

**Lipasen in der Polymerchemie:
Polyestersynthese in
wässrigem Medium und
unter Mikrowellenbestrahlung**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Patrick Kerep

aus Düsseldorf

Juni 2007

Aus dem Institut für Organische und Makromolekulare Chemie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Herr Prof. Dr. Helmut Ritter

Koreferentin: Frau Prof. Dr. Claudia Staudt

Tag der mündlichen Prüfung: 09. 07. 2007

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Prof. Helmut Ritter, der mir die Möglichkeit gegeben hat, die vorliegende Arbeit in seinem Arbeitskreis zu anzufertigen und mich dabei stets unterstützt hat.

Frau Prof. Claudia Staudt danke ich für die Übernahme des Koreferats und das Erstellen des Zweitgutachtens.

Mein weiterer Dank gilt den Mitgliedern des Arbeitskreises von Prof. Ritter für das sehr angenehme Arbeitsklima, die anregenden wissenschaftlichen Diskussionen sowie die persönliche Unterstützung.

I also deeply thank Prof. Shiro Kobayashi and Prof. Hiroshi Uyama, who gave me the chance to stay in their group at Kyoto University for two years.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

C. Koopmans, M. Iannelli, P. Kerep, M. Klink, S. Schmitz, S. Sinnwell, H. Ritter, „Microwave-assisted polymer chemistry: Heck-reaction, transesterification, Baeyer–Villiger oxidation, oxazoline polymerization, acrylamides, and porous materials“, *Tetrahedron*, **62**, **2006**, 4709.

P. Kerep, H. Ritter, “Influence of Microwave Irradiation on the Lipase-Catalyzed Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone”, *Macromol. Rapid Commun.*, **2006**, *27*, 707.

P. Kerep, H. Ritter, “Ring-Opening Homo- and Copolymerization of Cis/Trans-3-oxa-4-oxobicyclo- and Cis/Trans-4-oxa-3-oxobicyclo[5.4.0]undecane”, *Macromol. Chem. Phys.*, **2007**, *208*, 188.

P. Kerep, H. Ritter, “Chemoenzymatic Synthesis of Polycaprolactone-block-Polystyrene via Macromolecular Chain Transfer Reagents”, *Macromol. Rapid Commun.*, **2007**, *28*, 759.

Abstract

The present work deals with new applications of lipases in the field of polymer chemistry. One focus is the synthesis of polyesters starting from different diols and dicarboxylic acids or their diesters. The lipase-catalyzed polycondensation was carried out in aqueous phase using various surfactants.

Using strongly hydrophilic non-ionic emulsifiers the emerging polyester was well stabilized leading to formation of well stabilized polyester nanoparticles. Depending on the substrates molecular weights up to $M_n = 2500$ and monomer conversions as high as 97 % could be achieved. The carboxylic acid esters showed high reactivity as well, however, with rising hydrophobicity of the condensation by-product the polymerisation results deteriorated dramatically. Compared to previously published results without surfactant a significant acceleration of the reaction accompanied by higher product yields and molecular weights were observed.

Besides the above, the microwave-(MW)-assisted ring opening polymerization (ROP) of various lactones was investigated. By way of the example of Novozyme 435 and ϵ -caprolactone it was shown, that the polymerization results were significantly influenced under MW-irradiation depending on the solvent. In this context, further lactones were synthesized and investigated as well. It was found, that unbranched lactones were consumed more rapidly under MW-irradiation, whereas sterically demanding lactones could not be polymerized enzymatically regardless of the heating method. In this case the use of $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ was partly successful.

In order to investigate the influence of MW-irradiation on the chemo-selectivity the ROP of ϵ -caprolactone was initiated employing the bifunctional 2-mercaptoethanole. In this case higher polymer yields and a change in the selectivity were observed, as the product ratio of OH-functionalized and SH-functionalized polyester changed under MW-irradiation.

The evaluation of the influence of MW-irradiation on the stereoselectivity was conducted using racemic 2-phenylpropanole as initiator for the ROP of ϵ -caprolactone. Besides higher initiator conversion under MW-irradiation an influence on the stereoselectivity was not found. The ee-values for both runs were almost identical.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit neuen Einsatzmöglichkeiten von Lipasen in der Polymerchemie. Ein Schwerpunkt dabei war ausgehend von verschiedenen Diolen und Dicarbonsäuren (bzw. deren Ester) die lipasenkatalysierte Synthese von Polyestern in wässrigem Medium in Gegenwart von Emulgatoren.

Unter Verwendung von nichtionischen stark hydrophilen Emulgatoren konnte eine gute Stabilisierung des entstehenden Polyesters erreicht werden. Abhängig von den Substraten wurden Molekulargewichte bis $M_n = 2500$ und Monomerumsätze bis zu 97 % realisiert. Dabei zeigten auch die Carbonsäureester eine sehr hohe Reaktivität, wobei sich mit zunehmender Hydrophobie des abgespaltenen Kondensats die Polymerisationsresultate verschlechterten. Im Vergleich zu in der Literatur beschriebenen Synthesen ohne Emulgator konnte eine dramatische Beschleunigung der Reaktion mit deutlich verbesserten Produktausbeuten und Molekulargewichten beobachtet werden.

Ein weiterer Fokus dieser Arbeit war die Untersuchung der mikrowellen-(MW)-gestützten enzymatischen ringöffnenden Polymerisation (ROP) von Lactonen. Am Beispiel von ϵ -Caprolacton (CL) und Novozym 435 konnte gezeigt werden, dass die MW-Strahlung abhängig vom verwendeten Lösungsmittel einen starken Einfluss auf die Polymerisationsresultate hatte. In diesem Zusammenhang wurden auch andere Lactone synthetisiert und untersucht. Es ergab sich, dass unverzweigte Lactone unter MW-Bestrahlung besser umgesetzt wurden, während sterische anspruchsvolle Lactone enzymatisch weder im Ölbad noch unter MW-Bestrahlung polymerisierbar waren. Der Einsatz von $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ war dagegen im Fall der verzw. Lactone teilweise erfolgreich.

Zur Untersuchung des Einflusses auf die Chemoselektivität wurde die ROP von CL mit 2-Mercaptoethanol gestartet. Hier konnte unter MW-Bestrahlung neben höheren Ausbeuten auch eine Veränderung der Chemoselektivität beobachtet werden, da sich unter MW-Bestrahlung die Produktverhältnisse zwischen OH- und SH-funktionalisiertem Polyester veränderten. Um den Einfluss der MW-Bestrahlung auf die Stereoselektivität zu evaluieren, wurde racemisches 2-Phenylpropanol als Initiator für die ROP von CL eingesetzt. Im Gegensatz zu vorher ergab sich hier kein nennenswerter Unterschied in der Stereoselektivität, da die ee-Werte unabhängig von der Heizmethode sehr ähnlich waren.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Enzyme	5
1.1.1.	Lipasen in der Polymerchemie	6
1.1.2.	Lipase PC und Novozym 435.....	11
1.2.	Mikrowellengestützte Synthesen	13
1.2.1.	Theorie der Mikrowelle	14
1.2.2.	Anwendungen der Mikrowelle in der Polymerchemie	16
1.3.	Aufgabenstellung	18
2.	Allgemeiner Teil	20
2.1.	Enzymkatalysierte Polykondensation in wässrigem Medium	20
2.1.1.	Auswahl des geeigneten Emulgators	21
2.1.2.	Einfluss der Reaktionstemperatur	27
2.1.3.	Einfluss der Reaktionszeit	29
2.1.4.	Optimale Emulgatorkonzentration	31
2.2.	Untersuchung verschiedener Substrate	33
2.2.1.	Diole und Dicarbonsäuren als Substrate	33
2.2.2.	Dicarbonsäureester als Substrate	38
2.2.3.	Einfluss des Estertyps auf die Polykondensation.....	41
2.3.	Enzymatische Polyestersynthese unter dem Einfluss von MW-Bestrahlung	44
2.3.1.	Nachweis von Mikrowelleneffekten.....	45
2.3.2.	Lipasenkatalysierte ROP von CL 27 unter MW-Bestrahlung	46
2.3.3.	Untersuchungen zur Enzymstabilität unter MW-Bestrahlung	52
2.3.4.	Lipasenkatalysierte ROP höherer Lactone	54
2.3.4.1.	Synthese der Lactone 28 und 29	54
2.3.4.2.	Lipasenkatalysierte ROP von 28 und 29	56
2.3.5.	Polymerisation bicyklischer Lactone.....	57
2.3.5.1.	Baeyer-Villiger-Oxidation von Bicyclo[2.2.1]heptan-2-on 37	58
2.3.5.2.	Baeyer-Villiger-Oxidation von Bicyclo[4.4.0]decan-2-on 38	58

Inhaltsverzeichnis

2.3.5.3.	Polymerisation der Lactone 30 und 31	61
2.3.5.4.	Resultate der metallkatalytischen ROP des Lactons 31	62
2.3.6.	Einfluss der MW-Strahlung auf die Selektivität der enzymkatalysierten ROP....	71
2.3.6.1.	Einfluss von MW-Strahlung auf die Chemoselektivität	71
2.3.6.2.	Synthese von Polycaprolacton-block-Polystyrol 44	76
2.3.6.3.	Einfluss von MW-Strahlung auf die Stereoselektivität	82
3.	Zusammenfassung	85
4.	Experimenteller Teil	90
4.1.	Verwendete Geräte	90
4.2.	Synthesen	92
4.2.1.	Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Carbonsäureester.....	92
4.2.1.1.	Synthese von Dimethylnonanoat 21	93
4.2.1.2.	Synthese von Dimethylundecanoat 23	93
4.2.1.3.	Synthese von Dipropyldecanoat 25	94
4.2.1.4.	Synthese von Dibutyldecanoat 26	94
4.2.2.	Enzymatische Polykondensation in wässrigem Medium.....	95
4.2.2.1.	Poly(1,10-Dekamethyenglycoldecanoat) 3	95
4.2.2.2.	Poly(1,10-Dekamethyenglycolundecanoat) 18	96
4.2.2.3.	Poly(1,10-Dekamethyenglycoldodecanoat) 20	96
4.2.2.4.	Poly(1,12-Dodekamethyenglycoldecanoat) 12	97
4.2.2.5.	Poly(1,10-Dekamethyenglycoldecanoat) 18	97
4.2.3.	Enzymatische ROP von CL 27 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung	98
4.2.4.	Baeyer-Villiger-Oxidation der Ketone 33, 34, 37, 38	99
4.2.4.1.	Synthese von 1-Oxacyclooctan-2-on 28	99
4.2.4.2.	Synthese von 1-Oxacyclononan-2-on 29	100
4.2.4.3.	Synthese von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-2-on 30 a und 3-Oxa- bizylo[3.2.1.]octan- 3-on 30 b	100
4.2.4.4.	Synthese von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans- 4-Oxa- 3-oxobicyclo- [5.4.0]undecan 31 a-d	101
4.2.5.	Enzymatische ROP von 28 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung	102

Inhaltsverzeichnis

4.2.6.	Enzymatische ROP von 29 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung	102
4.2.7.	Enzymatische ROP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-2-on 30 a und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-3-on 30 b	103
4.2.8.	Enzymatische ROCP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-2-on 30 a und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-3-on 30 b mit CL 27	103
4.2.9.	Metallkatalytische ROP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-2-on 30 a und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-3-on 30 b	103
4.2.10.	Metallkatalytische ROCP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-2-on 30 a und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-3-on 30 b mit CL 27	104
4.2.11.	Enzymatische ROP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans- 4-Oxa- 3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31 a-d	104
4.2.12.	Enzymatische ROCP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans- 4-Oxa- 3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31 a-d mit CL 27	104
4.2.13.	Metallkatalytische ROP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans- 4-Oxa- 3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31 a-d	105
4.2.14.	Metallkatalytische ROCP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans- 4-Oxa- 3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31 a-d mit CL 27	105
4.2.15.	Enzymatische ROP von CL 27 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung mit 2-Mercaptoethanol 40 als Initiator	106
4.2.16.	Polycaprolacton-block-Polystyrol 44	107
4.2.17.	Enzymatische ROP von CL 27 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung mit 2-Phenylpropanol 45 als Initiator	108
5.	Literaturverzeichnis	109

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AADG	2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose
C	Celsius
CALB	Candida Antarctica Lipase B
CL	ϵ -Caprolacton
CoA	Coenzym A
CPBA	chloroperoxybenzoic acid
CTAC	Cetyltrimethylammoniumchlorid
Asp	Asparaginsäure
ΔH_f	Reaktionsenthalpie
DSC	differential scanning calorimetry
DNS	Desoxyribonukleinsäure
E	Elektrisches Feld
ee	enantiomeric excess
ϵ'	Dielektrizitätskonstante
ϵ''	dielektrischer Verlust
g	Gramm
GPC	Gelpermeationschromatographie
GHz	Gigahertz
Gew.	Gewicht
h	hour
H	Magnetisches Feld
His	Histidin
HOTs	Hydroxyltosylat
HPLC	high performance liquid chromatography
IUBMB	International Union of Biochemistry and Molecular Biology
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
kJ	Kilojoule
m	Meter

Abkürzungsverzeichnis

MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
MCTR	macro chain transfer reagent
MeOTs	Methyltosylat
M_n	Zahlenmittel des Molekulargewichts
M_w	Gewichtsmittel des Molekulargewichts
min	Minute
MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mmol	Millimol
M_p	Schmelzpunkt
MW	Mikrowelle
nm	Nanometer
NMR	nuclear magnetic resonance
p	Umsatz
PE	Polyethylen
PEO	Polyethylenoxid
PC	pseudomonas capecia
PHA	Polyhydroxyalkanoate
pK_s	Säurekonstante
PP	Polypropylen
ppm	parts per million
PPO	Polypropylenoxid
r	molares Einwaageverhältnis
ROP	ringöffnende Polymerisation
RI	refractive index
Sch.	Schema
SDS	sodium dodecylsulfonate
Ser	Serin
t	Zeit
T	Temperatur
Tab.	Tabelle

Abkürzungsverzeichnis

tan δ	Verlusttangens
THF	Tetrahydrofuran
TOF	time of flight
UV	Ultraviolett
v. Chr.	vor Christus
w	weight
W	Watt
\bar{X}_n	Polymerisationsgrad
z	Ladung



Einleitung

Die Nutzbarmachung von polymeren Materialien durch den Menschen wird zum ersten Mal um 5000 v. Chr. historisch erwähnt und war bis zur industriellen Revolution Anfang des 19. Jahrhunderts auf natürliche Materialien, wie Holz, Baumwolle, Seide, etc. beschränkt.^[1]

Laut eines Definitionsvorschlags des Normenausschusses Kunststoffe im DIN versteht man unter Kunststoffen „Materialien, deren wesentliche Bestandteile aus solchen makromolekularen organischen Verbindungen bestehen, die synthetisch oder durch Abwandeln von Naturprodukten entstehen. Sie sind in vielen Fällen unter bestimmten Bedingungen (Wärme und Druck) schmelz- und formbar“.^[2] Mit der Entdeckung von Celluloid durch Alexander Parkes im Jahr 1856 und dessen Weiterentwicklung durch John Wesley Hyatt um 1870 kam somit der erste Kunststoff auf den Markt.^[3] Aus dieser Zeit datieren auch die ersten Berichte über Polyester durch den schwedischen Chemiker Berzelius.^[4] Zahlreiche weitere Entwicklungen auf diesem Sektor erweiterten die Vielseitigkeit dieser Materialien und Ende der 1950er Jahre verhalfen Ziegler und Natta den Kunststoffen endgültig zum Durchbruch. Die mit einem Nobelpreis ausgezeichnete Entwicklung des Ziegler-Natta-Katalysators^[5] ermöglichte erstmals die Polymerisation von

Ethylen und α -Olefinen bei Raumtemperatur und Normaldruck. Somit wurde quasi über Nacht der Zugang zu einem großen Arsenal neuer Monomere bzw. Kunststoffen, wie Polyethylen (PE) und Polypropylen (PP) geschaffen. Die neuen Materialien zeichnen sich durch hervorragende mechanische Eigenschaften, gute Verarbeitbarkeit und Langlebigkeit aus. Zudem lassen sich die Monomere für die Synthese leicht aus Erdöl gewinnen oder fallen sogar als Abfallprodukt beim „Cracken“ an^[6], so dass sich die Polymere sehr günstig produzieren lassen.

Im 21. Jahrhundert sind die polymeren Werkstoffe omnipresent und aus dem Alltag nicht mehr wegzudenken. Von Kinderspielzeug und Kleidung über die Medizin bis hin zur Raumfahrttechnik werden polymere Materialien eingesetzt und sind mittlerweile unersetzlich, wie die Abbildungen 1-1 a und b zeigen.

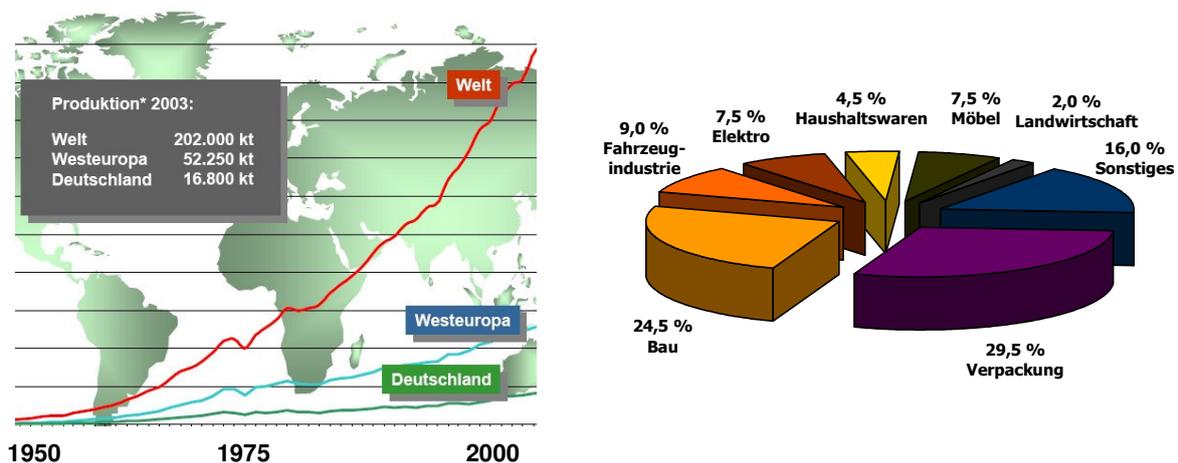


Abb. 1-1 a - b: a) Anstieg des Kunststoffbedarfs seit 1950 und b) Einsatzgebiete polymerer Materialien^[7]

Neben der Umweltbelastung verursacht durch Abfälle aus Kunststoff, wie z. B. Verpackungen, ist ein weiteres Problem, dass polymere Materialien hauptsächlich aus Erdölprodukten hergestellt werden. Aufgrund einer möglichen zukünftigen Erdölknappheit steigt die Nachfrage nach Polymeren aus nachwachsenden Rohstoffen stetig.

Solche biologisch abbaubaren Kunststoffe bieten zudem den Vorteil, dass sie in natürlicher Umgebung nach kurzer Zeit verrotten. Eine Klassifizierung der Biopolymere ist in Tabelle 1-1 aufgeführt.^[8]

Tab. 1-1: *Klassifizierung der Biopolymere*

Klasse	Ursprung	Name	Monomer
Polysaccharide	pflanzlich	Stärke	D-Glucose
		Zellulose	D-Glucose
		Alginate	Uronsäure
	tierisch	Chitin	AADG ^a
	bakteriell	Xanthan	Glucose, Mannose
Proteine	tierisch	Seide	Aminosäuren
		Collagen	Glycin, Hydroxyprolin
Polyester	bakteriell	PHA ^b	Hydroxyalkansäuren

^aAADG = 2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose

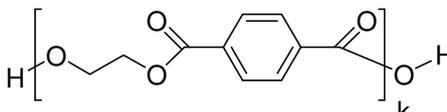
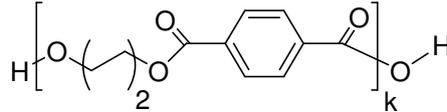
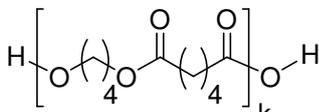
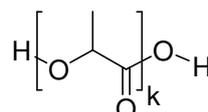
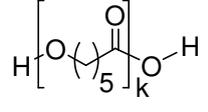
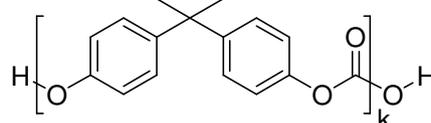
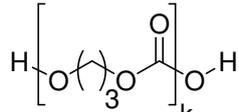
^bPHA = Polyhydroxyalkanoate

Wie dargestellt, sind diese Polymere häufig natürlichen Ursprungs und bestehen hauptsächlich aus Zuckern, Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren als Monomere. Sie haben allerdings den Nachteil, dass sie kaum Spielraum für werkstofftechnisches Feintuning auf molekularer Ebene bieten. Zudem können Verunreinigungen bei der Entstehung in vivo die Qualität der Materialien mindern. Da die Herstellung in vitro äußerst herausfordernd ist^[9], bleibt ihr Einsatz auf bestimmte Anwendungen begrenzt. Einzige Ausnahme sind die Polyester. Sowohl natürliche als auch synthetische Polyester sind bequem durch Polykondensation zugänglich und bieten so die Möglichkeit, durch Wahl geeigneter Monomere Materialien mit speziellen Eigenschaften zu designen und die Werkstoffe den Anforderungen anzupassen.

Entsprechend Tabelle 1-2 lassen sich Polyester in drei Klassen einteilen. Aromatische Polyester bestehen aus aromatischen Dicarbonsäuren und aliphatischen Diolen und haben einen geringen kristallinen Anteil. Sie eignen sich ausgezeichnet für die Fertigung technischer Formteile anstelle von Metallen, Duroplasten oder anderer Thermoplasten. Ihr Defizit ist allerdings, dass sie kaum von Mikroorganismen angegriffen werden und daher unter natürlichen Bedingungen nicht verrotten.

Rein aliphatische Polyester haben einen höheren kristallinen Anteil und sind vollständig biologisch abbaubar^[10], zeigen jedoch Defizite in Bezug auf die mechanischen Eigenschaften. Da aber sowohl das Polymer als auch die Monomere ungiftig sind, ergeben sich Anwendungsmöglichkeiten auf dem medizinischen Sektor als biokompatibles Material für die Transplantationsmedizin bzw. plastische und rekonstruktive Medizin (tissue engineering) oder in Systemen, die zur gezielten Freisetzung von pharmazeutischen Wirkstoffen im Körper dienen (drug release systems).^[11-13]

Tab. 1-2: Klassifizierung der Polyester

Klasse	Name	Struktur
Aromatische Polyester	Poly-(1,2-ethylen-glycolterephthalat)	
	Poly-(1,4-butylen-glycolterephthalat)	
Aliphatische Polyester	Poly-(1,4-butylen-Glycoladipat)	
	Polymilchsäure	
	Polycaprolacton	
Polycarbonate	Poly(bisphenol-A-carbonat)	
	Poly(trimethylen-carbonat)	

Weiterhin werden zur Herstellung von Polyurethanen aliphatische Polyester mit Molekulargewichten zwischen 500 bis 4000 g/mol als Vorstufe verwendet.^[14,15]

Die Synthese von Polyestern erfolgt dabei entweder durch Polykondensation der entsprechenden Diolen und Dicarbonsäuren, zum Beispiel 1,4-Butandiol und Adipinsäure, oder mittels ringöffnender Polymerisation (ROP) von Lactonen wie ϵ -Caprolacton (CL). Ein Problem dabei ist, dass diese Synthesen mittels schwermetallhaltiger Katalysatoren, wie zum Beispiel Zinn(II)-2-ethylhexanoat, Bismut(III)-2-ethylhexanoat, Zinn(II)-chlorid, Zinn(II)-acetat etc. durchgeführt werden.^[16] Da die Metallkatalysatoren im Endprodukt verbleiben, stellen sie eine Belastung sowohl für die Umwelt, als auch für die Gesundheit dar und sind für medizinische Zwecke nicht uneingeschränkt zu gebrauchen.^[17] Zudem kann der Verbleib des Katalysators im Polymer dessen Eigenschaften nachteilig beeinflussen.^[18-20]

Alternativen zu den herkömmlichen Schwermetallkatalysatoren sind daher für die Industrie sehr interessant und werden intensiv untersucht. Als besonders viel versprechend haben sich dabei bestimmte Enzyme herausgestellt. In der Natur, zum Beispiel im menschlichen Organismus, katalysieren Lipasen die Esterspaltung, d.h. Fette werden in Glycerin und die entsprechenden Fettsäuren zerlegt. Unter anderen Bedingungen können Lipasen aber auch Esterbindungen knüpfen, was in der Polymerchemie zum Aufbau von Estern und Polyestern sowie zur Modifikation von Polymeren genutzt werden kann. Im Folgenden soll ein Überblick über die verschiedenen Enzymklassen gegeben werden. Besonderes Augenmerk wird dabei auf die für die Polymerchemie wichtige Klasse der Lipasen gelegt und mit Beispielen belegt.

1.1. Enzyme

Enzyme sind in der Natur sehr weit verbreitete hochmolekulare Proteine, die aufgrund ihrer Fähigkeit chemische Prozesse zu beschleunigen, auch als Biokatalysatoren bezeichnet werden. Sie spielen eine zentrale Rolle in allen Organismen, zum Beispiel in der Verdauung, dem Kopieren der DNS oder beim Aufbau von neuem Gewebe. Nach den Vorgaben der IUPAC bzw. IUBMB werden die Enzyme wie in Tabelle 1-3 zusammengefasst nach ihrer katalytischen Wirkung in sechs verschiedene Klassen eingeteilt.

Neben rein aus Proteinketten aufgebauten Enzymen gibt es auch so genannte

Haloenzyme, welche neben dem Proteinanteil (Apoenzym) noch einen niedermolekularen Nicht-Proteinanteil enthalten, der Kofaktor genannt wird.

Tab. 1-3: *Klassifizierung der Enzyme*^[21]

Klasse	Katalytische Wirkung	Beispiele
Oxidoreduktasen	Elektronentransfer	Alkoholdehydrogenase Monoaminoxidase
Hydrolase	Hydrolyse	Lipase Glukosidase
Transferasen	Transfer chem. Gruppen	Pyruvatkinase Transglutaminase
Isomerase	Isomerisierung	Glucoseisomerase Triosephosphatisomerase
Ligase	Bindungsknüpfung	Pyruvatcarboxylase
Lyase	Bindungsspaltung	Katalase

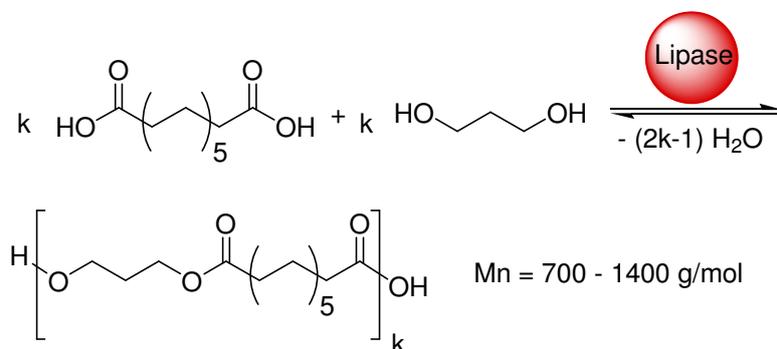
Die Verwendung von Enzymen durch den Menschen zur Fermentation ist seit langem bekannt, da Enzyme auch außerhalb eines Organismus ihre Aktivität nicht verlieren, wenn die äußeren Bedingungen wie Temperatur und pH-Wert es zulassen. Beispiele hierfür sind die Vergärung von Zucker zu Alkohol durch Zymase, oder die Umwandlung von Kohlenhydraten in Milchsäure, Essig und CO₂ bei dem „Gehen von Sauerteig“.

1.1.1. Lipasen in der Polymerchemie

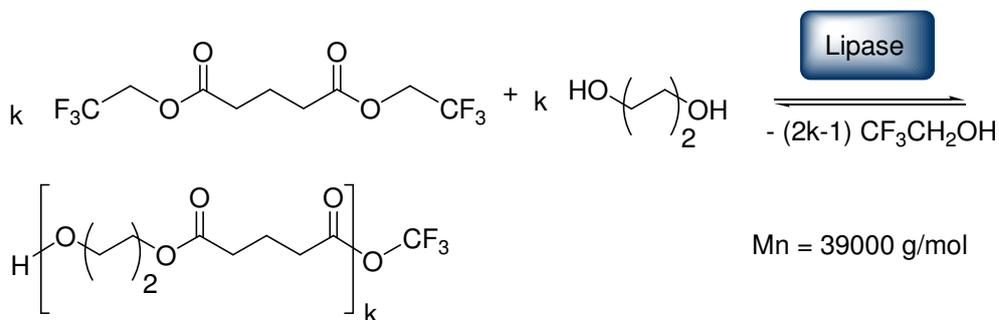
Abbildung 1-2 a – h) gibt eine Übersicht über die wichtigsten Entwicklungen in der Polymerchemie im Zusammenhang mit Lipasen. So wurden bereits Anfang der 80er Jahre

in ersten Arbeiten mittels Enzymkatalysatoren verschiedene Polyesteroligomere ausgehend von Diolen und Dicarbonsäureestern hergestellt (a). Unter Verwendung aktivierter Carbonsäuren sind auch Polyester mit höheren Molekulargewichten zugänglich, wie in b) und d) gezeigt. Knani et al. setzten erstmals CL erfolgreich als Monomer ein (c) und erhielten dabei Oligomere. Hydroxycarbonsäuren, natürlicher Bestandteil der weiter oben erwähnten Polyhydroxyalkanoate, lassen sich in vitro ebenfalls enzymatisch polymerisieren (e).

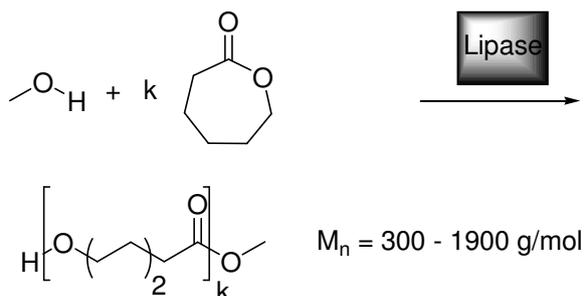
a) Okamura et al. 1984^[22]



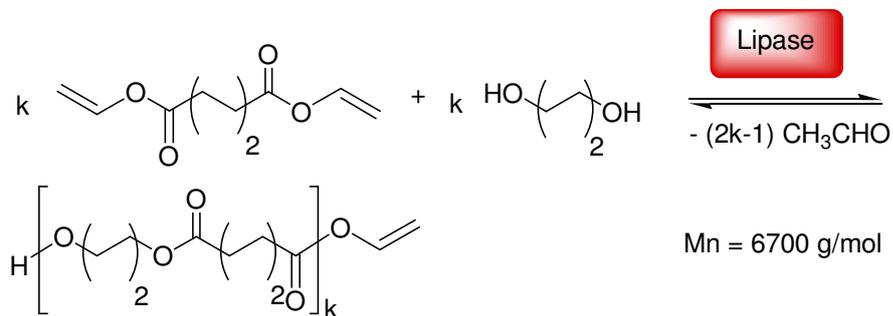
b) Morrow et al. 1992^[23]



c) Knani et al. 1993^[24]



d) Kobayashi und Uyama et al. 1994^[25]



e) Gross et al. 2003^[26]

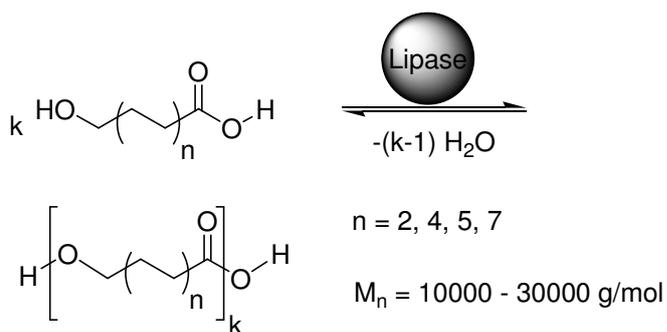


Abb. 1-2 a - e: Enzymatische a) Polykondensation von Diol mit Dicarbonsäure, b u. d) Polykondensation von aktivierter Dicarbonsäure mit Diol, c) ROP von Lacton, e) Polykondensation von Hydroxycarbonsäuren

Neben dem Aufbau von Polyestern können mit Hilfe von Lipasen auch polymeranalogue Reaktionen durchgeführt werden. In Abbildung 1-2 f) ist ein Copolymer aus Styrol und einem Methacrylsäureamid mit freier OH-Gruppe gezeigt.

f) Ritter et al. 1989^[27]

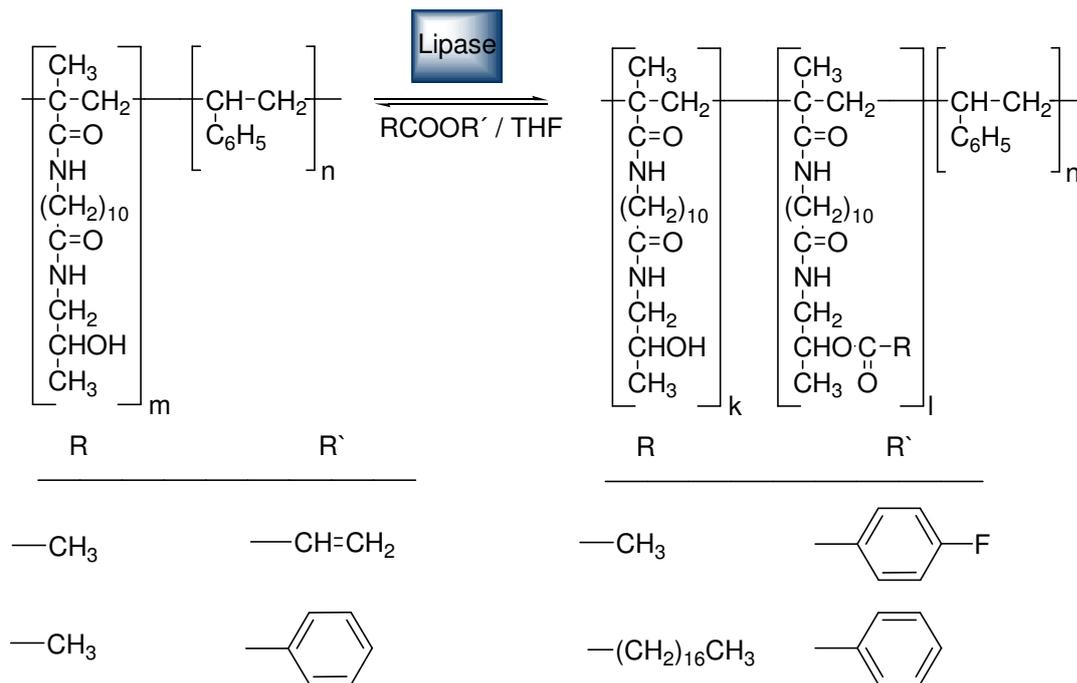
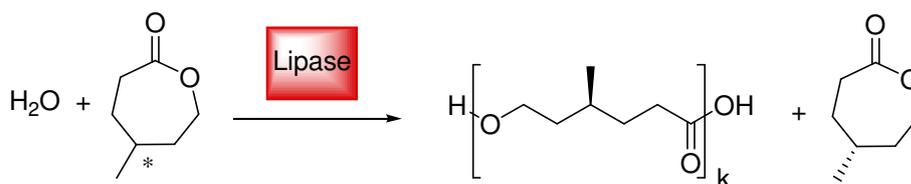


Abb. 1-2 f: Polymeranaloge Veresterung mit Lipasen

Mit Hilfe der Lipase kann die OH-Gruppe mit verschiedenen Carbonsäureestern unter milden Bedingungen polymeranalog modifiziert bzw. umgeestert werden.

Eine besondere Eigenschaft von Enzymkatalysatoren ist ihre Substratspezifität. Dieses Charakteristikum wird in der organischen Chemie ausgenutzt, um regio- oder stereoselektive Synthesen durchführen zu können. Dabei werden zum Beispiel racemische Substrate verestert, wobei eines der Stereoisomere unverändert zurückbleibt. In der Polymerchemie lassen sich so optisch aktive Polymere bzw. definierte Strukturen (Abbildung 1-2 g - h) erhalten.

g) Bisht et al. 2002^[28]



h) Gross et al. 2005^[29]

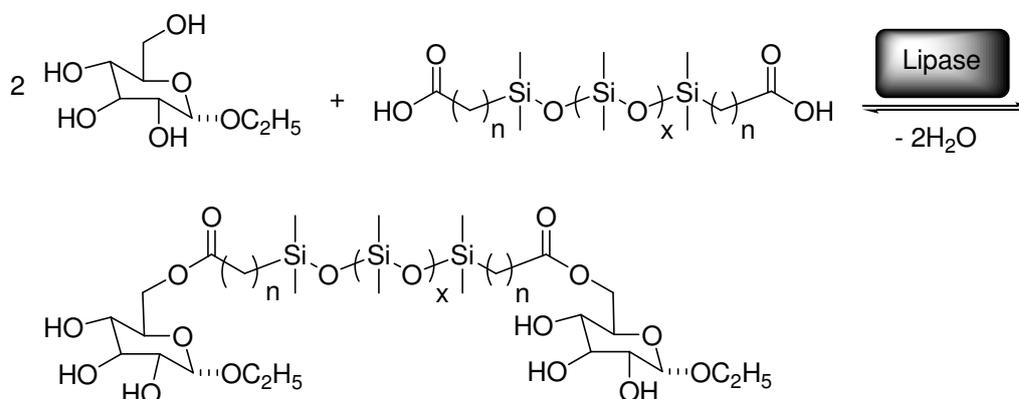


Abb. 1-2 g - h: g) Stereo- und h) regioselektive Veresterung mit Lipasen

Lipasen verfügen über ein hydrophobes aktives Zentrum und eine hydrophile Hülle. Aufgrund dieser Eigenschaft sind Enzyme in der Lage, in wässrigem Medium selektiv hydrophobe Substrate zu erkennen und umzusetzen. Kobayashi et al. konnten zeigen, dass durch Verwendung hydrophober Substrate Polykondensationen oder ringöffnende Polymerisationen in wässrigem Medium möglich werden, wobei niedermolekulare Produkte entstehen (Abbildung 1-3).

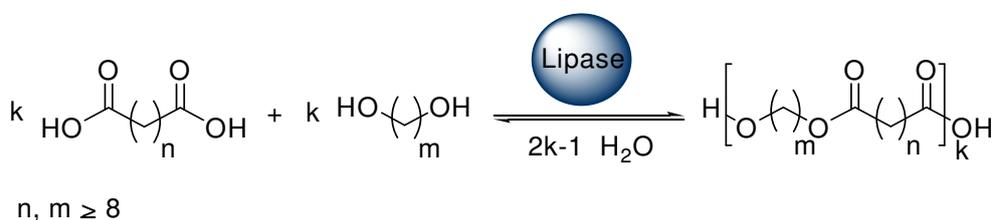


Abb. 1-3: Lipasenkatalysierte Polyestersynthese in wässrigem Medium^[30]

1.1.2. Lipase PC und Novozym 435

Beide in der vorliegenden Arbeit verwendeten Enzyme sind kommerziell erhältlich. Lipase PC entsteht im Stoffwechsel des Bakteriums „Pseudomonas Capecia“ und wird durch Extraktion aus den Bakterienkulturen erhalten. Aufgrund der hohen Pathogenität dieses Bakterienstamms wird zunehmend das für die Bildung des Enzyms verantwortliche Plasmid (Teil der DNA) in weniger gefährliche Bakterien exprimiert, welche dann die Lipase produzieren.^[31, 32] Zusätzlich kann so noch die Ausbeute an Enzym erhöht werden. Novozym 435 ist der Handelsname für Candida Antarctica Lipase B (CALB), die auf einer vernetzten Polyacrylmatrix immobilisiert ist. Dabei ist Candida Antarctica die Pilzkultur aus der die Lipase gewonnen wird.^[33]

Beide Lipasen zählen zur Gruppe der Serinhydrolasen, das heißt, Serin ist die Bindungsstelle der Substrate im aktiven Zentrum. Zudem verfügen beide Lipasen über die gleiche katalytische Triade bestehend aus den drei Aminosäuren Serin, Histidin und Asparaginsäure. Die nachfolgende Abbildung 1-4 zeigt die dreidimensionale Struktur von Lipase PC.

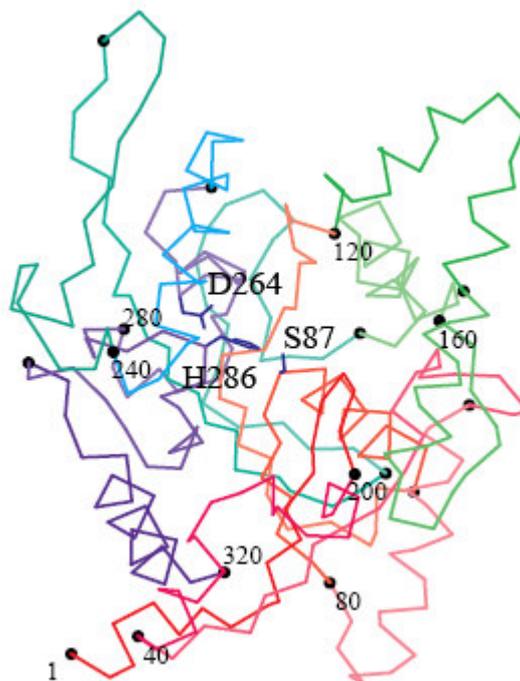


Abb. 1-4. Dreidimensionale Struktur von Lipase PC^[34]

Die Aminosäuren sind mit Zahlen durchnummeriert, wobei nur jede vierzigste Aminosäure markiert ist. Die Abkürzungen D, H und S stehen für Asparaginsäure, Histidin und Serin. Der Katalysemechanismus ist in Abbildung 1-5 skizziert.^[35]

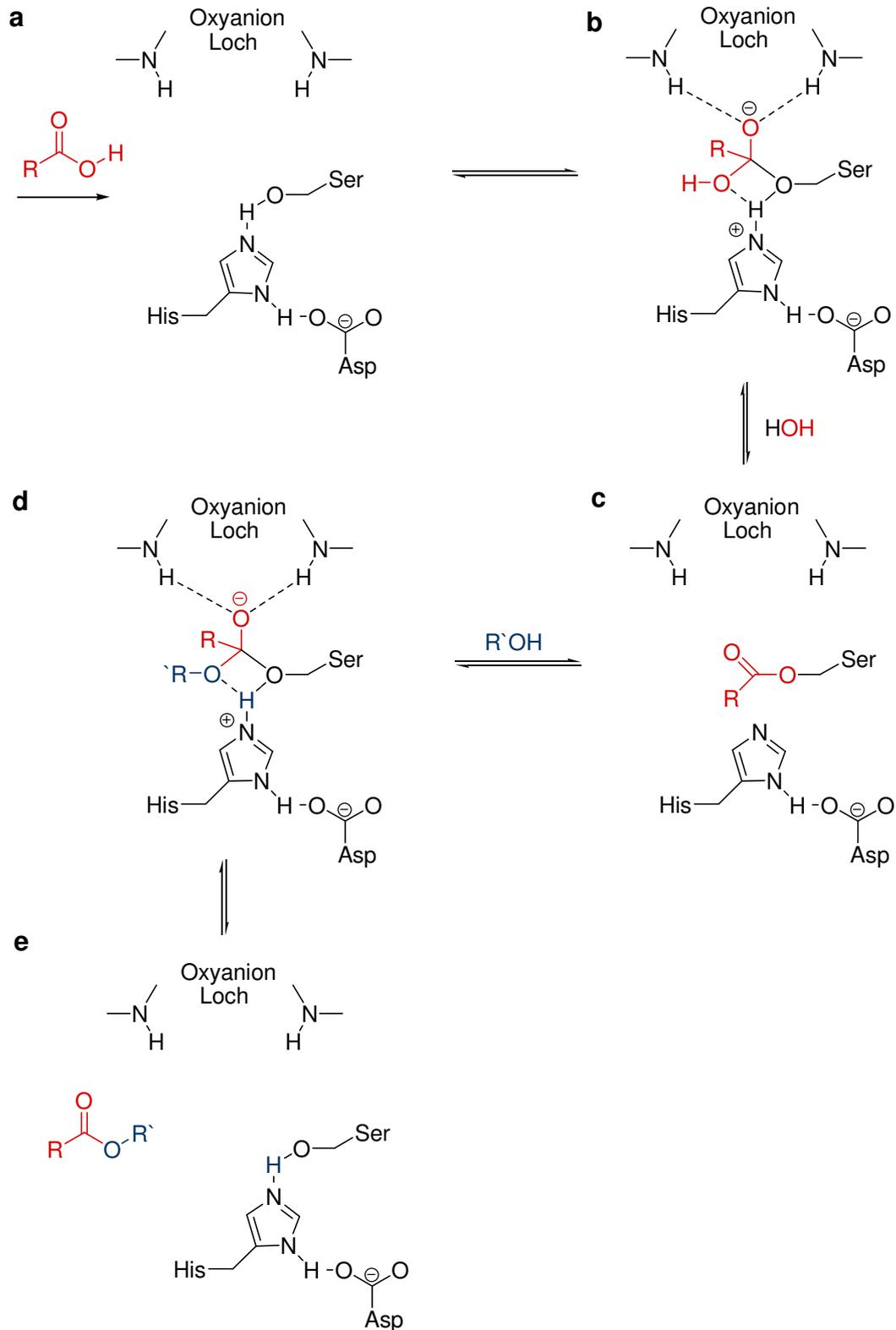


Abb. 1-5: Katalysemechanismus für die Veresterung mit Serinhydrolyasen

Zu Beginn lagert sich das Substrat an das Enzym unter Bildung des Michaelis-Komplexes (a) an. Danach entsteht ein tetraedrisches Intermediat (b), in dem das Sauerstoffanion durch zwei H-Brücken zu amidischen Protonen (Oxoanionloch) stabilisiert wird. Im nächsten Schritt folgt Wasserabspaltung, wobei der Acyl-Enzymkomplex entsteht (c). In (d) greift ein Alkoholmolekül $R'OH$ nukleophil an die Carbonylgruppe an und es bildet sich in Analogie zu (b) ein neues tetraedrisches Intermediat, welches zum Ester (e) zerfällt.

1.2. Mikrowellengestützte Synthesen

Chemische Reaktionen erfordern oft eine externe Zufuhr von Energie, um genügend große Reaktionsgeschwindigkeiten zu gewährleisten. Bis auf wenige Ausnahmen in denen zum Beispiel Licht als Energiequelle genügt, erfolgt der Energieinput durch Wärme. Früher waren Bunsenbrenner (offene Flamme) gängige Hitzequellen bevor sie durch weniger gefährliche Ölbäder und Heizpilze abgelöst wurden, die zudem noch eine bessere Kontrolle der Reaktion ermöglichen. In Haushalten schon lange bewährt, gewinnt in jüngerer Zeit auch der Einsatz von Mikrowellen als Hitzequelle in Laboratorien zunehmend an Bedeutung. Die Vorteile dieser Methode erstrecken sich von Hygieneaspekten über bequeme Reaktionsführung und Automatisierung bis hin zu so genannten thermischen und athermischen „Mikrowelleneffekten“. Unter thermischen Mikrowelleneffekten versteht man, dass Reaktionen gegenüber dem klassischen Heizen im Ölbad aufgrund des schnellen homogenen Aufheizens beschleunigt ablaufen bzw. in kurzer Zeit problemlos hohe Temperaturen ($>150\text{ °C}$) erreicht werden können. Weiterhin verläuft der Aufheizprozess kontaktlos, da die Energie über Mikrowellen übertragen wird. Somit werden Überhitzungseffekte am Kolbenrand vermieden und gleichzeitig die Hygiene verbessert.

Zu den athermischen Mikrowelleneffekten zählen Beschleunigungseffekte, die nicht durch den Einfluss der Aufheizrate oder das kontaktlose Heizen erklärbar sind. Dazu zählen veränderte Produktausbeuten, höhere Reaktionsgeschwindigkeiten (unter sonst identischen Bedingungen) oder Syntheserouten, die unter klassischen Bedingungen nicht realisierbar sind.

Zahlreiche Publikationen über die „Mikrowellenchemie“ unterstreichen das rege Interesse von Forschung und Industrie an dieser Neuerung.^[36-46] In den nächsten Abschnitten soll näher auf den Aufbau einer Mikrowelle und die zu Grunde liegende Theorie des mikrowelleninduzierten Aufheizens eingegangen werden.

1.2.1. Theorie der Mikrowelle

Elektromagnetische Strahlung ist in der Lage je nach Energieinhalt verschiedene Effekte in der absorbierenden Materie hervorzurufen. Die besonders energiereiche Röntgen- und UV-Strahlung kann Elektronen aus ihren Orbitalen lösen und somit Elektronensprünge verursachen. Die weniger energetischen Infrarot- und Mikrowellen versetzen die wechselwirkenden Moleküle nur in Bewegung, was im zum Aufheizen von Materie ausgenutzt werden kann. Dieser Effekt wird dielektrisches Heizen genannt.

Als Mikrowellen bezeichnet man den Ausschnitt von 0,3 bis circa 300 Gigahertz im elektromagnetischen Spektrum (Abbildung 1-6).^[47, 48]

Alle Mikrowellengeräte sowohl für den Hausgebrauch als auch für wissenschaftliche Zwecke arbeiten mit Mikrowellenstrahlung der Frequenz 2,45 GHz, um Interferenzen mit dem Mobilfunk zu vermeiden.

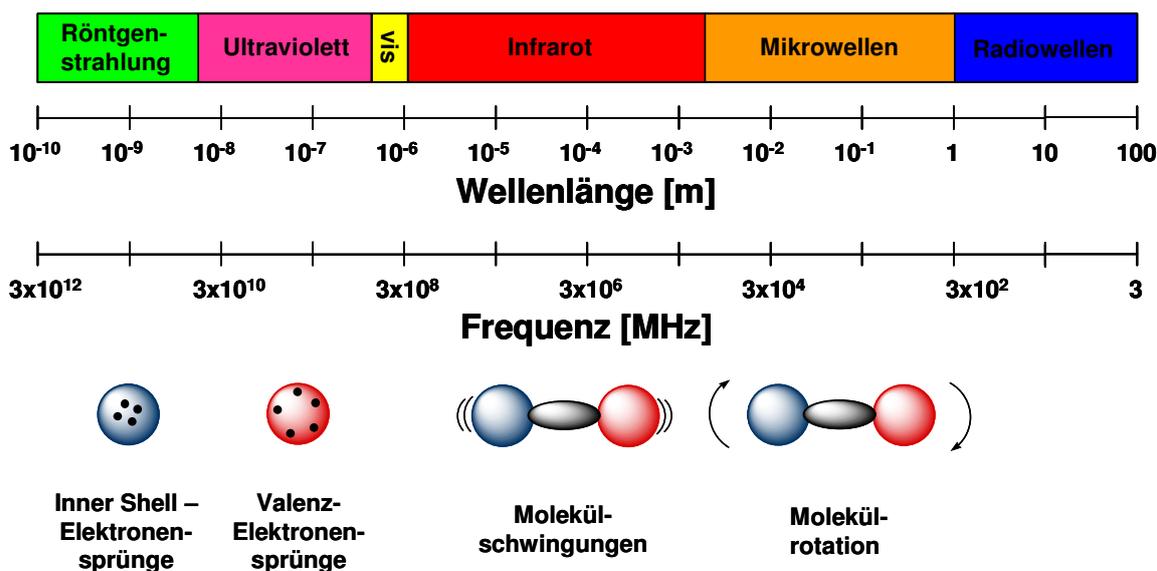
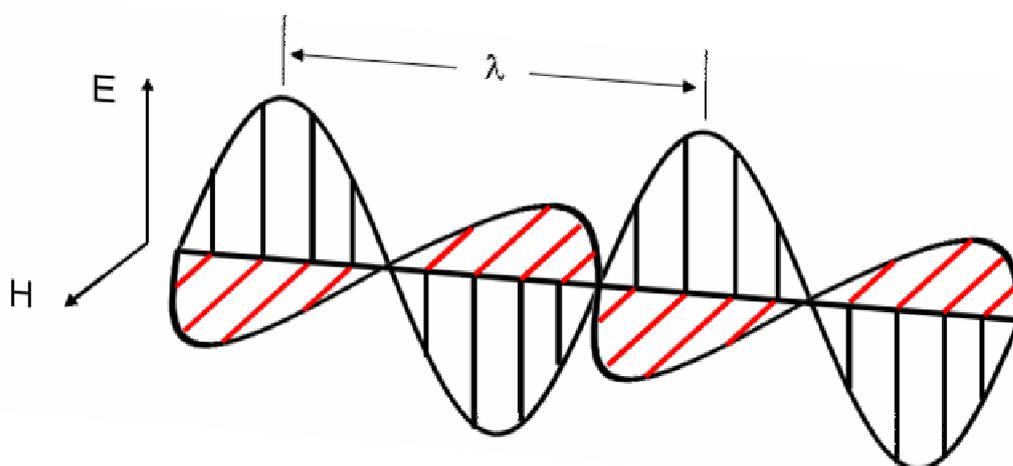


Abb. 1-6: *Elektromagnetisches Spektrum*

Das Prinzip des dielektrischen Heizens basiert auf der Fähigkeit der Materie, die eingestrahlte Energie zu absorbieren. Voraussetzung dafür ist ein genügend großes Dipolmoment der absorbierenden Teilchen, welche dadurch mit der elektrischen Komponente E (Abbildung 1-7) des elektromagnetischen Feldes wechselwirken können. Die Dipole richten sich entsprechend dem schnell oszillierenden elektrischen Feld aus. Da das Feld aber eine hohe Frequenz hat, können die einzelnen Dipole in kondensierter Phase dem Feld nicht exakt folgen und es kommt zu Reibung und Stößen zwischen den Molekülen und die Materie erwärmt sich.



E = Elektrisches Feld

H = Magnetisches Feld

λ = Wellenlänge (12,2 cm)

Abb. 1-7: Schematische Darstellung einer elektromagnetischen Welle.

Die Fähigkeit der Materie Energie aus dem einstrahlten Feld zu entnehmen wird durch $\tan \delta$, der auch als Verlusttangens bezeichnet wird, beschrieben.

$$\tan \delta = \varepsilon''/\varepsilon'$$

F-1

ε' = Dielektrizitätskonstante

ε'' = dielektrischer Verlust

Die Dielektrizitätskonstante ϵ' ist ein Maß für die Fähigkeit der Materie elektrische Ladung zu speichern, während der dielektrische Verlust ϵ'' den Anteil an zugeführter Energie beschreibt, der durch Dissipation in Form von Hitze frei wird. Daher gilt je größer $\tan \delta$ desto schneller heizt die jeweilige Substanz auf.^[49]

Es gibt zwei verschiedene Arten von Mikrowellengeräten für den Laborgebrauch auf dem Markt. Sie werden als Multimode- und Monomodegeräte bezeichnet. Erstere verfügen ähnlich den üblichen Haushaltsmikrowellen über kein homogenes Mikrowellenfeld am Ort der Reaktionskammer. Ihr Vorteil ist der im Vergleich zu Monomodegeräten einfachere Aufbau, sowie die damit verbundenen niedrigeren Kosten und ein großes Reaktionsvolumen. Nachteil ist, dass das erzeugte Mikrowellenfeld inhomogen ist, d.h. am Ort der Reaktionskammer kommt es zu positiven und negativen Interferenzen der Mikrowellen. Dadurch entstehen so genannte „hot spots“⁵⁰, d. h. temporär begrenzte starke lokale Überhitzungen, die zu schlecht reproduzierbaren Ergebnissen bzw. vermehrter Bildung von Nebenprodukten führen. Monomodegeräte umgehen diesen Nachteil durch einen geeigneten Aufbau, wodurch ein homogenes Mikrowellenfeld gewährleistet wird und keine „hot spots“ entstehen. Reaktionen lassen sich besser reproduzieren, was besonders wichtig für wissenschaftliche und industrielle Zwecke ist.

1.2.2. Anwendung der Mikrowelle in der Polymerchemie

In den vergangenen 40 Jahren hat sich ein exponentiell ansteigendes Interesse an mikrowellengestützten Synthesen in der Polymerchemie abgezeichnet.^[51-60] Hauptgründe dafür sind die in Kapitel 1.2. bereits angesprochenen Vorteile, wie kontaktloses schnelles Heizen oder kürzere Reaktionszeiten.

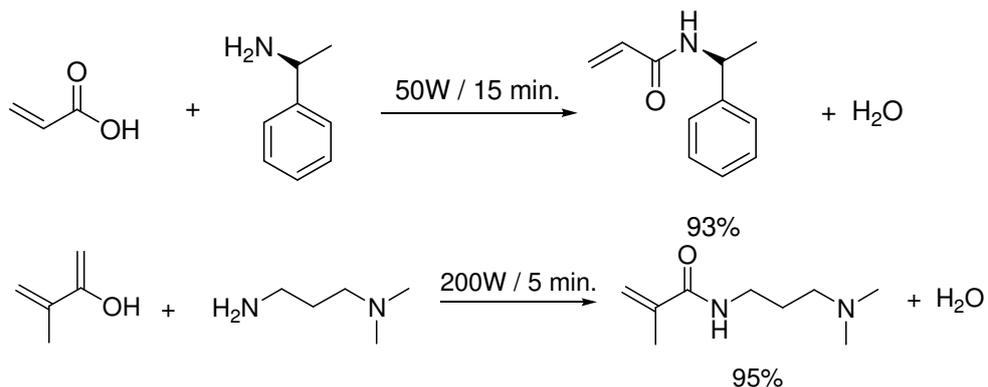
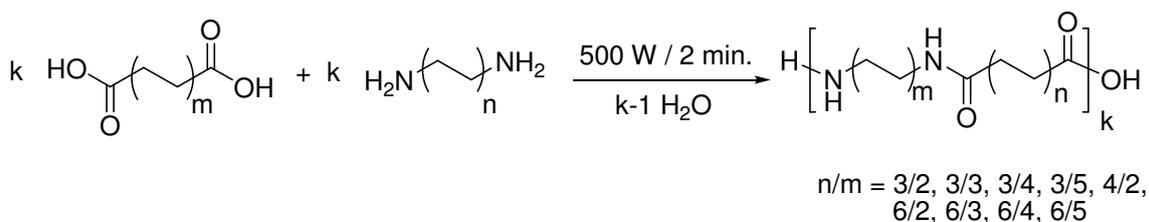


Abb. 1-8: Synthese von Acrylamiden^[61]

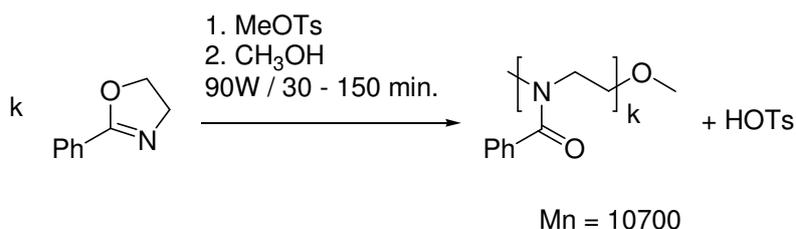
Acrylamide, welche klassisch über das entsprechende Säurechlorid hergestellt werden, sind durch Mikrowellenbestrahlung direkt aus der freien Säure und dem Amin ohne weitere Aktivierungsreagenzien zugänglich (Abbildung 1-8). Die Methacrylamide entstehen dabei mit hohen Ausbeuten und aufgrund der kurzen Reaktionszeiten kommt es auch ohne Einsatz eines Inhibitors nicht zur Polymerisation.

Neben Monomersynthesen sind auch zahlreiche Polymerisationen unter MW-Strahlung durchgeführt worden, wie Abbildung 1-9 a-c zeigt.

a)^[62]



b)^[63]



c)^[64]

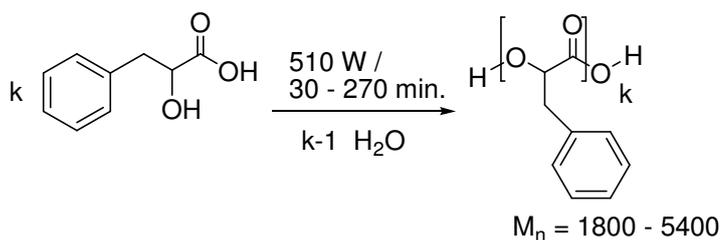


Abb. 1-9 a - c: Synthese von a) Nylon m,n b) Polyphenyloxazolin und c) Poly-(2-hydroxy-3-phenylpropansäure) unter MW- Bestrahlung

Die unter a) und b) aufgeführten Reaktionen sind Beispiele für einen athermischen Mikrowelleneffekt. D. h., die Reaktionen werden unter identischen Bedingungen unter dem Einfluss der Mikrowellenstrahlung deutlich beschleunigt oder laufen unter klassischen Bedingungen überhaupt nicht ab. Die Polyamidierung in a) ähnelt der weiter oben beschriebenen Acrylamidsynthese aus Abbildung 1-8, da es sich ebenfalls um eine Amidierung handelt. Die Reaktionszeiten betragen lediglich wenige Minuten bis zum nahezu quantitativen Umsatz. Grund dafür ist, dass sich das Amin und die Carbonsäure zu einem Ionenpaar zusammenlagern, welches Mikrowellenstrahlung sehr gut absorbiert und sich dabei stark erhitzt. Die in c) gezeigte Synthese von Polymandelsäure wurde nicht im Vergleich zum Ölbad durchgeführt.

1.3. Aufgabenstellung

Hauptziel der vorliegenden Arbeit war es, neue Einsatzmöglichkeiten für Lipasen als umweltfreundliche Alternative zu Metallkatalysatoren in der Synthese von Polyestern zu untersuchen. Die Schwerpunkte lagen dabei auf der Kombination der Enzymchemie mit der Mikrowellenchemie, sowie dem Einsatz der Lipasen in wässrigem Medium für die Polykondensation in Emulsion. Beide Verfahren sind aus anderen Teilbereichen der Polymerchemie bekannt, aber bisher noch nicht im Zusammenhang mit Lipasen untersucht worden.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befasst sich mit der enzymatischen Polyestersynthese in wässrigem Medium unter Verwendung von Emulgatoren. Ziel war es, die Vorteile der enzymatischen Polymerisation mit denen der Emulsionspolymerisation zu kombinieren, um so bessere Polymerisationsresultate zu erzielen. Als Monomere dienten hauptsächlich hydrophobe Diole und Dicarbonsäuren, da aus der Literatur bekannt ist, dass sie enzymatisch gut polykondensierbar sind. Ähnlich dem Verlauf der radikalischen Emulsionspolymerisation, sollten die entstehenden hydrophoben Polyesterpartikel durch Emulgatoren in Wasser stabilisiert werden.

In Kapitel 1.2. wurde bereits auf die Vorteile der Mikrowellenchemie eingegangen. Bisher veröffentlichte Literatur bezüglich des Einflusses der Mikrowellenstrahlung auf Enzyme beschränkt sich aber auf die Darstellung von Einfachestern, während die Synthese von Polyestern noch nicht untersucht worden ist.

ϵ -Caprolacton, welches sich gut mit Lipase als Katalysator polymerisieren lässt, sollte dabei als Modellsystem untersucht werden. Das Hauptaugenmerk lag hier auf der Verbesserung der Polymerisationsresultate, d. h. Erhöhung des Molekulargewichts, höhere Produktausbeuten, schnellere Reaktionszeiten und Verminderung von Nebenprodukten, wie zum Beispiel Makrozyklen. Weitere Untersuchungen mit anderen sowohl literaturbekannten als auch neu synthetisierten zyklischen Estern sollten ebenfalls durchgeführt werden, um weitere Erkenntnisse in Bezug auf den Einfluss der Mikrowellenstrahlung auf die enzymatische Polymerisation zu erlangen.

Als weiterer Aspekt sollte der Einfluss der Mikrowellenstrahlung auf die Chemo- und Stereoselektivität des Enzyms bei der enzymatischen Polymerisation untersucht werden.



Allgemeiner Teil

2.1. Enzymkatalysierte Polykondensation in wässriger Dispersion

Kobayashi et. al. konnten zeigen, dass bestimmte Lipasen in der Lage sind, sowohl Esterpolykondensationen als auch die ringöffnende Polymerisation von Lactonen in wässrigem Medium effektiv zu katalysieren.^[65] Dabei haben sich besonders hydrophobe Diöle und Dicarbonsäuren bzw. Lactone (Abbildung 2-1) als geeignete Substrate herausgestellt. Sie konnten weiterhin zeigen, dass als enzymischer Katalysator die Lipase vom Typ *pseudomonas caepicia* (Lipase PC) die höchste Aktivität besitzt.

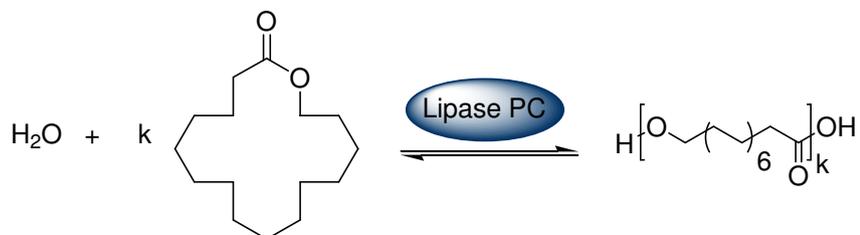


Abb. 2-1: Enzymatische Polymerisation in wässrigem Medium.

Für die in Kapitel 2.1. durchgeführten Untersuchungen wurde deshalb ausschließlich Lipase PC als Katalysator und langkettige Dicarbonsäuren mit $n \geq 4$ und Diole mit $m \geq 6$ eingesetzt. Als weitere Substrate wurden auch verschiedene Diester der Dicarbonsäuren verwendet.

Nach einigen Vorversuchen wurde zur Bestimmung des Einflusses der verschiedenen Reaktionsparameter auf die Polymerisationsergebnisse der folgende Ansatz als Basis- bzw. Startansatz gewählt: 2 g Monomere (Diethylsebacat **1** und 1,10-Decandiol **2**) im equimolaren Verhältnis, 10 Gew.-% des Emulgators in Bezug auf die Monomere, 20 mg Lipase, 10 ml Wasser, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ und $t = 5 \text{ h}$. Für die Optimierung wurde nur jeweils einer der Parameter variiert und alle anderen Parameter konstant gehalten.

2.1.1. Auswahl des geeigneten Emulgators

Die in Abbildung 2-2 dargestellte Polykondensation von Diethylsebacat **1** mit 1,10-Decandiol **2** soll in Gegenwart geeigneter Emulgatoren durchgeführt werden, um den entstehenden Polyester **3** zu dispergieren bzw. das Abscheiden des Polyesters während der Reaktion zu verhindern.

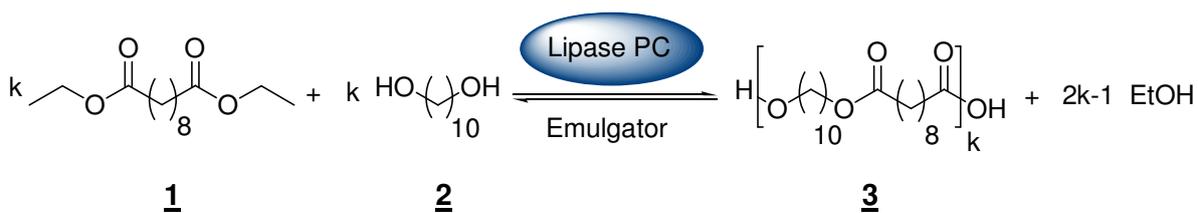
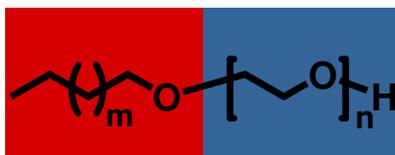


Abb. 2-2: *Enzymatische Polymerisation von Diethylsebacat **1** mit 1,10-Decandiol **2** in wässrigem Medium mit Emulgator.*

Da Lipasen sehr empfindlich auf Veränderungen des Reaktionsmediums reagieren, wurden drei verschiedene Typen von Emulgatoren verwendet und ihr Einfluss auf die Resultate untersucht.

Emulgatoren von Typ Alkyl-PEO

Entsprechend Abbildung 2-3 bestehen Alkyl-PEO Emulgatoren aus einem Fettalkohol und Polyethylenoxid.



hydrophob hydrophil

Fettalkohol PEO

PEO = **P**olyethylenoxid

Abb. 2-3: Struktur eines Alkyl-PEO-Emulgators

Da die stabilisierenden Eigenschaften des Emulgators stark vom Verhältnis zwischen hydrophoben und hydrophilen Teil abhängen, kamen sieben Emulgatoren mit verschiedenen langen Alkyl- und PEO-Ketten zum Einsatz. Eine Übersicht der Emulgatoren ist in Tabelle 2-1 und die zugehörigen Resultate Tabelle 2-2 gegeben.

Tab. 2-1: Übersicht über die Alkyl-PEO-Emulgatoren.

Name	hydrophober Teil (m)	hydrophiler Teil (n)
Dodec 6	9	6
Dodec 9	9	9,2
Dodec 13	9	13,3
Dodec 41	9	41,4
Tetradec 22	11	22,2
Octadec 100	15	100
Octaphen 10	p-C ₈ H ₁₇ C ₆ H ₄ -	10

Zum Vergleich wurde zu Beginn die Polykondensation ohne den Einsatz eines Emulgators durchgeführt. Die Bildung von Polymer konnte zwar beobachtet werden aber wie erwartet, wurde das Polymer nicht stabilisiert und hat sich an der Glaswand abgeschieden. Die Ausbeute nach Ausfällen in Methanol betrug 50 % mit $M_n = 1800$, was mit Ergebnissen früherer Publikationen übereinstimmt.^[66]

Tab. 2-2: Zusammenfassung der Polymerisationsresultate unter Verwendung von Alkyl-PEO-Emulgatoren.

Emulgator	M_n^a [g/mol]	M_w/M_n^a	Partikelgröße ^b [nm]	Ausbeute ^c [%]
–	1800 ^c	1,2	–	50
Tetradec 22	2000	1,9	–	54
Dodec 44	2100	1,9	–	59
Octadec 100	2100	1,7	440	80

^a Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^b Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^c Methanolunlöslicher Anteil.

Bei Verwendung der Emulgatoren mit kurzen PEO-Ketten Dodec 6, 9 und 13 konnte kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Polykondensation ohne Emulgator beobachtet werden. Der entstehende Polyester schied sich ebenfalls an der Glaswand ab und hatte vergleichbare Molekulargewichte. Mit steigender PEO-Kettenlänge bzw. steigender Hydrophilie des Emulgators nahm die stabilisierende Wirkung zu. Während mit Tetradec 22 und Dodec 24 bereits eine signifikante Abnahme an Koagulat beobachtet werden konnte, führte die Verwendung von Octadec 100 zu einer homogenen Dispersion mit Partikelgrößen um 440 nm. Im Vergleich zu den anderen Versuchen fiel das Molekulargewicht mit $M_n = 2100$ höher aus. Auffällig ist dabei auch der Anstieg der Ausbeute an Polymer von 50% auf 80%.

Emulgatoren von Typ PEO-PPO-PEO

Im Falle der PEO-PPO-PEO Triblockcopolymeren (Abbildung 2-4) fungiert der PPO-Block als hydrophober Anteil, während die hydrophilen PEO-Blöcke für die Löslichkeit bzw. die Stabilisierung im wässrigen Medium verantwortlich sind.

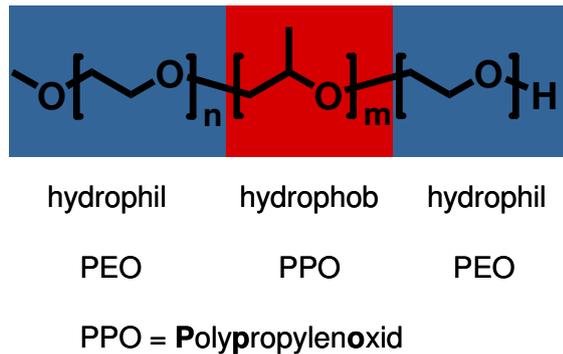


Abb. 2-4: Struktur der PEO-PPO-PEO-Emulgatoren

Tabelle 2-3 fasst die verwendeten Emulgatoren zusammen. Die zugehörigen Ergebnisse sind in Tabelle 2-4 gezeigt. Die Polykondensation verlief hier ebenfalls erfolgreich und bezüglich der stabilisierenden Wirkung konnte ein ähnlicher Trend wie bei den Emulgatoren vom Alkyl-PEO-Typ beobachtet werden. Während sich mit Tri 46 große Mengen an Koagulat bildeten, lief die Reaktion mit dem deutlich hydrophileren Tri 82 ohne Koagulatbildung ab.

Tab. 2-3: Übersicht über die verwendeten Emulgatoren vom Typ PEO-PPO-PEO.

Name	PEO / PPO (w/w) [%]	M_n [g/mol]
Tri 46	40/60	2900
Tri 82	80/20	8350
Tri 82 b	80/20	10400

Tab. 2-4: Zusammenfassung der Polymerisationsresultate unter Verwendung der PEO-PPO-PEO-Emulgatoren.

Emulgator	M_w^a [g/mol]	M_w/M_n^a	Partikelgröße ^b [nm]	Ausbeute ^c [%]
Tri 46	2000	1,8	–	61
Tri 82	1700	2,0	158	72
Tri 82 b	1700	2,2	170	71

^a Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^b Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^c Methanolunlöslicher Anteil.

Im Vergleich mit Octadec 100 fielen sowohl die Ausbeute als auch die Werte für M_n mit 72 % bzw. 1700 etwas niedriger aus, allerdings war die Partikelgröße mit 158 nm deutlich kleiner. Tri 82 und Tri 82 b unterscheiden sich nur hinsichtlich ihres Molekulargewichts, was aber keinen nennenswerten Einfluss auf die Resultate hatte.

Ionische Emulgatoren von Typ R-X

Ionische Emulgatoren bestehen entsprechend Abbildung 2-5 aus einem Alkylrest mit einem ionischen Rest X^\pm , der positiv (kationische Emulgatoren) oder negativ (anionische Emulgatoren) geladen sein kann. Das Gegenion Y^\pm spielt für die Eigenschaften nur eine untergeordnete Rolle.

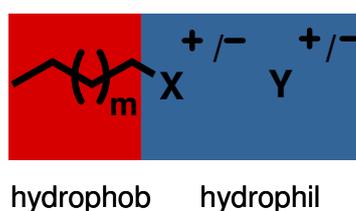


Abb. 2-5: Struktur ionischer Emulgatoren.

Die nachfolgende Tabelle 2-5 zeigt die eingesetzten Emulgatoren und fasst die Resultate zusammen.

Tab. 2-5: Übersicht über die verwendeten Emulgatoren und Zusammenfassung Polymerisationsresultate.

Name	hydrophober Teil (m)	hydrophiler Teil X/Y
CTAC	13	-N(CH ₃) ₃ ⁺ Cl ⁻
SDS	9	-SO ₃ ⁻ Na ⁺

Emulgator	M_w^a [g/mol]	M_w/M_n^a	Partikelgröße ^b [nm]	Ausbeute ^c [%]
SDS	–	–	–	0
CTAC	1300	2,1	211	35

^a Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^b Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^c Methanolunlöslicher Anteil.

Unter Verwendung von Natriumdodecylsulfat, welches ein Standardemulgator für viele Emulsionspolymerisationen ist, konnte keine Polyesterbildung beobachtet werden. Die Monomere lagen nach Ende der Reaktion noch unreaktiv vor. Dies lässt darauf schließen, dass die Lipase deaktiviert wurde und steht im Einklang mit anderen Untersuchungen.^[67]

Ein Gramm Protein kann bis zu 1,4 g SDS absorbieren^[68] und wird deshalb in der Proteinanalytik eingesetzt, da es so die Eigenladung der Proteine überdeckt. Die Fähigkeit zur Absorption basiert auf Wechselwirkungen der hydrophoben Anteile des Proteins mit SDS. Dabei wird das Protein aufgefaltet und somit seine 3D-Struktur zerstört.^[69, 70]

CTAC ist ein anionischer Emulgator mit dem eine zufrieden stellende Emulgierung erreicht werden konnte. Allerdings fielen sowohl die Molekulargewichte als die Ausbeute im Vergleich zu den weiter oben diskutierten stark hydrophilen Emulgatoren auf PEO-Basis deutlich niedriger aus. Auch hier muss ähnlich wie im Fall von SDS beschrieben von einer teilweisen Deaktivierung oder Inhibierung des Enzyms als Ursache für die schlechten Polymerisationsergebnisse ausgegangen werden.

Berücksichtigt man die Ergebnisse für alle Emulgatoren, lässt sich zusammenfassen, dass die besten Ergebnisse mit Octadec 100, Tri 82 und Tri 82 b erreicht wurden, welche stark hydrophile Emulgatoren auf PEO-Basis darstellen. Ionische Emulgatoren zerstören oder deaktivieren das Enzym und sind somit ungeeignet. Für alle weiteren Experimente wurde daher Octadec 100 als Emulgator gewählt.

2.1.2. Einfluss der Reaktionstemperatur

Freie Lipasen haben einen engen Temperaturbereich, in dem sie eingesetzt werden können. Unterhalb dieses Bereichs weisen die Enzyme eine zu geringe Aktivität auf und können die Polymerisation nicht mehr effektiv katalysieren. Oberhalb dieses Bereichs kann es zu Deaktivierung durch Denaturierung kommen, d. h. die Eiweißstruktur wird verändert und damit das Enzym zerstört.^[71] Die Veränderung der Struktur hängt damit zusammen, dass H-Brücken, die maßgeblich für die 3D-Struktur des Enzyms verantwortlich sind, durch Hitzeeinwirkung aufgebrochen werden. Vor allem im wässrigen Medium können sich dann neue Wasserstoffbrücken zum Lösungsmittel ausbilden, wodurch das Protein langsam seine Struktur verändert. Überschreitet die Temperatur einen kritischen Wert, wird das Protein so stark entfaltet, dass das Enzym seine Aktivität verliert.

Um die ideale Temperatur für die Polykondensation zu bestimmen, wurde daher eine Reihe von Versuchen in einem Temperaturbereich von 30 – 70 °C durchgeführt und sowohl Ausbeute als auch Molekulargewicht bestimmt. Tabelle 2-6 fasst die Resultate zusammen.

Das Aktivitätsprofil in Abbildung 2-6 und die Resultate aus Tabelle 2-6 machen deutlich, dass die Polykondensationsergebnisse wie erwartet stark von der Enzymaktivität abhängen. Nach Abbildung 2-6 zeigt die Temperaturabhängigkeit der Aktivität von Lipase PC in Bezug auf die Fettsplaltung ein Maximum zwischen 40 °C und 60 °C, was gut mit den gefundenen Resultaten für die Polykondensation in Tabelle 2-6 übereinstimmt. Mit steigender Temperatur erhöhen sich Molekulargewicht und Ausbeute von $M_n = 1700$ (60%) bei 30 °C auf $M_n = 2100$ (81%) bei 50 °C.

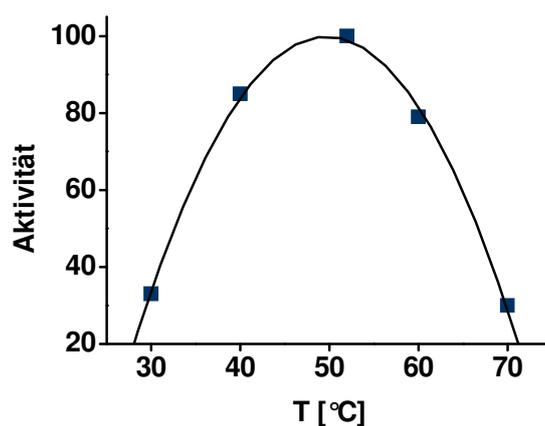
Tab. 2-6: Anhängigkeit der Polykondensationsresultate von der Temperatur.

T	M_n^a	M_w / M_n^a	Partikelgröße ^b	Ausbeute ^c
[°C]	[g/mol]		[nm]	[%]
30	1700	2,1	–	60
40	2000	2,2	210	80
50	2100	1,9	447	81
60	1700	2,1	299	56
70	–	–	–	0

^a Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^b Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^c Methanolunlöslicher Anteil.

Abb. 2-6: Abhängigkeit der Aktivität von Lipase PC von der Temperatur.^[72]

Zudem ergibt sich eine deutlich verbesserte Stabilisierung der Polyesterpartikel bei 40 °C bzw. 50 °C. Für Temperaturen > 60 °C findet man wieder niedrigere Ausbeuten bzw. Molekulargewichte. Überschreitet die Temperatur 70 °C, findet keine Reaktion mehr statt, da die Enzymaktivität zu niedrig wird.

Ein weiterer Effekt, der hier berücksichtigt werden muss, ist die Tatsache, dass die Wasserlöslichkeit der verwendeten Monomere mit der Temperatur ansteigt. Da die Bindungstasche von Lipase PC wie in Abbildung 2-7 gezeigt in der Nähe des katalytischen

Zentrums (Ser-OH) hydrophob ist^[32], wird die Wechselwirkung der Monomere mit dem aktiven Zentrum geschwächt und somit die Reaktivität der Monomere gesenkt.

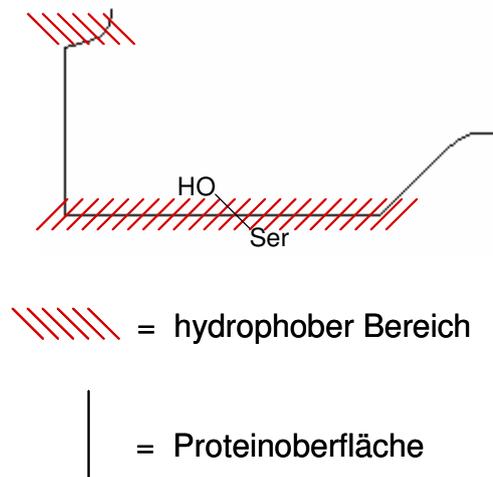


Abb. 2-7: Schematische Darstellung der Bindungstasche von Lipase PC.

Damit konnte gezeigt werden, dass das Temperaturprofil von Lipase PC die Polykondensationsresultate dominiert, woraus sich 45 °C – 55 °C als optimaler Temperaturbereich in dem die Polykondensation durchgeführt werden kann, ergibt.

2.1.3. Einfluss der Reaktionszeit

Die in früheren Publikationen angegebene Reaktionszeit für die Polykondensation unter ähnlichen Bedingungen betrug mindestens 24 h^[66], da bei kürzeren Reaktionszeiten keine nennenswerten Ausbeuten bzw. Molekulargewichte erreicht werden konnten. Zur Bestimmung der optimalen Reaktionszeit im vorliegenden Fall wurde die zeitliche Entwicklung des Molekulargewichts bis zum Erreichen des Gleichgewichtswertes untersucht. Die Durchführung erfolgte mit dem in Kapitel 2.1. beschriebenen Standardansatz unter Berücksichtigung der bis hier ermittelten optimalen Parameter von 50 °C als Reaktionstemperatur und Octadec 100 als Emulgator.

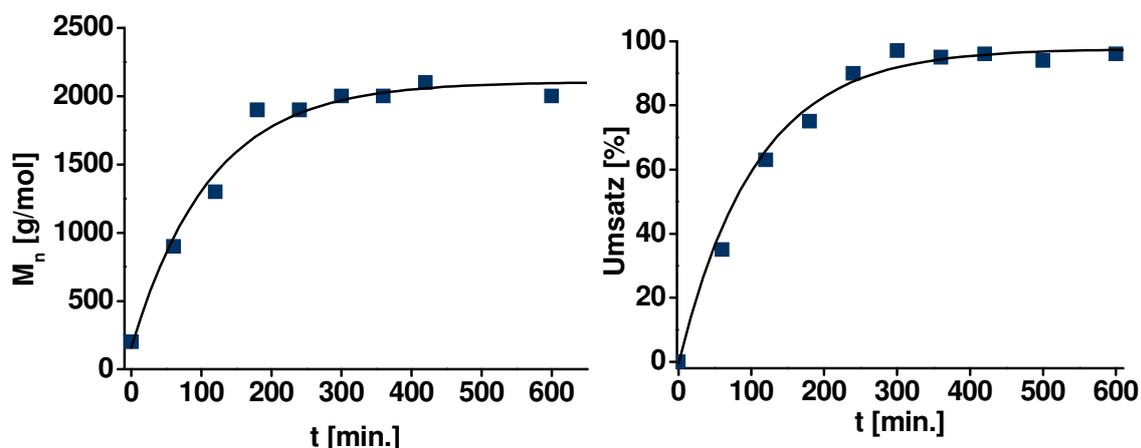


Abb. 2-8: Zeitliche Entwicklung des Molekulargewichts (links) und des Umsatzes (rechts).

In Abbildung 2-8 erkennt man, dass das Molekulargewicht zu Beginn stetig ansteigt bevor sich bei 300 min. der Gleichgewichtswert von $M_n = 2000$ einstellt. Für deutlich längere Reaktionszeiten (24 h) konnte keine Erhöhung des Molekulargewichts festgestellt werden. Zur Überprüfung dieses Ergebnisses wurde der Umsatz durch HPLC-Messungen bis zu seiner Konstanz verfolgt. In Übereinstimmung mit obigem Befund stieg der Umsatz kontinuierlich auf 97 % nach 300 min. an und blieb danach konstant. Die Ergebnisse machen deutlich, dass Reaktionszeiten von 5 – 6 h ausreichend sind, da trotz längerer Reaktionszeiten keine Verbesserung der Polykondensationsresultate mehr beobachtet werden konnte.

Wie aus der modifizierten Carothers-Gleichung (F-2) hervorgeht, muss das Verhältnis zwischen den Säure- und Alkoholmonomeren möglichst nahe bei Eins liegen, damit hohe Polykondensationsgrade erreicht werden.

$$\bar{X}_n = \frac{(1+r)}{(1+r-2rp)}$$

F-2

r = molares Einwaageverhältnis

p = Umsatz

Wie in Abbildung 2-8 dargestellt, beträgt der Umsatz 97% und demnach ist $p = 0,97$. Nimmt man einem großzügigen Einwaagefehler von 5 % an, d. h. eines der Monomere ist im 5 %igen Überschuss vorhanden, ergibt sich:

$$r = \frac{1}{1,05} = 0,952 \quad \text{und} \quad \bar{X}_n = \frac{1 + 0,952}{1 + 0,952 - 2 \cdot 0,952 \cdot 0,97} \approx 19$$

Der theoretisch erreichbare Polykondensationsgrad von 19 entspricht einem M_n von ca. 6500 und liegt somit deutlich über den experimentellen Werten. Es ist daher anzunehmen, dass die Molekulargewichte keine höheren Werte erreichen, da die Reaktion in wässrigem Medium stattfindet. Das heißt, trotz des stark hydrophoben Mizelleninneren wird Wasser zu einem geringen Anteil in die Mizelle diffundieren und somit das Gleichgewicht der Polykondensation in Richtung der Edukte verschieben. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass die Säure- und Alkoholmonomere eine unterschiedlich starke Tendenz zum Eintritt in die Mizellen haben. Somit liegt mikroskopisch kein stöchiometrisches Verhältnis mehr vor, was nach F-2 in deutlich niedrigeren Werten für den Polykondensationsgrad resultiert.

2.1.4. Optimale Emulgatorkonzentration

Die Stabilität und die Partikelgröße von Dispersionen hängen maßgeblich von der Emulgatorkonzentration ab. Wird eine kritische Emulgatorkonzentration unterschritten, können die entstehenden Polymerpartikel nicht mehr ausreichend stabilisiert werden und die Dispersion destabilisiert.^[73]

Abbildung 2-9 zeigt die Abhängigkeit der Partikelgröße von der Emulgatorkonzentration. Besonders auffällig dabei ist, dass die Partikelgröße ein Maximum bei 5 % hat und jenseits davon kleiner wird. Der Theorie nach erwartet man einen stetigen Anstieg der Partikelgröße mit sinkender Emulgatorkonzentration, da die Mizellenkonzentration abnimmt und somit mehr Polymer pro Mizelle stabilisiert werden muss. Dies führt zu einem Anstieg der Mizellengröße bis sich nicht mehr genügend Emulgatormoleküle auf der Oberfläche befinden, um die Mizellen vor Agglomeration zu schützen.

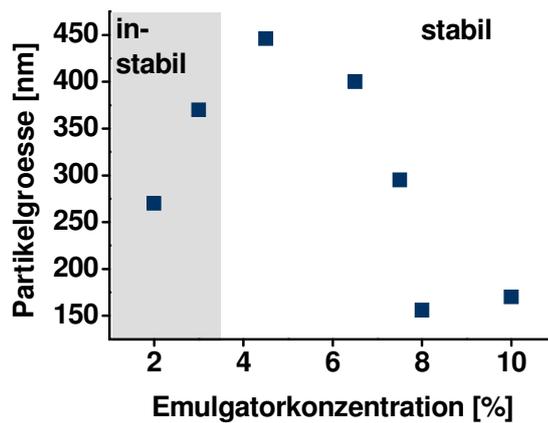


Abb. 2-9: Abhängigkeit der Stabilität der Dispersion von der Emulgatorkonzentration.

Betrachtet man den chemischen Aufbau der Monomere bzw. des Polymers lässt sich das abweichende Verhalten damit erklären, dass gemäß der unten gezeigten Abbildung 2-10 im Verlauf der Polykondensation das eingesetzte Diethylsebacat **1** durch die Lipase entweder mit 1,10-Decandiol **2** umgeestert oder mit Wasser hydrolysiert wird.

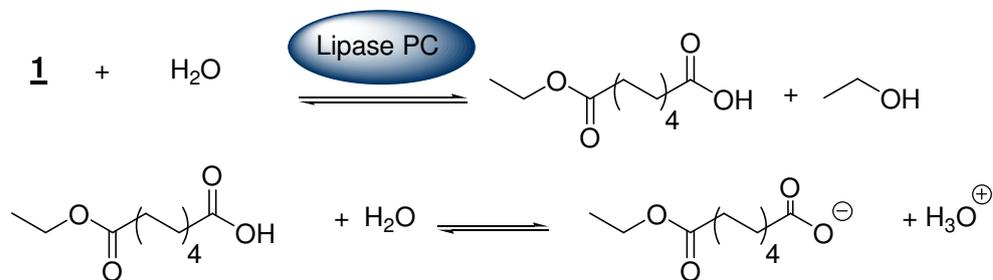


Abb. 2-10: Hydrolyse und Deprotonierung von **1**.

Die entstehende freie Carboxylgruppe der Sebacinsäure hat pKs-Werte von $\text{pKs}_1 = 4,55$ bzw. $\text{pKs}_2 = 5,52$, so dass unter den Versuchsbedingungen ein Teil der Carboxylgruppen deprotoniert vorliegt.

Dadurch haben alle Spezies mit freien Carboxylgruppen einen hydrophoben und einen hydrophilen Anteil. Sie sind somit oberflächenaktiv und können zusätzlich zur Stabilisierung der Mizelle beitragen, so dass auch bei niedrigen Emulgatorkonzentrationen

noch eine ausreichende Stabilisierung gewährleistet ist.^[74] Unterschreitet die Emulgatorkonzentration 3 Gew. %, angedeutet durch den grauen Bereich in Abbildung 2-9, wurde kurz nach Starten der Reaktion eine verstärkte Koagulatbildung beobachtet, die schließlich zum vollständigen Niederschlag des Polymers führte. Für Emulgatorkonzentrationen > 5 Gew. % nahm die Partikelgröße erwartungsgemäß ab und erreichte bei 8 Gew. % ihr Minimum von 157 nm. Danach konnte keine nennenswerte Veränderung mehr beobachtet werden. Für die weiteren Untersuchungen wurden 6,5 Gew. % als Emulgatorkonzentration gewählt, da hier eine ausreichende Stabilisierung auch für andere Monomersysteme gewährleistet sein sollte.

2.2. Untersuchung verschiedener Substrate

Wie in Kap. 2.1. gezeigt, wurden verschiedene Monomersysteme als Substrate für die Polykondensation in wässrigem Medium verwendet. Dabei kamen Diole und Dicarbonsäuren unterschiedlicher Kettenlänge sowie verschiedene Diester der Carbonsäuren zum Einsatz. Die Reaktionen wurden entsprechend den ermittelten optimalen Reaktionsparametern durchgeführt und der Einfluss auf die Polykondensationsresultate untersucht.

2.2.1. Diole und Dicarbonsäuren als Substrate

Diole wie 1,2-Ethandiol, 1,3-Propandiol oder 1,4-Butandiol oder Dicarbonsäuren wie 1,6-Hexandicarbonsäure, die üblicherweise für die Synthese von Polyestern verwendet werden, zeigen eine hohe Wasserlöslichkeit und stellen aus den in Kap. 2.1.2. erwähnten Gründen schlechte Substrate dar. Daher kamen, wie in Abbildung 2-11 zusammengefasst, vorwiegend Substrate mit mäßiger oder schlechter Wasserlöslichkeit zum Einsatz. Um den Einfluss der Diolkettenlänge zu untersuchen, wurden die Diole **2** und **5** - **8** mit Sebacinsäure **4** unter Bildung der Polyester **3** und **9** - **12** umgesetzt und die Ergebnisse verglichen.

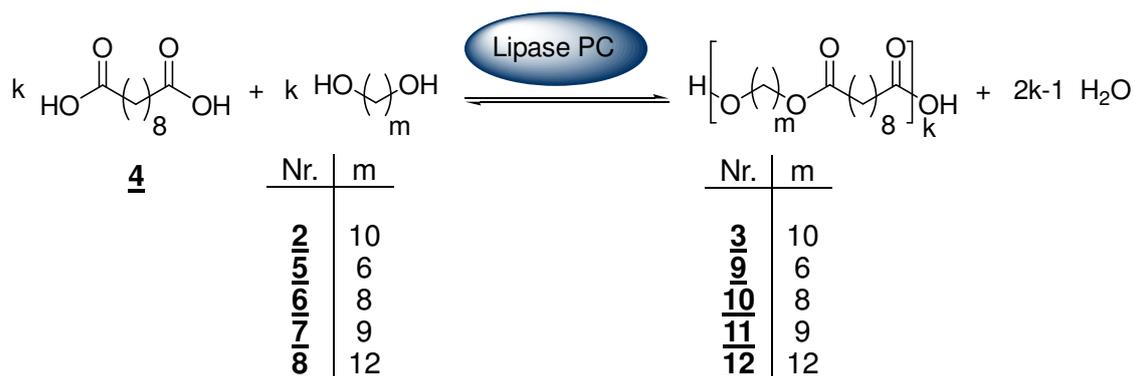


Abb. 2-11: Verwendete Diole und Dicarbonsäuren.

Eine Zusammenfassung der Polykondensationsresultate ist in Tabelle 2-7 gegeben. 1,6-Hexandiol 5, welches noch komplett wasserlöslich ist, zeigte keine Reaktion, was durch die GPC-Analyse bestätigt wurde, da keine Kondensate gefunden wurden. Im Fall von 1,8-Octandiol 6 und 1,9-Nonandiol 7 bildete sich ebenfalls keine Dispersion aber Kondensate mit $M_n = 400$ wurden nachgewiesen.

Tab. 2-7: Polykondensationsresultate mit variabler Kettenlänge des Alkohols.

Monomersystem ^a	M_n^b	M_w/M_n^b	Partikelgröße ^c	Ausbeute ^d
n / m	[g/mol]		[nm]	[%]
8 / 6	-	-	-	-
8 / 8	400	1,9	-	-
8 / 9	400	1,8	-	-
8 / 10	2400	1,5	300	83
8 / 12	1000	1,9	160	30

^a n = Kettenlänge der Dicarbonsäure; m = Kettenlänge des Diols.

^b Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^c Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^d Methanolunlöslicher Anteil.

Als Hauptgrund für die schlechte Reaktivität dieser Diole ist die vergleichsweise hohe Hydrophilie zu nennen, die dazu führt, dass die Moleküle in wässrigem Medium nicht gut

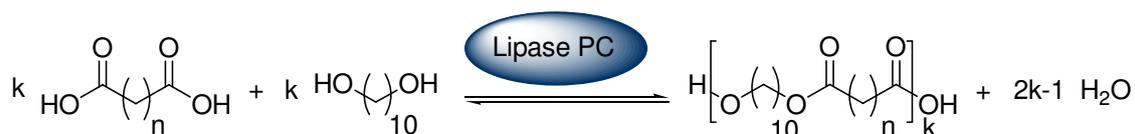
vom hydrophoben aktiven Zentrum des Enzyms erkannt werden (siehe Kap. 2.1.2, Abb. 2-7). 1,10-Decandiol **2**, welches eine sehr niedrige Wasserlöslichkeit aufweist, zeigte eine deutlich bessere Reaktivität. Eine Dispersion mit Partikelgrößen von 300 nm und $M_n = 2400$ wurde erhalten. Im Verlauf der Reaktion war deutlich zu erkennen, wie aus dem anfänglich uneinheitlichen Gemisch eine einheitlich weiße Dispersion entstand.

Entgegen den Erwartungen verschlechterten sich die Polykondensationsresultate dramatisch beim Übergang zu 1,12-Dodecandiol **8**. Obwohl es das Hydrophobste der verwendeten Dirole darstellt, konnte nur ein teilweiser Umsatz beobachtet werden. Die Dispergierung des entstehenden Polyesters **12** verlief dabei ebenfalls ungenügend. Analyse des filtrierten Gemischs ergab, dass die entstandenen Partikel mit 160 nm deutlich kleiner waren als im Fall der anderen Dispersionen, was vermutlich auf den geringen Umsatz zurückzuführen ist. Es entsteht weniger Polyester, wodurch die Mizellen kleiner werden.

Aus der Literatur ist bekannt, dass Lipasen Kettenlängenselektivität zeigen.^[75, 76] Man versteht darunter das Phänomen, dass Substrate mit einer bestimmten Kettenlänge bevorzugt umgesetzt werden. Laut Literatur werden im Fall von Lipase PC Substrate mit C_8 -Einheiten am meisten bevorzugt. Die Gründe für dieses Verhalten sind noch nicht vollständig geklärt. Die Bindungstasche hat wie in Abbildung 2-7 skizziert, zwei deutlich ausgeprägte hydrophobe Bereiche, so dass grundsätzlich hydrophobe, also länger-kettige Substrate besser mit der Bindungstasche wechselwirken können.

Untersuchungen haben zudem gezeigt, dass durch gezielte Punktmutationen, d. h. durch Austauschen einer oder mehrerer Aminosäuren entlang der Bindungsbereiche innerhalb der Bindungstasche unter Erhaltung der katalytischen Triade, die Kettenlängenselektivität stark beeinflusst wird. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass nicht nur geometrische Ursachen sondern hauptsächlich die Stabilisierung des Substrats innerhalb der Bindungstasche durch van-der-Waals-Wechselwirkungen für die bevorzugte Kettenlänge ausschlaggebend ist.

Um den Einfluss der Kettenlänge der Dicarbonsäuren zu evaluieren, wurde in der folgenden Versuchsreihe immer 1,10-Decandiol **2** zusammen mit Dicarbonsäuren variabler Kettenlänge **13** - **16** verwendet (Abbildung 2-12), wobei die Polyester **17** – **20** entstehen. Es fällt auf, dass sich die Dicarbonsäuren bezüglich der Reaktivität ähnlich den Diolen verhalten, wie die in Tabelle 2-8 aufgeführten Ergebnisse verdeutlichen. Von den fünf getesteten Dicarbonsäuren konnte mit 1,6-Hexandicarbonsäure **13** und 1,7-Heptandicarbonsäure **14** keine Polyesterbildung beobachtet werden.



Nr.	n
13	6
14	7
15	9
16	10

Nr.	m
17	6
18	7
19	9
20	10

Abb. 2-12: Polykondensation mit verschiedenen Dicarbonsäuren.

Tab. 2-8: Polykondensationsresultate mit variabler Kettenlänge der Dicarbonsäure.

Monomersystem ^a	M_n^b	M_w/M_n^b	Partikelgröße ^a	Ausbeute ^d
n / m	[g/mol]		[nm]	[%]
6 / 10	-	-	-	-
7 / 10	-	-	-	-
9 / 10	2300	1,7	318	78
10 / 10	1500	1,8	160	30

^a n = Kettenlänge der Dicarbonsäure; m = Kettenlänge des Diols.

^b Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^c Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^d Methanolunlöslicher Anteil.

Die Tatsache, dass keine Reaktion stattfindet, obwohl beide Monomere eine niedrige Löslichkeit in Wasser zeigen und eine für das Enzym geeignete Kettenlänge aufweisen, verdeutlicht, dass neben dem oben besprochenen Einfluss der Hydrophilie im Fall der freien Dicarbonsäuren noch der Einfluss des pH-Werts hinzu kommt.

In Abbildung 2-13 sind das pH-abhängige Aktivitätsprofil von Lipase PC (rechts) und die pH-Werte der verschiedenen Monomeransätze (links) bei der jeweiligen Temperatur vor Zugabe des Enzyms abhängig von der Kettenlänge der Dicarbonsäure gezeigt.

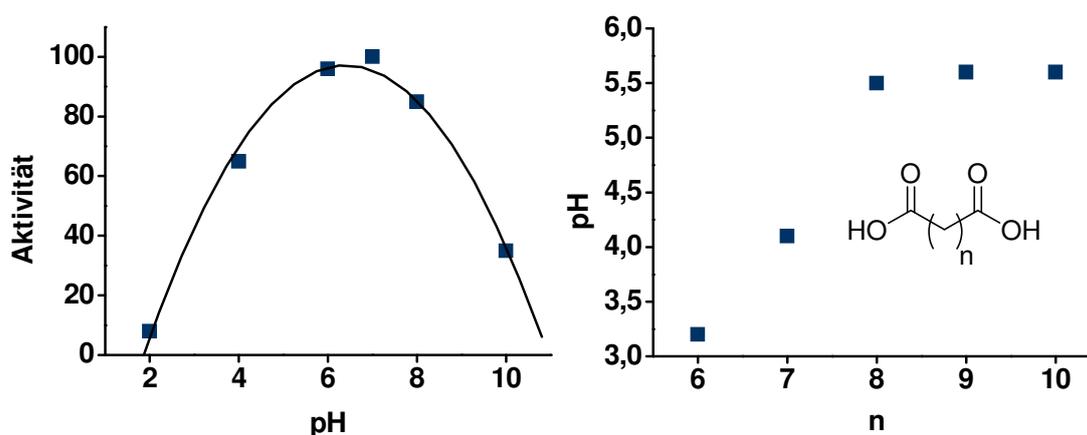


Abb. 2-13: Abhängigkeit der Enzymaktivität vom pH-Wert^[72] (links) und Abhängigkeit der pH-Werte der Dicarbonsäuren von der Kettenlänge (rechts).

Erwartungsgemäß nimmt der pH-Wert mit abnehmender Kettenlänge von 5,5 für Sebacinsäure **4** auf fast 3 für 1,6-Hexandicarbonsäure **13** ab. Die zugehörigen relativen Enzymaktivitäten bei pH 3 und 4 betragen 50 % bzw. 70 % und sind damit deutlich erniedrigt.

In zwei zusätzlichen Experimenten wurde die Reaktion mit Sebacinsäure **4** und 1,10-Decandiol **2** in 10^{-3} bzw. 10^{-4} molarer Salzsäure durchgeführt und somit ein vergleichbar niedriger pH-Wert simuliert. Obwohl beide Monomere unter neutralem pH eine hohe Reaktivität aufweisen, fand im sauren Milieu keine Reaktion statt.

Aus dem Katalysemechanismus in Abb. 1-5 wird deutlich, dass Histidin den tetraedrischen Übergangszustand durch Wasserstoffbrücken stabilisiert. Der pKs-Wert der NH-Gruppe des Heterozyklus im Histidin beträgt 6. Der pKs₁-Wert von Azelainsäure liegt bei 4,5, d.h. die NH-Gruppe sollte durch Azelainsäure protoniert werden, wodurch die stabilisierende Wirkung verloren geht.

Mit weiter ansteigender Kettenlänge nimmt die Reaktivität deutlich zu. Neben der bereits besprochenen Sebacinsäure **4** lieferte auch 1,9-Nonandicarbonsäure **15** gute Resultate. Eine homogene Dispersion mit Partikelgrößen von 318 nm und $M_n = 2300$ g/mol konnte erhalten werden. Interessant war, dass sich der Trend für 1,10-Decandicarbonsäure **16** nicht weiter fortgesetzt hat. Obwohl dieses Monomer die am schwächsten saure und am schlechtesten lösliche Dicarbonsäure ist, konnte nur eine eingeschränkte Reaktivität beobachtet werden. Während der Reaktion haben sich größere Mengen an Koagulat gebildet und die Analyse ergab, dass das entstandene Polymer nur einen M_n von 1000 hatte und somit deutlich kleiner als im Fall der beiden kleineren Homologen ausfiel. Damit werden die Beobachtungen, die für die Diolreihe gemacht wurden, untermauert. Es zeigt weiterhin, dass die Kettenlängenselektivität einen starken Einfluss auf die Enzymreaktivität hat.

Die Reihenfolge der Reaktivität der verschiedenen Diole und Dicarbonsäuren steigt damit in der unten gegebenen Reihenfolge:

Reaktivität der Diole (n): $6 \approx 9 < 8 < 12 < 10$

Reaktivität der Dicarbonsäuren (m): $6 \approx 7 < 10 < 9 \approx 8$

2.2.2. Dicarbonsäureester als Substrate

Lipase hat eine hohe Grenzflächenaktivität, d. h. sie reagiert besonders gut an der Grenzfläche mit hydrophoben flüssigen Substraten, wie zum Beispiel Fetten. Im unpolaren Medium vollzieht sich dabei eine Konformationsänderung der Bindungstasche, wobei das aktive Zentrum für Substrate zugänglicher wird. Man nennt diese Konformation daher auch offene Konformation.^[77]

Die bisher eingesetzten freien Dicarbonsäuren sind bei der gegebenen Reaktionstemperatur Feststoffe. Deshalb sollte ein deutlicher Unterschied in der Reaktivität beim Übergang von den freien Dicarbonsäuren zu den entsprechenden flüssigen Estern auftreten. Entsprechend Abbildung 2-14 kamen für die Untersuchung die Methyl ester verschiedener Dicarbonsäuren **21** – **24** zum Einsatz.

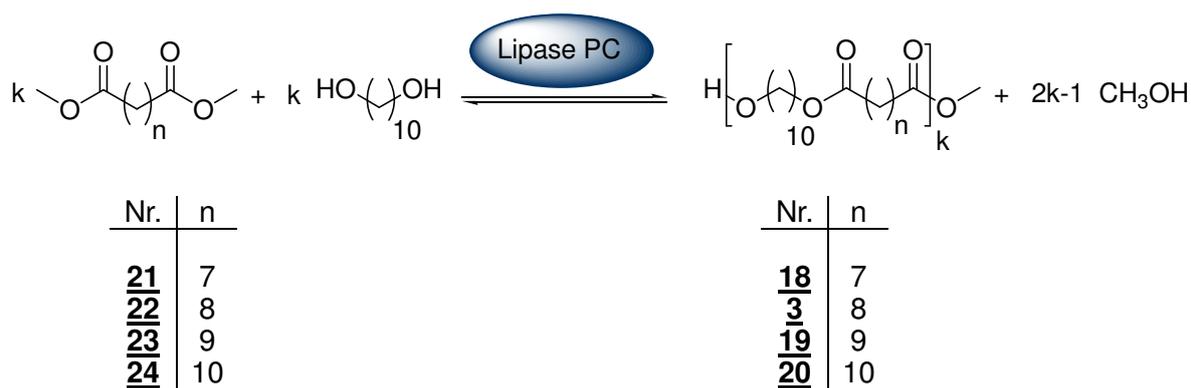


Abb. 2-14: Polykondensation verschiedener Methylester mit 1,10-Decandiol 2.

Tabelle 2-9 fasst die Ergebnisse unter Verwendung der verschiedenen Methylester, welche zum Vergleich alle mit 1,10-Decandiol 2 polykondensiert wurden, zusammen.

Die Ester der Sebacinsäure 22 und 1,9-Nonandicarbonsäure 23, welche schon als freie Säure eine hohe Reaktivität aufwiesen, reagierten ebenfalls sehr gut unter Bildung von Dispersionen mit veränderten Partikelgrößen von 342 bzw. 178 nm.

Tab. 2-9: Polykondensation von Dicarbonsäureestern mit 1,10-Decandiol 2.

Ester	M_n^a	M_w/M_n^a	Partikelgröße ^b	Ausbeute ^c
n	[g/mol]		[nm]	[%]
7	1400	2.1	472	30
8	2300	1.6	342	76
9	2000	1.7	178	73
10	2500	1.6	142	82

^a Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 40 °C in THF.

^b Bestimmt durch dynamische Lichtstreuung bei niedrigen Konzentrationen bei 25 °C.

^c Methanolunlöslicher Anteil.

Die M_n -Werte für die Polyester 3 und 19 betragen 2300 und 2000 und fallen damit kleiner aus als im Fall der freien Säure. Wie die Fotos in Abbildung 2-15 zeigen, entsteht dabei aus dem anfänglich inhomogenen Gemisch (a) langsam eine Dispersion.

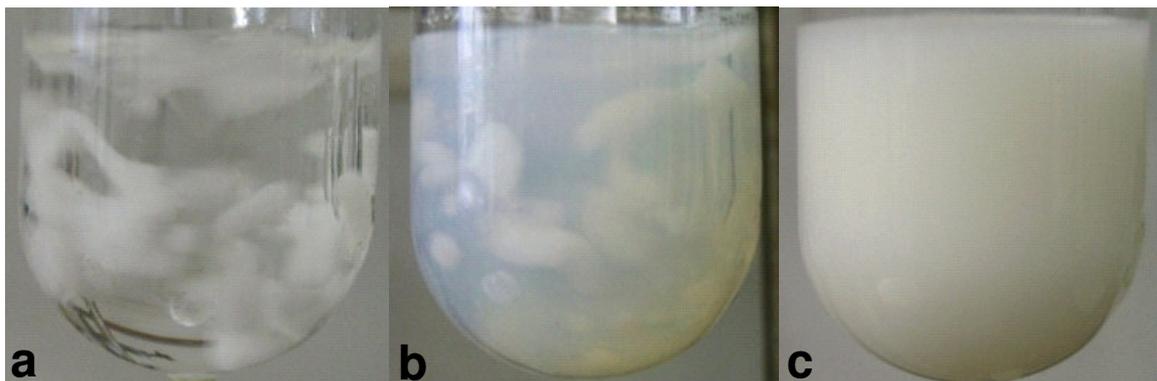


Abb. 2-15: Bildung von Polyesterdispersion nach a) 0 min., b) 15 min., c) 60 min.

In Abbildung b ist eine leichte Blaufärbung zu erkennen, die auf die Bildung kleiner Partikel hindeutet. Mit zunehmender Reaktionsdauer wachsen die Mizellen, weshalb die Dispersion weiß wird (c). Die nachfolgenden Abbildungen 2-16 a-c stellen die Größenverteilungen der gebildeten Partikel exemplarisch mit **23** als Säuremonomer dar.

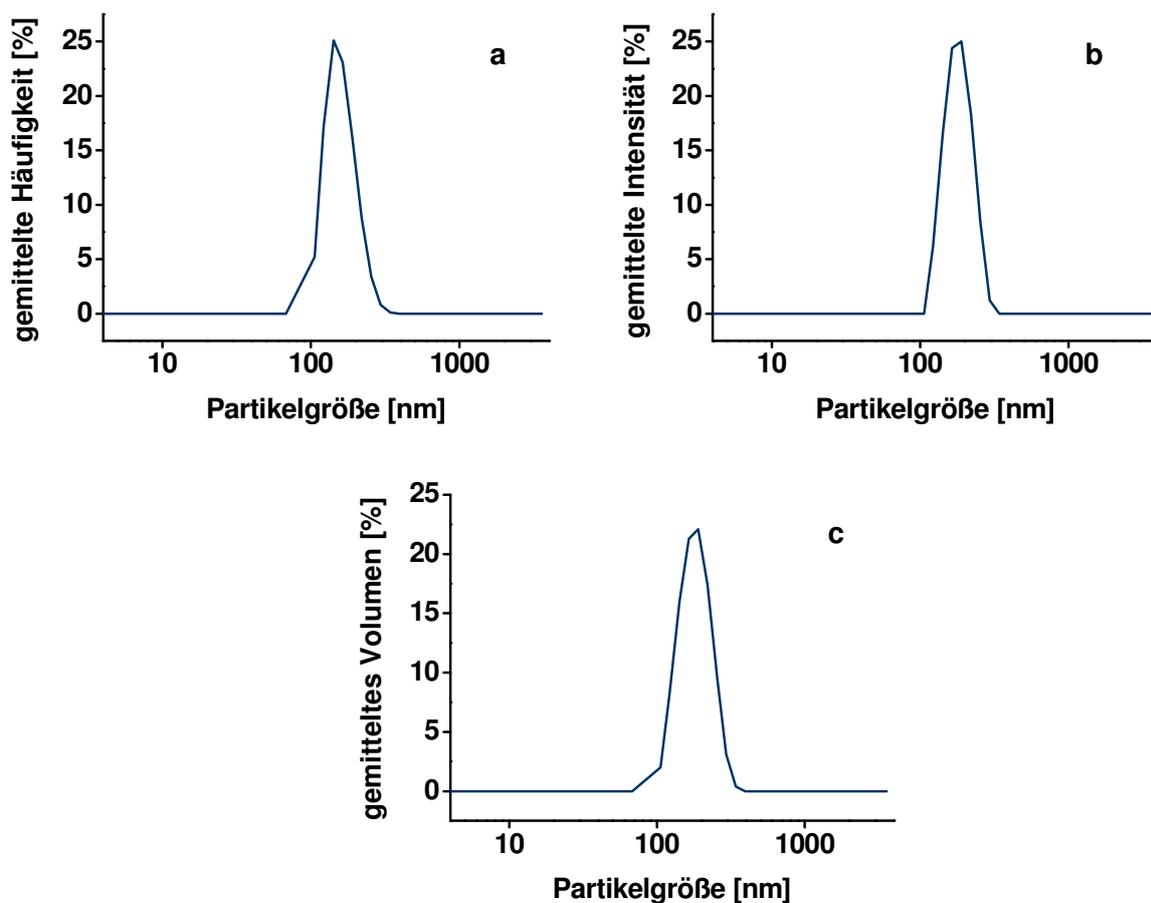


Abb. 2-16: Größenverteilung der Partikel gemittelt nach a) Intensität, b) Volumen und c) Anzahl.

Die gebildete Dispersion zeigt eine sehr enge Partikelgrößenverteilung in allen drei Fällen und die monomodale Verteilung deutet darauf hin, dass kein Koagulat entstanden ist.

Der Ester der 1,7-Heptandicarbonsäure **21** lieferte deutlich schlechtere Ergebnisse. Mit $M_n = 700$ und 30 % Ausbeute konnte allerdings im Vergleich zur freien Säure eine verbesserte Reaktivität festgestellt werden. Dieses Resultat ist ein weiteres Indiz dafür, dass die Reaktivität der einzelnen Säurederivate unter anderem durch deren Azidität dominiert wird. Im Fall des Esters tritt der Effekt allerdings nicht zu Beginn auf, da noch keine freien Säuregruppen vorhanden sind. Der pH-Wert beträgt zu Beginn der Reaktion erwartungsgemäß 7 und nimmt erst im Verlauf der Reaktion durch die Bildung freier Säuregruppen auf 4,5 ab, was beinahe dem Wert der freien Säure entspricht.

Bei Verwendung von 1,10-Decandicarbonsäuredimethylester **24** konnten mit $M_n = 2500$ und 82 % Ausbeute die besten Ergebnisse realisiert werden. Die weiter oben diskutierte Kettenlängenselektivität scheint hier keinen Einfluss mehr auf die Reaktivität zu haben. Die Ester- bzw. Carboxylgruppe befindet sich in der Gegend des oberen hydrophoben Bereichs der Bindungstasche (Abb. 2-7). Im Gegensatz zur COOH-Gruppe sollte sich der hydrophobere Ester aber deutlich besser stabilisieren können, d. h. die Wechselwirkung mit der Bindungstasche wird stärker, was eine höhere Reaktivität verursacht.

2.2.3. Einfluss des Estertyps auf die Polykondensation

Dass die Dimethylester die besseren Substrate sind, konnte im vorigen Kapitel gezeigt werden. Allerdings stellt sich die Frage, ob auch die höheren Ester gute Substrate darstellen. Dazu wurden neben den in den Kapiteln 2.1. besprochenen 1,8-Octandicarbonsäurediethyl- und dimethylester **1** und **22** noch die Dipropyl- **25** und Dibutylester **26** synthetisiert und umgesetzt (Abbildung 2-17).

Mit allen Estern wurden Dispersionen erhalten, allerdings zeigten sich einige interessante Trends. In Abbildung 2-18 wurden die Molekulargewichte und die Ausbeuten gegen die Anzahl der C-Atome des Alkohols im Ester aufgetragen. Sowohl Molekulargewicht als auch die Ausbeute nehmen mit steigender Anzahl an C-Atomen deutlich von 2400 und 83 % auf 800 und 56 % ab.

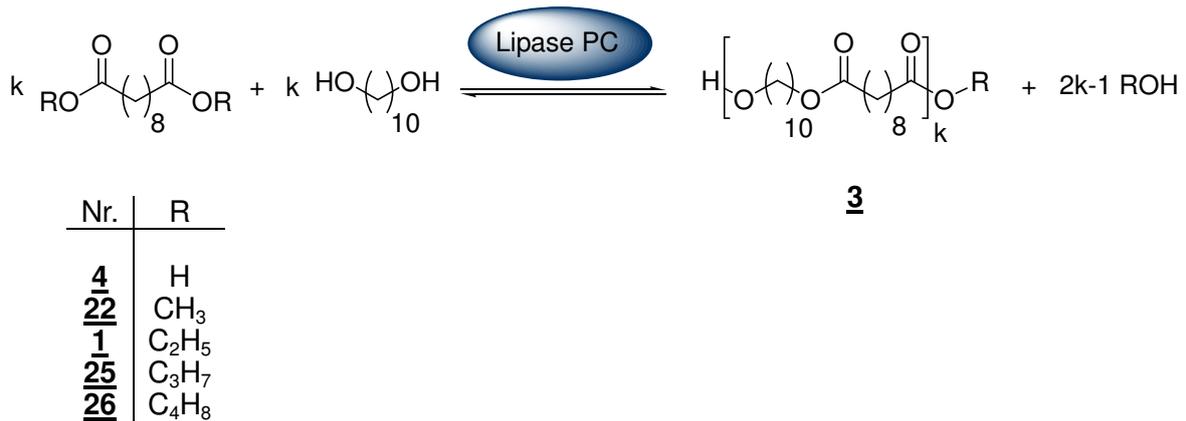


Abb. 2-17: Polykondensation von 1,10-Decandiol **2** mit verschiedenen Dicarbonsäureestern

In den vorherigen Kapiteln wurde bereits auf den Einfluss der Hydrophobie des Substrats bei der Erkennung durch das Enzym hingewiesen. Mit steigender Kettenlänge des abgespaltenen Alkohols nimmt dessen Hydrophobie und somit die Fähigkeit des Enzyms, diesen als Substrat zu erkennen, zu. Das heißt, das Gleichgewicht wird stärker als bei der freien Säure in Richtung der Edukte verschoben.

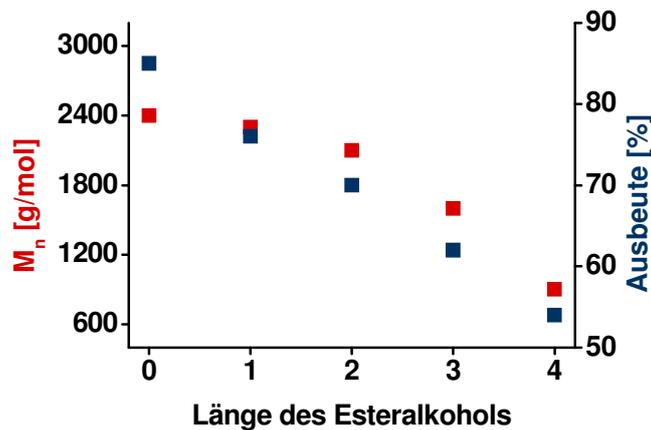


Abb. 2-18: Abhängigkeit des Molekulargewichts und der Ausbeute vom Estertyp.

Weiterhin haben Landfester et. al. in ihren Arbeiten zur säurekatalysierten Polykondensation von freien Alkoholen und Säuren in Miniemulsion postuliert, dass

innerhalb der Mizelle entstehendes Wasser aus dem hydrophoben Mizelleninneren in die umgebende wässrige Phase diffundiert und somit das Gleichgewicht in Richtung des Esters verschoben wird.^[74] Umgekehrt bedeutet dies aber, dass hydrophobere Substrate eine geringere Tendenz zum verlassen der Mizelle haben sollten. D. h., mit wachsender Kettenlänge des Alkohols wird sich die Alkoholkonzentration in der Mizelle erhöhen und das Gleichgewicht der Polykondensation in Richtung der Edukte verschieben.

Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen diese These, da das Sinken des Molekulargewichts auf eine erhöhte Konzentration des Alkohols in der Mizelle hindeutet und es dadurch zu vermehrter Alkoholyse des Esters kommt. Betrachtet man zusammenfassend die Ergebnisse für alle Ester, wird die Annahme, dass Ester die besseren Substrate sind, klar bestätigt.

2.3. Enzymatische Polyestersynthese unter dem Einfluss von Mikrowellenstrahlung

Der Einsatz von Mikrowellenstrahlung hat in jüngerer Zeit viel Aufmerksamkeit erregt, da neben den Vorteilen wie kontaktloses und schnelles Heizen in der Literatur über so genannte athermische Mikrowelleneffekte berichtet wird (Kapitel 1.2.).^[78-81] Es handelt sich dabei um Effekte, die unter klassischen Bedingungen, d.h. durch Heizen zum Beispiel im Ölbad, nicht beobachtet werden.

Der nachfolgende Abschnitt befasst sich daher mit der Untersuchung solcher athermischer Mikrowelleneffekte im Falle der enzymatischen Polymerisation. Dazu wurden verschiedene sowohl bekannte Lactone als auch noch nicht untersuchte Lactone als Monomere eingesetzt. Eine Übersicht gibt die nachfolgende Abbildung 2-19.

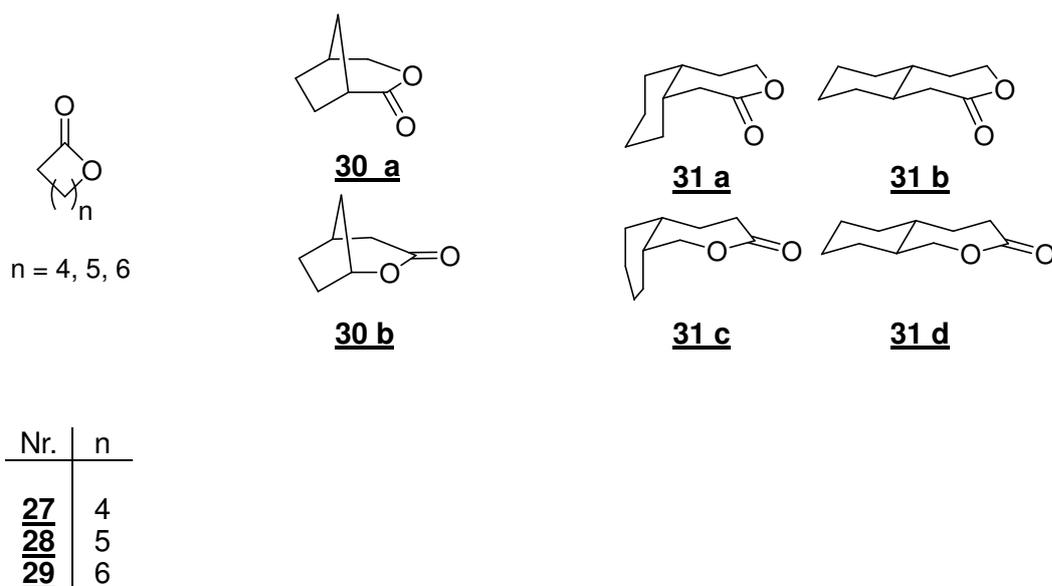


Abb. 2-19: Übersicht über die in der vorliegenden Arbeit synthetisierten Lactone.

Neben verschiedenen Lactonen wurde auch die Homopolymerisation von **27** mit verschiedenen monofunktionellen und bifunktionellen Initiatoren im Mikrowellenfeld untersucht.

2.3.1. Nachweis von Mikrowelleneffekten

Um die Existenz solcher Effekte nachweisen zu können, wurden Vergleichsexperimente unter möglichst identischen Reaktionsbedingungen im Ölbad vorgenommen. Als besonders schwierig hat sich dabei die Kontrolle der Temperatur erwiesen. Das in dieser Arbeit verwendete Mikrowellengerät verfügt über einen eingebauten Infrarottemperaturmesser, der allerdings abhängig vom betrachteten System Abweichungen von über 50 °C zur realen Temperatur zeigen kann und somit für genaue kinetische Betrachtungen unbrauchbar ist.

Eine weitere Option ist ein fiberoptischer Temperatursensor, der umgeben von einem geschlossen dünnwandigen Glasrohr in die Reaktionslösung eingeführt wird und somit die intrinsische Temperatur misst. Die vom Hersteller angegebene Abweichung beträgt ± 2 °C, was eine genügend hohe Genauigkeit darstellt.

Da die Konzentration bei vielen Reaktionen einen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit hat, müssen die Konzentrationen der beiden Reaktionslösungen ebenfalls gleich sein.

Die oben genannten Kriterien lassen sich am elegantesten realisieren, indem man die Reaktionen unter Rückfluss durchführt. Der Siedepunkt des Reaktionsgemischs stellt dabei die Reaktionstemperatur dar und ist damit für beide Reaktionen identisch. In der Literatur sind zwar Überhitzungen des Lösungsmittels unter dem Einfluss von Mikrowellenstrahlung bekannt^[82, 83], da die Lösungen aber stark gerührt werden, kann dieser Effekt hier vernachlässigt werden.

Zusätzlich sollten sich die Temperaturprofile, d.h. vor allem die Aufheizraten zwischen den beiden Ansätzen so wenig wie möglich unterscheiden. Da das Aufheizen in der Mikrowelle vor allem bei Verwendung polarer Lösungsmittel sehr schnell verläuft, empfiehlt es sich, das Ölbad deutlich über den Siedepunkt des verwendeten Lösungsmittels einzustellen, um hier ebenfalls ein schnelles Aufheizen zu garantieren.

Stellt man anstatt zweier separater Ansätze für die Reaktion in der Mikrowelle und der Vergleichsreaktion im Ölbad einen (doppelten) Stammansatz her und teilt diesen in zwei Hälften, ist zudem sichergestellt, dass die beiden Lösungen identisch sind.

2.3.2. Lipasenkatalysierte ROP von CL unter Mikrowellenbestrahlung^[84]

Polycaprolacton **32** stellt ein sehr vielseitiges Polymer dar, welches in der Industrie ein breites Anwendungsspektrum findet.^[85] In zahlreichen Publikationen konnte gezeigt werden, dass das siebengliedrige Lacton **27** ein sehr gutes Substrat für die enzymatische ROP darstellt.^[86-91]

Dabei hat sich Novozym 435, welches eine auf einer Acrylmatrix immobilisierte Lipase ist, als besonders effektiv herausgestellt (Abb. 2-20). Die Polymerisation kann dabei sowohl in Lösung als auch in Substanz durchgeführt werden. Es hat sich gezeigt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit sowohl von der Polarität des Lösungsmittels als auch von der Temperatur stark Abhängig ist.^[92]

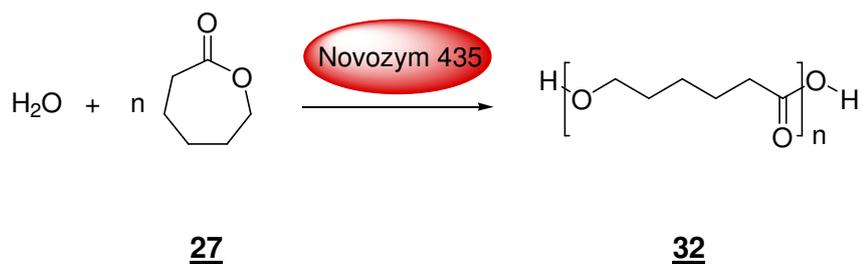


Abb. 2-20: Lipasenkatalysierte ROP von CL **27**.

Für die nachfolgenden Untersuchungen wurden daher fünf Lösungsmittel unterschiedlicher Polarität und Siedepunkt ausgewählt und die Resultate, die im Ölbad bzw. unter MW-Bestrahlung erhalten wurden, verglichen. Die Untersuchungen wurden gemäß den in Kapitel 2.3.1. beschriebenen Vorgaben durchgeführt. Tabelle 2-10 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tab. 2-10: Vergleich der Polymerisationsresultate im Ölbad und unter MW-Bestrahlung für die enzymatische ROP von CL **27** in verschiedenen siedenden Lösungsmitteln.

LM	T ^a	P	Ausbeute ^b		Umsatz ^c		M _n ^d		M _w /M _n	
	[°C]		[W]	[%]		[%]		[g/mol]		
			MW	Δ	MW	Δ	MW	Δ	MW	Δ
THF	71	100	-	-						
Dioxan	109	100	-	-						
Toluol	116	100	5		22		3000		1,5	
		200	6	16	31	64	2600	3500	1,8	2,0
		300	4		30		3000		2,2	
Benzol	86	100	10		41		3200		1,3	
		200	14	40	57	83	3000	4500	2,0	2,8
		300	9		31		2800		1,8	
Ether	38	100	30		56		5300		1,7	
		200	31	21	62	49	5800	4900	1,7	1,7
		300	32		60		5800		1,9	

^a Die Innentemperaturen wurden mittels einer fiberoptischen Temperatursonde gemessen.

^b Methanolunlöslicher Anteil.

^c Bestimmt mittels ¹H-NMR Spektroskopie.

^d Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 25 °C in THF.

Erwartungsgemäß konnte im Fall von Tetrahydrofuran (THF) und Dioxan keine Reaktion beobachtet werden, da sie zu polar sind. Auch unter dem Einfluss von MW-Bestrahlung änderte sich die Reaktivität nicht. Beim Übergang zu den unpolaren Lösungsmitteln Toluol, Benzol und Diethylether konnte Polymer isoliert werden. Überraschenderweise ergaben sich hier deutliche Unterschiede in der Reaktivität zwischen Ölbadversuchen und den Versuchen unter MW-Bestrahlung. Die Abbildungen 2-21 a-c zeigen die entsprechenden Kinetiken.

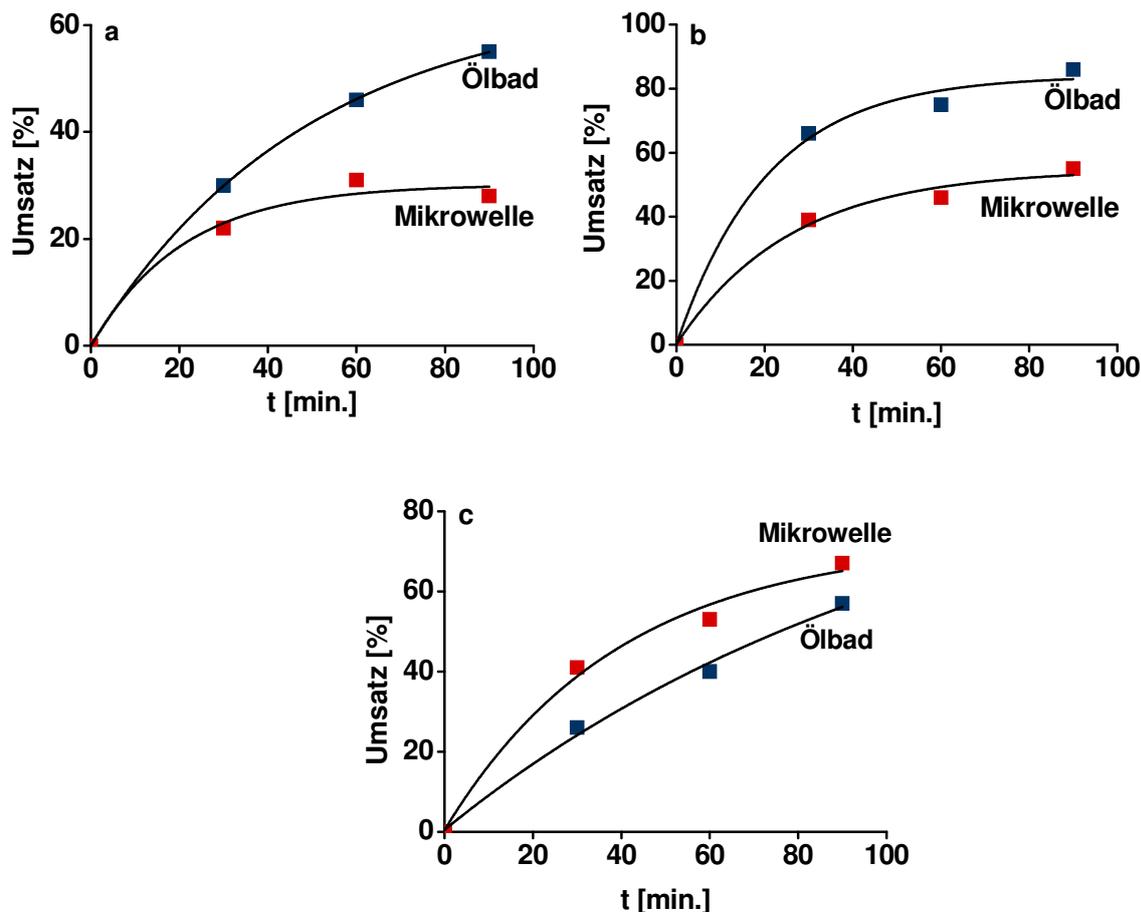
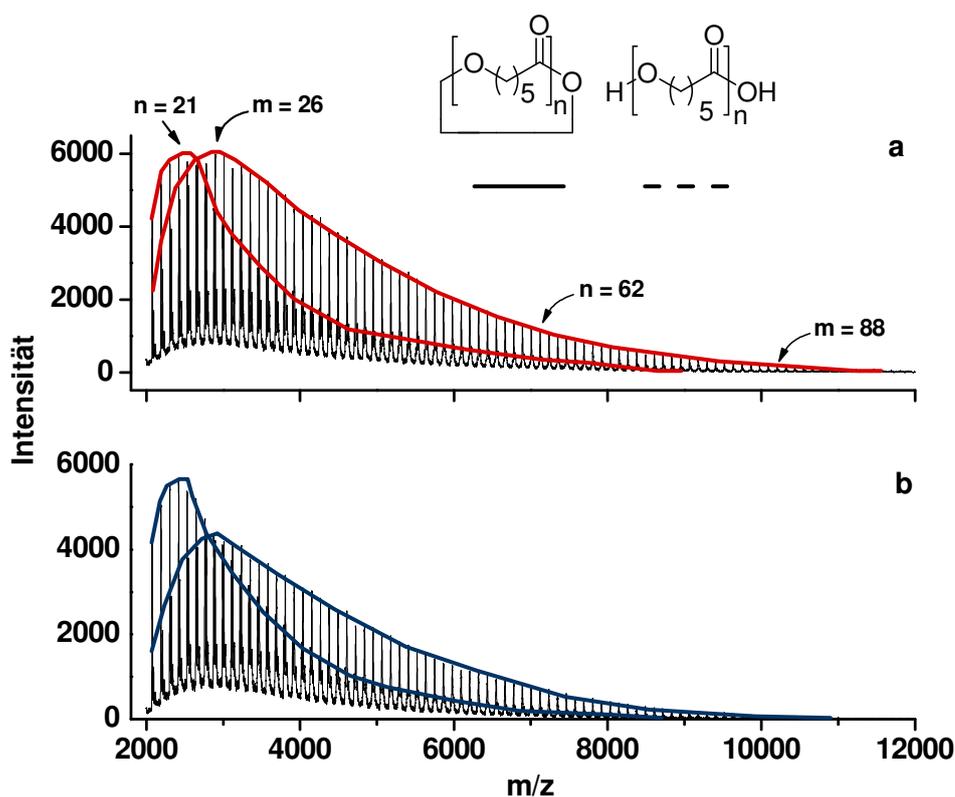


Abb. 2-21 a - c: Kinetiken der enzymatischen ROP von 27 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung bei Verwendung verschiedener Lösungsmittel a) Toluol, b) Benzol und c) Diethylether.

Bei Verwendung von Toluol erreichte der Monomerumsatz sein Maximum bei 30 % nach 60 min. und blieb danach konstant (a). Dieses Ergebnis indiziert einen teilweisen MW-induzierten Denaturierungsprozess des Enzymproteins. Im Gegensatz dazu stieg der Umsatz im Ölbad kontinuierlich an. Ein ähnliches Verhalten konnte im Fall von siedendem Benzol als Lösungsmittel beobachtet werden (b). Ein völlig umgekehrtes Verhalten zeigte sich im Fall von Diethylether. Offensichtlich führte der Einsatz von MW-Strahlung zu einem beschleunigten Monomerumsatz (c). Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt kann ein besserer Fit zwischen dem aktiven Zentrum des Enzyms und dem Substrat unter milden Bedingungen sein. Aus Abbildung 1-10 wird deutlich, dass der Übergangszustand während des Veresterungsprozesses polarer ist als der Grundzustand. Berechnungen

haben gezeigt, dass sich polare Übergangszustände unter dem Einfluss von MW-Bestrahlung besser stabilisieren als unter klassischen Bedingungen. Dies führt dann zu einer niedrigeren Aktivierungsenergie bzw. einer höheren Reaktionsgeschwindigkeit.^[93] Die gravimetrisch bestimmten Ausbeuten und die Molekulargewichte bestätigten die kinetischen Untersuchungen. Im Fall von MW-induziertem Heizen führte die ROP in siedendem Toluol und Benzol zu geringeren Mengen an isoliertem Polyester, während im Fall von siedendem Diethylether höhere Ausbeuten realisiert werden konnten. Die Resultate der GPC-Messungen wiesen die gleiche Tendenz auf. Für die MW-gestützten ROP's in Toluol und Benzol wurden niedrigere M_n -Werte gemessen, während die Reaktion in Diethylether zu Polycaprolacton **32** mit größeren M_n -Werten führte (Tabelle 2-10).

In Abbildung 2-22 a-d sind die MALDI-TOF Spektren der der Proben hergestellt in siedendem Diethylether unter 200 W Bestrahlung (a) bzw. im Ölbad (b) dargestellt. In guter Übereinstimmung mit den obigen Resultaten zeigt sich eine deutliche Verschiebung der Signale zu höheren m/z -Werten im Spektrum der Probe, die unter MW-Bestrahlung hergestellt wurde. Die vergrößerten Ausschnitte bestätigen, dass die Initiierung der ROP durch Wasser erfolgte, da die m/z -Werte Polymeren mit endständigen OH- und COOH-Gruppen entsprechen.



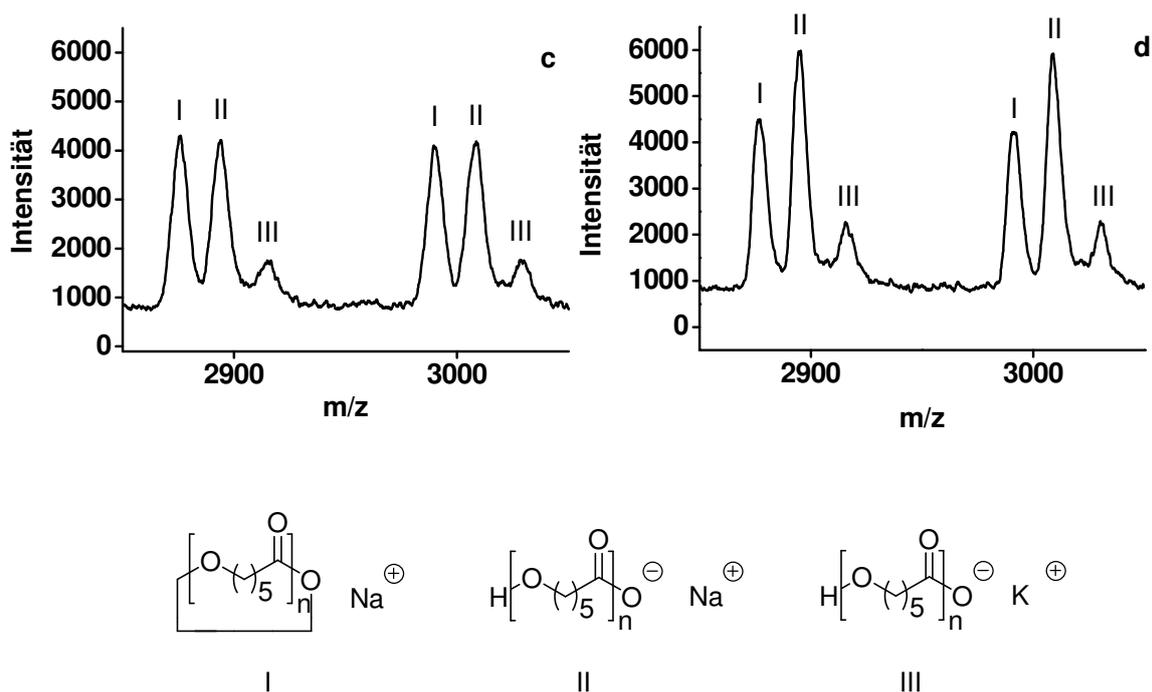


Abb. 2-22 a-d: MALDI-TOF-Spektren der Proben hergestellt im Ölbad a), c) und unter MW-Bestrahlung b), d).

Es ist aus der Literatur bekannt, dass bei der Verwendung von Lipasen im Vergleich zur klassischen Synthese mit Metallkatalysatoren, größere Anteile an makrozyklischen Spezies entstehen.^[94] Aus Abbildung 2-22 geht hervor, dass sich in beiden Fällen Makrozyklen bilden. Die Ursachen sind noch ungeklärt, aber die Bildung auf Grund von so genanntem „back biting“ ist wahrscheinlich. D. h., dass wie in Abbildung 2-23 angenommen, die wachsenden Ketten mit sich selber unter Bildung von Makrozyklen reagieren. Dabei greift das Enzym an einer Polymerkette an und spaltet diese. Die an das Enzym gebundene Polyesterkette verfügt über eine freie endständige OH-Gruppe, welche leicht Wasserstoffbrücken zu an der Proteinoberfläche befindlichen Aminosäuren bzw. Amidgruppen ausbilden kann. Als Folge sollte die Bildung von Makrozyklen durch diesen Template-Effekt stark begünstigt sein.

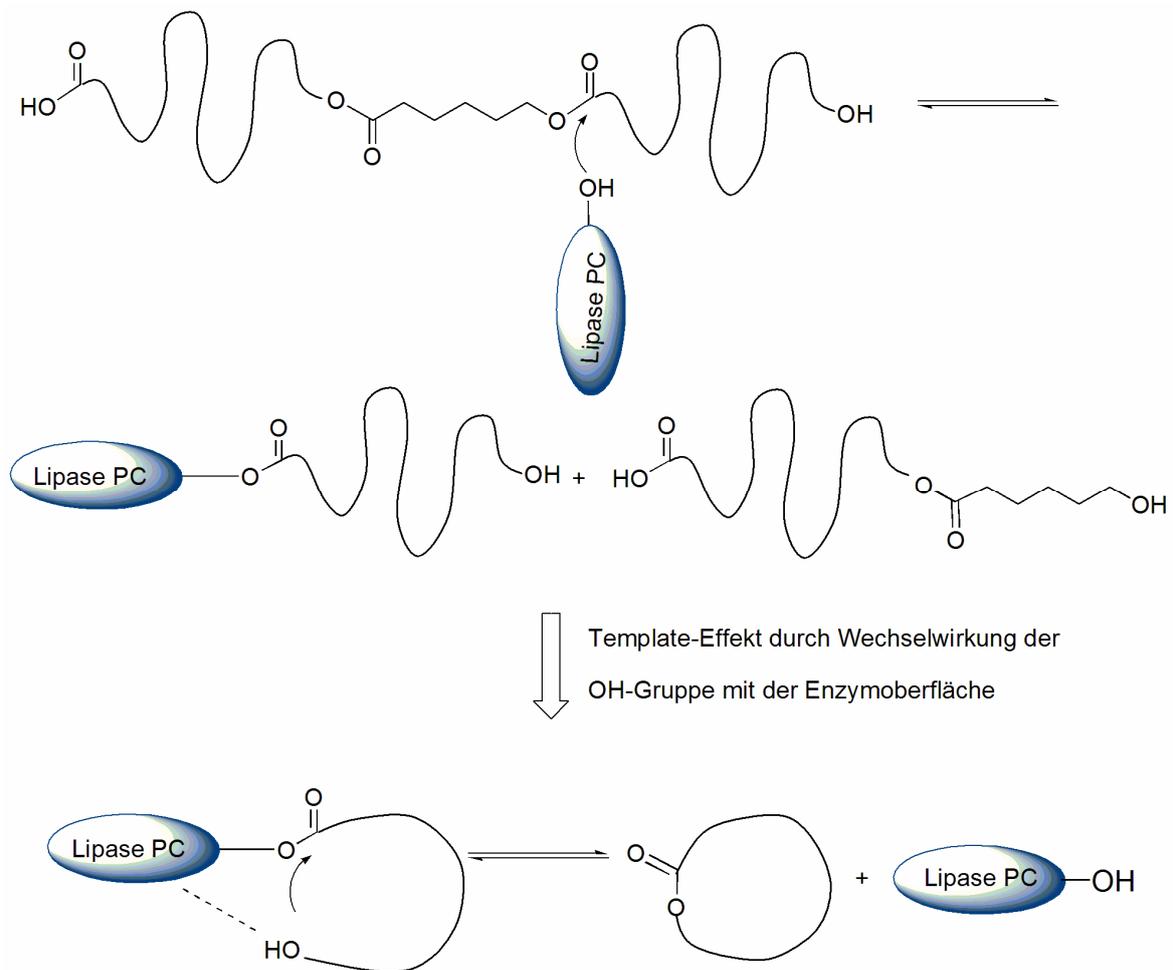


Abb. 2-23: Angenommener Mechanismus zur Bildung von Makrozyklen.

Zusätzliche Experimente mit Variation der Bestrahlungsintensität blieben ohne Auswirkungen sowohl auf den Monomerumsatz als auch auf die Ausbeute.

Um MW-induziertes Überhitzen des Lösungsmittels auszuschließen wurden die Temperaturprofile im Ölbad und unter MW-Bestrahlung verglichen. Die Aufheizraten waren vergleichbar, da in beiden Fällen die Reaktionstemperatur von 37 °C (OB) und 38 °C (MW) nach 30 s bzw. 35 s erreicht wurden.

2.3.3. Untersuchungen zur Enzymstabilität unter MW-Bestrahlung

Bei Betrachtung der Resultate, die in siedendem Toluol und Benzol gefunden wurden, stellt sich die Frage, ob der negative MW-Effekt durch eine temporäre Deaktivierung während der ROP hervorgerufen wird, oder ob es sich um eine dauerhafte Denaturierung des Enzyms handelt. Besonders im Falle von Benzol, welches als 20 gew. %ige Mischung mit CL einen Siedepunkt von 86 °C aufweist, sollte noch keine signifikante hitzeinduzierte Deaktivierung auftreten. Frühere Untersuchungen ergaben, dass die optimale Reaktionstemperatur für die ROP von 27 mit Novozym 435 zwischen 75 und 90 °C liegt.^[92]

Zur Untersuchung einer MW-induzierten Deaktivierung wurde ein Stammansatz viergeteilt und zwei Mal zwei aufeinander folgende Polymerisationen mit jeweils der gleichen Enzymcharge (bezeichnet als A und B) durchgeführt und die Versuche mit 1 A und 1 B bzw. mit 2 A und 2 B bezeichnet.

Die Versuche 1 A und 1 B erfolgten unter MW-Bestrahlung bzw. im Ölbad. Das verwendete Enzym wurde abfiltriert und direkt für die Versuche 2 A und 2 B im Ölbad eingesetzt. Wird das Enzym nicht durch MW-Bestrahlung verändert, sollten die Ergebnisse der Versuche 2 A und 2 B gleich sein. Als Parameter wurde der Monomerumsatz bestimmt mittels ¹H-NMR herangezogen.

Die Abbildungen 2-24 a-c zeigen die Resultate für die Lösungsmittel Toluol, Benzol und Diethylether. Im Fall von Toluol (a) bestätigen die Resultate der Versuche 1 A und 1 B die obigen Ergebnisse, da unter MW-Bestrahlung deutlich niedrigere Umsätze erhalten wurden. Auffällig dagegen ist in 2 A und 2 B der deutlich schlechtere Umsatz bei Verwendung der Enzymcharge A. Bei Annahme einer temporären Deaktivierung sollten die Umsätze im zweiten Lauf annähernd gleich sein. Dass in Versuch 2 A ein deutlich geringerer Umsatz erhalten wird, zeigt, dass es sich hier um eine MW-induzierte dauerhafte Zerstörung des Enzyms während des Versuchs 1 A handeln muss.

Für Benzol (b) zeigt sich im zweiten Lauf ebenfalls, dass der Umsatz mit der MW-Enzymcharge A geringer ausfällt. Allerdings ist der Effekt deutlich schwächer ausgeprägt im Vergleich zu Toluol, so dass eine MW-induzierte Denaturierung nicht die alleinige Ursache für den negativen MW-Effekt sein kann.

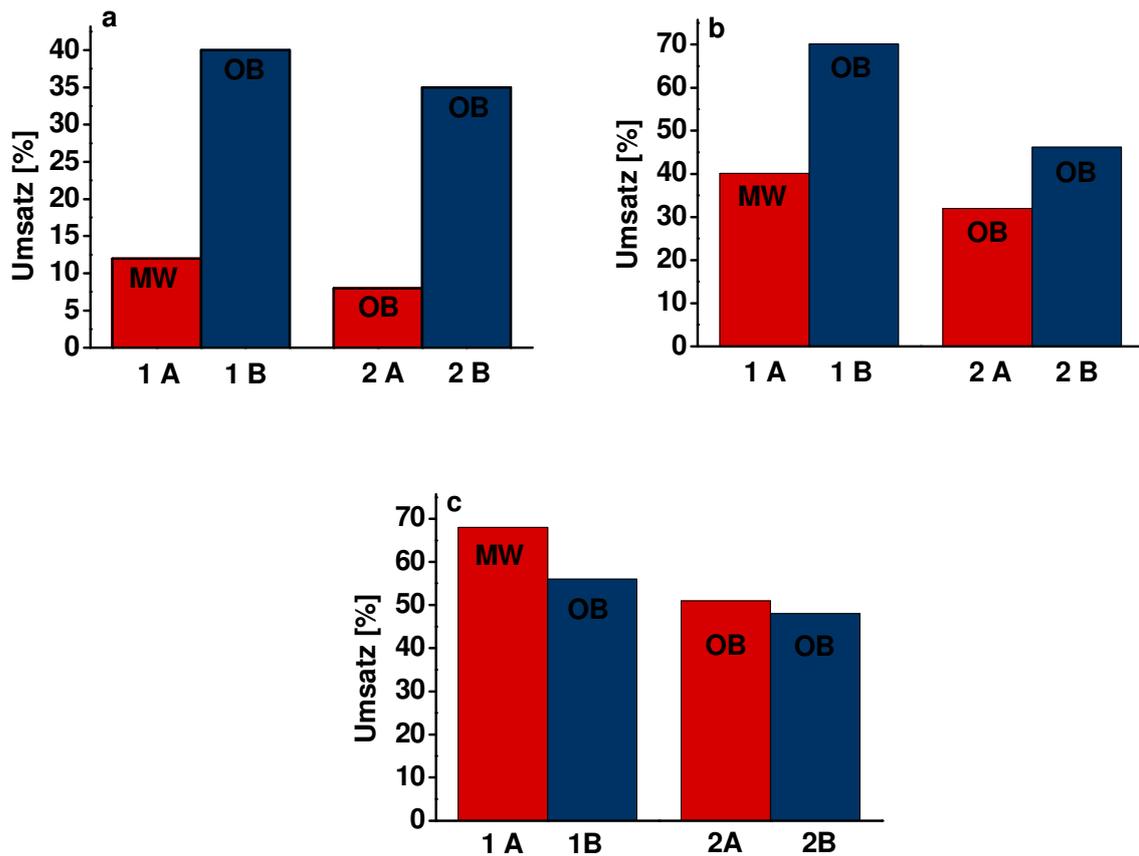


Abb. 2-24 a-c: Enzymstabilität unter MW-Bestrahlung in a) Toluol, b) Benzol und c) Diethylether.

Die Resultate deuten darauf hin, dass der thermischen Denaturierung eine weitere Veränderung der Enzymstruktur durch MW-Bestrahlung überlagert ist. Die amidischen Bindungen in Proteinen haben ein sehr hohes Dipolmoment.^[95] Sie wechselwirken daher sehr stark mit MW-Strahlung, was wie in Kap. 1.3.2. erläutert, in (Molekül)bewegung in Form von Vibration und Rotation resultiert. Dies scheint auch die für die Tertiär- und Quartärstruktur des Proteins verantwortlichen Wasserstoffbrücken zu beeinflussen. Werden diese gebrochen, entfaltet sich das Protein und verliert seine Aktivität.

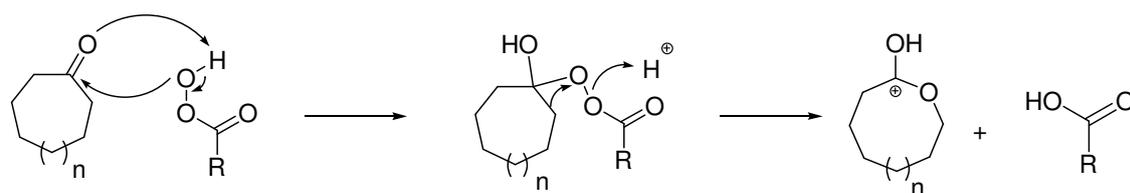
Das Phänomen scheint aber stark von der Reaktionstemperatur abhängig zu sein, da der Effekt im Fall des hochsiedenden Toluols ausgeprägter ist. Im Fall des niedrigsiedenden Diethylethers (c) wird die Aktivität des Enzyms durch die MW-Bestrahlung kaum beeinflusst, da sich die Monomerumsätze im zweiten Lauf kaum unterscheiden.

2.3.4. Lipasenkatalysierte ROP höherer Lactone

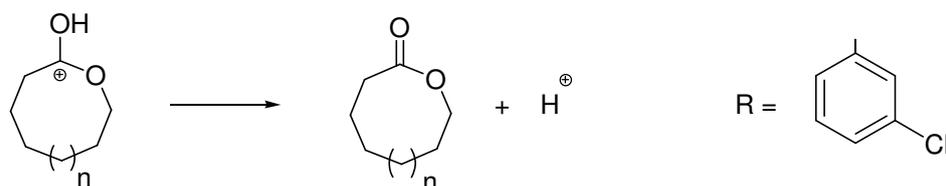
Die nächsten Homologen des CL **27** sind das 1-Oxacyclooctan-2-on **28** und das 1-Oxacyclononan-2-on **29**. Aus der Literatur ist bekannt, dass sich auch höhere Lactone enzymatisch mit mäßigen Umsätzen polymerisieren lassen, während mit Metallkatalysatoren keine Reaktion auftritt.^[96-98]

2.3.4.1. Synthese der Lactone

Die Synthese der zyklischen Ester erfolgte durch Baeyer-Villiger-Oxidation mit m-Chlorperoxybenzoesäure (m-CPBA) nach dem in Abbildung 2-25 skizzierten Mechanismus.



Nr.	n
33	2
34	3



Nr.	n
28	2
29	3

Abb. 2-25: Mechanismus der Baeyer-Villiger Oxidation von Ketonen zu Lactonen.^[99]

Die Peroxosäure greift nucleophil an der Carbonylgruppe an und wird dabei unter Übertragung des Protons angelagert. Im nächsten Schritt greift die zur Carbonylgruppe benachbarte Methylengruppe am Sauerstoff an, wobei wie im Schema gezeigt die freie Carbonsäure und das Carbeniumion entstehen. Letzteres wird durch Protonenabspaltung zum Lacton.

Die Reaktion wurde zum Vergleich auch unter MW-Bestrahlung durchgeführt. Die kinetischen Messungen in Abbildung 2-26 zeigen, dass die Umlagerung unter Mikrowellenbestrahlung schneller abläuft.

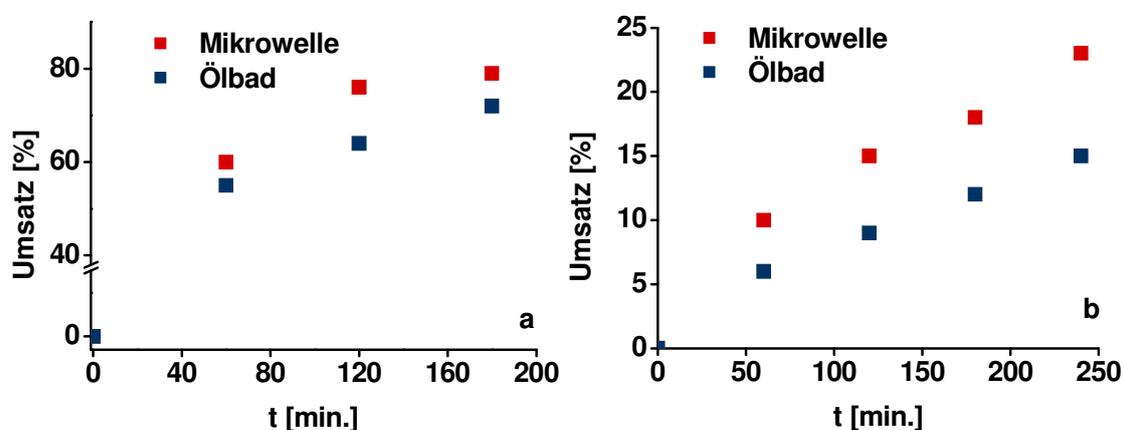


Abb. 2-26: Kinetiken der Baeyer-Villiger-Oxidation im Ölbad und unter Mikrowellenbestrahlung für a) **33** und b) **34**.

Vor allem im Fall von **34** findet man eine deutliche Beschleunigung der Reaktion, da nach vier Stunden beinahe doppelt soviel Produkt im Vergleich zur Reaktion im Ölbad gebildet wurde. Auch dieser Effekt lässt sich mit der in Kap. 2.3.2. dargestellten Theorie erklären. Das im Zwischenschritt entstehende Carbeniumion ist deutlich polarer als die Edukte und sollte sich unter MW-Bestrahlung besser stabilisieren als im Ölbad. Dies führt wiederum zu einer Beschleunigung der Reaktion.^[93]

2.3.4.2. Lipasenkatalysierte ROP von 1-Oxacyclooctan-2-on **28** und 1-Oxacyclononan-2-on **29** unter MW-Bestrahlung

Auf der Basis der Resultate für die enzymatische ROP von CL **27** wurden die nachfolgenden Untersuchungen ebenfalls in siedendem Diethylether als Lösungsmittel durchgeführt. Da die Reaktivität der höheren Lactone im Vergleich zu CL **27** deutlich geringer ausfällt^[97], wurden größere Enzymkonzentrationen verwendet. Wie aus Abbildung 2-27 hervorgeht, ließ sich nur eines der beiden Lactone polymerisieren. Auch unter MW-Bestrahlung konnte **28** nicht umgesetzt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Ergebnissen anderer Gruppen überein.

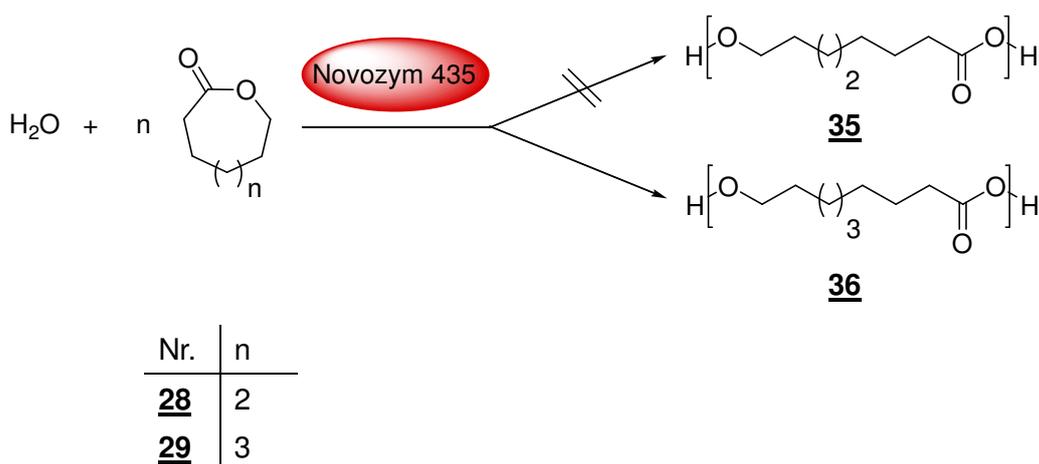


Abb. 2-27: Enzymatische ROP von **28** und **29** in siedendem Diethylether.

Die Kinetiken in Abbildung 2-28 zeigen, dass sich das Polymerisationsverhalten unter Mikrowellenbestrahlung im Fall von **29** deutlich von dem im Ölbad unterscheidet. Als Grundlage diente dabei das Verhältnis der Signale der $-OCH_2$ -Gruppen des Polymers und nicht umgesetztem Lacton im 1H -NMR-Spektrum des Rohprodukts.

Unter MW-Bestrahlung sind nach 90 min. ca. 93 % des Lactons verbraucht. Mit zunehmender Reaktionsdauer bleibt der Umsatz nahezu konstant und erreicht nach 180 min. 95%.

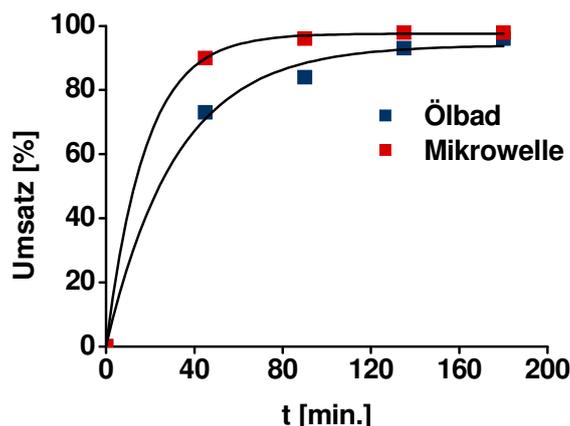


Abb. 2-28: Kinetische Untersuchung der ROP von 29 unter Mikrowellenbestrahlung und im Ölbad.

Vergleicht man diese Resultate mit der Reaktion im Ölbad sieht man, dass vor allem im Anfangsstadium der ROP deutliche Diskrepanzen zur MW-gestützten Reaktion auftreten. Die Auswertung der GPC-Analyse ergab, dass sich nur oligomere Produkte mit $M_n < 1000$ gebildet haben, was in Übereinstimmung mit den Resultaten der MALDI-TOF-Messung ist. Die erhaltenen Spektren zeigen Signale bis zu $m/z = 1444$, was einem Makrozyklus mit zehn Monomereinheiten entspricht. Signale, die offenen Ketten entsprechen, wurden nicht gefunden. Es wurde bereits auf das Phänomen der Makrozyklenbildung während der enzymatischen ROP hingewiesen, wobei hier dennoch nicht von einer ausschließlichen Bildung von Makrozyklen auszugehen ist. Besonders niedermolekulare Makrozyklen sind leicht im MALDI-TOF flüchtig, wobei deren Signalintensität so stark wird, dass offene Ketten nicht mehr detektiert werden.

2.3.5. Polymerisation bizyklischer Lactone.

Das Polymerisationsverhalten bizyklischer Lactone ist ein bisher wenig untersuchtes Gebiet. Im Folgenden sind zwei Caprolactonderivate synthetisiert und ihr Polymerisationsverhalten untersucht worden.

2.3.5.1. Baeyer-Villinger-Oxidation von Norcampher (Bicyclo[2.2.1]heptan-2-on) **37**

Ausgehend von Norcampher (Bicyclo[2.2.1]heptan-2-on) **37** wurde mit m-Chlorperoxybenzoesäure wieder eine Baeyer-Villinger-Oxidation durchgeführt.

Da Norcampher ein unsymmetrisches Keton ist, entstehen zwei Lactonisomere bei der Umlagerung. Der entscheidende mechanistische Schritt ist Abbildung 2-29 verdeutlicht.

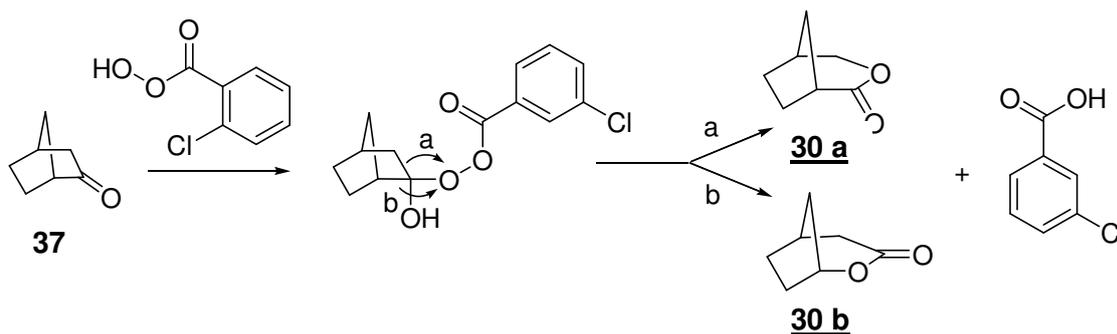


Abb. 2-29: Baeyer-Villiger-Oxidation von Norcampher **37**.

Das erhaltene Lactongemisch wurde durch Destillation in 85 %iger Ausbeute erhalten und ohne weitere Trennung eingesetzt.

2.3.5.2. Baeyer-Villiger-Oxidation von 2-Decalon (Bicyclo[4.4.0]decan-2-on) **38** ^[100]

2-Decalon **38** ist ebenfalls ein unsymmetrisches Lacton. Das kommerziell erhältliche Produkt besteht aus einem Gemisch der cis- und trans-Isomeren **38 a** und **38 b**. Die Zusammensetzung wurde mittels Gaschromatographie und ¹H-NMR untersucht. Wie in Abbildung 2-30 dargestellt, zeigt das Gaschromatogramm zwei Signale mit einem Intensitätsverhältnis von 40 : 60, die mittels ¹H-NMR Spektroskopie den cis- und trans-Isomeren zugeordnet werden konnten. Eine Auftrennung der Isomeren vor der Oxidation wurde nicht vorgenommen. Daher sollten abhängig von der Insertion des Sauerstoffs vier verschiedene Isomere entstehen, wobei die Stereoisomere nicht berücksichtigt sind.

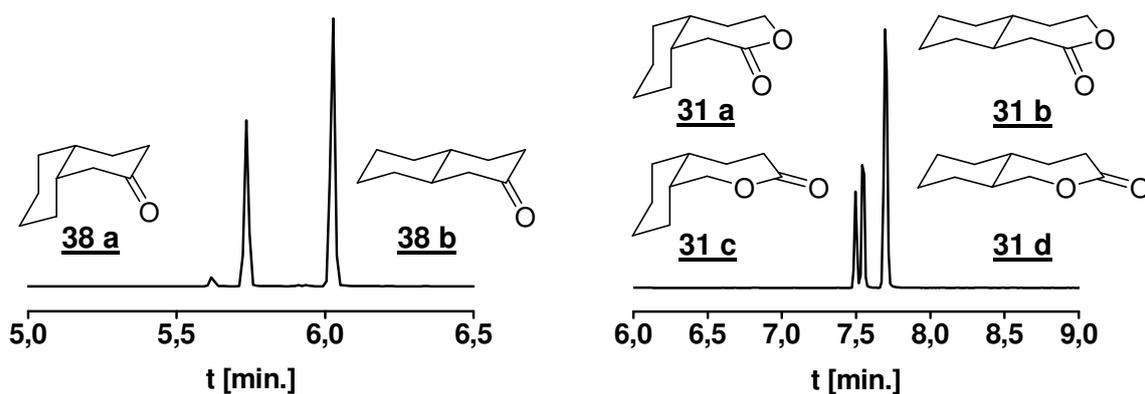


Abb. 2-30: Gaschromatogramm von kommerziellem 2-Decalon **38** vor (links) und nach (rechts) der Baeyer-Villiger-Oxidation.

Die gaschromatographische Analyse der Produktmischung hat gezeigt, dass sich entsprechend dem Mechanismus das cis/trans-Verhältnis nicht verändert hat. Allerdings findet sich für die trans-Isomere nur ein Signal, so dass an dieser Stelle noch nicht geklärt werden konnte, ob sich wie erwartet beide trans-Isomere gebildet haben.

In Abbildung 2-31 ist das $^1\text{H-NMR}$ Spektrum des Produktgemischs **31 a** - **31 d** und die Zuordnung der Signale gezeigt. Das Proton H_{a2} hat eine charakteristische Tieffeldverschiebung und konnte somit gut zur Identifikation des zweiten trans-Isomers **31 d** herangezogen werden.

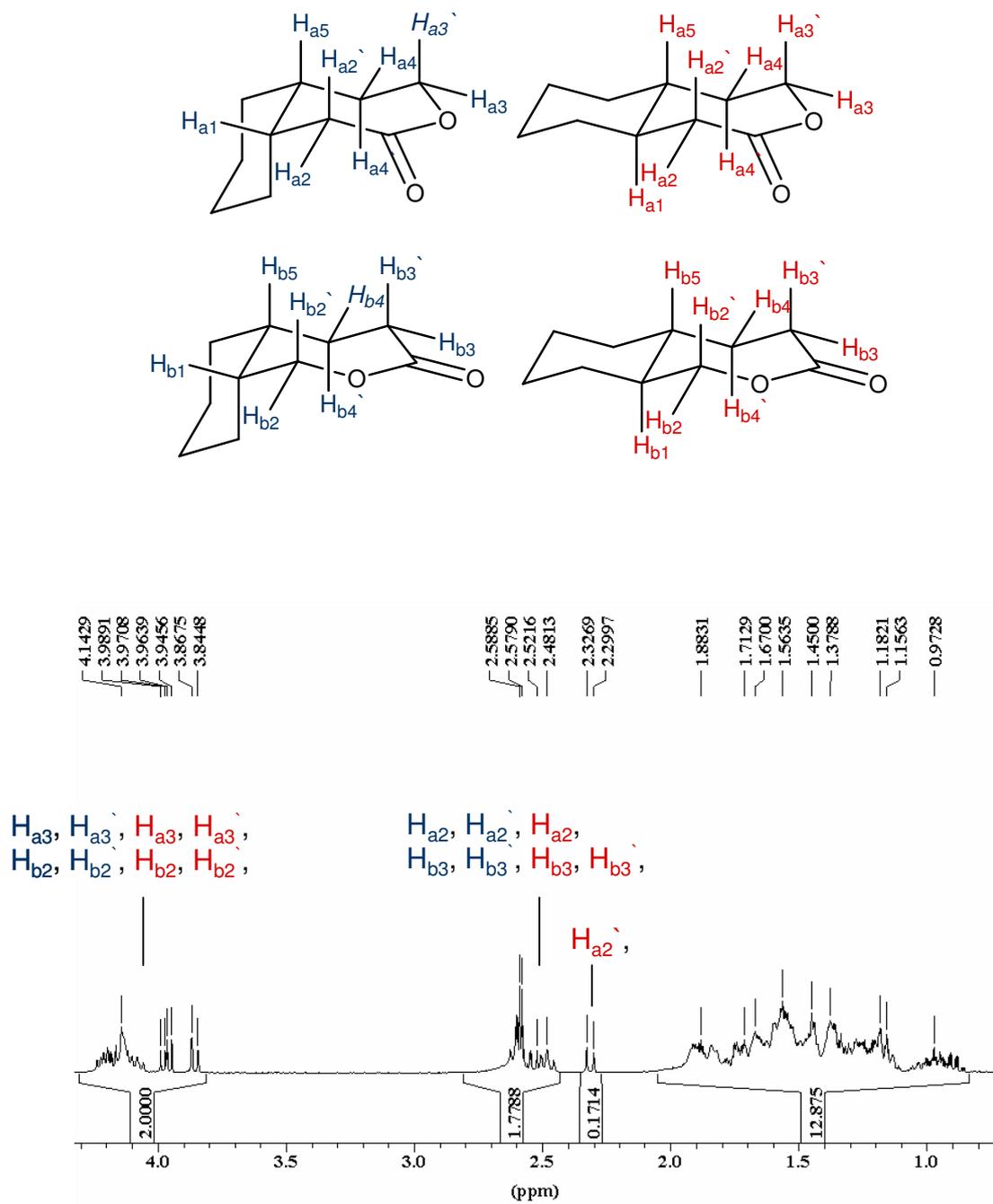


Abb. 2-31: 1H -NMR Spektrum des Produktgemischs **31 a - 31 d**.

Anhand der Intensität konnte der Anteil zu 17 % berechnet werden. Alle anderen Anteile ergaben sich unter Berücksichtigung der gaschromatographischen Analyse. Damit konnte der Nachweis aller vier Isomere erbracht werden. Die Zusammenhänge sind nochmal in Abbildung 2-32 dargestellt.

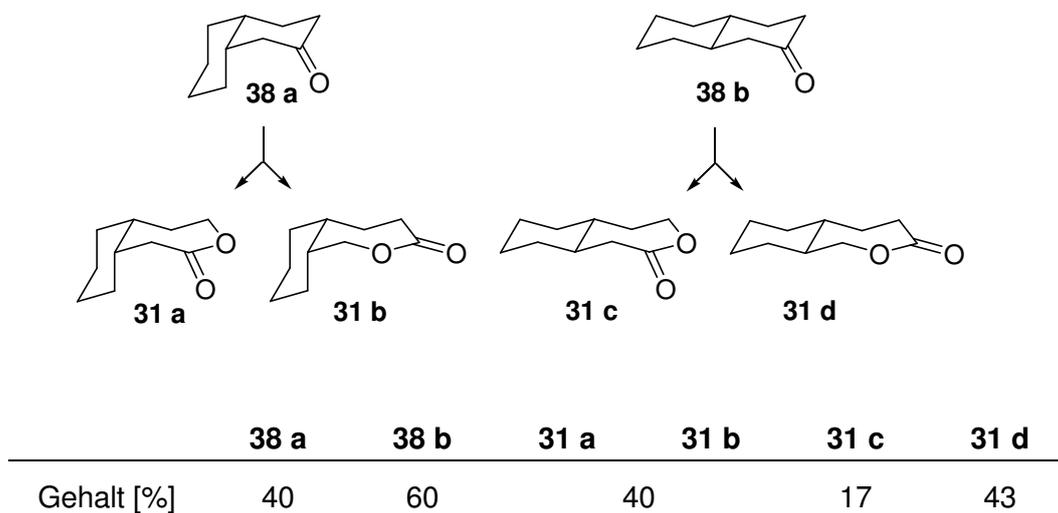


Abb. 2-32: Übersicht über die Zusammensetzung des Edukt- und Produktgemischs.

Lediglich der Anteil der Isomere **31 a** und **31 b** konnte nicht bestimmt werden. Unter Annahme der gleichen Aktivierungsenergien für die Reste wie im Fall der trans-Isomere sollte das Verhältnis 16 : 24 betragen.

2.3.5.3. Polymerisation der Lactone **30** und **31**

Das Polymerisationsverhalten der beiden synthetisierten bicyklischen Lactone ist in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden. Um die Lactone als Monomere für die ROP zu evaluieren, wurden daher sowohl die enzymatische als auch die metallkatalytische Polymerisation versucht.

Als Katalysatoren wurden dafür Novozym 435 und $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ ^[101-103] eingesetzt. Wie die Übersicht in Tabelle 2-11 zeigt, ließ sich das Lacton **30** weder enzymatisch noch mit $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ polymerisieren.

Die Copolymerisation mit CL **27** war ebenfalls nicht erfolgreich. Aus der Literatur ist bekannt, dass das bityklische Lactam 2-Azabicyklo[3.2.1]oktan-3-on aufgrund niedriger Ringspannung nicht polymerisierbar ist.^[104] Die vorliegenden Ergebnisse deuten somit darauf hin, dass die Lactone **30 a** und **30 b** ebenfalls nicht über genügend Ringspannung verfügen, um zu polymerisieren.

Tab. 2-11: Polymerisierbarkeit der Lactone **30** und **31**.

Monomer(e)	enzymatisch	metallkatalytisch
30	x	x
31	x	○
30 + 27	x	x
31 + 27	x	○

Das Lactongemisch **31** dagegen konnte metallkatalytisch sehr gut sowohl homo- als auch mit CL **27** copolymerisiert werden. Das Ergebnis der enzymatischen Polymerisation war auch hier negativ. Aus der Literatur ist bekannt, dass sich substituierte Lactone, wie z.B. Methylcaprolacton, enzymatisch nur langsam umsetzen und dafür sehr hohe Enzymkonzentrationen nötig sind (50 gew. % mit Bezug auf das Monomer).^[105] Der Grund dafür ist die Substratselektivität der Enzyme. Mit zunehmendem sterischen Anspruch des Substrats wird der Angriff des Enzyms mit dessen aktivem Zentrum auf das Lacton erschwert bzw. unmöglich. Die Lactone **31 a** - **31 d** haben einen Cyclohexylrest als Substituent, der somit offensichtlich den Angriff des Enzyms unterbindet.

2.3.5.4. Resultate der metallkatalytischen Polymerisation des Lactons **31**^[106]

Für die folgenden Experimente wurde die Isomerenmischung **31 a** - **31 d** ohne weitere Trennung eingesetzt. Trotz der Tatsache, dass es sich um eine Mischung verschiedener Lactonisomere handelt, wird die Polymerisation der Lactonmischung **31 a** - **31 d** als Homopolymerisation behandelt.

Homo- und Copolymerisation mit variierenden Anteilen an CL **27** wurden untersucht mit $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ als Katalysator. Die resultierenden Polymere bestehen aus einer Polycaprolactonhauptkette mit verschiedenen Anteilen an 1,2- verlinkten Cyclohexanringen (Abbildung 2-33). Tabelle 2-12 zeigt einige charakteristische Polymerisationsergebnisse.

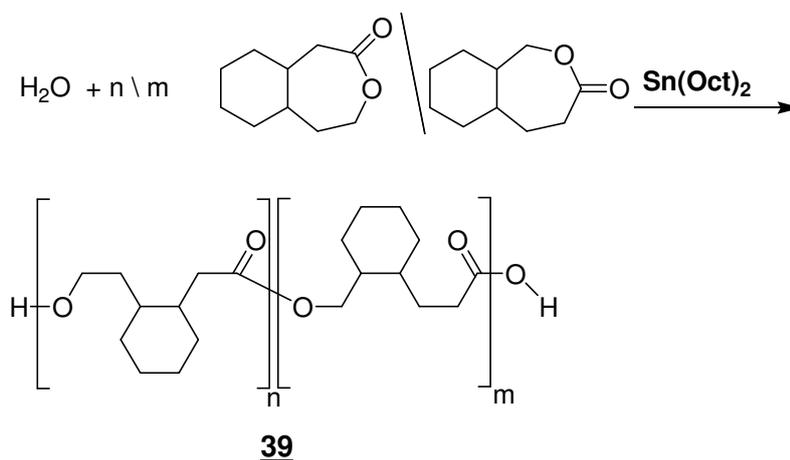


Abb. 2-33: Metallkatalytische Homopolymerisation von Lacton **31**.

Tab. 2.12: Ergebnisse der Copolymerisation von **31** mit CL **27** in verschiedenen Verhältnissen.

entry	[27] : [31] ^a	M_n^b	M_w/M_n^b	M_p^c	Ausbeute ^{d,e}
	(w/w)	[g/mol]		[°C]	[%]
1	100 : 0	19600	2.4	61	68
2	95 : 5	23100	2.2	56	70
3	90 : 10	25100	2.0	50	64
4	80 : 20	18300	2.3	40	60
5	50 : 50	13100	1.9	-	61
6	0 : 100	-	-	-12 ^f	59

^a [CL] : [31] = (w/w).

^b Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 25 °C und THF als Lösungsmittel.

^c M_p = Schmelzpunkt.

^d Methanolunlöslicher Anteil.

^e Der Umsatz von **31** war vollständig in allen Fällen.

^f Glasübergangstemperatur.

Nach einer Reaktionszeit von drei Stunden zeigte die GPC-Analyse, dass das bicyclische Lacton **31** komplett umgesetzt war. In keinem Fall konnten Restmonomer oder Oligomere ($M_n < 1000$) detektiert werden. M_n war im Bereich von 13000 bis 25000 mit M_w/M_n Werten von 1,9 – 2,4 abhängig vom Verhältnis der eingesetzten Monomere (Tabelle 2-12).

In Abbildung 2-34 ist das $^1\text{H-NMR}$ Spektrum des Copolymers mit **[27]** : **[31]** = 80 : 20 (w/w) nach Ausfällen in Methanol gezeigt. Die Methylen- und Methinprotonen sind dabei mit **a**, **a**, **a** etc. benannt. Wie erwartet, zeigt das Spektrum Ähnlichkeit zu dem von reinem Polycaprolacton **32**. Nur in der Region zwischen 0,75 und 2,00 ppm zeigen sich zusätzliche Signale, welche von den Cyclohexanresten stammen.

Die Integration der Signale beweist zusätzlich, dass **31** komplett eingebaut wurde. Das Verhältnis der Signale bei 3,99 ppm und den Signalen zwischen 0,75 und 2,00 ppm ist 2 : 7,4, was sehr gut mit dem theoretischen Wert von 2 : 7,2 übereinstimmt.

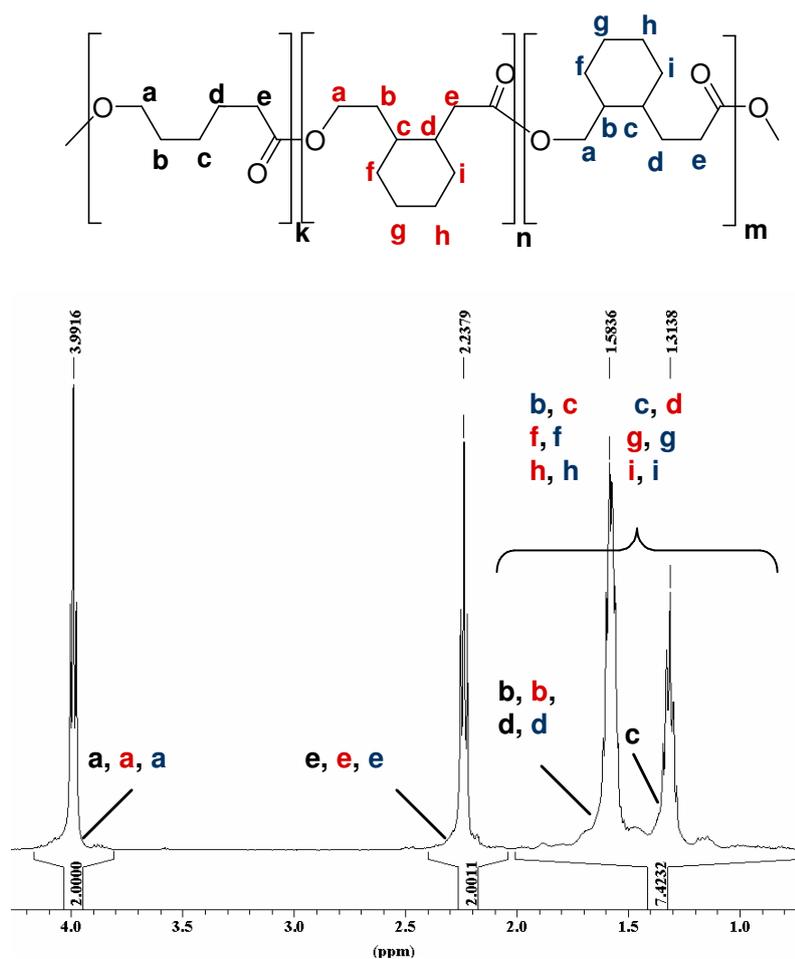


Abb. 2-34: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum einer Probe mit $[\text{CL}] : [\mathbf{31}] = 80 : 20$.

Zusätzlich wurden die Polymere mittels MALDI-TOF charakterisiert. Abbildung 2-35 zeigt das Spektrum einer Probe des Homopolymers und mit $[27] : [31] = 80 : 20$ (w/w).

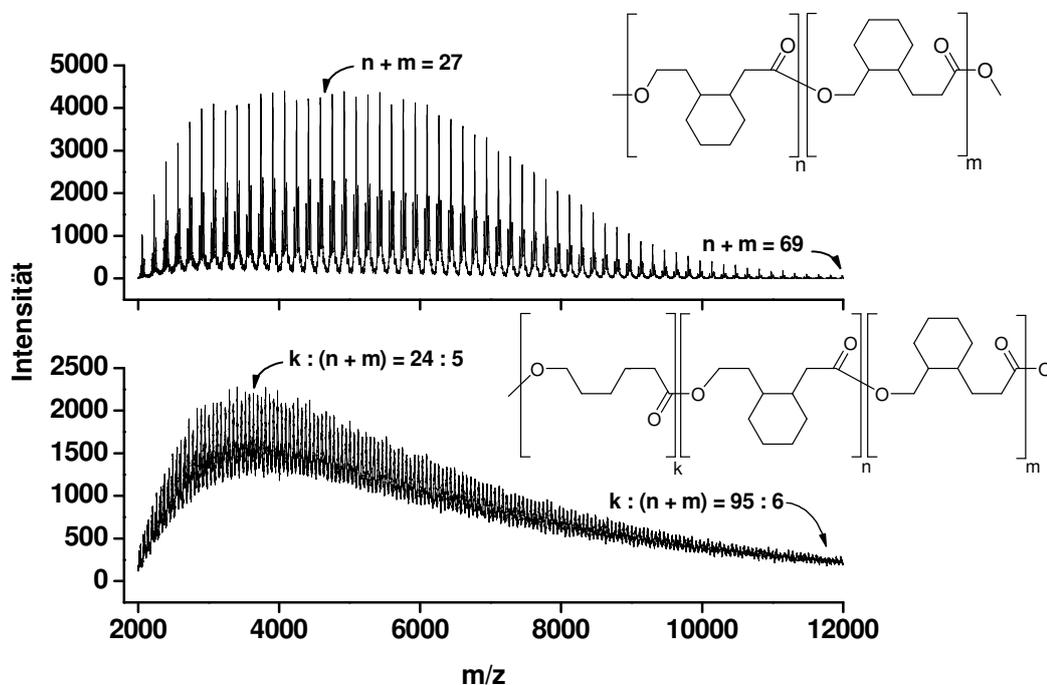


Abb. 2-35: MALDI-TOF-Spektren des Homo- und Copolymers.

Signale bis $m/z = 16000$ und einem Maximum bei $m/z = 4000$ für Ersteres bzw. $m/z = 13000$ und 4500 für Letzteres wurden erhalten. Die Zusammensetzung, die für das Copolymer ermittelt wurde, entspricht im Maximum grob dem Einsatzverhältnis der Monomere, während zu höheren m/z -Werten deutliche Abweichungen auftreten. Die Abbildungen 2-36 a – e zeigen charakteristische expandierte Bereiche der obigen Spektren, sowie die zugehörigen Polymerstrukturen, um detailliertere Informationen bezüglich der Polymerstruktur zu erhalten.

Im Fall des Homopolymers (a) zeigen sich vier Signale, von denen I, III und IV zu linearem mit Na^+ ionisiertem Polymer gehören. Erwartungsgemäß hat das Polymer endständige OH- and COOH- Gruppen (III und IV), was beweist, dass Wasser als Initiator für die ROP fungierte. Geringfügige Bildung von Makrozyklen (II) durch „backbiting“ wurde ebenfalls beobachtet.

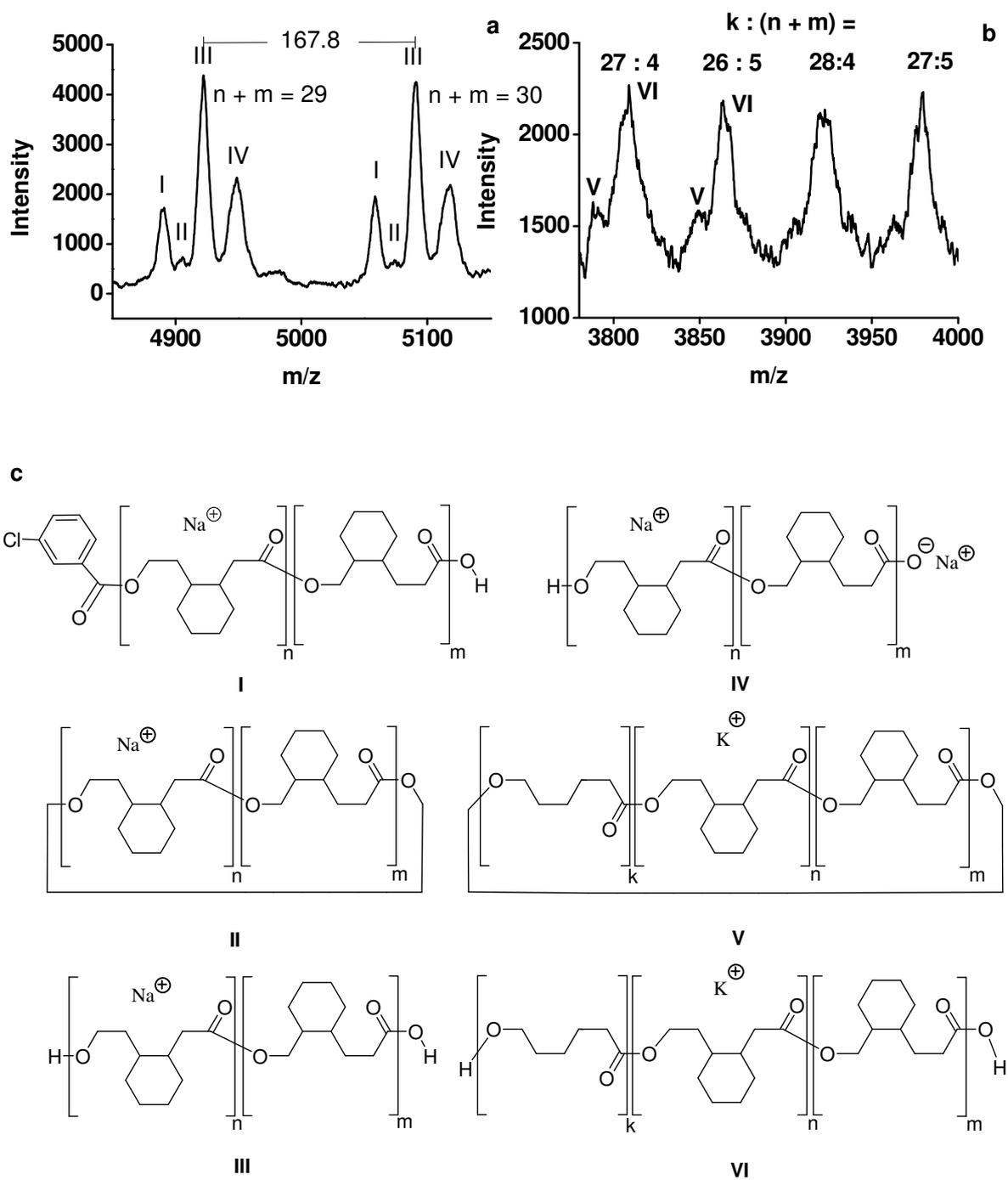


Abb. 2-36 a-c: Darstellung der expandierten MALDI-TOF-Spektren des a) Homo- b) Copolymers und c) der zugehörigen Polymerstrukturen.

Obwohl das Monomer **31** mehrfach durch destillieren und Trocknen über CaH_2 gereinigt wurde, blieben Spuren an m-Chlorbenzoesäure (~1.5 - 2%) zurück, die zu linearem

Polymer führten, dessen terminale OH-Gruppe mit m-Chlorbenzoesäure verestert war (I). Eine starke Absorption bei 244 nm in UV-Messungen, welche typisch ist für einfache aromatische Verbindungen, unterstützt dieses Ergebnis.

Die Analyse des Spektrums der Copolymerprobe gezeigt in Abbildung 2-36 b lieferte einen weiteren Beweis für die Copolymerbildung. Den Signalen V und VI ließen sich Makrozyklen und lineares Copolymer ionisiert mit K^+ zuordnen. Die gefundenen m/z-Werte entsprachen dabei klar Polymerketten mit variierendem Gehalt an **31** und CL **27**.

Bisher sind nur wenige Untersuchungen zum Reaktionsverhalten bicyklischer Lactone angestellt worden^[107-110] und es stellt sich die Frage, welches der Isomere Cis oder Trans schneller während der Polymerisation verbraucht wird. Da die Isomere als basisliniengetrennte Signale im Gaschromatogramm erscheinen, wurde diese Methode gewählt, um den zeitlichen Umsatz der Isomere zu verfolgen. Das Ergebnis ist in Abbildung 2-37 wiedergegeben. Wie oben erwähnt, beträgt das anfängliche Verhältnis der Lactonisomere 40 (cis) : 60 (trans).

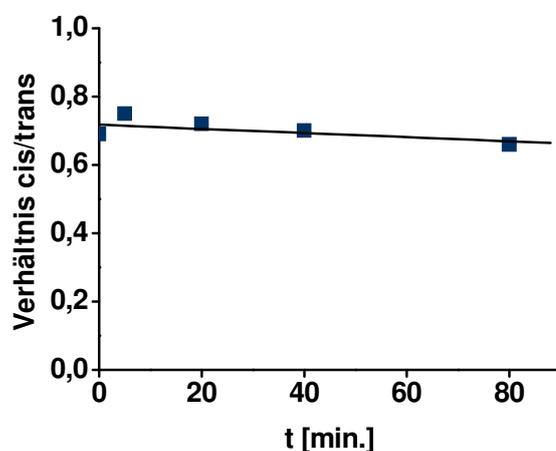


Abb. 2-37: Zeitliche Abhängigkeit des cis/trans-Verhältnisses bei der ROP von **31**.

Während der Polymerisation änderte sich dieses Verhältnis in den Restmonomeren sehr schwach zu 42 (cis) : 58 (trans) nach 80 min., was zeigt, dass das trans-Isomer schwach bevorzugt eingebaut wird. In Übereinstimmung mit diesem Resultat ergab die theoretische Berechnung der Reaktionsenthalpie $\Delta(\Delta H_f)$ (ΔH_f = Reaktionsenthalpie) für die Ringöffnung

beider Isomere mit Methanol zum entsprechenden Hydroxymethylester, dass die Esterspaltung im Fall des trans-Isomers energetisch schwach bevorzugt ist (Tabelle 2.13).

Tab. 2-13: Berechnete Reaktionsenthalpie^a für die Ringöffnung von **31** mit Methanol.

	cis	trans
	[kJ·mol ⁻¹]	[kJ·mol ⁻¹]
ΔH_f (Lacton)	119	118
ΔH_f (Methylester)	173	178
$\Delta(\Delta H_f)$	54	60

^aBerechnet mit Spartan auf der Basis des AM1-Modells

Um die dargestellten Polyester weiter zu charakterisieren, wurden noch Messungen zum thermischen Verhalten mittels differential scanning calometry (DSC) durchgeführt. Die Proben wurden in einem Temperaturbereich zwischen -60 °C und +300 °C untersucht. Wie in Abbildung 2-38 a dargestellt, findet man für die Schmelzpunkte eine lineare Abhängigkeit vom Comonomergehalt. Ausgehend von reinem Polycaprolacton sinken die Schmelzpunkte von 60 °C auf 36 °C für [CL] : **31** = 80 : 20.

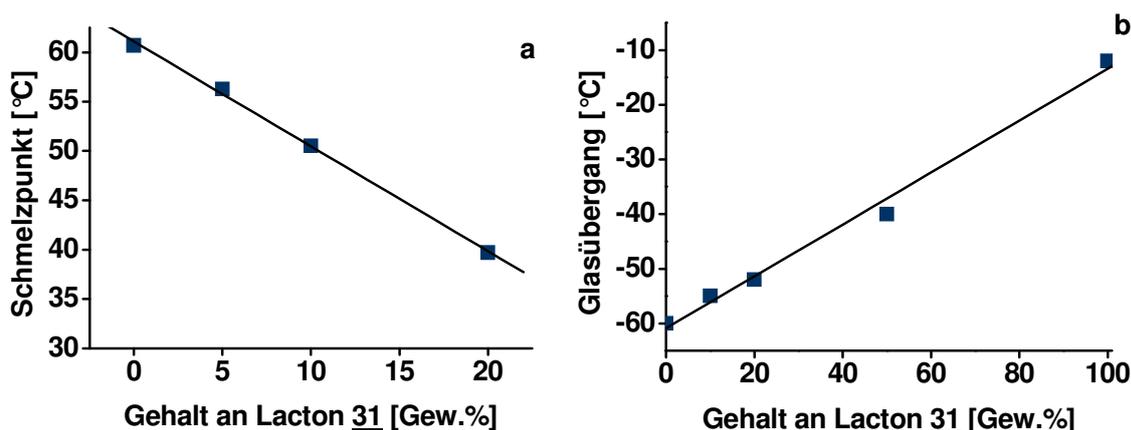


Abb. 2-38 a-b: Auftragung der a) Schmelzpunkte und b) Glasübergangstemperaturen gegen den Gehalt an bicyklischem Lacton **31**.

Dieses Ergebnis ist in Übereinstimmung mit den Erwartungen und zeigt, dass die Cyclohexylreste als innere Weichmacher fungieren. Im Fall von [CL] : **[31]** = 50 : 50 bzw. dem Homopolymer von **31** konnten keine Schmelzpunkte mehr detektiert werden, was bedeutet, dass diese Polymere vollständig amorph sind.

In Abbildung 2-38 b sind die Glasübergangstemperaturen vs. Comonomergehalt aufgetragen. Hier ergibt sich ein inverses Verhalten, da die Glasübergangstemperaturen mit wachsendem Gehalt an Comonomer von -60 °C für reines Polycaprolacton auf -12 °C für das Homopolymer von **31** ansteigen.

Diese Resultate sind in Übereinstimmung mit denen von Seefried und Koleske, welche zeigen, dass die Glassübergangstemperaturen von substituierten Polycaprolactonen höher sind als die von unsubstituiertem Polycaprolacton (-60 °C).^[111]

Der Einfluss des Comonomers auf das Kristallisationsverhalten kann mittels Polarisationsmikroskopie sichtbar gemacht werden. Die Photos zweier Polymerproben aus a) CL und b) [CL] : **[31]** = 80 : 20 sind in Abbildung 2-39 gezeigt.

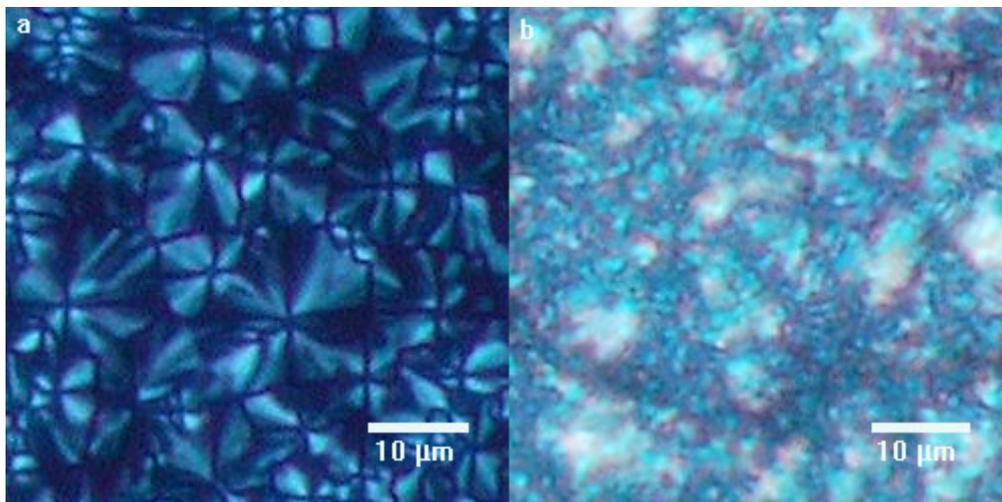


Abb. 2-39: *Polarisationsmikroskopische Aufnahmen von a) Polycaprolacton und b) Copolymer mit [CL] : **[31]** = 80 : 20.*

Erwartungsgemäß kristallisiert Polycaprolacton in gut sichtbaren Sphärolithen^[112] und hat auffällige kristalline Domänen. Im Gegensatz dazu sieht man in b) deutlich schwächer

ausgeprägte kristalline Strukturen, was beweist, dass die Cyclohexylreste die Kristallisation des Copolymers unterdrücken.

Wie schon vor diesem Kapitel angedeutet, wurde auch die enzymatische Polymerisation untersucht. Obwohl Novozym 435 einer der stärksten enzymischen Katalysatoren für die Polymerisation von Lactonen ist, wurde keine Homopolymerisation beobachtet. Die Copolymerisation einer Monomermischung $[27] : [31] = [80] : [20]$ führt nur zu Bildung von Polycaprolacton **32**, wie durch MALDI-TOF Messungen ermittelt wurde. Das heißt, dass eine CL/**31**-Mischung mit Sn-Katalysator bequem copolymerisiert werden kann, während der Einsatz von Lipase als Katalysator nur zur Bildung von Polycaprolacton **32** führt (Abbildung 2-40).

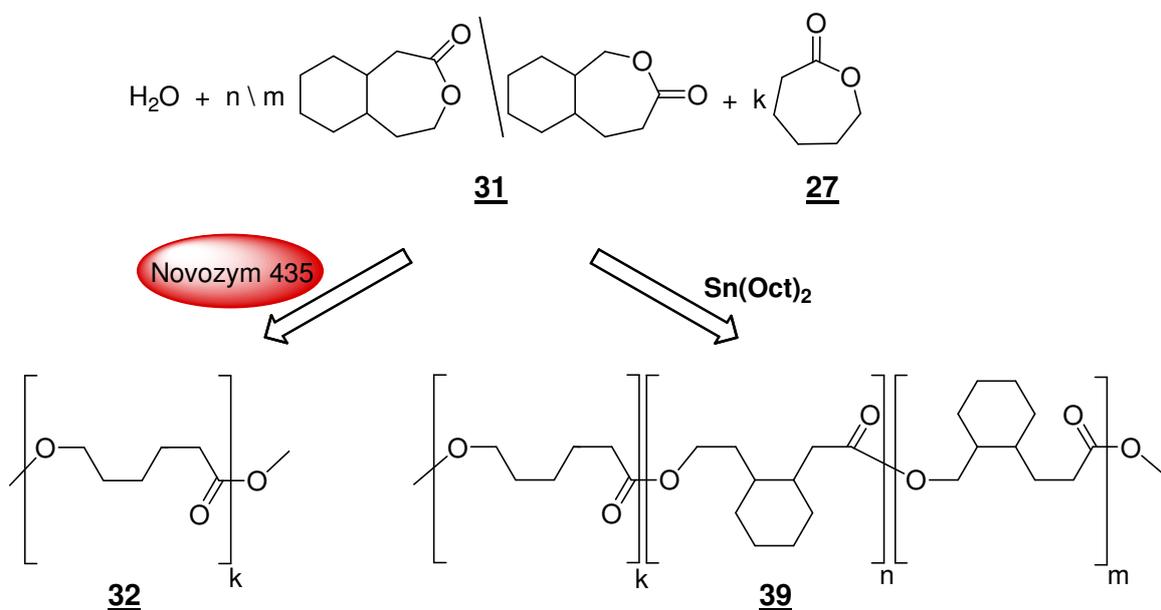


Abb. 2-40: Copolymerisation von **31** und CL **27** mit $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ und Lipase als Katalysator.

Früher Publikationen haben gezeigt, dass monosubstituierte Caprolactonderivate wie z. B. 4-Methyl- und 4-Ethylcaprolacton zufriedenstellend mit Lipasen polymerisiert werden können.^[28] Daraus lässt sich schließen, dass das vorliegende Lacton sterisch zu anspruchsvoll ist, um enzymatisch polymerisiert zu werden.

2.3.6. Einfluss der Mikrowellenstrahlung auf die Selektivität enzymkatalysierter Polymerisationen.

Wie bereits erwähnt, sind Enzyme bekannt für ihre hohe Substratselektivität, weshalb sie wertvolle Katalysatoren für stereo-, regio- und chemoselektive Synthesen darstellen.^[113-115]

Unabhängig davon konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, mit Hilfe von Mikrowellenstrahlung regio- und chemoselektive Synthesen zu verbessern. Das heißt, die Selektivität der Reaktion und damit die Ausbeute wird unter dem Einfluss der Mikrowellenstrahlung erhöht.^[116, 117] In den folgenden Kapiteln sollen beide Methoden miteinander kombiniert werden, um so die Selektivität enzymatisch katalysierter Reaktionen zu verbessern.

2.3.6.1. Einfluss auf die Chemoselektivität^[118]

Um den Einfluss auf die Chemoselektivität zu untersuchen, wurde entsprechend Abbildung 2-41 **27** mit 2-Mercaptoethanol **40** als Initiator polymerisiert. Da es sich bei **40** um einen bifunktionellen Initiator handelt, sind prinzipiell zwei Produkte möglich. Greift die OH-Gruppe nucleophil an der Carbonylgruppe an, entsteht der SH-funktionalisierte Polyester **41 a** als Produkt. Greift die SH-Gruppe an, entsteht der Thioester **41 b** mit endständiger OH-Gruppe. Ersterer stellt hier das Zielprodukt dar, da die freie SH-Gruppe als Kettenüberträger fungiert und somit eine elegante Möglichkeit zur Synthese von Blockcopolymeren aus Polycaprolacton und radikalisch polymerisierbaren Monomeren, wie z. B. Styrol, darstellt.^[119-122]

Thiole sind allerdings sehr anfällig für Oxidationen, wobei sich Dimere bilden können.^[123-125] Ein weiterer Vorteil des Enzyms liegt daher darin, dass es eine sehr milde Reaktionsführung ermöglicht unter der das Makrothiol **41 a** erhalten bleibt, d. h. die Dimerisierung bleibt aus.

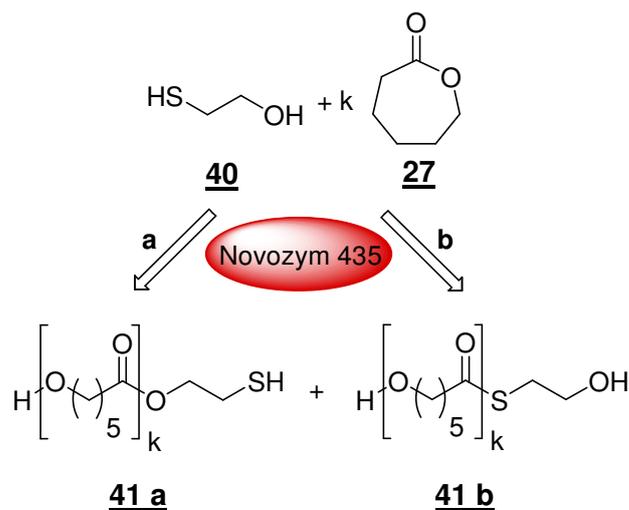


Abb. 2-41: Polymerisation von CL **27** mit 2-Mercaptoethanol **40** als Initiator. a) OH-Gruppe fungiert als Initiator und b) SH-Gruppe fungiert als Initiator.

Obwohl wie in obiger Abbildung skizziert, beide Produkte möglich sind, sollte aus thermodynamischen Gründen die Bildung von **41 a** (Reaktionsweg a) gegenüber der Bildung von **41 b** (Reaktionsweg b) bevorzugt sein. Thioester können als aktivierte Ester aufgefasst werden, ähnlich dem AcetylCoA in der Natur, welches eine wichtige Rolle in biochemischen Prozessen spielt.^[126] Thioester sind daher anfällig für Umesterungen, so dass der SH-funktionalisierte Polyester klar als Hauptprodukt entstehen sollte.

Um eine gute Vergleichbarkeit zwischen Ölbadversuch und Mikrowellenversuch zu gewährleisten, wurde wieder unter den in Kapitel 2.3.1. beschriebenen Bedingungen gearbeitet. Da die enzymatische ROP von CL in Diethylether sehr erfolgreich verlief, wurden die Untersuchungen alle in siedendem Diethylether durchgeführt. Tabelle 2-14 zeigt die Resultate.

Die Polymerisation verlief sowohl im Ölbad als auch unter Mikrowellenbestrahlung erfolgreich unter Bildung von Polymeren mit $M_n = 3600$ (MW) bzw. $M_n = 3400$ (Ölbad) und Polydispersitäten von jeweils 1,5. Unter den gegebenen Bedingungen betrugen die Ausbeuten um 30 %. Es ist allerdings auffällig, dass die Ausbeuten unter MW-Bestrahlung klar höher ausgefallen sind, was mit den Ergebnissen aus Kap. 2.2.2 übereinstimmt.

Tab. 2-14: Ergebnisse der enzymatischen ROP von **27** mit 2-Mercaptoethanol **40**^a.

	M_n^b	M_w/M_n^b	[41 a] : [41 b] ^c	Ausbeute ^d
	[g/mol]			[%]
MW	3600	1.5	1 : 0,16	29
Ölbad	3400	1.5	1 : 0,28	18

a) Durchschnittswerte aus drei Versuchen.

b) Bestimmt durch GPC mit Polystyrolstandards bei 25 °C und THF als Lösungsmittel.

c) Werte berechnet mittels ¹H-NMR.

d) Gravimetrisch bestimmte Ausbeute nach Fällung in Hexan/Diethylether 2:1 (w/w).

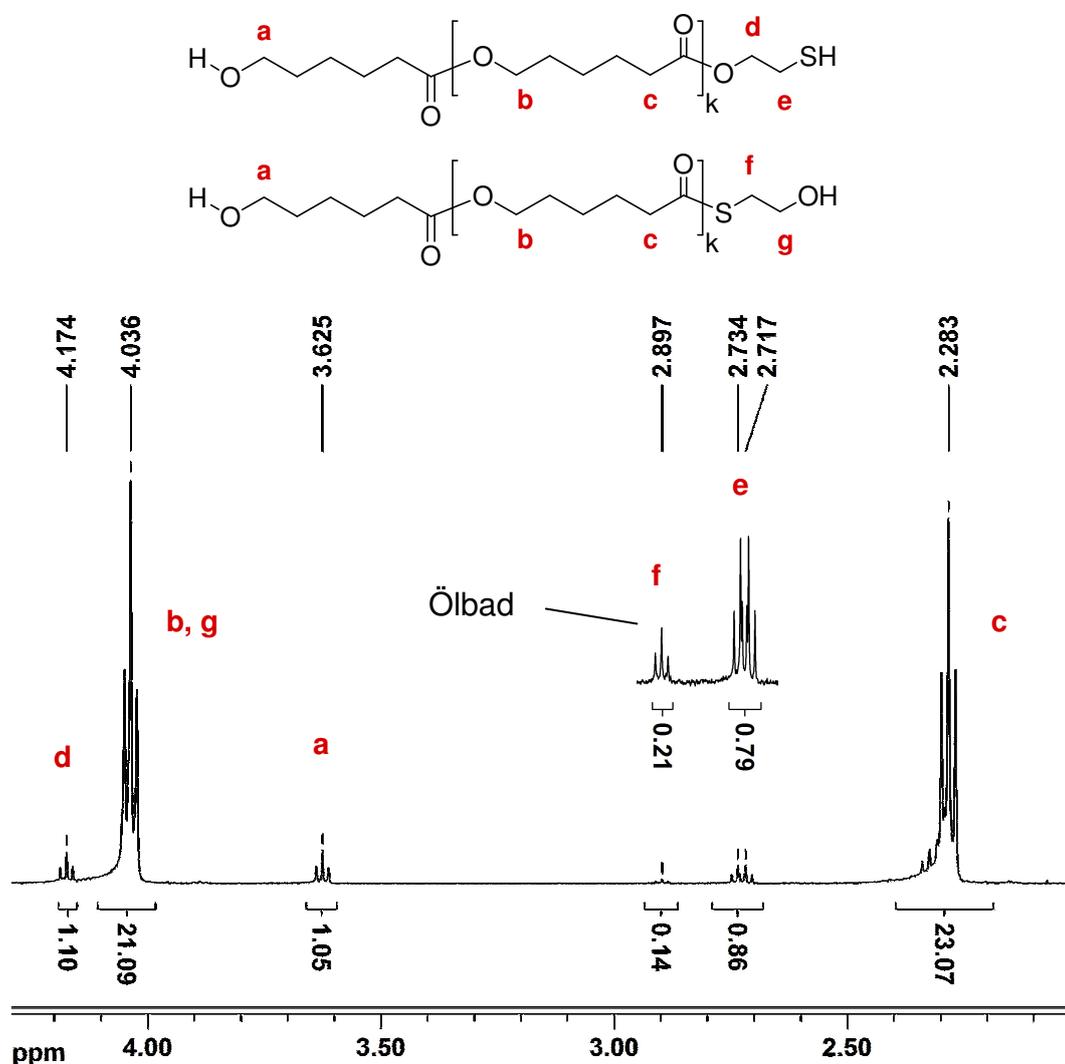


Abb. 2-42: ¹H-NMR-Spektren von Proben erhalten durch enzymatische ROP von **CL 27** mit 2-Mercaptoethanol **40** unter MW-Bestrahlung und im OB.

Die Analyse der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren in Abbildung 2-42 ergab, dass sich wie oben skizziert sowohl **41 a** als auch **41 b** gebildet haben (Methylengruppen sind mit **a, b, c** usw. nummeriert). Der Anteil an **41 b** betrug 22 % im Ölbad, während unter Mikrowellenbestrahlung deutlich weniger des Nebenprodukts gebildet wurde. D. h., die Selektivität der Reaktion hat sich durch die Mikrowellenbestrahlung verbessert. Berücksichtigt man sowohl die gesteigerte Gesamtausbeute an Polyester als auch die höhere Selektivität, kommt man unter Mikrowellenbestrahlung auf $29 \% \times 0,86 = 25 \%$ Produkt. Im Vergleich dazu erhält man im Ölbad lediglich $18 \% \times 0,78 = 14 \%$ Produkt. Das Verhältnis der Signale a / (e + f) ist in beiden Fällen 1,05 und zeigt, dass die ROP nahezu quantitativ mit **40** initiiert wurde.

Aus der Literatur ist bekannt, dass die Selektivität chemischer Reaktionen durch MW-Bestrahlung verbessert werden kann.^[116, 117] Allerdings konnte ein solches Verhalten für enzymkatalysierte Reaktionen noch nicht beobachtet werden.

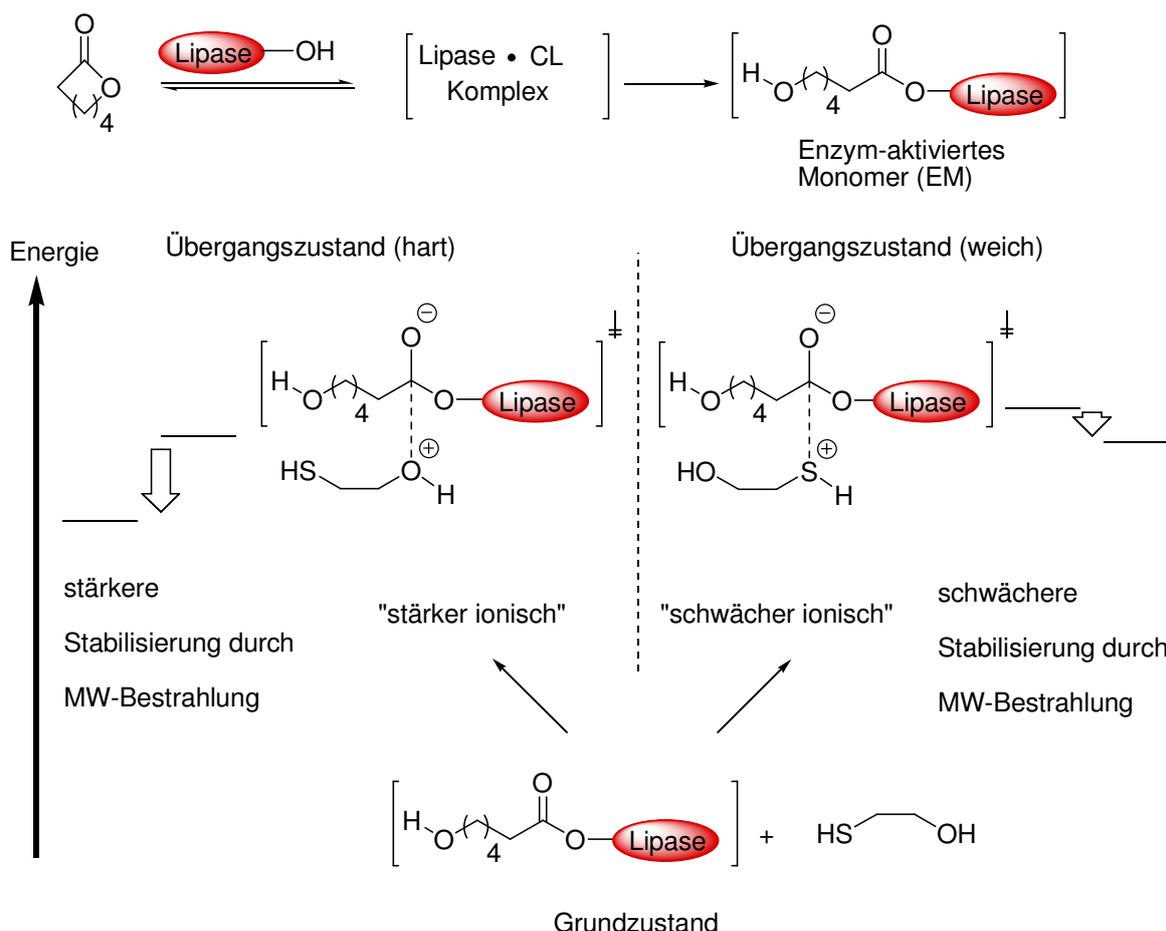


Abb. 2-43: Übergangszustände im MW-Feld.

Es wird angenommen, dass solche nicht-thermischen MW-Effekte auf eine Änderung der Energie des Übergangszustands unter dem Einfluss der MW-Bestrahlung zurückzuführen ist.^[93] Diese Zusammenhänge sind in Abbildung 2-43 gezeigt.

Nach der Bildung des enzym-aktivierten Komplexes können sowohl die SH-Gruppe als auch die OH-Gruppe nukleophil an die Carbonylgruppe des Esters angreifen, wobei zwei Übergangszustände unterschiedlicher Energie entstehen. Im Fall der SH-Gruppe als angreifendes Nukleophil entsteht ein weiches Ionenpaar, welches im MW-Feld weniger stabilisiert wird im Vergleich zu dem harten Ionenpaar, welches entsteht, wenn die OH-Gruppe angreift. D. h., unter MW-Bestrahlung wird der polarere Übergangszustand energetisch bevorzugt, was zu einer bevorzugten Bildung des gewünschten SH-funktionalisierten Polyesters **41 a** führt.

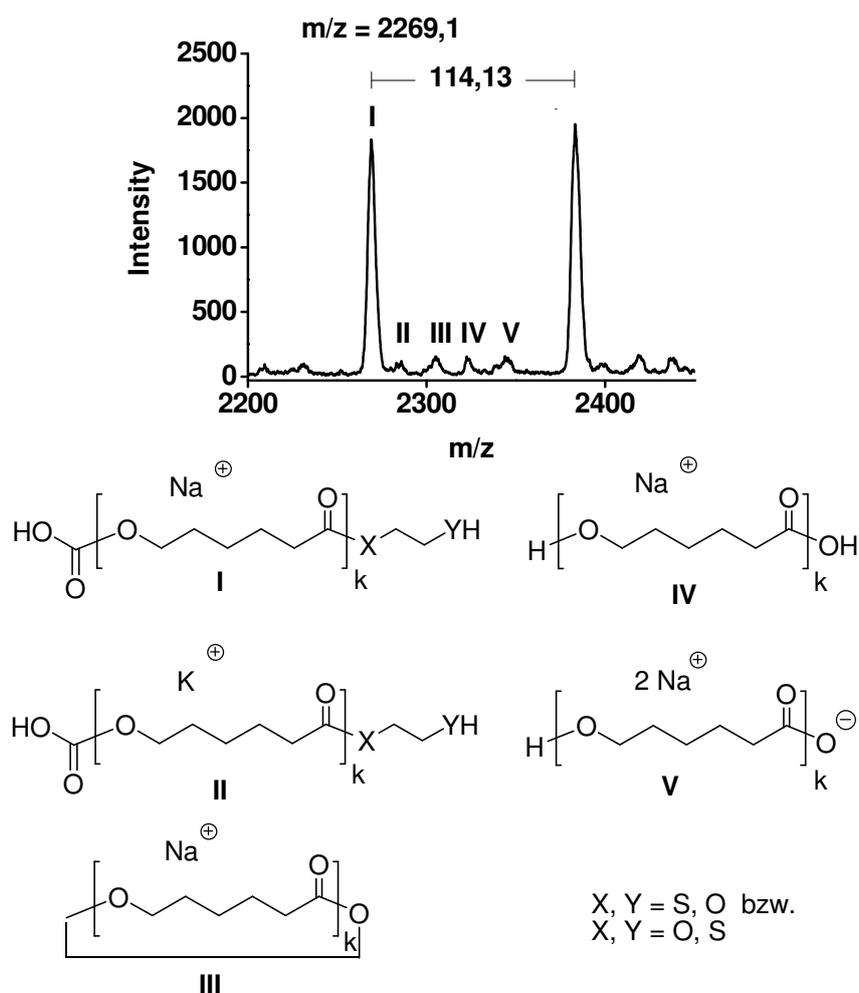


Abb. 2-44: MALDI-TOF-Spektrum von **41** hergestellt unter MW-Bestrahlung.

Um genauere Informationen über die Polymerstruktur zu bekommen, wurden zusätzlich MALDI-TOF-Messungen durchgeführt. Signale bis zu $m/z = 9000$ mit einem Maximum bei $m/z = 3400$ wurden detektiert. Abbildung 2-44 zeigt das vergrößerte Spektrum des erhaltenen Polymers unter MW-Bestrahlung.

Der kalkulierte Wert für m/z ($n = 19$) ist 2269,3 und ist in guter Übereinstimmung mit dem experimentellen Ergebnis von 2269,1. Die Intensitäten der Signale, die dem Polyester initiiert mit Wasser und dem Makrozyklus entsprechen (III, IV und V), sind wie erwartet vernachlässigbar. Dimere, die durch Oxidation der Thiolgruppen entstehen, wurden nicht gefunden, was zeigt, dass die enzymatische Polymerisation mild genug ist, um die Thiol-Gruppen zu erhalten.

2.3.6.2 Synthese von Polycaprolacton-block-Polystyrol 44

SH-Gruppen sind starke Kettenüberträger, d. h., ihre Tendenz ein Wasserstoffradikal an ein angreifendes Radikal abzugeben und dabei selber zum Radikal zu werden, ist sehr deutlich ausgeprägt. Die so entstehenden Radikale sind ihrerseits in der Lage, eine Polymerisation zu starten. Entsprechend dem in Abbildung 2-45 propagierten Mechanismus sollten so aus dem hergestellten SH-funktionalisierten Polyester 41 mit einem Initiator 42 und Styrol 43 Diblockcopolymere 44 entstehen.

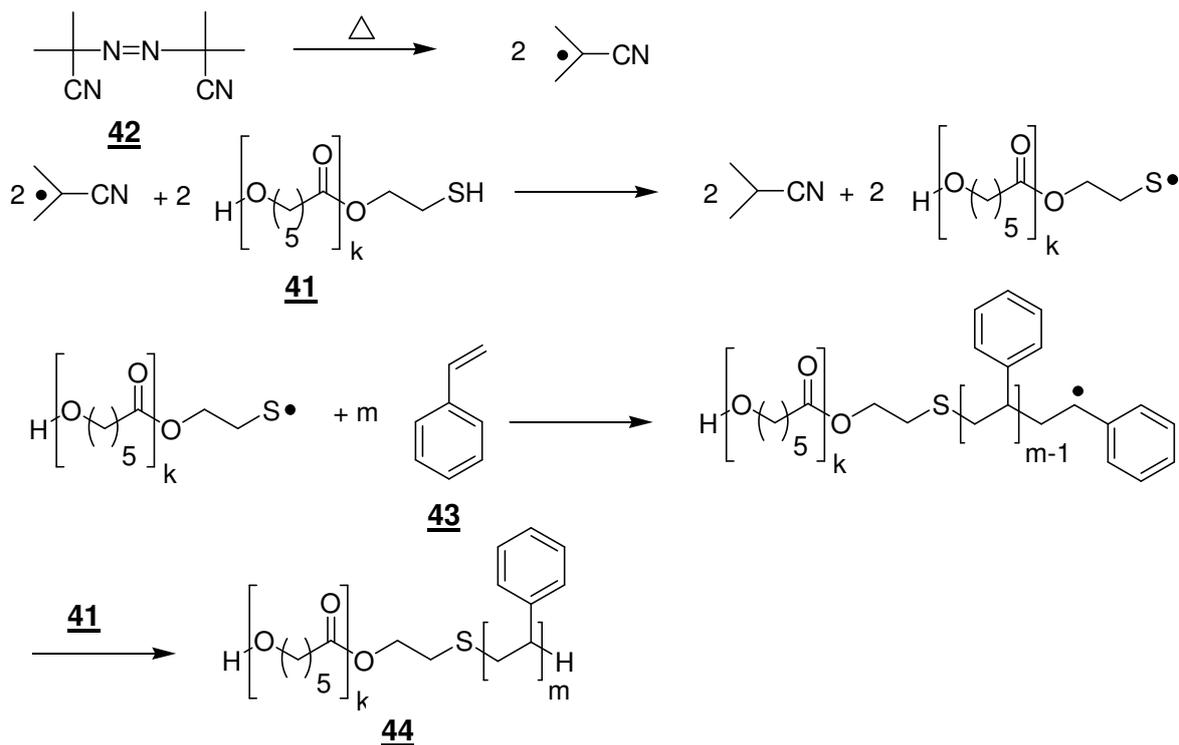


Abb. 2-45: Synthese von Polystyrol-block-Polycaprolacton **44**.

In Tabelle 2-15 sind die Resultate der Copolymerisation mit verschiedenen Verhältnissen an Styrol **43** zusammengefasst.

Tab. 2-15: Ergebnisse der Copolymerisation von **41** mit Styrol **43**.

[MCTR] : 43 ^a	M_n^b	M_w/M_n^b	Ausbeute ^c
	[g/mol]		[%]
1 : 30	5400	1.4	30
1 : 50	8300	1.7	36
1 : 100	8300	2.3	48
1 : 200	12500	4.1	60

a) Molares Verhältnis.

b) Bestimmt mittels GPC mit Polystyrolstandards und THF als Eluent.

c) Gravimetrisch bestimmte Ausbeute nach Fällen in Methanol.

Das Molekulargewicht des Polymers steigt durch die Copolymerisation von $M_n = 3600$ auf 5400 für [MCTR] : **[43]** = 1 : 30. Wird der Styrolanteil weiter erhöht, nimmt das Molekulargewicht weiter bis zum Maximum von $M_n = 12500$ zu. Diese Resultate belegen bereits die propagierte Bildung von Blockcopolymeren. Abbildung 2-46 zeigt die GPC-Kurven für den Homopolymer (MCTR) **41**, das Blockcopolymer mit [MCTR] : **[43]** = 1 : 30 und das Blockcopolymer mit [MCTR] : **[43]** = 1 : 50. Im Gegensatz zu Polystyrol ist Polycaprolacton nicht UV(ultra violett)-aktiv und wird daher nur durch den RI(refractive index)-Detektor des GPC-Geräts erfasst.

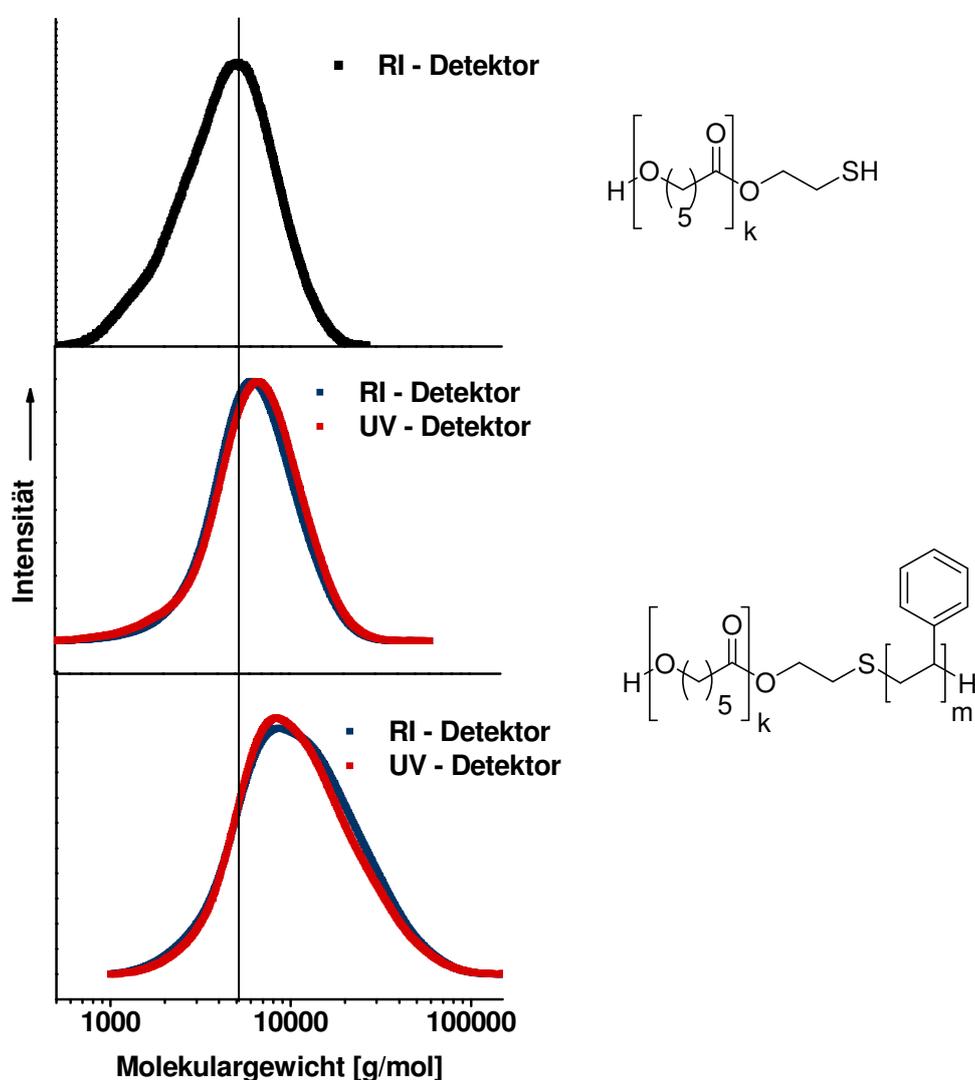
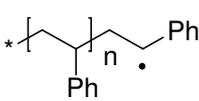
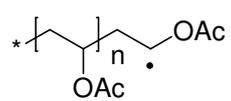


Abb. 2-46: Nachweis der Bildung von Blockcopolymeren **44** mittels GPC.

Würde die Polymerisation von **43** direkt durch den Azoinitiator anstelle des MCTR's ausgelöst, sollten zwei unabhängige Homopolymere mit unterschiedlichen Kettenlängen detektiert werden. D. h., es sollten zwei Signale in der GPC Kurve zu sehen sein. Die GPC-Analyse der Proben zeigte aber jeweils Kurven mit monomodaler Verteilung sowohl für den UV- als auch für den RI-Detektor. Das beweist klar die Bildung von Blockcopolymeren.

In Abbildung 2-45 wurde der Kettenübertrag auf das MCTR als hauptsächliche Abbruchreaktion angegeben. Der Grund dafür ist die hohe Übertragungskonstante der SH-Gruppe im Vergleich zu den anderen Spezies in der Lösung. Eine Übersicht der Übertragungskonstanten von wachsenden Polymeren auf andere Spezies ist in der nachfolgenden Tabelle 2-16 angegeben.

Tab. 2-16: Übertragungskonstanten von Polymerradikalen auf andere Spezies.

Transferreagenz		
	$C_s \times 10^4$	$C_s \times 10^4$
Toluol	0,125	21,6 ^[127]
Styrol/Vinylacetat	0,3 – 0,6 (Styrol)	1,75 – 2,8 (Vinylacetat)
Ethylbutyrat	-	45 ^[128]
Ethylbenzol	0,67	55,2
Butylmercaptan	210000	480000

Es wird deutlich, dass der Kettenübertrag zum Beispiel auf das Lösungsmittel Toluol deutlich kleiner ist. Für die entstehenden Polymere konnten keine Werte in der Literatur gefunden werden, da die Bestimmung extrem schwierig ist. Es ist daher aber sinnvoll, anstatt dessen die Übertragungskonstanten kleinerer Modellkomponenten, wie z. B. Ethylbenzol für Polystyrol, zu verwenden. Die Werte sind ebenfalls deutlich kleiner, so dass auch hier Kettenübertragung hauptsächlich auf die SH-Funktion zu erwarten ist, bis das gesamte MCTR **41** verbraucht ist. Der sprunghafte Anstieg der Polydispersität bei

hohen Styrolkonzentrationen dürfte eine Folge von zunehmenden Kettenübertrag auf die Polyesterkette oder die Polystyrolkette sein. Dies führt zur Bildung partiell vernetzter Produkte mit deutlich größeren Molekulargewichten.

MALDI-TOF-Messungen der Proben von **44** ergaben Massen bis zu $m/z = 12000$ und einem Maximum bei 6000 für **[41]** : **[43]** = 1 : 50 und bestätigten damit den Anstieg des Molekulargewichts durch die Copolymerisation.

In Abbildung 2-47 ist das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Copolymers mit $[\text{MCTR}]$: **[43]** = 1 : 50 nach Fällung in Methanol dargestellt. Die Zuordnung zeigt Signale für sowohl Polycaprolacton als auch Polystyrol.

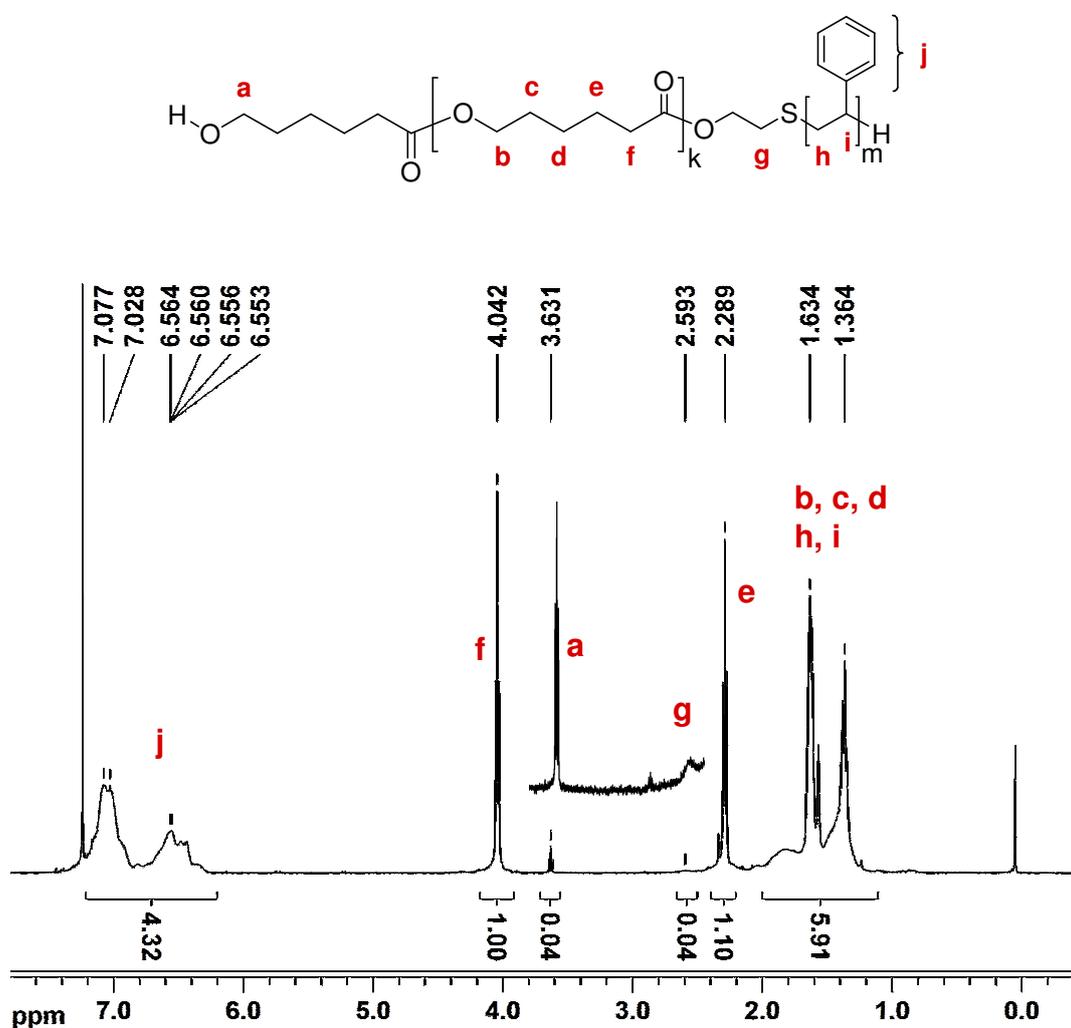


Abb. 2-47: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Copolymers mit **[41]** : $[\text{Styrol}] = 1 : 50$.

Das Verhältnis der Signale der aromatischen Protonen (7,2 bis 6,3 ppm), den α -Methylenprotonen (4,04 ppm) und den endständigen ε -Methylenprotonen (3,63 ppm) beträgt 4,3 : 1 : 0,04. Das bedeutet, dass durchschnittlich 43 Styroleinheiten an eine Polycaprolactonkette gebunden sind. Des Weiteren hat sich das Signal für die $-CH_2S$ -Protonen verbreitert und nach 2,59 ppm verschoben, was auf den Kettenübertrag auf die $-SH$ -Gruppe hinweist.

Wie schon im Fall der Copolymerisation von **27** mit **31** beobachtet, bewirkt der Einbau von Comonomer eine deutliche Herabsetzung der Kristallinität. Ähnliches wurde hier bei der Bildung der Blockcopolymeren beobachtet. Ataktisches Polystyrol ist ein amorphes Polymer, weshalb die Kristallinität von Polycaprolacton-block-Polystyrol **44** mit wachsender Länge des Polystyrolblocks abnehmen sollte. Die Fotos in Abbildung 2-48 a - c zeigen polarisationsmikroskopische Aufnahmen von a) Polycaprolacton und den Proben mit b) **[41]** : [Styrol] = 1 : 30 und c) 1 : 50.

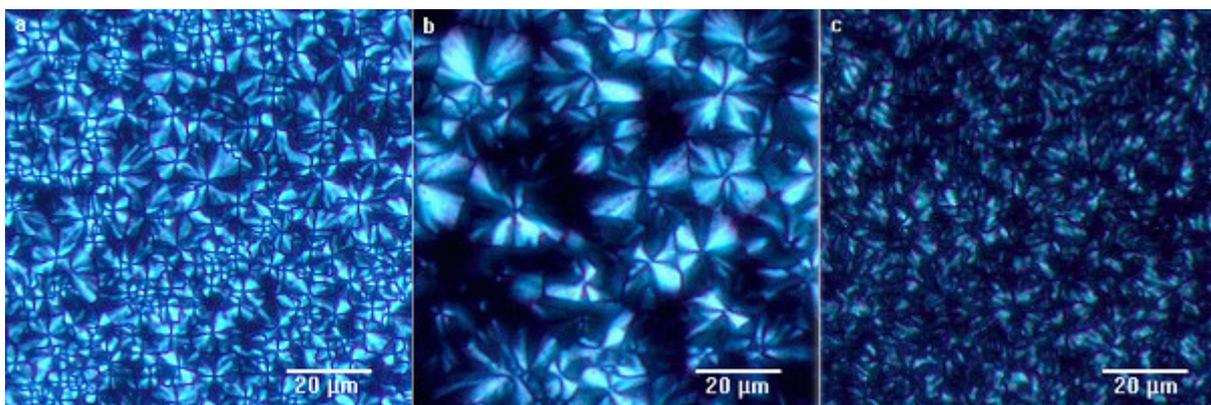


Abb. 2.48 a-c: a) Polycaprolacton **41**, Polycaprolacton-block-Polystyrol **44** mit b) **[41]** : [Styrol] = 1 : 30 und c) 1 : 50.

Die typische Sphärolithstruktur ist in a) deutlich zu erkennen, während in b) neben den Sphärolithen bereits große dunkle Areale zu sehen sind, welche von den amorphen Polystyrolblöcken stammen. In c) zeigen sich nur noch kleine kristalline Domänen welche umgeben sind von dunklen Flächen, was zeigt, dass die Kristallisation deutlich gehemmt wird.

2.3.6.3. Einfluss von MW-Strahlung auf die Stereoselektivität

Zur Evaluation der Stereoselektivität wurde die ROP von CL **27** mit racemischen 2-Phenylpropanol **45** als Initiator untersucht. Aufgrund der Substratselektivität baut eines der beiden Enantiomere entsprechend Abbildung 2-49 bevorzugt in das Polymer ein, während sich das andere Enantiomer in der Lösung anreichert. Um den Einfluss der MW-Strahlung untersuchen zu können, erfolgte die Versuchsdurchführung wieder wie in Kapitel 2.2.1. beschrieben.

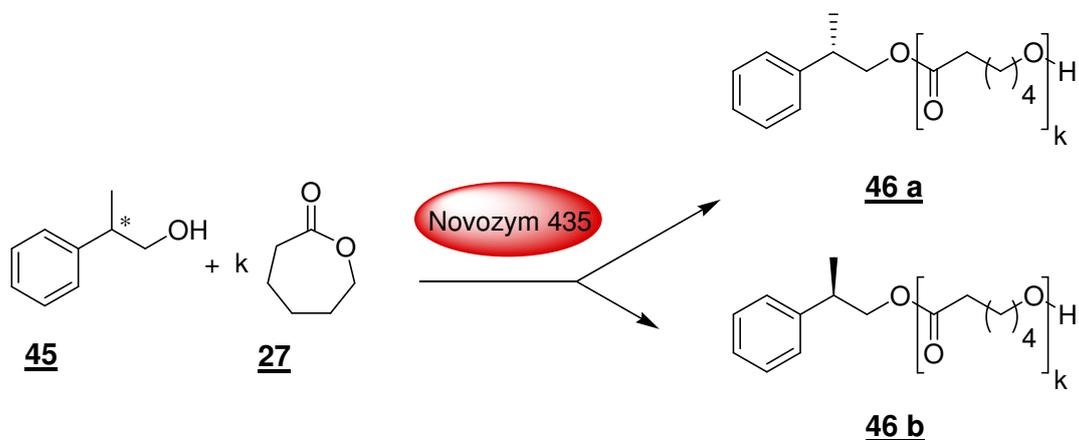


Abb. 2-49: ROP von CL **27** mit racemischen 2-Phenylpropanol **45** als Initiator.

Als Lösungsmittel kam Diethylether zum Einsatz. Zur Bestimmung der Stereoselektivität des Enzyms wurden die Konzentrationen der beiden 2-Phenylpropanol-Enantiomere **45** in der Lösung nach 10, 20 und 30 Minuten mittels chiraler HPLC-Messungen ermittelt. Der „enantiomeric excess“ des Initiators im Polymer (ee_p) wurde wie folgt berechnet:

$$ee_p = \frac{S_p - R_p}{S_p + R_p} \quad \text{F-3}$$

$$S_p = 0,5 - (1 - c) \times \frac{S}{S + R} \quad \text{F-4}$$

$$R_p = 0,5 - (1 - c) \times \frac{R}{S + R} \quad \text{F-5}$$

S = Anteil an S – Enantiomer im Rückstand

R = Anteil an R – Enantiomer im Rückstand

Die folgende Tabelle 2-17 fasst die Resultate zusammen.

Tab. 2-17: *Enzymatische Polymerisation von CL **27** mit 2-Phenylpropanol **45** als Initiator im Ölbad und in der Mikrowelle.*

t [min.]	Umsatz ^a		S ^b		R ^b		ee _P ^c	
	[%]		MW	Δ	MW	Δ	MW	Δ
	MW	Δ						
10	15	7	0,1	0,07	0,05	0,03	0,33	0,41
20	36	26	0,21	0,16	0,15	0,1	0,16	0,24
30	45	36	0,22	0,18	0,19	0,18	0,10	0,12

a Bestimmt durch HPLC-Messungen bezogen auf **45**

b Bestimmt mittels chiraler HPLC-Messungen

c Berechnet nach Formel F-3

In Abbildung 2-50 sind in a) die Umsätze von **45** unter MW-Bestrahlung und im Ölbad gezeigt. Es lässt sich klar erkennen, dass wie auch schon im Fall von Wasser als Initiator eine Beschleunigung der Reaktion auftritt. In b) wurden die berechneten Werte des ee_P aus Tabelle 2-17 gegen den jeweiligen Umsatz aufgetragen. Die ee_P-Werte liegen bis auf einen Datenpunkt auf einer Linie, was bedeutet, dass die MW-Strahlung keinen erkennbaren Effekt auf die Stereoselektivität hatte.

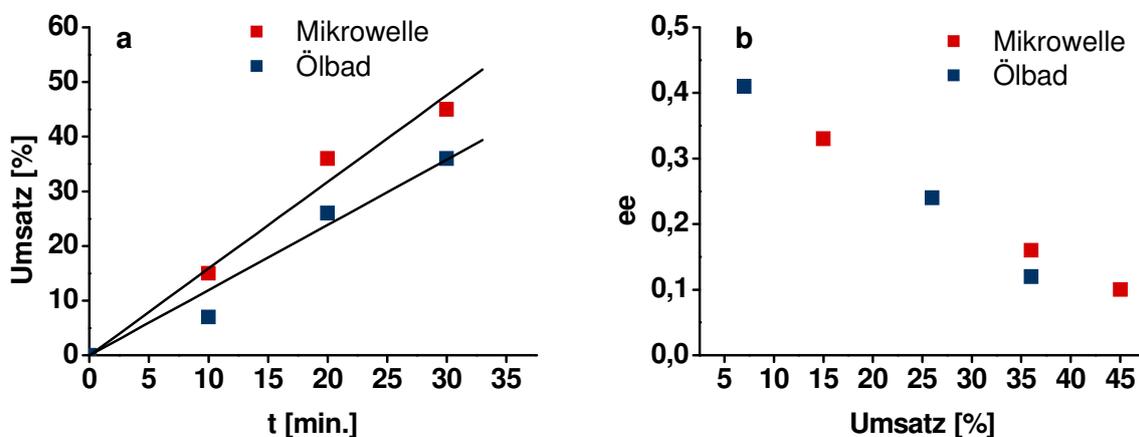


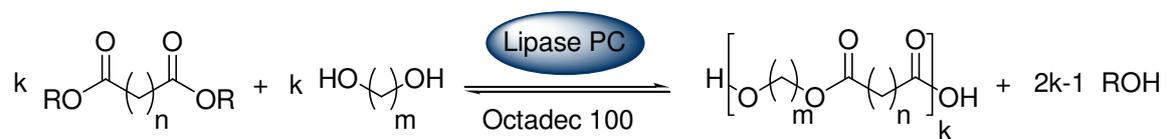
Abb. 2-50 a-b: *Abhängigkeit des a) Umsatzes und b) ee_P von der Zeit.*

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch mit einer früheren Publikation^[129], in der die enzymatische stereoselektive Veresterung von 2-Phenylethanol mit verschiedenen Fettsäuren unter MW-Bestrahlung untersucht wurde. Dass Trotz der Tatsache, dass das gleiche Enzym zum Einsatz kam, keine Abhängigkeit von der MW-Bestrahlung gefunden wurde, könnte daran liegen, dass anders als in der Literatur beschrieben, unter Rückfluss gearbeitet wurde. Dadurch können im vorliegenden Fall thermische Effekte ausgeschlossen werden. Zudem ist dieses Ergebnis im Einklang mit der Theorie aus 2.3.5.1., wonach MW-Effekte vor allem bei solchen Reaktionen auftreten, deren Übergangszustand polarer ist, als der zugehörige Grundzustand. Da für stereoselektive Reaktionen aber kein signifikanter Anstieg der Polarität im ÜZ zu erwarten ist, sollte auch kein MW-Effekt zu beobachten sein.



Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sind neue Einsatzmöglichkeiten von Lipasen in der Polymerchemie untersucht worden. Ein Schwerpunkt dabei war die lipasenkatalysierte Polykondensation zu Polyestern in wässrigem Medium. Die Reaktion erfolgte unter Verwendung von Emulgatoren, wobei in Wasser stabilisierte Polyesternanopartikel entstanden. Als Enzym kam die wasserlösliche Lipase *pseudomonas caepicia* zum Einsatz. Wie aus Abb. 3-1 ersichtlich, wurden neben freien Dicarbonsäuren auch verschiedene Dicarbonsäureester als Monomere eingesetzt.



$$n = 7 - 10$$

$$m = 8 - 12$$

$$R = \text{H}^-, \text{CH}_3^-, \text{C}_2\text{H}_5^-, \text{C}_3\text{H}_7^-, \text{C}_4\text{H}_9^-$$

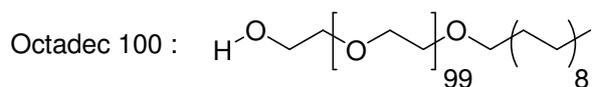


Abb. 3-1: Synthese von Polyesternanopartikeln in wässrigem Medium.

Abhängig von der Hydrophobie der Monomere wurden die Polyester in verschiedenen Ausbeuten und Molekulargewichten erhalten. Entsprechend den Ergebnissen früherer Arbeiten zeigten hydrophobe Monomere die besten Resultate. Molekulargewichte von $M_n = 2500$ konnten realisiert werden mit Monomerumsätzen von bis zu 97 %.

Verschiedene Ester der Carbonsäuren konnten ebenfalls erfolgreich eingesetzt werden. Es zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der Ergebnisse von der Länge des Esterrests R, da mit steigender Kettenlänge für R sowohl Ausbeute als auch Molekulargewicht abnahmen (Abbildung 3-2). Die Methylester waren daher am besten geeignet.

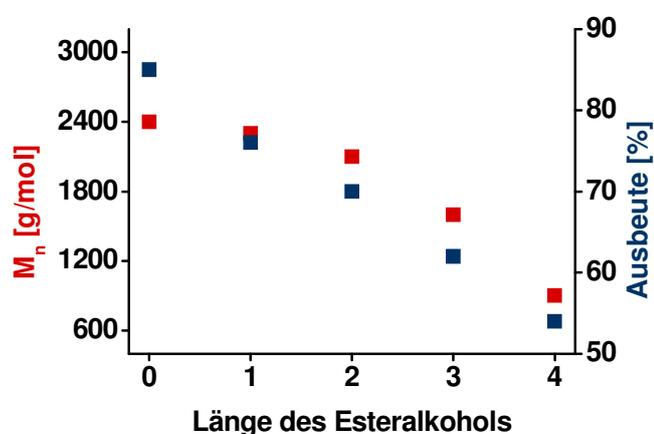


Abb. 3-2: *Resultate der enzymatischen Polykondensation verschiedener Dicarbonsäurederivate mit 1,10-Decandiol in wässrigem Medium.*

Diese Methode stellt somit eine deutliche Weiterentwicklung der bisherigen Arbeiten dar, da unter den gegebenen Bedingungen mit deutlich geringeren Enzymkonzentrationen innerhalb erheblich kürzerer Reaktionszeit höhere Ausbeuten und Molekulargewichte als bisher erzielt werden konnten. Zudem betrug die Monomerkonzentration 167 g/L und liegt damit im industriell interessanten Bereich. Mittels HPLC Messungen konnte gezeigt werden, dass der Monomerumsatz 97% betrug, so dass das System als sehr effiziente Möglichkeit zur milden Veresterung angesehen kann.

Ein weiterer Schwerpunkt befasste sich mit dem Einfluss von Mikrowellen-(MW)-Bestrahlung auf die enzymatische Polymerisation von verschiedenen Lactonen. Dabei wurden neben den Auswirkungen auf Molekulargewicht und Ausbeute auch die Veränderung der Chemo- und Stereoselektivität untersucht.

Als Modellsystem diente zu Beginn ϵ -Caprolacton, dessen ROP mit Wasser als Initiator untersucht wurde. Im Vergleich zum Ölbad konnten, wie in Abbildung 3-3 gezeigt, abhängig vom Lösungsmittel signifikante Unterschiede bei den Polymerisationsergebnissen festgestellt werden. Zudem hat sich das Verhältnis zwischen offenen Ketten und Makrozyklen (Nebenprodukt) unter MW-Bestrahlung verändert.



Relativer Monomerumsatz unter MW-Bestrahlung

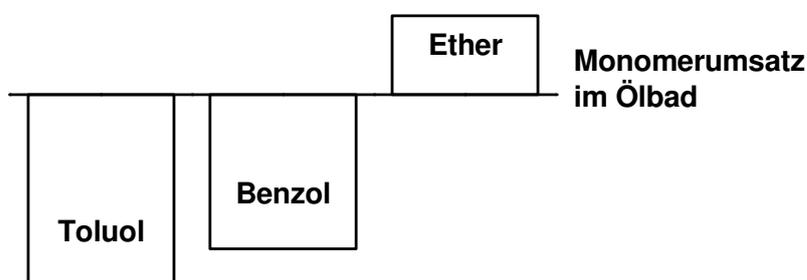


Abb. 3-3: Monomerumsätze unter MW-Bestrahlung relativ zum Monomerumsatz im Ölbad abhängig vom Lösungsmittel.

Neben ϵ -Caprolacton und weiteren linearen Lactonen wurden noch zwei bicyklische Lactone synthetisiert und deren Polymerisationsverhalten untersucht (Abb. 3-4).

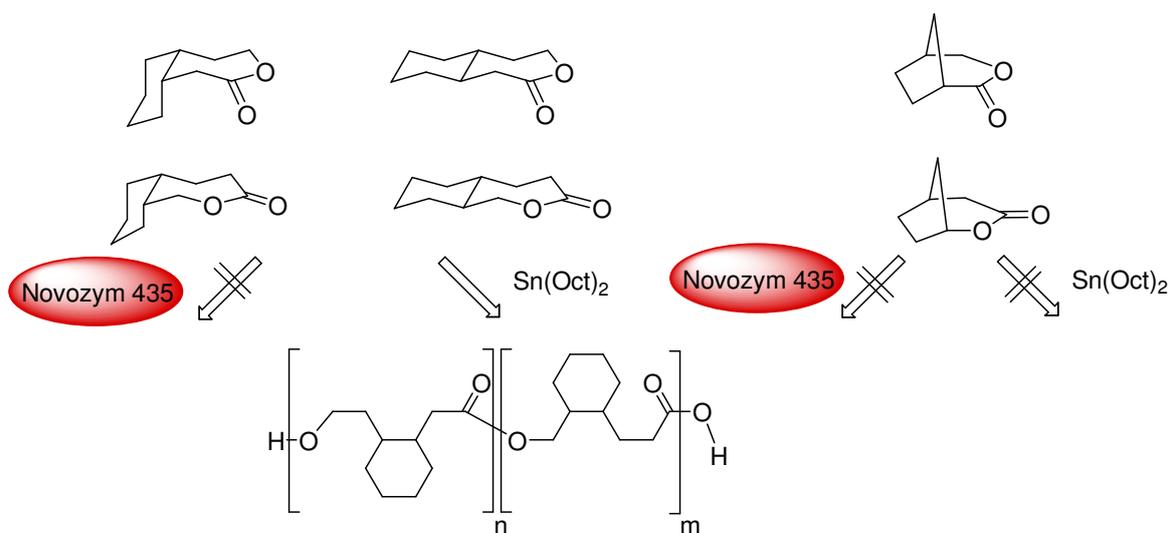


Abb. 3-4: Polymerisation der synthetisierten bicyklischen Lactone.

Aufgrund der Substratspezifität ließ sich sowohl unter Mikrowellenbestrahlung als auch im Ölbad keines der bicyklischen Lactone enzymatisch polymerisieren. Die Copolymerisation mit ϵ -Caprolacton lieferte unabhängig von der Heizmethode in beiden Fällen selektiv Polycaprolacton. Mit $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ konnte das in Abb. 3-4 links dargestellte Lacton quantitativ umgesetzt werden, wobei Polymere mit $M_n = 13000$ für das Homopolymer entstanden. Die Copolymerisation mit ϵ -Caprolacton in verschiedenen Verhältnissen war ebenfalls erfolgreich.

Zur Untersuchung der Regioselektivität unter MW-Bestrahlung wurde 2-Mercaptoethanol als Initiator für die enzymatische ROP von ϵ -Caprolacton eingesetzt. Hier konnte wieder eine Beschleunigung der Polymerisation unter MW-Bestrahlung beobachtet werden. Zusätzlich hat sich das Produktverhältnis zwischen Ester und Thioester zugunsten des Esters verschoben, wie Abb. 3-5 zeigt.

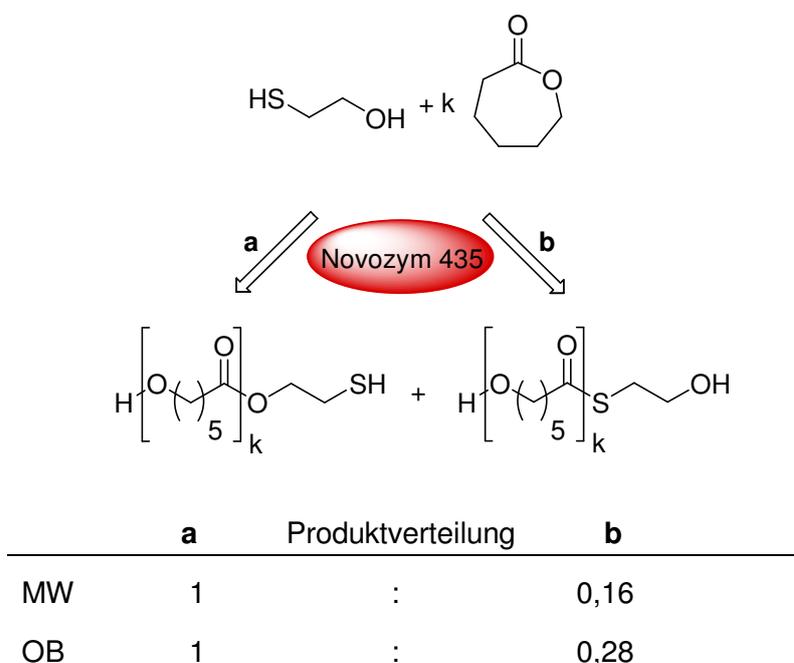


Abb. 3-5: Produktverteilung bei der enzymatischen ROP von ϵ -Caprolacton mit 2-Mercaptoethanol und Novozym 435 unter MW-Bestrahlung bzw. im Ölbad.

Dieses Resultat unterstützt die weiter oben beschriebenen Resultate und steht im Einklang mit der in der Literatur beschriebenen Theorie über athermische Mikrowelleneffekte.

Der dabei entstehende SH-funktionalisierte Polyester ist ein starker Kettenüberträger und konnte danach erfolgreich zur Synthese von Polycaprolacton-block-Polystyrol eingesetzt werden.

Abschließend erfolgte noch die Untersuchung zum Einfluss der MW-Strahlung auf die Stereoselektivität. Dazu wurde die enzymatische ROP von ϵ -Caprolacton mit einem Racemat von 2-Phenylpropanol initiiert. Es wurde unter MW-Bestrahlung wieder ein verbesserter Umsatz im Vergleich zum Ölbad beobachtet.

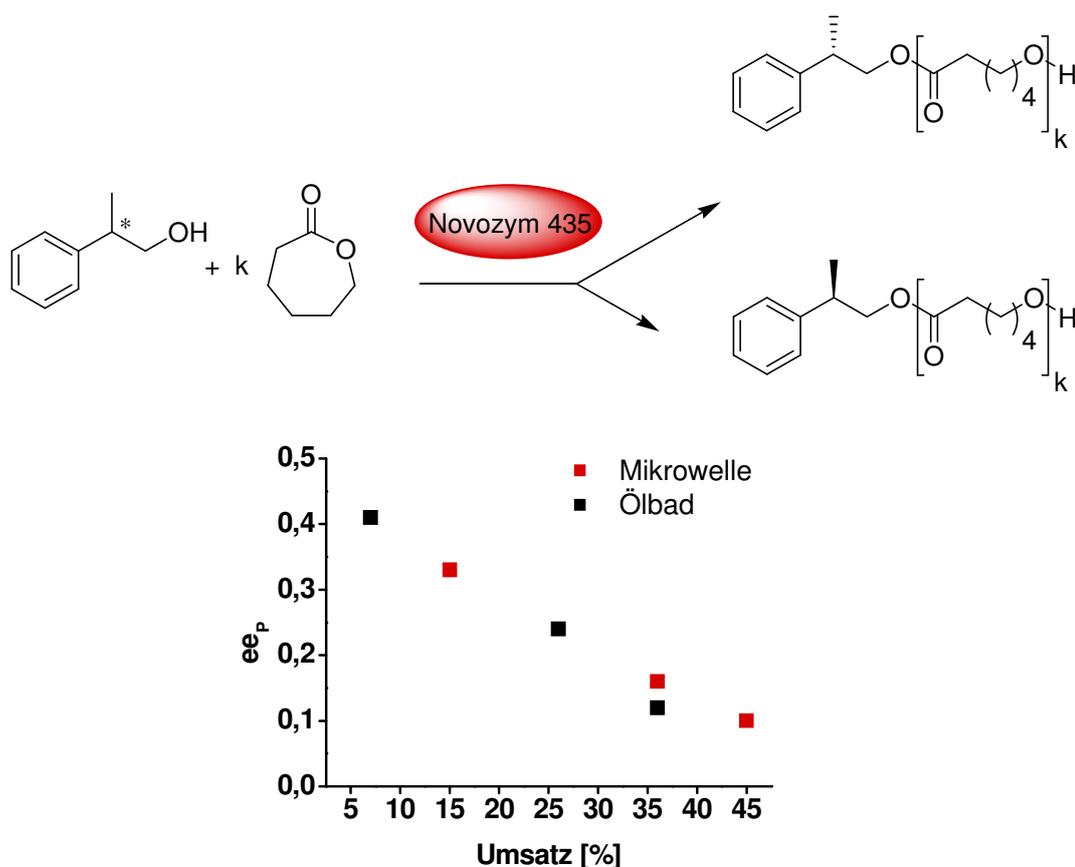


Abb. 3-6: Untersuchung zum Einfluss der MW-Bestrahlung auf die Stereoselektivität bei der enzymatischen ROP von ϵ -Caprolacton mit 2-Phenylpropanol als Initiator.

Entgegen früheren Berichten aus der Literatur mit anderen Substraten konnte aber kein Einfluss auf die Stereoselektivität gefunden werden, da die Proben unter MW-Bestrahlung bezüglich des Restinitiatorgehalts denselben ee_P-Wert wie die Ölbadproben aufwiesen (Abbildung 3-6).



Experimenteller Teil

4.1. Verwendete Geräte

NMR:

Die ^1H -NMR- sowie ^{13}C -NMR-Messungen wurden an einem Bruker Advance DRX500 FT-NMR-Spektrometer bei 500,13 MHz durchgeführt. Als Lösungsmittel diente CDCl_3 (Aldrich, 99,8 atom % D).

GPC:

Alle Messungen wurden unter Verwendung eines GPC-Systems mit einem UV-Detektor vom Typ „Waters 486 Tunable Absorbance Detektor“ bei 275 nm und einem RI-Detektor vom Typ „Waters 410 Differential Refraktometer“ durchgeführt. Als Eluent diente THF. Das System wurde mit Polystyrolstandards im Bereich von 580 bis 523.000D kalibriert. Die Flußrate betrug $1\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. 100 μl einer ca. 0,125 gew.% Probenlösung wurden in eine Säulenkombination bestehend aus einer Vorsäule mit 40 Å und einer Hauptsäule mit 40 Å, 100 Å and 300 Å Porengrößen injiziert.

IR:

Die Aufzeichnung der IR-Spektren erfolgte mittels eines Fouriertransformations-IR-Spektrometers des Typs FT-IR-5SXB der Firma Nicolet.

DSC:

Für die DSC-Messungen wurde ein DSC30 von Mettler Toledo mit TC15 Controller und der STARe Software verwendet.

MALDI-TOF:

Alle Analysen erfolgten im Mikroanalytischen Labor des Instituts für Anorganische Chemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Die Messungen wurden mit einem Bruker Ultraflex TOF durchgeführt.

Polarisationsmikroskop:

Es wurde ein Olympus BH-2 Polarisationsmikroskop eingesetzt, welches mit einer Olympus DP12 Digitalkamera direkt mit dem Computer verbunden war (Software: Olympus DP-Soft Version 3.1).

HPLC:

Das HPLC-System besteht aus einer Pumpe der Marke „Kontron Instruments“ Modell „System 525“, einem UV-Detektor der Marke „Bio-Tek Kontron Instruments“ Modell „HPLC 540 Diode Array Detektor“ und einem IR-Detektor der Firma „Schambek SFD GmbH“ Modell „RI 2000“. Die Analyse der Messdaten erfolgte mittels „Kroma System 2000“ Software.

DLS:

Alle Messungen erfolgten mit einem Lichtstreuengerät der Marke „Otsuka Electronics“ Modell „Photal DLS-6006“ bei niedrigen Konzentrationen, 25 °C und festem Streuwinkel von 90°.

GC-MS:

Alle Analysen erfolgten ebenfalls im Mikroanalytischen Labor des Instituts für Anorganische Chemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

UV-Vis:

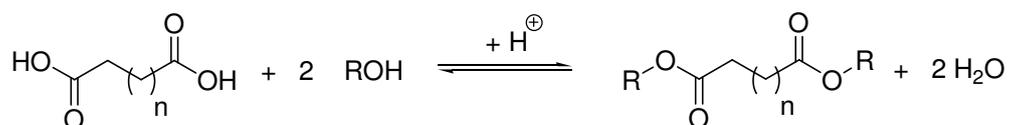
Die Spektren wurden mit einem Nicolet UV540 Spektrometer aufgenommen.

Mikrowelle

Alle mikrowellengestützten Synthesen wurden mit einem Mikrowellengerät der Marke „CEM“ Modell „Monomode-Discover“ durchgeführt.

4.2. Synthesen

4.2.1. Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Carbonsäureester

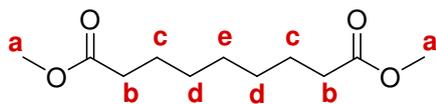


$n = 6, 8; \text{R} = \text{CH}_3$

$n = 7; \text{R} = \text{C}_3\text{H}_7 \text{ bzw. } \text{C}_4\text{H}_9$

50 mmol der Carbonsäure wurden in 200 ml des entsprechenden Alkohols gelöst, mit 2 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und für 5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach anschließendem Einengen auf 20 – 30 ml unter Vakuum wurde die Mischung auf Eis gegeben und zwei Mal mit 100 ml Diethylether extrahiert. Mehrmaliges Waschen mit verdünnter Na_2CO_3 -Lösung und Wasser mit anschließender Vakuumdestillation lieferte das Produkt.

4.2.1.1. Synthese von Dimethylnonanoat 21



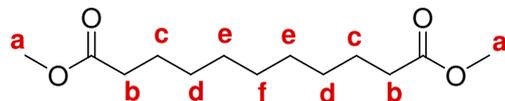
Die Synthese wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.1. durchgeführt. Es wurden 6,7 g Produkt erhalten.

Ausbeute 62 %

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 3,71 (6H, s, **a**-H); 2,32 (4H, t, **b**-H); 1,63 (4H, m, **c**-H); 1,30 – 1,40 (6H, m, **d**, **e**-H).

MS (EI) m/z_{gef.} = 216 [M⁺]
 m/z_{ber.} = 216,1 [M⁺] für C₁₁H₂₀O₄

4.2.1.2. Synthese von Dimethylundecanoat 23



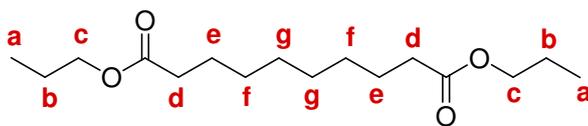
Die Synthese wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.1. durchgeführt. Es wurden 8 g Produkt erhalten.

Ausbeute 66 %

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 3,70 (6H, s, **a**-H); 2,29 (4H, t, **b**-H); 1,63 (4H, m, **c**-H); 1,30 – 1,40 (m, 10H, **d** - **f**-H).

MS (EI) m/z_{gef.} = 244 [M⁺]
 m/z_{ber.} = 244,2 [M⁺] für C₁₃H₂₄O₄

4.2.1.3. Synthese von Dipropyldecanoat 25



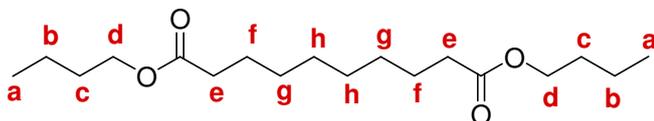
Die Synthese wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.1. durchgeführt. Es wurden 9 g Produkt erhalten.

Ausbeute 63 %

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,03 (4H, s, **c**-H); 2,30 (4H, t, **d**-H); 1,70 – 1,50 (16H, m, **b, e - g**-H); 0,99 (6H, s, **a**-H).

MS (EI) $m/z_{\text{gef.}} = 286$ [M⁺]
 $m/z_{\text{ber.}} = 286,2$ [M⁺] für C₁₆H₃₀O₄

4.2.1.4. Synthese von Dibutyldecanoat 26



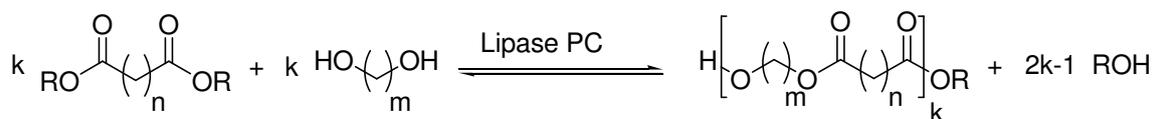
Die Synthese wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.1. durchgeführt. Es wurden 11,1 g Produkt erhalten.

Ausbeute 71 %

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,04 (4H, s, **d**-H); 2,26 (4H, t, **e**-H); 1,70 – 1,50 (20H, m, **b, c, f - h**-H); 0,99 (6H, s, **a**-H).

MS (EI) $m/z_{\text{gef.}} = 314$ [M⁺]
 $m/z_{\text{ber.}} = 314,2$ [M⁺] für C₁₈H₃₄O₄

4.2.2. Enzymatische Polykondensation in wässriger Lösung



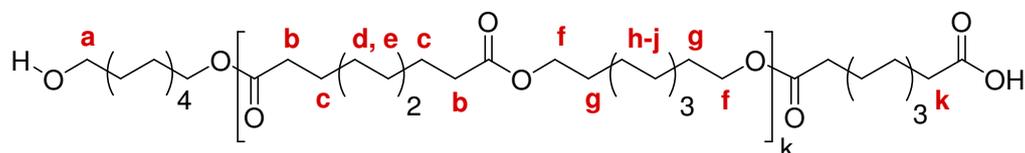
$$n = 6 - 10$$

$$m = 6, 8, 10, 12$$



In einem 50 ml Kolben mit Rührfisch wurden 2 g der Monomere in equimolarem Verhältnis in 7 ml Wasser suspendiert und wenn nicht anders angegeben mit 130 mg Emulgator Octadec 100 (Brij 700®) versetzt. Durch Aufheizen auf 50 °C und Injektion einer Suspension von 80 mg Lipase PC (\cong 20 mg Protein) in 3 ml Wasser durch einen Spritzenfilter erfolgte die Initiierung der Polykondensation. Nach 6 h wurde die Dispersion in 50 ml kaltem Methanol ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert und über Nacht getrocknet.

4.2.2.1. Poly(1,10-Dekamethylenglycoldecanoat) 3



Die Polykondensation wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.2. durchgeführt.

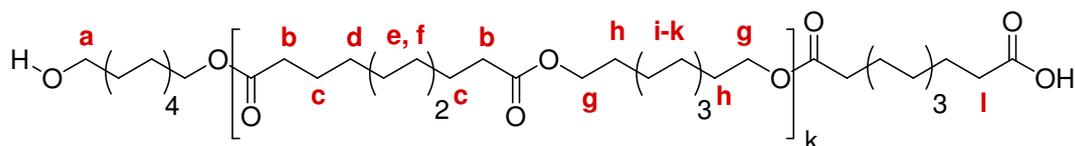
Ausbeute 83 %

M_n 2400 g/mol

M_w/M_n 1,5

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,03 (4H, t, **f**-H); 3,63 (2H, m, **a**-H); 2,31 (2H, m, **k**-H); 2,29 (4H, t, **b**-H); 1,61 (12H, m, **c**, **g**, **h**-H); 1,28 (16H, m, **d**, **e**, **i**, **j**-H).

4.2.2.2. Poly(1,10-Dekamethylenglycolundecanoat) 19



Die Polykondensation wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.2. durchgeführt.

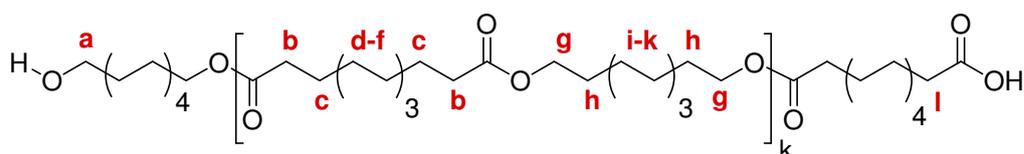
Ausbeute 78 %

M_n 2300 g/mol

M_w/M_n 1,7

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,05 (4H, t, **g**-H); 3,64 (2H, m, **a**-H); 2,34 (2H, m, **l**-H); 2,28 (4H, t, **b**-H); 1,61 (10H, m, **c**, **h**, **i**-H); 1,28 (10H, m, **d**, **e**, **f**, **j**, **k**-H).

4.2.2.3. Poly(1,10-Dekamethylenglycoldodecanoat) 20



Die Polykondensation wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.2. durchgeführt.

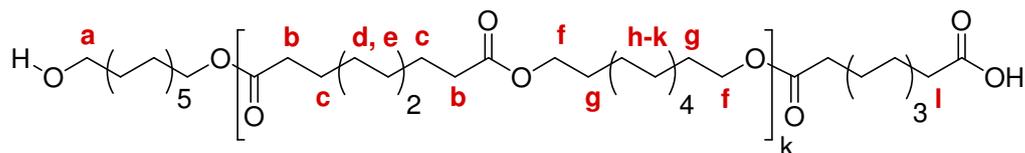
Ausbeute 82 %

M_n 2500 g/mol

M_w/M_n 1,6

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,03 (4H, t, **g**-H); 3,62 (2H, m, **a**-H); 2,33 (2H, m, **l**-H); 2,29 (4H, t, **b**-H); 1,61 (12H, m, **c**, **h**, **i**-H); 1,28 (20H, m, **d**, **e**, **f**, **j**, **k**-H).

4.2.2.4. Poly(1,12-Dodekamethylenglycoldecanoat) 12



Die Polykondensation wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.2. durchgeführt.

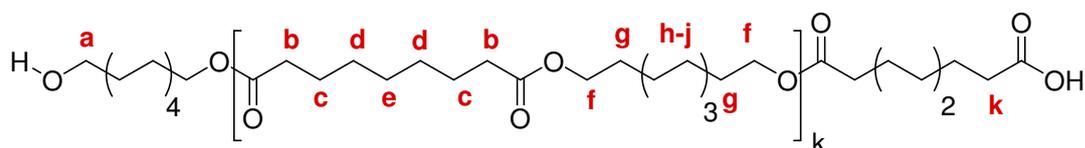
Ausbeute 30 %

M_n 1000 g/mol

M_w/M_n 1,9

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,05 (4H, t, **f**-H); 3,64 (2H, m, **a**-H); 2,34 (2H, m, **m**-H); 2,29 (4H, t, **b**-H); 1,61 (12H, m, **c**, **g**, **h**-H); 1,30 (20H, m, **d**, **e**, **i**, **j**, **k**-H).

4.2.2.5. Poly(1,10-Decamethylenglycolnonanoat) 18



Die Polykondensation wurde gemäß der Vorschrift in Kap. 4.2.2. durchgeführt.

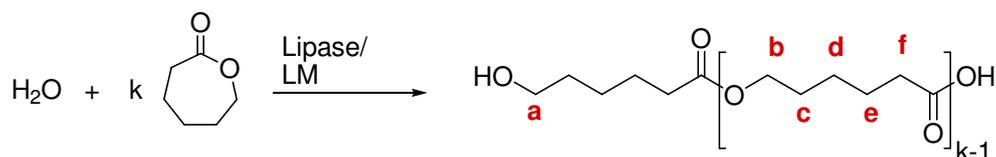
Ausbeute 30 %

M_n 1400 g/mol

M_w/M_n 2,1

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,05 (4H, t, **f**-H); 3,64 (2H, m, **a**-H); 2,34 (2H, m, **k**-H); 2,28 (4H, t, **b**-H); 1,61 (12H, m, **c**, **g**, **h**-H); 1,32 (14H, m, **d**, **e**, **i**, **j**-H).

4.2.3. Enzymatische ROP von CL 27 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung

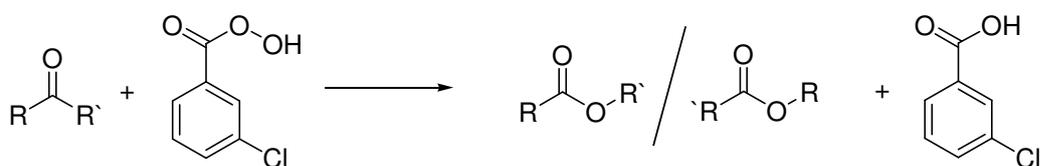


Eine Lösung von 5 g (44 mmol) CL 27 in 20 ml Lösungsmittel wurde genau halbiert und in zwei 50 ml Kolben mit Magnetrührstäbchen gegeben. Die Lösungen wurden danach mit je 125 mg Novozym 435 versetzt und für 90 min. unter MW-Bestrahlung bzw. im Ölbad unter Rückfluss erhitzt. Die Temperatur des Ölbad war dabei deutlich oberhalb (min. 30 °C) des Siedepunkts des verwendeten Lösungsmittels um ein rasches Aufheizen zu gewährleisten. Nach beendeter Reaktion erfolgte die Aufarbeitung durch Ausfällen der Polymere in jeweils 50 ml Methanol bei 5 °C für 10 min. und anschließendem Trocknen im Vakuum über Nacht.

Unten sind exemplarisch die Resultate für die Polymerisation in Diethylether bei 200 W aufgeführt. Alle weiteren Ergebnisse sind in Tabelle 2-10 zusammengefasst.

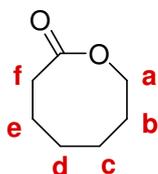
	MW		Δ	
Ausbeute	31	%	21	%
M_n	5800	g/mol	4900	g/mol
M_w/M_n	1,7		1,7	
¹H-NMR	δ [ppm] (500 MHz, CDCl ₃) = 4,03 (2H, t, ³ J _{H,H} = 6,6 Hz, b -H); 3,62 (2H, m, a -H); 2,28 (2H, t, ³ J _{H,H} = 7,3 Hz, f -H); 1,5 – 1,7 (4H, m, c , e -H); 1,2 – 1,4 (2H, m, d -H).			

4.2.4. Baeyer-Villiger-Oxidation der Ketone 33, 34, 37, 38



0,15 mol des Ketons wurden über einen Tropftrichter in eine Lösung aus 30 g m-Chloroperoxybenzoesäure in 200 ml CH_2Cl_2 unter Rühren langsam zugetropft. Nach 24 h Rühren bei 40 °C wurde die Lösung zweimal mit 50 ml gesättigter wässriger $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung, zweimal mit 50 ml verdünnter wässriger Na_2CO_3 Lösung und zweimal mit 50 ml dest. Wasser gewaschen. Vortrocknung der organischen Phase mit wasserfreiem Na_2SO_4 und Vakuumdestillation lieferte das Lacton.

4.2.4.1. Synthese von 1-Oxacyclooctan-2-on 28



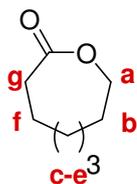
Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Vorschrift in 4.2.4. Es wurden 11,9 g des Lactons 28 erhalten. Für die MW-gestützte Synthese wurde ein Stammansatz in zwei Hälften geteilt und die Reaktion jeweils unter Rückfluss durchgeführt. Dabei wurden in Abständen von 1 h Proben für kinetische Untersuchungen mittels $^1\text{H-NMR}$ entnommen.

Ausbeute 62 %

MS (EI) $m/z_{\text{gef.}} = 128$ $[\text{M}^+]$
 $m/z_{\text{ber.}} = 128,1$ $[\text{M}^+]$ für $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_2$

$^1\text{H-NMR}$ δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3) = 4,41 (2H, t, $^3J_{\text{H,H}} = 6,1$ Hz, **a**-H); 2,65 – 2,55 (t, 2H, **f**-H); 1,95 – 1,54 (m, 8H, **b-e** – H).

4.2.4.2. Synthese von 1-Oxacyclononan-2-on 29



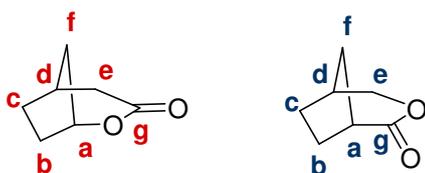
Die Synthese wurde entsprechend der Vorschrift in 4.2.4. durchgeführt. Es wurden 4 g Lacton 29 erhalten.

Ausbeute 19 %

MS (EI) $m/z_{\text{gef.}} = 142$ $[M^+]$
 $m/z_{\text{ber.}} = 142,1$ $[M^+]$ für $C_7H_{12}O_2$

$^1\text{H-NMR}$ δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3) = 4,37 (2H, t, $^3J_{\text{H,H}} = 5,7$ Hz, **a**-H); 2,38 – 2,28 (2H, m, **g**-H); 2,00 – 1,32 (10H, m, **b-f** – H).

4.2.4.3. Synthese von 2-Oxa-bicyklo[3.2.1.]octan-3-on und 3-Oxa-bicyklo[3.2.1.]octan-2-on 30



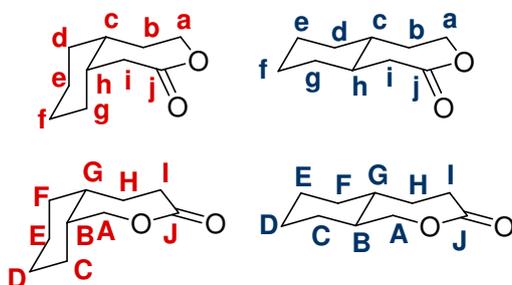
Die Synthese wurde entsprechend der Vorschrift in 4.2.4. durchgeführt. Es wurden 9,5 g des Lactongemischs 30 erhalten.

Ausbeute 51 %

MS (EI) $m/z_{\text{gef.}} = 126$ $[M^+]$ (beide Isomere)
 $m/z_{\text{ber.}} = 126,1$ $[M^+]$ für $C_7H_{10}O_2$

¹H-NMR	δ [ppm] (500 MHz, CDCl ₃) = 4,28 – 4,06 (1H bzw. 2H, a, e); 2,7 – 2,5 (1H bzw. 2H, a, e); 2,0 – 0,8 (6H, b, b, c, c, d, d, f, f-H)
¹³C-NMR	δ [ppm] (125 MHz, CDCl ₃) = 171,4 (g, g-C); 77,6, 74,3, 68,8 (a, e-C); 46,3, 44,4, 42,0, 39,8, 37,2, 35,4, 34,2, 30,7, 30,0, 26,3 (a, b, b, c, c, d, d, f, f, e-C)

4.2.4.4. Synthese von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans-4-Oxa-3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Vorschrift in 4.2.4. Es wurden 15,6 g des Lactongemischs 31 erhalten.

Ausbeute 62 %

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,2 – 3,8 (2H, m, **a, a, A, A-H**); 2,8 – 2,2 (2H, m, **i, i, I, I-H**); 2,1 – 0,8 (12H, m, **b, b, B, B, c, c, C, C, d, d, D, D, e, e, E, E, f, f, F, F, g, g, G, G, h, h, H, H-H**)

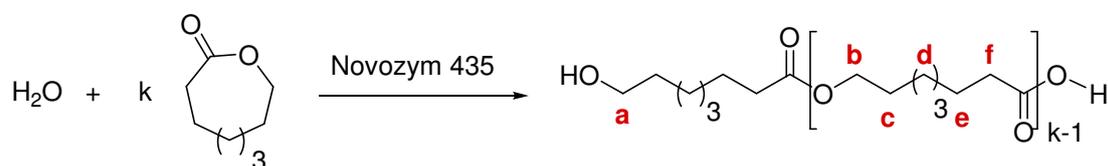
¹³C-NMR δ [ppm] (125 MHz, CDCl₃) = 176,5 (**j, j, J, J-C**); 77,6, 74,3, 68,8 (**a, a, A, A-C**); 46,3, 44,4, 42,0, 39,8, 37,2, 35,4, 34,2, 30,7, 30,0, 26,3 (**b, b, B, B, c, c, C, C, d, d, D, D, e, e, E, E, f, f, F, F, g, g, G, G, h, h, H, H, i, i, I, I-C**)

MS (EI) $m/z_{\text{gef.}} = 168$ [M⁺] (drei Isomere)
 $m/z_{\text{ber.}} = 168,1$ [M⁺] für C₇H₁₀O₂

4.2.5. Enzymatische ROP von 1-Oxacyclooctan-2-on 28 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung

Die Reaktion erfolgte analog zu 4.2.3., wobei 1g (8 mmol) 1-Oxacyclooctan-2-on 28 und anstatt 125 mg jeweils 250 mg Enzym verwendet wurden.

4.2.6. Enzymatische ROP von 1-Oxacyclononan-2-on 29 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung



Die Reaktion erfolgte analog zu 4.2.3., wobei 1g (7 mmol) 1-Oxacyclononan-2-on 29 und anstatt 125 mg jeweils 250 mg Enzym verwendet wurden.

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,01 (2H, m, **b**-H); 3,62 (2H, m, **a**-H); 2,28 (2H, m, **f**-H); 1,5 – 1,7 (4H, m, **c**, **e**-H); 1,2 – 1,4 (6H, m, **d**-H).

4.2.7. Enzymatische ROP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-3-on und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-2-on 30

2g (16 mmol) des Lactongemischs 30 wurden in 10 ml Toluol gelöst und mit 250 mg Novozym 435 versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei 75 °C gerührt und mittels GPC untersucht.

4.2.8. Enzymatische ROCP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-3-on und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-2-on 30 mit CL 27

2g (16 mmol) des Lactongemischs und 2g (17 mmol) CL wurden in 10 ml Toluol gelöst und mit 250 mg Novozym 435 versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei 75 °C gerührt in 100 ml Methanol ausgefällt und über Nacht unter Vakuum getrocknet.

Ausbeute 42 % (Polycaprolacton)

M_n 4800 g/mol

M_w/M_n 1,6

¹H-NMR siehe 4.2.3.

4.2.9. Metallkatalytische ROP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-3-on und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-2-on 30

1 g (8 mmol) des Lactongemischs wurden in ein Reagenzglas gegeben und mit 30 mg (0,08 mmol) Sn(Oct)₂ versetzt. Die Mischung wurde 3 h bei 130 °C erhitzt und nach Abkühlen analysiert.

4.2.10. Metallkatalytische ROCP von 2-Oxa-bizylo[3.2.1.]octan-3-on und 3-Oxa-bizylo-[3.2.1.]octan-2-on 30 mit CL 27

Die Reaktion wurde analog zu 4.2.8. mit 25 mg Sn(Oct)₂ an Stelle von Novozym 435 als Initiator durchgeführt.

Ausbeute	39	% (Polycaprolacton)
M_n	4500	g/mol
M_w/M_n	1,5	
¹H-NMR	siehe 4.2.3.	

4.2.11. Enzymatische ROP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans-4-Oxa-3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31

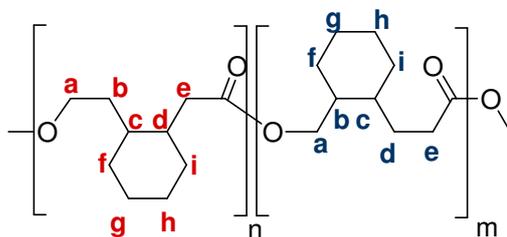
Die Reaktion erfolgte analog zu 4.2.7.

4.2.12. Enzymatische ROCP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans-4-Oxa-3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31 mit CL 27

Die Reaktion erfolgte analog zu 4.2.8.

Ausbeute	40	% (Polycaprolacton)
M_n	4400	g/mol
M_w/M_n	1,7	
¹H-NMR	siehe 4.2.3	

4.2.13. Metallkatalytische ROP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans-4-Oxa-3-oxobicyclo-[5.4.0]undecan 31



Die Reaktion wurde gemäß 4.2.9. durchgeführt.

Ausbeute 59 %

M_n n. b.

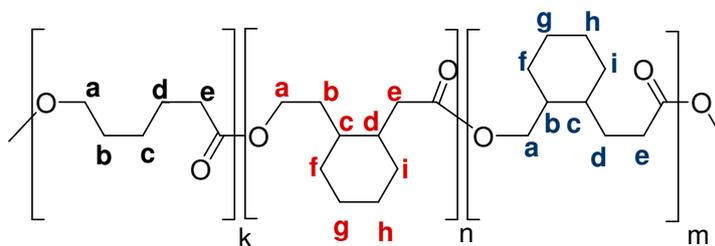
M_w/M_n n. b.

T_g - 12 °C

T_m -

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 4,01 (4H, m, **a**, **a**-H); 2,24 (4H, m, **e**, **e**-H); 1,0 – 2,0 (24H, m, **b**, **b**, **c**, **c**, **d**, **d**, **f**, **f**, **g**, **g**, **h**, **h**, **i**, **i** – H).

4.2.14. Metallkatalytische ROCP von cis/trans-3-Oxa-4-oxobicyclo- und cis/trans-4-Oxa-3-oxobicyclo- [5.4.0]undecan 31 mit CL 27



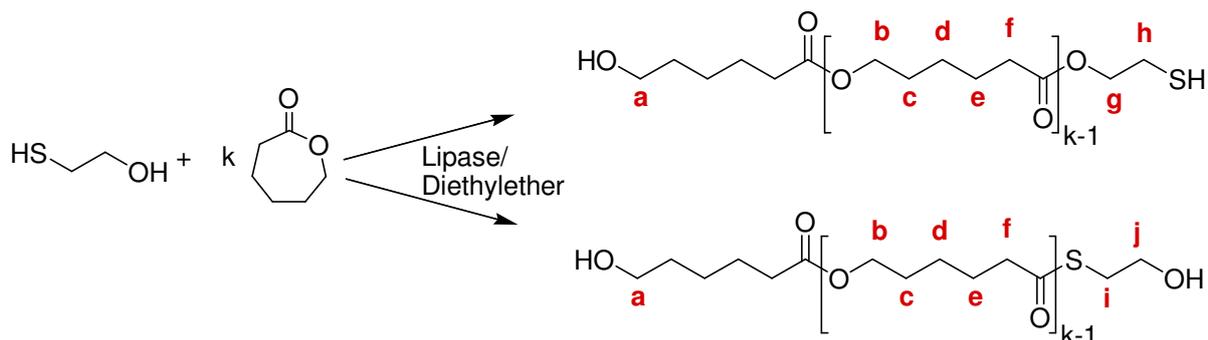
Die Reaktion erfolgte analog zu 4.2.10.

Nachfolgend sind exemplarisch die Resultate der ROCP von **31** mit CL **27** aufgeführt.

Ausbeute	60	%
M_n	18 300	g/mol
M_w/M_n	2,3	
T_g	- 48	°C
T_m	- 40	°C

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 3,99 (6H, m, **a**, **a**, **a**-H); 2,24 (6H, m, **e**, **e**, **e**-H); 1,0 – 2,0 (30H, m, **b**, **b**, **b**, **c**, **c**, **c**, **d**, **d**, **d**, **f**, **f**, **g**, **g**, **h**, **h**, **i**, **i**-H).

4.2.15. Enzymatische ROP von CL **27** im Ölbad und unter MW-Bestrahlung mit 2-Mercaptoethanol **40** als Initiator



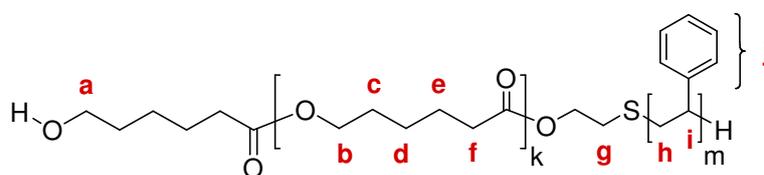
CL **27** wurde durch mehrstündiges Erhitzen über CaH₂ bei 75 °C getrocknet und anschließend unter Vakuum auf aktiviertes Molekularsieb abdestilliert. Die Trocknung von 2-Mercaptoethanol **40** erfolgte über aktiviertem Molekularsieb für 24 h. Novozym 435 wurde vor Gebrauch 24 h unter Vakuum getrocknet. Die Reaktion erfolgte in vorher getrockneten Glasgeräten.

Eine Lösung von 5 g (44 mmol) CL **27** und 150 mg (2 mmol) 2-Mercaptoethanol **40** in 20 ml extratrockenem Diethylether (H₂O ≤ 0,005%) wurde genau halbiert und in zwei 50 ml Kolben mit Magnetrührstäbchen gegeben. Nach Zugabe von je 125 mg Novozym 435 wurden die Lösungen für 90 min. unter MW-Bestrahlung bzw. im Ölbad unter Rückfluss erhitzt. Die Temperatur des Ölbad betrug 70 °C. Nach beendeter Reaktion erfolgt die

Aufarbeitung durch Ausfällen der Polymere in jeweils 50 ml Diethylether / Hexan 1 : 2 bei 5 °C für 10 min. und anschließendem Abfiltrieren und Trocknen im Vakuum über Nacht.

	MW		Δ	
Ausbeute	29	%	18	%
M_n	3600	g/mol	3400	g/mol
M_w/M_n	1,5		1,5	
¹H-NMR	δ [ppm] (500 MHz, CDCl ₃) = 4,17 (2H, m, g -H); 4,03 (2H, t, ³ J _{H,H} = 6,7 Hz, b -H); 3,62 (2H, m, a -H); 2,9 (2H, m, i -H); 2,75 – 2,70 (2H, m, h -H); 2,28 (2H, m, f -H); 1,5 – 1,7 (4H, m, c , e -H); 1,2 – 1,4 (2H, m, d -H).			

4.2.16. Polycaprolacton-block-Polystyrol 44

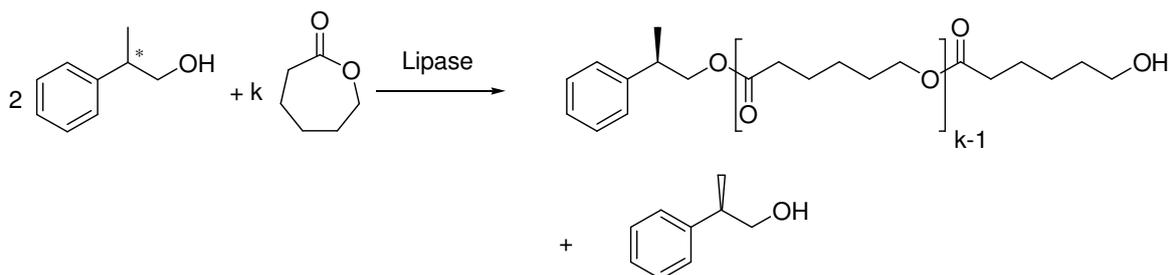


Als typisches Beispiel wurden Styrol, das MCTR 41 und AIBN 42 im Verhältnis 50 : 1 : 0,1 in Toluol gelöst und für 10 min. mit Stickstoff entgast. Der Start der Polymerisation erfolgte durch Erhitzen auf 50 °C unter Rühren. Nach 24 h wurde die Lösung in Methanol gefällt und abfiltriert. Das Filtrat wurde nochmals in Chloroform gelöst und erneut in Methanol gefällt, wobei unfunktionalisiertes Polycaprolacton in Lösung blieb.

Ausbeute	36	%
M_n	8300	g/mol
M_w/M_n	1,7	

¹H-NMR δ [ppm] (500 MHz, CDCl₃) = 7,3 – 6,2 (5H, m, **j**-H); 4,04 (2H, t, ³J_{H,H} = 6,6 Hz, **b**-H); 3,61 (2H, m, **a**-H); 2,59 (2H, m, **g**-H); 2,29 (2H, t, ³J_{H,H} = 7,3 Hz, **f**-H); 1,2 – 2,0 (10H, m, **c**, **d**, **e**, **h**, **i** -H)

4.2.17. Enzymatische ROP von CL 27 im Ölbad und unter MW-Bestrahlung mit 2-Phenylpropanol 45 als Initiator



Die Trocknung von CL 27 und Initiator erfolgte wie in 4.2.4. beschrieben.

Eine Lösung von 5 g (44 mmol) CL und 150 mg (4 mmol) 2-Phenylpropanol 45 in 20 ml extratrockenem Diethylether ($H_2O \leq 0,005\%$) wurde genau halbiert und in zwei 50 ml Kolben mit Magnetrührstäbchen gegeben. Nach Zugabe von je 125 mg Novozym 435 wurden die Lösungen für 90 min. unter MW-Bestrahlung bzw. im Ölbad unter Rückfluss erhitzt. Die Temperatur des Ölbad betrug 70 °C. Für die kinetischen Untersuchungen wurden alle 10 min. Proben aus der Lösung entnommen.



Literaturverzeichnis

- 1 Bernd Tieke, "Makromolekulare Chemie", **1997**, Wiley-VCH, Weinheim.
- 2 Römpp-Lexikon Chemie A-Z, **1994**, Thieme, Stuttgart.
- 3 G. Trantina, R. Nimmer, "*Structural Analysis of Thermoplastic Components*", 1st Edition, **1993**, McGraw-Hill Professional.
- 4 W. Göbel, *Acta Polymerica*, **1985**, *36*, 294.
- 5 D. Braun, H. Cherdrón, H. Ritter, „Polymer Synthesis: Theory and Practice“, **2001**, Springer-Verlag, Berlin.
- 6 Joachim Budrus, „Grundlagen der Organischen Chemie“, 2. Auflage, **1990**, Walter de Gruyter, Berlin.
- 7 <http://www.vke.de/pdf-files/widat.pdf> vom 21.05.2007.
- 8 D. L. Kaplan, "Biopolymers from Renewable Resources", 1st Edition, **1998**, Springer-Verlag, New York.
- 9 S. Salmon, S. M. Hudson, *J. Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem. Phys.* **1997**, *37*, 199.
- 10 G. Seretoudi, D. Bikiaris, C. Panayiotou, *Polymer*, **2002**, *43*, 5405.

-
- 11 M. R. Williamson, K. J. Wollard, H. R. Griffiths, A. G. A. Coombes, *Tissue Engineering*, **2006**, *12*, 45.
- 12 P. Wutticharoenmongkol, N. Sanchavanakit, P. Pavasant, P. Supaphol, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **2006**, *6*, 514.
- 13 H.-I. Chang, Y. Perrie, A. G. A. Coombes, *Journal of Controlled Release*, **2006**, *110*, 414.
- 14 J. Kylmä, J. V. Seppälä, *Macromolecules*, **1997**, *30*, 2876.
- 15 P. Müller, *Angew. Makromol. Chem.*, **1997**, *244*, 4383.
- 16 G. Rafler, J. Dahlmann, *Acta Polymerica*, **1990**, *41*, 611.
- 17 R. J. Lewis, „Sax`s Dangerous Properties of Industrial Materials”, 8th Edition, **1992**, New York.
- 18 X. Zhang, U. P. Wyss, D. Pichora, M. F. A. Goosen, *Polymer Bulletin*, **1992**, *27*, 623.
- 19 S. Gogolewski, M. Jovanovic, S. M. Perren, J. G. Dillon and M. K. Hughes, *Polym. Degrad. and Stab.*, **1993**, *40*, 313.
- 20 A. Södergaard, J. H. Näsman, *Polym. Degrad. and Stab.*, **1994**, *46*, 25.
- 21 <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/nomenclature/> vom 28.05.2007.
- 22 S. Okamura, M. Iwai, Y. Tominaga, *Agric. Biol. Chem.* **1984**, *48*, 2805.
- 23 C. J. Morrow, *MRS Bull.* **1992**, *November*, 41.
- 24 D. Knani, A. L. Gutman, D. H. Kohn, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.* **1993**, *31*, 1221.
- 25 H. Uyama, S. Kobayashi, *Chem. Lett.* **1994**, 1687.
- 26 A. Mahapatro, B. Kalra, A. Kumar, R. A. Gross, *Biomacromolecules*, **2003**, *4*, 544.
- 27 K. Pavel, H. Rehse, H. Ritter, *Polym. Bull. (Berlin)*, **1989**, *21*, 535.
- 28 T. F. Al-Azemi, L. Kondaveti, K. S. Bisht, *Macromolecules* **2002**, *35*, 3380.
- 29 B. Sahoo, K. F. Brandtstadt, T. H. Lane, R. A. Gross, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 3857.
- 30 S. Kobayashi, H. Uyama, S. Suda, S. Namekawa, *Chemistry Letters*, **1997**, *26*, 105.

- 31 P. C. Traub, Dissertation „Gensynthese, Expression und Refolding der Lipasen aus *Pseudomonas* species KWI 56 und *Chromobacterium viscosum*“, **2000**, Universität Stuttgart.
- 32 M. Fischer, Dissertation „Die Lipase Engineering Database Systematische Analyse Familienspezifischer Eigenschaften und der Sequenz-Struktur-funktionsbeziehung von α/β -Hydrolasen“, **2004**, Universität Stuttgart.
- 33 <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail?ProdNo=L4777&Brand=SIGMA> vom 22.05.2007.
- 34 K. K. Kim, H. K. Song, D. H. Shin, K. Y. Hwang, S. W. Suh, *Structure*, **1997**, *5*, 173.
- 35 T. Schulz, J. Pleiss, R. D. Schmid, *Protein Science*, **2000**, *9*, 1053.
- 36 M. Larhed, A. Hallberg, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9582.
- 37 N.-F. K. Kaiser, U. Bremberg, M. Larhed, C. Moberg, A. Hallberg, *J. Organomet. Chem.*, **2000**, *603*, 2.
- 38 N. E. Leadbeater, M. Marco, *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 2973.
- 39 Y. Wan, M. Alterman, A. Hallberg, *Synthesis*, **2002**, 1597.
- 40 F.-R. Alexandre, A. Berecibar, T. Besson, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 3911.
- 41 A. Stadler, B. H. Yousefi, D. Dallinger, P. Walla, E. Van der Eycken, N. Kaval, C. O. Kappe, *Org. Process Res. Dev.*, **2003**, *7*, 707.
- 42 N. E. Leadbeater, M. Marco, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 5660.
- 43 O. Belda, S. Lundgren, C. Moberg, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 2275.
- 44 E. Petricci, M. Radi, F. Corelli, M. Botta, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 9181.
- 45 P. Walla, C. O. Kappe, *Chem. Commun.* **2004**, 564.
- 46 C. Koopmans, M. Iannelli, P. Kerep, M. Klink, S. Schmitz, S. Sinnwell, H. Ritter, *Tetrahedron*, *62*, **2006**, 4709.
- 47 C. O. Kappe, *Angewandte Chemie*, **2004**, *116*, 6408.
- 48 <http://www.cem.de/> vom 29.05.2007.
- 49 B. L. Hayes, „*Microwaves Synthesis: Chemistry at the Speed of Light*“, **2002**, CEM Publishing, Matthews.

- 50 D. Kärstedt, K. P. Möllmann, M. Vollmer, *Physik in unserer Zeit*, **2004**, 35, 90.
- 51 B. Silinski, C. Kucmycz, A. Gourdenne, *Eur. Polym. J.*, **1987**, 23, 273.
- 52 Y. Imai, H. Nemoto, M. Kakimoto, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **1996**, 28, 256.
- 53 Y. Imai, *React. Funct. Polym.*, **1996**, 30, 3.
- 54 N. Hurduc, D. Abdelylah, J. M. Buisine, P. Decock, G. Surpateanu, *Eur. Polym. J.*, **1997**, 33, 187.
- 55 C. Y. Wu, A. Benatar, *Poly. Eng. Sci.*, **1997**, 37, 738.
- 56 A. Krzan, *K. Appl. Polym. Sci.*, **1998**, 69, 1115.
- 57 S. Mallakpour, A. Hajipour, S. Khoee, *J. Appl. Polym. Sci.*, **2000**, 77, 3003.
- 58 S. Mallakpour, A. Hajipour, K. Faghihi, *Polym. Int.*, **2000**, 49, 1388.
- 59 S. Keki, I. Bodnar, J. Borda, G. Deak, M. Zsuga, *Macromol. Rapid Commun.*, **2001**, 22, 1063.
- 60 S. Chatti, M. Bortolussi, A. Loupy, J. C. Blais, D. Bogdal, M. Majdoub, *Eur. Polym. J.*, **2002**, 38, 1851.
- 61 M. Iannelli, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.*, **2005**, 206, 349.
- 62 Y. Imai, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)*, **1995**, 36, 711.
- 63 S. Sinnwell, H. Ritter, *Macromol. Rapid Commun.*, **2005**, 26, 160.
- 64 L. Liu, L. Q. Liao, C. Zhang, F. He, R. X. Zhuo, *Chin. Chem. Lett.*, **2001**, 12, 761.
- 65 S. Namekawa, H. Uyama, S. Kobayashi, *Polymer Journal*, **1998**, 30, 269.
- 66 S. Suda, H. Uyama, S. Kobayashi, *Proc. Japan Acad.*, **1999**, 75, 201.
- 67 A. Taden, M. Antonietti, K. Landfester, *Macromol. Rapid Commun.*, **2003**, 24, 512.
- 68 R. Pitt-Rivers, F. S. A. Impiombato, *Biochem. J.*, **1968**, 109, 825.
- 69 J. A. Reynolds, C. Tanford, *J. of. Biolog. Chem.*, **1970**, 245, 5161.
- 70 A. K. Dunker, A. J. Kenyon, *Biochem. J.*, **1976**, 153, 191.
- 71 http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/8/bc/vlu/faltung/stabilitaet.vlu/Page/vsc/de/ch/8/bc/faltung/denat_temperatur.vscml.html vom 28.05.2007.
- 72 <http://www.amano-enzyme.co.jp/english/productinfo/medical03.html> vom 13.01.2004.
- 73 J. Bibette, D. C. Morse, T. A. Witten, D. A. Weitz, *Phys. Rev. Letters*, **1992**, 16, 2439.

- 74 M. Barrere, K. Landfester, *Polymer*, **2003**, *44*, 2833.
- 75 R. D. Jörger, M. J. Haas, *Lipids*, **1994**, *29*, 377.
- 76 J. Yang, Y. Koga, H. Nakano, T. Yamane, *Protein Engeneering*, **2002**, *15*, 147.
- 77 T. Schulz, Dissertation „Molekulare Grundlagen der Stereoselektivität Lipase-katalysierter Umsetzungen“, **2001**, Universität Stuttgart.
- 78 R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge, J. Rousell, *Tetrahedron Letters*, **1986**, *27*, 279.
- 79 S. Caddick, *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 10403.
- 80 A. Loupy, A. Petit, J. Hamelin, F. Texier-Boullet, P. Jacquault, D. Mathé, *Tetrahedron*, **1998**, 1213.
- 81 J. Cle´ophax, M. Liagre, A. Loupy, A. Petit, *Organic Process Research & Development*, **2000**, *4*, 498.
- 82 <http://www.phys.unsw.edu.au/~jw/superheating.html> vom 28.05.2007.
- 83 D. R. Baghurst, D. M. P. Mingos, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 674.
- 84 P. Kerep, H. Ritter, *Macromol. Rapid Commun.*, **2006**, *27*, 707.
- 85 R. Smith, “*Biodegradable Polymers for Industrial Applications*”, **2005**, Woodhead Publishing, Cambridge.
- 86 D. Knani, A. L. Gutman, D. H. Kohn, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, **1993**, *31*, 1221.
- 87 A. Kumar, B. Kalra, A. Dekhterman, R. A. Gross, *Macromolecules*, **2000**, *33*, 6303.
- 88 M. Bankova, A. Kumar, G. Impallomeni, A. Ballistreri, R. A. Gross, *Macromolecules*, **2002**, *35*, 6858.
- 89 F. C. Loeker, C. J. Duxbury, R. Kumar, W. Gao, R. A. Gross, S. M. Howdle, *Macromolecules*, **2004**; *37*, 2450.
- 90 G. Sivalingam, G. Madras, *Biomacromolecules*, **2004**, *5*, 603.
- 91 K. J. Thurecht, A. Heise, M. deGeus, S. Villarroya, J. Zhou, M. F. Wyatt, S. M. Howdle, *Macromolecules*, **2006**, *39*, 7967.
- 92 A. Kumar, R. A. Gross, *Biomacromolecules*, **2000**, *1*, 133.

- 93 A. Loupy, „Microwaves in Organic Synthesis“, 2. Auflage, **2006**, Wiley-VCH, Weinheim.
- 94 A. A. Panova, D. L. Kaplan, *Biotechnology and Bioengineering*, **2003**, *84*, 103.
- 95 J. Antosiewicz, *Biophysical Journal*, **1995**, *69*, 1344.
- 96 S. Kobayashi, H. Uyama, S. Namekawa, H. Hayakawa, *Macromolecules*, **1998**, *31*, 5655.
- 97 A. Duda, A. Kowalski, S. Penczek, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromolecules*, **2002**, *35*, 4266.
- 98 L. van der Mee, F. Helmich, R. de Bruijn, J. A. J. M. Vekemans, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, *Macromolecules*, **2006**, *39*, 5021.
- 99 K. Peter, C. Vollhardt, „Organische Chemie“, 1. Auflage, **1988**, Wiley-VCH, Weinheim.
- 100 L. A. Paquette, N. A. Nelson, *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, 2272.
- 101 A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, *Macromol. Rapid Commun.*, **1998**, *19*, 567.
- 102 A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, *Macromolecules*, **2000**, *33*, 689.
- 103 K. R. Yoon, Y. Kim, I. S. Choi, *J. of Polym. Res.*, **2004**, *11*, 265.
- 104 K. Hashimoto, *Progr. in Polym. Sci.*, **2000**, *25*, 1411.
- 105 K. Küllmer, H. Kikuchi, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **1998**, *19*, 127.
- 106 P. Kerep, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.*, **2007**, *208*, 188.
- 107 H. K. Hall, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, *80*, 6412.
- 108 M. Okada, H. Sumitomo, S. Yamada, M. Atsumi, *Macromolecules*, **1986**, *19*, 953.
- 109 T. Takata, K. Chung, A. Tadokoro, T. Endo, *Macromolecules*, **1993**, *26*, 6686.
- 110 T. Takata, K. Chung, A. Tadokoro, T. Endo, *Macromolecules*, **1995**, *28*, 1340.
- 111 C. G. Seefried Jr., J. V. Koleske, *J. of Polym. Sci: Polym. Phys. Ed.*, **1975**, *13*, 851.
- 112 S. Sinnwell, H. Ritter, *Macromolecules*, **2006**, *39*, 2804.
- 113 E. Rogalska, S. Nury, I. Douchet, R. Verger, *Chirality*, **1995**, *7*, 505.
- 114 E. M. Anderson, K. M. Larsson, O. Kirk, *Biocatal. biotransform.*, **1998**, *16*, 181.
- 115 H. Uyama, K. Inada, S. Kobayashi, *Macromol. Biosci.*, **2001**, *1*, 40.

-
- 116 I. Forfar, P. Cadilbo, R. M. Claramunt, J. Elguero, *Chem. Letters*, **1994**, 11, 2079.
- 117 I. Almena, A. Diaz, E. Diez-Barra, A. d. I. Hoz, A. Loupy, *Chem. Letters*, **1996**, 5, 333.
- 118 P. Kerep, H. Ritter, *Macromol. Rapid Commun.*, **2007**, 28, 759.
- 119 K. Ito, N. Usami, Y. Yamashita, *Macromolecules*, **1980**, 13, 216.
- 120 M. Niwa, T. Hayashi, T. Matsumoto, *J. of Macromol. Sci.-Chem.*, **1986**, A23, 433.
- 121 Y. Yamashita, Y. Tsukahara, K. Ito, K. Okada, Y. Tajima, *Polym. Bull.*, **1981**, 5, 335.
- 122 K. F. Gillman, E. Senogles, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Lett.*, **1967**, 5, 477.
- 123 J.-P. Bégué, V. Kesavan, D. Bonnet-Delpon, *Synthesis*, **2000**, 2, 223.
- 124 N. Iranpoor, B. Zeynizadeh, *J. Chin. Chem. Soc.*, **2003**, 50, 849.
- 125 N. A. Noureldin, M. Caldwell, J. Hendry, D. G. Lee, *Synthesis*, **1998**, 11, 1587.
- 126 S. Aimoto, *Peptide Science*, **2000**, 51, 247.
- 127 G. Odian, "*Principles of Polymerization*", 3rd Edition, **1991**, Wiley-VCH, Weinheim.
- 128 A. J. Buselli, M. K. Lindeman, C. E. Blades, *J. of Polym. Sci.*, **1958**, 28, 485.
- 129 J. Carrillo-Munoz, D. Bouvet, E. Guibé-Jampel, A. Loupy, A. Petit, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 7746.