

Sequenzkontrolle in der Polymerchemie mithilfe der Passerini-Dreikomponentenreaktion**

Susanne C. Solleder und Michael A. R. Meier*

Abstract: In dieser Arbeit wird eine neue Strategie vorgestellt, die Sequenzkontrolle in der Polymerchemie ermöglicht. Der Ansatz basiert auf einer abwechselnden Verwendung der viel-seitigen Passerini-Dreikomponentenreaktion (P-3CR) und der effizienten Thiol-En-Addition. Zunächst wurde Stearinsäure als Ausgangsmaterial gewählt, um ein Tetramer mit einem Molekulargewicht von 1.6 kDa und genau definierter Monomerabfolge zu synthetisieren. Die Aufreinigung nach den einzelnen Reaktionsschritten kann stark vereinfacht werden, indem ein funktionales Polymer mit einer Säure-Endgruppe als Ausgangssubstanz gewählt wird. Die Produkte konnten durch einfaches Ausfällen erhalten werden, sodass in einer effizienten Synthese ein sequenzkontrolliertes Pentamer hergestellt werden konnte. In diesem neuen Ansatz kann auf den Einsatz von Schutzgruppen verzichtet werden, und darüber hinaus können unterschiedliche Seitenketten mühelos und an definierten Stellen in das Polymerrückgrat eingebaut werden.

Heutzutage gibt es eine Vielzahl an Methoden, um Makromoleküle mit definierter Architektur, definiertem Molekulargewicht und definierten Endgruppen herzustellen. Dabei ermöglichen kontrollierte radikalische Polymerisationen wie die RAFT-Polymerisation,^[1] die ATRP^[2] und die NMP^[3] die Synthese komplexer Polymerarchitekturen. Die Synthese von Polymeren mit einer genau definierten Monomerabfolge wird jedoch erst seit kurzem zunehmend untersucht.^[4] Die Entwicklung der Festphasen-Peptidsynthese im Jahr 1963 kann als wichtigster Meilenstein in der Synthese von sequenzkontrollierten Makromolekülen betrachtet werden.^[5] Außerdem hat sich die Festphasen-Oligonukleotidsynthese in der organischen Synthese etabliert.^[6] Des Weiteren sind einige Ansätze bekannt, die, inspiriert von der Biosynthese von DNA-Strängen, auf Basis eines DNA-Templates durchgeführt werden (DTS). So wurden zahlreiche DNA-Templat-basierte Reaktionen, wie nukleophile C-C-Knüpfungen,^[7] Wittig-Olefinierungen,^[8] reduktive Aminierungen^[8a] und 1,3-dipolare Cycloadditionen, beschrieben.^[9]

[*] S. C. Solleder, 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>

[**] Wir danken Prof. Barner-Kowollik (KIT) und seiner Gruppe für Zugang zu ihrer SEC-ESI-MS-Ausstattung sowie Prof. Luy (KIT) und seiner Gruppe für Diskussionen zur NMR-Spektroskopie. S.C.S. bedankt sich beim Verband der Chemischen Industrie (VCI) für ein Stipendium.

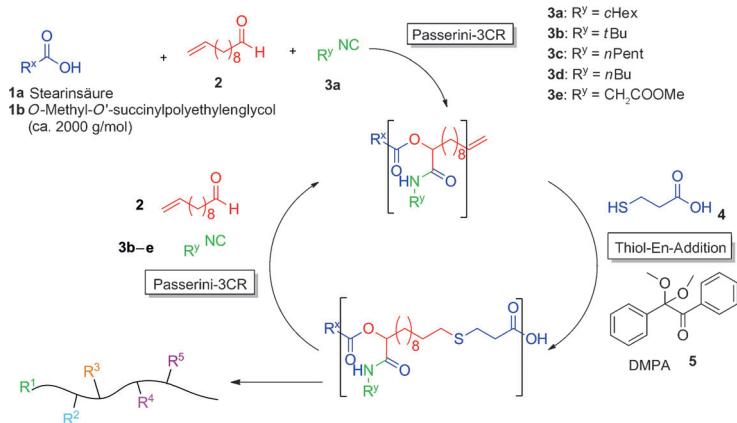
 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201308960> zu finden.

Die DTS-basierte Wittig-Olefinierung wurde durch schrittweise Zugabe unterschiedlicher Monomere auch zur Synthese von sequenzkontrollierten Oligomeren verwendet.^[8b] Darüber hinaus wurde die DTS in der Polymersynthese verwendet; Saito et al. oligomerisierten fünf DNA-Pentamere durch lichtinduzierte Cyclobutanring-Bildungen.^[10] Liu et al. berichteten von einem DNA-Templat-basierten Translationssystem, das die enzymfreie Translation von DNA-Templaten in sequenzkontrollierte synthetische Polymere ermöglicht.^[11] Die Arbeitsgruppe um Leigh beschrieb die Synthese von Peptiden mit definierter Sequenz, welche mithilfe einer Rotaxan-basierten molekularen Maschine synthetisiert wurden. In diesem Beispiel für eine DNA-freie Templatssynthese wächst die Peptidkette durch sukzessive native chemische Ligationsschritte.^[12]

Darüber hinaus sind weitere, nicht auf DNA basierende Templat-Ansätze,^[12,13] Stufenwachstumspolykondensationen^[14] und Kettenwachstumspolymerisationen beschrieben worden, die eine Sequenzkontrolle ermöglichen. Die Ansätze zur Sequenzkontrolle mithilfe von Kettenwachstumspolymerisationen basieren meist auf der hohen Kreuzwachstumsselektivität von Styrol mit Maleinsäureanhydriden^[15] oder mit Maleinimiden in radikalischen Polymerisationen.^[16] Unter Verwendung von kontrollierten/lebenden Polymerisationen ist es möglich, die Maleinimide an bestimmten Stellen der Polymerkette (am Kettenanfang, in der Mitte der Kette oder am Kettenende) einzubauen.^[16b,17] Aufgrund der Möglichkeit zur N-Substitution der Maleinimide können spezifische funktionelle Gruppen in die Polymerkette eingebaut werden. Außerdem ist es möglich, unterschiedliche Maleinimide nacheinander zum Polymerisationssystem zuzugeben um Polymere zu synthetisieren, die unterschiedliche substituierte Maleinimide im Polymerrückgrat tragen.^[16d] Es muss jedoch angemerkt werden, dass diese Polymere in einem statistisch ablaufenden Prozess entstehen und die Maleinimide daher nicht an einer absolut definierten Stelle in jeder Polymerkette eingebaut werden können. Darüber hinaus wachsen in diesem radikalischen Prozess viele Ketten gleichzeitig, wodurch es unvermeidbar ist, dass manche Ketten nicht funktionalisiert werden und andere mehrere funktionelle Gruppen tragen. Aufgrund dessen ist es notwendig, die zuvor erwähnten stufenweisen Ansätze zu verfolgen, um hoch definierte, sequenzkontrollierte Materialien herzustellen.

Unser neuer Ansatz basiert auf der effizienten Passerini-Reaktion (P-3CR). Mehrkomponentenreaktionen (MCR) sind bereits seit 1850 bekannt, als Strecker die Synthese von α -Aminonitrilen aus einem Aldehyd, Ammoniak und Blausäure beschrieb.^[18] Die Isocyanid-basierten Mehrkomponentenreaktionen (IMCRs) sind eine wichtige Untergruppe der

Mehrkomponentenreaktionen, wobei die wichtigsten Vertreter die P-3CR^[19] und die Ugi-4CR sind.^[20] Die P-3CR wurde 1921 entdeckt und ist eine Dreikomponentenreaktion einer Oxo-Komponente mit einer Carbonsäure und einem Isocyanid, die zu einem α -Hydroxyacylamid reagieren.^[19] Während MCRs in der organischen Synthese weit verbreitet sind,^[21] wurde ihr Potenzial in der Polymerchemie erst kürzlich entdeckt. 2011 entwickelte unsere Gruppe eine neue Passerini-Polymerisationsmethode, die durch den Einsatz von difunktionellen Carbonsäuren, difunktionellen Aldehyden und verschiedenen Isocyaniden zu Makromolekülen mit hohem Molekulargewicht führt.^[22] Erst kürzlich berichtete unsere Gruppe über die Synthese von Acrylat-Monomeren durch die P-3CR. Die nach der Polymerisation erhaltenen Materialien zeigten thermisch schaltbare Eigenschaften.^[23] Hier wird nun die Synthese eines sequenzkontrollierten Tetramers sowie die eines Blockcopolymers beschrieben, das einen sequenzkontrollierten Pentamer-Block enthält. Um dies zu erreichen, wurden orthogonale Reaktionen abwechselnd angewendet, um sequenzkontrollierte Makromoleküle schrittweise und ohne den Einsatz von Schutzgruppen zu synthetisieren. Die vielseitige P-3CR und die effiziente Thiol-En-Addition erwiesen sich dabei als leistungsstarke, orthogonale Kombination. Mit diesem Ansatz gelingt das Einführen von unterschiedlichen Seitenketten durch den Einsatz unterschiedlicher Isocyanide in jeder P-3CR auf sehr einfache Weise (Schema 1).



Schema 1. Synthese eines sequenzkontrollierten Tetramers (ausgehend von **1a**) oder eines sequenzkontrollierten Blockcopolymers (ausgehend von **1b**) durch abwechselnde Passerini-Reaktionen und Thiol-En-Additionen.

Diese Strategie hat einige Vorteile, wenn man sie mit anderen schrittweisen Ansätzen, zum Beispiel mit der Peptidsynthese, vergleicht. Der Einsatz von Kupplungs- und Aktivierungsreagentien wird vermieden, und es sind keine Schutzgruppen für die Synthese des Polymerrückgrats nötig. Diese Tatsachen machen unseren Ansatz vielseitiger (einfache Auswahl von Seitenketten), in einem großen Maßstab anwendbar sowie effizienter und nachhaltiger, da weniger Abfall produziert wird. Außerdem wird die chemische Vielfalt der Methoden im Bereich der sequenzkontrol-

lierten Makromoleküle durch den neuen Ansatz erweitert.

Zunächst wurde die P-3CR von Stearinsäure (**1a**) mit **3a** untersucht. Zu Beginn wurden THF und Dichlormethan als Lösungsmittel in unterschiedlichen Konzentrationen untersucht. (siehe Tabelle S1 in den Hintergrundinformationen). Die Ergebnisse zeigen, dass eine hohe Konzentration der Reaktanten zu hohen Umsätzen und Ausbeuten innerhalb kurzer Reaktionszeiten führt. Wurden jedoch äquimolare Mengen der Reaktanten verwendet, konnten Spuren von Stearinsäure **1a** in den Produkten detektiert werden. Daher wurden, um einen vollständigen Reaktionsumsatz der Carboxygruppen zu erzielen, **2** und **3a** in 1.5-fachem Überschuss eingesetzt. Anschließend wurde die Thiol-En-Addition näher untersucht. Hierbei wurden die besten Ergebnisse erzielt, wenn die Reaktion mit einem 10-fachen Überschuss des Thiols **4**, 5.0 Mol-% DMPA **5** als Photoinitiator und unter Bestrahlung mit UV-Licht für zwei Stunden durchgeführt wurde.

Diese optimierten Reaktionsbedingungen wurden in den weiteren Schritten der Oligomer- und Blockcopolymer-Synthese angewendet. Auf diese Weise wurde ein sequenzkontrolliertes Tetramer (Abbildung 1) mit einem Molekulargewicht von 1.6 kDa in sieben Schritten und mit einer Gesamtausbeute von 26% hergestellt.

Die detaillierten Ergebnisse der einzelnen Reaktionsschritte der Synthese des Tetramers (Tabelle S2) sowie alle analytischen Daten und weitere Details sind in den Hintergrundinformationen zu finden. Der Reaktionsumsatz konnte anhand der charakteristischen Protonensignale im ¹H-NMR-Spektrum mit den entsprechenden Integralen für die eingeführten Amidprotonen sowie durch das Fehlen von Signalen für olefinische Protonen nach den Thiol-En-Additionen verfolgt werden. Des Weiteren wurde die Existenz der gewünschten Oligomere massenspektrometrisch nachgewiesen. GPC-Messungen (Abbildung 2) belegen die erfolgreiche Synthese der gewünschten Produkte durch die Verschiebung der Molekulargewichtsverteilung zu höherem Molekulargewicht. Außerdem wird die hohe Reinheit der Produkte durch die Abwesenheit von Nebenprodukten mit niedrigerem Molekulargewicht bewiesen.

Die erfolgreiche Synthese des Tetramers **12** ergab wichtige Details zu den verwendeten Syntheseschritten sowie zum Verhalten und zur Stabilität der synthetisierten Oligomere. Um die Ausbeuten zu erhöhen und die Aufarbeitung zu vereinfachen, wurde die Ausgangskomponente variiert. Dazu wurde, wie bereits berichtet,^[24] ein löslicher Polymerträger synthetisiert, welcher ein unkompliziertes und zeitsparendes Aufarbeiten

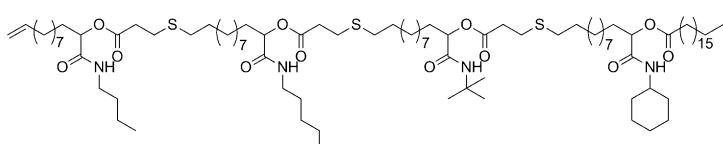


Abbildung 1. Strukturformel des erhaltenen sequenzkontrollierten Tetramers mit vier unterschiedlichen Seitenketten.

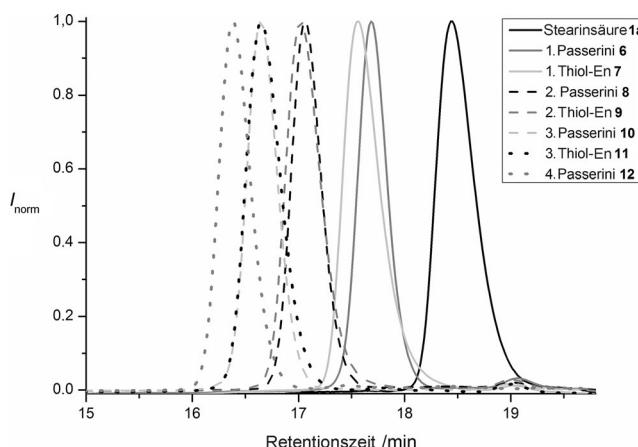


Abbildung 2. GPC-Kurven, die nach den P-3CR und den Thiol-En-Additionen in der Synthese des sequenzkontrolliertem Tetramers erhalten wurden.

durch Ausfällen ermöglicht. Zu diesem Zweck wurde die Endgruppe eines kommerziell erhältlichen PEG modifiziert. Ausgehend von der PEG-Säure **1b** wurde der sequenzkontrollierte Block über den zuvor optimierten Syntheseweg hergestellt. Wie erwartet konnten komplizierte Aufarbeitungsschritte in diesem Fall vermieden werden, und die Produkte wurden einfach durch Ausfällen erhalten. Die GPC-Ergebnisse der Blockcopolymersynthese (Abbildung 3)

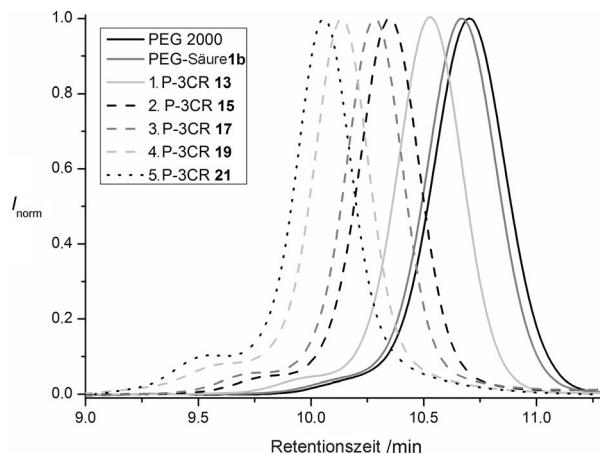


Abbildung 3. GPC-Kurven des PEG-Copolymers nach jeder P-3CR.

zeigen die Verschiebung der kompletten Molekulargewichtsverteilung hin zu höherem Molekulargewicht, was die Bildung der gewünschten sequenzkontrollierten Produkte bestätigt. In allen GPC-Kurven ist eine kleine Schulter zu sehen, die bereits im eingangs verwendeten PEG enthalten war und wahrscheinlich von doppelt OH-funktionalisierten PEG-Ketten stammt. Zusätzliche GPC/ESI-MS-Messungen bestätigen den Erfolg der einzelnen Syntheseschritte.

Abbildung 4 zeigt die Massenspektren der Produkte nach der ersten und der zweiten P-3CR (**13** bzw. **15**). Man kann erkennen, dass alle Polymerketten funktionalisiert wurden, da die Molekulargewichtsverteilung um 357.3 Da [entspre-

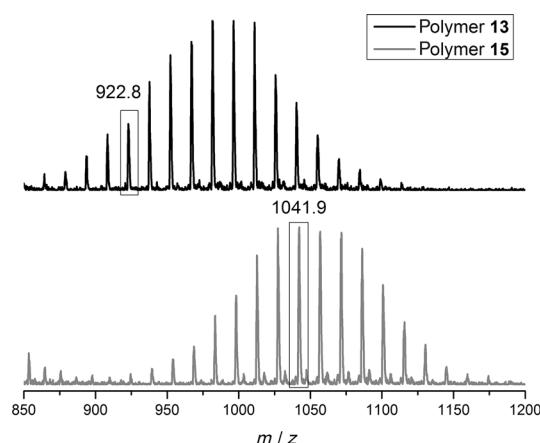


Abbildung 4. Die ESI-MS-Spektren von **13** und **15** zeigen eine Verschiebung der Molekulargewichtsverteilung in Richtung höherer Molekulargewichte. Die gezeigten Peaks entsprechen Ketten, die drei Natrium-Ionen tragen, und die hervorgehobenen Peaks entsprechen Polymerketten mit 51 PEG-Monomereinheiten.

chend $\Delta(m/z) 119.1$ also um die Masse von **4**, **2** und **3b**, verschoben wird.

Ferner kann die Funktionalisierung der Polymerketten durch NMR-Spektroskopie verfolgt werden. Die An- oder Abwesenheit der Doppelbindungssignale sowie das Auftreten der Amid-Signale bestätigen die vollständige Umsetzung der Edukte zu den gewünschten Produkten in jedem Reaktionsschritt. Darüber hinaus ist die Integration der ^1H -NMR-Signale der erhaltenen Produkte in guter Übereinstimmung mit den gewünschten sequenzkontrollierten Produkten, was den Erfolg der Syntheseschritte bestätigt. Die Ergebnisse, welche für die einzelnen Polymere nach dem Ausfällen erhalten wurden sind in Tabelle S3 zusammengefasst.

Verglichen mit der Oligomersynthese ist die Blockcopolymersynthese einfacher durchzuführen und zeitsparender, da die Produkte einfach durch Ausfällen erhalten werden können. Außerdem wurden in der Synthese von **21**, das einen sequenzkontrollierten Pentamer-Block enthält, größere Ausbeuten erzielt. Das Polymer **21** wurde in einer Gesamtausbeute von 34 % in neun Reaktionsschritten erhalten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Blockcopolymersynthese durch die einfache Aufarbeitung sowie die Effizienz der einzelnen Schritte zu einer deutlich schnelleren Produktsynthese führt. Zudem wird eine interessantere Polymerarchitektur aufgebaut, da die Kombination von definierten Polymeren, die durch kontrollierte/lebende Polymerisationen aufgebaut werden, mit sequenzkontrollierten Oligomerblöcken in der Zukunft zur Synthese von Polymeren führen kann, die Proteine und andere Biopolymere nachbilden.

Der neue Ansatz zur Synthese von sequenzkontrollierten Makromolekülen wurde erfolgreich zur Herstellung eines sequenzkontrollierten Tetramers sowie eines Blockcopolymers mit sequenzkontrolliertem Pentamer-Block mit fünf unterschiedlichen Seitenketten angewendet. Die entsprechenden Produkte wurden in hohen Ausbeuten und Reinheiten erhalten, sodass sich die Kombination von P-3CR mit Thiol-En-Additionen als gute Methode zur Synthese von se-

quenzkontrollierten Materialien erwies. Darüber hinaus ermöglicht der Ansatz ein sehr einfaches und vielseitiges Einführen von unterschiedlichen Seitenketten. Außerdem konnte durch den Einsatz einer PEG-Säure die Aufreinigung der sequenzkontrollierten Produkte stark vereinfacht werden. Überdies benötigt diese Methode keine Schutzgruppen, da orthogonale Reaktionen verwendet werden.

Eingegangen am 14. Oktober 2013

Online veröffentlicht am 4. Dezember 2013

Stichwörter: Blockcopolymere · Definierte Polymere · Mehrkomponentenreaktionen · Passerini-Reaktion · Sequenzkontrolle

- [1] J. Chiefari, Y. K. Chong, F. Ercole, J. Krstina, J. Jeffery, T. P. T. Le, R. T. A. Mayadunne, G. F. Meijis, C. L. Moad, G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559–5562.
- [2] a) M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules* **1995**, *28*, 1721–1723; b) J.-S. Wang, K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5614–5615.
- [3] M. Szwarc, *Nature* **1956**, *178*, 1168–1169.
- [4] J.-F. Lutz, M. Ouchi, D. R. Liu, M. Sawamoto, *Science* **2013**, *341*, 1238149.
- [5] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149–2154.
- [6] R. L. Letsinger, V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3526–3527.
- [7] R. Naylor, P. T. Gilham, *Biochemistry* **1966**, *5*, 2722–2728.
- [8] a) C. T. Calderone, J. W. Puckett, Z. J. Gartner, D. R. Liu, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4278–4282; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4104–4108; b) M. L. McKee, P. J. Milnes, J. Bath, E. Stulz, A. J. Turberfield, R. K. O'Reilly, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8120–8123; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7948–7951.
- [9] Z. J. Gartner, R. Grubina, C. T. Calderone, D. R. Liu, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1408–1413; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1370–1375.
- [10] K. Fujimoto, S. Matsuda, N. Takahashi, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5646–5647.
- [11] J. Niu, R. Hili, D. R. Liu, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 282–292.
- [12] B. Lewandowski, G. De Bo, J. W. Ward, M. Papmeyer, S. Kuschel, M. J. Aldeguide, P. M. E. Gramlich, D. Heckmann, S. M. Goldup, D. M. D'Souza, A. E. Fernandes, D. A. Leigh, *Science* **2013**, *339*, 189–193.
- [13] a) S. Ida, T. Terashima, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10808–10809; b) S. Ida, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14748–14750.
- [14] a) P. W. Morgan, S. L. Kwolek, *J. Polym. Sci. Part A* **1964**, *2*, 181–208; b) K. Takizawa, C. Tang, C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1718–1726; c) K. Takizawa, H. Nulwala, J. Hu, K. Yoshinaga, C. J. Hawker, *J. Polym. Sci. Part A* **2008**, *46*, 5977–5990; d) S. Pfeifer, Z. Zarafshani, N. Badi, J.-F. Lutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9195–9197.
- [15] D. Benoit, C. J. Hawker, E. E. Huang, Z. Lin, T. P. Russell, *Macromolecules* **2000**, *33*, 1505–1507.
- [16] a) G.-Q. Chen, Z.-Q. Wu, J.-R. Wu, Z.-C. Li, F.-M. Li, *Macromolecules* **2000**, *33*, 232–234; b) S. Pfeifer, J.-F. Lutz, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 10949–10957; c) S. Srichan, D. Chan-Seng, J.-F. Lutz, *ACS Macro Lett.* **2012**, *1*, 589–592; d) S. Pfeifer, J.-F. Lutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9542–9543; e) A. Matsumoto, T. Kubota, T. Otsu, *Macromolecules* **1990**, *23*, 4508–4513.
- [17] M. Zamfir, J.-F. Lutz, *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 1138.
- [18] A. Strecker, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1850**, *75*, 27–45.
- [19] M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126–129.
- [20] I. Ugi, C. Steinbrückner, *Angew. Chem.* **1960**, *72*, 267–268.
- [21] A. Dömling, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 17–89.
- [22] O. Kreye, T. Tóth, M. A. R. Meier, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1790–1792.
- [23] A. Sehlinger, O. Kreye, M. A. R. Meier, *Macromolecules* **2013**, *46*, 6031–6037.
- [24] E. Bayer, M. Mutter, *Nature* **1972**, *237*, 512–513.