet ist, ist die so genannte "**Fuchs-Farthing-Methode**"^[122-129], bei der die Aminosäuren direkt mit überschüssigem Phosgen umgesetzt werden (Gl. 1-2). Die Reaktion scheint über eine N-(Chlorformyl)-aminosäure-Zwischenstufe abzulaufen^[125,130].



Alternativ kann auch Diphosgen bzw. Triphosgen in annähernd äquimolaren Mengen eingesetzt werden^[131-135]. Dies hat den Vorteil, dass Nebenreaktionen eingeschränkt werden können, die die Produktreinigung erschweren, und dass das hochgiftige, gasförmige Phosgen vermieden wird.

Die in dieser Arbeit hergestellten NCAs wurden hauptsächlich nach einer von Kricheldorf entwickelten Variante der Leuchs-Methode hergestellt^[136]. Die N-(Methyloxycarbonyl)-aminosäurebromide werden dabei über die N-(Methyloxycarbonyl)-aminosäuretrimethylsilylester **1-2 (a-i)** mit Phosphortribromid hergestellt. Zum einen sind diese Silylester gut löslich in weniger polaren Lösungsmitteln wie Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff, zum anderen wird die Freisetzung von Halogenwasserstoff vermieden, der zu Nebenreaktionen wie Racemisierungen führen kann. Beim Erhitzen zyklisieren die Säurebromide, wobei unter Methylbromidabspaltung die NCAs **1-3 (a-i)** entstehen. Diese werden nach dem Auskristallisieren unter Feuchtigkeitsausschluss abfiltriert. An der Luft neigen die polaren Moleküle dazu, Wasser zu adsorbieren, welches dann zu Nebenreaktionen bei den Polymerisationen führt^[104]. Zur Reinigung werden die NCAs mehrfach in trockenem 1,4-Dioxan unter Aktivkohlezusatz umkristallisiert, bis sich mit AgNO₃ kein Bromid mehr nachweisen lässt^[136]. Die Reaktionsgleichung dieser Synthese ist in Gleichung 1-3 dargestellt.



Die Polymerisation dieser NCAs kann auf verschiedene Arten initiiert werden. Der folgende Abschnitt behandelt die unterschiedlichen Reaktionsmechanismen dieser Polymerisationen.

1.5 Polymerisation von α -Aminosäure-N-carboxyanhydriden

α -Aminosäure-N-carboxyanhydride besitzen vier reaktive Gruppen. Die beiden Carbonylgruppen CO-2 und CO-5 besitzen einen elektrophilen Charakter. Die NH- und CH-Gruppe reagieren dagegen nach Deprotonierung nucleophil. Aus diesen strukturellen Eigenschaften resultiert eine komplexe Chemie, die zu lang anhaltenden Diskussionen über die Polymerisationsmechanismen geführt hat^[105].

Als Initiatoren können protische Nucleophile^[110,137-145], Tertiäre Amine^[146-150], Metallsalze (z.B. Lithiumchlorid, Natriummethoxid u.a.)^[151-153] oder Organometallverbindungen (Butyllithium, Diethylzink, Tributylaluminium u.a.)^[33,42,112,154-159] eingesetzt werden, wobei aus dieser Reihe die Amin-Initiatoren am häufigsten verwendet wurden.

Die Initiatoren können anhand von drei Kriterien klassifiziert werden.

1. Die Stelle, an der das NCA vom Initiator angegriffen wird.
2. Reaktivität des Initiators relativ zum aktiven Kettenende.
3. Eingliederung des Initiators in die Peptidkette durch Bildung einer kovalenten Bindung, die zu einem "toten" Kettenende führt.

In Bezug auf Punkt 1 reagieren z. B. Wasser, Alkohole und Primäre Amine identisch. Sie greifen das NCA nucleophil an der CO-5-Carbonylgruppe an (Gl. 1-4), zumindest bei einem Monomer/Initiator-Verhältnis (M/I-Verhältnis) > 1 . Bei sekundären Aminen, tertiären Aminen und Anionen hängt der Initiierungsschritt vom Nucleophilie/Basizitäts-Verhältnis (N/B-Verhältnis) des Initiators ab. Dieses wird zum einen durch die Basizität bestimmt, zum anderen beeinflusst die sterische Hinderung der Substituenten am Initiator dessen Nucleophilie. Aliphatische und aromatische Amine mit kleinen Substituenten wie z.B. Dimethylamin oder Piperidin, die ein großes N/B-Verhältnis besitzen, reagieren nucleophil. Sterisch stark gehinderte Amine wie z.B. Diisopropylamin reagieren dagegen aufgrund ihres niedrigen N/B-Verhältnisses basisch und deprotonieren das NCA an der NH-Gruppe (bei N-unsubstituierten NCAs), wodurch ein anderer Polymerisationsmechanismus eingeleitet wird.

In Bezug auf Punkt 2 sind Wasser, Alkohole, und aromatische Amine weniger nucleophil als das aktive Kettenende. Der Initiierungsschritt ist in diesem Fall langsamer als die Kettenwachstumsschritte, was zu einem höheren mittleren Polymerisationsgrad führen kann als durch das M/I-Verhältnis zu erwarten wäre. Primäre aliphatische Amine und sterisch ungehinderte sekundäre Amine sind dagegen nucleophiler als das aktive Kettenende. Diese Initiatoren werden daher quantitativ in die Polymerketten eingebaut und die mittleren Polymerisationsgrade lassen sich, wenn nahezu quantitative Umsätze erzielt werden können, über das M/I-Verhältnis steuern

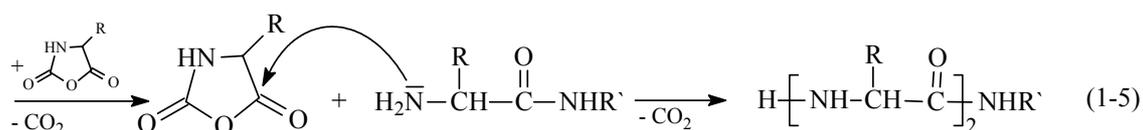
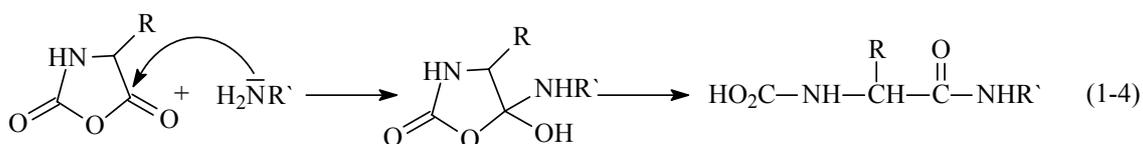
(zumindest für $M/I < 150$). Trotzdem resultieren auch in diesem Fall aus der "lebenden Polymerisation" der NCAs nicht zwingend enge Molekulargewichtsverteilungen.

Hinsichtlich Punkt 3 haben Wasser, Alkohole, primäre und die meisten sekundären Amine gemeinsam, dass sie nicht-reaktive Endgruppen der Peptidkette durch kovalente Bindung bilden können.

Nucleophiler sowie basischer Angriff auf das NCA führen also zu unterschiedlichen Mechanismen, die im Folgenden erläutert werden.

1.5.1 Amin-Mechanismus

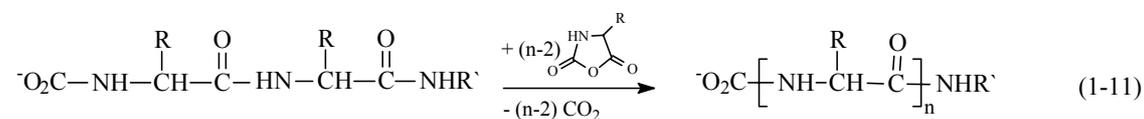
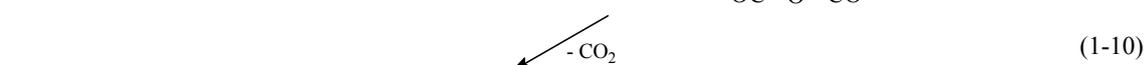
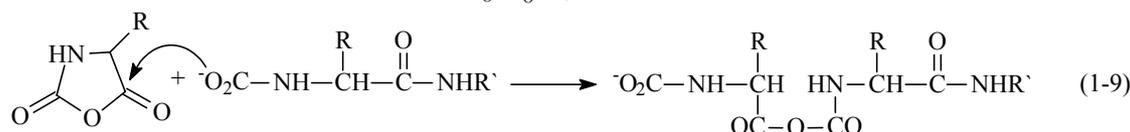
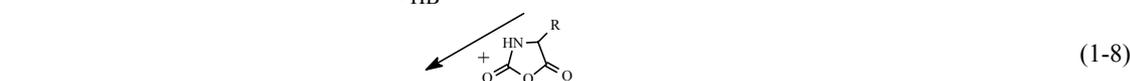
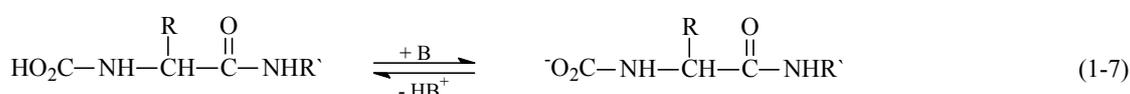
Erfolgt ein nucleophiler Angriff, so lassen sich je nach Art des reaktiven Kettenendes zwei verschiedene Mechanismen unterscheiden. In den Gleichungen 1-4 bis 1-6 ist der so genannte **Amin-Mechanismus** gezeigt. Dieser wurde zuerst von Wessely et al.^[160-164] und Watson et al.^[165] beschrieben.



Hierbei erfolgt zunächst der nucleophile Angriff auf das NCA. Nach diesem ringöffnenden Schritt wird die entstehende Carbaminsäure decarboxyliert, und es entsteht eine Aminogruppe als reaktives Kettenende. Das weitere Kettenwachstum erfolgt durch die analoge Reaktion dieser Aminogruppe mit dem NCA.

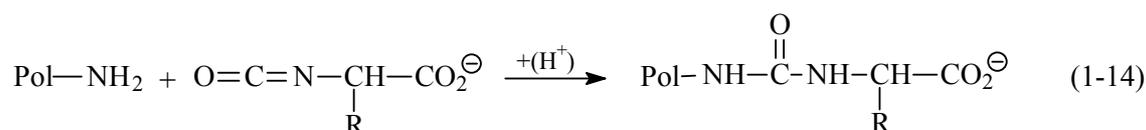
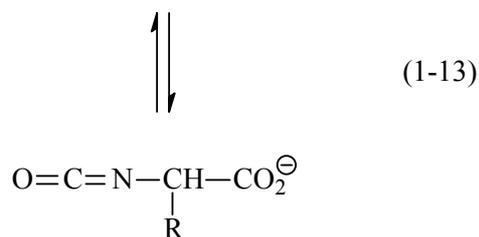
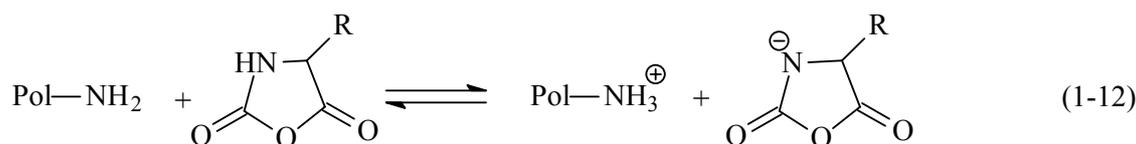
1.5.2 Carbamat-Mechanismus

Von Idelson und Blout^[110] wurde ein anderer Mechanismus beschrieben. In Anwesenheit von ausreichend basischen Gruppen, wie es z.B. der Initiator oder die Amino-Endgruppe der wachsenden Kette selbst sein können, kann es zu einer Deprotonierung der entstehenden Carbaminsäure kommen, wodurch diese als Carbamat stabilisiert wird. Die Initiierung durch ein nicht-protisches Nucleophil erzeugt ebenfalls Carbamat-Endgruppen. Das Kettenwachstum wird in diesem Fall durch Angriff des Carbamations auf weitere NCAs fortgeführt. Dieser als **Carbamat-Mechanismus** bezeichnete Ablauf ist in den Gleichungen 1-7 bis 1-11 gezeigt.



Da Deprotonierung der Carbaminsäure sowie Protonierung des Carbamats reversible Schritte sind, können beide Mechanismen nebeneinander stattfinden. Welcher der beiden Mechanismen überwiegt hängt für jede individuelle Polymerisation von den Reaktionsbedingungen wie Temperatur, Lösungsmittel, CO₂-Druck^[166] und Protonenkonzentration ab. Für die präparative Anwendung spielt es jedoch keine Rolle, in welchem Ausmaß der Carbamat-Mechanismus beteiligt ist^[105].

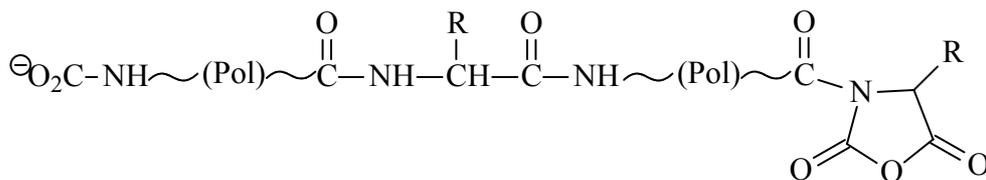
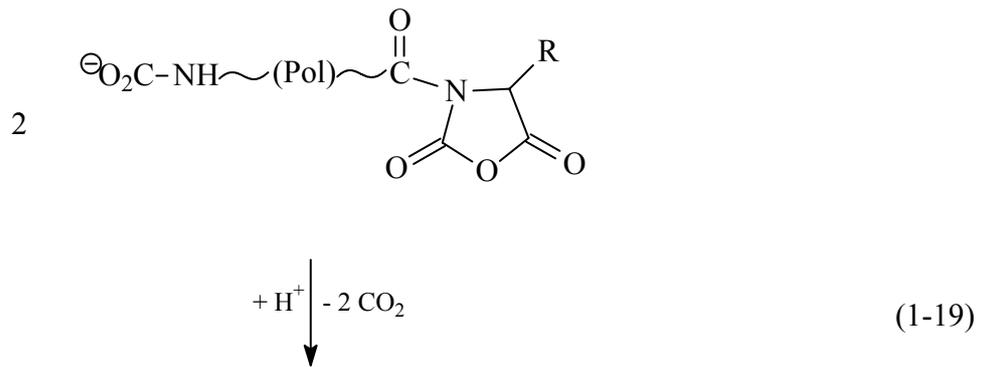
Der Amin-Mechanismus verläuft nur dem Anschein nach als "lebende Polymerisation". Das Auftreten von Nebenreaktionen führt zu Terminierungen, die das Erreichen hoher Molekulargewichte (DP > 150) verhindern. Eine mögliche Nebenreaktion ist z.B. die Bildung von Hydantoin säure-Endgruppen.^[167-169] Das basische Amin-Kettenende deprotoniert ein NCA-Molekül, das sich daraufhin in ein α-Isocyanatcarboxylat umlagern kann. Durch Reaktion mit einem aktiven Kettenende entsteht daraus eine Hydantoin säure-Endgruppe, die keine weitere Polymerisation eingeht. Der Ablauf dieser Reaktion ist in den Gleichungen 1-12 bis 1-14 gezeigt.



Eine andere mögliche Abbruchreaktion, die allerdings auf alle Mechanismen zutrifft, ist die Bildung von β -Faltblatt-Strukturen. Diese können für den "physikalischen Tod" des aktiven Kettenendes verantwortlich sein.

1.5.3 Polymerisation über aktivierte Monomere (AMM)

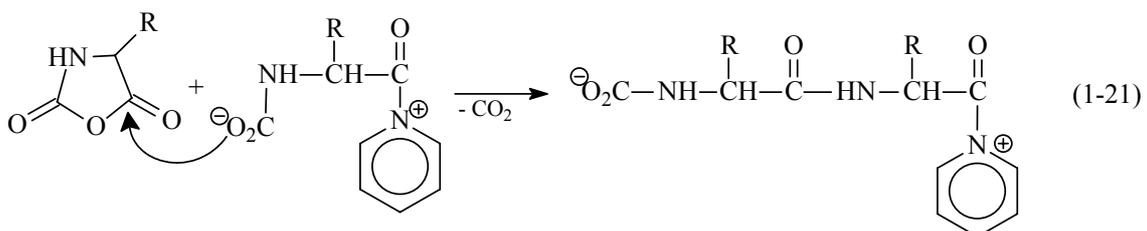
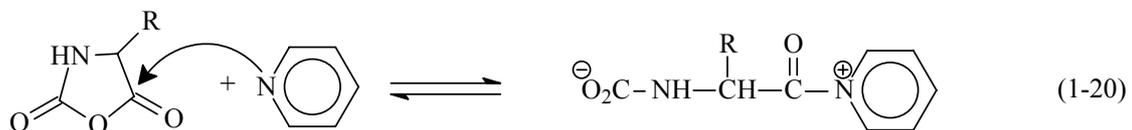
Wird die Polymerisation jedoch nicht durch ein protisches Nucleophil initiiert, sondern durch einen Initiator, der basisch reagiert, wie z.B. sterisch gehinderte sekundäre und tertiäre Amine, so wird im ersten Schritt die NH-Gruppe an einem NCA-Molekül deprotoniert^[170,171]. Das entstandene NCA-Anion reagiert nun selbst nucleophil und greift ein weiteres NCA-Molekül an. Es entsteht ein N-Acyl-NCA, das noch empfänglicher für einen nucleophilen Angriff ist als das NCA selbst. In den folgenden Wachstumsschritten reagieren die NCA-Anionen bevorzugt mit den vorhandenen N-Acyl-NCA. Dieser Mechanismus, der von Bamford et al.^[139,148,172] entwickelt wurde und über die aktivierten Monomere abläuft, wird als **AMM** bezeichnet (abgeleitet von activated monomer mechanism). Der Ablauf wird in den Gleichungen 1-15 bis 1-18 noch einmal verdeutlicht.



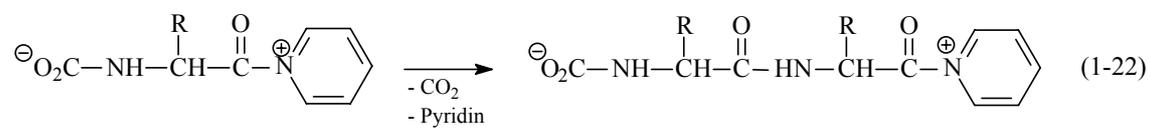
Sieht man von nucleophilen Verunreinigungen ab, so ist die Zyklisierung die einzige bewiesene Abbruchreaktion, die das Wachstum der difunktionellen Peptidketten komplett stoppt^[171].

1.5.4 Zwitterionischer Mechanismus

Ein weiterer Mechanismus kann von den schwächer basischen, nucleophileren tertiären Aminen wie z.B. den Pyridinen bevorzugt werden. Dies ist der Zwitterionische Mechanismus^[105]. Hierbei ist der erste Schritt die heterolytische Spaltung des NCAs, bei der ein Zwitterion gebildet wird (Gl. 1-20). Dieses Zwitterion kann wiederum die anionische Polymerisation über den Carbamat-Mechanismus einleiten (Gl. 1-21 und Carbamat-Mechanismus Gl. 1-9 bis 1-11).



Ein weiterer Wachstumsmechanismus der Zwitterionen ist deren Polykondensation, wie sie von Wieland^[173] vorgeschlagen wurde (Gl. 1-22).



Der AMM und der zwitterionische Mechanismus haben gemeinsam, dass bei ihnen difunktionelle Ketten vorliegen. Auch in letzterem Fall stellt die Zyklisierung der difunktionellen Ketten eine Abbruchreaktion dar.

2 Problemstellung

Die Polymerisation von NCAs wurde besonders in der zweiten Hälfte des 20. Jh. von zahlreichen Gruppen untersucht^[104,105]. Die Ergebnisse führten zu einem umfangreichen Verständnis dieser Chemie, aus dem heraus die grundlegenden Polymerisationsmechanismen und auch Nebenreaktionen formuliert werden konnten. Dennoch mangelte es in dieser Zeit teilweise an leistungsfähigen Analysemethoden, um alle Reaktionen nachweisen zu können. So konnten z.B. zyklische Polypeptide, die Aufschluss über mechanistische Vorgänge geben, in den meisten Fällen nicht detektiert werden, da sie nahezu die gleichen Eigenschaften wie lineare Polypeptide besitzen und, ebenso wie diese, in den meisten organischen Lösungsmitteln unlöslich sind.

Mit der MALDI-TOF-MS steht heute eine Analysemethode zur Verfügung, die einen tieferen Einblick in die Vorgänge bei der Polymerisation erlaubt. Anhand der auftretenden Produkte und ihrer Verteilung können Rückschlüsse auf das Reaktionsgeschehen gezogen werden.

In dieser Arbeit sollten nun bei verschiedenen, hauptsächlich Amin-initiierten Polymerisationssystemen die dort stattfindenden mechanistischen Vorgänge anhand des Produktspektrums und der auftretenden Verteilungen untersucht werden. Dabei sollte neben ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie und Viskositätsmessungen hauptsächlich die MALDI-TOF-Massenspektrometrie als Analysemethode eingesetzt werden, um die Reaktionsprodukte zu charakterisieren.

Folgende Zielsetzungen dieser Arbeit lassen sich getrennt formulieren.

1. Untersuchung der durch primäre Amine initiierten Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs.
2. Untersuchung der Kettenverlängerung telecheler Polysarkosinblöcke mit verschiedenen Kupplungsreagenzien.
3. Es sollte eine kinetisch kontrollierte ringöffnende Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs gefunden werden, die sich selbst in eine kinetisch kontrollierte Polykondensation transformiert. Dabei sollte die Möglichkeit der Herstellung zyklischer Peptide, die sich aufgrund der Konkurrenz von Kettenwachstum und Zyklisierung ergibt, überprüft werden.
4. Untersuchung der durch tertiäre Amine initiierten Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs.
5. Untersuchung thermisch induzierter Polymerisationen von α -Aminosäure-NCAs.

6. Untersuchung der Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs in wässrigen Systemen.

Für die Charakterisierung der synthetisierten Verbindungen und Polymere wurden folgende analytische Messmethoden herangezogen:

- ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie
- Viskosimetrie
- MALDI-TOF-Massenspektrometrie
- Infrarotspektroskopie (IR)
- Elementaranalyse

3 Hauptteil

3.1 Benzylamin-initiierte Polymerisation von Sar-NCA, D,L-Ala-NCA und L-Ala-NCA

Die Polymerisation von NCAs (Gl. 1-4 bis 1-6) mit primären Aminen ist eine oft angewandte Methode, da sie die Kontrolle über die Endgruppen sowie, bei ausreichender Löslichkeit der Polypeptidketten, auch eine Kontrolle der durchschnittlichen Polymerisationsgrade (\overline{DP}) über das M/I-Verhältnis erlaubt.

Experimentelle Beobachtungen lassen dennoch darauf schließen, dass dieser scheinbar einfache Reaktionsmechanismus von einigen Nebenreaktionen begleitet wird. So können z.B. Zyklisierungsreaktionen stattfinden, falls andere Mechanismen wie z.B. der AMM zum Zug kommen, oder das Kettenwachstum wird, wie in den Gleichungen 1-12 bis 1-14 gezeigt, durch Bildung von Hydantoinsäure-Endgruppen gestoppt.

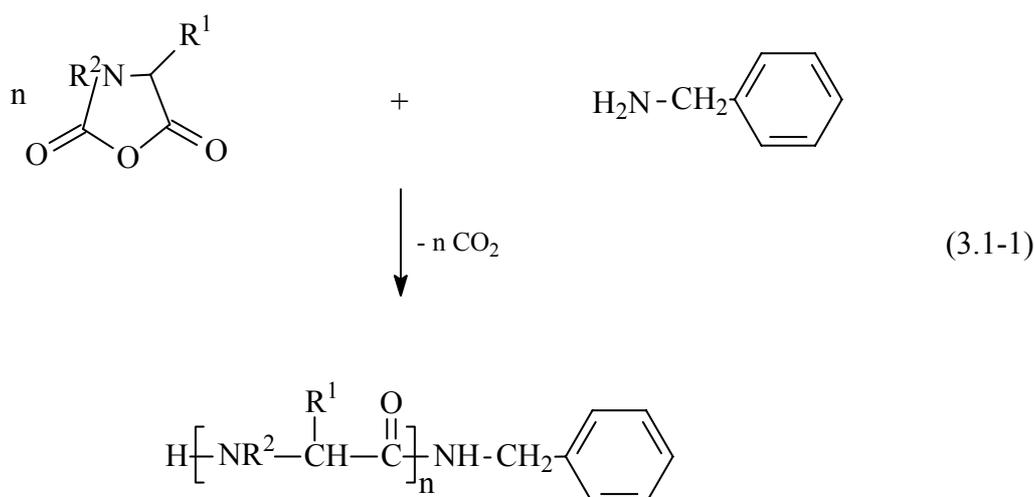
In vorhergehenden mechanistischen Studien stand die MALDI-TOF-Massenspektrometrie noch nicht zur Verfügung, und mit den vorhandenen analytischen Methoden ließen sich untergeordnete Nebenreaktionen nicht detektieren. Für die präparative Anwendung ist es jedoch in einigen Fällen wichtig, Nebenreaktionen, die zu veränderten Endgruppen führen, zu kennen. Dies ist dann der Fall, wenn reaktive Endgruppen zur Modifikation der Peptidketten wie z.B. Kettenverlängerung benutzt werden sollen.

Aus diesem Grunde sollte hier noch einmal die durch ein primäres Amin initiierte Polymerisationen von drei verschiedenen NCAs durchgeführt werden, um mithilfe der MALDI-TOF-MS die Endgruppen bzw. zyklische Peptide zu identifizieren und die Molekulargewichtsverteilungen charakterisieren zu können. $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung und Bestimmung der inhärenten Viskositäten der Produkte sollten dabei ebenfalls Aufschluss über die Produkte bringen.

Für diese Versuchsreihe wurden die NCAs der drei isomeren α -Aminosäuren Sarkosin, D,L-Alanin und L-Alanin gewählt. Diese sollten relativ ähnliche Molekulargewichtsverteilungen ergeben. Zusätzlich nimmt die Löslichkeit der Polypeptidketten in organischen Lösungsmitteln von Polysarkosin über Poly-D,L-alanin zu Poly-L-alanin hin ab, so dass hieraus resultierende Einflüsse untersucht werden können. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass das reaktive Kettenende des Polysarkosins eine etwas geringere Nucleophilie besitzt als das der Polyalanine. Dies kann ebenfalls zu unterschiedlichen Nebenreaktionen führen.

Als Initiator wurde für diese Polymerisationen Benzylamin gewählt. Dieses zeigt ein annähernd gleiches nucleophiles und basisches Verhalten wie α -Aminosäurederivate, also auch wie das reaktive Kettenende bei diesen Polymerisationen. Zusätzlich erweist es sich als günstig, dass die Protonensignale von Benzylamin im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine Überlappungen mit denen der Wiederholungseinheiten von Polysarkosin bzw. Polyalanin aufweisen.

Gleichung 3.1-1 zeigt die für diese Versuchsreihe zu erwartende Polymerisationsreaktion, die primär nach dem Amin-Mechanismus ablaufen sollte.



3.1-1 (a-c)

(a) Sarkosin: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{CH}_3$

(b) L-, (c) D,L-Alanin: $\text{R}^1 = \text{CH}_3, \text{R}^2 = \text{H}$

Bei den Polymerisationen wurden die M/I-Verhältnisse 20, 40 und 80 vorgegeben, um zu sehen, ob der durchschnittliche Polymerisationsgrad vom M/I-Verhältnis abhängt. Diese relativ niedrigen Werte wurden gewählt, um Molmassenverteilungen in einem Massenbereich zu erhalten, der eine zuverlässige Charakterisierung über die MALDI-TOF-MS zulässt. Als Lösungsmittel wurden CH_2Cl_2 , 1,4-Dioxan und DMF gewählt. Diese sind polar genug, um die Monomere zu lösen und lassen sich zusätzlich leicht trocknen. Außerdem wurden sie in den letzten Jahren am häufigsten für die Polymerisation von NCAs eingesetzt.^[29,30,43,97,103-105]

Zur Durchführung der Polymerisationen wurden die Monomere in den verschiedenen Lösungsmitteln gelöst. Der Initiator wurde jeweils in der entsprechenden Menge eingespritzt und mit der Lösung vermischt. Nach Verschließen der Reaktionsgefäße mit CaCl_2 -Trockenrohren wurden diese bei Raumtemperatur für 2 d stehengelassen.

Die Polymere wurden mittels MALDI-TOF-MS, $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und durch Bestimmung der inhärenten Viskosität analysiert.

Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Polymerisationen geschildert.

3.1.1 Benzylamin-initiierte Polymerisation von Sar-NCA

Die **Tabelle 3.1.1** zeigt die Ergebnisse der verschiedenen Polymerisationen von Sar-NCA.

Tabelle 3.1.1 Polymerisation von Sarkosin-NCA mit Benzylamin bei 20 °C (2 d)

Polymer Nr.	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{a)}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{b)}$
1	20	CH_2Cl_2	91	0.08	19
2	20	1,4-Dioxan	88	0.08	18
3	20	DMF	81	0.07	20
4	40	CH_2Cl_2	85	0.11	44
5	40	1,4-Dioxan	75	0.10	38
6	40	DMF	88	0.11	45
7	80	CH_2Cl_2	88	0.16	85
8	80	1,4-Dioxan	65	0.12	55
9	80	DMF	93	0.14	76

a) gemessen in Ameisensäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

b) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (gemessen in DMSO-d_6)

Betrachtet man diese Ergebnisse, so fällt zunächst auf, dass bei Polymer Nr. 8 Ausbeute, inhärente Viskosität und durchschnittlicher Polymerisationsgrad relativ niedrig sind. Dies deutet darauf hin, dass hier bei weitem kein vollständiger Umsatz erzielt wurde. Diese Interpretation wird dadurch unterstützt, dass bei einem M/I-Verhältnis von 40 ebenfalls in 1,4-Dioxan (Polymer Nr. 5) die geringste Ausbeute erhalten wurde. Die Ausbeuten der übrigen Polymerisationen fallen deutlich höher aus. Dies korreliert mit der Tatsache, dass die Löslichkeit der Polysarkosine innerhalb dieser Lösungsmittelreihe in 1,4-Dioxan am geringsten ist. Hier fiel schon Sekunden nach dem Einspritzen des Initiators das entstehende Polysarkosin aus, wodurch die Anzahl in Lösung befindlicher aktiver Kettenenden verringert wurde. Dieser Effekt führt anscheinend zu längeren Reaktionszeiten bis zum vollständigen Umsatz des

Monomers. Als übergeordneten Trend lassen sich dennoch steigende Molekulargewichte mit steigendem M/I-Verhältnis feststellen.

Die durchschnittlichen Polymerisationsgrade wurden im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aus einem Signal bei 6.75 – 6.80 ppm (in DMSO-d_6 gemessen), das den aromatischen Protonen der Benzylamid-Endgruppe entspricht, ermittelt. Es zeigt sich dabei, dass die experimentellen Werte relativ gut mit den aus den vorgegebenen M/I-Verhältnissen zu erwartenden Werten übereinstimmen. Der Fehler liegt dabei in einem Bereich von $\pm 10\%$.

Weitere interessante Ergebnisse lassen sich aus der Analyse der MALDI-TOF-Massenspektren der Polysarkosine ableiten. So ergeben sich für alle Lösungsmittel, wie in den Abbildungen 3.1.1 und 3.1.2 exemplarisch gezeigt, enge Molekulargewichtsverteilungen für die isolierten Polysarkosine.

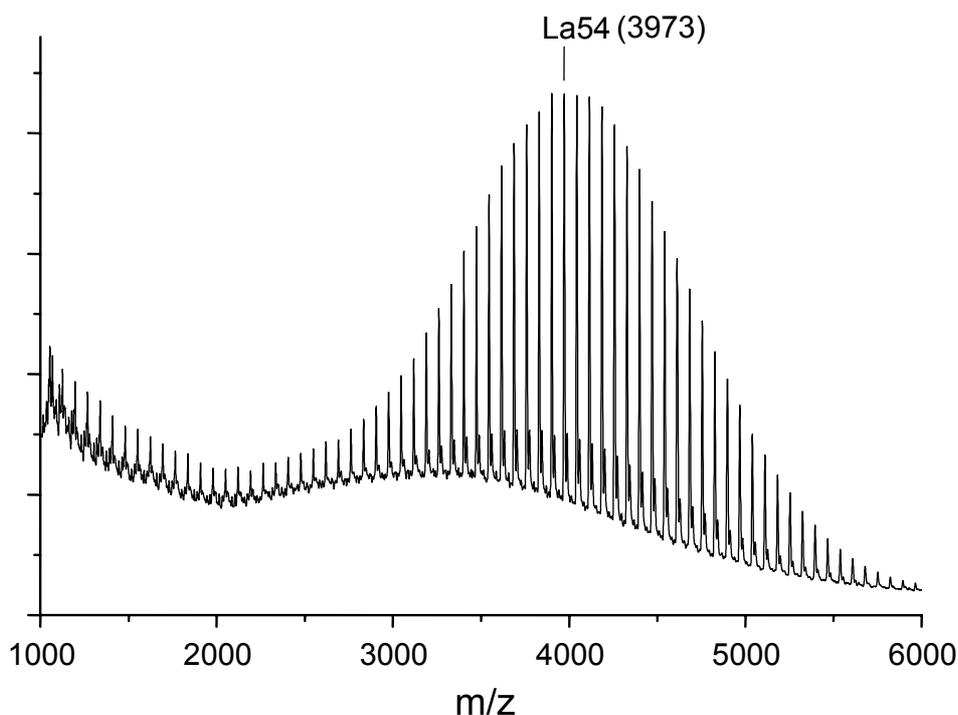


Abb. 3.1.1 MALDI-TOF-Massenspektrum des in Dichlormethan synthetisierten Polysarkosins Nr. 7 (H^+ -gedopt), La = lineare Polymere der Struktur **3.1-1a**

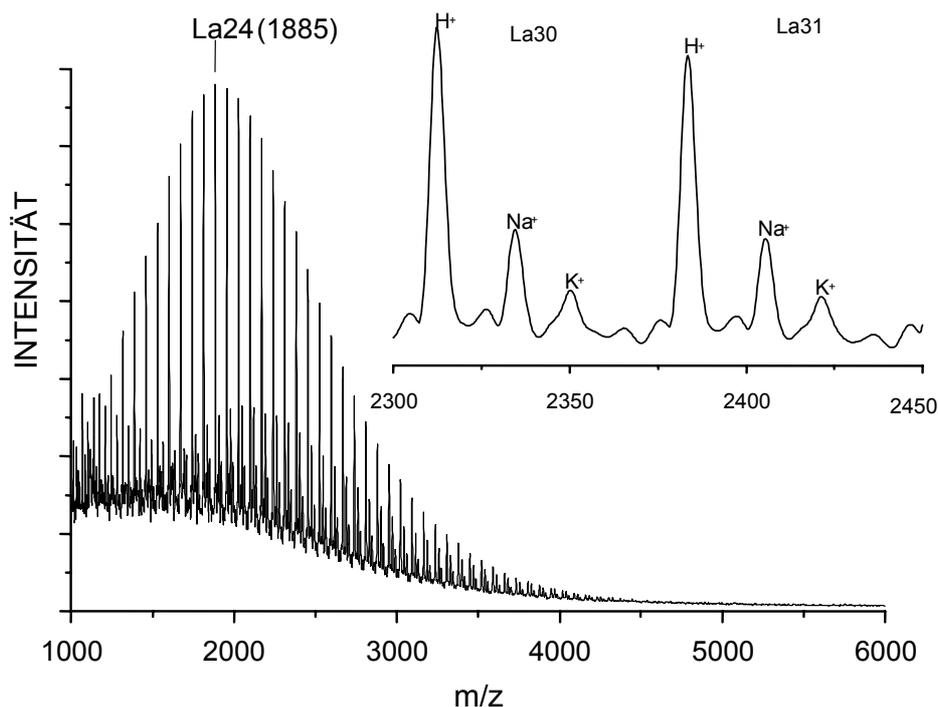


Abb. 3.1.2 MALDI-TOF-Massenspektrum des in 1,4-Dioxan synthetisierten Polysarkosins Nr. 8 (H⁺-gedopt), La = lineare Polymere der Struktur **3.1-1a**

Die Maxima der Verteilungskurven variieren mit den M/I-Verhältnissen und korrespondieren näherungsweise mit den Zahlenmitteln der Molekulargewichte der isolierten Polymere. In den MALDI-TOF-Massenspektren spiegeln sich auch die niedrigen Viskositäten und \overline{DP} wider, wie in der Abbildung 3.1.2 zu sehen ist.

Bei der Vorbereitung der Proben für die Messungen wurde zunächst Kaliumtrifluoracetat als Kationisierungsreagenz zugesetzt. Dies führte zu Spektren, in denen neben den K⁺-gedopten Ketten auch noch die Na⁺- und H⁺-gedopten Ketten auftraten. Die in den Abbildungen 3.1.1 und 3.1.2 gezeigten Spektren ergaben sich nach Wiederholung der Messungen ohne Kationisierungsreagenz. In diesem Fall zeigten sich hauptsächlich H⁺-gedopte Ketten. Daneben traten noch schwache Na⁺-gedopte Peaks auf.

Unabhängig vom Doping zeigen jedoch alle Spektren ausschließlich die erwarteten Amin-terminierten Polymerketten der Struktur **3.1-1a**, die sich aus der Reaktion in Gleichung 3.1-1 ergeben. Andere eventuell durch Nebenreaktionen erzeugte Produkte waren nicht nachweisbar.

3.1.2 Benzylamin-initiierte Polymerisation von L-Ala-NCA

Da L-Ala-NCA nicht ausreichend löslich in CH_2Cl_2 ist, wurden in dieser Reihe nur sechs Polymerisationen in 1,4-Dioxan und DMF durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Polymerisationen sind in der Tabelle 3.1.2 aufgeführt.

Tabelle 3.1.2 Polymerisation von L-Ala-NCA mit Benzylamin bei 20 °C (2 d)

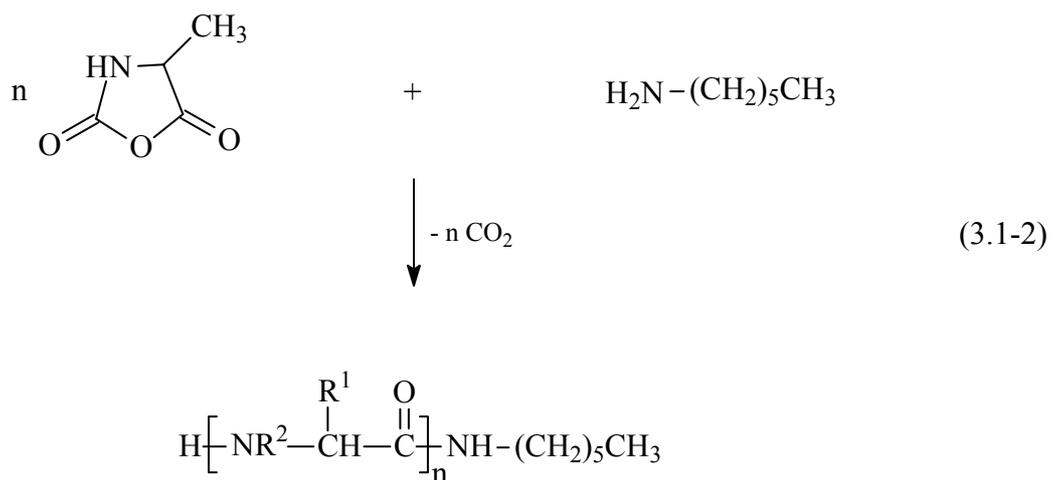
Polymer Nr.	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{a)}}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{b)}}$
10	20	1,4-Dioxan	96	0.28	22
11	20	DMF	93	0.18	22
12	40	1,4-Dioxan	98	0.50	44
13	40	DMF	92	0.30	40
14	80	1,4-Dioxan	97	0.91	75
15	80	DMF	88	0.50	71

a) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

b) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (gemessen in TFA/DMSO- d_6)

Die Umsätze sind in diesem Fall sehr hoch, wie an den hohen Ausbeuten, die bis auf die des Polymer Nr. 15 deutlich über 90 % liegen, zu sehen ist. Die inhärenten Viskositäten zeigen zwei erkennbare Trends. Zum einen steigen sie mit zunehmendem M/I-Verhältnis an, und zum anderen sind trotz ähnlich hoher Ausbeuten und auch Umsätze die Werte der Polymerisationen in DMF deutlich niedriger als in 1,4-Dioxan. In DMF treten also offensichtlich Nebenreaktionen auf, die zu niedrigeren Molmassen führen. Einige Polymerisationen werden nicht durch Benzylamin sondern anderweitig initiiert. Dabei lässt sich jedoch in diesem Fall Wasser als Verunreinigung ausschließen, da das DMF über P_4O_{10} destilliert worden war.

Die Ermittlung der durchschnittlichen Polymerisationsgrade aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erwies sich im Fall der Polyalanine zunächst als irritierend. Trotz der hohen Umsätze ergaben sich \overline{DP} -Werte, die nur der Hälfte der nach den vorgegebenen M/I-Verhältnissen zu erwartenden Polymerisationsgrade entsprachen. Bei nahezu quantitativem Umsatz wären dies unrealistische Ergebnisse. Um dieses Problem zu lösen, wurden zum Vergleich drei Polymerisationen von D,L-Ala-NCA in DMF mit den M/I-Verhältnissen 20, 40 und 80 durchgeführt. Als Initiator wurde in diesem Fall n-Hexylamin eingesetzt (Gl. 3.1-2).



3.1-2

Die Tabelle 3.1.3 zeigt die Ergebnisse dieser Polymerisationen.

Tabelle 3.1.3 Polymerisation von D,L-Ala-NCA mit n-Hexylamin bei 20 °C (4 d)

Polymer Nr.	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{a)}}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{b)}}$
16	20	DMF	96	0.14	18
17	40	DMF	97	0.18	36
18	80	DMF	90	0.2	66

a) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

b) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (gemessen in TFA/ DMSO- d_6)

In diesem Fall ergeben sich aus der $^1\text{H-NMR}$ -Endgruppenanalyse Werte für die \overline{DP} , die gut mit den vorgegebenen M/I-Verhältnissen übereinstimmen.

Die Abbildungen 3.1.3 und 3.1.4 zeigen die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Polyalanine Nr. 15 und 18.

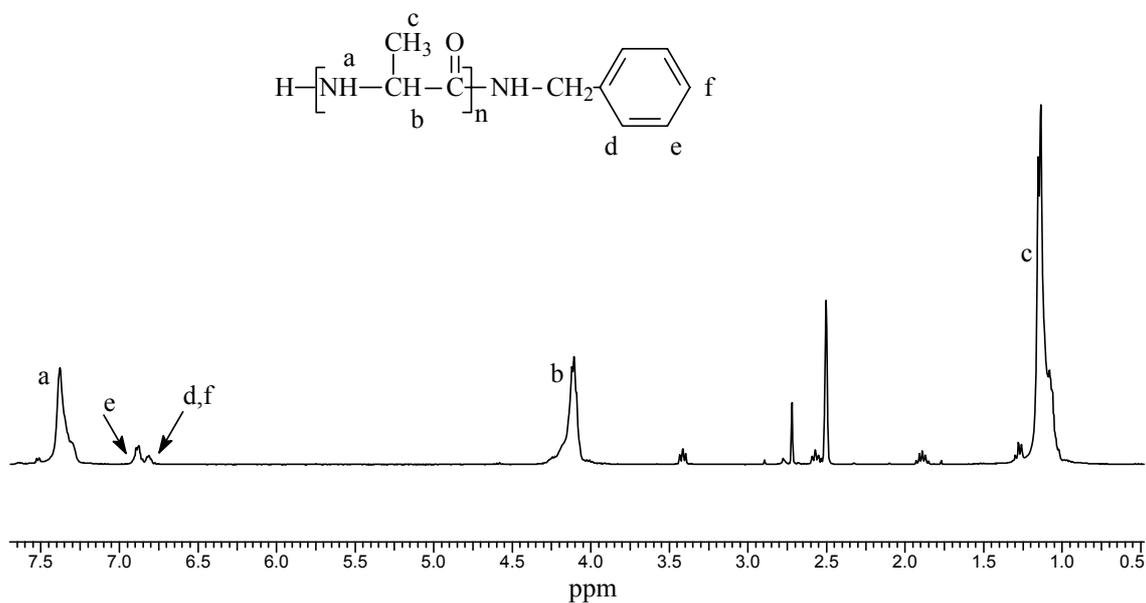


Abb. 3.1.3 ^1H -NMR-Spektrum (400 MHz) von Polyalanin Nr. 15
(aufgenommen in TFA/DMSO- d_6)

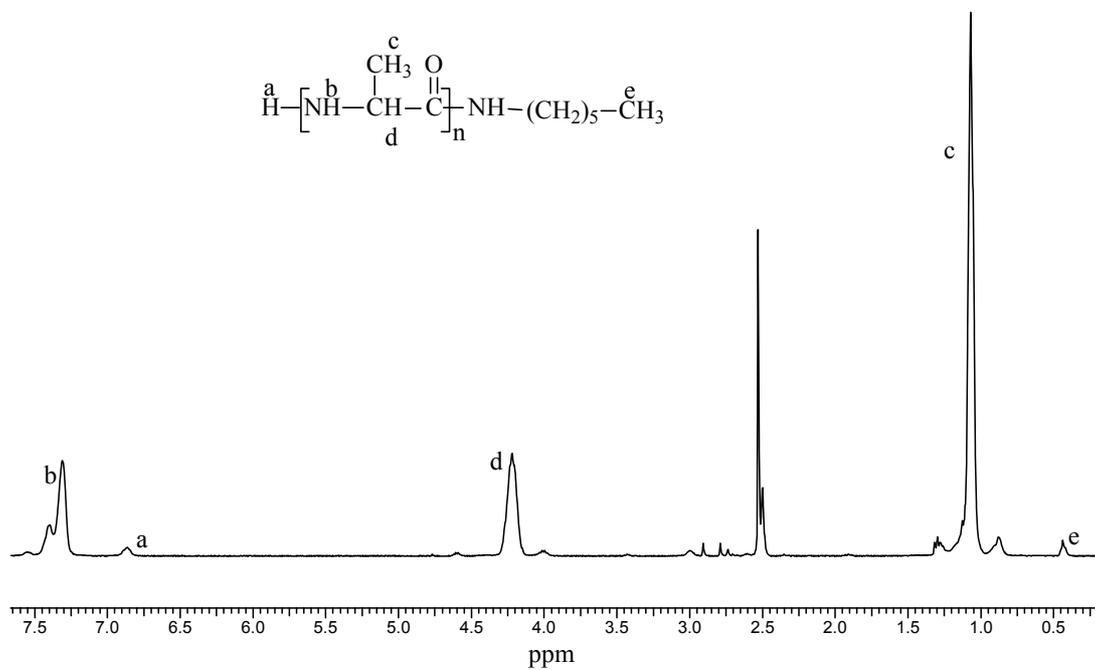
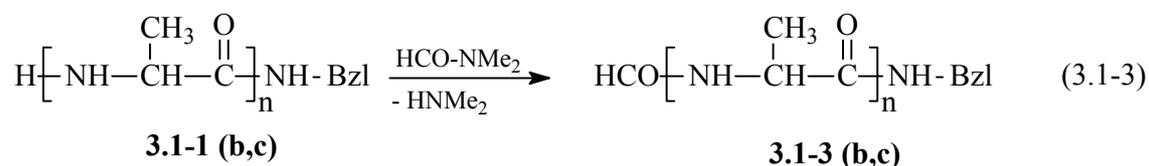


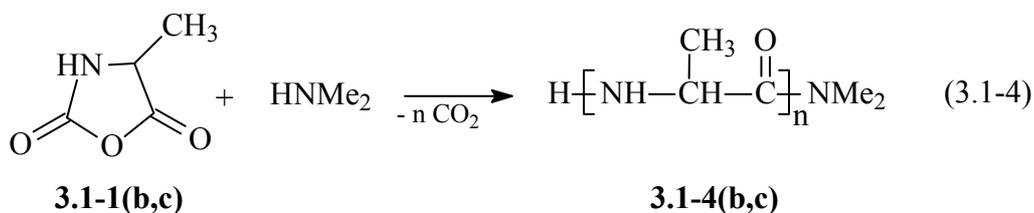
Abb. 3.1.4 ^1H -NMR-Spektrum (400 MHz) von Polyalanin Nr. 18
(aufgenommen in TFA/DMSO- d_6)

Aus dem Vergleich der Spektren in den Abbildungen 3.1.3 und 3.1.4 ist zu erkennen, dass das Protonensignal der Amino-Endgruppe des Polyalanins eine Überlappung mit dem Signal der aromatischen Protonen der Benzylamid-Endgruppe aufweist. Die Überlappung tritt allerdings nur mit dem Signal der *meta*-Protonen der Benzylamidgruppe auf. Die durchschnittlichen Polymerisationsgrade der Benzylamin-initiierten Polyalanine wurden daher aus dem Signal der kombinierten *ortho*- und *para*-Protonen der Benzylamid-Endgruppe bei 6.75 - 6.80 ppm ermittelt. Die auf diese Weise erhaltenen \overline{DP} -Werte der Poly-L-alanin in der Tabelle 3.1.2 stimmen nun ebenfalls relativ gut mit den nach dem vorgegebenen *M/I*-Verhältnis erwarteten Werten überein. Ebenso wie bei der Polysarkosinreihe liegt der Fehler hier in einem Bereich von $\pm 10\%$.

Aus den Ergebnissen für die durchschnittlichen Polymerisationsgrade lässt sich jedoch keine Information ableiten, die Aufschluss über die niedrigen inhärenten Viskositäten der in DMF hergestellten Polymere geben könnte. Das Verhältnis der Signale von Benzylamidgruppe und Wiederholungseinheit im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist unabhängig davon, ob einige Ketten auf andere Weise initiiert wurden, das gleiche. Aufschlussreiche Informationen lassen sich hingegen aus den MALDI-TOF-Massenspektren ziehen. Dort treten neben den Benzylamin-initiierten Polymerpeaks der Struktur **3.1-1b** noch schwache Nebenpeaks mit einer zusätzlichen Masse von 28 Da auf. Offensichtlich kommt es zu einem nucleophilen Angriff des aktiven Kettenendes auf das DMF. Wie in der Gleichung 3.1-3 formuliert, bildet sich eine Formamid-Endgruppe (Struktur **3.1-3b**).



Bei dieser Reaktion wird Dimethylamin freigesetzt, das nun selbst als Initiator aktiv wird (Gl. 3.1-4).



Diese Nebenreaktion, die ebenfalls im MALDI-TOF-MS detektiert wurde, führt zu einer Verringerung des Molekulargewichts, wodurch die niedrigen Viskositäten erklärt

werden können. Für die Polymerisation von D,L-Ala-NCA mit Benzylamin in DMF konnte diese Nebenreaktion ebenfalls nachgewiesen werden jedoch nicht für Sar-NCA. Die sekundäre Aminogruppe des Polysarkosins ist offensichtlich weniger nucleophil.

Weitere interessante Ergebnisse lassen sich bezüglich der Molekulargewichtsverteilungen aus den MALDI-TOF-MS ableiten. Für alle Experimente, die mit L-Ala-NCA durchgeführt wurden ergeben sich, wie in Abbildung 3.1.5 exemplarisch für Polymer Nr. 14 gezeigt, breite Molekulargewichtsverteilungen.

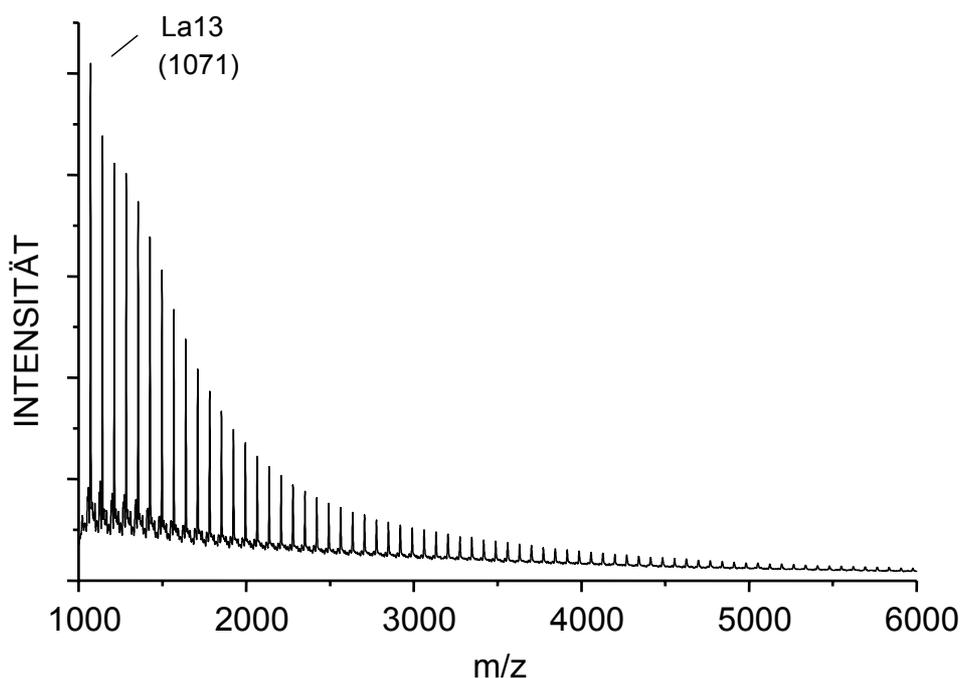


Abb. 3.1.5 MALDI-TOF-Massenspektrum des in 1,4-Dioxan synthetisierten Poly-L-alanins Nr. 14 (K^+ -gedopt), La = lineare Polymere der Struktur **3.1-1b**

Diese Verteilungen ähneln eher denen, die sich bei Polymeren, die über Polykondensationen hergestellt wurden, ergeben. Eine Stufenwachstumskinetik ist jedoch im Falle der Benzylamin-initiierten Polymerisation von NCAs absolut unwahrscheinlich.

Ein charakteristischer Unterschied zwischen Polysarkosin und Poly-L-alanin lässt sich jedoch feststellen. Die Peptidgruppen des Poly-L-alanins sind in der Lage, Wasserstoffbrückenbindungen aufzubauen und somit stabile Sekundärstrukturen wie α -Helices oder β -Faltblattstrukturen zu bilden. Aus früheren Untersuchungen^[174,175] ist bekannt, dass im Falle des Poly-L-alanins die Oligomere mit einem Polymerisationsgrad von $DP \leq 10 \pm 1$ β -Faltblattstrukturen bilden. Diese sind unlöslich und fallen zu einem Großteil aus allen Reaktionsmedien aus. Eine kleine Fraktion der

Oligomere verbleibt in Lösung und bildet bei Erreichen von Polymerisationsgraden $DP > 11$ helicale Strukturen aus. Bei höheren Polymerisationsgraden fangen auch die α -Helices an, aus der Lösung auszufallen (Abbildung 3.1.6).

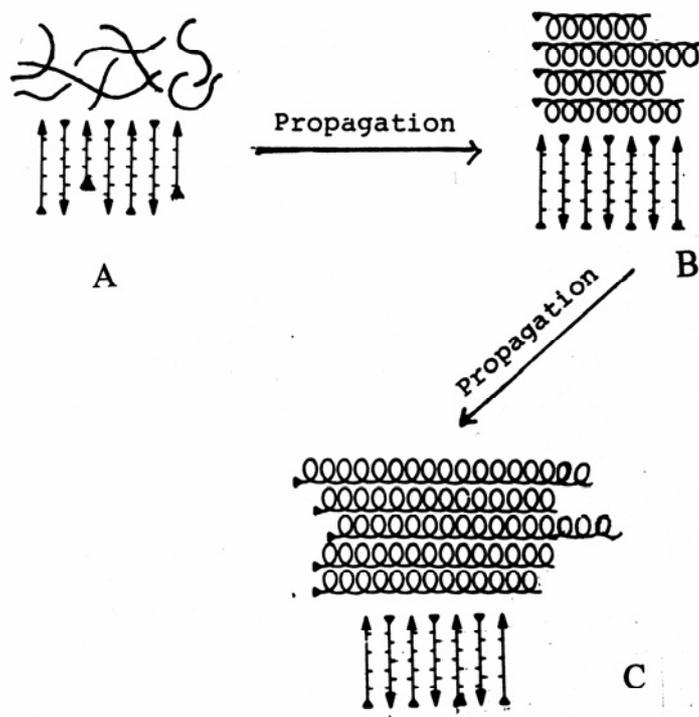


Abb. 3.1.6 Schematische Illustration der Sekundärstrukturen, die sich bei der durch primäre Amine initiierten Polymerisation von L-Alanin-NCA ausbilden: A) niedriger Umsatz (die wurmartigen Moleküle repräsentieren lösliche Oligomere mit $DPs < 10$), B) mittlerer Umsatz, C) hoher Umsatz

Die verschiedenen Sekundärstrukturen sowie die sterischen Verhältnisse auf der Oberfläche der Kristalle mit β -Faltblattstruktur führen zusammengenommen zu höchst unterschiedlichen Reaktivitäten der einzelnen aktiven Kettenenden und damit zu einer breiten Verteilung der Kettenwachstumsraten. Diese Zusammenhänge zwischen Wasserstoffbrückenbindungen, Sekundärstrukturen, Löslichkeiten und Reaktivitäten wurden in der Literatur für verschiedene Poly(α -aminosäuren), darunter auch Poly-L-alanin, beschrieben^[104,176,177].

Mithilfe der MALDI-TOF-Massenspektrometrie, die in den früheren Studien noch nicht verfügbar war^[104], kann hier dagegen gezeigt werden, dass die breite Verteilung von Wachstumsraten zu breiten Molekulargewichtsverteilungen der Oligo- und Poly-L-alanine führt, die sich deutlich von denen des löslicheren Polysarkosins unterscheiden.

3.1.3 Benzylamin-initiierte Polymerisation von D,L-Ala-NCA

In dieser Versuchsreihe wurden die Benzylamin-initiierten Polymerisationen von D,L-Ala-NCA untersucht. Im Gegensatz zu L-Ala-NCA ist D,L-Ala-NCA in CH₂Cl₂ löslich, so dass hier insgesamt neun Experimente in drei verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt wurden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.1.4 zusammengefasst.

Tabelle 3.1.4 Polymerisation von D,L-Ala-NCA mit Benzylamin bei 20 °C (2 d)

Polymer Nr.	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^a)$ [dL/g]	$\eta_{inh}^b)$ [dL/g]	$\overline{DP}^c)$
19	20	CH ₂ Cl ₂	93	0.06	-	24
20	20	1,4-Dioxan	97	0.06	-	24
21	20	DMF	95	0.06	-	24
22	40	CH ₂ Cl ₂	96	0.09	0.13	45
23	40	1,4-Dioxan	94	0.10	0.16	42
24	40	DMF	85	0.09	0.16	43
25	80	CH ₂ Cl ₂	98	0.11	0.19	82
26	80	1,4-Dioxan	96	0.13	0.20	79
27	80	DMF	92	0.11	0.18	75

a) gemessen in Ameisensäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

c) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im ¹H-NMR-Spektrum (gemessen in TFA/DMSO-d₆)

Bei der Polymerisation von D,L-Ala-NCA werden unter den angegebenen Reaktionsbedingungen für alle Experimente hohe Ausbeuten erreicht, wodurch annähernd quantitative Umsätze angezeigt werden. Die Viskositäten nehmen mit zunehmenden M/I-Verhältnis von 0.06 dL/g bis 0.13 dL/g (in Ameisensäure gemessen) analog den Polysarkosinen in Tabelle 3.1.1 nur leicht zu. Diese niedrigen Viskositätsdaten deuten darauf hin, dass Poly-D,L-alanin ebenso wie Polysarkosin in diesem aciden Lösungsmittel die Konformation von undefinierten, zufälligen Knäuel annimmt. Die Poly-L-alanine weisen dagegen vergleichsweise ziemlich hohe Viskositätswerte auf (gemessen in Dichloressigsäure). Dies ist offensichtlich die Konsequenz daraus, dass hier in Lösung eine andere Konformation der Polymere vorliegt. Die Poly-L-alanine liegen als α -Helices vor, die sich in Lösung wie starre Stäbchen verhalten. Für Poly-L-alanin konnte die Existenz von α -Helices in reiner Trifluoressigsäure bereits bewiesen werden^[174].

Betrachtet man die MALDI-TOF-Massenspektren der Poly-D,L-alanine, so zeigen sich wiederum breite Molmassenverteilungen der linearen Produkte **3.1-1c** für die Polymere, die in CH_2Cl_2 sowie in 1,4-Dioxan hergestellt wurden. Die Abbildung 3.1.7 zeigt beispielhaft das Massenspektrum für Polymer Nr. 25, das in Dichlormethan hergestellt wurde.

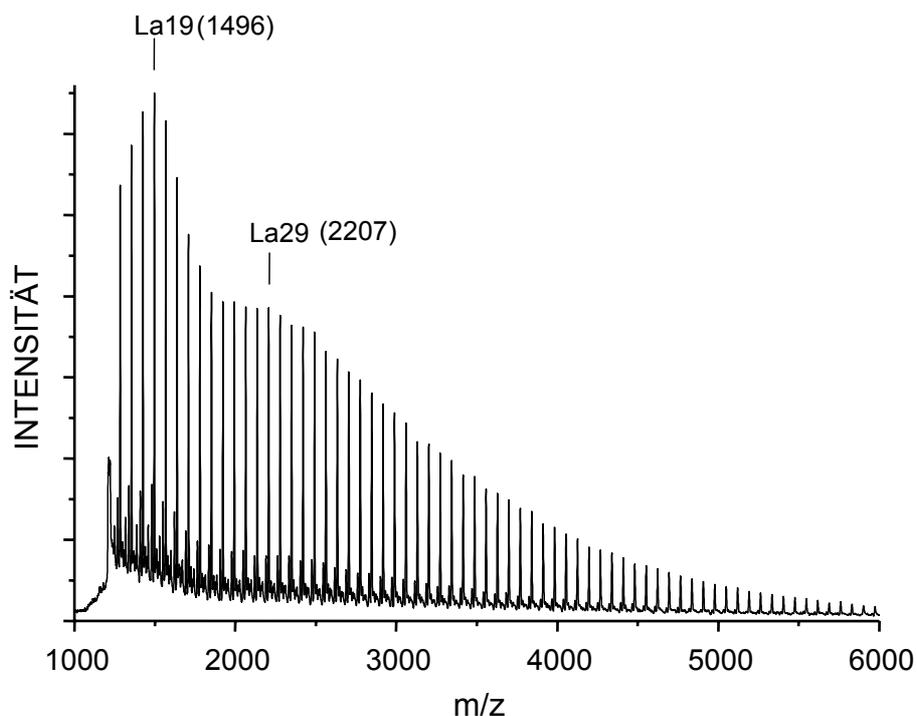


Abb. 3.1.7 MALDI-TOF-Massenspektrum des in CH_2Cl_2 synthetisierten Poly-D,L-alanins Nr. 25 (K^+ -gedopt), La = lineare Polymere der Struktur **3.1-1c**

In diesen Lösungsmitteln fallen offensichtlich die Oligo- und Poly-D,L-alanine annähernd vollständig aus dem Reaktionsgemisch aus, obwohl die Sekundärstrukturen im Vergleich zum Poly-L-alanin wegen ungünstiger sterischer Wechselwirkungen weniger gut ausgebildet sind und eine geringere Stabilität besitzen. Die niedrige Löslichkeit der Oligo- und Poly-D,L-alanine zieht in diesem Fall dieselben Konsequenzen für die Reaktivitäten und Verteilungen nach sich, die schon beim Poly-L-alanin zu verzeichnen waren.

Eine Besonderheit zeigt sich jedoch, wenn man die Polymerisation von D,L-Ala-NCA in DMF betrachtet. Ein Großteil der Oligo- und Poly-D,L-alanine scheint in diesem Fall gelöst zu bleiben. Anhand des MALDI-TOF-MS von Polymer Nr. 27, das in Abbildung 3.1.8 gezeigt wird, lassen sich die Konsequenzen für die Molmassenverteilung erkennen.

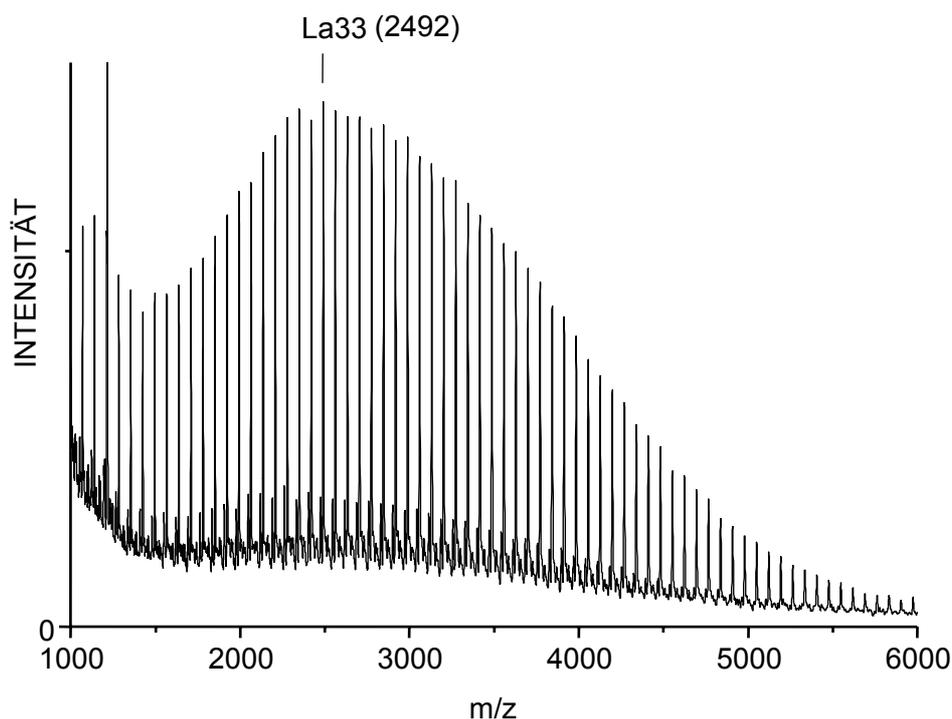


Abb. 3.1.8 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMF synthetisierten Poly-D,L-alanins Nr. 27 (K^+ -gedopt), La = lineare Polymere der Struktur **3.1-1c**

Es resultiert eine engere Molmassenverteilung, die bei $M/I = 80$ ein Maximum bei ca. 2500 Da aufweist. Diese Verteilungskurve zeigt nun Ähnlichkeiten mit denen, die für die Polysarkosine erhalten wurden. Die höhere Löslichkeit der Oligo- und Poly-D,L-alanine führt offensichtlich zu einer engeren Verteilungskurve der Wachstumsraten.

Auf diese Weise unterstützen diese unterschiedlichen, löslichkeitsabhängigen Ergebnisse für die Verteilungskurven ebenfalls die oben aufgeführten Interpretationen der Ergebnisse der Polymerisationen von L-Ala-NCA.

Fasst man die Ergebnisse dieser Polymerisationen zusammen, so lässt sich zunächst feststellen, dass durch primäre Amine initiierte Polymerisationen von Sar-NCA und Ala-NCA, soweit sie in CH_2Cl_2 oder 1,4-Dioxan durchgeführt werden, ohne Nebenreaktionen dem erwarteten Reaktionsablauf, wie er in Gleichung 3-1 gezeigt ist, folgen. In DMF zeigt sich dagegen, dass die primären aktiven Aminogruppen der Polyalanine in der Lage sind, langsam mit dem Lösungsmittel zu reagieren. Hydantoinensäure-Endgruppen, wie in den Gleichungen 1-12 bis 1-14 formuliert, konnten bei diesen Experimenten nicht nachgewiesen werden. Ebenso wenig traten in den MALDI-TOF-Massenspektren zyklische Oligo- oder Polypeptide auf.

Weiterhin konnte der Einfluss der Sekundärstrukturen und Löslichkeiten der Oligo- und Poly- α -aminosäuren auf die Molekulargewichtsverteilungen dargestellt werden. Das gut lösliche Polysarkosin liefert enge Verteilungen mit einem Maximum in der Nähe von M_n . Dagegen führt die schlechte Löslichkeit der Poly-L-alanine in allen Lösungsmitteln zu breiten Molekulargewichtsverteilungen, die denen von Polykondensationsprodukten ähneln. Die Koexistenz von gelösten und ausgefallenen Oligomeren mit verschiedenen Sekundärstrukturen (α -Helix- oder β -Faltblatt) wird hier für das Auftreten einer breiten Verteilung von Wachstumsraten verantwortlich gemacht. Diese führt wiederum zu einer breiten Molekulargewichtsverteilung. Poly-D,L-alanin bildet weniger stabile und damit löslichere Sekundärstrukturen aus. Es besitzt dadurch Eigenschaften, die sich zwischen denen von Polysarkosin und Poly-L-alanin einordnen lassen.

Aufgrund dieser Ergebnisse sollte nun zunächst die Herstellung und Modifikation von teichelen, durch primäre Amine initiierte Polysarkosinen untersucht werden.

3.2 Zyklische Polysarkosine via kombinierte ringöffnende Polymerisation von Sar-NCA und anschließende Stufenwachstumspolymerisation

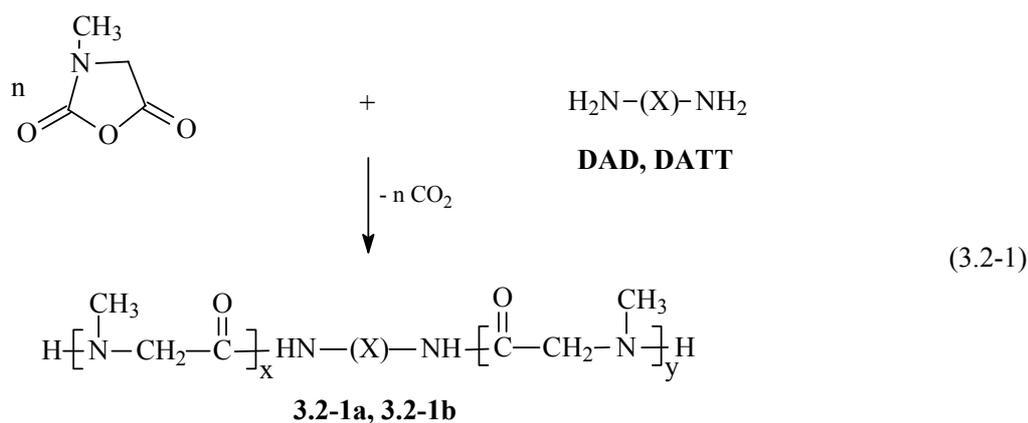
Das gestiegene Interesse an biologisch abbaubaren bzw. biokompatiblen Polymeren führt insbesondere zur Entwicklung neuartiger Poly- α -aminosäuren und Polypeptide. Polysarkosin nimmt hierbei eine besondere Stellung ein, da es keine N-H-Bindungen besitzt. Wegen einer ausgeglichenen cis/trans-Isomerie an den Amid-Bindungen ist Polysarkosin in protischen sowie aprotischen polaren Lösungsmitteln wie Wasser, Methanol, Dimethylsulfoxid (DMSO) oder N-Methylpyrrolidon (NMP) löslich^[178,179]. Obwohl Sarkosin keine proteinogene Aminosäure ist, kommt es dennoch im menschlichen Stoffwechsel vor. Dort ruft Sarkosin nur unerhebliche Immunreaktionen hervor^[180].

Diese Eigenschaften machen Polysarkosin zu einem interessanten Polymer, das z.B. als hydrophiler Block in einer Vielzahl von Diblock-, Triblock- und Multiblockcopolymeren eingesetzt werden kann.

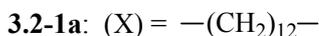
Bei der Benzylamin-initiierten Polymerisation von Sar- und Ala-NCA hat sich gezeigt, dass die Reaktion nach der erwarteten Sequenz (Gl. 3.1-1) ohne Nebenreaktionen (zumindest für CH_2Cl_2 und 1,4-Dioxan) und mit hohen Ausbeuten abläuft. An dieser Stelle sollten nun, ebenfalls durch primäre Amine initiierte, difunktionelle Blöcke von Polysarkosin synthetisiert werden. Anschließend sollte untersucht werden, inwieweit sich die reaktiven Endgruppen der Oligo- und Polysarkosine in einer Kettenverlängerungsreaktion mit verschiedenen elektrophilen difunktionellen Kupplungsreagenzien umsetzen lassen.

Sar-NCA wurde hier gewählt, da sich insbesondere die durch ein primäres Amin initiierte Polymerisation von Sar-NCA als gut kontrollierbar, ohne Nebenreaktionen und mit engen Molekulargewichtsverteilungen erwiesen hat.

Primäres Ziel war zunächst die Synthese von telechelnen Polysarkosinen, wie in Gleichung 3.2-1 gezeigt. Als Initiatoren wurden zum einen 1,12-Diaminododekan (DAD) mit hydrophoben Eigenschaften eingesetzt und zum anderen das primäre Diamin 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridekan (DATT) als Beispiel für einen hydrophilen Initiator.



$$n = x + y$$



Durchgeführt wurden die Polymerisationen in NMP, worin Polysarkosin sehr gut löslich ist. Dabei wurde ein M/I-Verhältnis von 40/1 vorgegeben. Um nahezu 100 % Umsatz zu erreichen, wurde die Reaktion über 4 d bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Polymerisationen sind in der Tabelle 3.2.1 gezeigt.

Tabelle 3.2.1 Polymerisation von Sar-NCA mit 1,12-Diaminododekan (DAD) und 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridekan (DATT) bei 20 °C (4 d)^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{b)}}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{c)}}$
28	DAD	NMP	95	0.10	42
29	DATT	NMP	95	0.10	38

a) M/I-Verhältnis: 40

b) gemessen in Ameisensäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

c) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (gemessen in DMSO-d_6)

Für beide Initiatoren kann das Produkt mit hohen Ausbeuten von 95 % isoliert werden. Ebenso gleichen sich die Daten der Viskositätsmessungen, die auch mit denen der Benzylamin-initiierten Polysarkosine bei gleichem M/I-Verhältnis korrelieren. Die Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt, dass sich hier ebenfalls der Polymerisationsgrad gut über das M/I-Verhältnis kontrollieren lässt. Zur Auswertung wurde hierbei ein Endgruppensignal bei 1.23 ppm für DAD bzw. 1.62 ppm für DATT genutzt. Betrachtet man wiederum die MALDI-TOF-MS der Polymere 28 und 29, so zeigt sich, dass diese die nach Gleichung 3.2-1 erwartete difunktionelle Struktur **3.2-1a,b** mit engen Molekulargewichtsverteilungen aufweisen. In beiden Fällen sind keine weiteren Nebenprodukte detektiert worden. Für Polymer 28 ist das Massenspektrum exemplarisch in Abbildung 3.2.1 gezeigt.

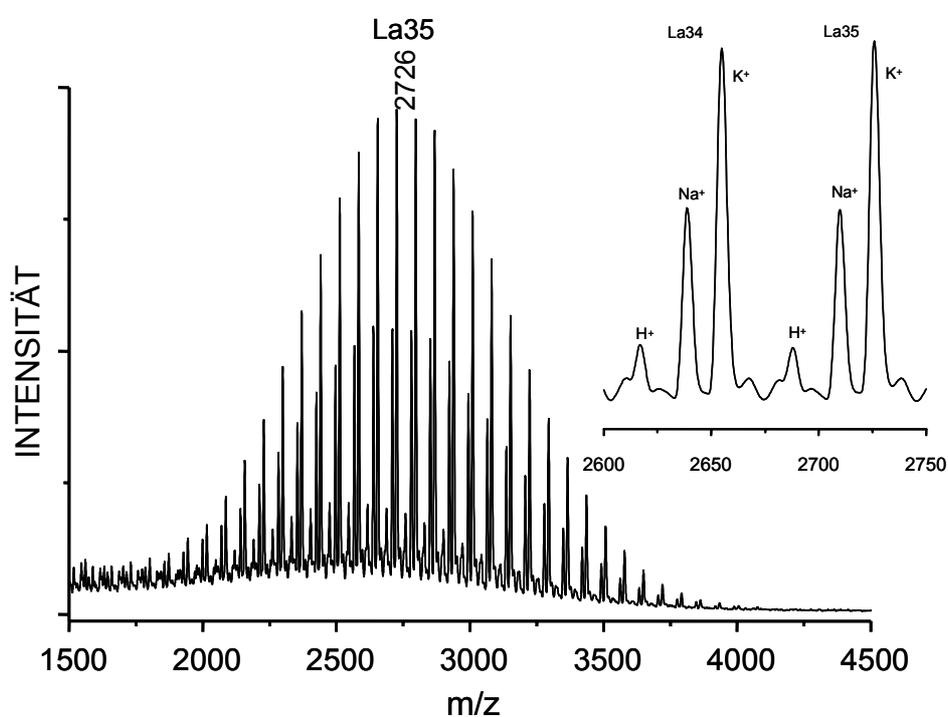


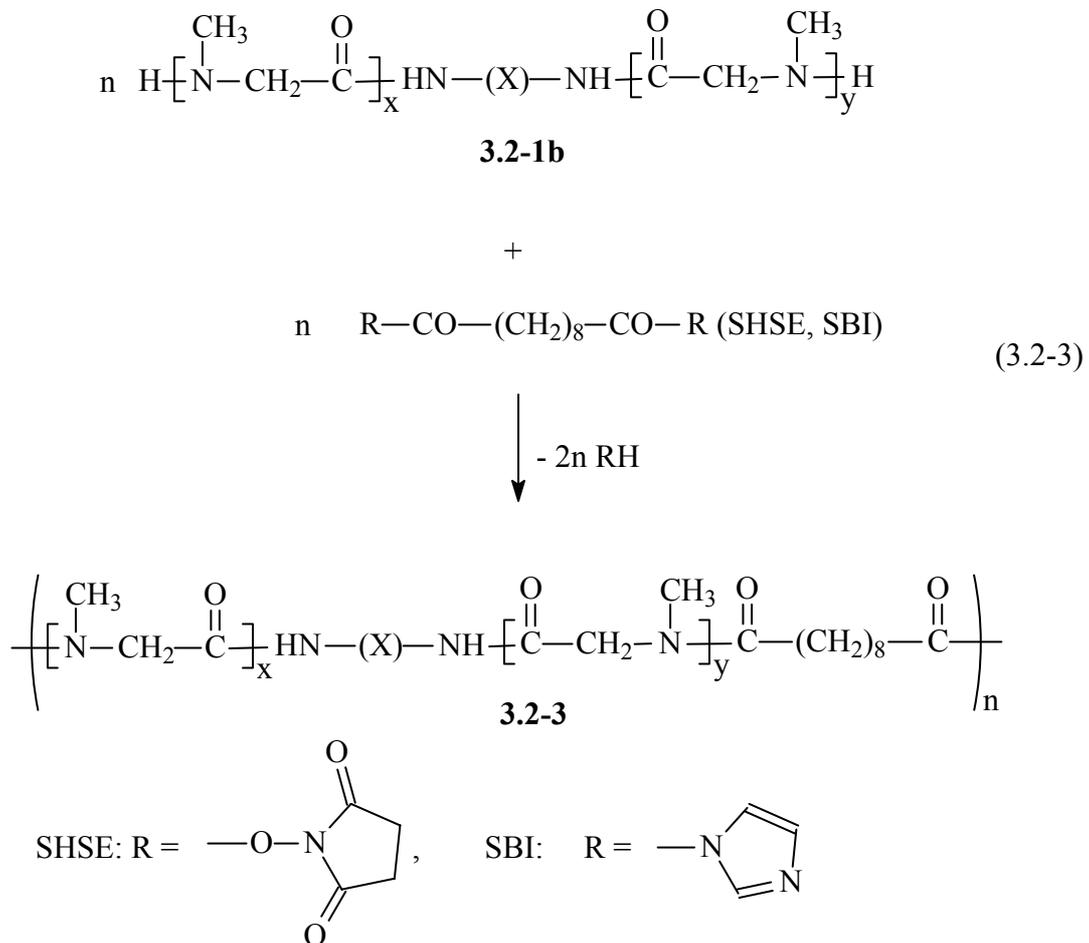
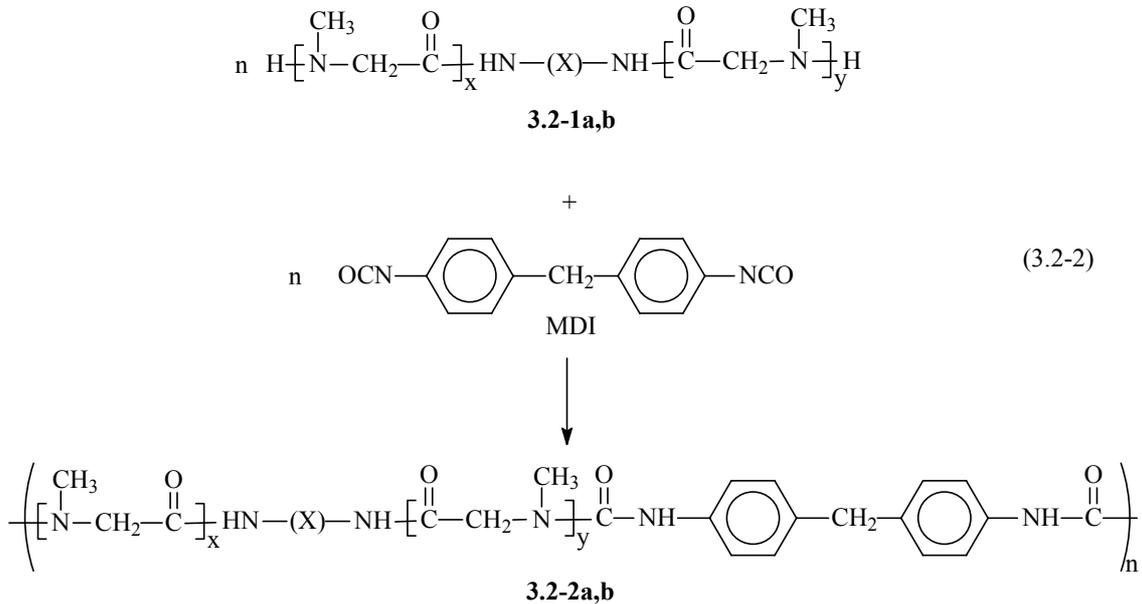
Abb. 3.2.1 MALDI-TOF-Massenspektrum des Polysarkosins Nr. 28, La = lineare Polymere der Struktur **3.2-1a**

Die gewünschten telechelen Polysarkosine lassen sich also auf diese Weise erfolgreich synthetisieren.

Anschließend sollte nun die Kettenverlängerung durch Polykondensation bzw. Polyaddition mit drei verschiedenen elektrophilen Kupplungsreagenzien untersucht werden. Hierfür wurden 4,4'-Diisocyanatdiphenylmethan (**MDI**), Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester (**SHSE**) und Sebacinsäurebisimidazolid (**SBI**) gewählt. Die

3 Hauptteil

Gleichungen 3.2.2 und 3.2.3 zeigen die erwarteten Reaktionsabläufe für das Kettenwachstum.



Die Kupplungsreaktion erfolgte hier in einer Eintopfreaktion. Nach der Synthese der Polysarkosine mit DAD bzw. DATT wurden die Kupplungsreagenzien in äquivalenten Mengen direkt zu dem Reaktionsgemisch gegeben. Die isolierten Polymere wurden mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, Viskositätsbestimmungen und MALDI-TOF-MS charakterisiert. In der Tabelle 3.2.2 sind die Reaktionsbedingungen und Ergebnisse dieser Experimente aufgelistet.

Tabelle 3.2.2 Polymerisation von Sar-NCA^{a)} mit 1,12-Diaminododekan (DAD) und 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridekan (DATT) mit anschließender Kettenverlängerung durch verschiedene Kupplungsreagenzien X

Polymer Nr.	Initiator	Lösungsmittel	Kupplungsreagenz X	Kettenverlängerung		Ausb. [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{b)}}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{c)}}$
				Temp. [°C]	Zeit [d]			
30	DAD	NMP	MDI	20	1	97	0.11	43
31	DAD	NMP	MDI	20, 60	1, 1	96	0.10	44
32	DATT	NMP	MDI	20	1	91	0.10	38
32a ^{d)}	DATT	NMP	MDI	20	1	91	0.10	38
33	DATT	NMP	MDI	20, 60	1, 1	92	0.14	38
34	DATT	DMSO	SHSE	60	2	93	0.14	36
35	DATT	NMP	SHSE	60	2	94	0.17	38
36	DATT	DMSO	SBI	60	2	92	0.13	36
37	DATT	NMP	SBI	60	2	92	0.17	37

a) M/I-Verhältnis: 40, Temp.: 20 °C, Zeit: 4 d

b) gemessen in Ameisensäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (gemessen in DMSO-d_6)

d) Durchführung wie Nr. 32, aber vor dem Ausfällen noch mit 1 mmol Propylamin versetzt und 1 d stehengelassen

Zwei Experimente (Polymer 30 und 31) wurden mit DAD als Initiator und einer äquimolaren Menge MDI als Kupplungsreagenz durchgeführt. Die höhere Temperatur hat im Falle des Polymers 31 keinen Einfluss auf Ausbeute und inhärente Viskosität. Auch die Analyse des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums zeigt keinen nennenswerten Unterschied. Dort wird für beide Polysarkosine ein DAD/MDI-Verhältnis von 1:1 und eine vollständige Reaktion des MDI ermittelt (Abb. 3.2.2).

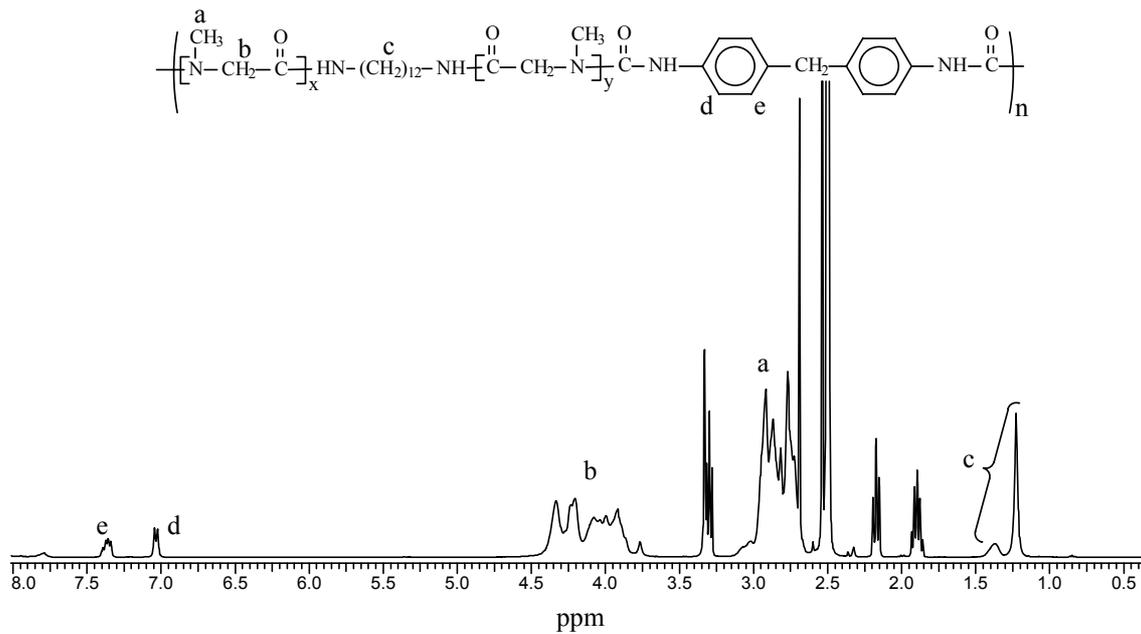


Abb. 3.2.2 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz) von Polysarkosin 30 (aufgenommen in DMSO-d_6)

Der vollständige Umsatz der Isocyanatgruppen wird durch die Tatsache belegt, dass die aromatischen Protonen des MDI in *ortho*-Stellung relativ zu den N-Atomen verschiedene chemische Verschiebungen aufweisen, je nach dem, ob sie von Isocyanatgruppen bzw. Uretidiongruppen (Abbildung 3.2.3 A) oder von Harnstoffgruppen (Abbildung 3.2.3 B) benachbart sind.

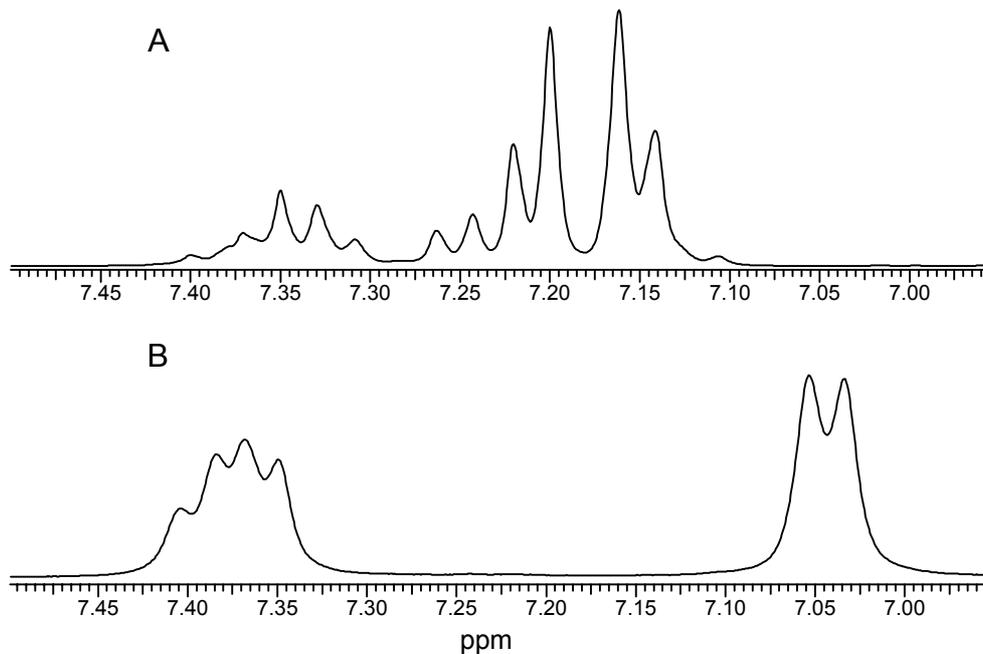


Abb. 3.2.3 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz) von: A) MDI, B) Polysarkosin 30 (aufgenommen in DMSO-d_6)

Betrachtet man die inhärenten Viskositäten der beiden Polymere Nr. 30 und 31, so fällt auf, dass diese nahezu identisch sind mit der Viskosität des Polysarkosins vor der Kettenverlängerungsreaktion (Polymer Nr. 28). Dieser scheinbare Widerspruch lässt sich aufklären, wenn man die MALDI-TOF-Massenspektren zu Rate zieht. Die Spektren der Polymere Nr. 30 und 31 zeigen dasselbe Ergebnis. Für Polymer 30 wird das MALDI-TOF-MS exemplarisch in der Abbildung 3.2.4 gezeigt.

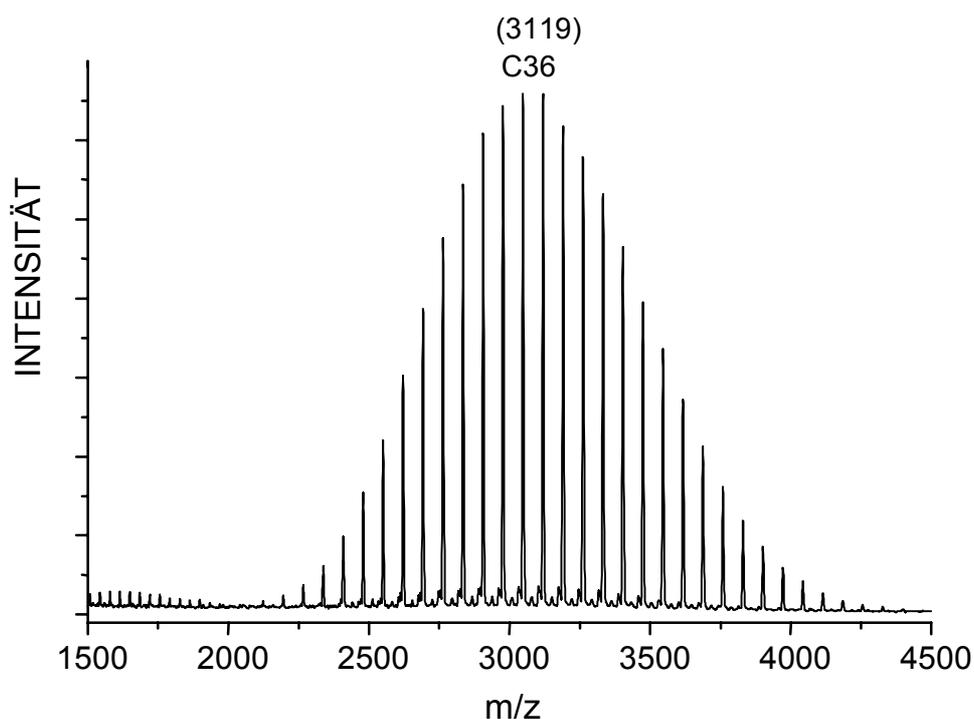
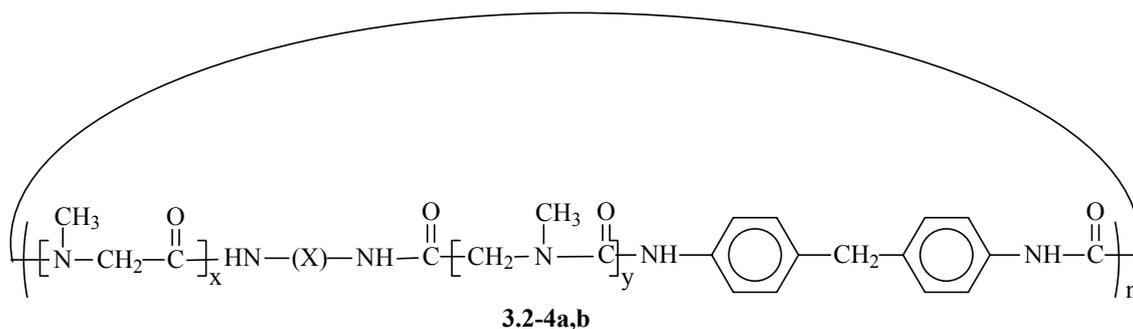


Abb. 3.2.4 MALDI-TOF-Massenspektrum des Polysarkosins Nr. 30 (K^+ -gedopt),
C = Zyklische Polymere der Struktur **3.2-4a**

Hier ist zu erkennen, dass nahezu quantitativ zyklische Polysarkosine **C** der Struktur **3.2-4a** (Schema 3.2-1) mit $n = 1$ aus der vermeintlichen Kettenverlängerungsreaktion hervorgehen. Jeder Zyklus enthält eine DAD-Einheit und eine MDI-Einheit. Die Reaktion verläuft also nicht wie erwartet als Kettenverlängerung (Gl 3.2-2) ab, sondern es tritt hauptsächlich nach Addition einer MDI-Einheit ein Zyklisierungsschritt als Abbruch der Kettenverlängerungsreaktion ein.



- a: Initiator DAD
b: Initiator DATT

Schema 3.2-1

Neben der Hauptverteilung tritt in dem Massenspektrum von Polymer 30 bei der doppelten Masse noch eine weitere Verteilung von Polymerpeaks auf, deren Anteil allerdings unter 10 % liegt. Die Polymere dieser Verteilung besitzen zwei DAD-Einheiten und zwei MDI-Einheiten. Es handelt sich also im Prinzip um zyklische "Dimere" der Polymere der ersten Verteilung ($n = 2$ in Schema 3.2-1).

Auf diese Weise lassen sich folglich zwei verschiedene Typen von Polydispersitäten (PD) identifizieren. Eine PD basiert auf der Verteilung des ursprünglichen Polysarkosins Nr. 28. Der zweite Typ resultiert aus dem Kupplungsprozess und wird hier "Generationen" genannt und durch einen Index n (dem n in Schema 3.2-1 entsprechend) nach dem Symbol C identifiziert (z.B. C_1, C_2, \dots etc). Die totale Anzahl der Sarkosineinheiten in den Zyklen wird durch die gleichgestellte Zahl angegeben (z.B. C_{260}).

Die niedrige Konzentration an Zyklen der höheren Generation stimmt im Übrigen auch sehr gut mit der Tatsache überein, dass die erhaltenen inhärenten Viskositäten der Zyklen nahezu identisch mit der Viskosität des parentalen Polysarkosins sind. Wenn man berücksichtigt, dass durch die Zyklisierung das hydrodynamische Volumen der Polysarkosine verringert wird, dann führt das Vorhandensein von Zyklen höherer Generationen gerade zu einer Kompensation oder geringen Überkompensation dieses Effekts.

Die Polymerisationen, die mit DATT als Initiator durchgeführt wurden (Polymer 32 bis 37), ergeben ähnliche Resultate. Die Verwendung von MDI als Kupplungsreagenz liefert bei 20 °C (Nr. 32) ebenfalls keine nennenswerten Kettenverlängerungen, bei 60 °C (Nr. 33) kann dagegen ein leichter Anstieg der Viskosität beobachtet werden. Trotzdem liefert die Analyse des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums sowie des MALDI-TOF-MS nahezu identische Ergebnisse für beide Polymere. Aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wird ein DATT/MDI-Verhältnis von nahezu 1:1 und ein vollständiger Umsatz des MDI

ermittelt. Im MALDI-TOF-MS können auch in diesem Fall nahezu quantitativ zyklische Polysarkosine **C** der Struktur **3.2-4b** (Schema 3.2-1) detektiert werden.

Zusätzlich wurde der Versuch Nr. 32 wiederholt, vor dem Ausfällen jedoch mit Propylamin versetzt und einen Tag stehengelassen (Nr. 32a). Weder im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, noch im MALDI-TOF-MS von Produkt Nr. 32a ließen sich Propylamin-Endgruppen nachweisen, die auf eine Reaktion mit unumgesetzten Isocyanatgruppen hingewiesen hätte.

Das MALDI-TOF-Massenspektrum von Polymer Nr. 32 ist in Abbildung 3.2.5 gezeigt.

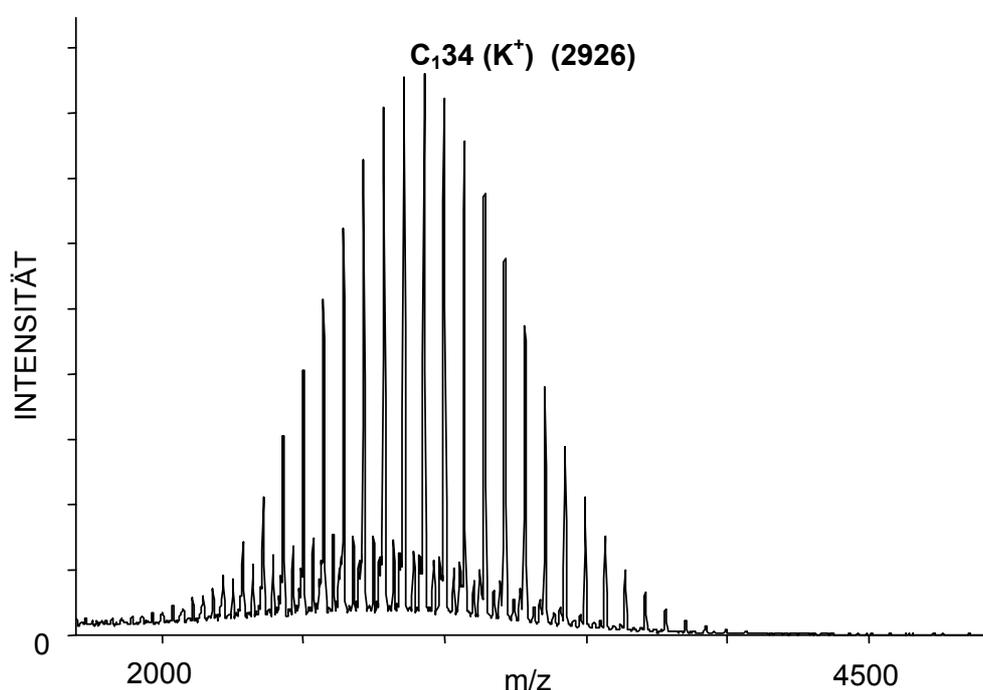


Abb. 3.2.5 MALDI-TOF-Massenspektrum des Polysarkosins Nr. 32 (K^+ -gedopt),
C = Zyklische Polymere der Struktur **3.2-4b**

Zwei weitere Experimente wurden mit **3.2-1b** und Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester als Kupplungsreagenz durchgeführt (Gl. 3.2-3). Um den Einfluss des Lösungsmittels zu untersuchen wurde hier neben NMP auch DMSO verwendet (Nr. 34 und 35). Für beide Polymere lassen sich jedoch, unabhängig vom Lösungsmittel, nur geringfügige Anstiege der inhärenten Viskositäten feststellen. Die Analyse der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (Abbildung 3.2.6 für Polymer Nr. 34) ergab, dass in beiden Polymeren ein DATT/Sebacinsäure-Verhältnis von 1:1 vorliegt. Außerdem kann von einem vollständigen Umsatz des Kupplungsreagenz ausgegangen werden, da im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine N-Hydroxysuccinimid-Signale vorhanden sind.

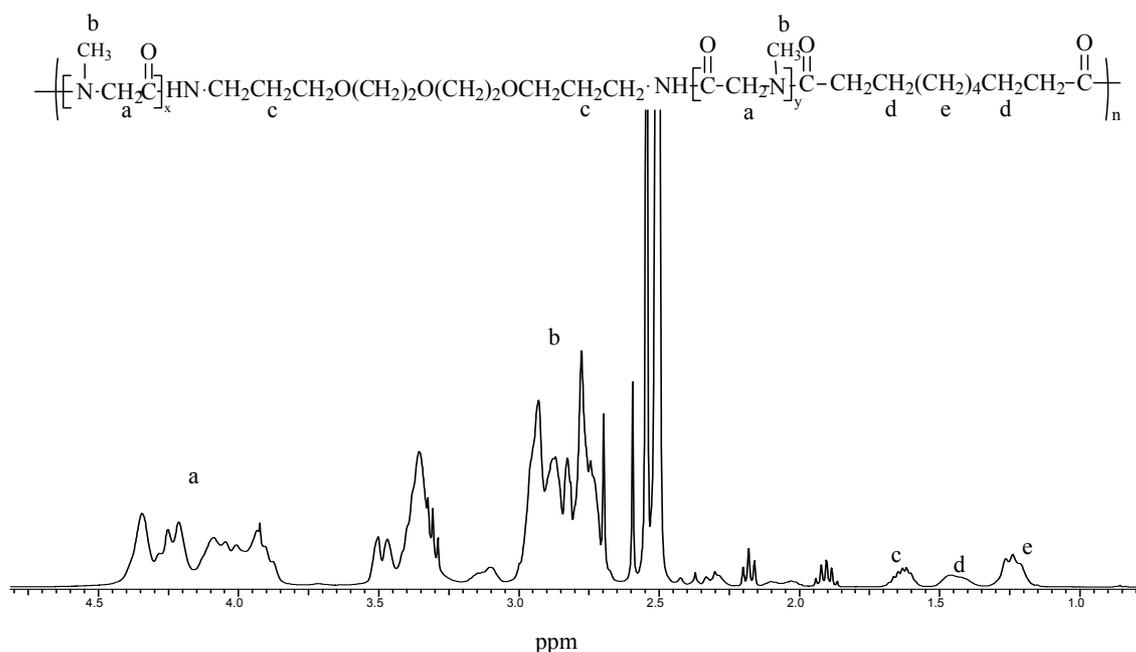
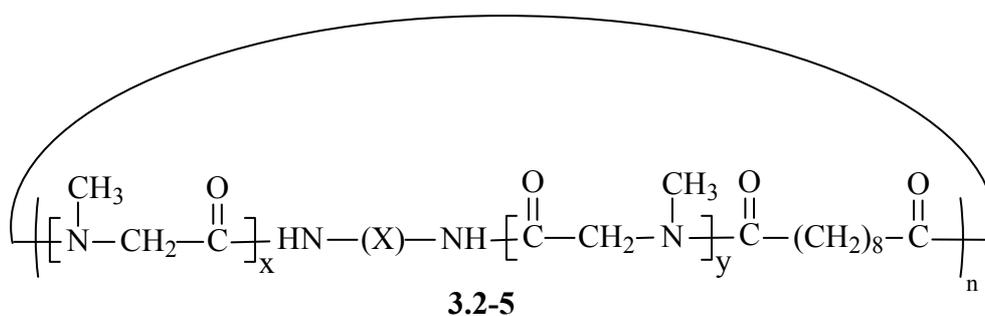


Abb. 3.2.6 ^1H -NMR-Spektrum (400 MHz) von Polymer Nr. 34
(aufgenommen in DMSO-d_6)

Das MALDI-TOF-MS der Polymere 34 und 35 zeigt in Übereinstimmung mit den anderen analytischen Daten ausschließlich die Massepeaks zyklischer Polysarkosine **C** der Struktur **3.2-5** (Schema 3.2.2).



Schema 3.2.2

Analoge Ergebnisse ergeben die Synthesen der Polymere Nr. 36 und 37. Die Verwendung von Sebacinsäurebisimidazolid liefert, unabhängig vom Lösungsmittel, reine Zyklopolysarkosine **C** der Struktur **3.2-5** (Schema 3.2.2). Aus den ^1H -NMR-Spektren lassen sich vollständige Umsätze für das Imidazolid und ein

DATT/Sebacinsäure-Verhältnis von 1:1 ermitteln. Für Polymer Nr. 37 ist das MALDI-TOF-MS beispielhaft in Abbildung 3.2.7 gezeigt.

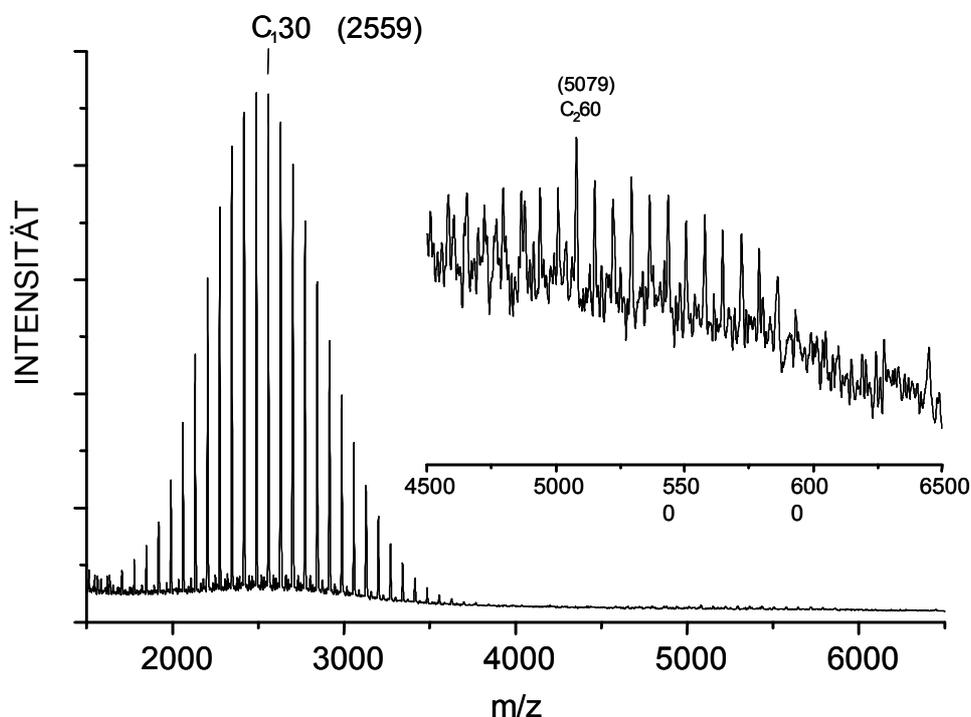


Abb. 3.2.7 MALDI-TOF-Massenspektrum des Polysarkosins Nr. 37 (K^+ -gedopt),
C = Zyklische Polymere der Struktur 3.2-5

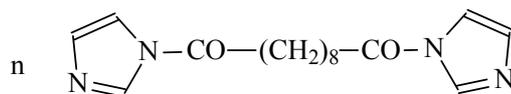
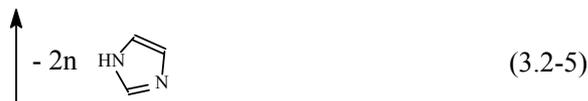
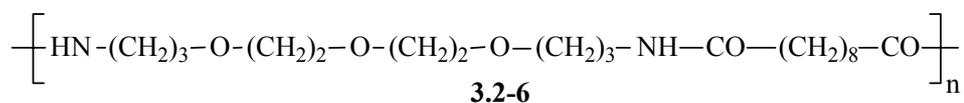
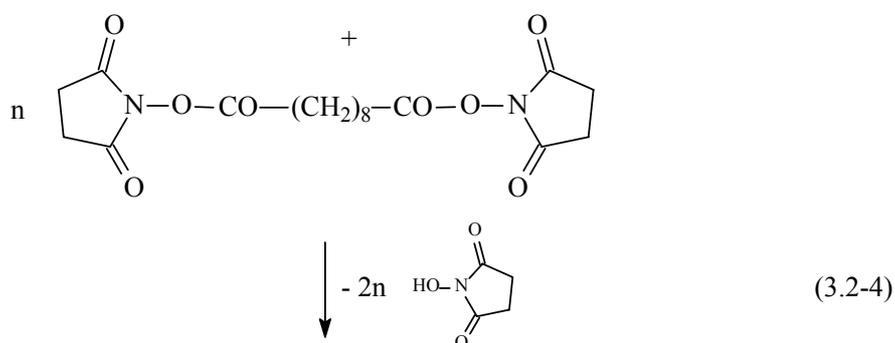
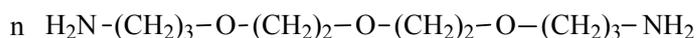
Hauptsächlich treten wieder die Zyklen der ersten Generation auf. Daneben sind noch Zyklen der zweiten Generation (C_2) in geringer Menge zu sehen während die dritte Generation von Zyklen nicht detektiert werden konnte.

Leider konnten keine GPC-Messungen an den Polymeren vorgenommen werden, da Polysarkosin in Tetrahydrofuran und Chloroform unlöslich ist. Dennoch können die inhärenten Viskositäten für eine zufrieden stellende Schätzung der durchschnittlichen Polymerisationsgrade \overline{DP} (oder Zahlenmittel M_n) verwendet werden. Zum Vergleich können die Benzylamin-initiierten Polysarkosine aus Kapitel 3.1 herangezogen werden. Bei einem M/I-Verhältnis von 40 weisen diese Polysarkosine in perfekter Übereinstimmung mit den hier hergestellten linearen Blöcken (Nr. 28 und 29) Viskositäten von 0.10-0.11 dL/g auf. Wenn Polymer 29 als Standard genommen wird, dann deuten die Viskositäten der Polymere Nr. 35 und 37 auf \overline{DPs} von ungefähr 90 hin bzw. auf einen Kettenverlängerungsfaktor von ungefähr 2. Wird das geringere hydrodynamische Volumen berücksichtigt, so liegt der Kettenverlängerungsfaktor bei ungefähr 2.6 ± 0.1 . Für die Produkte, die in DMSO hergestellt wurden (Nr. 34 und 36), ergibt sich ein Kettenverlängerungsfaktor von ca. 2.0. Da in den 1H -NMR-Spektren ein

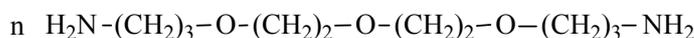
fast vollständiger Umsatz des Sebacinsäurederivats angezeigt wurde, weisen also die niedrigen Viskositäten ebenfalls auf einen hohen Zyklisierungsgrad hin.

In den MALDI-TOF-Massenspektren werden allgemein die höhermolekularen Fraktionen weniger gut erfasst, so dass die Spektren nicht die reale Verteilung zeigen. Es ist also möglich, dass in dem nicht erfassten hochmolekularen Bereich einige lineare Ketten vorhanden sind. Dennoch stimmen die analytischen Daten insgesamt darin überein, dass die Kettenverlängerung durch MDI bzw. die Sebacinsäurederivate hauptsächlich durch effiziente Zyklisierung limitiert wird.

In diesem Zusammenhang sollten zwei Ergebnisse, die von früheren Publikationen bekannt sind^[181-186], erwähnt werden. Zum einen wurden durch Polykondensation von DATT mit Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester, Sebacinsäurebisimidazolid und Sebacinsäure-bis-(4-chlorphenyl)-ester unter Variierung von einigen experimentellen Parametern die Polyamide **3.2-6** (Gl. 3.2-4 und 3.2-6) synthetisiert^[182,183]. Unter optimierten Bedingungen wurden zyklische Polyamide mit inhärenten Viskositäten bis zu 1.3 dL/g erhalten. Diese Viskositäten bedeuten, dass das Molekulargewicht dieser Polyamide mindestens um den Faktor 10 höher ist als das der hier hergestellten kettenverlängerten Polysarkosine.



+



Zum anderen sollten auch die Arbeiten von Sisido et al. erwähnt werden^[184-186]. Diese haben Untersuchungen zur Zyklisierungstendenz von Oligosarkosinen (DPs 6 - 35) mit zwei Endgruppen unterschiedlicher Struktur durchgeführt. Ihren Ergebnissen zufolge nähert sich die Zyklisierungsrate der intermolekularen Kettenwachstumsrate, wenn der DP über 30 steigt. Weiterhin folgerten sie aus ihren Untersuchungen, dass die Zyklisierungstendenz von Oligosarkosinen etwas höher (Faktor 2 – 3) als die von Alkanketten identischer Länge ist.

In dieser Arbeit scheinen die Zyklisierungstendenzen höher zu sein, speziell für die Kettenverlängerung mit MDI, bei der das Verhältnis von Zyklisierungsrate zu Kettenwachstumsrate signifikant größer als 1 ist. Auf der anderen Seite ist es zufrieden stellend, dass auch diese Autoren eine relativ hohe Zyklisierungstendenz für Polysarkosine festgestellt haben. Im Übrigen ist es nicht überraschend, dass die Ergebnisse von Sisido et al. von den hier erhaltenen abweichen, da sie Ring-Ketten-Gleichgewichte studiert haben, während die Experimente dieser Versuchsreihe auf irreversiblen, kinetisch kontrollierten Reaktionen basieren.

Die Ergebnisse der Polymerisationen in diesem Abschnitt zeigen, dass zwar wie gewünscht telechele Polysarkosinblöcke synthetisiert werden können, diese allerdings unabhängig davon, welches Kupplungsreagenz oder Lösungsmittel verwendet wird, nicht durch Polykondensation bzw. Polyaddition zu hochmolekularen Polymeren umgesetzt werden können. Vielmehr wurde durch diese Experimente eine unerwartet hohe Zyklisierungstendenz der Polysarkosinblöcke demonstriert. Diese Ergebnisse stimmen sehr gut überein mit der postulierten Theorie, dass bei kinetisch kontrollierten Stufenwachstumspolymerisationen, unabhängig von der Konzentration oder vom Umsatz, Zyklisierung und Kettenwachstum miteinander konkurrieren. Das Kettenwachstum wird hiernach, der Gleichung 3.2-6 entsprechend, limitiert.

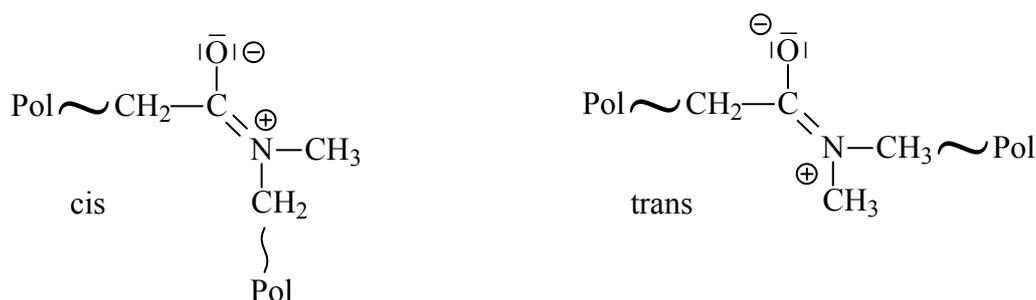
$$DP = \frac{1}{1 - p \left(1 - \frac{1}{X^a} \right)} \quad (3.2-6)$$

p = Umsatz

a = V_p/V_c (Verhältnis von Wachstums- zu Zyklisierungsrate)

Eine perfekte Erklärung für die ungewöhnlich hohe Zyklisierungsneigung von Polysarkosinderivaten kann an dieser Stelle nicht gegeben werden. Es ist dennoch offensichtlich, dass die cis/trans-Isomerie (Schema 3.2.3) an den Amid-Gruppen eine wichtige Rolle spielt.

Es ist bekannt, dass die Amid-Gruppen eine partielle C-N-Doppelbindung besitzen, die bis zu Temperaturen von $50 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ als Rotationsbarriere wirkt.



Schema 3.2.3

N-unsubstituierte Peptide und Polyamide enthalten fast ausschließlich trans-Amid-Gruppen. Für N-Acyl-sarkosinverbindungen und Polysarkosine ist dagegen ein hoher Anteil von cis-Isomeren bekannt^[178,187,188]. Das Auftreten der cis-Amid-Gruppen ist natürlich sehr günstig für Zyklisierungsreaktionen. Der Anteil der cis-Amid-Gruppen ist von der Temperatur und vom Lösungsmittel abhängig und besonders hoch in DMSO^[178,187,188]. Der niedrigere Kettenverlängerungsfaktor, der in DMSO gegenüber NMP gefunden wurde, könnte daher eine direkte Konsequenz des höheren Anteils an cis-Amid-Gruppen sein.

Die Zyklisierung von Oligo- und Polypeptiden ist auch als Nebenreaktion bei der Polymerisation von NCAs denkbar. Die Untersuchungen der Polymerisation von Alanin-NCA und Sarkosin-NCA mit Benzylamin haben ergeben, dass dort kaum Nebenreaktionen auftreten. In den nächsten Abschnitten wird dagegen die Polymerisation der NCAs von Phenylalanin, Valin und Leucin mit verschiedenen primären Aminen in unterschiedlichen Lösungsmitteln untersucht.

3.3 Polymerisation von Phenylalanin-NCA, Valin-NCA und Leucin-NCA mit primären Aminen

Die NCAs von Valin, Leucin und Phenylalanin besitzen im Vergleich zu Ala- und Sar-NCA zunehmend größere Seitenketten, die Einfluss auf Mechanismen der Polymerisation und eventuelle Nebenreaktionen nehmen können. Das Phenylalanin-NCA stellt einen Sonderfall dar, da es eine aromatische Seitenkette besitzt.

Als Initiatoren wurden für diese Polymerisationen die primären Amine Benzylamin, n-Hexylamin und Anilin eingesetzt. Das aromatische Amin Anilin unterscheidet sich von

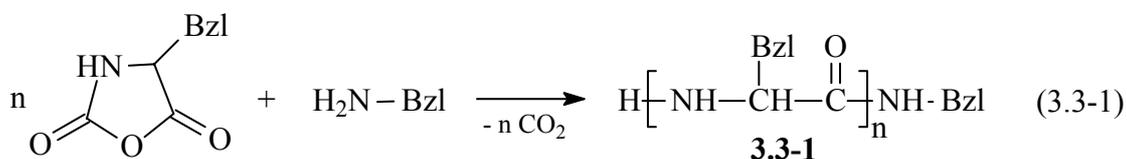
den anderen primären Aminen durch eine geringere Nucleophilie und Basizität, die hier niedriger als die der aktiven Aminogruppen der wachsenden Peptidkette sind. Die Polymerisationen verlaufen in diesem Fall langsam, und die \overline{DP}_s sind in der Regel schwierig vorherzusagen, da die Kettenwachstumsschritte schneller als die Initiierungsschritte sind. n-Hexylamin besitzt in dieser Reihe von primären Aminen die größte Nucleophilie, die auch höher als die der aktiven Aminogruppen der Polypeptidketten ist. In diesem Fall sollte es möglich sein, den mittleren Polymerisationsgrad \overline{DP} über das M/I-Verhältnis kontrollieren zu können.

Als Nebenreaktion, die den prinzipiell einfachen Polymerisationsmechanismus stören können, kommt wie bei den Benzylamin-initiierten Polymerisationen von Alanin-NCA und Sarkosin-NCA die Bildung von Hydantoinsäure-Endgruppen (Gl. 1-12 bis 1-14 in Abschnitt 1.5.2.) in Frage. Daneben haben Konformation und Sekundärstruktur der gebildeten Oligopeptide Einfluss auf das Kettenwachstum. Wie bereits in Abschnitt 3.1 diskutiert wurde, kann es durch sterische Hinderungen zu einem "physikalischen Tod" des Kettenwachstums kommen, wenn Oligomere aus dem Reaktionsgemisch in der β -Faltblattstruktur ausfallen. Weiterhin beeinflussen Sekundärstruktur und Löslichkeit entscheidend die Molekulargewichtsverteilungen der Produkte (siehe auch Abschnitt 3.1).

Zur Charakterisierung der Haupt- und Nebenprodukte wurden wiederum $^1\text{H-NMR}$ -Spektren, MALDI-TOF-MS und Viskositätsmessungen herangezogen.

3.3.1 Benzylamin-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA

Zunächst wurde die Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA mit Benzylamin untersucht (Gl. 3.3-1).



Um die Ergebnisse mit denen der Benzylamin-initiierten Polymerisationen von Alanin- und Sarkosin-NCA vergleichen zu können, wurden dabei analoge Bedingungen eingehalten. Wegen der schlechten Löslichkeit von D,L-Phe-NCA in Dichlormethan konnten allerdings nur vier Experimente in 1,4-Dioxan und DMF durchgeführt werden. Die aromatischen Protonen der Phenylalanin-Einheiten führen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu Überlagerungen mit den Signalen der Benzylamin-Endgruppe, so dass hier keine

mittleren Polymerisationsgrade bestimmt werden können. In weiteren Versuchsreihen wurde deshalb n-Hexylamin als Initiator verwendet.

Die Ergebnisse der Polymerisation mit Benzylamin sind in der Tabelle 3.3.1 dargestellt.

Tabelle 3.3.1 Polymerisation von D,L-Phe-NCA mit Benzylamin bei 20 °C (2 d)

Polymer Nr.	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^a)$ [dL/g]
38	40	1,4-Dioxan	93	0.18
39	40	DMF	68	0.16
40	80	1,4-Dioxan	98	0.24
41	80	DMF	60	0.15

a) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

Es zeigt sich, dass für die Polymerisation in 1,4-Dioxan hohe Ausbeuten erzielt werden können (>90 %), wohingegen in DMF unter diesen Bedingungen nur Ausbeuten von 60 bis 70 % erreichbar sind. Weiterhin ergeben sich höhere Werte für die inhärenten Viskositäten der Polymere, die in 1,4-Dioxan synthetisiert wurden. Dieser Trend konnte schon bei der Polymerisation von Sarkosin-NCA und Alanin-NCA mit Benzylamin festgestellt werden. Anscheinend verläuft die Polymerisation in DMF langsamer als in 1,4-Dioxan. Intensive Nebenreaktionen, die das Kettenwachstum stoppen, sind in diesem Fall unwahrscheinlich, da das verwendete DMF im Vakuum über P_4O_{10} frisch destilliert wurde, um Wasser und Dimethylamin zu entfernen. Im MALDI-TOF-MS können auch keine unerwarteten Endgruppen identifiziert werden. Vielmehr zeigt sich, dass bei allen Polymerisationen Benzylamin-terminierte Ketten der Struktur **3.3-1** vorherrschen. Für die niedrige Reaktionsgeschwindigkeit ist wahrscheinlich die hohe Polarität des DMF verantwortlich, die zu einer besonders guten Solvatisierung des Monomers sowie der Amino-Endgruppen und damit erniedrigter Reaktivität führt.

Dennoch treten im MALDI-TOF-MS zwei interessante Unterschiedlichkeiten für die verschiedenen Lösungsmittel 1,4-Dioxan und DMF auf (Abb. 3.3.1 und 3.3.2).

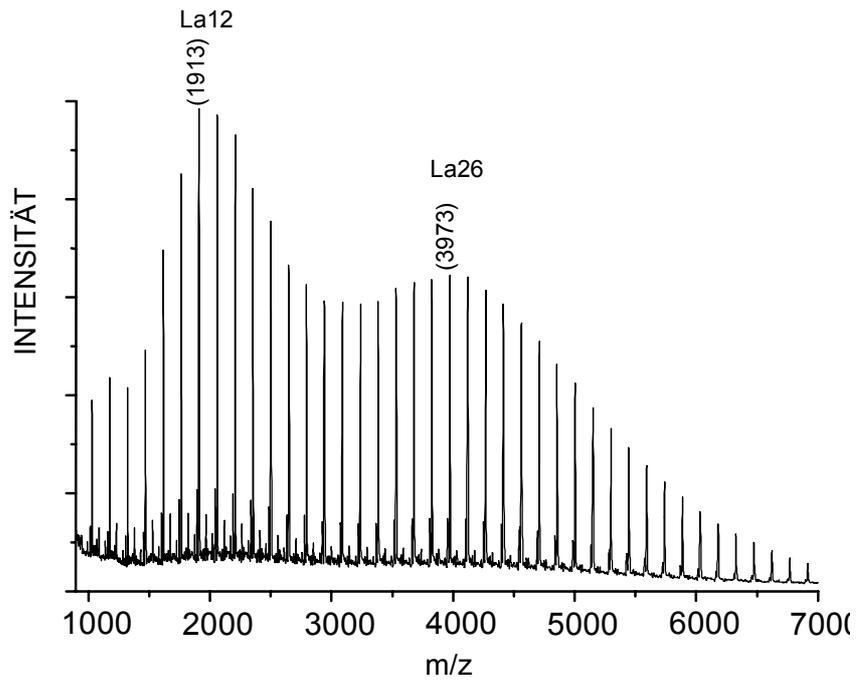


Abb. 3.3.1 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-phenylalanins Nr. 38 (K^+ -gedopt),
La = lineare Polymere der Struktur 3.3-1

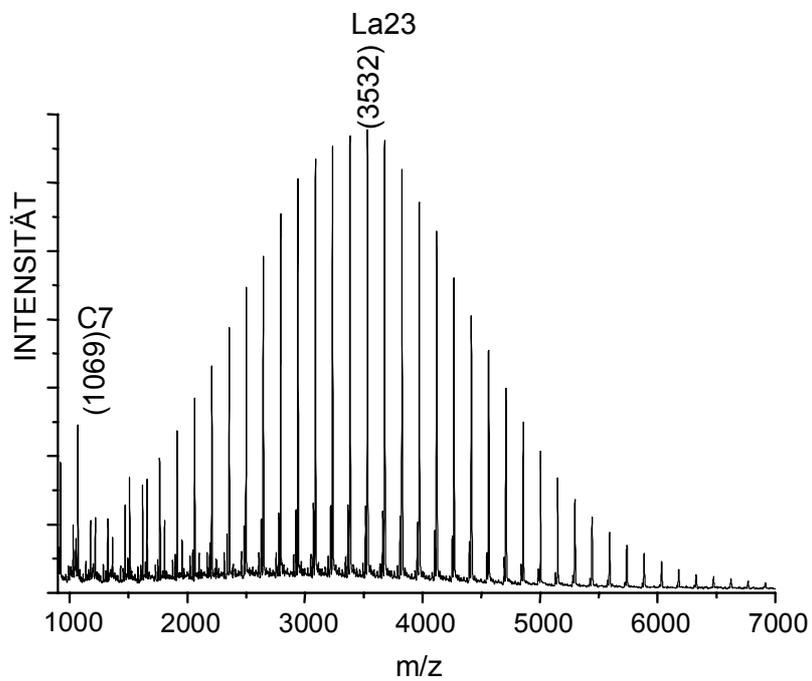
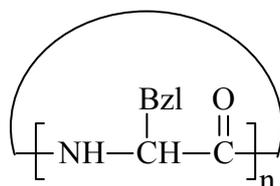


Abb. 3.3.2 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-phenylalanins Nr. 39 (K^+ -gedopt),
La = lineare Polymere der Struktur 3.3-1, C = zyklische Oligopeptide der Struktur 3.3-2

Zum einen unterscheiden sich die Verteilungen. In 1,4-Dioxan bildet sich eine breite, fast bimodale Verteilung aus, während die Verwendung von DMF zu einer engeren Verteilung des Produkts führt. Dieser Unterschied ist offensichtlich eine Konsequenz der geringeren Löslichkeit der Oligo-D,L-phenylalanine in 1,4-Dioxan. Ebenso wie bei den Polymerisationen von D,L-Alanin-NCA in 1,4-Dioxan (Abschnitt 3.1), kommt es zu einem partiellem Ausfall der Oligomere in der β -Faltblattstruktur aus dem Reaktionsgemisch. Es ergibt sich dadurch eine breite Verteilung der Reaktivitäten der aktiven Kettenenden. Letztendlich wird das Kettenwachstum auch physikalisch gestoppt.

Zum anderen kann in den Massenspektren der Produkte, die in DMF synthetisiert wurden (Polymere Nr. 39 und 41), eine kleine Fraktion von zyklischen Oligopeptiden **C** mit der Struktur **3.3-2** (Schema 3.3-1) mit einem Maximum bei dem Zyloheptamer identifiziert werden.



3.3-2

Schema 3.3-1

Dies ist aus zwei Gründen überraschend. Erstens ist es unwahrscheinlich, dass die Amino-Endgruppe der wachsenden Kette in der Lage ist, die Peptidbindung am anderen Kettenende oder innerhalb der Kette schon bei 20 °C zu spalten, und zweitens konnten keine Zylopeptide bei den Benzylamin-initiierten Polymerisationen von Sar-, L-Ala- und D,L-Ala-NCA detektiert werden.

Um dieses Phänomen intensiver zu untersuchen, wurden weitere Initiatoren und Lösungsmittel auf ihre Einflüsse hin untersucht.

3.3.2 *n*-Hexylamin-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA

Die nächste Serie von Polymerisationen wurde mit D,L-Phenylalanin-NCA und *n*-Hexylamin als Initiator durchgeführt. Fünf verschiedene Lösungsmittel wurden bei 20 °C verwendet. Drei Polymerisationen wurden bei 60 °C wiederholt. Das erwartete Hauptprodukt ist in Gleichung 3.3-2 gezeigt.

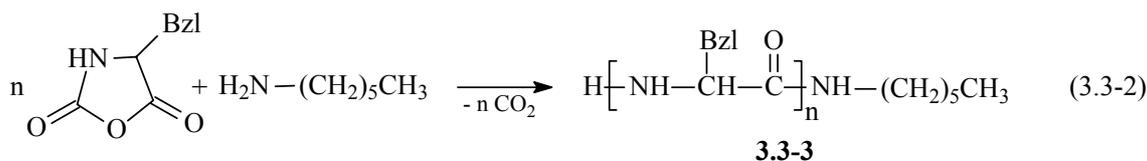


Tabelle 3.3.2 zeigt die Ergebnisse dieser Versuchsreihe.

Tabelle 3.3.2 Polymerisation von D,L-Phe-NCA mit n-Hexylamin (M/I = 40) in unterschiedlichen Lösungsmitteln

Polymer Nr.	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Zeit [d]	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{a)}}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{b)}}$
42	1,4-Dioxan	20	4	99	0.14	40
43	DMF	20	4	70	0.11	32
44	NMP	20	4	68	0.10	30
45	DMSO	20	4	97	0.11	40
46	Sulfolan	20	4	79	0.11	32
47	DMF	60	2	70	0.11	33
48	NMP	60	2	68	0.09	30
49	DMSO	60	2	98	0.13	42

a) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

b) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (gemessen in TFA/DMSO- d_6)

Die höchste Ausbeute und Viskosität sind wiederum bei dem Experiment in 1,4-Dioxan zu verzeichnen (Nr. 42). Die Ausbeuten der Polymerisationen in DMF und NMP sind vergleichsweise deutlich geringer. Wie bereits erwähnt, verlaufen die Polymerisationen hier wegen der hohen Solvatationsfähigkeit der Lösungsmittel langsamer. DMSO fällt hierbei aus dem Rahmen, da trotz der hohen Polarität eine sehr hohe Ausbeute erzielt werden konnte (Nr. 45 und 49). Die Endgruppenanalyse in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Produkte zeigt, dass sich die mittleren Polymerisationsgrade den Reaktionsumsätzen entsprechend gut über das M/I-Verhältnis kontrollieren lassen.

Die MALDI-TOF-Massenspektren der Produkte ergeben, dass bei allen Experimenten die erwartete n-Hexylamin-terminierte Polypeptidkette der Struktur **3.3-3** als Hauptprodukt vorliegt. Die Häufigkeitsverteilungen von **3.3-3** sind bei diesen Polymeren etwas breiter als die von **3.3-1** bei den Benzylamin-initiierten

Polymerisationen (Nr. 38 - 41). Polypeptide, die durch Wasser initiiert wurden, sowie solche mit Hydantoinensäure-Endgruppen können nicht detektiert werden.

Während bei den Polymerisationen in 1,4-Dioxan und Sulfolan die Polypeptidkette **3.3-3** das einzige Produkt ist (Abb. 3.3.3), treten bei den Polymerisationen in DMF, NMP und DMSO wiederum Fraktionen von Zyklopeptiden **C** der Struktur **3.3-2** auf (Abb. 3.3.4).

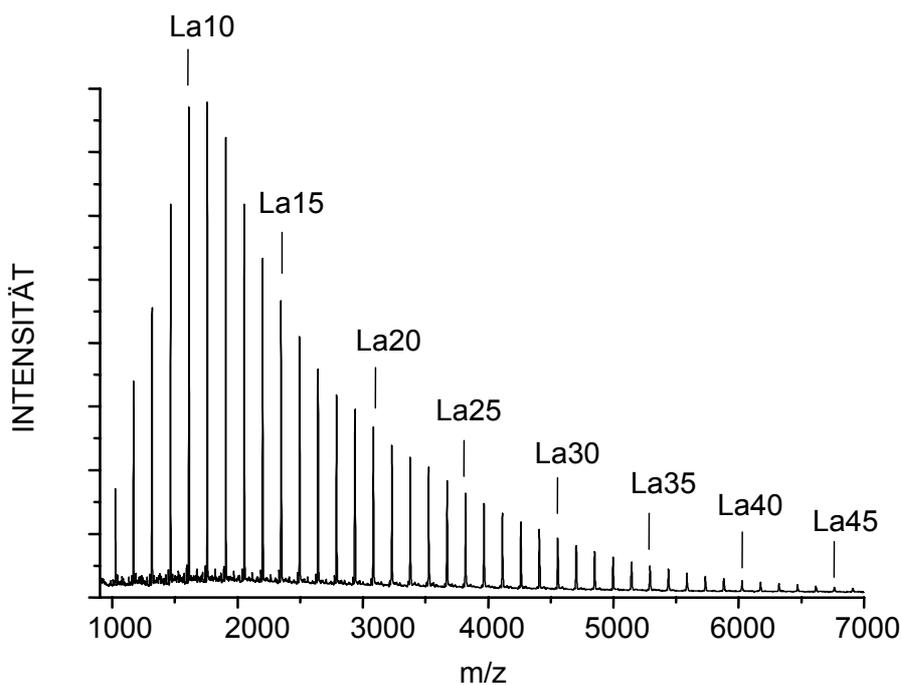


Abb. 3.3.3 MALDI-TOF-Massenspektrum des in Sulfolan synthetisierten Poly-D,L-phenylalanin Nr. 46, La = lineare Polymere der Struktur **3.3-3**

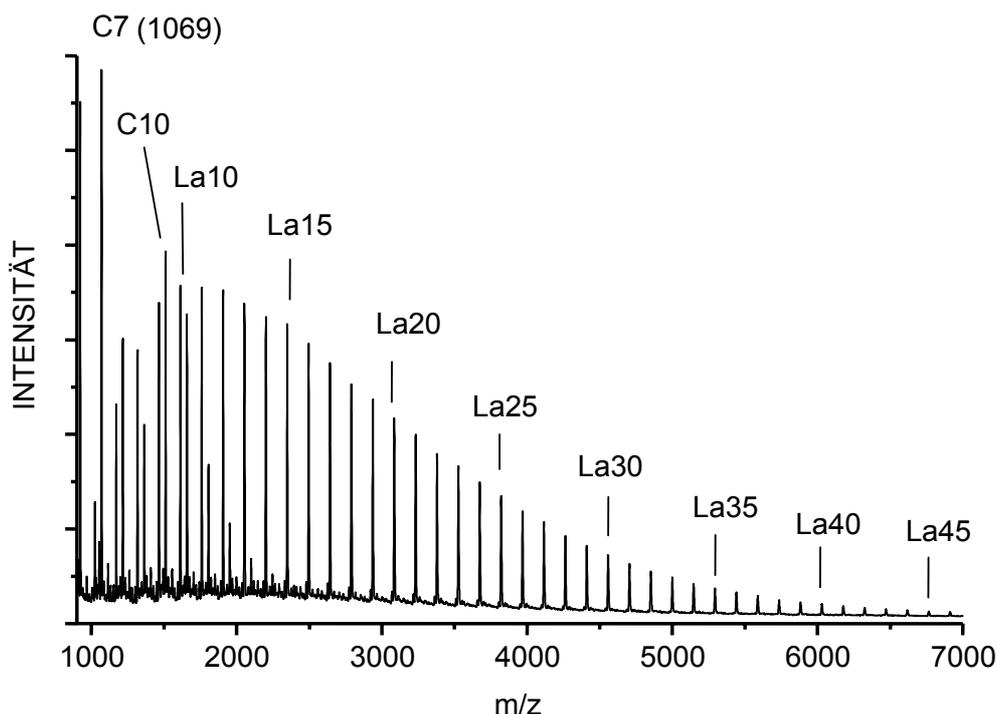
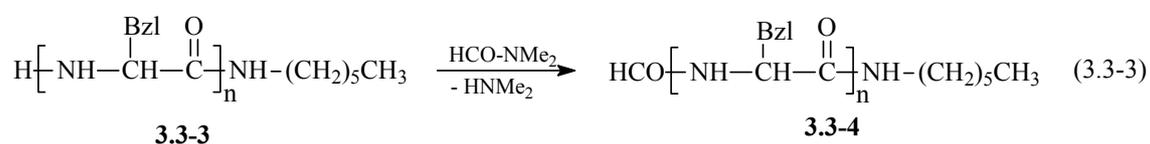


Abb. 3.3.4 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMF synthetisierten Poly-D,L-phenylalanins Nr. 43, La = lineare Polymere der Struktur **3.3-3**, C = zyklische Oligopeptide der Struktur **3.3-2**

Die Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 60 °C führt zu einem etwas höheren Anteil der Fraktion zyklischer Peptide (Nr. 47 - 49).

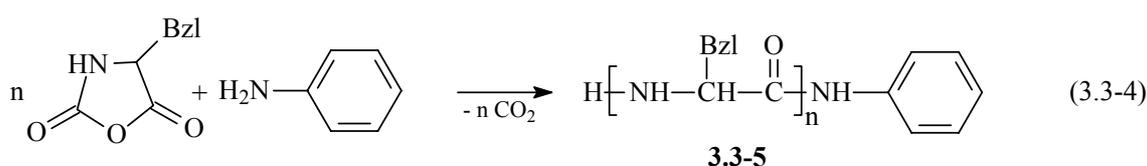
Weiterhin treten im Massenspektrum von Polymer 47, das in DMF bei 60 °C synthetisiert wurde, Ketten der Struktur **3.3-4** (Gl. 3.3-3) auf. Die Erhöhung der Temperatur führt offensichtlich dazu, dass das aktive Kettenende mit dem DMF reagieren kann und unter Abspaltung von Dimethylamin eine Formamid-Endgruppe bildet (Gl. 3.3-3).



Das Auftreten von zyklischen Oligopeptiden führt natürlich zu erhöhten Werten für die aus dem ¹H-NMR-Spektrum ermittelten mittleren Polymerisationsgrade, da die Wiederholungseinheiten von zyklischen und linearen Peptiden dort addiert werden.

3.3.3 Anilin-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA

Als dritter Initiator wurde Anilin verwendet, das weniger nucleophil als die anderen primären Amine ist. Die Initiierungsreaktion ist langsamer als die Kettenwachstumsschritte und andere Initiierungsreaktionen wie z.B. Initiierung durch Wasser haben so eine größere Chance, mit dem Amin zu konkurrieren. Das erwartete Hauptprodukt **3.3-5** ist in Gleichung 3.3-4 gezeigt.



Es wurden fünf verschiedene Lösungsmittel untersucht. Einige Polymerisationen wurden bei 60 °C wiederholt. Eine Endgruppenanalyse im ¹H-NMR-Spektrum ließ sich wegen Überlagerung der Signale der aromatischen Protonen nicht durchführen. Tabelle 3.3.3 zeigt die Ergebnisse dieser Versuchsreihe.

Tabelle 3.3.3 Polymerisation von D,L-Phe-NCA mit Anilin (M/I = 40) in unterschiedlichen Lösungsmitteln

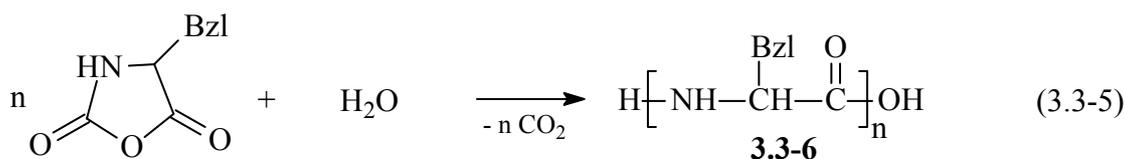
Polymer Nr.	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Zeit [d]	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{c)}$ [dL/g]
50A ^{a)}	1,4-Dioxan	20	4	80	0.19
50B ^{b)}	1,4-Dioxan	20	4	86	0.15
51A ^{a)}	Sulfolan	20	4	75	0.08
51B ^{b)}	Sulfolan	20	4	81	0.07
52 ^{b)}	DMF	20	4	59	0.07
53 ^{b)}	NMP	20	4	51	0.08
54 ^{b)}	DMSO	20	4	92	0.15
55 ^{b)}	DMF	60	3	65	0.08
56 ^{b)}	NMP	60	3	61	0.10
57 ^{b)}	DMSO	60	3	97	0.18

a) Reaktionsgefäß mit Glasstopfen und Stahlfeder verschlossen

b) Reaktionsgefäß mit CaCl₂-Trockenrohr verschlossen

c) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

Für die Polymerisationen in 1,4-Dioxan und Sulfolan wurden zwei verschiedene Vorgehensweisen verglichen. Die Gefäße wurden mit einem Glasstopfen (50A, 51A) bzw. mit einem CaCl_2 -Trockenrohr (50B, 51B) verschlossen, um zu sehen, ob durch das Trockenrohr eintretendes Wasser zu Nebenreaktionen führt. Dabei zeigte sich tatsächlich, dass die gängige Verwendung von CaCl_2 -Trockenrohren bei langsamen Initiierungsreaktionen wie durch Anilin keinen ausreichenden Feuchtigkeitsausschluss gewährleistet. Es treten neben den Amin-terminierten Ketten **La** der Struktur **3.3-5** zusätzlich H_2O -terminierte Ketten **Lb** der Struktur **3.3-6** (Gl. 3.3-5) auf.



Beim Verschließen der Reaktionsgefäße mit Glasstopfen und Stahlfeder (50A, 51A) wurden dagegen im MALDI-TOF-MS ausschließlich **La**-Ketten (**3.3-5**) mit Amino-Endgruppen identifiziert (Abb. 3.3.5). In diesen Fällen konnte auch eine etwas höhere Viskosität der Produkte ermittelt werden.

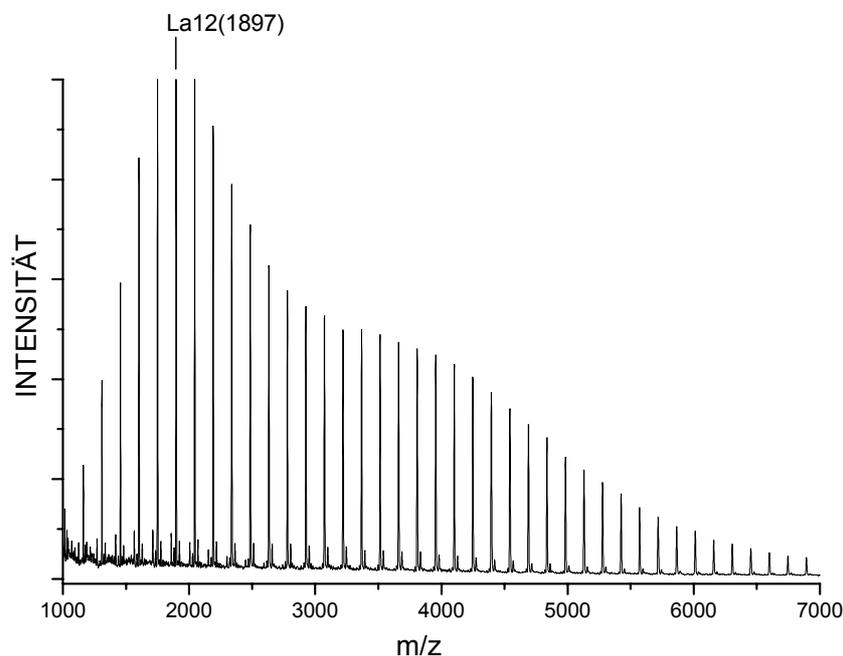


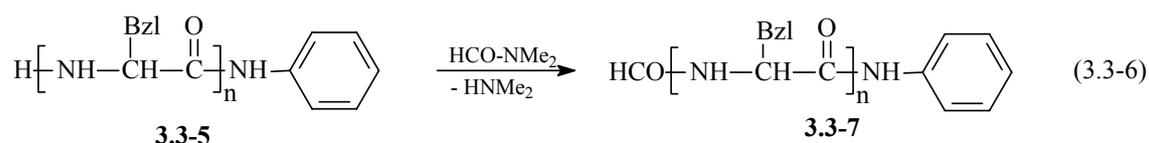
Abb. 3.3.5 MALDI-TOF-Massenspektrum des in Sulfolan synthetisierten Poly-D,L-phenylalanin Nr. 51A (K^+ -gedopt), La = lineare Polymere der Struktur **3.3-5**

Diese Konkurrenz zwischen Wasser und Amin konnte bei den nucleophileren Initiatoren Benzylamin und n-Hexylamin nicht beobachtet werden.

Die Polymerisationen in DMF, NMP und DMSO liefern ebenfalls als Hauptprodukt die **La**-Ketten, wegen der Verwendung von CaCl₂-Trockenrohren treten jedoch auch H₂O-terminierte **Lb**-Ketten auf.

Weiterhin treten bei den Polymerisationen in DMF, NMP und DMSO ebenfalls zyklische Peptide auf, deren Anteil etwas höher ist als bei den Benzylamin- und n-Hexylamin-initiierten Polymerisationen.

Die Polymerisation bei 60 °C in DMF führt zu einer weiteren Nebenreaktion, die auch schon bei der n-Hexylamin-initiierten Reaktion in DMF beobachtet werden konnte. Es können Formamid-terminierte Ketten der Struktur **3.3-7** im MALDI-TOF-MS identifiziert werden (Gl. 3.3-6).



Die Ergebnisse der Anilin-initiierten Polymerisationen machen zusammengenommen deutlich, dass aufgrund der geringeren Nucleophilie und damit geringeren Initiierungsgeschwindigkeit andere Initiierungsschritte effizienter mit dem Amin konkurrieren können.

3.3.4 Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin

Da die Sekundärstruktur und Löslichkeit von Poly-L-phenylalanin und statistischem Poly-D,L-phenylalanin sehr verschieden sind, sollten an dieser Stelle die daraus resultierenden Einflüsse auf die Polymerisation untersucht werden. In verschiedenen Lösungsmitteln wurden bei 20 °C die Initiatoren n-Hexylamin und Anilin für die Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA verwendet (Reaktionsgleichungen 3.3-2 und 3.3-4).

Die Ergebnisse dieser Experimente sind in der Tabelle 3.3.4 aufgeführt.

Tabelle 3.3.4 Polymerisation von L-Phe-NCA mit verschiedenen Initiatoren (M/I = 40) in unterschiedlichen Lösungsmitteln^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
58	n-Hexylamin	CH ₂ Cl ₂	98	0.11
59	n-Hexylamin	1,4-Dioxan	96	0.12
60	n-Hexylamin	Sulfolan	88	0.16
61	n-Hexylamin	DMF	94	0.10
62	n-Hexylamin	NMP	95	0.12
63	n-Hexylamin	DMSO	98	0.16
64	Anilin	DMF	81	0.14
65	Anilin	DMSO	70	0.14

a) Reaktionszeit: 4 d, Reaktionstemperatur: 20 °C

b) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit c = 2 g/L

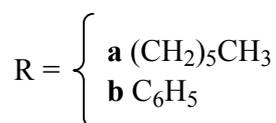
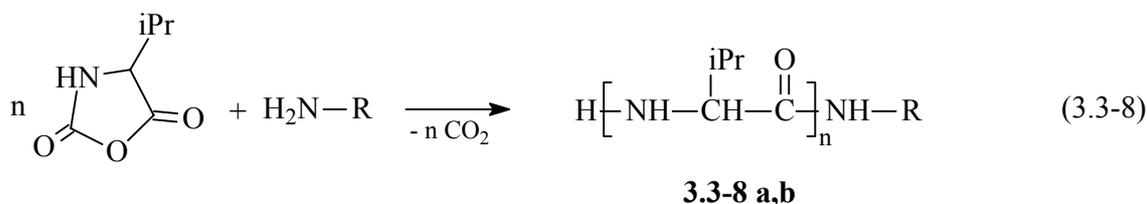
Die Polymerisationen mit n-Hexylamin verlaufen in allen Lösungsmitteln mit sehr hohen Ausbeuten. Mit Anilin sind deutlich geringere Ausbeuten realisierbar. Die Charakterisierung der isolierten Poly-L-phenylalanine erwies sich wegen der schlechten Löslichkeit in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln als ziemlich schwierig. Selbst in Hexafluorisopropanol oder reiner Trifluoressigsäure ist Poly-L-phenylalanin unlöslich, und es werden daher starke Säuren wie Methansulfonsäure zur Lösung benötigt.

Die MALDI-TOF-Massenspektren wiesen unabhängig davon, ob zur Vorbereitung der Proben Suspensionen oder Lösungen der Poly-L-phenylalanine verwendet wurden, alle ein relativ niedriges Signal-Rausch-Verhältnis auf. Es konnten dennoch zwei Trends beobachtet werden. Zum einen konnten zyklische Peptide nur in DMF, NMP und DMSO identifiziert werden (Nr. 61 - 65). Zum anderen ergeben sich beim Poly-L-phenylalanin deutlich breitere Verteilungen im Vergleich zu den Poly-D,L-phenylalaninen. Dieser Trend wurde schon beim Vergleich der Poly-L-alanine und Poly-D,L-alanine beobachtet und diskutiert (Abschnitt 3.1). Die niedrige Löslichkeit und das frühe Ausfallen der Oligo-L-phenylalanine aus dem Reaktionsgemisch führen zu einer breiten Verteilung der Wachstumsraten und damit notwendigerweise zu einer breiten Molekulargewichtsverteilung.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der Polymerisationen von Phenylalanin-NCA, dass bei Initiierung durch primäre Amine komplexere Vorgänge stattfinden als erwartet. Die Bildung von Hydantoinsäureendgruppen konnte zwar nicht detektiert werden, dafür

3.3.5 Polymerisation von Valin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin

Zunächst wurde die Polymerisation von Val-NCA mit Anilin und n-Hexylamin in DMSO untersucht. Die Gleichung 3.3-8 zeigt das erwartete Hauptprodukt.



Als M/I-Verhältnis wurde 40/1 gewählt, um möglichst Produkte in einem Massenbereich zu erhalten, der eine verlässliche Analyse mittels MALDI-TOF-MS gewährleistet. Die Ergebnisse der Polymerisationen sind in Tabelle 3.3.5 aufgeführt.

Tabelle 3.3.5 Polymerisation von Val-NCA in DMSO^{a)}

Polymer Nr.	NCA	Initiator	Ausbeute [%]	η_{inh} [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{d)}$
66	D,L-Val	Anilin	61	0.11 ^{b)}	30
67	D,L-Val	n-Hexylamin	64	0.14 ^{b)}	45
68	L-Val	Anilin	80	0.15 ^{c)}	47
69	L-Val	n-Hexylamin	85	0.16 ^{c)}	45

a) M/I-Verhältnis: 40, Temp.: 20 °C, Zeit: 4 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

c) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit c = 2 g/L

d) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im ¹H-NMR-Spektrum (gemessen in TFA/DMSO-d₆)

Zunächst fällt auf, dass die Ausbeuten der Polymerisationen von D,L-Val-NCA deutlich niedriger ausfallen als die der Polymerisationen von L-Valin-NCA. Quantitative Ausbeuten können aber auch beim L-Valin-NCA nicht erreicht werden. Die aus dem ¹H-NMR-Spektrum ermittelten durchschnittlichen Polymerisationsgrade sind bei allen

Experimenten zu hoch. Beim Anilin kann dies an der geringen Initiierungsgeschwindigkeit, die durch die geringe Nucleophilie zustande kommt, liegen. Dieses ist jedoch bei den n-Hexylamin-initiierten Polymerisationen nicht der Fall. Hier ist es wahrscheinlicher, dass bei der Aufarbeitung ein Teil der oligomeren Anteile beim Ausfällen in Diethylether in Lösung verblieben ist.

Weitere Informationen können aus den MALDI-TOF-MS der Polymere gezogen werden. Die Poly-D,L-valine ließen sich sehr gut vermessen, bei den Messungen der Poly-L-valine wurden jedoch nur schlechte Signal-Rausch-Verhältnisse erhalten. Es zeigt sich, dass die Polymerisationen von Valin-NCA (66 - 69) ausschließlich nach der in Gleichung 3.3-8 gezeigten, erwarteten Sequenz stattfinden, die Ketten also der Struktur **3.3-8** entsprechen. Daneben konnten keine weiteren Nebenprodukte detektiert werden (Abb. 3.3.6 und 3.3.7).

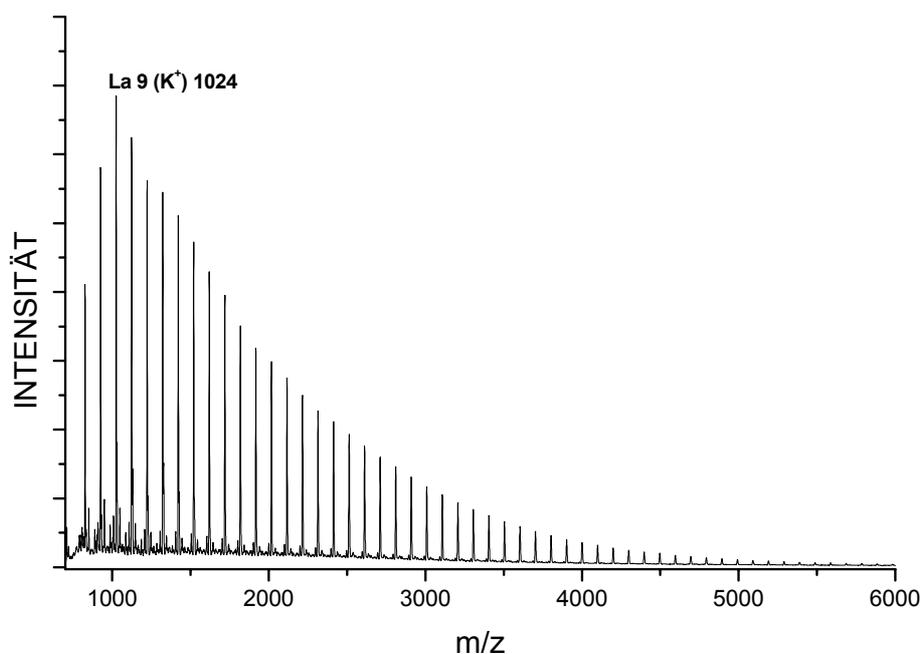


Abb. 3.3.6 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-valin Nr. 66, La = lineare Polymere der Struktur **3.3-8**

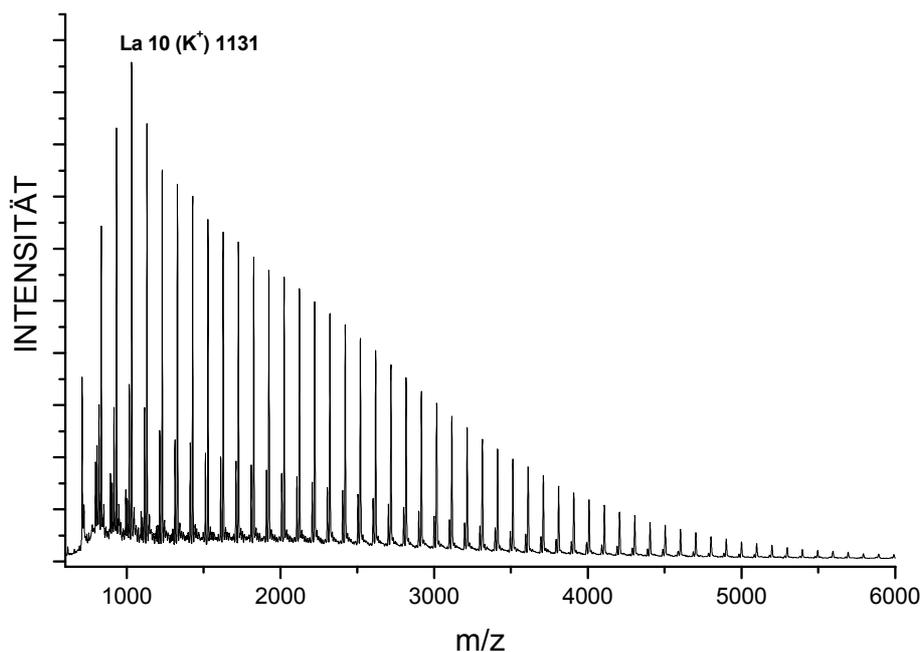


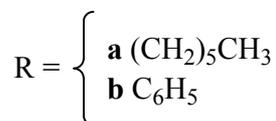
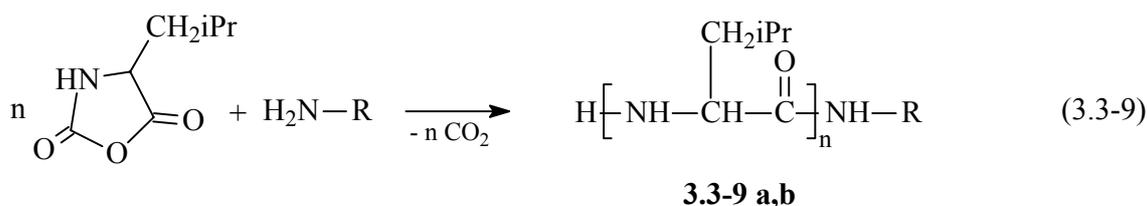
Abb. 3.3.7 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-valin Nr. 67, La = lineare Polymere der Struktur **3.3-8**

Für die Polymerisation von Val-NCA in DMSO lässt sich also sagen, dass die Initiierung mit primären Aminen ohne Nebenreaktionen abläuft. Die Bildung von zyklischen Peptiden, wie sie bei der Polymerisation von Phenylalanin-NCA beobachtet wurde, konnte in diesem Fall nicht nachgewiesen werden.

Diese Versuchsreihe wurde in analoger Form auch mit L- und D,L-Leucin-NCA durchgeführt. Dabei wurde zusätzlich auch DMF als Lösungsmittel untersucht.

3.3.6 Polymerisation von L- und D,L-Leucin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin

Zunächst wurde die Polymerisation von D,L-Leu-NCA mit den Initiatoren n-Hexylamin und Anilin in DMSO und DMF untersucht. Die Reaktionsgleichung dieser Polymerisation ist in der Gleichung 3.3-9 gezeigt.



Die Ergebnisse dieser Experimente sind in der Tabelle 3.3.6 aufgelistet.

Tabelle 3.3.6 Polymerisation von D,L-Leu-NCA^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{b)}$ [dL/g]	$\overline{DP}^{\text{c)}$
70	Anilin	DMSO	6	-	- ^{d)}
71	n-Hexylamin	DMSO	33	0.12	48
72	Anilin	DMF	0	-	- ^{d)}
73	n-Hexylamin	DMF	2	-	40

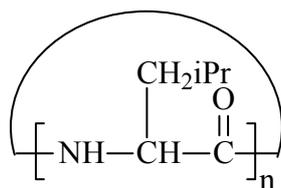
a) M/I-Verhältnis: 40, Temp.: 20 °C, Zeit: 4 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

c) Polymerisationsgrad aus der Endgruppenanalyse im ¹H-NMR-Spektrum (gemessen in TFA/ DMSO-d₆)

d) Endgruppensignal im ¹H-NMR-Spektrum überlagert

Hier sind zunächst die sehr niedrigen Ausbeuten der Polymerisationen auffällig. In DMF konnte sogar teilweise gar kein Produkt isoliert werden (Nr. 72). Betrachtet man die aus dem ¹H-NMR-Spektrum ermittelten \overline{DP}_s der Produkte 71 und 73, so fällt auf, dass diese sehr hohe Werte annehmen. Dies kann zum einen daran liegen, dass nur ein geringer Teil des Initiators reagiert hat. Dagegen spricht jedoch die hohe Nucleophilie des n-Hexylamins. Zum anderen wird bei der Aufarbeitung der Produkte ein Teil der Oligomere in Lösung verblieben sein. Liegen dagegen Nebenprodukte mit anderen Endgruppen oder Zyklopeptide vor, so führt dies im ¹H-NMR-Spektrum ebenfalls zu höheren Werten für die \overline{DP}_s . Die Analyse der MALDI-TOF-MS liefert auch hier weiterführende Informationen. So zeigt sich, dass bei allen isolierten Polymeren neben den erwarteten Amin-terminierten Ketten **3.3-9** zyklische Peptide **C** der Struktur **3.3-10** (Schema 3.3-2) auftreten. In Abb. 3.3.8 ist das Massenspektrum von Polymer Nr. 71 gezeigt.



3.3-10

Schema 3.3-2

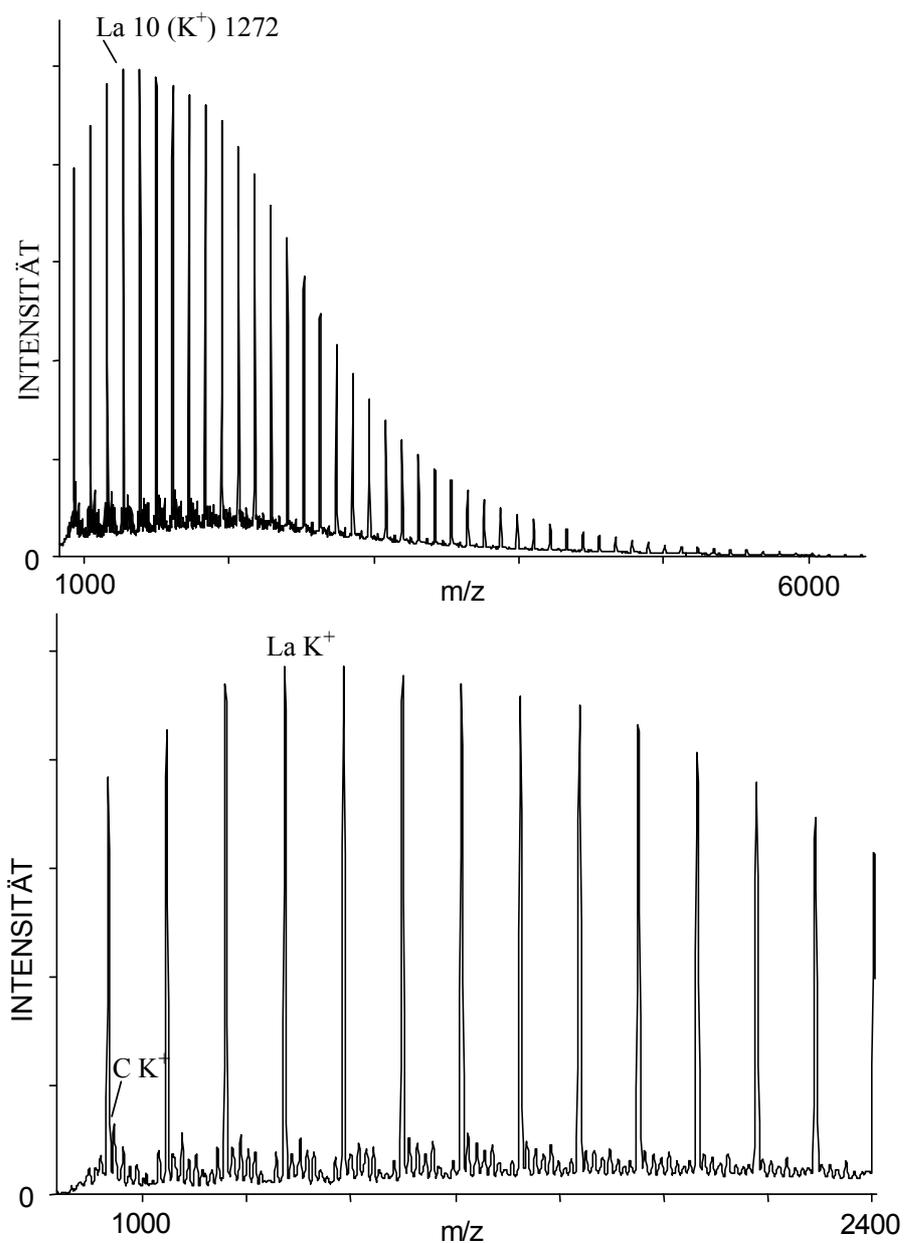


Abb. 3.3.8 MALDI-TOF-Massenspektrum von Poly-D,L-leucin Nr. 71, La = lineare Polymere der Struktur 3.3-9, C = Zyklopeptide der Struktur 3.3-10

Die analoge Polymerisation von L-Leu-NCA führt zu den Ergebnissen der Tabelle 3.3.7.

Tabelle 3.3.7 Polymerisation von L-Leu-NCA^{a)}

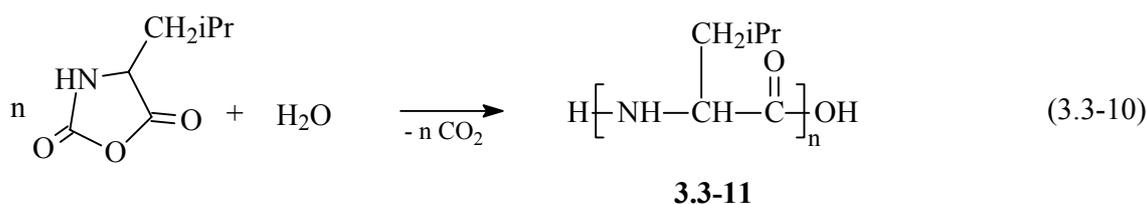
Polymer Nr.	Initiator	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
74	Anilin	DMSO	74	0.16
75	n-Hexylamin	DMSO	87	0.12
76	Anilin	DMF	74	0.21
77	n-Hexylamin	DMF	30	0.23

a) Monomer/Initiator-Verhältnis: 40, Temp.: 20 °C, Zeit: 4 d

b) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit $c = 2$ g/L

Die Polymerisationen verlaufen in diesem Fall mit weitaus höheren Ausbeuten als bei den analogen Polymerisationen von D,L-Leu-NCA (Tabelle 3.3.6). Für die Polymerisationen in DMF werden im Vergleich zur Verwendung von DMSO höhere Viskositäten erhalten. Im Gegensatz zu den Polymerisationen von D,L-Leu-NCA werden hier bei den n-Hexylamin-initiierten Polymerisationen (75 und 77) ausschließlich lineare Amin-terminierte Ketten **3.3-9** (Gl. 3.3-9) im MALDI-TOF-MS detektiert, die breitere Verteilungen aufweisen als die Produkte des Poly-D,L-leucins. Die breitere Verteilung resultiert offenbar aus der schlechteren Löslichkeit des Poly-L-leucins. Die nucleophile Initiierung mit n-Hexylamin und das Kettenwachstum verläuft offensichtlich schneller als die Nebenreaktion, die die Zyklopolypeptide hervorruft.

Bei den Anilin-initiierten Polymeren 74 und 76 zeigen sich jedoch gegenüber D,L-Leu-NCA keine qualitativen Unterschiede hinsichtlich der Produkte im MALDI-TOF-MS. Hier treten ebenfalls zyklische Polyleucine **C** der Struktur **3.3-10** (Schema 3.3-2) neben den Amin-initiierten Ketten **3.3-9** auf. Bei der Polymerisation mit Anilin in DMF (Nr. 76) treten durch Initiierung mit Spuren von Wasser zusätzlich noch geringe Mengen H₂O-terminierter Ketten **3.3-11** (Gl. 3.3-10) auf.



Die Polymerisationen von Leu-NCA zeigen insgesamt, dass sich D,L-Leu-NCA im Gegensatz zu L-Leu-NCA schlecht unter diesen Bedingungen polymerisieren lässt. Als Nebenreaktionen treten bei den primären Aminen in Abhängigkeit von der Reaktivität des Amins und der Polymerisationsgeschwindigkeit zyklische Peptide und H₂O-terminierte Ketten auf.

Die Untersuchung der durch primäre Amine initiierten Polymerisationen von Phenylalanin-, Valin- und Leucin-NCA macht deutlich, dass einige Faktoren zu komplexen Verhältnissen führen können, bei denen verschiedene Reaktionen mit dem Amin-Mechanismus mehr oder weniger effizient konkurrieren. So hat z.B. eine geringe Löslichkeit des Produkts zur Folge, dass eine breitere Verteilung der Reaktivitäten der aktiven Endgruppe besteht, die dann zu breiten Molekulargewichtsverteilungen führt. Dabei kommt es auch zum Erliegen des Kettenwachstums durch sterische Hinderung ("physikalischer Tod"). Weiterhin kann die Amino-Endgruppe bei höheren Temperaturen eine Reaktion mit DMF eingehen, bei der es unter Bildung von Formamid-Endgruppen zum Abbruch des Kettenwachstums kommt. Verläuft die Reaktion langsam und wird ein schwaches Nucleophil als Initiator verwendet, so können Spuren von Wasser die Polymerisation initiieren. In DMF, NMP und DMSO treten überraschenderweise als Nebenprodukte zyklische Peptide auf. Verläuft die Polymerisation hingegen schnell, so können in einigen Fällen Nebenreaktionen ausgeschlossen werden. Die Polymerisationen mit D,L-Phenylalanin-NCA haben ergeben, dass hier eine besonders hohe Zyklisierungstendenz besteht. Die in der Literatur angegebene Bildung von Hydantoinsäureendgruppen^[167-169], die als Nebenreaktion den Abbruch der Polymerisation bedeutet, konnte in keinem Fall nachgewiesen werden.

Zyklische Peptide werden auch von zahlreichen lebenden Organismen synthetisiert. Die erhaltenen Ergebnisse sind daher auch im Zusammenhang mit den Arbeiten von Commeyras et al.^[189-193] von Interesse. Diese gehen von einer wichtigen Rolle der NCAs bei der Bildung von Oligo- und Polypeptiden in der präbiotischen Evolution aus.

Das Auftreten der zyklischen Peptide wirft Fragen zu deren Entstehungsmechanismus und über den Einfluss von Lösungsmittel und Struktur der NCAs auf. Im nächsten Abschnitt wird daher diesbezüglich eine eingehende Untersuchung vorgenommen.

3.4 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation

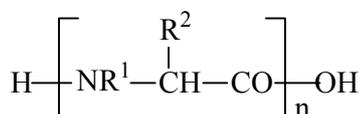
In den vorangegangenen, durch primäre Amine initiierten Polymerisationen wurden zyklische Peptide nachgewiesen, für deren Entstehung bisher keine Erklärung vorliegt. Die Zyklisierung einer Polypeptidkette durch "back-biting" (Gl. 3.3-7) ist bei 20 °C

ausgeschlossen, da die Peptidbindungen der Kette bei dieser Temperatur stabil gegenüber einem nucleophilen Angriff durch die Aminogruppe des aktiven Kettenendes ist. Außerdem müsste in diesem Fall eine Zyklisierung auch in 1,4-Dioxan oder Sulfolan auftreten. Die Bildung von zyklischen Peptiden wurde bei den durch primäre Amine initiierten Polymerisationen im Abschnitt 3.3 jedoch ausschließlich in den Lösungsmitteln mit der höchsten Nucleophilie und Basizität beobachtet. Es muss offensichtlich ein spezieller Polymerisationsmechanismus vorliegen, der bevorzugt zyklische Peptide hervorbringt, und es ist höchstwahrscheinlich, dass das Lösungsmittel bei diesem Mechanismus beteiligt ist.

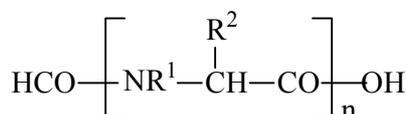
Die in diesem Abschnitt durchgeführten Experimente sollten Aufschluss darüber geben, welchen Einfluss die Natur des Lösungsmittels und die Struktur des NCAs auf die Zyklisierungstendenz haben, und wie ein entsprechender Mechanismus formuliert werden kann.

Zu diesem Zweck wurden Polymerisationen mit sechs NCAs in acht verschiedenen Lösungsmitteln ohne Initiator durchgeführt. In einigen Fällen wurde die Polymerisation bei 60 °C wiederholt, um Temperatureinflüsse zu berücksichtigen. Die Produkte wurden mittels MALDI-TOF-MS identifiziert.

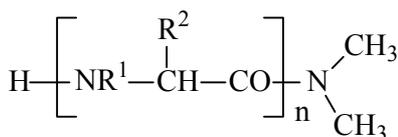
In Schema 3.4-1 sind die verschiedenen vorkommenden Strukturen der Produkte zusammenfassend aufgeführt.



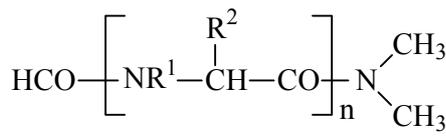
3.4-1 (La)



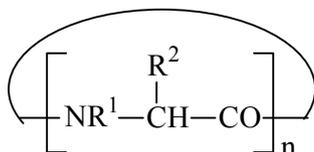
3.4-2 (Lb)



3.4-3 (Lc)



3.4-4 (Ld)



3.4-5 (C)



Schema 3.4-1

3.4.1 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA

Die Bildung von Zyklolypeptiden wurde in besonders hohem Maße bei der Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA beobachtet. Aus diesem Grunde wurden zunächst Versuche mit diesem NCA in einer Reihe von Lösungsmitteln durchgeführt. In Dichlormethan ist das NCA nicht vollständig löslich gewesen. Da Dichlormethan in der Literatur jedoch weite Verwendung als Lösungsmittel für andere NCAs findet^[103], wird es hier dennoch mit aufgeführt.

Das NCA wurde für diese Experimente in dem entsprechenden Lösungsmittel gelöst und für mehrere Tage bei Raumtemperatur stengelassen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.4.1 aufgelistet.

Bei dieser Serie von Experimenten wurden die Reaktionsgefäße zunächst mit CaCl₂-Trockenrohren verschlossen, um den Druckausgleich zu gewährleisten. Bei dieser Methode konnte in 1,4-Dioxan bei 20 °C eine Polymerisation beobachtet werden (Nr. 79). Im MALDI-TOF-Massenspektrum dieser Probe wurden jedoch ausschließlich Wasser-terminierte Ketten **La** (Struktur **3.4-1**) identifiziert. Diese lassen sich auf eine Initiierung durch Spuren von Wasser zurückführen. Das Experiment wurde daraufhin wiederholt, wobei der Reaktionskolben mit einem Glasstopfen und Stahlfeder (ermöglicht den Druckausgleich durch Austreten des CO₂) verschlossen wurde. Die auf diese Weise durchgeführten Experimente in 1,4-Dioxan zeigen, dass bei 20 °C und auch bei 60 °C keine Polymerisation stattfindet (Nr. 80 und 81). Analoge Ergebnisse werden für die Versuche in Tetramethylharnstoff erhalten. Das Produkt Nr. 88 enthält neben zyklischen Peptiden eine große Fraktion (ca. 50 %) von Wasser-terminierten Ketten. Die Wiederholung dieses Experiments unter Verwendung eines Glasstopfens zeigte wiederum, dass auch hier keine Polymerisation eintritt. Diese Ergebnisse zeigen also eindeutig, dass das Auftreten von Wasser-terminierten Ketten durch Eintreten von Wasserdampf durch das Trockenrohr verursacht wird. Weiterhin kam es in den Lösungsmitteln Dichlormethan, Sulfolan und Nitrobenzol zu keiner Polymerisation.

Tabelle 3.4.1 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA in verschiedenen Lösungsmitteln

Polymer Nr.	Lösungsmittel	DC ^{c)}	μ ^{d)} [Debye]	Temp. [°C]	Ausbeute [%]	η_{inh} ^{e)} [dL/g]
78 ^{a)}	Dichlormethan	8.9	1.5	20	0	-
79 ^{a)}	1,4-Dioxan	2.2	0.4	20	87	-
80 ^{b)}	1,4-Dioxan	2.2	0.4	20	0	-
81 ^{b)}	1,4-Dioxan	2.2	0.4	60	0	-
82 ^{a)}	Sulfolan	44.0	4.8	20	0	-
83 ^{a)}	Nitrobenzol	34.8	4.0	20	0	-
84 ^{a)}	DMF	36.7	3.8	20	14	0.11
85 ^{a)}	DMF	36.7	3.8	60	23	0.13
86 ^{a)}	NMP	33.0	4.1	20	99	0.16
87 ^{a)}	Tetramethyl- harnstoff	23.1	3.4	20	0	-
88 ^{a)}	Tetramethyl- harnstoff	23.1	3.4	60	37	0.13
89 ^{b)}	Tetramethyl- harnstoff	23.1	3.4	60	0	-
90 ^{a)}	DMSO	48.9	3.9	20	95	0.20

a) Reaktionsgefäß wurde mit CaCl₂-Trockenrohr verschlossen

b) Reaktionsgefäß wurde mit Glasstopfen und Stahlfeder verschlossen

c) Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels bei 25 °C

d) Dipolmoment

e) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

Die so genannten **spontanen** oder **Lösungsmittel-induzierten Polymerisationen** wurden durch die Bildung von zyklischen Oligo- und Polypeptiden **3.4-5** charakterisiert, deren Auftreten mittels Analyse durch MALDI-TOF-MS bewiesen wurde.

Die schnellste Polymerisation wurde in NMP beobachtet (Nr. 86). Das isolierte Produkt besteht ausschließlich aus zyklischem Poly-D,L-phenylalanin **C** (Struktur **3.4-5**), wie durch das Massenspektrum in Abbildung 3.4.1 bewiesen wurde.

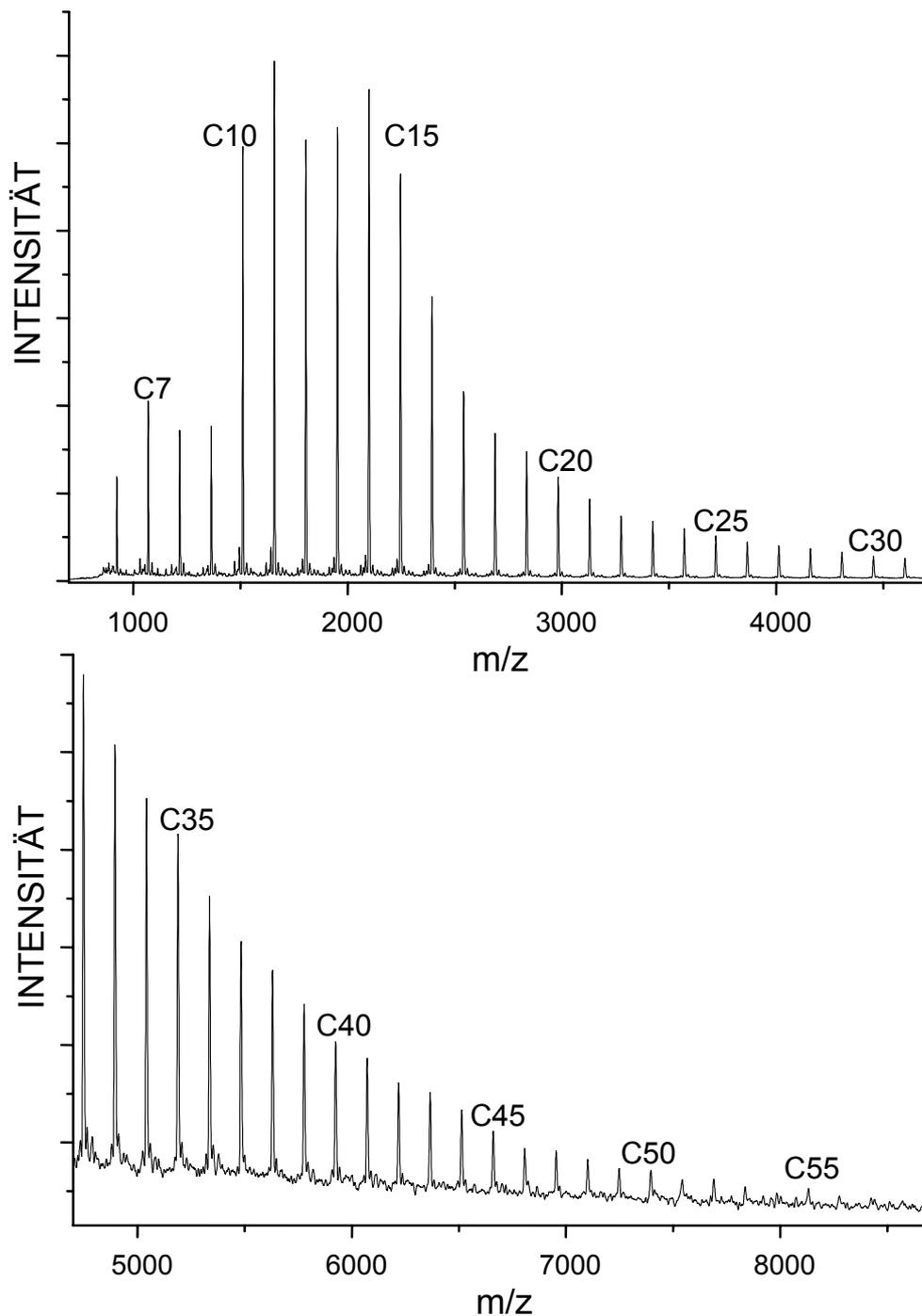


Abb. 3.4.1 MALDI-TOF-Massenspektrum des in NMP synthetisierten Poly-D,L-phenylalanin Nr. 86 (K^+ -gedopt), Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

In DMSO trat ebenso die spontane Polymerisation des NCAs ein (Nr. 90). Die Reaktion war in diesem Fall jedoch langsamer, und es zeigen sich neben den Zyklopeptiden geringe Anteile an Wasser-terminierten Polypeptidketten (Abb. 3.4.2).

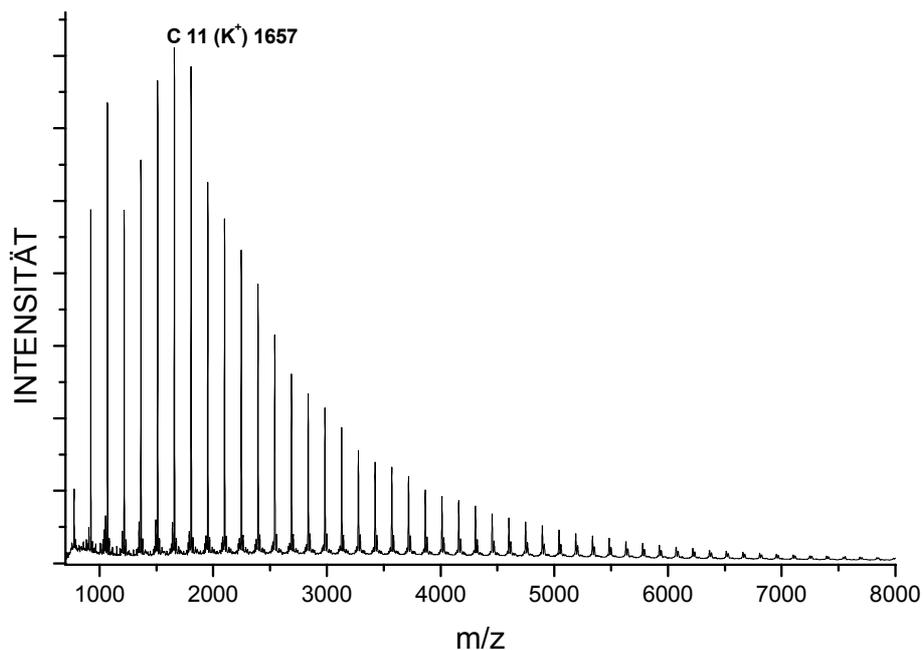
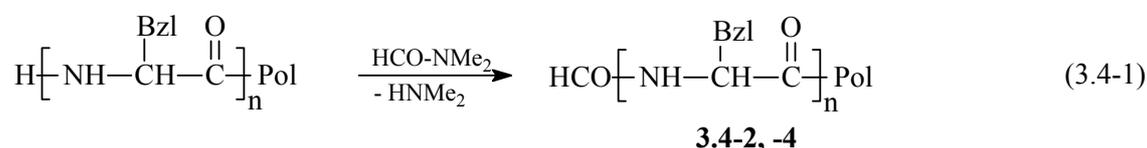


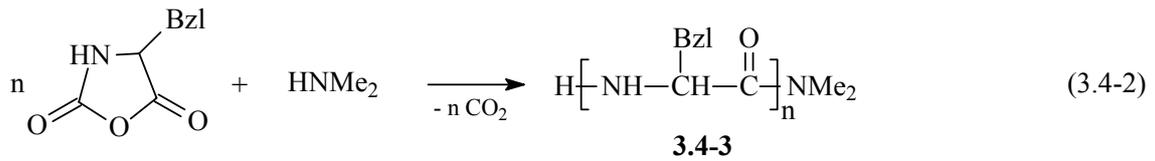
Abb. 3.4.2 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMSO synthetisierten Poly-D,L-phenylalanin Nr. 90, Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

Die Polymerisation in DMF verlief signifikant niedriger und Spuren von Wasser konnten erfolgreich mit der spontanen Polymerisation konkurrieren. In dem Massenspektrum von Nr. 85 (Abb. 3.4.3) zeigen sich neben zyklischen Polypeptiden ebenfalls Ketten der Struktur **3.4-1 (La)**, **3.4-2 (Lb)** (und/oder **3.4-3 (Lc)**) und **3.4-4 (Ld)** (Schema **3.4-1**).

Wie schon bei vorherigen Polymerisationen in DMF gezeigt wurde, kann die aktive Amino-Endgruppe der wachsenden Peptidkette bei 60 °C mit DMF reagieren und Formamid-Endgruppen bilden (Struktur **3.4-2** und **3.4-4** in Schema 3.4-1, Gleichung 3.4-1).



Das freigesetzte Dimethylamin, das bei weitem nucleophiler als Wasser ist, reagiert seinerseits als Initiator, wodurch Ketten der Struktur **3.4-3** bzw. **3.4-4** entstehen (Gl 3.4-2 und 3.4-1).



In DMF werden also durch Initiierung mit Spuren von Wasser eine Reihe von Nebenreaktionen eingeleitet (Abbildung 3.4.3).

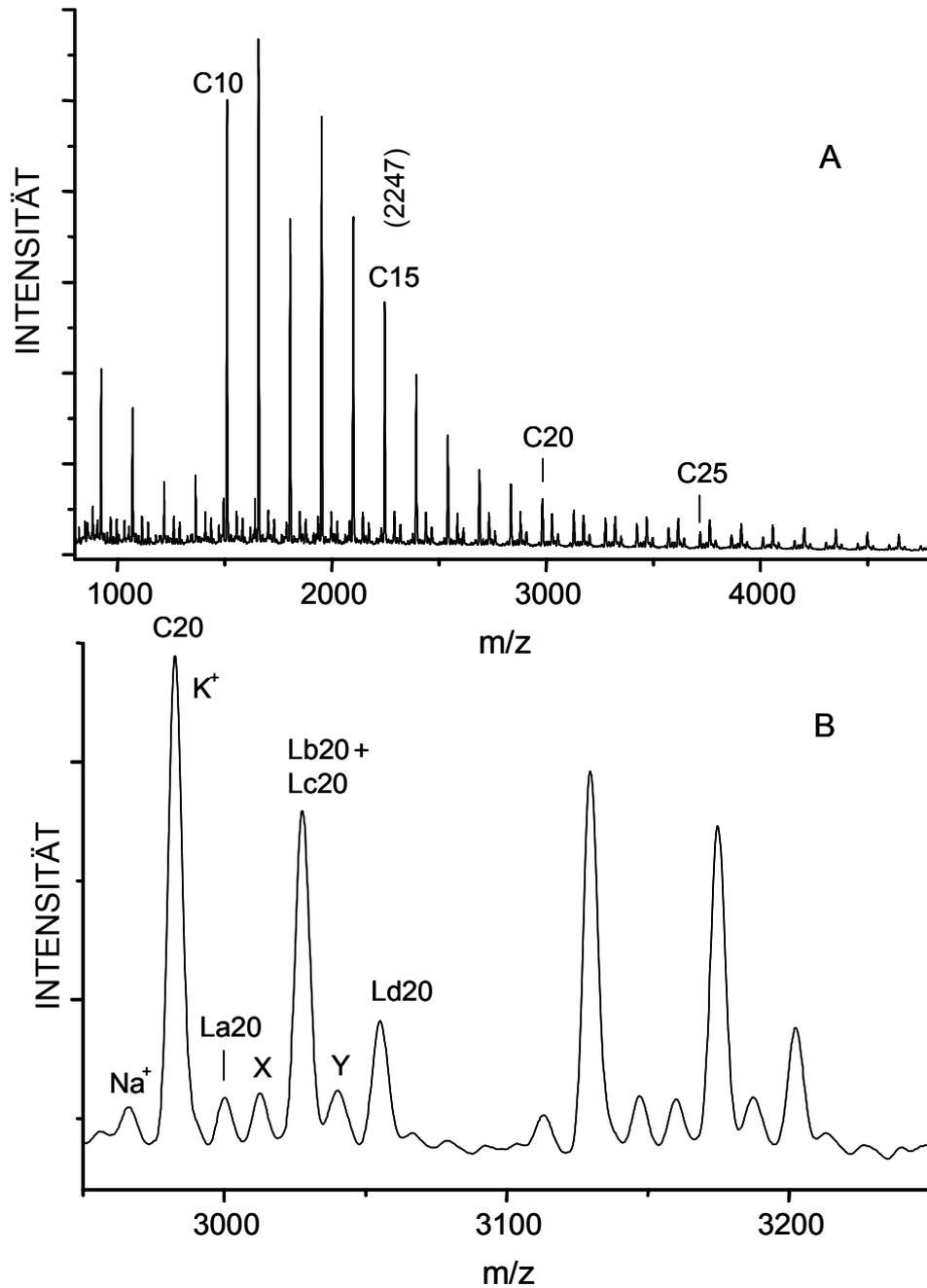


Abb. 3.4.3 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMF synthetisierten Poly-D,L-phenylalanin Nr. 85, Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

Der Vergleich der Dielektrizitätskonstanten der Lösungsmittel (Tabelle 3.4.1) zeigt, dass die Lösungsmittelpolarität keine Schlüsselrolle für die Reaktivität als Katalysator einnimmt. Offensichtlich ist dafür die Nucleophilie oder Donoreigenschaft (genauer Elektronendonator und Stabilisator der positiven Ladung) die entscheidende Eigenschaft. Die Geschwindigkeiten der spontanen Polymerisationen von D,L-Phenylalanin-NCA in Tabelle 3.4.1 sind so unterschiedlich, dass schon ohne eine detaillierte Messung die Katalysatorreaktivität der Lösungsmittel in der folgenden Anordnung dargestellt werden kann:



3.4.2 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA

Die Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA wurde in NMP und DMF untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.4.2 enthalten.

Tabelle 3.4.2 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von L-Phenylalanin-NCA in verschiedenen Lösungsmitteln^{a)}

Polymer Nr.	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{b)}}$ [dL/g]
91	NMP	20	0	-
92	NMP	60	45	0.17
93	DMF	20	0	-
94	DMF	60	44	0.16

a) Reaktionszeit: 4 d

b) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit $c = 2 \text{ g/L}$

Erstaunlicherweise zeigt sich L-Phenylalanin-NCA im Gegensatz zum D,L-Phenylalanin-NCA deutlich weniger reaktiv. Bei 20 °C tritt keine Polymerisation auf, und selbst bei 60 °C sind die Polymerisationsgeschwindigkeiten gering. Deshalb können durch Spuren von Wasser initiierte Polymerisationen mit der Lösungsmittel-induzierten Polymerisation konkurrieren. Das Produkt, das in NMP hergestellt wurde (Nr. 92), enthält eine breite Verteilung von Wasser-initiierten Ketten, die bis zu einer Masse von 12 000 Da nachweisbar sind (Abb. 3.4.4). Daneben tritt eine enge Verteilung von zyklischen Polypeptiden auf.

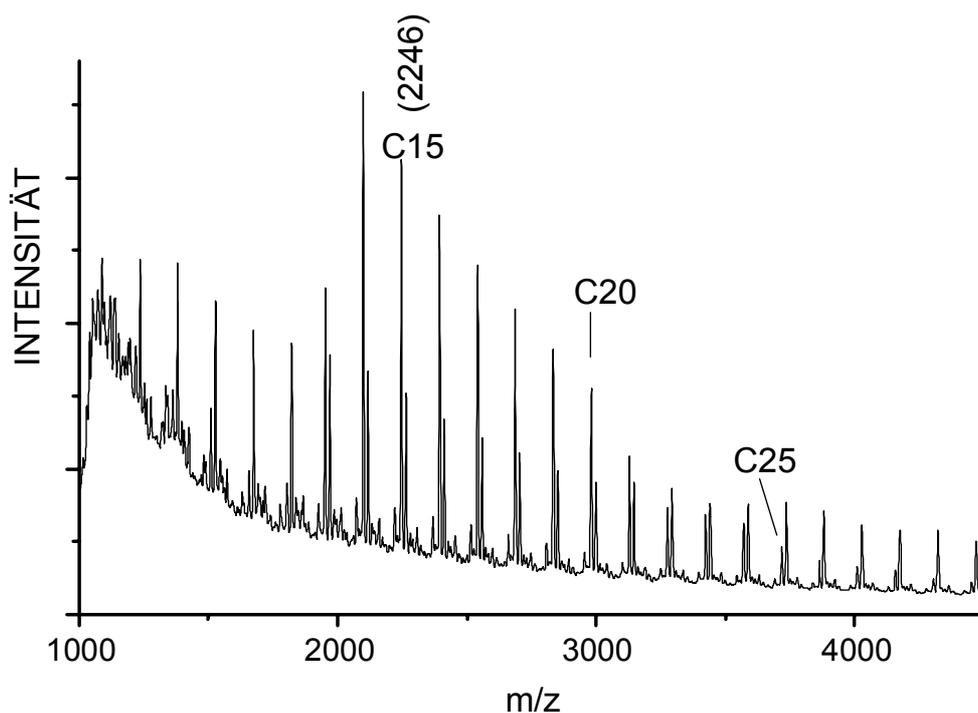


Abb. 3.4.4 MALDI-TOF-Massenspektrum des in NMP synthetisierten Poly-L-phenylalanin Nr. 92 (K^+ -gedopt), Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

Die Polymerisation in DMF (Nr. 94) ist ebenso wie beim D,L-Phenylalanin-NCA von Nebenreaktionen mit dem DMF begleitet. Es treten dort neben den zyklischen Peptiden lineare Ketten mit Formamid-Endgruppen (Struktur **3.4-2**) und/oder Dimethylamin-initiierte Ketten (Struktur **3.4-3**) als Hauptprodukt auf.

3.4.3 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von Sarkosin-, L-Alanin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA

Da sich beim D,L-Phenylalanin-NCA die Lösungsmittel NMP und DMSO am reaktivsten für die Lösungsmittel-induzierte Polymerisation erwiesen haben, wurde die Untersuchung weiterer NCAs mit diesen beiden Lösungsmitteln durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 3.4.3 dargestellt.

Tabelle 3.4.3 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von Sarkosin-, L-Alanin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA

Polymer Nr. ^{a)}	Lösungsmittel	NCA von	Temp. [°C]	Ausbeute [%]	η_{inh}^c [dL/g]
95	NMP	Sarkosin	20	92	0.23
96	NMP	L-Alanin	20	23	0.22
97	NMP	D,L-Valin	60	0	-
98	NMP	D,L-Leucin	60	0	-
99	DMSO	Sarkosin	20	99	0.17
100	DMSO	L-Alanin	20	68	0.38
101	DMSO	D,L-Valin	60	43	0.14
102 ^{b)}	DMSO	D,L-Leucin	60	16	0.22
103	DMSO	D,L-Leucin	60	45	0.29

a) Reaktionsgefäß wurde mit Glasstopfen und Stahlfeder verschlossen

b) Reaktionsgefäß wurde mit CaCl₂-Trockenrohr verschlossen

c) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

Während sich bei der Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA NMP als reaktivster Katalysator gezeigt hat, liegt im Fall der hier verwendeten α -Aminosäure-NCAs durchgängig der umgekehrte Trend vor. DMSO ist hier gegenüber NMP der reaktivere Katalysator. Alle vier Monomere polymerisieren in DMSO, wohingegen D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA in NMP nicht reagieren. Auch eine Erhöhung der Temperatur auf 60 °C führt in NMP für diese beiden Monomere nicht zur Polymerisation. Acht von neun Experimenten wurden in Reaktionsgefäßen durchgeführt, die mit einem Glasstopfen und Stahlfeder verschlossen waren. Die Produkte, die bei diesen Versuchen isoliert werden konnten, enthielten ausschließlich zyklische Polypeptide. Die Massenspektren von Polysarkosin Nr. 95 und Poly-L-alanin Nr. 100 sind als Beispiele in den Abbildungen 3.4.5 und 3.4.6 aufgeführt.

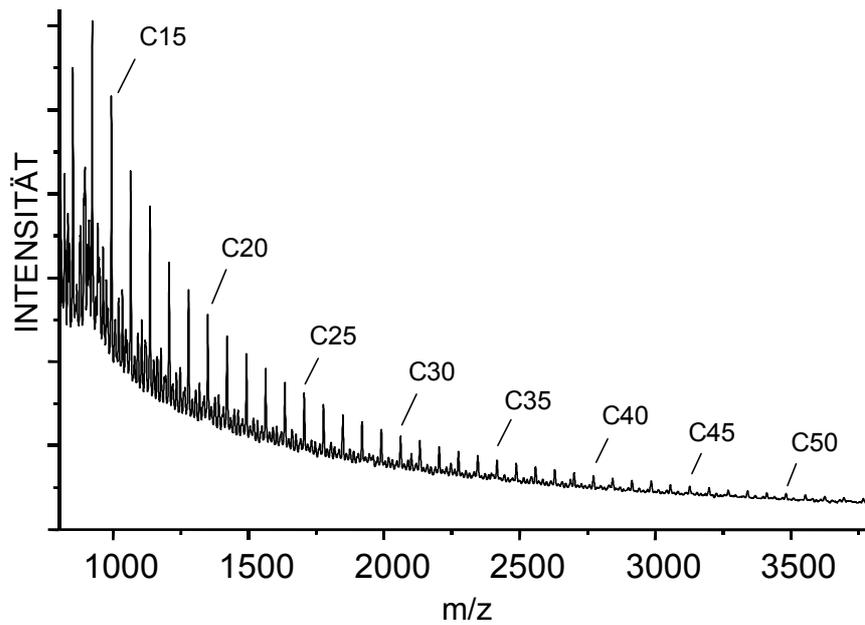


Abb. 3.4.5 MALDI-TOF-Massenspektrum des in NMP synthetisierten Polysarcosin Nr. 95 (H^+ -gedopt, die schwachen Signale resultieren aus Na^+ - und K^+ -Doping), Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

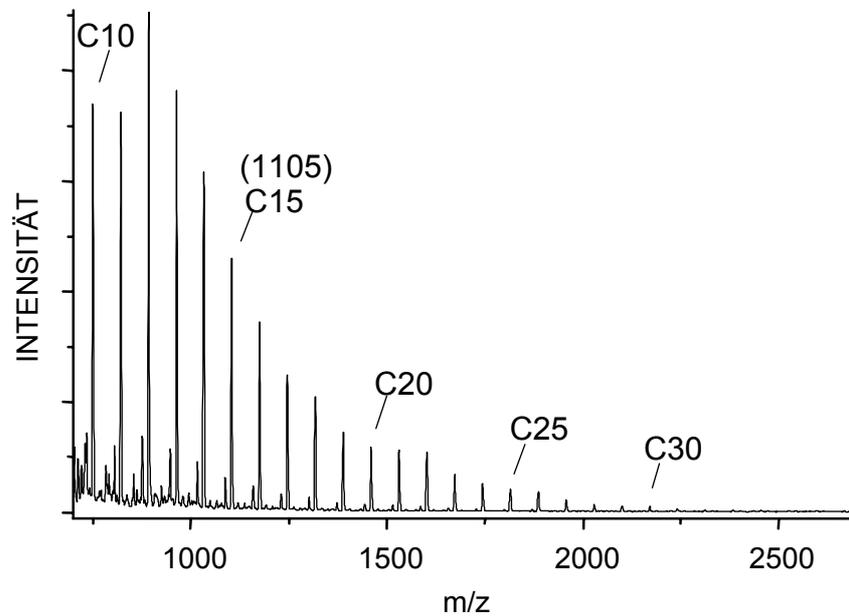


Abb. 3.4.6 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMSO synthetisierten Poly-L-alanin Nr. 100 (K^+ -gedopt, die schwachen Signale resultieren aus Na^+ - und H^+ -Doping), Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

Da D,L-Leucin-NCA in dieser Reihe die geringste Reaktivität zeigte, wurden hiermit zum Vergleich zwei verschiedene Prozeduren bei 60 °C in DMSO durchgeführt. Dabei wurde das Reaktionsgefäß entweder mit einem Glasstopfen und Stahlfeder verschlossen oder mit einem frisch hergestellten CaCl₂-Trockenrohr. Das Produkt, das in letzterem Fall isoliert wurde, zeigt im Massenspektrum neben den zyklischen Polypeptiden auch lineare Wasser-initiierte Ketten der Struktur **3.4-1**. Bei Verschließen des Reaktionsgefäßes mit einem Stopfen traten hingegen ausschließlich die Signale zyklischer Polypeptide im Massenspektrum auf (Abb. 3.4.7). Durch das Trockenrohr konnten also Spuren von Wasser eindringen und, erfolgreich mit dem Lösungsmittel konkurrierend, die Polymerisation über Amino-Endgruppen initiieren.

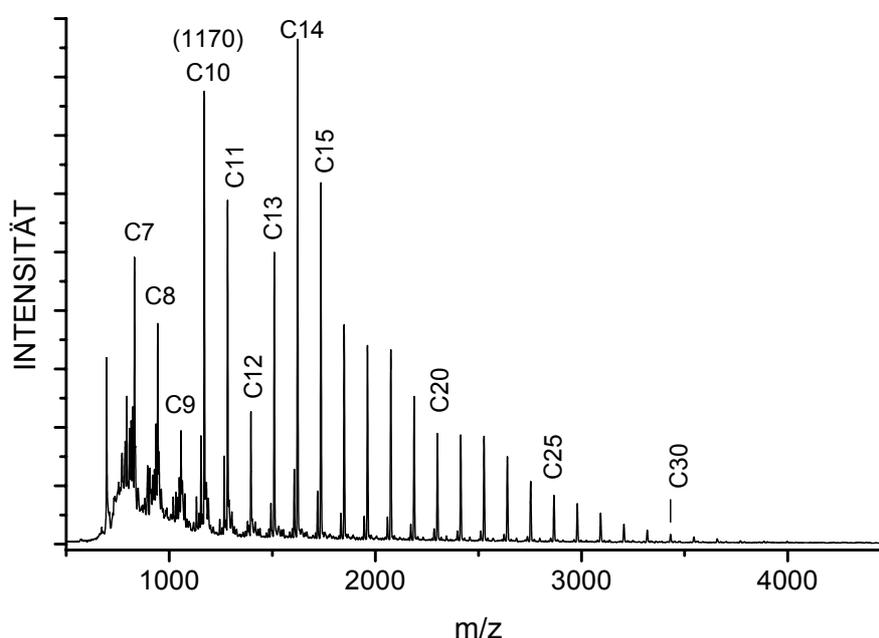


Abb. 3.4.7 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMSO synthetisierten Poly-D,L-leucin Nr. 103 (K⁺-gedopt), Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

3.4.4 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA

γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA ist unter den α -Aminosäure-NCAs das am häufigsten verwendete Monomer für Polypeptidsynthesen. Eine besondere Eigenschaft des γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA ist, dass das aus der Polymerisation resultierende Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) keine schwerlöslichen β -Faltblattstrukturen bildet. Deshalb ist es zusätzlich in diese Untersuchungen eingeschlossen worden. Die Experimente zur Lösungsmittel-induzierten Polymerisation sind in der Tabelle 3.4.4 aufgeführt.

Tabelle 3.4.4 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA

Polymer Nr. ^{a)}	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Reaktionszeit [d]	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
104	NMP	20	4	88	0.53
105	DMF	60	5	0	-
106	DMSO	20	4	94	0.38
107	DMSO	60	1	97	0.41

a) Reaktionsgefäß wurde mit Glasstopfen und Stahlfeder verschlossen

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

Die Polymerisationen in NMP und DMSO verliefen schnell und mit hohen Ausbeuten. In DMF hingegen findet selbst bei 60 °C auch nach 5 d Reaktionszeit keine Reaktion statt. Die Polymerisation in DMSO unter Temperaturerhöhung auf 60 °C (Nr. 107) hat eine geringe Erhöhung der Viskosität zur Folge. Die isolierten Produkte bestehen fast ausschließlich aus zyklischen Polypeptiden (Struktur **3.4-5**), wie durch die Massenspektren bewiesen wird. Bei der Polymerisation in DMSO treten geringe Mengen eines Nebenprodukts auf (**X** in Abb. 3.4.9), dessen Masse um 129 Da höher als die der Zyklen liegt. Ein interessanter Unterschied ist in den Verteilungen für die unterschiedlichen Lösungsmittel zu erkennen. In NMP kommt es zu einer Bevorzugung von Zyklen mit gerader Anzahl von Wiederholungseinheiten. Ein solcher Effekt ist bei der Polymerisation in DMSO nicht zu beobachten. In Abbildung 3.4.8 und 3.4.9 sind die Massenspektren der Produkte, die in NMP bzw. DMSO bei 20 °C hergestellt wurden (Nr. 104 und 106), dargestellt.

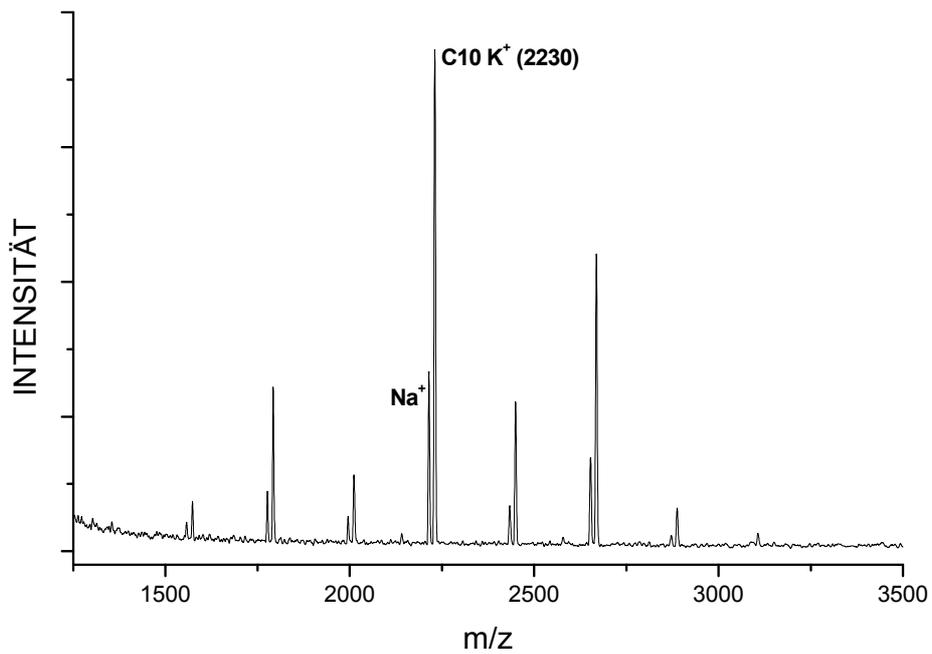


Abb. 3.4.8 MALDI-TOF-Massenspektrum des in NMP synthetisierten Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 104, Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1

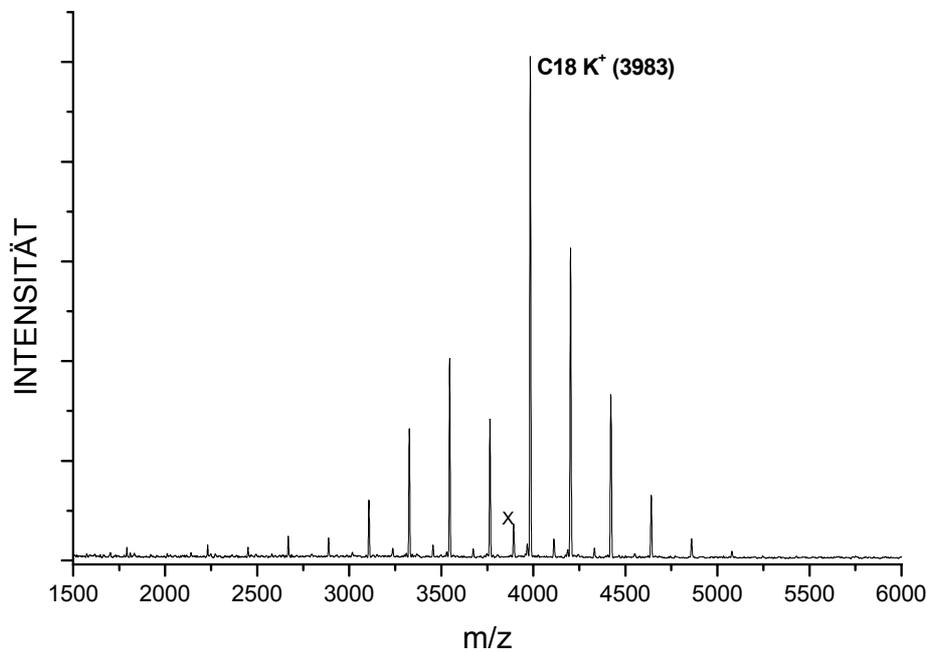
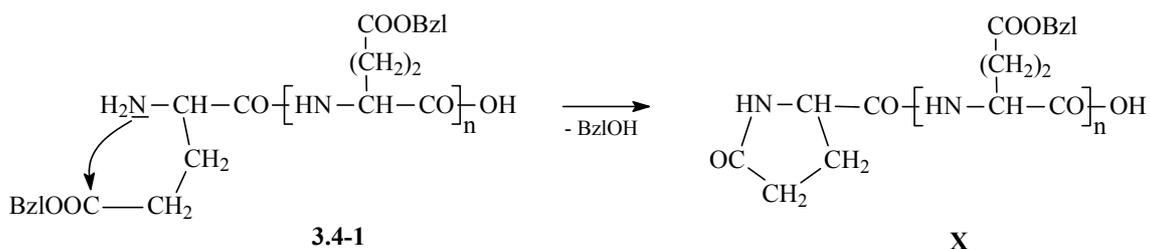


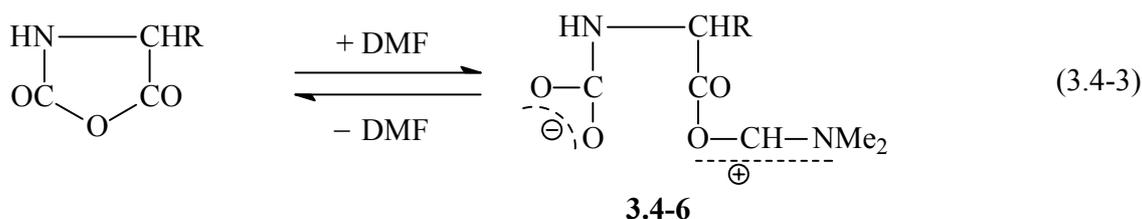
Abb. 3.4.9 MALDI-TOF-Massenspektrum des in DMSO synthetisierten Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 106 (K^+ -gedopt), Zuordnung der Symbole in Schema 3.4-1 und Schema 3.4-2

Die Entstehung des Nebenprodukts **X** beim Produkt Nr. 106 lässt sich möglicherweise durch geringe Verunreinigung mit Wasser erklären. Durch Wasser wird zunächst die Polymerisation nach dem Amin-Mechanismus eingeleitet. Das entstehende Polymer der Struktur **3.4-1** besitzt eine Amino-Endgruppe, die in der Lage sein könnte, die γ -Bzl-Schutzgruppe der endständigen Aminosäureeinheit zu spalten. Unter Abspaltung von Benzylalkohol entstehen bei dieser Abbruchreaktion Ketten der Struktur **X**, deren Massen gerade 129 Da über denen der Zyklopeptide liegen. Dieser mögliche Ablauf wird in Schema 3.4-2 gezeigt.

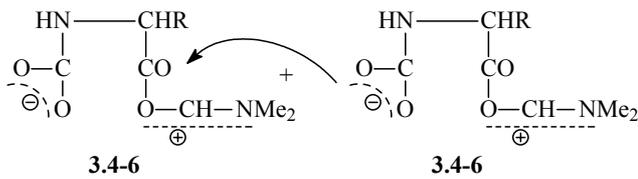
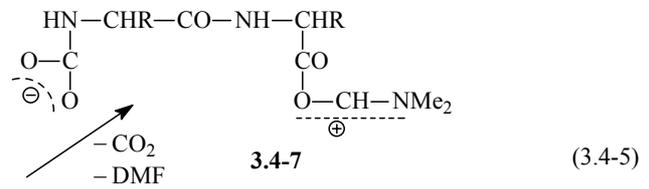
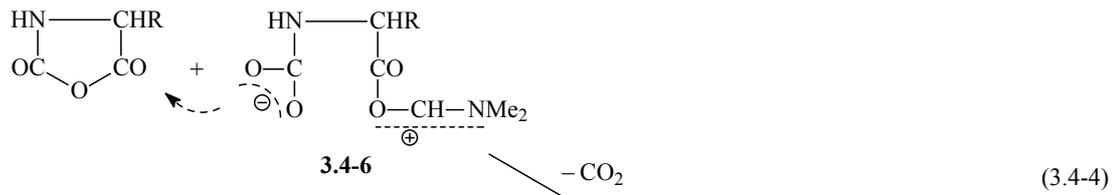


Schema 3.4-2

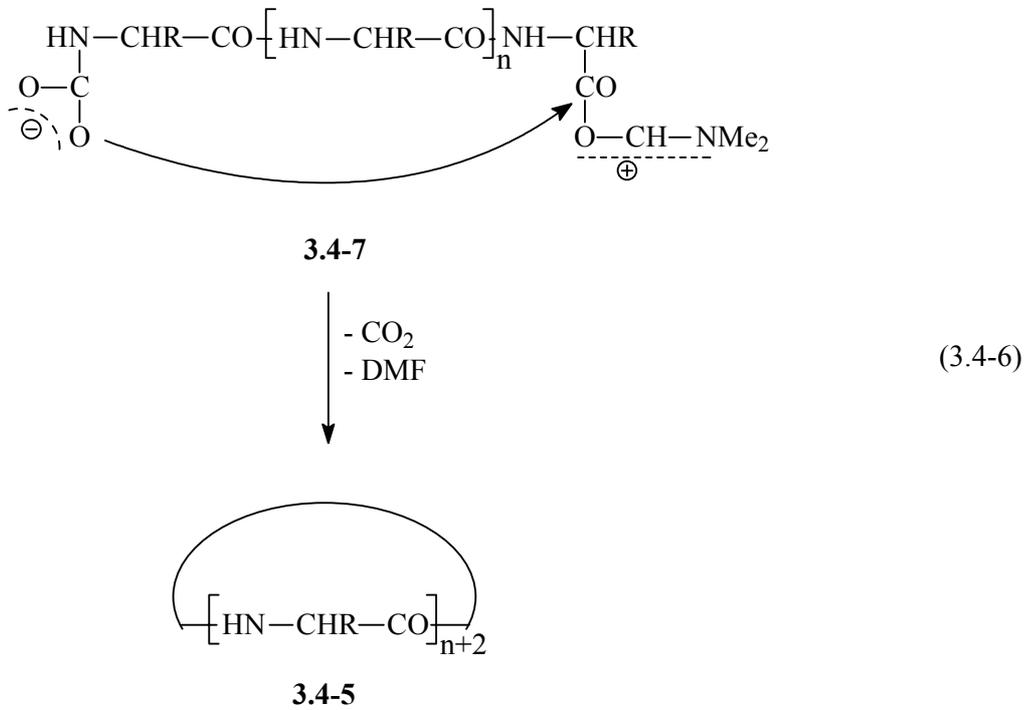
Die Ergebnisse, die durch die Experimente der Lösungsmittel-induzierten Polymerisationen in diesem Abschnitt erhalten wurden, unterstützen die folgende mechanistische Interpretation. Das Lösungsmittel reagiert sicherlich als Nucleophil und Elektronendonator und generiert eine zwitterionische Spezies **3.4-6** als reaktives Intermediat (Gl. 3.4-3).



Dieses Zwitterion kann im Prinzip zwei verschiedene Polymerisationsmechanismen einleiten. Entweder wird ein zwitterionischer Mechanismus aufrechterhalten. Das Kettenwachstum kann in diesem Fall auf zwei verschiedenen Reaktionswegen stattfinden. Entweder verläuft es über eine anionische Polymerisation, die einer Kettenwachstumskinetik folgt (Gl. 3.4-4), oder das Kettenwachstum verläuft über Kondensationsschritte und folgt einer Stufenwachstumskinetik (Gl. 3.4-5).

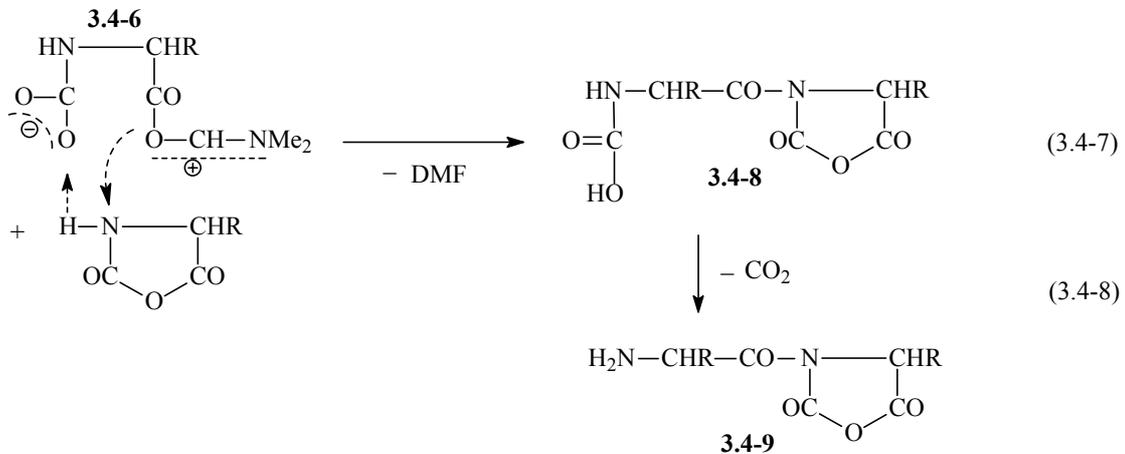


Die Zyklisierung als intramolekulare Kondensation stellt dabei eine Abbruchreaktion dar (Gleichung 3.4-6).

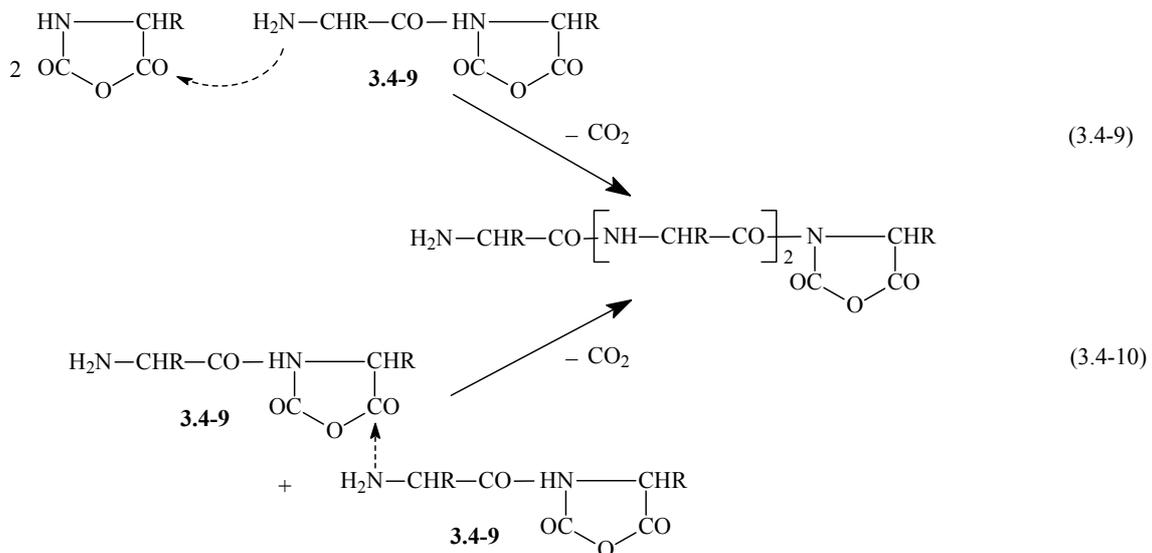


3 Hauptteil

Als Alternative kann der zwitterionische Mechanismus in einen nicht-ionischen Polymerisationsmechanismus übergehen (Gl. 3.4-7 und 3.4-8).



Auch in diesem Fall kann das Wachstum durch fortlaufendes Kettenwachstum (Gl. 3.4-9) sowie durch Kondensation verschiedener Polymerketten (Gl. 3.4-10) stattfinden.



Der nicht-ionische Polymerisationsmechanismus ist jedoch nicht mit der Struktur des Sarkosin-NCAs kompatibel, da dieses nicht am Stickstoffatom deprotoniert werden kann. Die Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von Sarkosin-NCA beweist daher die Existenz des zwitterionischen Polymerisationsmechanismus.

Rückschlüsse auf den mechanistischen Weg, der bei der zwitterionischen Polymerisation befolgt wird, lassen sich nicht aus den strukturellen Eigenschaften der Produkte ziehen, da beide Mechanismen dieselben Ketten und Endgruppen

produzieren. Die Molekulargewichtsverteilungen sollten jedoch verschieden sein. Relativ enge Molekulargewichtsverteilungen mit Polydispersitäten unter 2.0 sind typisch für Kettenwachstumspolymerisationen. Charakteristisch für Polykondensate ist eine Häufigkeitsverteilung mit einem absoluten Maximum beim linearen bzw. zyklischen Dimer oder Tetramer und ein stetiger, exponentieller Abfall der Häufigkeiten zu höheren Polymerisationsgraden hin. Die Häufigkeitsverteilungen der Produkte, die hier isoliert wurden haben Maxima der DPs im Bereich von 10 bis 15 und stimmen besser mit einer Kettenwachstumskinetik überein. Wegen des partiellen Ausfalls von Oligomeren in der β -Faltblattstruktur kann eine enge Häufigkeitsverteilung mit Polydispersitäten unter 1.2 ohnehin nicht erwartet werden. Unglücklicherweise verhindert die schlechte Löslichkeit der Polypeptide in normalen Lösungsmitteln wie THF oder Chloroform die Untersuchung mittels GPC. Eine Ausnahme stellt Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) dar, das in dieser Hinsicht derzeit noch im Arbeitskreis Kricheldorf untersucht wird.

Die Ergebnisse in diesem Abschnitt belegen also, dass die Lösungsmittel mit der höchsten Nucleophilie und Donoreigenschaft (NMP, DMSO, DMF) in der Lage sind, eine zwitterionische Polymerisation einzuleiten. Die Häufigkeitsverteilungen deuten darauf hin, dass das Kettenwachstum hierbei zum größten Teil über anionische ringöffnende Polymerisation der NCAs stattfindet. Besonders charakteristisch für diese Polymerisationen ist die Bildung von zyklischen Polypeptiden, deren Anteil bei Ausschluss von Feuchtigkeitsspuren bis zu 100 % erreichen kann. Hierdurch ergibt sich eine spezielle Methode zur Synthese zyklischer Polypeptide.

Durch diese Lösungsmittel-induzierte, zwitterionische Polymerisation wird im Übrigen auch das Auftreten der Zylopeptide bei den durch primäre Amine initiierten Polymerisationen in Abschnitt 3.3 erklärt. Dort konkurriert dieser Mechanismus mit dem Amin-Mechanismus. Bei schwachen Nucleophilen, und wenn die Reaktivität des NCAs gegenüber dem Lösungsmittel hoch ist (z.B. D,L-Phenylalanin-NCA in NMP), tritt die Lösungsmittel-induzierte Polymerisation mit signifikantem Anteil auf. Dagegen verläuft die Benzylamin-initiierte Polymerisation von Alanin-NCA und Sarkosin-NCA in DMF (Abschnitt 3.1) so schnell, dass die Lösungsmittel-induzierte Polymerisation hier nicht in Erscheinung tritt.

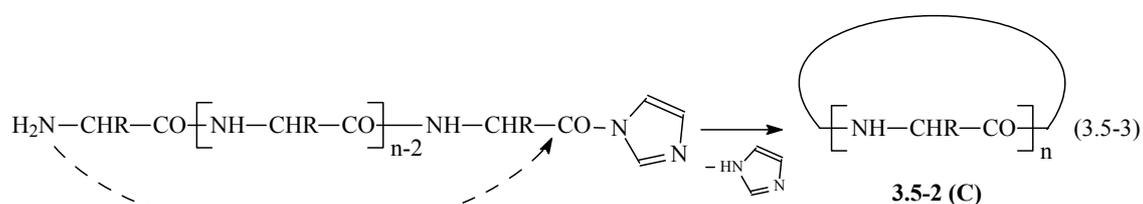
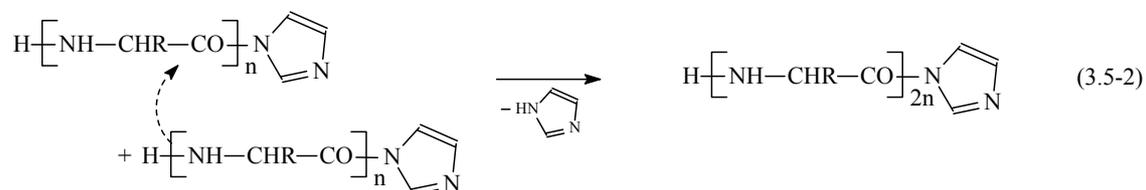
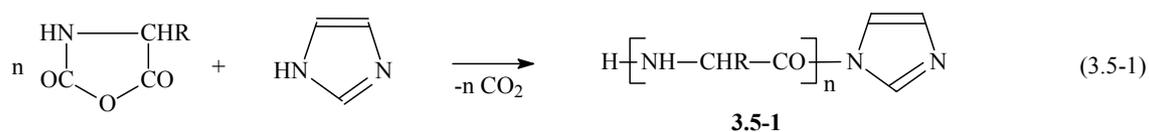
3.5 Imidazol-initiierte Polymerisationen

Bisher wurden durch primäre Amine initiierte Polymerisationen verschiedener NCAs daraufhin untersucht, ob bei moderaten Temperaturen (≤ 60 °C) Zyklisierungen oder andere Nebenreaktionen auftreten. In diesem Zusammenhang ist auch die hier behandelte Imidazol-initiierte Polymerisation von NCAs von Interesse. Die Zielsetzung war hierbei, eine neue Synthesestrategie zu finden, bei der eine kinetisch kontrollierte ringöffnende Polymerisation automatisch in eine kinetisch kontrollierte Polykondensationsreaktion transformiert wird.

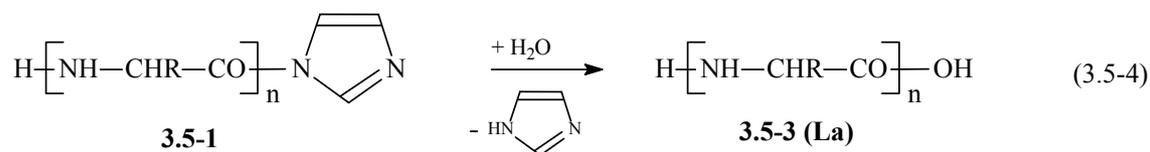
Die primären Amine, die bisher für die Polymerisationen verwendet wurden, bilden alle eine Amid-Endgruppe, die ebenso stabil wie die Peptidbindung der Kette ist. Durch auftretende Nebenreaktionen kann diese normalerweise nicht gespalten werden (zumindest nicht bei Raumtemperatur). Wenn aber ein protisches Nucleophil gefunden wird, das in der Lage ist, die Polymerisation zu initiieren, und dabei Endgruppen bildet, die signifikant elektrophiler sind als die Peptidgruppierung der Kette, dann könnte diese Endgruppe mit der Amino-Endgruppe der wachsenden Kette reagieren. Auf diese Weise würde sich an die kinetisch kontrollierte Polymerisation automatisch eine kinetisch kontrollierte Polykondensation anschließen.

Vor kurzer Zeit wurde demonstriert, dass bei kinetisch kontrollierten Polykondensationen unabhängig von der Konzentration und vom Umsatz eine Konkurrenz zwischen Zyklisierung und Kettenwachstum vorliegt^[194]. Die Transformierung einer kinetisch kontrollierten ringöffnenden Polymerisation in eine kinetisch kontrollierte Polykondensation sollte daher anstatt der linearen Ketten, wie sie durch die ringöffnende Polymerisation allein gebildet werden, zyklische Oligomere und Polymere liefern.

Als protisches Nucleophil, das möglicherweise die erforderlichen Eigenschaften aufweist, wurde Imidazol gewählt. Es wurde gehofft, dass dieses reaktiv genug ist, um die ringöffnende Polymerisation der verschiedenen NCAs zu initiieren. Im Unterschied zu den primären Aminen kann Imidazol zwar ebenfalls zunächst durch einen nucleophilen Angriff auf das NCA und anschließendem Amin-Polymerisationsmechanismus in die Polymerkette als Endgruppe eingebaut werden (Gl. 3.5-1). Von Carbonsäureimidazoliden ist jedoch bekannt^[181], dass sie leicht bei Raumtemperatur mit aliphatischen Aminogruppen reagieren können. Insbesondere die Aminogruppe der Peptidkette selbst kommt als Reaktionspartner in Frage. Aus einem solchen Angriff würden dann Kettenverlängerungen im intermolekularen Fall (Gl. 3.5-2) und Zylopeptide im intramolekularen Fall resultieren, wobei die Zyklisierung der Polypeptidketten den Abbruch der Polymerisation bedeutet (Gl. 3.5-3).



Spuren von Wasser führen in einer Nebenreaktion zur Hydrolyse der Imidazolid-terminierten Ketten (Gl. 3.5-4), die dann nur noch nach dem Amin-Mechanismus weiterwachsen können und nicht mehr in der Lage sind, zu zyklisieren.



3.5.1 Imidazol-initiierte Polymerisationen von Phenylalanin-, Valin- und Leucin-NCA in verschiedenen Lösungsmitteln

Als Lösungsmittel für die Polymerisationen mit Imidazol wurden zunächst DMF, NMP und DMSO verwendet. Untersucht wurden die NCAs von L- und D,L-Phenylalanin, L- und D,L-Valin und L- und D,L-Leucin. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.5.1 aufgelistet. Da sich jedoch gezeigt hat, dass die verwendeten Lösungsmittel selbst eine Reaktion mit dem NCA eingehen und die Polymerisation über einen zwitterionischen

Mechanismus einleiten (Abschnitt 3.4), lassen sich aus den Produktspektren keine sinnvollen Informationen ableiten. Deshalb werden nur die Ausbeuten und Viskositäten der Produkte dargestellt.

Tabelle 3.5.1 Polymerisation verschiedener NCAs mit Imidazol in unterschiedlichen Lösungsmitteln^{a)}

Polymer Nr.	NCA	Temp. [°C]	Zeit [d]	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	η_{inh} [dL/g]
108	D,L-Phe	20	4	DMF	13	0.11 ^{b)}
109	D,L-Phe	20	4	NMP	36	0.10 ^{b)}
110	D,L-Phe	20	4	DMSO	73	0.15 ^{b)}
111	D,L-Phe	60	3	DMF	14	0.09
112	D,L-Phe	60	3	NMP	32	0.07
113	D,L-Phe	60	3	DMSO	61	0.09
114	L-Phe	20	4	DMF	34	0.13 ^{c)}
115	L-Phe	20	4	DMSO	86	0.08 ^{c)}
116	D,L-Val	20	4	DMSO	4	-
117	L-Val	20	4	DMSO	11	-
118	D,L-Leu	20	4	DMF	0	-
119	D,L-Leu	20	4	DMSO	15	0.20 ^{b)}
120	L-Leu	20	4	DMF	60	0.26 ^{c)}
121	L-Leu	20	4	DMSO	58	0.09 ^{c)}

a) M/I-Verhältnis: 40

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

c) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit c = 2 g/L

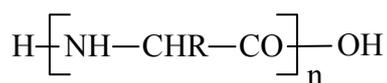
Die Polymerisationen von Phenylalanin-NCA (Nr. 108 - 115) verlaufen unter diesen Bedingungen mit sehr unterschiedlichen Ausbeuten von 13 bis 86 %, wobei die Ausbeute in DMF mit Abstand am geringsten ist. Die Polymerisationen von L- und D,L-Valin-NCA sowie von D,L-Leucin verlaufen mit sehr geringen Ausbeuten. L-Leucin-NCA lässt sich dagegen vergleichsweise gut unter diesen Bedingungen mit Imidazol polymerisieren.

In den MALDI-TOF-Massenspektren aller Produkte treten zum größten Teil zyklische Polypeptide auf, zu deren Entstehung jedoch wegen des parallelen Auftretens verschiedener Mechanismen keine Aussagen gemacht werden können.

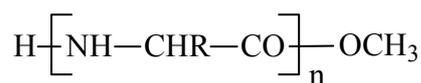
Daneben lassen sich noch Wasser-terminierte Ketten identifizieren. Die Reaktionen verlaufen teilweise sehr langsam, und Spuren von Wasser können die Polymerisation initiieren.

3.5.2 Imidazol-initiierte Polymerisationen in 1,4-Dioxan

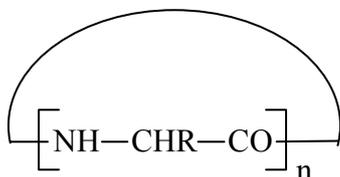
Um die Lösungsmittel-induzierte Polymerisation auszuschließen, wurde in Abschnitt 3.5.2 1,4-Dioxan für die Imidazol-initiierte Polymerisation verwendet. 1,4-Dioxan ist außerdem in der Lage, alle verwendeten NCAs vollständig zu lösen und lässt sich zusätzlich sehr gut durch Destillation über Natrium trocknen. Da die Reaktivität des Imidazols offensichtlich für die Initiierung der Polymerisation einiger NCAs bei Raumtemperatur zu gering ist, wurde die Reaktionstemperatur auf 60 °C erhöht. Sieben verschiedene α -Aminosäure-NCAs (D,L-Phenylalanin-, Sarkosin-, L-Alanin-, D,L-Valin-, L-Leucin-, D,L-Leucin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA) wurden in dieser Serie von Experimenten verwendet, um den Einfluss ihrer Struktur auf die Reaktivität zu untersuchen. Dabei wurden die D,L-Aminosäure-NCAs gewählt, weil die Oligo- und Polypeptide der entsprechenden L-Aminosäure-NCAs besonders niedrige Löslichkeiten aufweisen. Ein frühes Ausfallen der Oligomere in der β -Faltblattstruktur ist natürlich ungünstig für Polykondensations- und Zyklisierungsreaktionen. Poly-L-phenylalanin und Poly-L-leucin sind weiterhin nicht nur in flüchtigen, aprotischen Lösungsmitteln wie THF oder CH_2Cl_2 , sondern auch in flüchtigen Säuren wie Hexafluorisopropanol, Ameisensäure und Trifluoressigsäure unlöslich. Bei der Präparation der Proben für die MALDI-TOF-MS ist jedoch die Verwendung eines flüchtigen Lösungsmittels wünschenswert. Die Oligo- und Polypeptide der D,L-Aminosäuren besitzen eine bedeutend höhere Löslichkeit in einer Vielzahl organischer Lösungsmittel. Die M/I-Verhältnisse der Polymerisationen wurden für die NCAs in einem Bereich von 1 bis 40 variiert. Die Produkte wurden in Diethylether gefällt. Bei einigen Ausnahmen wurde Diethylether/Methanol (Volumenverhältnis 9:1) als Fällungsmittel benutzt (in den Tabellen angegeben). Die auftretenden Produkte werden in Schema 3.5-1 zusammenfassend dargestellt.



3.5-3 (La)



3.5-4 (Lb)



3.5-2 (C)

Schema 3.5-1

Die Ergebnisse der Experimente sind in den folgenden Tabellen 3.5.2 bis 3.5.7 aufgeführt, wobei die vorherrschende Spezies der im MALDI-TOF-Massenspektrum detektierten Produkte unterstrichen ist.

Tabelle 3.5.2 Imidazol-initiierte Polymerisation von Sarkosin-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{b)}}$ [dL/g]	Produkte ^{c)} (MALDI-TOF)
122	1	92	0.35	C
123	3	90	0.38	<u>C</u> , La
124	10	80	0.37	<u>C</u> , La
125	40	83	0.33	<u>C</u> , La

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 2d

b) gemessen in Ameisensäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

c) Zuordnung in Schema 3.5-1

Die Polymerisationen von Sarkosin-NCA verliefen mit relativ guten Umsätzen. Die Ausbeute verringerte sich dabei etwas zu höheren M/I-Verhältnissen hin. Die Viskositäten liegen unabhängig von dem vorgegebenen M/I-Verhältnis alle in einem ähnlichen Bereich. Aus den MALDI-TOF-MS der Produkte konnte ermittelt werden, dass ein hoher Anteil an Zylopeptiden bei allen Produkten (Nr. 122 - 125) vorliegt. Im Fall von Nr. 122 lassen sich nur zyklische Oligo- und Polysarkosine im Massenspektrum nachweisen (Abb. 3.5.1), die anderen Produkte weisen daneben auch noch Wasser-terminierte Ketten auf.

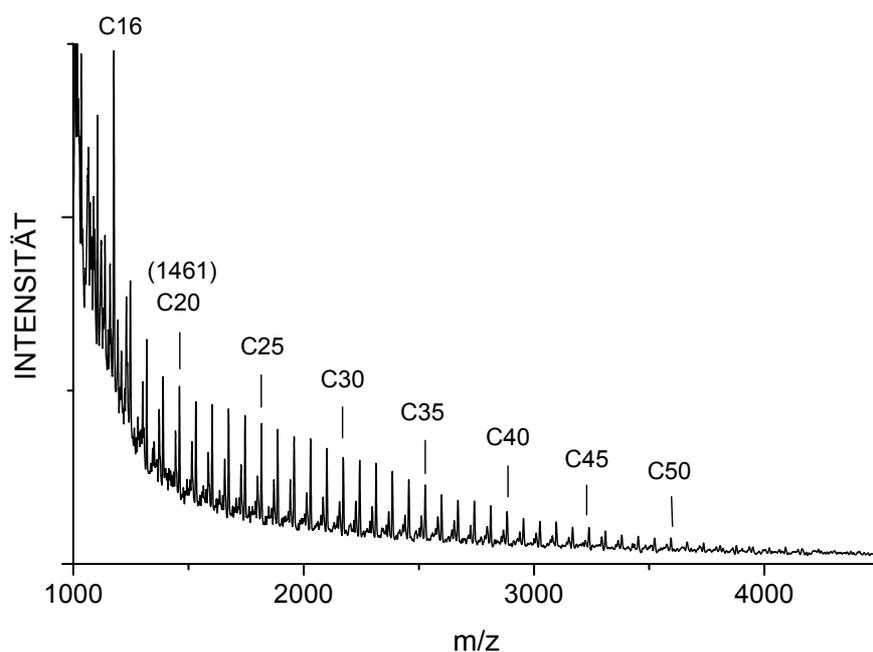


Abb. 3.5.1 MALDI-TOF-Massenspektrum des Polysarkosin Nr. 122 (K^+ -gedopt), die schwächeren Signale sind Na^+ - und H^+ -gedopt.

Tabelle 3.5.3 Imidazol-initiierte Polymerisation von L-Alanin-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]	Produkte ^{c)} (MALDI-TOF)
126	1	88	0.18	C, <u>La</u>
127	3	97	0.24	C, <u>La</u>
128	10	96	0.69	C, <u>La</u>
129	40	94	0.97	C, <u>La</u>
130 ^{d)}	1	88	0.25	C, La, <u>Lb</u>
131 ^{d)}	10	91	0.82	La, Lb

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 2 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

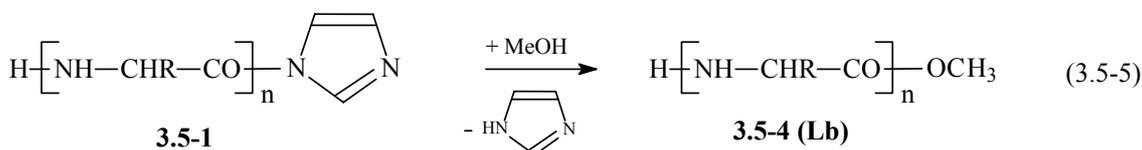
c) Zuordnung in Schema 3.5-1

d) Das Imidazol wurde hier zusätzlich noch einmal azeotrop getrocknet. Die Produkte wurden in $Et_2O/MeOH$ (9:1) gefällt

Bei den Polymerisationen des L-Alanin-NCA (Nr. 126 - 131) konnten sehr gute Ausbeuten erzielt werden. Die Viskositäten der Poly-L-alanine zeigen allerdings im

Vergleich zu den Polysarkosinen aus Tabelle 3.5.2 einen komplett anderen Trend. Sie nehmen mit steigenden M/I-Verhältnissen zunehmend höhere Werte an. Dieser Sachverhalt deutet darauf hin, dass das Kettenwachstum hauptsächlich durch ringöffnende Polymerisation und weniger durch Kondensationsschritte (Zyklisierungen) stattfindet. Diese Deutung wird auch durch die Ergebnisse der Untersuchung der Produkte mittels MALDI-TOF-MS untermauert. Dort sind in den Massenspektren der Produkte 126 - 129 fast ausschließlich Wasser-terminierte Ketten und sehr wenig Zyklopeptide, wie sie bei der kinetisch kontrollierten Polykondensation zu erwarten wären, zu identifizieren.

Von den Oligo- und Poly-L-alaninen ist zu erwarten, dass sie in einem frühen Polymerisationsstadium schon in Form von β -Faltblattstrukturen aus dem Reaktionsgemisch ausfallen. Durch diese Immobilisation werden dann natürlich Prozesse wie Zyklisierungen und Polykondensationsschritte behindert. Beim Ausfällen der Produkte in feuchtem Diethylether kommt es daraufhin zur Hydrolyse der reaktiven Imidazolidgruppen der linearen Ketten (Gl. 3.5-4). Um dieses zu beweisen wurden zwei Experimente mit L-Alanin-NCA wiederholt (Nr. 130, 131). Die Produkte wurden in diesem Fall allerdings in einem Gemisch aus Diethylether und Methanol (Volumenanteil 9:1) ausgefällt. Methanol sollte eine ähnlich hohe Reaktivität wie Wasser für die Solvolyse des Imidazolids aufweisen (Gl.3.5-5).



In den MALDI-TOF-MS der Produkte müssten nun neben den Wasser-terminierten Ketten Methylester-Endgruppen (**Lb**) nachzuweisen sein. Wie in der Abb. 3.5.2 für Polymer Nr. 130 gezeigt ist, kann tatsächlich ein hoher Anteil linearer Ketten mit Methylesterendgruppen nachgewiesen werden. Die Entstehung der Wasser-terminierten Ketten ist in diesem Fall also zu einem Großteil durch nachträgliche Hydrolyse zu erklären und nicht durch Initiierung der Polymerisation durch Wasser. Ein sehr geringer Anteil an zyklischen Peptiden ist in Produkt Nr. 130 ebenfalls nachzuweisen. Die nochmalige Trocknungsprozedur des Imidazols hat zusätzlich eine höhere Viskosität der Produkte zur Folge.

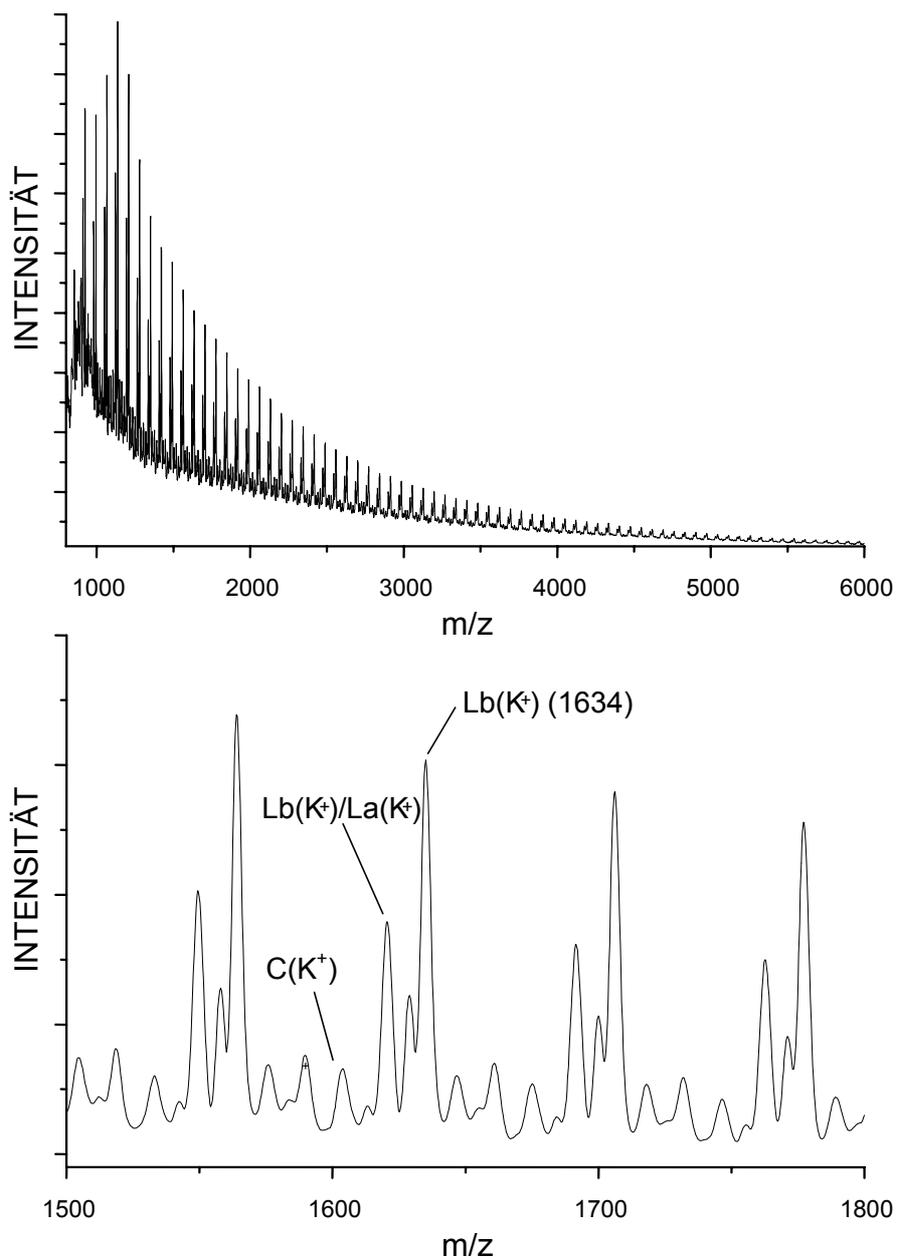


Abb. 3.5.2 MALDI-TOF-Massenspektrum des in Methanol gefällten Poly-L-alanin Nr. 130 (K⁺-gedopt)

Die Methylester-Endgruppen lassen sich auch im ¹H-NMR-Spektrum identifizieren wie in Abb. 3.5.3 für Polymer Nr. 130 gezeigt wird.

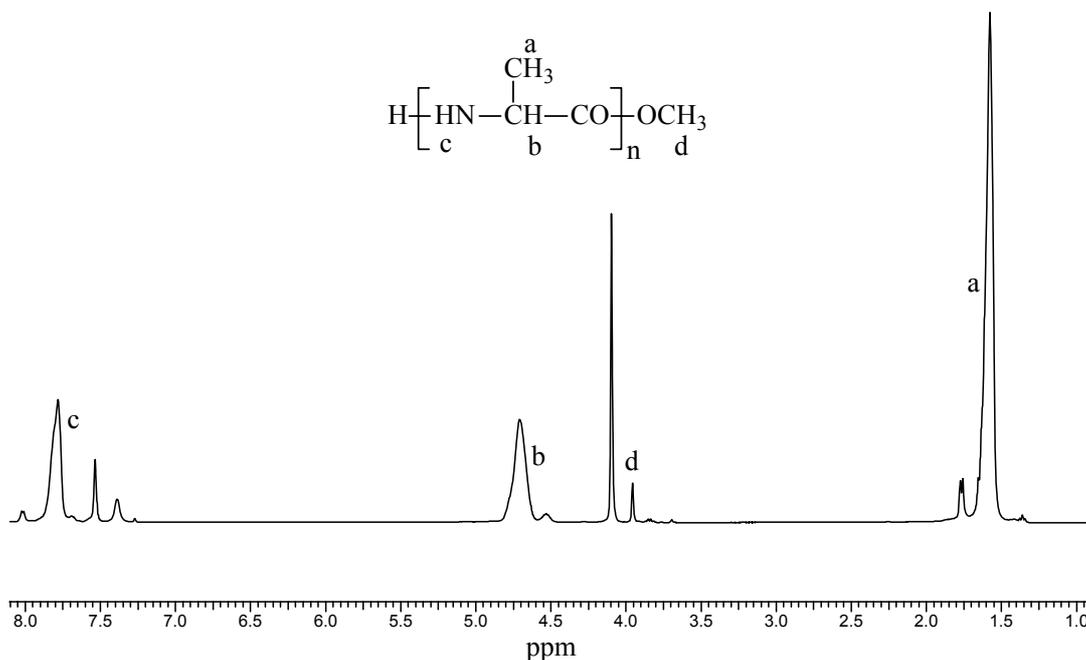


Abb. 3.5.3 ^1H -NMR-Spektrum von Poly-L-alanin Nr. 130 (aufgenommen in TFA/ CDCl_3)

Da beim L-Alanin-NCA nur sehr wenig Zyklisierung auftritt, wird das Molekulargewicht auch nicht in dem Maße limitiert, wie dies bei den Polysarkosinen (Nr. 122 - 125) der Fall ist.

Tabelle 3.5.4 Imidazol-initiierte Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{\text{inh}}^{\text{b)}}$ [dL/g]	Produkte ^{c)} (MALDI-TOF)
132	1	90	0.09	C, (La)
133	3	99	0.23	<u>C</u> , (La)
134	10	95	0.42	C
135	40	93	0.33	C
136 ^{d)}	3	93	-	<u>C</u> , La
137 ^{d)}	10	86	-	C, La, Lb

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 2 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

c) Zuordnung in Schema 3.5-1

d) Die Produkte wurden in Et₂O/MeOH (Volumenverhältnis 9:1) gefällt

Auch bei den Polymerisationen von D,L-Phenylalanin-NCA ließen sich sehr gute Ausbeuten realisieren. Die Viskositäten nehmen mit zunehmenden M/I-Verhältnis zunächst höhere Werte an, bei $M/I = 40$ (Nr. 135) reduziert sich der Wert jedoch wieder etwas. In den MALDI-TOF-MS der Produkte 132 bis 137 ist zu sehen, dass bei diesen Polymerisationen der Anteil an zyklischen Oligo- und Polypeptiden bis zu 95 % oder höher liegt. In Abb. 3.5.4 ist das Massenspektrum von Polymer Nr. 135 gezeigt. Es treten hierbei ausschließlich Signale von Zylopeptiden **C** auf. Die Produkte 132 und 133 weisen nebenbei geringe Anteile von Wasser-terminierten Ketten auf.

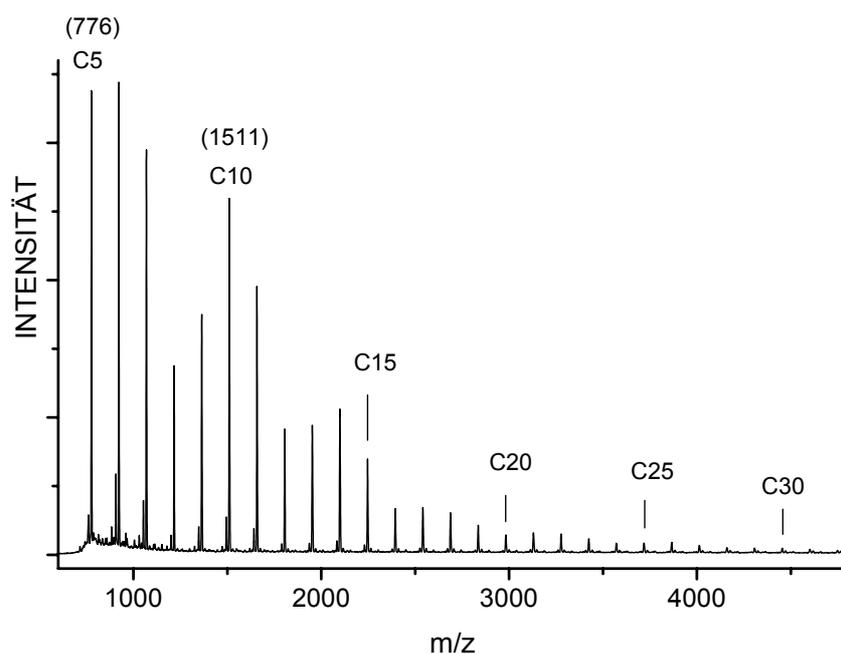


Abb. 3.5.4 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-phenylalanin Nr. 135 (K^+ -gedopt)

Bei der Synthese von Nr. 137 wurde das Produkt in einem Gemisch aus Diethylether und Methanol (9:1 Volumenanteil) ausgefällt. Wie beim Poly-L-alanin Nr. 130 (Tabelle 3.5.3) konnten im MALDI-TOF-MS Methylesterendgruppen identifiziert werden (Gl. 3.5-5), die auf das Vorhandensein von Imidazolid-Endgruppen zum Zeitpunkt des Ausfällens schließen lassen.

Tabelle 3.5.5 Imidazol-initiierte Polymerisation von L-Leucin-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]	Produkte^{c)} (MALDI-TOF)
138	1	83	0.16	La
139	3	89	0.18	La
140	10	97	0.19	-
141	40	98	0.13	-

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 2 d

b) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit $c = 2$ g/L

c) Zuordnung in Schema 3.5-1

Die Oligo- und Poly-L-leucine sind wie bereits erwähnt schwer löslich und fallen schnell in Form von β -Faltblattstrukturen aus dem Reaktionsmedium aus. Die Zyklisierung und Polykondensationsschritte werden dadurch behindert. Die MALDI-TOF-MS der Produkte Nr. 138 bis 141 bestätigen diesen Sachverhalt. Es sind keine Zyklopeptide zu identifizieren, sondern nur Wasser-terminierte Ketten. Die Massenspektren wiesen sehr schlechte Signal/Rausch-Verhältnisse auf.

Zum Vergleich wurden zusätzlich zwei Polymerisationen mit D,L-Leucin-NCA durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.5.6 wiedergegeben.

Tabelle 3.5.6 Imidazol-initiierte Polymerisation von D,L-Leucin-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]	Produkte^{c)} (MALDI-TOF)
142	1	85	0.39	C, La
143	10	88	0.43	C

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 1 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) Zuordnung in Schema 3.5-1

Die Oligo- und Poly-D,L-leucine (142, 143) weisen im Vergleich zu den analogen Experimenten mit L-Leucin-NCA eine größere Löslichkeit auf, so dass es nicht zu einem so frühen Ausfallen der Produkte kommt und Zyklisierungen nicht in dem hohen Maße behindert werden. In den MALDI-TOF-MS von Nr. 142 und 143 lassen sich

große Anteile von Zylopeptiden identifizieren. In Produkt 143 liegen sogar ausschließlich zyklische Peptide vor (Abb. 3.5.5).

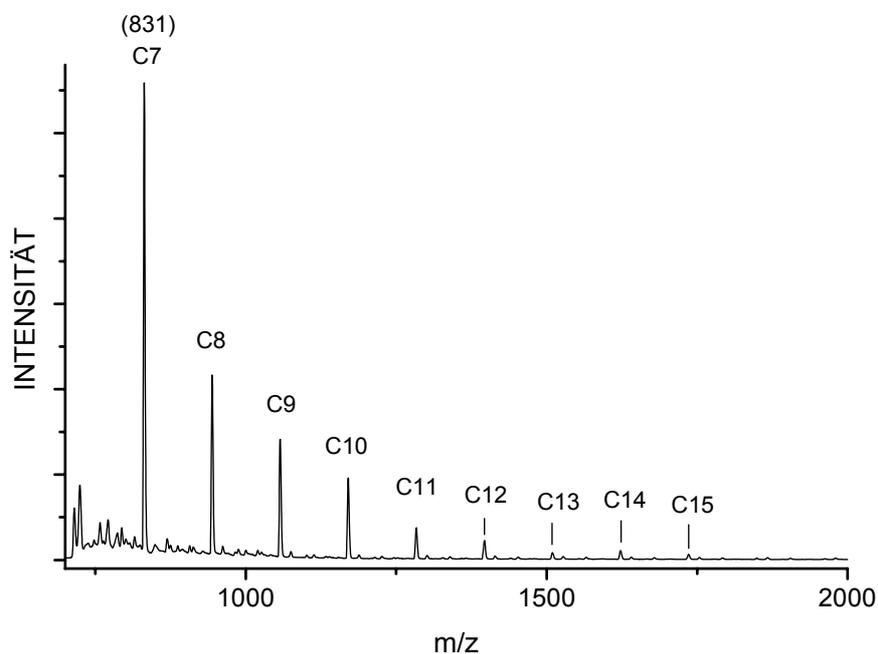


Abb. 3.5.5 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-leucin Nr. 143 (K^+ -gedopt)

Tabelle 3.5.7 Imidazol-initiierte Polymerisation von D,L-Valin-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]	Produkte ^{c)} (MALDI-TOF)
144	1	97	0.14	C, La
145	3	86	0.11	C, <u>La</u>
146	10	88	0.14	-
147	40	89	0.14	-

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 2 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) Zuordnung in Schema 3.5-1

Die Polymerisationen von D,L-Valin-NCA (Tabelle 3.5.7) verliefen mit Ausbeuten von 88 - 97 %. Für die Viskositäten der Produkte (144 - 147) ergeben sich nahezu konstante Werte. In den MALDI-TOF-MS sind zyklische Oligo- und Poly-D,L-valine

neben den Wasser-terminierten Ketten, die hier jedoch einen größeren Teil ausmachen, zu identifizieren.

Tabelle 3.5.8 Imidazol-initiierte Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	M/I	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]	Produkte ^{c)} (MALDI-TOF)
148	1	83	0.25	C, Y, <u>X</u>
149	3	86	0.45	C, Y, X
150	10	95	0.86	C, Y, X ^{d)}
151	40	87	1.22	<u>C</u> , Y, X

- a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 1 d
 b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L
 c) Zuordnung in Schema 3.5-1
 d) schwache Signalintensität

Die Imidazol-initiierten Polymerisationen von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA führen unter diesen Bedingungen zu hohen Ausbeuten von 83 bis 95 %. Die Lösungsviskositäten der Produkte nehmen mit zunehmenden M/I-Verhältnis von 0.26 bis 1.22 dL/g um annähernd das Fünffache zu. Die MALDI-TOF-Massenspektren zeigen, dass bei allen Polymerisationen zyklische Peptide auftreten, deren Anteil beim Polymer Nr. 151 überwiegt (Abb. 3.5.6). Neben den zyklischen Peptiden treten wiederum geringe Anteile an Produkten auf, deren Massen um 129 Da über denen der Zyklopeptide liegen (**Y**). Diese Signale wurden schon bei den Lösungsmittel-initiierten Polymerisationen von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA detektiert und dort bereits interpretiert (Schema 3.4-2). Zusätzlich tritt bei allen vier Produkten eine Masse **X** auf, die zuzüglich zu den Massen der Wiederholungseinheiten eine Masse von 44 Da besitzt. Diese Produktspezies ist im Polymer Nr. 148 als Hauptprodukt zu identifizieren (Abb. 3.5.7).

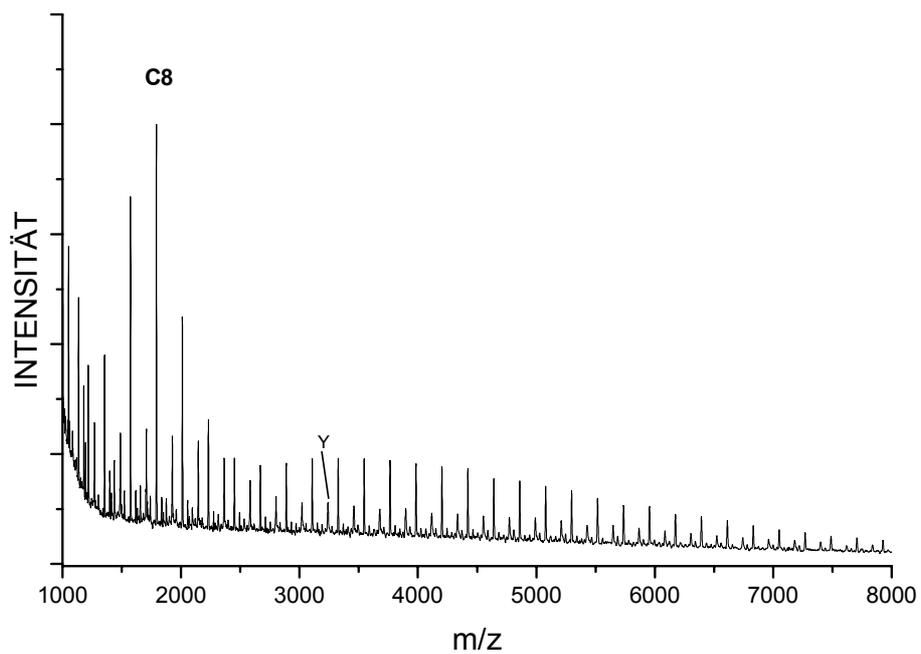


Abb. 3.5.6 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 151 (K^+ -gedopt)

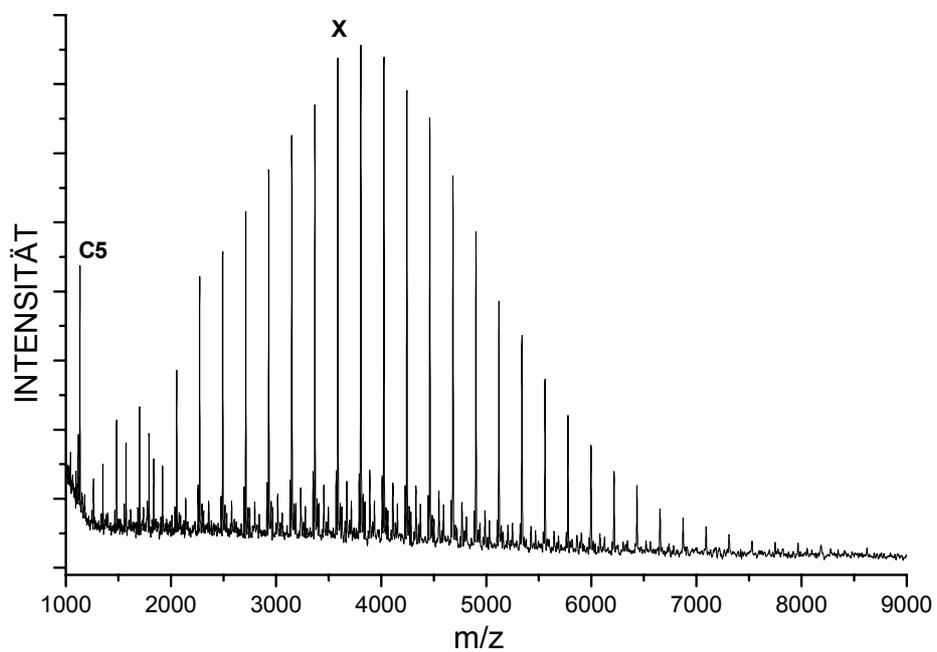
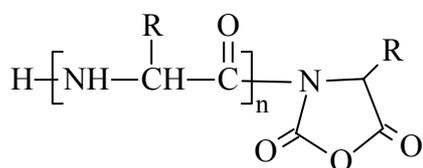
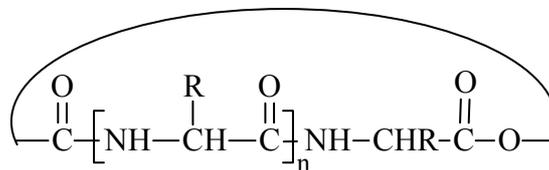


Abb. 3.5.7 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 148 (K^+ -gedopt)

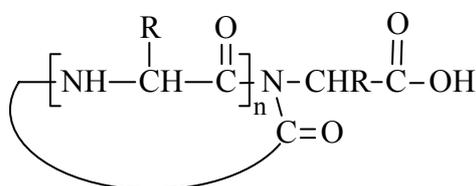
Eine solche Masse **X** bedeutet, dass die Polymere zusätzlich zu den Massen der Wiederholungseinheiten noch eine CO₂-Einheit enthalten. Als mögliche Strukturen sind prinzipiell drei verschiedene isomere Varianten nahe liegend. Es kann die lineare N-Acyl-NCA-Kette **X-1** vorliegen oder zwei verschiedene zyklische Strukturen **X-2** und **X-3** (Schema 3.5-2).



3.5-5 (X-1)



3.5-6 (X-2)

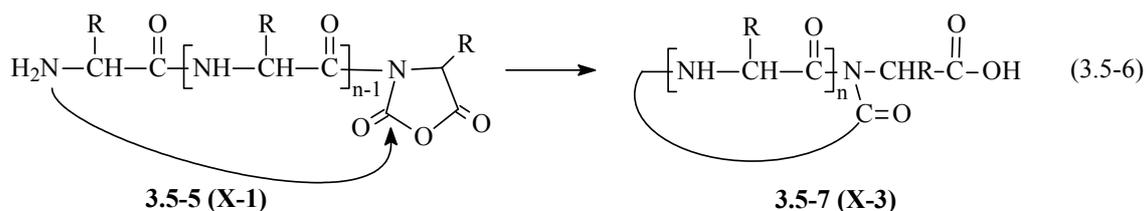


3.5-7 (X-3)

Schema 3.5-2

Da das N-Acyl-NCA **X-1** aber reaktiver ist als das ursprüngliche NCA, ist es wahrscheinlich, dass eine solche Gruppe nicht stabil ist, und bereits beim Ausfällen in feuchtem Lösungsmittel, spätestens jedoch bei der Vorbereitung der Proben für die Massenspektroskopie unter aciden, wässrigen Bedingungen hydrolysiert werden würde. Auch die zyklische Struktur **X-2**, die eine Anhydridgruppierung enthält, erscheint nicht besonders stabil. Außerdem ist es wahrscheinlich, dass es hierbei analog dem Carbamat-Mechanismus zur Decarboxylierung kommt. Die letzte Variante **X-3** ist deshalb die wahrscheinlichste.

Das Auftreten dieser Produktspezies **X-3** lässt sich durch die nucleophile Initiierung mit Imidazol nicht erklären. Verläuft die Reaktion jedoch zumindest anteilig nach dem AMM, also durch basische Reaktion des Imidazols mit dem NCA, so liegen auch N-Acyl-NCA-Ketten **X-1** vor. Hierüber ließe sich durch die in der Gleichung 3.5-6 gezeigte Zyklisierungsreaktion, bei der das nucleophile Kettenende am C-2 des N-Acyl-NCA-Moleküls angreift, das Auftreten der Massepeaks **X-3** erklären. Diese Zyklisierung ist in der Literatur schon als mögliche Abbruchreaktion des AMM diskutiert worden^[105].



An dieser Stelle muss betont werden, dass mit Hilfe der MALDI-TOF-Massenspektrometrie keine Isomere unterschieden werden können. Die Struktur **X-3** bietet dementsprechend zwar eine plausible Erklärung für das Erscheinen dieser Massepeaks an, bleibt aber an dieser Stelle unbewiesen.

Zusammenfassend lässt sich bei den Imidazol-initiierten Polymerisationen in 1,4-Dioxan (Nr. 122 - 151) feststellen, dass lineare Ketten mit Imidazolidgruppen (**3.5-1**) in keinem Produkt nachgewiesen werden konnten. Es treten in den meisten Proben Wasser-terminierte Ketten (**La**) auf, deren Entstehung zwei verschiedenen Ursachen hat. Zum einen können Spuren von Feuchtigkeit durch das CaCl_2 -Trockenrohr in das Reaktionsgefäß gelangen und dort mit dem Initiator konkurrieren bzw. das Imidazolid hydrolysieren. Dieser Effekt kommt besonders bei den langsamen Polymerisationen von D,L-Valin-NCA und L- bzw. D,L-Leucin-NCA zum Tragen, bei den schnellen Polymerisationen von Sarkosin-NCA und D,L-Phenylalanin-NCA hingegen sind die Anteile der Wasser-terminierten Ketten weitaus geringer. Zum anderen können die wachsenden Ketten in Schichten mit β -Faltblattstruktur aus dem Reaktionsmedium ausfallen, wobei dann Zyklisierungs- und Polykondensationsreaktionen behindert werden. Beim Ausfällen werden die Imidazolide dann hydrolysiert. Letztere Entstehungsmöglichkeit ist besonders für die Polymerisation von L-Alanin-NCA anzunehmen und wurde auch durch Methanolyse der Imidazolide bewiesen (Nr. 130).

Ein besonders wichtiges Ergebnis ist jedoch, dass in den MALDI-TOF-MS aller Produkte mit Ausnahme der Poly-L-leucine ein Anteil an Zyklooligo- und Zyklopolypeptiden detektiert werden konnte. In mehreren Fällen liegt dieser Anteil sogar bei 95 % oder höher (Nr. 122, 132 -136 und 143). In diesen Fällen wird das Kettenwachstum ausschließlich durch Zyklisierung abgebrochen. Diese Ergebnisse zeigen also, dass die Zyklisierung eine hocheffiziente Reaktion für Polypeptide unterschiedlichster Struktur ist. Dieser Punkt muss betont werden, da Oligo- und Polypeptide von D,L-Aminosäuren über die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen assoziieren können und so immobilisiert werden, auch wenn perfekte β -Faltblattstrukturen oder α -Helices nicht ausgebildet werden können.

Die erhaltenen Ergebnisse bestätigen also, dass das oben beschriebene Synthesekonzept (Transformation einer kinetisch kontrollierten ROP in eine kinetisch kontrollierte Polykondensation) mit α -Aminosäure-NCAs und Imidazol als Initiator

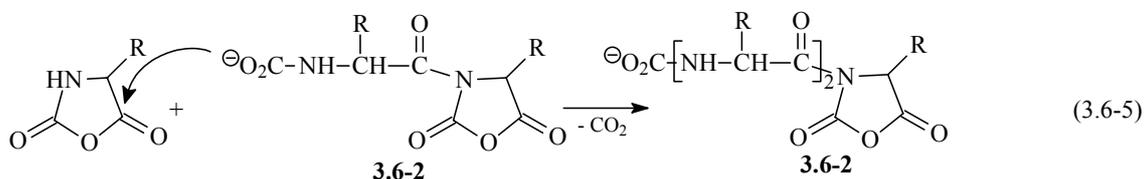
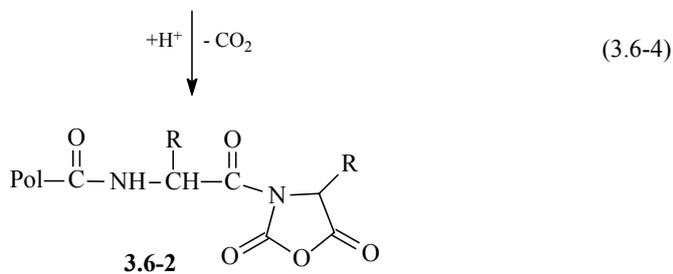
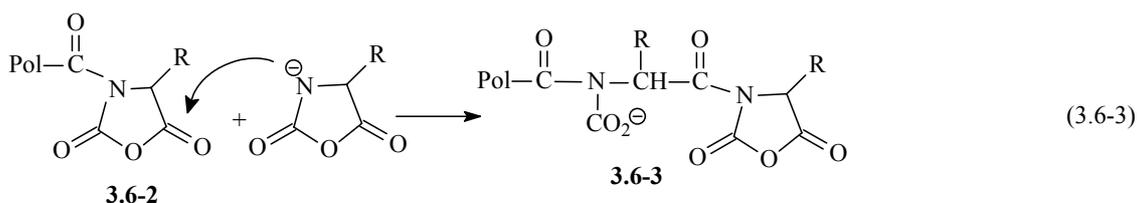
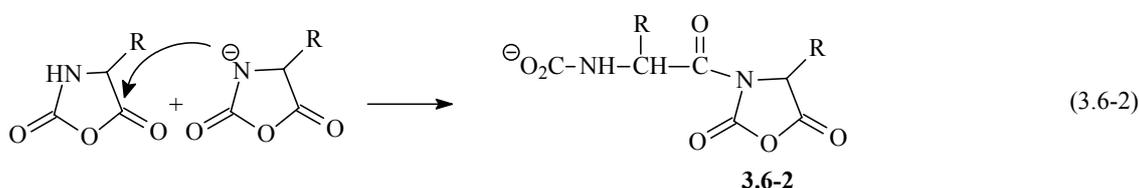
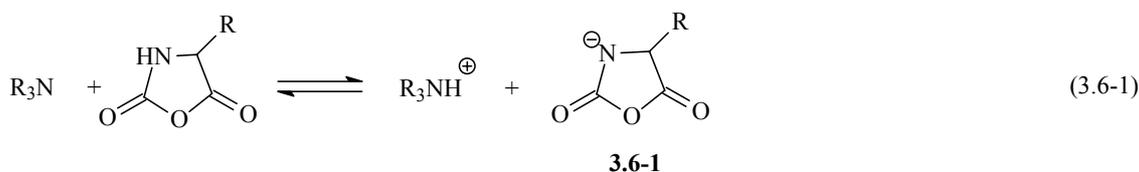
realisiert werden kann. Ob andere protische Nucleophile als Initiatoren noch besser geeignet sind, die Kombination von ringöffnender Polymerisation und Polykondensation zu fördern, ist an dieser Stelle noch ungeklärt. Diese Ergebnisse beweisen jedenfalls, dass die Transformation einer kinetisch kontrollierten ringöffnenden Polymerisation in eine kinetisch kontrollierte Polykondensation die Herstellung von zyklischen Polymeren in hohen Ausbeuten erlaubt, wohingegen eine reine kinetisch kontrollierte ringöffnende Polymerisation ausschließlich lineare Polymere liefert. Der Aspekt der kinetischen Kontrolle ist wichtig, da bei thermodynamisch kontrollierter Polymerisation ein Gleichgewicht aller Komponenten vorliegt. Eine Unterscheidung des Kettenwachstums über ringöffnende Polymerisation oder Polykondensation ergibt dann keinen Sinn, da die Gleichgewichtseinstellung über "back-biting" im thermodynamisch kontrollierten Fall unabhängig vom Kettenwachstumsmechanismus Zyklen liefert. Bei den meisten ringöffnenden Polymerisationen tritt "back-biting" in Erscheinung, auch wenn keine totale thermodynamische Kontrolle erreicht wird (z.B. bei den meisten Polymerisationen von zyklischen Estern und Zyklosiloxanen), so dass perfekt kinetisch kontrollierte ringöffnende Polymerisationen, die in einen Polykondensations-/Zyklisierungs-Prozess transformiert werden können, eine Minderheit sind.

3.6 Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs mit tertiären Amin

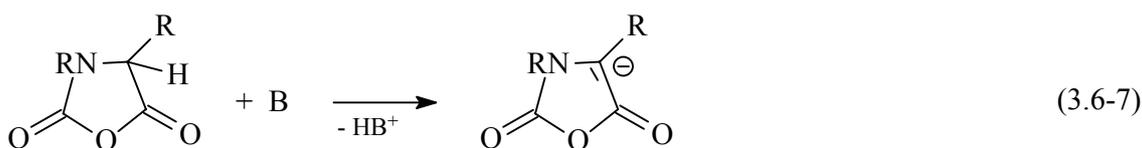
Tertiäre Amine sind aus zwei Gründen besonders interessant als Initiatoren für die Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs. Erstens können, verglichen mit anderen Initiatoren unter identischen Bedingungen, durch Triethylamin-initiierte Polymerisation von γ -O-Bzl-glutamat-NCA die höchsten Molekulargewichte an α -Helix-bildenden Polypeptiden erreicht werden, wie zuerst durch Blout und Karlson^[146] gezeigt werden konnte. Für N-substituierte NCAs scheint Pyridin als Reaktionsmedium und Initiator optimal zu sein^[136]. Und zweitens wurde von Bamford et al.^[139,148,172], die den Mechanismus von Trialkylamin- und Lithiumchlorid-initiierten Polymerisationen untersuchten, mit dem AMM (Gl. 1-15 bis 1-18) ein neues mechanistisches Konzept entwickelt, das seither Objekt vieler Untersuchungen und kontroverser Diskussionen ist.

Es ist sinnvoll, bei den tertiären Aminen zwischen Trialkylaminen und Pyridinen zu unterscheiden, da sich die N/B-Werte deutlich unterscheiden. Trialkylamine haben pK_s -Werte um 11 herum, während die pK_s -Werte der Pyridine abhängig von den Substituenten Werte zwischen 4 und 7 annehmen können. Pyridine sind aufgrund geringerer sterischer Hinderung nucleophiler als Triethylamin oder höhere Trialkylamine, wenn C-2 und C-6 unsubstituiert sind. Zusätzlich begünstigt die hohe Polarisierbarkeit der aromatischen π -Elektronen einen nucleophilen Angriff.

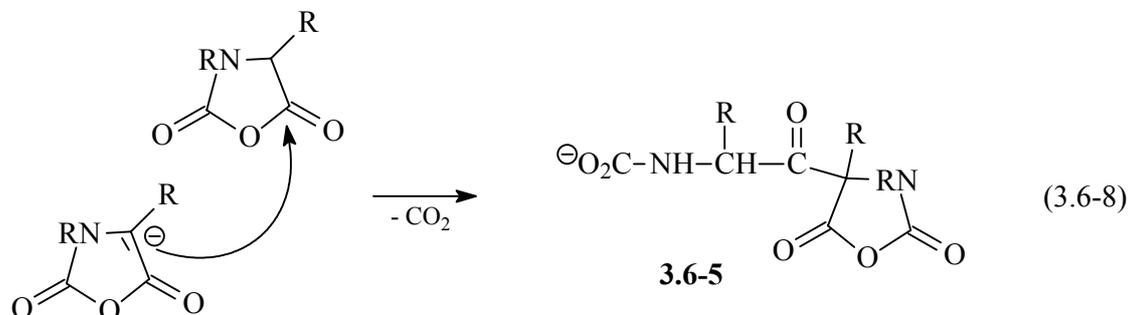
Für die Polymerisation mit tertiären Aminen kommen prinzipiell mehrere Mechanismen in Frage. Das Amin kann zum einen basisch mit dem NCA reagieren und es am Stickstoff deprotonieren. Das entstehende Anion kann nucleophil mit einem weiteren NCA reagieren und so die Polymerisation einleiten. Dies ist der so genannte **AMM** (Gl. 3.6-1 bis 3.6-4). Es entsteht eine difunktionelle Kette, bei der das Wachstum an dem einen Kettenende über den Carbamat-Mechanismus (Gl. 3.6-5) oder durch weitere Anlagerung von NCA-Anionen am anderen Ende der Kette stattfinden kann (Gl. 3.6-3).



Bei N-substituierten NCAs funktioniert dieser Mechanismus natürlich nicht. Sarkosin-NCA ist deshalb auch bei Abwesenheit von protischen Verunreinigungen sehr stabil in reinen Trialkylaminen^[29,139,148]. Starke Basen vermögen jedoch das NCA am α -C-Atom (oder H₂O bzw. andere protische Verunreinigungen) zu deprotonieren. Das resultierende Anion kann dann eine anionische Polymerisation einleiten (Gl. 3.6-7, 3.6-8 und 3.6-5).

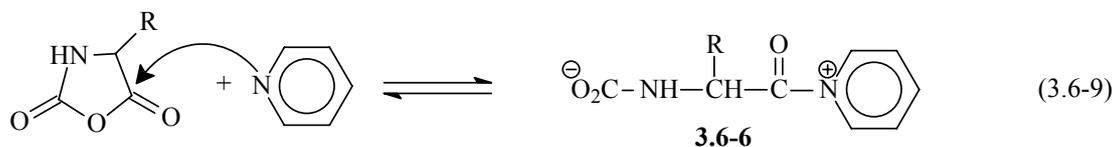


3.6-4

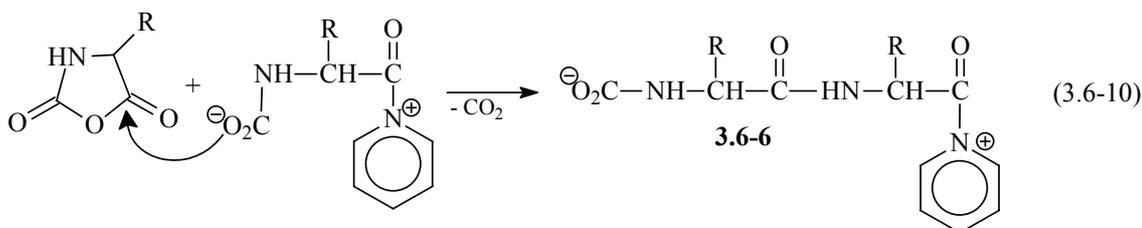


3.6-5

Ein alternativer Mechanismus kann von den schwächer basischen, nucleophileren Aminen wie z.B. den Pyridinen bevorzugt werden. Dies ist der **zwitterionische Mechanismus**^[105]. Hierbei ist der erste Schritt die heterolytische Spaltung des NCAs, bei der ein Zwitterion gebildet wird. Dieses Zwitterion kann wiederum die anionische Polymerisation einleiten (Gl. 3.6-9, 3.6-10).

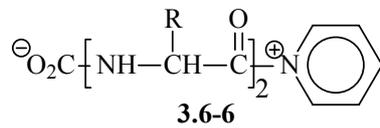
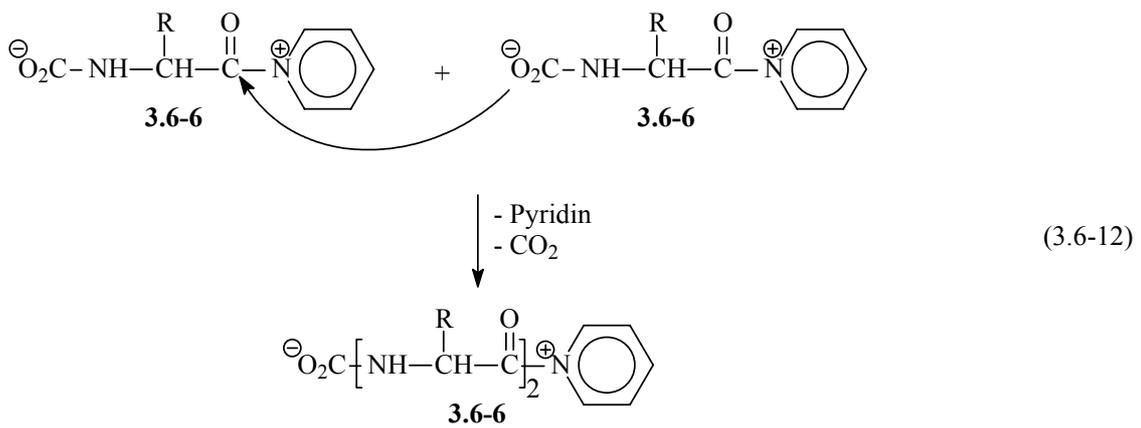
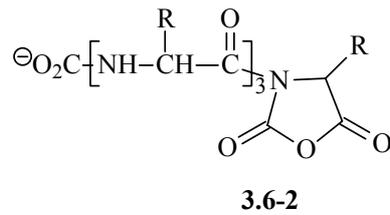
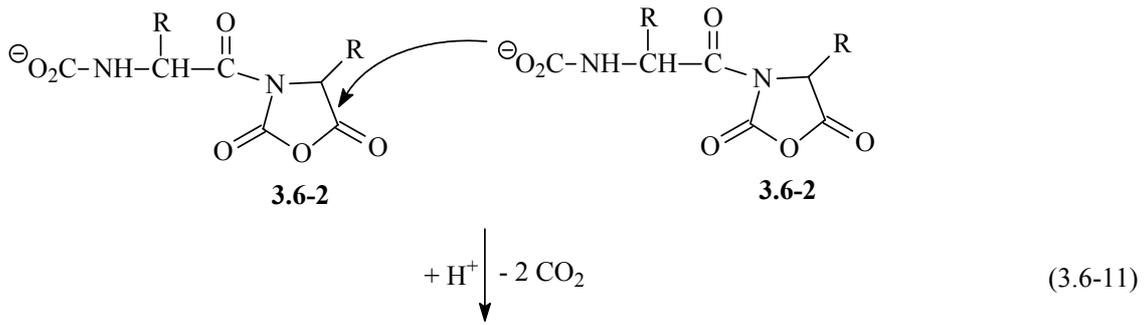


3.6-6

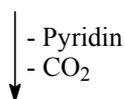
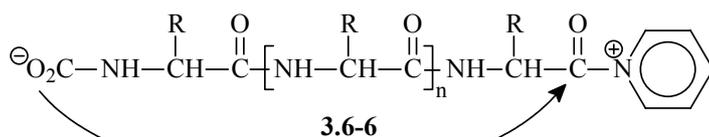


3.6-6

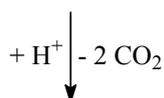
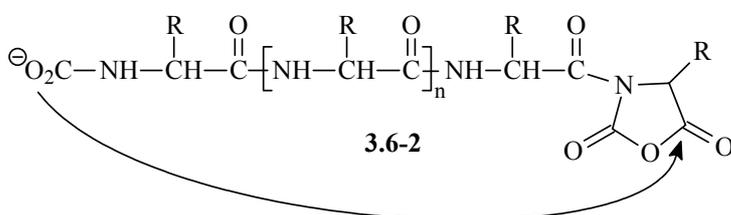
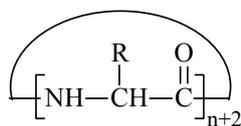
Diese Mechanismen haben gemeinsam, dass bei ihnen difunktionelle Ketten vorliegen. Aufgrund dieser Tatsache ist es möglich, dass die ringöffnende Polymerisation von Kondensationschritten begleitet werden kann, die einer Stufenwachstumskinetik folgen (Gl. 3.6-11, 3.6-12).



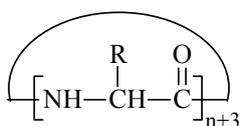
Daraus resultiert auch, dass die Endprodukte der zwitterionischen Polymerisation zyklische Oligo- und Polypeptide sein sollten (Gl. 3.6-13), und auch im Fall des AMM sind zyklische Produkte möglich (Gl. 3.6-14). Die Zyklisierung stellt den Abbruch der Polymerisation dar.



(3.6-13)



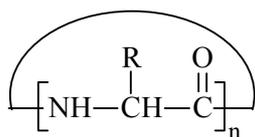
(3.6-14)



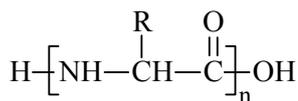
Auf der anderen Seite können Polypeptide durch Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen Sekundärstrukturen einnehmen. Oligopeptide können in der β -Faltblattstruktur aus dem Reaktionsmedium ausfallen. Die Bildung von α -Helices führt zur Versteifung der Peptidkette. Durch diese Immobilisation können Polykondensationsschritte und Zyklisierungen behindert werden.

In diesem Kapitel soll die Polymerisation von NCAs mit Trialkylaminen und Pyridinen untersucht werden. Mit Hilfe der MALDI-TOF-Massenspektrometrie sollen aus den Produkten weitere Erkenntnisse über mechanistische Abläufe gewonnen werden. Insbesondere soll dabei die Bildung von Zylopeptiden untersucht werden.

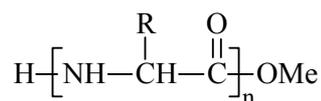
Schema 3.6-1 zeigt zusammenfassend die in diesem Kapitel diskutierten Strukturen.



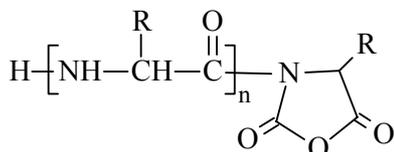
3.6-7 (C)



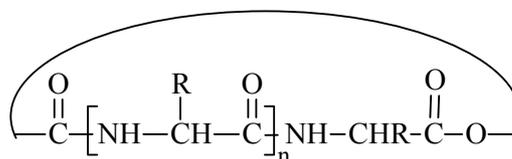
3.6-8 (La)



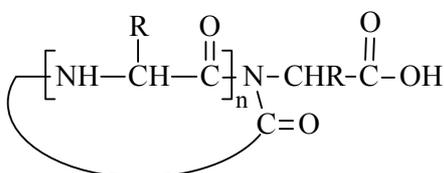
3.6-9 (Lb)



3.6-10 (X-1)



3.6-11 (X-2)



3.6-12 (X-3)

Schema 3.6-1**3.6.1 Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs mit Pyridinen**

Für die Polymerisation mit Pyridinen wurden die NCAs von Sarkosin, L-Alanin, D,L-Phenylalanin, D,L-Valin, D,L-Leucin und γ -O-Bzl-L-glutamat verwendet. Die Oligo- und Polysarkosine können im Gegensatz zu den Polymeren der anderen α -Aminosäuren nicht als Wasserstoffbrückendonoren wirken. Zusammen mit der cis/trans-Isomerie an der Amidbindung führt diese Eigenschaft dazu, dass Polysarkosin in verschiedenen organischen Lösungsmitteln löslich ist und die Konformation zufälliger Knäuel annimmt. Hierdurch wird eine höhere Beweglichkeit der Kette verursacht, die für Reaktionen wie Zyklisierungen vorteilhaft ist. Als Lösungsmittel wurde hauptsächlich 1,4-Dioxan verwendet. Von diesem ist bekannt, dass es nicht mit dem NCA reagiert (Abschnitt 3.4). Der Nachteil ist, dass die Löslichkeit der Polymere hierin gering ist und sie durch Assoziation bzw. Ausfallen immobilisiert werden. Polykondensationschritte und Zyklisierungen werden dadurch behindert. Als weitere Lösungsmittel wurden ebenfalls NMP und DMF verwendet, in denen die Polymere eine höhere Löslichkeit und damit Beweglichkeit aufweisen. Der Nachteil ist, wie sich herausgestellt hat, dass diese Lösungsmittel selbst mit dem Initiator konkurrieren und eine zwitterionische Polymerisation des NCAs initiieren, deren Resultat vorwiegend Zyklopeptide sind

(Abschnitt 3.4). Die Ergebnisse dieser Polymerisationen können daher nicht interpretiert werden und sind deshalb auch nicht mit aufgeführt worden. Als Initiatoren wurden 4-Methylpyridin (γ -Picolin), 4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin (DMAP) und Pyridin eingesetzt. Pyridin und γ -Picolin wurden entweder als reine Flüssigkeit oder in Kombination mit einem Lösungsmittel (M/I = 1) verwendet. DMAP wurde immer mit einem M/I-Verhältnis von 40 eingesetzt. Als Reaktionsbedingungen wurden vier Tage bei 20 °C gewählt, um einerseits Umsätze im Bereich von 90 % zu gewährleisten, und andererseits thermische Zersetzungen zu vermeiden.

3.6.1.1 Polymerisation von Sarkosin-NCA mit Pyridinen

Zunächst wurde die Polymerisation von Sarkosin-NCA untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.6.1 zusammengefasst.

Tabelle 3.6.1 Polymerisation von Sarkosin-NCA mit Pyridinen^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	η_{inh}^b [dL/g]
152	Pyridin	-	Pyridin	88	0.53
153	Pyridin	-	Pyridin	95	0.46
154	Pyridin	1	1,4-Dioxan	61	0.21
155 ^{c)}	Pyridin	1	1,4-Dioxan	69	0.23
156	Pyridin	1	CH ₂ Cl ₂	91	0.27
157	γ -Picolin	-	γ -Picolin	88	0.40
158	γ -Picolin	1	1,4-Dioxan	48	0.24
159	DMAP	40	1,4-Dioxan	91	0.19
160	DMAP	40	1,4-Dioxan	90	0.17

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d

b) gemessen in Ameisensäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) Produkt aus Methanol gefällt

Die Produkte, die in reinem Pyridin bzw. γ -Picolin hergestellt wurden (Nr. 152 und 157), weisen deutlich höhere Werte für die inhärenten Viskositäten auf als die anderen Polysarkosine. In Pyridin wurden die höchsten Molekulargewichte erhalten. Die MALDI-TOF-Massenspektren der Polysarkosine Nr. 152 bis 160 zeigen trotz schlechter Signal/Rausch-Verhältnisse, dass in allen Produkten Zylopeptide (**C**) nachzuweisen sind. Hauptsächlich treten aber überall Wasser-terminierte Ketten (**La**) auf. Der Ursprung der Wasser-terminierten Ketten kann zum einen darin liegen, dass durch die

CaCl₂-Trockenrohre, mit denen die Reaktionsgefäße standardmäßig verschlossen wurden, mit der Zeit Spuren von Wasser eindringen konnten, die dann zur Hydrolyse der difunktionellen Ketten führten oder selbst die Polymerisation initiieren konnten. Andererseits besteht die Möglichkeit, dass die Ketten durch Assoziation und Ausfallen aus dem Reaktionsgemisch immobilisiert und so am Zyklieren gehindert wurden. Zum Zeitpunkt des Aufarbeitens der Produkte lagen dann noch difunktionelle Ketten vor, die jedoch beim Ausfällen in feuchtem Fällungsmittel hydrolysiert wurden. Um letzteres zu beweisen, wurde Versuch 154 wiederholt und in Ethylacetat/Methanol (9:1 Volumenanteile) ausgefällt (Nr. 155). Auf diese Weise sollte es zur Methanolyse der reaktiven Gruppen kommen. Im Massenspektrum von Nr. 155 ließen sich neben Wasser-terminierten Ketten auch tatsächlich Methylester-Endgruppen (**Lb**) nachweisen (Abb. 3.6.1).

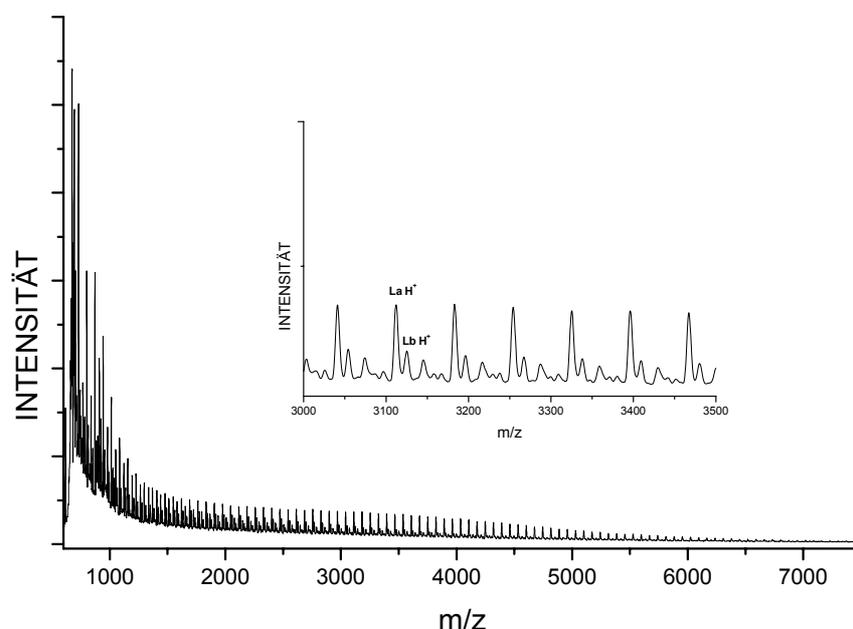


Abb. 3.6.1 MALDI-TOF-Massenspektrum des Polysarkosin Nr. 155

Die Produkte Nr. 153, 157 und 158 enthalten noch lineare Ketten mit unbekannter Endgruppe. Ihre molare Masse liegt um 29 Da höher als die der Zyklen. Zusätzlich sind bei den Polysarkosinen Nr. 152, 154, 155 und 158-160 unbekannte Produkte zu identifizieren, deren Masse um 38 Da über der Masse der Wasser-terminierten Ketten bzw. um 56 Da über der Masse der Zyklopeptide liegt.

3.6.1.2 *Polymerisation von L-Alanin-NCA mit Pyridinen*

Mit L-Alanin-NCA wurden analoge Experimente durchgeführt, die in der Tabelle 3.6.2 aufgeführt sind.

Tabelle 3.6.2 Polymerisation von L-Alanin-NCA^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	M/I	Lösungsmittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
161	Pyridin	-	Pyridin	73	0.97
162	Pyridin	1	1,4-Dioxan	95	1.32
163	γ -Picolin	-	γ -Picolin	91	0.75
164	γ -Picolin	1	1,4-Dioxan	92	0.87
165 ^{c)}	DMAP	40	1,4-Dioxan	95	0.65

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) Produkt aus Methanol gefällt

Bei den Polymerisationen von L-Alanin-NCA konnten ebenfalls mit Pyridin die höchsten Molekulargewichte erreicht werden, wobei in diesem Fall aus der Kombination von Pyridin in 1,4-Dioxan der höchste Wert für die inhärente Viskosität resultierte. Die Analyse der MALDI-TOF-Massenspektren ergibt, dass auch im Fall des L-Alanin-NCA in allen Produkten neben Wasser-terminierten Ketten, deren Ursprung bereits bei den Polymerisationen von Sarkosin-NCA mit Pyridinen erörtert wurde, geringe Mengen zyklischer Peptide nachgewiesen werden können. Durch Ausfällen in Methanol konnten beim Produkt Nr. 165 ebenfalls Methylester-Endgruppen erzeugt werden.

Neben den Zyklopeptiden können aber bei allen Produkten auch Massen **X** detektiert werden, die zuzüglich zu den Wiederholungseinheiten eine Masse von 44 Da, entsprechend einer CO₂-Einheit, besitzen (Abb. 3.6.2). Ihr Anteil ist bei dem DMAP-initiierten Produkt Nr. 165 am größten.

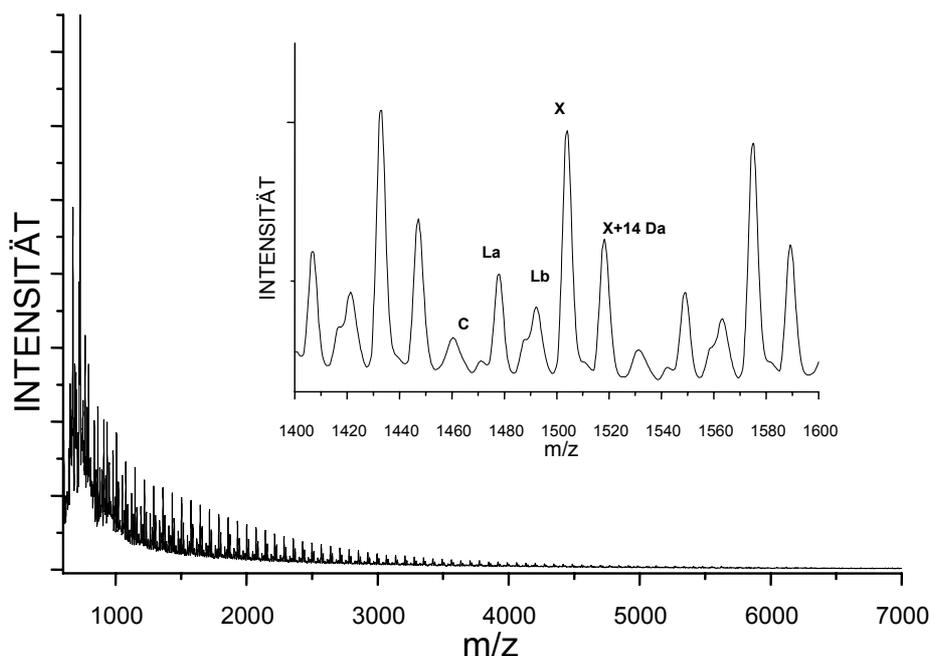
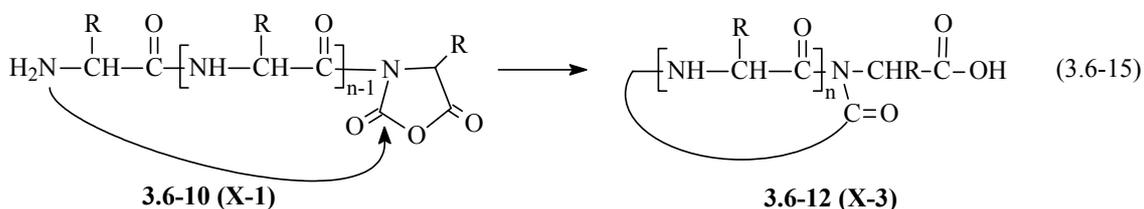


Abb. 3.6.2 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-L-alanin Nr. 165 (K^+ -gedopt)

Das Auftreten dieser Massepeaks **X** wurde schon bei den Imidazol-initiierten Polymerisationen von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA beobachtet und dort diskutiert (Abschnitt 3.5). Als mögliche Strukturen sind wiederum die drei, bereits in Abschnitt 3.5 beschriebenen, verschiedenen Varianten **X-1** bis **X-3** nahe liegend (Schema 3.6-1), von denen **X-3** aus den genannten Gründen am wahrscheinlichsten ist. Das Auftreten dieser Produktspezies lässt sich durch die zwitterionische Polymerisation nicht erklären. Verläuft die Reaktion jedoch nach dem AMM, zumindest anteilig, so liegen auch N-Acyl-NCA-Ketten **X-1** vor, die zu der Struktur **X-3** zyklisieren können (Gl. 3.6-15).



Auch hier muss erwähnt werden, dass mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie keine Isomere unterschieden werden können und die Struktur **X-3** deshalb an dieser Stelle unbewiesen bleibt.

Bei allen Poly-L-alaninen (Nr. 161 bis 165) können unbekannte Signale (**Y**) identifiziert werden, deren Massen um 38 Da über den Massen der Wasser-terminierten Ketten liegen.

Um die bisherigen Erkenntnisse zu erweitern, wurden die Untersuchungen auf die NCAs von D,L-Phenylalanin, D,L-Valin, D,L-Leucin und γ -O-Bzl-L-glutamat ausgedehnt.

3.6.1.3 Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA mit Pyridinen

Zunächst wurde die Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA mit Pyridin und DMAP untersucht (Tabelle 3.6.3).

Tabelle 3.6.3 Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	M/I	Lösungs- mittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
166	Pyridin	-	Pyridin	67	0.61
167	DMAP	40	1,4-Dioxan	83	0.40

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

Auch im Fall von D,L-Phenylalanin-NCA lassen sich mit Pyridin höhere Werte für die Viskositäten der Produkte als mit DMAP erreichen. In den Massenspektren sind in beiden Fällen zyklische Peptide neben Wasser-terminierten Ketten zu identifizieren. Ihr Anteil ist in Produkt Nr. 166 dominant und deutlich höher als in Nr. 167 (Abb. 3.6.3). Produkt Nr. 167 enthält zusätzlich noch die bereits bei den Poly-L-alaninen (3.6.1.2) (bzw. beim Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) der Imidazol-initiierten Polymerisationen in Kapitel 3.5) diskutierten Produkte **X** mit einer zusätzlichen Masse von 44 Da. In Produkt Nr. 167 sind noch Signale detektiert worden, die um 38 Da höher als die Wasser-terminierten Ketten bzw. 56 Da höher als die Zyklopeptide liegen.

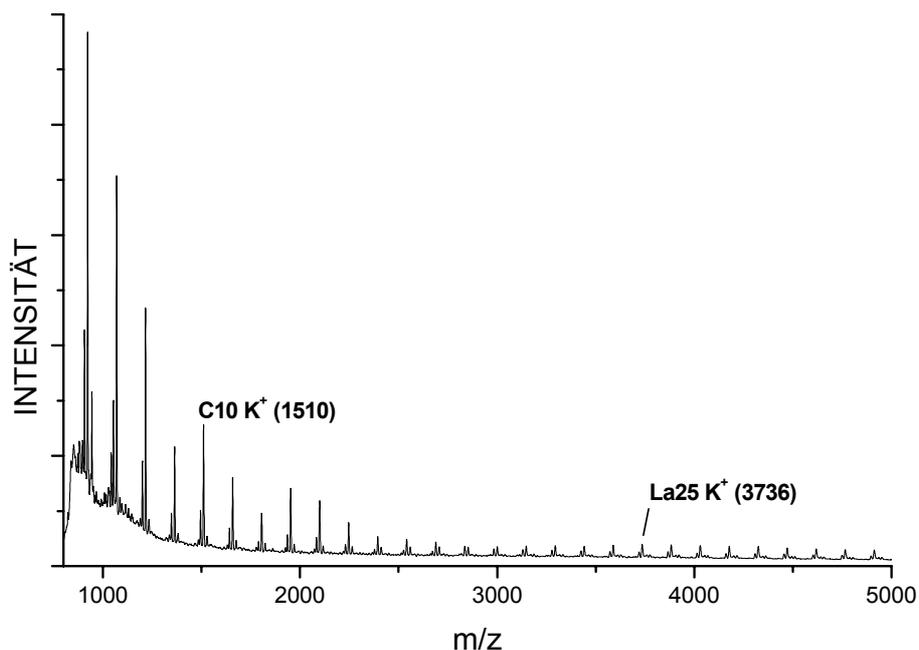


Abb. 3.6.3 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-phenylalanin Nr. 166

3.6.1.4 Polymerisation von D,L-Valin-NCA mit Pyridinen

Die Ergebnisse der Polymerisation von D,L-Valin-NCA sind in der Tabelle 3.6.4 aufgelistet.

Tabelle 3.6.4 Polymerisation von D,L-Valin-NCA ^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	M/I	Lösungs-mittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
168	Pyridin	-	Pyridin	17	0.16
169	DMAP	40	1,4-Dioxan	27	0.19

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

D,L-Valin-NCA lässt sich unter diesen Bedingungen mit Pyridinen nur schlecht und mit niedrigen Ausbeuten polymerisieren. In den MALDI-TOF-Massenspektren beider Produkte sind hauptsächlich lineare Wasser-terminierte Ketten zu identifizieren. In Produkt Nr. 169 kann jedoch auch eine kleine Fraktion zyklischer Peptide detektiert

werden. Bei beiden Produkten können wiederum Massen identifiziert werden, die um 38 Da höher als die Wasser-terminierten Ketten liegen.

3.6.1.5 Polymerisation von D,L-Leucin-NCA mit Pyridinen

Die Ergebnisse der Polymerisation von D,L-Leucin-NCA sind in der Tabelle 3.6.5 aufgelistet.

Tabelle 3.6.5 Polymerisation von D,L-Leucin-NCA ^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	M/I	Lösungs-mittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
170	Pyridin	-	Pyridin	43	0.25
171	DMAP	40	1,4-Dioxan	35	0.30

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

Die Ergebnisse ähneln denen der Polymerisationen von D,L-Valin-NCA. Die Ausbeuten sind ebenfalls relativ gering. In den Massenspektren lassen sich hauptsächlich Wasser-terminierte Ketten identifizieren. In Produkt Nr. 171 sind daneben geringe Anteile an Zyklopeptiden identifizierbar und die bereits erwähnten Massepeaks **X**, die zusätzlich zu den Wiederholungseinheiten die Masse von 44 Da besitzen.

3.6.1.6 Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA mit Pyridinen

Das Ergebnis der Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA mit Pyridin ist in der Tabelle 3.6.6 angegeben.

Tabelle 3.6.6 Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA ^{a)}

Polymer Nr.	Initiator	M/I	Lösungs-mittel	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
172	Pyridin	-	Pyridin	80	0.92

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

Bei der Polymerisation von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA ließ sich eine relativ gute Ausbeute realisieren. In dem Massenspektrum von Nr. 172 lassen sich als Hauptprodukt Zyklopeptide identifizieren. Daneben können noch die Massepeaks **X** detektiert werden, deren Masse um 44 Da über den zyklischen Peptiden liegt, sowie geringe Mengen eines Produkts (**Y**), dessen Massen um 129 Da über den Massen der Zyklopeptide liegen. Diese Produktart wurde bereits in Kapitel 3.4 bei den Lösungsmittel-induzierten Polymerisationen von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA beobachtet und diskutiert (Die Amino-Endgruppe reagiert wahrscheinlich mit der γ -O-Bzl-Schutzgruppe der letzten Wiederholungseinheit).

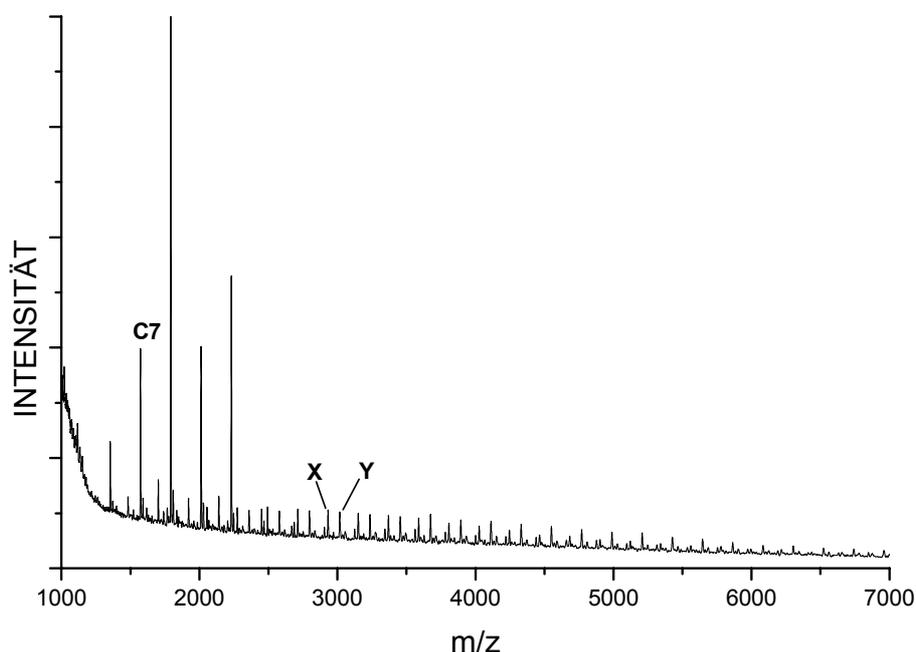


Abb. 3.6.4 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 172 (K^+ -gedopt)

Insgesamt zeigen die Polymerisationen mit den verschiedenen Pyridinen recht unterschiedliche Ergebnisse. D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA lassen sich unter den gewählten Bedingungen schlecht polymerisieren, und in den resultierenden Produkten liegen hauptsächlich Wasser-terminierte Ketten vor. Die NCAs von Sarkosin-, L-Alanin, D,L-Phenylalanin und γ -O-Bzl-L-glutamat lassen sich hingegen sehr gut polymerisieren. Die höchsten Molekulargewichte werden dabei mit Pyridin selbst erreicht. In den MALDI-TOF-Massenspektren können in nahezu allen Fällen zyklische Polypeptide nachgewiesen werden, deren Anteil beim Poly-D,L-phenylalanin Nr. 166 und beim Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 172 sogar überwiegt. Zusätzlich konnte in vielen Produkten eine Masse **X** detektiert werden, die auf eine zyklische Struktur (**X-3**) hindeutet, die nicht durch die zwitterionische Polymerisation erklärt werden kann. Es scheint

vielmehr, dass in diesen Fällen zumindest anteilig auch der AMM bei der Polymerisation befolgt wird, das Pyridin also basisch reagiert.

Im folgenden Abschnitt wird nun die Polymerisation verschiedener NCAs mit Trialkylaminen untersucht.

3.6.2 Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs mit Trialkylaminen

Zur Untersuchung der Trialkylamin-initiierten Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs wurde eine Reihe von Experimenten bei 20 °C und 4 Tagen Reaktionszeit in 1,4-Dioxan durchgeführt. Dabei wurden die zwei verschiedenen Trialkylamine N-Ethyldiisopropylamin und N-Methylmorpholin als Initiatoren für die Polymerisation von sechs verschiedenen NCAs, Sarkosin-, L-Alanin-, D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin-, D,L-Leucin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA, untersucht. Bei diesen Experimenten wurde ein M/I-Verhältnis von 40/1 gewählt.

3.6.2.1 Polymerisation mit N-Ethyldiisopropylamin

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.6.7 zusammengestellt.

Tabelle 3.6.7 Polymerisation mit N-Ethyldiisopropylamin in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	NCA von	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
173	Sarkosin	58	0.25
174	L-Alanin	86	1.89
175	D,L-Phenylalanin	67	0.57
176	D,L-Valin	11	0.27
177	D,L-Leucin	0	-
178	γ -O-Bzl-L-glutamat	91	1.85
179 ^{c)}	γ -O-Bzl-L-glutamat	88	2.36

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d, M/I = 40

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) hier wurde M/I = 80 vorgegeben

Die Polymerisationen mit N-Ethyl-diisopropylamin verliefen mit recht unterschiedlichen Ausbeuten von 0 bis 91 %, wobei beim D,L-Leucin-NCA überhaupt kein Produkt isoliert werden konnte und sich γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA mit den besten Ausbeuten polymerisieren ließ. Für Poly-L-alanin (Nr. 174) und Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) (Nr. 178 und 179) werden sehr hohe Werte für die inhärenten Viskositäten erreicht. In dem MALDI-TOF-MS von Polysarkosin Nr. 173 ließen sich hauptsächlich lineare Wasser-terminierte Ketten nachweisen. Zyklen konnten nicht detektiert werden. Sarkosin-NCA sollte nach früheren Erkenntnissen gegenüber Trialkylaminen sehr reaktionsträge sein^[29,148]. Wahrscheinlich wurde die Polymerisation mit der Zeit durch Spuren von Wasser initiiert, die durch das CaCl₂-Trockenrohr in das Reaktionsgefäß eindringen konnten. Hierfür spricht auch das Ergebnis der Polymerisation von Sarkosin-NCA mit N-Methylmorpholin (Nr. 180 in Tabelle 3.6.8 unten). Hier liegen ebenfalls hauptsächlich Wasser-terminierte Ketten vor, und es sind keine Zyklopeptide detektierbar. Außerdem sind Ausbeute und Viskosität der Produkte weitestgehend identisch. In den MALDI-TOF-MS der übrigen isolierten Produkte konnten dagegen in allen Fällen zyklische Peptide identifiziert werden. Die Zyklisierungstendenz ist jedoch recht unterschiedlich. In dem Poly-D,L-Phenylalanin Nr. 175 liegen fast ausschließlich Zyklopeptide vor (Abb. 3.6.5).

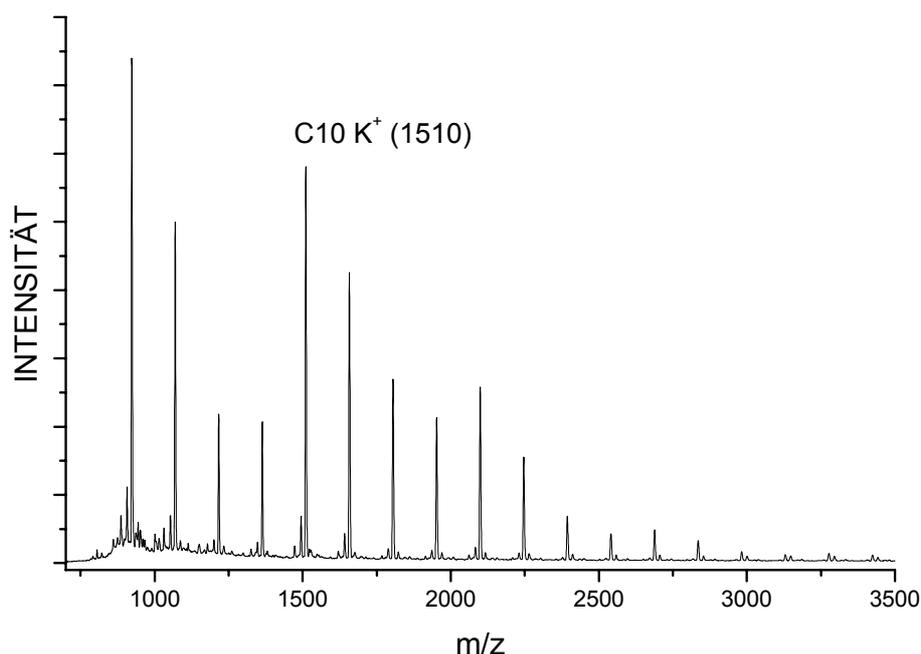


Abb. 3.6.5 MALDI-TOF-Massenspektrum des Poly-D,L-phenylalanin Nr. 175 (K⁺-gedopt)

Bei der Polymerisation von L-Alanin-NCA hingegen ist die Zyklisierungstendenz erheblich geringer. Hier tritt wiederum Immobilisierung der wachsenden Kette durch Assoziation und Ausfallen aus dem Lösungsmittel auf, so dass Zyklisierungsreaktionen behindert werden. In den Produkten 174 und 176 sind neben den Zyklopeptiden

hauptsächlich Wasser-terminierte Ketten zu identifizieren. Bei den Polymeren Nr. 174, 176 und 178 können zusätzlich Massen detektiert werden, die zuzüglich zu den Wiederholungseinheiten eine Masse von 44 Da, entsprechend einer CO₂-Einheit, besitzen. Diese Molekülsignale **X**, bei denen die Struktur **X-3** am wahrscheinlichsten ist, wurden schon bei den Imidazol- bzw. Pyridin-initiierten Polymerisationen beobachtet und diskutiert. In den Produkten Nr. 173 bis 175 wurden wieder die unbekanntes Produktsignale detektiert, deren Massen um 38 Da über den Massen der Wasser-terminierten Ketten liegen.

3.6.2.1 Polymerisation mit N-Methylmorpholin

Die Ergebnisse der Polymerisationen mit N-Methylmorpholin sind in Tabelle 3.6.8 dargestellt.

Tabelle 3.6.8 Polymerisation mit N-Methylmorpholin in 1,4-Dioxan^{a)}

Polymer Nr.	NCA von	Ausbeute [%]	η_{inh}^b [dL/g]
180	Sarkosin	58	0.28
181	L-Alanin	99	1.94
182	D,L-Phenylalanin	82	0.35
183 ^{c)}	D,L-Valin	6	-
184 ^{c)}	D,L-Leucin	24	0.49
185	γ -O-Bzl-L-glutamat	85	0.37

a) Reaktionstemperatur: 20 °C, Reaktionszeit: 4d, M/I = 40

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

c) Reaktionsansatz in Methanol/Diethylether (1:9 Volumenanteile) ausgefällt

Die Verwendung von N-Methylmorpholin führt ebenfalls zu recht unterschiedlichen Ausbeuten von 6 % beim Poly-D,L-valin bis zu 99 % beim Poly-L-alanin. Wie bei der Initiierung mit N-Ethyl-diisopropylamin werden hohe Lösungsviskositäten für das Poly-L-alanin erreicht (Nr. 181). Beim Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 185 werden dagegen keine besonders hohen Molekulargewichte erreicht. Im MALDI-TOF-MS des Polysarkosins (Nr. 180) können analog zu Experiment Nr. 173 nur Wasser-terminierte Ketten identifiziert werden. Die Polymerisation wurde hier wahrscheinlich durch Spuren von Wasser, die mit der Zeit durch das CaCl₂-Trockenrohr eindringen konnten, initiiert. Das Poly-L-alanin Nr. 181 enthält ebenso wie das Poly-D,L-phenylalanin neben den hauptsächlich Wasser-terminierten Ketten geringe Anteile an Zyklopeptiden.

Dass zum Zeitpunkt des Ausfällens der Produkte noch difunktionelle Ketten vorlagen, konnte für die Produkte Nr. 183 und 184 nachgewiesen werden. Durch Methanolyse wurden beim Ausfällen in Methanol/Diethylether (1:9 Volumenanteile) Methylester-Endgruppen erzeugt, die im MALDI-TOF-Massenspektrum zu sehen waren.

Im Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) Nr. 185 können die Produkte **X** detektiert werden, deren Masse um 44 Da über der Masse der Zyklopeptide liegt, sowie die Produkte **Y**, die schon bei den Imidazol-initiierten Polymerisationen und bei den Pyridinen beobachtet wurden und deren Masse um 129 Da über der Masse der Zyklopeptide liegt. Bei den Produkten Nr. 180 bis 184 sind noch Signale detektiert worden, deren Masse um 38 Da über der Masse der Wasser-terminierten Ketten liegt.

Insgesamt sind beim N-Methylmorpholin deutlich weniger Zyklopeptide zu identifizieren als bei den Versuchen mit N-Ethyldiisopropylamin. Dies fällt besonders beim D,L-Phenylalanin-NCA auf, bei dem die Initiierung mit N-Ethyldiisopropylamin ausschließlich Zyklopeptide erzeugt.

Die Ergebnisse der Polymerisationen mit Trialkylaminen zeigen, dass die erwarteten Zyklisierungen in einigen Fällen eine bedeutende Rolle spielen. Dies trifft auf die N-Ethyldiisopropylamin-initiierten Polymerisationen von D,L-Phenylalanin-NCA und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA zu. Die Poly-L-alanine weisen dagegen einen sehr geringen Anteil an Zyklopoly-L-alaninen auf. Die Zyklisierung spielt hier keine so große Rolle als Abbruchreaktion. Als weitere Abbruchreaktion tritt vermutlich ebenfalls eine Zyklisierungsreaktion auf, die zu den Produkten **X** führt. Die Abwesenheit von Zyklopeptiden bei den Polysarkosinen deutet darauf hin, dass die Trialkylamine ausschließlich basisch reagieren und nicht in der Lage sind, einen zwitterionischen Mechanismus einzuleiten. Das Auftreten der Produktspezies **X** deutet vermutlich ebenfalls auf einen mechanistischen Ablauf nach dem AMM hin.

Im Vergleich mit den Lösungsmittel-induzierten Polymerisationen können bei der Initiierung mit tertiären Aminen deutlich weniger Zyklopeptide identifiziert werden, wenn man von den N-Ethyldiisopropylamin-initiierten Polymerisationen von D,L-Phenylalanin-NCA und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA absieht. Der zwitterionische Mechanismus, der von den Lösungsmittel-initiierten Polymerisationen befolgt wird, stellt offensichtlich den effizienteren Weg zur Herstellung zyklischer Peptide dar, bei dem auch weniger an weiteren Nebenreaktionen beobachtet werden konnte.

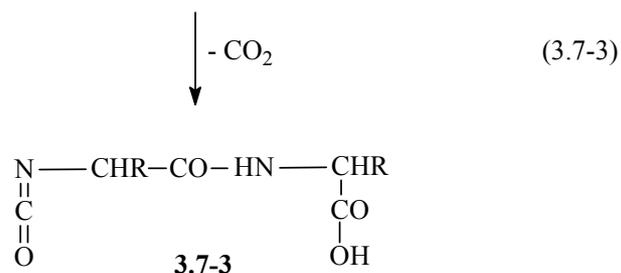
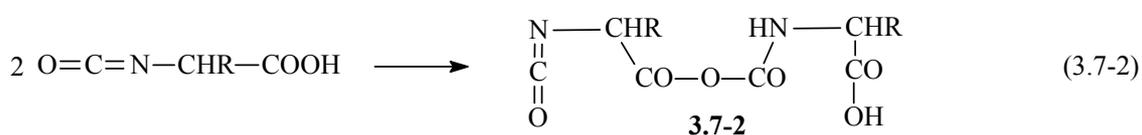
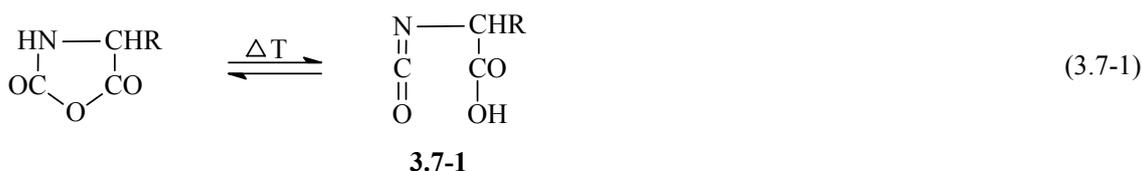
Auffällig ist bei den durch tertiäre Amine initiierten Polymerisationen das häufige Auftreten der unbekanntenen Signale, deren Masse um 38 Da höher als die der Wasser-terminierten Ketten ist.

3.7 Thermische Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs

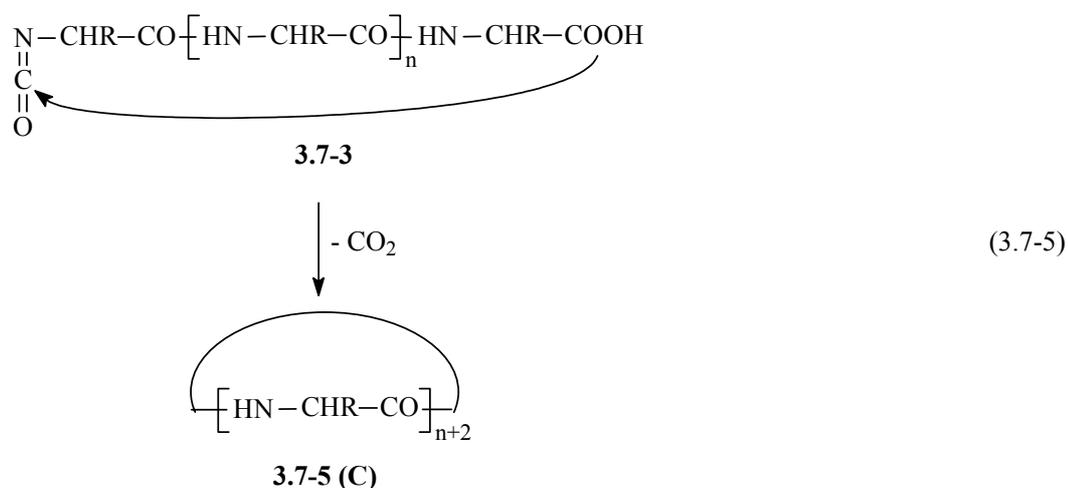
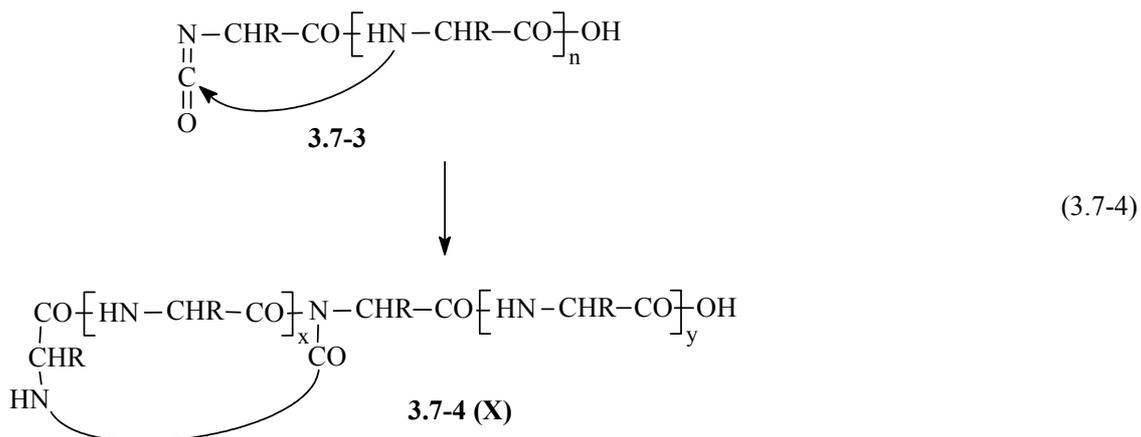
Es ist seit langem bekannt, dass sich NCAs beim Erhitzen zersetzen und dabei polymerisieren. Diese thermischen Polymerisationen sind danach zu unterscheiden, ob sie im festen Zustand oder in der Schmelze ablaufen, wobei die Polymerisationen im festen Zustand relativ langsam sind. Selbst hochreaktive NCAs, wie das von L-Alanin, benötigen im festen Zustand Wochen bis zur vollständigen Umsetzung^[104].

Leuchs war der erste, der die schnelle Polymerisation von geschmolzenen NCAs entdeckte^[115,117]. Später haben Katchalski et al.^[195] systematisch die thermische Polymerisation von NCAs dazu genutzt, neue Polypeptide zu synthetisieren. Die Vorteile dieser Methode sind die schnelle und komplette Umsetzung der NCAs. Als Hauptnachteil stellen sich die relativ niedrigen und schwer zu kontrollierenden Molekulargewichte der resultierenden Polypeptide heraus. Deswegen wurden die thermischen Polymerisationen von NCAs bisher nicht im Detail untersucht. In der Literatur existieren allerdings drei spekulative mechanistische Konzepte dieses Polymerisationstyps.

Für Polymerisationen von NCAs in geschmolzenem Zustand wurde die Polykondensation von thermisch gebildeten α -Isocyanatcarbonsäuren vorgeschlagen^[196] (**Isocyanat-Mechanismus**). Dieser Polymerisationsmechanismus basiert auf der reversiblen Ringöffnung der NCAs, wodurch in sehr geringen Konzentrationen α -Isocyanatcarbonsäuren gebildet werden (Gl. 3.7-1). Diese gehen daraufhin eine Polykondensation mit Stufenwachstumskinetik ein (Gl. 3.7-2, 3.7-3).



Als Nebenreaktion kann es bei dem Isocyanat-Mechanismus zu Zyklisierungen kommen. So kann z.B. ein Amid-Stickstoff der Polymerkette mit der endständigen Isocyanatgruppe reagieren, woraus die Struktur **3.7-4 (X)** in Gleichung 3.7-4 resultiert. Diese Reaktion wird in der Literatur für die Bildung der Hydantoinverbindung ($x = 0$ in Struktur **3.7-4**) bereits erwähnt^[197,198]. Durch Zyklisierung und anschließende Decarboxylierung ist ebenso auch die Bildung von Zyklopeptiden möglich (Gl. 3.7-5), wodurch die Reaktion abgebrochen wird.

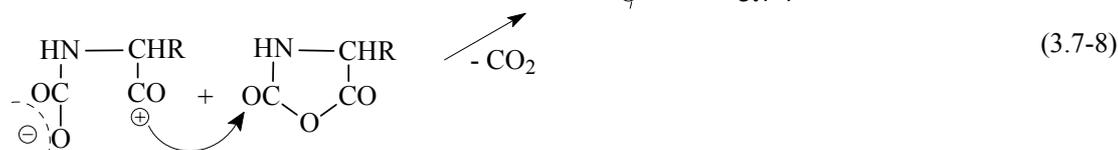
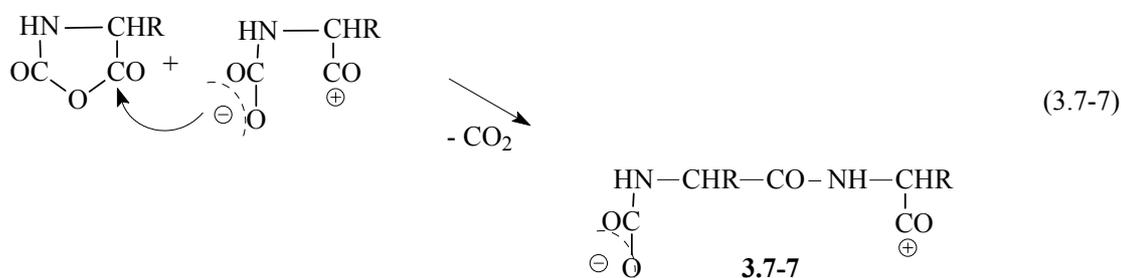
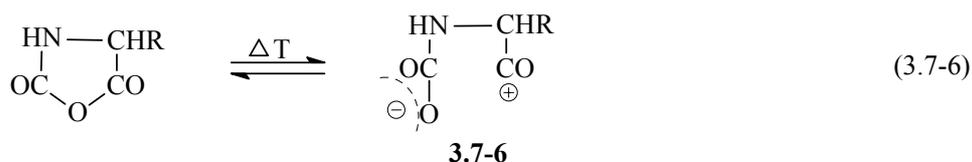


$$n = x+y+1$$

Für N-substituierte NCAs wie z.B. Sarkosin-NCA ist der Isocyanat-Mechanismus auszuschließen, da diese NCAs nicht zu Isocyanaten isomerisieren können.

Bei Verunreinigungen mit Wasserspuren kann als zweiter Mechanismus der Wasser-Mechanismus auftreten. Hierbei wird die Polymerisation durch Wasser initiiert und das Kettenwachstum wie beim Amin-Mechanismus über Amino-Endgruppen fortgesetzt.

Als dritter spekulativer Mechanismus wird der **thermische zwitterionische Mechanismus** genannt^[104]. Als Initiierungsschritt wird bei diesem zunächst die heterolytische Spaltung eines NCA-Moleküls vorgeschlagen (Gl. 3.7-6). Das Kettenwachstum kann dann zum einen über den Carbamat-Mechanismus stattfinden (Gl. 3.7-7) oder über den Angriff des Acylium-Ions am Sauerstoff der C-2-Carbonylgruppe eines benachbarten NCA-Moleküls (Gl. 3.7-8).

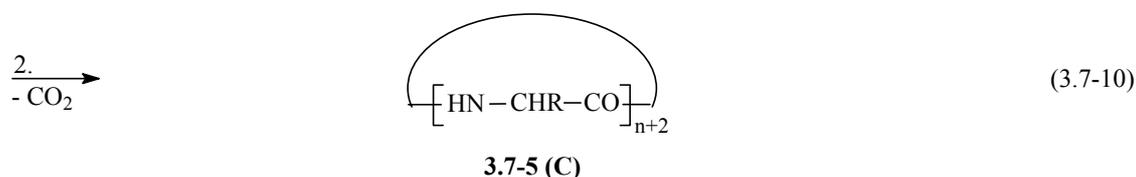
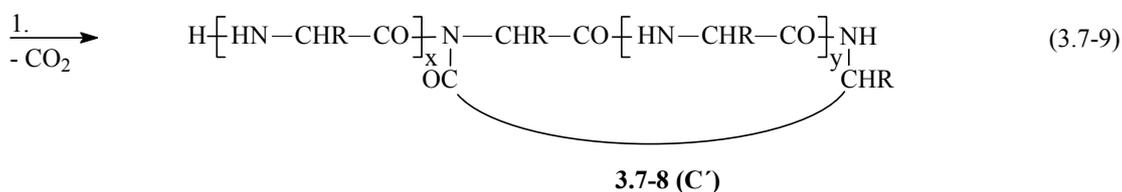
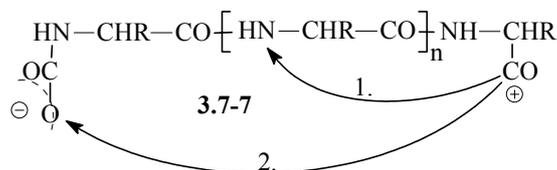


Bei Polymerisationen im festen Zustand ist der zwitterionische Mechanismus gegenüber dem Isocyanat-Mechanismus der wahrscheinlichere, da in den ersten beiden Schritten keine Protonenwanderungen stattfinden.

Als Nebenreaktion können bei dem zwitterionischen Mechanismus durch intramolekulare Acylierungen ebenfalls Zyklisierungen auftreten. Findet die Acylierung an einem Amid-Stickstoff innerhalb der Kette statt, so resultiert daraus die zyklische Struktur **3.7-8 (C')** (Gl. 3.7-9). In der Literatur ist diese intramolekulare Acylierung für die Bildung des N-Acyl-2,5-dioxopiperazin ($y = 0$ in Struktur **3.7-8**) erwähnt worden^[104]. Das Molekulargewicht eines solchen Produkts entspricht dem eines Zyklolpolypeptids, so dass es im MALDI-TOF-MS nicht von diesem unterschieden werden kann.

Die Acylierung könnte aber auch an der Carbamat-Endgruppe stattfinden (beim Sarkosin-NCA ausschließlich) und zu einem gemischten Anhydrid führen. Diese Reaktion erscheint als wahrscheinlicher, da die Carbamat-Endgruppe nucleophiler als der Amid-Stickstoff ist. Von diesem Anhydrid ist die Decarboxylierung anzunehmen, in

deren Folge ein Zyklopolypeptid resultiert (Gl. 3.7-10). In dem Fall, dass keine Decarboxylierung eintritt, wäre jedoch bei der Aufarbeitung der Reaktionsprodukte bzw. Vorbereitung der Proben für die MALDI-TOF-MS unter sauren, wässrigen Bedingungen die Hydrolyse der Produkte sehr wahrscheinlich. Diese Hydrolyseprodukte müssten dann im MALDI-TOF-Massenspektrum nachgewiesen werden können.



$$n = x + y$$

Um weitere Erkenntnisse über die stattfindenden Polymerisationsmechanismen zu erhalten, wurden an dieser Stelle eine Reihe thermischer Polymerisationen verschiedener NCAs durchgeführt. Es wurde gehofft, dass die Untersuchung der Reaktionsprodukte mit MALDI-TOF-MS in Kombination mit ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie zu einer zumindest teilweisen Erklärung der tatsächlichen Vorgänge führen könnte.

3.7.1 Thermische Polymerisation von D,L-Phenylalanin-, L-Alanin-, Sarkosin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA

In dieser Versuchsreihe wurden die NCAs von D,L-Phenylalanin, L-Alanin, Sarkosin, D,L-Valin und D,L-Leucin bei 120 °C innerhalb von 12 h thermisch polymerisiert. Von den Rohprodukten wurden die MALDI-TOF-MS sowie die ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren aufgenommen. Die Ergebnisse dieser Polymerisationen sind in der Tabelle 3.7.1 dargestellt.

Tabelle 3.7.1 Thermische Polymerisationen verschiedener NCAs^{a)}

Polymer Nr.	NCA von	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
186	Sarkosin	52	0.37
187	D,L-Phenylalanin	68	0.23
188	L-Alanin	87	0.20
189	D,L-Valin	74	0.15
190	D,L-Leucin	76	0.17

a) Reaktionstemperatur: 120 °C, Reaktionszeit: 12 h

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L

Bei der Analyse der MALDI-TOF-Massenspektren der N-unsubstituierten Polymere (Nr. 187 - 190) ließen sich in allen Produkten hauptsächlich zwei verschiedene Verteilungen identifizieren. Eine Verteilung weist Molekulargewichte auf, die sich nur aus Wiederholungseinheiten zusammensetzen und somit entweder Zyκλοpeptiden **C** oder der Struktur **C'** zugeordnet werden können, wobei die Struktur **C** die wahrscheinlichere ist. Die andere Verteilung weist Molekulargewichte auf, die zuzüglich zu den Wiederholungseinheiten noch die Masse von 44 Da, entsprechend einer CO₂-Einheit, besitzen. Diese Masse korreliert mit der Masse der Struktur **3.7-4 (X)** (Gl. 3.7-4).

Neben diesen beiden Verteilungen wurden bei den Produkten 187, 189 und 190 noch Signale **Y** beobachtet, deren Massen um 38 Da höher als die Massen der Verteilungen **X** liegen

In den Abbildungen 3.7.1 und 3.7.2 sind die Massenspektren des Poly-D,L-phenylalanins Nr. 187 und des Poly-D,L-leucins Nr. 190 gezeigt.

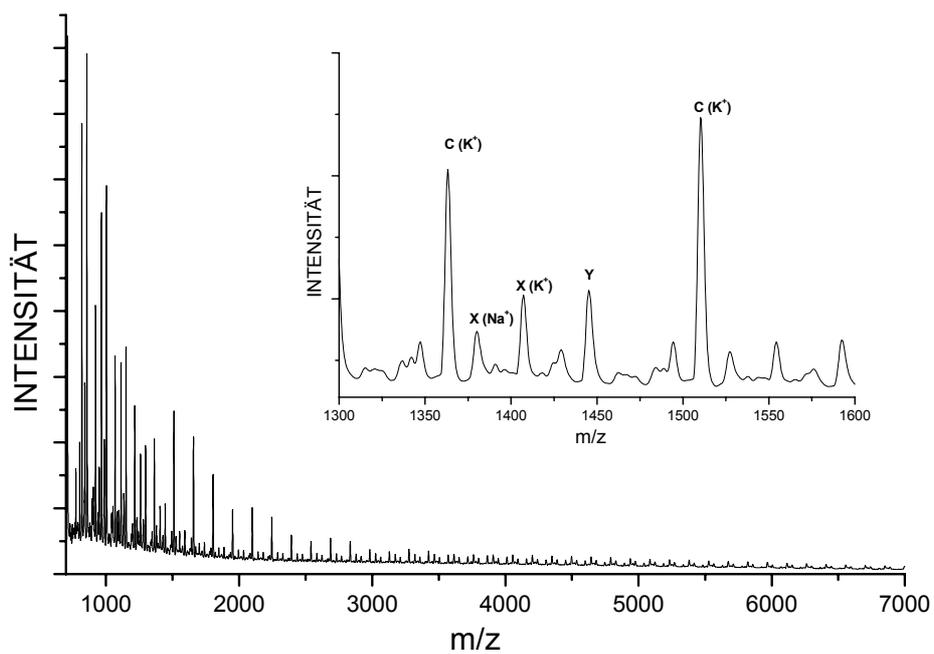


Abb. 3.7.1 MALDI-TOF-Massenspektrum von Poly-D,L-phenylalanin Nr. 187

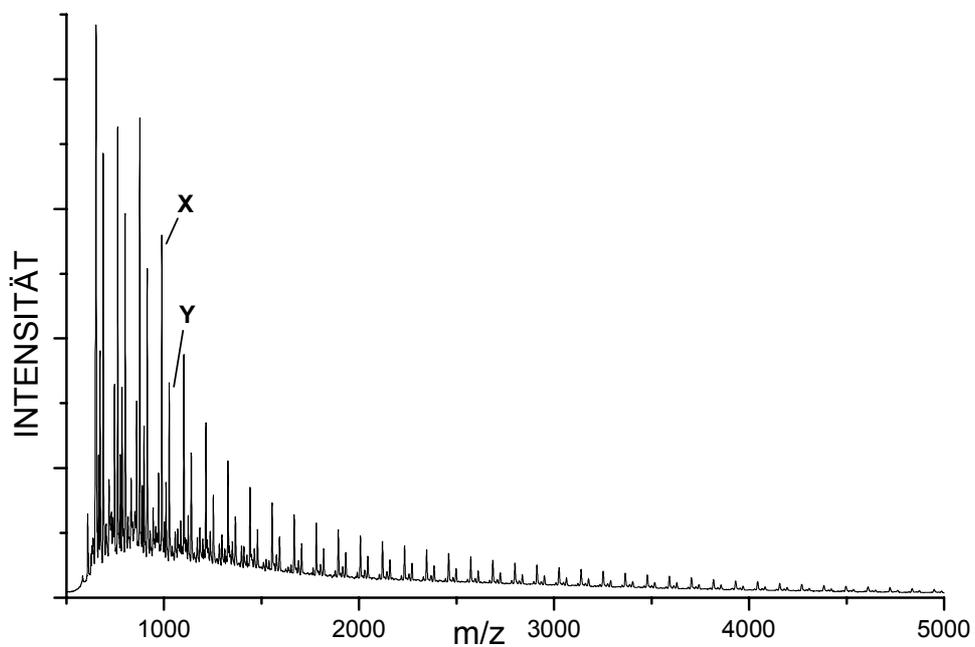
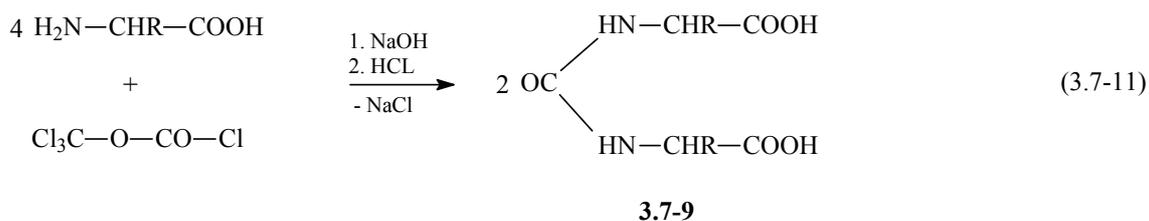


Abb. 3.7.2 MALDI-TOF-Massenspektrum von Poly-D,L-leucin Nr. 190
(K⁺-gedopt, schwächere Signale sind Na⁺-gedopt)

Das Auftreten der Struktur **X** lässt sich, wie oben beschrieben, nicht durch den zwitterionischen Mechanismus erklären, jedoch durch die intramolekulare Reaktion beim Isocyanat-Mechanismus. Diese Massen treten auch beim Poly-D,L-Phenylalanin Nr. 187 auf. Die Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA läuft jedoch im festen Zustand und nicht in der Schmelze ab. Offensichtlich spielt bei Polymerisationen im festen Zustand auch ein anderer als der zwitterionische Mechanismus eine Rolle. Bei der Polymerisation von D,L-Leucin-NCA lassen sich die Massen **X** als Hauptprodukt identifizieren. Die Polymerisation von Sarkosin-NCA führt zu einem Produktgemisch, in dem sich neben Wasser-terminierten Ketten (**La**) nur Zyklopeptide **C** nachweisen lassen (Abb. 3.7.2). Die Zyklopeptide können in diesem Fall durch den zwitterionischen Mechanismus entstehen, die Wasser-terminierten Ketten sind wahrscheinlich durch Initiierung mit Spuren von Wasser entstanden.

Um die Hydantoin säurestruktur in den Molekülen **X** mittels NMR-Spektroskopie nachweisen zu können, wurden für eine sinnvolle Interpretation der NMR-Spektren zunächst aus den Aminosäuren D,L-Phenylalanin und D,L-Leucin mit Diphosgen Modellsubstanzen der Hydantoin säuren synthetisiert (**3.7-9** in Gl. 3.7-11).



Von diesen Modellsubstanzen wurden, ebenso wie von den Produkten Nr. 187 - 190, ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren aufgenommen. Aufgrund der stark verbreiterten Signale in den ¹H-NMR-Spektren ließen sich dort keine Informationen über eine mögliche Hydantoin säurestruktur entnehmen. Die ¹³C-NMR-Spektren der Modellsubstanzen weisen bei ca. 160 ppm ein Signal auf, das dem Carbonylkohlenstoffatom der Harnstoffgruppierung zugeordnet werden kann. Dieses Signal lässt sich in den ¹³C-NMR-Spektren der Produkte Nr. 187 bis 190 ebenso identifizieren. In Abbildung 3.7.3 und 3.7.4 sind die ¹³C-NMR-Spektren der Polymere 187 und 190 und der jeweils entsprechenden Modellsubstanz gezeigt.

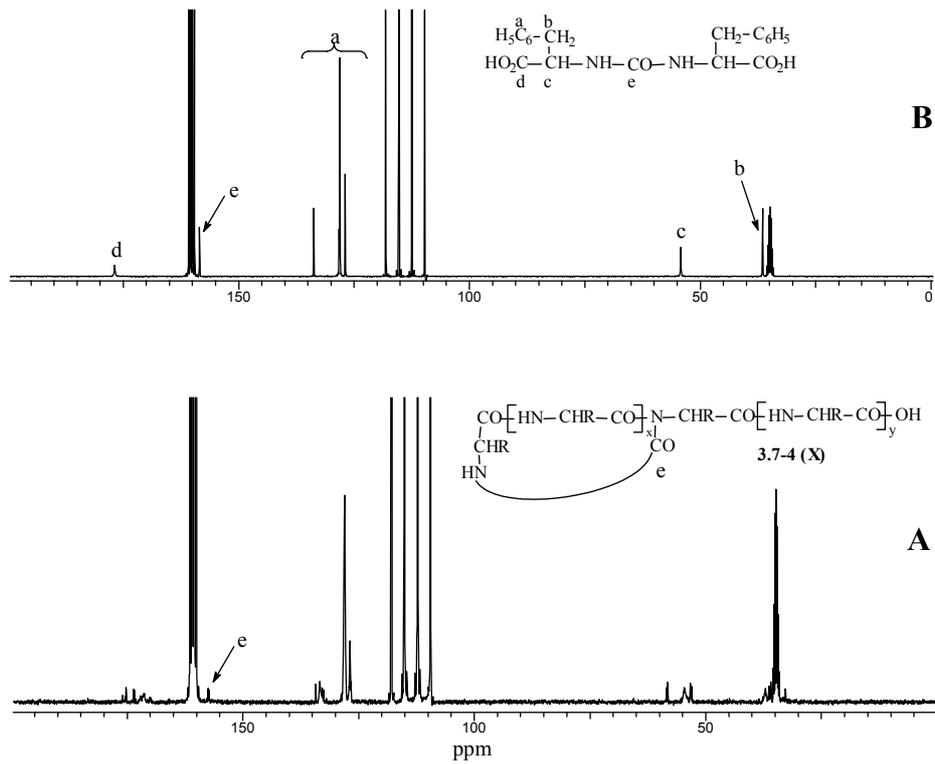


Abb. 3.7.3 ¹³C-NMR-Spektrum (100 MHz) von A: Poly-D,L-phenylalanin Nr. 187, B: Hydantoinensäure aus D,L-Phenylalanin 3.7-9 (aufgenommen in TFA/DMSO-d₆)

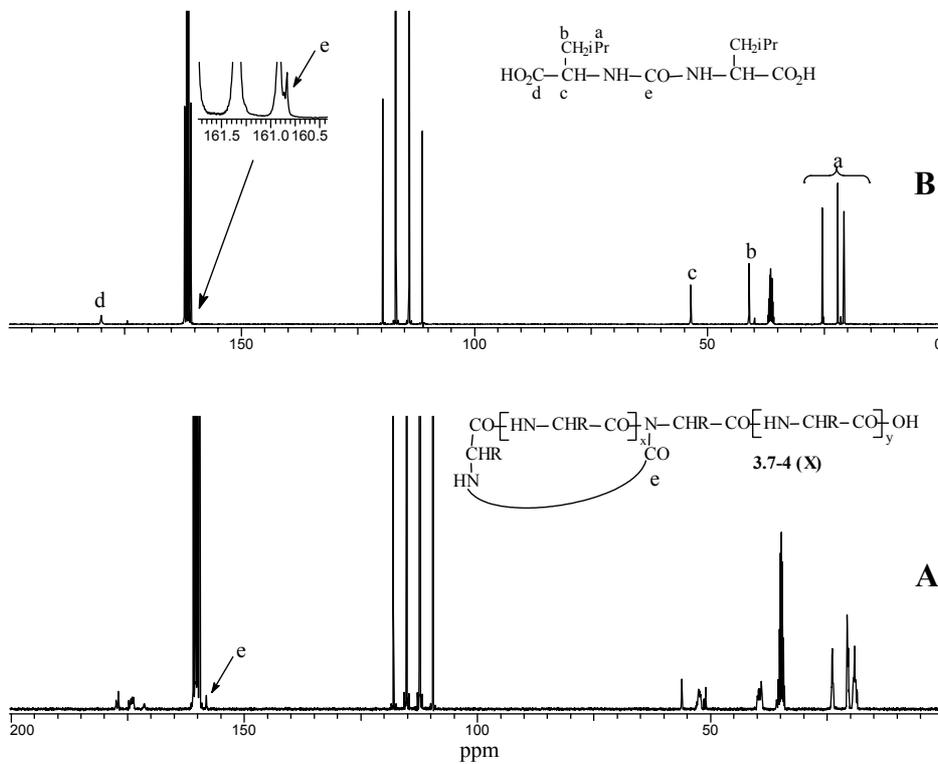


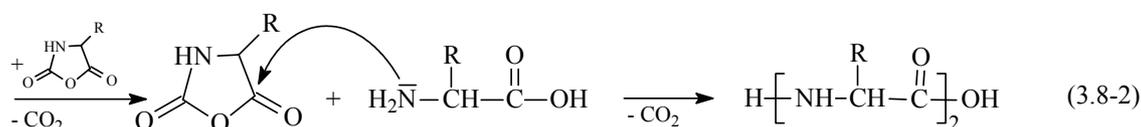
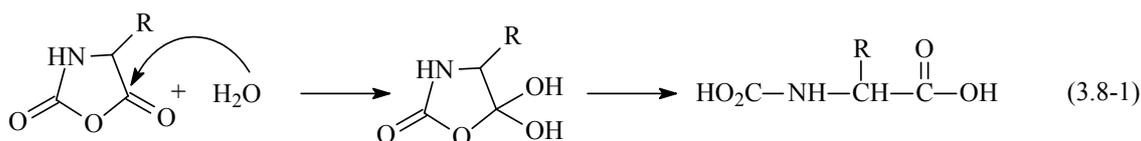
Abb. 3.7.4 ¹³C-NMR-Spektrum (100 MHz) von A: Poly-D,L-leucin Nr. 190, B: Hydantoinensäure aus D,L-Leucin 3.7-9 (aufgenommen in TFA/DMSO-d₆)

Die Übereinstimmung der Carbonylkohlenstoff-Signale der Harnstoffgruppierung deutet auf die gleiche Gruppierung und damit auf die vorhergesagte Struktur **3.7-4 (X)** der Polymere hin.

Die Untersuchungen der thermischen Polymerisation zeigt also, dass der Isocyanat-Mechanismus und der zwitterionische Mechanismus beide möglich sind. Bei den Polymerisationen der N-unsubstituierten NCAs kann ein Teil der Produkte (**X**) nur durch den Isocyanat-Mechanismus erklärt werden. In den Massenspektren können hauptsächlich Produkte nachgewiesen werden, die in irgendeiner Form Zyklisierungen, also Abbruchreaktionen eingegangen sind. Diese hohe Neigung zu intramolekularen Reaktionen hat einen limitierenden Effekt auf das resultierende Molekulargewicht bei den thermischen Polymerisationen. Außerdem wird die Kontrolle des Molekulargewichts hierdurch erschwert.

3.8 Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs in wässrigen Systemen

Bei der Reaktion mit Wasser werden NCAs grundsätzlich hydrolysiert. Das bedeutet, dass sich die α -Aminosäuren aus ihren NCAs durch Hydrolyse in Wasser herstellen lassen. Die Reaktion der NCAs mit Wasser verläuft jedoch langsam, so dass zunächst nur geringe Mengen an Aminosäuren entstehen. Diese sind aber in Lage, eine Polymerisation des NCAs über den Amin-Mechanismus einzuleiten, die schneller verläuft als die weitere Hydrolyse des übrigen Monomers (Gl. 3.8-1 - 3.8-3). α -Aminosäure-NCAs lassen sich also in Wasser polymerisieren.



Diese Möglichkeit der Polymerisation von NCAs in Wasser ist auch im Zusammenhang mit präbiotischen Aspekten von Interesse. NCAs werden von verschiedenen Wissenschaftlern als präbiotische Verbindungen in Betracht gezogen^[189-193,199,200], deren Polymerisation zu Oligopeptiden geführt haben könnte^[193].

In dieser Arbeit sollte die Polymerisation von NCAs in Wasser und wässrigen Lösungen von CaCl_2 und MgCl_2 hinsichtlich der entstehenden Produkte und Nebenprodukte untersucht werden. Chloridionen können theoretisch ebenfalls nucleophil mit den NCAs reagieren und eine Polymerisation einleiten. Die entstehenden Säurechloride ermöglichen theoretisch Nebenreaktionen wie Zyklisierungen, obwohl es höchstwahrscheinlich ist, dass sie zuvor in wässriger Lösung hydrolysiert werden.

3.8.1 Polymerisation von Alanin-, Phenylalanin-, Valin- und Leucin-NCA in wässrigen Systemen

Die Polymerisation der NCAs von D,L-Alanin, L- und D,L-Phenylalanin, L- und D,L-Valin und L- und D,L-Leucin wurde zunächst in reinem Wasser durchgeführt. Anschließend wurde die Polymerisation in 10 %igen wässrigen Lösungen von CaCl_2 bzw. MgCl_2 durchgeführt, um den eventuellen Einfluss gelöster Salze zu untersuchen. Die NCAs wurden hierzu in Wasser bzw. Salzlösung gelöst bzw. suspendiert und bei 60 °C innerhalb von einem Tag polymerisiert. Von den Produkten wurden die inhärenten Viskositäten bestimmt und die MALDI-TOF-Massenspektren aufgenommen. In den Tabellen 3.8.1 bis 3.8.3 sind die Ergebnisse aufgeführt.

Tabelle 3.8.1 Polymerisationen verschiedener NCAs in Wasser^{a)}

Polymer Nr.	NCA von	Ausbeute [%]	η_{inh} [dL/g]
191	L-Phenylalanin	47	0.19 ^{c)}
192	D,L-Phenylalanin	51	0.07 ^{b)}
193	D,L-Alanin	73	0.08 ^{b)}
194	L-Valin	58	0.13 ^{c)}
195	D,L-Valin	46	0.13 ^{b)}
196	L-Leucin	71	0.12 ^{d)}
197	D,L-Leucin	58	0.11 ^{b)}

a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 1 d

b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit $c = 2$ g/L

c) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit $c = 2$ g/L

Tabelle 3.8.2 Polymerisationen verschiedener NCAs in 10 %iger CaCl₂-Lösung^{a)}

Polymer Nr.	NCA von	Ausbeute [%]	η_{inh} [dL/g]
198	L-Phenylalanin	86	0.22 ^{c)}
199	D,L-Phenylalanin	70	0.11 ^{b)}
200	D,L-Alanin	d)	d)
201	L-Valin	70	0.08 ^{c)}
202	D,L-Valin	57	0.12 ^{b)}
203	L-Leucin	87	0.11 ^{c)}
204	D,L-Leucin	80	0.10 ^{b)}

- a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 1 d
 b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L
 c) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit c = 2 g/L
 d) Ausbeute und Viskosität konnten nicht bestimmt werden, da das CaCl₂ nicht abtrennbar war

Tabelle 3.8.3 Polymerisationen verschiedener NCAs in 10 %iger MgCl₂-Lösung^{a)}

Polymer Nr.	NCA von	Ausbeute [%]	$\eta_{inh}^{b)}$ [dL/g]
205	L-Phenylalanin	70	0.20 ^{c)}
206	D,L-Phenylalanin	69	0.10 ^{b)}
207	D,L-Alanin	d)	d)
208	L-Valin	56	0.06 ^{c)}
209	D,L-Valin	54	0.12 ^{b)}
210	L-Leucin	81	0.12 ^{c)}
211	D,L-Leucin	71	0.11 ^{b)}

- a) Reaktionstemperatur: 60 °C, Reaktionszeit: 1 d
 b) gemessen in Dichloressigsäure bei 20 °C mit c = 2 g/L
 c) gemessen in einem Gemisch aus Dichloressigsäure und Methansulfonsäure (Volumenverhältnis 9:1) bei 30 °C mit c = 2 g/L
 d) Ausbeute und Viskosität konnten nicht bestimmt werden, da das MgCl₂ nicht abtrennbar war

Betrachtet man die Ergebnisse der unterschiedlichen Polymerisationen, so fällt zunächst auf, dass die Verwendung der CaCl₂-Lösung in allen Fällen die höchste

Ausbeute liefert. Bei den Polymerisationen des D,L-Phenylalanin-NCA (Nr. 192, 199 und 206) sind geringfügig höhere inhärente Viskositäten für Produkte festzustellen, die in den Salzlösungen hergestellt wurden. Im Fall von L-Valin-NCA werden hingegen geringere Werte der inhärenten Viskositäten für die Polymerisationen in Salzlösungen beobachtet. In den MALDI-TOF-Massenspektren der in wässrigen Systemen hergestellten Produkte Nr. 191 bis 211 lässt sich als Hauptprodukt in allen Fällen das Wasser-terminierte Produkt **3.8-1 (La)** identifizieren. In den Poly-L-phenylalaninen Nr. 191, 198 und 205 und in Poly-D,L-phenylalanin 192 lassen sich daneben geringe Mengen an Zyklopeptiden **C** nachweisen.

Neben den Wasser-terminierten Ketten weisen allerdings alle Produkte mit Ausnahme der Poly-L-phenylalanine Nr. 191 und 198 und Poly-D,L-phenylalanin Nr. 192 im Massenspektrum eine unbekannte Produktverteilung **Y** auf, deren Molmassen um 38 Da höher als die der Wasser-terminierten Ketten liegt. In den Abbildungen 3.8.1 und 3.8.2 sind beispielhaft die Massenspektren der Produkte 192 und 195 gezeigt.

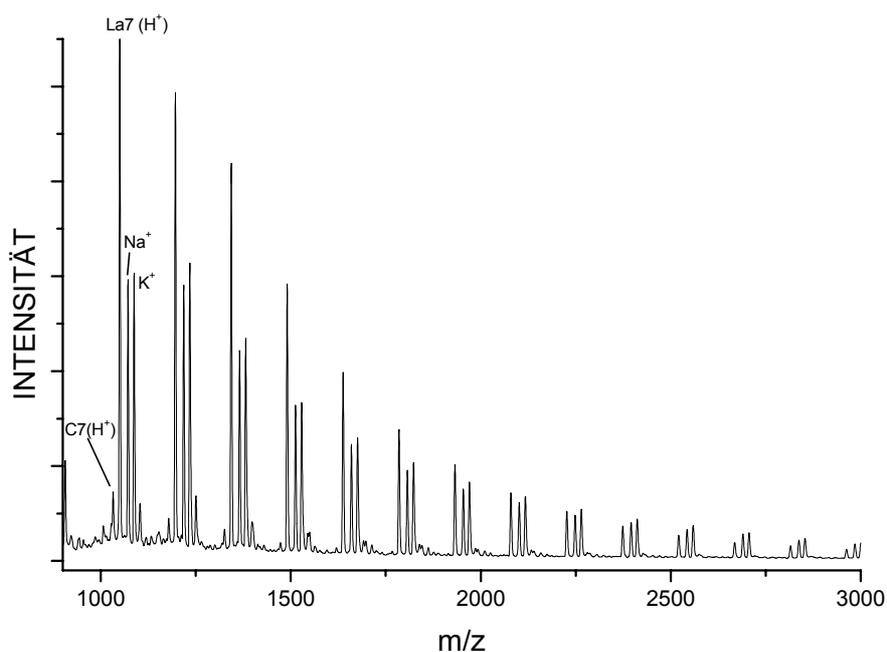


Abb. 3.8.1 MALDI-TOF-Massenspektrum von Poly-D,L-phenylalanin Nr. 192

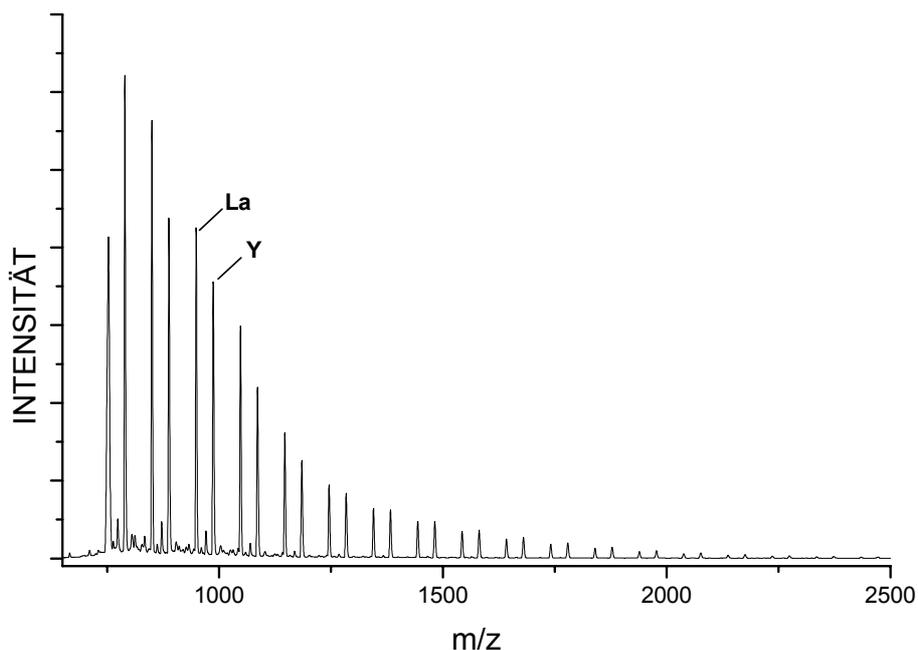


Abb. 3.8.2 MALDI-TOF-Massenspektrum von Poly-L-leucin Nr. 195 (K^+ -gedopt)

Wie die Ergebnisse dieser Polymerisationen gezeigt haben, können bei der Verwendung der unterschiedlichen wässrigen Systeme Unterschiede bei Ausbeuten und Viskositäten (geringfügig) festgestellt werden. Auf das Produktspektrum im Massenspektrum hat die Verwendung der verschiedenen wässrigen Systeme jedoch keinen Einfluss. Ein interessantes Ergebnis ist die unerwartete Zyklenbildung bei den Polyphenylalaninen. Diese tritt ebenfalls in der reinen wässrigen Phase auf. Die Polymerisation verläuft also nicht ausschließlich nach dem Amin-Mechanismus. Es könnte eventuell zu basischen Reaktionen der Amin-Endgruppe der Polypeptidkette mit dem übrigen NCA kommen, wodurch dann Nebenreaktionen eingeleitet werden, die zu den Zyklopeptiden führen.

Eine weitere Nebenreaktion, die in den meisten Fällen stattfindet, erzeugt eine Produktart **Y**, die allerdings nicht aufgeklärt werden konnte. Die Massen dieser Produktart stimmen genau mit den Massen der unbekannt Produkte überein, die bei den Polymerisationen mit tertiären Aminen in den meisten Fällen aufgetreten sind. Diese Massen traten dort nur auf, wenn auch Wasser-terminierte Ketten vorlagen. Bei den thermischen Polymerisationen treten unbekannte Produkte auf, deren Masse ebenfalls um 38 Da höher als eines der auftretenden Produkte (**X**) ist. Das Produkt **X** weist ebenfalls wie die Wasser-terminierten Polymere eine Carboxylgruppe auf. Ein eventueller Zusammenhang zwischen diesen Produkten lässt sich allerdings nicht belegen.

4 Experimenteller Teil

4.1 Chemikalien und Geräte

4.1.1 Meßmethoden und Geräte

NMR-Spektroskopie

Die ^1H -NMR-Spektren wurden am *Bruker AMX 400 FT-NMR* bei einer Meßfrequenz von 400.13 MHz in 5 mm Probenröhrchen gemessen. Als Lösungsmittel kamen Chloroform- d_1 , DMSO- d_6 , TFA und MSA zum Einsatz. Als interner Standard wurde TMS verwendet. ^{13}C -NMR-Spektren wurden bei 100.62 MHz in 10 mm Probenröhrchen aufgenommen.

Viskositätsmessung

Die inhärenten Viskositäten η_{inh} wurden mit einem *Ubbelohde-Viskosimeter* bei 20 °C bzw. 30 °C in einer I_c -Kapillare der Firma Schott bestimmt. Die Laufzeitmessungen erfolgten dabei mit einem *Viskoboy 2* der Firma *Lauda*.

Als Lösungsmittel dienten Ameisensäure, Dichloressigsäure und MSA/Dichloressigsäure (1:9 Volumenanteile). Die Konzentration betrug 2 g/L.

IR-Spektroskopie

Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte mit einem *FT-IR-Spektrometer Nicolet 20 SXB*. Die Proben wurden als KBr-Presslinge vermessen.

Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunktbestimmung erfolgte mit einem Schmelzpunktmeßgerät *Modell 530* der Firma *Büchi*. Die Werte sind unkorrigiert.

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden von der mikroanalytischen Abteilung des Instituts für Angewandte Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

MALDI-TOF-Massenspektrometrie

Die MALDI-TOF-MS-Untersuchungen erfolgten an einem *Bruker Biflex III Massenspektrometer* unter Verwendung eines Stickstofflasers ($\lambda = 337 \text{ nm}$) im Reflectronmodus mit einer Beschleunigungsspannung von 20 kV. Die Proben wurden aus Lösungen von Hexafluorisopropanol, Trifluoressigsäure und MSA (5 % Volumenanteil)/Trifluoressigsäure mit Dithranol als Matrix und Kaliumtrifluoracetat als Kationisierungsreagenz hergestellt.

4.1.2 Chemikalien und Lösungsmittel

Die verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel sind in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 4.1 Chemikalien

Substanz	Bezugs- quelle	R-Sätze	S-Sätze	Reinheit [%]/ Reinigung
Adenin	Fluka	22	-	>99.5
Aktivkohle	Merck	-	-	-
D,L-Alanin	Degussa	-	-	-
L-Alanin	Degussa	-	-	-
Benzylalkohol (Xn)	Merck	20-22	26	>99
Benzylamin (C)	Merck	21/22-34	26-36/37/39- 45	>99
Calciumchlorid (Xi)	Merck	36	22-24	>90
Celite 545	Aldrich	-	-	-
Chlorameisensäure- methylester (F, T)	Merck	11-23- 36/37/38	9-16-33-45	>98
Chlortrimethylsilan (F, C)	Merck	11-14-35-37	16-26- 36/37/39-45	>99
4-N,N-Dimethylamino- pyridin	Acros	25-36/38	45	99

- a) azeotrop mit Toluol getrocknet
- b) Destillation über CaH_2
- c) Destillation

Tabelle 4.1 Chemikalien (Fortsetzung)

Substanz	Bezugs- quelle	R-Sätze	S-Sätze	Reinheit [%]/ Reinigung
Diphosgen (T ⁺)	Lancaster	26-34	9-26-28.6- 36/37/39-45	98
1,12-Dodekandiamin	Aldrich	22-36/38	-	98
N-Ethyl-diisopropylamin (F, C)	Aldrich	11-22-34- 52/53	16-26- 36/37/39-45- 61	b)
L-Glutaminsäure	Degussa	-	-	-
n-Hexylamin (C)	Merck	10-21/22-35	26-28.1- 36/37/39-45	>98
Imidazol (C)	Merck	22-34	22-26- 36/37/39-45	a)
D,L-Leucin	Acros	-	-	99
L-Leucin	Acros	-	-	99
4,4'-Methylen-bis- (phenyl- diisocyanat) (MDI)	Aldrich	20-36/37/38- 42	26-28.1-38- 45	98
N-Methylmorpholin (F, C)	Merck	11-21/22-34	16-23.2-26- 36/37/39-45	b)
Natrium	Merck	14/15-34	5.3-8-43.7-45	>99
Natriumhydroxid (C)	Merck	35	26-37/39-45	98
Natriumsulfat	Merck	-	-	>99
D,L-Phenylalanin	Acros	-	-	99
L-Phenylalanin	Acros	-	-	99
Phosphorpentoxid (C)	Acros	35	22-26-45	98
Phosphortribromid (C)	Aldrich	14-34-37	26-45	97
γ -Picolin (T)	Merck	10-20/22-24- 36/37/38	26-36-45	b)

a) azeotrop mit Toluol getrocknet

b) Destillation über CaH₂

c) Destillation

Tabelle 4.1 Chemikalien (Fortsetzung)

Substanz	Bezugs- quelle	R-Sätze	S-Sätze	Reinheit [%]/ Reinigung
Propylamin (F, C)	Merck	11-20/21/22- 34	9-16-26- 36/37/39-45	b)
Pyridin (F, Xn)	Merck	11-20/21/22	26-28.1	b)
Salzsäure 37 % (C)	Merck	34-37	26-36/37/39- 45	-
Sarkosin	Acros	-	-	99
Schwefelsäure 98 % (C)	Merck	35	26-30-45	-
Sebacinsäure	Acros	-	-	98
Sebacinsäuredichlorid	Eigene Herst.	34-37	26-36/37/39- 45	c)
Thionylchlorid (C)	Merck	14-20/22-29- 35	26-36/37/39- 45	>99
Triethylamin (F, C)	Merck	11-20/21/22- 35	3-16-26-29- 36/37/39-45	>99
4,7,10-Trioxa-1,13- tridekandiamin	Aldrich	34	-	97
Triphosgen (T ⁺)	Lancaster	26	9-28.6- 36/37/39-45	98
D,L-Valin	Degussa	-	-	-
L-Valin	Degussa	-	-	-

a) azeotrop mit Toluol getrocknet

b) Destillation über CaH₂

c) Destillation

Tabelle 4.2 Lösungsmittel

Substanz	Bezugs- quelle	R-Sätze	S-Sätze	Reinigung
Aceton (F, Xi)	Merck	11-36-66-67	9-16-26	-
Ameisensäure (C)	Lancaster	35	23.2-26-45	-
Chlorbenzol (Xn, N)	Merck	10-20-51/53	24/25-61	a)
Chloroform (Xn)	Merck	22-38-40- 48/20/22	36/37	a)
Dichloressigsäure (C, N)	Aldrich	35-50	26-45-61	-
Dichlormethan (Xn)	Merck	40	23.2-24/25-36/37	a)
Diethylether (F ⁺ , Xn)	Merck	12-19-22-66-67	9-16-29-33	b)
Dimethylformamid (T)	Merck	61-E20/21-36	53-36/37-45	a)
Dimethylsulfoxid (Xi)	Merck	36-38	26	e)
1,4-Dioxan (Xn,F)	Merck	11-19-36/37-40	16-36/37	b)
1,1-Dioxothiolan (Sulfolan)	Riedel de Haen	22	25	e)
Essigsäure- ethylester (F, Xi)	Merck	11-36-66-67	16-26-33	c)
Ethanol (F)	Merck	11	7-16	-
n-Hexan (F, Xn, N)	Merck	11-38-48/20- 51/53-62-65-67	9-16-29-33- 36/37-61-62	-
Methanol (F, T)	Merck	11-23/24/25- 39/23/24/25	7-16-36/37-45	-
Methansulfonsäure (C)	Merck	34	26-36-45	-
N-Methylpyrrolidon (Xi)	BASF	36/38	41	a)

a) Destillation über P₂O₅

b) Destillation über Natrium

c) Destillation über CaH₂d) Destillation über CaCl₂

e) azeotrop mit Toluol getrocknet und anschließende Destillation

Tabelle 4.2 Lösungsmittel (Fortsetzung)

Substanz	Bezugs- quelle	R-Sätze	S-Sätze	Reinigung
Nitrobenzol (T, N)	Merck	23/24/25-40- 48/23/24-51/53- 62	28.3-36/37-45- 61	a)
Petrolether 60/70 (F, Xn)	Merck	11-48/20-62-65	9-16-23.2-29-33- 36/37-62	-
Tetrachlorkohlenstoff (T, N)	Merck	23/24/25-40- 48/23-52/53-59	23.2-36/37-45- 59-61	a)
Tetrahydrofuran (F, Xi)	Merck	11-19-36/37	16-29-33	d)
Tetramethylharnstoff (T)	Merck	61-E22	53-24/25-37-45	e)
Toluol (F, Xn)	Merck	11-20	16-25-29-33	b)
Trifluoressigsäure (C)	Solvay	20-35-52/53	9-26-27-28.1-45- 61	-

a) Destillation über P₂O₅

b) Destillation über Natrium

c) Destillation über CaH₂d) Destillation über CaCl₂

e) azeotrop mit Toluol getrocknet und anschließende Destillation

R-Sätze:

R 10 Entzündlich

R 11 Leichtentzündlich

R 12 Hochentzündlich

R 14 Reagiert heftig mit Wasser

R 19 Kann explosionsfähige Peroxide bilden

R 20 Gesundheitsschädlich beim Einatmen

R 21 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut

R 22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken

R E22 Auch gesundheitsschädlich beim Verschlucken

R 23 Giftig beim Einatmen

R 24 Giftig bei Berührung mit der Haut

R 25 Giftig beim Verschlucken

- R 26 Sehr giftig beim Einatmen
- R 29 Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase
- R 34 Verursacht Verätzungen
- R 35 Verursacht schwere Verätzungen
- R 36 Reizt die Augen
- R 37 Reizt die Atmungsorgane
- R 38 Reizt die Haut
- R 40 Irreversibler Schaden möglich
- R 42 Sensibilisierung durch Einatmen möglich
- R 50 Sehr giftig für Wasserorganismen
- R 59 Gefährlich für die Ozonschicht
- R 61 Kann das Kind im Mutterleib schädigen
- R 62 Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen
- R 65 Gesundheitsschädlich: kann beim Verschlucken Lungenschäden verursachen.
- R 66 Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen
- R 67 Dämpfe können Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen

Kombinationen der R-Sätze

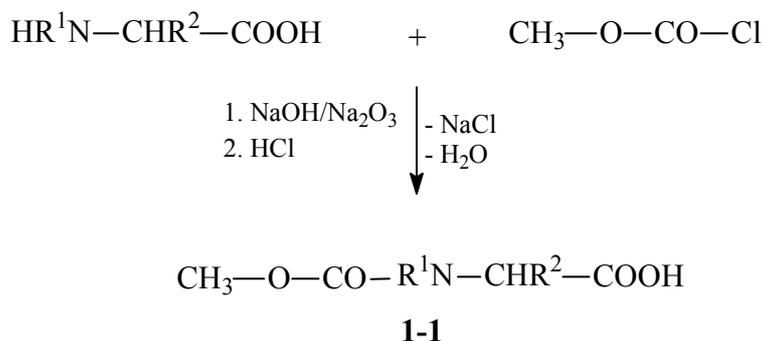
- R 14/15 Reagiert heftig mit Wasser unter Bildung hochentzündlicher Gase
- R 20/22 Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken
- R E20/21 Auch gesundheitsschädlich beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 20/21/22 Gesundheitsschädlich beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
- R 21/22 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
- R 23/24/25 Giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
- R 36/37 Reizt die Augen und die Atmungsorgane
- R 36/38 Reizt die Augen und die Haut
- R 36/37/38 Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut
- R 48/20 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen
- R 48/20/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 48/23 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen
- R 48/23/24 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Berührung mit der Haut
- R 51/53 Giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 52/53 Schädlich für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben

S-Sätze:

- S 3 Kühl aufbewahren
- S 5.3 Unter Paraffinöl aufbewahren
- S 7 Behälter dicht geschlossen halten
- S 8 Behälter trocken halten
- S 9 Behälter an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren
- S 16 Von Zündquellen fernhalten - Nicht rauchen
- S 22 Staub nicht einatmen
- S 23.2 Dampf nicht einatmen
- S 24 Berührung mit der Haut vermeiden
- S 25 Berührung mit den Augen vermeiden
- S 26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren
- S 27 Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen
- S 28.1 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser
- S 28.3 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife, möglichst auch mit Polyethylenglycol 400
- S 28.6 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400 und anschließend Reinigung mit viel Wasser
- S 29 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen
- S 30 Niemals Wasser hinzugießen
- S 33 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen
- S 36 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen
- S 37 Geeignete Schutzhandschuhe tragen
- S 38 Bei unzureichender Belüftung Atemschutzgerät anlegen
- S 41 Explosions- und Brandgase nicht einatmen
- S 43.7 Zum Löschen Metallbrandpulver verwenden, kein Wasser verwenden
- S 45 Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen
(wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen)
- S 53 Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen
- S 59 Information zur Wiederverwendung/Wiederverwertung beim Hersteller/
Lieferanten erfragen
- S 61 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen/
Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen
- S 62 Bei Verschlucken kein Erbrechen herbeiführen. Sofort ärztlichen Rat einholen
und Verpackung oder dieses Etikett vorzeigen

Kombinationen der S-Sätze

- S 24/25 Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden
- S 36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen
- S 36/37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen

4.2 Synthese der N-(Methoxycarbonyl)-amino-säuren ^[162,201]

In einem 2-l-Dreihalskolben, ausgestattet mit einem KPG-Rührer werden nacheinander 1 mol Aminosäure und 0.5 mol (53 g) Natriumcarbonat in 1 l NaOH (1 N) gelöst. Die Lösung wird mit Eis/Kochsalz-Mischung auf 0°C gekühlt, dann wird 1 mol (94.6 g) Chlorameisensäuremethylester (ebenfalls vorgekühlt) langsam innerhalb von 30 min unter Rühren zugetropft. Es wird noch 1 h unter Kühlung und 1 h bei RT weitergerührt. Danach wird vorsichtig mit HCl konz. auf pH 2-3 angesäuert. Das Produkt wird durch mehrmaliges Ausschütteln mit insgesamt 1.4 l Ethylacetat/THF (5:2) extrahiert (schon aus der wässrigen Phase ausgefallenes Produkt wird in die organische Phase überführt). Die wässrige Phase wird noch zweimal mit jeweils 200 ml Essigester nachextrahiert. Bei der Herstellung von N-Moc-D,L-phenylalanin und N-Moc-L-phenylalanin wird nur mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknung der vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat wird das Lösungsmittel vollständig am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

4.2.1 N-(Methoxycarbonyl)-L-alanin ^[201]C₅H₉NO₄

M: 147.13 g/mol

Ausbeute: 93 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 1.46 (3H, d), 3.72 (3H, s), 4.40 (1H, m),
5.64 (1H, d), 10.78 (1H, s)

4.2.2 N-(Methoxycarbonyl)-D,L-alanin^[201]

C₅H₉NO₄

M: 147.13 g/mol

Ausbeute: 87 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 1.46 (3H, d), 3.72 (3H, s), 4.40 (1H, m),
5.64 (1H, d), 10.78 (1H, s)

4.2.3 N-(Methoxycarbonyl)-sarkosin^[115,201]

C₅H₉NO₄

M: 147.13 g/mol

Ausbeute: 95 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 2.98 (3H, s), 3.72 (3H, s), 4.03 (2H, s), 9.48 (1H, s)

4.2.4 N-(Methoxycarbonyl)-L-phenylalanin^[201]

C₁₁H₁₃NO₄

M: 223.23 g/mol

Ausbeute: 96 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 3.17 (2H, m), 3.65 (3H, s), 4.70 (1H, m),
5.16 (1H, d), 7.19-7.35 (5H, m), 11.23 (1H, s)

4.2.5 N-(Methoxycarbonyl)-D,L-phenylalanin^[201]

C₁₁H₁₃NO₄

M: 223.23 g/mol

Ausbeute: 95 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 3.17 (2H, m), 3.65 (3H, s), 4.70 (1H, m),
5.16 (1H, d), 7.19-7.35 (5H, m), 11.23 (1H, s)

4.2.6 N-(Methoxycarbonyl)-L-valin^[201]

C₇H₁₃NO₄

M: 175.18 g/mol

Ausbeute: 91 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.93 (3H, d), 1.00 (3H, d), 2.23 (1H, m), 3.72
(3H, s), 4.33 (1H, m), 5.51 (1H, d), 10.55 (1H, s)

4.2.7 *N*-(Methoxycarbonyl)-D,L-valin^[201]

C₇H₁₃NO₄

M: 175.18 g/mol

Ausbeute: 93 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.93 (3H, d), 1.00 (3H, d), 2.23 (1H, m), 3.72 (3H, s), 4.33 (1H, m), 5.51 (1H, d), 10.55 (1H, s)

4.2.8 *N*-(Methoxycarbonyl)-L-leucin^[201]

C₈H₁₅NO₄

M: 189.21 g/mol

Ausbeute: 90 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.96 (6H, d), 1.57 (1H, m), 1.72 (2H, m), 3.69 (3H, s), 4.39 (1H, m), 5.32 (1H, d), 11.21 (1H, s)

4.2.9 *N*-(Methoxycarbonyl)-D,L-leucin^[201]

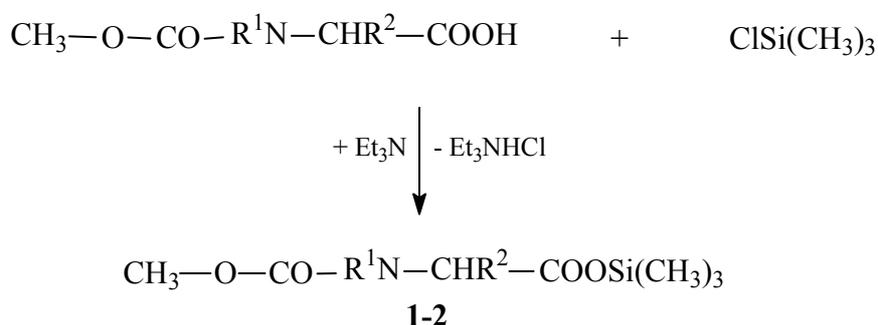
C₈H₁₅NO₄

M: 189.21 g/mol

Ausbeute: 92 %

¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.96 (6H, d), 1.57 (1H, m), 1.72 (2H, m), 3.69 (3H, s), 4.39 (1H, m), 5.32 (1H, d), 11.21 (1H, s)

4.3 Synthese der N-(Methoxycarbonyl)-aminosäuretrimethylsilylester



In einem 2-l-Dreihalskolben, ausgestattet mit einem KPG-Rührer, wird 1 mol der entsprechenden N-(Methyloxycarbonyl)-aminosäure in 1.2 l trockenem THF gelöst und mit 1.3 mol (141.2 g) ClSiMe₃ versetzt. Zu dem Gemisch werden 1.3 mol (131.5 g) Et₃N unter gleichzeitigem Erwärmen hinzugegossen. Anschließend wird noch etwa 2 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abdestillieren von ca. 400 ml des Lösungsmittels wird das Volumen wieder mit Petrolether aufgefüllt und das ausgefallene Et₃NHCl mittels einer Fritte unter Feuchtigkeitsausschluss abgetrennt. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird das Rohprodukt im Ölpumpenvakuum destillativ gereinigt.

4.3.1 N-(Methoxycarbonyl)-L-alanintrimethylsilylester^[202]C₈H₁₇NO₄Si

M: 219.31 g/mol

Ausbeute: 87 %

T_S: 115 °C / 0.1 torr
¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.24 (9H, s), 1.34 (3H, d), 3.60 (3H, s),
4.24 (1H, m), 5.44 (1H, s)

Elementaranalyse

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	43.81	43.73
H	7.81	7.72
N	6.39	6.41

4.3.2 N-(Methoxycarbonyl)-D,L-alanintrimethylsilylester^[202] $C_8H_{17}NO_4Si$

M: 219.31 g/mol

Ausbeute: 65 %

 T_S : 115 °C / 0.1 torr 1H -NMR ($CDCl_3/TMS$): δ [ppm] = 0.24 (9H, s), 1.34 (3H, d), 3.60 (3H, s),
4.24 (1H, m), 5.44 (1H, s)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	43.81	43.83
H	7.81	7.44
N	6.39	6.49

4.3.3 N-(Methoxycarbonyl)-sarkosintrimethylsilylester^[202] $C_8H_{17}NO_4Si$

M: 219.31 g/mol

Ausbeute: 66 %

 T_S : 110 °C / 0.1 torr 1H -NMR ($CDCl_3/TMS$): δ [ppm] = 0.01 (9H, s), 2.66 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.65 (2H, s)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	43.81	45.05
H	7.81	7.89
N	6.39	6.33

4.3.4 N-(Methoxycarbonyl)-L-phenylalanintrimethylsilylester^[202] $C_{14}H_{21}NO_4Si$

M: 295.41 g/mol

Ausbeute: 84 %

 T_S : 160 °C / 0.1 torr 1H -NMR ($CDCl_3/TMS$): δ [ppm] = 0.28 (9H, s), 3.12 (2H, d), 3.68 (3H, s),
4.56 (1H, m), 5.15(1H, d), 7.25 (5H, m)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	56.92	56.79
H	7.17	7.01
N	4.74	4.67

4.3.5 N-(Methoxycarbonyl)-D,L-phenylalanintrimethylsilylester^[202] $C_{14}H_{21}NO_4Si$

M: 295.41 g/mol

Ausbeute: 80 %

 T_S : 155 °C / 0.1 torr 1H -NMR ($CDCl_3/TMS$): δ [ppm] = 0.28 (9H, s), 3.12 (2H, d), 3.68 (3H, s),
4.56 (1H, m), 5.15(1H, d), 7.25 (5H, m)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	56.92	56.84
H	7.17	7.06
N	4.74	4.65

4.3.6 N-(Methoxycarbonyl)-L-valintrimethylsilylester^[202]C₁₀H₂₁NO₄Si

M: 247.37 g/mol

Ausbeute: 90 %

T_S: 120 °C / 0.1 torr¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.31 (9H, s), 0.87 (3H, d), 0.97 (3H, d), 2.21 (1H, m), 3.69 (3H, s), 4.29 (1H, m), 5.23 (1H, d)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	48.56	48.30
H	8.56	8.30
N	5.66	5.60

4.3.7 N-(Methoxycarbonyl)-D,L-valintrimethylsilylester^[202]C₁₀H₂₁NO₄Si

M: 247.37 g/mol

Ausbeute: 88 %

T_S: 115 °C / 0.1 torr¹H-NMR (CDCl₃/TMS): δ [ppm] = 0.31 (9H, s), 0.87 (3H, d), 0.97 (3H, d), 2.21 (1H, m), 3.69 (3H, s), 4.29 (1H, m), 5.23 (1H, d)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	48.56	48.56
H	8.56	8.51
N	5.66	5.48

4.3.8 N-(Methoxycarbonyl)-L-leucintrimethylsilylester^[202] $C_{11}H_{23}NO_4Si$

M: 261.39 g/mol

Ausbeute: 76 %

 T_S : 180 °C / 0.1 torr 1H -NMR ($CDCl_3/TMS$): δ [ppm] = 0.30 (9H, s), 0.95 (6H, m), 1.50 (1H, m), 1.70 (1H, m), 3.68 (3H, s), 4.33 (1H, m), 5.11 (1H, d)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	50.54	50.55
H	8.87	8.65
N	5.36	5.27

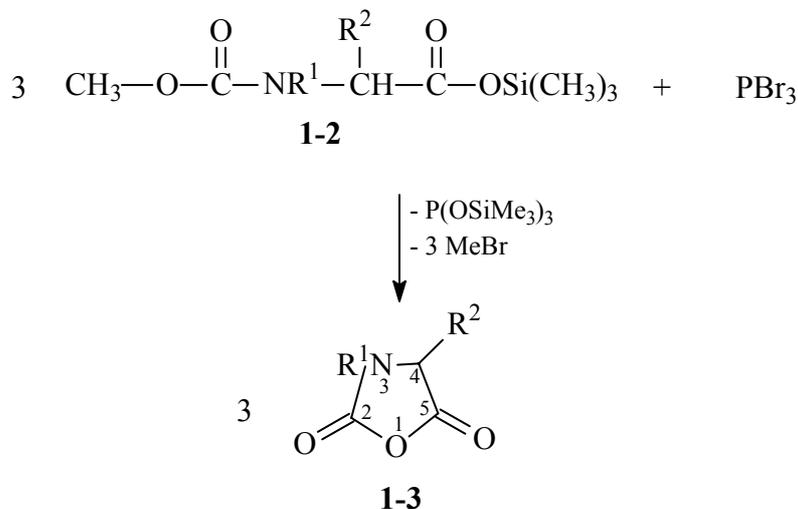
4.3.9 N-(Methoxycarbonyl)-D,L-leucintrimethylsilylester^[202] $C_{11}H_{23}NO_4Si$

M: 261.39 g/mol

Ausbeute: 77 %

 T_S : 170 °C / 0.1 torr 1H -NMR ($CDCl_3/TMS$): δ [ppm] = 0.30 (9H, s), 0.95 (6H, m), 1.50 (1H, m), 1.70 (1H, m), 3.68 (3H, s), 4.33 (1H, m), 5.11 (1H, d)**Elementaranalyse**

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	50.54	50.33
H	8.87	8.70
N	5.36	5.23

4.4 Synthese der α -Aminosäure-N-carboxyanhydride (NCA)^[120,136,203-205]

Alle Arbeitsschritte werden unter Argonatmosphäre durchgeführt.

In einem 1-l-Dreihalskolben, ausgestattet mit einem KPG-Rührer, werden 0.5 mol N-(Methoxycarbonyl)-aminosäuretrimethylsilylester in 500 ml trockenem CCl_4 (für Sarkosin, Phenylalanin, Valin und Leucin) bzw. 500 ml trockenem CHCl_3 (für Alanin) gelöst. Zu der Lösung werden unter Rühren 0.30 mol (81.21 g) PBr_3 getropft. Das Reaktionsgemisch wird 2 h auf 50 °C (Sarkosin, Alanin) bzw. 70 °C (für Phenylalanin, Valin und Leucin) erwärmt.

Im Fall von Sarkosin und Phenylalanin wird das Reaktionsgemisch auf ca. 8 °C gekühlt. Das ausgefallene NCA wird abgesaugt, mit CCl_4 gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Im Fall von Alanin, Valin und Leucin wird zunächst das Lösungsmittelvolumen am Rotationsverdampfer auf ca. die Hälfte reduziert. Anschließend wird Petrolether bis zur leichten Trübung hinzugegeben. Die NCAs kristallisieren bei 8 °C über Nacht aus. Zur möglichst vollständigen Kristallisation wird noch eine Nacht bei -18 °C stengelassen. Die Kristalle werden abgesaugt, mit einem Gemisch aus CCl_4 /Petrolether (1:2) (bzw. CHCl_3 /Petrolether (1:2) beim Alanin) gewaschen und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Zur Reinigung wird das NCA so oft in trockenem 1,4-Dioxan unter Aktivkohlezusatz umkristallisiert, bis mit Silbernitrat kein Bromid mehr als AgBr -Niederschlag nachzuweisen ist.

Umkristallisation

Das NCA (ca. 40 g) wird in 100 ml 1,4-Dioxan gelöst und auf 50 °C erwärmt. Nach Zugabe von einem Löffel Aktivkohle wird 10 min. gerührt. Die Aktivkohle wird anschließend über Celite abfiltriert.

Sarkosin- und Phenylalanin-NCA

Durch portionsweise Zugabe von CCl₄ werden die NCAs von Sarkosin und Phenylalanin aus dem 1,4-Dioxan ausgefällt. Nach Kühlung auf 8 °C werden die Kristalle abgesaugt, mit einem Gemisch aus CCl₄/Petrolether (1:2) gewaschen und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Valin- und Leucin-NCA

Im Fall von Valin und Leucin werden zunächst 100 ml CCl₄ hinzugegeben. Dann wird Petrolether bis zur leichten Trübung hinzugegeben. Nach Kühlung auf 8 °C werden die ausgefallenen Kristalle abgesaugt, mit einem Gemisch aus CCl₄/Petrolether (1:2) gewaschen und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Alanin-NCA

Beim Alanin-NCA werden zunächst ca. 70 ml 1,4-Dioxan am Rotationsverdampfer entfernt. Die konzentrierte Lösung wird dann in ca. 50 ml CHCl₃ aufgenommen und mit Petrolether bis zur leichten Trübung versetzt. Zunächst kristallisiert ein Teil des Produkts bei 8 °C über Nacht aus. Durch Zugabe von 10 ml Petrolether und Kühlung auf -18 °C wird das restliche NCA innerhalb von 3 h ausgefällt. Die Kristalle werden abgesaugt, mit einem Gemisch aus CHCl₃/Petrolether (1:2) gewaschen und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Alle NCAs werden unter Argonatmosphäre bei -18 °C aufbewahrt.

4.4.1 L-Alanin-NCA^[206]

C₄H₅NO₃

M: 115.09 g/mol

Ausbeute: 40 %

T_M: 90 °C (Lit.: T_M: 92 °C^[206])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.32 (3H, d), 4.47 (1H, q), 8.99 (1H, s)

4.4.2 *D,L-Alanin-NCA*^[207]

C₄H₅NO₃

M: 115.09 g/mol

Ausbeute: 47 %

T_M: 46 - 48 °C (Lit.: T_M: 45 - 46 °C^[207])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.32 (3H, d), 4.47 (1H, q), 8.99 (1H, s)

4.4.3 *Sarkosin-NCA*^[205]

C₄H₅NO₃

M: 115.09 g/mol

Ausbeute: 58 %

T_M: 104 °C (Lit.: T_M: 102-105 °C^[205])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 2.85 (3H, s), 4.21 (2H, s)

4.4.4 *L-Phenylalanin-NCA*^[208]

C₁₀H₉NO₃

M: 191.19 g/mol

Ausbeute: 64 %

T_M: 87 - 89 °C (Lit.: T_M: 88 °C^[208])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 3.02 (2H, d), 4.78 (1H, t), 7.27 (5H, m), 9.08 (1H, s)

4.4.5 *D,L-Phenylalanin-NCA*^[120]

C₁₀H₉NO₃

M: 191.19 g/mol

Ausbeute: 71 %

T_M: 126 - 127 °C (Lit.: T_M: 125 - 126 °C^[120])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 3.02 (2H, d), 4.78 (1H, t), 7.27 (5H, m), 9.08 (1H, s)

4.4.6 *L-Valin-NCA*^[135]

C₆H₉NO₃

M: 143.14 g/mol

Ausbeute: 70 %

T_M: 66.5 - 68.5 °C (Lit.: T_M: 68 - 69 °C^[135])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.85 (3H, d), 0.94 (3H, d), 2.04 (1H, m),
4.34 (1H, d), 9.09 (1H, s)

4.4.7 *D,L-Valin-NCA*^[209]

C₆H₉NO₃

M: 143.14 g/mol

Ausbeute: 76 %

T_M: 79 - 81 °C (Lit.: T_M: 78 - 79 °C^[209])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.85 (3H, d), 0.94 (3H, d), 2.04 (1H, m),
4.34 (1H, d), 9.09 (1H, s)

4.4.8 *L-Leucin-NCA*^[210]

C₇H₁₁NO₃

M: 157.17 g/mol

Ausbeute: 54 %

T_M: 76.5 - 77.5 °C (Lit.: T_M: 76.5 - 77.5 °C^[210])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.88 (3H, d), 0.90 (3H, d), 1.57 (2H, m), 1.73 (m),
4.45 (1H, dt), 9.14 (1H, s)

4.4.9 *D,L-Leucin-NCA*^[127]

C₇H₁₁NO₃

M: 157.17 g/mol

Ausbeute: 57 %

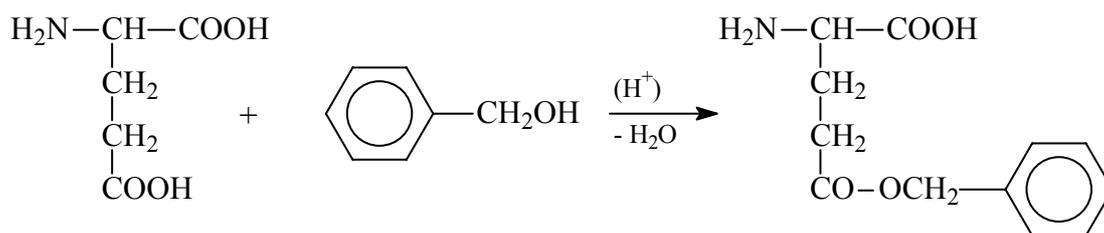
T_M: 47.5 - 49.5 °C (Lit.: T_M: 47 - 50 °C^[127])

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.88 (3H, d), 0.90 (3H, d), 1.57 (2H, m), 1.73 (m),
4.45 (1H, dt), 9.14 (1H, s)

4.4.10 γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA

Die Synthese von γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA erfolgte nicht über die Zwischenstufe des N-(Methoxycarbonyl)-aminosäuretrimethylsilylesters.

Ausgehend von L-Glutaminsäure wurde zunächst die γ -Carboxygruppe durch Veresterung mit Benzylalkohol geschützt^[203,211].

 γ -O-Bzl-L-glutamat:

In einem 2-l-Dreihalskolben, ausgestattet mit einem KPG-Rührer, werden 500 ml Diethylether mit 50 ml konz. Schwefelsäure (98 %) versetzt. Dazu wurden 500 ml aldehydfreier Benzylalkohol gegeben. Nach Entfernen des Diethylethers im Vakuum werden 0.5 mol (73.5 g) L-Glutaminsäure portionsweise hinzugegeben. Die erhaltene Lösung wird für 20 h gerührt und dann mit 1 l Ethanol versetzt. Anschließend werden unter kräftigem Rühren 250 ml Pyridin hinzugegeben. Die aufgetretene kristalline Fällung wird nach 10 h bei 0 °C abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Das Rohprodukt wird aus Wasser umkristallisiert und im Vakuum bei 40 °C getrocknet.

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_4$

M: 237.26 g/mol

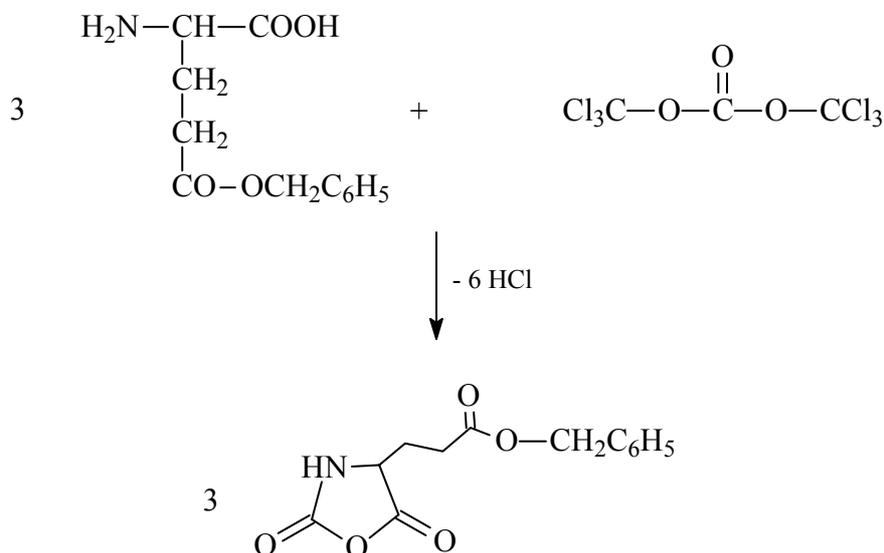
Ausbeute: 61 g (51 %)

T_M : 188-189 °C (Lit.: T_M : 189 °C^[211])

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3/TFA (4:1)): δ [ppm] = 2.41 (2H,m), 2.85 (2H,t), 4.36 (1H,dt),
5.18 (2H,s), 7.37 (5H,s), 7.75 (1H,s)

γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA^[134,212]:

Das NCA wird mit Phosgen aus dem γ -O-Bzl-L-glutamat synthetisiert. Das Phosgen wird dabei *in situ* aus dem leicht zu handhabenden Triphosgen freigesetzt.

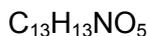


In einem 250-ml-Dreihalskolben, ausgestattet mit einem KPG-Rührer, werden 60 mmol (15 g) γ -O-Bzl-L-glutamat in 130 ml trockenem 1,4-Dioxan suspendiert. Es wird auf 50 °C erhitzt und dann das Triphosgen (21 mmol, 6.25 g) hinzugegeben. Nach 2 h Rühren bei 50 °C werden nochmals 6.8 mmol (2 g) und nach 3.5 h 3.4 mmol (1 g) Triphosgen hinzugegeben. Innerhalb von insgesamt 5 h entsteht eine klare Lösung, wodurch das Ende der Reaktion angezeigt wird. Nach Zugabe von 100 ml CCl₄ und 200 ml Petrolether wird die Lösung bei -25 °C für 1 h gekühlt. Weitere Zugabe von 200 ml Petrolether und Kühlung bei -25 °C führt innerhalb von 1 h zum Auskristallisieren eines Teils des Produkts. Anschließend werden 500 ml Petrolether hinzugegeben. Nach Stehen über Nacht bei -25 °C wird das auskristallisierte Produkt unter Feuchtigkeitsausschluss abgesaugt, mit Petrolether gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Produkt wird so oft in 1,4-Dioxan unter Aktivkohlezusatz umkristallisiert, bis sich keine Chloridionen mehr mit AgNO₃ nachweisen lassen.

Umkristallisation:

15 g NCA werden in 70 ml 1,4-Dioxan gelöst und nach Erhitzen auf 50 °C mit einem Löffel Aktivkohle versetzt. Nach 10 min. Rühren wird die Aktivkohle über Celite abfiltriert. Es werden 100 ml CCl₄ und 130 ml Petrolether hinzugegeben. Nach Kühlung bei -25 °C im Tiefkühlschrank kristallisiert bereits ein Teil des Produkts aus. Um das Produkts quantitativ auszukristallisieren, wird nochmals Petrolether (300 ml)

hinzugegeben und für weitere 30 min. auf $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Die Kristalle werden abgesaugt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.



M: 263.25 g/mol

Ausbeute: 73 %

T_M : $93\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Lit.: T_M : $97\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[134])

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ [ppm] = 2.01 (2H,m), 3.31 (2H, s), 4.48 (1H,t), 5.10 (2H,s), 7.37 (5H,s), 9.10 (1H,s)

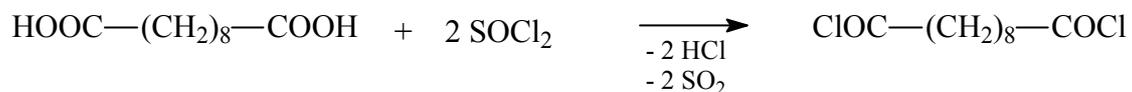
4.5 Synthese der Kupplungsreagenzien

Für die Polymersynthesen in Abschnitt 3.2 wurden MDI, Sebacinsäurebisimidazolid und Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester als Kupplungsreagenzien verwendet. MDI wurde gekauft, die anderen beiden Reagenzien wurden in der Arbeitsgruppe synthetisiert.

4.5.1 Synthese von Sebacinsäurebisimidazolid

Die Synthese erfolgte aus Sebacinsäuredichlorid und N-(Trimethylsilyl)-imidazol. Letzteres wurde zuvor in der Arbeitsgruppe synthetisiert. Sebacinsäuredichlorid wurde nach der folgenden Vorschrift synthetisiert.

Sebacinsäuredichlorid



In einem 1-l-Rundkolben wurde 1 mol (202.25 g) Sebacinsäure mit 3 mol (397 g) Thionylchlorid unter Rückfluss für 6 h erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird im Vakuum entfernt. Zur Reinigung wird das Rohprodukt zweimal im Vakuum destilliert.

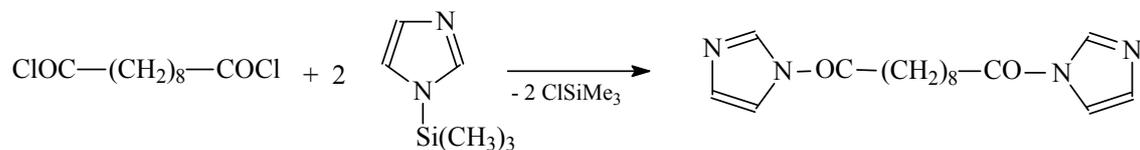


M: 239.14 g/mol

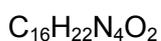
Ausbeute: 201 g (84 %)

T_S : $168\text{ }^{\circ}\text{C}$ / 14 torr

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3/TMS): δ [ppm] = 1.2-1.9 (12 H, m), 2.91 (4 H, t)

Sebacinsäurebisimidazolid

In einem 2-l-Dreihalskolben, ausgestattet mit einem KPG-Rührer, werden 0.6 mol (84.16 g) N-(Trimethylsilyl)-imidazol in 400 ml trockenem Toluol unter Argonatmosphäre vorgelegt. Es wird erhitzt und die Lösung von 0.3 mol (71.8 g) Sebacinsäuredichlorid in 100 ml trockenem Toluol schnell zugetropft. Dann wird 1.5 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 300 ml Toluol abdestilliert, um ClSiMe_3 zu entfernen. Es werden noch mal 200 ml Toluol hinzugegeben und wieder abdestilliert. Nach Zugabe von 500 ml Petrolether in fünf Portionen wird das ausgefallene Produkt unter Feuchtigkeitsausschluß abgesaugt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.



M: 302.38 g/mol

Ausbeute: 88.5 g (97 %)

T_M : 153-155 °C (Lit.: kein Wert angegeben^[181])

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ [ppm] = 1.31 (8H, s), 1.62 (4H, s), 3.00 (4H, t), 7.05 (2H, s), 7.69 (2H, s), 8.41 (2H, s)

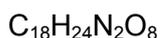
Elementaranalyse

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	63.56	62.80
H	7.33	7.33
N	18.53	18.33

4.5.2 Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester

Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester war in der Arbeitsgruppe bereits hergestellt worden^[182].

Von der vorhandenen Substanz wurden die analytischen Daten bestimmt.



M: 396.40 g/mol

T_M: 160 - 162 °C

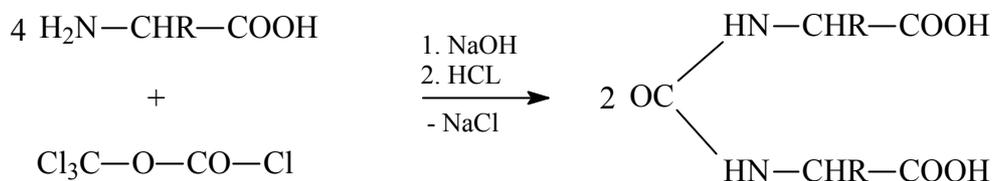
¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.33 (8H, m), 1.63 (4H, m), 2.66 (4H, t),
2.81 (8H, s)

Elementaranalyse

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	54.54	54.07
H	6.10	6.17
N	7.07	7.09

4.6 Synthese der Hydantoinsäuren aus den Aminosäuren

Die Synthese der Hydantoinsäuren erfolgte nach der folgenden Reaktion mit Diphosgen.



3.7-9

In einem 50-ml-Erlenmeyerkolben wurden 20 mmol Aminosäure in 20 ml 2N-NaOH gelöst. Die Lösung wurde mit Eis/Kochsalz-Mischung auf -10 °C gekühlt. Anschließend wurde unter Rühren eine vorgekühlte Lösung von 5 mmol (1.0 g) Diphosgen in 10 ml

Diethylether hinzugegeben. Nach Rühren über Nacht bei offenem Reaktionsgefäß (um den Diethylether zu verdampfen) wurde das ausgefallene Produkt abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

4.6.1 Hydantoinsäure aus D,L-Phenylalanin



M: 356.38 g/mol

T_M: 205 °C

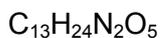
¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 2.83 (2H, m), 2.98 (2H, m), 4.30 (2H, m),
6.36 (2H, d), 7.20 (10H, m)

¹³C-NMR (TFA/DMSO-d₆): δ [ppm] = 36.47 (2C), 54.19 (2C), 126.87 (2C),
128.04 (4C), 128.17 (4C), 133.72 (2C),
158.50 (1C), 176.81 (2C)

Elementaranalyse

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	64.04	63.85
H	5.66	5.68
N	7.86	7.86

4.6.2 Hydantoinsäure aus D,L-Leucin



M: 288.34 g/mol

T_M: 179 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 0.85 (6H, d), 0.88 (6H, d), 1.43 (4H, m),
1.62 (2H, m), 4.08 (2H, m), 6.23 (2H, d)

¹³C-NMR (TFA/DMSO-d₆): δ [ppm] = 20.75 (2C), 22.10 (2C), 25.41 (2C), 41.18 (2C),
53.63 (2C), 160.83 (1C), 180.06 (2C),

Elementaranalyse

Element	berechnet [%]	gefunden [%]
C	54.15	52.18
H	8.39	8.08
N	9.72	9.40

Der Gehalt an C, H und N ist in diesem Fall etwas zu niedrig. Die Relationen stimmen allerdings perfekt mit denen der berechneten Werte überein (Faktor 1.04).

Die Hydantoinsäure aus D,L-Leucin zeigt eine relativ gute Wasserlöslichkeit, weshalb sie bei der Aufarbeitung nicht so intensiv gewaschen werden konnte. Deshalb ist wahrscheinlich ein geringer NaCl-Gehalt verantwortlich für die abweichenden Ergebnisse in der Elementaranalyse.

4.7 Polymersynthesen

Die Polymerisationen wurden in silanisierten 50-ml-Erlenmeyerkolben durchgeführt. Die Erlenmeyerkolben wurden hierzu mit Dichlordimethylsilan gefüllt, mit einem Glasstopfen verschlossen und innerhalb von 20 min mehrfach geschüttelt. Anschließend wurden die Kolben mehrmals mit trockenem Diethylether gespült und für 2 h bei 100 °C im Trockenschrank getrocknet.

Sämtliche Polymerisationen, mit Ausnahme der in wässriger Lösung durchgeführten, wurden unter einer Argon-Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Die Reaktionsgefäße wurden zunächst mit frisch hergestellten CaCl₂-Trockenrohren verschlossen. Da diese aber offensichtlich Spuren von H₂O durchlassen, wurden die Reaktionsgefäße im späteren Verlauf der Polymerisationsversuche (dort angegeben) mit gut gefetteten und durch elastische Stahlfedern (ermöglichen Druckausgleich) gesicherten Glasstopfen verschlossen.

4.7.1 Polymerisation von L-Alanin-, D,L-Alanin- und Sarkosin-NCA mit Benzylamin bzw. n-Hexylamin (Tabelle 3.1.1 bis 3.1.4)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 20 mmol (2.3 g) NCA eingewogen und in 20 ml des entsprechenden trockenen Lösungsmittels (1,4-Dioxan, Dichlormethan oder DMF) gelöst. Die den jeweiligen M/I-Verhältnissen entsprechenden Initiator Mengen werden in Form einer 1-molaren Lösung in trockenem 1,4-Dioxan hinzugespritzt (1 ml, 0.5 ml, 0.25 ml für M/I = 20, 40, 80). Das Reaktionsgemisch wird durch Schütteln vermischt, mit einem CaCl₂-Trockenrohr verschlossen und 2 d bei 20 °C stengelassen. Anschließend wird der Kolbeninhalt in 100 ml Ethylacetat gegeben. Das Produkt wird abgesaugt und bei ca. 50 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

4.7.2 Synthese telecheler Polysarkosinblöcke und anschließende Kettenverlängerungsreaktion (Tabelle 3.2.1 bis 3.2.2)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 20 mmol (2.3 g) Sarkosin-NCA eingewogen und in 20 ml trockenem NMP bzw. DMSO gelöst. Im Fall des Initiators 1,12-Dodekandiamin enthalten die 20 ml NMP bereits 0.5 mmol Initiator. Der Initiator 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridekan wird in Form einer 1-molaren Lösung in trockenem NMP eingespritzt (0.5 ml). Das Reaktionsgemisch wird durch Schütteln vermischt, mit einem CaCl₂-Trockenrohr verschlossen und 4 d bei 20 °C stengelassen. Anschließend wird der Kolbeninhalt in 100 ml Ethylacetat gegeben. Das Produkt wird abgesaugt und bei ca. 50 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

Für die Kettenverlängerungsversuche werden die Reaktionsansätze nach 4 d mit 0.5 mmol der entsprechenden Kupplungsreagenzien (MDI (125 mg), Sebacinsäurebisimidazolid (151 mg), Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester (198 mg)) unter Rühren versetzt. Nach der in den Tabellen angegebenen Reaktionszeit bei entsprechender Temperatur werden die Reaktionsansätze in 100 ml Diethylether ausgefällt. Das Produkt wird abgesaugt und bei ca. 50 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

Der Versuch in NMP mit 4,7,10-Trioxa-1,13-tridekandiamin und MDI wurde wiederholt (Nr. 32a), aber vor dem Ausfällen in Diethylether mit 1 mmol (1 ml einer 1-molaren Lösung in trockenem NMP) Propylamin versetzt und noch einen Tag stengelassen.

4.7.3 Polymerisation von L- und D,L-Phenylalanin-NCA mit Benzylamin, n-Hexylamin und Anilin (Tabelle 3.3.1 bis 3.3.4)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 16 mmol L- bzw. D,L-Phenylalanin-NCA eingewogen und in 20 ml des entsprechenden trockenen Lösungsmittels gelöst. Die Initiatoren werden in der den M/I-Verhältnissen entsprechenden Menge in Form einer 1-molaren Lösung in trockenem 1,4-Dioxan eingespritzt (0.4 ml, 0.2 ml für M/I = 40, 80) und durch Schütteln vermischt. Die Erlenmeyerkolben werden durch frisch hergestellte CaCl₂-Trockenrohre verschlossen und unter den angegebenen Reaktionsbedingungen stehengelassen. Anschließend werden die Reaktionsansätze in 100 ml Diethylether ausgefällt. Das Produkt wird abgesaugt und im Vakuumtrockenschrank bei ca. 60 °C getrocknet.

4.7.4 Polymerisation von Valin und Leucin-NCA mit n-Hexylamin und Anilin (Tabelle 3.3.5 bis 3.3.7)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen und in 10 ml des entsprechenden trockenen Lösungsmittels gelöst. Die Initiatoren werden in der den M/I-Verhältnissen entsprechenden Menge in Form einer 0.5-molaren Lösung in trockenem 1,4-Dioxan eingespritzt (0.5 ml M/I = 40) und durch Schütteln vermischt. Die Erlenmeyerkolben werden durch frisch hergestellte CaCl₂-Trockenrohre verschlossen und unter den angegebenen Reaktionsbedingungen stehengelassen. Anschließend werden die Reaktionsansätze in 100 ml Diethylether ausgefällt. Die Produkte werden abgesaugt und im Vakuumtrockenschrank bei ca. 60 °C getrocknet.

4.7.5 Lösungsmittel-induzierte Polymerisation von L-Alanin-, Sarkosin-, L- und D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin-, D,L-Leucin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA (Tabelle 3.4.1 bis 3.4.4)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen und in 10 ml des entsprechenden trockenen Lösungsmittels gelöst. Die Erlenmeyerkolben werden mit gut gefetteten und durch Stahlfedern gesicherten Glasstopfen verschlossen. Nach der in den Tabellen angegebenen Reaktionszeit bei der entsprechenden Temperatur werden die Reaktionsansätze in ca. 100 ml Methanol/Diethylether (1:9) ausgefällt. Die Produkte werden abgesaugt und bei ca. 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

4.7.6 *Imidazol-induzierte Polymerisation von L- und D,L-Phenylalanin-, L- und D,L-Valin- und L- und D,L-Leucin-NCA (Tabelle 3.5.1)*

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen. Das NCA wird zunächst in 10 ml des entsprechenden trockenen Lösungsmittels gelöst, dann werden 0.25 ml Initiatorlösung (1M in 1,4-Dioxan) eingespritzt. Die Erlenmeyerkolben werden durch frisch hergestellte CaCl₂-Trockenrohre verschlossen und unter den angegebenen Reaktionsbedingungen stehengelassen. Anschließend werden die Produkte in 100 ml Diethylether ausgefällt, abgesaugt und im Vakuumtrockenschrank bei ca. 60 °C getrocknet.

4.7.7 *Imidazol-induzierte Polymerisation von L-Alanin-, Sarkosin-, D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin-, D,L-Leucin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA in 1,4-Dioxan (Tabelle 3.5.2 bis 3.5.8)*

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen. Das NCA wird zunächst in trockenem 1,4-Dioxan gelöst, dann wird die Initiatorlösung (1M in 1,4-Dioxan) in der entsprechenden Menge eingespritzt. Für M/I = 1 wurde das NCA in 10 ml Initiatorlösung gelöst. Die folgende Tabelle zeigt die den M/I-Verhältnissen entsprechend verwendeten Mengen an Lösungsmittel und Initiatorlösung.

M/I-Verhältnis	1,4-Dioxan [ml]	Initiatorlösung [ml]
1	-	10
3	6.7	3.3
10	9.0	1.0
40	10	0.25

Die Erlenmeyerkolben werden durch CaCl₂-Trockenrohre bzw. mit gut gefetteten und durch Stahlfedern gesicherten Glasstopfen verschlossen und bei 60 °C für die angegebene Reaktionszeit temperiert. Anschließend werden die Produkte in ca. 100 ml Diethylether bzw. Methanol/Diethylether (1:9) ausgefällt, im Wasserstrahlpumpenvakuum abgesaugt und bei ca. 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

4.7.8 Polymerisation von Alanin-, Sarkosin-, D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin-, D,L-Leucin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA in Pyridin bzw. γ -Picolin (Tabelle 3.6.1 bis 3.6.6)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen und in 10 ml trockenem Pyridin bzw. γ -Picolin gelöst. Die Erlenmeyerkolben werden durch frisch hergestellte CaCl_2 -Trockenrohre bzw. mit gut gefetteten und durch Stahlfedern gesicherten Glasstopfen verschlossen und 4 d bei 20 °C stehengelassen. Danach werden die Ansätze in ca. 100 ml Diethylether ausgefällt. Die Produkte werden bei ca. 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

4.7.9 4-DMAP-, Pyridin- und γ -Picolin- induzierte Polymerisation von Alanin-, Sarkosin-, D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA in 1,4-Dioxan bzw. Dichlormethan (Tabelle 3.6.1 bis 3.6.5)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen und in 10 ml trockenem Lösungsmittel gelöst. 4-DMAP wird als 0.5-molare Lösung in 1,4-Dioxan eingespritzt. Pyridin und γ -Picolin werden direkt in die Lösung eingewogen. Das Reaktionsgemisch wird durch Schütteln durchmischt und der Erlenmeyerkolben mit einem frisch hergestellten CaCl_2 -Trockenrohr bzw. mit einem gut gefetteten und durch Stahlfedern gesicherten Glasstopfen verschlossen. Die Reaktionsansätze werden für die angegebene Reaktionszeit bei 20 °C stehengelassen und dann in ca. 100 ml Diethylether ausgefällt. Die Produkte werden bei ca. 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

4.7.10 Polymerisation von L-Alanin-, D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin-, D,L-Leucin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA mit N-Ethyldiisopropylamin und N-Methylmorpholin in 1,4-Dioxan (Tabelle 3.6.7 bis 3.6.8)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen und in 10 ml trockenem 1,4-Dioxan gelöst. N-Ethyldiisopropylamin bzw. N-Methylmorpholin werden als 1-molare Lösung in 1,4-Dioxan eingespritzt (0.25 ml). Das Reaktionsgemisch wird durch Schütteln durchmischt und mit einem gut gefetteten und durch Stahlfedern gesicherten Glasstopfen verschlossen. Die Reaktionsansätze werden für die angegebene Reaktionszeit bei 20 °C stehengelassen und dann in ca. 100 ml Methanol/Diethylether (1:9) ausgefällt. Die Produkte werden bei ca. 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

4.7.11 Thermisch induzierte Polymerisation von L-Alanin-, Sarkosin-, D,L-Phenylalanin-, D,L-Valin- und D,L-Leucin-NCA (Tabelle 3.7.1)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben wird unter Argon 1 g NCA eingewogen. Der Erlenmeyerkolben wird mit einem gut gefetteten und durch eine Stahlfeder gesicherten Glasstopfen verschlossen und für 12 h bei 120 °C temperiert.

4.7.12 Polymerisation von D,L-Alanin-, Phenylalanin-, Valin- und Leucin-NCA in wässriger Lösung (Tabelle 3.8.1 bis 3.8.3)

In einen 50-ml-Erlenmeyerkolben werden unter Argon 10 mmol NCA eingewogen. Das NCA wird in 12.5 ml wässriger Lösung suspendiert (D,L-Alanin-NCA wird gelöst). Als wässrige Lösung wurde Wasser, 10 %ige CaCl₂-Lösung und 10 %ige MgCl₂-Lösung verwendet. Nach Rühren für einen Tag bei 60 °C werden die Produkte abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Im Fall von Alanin-NCA wird das Wasser am Rotationsverdampfer entfernt. Die Produkte werden bei ca. 60 °C im Vakuumtrockenschrank getrocknet.

5 Zusammenfassungen

5.1 Zusammenfassung der Dissertation

In den letzten Jahren ist ein stetig steigendes Interesse an biologisch abbaubaren bzw. biokompatiblen Polymeren festzustellen. Zu dieser Gruppe von Polymeren gehören auch die Polypeptide, für die vielfältige Anwendungsgebiete im biotechnologischen und biomedizinischen Bereich wie z.B. künstliche Gewebe oder "Drug-Delivery-Systeme" bestehen.

Die einfachste und seit Mitte des 20. Jh. am häufigsten verwendete Methode zur Herstellung von hochmolekularen Polypeptiden ist die Polymerisation von α -Aminosäure-NCAs. Dabei wird das große Potential dieser Methode durch die Präsenz von Nebenreaktionen limitiert, die zu breiten Molekulargewichtsverteilungen führen, unerwünschte Endgruppen hervorbringen und die Synthese von reinen definierten Blockcopolymeren verhindern. In der Vergangenheit mangelte es teilweise an leistungsfähigen Analysemethoden, um alle Reaktionen bei den Polymerisationen aufzuklären und das Produktspektrum charakterisieren zu können. Durch die MALDI-TOF-Massenspektrometrie steht heute jedoch eine Methode zur Verfügung, die einen tieferen Einblick in die Vorgänge erlaubt.

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene Polymerisationssysteme vor allem mit Hilfe der MALDI-TOF-Massenspektrometrie hinsichtlich der Produkte und Nebenprodukte zu untersuchen, um daraus Rückschlüsse auf die Reaktionen ziehen zu können.

Zunächst wurde die durch primäre Amine initiierte Polymerisation von NCAs untersucht. Die Benzylamin-initiierte Polymerisation der drei isomeren NCAs von L-Alanin, D,L-Alanin und Sarkosin in CH_2Cl_2 , 1,4-Dioxan und DMF bei Raumtemperatur ergab, dass die Reaktion hauptsächlich nach dem Amin-Mechanismus abläuft, und sich die durchschnittlichen Polymerisationsgrade relativ gut über das Monomer/Initiator-Verhältnis kontrollieren lassen. In CH_2Cl_2 und 1,4-Dioxan finden keine Nebenreaktionen statt, während es in DMF hingegen bei den Polyalaninen zu einem nucleophilen Angriff der primären Aminogruppe auf das DMF kommt. Unter Bildung einer Formamid-Endgruppe wird Dimethylamin freigesetzt, das ebenfalls eine Polymerisation initiiert. Hieraus resultieren niedrigere Viskositäten. Es konnte weiterhin ein Einfluss der Sekundärstrukturen und der Löslichkeit des Polymers auf die Molmassenverteilung nachgewiesen werden. Das gut lösliche Polysarkosin liefert enge Molekulargewichtsverteilungen, während beim Poly-L-alanin breite Molekulargewichtsverteilungen auftreten. Hier führt die geringe Löslichkeit und die Bildung von β -Faltblattstrukturen zu einer breiten Verteilung der Reaktivitäten der Amino-Endgruppen,

die eine breite Verteilung der Wachstumsraten und damit auch der Molekulargewichte zur Folge hat.

In weiterführenden Untersuchungen wurden die NCAs von Phenylalanin, Valin und Leucin mit den primären Aminen Benzylamin, n-Hexylamin und Anilin in verschiedenen Lösungsmitteln polymerisiert. Bei diesen Polymerisationen bestätigten sich die Erkenntnisse bezüglich der Beziehung zwischen Löslichkeit des Polypeptids und Breite der Molekulargewichtsverteilung sowie der Nebenreaktion mit DMF. Bei langsamen Polymerisationen, wie z.B. bei den Anilin-initiierten, wurde beobachtet, dass Spuren von Wasser erfolgreich mit dem Initiator konkurrieren können. Zusätzlich konnten bei Polymerisationen in NMP, DMSO und DMF zyklische Peptide als Nebenprodukte identifiziert werden, deren Anteil bei den Poly-D,L-Phenylalaninen am größten war. Das Auftreten der Zyklopeptide war sehr überraschend, da eine Spaltung der Peptidbindung durch "back-biting" ausgeschlossen werden konnte. Vielmehr muss eine Reaktion mit dem Lösungsmittel stattfinden, aus der die Zyklopeptide resultieren.

Die Möglichkeit der Lösungsmittel-induzierten Polymerisation wurde für verschiedene Lösungsmittel und NCAs untersucht. Dabei konnte für NMP, DMSO und DMF tatsächlich eine Reaktion mit den NCAs nachgewiesen werden, in deren Folge die Polymerisation der NCAs eingeleitet wurde. Die Produkte dieser Polymerisationen bestanden bei Feuchtigkeitsausschluss nahezu ausschließlich aus zyklischen Oligo- und Polypeptiden. Aus diesen Ergebnissen konnte ein zwitterionischer Polymerisationsmechanismus entwickelt werden. Es erfolgt zunächst ein nucleophiler Angriff des Lösungsmittels auf das NCA. Unter Aufspaltung der Anhydridgruppe wird dabei ein Zwitterion gebildet, das über die Carbamatgruppe eine anionische Polymerisation einleiten kann. Bei diesem zwitterionischen Mechanismus können jedoch auch Kondensationsreaktionen stattfinden. Die Molekulargewichtsverteilungen deuten jedoch eher auf eine Kettenwachstumskinetik hin. Die Zyklisierung der zwitterionischen Ketten erweist sich in diesem Fall als eine sehr effiziente Abbruchreaktion. Die Lösungsmittel-initiierte Polymerisation von NCAs bietet also potentiell eine Möglichkeit, gezielt Zyklopeptide herstellen zu können.

Aufgrund der Abwesenheit von Nebenreaktionen bei der durch primäre Amine initiierten Polymerisation von Sarkosin-NCA wurde dieses gewählt, um daraus mit zwei verschiedenen Diaminen telechele Polysarkosinblöcke zu synthetisieren. Hierbei ließen sich die durchschnittlichen Polymerisationsgrade ebenfalls gut über das Monomer/Initiator-Verhältnis einstellen, und es konnten keine Nebenreaktionen detektiert werden. Anschließend sollte die Kettenverlängerung dieser Blöcke durch Polykondensation bzw. Polyaddition mit verschiedenen Kupplungsreagenzien (MDI, Sebacinsäurebisimidazolid und Sebacinsäure-bis-(N-hydroxysuccinimid)-ester) untersucht werden. Eine signifikante Kettenverlängerung konnte jedoch nicht beobachtet werden. Unabhängig vom Kupplungsreagenz war kein oder nur ein geringer Anstieg der Lösungsviskositäten festzustellen, obwohl sich in den ¹H-NMR-

Spektren vollständige Umsätze des Kupplungsreagenz und ein 1:1-Verhältnis von Initiator zu Kupplungsreagenz identifizieren ließen. Eine Erklärung ergab sich aus den Massenspektren der Produkte. Dort waren in allen Produkten nur zyklische Polysarkosine nachzuweisen, wobei die Zyklisierung größtenteils bereits nach der Einführung der ersten Einheit des Kupplungsreagenz stattfand. Der Ursprung der unerwartet hohen Zyklisierungstendenz ist nicht bekannt. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass die cis/trans-Isomerie der Amidbindung in den Polysarkosinen eine Rolle dabei spielt.

Im vierten Teil der Arbeit sollte eine Synthesestrategie gefunden werden, bei der eine kinetisch kontrollierte ROP automatisch in eine kinetisch kontrollierte Polykondensation transformiert wird, die wegen der Konkurrenz von Zyklisierung und Kettenwachstum zyklische Oligomere und Polymere liefern sollte. Realisiert wurde dieses Synthesekonzept durch die in 1,4-Dioxan durchgeführte Polymerisation verschiedener NCAs mit Imidazol. In fast allen Fällen konnte ein Anteil an Zylopeptiden detektiert werden, der teilweise sogar im Bereich von 95 % oder höher lag. Die Polymerisationen von D,L-Phenylalanin führten zu einem besonders hohen Anteil an Zylopeptiden. Bei schwerlöslichen Polymeren wie z.B. Poly-L-alanin, die zusätzlich β -Faltblattstrukturen bilden, fallen die Produkte in einem frühen Polymerisationsstadium aus dem Reaktionsgemisch aus. Kondensationsschritte werden dadurch behindert und es liegen zum Schluss noch lineare Ketten mit reaktiven Imidazolidgruppen vor. Durch Methanolyse konnten hieraus Methylestergruppen erzeugt werden, die auch im Massenspektrum und $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu identifizieren waren. Die Untersuchungen zeigen, dass mit diesem Synthesekonzept die Herstellung von Zylopeptiden mit hohen Ausbeuten möglich ist.

Im fünften Teil der Arbeit wurde die durch tertiäre Amine initiierte Polymerisation von NCAs hinsichtlich der entstehenden Produkte untersucht. Dabei wurden wegen der unterschiedlichen Nucleophilie/Basizitäts-Verhältnisse Pyridine und Trialkylamine getrennt behandelt. Für die Pyridine (Pyridin, γ -Picolin und DMAP), die entweder pur oder in 1,4-Dioxan eingesetzt wurden, wurde ein zwitterionischer Polymerisationsmechanismus erwartet, in dessen Folge ein hoher Anteil von Zylopeptiden auftreten sollte. In den meisten Fällen konnten auch zyklische Peptide detektiert werden. Ein hoher Anteil war jedoch nur bei den Polymerisationen von D,L-Phenylalanin- und γ -O-Bzl-L-glutamat-NCA zu verzeichnen. Als Hauptprodukt konnten in den meisten Fällen Wasser-terminierte Ketten identifiziert werden. Durch Methanolyse wurde teilweise die difunktionelle Kettenstruktur nachgewiesen. Es ist jedoch auch anzunehmen, dass bei langsamen Polymerisationen Spuren von Wasser zur Hydrolyse der difunktionellen Ketten während der Reaktion bzw. zur Konkurrenz mit dem Initiator führen. Die höchsten Molekulargewichte wurden mit Pyridin selbst erreicht. Ein weiteres detektiertes Nebenprodukt, das eine um 44 Da höhere Masse als die Zylopeptide besitzt, deutet darauf hin, dass die Pyridine auch basisch reagieren und eine Polymerisation nach dem Mechanismus der aktivierten Monomere (AMM)

einleiten. In diesem Fall lässt sich das Erscheinen dieses Produkts plausibel erklären. Bei den Trialkylaminen wurde die Polymerisation mit N-Ethyl-diisopropylamin und N-Methylmorpholin in 1,4-Dioxan untersucht. Beim Poly-L-alanin und Poly-(γ -O-bzl-L-glutamat) wurden sehr hohe Molekulargewichte erreicht. Von den Polymerisationen wurde ein Ablauf nach dem AMM angenommen, bei dem aufgrund der difunktionellen Ketten zyklische Peptide entstehen sollten. Die Ergebnisse zeigen recht unterschiedliche Zyklisierungstendenzen für die verschiedenen NCAs und Amine, wobei die Zyklisierungstendenz bei den N-Methylmorpholin-initiierten Polymerisationen deutlich geringer war. Bei der Polymerisation von D,L-Phenylalanin-NCA mit N-Ethyl-diisopropylamin konnten ausschließlich zyklische Peptide detektiert werden, während ihr Anteil bei der analogen Polymerisation von L-Alanin-NCA nur gering war. Beim Poly-L-alanin tritt eine Immobilisierung der Ketten durch Ausfallen aus dem Reaktionsgemisch und Bildung von β -Faltblattstrukturen auf, wodurch Zyklisierungen behindert werden. Die difunktionellen Ketten konnten bei einigen Polymerisationen durch Methanolyse nachgewiesen werden. Die Polymerisation von Sarkosin-NCA liefert ausschließlich Wasser-terminierte Ketten, bei denen die Initiierung wahrscheinlich durch Spuren von Wasser stattgefunden hat. Die Trialkylamine sind also nicht in der Lage, einen zwitterionischen Mechanismus einzuleiten. Eine weitere Zyklisierungsreaktion, die beim AMM möglich ist, liefert Hydantoinsäuren, deren Masse um 44 Da höher als die der Zyklopeptide ist. Solche Massen konnten bei den durch Trialkylamine initiierten Polymerisationen häufig detektiert werden. Im Vergleich zu den Lösungsmittel-initiierten Polymerisationen können mit tertiären Aminen für die meisten NCAs deutlich geringere Zyklisierungstendenzen festgestellt werden.

Im sechsten Teil der Arbeit wurden thermische Polymerisationen von NCAs untersucht. Diese Polymerisationen liefern niedrige und schwer zu kontrollierende Molekulargewichte. Als Polymerisationsmechanismen wurden in der Literatur der *zwitterionische* und der *Isocyanat-Mechanismus* vorgeschlagen. Die Polymerisationen in dieser Arbeit liefern Produkte, die hauptsächlich durch Zyklisierungen also Abbruchreaktionen entstanden sind. Diese hohe Neigung zu intramolekularen Reaktionen hat einen limitierenden Effekt auf das Molekulargewicht. Neben Massen, die denen von Zyklopeptiden entsprechen, konnten auch solche in den Massenspektren detektiert werden, die auf Hydantoinsäuren schließen lassen. Diese Struktur wurde auch durch Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren mit denen von geeigneten Vergleichssubstanzen bestätigt. Diese Produkte lassen sich nur durch das Konzept des Isocyanat-Mechanismus erklären.

Im letzten Teil dieser Arbeit wurden Polymerisationen von NCAs in Wasser und wässrigen Salzlösungen von MgCl_2 und CaCl_2 untersucht. Hierbei konnte hinsichtlich des Produktspektrums kein besonderer Einfluss der Salzlösungen gegenüber reinem Wasser festgestellt werden. Als Hauptprodukt traten wie erwartet die Wasser-terminierten Ketten auf. Daneben konnte jedoch in nahezu allen Experimenten eine unbekannte Verteilung detektiert werden, deren Massen um 38 Da über den Massen

der Wasser-terminierten Ketten liegen. Ein interessantes Ergebnis ist, dass bei den Polyphenylalaninen geringe Mengen an zyklischen Peptiden identifiziert werden konnten. Die Polymerisation läuft hier offensichtlich nicht rein nach dem Amin-Mechanismus ab.

Die Ergebnisse der Untersuchungen dieser Arbeit zeigen, dass bei Polymerisationen, die durch primäre Amine initiiert werden, Nebenreaktionen relativ gut vermieden werden können. Verlaufen die Polymerisationen hingegen über difunktionelle Ketten, dann spielen besonders Zyklisierungen eine bedeutende Rolle als Nebenreaktion. Die höchste Zyklisierungstendenz konnte in dieser Arbeit im Allgemeinen bei den Polymerisationen von D,L-Phenylalanin-NCA beobachtet werden.

5.2 Summary

Over the last years the interest in biodegradable or biocompatible polymers has raised again the interest in synthetic polypeptides, and thus, the interest in polymerization of α -amino acid anhydrides. The high potential of this method has been limited by the presence of side reactions which lead to broad molecular weight distributions and unwanted end groups and prevent the syntheses of defined block copolymers. These side reactions could not all be identified in the past because the analytical methods were not sensitive or reliable enough. With the MALDI-TOF mass spectrometry a powerful analytical method is now available to detect minor side reactions.

The aim of this work has been to investigate or reinvestigate several polymerization systems and if possible to identify the reaction paths by characterizing the products, mainly with the MALDI-TOF mass spectrometry.

The primary amine initiated polymerizations of Sar-NCA or Ala-NCA showed that the reaction path mainly obeys the amine mechanism. No side reactions occurred if the polymerization was conducted in CH_2Cl_2 or in dioxane. On the other hand a side reaction between the growing chain and the solvent does take place if the polymerization of alanine-NCA is conducted in DMF. The nucleophilic attack of the primary amino end group forms "dead" formamide end groups and dimethylamine which itself reacts as initiator. Furthermore, the influence of secondary structure and solubility in the reaction media could be demonstrated. The perfectly soluble polysarcosine yielded narrow frequency distributions. By contrast, the poly(L-alanine) which is insoluble in all reaction media gave broad frequency distributions resembling those of polycondensates. The coexistence of soluble and precipitated oligomers of β -sheet and α -helix secondary structures is believed to generate a broad distribution of propagation rates which lead to a broad frequency distribution. The primary amine initiated polymerizations of Phe-NCA, Val-NCA and Leu-NCA confirm the perceptions

above but provided two more results. Firstly, if the reactions are slow like aromatic amine initiated polymerizations, traces of water can compete with the initiator. Secondly, if the polymerizations were conducted in NMP, DMSO or DMF, cyclic polypeptides could often be detected. The latter finding was surprising because "back-biting" could be excluded, and cyclic polypeptides could only be detected in these solvents. Obviously, these by-products must be the result of a reaction between NCA and solvent.

The possibility of a solvent-induced polymerization has been investigated for several NCAs and solvents. A reaction between solvent and NCA which leads to cyclic polypeptides has indeed been observed in the case of NMP, DMSO and DMF. The solvents with the highest nucleophilicity and donicity proved to be the best catalysts. On account of these results the mechanistic concept of a zwitterionic polymerization could be developed. The solvent reacts as nucleophil and electron donor and generates a zwitterionic species as reactive intermediate. The reaction path can either obey an anionic ring-opening polymerization or condensation steps of the zwitterions. The frequency distributions reflected in the MALDI-TOF mass spectra suggest that the majority of the propagation steps result from anionic ring-opening polymerization. Particularly characteristic for the solvent-induced polymerization is the formation of cyclic oligo- and polypeptides which may reach 100 % under water-free conditions.

Because of the absence of side reactions Sar-NCA was chosen to synthesize telechelic polysarcosines with two different primary amines. These difunctional polysarcosine blocks were reacted with three different coupling agents (MDI, N-hydroxysuccin imide sebacate and sebacoyl-bis-imidazolide) in two different solvents. Although the ¹H-NMR-spectra proved high conversions, only negligible chain extension was observed. The MALDI-TOF mass spectra indicated nearly quantitative cyclization. This effect did not depend much on the coupling agent and was observed in two different reaction media. A perfect explanation for this unusually high cyclization tendency cannot be offered at this time but it is obvious that the cis-trans isomerism of the amide groups plays an important role.

The purpose of the fourth part of this work was to realize a novel synthetic concept, namely to find a kinetically controlled ring-opening polymerization which transforms itself automatically into a kinetically controlled polycondensation. Because of the competition of cyclization and propagation the products of such a reaction should be cyclic oligo- and polypeptides. This concept was realized with imidazole initiated polymerizations of NCAs in dioxane. Most of the products contained cyclic oligo- and polypeptides which result from end-to-end cyclization. In several cases the cyclopeptides were the only products. However, despite intensive drying of all components, initiation by traces of water was observed in most experiments. Due to early precipitation of the oligopeptides and due to the formation of secondary structures like β -sheets, some of the polypeptides, for instance poly(L-alanine), were immobile

which hinders cyclization. In these cases the polymerization mainly yields difunctional peptides with imidazolide end groups. The imidazolide groups were reacted with methanol forming methylester end groups which could be detected in the MALDI-TOF mass spectra.

The fifth part of this work deals with the investigations of tertiary amine initiated polymerizations. The catalysts were divided into pyridines and trialkylamines. In the case of pyridines (pyridine, γ -picoline and DMAP) a zwitterion mechanism was expected which would yield large amounts of cyclopeptides. Indeed, most isolated products contained a fraction of cyclopeptides. But this fraction was only significant in the case of D,L-Phe-NCA and γ -O-Bzl-L-Glu-NCA. Usually the main product consisted of water initiated chains. In the case of slow polymerizations water could have competed with the initiator or hydrolyzed the difunctional chains. The existence of difunctional peptide chains has been proved in some cases by reaction with methanol. The highest molecular weights were obtained by using pyridine itself. The detection of a further product which contains an additional mass of 44 Da to the mass of the repeating units indicates another polymerization mechanism, the activated monomer mechanism (AMM). It seems that the pyridines also react as bases and not only as nucleophiles. The use of trialkylamines (N-ethyl-diisopropylamine and N-methylmorpholine) yielded products with high molecular weights in the case of L-Ala-NCA and γ -O-Bzl-L-Glu-NCA. The AMM was assumed as polymerization mechanism which should make possible intramolecular reactions like cyclization. The results displayed different cyclization tendencies for the NCAs and initiators. The use of N-methylmorpholine yielded lower fractions of cyclopeptides than the use of N-ethyl-diisopropylamine. The polymerization of D,L-Phe-NCA with N-ethyl-diisopropylamine yielded only cyclic oligo- and polypeptides, whereas the analogous polymerization of L-Ala-NCA yielded mainly water initiated chains. In the latter case secondary structures, early precipitation and association of the peptide chains hinders cyclization. The difunctional chains have been proved in some cases by reaction with methanol. The absence of cyclopolysarcosines indicates that the trialkylamines cannot react as nucleophiles. The polymerization of Sar-NCA has obviously been initiated by traces of water. If the AMM is accepted, a possible cyclization reaction of the difunctional chains can form hydantoic acids. The mass spectra of many trialkylamines initiated polypeptides displayed the corresponding signals with an additional mass of 44 Da to the mass of the repeating units. The tertiary amine initiated polymerizations yielded significantly lower fractions of cyclopeptides compared with the solvent-induced polymerizations of NCAs which obeyed a zwitterion mechanism.

The thermal polymerizations of NCAs which were investigated for several NCAs in this work lead to relative low molecular weights which were difficult to control. As mechanistic concepts the zwitterion and the isocyanate mechanism have been proposed so far. The isolated peptides in this work mainly contained products which

were formed by cyclization. The high tendency for intramolecular reactions is responsible for the limited molecular weights of the obtained products. In the MALDI-TOF mass spectra two different distributions of masses were mainly detected. One of them corresponds to cyclic polypeptides, the other one correlates with the masses of hydantoic acids. The structure of the latter products was confirmed by comparing their ^{13}C -NMR spectra with the ones of model compounds. The formation of such hydantoic acids is only compatible with the existence of the isocyanate mechanism.

The last part of this work deals with the polymerization of NCAs in water and solutions of MgCl_2 and CaCl_2 in water. Concerning the products there was no difference between the different reaction media. In all experiments the main product consisted of water initiated chains. But in most mass spectra an unknown product was also detected. The masses of these products were 38 Da higher than the masses of the water initiated chains. An interesting result was the identification of cyclic peptides in the case of Phe-NCA. Obviously, the amine mechanism is not the only type of reaction.

The results of this work show that it is possible to avoid side reactions in the case of primary amine initiated polymerizations of NCAs. On the other hand, if the polymerization mechanism contains difunctional peptide chains as intermediates, intramolecular reactions such as cyclization play an important role. On the whole, the highest cyclization tendency in this work has been observed for the polymerization of D,L-Phe-NCA.

6 Literaturverzeichnis

- [1] H.F. Mark, *Naturwissenschaften* **67**, 477 (1980)
- [2] R. Mülhaupt, *Nachr. Chem. Tech.* **47**, 413 (1999)
- [3] H. Staudinger, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **53**, 1073 (1920)
- [4] H. Staudinger, J. Fritsch, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **57**, 1203 (1924)
- [5] H. Staudinger, *"Die hochmolekularen organischen Verbindungen, Kautschuk und Cellulose"*, J. Springer, Berlin 1932
- [6] G. Zaby, *Kunststoffe* **91**, 238 (2001)
- [7] N. Nießer, *Kunststoffe* **88**, 874-880 (1998)
- [8] M.D. Lechner, K. Gehrke, E.H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie*, 2. Auflage, Birkhäuser Verlag, Basel, **1996**, 480-499
- [9] Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL), Schriftenreihe Umwelt Nr. 271, Bern, (1996)
- [10] K.Vorspohl, I. Sartorius, *Kunststoffe* **93**, 57 (2003)
- [11] E. Grigat, W. Littek, W. Schulz-Schlitte, *Kunststoffe* **87**, 628 (1997)
- [12] E. Schröter, *Kunststoffe* **88**, 888 (1998)
- [13] R. Reiß, *Research* **4**, 20 (1990)
- [14] A.-C. Albertsson, S. Karlsson, *Acta Polymer.* **46**, 114 (1995)
- [15] M. Balsam, P. Barghoorn, U. Stebani, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **47**, 203 (1999)
- [16] E. Grigat, K. Salewski, R. Timmermann, R. Koch, *Kunststoffe* **87**, 63 (1997)
- [17] G. Rafler, J. Dahlmann, *Acta Polymer.* **41**, 611 (1990)
- [18] M. Vert, *Angew. Makromol. Chem.* **166/167**, 155 (1989)
- [19] R. Narayan, *Kunststoffe* **79**, 1022 (1989)
- [20] F. Reckert, *Kunststoffe* **92**, 78 (2002)
- [21] A. Steinbüchel, M. Obst, *Biomacromolecules* **5**, 1166 (2004)
- [22] *"The Age of New Plastics"*, Study Committee for the Practical Use of Biodegradable Plastics, Japan March 1995
- [23] R. W. Lenz, "Biodegradable Polymers" in *Adv. Polymer Sci.*, (Eds.: N. A. Peppas, R. S. Langer), **107**, 3 (1993)
- [24] W. Babel, V. Riis, E. Hainich, *Plaste Kautsch.* **37**, 109 (1990)
- [25] Y. Doi, *"Microbial Polyesters"*, VCH, Weinheim, (1990)
- [26] S. Vanionpää, P. Rokkanen, P. Tormälä, *Progress in Polym. Sci.* **14**, 679 (1989)
- [27] Y. Ikada, H. Tsuji, *Macromol. Chem. Rapid Commun.* **21**, 117 (2000)
- [28] T. Hayashi, *Prog. Polym. Sci.*, **19** (4), 663 (1994)
- [29] *"Polyamino Acids, Polypeptides and Proteins"*, M. A. Stahmann, Ed., The University of Wisconsin Press, Madison, WI, USA 1962
- [30] A. G. Walton, J. Blackwell, *Biopolymers*, Academic, Boston, MA, London 1973.

- [31] Ch. M. Deber, V. J. Hruby, K. D. Kopple, "*Peptides*", Pierce Chem. Co., Rockford, IL, USA 1985
- [32] T. J. Deming, *Nature* **390**, 386 (1997)
- [33] T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 4240 (1998)
- [34] T. J. Deming, *Macromolecules* **82**, 4500 (1999)
- [35] K. Brzezinska, S. A. Curtin, T. J. Deming, *Macromolecules* **35**, 2970 (2002)
- [36] J. Yang, K. Zhao, Y. Gong, A. Vologodskii, N. R. Kallenbach, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 10646 (1998)
- [37] H. R. Kricheldorf, K. Hauser, *Biomacromolecules* **2**, 1110 (2001)
- [38] C. Branden, J. Tooze, "*Introduction to Protein Structure*", Garland, New York, 1991
- [39] D. P. Mobley, "*Plastics from Microbes*", Hanser/Gardner, Cincinnati 1994
- [40] C. Viney, S. T. Case, J. H. Waite, *Biomolecular Materials*, Mater. Res. Soc. Symp. Proc., Vol. 292, 1992
- [41] D. Kaplan, W. W. Adams, B. Farmer, C. Viney, *Silk Polymers*, ACS Symp. Ser., Vol. 544, 1994
- [42] T. J. Deming, *Adv. Mater.* **9**, 299 (1997)
- [43] T. J. Deming, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **38**, 3011 (2000)
- [44] G. S. Kwon, M. Naito, K. Kataoka, M. Yokoyama, Y. Sakurai, T. Okano, *Colloids Surf B* **2**, 429 (1994)
- [45] E. R. Welsh, D. A. Tirrell, *Biomacromolecules* **1**, 23 (2000)
- [46] A. Noshay, J. E. McGrath, *Block Copolymers*, Academic Press, New York 1977
- [47] K. R. Sidman, A. D. Schwoppe, W. D. Steber, S. E. Rudolph, S. B. Poulin, *J. Membr. Sci.* **7**, 277 (1980)
- [48] T. J. Deming, S. A. Curtin, *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 7427 (1999)
- [49] J. G. Tirrell, M. J. Fournier, T. L. Mason, D. A. Tirrell, *Chem. Eng. News* **72**, 40 (1994)
- [50] C. Viney, S. T. Case, J. H. Waite, *Biomolecular Materials*, Mater. Res. Soc. Symp. Proc., 292 (1992)
- [51] T. J. Deming, *Nature* **417**, 424 (2002)
- [52] T. Okano, "*Biorelated Polymers and Gels*", Academic, San Diego 1998
- [53] R. Dagani, *Chem Eng News* **75** **23**, 26 (1997)
- [54] N. A. Peppas, Y. Huang, M. Torres-Lugo, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2**, 9 (2000)
- [55] M. Yuan, Y. Wang, *Macromolecules* **33**, 1613 (2000)
- [56] S. J. Holland, B. J. Tighe, P. L. Gould, *J. Controlled Release* **4**, 155 (1986)
- [57] F. Lu, X. Xiong, Z. Li, F. Du, B. Zhang, F. Li, *Bioconjugate Chem.* **13**, 1159 (2002)

- [58] K. R. Carter, R. Richter, H. R. Kricheldorf, J. L. Hedrick, *Macromolecules* **30**, 6074 (1997)
- [59] H. R. Kricheldorf, K. Hauser, *Macromolecules* **31**, 614 (1998)
- [60] A. Thünemann, *Macromolecules* **33**, 5906 (2000)
- [61] S. Caillol, S. Lecommandoux, A. Mingotaud, M. Schappacher, A. Soum, N. Bryson, R. Meyrueix, *Macromolecules* **36**, 1118 (2003)
- [62] M. Gotsche, H. Keul, H. Höcker, *Macromol. Chem. Phys.* **196**, 3891 (1995)
- [63] J. Nah, Y. Jeong, C. Cho, *Bull. Korean Chem. Soc.* **21**, 383 (2000)
- [64] D. Barrera, E. Zylstra, P. T. Lansbury, R. Langer, *Macromolecules* **28**, 425 (1995)
- [65] J. S. Hrkach, J. Ou, N. Lotan, R. Langer, *Macromolecules* **28**, 4736 (1995)
- [66] Ph. Degee, R. Dubios, R. Jerome, P. Teyssie, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **31**, 275 (1993)
- [67] A. Harada, K. Kataoka, *Macromolecules* **28**, 5294 (1995)
- [68] N. Kröger, R. Deutzmann, M. Sumper, *M. Science* **286**, 1129 (1999)
- [69] J. Cha, G. D. Stucky, D. E. Morse, T. J. Deming, *Nature* **403**, 289 (2000)
- [70] T. Kratzmüller, D. Appelhans, H.-G. Braun, *Adv. Mater.* **11**, 555 (1999)
- [71] S. Mann, *Nature* **332**, 119 (1988)
- [72] L. Addadi, S. Weiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 4110 (1985)
- [73] A. M. Belcher, X. H. Wu, R. J. Christensen, P. K. Hansma, G. D. Stucky, D. E. Morse, *Nature* **381**, 56 (1996)
- [74] M. Maeda, Y. Tsuzaki, K. Nakano, M. Tagaki, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1529 (1990)
- [75] Y. Ito, Y. Ochiai, Y. Park, Y. Imanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 1619 (1997)
- [76] R. A. Williams, H. W. Blanch, *Biosensors and Bioelectronics* **9**, 159 (1994)
- [77] J. Rodriguez-Hernandez, M. Gatti, H.-A. Klok, *Biomacromolecules* **4**, 249 (2003)
- [78] S.-E. Stiriba, H. Frey, R. Haag, *Angew. Chem., Int. Ed.* **41**, 1329 (2002)
- [79] M. Ohsaki, T. Okuda, A. Wada, T. Hirayama, T. Niidome, H. Aoyagi, *Bioconjugate Chem.* **13**, 510 (2002)
- [80] J. S. Choi, D. K. Joo, C. H. Kim, K. Kim, J. S. Park, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 474 (2000)
- [81] M. Yu, J. Hwang, T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 5825 (1999)
- [82] K. J. Coyne, X.-X. Qin, J. H. Waite, *Science* **277**, 1830 (1997)
- [83] J. H. Waite, M. L. Tanzer, *Science* **212**, 1038 (1981)
- [84] D. Voet, J. G. Voet, "Biochemistry", Wiley, New York 1990
- [85] M. A. Hillmyer et al., *Science* **271**, 976 (1996)
- [86] M. W. Matsen, F. S. Bates, *Macromolecules* **29**, 7641 (1996)

- [87] M. Yu, T. J. Deming, *Macromolecules* **31**, 4739 (1998)
- [88] C. H. Bamford, A. Elliot, W. E. Hanby, "*Synthetic Polypeptides*", Academic, New York 1956
- [89] H.-A. Klok, J. F. Langenwalter, S. Lecommandoux, *Macromolecules* **33**, 7819 (2000)
- [90] H.-A. Klok, J. Rodriguez-Hernandez, S. Becker, K. Müllen, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **39**, 1572 (2001)
- [91] A. J. Williams, *J. Phys. Chem. B* **105**, 5223 (2001)
- [92] F. Cardinaux, J. C. Howard, G. T. Taylor, H. A. Scheraga, *Biopolymers* **16**, 2005 (1997)
- [93] F. Cardinaux, J. C. Howard, H. A. Scheraga, *Biopolymers* **16**, 2029 (1997)
- [94] W. B. Gratzer, P. A. Doty, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 1193 (1963)
- [95] K. Inoue et al., *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 10783 (1994)
- [96] S. Kubota, G. D. Fasman, *Biopolymers* **14**, 605 (1975)
- [97] "*Poly α -Amino Acids*", G. Fasman, Ed., Marcel Dekker Inc., New York 1967
- [98] G. Fasman, "*Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation*", Plenum Press, New York 1989
- [99] D. A. Tirrell, M. J. Fournier, T. L. Mason, *MRS Bull.* **16**, 23 (1991)
- [100] K. P. McGrath, D. A. Tirrell, M. Kawai, M. J. Fournier, T. L. Mason, *Biotechnol. Prog.* **6**, 188 (1990)
- [101] W. A. Petka, J. L. Harden, K. P. McGrath, D. Wirtz, D. A. Tirrell, *Science* **281**, 389 (1998)
- [102] C. Wang, R. J. Stewart, J. Kopecek, *Nature* **397**, 417 (1999)
- [103] H. Block, "*Poly(γ -benzyl-L-glutamate) and other Glutamic Acid Containing Polymers*", Gordon and Breach, London 1983
- [104] H. R. Kricheldorf, " *α -Amino Acid-N-Carboxyanhydrides and Related Heterocycles*", Springer, Berlin, New York 1987
- [105] H. R. Kricheldorf, "*Models of Biopolymers by Ring-Opening Polymerization*", S. Penczek, Ed., CRC Press Inc., Boca Raton, FL 1990
- [106] M. Bodanzsky, A. Bodanzsky, "*Practice of Peptide Synthesis*", 2nd ed., Springer, New York 1994
- [107] E. Wunsch, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **10**, 786 (1971)
- [108] R. B. Woodward, C. H. Schramm, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 1551 (1947)
- [109] M. Idelson, E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 3948 (1957)
- [110] M. Idelson, E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 2387 (1958)
- [111] R. D. Lundberg, P. Doty, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 3961 (1957)
- [112] T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 2759 (1997)
- [113] H. Sekiguchi, *Pure Appl. Chem.* **53**, 1689 (1981)

- [114] H. Sekiguchi, G. Froyer, *J. Polym. Sci. Symp.* **52**, 157 (1975)
- [115] H. Leuchs, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **39**, 857 (1906)
- [116] H. Leuchs, W. Mannasse, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **40**, 3235 (1907)
- [117] H. Leuchs, W. Geiger, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **41**, 1721 (1908)
- [118] M. Bergmann et al., *J. Biol. Chem.* **111**, 245 (1935)
- [119] K. Poduska et al., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **94**, 527 (1961)
- [120] D. Ben-Ishai, E. Katchalski, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 3688 (1952)
- [121] M. Green, M.A. Stahmann, *J. Biol. Chem.* **197**, 771 (1952)
- [122] F. Fuchs, *Chem. Ber.* **55**, 2943 (1922)
- [123] C. J. Brown, D. Coleman, A.C. Farthing, *Nature* **163**, 834 (1949)
- [124] A.C. Farthing, R. Reynolds, *Ibid.* **165**, 647 (1950)
- [125] A.C. Farthing, *J. Chem. Soc.* , 3213 (1950)
- [126] D. Coleman, A.C. Farthing, *Ibid.*, 3218 (1951)
- [127] D. Coleman, *Ibid.*, 3222 (1950)
- [128] A.L. Levy, *Nature* **165**, 152 (1950)
- [129] Y. Iwakura, K. Uno, S. Kang, *J. Org. Chem.* **30**, 1158 (1965)
- [130] W. Dvornich, H.E. Alburn, *J. Org. Chem.* **29**, 3719 (1964)
- [131] M. Oya, R. Katakai, H. Nakai, Y. Iwakura, *Chem. Letter*, 1143 (1973)
- [132] R. Katakai, Y. Iizuka, *J. Org. Chem.* **50**, 715 (1985)
- [133] H. Eckert, B. Forster, *Angew. Chem.* **99**, 922 (1987)
- [134] W. H. Daly, D. Poche, *Tetrahedron Lett.* **29**, 5859 (1988)
- [135] R. Wilder, S. Mobashery, *J. Org. Chem.* **57**, 2755 (1992)
- [136] H.R. Kricheldorf, *Chem. Ber.* **104**, 3146 (1971)
- [137] D.G.H. Ballard, C.H. Bamford, *Ibid.* **236**, 384 (1956)
- [138] D.G.H. Ballard, C.H. Bamford, *J. Chem. Soc.*, 1039 (1959)
- [139] H. Block, C.H. Bamford, *Ibid.*, 4989 (1961)
- [140] F.D. Williams, R.D. Brown, *Makromol. Chem.* **169**, 191 (1971)
- [141] Y. Imanishi, A. Aoyama, Y. Hashimoto, T. Higashimura, *Biopolymers* **16**, 187 (1977)
- [142] M.M. El-Sabbah, H.G. Elias, *Makromol. Chem.* **182**, 1617 (1981)
- [143] Y. Shalitin, E. Katchalski, *Ibid.* **82**, 1630 (1960)
- [144] A. Cosani, G.D. Este, E. Peggion, E. Scoffone, *Biopolymers* **4**, 595 (1965)
- [145] H.R. Kricheldorf, *Makromol. Chem.* **178**, 1951 (1977)
- [146] E.R. Blout, R.H. Karlson, *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 941 (1956)
- [147] C.H. Bamford, H. Block, *J. Chem. Soc.*, 4492 (1961)
- [148] C.H. Bamford, H. Block, A.C.P. Pugh, *Ibid.*, 2057 (1961)
- [149] A. Cosani, A. Portolan, E. Peggion, E. Scoffone, *Biopolymers* **4**, 695 (1966)
- [150] H.R. Kricheldorf, *J. Polym. Sci.-Chem.* **A17**, 97 (1979)

- [151] D.G.H. Ballard, C.H. Bramford, F.J. Weymouth, *Nature* **174**, 173 (1954)
- [152] M. Goodman, V. Arnon, *Biopolymers* **1**, 500 (1963)
- [153] M. Goodman, J. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 3524 (1965)
- [154] T. Tsurata, *Makromol. Chem.* **63**, 219 (1963)
- [155] K. Matsuura, S. Inoue, *Ibid.* **80**, 149 (1964)
- [156] K. Matsuura, S. Inoue, *Ibid.* **103**, 140 (1967)
- [157] T. Marino, S. Inoue, *Ibid.* **131**, 147 (1970)
- [158] S. Freirich, D. Gertner, *Eur. Polym. J.* **10**, 439 (1974)
- [159] S. Yamashita, H. Tani, *Macromolecules* **7**, 406 (1974)
- [160] F. Wessely, *Z. Physiol. Chem.* **146**, 72 (1925)
- [161] F. Wessely, F. Sigmund, *Ibid.* **159**, 102 (1926)
- [162] F. Wessely, K. Riedel, K. Tuppy, *Monatsh. Chem.* **81**, 861 (1950)
- [163] F. Wessely, M. John, *Z. Physiol. Chem.* **170**, 38 (1927)
- [164] F. Wessely, K. Schlögl, G. Korger, *Monatsh. Chem.* **82**, 671 (1951)
- [165] S.G. Waley, J. Watson, *Proc. R. Soc. Ser. A*, **199**, 499 (1949)
- [166] D. Thuning, J. Semen, H.G. Elias, *Makromol. Chem.* **178**, 603 (1977)
- [167] K.D. Kopple, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 6442 (1957)
- [168] C. Seeney, J. Harwood, *J. Macromol. Sci. Chem.* **9**, 779 (1975)
- [169] H. R. Kricheldorf, *Makromol. Chem.* **178**, 1959 (1977)
- [170] H.R. Kricheldorf, M. Fehrle, *Chem. Ber.* **107**, 3533 (1974)
- [171] H.R. Kricheldorf, *Makromol. Chem.* **178**, 905 (1977)
- [172] D.G.H. Ballard, C.H. Bamford, *J. Chem. Soc. (London)*, 381 (1956)
- [173] T. Wieland, *Angew. Chem.* **63**, 7 (1951)
- [174] H.R. Kricheldorf, *Makromol. Chem.* **180**, 2387 (1979)
- [175] H.R. Kricheldorf et al., *Biopolymers* **22**, 1357 (1983)
- [176] H.R. Kricheldorf et al., *Makromol. Chem.* **184**, 1407 (1983)
- [177] H.R. Kricheldorf et al., *Biopolymers* **24**, 2113 (1985)
- [178] F.A. Bovey, J.J. Ryan, F.P.Hood, *Macromolecules* **1**, 305 (1968)
- [179] H.R. Kricheldorf et al., *Biopolymers* **16**, 1609 (1977)
- [180] H. Maurer, "Immunological Studies with synthetic Polypeptides" in "Polyamino Acids, Polypeptides and Proteins" (M.A. Stahmann, ed.) Univ. of Wisconsin Press, Madison, Kapitel 35 (1962)
- [181] H.A. Staab, *Angew. Chem.* **74**, 407 (1962)
- [182] H.R. Kricheldorf, M. Richter, A. Steinmann, G. Schwarz, *Macromol. Chem. Phys.* **204**, 646 (2003)
- [183] H.R. Kricheldorf, M. Richter, G. Schwarz, *J.M.S. - Pure Appl. Chem.*, in press
- [184] M. Sisido et al., *Macromolecules* **9**, 316 (1976)
- [185] M. Sisido, Y. Imanishi, T. Higashimura, *Macromolecules* **9**, 320 (1976)

- [186] M. Sisido, H. Tagaki, Y. Imanishi, T. Higashimura, *Macromolecules* **10**, 125 (1977)
- [187] H.R. Kricheldorf, G. Schilling, *Macromol. Chem.* **178**, 3115 (1977)
- [188] H.R. Kricheldorf, W.E. Hull, V. Formacek, *Biopolymers* **16**, 1609 (1977)
- [189] H. Collet, C. Bied, L. Mion, J. Taillades, A. Commeyras, *Tetrahedron Letters* **37**, 9043 (1996)
- [190] J. Taillades, I. Beuzelin, L. Garrel, V. Tabacik, C. Bied, A. Commeyras, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* **28**, 61 (1998)
- [191] A. Commeyras et al., *Polym. Int.* **51**, 661 (2002)
- [192] L. Boiteau, H. Collet, O. Lagrille, J. Taillades, W. Vayaboury, O. Giari, E. Schue, A. Commeyras, *Polym. Int.* **51**, 1037 (2002)
- [193] J. Taillades, H. Collet, L. Garrel, I. Beuzelin, L. Boiteau, H. Choukroun, A. Commeyras, *J. Mol. Evol.* **48**, 638 (1999)
- [194] H.R. Kricheldorf, G. Schwarz, *Macromol. Rapid Commun.* (2003)
- [195] A. Patchornik, M. Sela, E. Katchalski, *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 299 (1954)
- [196] O. Bayer, *Angew. Chem.* **59**, 265 (1947)
- [197] P. Baudet, M. Calin, E. Cherbulicz, *Helv. Chim. Acta* **48**, 2005 (1965)
- [198] A. Lindemann, N.H. Khan, K. Hofmann, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 476 (1952)
- [199] A. Brack, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* **14**, 229 (1984)
- [200] A. Brack, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* **17**, 367 (1987)
- [201] D.E. McClure, P.K. Lumma, B. H. Arison, J.H. Jones, J.J. Baldwin, *J. Org. Chem.* **48**, 2675 (1983)
- [202] H.R. Kricheldorf, *Chem. Ber.* **103**, 3359 (1970)
- [203] K. Hauser, Dissertation Hamburg (2000)
- [204] H.R. Kricheldorf, *Makromol Chem.* **175**, 3325 (1974)
- [205] H.R. Kricheldorf, *Chem. Ber.* **104**, 87 (1971)
- [206] J. Bailey, *J. Chem. Soc.*, 3464 (1950)
- [207] M. Sela, A. Berger, *J. Am. Chem. Soc.*, 1893 (1955)
- [208] J. Halstrom et al., *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **355**, 82 (1974)
- [209] Hanby et al., *J. Chem. Soc.*, 3009 (1950)
- [210] Yuki et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **29**, 654 (1956)
- [211] S. Guttmann, R.A. Boissonnas, *Helv.* **41**, 1852 (1958)
- [212] J. Meier-Haack, Dissertation Hamburg (1992)

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbst durchgeführt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Hamburg, im Januar 2005

Lebenslauf

Name: Colin v. Lossow
Geburtstag und -ort: 2. November 1972 in Köln
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: verheiratet, eine Tochter

Schulbildung

1979 - 1983 Grundschole Holm-Seppensen
1983 - 1985 Orientierungsstufe in Buchholz i.d.N.
1985 - 1993 Gymnasium am Kattenberge in Buchholz i.d.N.

Hochschulausbildung

10/1993 Beginn des Studiums der Chemie an der Universität Hamburg
04/1995 Grundwehrdienst
04/1996 Fortsetzung des Studiums der Chemie an der Universität Hamburg
05/2001 Diplomarbeit am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. H. R. Kricheldorf mit dem Titel: "Synthesen funktionalisierter Oligolactone"
02/2002 Ernennung zum Dipl.-Chemiker
04/2002 Beginn der Promotion am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie im Arbeitskreis von Prof. Dr. H. R. Kricheldorf

Beschäftigungsverhältnisse

11/1997 - 07/2001 Studentische Hilfskraft am Institut für Organische Chemie und am Institut für Physikalische Chemie
04/2002 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Technische und Makromolekulare Chemie der Universität Hamburg

Besondere Kenntnisse und Fähigkeiten

Sprachen: Englisch: sehr gute Kenntnisse, Französisch: gute Kenntnisse
EDV: MS-Office, Beilstein, SciFinder, Origin, Sigma Plot, ChemWin, ACD etc.
Wirtschaft: Seit 10/2002 Zusatzstudium der Betriebswirtschaft an der Fernuniversität Hagen