



Eine skalierbare Synthese sequenzdefinierter Makromoleküle mit hohen Ausbeuten

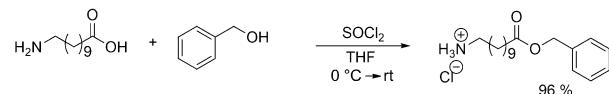
Susanne C. Solleder, Deniz Zengel, Katharina S. Wetzel und Michael A. R. Meier*

Abstract: Hier wird ein effizienter Ansatz zur Synthese eines sequenzdefinierten Decamers, dessen Selbstmetathese sowie die Charakterisierung der erhaltenen Makromoleküle beschrieben. Zu diesem Zweck wurde ein monogeschütztes AB-Monomer synthetisiert und in einer Decamersynthese angewendet. Das erhaltene Decamer wurde durch iterative Verwendung der Passerini-Dreikomponenten-Reaktion (P-3CR) mit anschließender Entschüttung hergestellt und trägt zehn unterschiedliche, wählbare Seitenketten. Dieser hocheffiziente Syntheseansatz ermöglichte exzellente Ausbeuten sowie die Synthese von perfekt sequenzdefinierten Makromolekülen im Multigramm-Maßstab. Am Ende der Synthese wurde ein Olefin als Seitenkette eingeführt, das eine Selbstmetathese-Reaktion des Decamers und damit die Synthese eines sequenzdefinierten 20-mers mit einem Molekulargewicht von 7046.40 g mol⁻¹ ermöglichte. Die erhaltenen Oligomere wurden vollständig mittels NMR- und IR-Spektroskopie, GPC, GPC-ESI-MS und Massenspektrometrie (FAB- und Orbitrap-ESI-MS) charakterisiert.

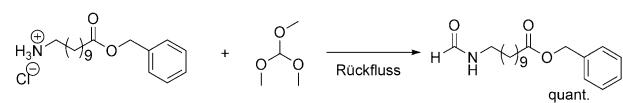
In den vergangenen Jahren sind sequenzkontrollierte und sequenzdefinierte Polymere in den Fokus von Wissenschaftlern auf der ganzen Welt gerückt. Dies hat zu enormen Fortschritten in der Synthese von sequenzkontrollierten Polymeren geführt und ermöglicht das Einstellen von Materialeigenschaften und dreidimensionalen Strukturen je nach verwendeter Monomersequenz.^[1] Darüber hinaus wird der Einsatz sequenzdefinierter Polymere als Katalysatoren oder als Datenspeichermedien diskutiert.^[2] Die etablierten Syntheseansätze kann man dabei in drei Untergruppen unterteilen, die auf Kettenwachstum, auf Templatansätzen oder auf stufenweisen Synthesen beruhen.^[2a,3] Die Kettenwachstumsansätze beruhen auf kontrollierten (lebenden) Polymerisationen und führen zu sequenzkontrollierten Polymeren. Diese Ansätze profitieren von simplen Eintopfreaktionen, jedoch führt die statistische Natur dieser Polymerisationen zu Kettenlängenverteilungen sowie zu einer Verteilung der in der Kette platzierten funktionellen Gruppen.^[4] Zur Synthese von monodispersen sequenzdefinierten Polymeren müssen templatgestützte oder stufenweise Synthesen in Betracht ge-

zogen werden. Zwar sind Templatansätze oder der Einsatz von molekularen Maschinen elegant, allerdings ergibt sich dabei der Nachteil, dass die Produkte nur im Milligramm-Maßstab erhalten werden, was zu einer eingeschränkten Anwendbarkeit der erhaltenen Makromoleküle führt.^[3a,5] Außerdem werden stufenweise Synthesen meist an einer (löslichen) festen Phase durchgeführt, was die Synthese sowie die Aufarbeitung erleichtert und beschleunigt, aber die Ansatzgröße begrenzt.^[6] Andererseits sind einige Flüssigphasenansätze bekannt, die auch größere Ansätze ermöglichen.^[7] Dabei sind hohe Ausbeuten in jedem Reaktionsschritt un-

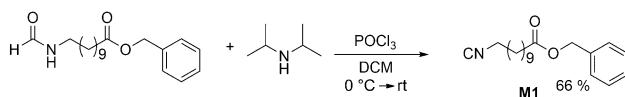
1) Synthese des Benzylesters:



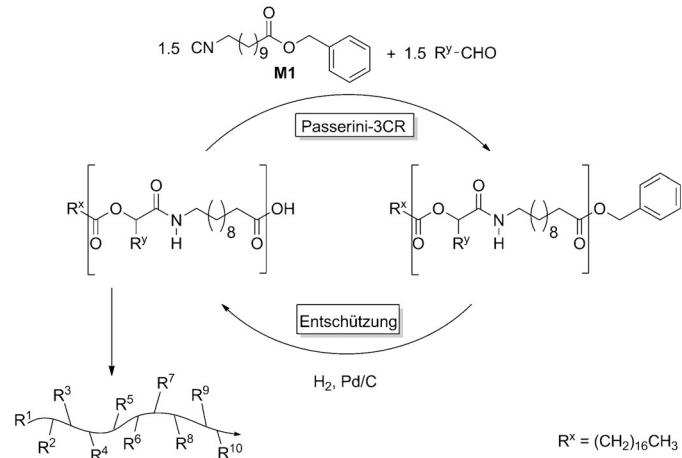
2) Synthese des Formamids:



3) Synthese des Isocyanids:



Schema 1. Dreistufige Synthese des monogeschützten AB-Monomers M1, das ein Isocyanid und eine Benzylester-geschützte Carbonsäurefunktion trägt. DCM = Dichlormethan.



Schema 2. Strategie zur Synthese sequenzdefinierter Makromoleküle, bei der das monogeschützte Monomer M1 zum Einsatz kommt.

[*] S. C. Solleder, D. Zengel, K. S. Wetzel, Prof. Dr. M. A. R. Meier
Institut für Organische Chemie
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
Fritz-Haber-Weg 6, 76131 Karlsruhe (Deutschland)
E-Mail: m.a.r.meier@kit.edu
Homepage: <http://www.meier-michael.com>

ⓘ Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (experimentelle Details und detaillierte Charakterisierung der Produkte) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201509398> zu finden.

abdingbar, um längere Sequenzen zu realisieren. Um sequenzdefinierte Makromoleküle für bestimmte Anwendungen, wie künstliche Enzyme, Katalysatoren oder aktive Substanzen in Medikamenten, zu synthetisieren, sind skalierbare Ansatzgrößen sowie hohe Gesamtausbeuten essenziell. Es gibt allerdings auch Anwendungen sequenzdefinierter Makromoleküle, z.B. als Datenspeichermedien, die nicht zwangsläufig große Ansätze benötigen.^[8]

Um hohe Ausbeuten sowie große Ansätze zu realisieren, wurde ein passendes Monomer entwickelt, das anschließend zur Synthese von sequenzdefinierten Oligomeren durch abwechselnde P-3CR und darauffolgende Entschützung verwendet wurde. Deshalb wurde ein Monomer synthetisiert, das eine Isocyanidgruppe sowie eine Benzylester-geschützte Carbonsäurefunktion trägt. Ein ähnliches Monomer kam bereits zur Synthese von Dendrimeren mithilfe der Ugi-Vierkomponenten-Reaktion (Ugi-4CR) zum Einsatz.^[9] Diese Kombination von funktionellen Gruppen ist unserer Ansicht nach die zweckmäßigste wegen der limitierten Lagerfähigkeit sowie der komplizierteren Synthese von Aldehyden auf der einen Seite und fehlender Schutzgruppenstrategien für Isocyanide auf der anderen Seite. Schema 1 gibt einen Überblick über die verwendeten Reaktionsbedingungen bei der Monomersynthese. Die Gesamtausbeute dieser im 15-Gramm-Maßstab durchgeführten, dreistufigen Synthese betrug 63 %. Dieses Syntheseverfahren ist selbstverständlich auch auf andere Aminosäurederivate anwendbar, wodurch das Oligomerrückgrat variiert werden kann, während die eingeführten Seitenketten weiterhin frei wählbar bleiben.

Anschließend wurde Monomer **M1** in der effizienten, iterativen Abfolge der P-3CR und einer Entschützung verwendet, um ein sequenzdefiniertes Decamer mit zehn unterschiedlichen Seitenketten zu synthetisieren (Schema 2). Die Isocyanidfunktion reagiert in einer P-3CR z.B. mit Stearinäure als Ausgangskomponente und mit einem Aldehyd. Das daraus erhaltene Produkt trägt eine Benzylestergruppe, die nach der Entschützung durch Hydrogenolyse mit einem heterogenen Pd/C-Katalysator und einfacher Filtration einen weiteren Zyklus aus einer P-3CR und einer Hydrogenolyse ermöglicht. Es ist hervorzuheben, dass die Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie nach der P-3CR mit steigender Kettenlänge einfacher wurde: Der Überschuss an Monomer **M1** und Aldehyd wurde mit unpolaren Elutionsmitteln zurückgewonnen, und anschließend wurde das Produkt durch polare Elutionsmittel auf einfache Weise isoliert. Durch die Verwendung unterschiedlicher Aldehyde in jeder Stufe war es möglich, zehn verschiedene Seitenketten gezielt am sequenzdefinierten Decamer anzubringen, darunter aliphatische, aromatische und olefinische Seitenketten (Abbildung 1, oben). Es muss jedoch erwähnt werden, dass die hydrogenolytische Entschützung des Benzylesters auch zu einer Reduktion von Olefinen führt. Daher müssen Olefine entweder am Ende der Sequenz eingeführt werden, durch eine Schutzgruppe geschützt sein oder weiter funktionalisiert werden, bevor mit der Hydrogenolyse fortgefahrene wird.

Die bei der Oligomersynthese erhaltenen Ausbeuten waren sehr hoch. Besonders gegenüber einer früher vorgestellten Synthesestrategie konnten die Ausbeuten beträchtlich gesteigert (Tabelle 1), und die Aufarbeitung konnte ver-

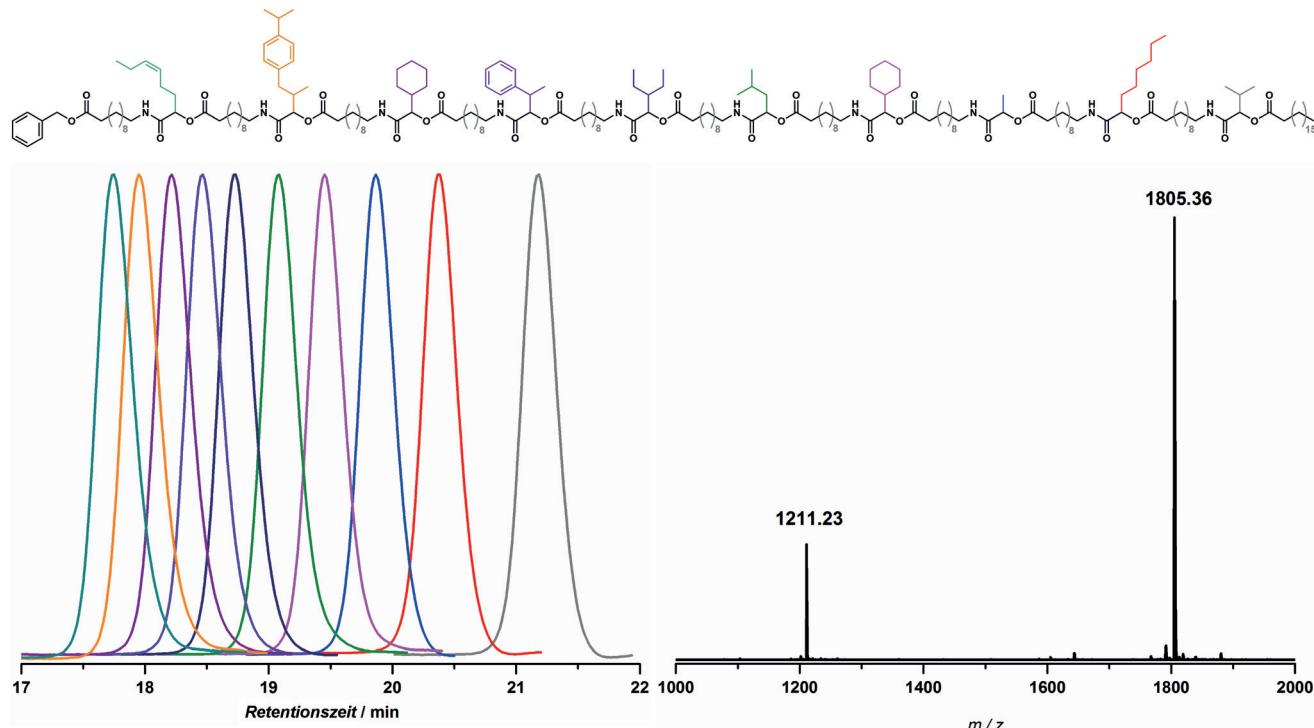


Abbildung 1. Oben: Struktur des sequenzdefinierten Decamers, das zehn unterschiedliche (aromatische, aliphatische und olefinische) Seitenketten trägt. Unten links: GPC-Kurven der erhaltenen Produkte nach jeder P-3CR. Unten rechts: ESI-MS-Spektrum des sequenzdefinierten Decamers. Die gezeigten Massen können den doppelt (m/z 1805.36) und dreifach (m/z 1211.23) geladenen Natriumionen zugeordnet werden.

Tabelle 1: Vergleich der Ausbeuten des publizierten Passerini/Thiol-En-Ansatzes^[7b] mit dem hier vorgestellten Monomeransatz.

Sequenz ^[a]	Passerini/ Thiol-En	Passerini/ Entschützung
1.	71 %	97 %
2.	73 %	96 %
3.	65 %	88 %
4.	65 %	90 %
5.	68 %	91 %
6.		92 %
7.		91 %
8.		92 %
9.		89 %
10.		95 %
Gesamtausb.	15 % (5-mer)	44 % (10-mer)

[a] Sequenz umfasst die Passerini-Reaktion und die Thiol-En-Addition oder Entschützung.

einfach werden.^[7b] Außerdem wird nur ein einziges Monomer verwendet, die Reaktionen können im Multigramm-Maßstab durchgeführt werden, und es sind keine Aktivierungsreagentien erforderlich. Daher ist dieses Syntheseverfahren vorteilhaft gegenüber anderen stufenweisen Synthesen, z. B. der schon lange etablierten Polypeptidsynthese.

Das sequenzdefinierte Decamer (Abbildung 1, oben) wurde in 19 Stufen in einer exzellenten Gesamtausbeute von 44 % gewonnen. Es muss hervorgehoben werden, dass die Reaktionen im Multigramm-Maßstab durchgeführt wurden, wobei letztendlich 2.4 g des Decamers synthetisiert werden konnten (Abbildung S4 in den Hintergrundinformationen). Dadurch werden in Zukunft die Synthese von sequenzdefinierten Makromolekülen für bestimmte Anwendungen und das Aufstellen von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen möglich sein. Die hohe Reinheit der erhaltenen Produkte wurde mittels GPC (Abbildung 1, unten links) und NMR-Spektro-

skopie nachgewiesen. Darüber hinaus wurden die Makromoleküle mit GPC-ESI-MS und Massenspektrometrie charakterisiert (siehe Hintergrundinformationen). Abbildung 1 (unten rechts) zeigt das erhaltene ESI-MS-Spektrum des sequenzdefinierten Decamers: Die zweifach (m/z 1805.36) und dreifach (m/z 1211.23) geladenen Natriumionen sind deutlich zu erkennen. Das erhaltene Isotopenmuster zeigt sehr gute Übereinstimmung mit dem berechneten, was die Struktur des erhaltenen Decamers bestätigt (Abbildung S2 in den Hintergrundinformationen). Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass kürzlich MS/MS-Techniken für einen postsynthetischen Nachweis der sequenzkontrollierten Strukturen angewendet werden konnten.^[10]

Um die Vielseitigkeit unserer Strategie zu betonen, wurde eine *cis*-Doppelbindung in der Seitenkette der zehnten Wiederholeinheit eingeführt, die eine weitere Funktionalisierung ermöglicht. Anschließend wurde die Selbstmetathese-Reaktion des sequenzdefinierten Decamers durchgeführt (Abbildung 2, links). Hierfür wurde der Hoveyda-Grubbs-Katalysator der zweiten Generation in Kombination mit *p*-Benzochinon verwendet, um mögliche Isomerisierungsreaktionen zu unterdrücken.^[11] Dabei wurde ein sequenzdefiniertes 20-mer in einer Ausbeute von 48 % und einer Gesamtausbeute von 21 % über 20 Stufen erhalten. Die GPC-Kurve des 20-mers zeigt eine deutlich verkürzte Retentionszeit wegen des signifikanten Molekulargewichtszuwachses (Abbildung 2, rechts). Auch hier wurde die hohe Reinheit des erhaltenen Produktes nachgewiesen. Um das erhaltene sequenzdefinierte 20-mer eingehender zu charakterisieren, wurde darüber hinaus eine GPC-ESI-MS-Analyse durchgeführt, deren Ergebnis in Abbildung 3 gezeigt ist. Dort sind das GPC-Chromatogramm sowie das Massenspektrum bei einer Retentionszeit von 13.56 min abgebildet. Das Massenspektrum zeigt die vierfach (m/z 1784.34), fünffach (m/z 1432.07) und sechsfach (m/z 1197.22) geladenen Natriumionen des se-

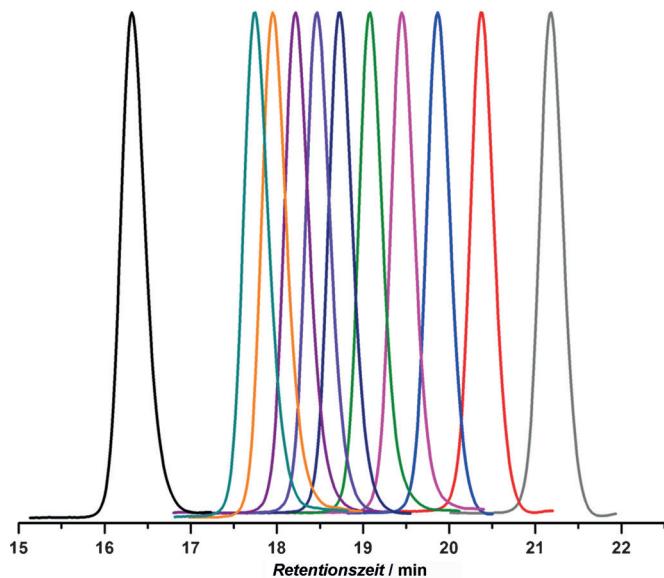
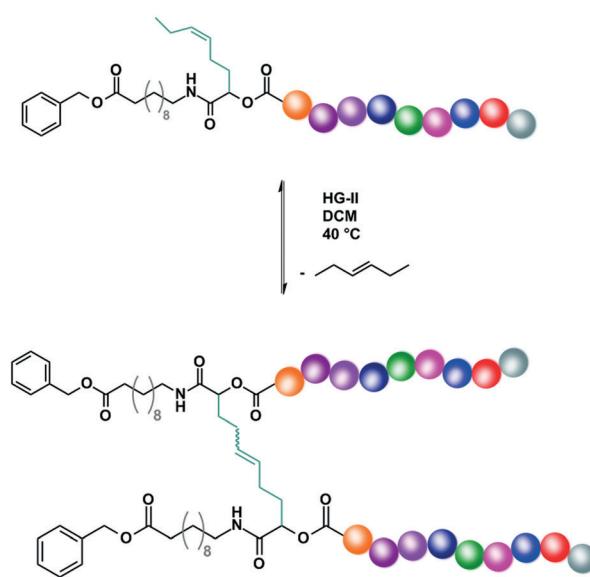


Abbildung 2. Links: Reaktionsgleichung der Selbstmetathese-Reaktion des sequenzdefinierten Decamers. Rechts: GPC-Kurven der erhaltenen Produkte, wobei das 20-mer eine deutlich verringerte Retentionszeit aufweist, was sich auf die beinahe Verdoppelung des Molekulargewichts zurückführen lässt. HG-II = Hoveyda-Grubbs-Katalysator der zweiten Generation.

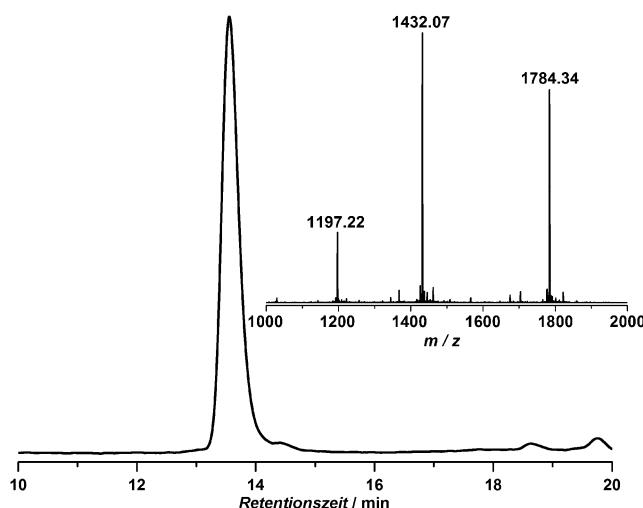


Abbildung 3. GPC-ESI-MS-Analyse des sequenzdefinierten 20-mers: Das GPC-Chromatogramm und das ESI-MS-Spektrum bei einer Retentionszeit von 13.56 min sind abgebildet. Die markierten Signale konnten den vierfach (m/z 1784.34), fünffach (m/z 1432.07) und sechsfach (m/z 1197.22) geladenen Natriumionen zugeordnet werden.

quenzdefinierten 20-mers. Außerdem wurde das Isotopenmuster des Spektrums analysiert, und es konnte gezeigt werden, dass es in guter Übereinstimmung mit dem berechneten Isotopenmuster ist, wodurch die chemische Struktur des erhaltenen Produktes ebenfalls bestätigt wird (siehe Abbildung S3 in den Hintergrundinformationen).

Zusammenfassend wurde eine einfache Strategie für die Synthese sequenzdefinierter Makromoleküle entwickelt, die hohe Ausbeuten sowie Reaktionen in großem Maßstab verspricht. Diese Synthesestrategie ermöglichte die Synthese von mehr als zwei Gramm eines sequenzdefinierten Decamers mit einem Molekulargewicht von $3565.28 \text{ g mol}^{-1}$. Des Weiteren wurden funktionelle Gruppen, z.B. eine Doppelbindung, eingeführt, die eine weitere Funktionalisierung erlaubten. Die Selbstmetathese-Reaktion des sequenzdefinierten Decamers führte zu einem sequenzdefinierten 20-mer mit einem Molekulargewicht von $7046.40 \text{ g mol}^{-1}$. Außerdem wurde die Reinheit der Produkte durch eingehende Charakterisierung mittels NMR-Spektroskopie, GPC, GPC-ESI-MS und Orbitrap-ESI-Massenspektrometrie nachgewiesen.

Danksagung

Wir danken Prof. Barner-Kowollik und seiner Gruppe für den Zugang zu ihrer GPC-ESI-MS-Ausstattung sowie der DFG im Rahmen der §91b-Bewerbung unter der Leitung von Prof. C. Barner-Kowollik für die Finanzierung des Orbitrap-Massenspektrometers. S.C.S. bedankt sich beim VCI für ein Doktorandenstipendium. Für finanzielle Unterstützung durch die DFG im Rahmen des Sonderforschungsbereiches

1176 (Projekt A3) möchten wir uns ebenfalls herzlich bedanken.

Stichwörter: Metathese · Mehrkomponenten-Reaktionen · Passerini-Reaktion · Polymere · Sequenzkontrolle

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1204–1207
Angew. Chem. **2016**, *128*, 1222–1225

- [1] A. M. Rosales, R. A. Segalman, R. N. Zuckermann, *Soft Matter* **2013**, *9*, 8400–8414.
- [2] a) J.-F. Lutz, M. Ouchi, D. R. Liu, M. Sawamoto, *Science* **2013**, *341*, 1238149; b) H. Colquhoun, J.-F. Lutz, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 455–456.
- [3] a) N. ten Brummelhuis, *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 654–667; b) T. T. Trinh, C. Laure, J.-F. Lutz, *Macromol. Chem. Phys.* **2015**, *216*, 1498–1506.
- [4] a) M. Zamfir, J.-F. Lutz, *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 2151; b) G. Gody, T. Maschmeyer, P. B. Zetterlund, S. Perrier, *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 3505; c) S. Srichan, H. Mutlu, N. Badi, J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 9231–9235; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 9385–9389.
- [5] a) B. Lewandowski, G. De Bo, J. W. Ward, M. Papmeyer, S. Kuschel, M. J. Aldegunde, P. M. E. Gramlich, D. Heckmann, S. M. Goldup, D. M. D'Souza, A. E. Fernandes, D. A. Leigh, *Science* **2013**, *339*, 189–193; b) D. M. Rosenbaum, D. R. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13924–13925; c) S. Ida, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14748–14750; d) M. L. McKee, P. J. Milnes, J. Bath, E. Stulz, A. J. Turberfield, R. K. O'Reilly, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7948–7951; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8120–8123.
- [6] a) P. Espeel, L. L. G. Carrette, K. Bury, S. Capenberghs, J. C. Martins, F. E. Du Prez, A. Madder, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13261–13264; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 13503–13506; b) M. Porel, C. A. Alabi, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 13162–13165; c) R. K. Roy, A. Meszynska, C. Laure, L. Charles, C. Verchin, J.-F. Lutz, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8237; d) A. A. Ouahabi, M. Kotera, L. Charles, J.-F. Lutz, *ACS Macro Lett.* **2015**, *4*, 1077–1080; e) T. T. Trinh, L. Oswald, D. Chan-Seng, L. Charles, J.-F. Lutz, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 11961–11965.
- [7] a) N. Zydziak, F. Feist, B. Huber, J. O. Mueller, C. Barner-Kowollik, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 1799–1802; b) S. C. Solleeder, M. A. R. Meier, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 711–714; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 729–732; c) S. C. Solleeder, K. S. Wetzel, M. A. R. Meier, *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 3201–3204; d) F. A. Leibfarth, J. A. Johnson, T. F. Jamison, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 10617–10622; e) J. C. Barnes, D. J. C. Ehrlich, A. X. Gao, F. A. Leibfarth, Y. Jiang, E. Zhou, T. F. Jamison, J. A. Johnson, *Nat. Chem.* **2015**, DOI: 10.1038/nchem.2346.
- [8] J.-F. Lutz, *Macromolecules* **2015**, *48*, 4759–4767.
- [9] L. A. Wessjohann, M. Henze, O. Kreye, D. G. Rivera, WO2011/134607A1, PCT EP 2011/001905, **2011**.
- [10] H. Mutlu, J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 13010–13019; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 13224–13233.
- [11] a) S. H. Hong, D. P. Sanders, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17160–17161; b) H. Mutlu, L. M. de Espinosa, M. A. R. Meier, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1404–1445.

Eingegangen am 8. Oktober 2015

Online veröffentlicht am 9. Dezember 2015