

# **Synthese funktionalisierter Phenolpolymere durch HRP-katalysierte Polyrekombination**

Dissertation zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie und Pharmazie der  
Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

vorgelegt von

Matthias Reihmann

geboren in Wiesbaden

Mainz, Mai 2002



Jahr der mündlichen Prüfung: 2002

Diese Arbeit wurde im Zeitraum  
von Dezember 1998 bis April 2002  
am Institut für Organische Chemie  
unter der Betreuung von  
Herrn Prof. Dr. Helmut Ritter  
angefertigt.



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>9</b>
1.1	Enzyme als Katalysatoren für die Polymerchemie .....	9
1.2	Die in der Polymerchemie am häufigsten verwendeten Enzyme.....	10
<b>2</b>	<b>Polymerisationen mit Peroxidase-Katalyse</b> .....	<b>11</b>
2.1	Biologische Bedeutung der Peroxidasen.....	11
2.2	Eigenschaften von Horseradish Peroxidase .....	12
2.3	Der HRP-Katalysezyklus in Gegenwart von Phenol .....	14
2.4	Die Bildung von Compound I.....	16
2.5	Die Bildung von Compound II.....	19
2.6	Nebenreaktionen im HRP-Katalysezyklus.....	21
2.7	Die Bildung der Polyphenole .....	22
2.8	Der mutmaßliche Polymerisationsmechanismus .....	23
2.9	Der Einfluß des Lösungsmittels.....	24
2.10	Die Polymerstruktur .....	26
2.11	Praktische Bedeutung der Phenolpolymere .....	29
2.12	Aufgabenstellung .....	29
<b>3</b>	<b>Allgemeiner Teil</b> .....	<b>31</b>
3.1	Radikalisch vernetzbare Polyphenole - Cyclodextrinkomplexe .....	31
3.1.1	Motivation.....	31
3.1.2	Charakterisierung der Cyclodextrinkomplexe von <i>N</i> -Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid ( <b>3</b> ) mit Hilfe von ESI-TOF-MS .....	34
3.1.3	400 MHz- <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-ROESY-NMR-Untersuchungen zur Struktur der Cyclodextrinkomplexe von 4-Hydroxyphenylmaleinimid ( <b>1</b> ) und <i>N</i> -Methacryloyl-4-hydroxyanilid ( <b>2</b> ) .....	36
3.1.4	600 MHz <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-ROESY und 600 MHz <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-NOESY-NMR-Untersuchungen zur Struktur der 2,6-Dimethyl-β-Cyclodextrinkomplexe von 4-Hydroxyphenylmaleinimid ( <b>1</b> ) und <i>N</i> -Methacryloyl-4-hydroxyanilid ( <b>2</b> ) .....	39
3.1.5	Der Einfluß der Cyclodextrinkonzentration auf die enzymatische Polymerisation.....	46
3.1.6	<sup>1</sup> H-NMR zur Untersuchungen der Struktur von Poly-( <i>N</i> -methacryloyl-4-hydroxyanilid) ( <b>8</b> ) und der Vergleich mit der bestehenden Literatur .....	49
3.1.7	<sup>1</sup> H-MAS-Doppelquanten-Festkörper-NMR zur Strukturuntersuchung von Poly[4-hydroxyphenylmaleinimid] ( <b>7</b> ) .....	52
3.2	Photovernetzbare Polyphenole.....	56

3.2.1	Motivation .....	56
3.2.2	Synthese der photovernetzbaeren Polyphenole.....	57
3.2.3	<sup>13</sup> C NMR-, FT-IR- und <sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie zur Strukturuntersuchung der Polyphenole <b>19</b> und <b>20</b> .....	57
3.2.4	Photochemische Vernetzung von Filmen der Polyphenole <b>19</b> und <b>20</b> durch UV-Bestrahlung.....	59
3.2.5	Charakterisierung der Vernetzungsreaktionen von <b>19</b> und <b>20</b> mit FT-IR-Spektroskopie .....	63
3.2.6	Monomolekulare Filme der Polyphenole <b>19</b> und <b>20</b> .....	65
3.3	Polyphenole mit photoreaktiven Nitrongruppen .....	69
3.3.1	Motivation .....	69
3.3.2	Synthese der Polyphenole mit Seitenketten-Nitrongruppen.....	70
3.3.3	<sup>13</sup> C-NMR-Spektroskopie, FT-IR-Spektroskopie und Elementaranalyse zur Strukturuntersuchung der Polyphenole <b>27</b> .....	70
3.3.4	ESI-TOF-Massenspektroskopie zur Strukturuntersuchung der Polyphenole <b>27</b> .....	71
3.3.5	UV-Bestrahlung von Polyphenol <b>27</b> .....	75
3.4	Thermisch vernetzbare Polyphenole .....	76
3.4.1	Motivation .....	76
3.4.2	Synthese der thermisch vernetzbaren Polyphenole .....	76
3.4.3	Charakterisierung der thermisch vernetzbaren Polyphenole mit MALDI-TOF Massenspektroskopie (Copolymer <b>32</b> ) und FT-IR Spektroskopie (Copolymere <b>32</b> und <b>33</b> und Terpolymer <b>35</b> ).....	78
3.4.4	Untersuchung zur Copolymerisation von <b>1</b> und <b>31</b> mit HPLC und GPC.....	80
3.4.5	Thermische Vernetzung von Copolymer <b>32</b> .....	84
3.4.6	Thermische Vernetzung des Copolymeren <b>33</b> und des Terpolymeren <b>35</b> .....	86
3.5	Poly[4-aminophenol] als Redoxpolymer.....	89
3.5.1	Motivation .....	89
3.5.2	Synthese von Poly[4-aminophenol] ( <b>45</b> ).....	89
3.5.3	Charakterisierung von Poly[4-(4-nitrobenzylidenamino)-phenol] ( <b>44</b> ) .....	90
3.5.4	Charakterisierung von Poly[4-aminophenol]] ( <b>45</b> ) .....	94
3.5.5	CD-Spektroskopie am Polyphenol <b>44</b> .....	95
3.5.6	Cyclovoltametrische Messungen am Polyphenol <b>45</b> .....	96
3.6	Strukturbestimmungen an Poly[4-chlorphenol] .....	98
3.6.1	Motivation .....	98

3.6.2	600 MHz $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -ROESY-NMR von Poly[4-chlorphenol] ( <b>46</b> ) .....	98
3.6.3	FT-IR-Messungen zur Untersuchung der Lagerbeständigkeit von Polyphenolen.....	101
3.7	Hyperverzweigte Polyphenole .....	105
3.7.1	Motivation.....	105
3.7.2	Syntheseversuche eines hyperverzweigten Polyphenols ausgehend von Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan ( <b>47</b> ) .....	105
3.7.3	Syntheseversuche eines hyperverzweigten Polyphenols ausgehend von geschütztem Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan .....	106
3.7.4	Syntheseversuche eines hyperverzweigten Polyphenols/ Polyphenolamins ausgehend von <i>para</i> -substituierten Di-(4-hydroxyphenyl)-phenyl-methan .....	107
3.8	Polymerisation eines Isoflavonoids .....	109
3.8.1	Motivation.....	109
3.8.2	HRP-katalysierte Polymerisation von Rutin ( <b>68</b> ) .....	109
3.8.3	Untersuchungen des Poly[rutin] ( <b>69</b> ) mit FT-IR und UV-Vis-Spektroskopie.....	111
3.9	Untersuchungen zum Aufbau von Poly[ <i>para</i> -phenylenen] .....	112
3.9.1	Motivation.....	112
3.9.2	Versuche zum HRP-katalysierten Aufbau von 2,6-substituierten Poly[ <i>para</i> -phenylenen].....	112
3.9.3	Versuche zum HRP-katalysierten Aufbau von 2,6-verbrückten Poly[ <i>para</i> -phenylenen].....	115
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick.....</b>	<b>117</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>122</b>
5.1	Arbeitsgeräte, Trennverfahren und Meßmethoden .....	122
5.2	Synthese der Monomere.....	124
5.2.1	4'-Benzoyloxy-biphenyl-4-ol.....	124
5.2.2	<i>N</i> -Hydroxy-phenyl-maleinsäureamid.....	125
5.2.3	<i>N</i> -Hydroxy-phenyl-maleinimid.....	125
5.2.4	<i>N</i> -Methacrylsäure-4-hydroxyanilid.....	126
5.2.5	<i>N</i> -Methacryloyl-11-aminoundecansäure.....	127
5.2.6	<i>N</i> -Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid.....	128
5.2.7	Zimtsäure-4-hydroxy-phenylester.....	129
5.2.8	Zimtsäure-4-hydroxy-phenylanilid .....	130
5.2.9	4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron.....	131
5.2.10	Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid .....	131

5.2.11	4-(4-Nitro-benzylidenamino)-phenol .....	132
5.2.12	Tri(4-hydroxy-phenyl)-methan.....	133
5.2.13	[Di(4-hydroxyphenyl)-4-methoxyphenyl]-methan.....	134
5.2.14	[Di(4-acetyloxyphenyl)-4-methoxyphenyl]-methan .....	134
5.2.15	[Di(4-hydroxyphenyl)-4-benzyloxyphenyl]-methan.....	135
5.2.16	[Di(4-acetyloxyphenyl)-4-benzyloxyphenyl]-methan.....	135
5.2.17	[Di(4-hydroxyphenyl)-4-nitrophenyl]-methan .....	136
5.2.18	[Di(4-acetyloxyphenyl)-4-nitrophenyl]-methan.....	136
5.2.19	[Di(4-hydroxyphenyl)-4-chlorphenyl]-methan .....	137
5.2.20	[Di(4-methoxyphenyl)-4-chlorphenyl]-methan.....	137
5.2.21	<i>N,N</i> -4,5-Dimorpholino-1,2-dihydroxybenzol.....	138
5.2.22	4-[(Dodecylimino)methyl]-1,2-dihydroxybenzol.....	138
5.2.23	3,8-Dihydroxy-ellagsäure .....	139
5.2.24	4,5-Dimethoxy-2-(pentylcarboxyamido)-benzoesäure.....	139
5.3	Synthese der Polymere .....	140
5.3.1	Poly[ <i>N</i> -hydroxy-phenyl-maleinimid] .....	141
5.3.2	Poly[ <i>N</i> -methacrylsäure-4-hydroxyanilid].....	141
5.3.3	Poly[ <i>N</i> -methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid] .....	142
5.3.4	Poly[zimtsäure-4-hydroxy-phenylester] .....	142
5.3.5	Poly[zimtsäure-4-hydroxy-phenylanilid] .....	143
5.3.6	Poly[4-hydroxy-benzaldehyd-methylnitron].....	143
5.3.7	[Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid/ <i>N</i> -Hydroxy-phenyl- maleinimid]-Copolymer .....	144
5.3.8	[4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron/ <i>N</i> -Methacryloyl-11-aminoundecanoyl- 4-hydroxyanilid]-Copolymer.....	144
5.3.9	[4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron/ <i>N</i> -Methacryloyl-11-aminoundecanoyl- 4-hydroxyanilid/4'-Benzoyloxy-biphenyl-4-ol]-Terpolymer.....	145
5.3.10	Poly[4-(4-nitro-benzylidenamino)-phenol] .....	145
5.3.11	Poly[4-chlorphenol].....	146
5.4	Anderweitige Syntheseschritte .....	146
5.4.1	Poly[4-aminophenol] .....	146
5.4.2	Dimere von [4-(4-Nitro-benzylidenamino)-phenol] zur Strukturbestimmung.....	147
5.5	Cyclodextrinkomplexe .....	148
5.6	Photosensitive Polymerfilme.....	148



---

5.7	Thermisch vernetzbare Filme.....	148
5.8	HPLC/GPC.....	149
5.9	Cyclovoltametrie.....	149
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>151</b>

## Abkürzungsverzeichnis

SI-Einheiten sowie allgemein gebräuchliche Maßeinheiten und Abkürzungen sind nicht aufgeführt.

% (w/w)	Gewichtsprozent
Ac	Acetyl
Ac <sub>2</sub> O	Acetanhydrid
AIBN	2,2'-Azobis(isobutyronitril)
aliphat.	Aliphatisch
Ausb.	Ausbeute
ber.	Berechnet
Bzl	Benzyl
CD	Circulardichroismus
β-CD	β-Cyclodextrin
d	Dublett
D	<i>dispersity</i> ; Polydispersität
δ	chemische Verschiebung
dd	Dublett von Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N-N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DIMEB	Heptakis(2,6-di- <i>O</i> -methyl)-β-cyclodextrin
DMF	<i>N-N'</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DQ	Doppel-Quanten
DSC	<i>differential scanning calorimetry</i>
EEDQ	<i>N</i> -(Ethoxycarbonyl)-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin
Et	Ethyl
EtOAc	Ethylacetat
ESI	<i>electrospray ionisation</i>
FD	Feld-Desorption
Fmoc	(9H-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonyl
FT-IR	Fourier Transformation-Infrarot
gef.	gefunden

---

GPC	Gel-Permeationschromatographie
HAc	Essigsäure
HOMO	<i>highest occupied molecular orbital</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRP	<i>horseradish peroxidase</i> ; Peroxidase aus Meerrettich
<i>J</i>	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
LC	<i>liquid chromatography</i>
LUMO	<i>lowest unoccupied molecular orbital</i>
m	Multipllett
<i>m-</i>	<i>meta</i>
M	Molekulargewicht
<i>M</i>	Monomereinheit
MAS	<i>magic-angle spinning</i>
Mn	zahlenmittleres Molekulargewicht
Mw	gewichtsmittleres Molekulargewicht
MALDI-TOF	<i>matrix assisted laser desorption and ionisation-time of flight</i>
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MMA	Methylmethacrylat
MS	Massenspektroskopie
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NMP	<i>N-Methyl-pyrrolidon</i>
NOE	<i>nuclear Overhauser-effect</i>
NOESY	<i>nuclear Overhauser-effect-correlated spectroscopy</i>
<i>o-</i>	<i>ortho</i>
<i>p-</i>	<i>para</i>
PD	<i>degree of polymerization</i> ; Polymerisationsgrad
PE	Petrolether
Ph	Phenyl
PPP	Poly[ <i>para</i> -Phenylen]
PS	Polystyrol (Standard für GPC-Messungen)
ppm	<i>parts per million</i>
q	Quartett

---

R	Rest
RABBIT	<i>relaxation aided by binding tightly</i>
RAMEB	<i>randomly methylated <math>\beta</math>-cyclodextrin</i>
R <sub>F</sub>	<i>ratio to front (retention factor)</i>
RI	<i>refractometric index</i> ; Brechungsindex
ROESY	<i>rotating frame-NOESY</i>
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SG	Schutzgruppe
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
T	Temperatur
THF	Tetrahydrofuran
THMA	Tris(Hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid
TMS	Tetramethylsilan
UV	Ultraviolett
Vak.	Vakuum
Vis	<i>visible</i>

# 1 Einleitung

## 1.1 Enzyme als Katalysatoren für die Polymerchemie

Das Interesse an enzymatisch katalysierten organischen Synthesen *in vitro* ist in den letzten Jahren stetig gestiegen<sup>[1-10]</sup>. Ein großer Vorteil ist die oft einfache Kontrolle der Stereoselektivität asymmetrischer chemischer Reaktionen durch die Enzymkatalyse<sup>[11-14]</sup>. Bei einer enzymatischen Synthese kann zudem bei milden Reaktionsbedingungen, in der Regel bei Raumtemperatur, Normaldruck und neutralem pH-Wert gearbeitet werden<sup>[15-18]</sup>. Eine optimale Energieeffizienz sowie häufig hohe Enantio-, Regio- und Chemoselektivität<sup>[19-22]</sup> sind weitere Vorzüge dieser nicht toxischen, aus nachwachsenden Rohstoffen zugänglichen „green catalysts“<sup>[23-25]</sup>.

War die Anwendung von Enzymen zu synthetischen Zwecken früher das Arbeitsgebiet weniger biochemisch spezialisierter Arbeitsgruppen, entdeckten später auch organische Chemiker zunehmend die Vorteile dieser natürlichen Katalysatoren<sup>[25-32]</sup>. Auch enzymatisch katalysierte Polymersynthesen sind inzwischen ein stark expandierendes Forschungsgebiet<sup>[33-38]</sup>. In Japan und den USA existieren bereits industrielle Anlagen zur Polymersynthese mittels Enzymkatalyse<sup>[39]</sup>. Neue Methoden in der Biochemie, insbesondere der Gentechnik, könnten die Preise für Enzyme in wenigen Jahren unter ein Niveau aufwendig herzustellender Metallocenkatalysatoren sinken lassen, so daß der Einsatz von Enzymen als Katalysatoren in der Polymerchemie auch zunehmend wirtschaftlich interessant würde<sup>[23-25, 40]</sup>.

Enzymatisch katalysierte Polymerisationen, in der Literatur kurz als „enzymatische Polymerisationen“ bezeichnet<sup>[41]</sup>, sind vor allem dann von Interesse, wenn die entstehenden Polymere sich auf konventionellem Wege nur schwer oder gar nicht herstellen lassen. Als enzymatische Polymerisation wird der auf nicht-biologischem Weg enzymatisch katalysierte Aufbau von Polymeren *in vitro* definiert<sup>[42]</sup>. Das Enzym liegt hierbei isoliert vor. Die natürlich vorkommenden Biopolymeren entstehen hingegen durch enzymatische Katalysen *in vivo*. Polymerisationen, die lebende Organismen, wie z.B. *E. coli* und Fermentationsschritte voraussetzen, zählen nach dieser Definition nicht zu den enzymatischen Polymerisationen.

## 1.2 Die in der Polymerchemie am häufigsten verwendeten Enzyme

Die meisten Enzyme besitzen Eisen-, Cobalt-, Nickel- oder Manganatome im aktiven Zentrum, sowie Liganden, die ein optimales Redoxpotential vorgeben. Die substratspezifische Cavität erkannte schon 1894 Emil Fischer und veranlaßte ihn zur Formulierung seiner Schlüssel-Schloß-Theorie<sup>[42]</sup>. Zu den Enzymen, die für eine Anwendung in der Polymerchemie in Frage kommen, zählen die Oxidoreductasen, die Transferasen, die Hydrolasen und die Ligasen. In **Tabelle 1.1** sind einige für die Polymerchemie relevante Enzyme gemeinsam mit geeigneten Substraten aufgelistet. Aus dieser Zusammenstellung sind die Peroxidasen und die Lipasen aufgrund ihres großen Spektrums an möglichen Substraten und ihrer relativ anspruchslosen Handhabung hervorzuheben. Insbesondere die Peroxidasen zeigen Stabilität und Aktivität in einer ganzen Reihe von organisch-wäßrigen Reaktionsmedien, sie benötigen keine Cofaktoren und sind in einem relativ breiten Temperatur- und pH-Wertbereich wirksam.

**Tabelle 1.1: Enzymatisch katalysierte Polymerchemie**

Enzymklasse	Enzyme	literaturbekannte Substrate
Oxidoreductasen	Peroxidase	Phenole, Aniline, Vinylverbindungen
	Laccase	Phenole, 1-Naphtol, Acrylamid
	Bilirubinoxidase	Anilin, 1,5-Dihydroxynaphtalin
	Tyrosinase	Chitosan, Poly[4-Hydroxystyrol], Lignin
	Glucoseoxidase	Vinylverbindungen
	Xanthinoxidase	Acrylamid
	Chlorperoxidase	Phenole, Acrylamid
	Alkoholperoxidase	Acrylamid
Transferasen	Phosphorylase	D-Glucosylphosphat
	Kartoffelphosphorylase	D-Glucosylphosphat
Hydrolasen	Glycosidase	Saccharidfluoride
	Chitinase	Chitobiose-oxazolin
	Hyaluronidase	Hyaluronsäure, Hyaluronsäuresaccharide
	Lipase	Lactone, Ester, Carbonate, Anhydride, halogenierte Alkohole, Hydroxysäuren
	Protease	Aminosäureester
	PHB Depolymerase	$\epsilon$ -Caprolacton
	Epoxidhydrolase	Glycidol
Ligasen	Cellulase	Uridinglucosediphosphat
	Chitinsynthase	Uridin-N-acetylglucosamin
	Glykosyltransferase	Nucleosidmono- und diphosphate

Eine aktuelle Übersicht über den Einsatz von Enzymen in organischen Lösungsmitteln wurde im Jahr 2000 von Carrea und Riva veröffentlicht<sup>[43]</sup>. Im Jahr 1999 und 2001 veröffentlichten Kobayashi *et al.* Übersichtsartikel über enzymatische Polymerisationen<sup>[23, 41-42]</sup>. Etwas älter ist der Reviewartikel von Nayak aus dem Jahr 1998 zur enzymatischen Polymerisation mit Hilfe von Peroxidasen und Lipasen<sup>[44]</sup>.

## 2 Polymerisationen mit Peroxidase-Katalyse

### 2.1 Biologische Bedeutung der Peroxidasen

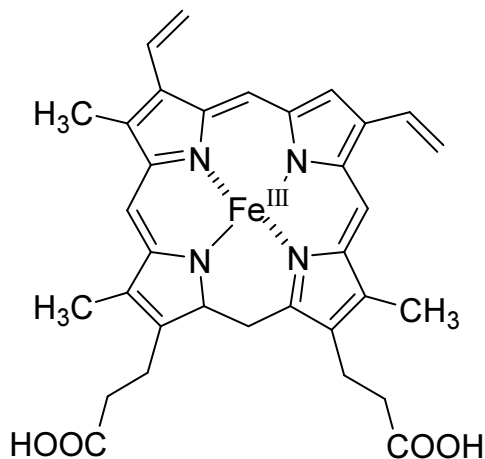
Peroxidasen kommen in Pflanzen, Mikroorganismen und höheren Lebewesen vor, wo sie unterschiedliche biologische Funktionen erfüllen. Neben der aus Meerrettich gewonnenen Horseradish Peroxidase (*Armoracia rusticana*) zählen die Katalasen (z.B. aus Rinderleber) Lacto-, und Myeloperoxidase (aus Rindermilch bzw. menschlichen Leukozyten), Cytochrom C Peroxidase, Chlorperoxidase (*Caldariomyces fumago*) und die Ligninperoxidase (*Phanerochaete chrysosporium*) zu den wichtigsten Vertretern. **Tabelle 2.1** zeigt ihre Funktion.

**Tabelle 2.1: Peroxidasen und ihre Funktion**

Peroxidase	katalysierte Reaktion	Biologische Funktion
Horseradish Peroxidase	$2 \text{ ArH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ Ar}\cdot + 2 \text{ H}_2\text{O}$	Biosynthese von Hormonen
Katalase	$2 \text{ H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ H}_2\text{O} + \text{O}_2$	Entgiftung von Wasserstoffperoxid
Cytochrom C Peroxidase	$2 \text{ Cc(II)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ Cc(III)}\cdot + 2 \text{ H}_2\text{O}$	Cytochrom C-Metabolismus
Ligninperoxidase	$2 \text{ ArH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ Ar}\cdot + 2 \text{ H}_2\text{O}$	Abbau von Lignin
Chlorperoxidase	$2 \text{ ArH} + 2 \text{ Cl} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ ArCl} + 2 \text{ H}_2\text{O}$	Biosynthese von Caldariomycin
Myeloperoxidase	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl} + \text{H}_3\text{O}\cdot \rightarrow \text{HClO} + 2 \text{ H}_2\text{O}$	Bekämpfung von Mikroorganismen
Lactoperoxidase	$2 \text{ ArH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ Ar}\cdot + 2 \text{ H}_2\text{O}$	Bekämpfung von Mikroorganismen

Die Peroxidasen katalysieren mit Hilfe von Peroxiden die Oxidation von Elektronendonatoren. Als Peroxide können Wasserstoffperoxid, Alkylperoxide und Benzylperoxid wirken. Als Elektronendonatoren kommen z.B. elektronenreiche Aromaten wie Phenole und Aniline in Betracht. Die Funktion der Peroxidasen wurde erstmalig durch Schönbein entdeckt<sup>[45]</sup>. Er dokumentierte bereits 1855 die Oxidation von Guajakol durch Peroxidase in Gegenwart von Wasserstoffperoxid. Ein weiterer wichtiger Schritt war die Einführung der Purpurgallolzahl durch Willstätter und Stoll im Jahre 1917, die den ersten Versuch zur Definition der Reaktivität eines nicht-hydrolytischen Enzyms darstellte<sup>[46]</sup>. Viele Peroxidasen besitzen in ihrem aktiven Zentrum die Ferroprotoporphyrin IX (Prothaein)

Gruppe (**Abbildung 2.1.1**). Dies trifft auch auf die Horseradish Peroxidase zu<sup>[47]</sup>. Andere aktive Zentren spielen eher eine untergeordnete Rolle – so weist die Glutathionperoxidase beispielsweise ein Selenatom<sup>[48]</sup>, und die Bromperoxidase ein Vanadiumatom<sup>[49]</sup> als Reaktionszentrum auf. Auch Mangan<sup>[50]</sup> und die Flavingruppe<sup>[51]</sup> sind als mögliche Reaktionszentren bekannt.

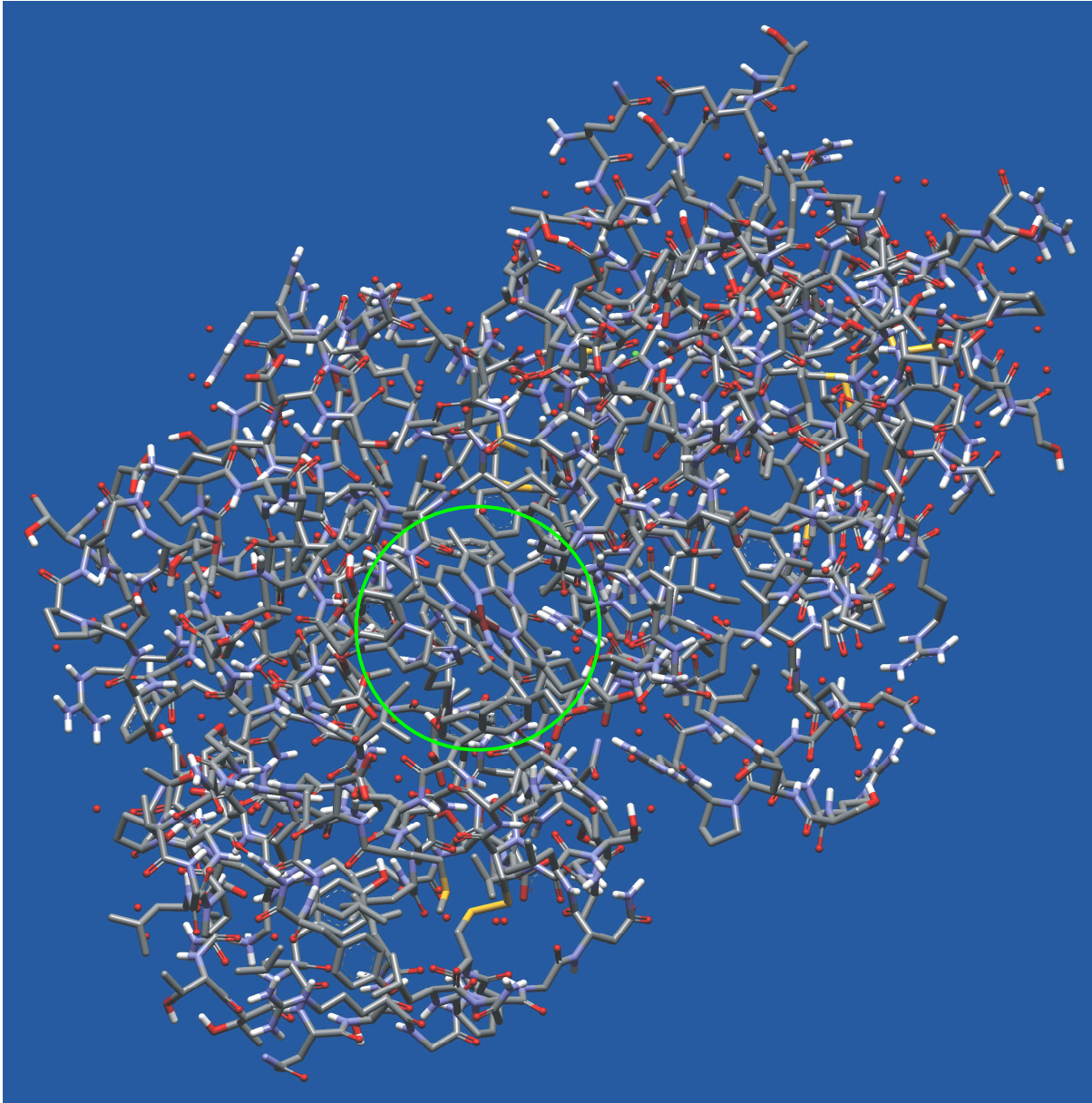


**Abbildung 2.1.1: Ferroprotoporphyrin IX**

## 2.2 Eigenschaften von Horseradish Peroxidase

Die Peroxidase aus Meerrettich, fast immer mit dem englischen Begriff Horseradish Peroxidase (HRP) bezeichnet, ist eine der am häufigsten in der Natur anzutreffenden Peroxidasen. Sie lässt sich relativ kostengünstig aus den Wurzeln des Meerrettichs oder aus dem Saft von Feigenbäumen gewinnen. HRP besitzt ein Molekulargewicht von etwa 40000 g/mol und stellt ein Glyko-, Eisen- und Haemprotein dar. Das aktive Zentrum besteht aus einem Eisen(III)-Zentralatom mit der oben abgebildeten Ferroprotoporphyrin IX Gruppe, die von einer elektrostatischen Wechselwirkung zwischen einer der Propionsäuregruppen des Haems und einer Lysinkette (Lys<sub>174</sub>) des Apoproteins in Position gehalten wird (**Abbildung 2.2.1**)<sup>[47]</sup>. Grün dargestellt sind die zwei Struktur-stabilisierenden Calciumionen.





**Abbildung 2.2.1:** Ein Blick in das aktive Zentrum von Horseradish Peroxidase. Die Haem-Gruppe ist durch einen grünen Kreis markiert

**Tabelle 2.2** zeigt einige durch HRP katalysierte Reaktionen. Die am weitaus häufigsten genutzte und auch am intensivsten erforschte Katalyse wird unter dem Oberbegriff Elektronen-Transfer eingeordnet. Elektronenreiche aromatische Verbindungen wie Phenole und Aniline werden in Gegenwart von Wasserstoffperoxid zu Radikalkationen oxidiert, die durch Deprotonierung in die neutralen Radikale übergehen<sup>[35, 37, 40-42, 44, 47, 52]</sup>.

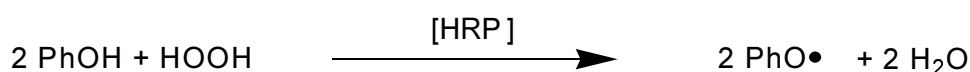
Tabelle 2.2: Peroxidase-katalysierte Reaktionen

Reaktion	Reaktionsschema	Typische Substrate
Elektronen-Transfer	$2 \text{ ArH} \xrightarrow[-\text{ROH}]{\text{ROOH}} \text{Ar-Ar} + \text{H}_2\text{O}$	Phenole, Aniline
Disproportionierung	$\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{ H}_2\text{O} + \text{O}_2$	$\text{H}_2\text{O}_2$
Sulfoxidation	$\text{R}_1-\text{S}-\text{R}_2 \xrightarrow[-\text{ROH}]{\text{ROOH}} \text{R}_1-\overset{\text{O}}{\text{S}}-\text{R}_2$	Thioanisol
Epoxidierung	$\text{R}_1-\text{C}=\text{C}-\text{R}_2 \xrightarrow[-\text{H}_2\text{O}]{\text{H}_2\text{O}_2} \text{R}_1-\text{C}-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{R}_2$	Alkene, $\text{H}_2\text{O}_2$
Demethylierung	$\text{R}_1-\overset{\text{R}_2}{\text{N}}-\text{CH}_3 \xrightarrow[-\text{ROH}]{\text{ROOH}} \text{R}_1-\overset{\text{R}_2}{\text{N}}-\text{H} + \text{HCHO}$	<i>N-N</i> -Dimethylanilin
Dehydrierung	$2 \text{ HOOC}-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{OH})-\text{COOH} \xrightarrow[-2 \text{ H}_2\text{O}]{\text{O}_2} 2 \text{ HOOC}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(=\text{O})-\text{COOH}$	Dihydroxyfumarsäure
Hydroxylierung	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{R})-\text{OH} + \text{HOOC}-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{OH})-\text{COOH} \xrightarrow[-\text{H}_2\text{O}]{\text{O}_2} \text{C}_6\text{H}_3(\text{R})-\text{OH}_2 + \text{HOOC}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(=\text{O})-\text{COOH}$	L-Tyrosin, Adrenalin
$\alpha$ -Oxidation	$\text{R}_1-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2 \xrightarrow{\text{O}_2} \text{R}_1-\overset{\text{OH}}{\text{C}}(\text{OH})-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2 \xrightarrow{-\text{HCOOH}} \text{R}_1-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$	Aldehyde

## 2.3 Der HRP-Katalysezyklus in Gegenwart von Phenol

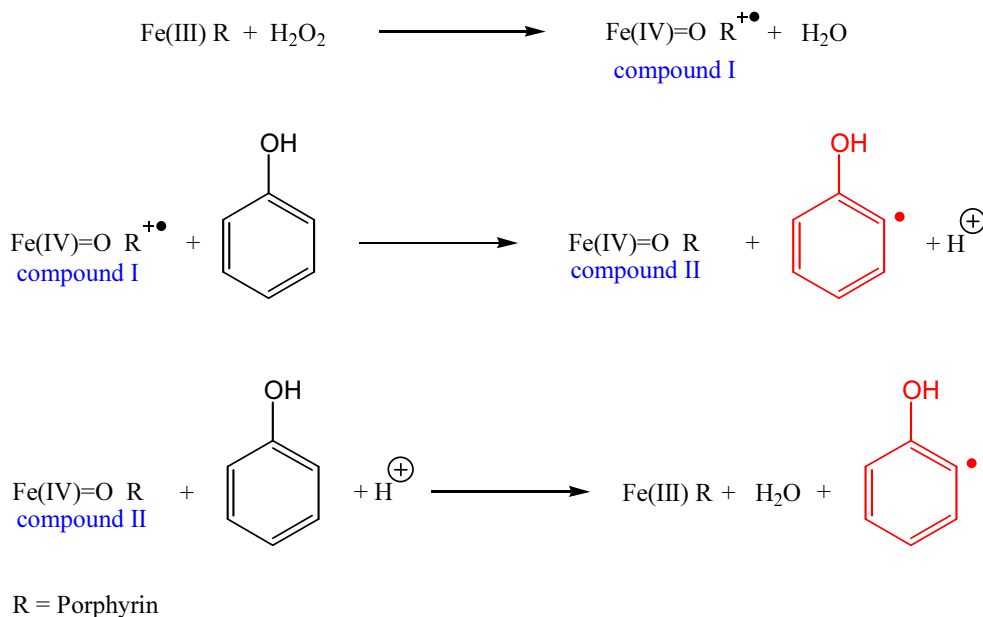
Das Katalyseprinzip soll hier am Beispiel der Oxidation von Phenol in Gegenwart von Wasserstoffperoxid erläutert werden, soweit die Vorgänge nach derzeitigem Kenntnisstand verstanden und akzeptiert sind. Die auf den folgenden Seiten ausgeführten Erläuterungen sind aus verschiedenen Veröffentlichungen der Biochemie, der organischen Chemie, der Polymerchemie und der physikalischen Chemie zusammengetragen, die sich gegenseitig unterstützen.

Bei der Oxidation von Phenol entstehen als Reaktionsprodukte zunächst zwei Phenoxyradikale und Wasser<sup>[35, 37, 40-42, 44, 47, 52]</sup>. Die Gesamtreaktion lässt sich schreiben als:



Als gesichert gilt, daß das Enzym HRP neben seiner nativen Konformation während des Katalysezyklus in zwei weiteren Modifikationen vorkommt, die als *Compound I* und *Compound II* bezeichnet werden<sup>[35, 37, 40-42, 44, 47, 52-55]</sup>. *Compound I* enthält meist ein

Porphyrin- $\Pi$ -Radikalkation und ein Eisen (IV)-Atom, *Compound II* ist neutral und enthält ebenfalls Eisen (IV) im aktiven Zentrum (**Abbildung 2.3.1**) [35, 37, 40-42, 44, 47, 52]. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß in wenigen Ausnahmefällen die Oxidation eines Aminosäurerestes anstelle des Porphyrins beobachtet wurde<sup>[56]</sup>, und auch eine vorzeitige Reduktion des Eisen(IV) zu einer Abwandlung von *Compound II*, welche ein  $\Pi$ -Radikalkation enthält<sup>[56]</sup>.



**Abbildung 2.3.1: Der klassische Peroxidase-Katalysezyklus**

Die Katalyse der Oxidation startet vermutlich mit der Bildung eines Precursor-Komplexes zwischen dem 5-fach koordinierten Eisen im nativen Enzym und dem side-on koordinierenden  $\text{H}_2\text{O}_2$ <sup>[57, 58]</sup>. Unter Wasserabspaltung entsteht *Compound I*, ein  $\Pi$ -Radikalkation, das durch eine 2-Elektronenoxidation des aktiven Zentrums entsteht. Das Fe(III)-Atom des nativen Enzyms wechselt zu Fe(IV) in der Fe-Oxogruppe von *Compound I* und das Porphyringerüst verliert ein Elektron (siehe **Abbildung 2.3.2**)<sup>[35, 37, 40-42, 44, 47, 52]</sup>.

Der folgende Reaktionsschritt zu *Compound II* stellt eine Oxidoreduktion dar<sup>[59]</sup>. Das Porphyringerüst wird durch einen Donor, in diesem Beispiel das Phenol, reduziert. Das Phenol koordiniert an das aktive Zentrum und wird durch eine 1-Elektronenübertragung an *Compound I* zum Phenoxyradikalkation oxidiert, welches nach Deprotonierung zum Phenoxyradikal das aktive Zentrum wieder verläßt. Deshalb wird der Mechanismus als irreversibler Ping-Pong-Mechanismus bezeichnet<sup>[60, 61]</sup>. Das Proton des Phenoxyradikal-

kations wird wahrscheinlich an das distale His<sub>42</sub> abgegeben und es entsteht *Compound II*. Mit einer zweiten 1-Elektronen-Reduktion wird der Urzustand des Enzyms wieder regeneriert und ein zweites Äquivalent Phenol wird oxidiert. Die Elektronenübertragung wird von einem Protonentransfer an die Fe(IV)-Oxogruppe begleitet und mit dem an His<sub>42</sub> gelagerten Proton bildet sich Wasser als Abgangsgruppe. Pro Äquivalent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> werden bei einem Katalysezyklus in der Summe also zwei Phenoxyradikale gebildet<sup>[35, 37, 40-42, 44, 47, 52]</sup>.

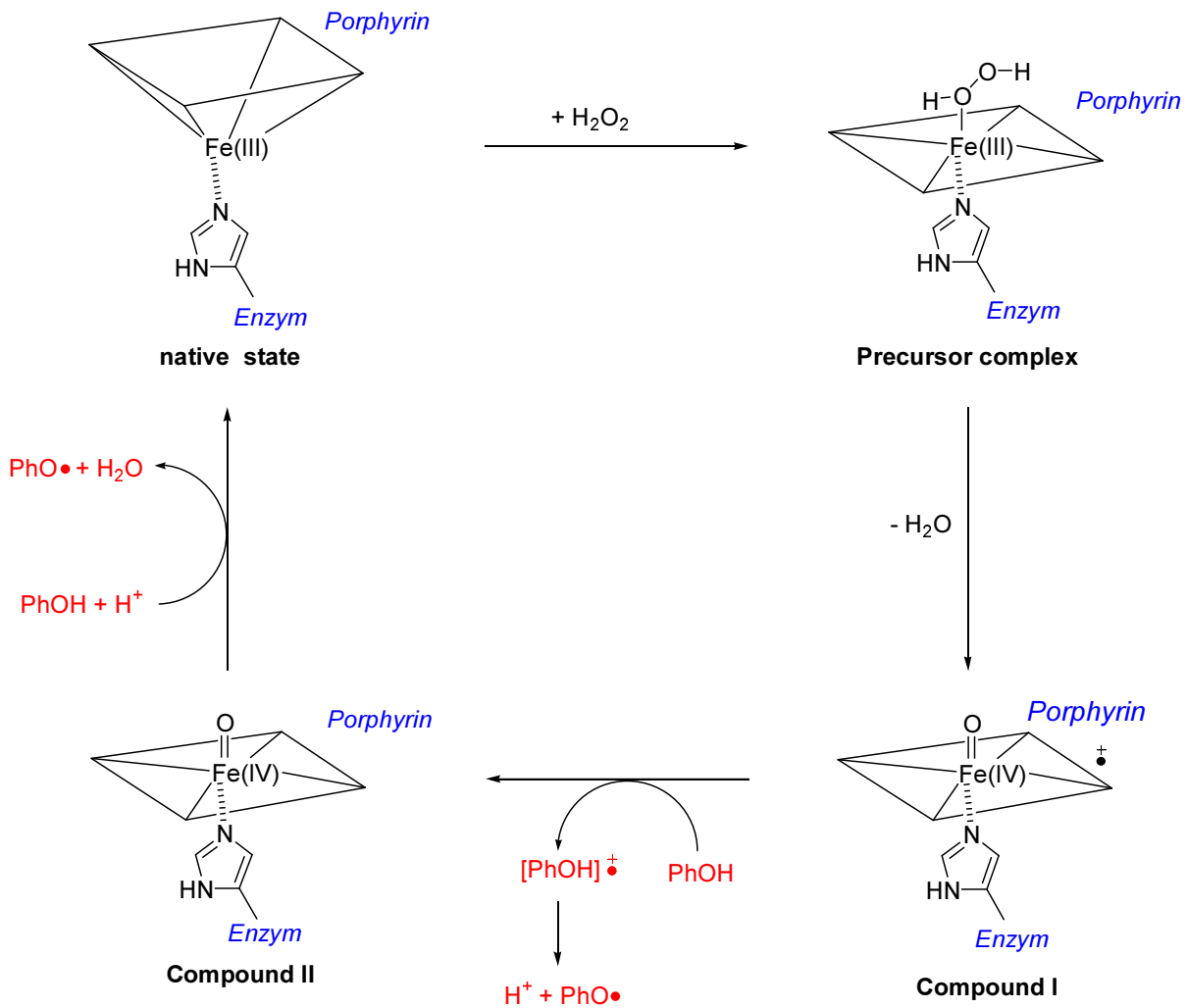


Abbildung 2.3.2 : Der vollständige HRP-Katalysezyklus

## 2.4 Die Bildung von Compound I

Die Bildung von *Compound I* durch die heterolytische O-O-Bindungsspaltung des Wasserstoffperoxids wird wahrscheinlich durch einen push-pull Mechanismus eingeleitet, in dem zwei Histidinreste des aktiven Zentrums eine wesentliche Rolle spielen: das distale His<sub>42</sub> und das proximale His<sub>170</sub> (Abbildung 2.4.1a). Das native Enzym verwandelt zunächst das

Peroxid durch Protonenabstraktion an das His<sub>42</sub> in ein besseres Nukleophil (**Abbildung 2.4.1b**). Die positive Ladung am protonierten proximalen His<sub>170</sub> erleichtert die Bildung der Eisen-Peroxid-Bindung durch ihren -I-Effekt zusätzlich (**Abbildung 2.4.1c**). Die darauffolgende Ladungswechsel einer der basischen Aminosäuregruppen (B) in der Nähe des aktiven Zentrums führt zur heterolytischen Spaltung der Peroxogruppe (**Abbildung 2.4.1d**). Nach der Übertragung eines Protons von Arg<sub>38</sub> entsteht unter Freisetzung von Wasser als Abgangsgruppe das Porphyrin-II-Radikalkation der *Compound I* mit einem Fe(IV)-Atom im Inneren (**Abbildung 2.4.1e-f**)<sup>[47, 52, 62-65]</sup>.

Nach neueren theoretischen Berechnungen von Filizola und Loew<sup>[66]</sup> ist die Entstehung von *Compound I* stark abhängig vom vorherrschenden pH-Wert. Dieser entscheidet mutmaßlich darüber, welcher Aminosäurerest zur Bildung des Oxywasserkomplexes (**Abbildung 2.4.1e**) beiträgt, aus dem dann *Compound I* entsteht. Bei neutralem oder basischen pH-Wert verläuft die Reaktion wie zuvor beschrieben. Der Peroxid-Ligand bleibt mit einem der Sauerstoffatome statisch am Eisenatom gebunden. Das His<sub>42</sub> fungiert als Protonenakzeptor und Arg<sub>38</sub> agiert als Protonendonator, so daß der Oxywasserkomplex gebildet werden kann. In saurem Milieu hingegen ist das distale His<sub>42</sub> protoniert und der Peroxid-Ligand flexibler gebunden, so daß ein dynamischer Austausch der am Eisenatom koordinierenden Sauerstoffatome angenommen werden kann. In diesem Fall wirkt das Arg<sub>38</sub> als Protonendonator an das Sauerstoffatom, das an das Eisenatom gebunden ist und durch simultanen Platzwechsel der Sauerstoffatome wird dann der Oxywasserkomplex gebildet. Als Wasserstoffakzeptor für das verbliebene Peroxidproton wirkt dann eines der ca. 400 Wassermoleküle, die per Wasserstoffbrückennetzwerk unmittelbar an die Enzymsphäre gebunden sind.

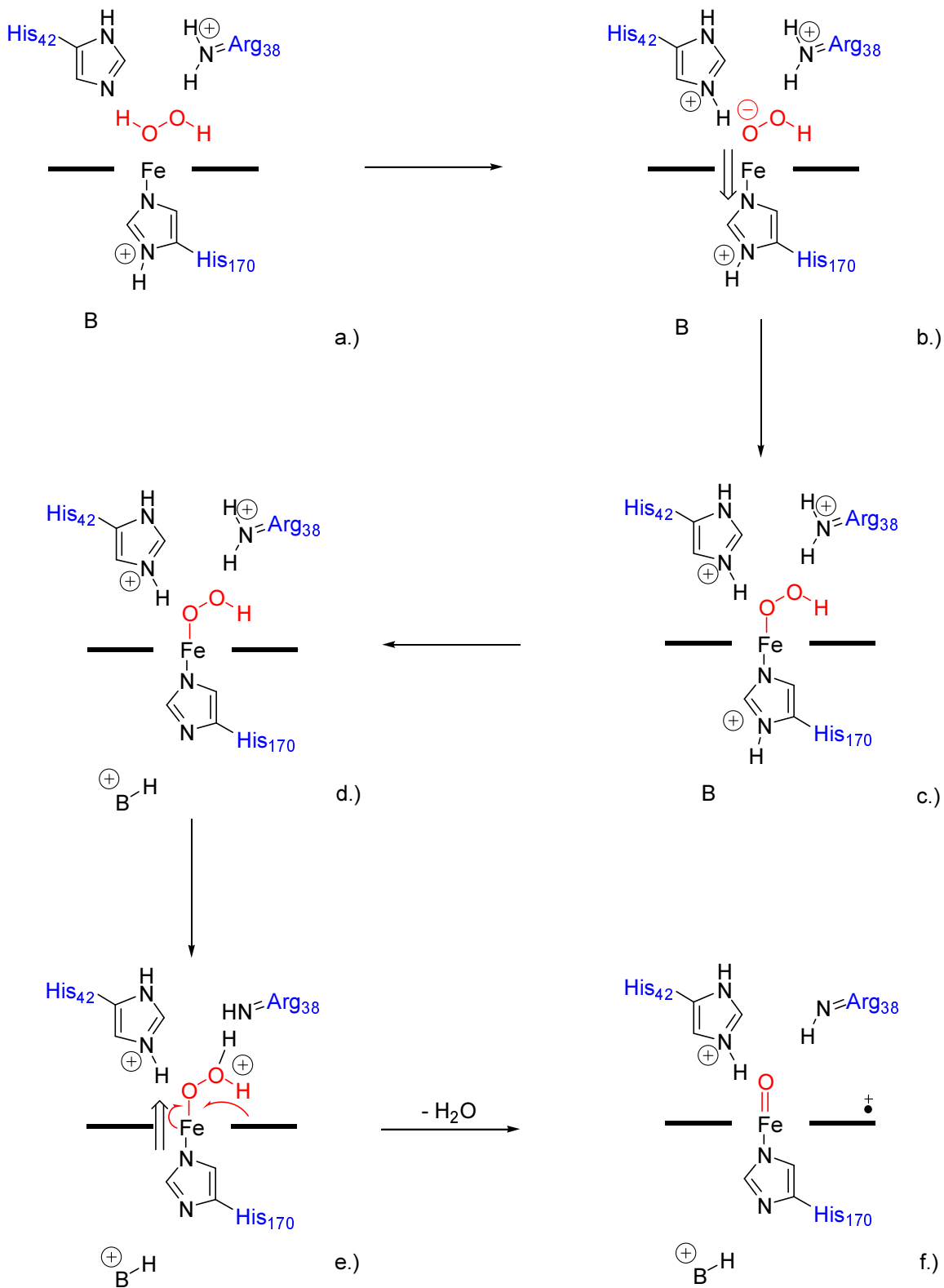


Abbildung 2.4.1: Postulierter Mechanismus der Bildung von Compound I

## 2.5 Die Bildung von Compound II

Über den detaillierten Ablauf der Bildung von *Compound II* und deren Regeneration zum nativen Enzym ist vergleichsweise wenig bekannt. In *Compound I* liegt das Eisenatom formal in der Oxidationsstufe V vor (**Abbildung 2.5.1a**). Oft wird in der Literatur ein Gleichgewicht zwischen einer Fe(V)-Oxogruppe mit neutralem umgebendem Porphyrin und der Fe(IV)-Oxogruppe mit Porphyrinradikalkation diskutiert, zum Beispiel von Kobayashi *et al.*<sup>[35]</sup>. Wie bereits erwähnt, erfolgt in fast allen Fällen zuerst die Reduktion des Porphyrin- $\Pi$ -Radikalkations. Dieser Schritt oxidiert das erste Äquivalent Phenol, dessen Proton vermutlich an das distale His<sub>42</sub> abgegeben wird, und es entsteht das neutrale *Compound II*, in der das Eisen die Oxidationsstufe IV besitzt (**Abbildung 2.5.1b**). Das Phenoxyradikal verläßt das aktive Zentrum, so daß ein weiteres Äquivalent Phenol oxidiert werden kann. Es erfolgt eine Übertragung des Hydroxyprotons an die Fe(IV)-Oxogruppe (**Abbildung 2.5.1c**). Das aktive Zentrum wird in den nativen Fe(III)-Zustand zurückreduziert (**Abbildung 2.5.1d**) und simultan bildet sich mit dem distal gebundenen H-Atom Wasser als Abgangsgruppe (**Abbildung 2.5.1e**)<sup>[47, 52, 62-65]</sup>.

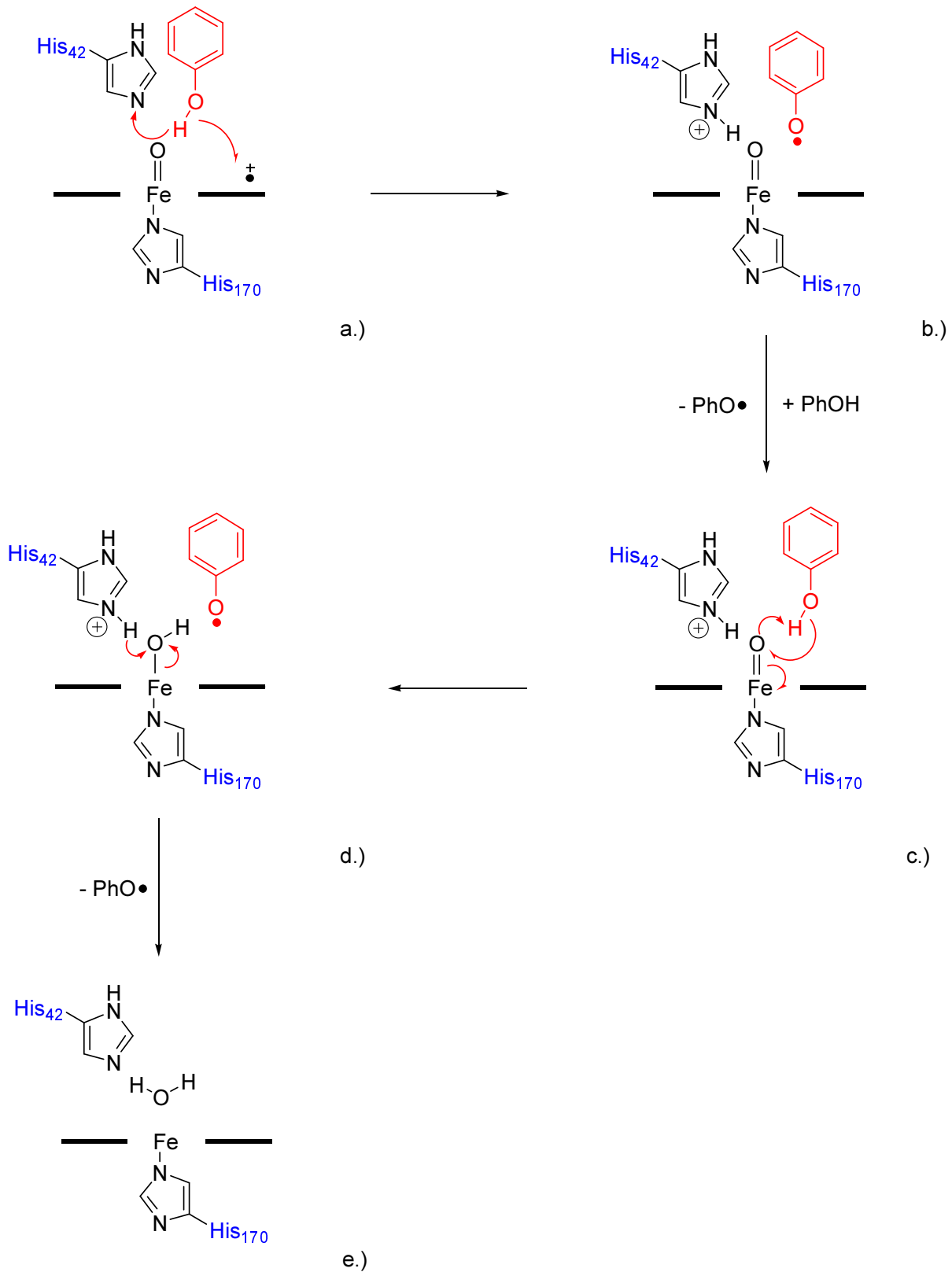


Abbildung 2.5.1: Postulierter Mechanismus der Bildung von Compound II



## 2.6 Nebenreaktionen im HRP-Katalysezyklus

Ein erfolgreiches Arbeiten mit Horseradish Peroxidase setzt die Kenntnis der möglichen Nebenreaktionen voraus, die im HRP-Katalysezyklus auftreten können. Die meisten Untersuchungen zu diesem Thema finden sich in der biochemischen und der biotechnologischen Literatur. Ein Schema der wichtigsten Nebenreaktionen wurde von Nicell<sup>[60]</sup> entwickelt, und ist in **Abbildung 2.6.1** am Beispiel der HRP-katalysierten Phenoloxidation in Gegenwart von Wasserstoffperoxid gezeigt. Der Reaktionsweg **a-d** in **Abbildung 2.6.1** gibt den bisher diskutierten Katalysezyklus wieder. Nach Untersuchungen von Taylor *et al.*<sup>[67]</sup> kann eine zu geringe lokale Konzentration an Phenol und/oder eine zu große lokale Konzentration an Wasserstoffperoxid *Compound I* in ein Intermediat (**Abbildung 2.6.1, f**) überführen, dem drei mögliche Zerfallswege offenstehen. Zum einen kann aus dem Intermediat das native Enzym unter Spaltung von Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff zurückgebildet werden (**Abbildung 2.6.1, h**). Dies entspricht einer schwachen Katalasewirkung und verzögert die Reaktion. Außerdem wird unnötig Wasserstoffperoxid verbraucht. Wenn das Wasserstoffperoxid langsam über den gesamten Reaktionsverlauf hin zugegeben wird, ist diese Nebenreaktion in Gegenwart der stärker reduzierend wirkenden Phenole minimal. Eine andere Nebenreaktion ist die Bildung von *Compound II* auf einem alternativen Reaktionsweg: in Abwesenheit eines reduzierenden Substrates ist die Bildung von *Compound II* unter Freisetzung eines Sauerstoffradikalanions möglich. Der dritte mögliche Reaktionsweg führt zur Bildung eines in der Literatur als P-670 bekannten Verdohaemoproteins, und stellt eine irreversible Enzymhemmung dar (**Abbildung 2.6.1, e**). Auch auf *Compound II* wirkt sich ein Ungleichgewicht in der Reaktionsstöchiometrie negativ aus. *Compound II* reagiert dann mit Wasserstoffperoxid zu *Compound III*, die katalytisch nicht aktiv ist (**Abbildung 2.6.1, g**). Dies bedeutet allerdings keine irreversible Hemmung des Enzyms, da *Compound III* in einer langsamen Reaktion unter Freisetzung eines Wasserstoffperoxidradikalanions zum nativen Enzym regeneriert.

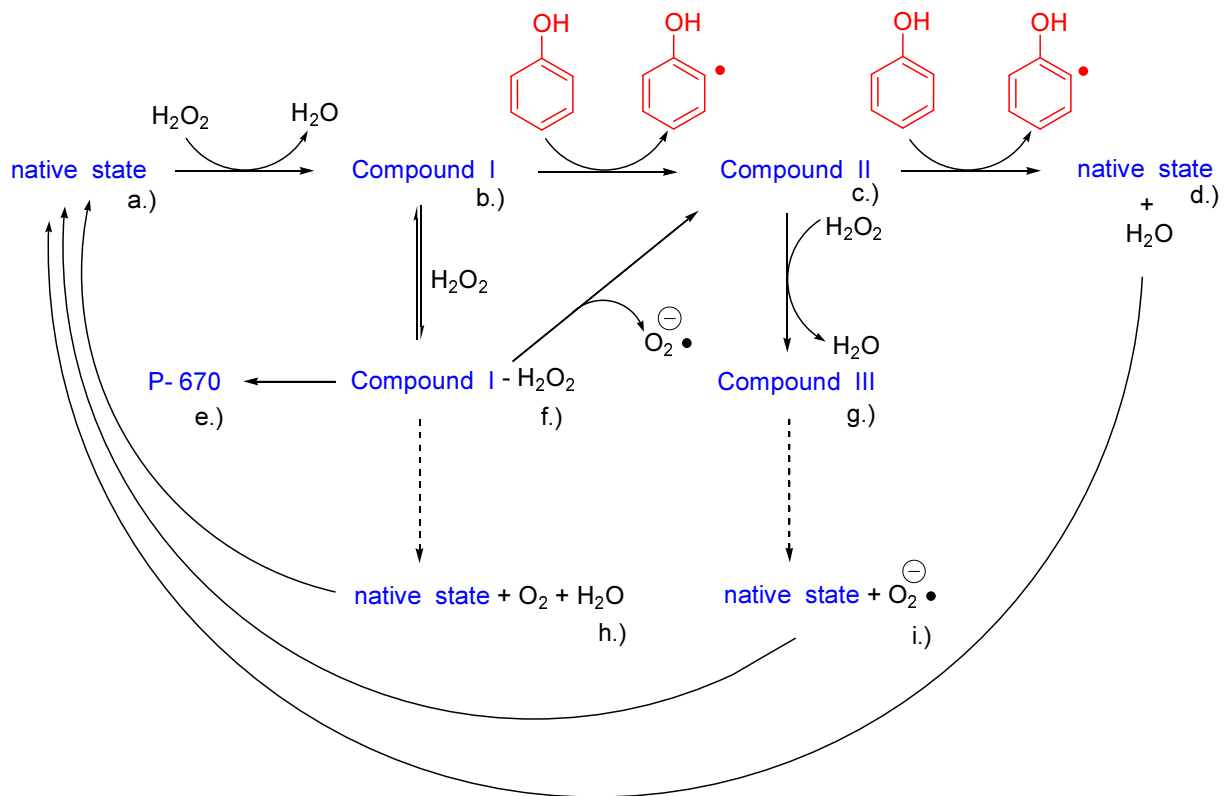


Abbildung 2.6.1: Nebenreaktionen im HRP-Katalysezyklus

Eine weitere Gefahr der permanenten Inhibierung des Enzyms droht durch den Angriff freier Radikale, beispielsweise der Wasserstoffanionradikale, auf das aktive Zentrum oder seine Umgebung. Bei der HRP-katalysierten oxidativen Polymerisation von Phenolderivaten taucht zusätzlich das Problem auf, daß im Verlauf der Fällungspolymerisation die ausfallenden Ketten Enzymmoleküle mitreißen oder einschließen können<sup>[60, 68]</sup>. Abschließend sei noch erwähnt, daß nach Berichten koreanischer Forscher die Bildung von *Compound III* sogar mit einer Depolymerisation enzymatisch hergestellter Polyphenole in Zusammenhang gebracht werden kann<sup>[69]</sup>.

## 2.7 Die Bildung der Polyphenole

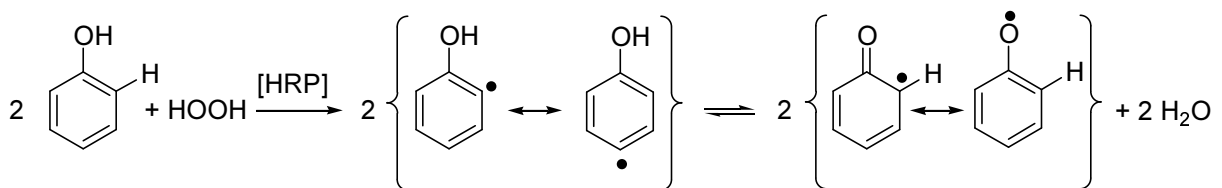
In den vorangegangenen Kapiteln 2.3, 2.4 und 2.5 wurde erläutert, wie durch die HRP-Katalyse Phenole in Gegenwart von Wasserstoffperoxid zu Phenoxyradikalen oxidiert werden. Unter geeigneten Bedingungen können die entstehenden Phenoxyradikale zu höhermolekularer Polyphenolen rekombinieren. Diese oxidative Polymerisation stellt vom Grundtyp eine Polykondensation dar, da formal Wasserstoffatome abgespalten werden. In der

Literatur wird verallgemeinernd von einer enzymatischen Polymerisation gesprochen<sup>[41]</sup>. Bedingungen, die eine enzymatische Polymerisation von Phenolen ermöglichen, sind zum Beispiel die Verwendung eines geeigneten Lösungsmittels, die Einstellung auf einen günstigen pH-Wert, und ein geeignetes Substrat. Ungeeignete Substrate sind z.B. solche, die bevorzugt die Oxidationen zu *ortho*-Diketonen oder Pummerer Ketonen eingehen können, oder aber zur Dimerisierung (wie z.B. Kaffeesäure) neigen<sup>[79, 80]</sup>.

## 2.8 Der mutmaßliche Polymerisationsmechanismus

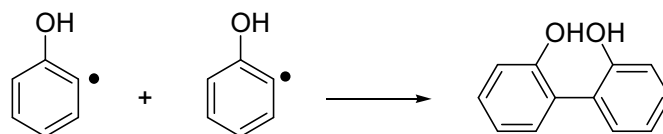
Ein Modell der Polymerisationsmechanismen für die HRP-katalysierte Phenolpolymerisation wurde von Dordick *et al.*<sup>[81]</sup> formuliert. Weitere frühe Beiträge stammen von Dunford und Job<sup>[82]</sup>, sowie von Dec und Bollack<sup>[83]</sup>. Die Peroxidase-katalysierte Polymerisation von Phenolen wurde auch von Nayak<sup>[44]</sup> in einem Review zusammengefasst. Sie lässt sich schematisch in drei Schritte unterteilen:

a. Initiierung durch HRP und Generierung der freien Radikale:



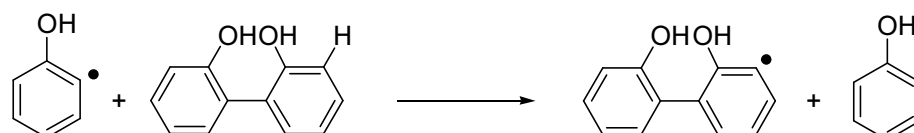
b. Kettenwachstum durch Rekombination der freien Radikale:

z.B.

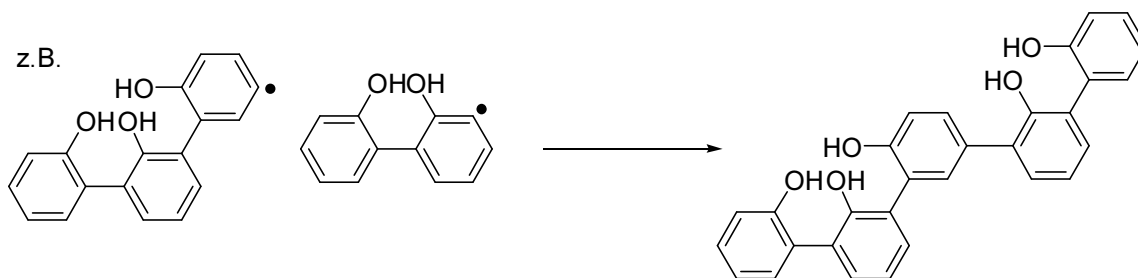


c. Fortlauf der Polymerisation durch Radikaltransfer:

z.B.



d. weiteres Wachstum durch Rekombination (Wiederholung von Schritt b):

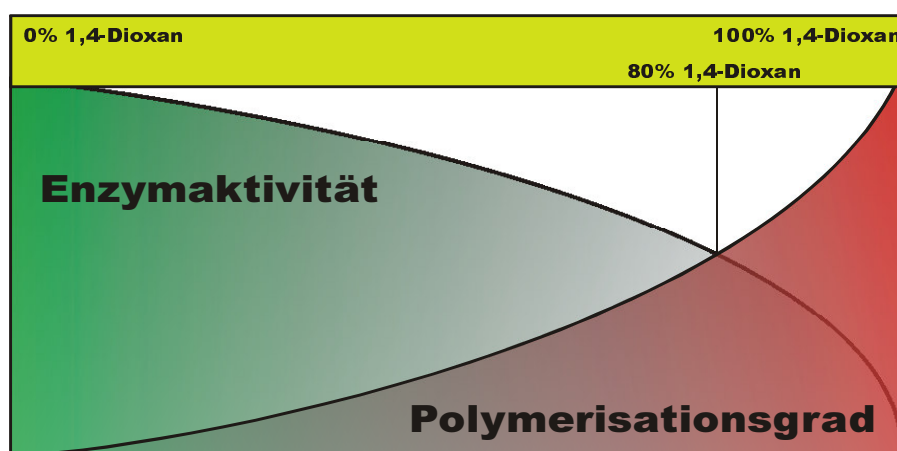


Nur Schritt **a**, die Generierung der Phenoxyradikale, verläuft Enzym-kontrolliert. Das weitere Kettenwachstum verläuft durch Radikalrekombination und Radikaltransfer. Zunächst rekombinieren die Phenoxyradikale zu Dimeren. Im weiteren Verlauf der Polymerisation ist ein Radikaltransfer der Phenoxyradikale mit einem der Dimere wahrscheinlicher als eine Rekombination, so daß größere Oligomere gebildet werden<sup>[35, 37, 40-42, 44, 47, 52]</sup>. Die Polymerisationsgeschwindigkeit wird durch die Art der Phenole und ihre Konzentration, sowie durch die Konzentration der Phenoxyradikale bestimmt. Letztere wiederum ist mit der Enzymkonzentration korreliert<sup>[44]</sup>.

## 2.9 Der Einfluß des Lösungsmittels

Dordick *et al.* untersuchten die Polymerisation von *p*-Phenylphenol in Mischungen aus organischem Lösungsmittel und Puffer<sup>[81]</sup>. Sie fanden heraus, daß eine Polymerisation in Wasser nicht möglich ist, da einerseits die meisten Phenole nur eine geringe Wasserlöslichkeit aufweisen und andererseits die gebildeten Oligomere schon bei kleinen Molekulargewichten (Dimere und Trimere) wegen weiter verringerter Wasserlöslichkeit aus der Reaktionslösung ausfielen. Dies verhinderte weitere Rekombinationsschritte zu größeren Oligomeren. Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, wurden verschiedene Mischungen von organischen Lösungsmitteln und wäßrigen Pufferlösungen getestet, darunter 1,4-Dioxan-Wasser, Aceton-Wasser, und *N, N*-Dimethylformamid-Wasser. Die Bandbreite der Ergebnisse reichte dabei von 400 g/mol bis 26000 g/mol. Akkara *et al.* führten detailliertere Studien der HRP-katalysierten *p*-Phenylphenolpolymerisation in verschiedenen Mischungen von 1,4-Dioxan und Wasser durch und variierten die pH-Werte zwischen 5,0 und 7,5<sup>[84]</sup>. Auch sie fanden in 100% wäßriger Pufferlösung nur die Bildung von Oligomeren mit kleinen Molekulargewichten, größtenteils lagen Dimere und Trimere vor. Als bestes Reaktionsmedium wurde eine Mischung aus 80% 1,4-Dioxan und 20% Wasser ermittelt. Ein höherer Anteil an 1,4-Dioxan führte zu geringeren Ausbeuten an Polymer. Die Autoren führten dies

auf eine beginnende Enzymdenaturierung zurück. Somit läßt sich zusammenfassen, daß das Molekulargewicht und die Ausbeute an Polymer durch die Zusammensetzung des Reaktionsmediums kontrolliert werden können. Ein hoher Anteil an Wasser führt zu großen Polymerausbeuten, da die Enzymaktivität maximal ist. Allerdings nimmt das Molekulargewicht mit steigendem Wasseranteil durch das frühere Ausfallen der Ketten aus der Reaktionslösung ab. Ein steigender Anteil von 1,4-Dioxan hingegen führt zu immer größeren Molekulargewichten der ausfallenden Polymere. Zwangsläufig aber muß eine Verringerung der Enzymaktivität in Kauf genommen werden. Bei einem Volumenanteil von mehr als 95% 1,4-Dioxan im Reaktionsgemisch läßt sich praktisch kein Polymer mehr erhalten (**Abbildung 2.9.1**).



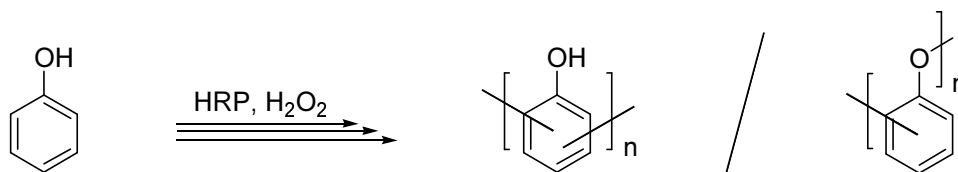
**Abbildung 2.9.1:** Die qualitative Entwicklung der Enzymaktivität und des Polymerisationsgrades der entstehenden Polymere mit steigendem 1,4-Dioxan-Anteil im Reaktionsmedium

Liu *et al.* lieferten ein Modell zur Polymerisation von *p*-Phenylphenol, um zu erklären, warum gerade eine 80:20 Volumenmischung aus 1,4-Dioxan und Wasser ein optimales Reaktionsmedium darstellt<sup>[85]</sup>. Bei dieser Mischung ist der Molenbruch von 1,4-Dioxan gleich dem von Wasser. Liu *et al.* fanden experimentell Hinweise darauf, daß die Phenolmonomere aufgrund hydrophober Wechselwirkungen im Reaktionsgemisch zur Aggregation tendieren. Die Stabilisation der Aggregate war in der 80:20 Mischung maximal. Ein vergrößerter Anteil an 1,4-Dioxan führt nach Aussage von Liu *et al.* zu einer Destabilisierung der Aggregate. Im Extremfall von reinem 1,4-Dioxan sind die *p*-Phenylphenolmoleküle völlig dispergiert. Ähnliche Untersuchungen wurden unlängst auch von Kobayashi *et al.* publiziert<sup>[86]</sup>. Beide Arbeitsgruppen spekulieren, daß die Schritte Radikalrekombination und/oder Radikaltransfer durch die Bildung der Aggregate gefördert werden. Möglicherweise ist die Bildung aggregierter Phenole sogar eine Grundvoraussetzung dafür, daß der Polyrekombinationsprozeß stattfinden kann.

## 2.10 Die Polymerstruktur

Die Charakterisierung der Polymere, die durch die HRP-katalysierte Polyrekombination von Phenolen erhalten werden, war und ist die größte Herausforderung für alle auf diesem Gebiet arbeitenden Forschungsgruppen. Die genaue Bestimmung des Molekulargewichtes ist schwierig: GPC-Analysen sind nur in Lösungen von THF oder DMF möglich. Einige Polyphenole lösen sich ausschließlich in DMF. Aufgrund des kettensteifen aromatischen *backbones* weicht ihr hydrodynamisches Volumen von den üblicherweise verwendeten Standards wie PS oder PMMA ab. Daher läßt sich ihr Molekulargewicht auf diese Weise nicht zweifelsfrei bestimmen. Auch Analysen mit Hilfe der MALDI-TOF-MS-Technik sind oft nicht hilfreich. Sofern überhaupt ein Spektrum zustande kommt, macht sich eine ausgeprägte Massensuppression bemerkbar. Das bedeutet, daß nur die niedermolekularen Anteile im Spektrum zu sehen sind. Dies liegt daran, daß die kürzeren Ketten leichter ionisiert in die Gasphase zu überführen sind. Die Steifigkeit des aromatischen Backbones macht auch NMR-Untersuchungen äußerst schwierig, da viele Konformationen eingefroren sind und die Relaxationszeiten verlängert werden. Die meisten Polyphenole zeigen in DSC-Messungen bis 300°C keine Glastemperaturen, Schmelzpunkte oder sonstige Phasenumwandlungen. Deshalb stützen sich die meisten Publikationen bei der Strukturaufklärung auf Daten der IR-Spektroskopie.

Kobayashi *et al.* stellten 1996 ihre Ergebnisse zur HRP-katalysierten Polymerisation von Phenol vor<sup>[87]</sup>. Von dem unsubstituierten Poly[phenol] wurden aussagekräftige NMR-Spektren erhalten. Nach Analyse ihrer IR- und NMR-Daten kamen sie zu dem Schluß, daß die entstehenden Polyphenole aus einem Gemisch aus Phenylen- und Oxyphenyleneinheiten bestehen (**Abbildung 2.10.1**).



**Abbildung 2.10.1: Die HRP-katalysierte Phenolpolymerisation nach Kobayashi *et al.***

Diese Sichtweise wurde von Kobayashi *et al.* bei späteren Arbeiten für andere Systeme vorausgesetzt, da deren detaillierte NMR-Untersuchung nicht möglich war. Alle Veröffentlichungen stimmen nämlich darin überein, daß üblicherweise nur Polyphenole aus

unsubstituiertem Phenol verwendbare  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zeigen. Befindet sich aber in der *para*- oder der *meta*-Position ein Rest, so verbreitern sich insbesondere die Signale im Aromatenbereich äußerst stark<sup>[88]</sup>.

Akkara *et al.* untersuchten 1991 als erste die Struktur eines Polyphenols mit FT-IR-Spektroskopie und  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR<sup>[84]</sup>. Als Monomer diente ihnen *p*-Phenylphenol. Aufgrund ihrer Meßergebnisse schlossen sie die Bildung von Oxyphenyleneinheiten aus. Basierend auf den  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektren, gepaart mit Aussagen von FT-IR-Spektroskopie, Studien der Löslichkeit und Experimenten über  $\text{D}_2\text{O}$ -Austausch trafen die Autoren die Aussage, daß die Bildung der Polyphenole hauptsächlich über *ortho-ortho* Verknüpfungen erfolgt war und zu einem kleinen Anteil über die freie *para*-Position des Phenylrestes (Abbildung 2.10.2).

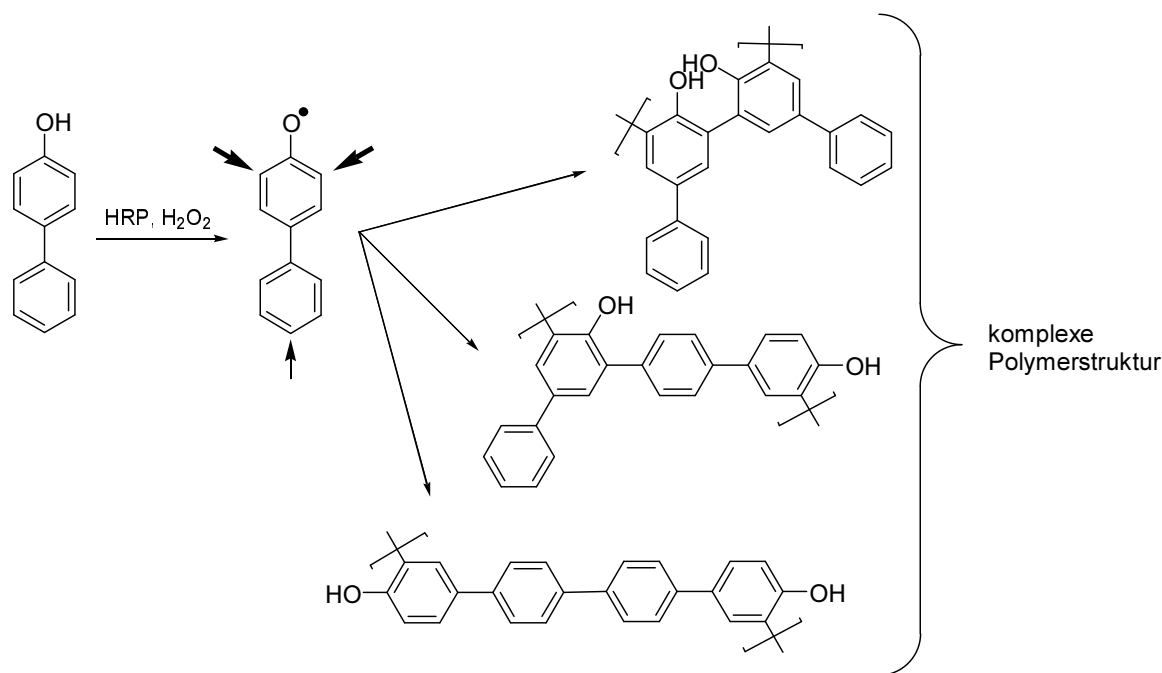
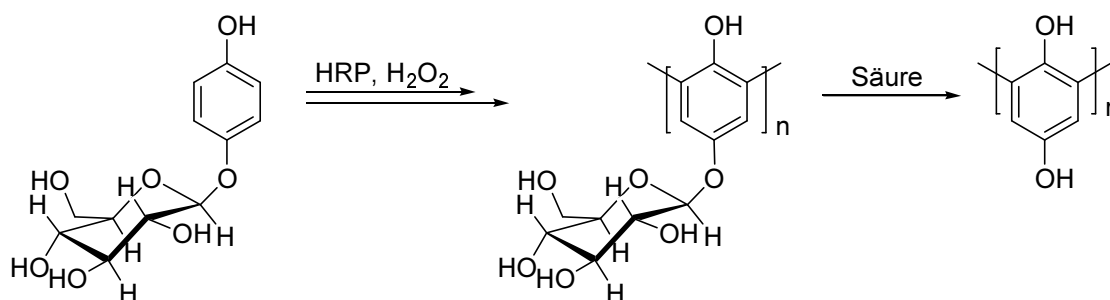


Abbildung 2.10.2: verschiedene Verknüpfungen im Poly[*p*-phenylphenol] nach Akkara *et al.*

1998 stellten Akkara *et al.* zusammen mit John und Kaplan ihre Ergebnisse zur Polymerisation von *p*-Ethylphenol vor<sup>[89, 90, 91]</sup>. Sie gaben an, daß das Polyphenol bevorzugt durch eine Verknüpfung über die *ortho*-Positionen des *p*-Ethylphenols gebildet worden war.

Dordick *et al.* berichteten 1995 über die regioselektive Polymerisation von Hydrochinon zu einem Redoxpolymer durch Anwendung von Schutzgruppentechnik<sup>[92, 93]</sup>. Sie verwendeten das natürlich vorkommende Arbutin (4-Hydroxyphenyl- $\beta$ -D-Glucopyranose), dessen HRP-

katalysierte Polymerisation ein wasserlösliches Polymer ergab, von dem die Autoren berichteten, daß es aus *ortho-ortho*-verknüpften Phenyleneinheiten gebildet sei. Die saure Abspaltung des Glycosylrestes führte nach Angaben der Autoren dann zu einem polymeren Hydrochinon mit einheitlicher Struktur (**Abbildung 2.10.3**).



**Abbildung 2.10.3:** regioselektive Polymerisation von Hydrochinon nach Dordick *et al.*

Die gerade vorgestellten Studien scheinen zu bekräftigen, daß die HRP-katalysierte Polymerisation von *p*-substituierten Phenolen zu Polyaromaten führt, deren aromatische Ringe nahezu ausschließlich über die *ortho*-Positionen verknüpft sind. Dies hängt damit zusammen, daß die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des ungepaarten Elektrons an den *ortho*- und an den *para*-Positionen aufgrund der besseren Stabilisierung des Phenoxyradikals am größten ist. Dies erklärt die bevorzugte Rekombination der Radikale an diesen Positionen<sup>[89]</sup>. Dennoch wurden von Kobayashi *et al.* auch für *p*-substituierte Phenole stets Hinweise auf Etherbrücken im IR-Spektrum mit Querverweis auf die Strukturbestimmung an Phenol diskutiert<sup>[40-42, 44]</sup>. Die Experimente von Kobayashi *et al.* zur Polymerisation von 4-Ethylphenol<sup>[88]</sup> und Polyhydrochinon<sup>[94]</sup> stehen damit in Widerspruch zu Arbeiten von Akkara *et al.*<sup>[89-91]</sup> und Dordick *et al.*<sup>[92]</sup>. Daneben berichteten im Jahre 2001 Tripathy *et al.* über die Polymerisation von 4-Hydroxybenzoesulfonsäure und gelangten zu dem Schluß, daß die erhaltenen <sup>1</sup>H-NMR-Spektren eher für die Bildung von *meta-meta*-Verknüpfungen sprachen<sup>[95]</sup>. Da die Sulfonsäure-Gruppe ein elektronenziehender Substituent ist, scheint eine Bevorzugung der *ortho*-Positionen als reaktive Stellung für eine Radikalrekombination allerdings auch nicht gegeben. So steht diese Aussage nicht unbedingt in Widerspruch zu den oben vorgestellten Ergebnissen der anderen Gruppen. Für Phenole, deren *meta*-Position mit einem Substituenten blockiert ist, sollte man wie im Fall des unsubstituierten Phenols ein Polymer mit einer gemischten Struktur erhalten, da sowohl die reaktiven *ortho*- als auch die *para*-Position frei sind. Jedoch gibt es auch hier widersprüchliche Angaben in der Literatur: Kobayashi *et al.* fanden ein Polymer mit einer gemischten Struktur aus Phenyl- und



Oxyphenyleneinheiten für die Polymerisation von *m*-Cresol<sup>[96]</sup>, die Arbeitsgruppe von Kaplan *et al.* berichtete für das *m*-Cresol hingegen von ausschließlich Phenylen-verknüpften Polyaromaten<sup>[97]</sup>.

## 2.11 Praktische Bedeutung der Phenolpolymere

Die enzymatische Synthese von Phenolpolymeren stellt eine umweltfreundliche Alternative zu konventionellen Phenol-Formaldehydharzen dar<sup>[40-42, 44]</sup>. Diese gelten wegen der Freisetzung von Formaldehyd als gesundheitlich bedenklich<sup>[41]</sup>. Daneben eignen sich die enzymatisch hergestellten Phenolpolymere vermutlich auch als elektrisch oder ionisch leitfähige Materialien<sup>[91-94, 129]</sup>. Polymere von Phenolderivaten mit photosensiblen Gruppen können als Photo-Resists eingesetzt werden<sup>[111, 115]</sup>. Es wurde auch bereits über biologisch aktive Phenolpolymere mit bakteriziden oder fungiziden Wirkungen berichtet. Auch in der Tumorthherapie wird die Anwendung von Phenolderivaten und ihren Polymeren getestet<sup>[40-42, 60, 128, 136-139]</sup>.

## 2.12 Aufgabenstellung

Basierend auf den zuvor getroffenen Feststellungen ergaben sich für die vorliegende Arbeit die folgenden Aufgabenstellungen:

(a) Es sollten vernetzbare Polyphenole synthetisiert werden, um das geringe Molekulargewicht der bisher bekannten Phenolpolymere zu kompensieren. Die Vernetzung sollte durch radikalische Copolymerisation, auf photochemischem Weg oder durch thermisch induzierte Cycloadditionen möglich sein. Im Rahmen dieser Untersuchungen sollte auch die Bandbreite der reaktiven Substituenten bestimmt werden, die eine enzymatische Polymerisation unbeschadet überstehen.

(b) Nach dem erfolgreichen Einsatz methylierter Cyclodextrine bei der enzymatischen Phenolpolymerisation<sup>[98]</sup> sollte in weiteren Experimenten die Gestalt der Cyclodextrinkomplexe in wässriger Lösung und der Einfluß der Cyclodextrinkonzentration auf die Polymerisation geklärt werden.

- (c) Im Hinblick auf die divergierenden Veröffentlichungen zur Polymerstruktur, speziell der Art der Verknüpfungen der Polyphenole sollte eine detaillierte Strukturuntersuchung der Polyphenole durchgeführt werden. Insbesondere sollte ein klarer Beweis für die Präsenz oder die Abwesenheit von Oxyphenyleneinheiten herausgearbeitet werden.
- (d) Um Phenolpolymere mit größerem Molekulargewicht aufzubauen, sollten Wege zur Synthese hyperverzweigte Phenolpolymere gefunden werden. Solche Moleküle hätten das Potential, als molekulare Verstärker zu dienen.
- (e) Der hauptsächliche Anwendungsbereich der enzymatische Phenolpolymerisation, nämlich die Synthese multi-funktionaler Polymere, sollte durch neue Monomere erweitert werden. Als potentielle Anwendungsbereiche galten Redox-Polymere, biologisch wirksame Polymere aus Naturstoffen und der Aufbau von Poly[*para*-phenylenen] in Konkurrenz zur etablierten Suzuki-Kupplung.

## 3 Allgemeiner Teil

### 3.1 Radikalisch vernetzbare Polyphenole - Cyclodextrinkomplexe

#### 3.1.1 Motivation

Wie im vorangegangenen Kapitel erläutert wurde, waren zu Beginn dieser Arbeit praktisch nur Polymerisationen von Standardmonomeren bekannt, wie z.B. Phenol, *p*-Phenylphenol, *p*- und *m*-Cresol<sup>[44]</sup>. Für eine Anwendung als Konkurrenz zu Phenolformaldehydharzen war jedoch die Einführung einer weiteren Funktionalität nötig, um die enzymatisch aufgebauten Polyphenole kontrolliert vernetzen zu können. Das Ziel war deshalb, *p*-funktionalisierte Phenole mit radikalisch polymerisierbaren Gruppen aufzubauen, die dann durch eine radikalisch initiierten Copolymerisation vernetzt werden könnten. Mit diesen Arbeiten wurde bereits vor 4 Jahren begonnen<sup>[109b]</sup>. Neben einem Phenol mit einer relativ unempfindlichen Maleinimid-Rest wurden auch zwei Derivate synthetisiert, die Methacryloylgruppen mit und ohne Spacer in der Seitenkette enthielten<sup>[98]</sup>.

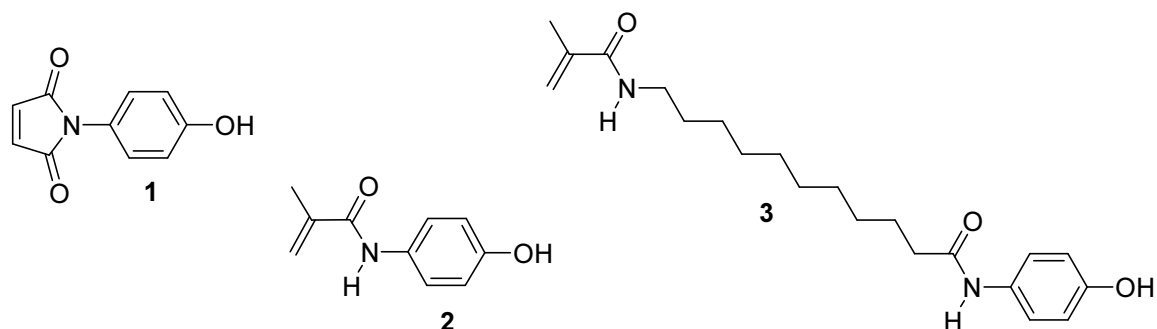


Abbildung 3.1.1: Radikalisch vernetzbare Phenole

Darüber hinaus wurden von allen vorgestellten Derivaten entsprechende Einschlußverbindungen mit technischem 2,6-methyliertem  $\beta$ -Cyclodextrin gebildet<sup>[99, 100, 101]</sup>. Die Motivation dafür lag in der Wasserlöslichkeit der resultierenden Cyclodextrinkomplexe<sup>[102, 103]</sup>. Wie in **Abschnitt 2.9** geschildert wurde, kann bei einer enzymatischen Polymerisation im wäßrig-organischen Lösungsmittel nur ein Kompromiß zwischen der Löslichkeit des Phenols, bzw. dem damit resultierenden Polymerisationsgrad des Polyphenols, und der Enzymaktivität eingegangen werden<sup>[36, 42, 44, 81, 84]</sup>. Die Komplexbildung durch Cyclodextrin bot aber die Möglichkeit im nativen Medium des Enzyms, in Wasser, eine enzymatische Polymerisation der sonst wasserunlöslichen Phenole durchzuführen (**Abbildung 3.1.2**).

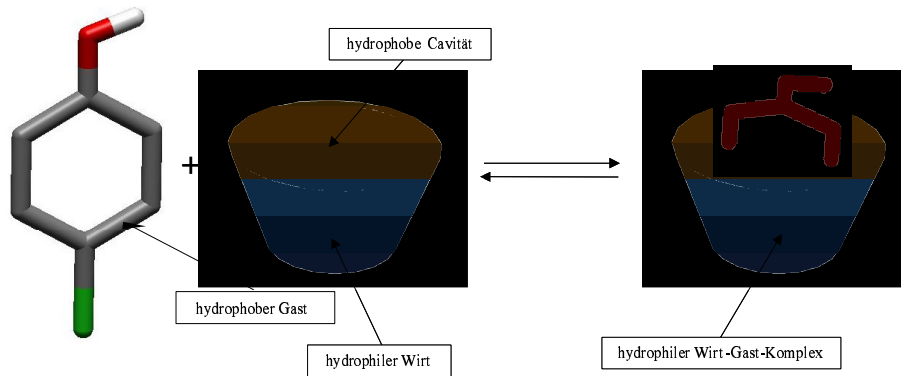


Abbildung 3.1.2: Wirt-Gast Chemie mit Cyclodextrinen

Wie man der **Abbildung 3.1.2** entnehmen kann, ähneln die aus Glucose aufgebauten Cyclodextrine einem hohlen Kegelstumpf (Torus) und haben näherungsweise  $C_n$ -Symmetrie. An der engeren Seite des Torus befinden sich die primären und an der weiteren Seite die sekundären Hydroxygruppen. Der Innendurchmesser nimmt mit der Anzahl der Glucosebausteine zu (6,2 Å für das  $\beta$ -Cyclodextrin, 7 Glucosebausteine), während die Höhe mit 7,9 Å konstant bleibt. Alle Glucosebausteine sind 1,4-glycosidisch verknüpft, relativ starr und liegen in der  ${}^4C_1$ -Sesselkonformation vor<sup>[99, 100, 101]</sup>.

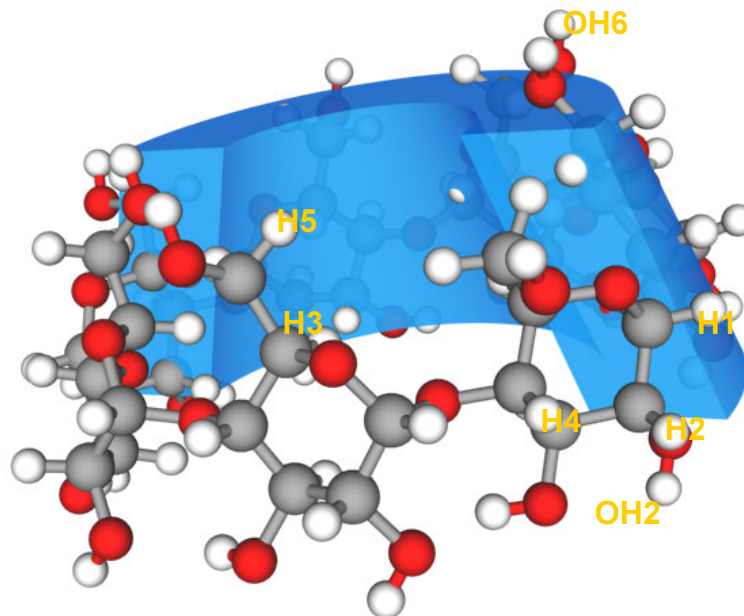


Abbildung 3.1.3: Ein Bild der räumlichen Struktur von  $\beta$ -Cyclodextrin

Die sekundären Hydroxygruppen OH(2) und OH(3) liegen äquatorial, wobei die OH(2) nach innen und die OH(3) nach außen gerichtet sind (**Abbildung 3.1.3**). Durch eine Methylierung der 2- und 6-Position kann das intramolekulare Wasserstoffbrückennetz des Cyclodextrins

aufgebrochen werden, so daß eine verbesserte Löslichkeit in Wasser erzielt wird. Die vollständige Drehung eines Glucosebausteins um die C(1)-O-C(4')-Bindungen ist durch die Ringstruktur ausgeschlossen. Folglich befinden sich die Protonen H(3) und H(5) im Hohlraum des Torus, und die Protonen H(1), H(2) und H(4) weisen nach außen<sup>[99, 100, 101]</sup>.

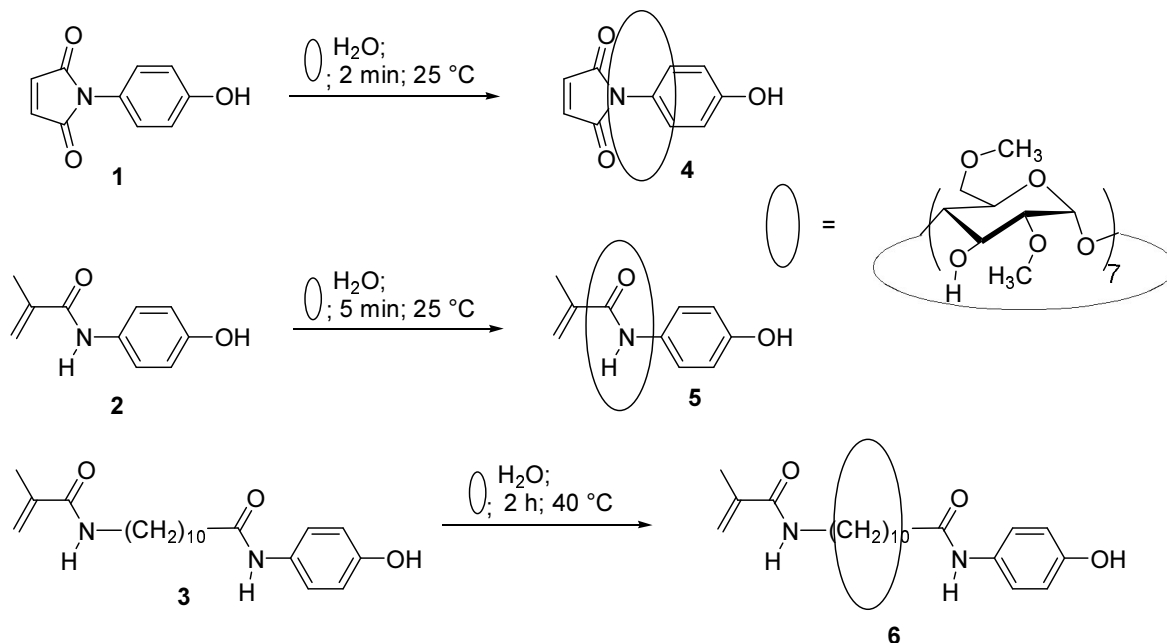
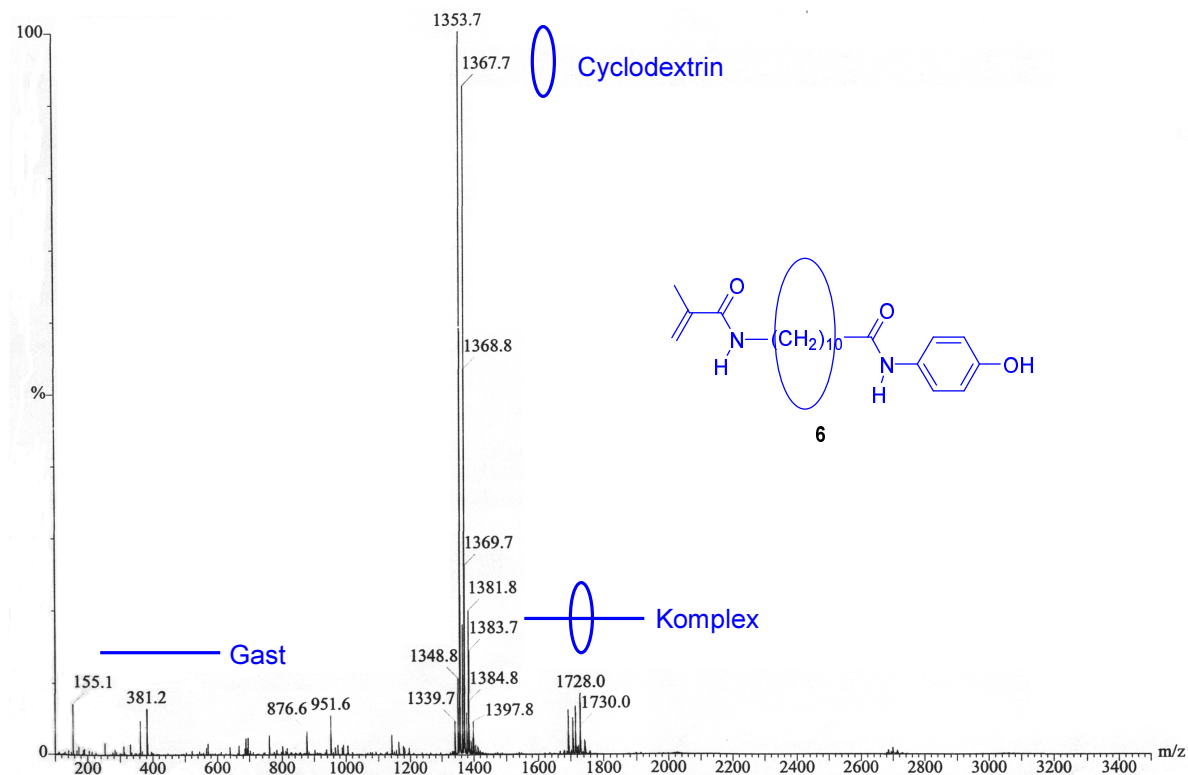


Abbildung 3.1.4: Präparation der Cyclodextrinkomplexe

Die Gegenwart der Cyclodextrinkomplexe wurden anhand charakteristischer Verschiebungen der <sup>1</sup>H-NMR-Signale der jeweiligen Phenole in CDCl<sub>3</sub>, sowie durch MALDI-TOF-MS bzw. ESI-TOF-MS bewiesen. 4-Hydroxyphenylmaleinimid (**1**) und *N*-Methacryloyl-4-hydroxyanilid (**2**) wurden mit äquimolaren Mengen an 2,6-methyliertem β-Cyclodextrin umgesetzt. Im Massenspektrum waren die entsprechenden 1:1 Komplexe deutlich sichtbar. Das *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid (**3**) ließ sich nur mit der dreifachen molaren Menge an 2,6-methyliertem β-Cyclodextrin vollständig in Lösung bringen. Das ESI-TOF-Massenspektrum zeigte jedoch nur ein Signal für einen 1:1 Komplex, Komplexe mit anderer Stöchiometrie waren nicht erkennbar. Außerdem fiel auf, daß im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Komplexe die Verschiebung der aromatischen Signale gegenüber dem unkomplexiertem Gast größer war, als die der restlichen Protonen. Es war jedoch zunächst nicht zu klären, ob die Komplextopologie wirklich die Ursache für dieses Phänomen war. Weitere Untersuchungen konnten zunächst nicht getroffen werden. Eine genauere Charakterisierung der Komplex- und Polymerstrukturen war deshalb Gegenstand der vorliegenden Promotionsarbeit.

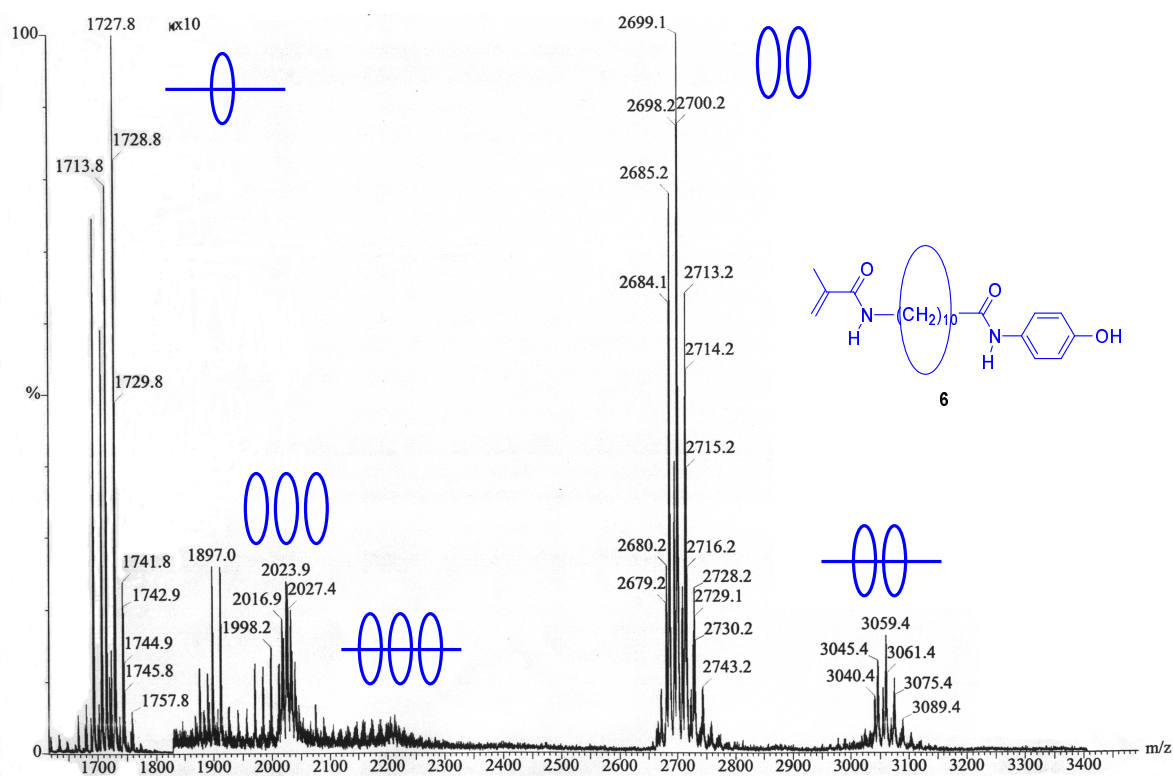
### 3.1.2 Charakterisierung der Cyclodextrinkomplexe von *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid (**3**) mit Hilfe von ESI-TOF-MS

Im Zentrum der neueren massenspektroskopischen Untersuchungen stand die Charakterisierung des komplexierten *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid. Es galt zu klären, ob ein dreifacher Überschuß an Cyclodextrin tatsächlich zur Bildung von 2:1 und 3:1 Komplexen von Cyclodextrin mit dem Monomeren führen kann. Falls nicht, so wurde der dreifache Überschuß aufgrund einer schwächeren Komplexbildungskonstante nach dem Massenwirkungsgesetz zur Bildung einer 1:1 Komplexverbindung benötigt. **Abbildung 3.1.5** zeigt das verbesserte ESI-TOF-Massenspektrum (Tandem-MS<sup>[104]</sup>) der Komplexverbindungen von **3** mit 2,6-methyliertem  $\beta$ -Cyclodextrin. Das Monomer ist als Natriumaddukt bei einer Masse von  $m/z$  381,2 erkennbar. Das Monomersignal fällt aber gegenüber früheren Messungen sehr schwach aus, was impliziert, daß ein großer Anteil der Monomere auch unter ESI-Bedingungen komplexiert bleibt. Die Signale von  $m/z$  1339,7 – 1397,8 repräsentieren Cyclodextrine mit verschiedenen Methylierungsgraden (alle als Natriumaddukte), weshalb sie sich um  $m/z$  14 ( $\text{CH}_2$ ) unterscheiden. Die Signalgruppe um  $m/z$  1728,0 zeigt die entsprechenden 1:1 Komplexe.



**Abbildung 3.1.5: 1:1 Komplex (Komplexverbindung 6) im ESI-TOF-Massenspektrum**

Ein schwächeres Signal bei  $m/z$  2700 zeigt ein Aggregat von zwei Cyclodextrinen. Diese Aggregate können nach der Protonierung eines Cyclodextrinringes bzw. der Bildung des Natriumaddukts durch ESI recht leicht zustande kommen, da die Cyclodextrine viele freie alkoholische Gruppen tragen. Im Unterschied zu früheren Analysen sind aber auch 2:1 Komplexe aus Cyclodextrin und **3** bei einer Masse um  $m/z$  3059,4 deutlich in **Abbildung 3.1.6** erkennbar. Ein 3:1 Komplex, bestehend aus **3** und drei 2,6-dimethylierten Cyclodextrinen sollte durch eine Peakverteilung um  $m/z$  4354,5 erscheinen. Signale bei dieser Masse konnten nicht beobachtet werden. Die 3:1 Komplexe konnten aber bei Massen um  $m/z$  2202,7 als zweifach geladene Ionen detektiert werden. Dies entspricht somit einer Molekülmasse um 4405,5 g/mol für die Komplexe, da ja das Verhältnis von Masse zu Ladung detektiert wird. Die Signalgruppe um  $m/z$  2023,9 gehört zu einem zweifach geladenen 3-fach Aggregat aus Cyclodextrinen. Beide Spezies wurden einwandfrei über ihr Isotopenmuster als zweifach geladene Ionen charakterisiert, das heißt die Isotopenverteilung zeigte Peaks mit einem Abstand von  $m/z$  0,5 statt  $m/z$  1. Somit wurden alle denkbaren Komplexe (1:1, 2:1, und 3:1) massenspektroskopisch detektiert. Es wurden aber keine Mischkomplexe wie zum Beispiel solche mit einer 3:2 Stöchiometrie identifiziert, wohl aber Aggregate aus zwei und auch drei Cyclodextrinen.



**Abbildung 3.1.6: 1:1, 2:1 und 3:1 Komplexe im ESI-TOF-Massenspektrum bei 10-fach vergrößertem Ausschnitt der Region von 1830-3400 g/mol**

### 3.1.3 400 MHz-<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-NMR-Untersuchungen zur Struktur der Cyclodextrinkomplexe von 4-Hydroxyphenylmaleinimid (1) und *N*-Methacryloyl-4-hydroxyanilid (2)

Für die Komplexe **4** und **5** war eine detaillierte <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchung in D<sub>2</sub>O möglich, so daß Informationen über Komplexstruktur im Polymerisationsmedium gewonnen werden konnten. Der Komplex **6** hingegen erwies sich aufgrund der 1:3 Stöchiometrie als ungeeignet, da die Signale des Gastes gegenüber den 294 aromatischen Protonen der Cyclodextrinmoleküle zu schwach ausfielen.

Zuerst wurden Studien mit besser wasserlöslichem 2,6-methyliertem Cyclodextrin technischer Qualität durchgeführt (Methylierungsgrad 1,8). Die statistische Methylierung dieses Produktes setzt die Stärke der intra- und intermolekularen H-Brücken herab, woraus die verbesserte Wasserlöslichkeit resultiert<sup>[100, 101]</sup>. In **Abbildung 3.1.7** ist das 400 MHz-<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum des Komplexes **4** mit 2,6-methyliertem Cyclodextrin in D<sub>2</sub>O abgebildet. Es zeigt, daß die zuvor angesprochenen Verschiebungen im <sup>1</sup>H-NMR auf eine Wechselwirkung der inneren Protonen der 2,6-methylierten β-Cyclodextrine mit den aromatischen Protonen (*o*-H/*m*-H) der Gastkomponente in Wasser zurückzuführen sind. Die Kreuzpeaks, einseitig durch einen Kreis markiert, spiegeln die Kontakte der aromatischen Protonen (*o*-H/*m*-H) mit den inneren Protonen des Cyclodextrins (CD) wieder. Deutlich erkennbar ist auch die Wechselwirkung der Protonen der Maleinimid-Gruppe (CHa/CHb) mit den Protonen des Cyclodextrins (CD), speziell dessen Methylgruppen (2-OMe/6-OMe).

Da die Signalintensität der Kreuzpeaks im <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum bezüglich des Abstands der wechselwirkenden Protonen mit 1/*r*<sup>6</sup> abnimmt<sup>[105, 106]</sup>, kann man daraus folgern, daß sich der Phenolring hauptsächlich im Inneren der Cyclodextrin-Cavität befindet, und die Protonen der Maleinimidgruppe stärker mit den Methylgruppen an den äußeren Rändern des Cyclodextrinmoleküls in Wechselwirkung treten. Eine genauere Zuordnung, insbesondere der Position der Maleinimidgruppe in Richtung zum breiteren oder engeren Rand des Cyclodextrintorus, war nicht möglich, da die <sup>1</sup>H-NMR-Signale aufgrund der statistischen 2,6-Methylierung zu breit waren.



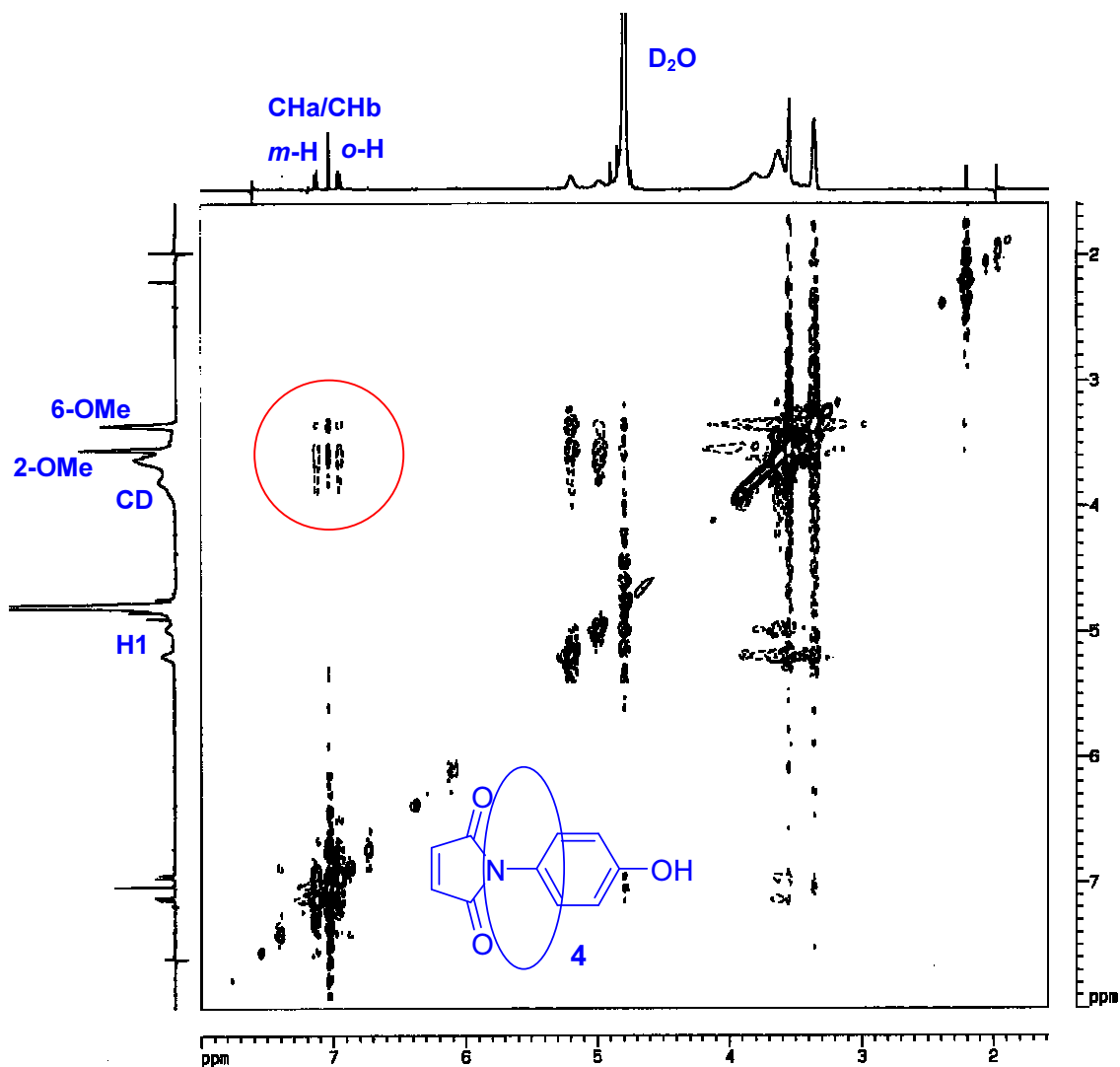


Abbildung 3.1.7: 400 MHz-<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum des Komplexes 4 in D<sub>2</sub>O

Eine ähnliche Situation findet sich für das 400 MHz-<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum von Komplex **5** (Abbildung 3.1.8). Der einseitig mit einem roten Kreis markierte Bereich zeigt die Wechselwirkungen der aromatischen Protonen (*o*-H) und (*m*-H) des Phenols mit den Protonen des Cyclodextrins durch den Raum. Ihr Abstand sollte demnach kleiner als 5 Å sein. Es findet sich auch eine Wechselwirkung der Methylgruppe der Methacryloylgruppe (Me) mit den Methylgruppen der 2,6-methylierten β-Cyclodextrine (blauer Kreis), während die Doppelbindung (CHa/CHb) keinen sichtbaren Kreuzpeak mit Protonen des Cyclodextrins zeigt.

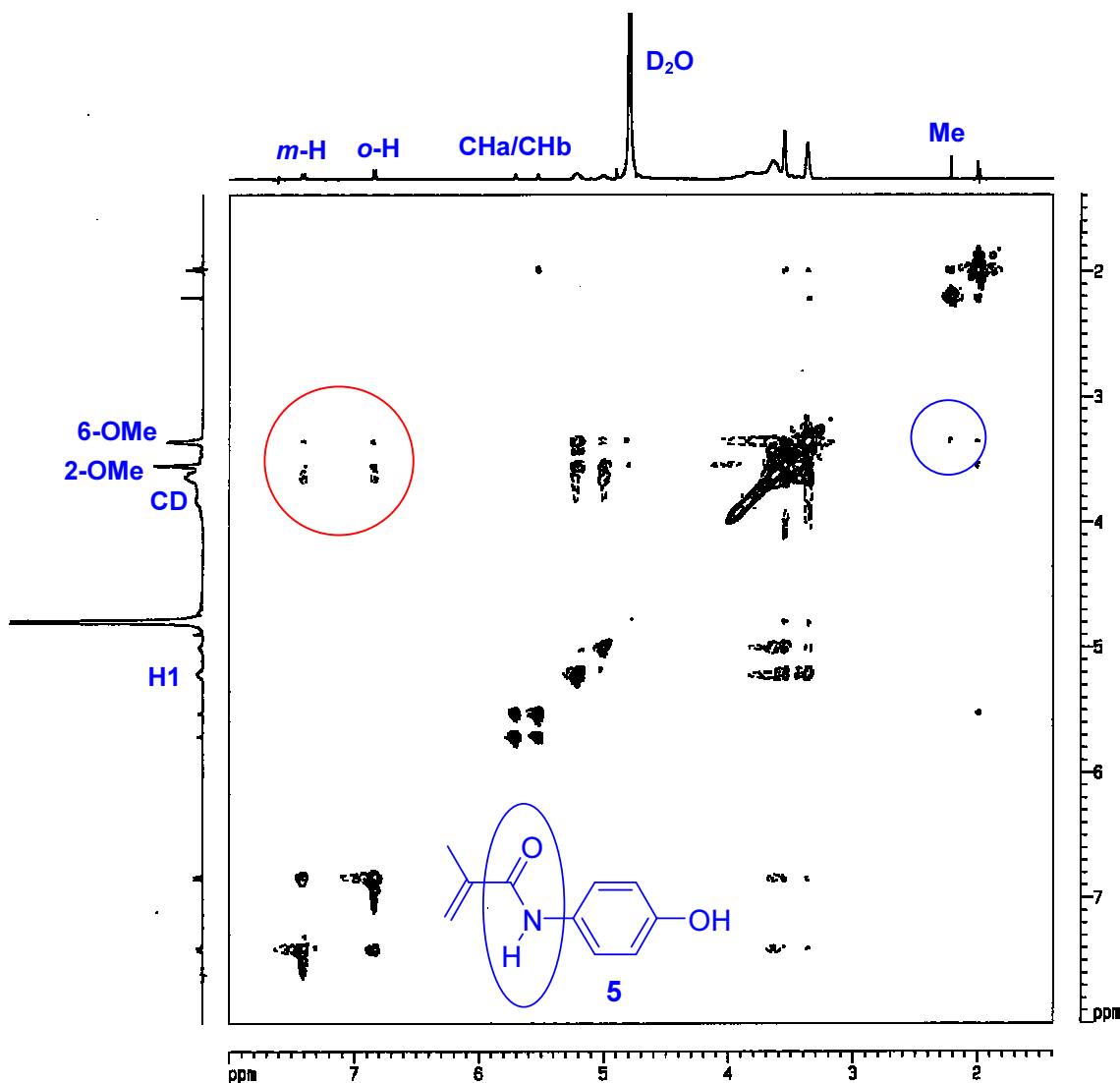


Abbildung 3.1.8: 400 MHz- $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum des Komplexes **5** in  $\text{D}_2\text{O}$

Zusätzlich konnte mit Hilfe von NOE-RABBIT-NMR gezeigt werden, daß die Methylgruppe (**Me**) im Komplex **5** eine schnelle Rotation aufweist, während die Rotation des aromatischen Ringes im Cyclodextrin deutlich eingeschränkt ist. Diese NMR-Technik wird normalerweise in umgekehrter Weise angewendet, um die Rotationskorrelationszeit ( $\tau_c$ ) von kleinen Molekülen durch deren Anlagerung z.B. an Porphyrine, Kronenether oder Cyclodextrine zu erhöhen, um so effektivere NOE's messen zu können<sup>[107]</sup>. Die Aussage, welche aromatischen Protonen nun mit welchen Cyclodextrinprotonen wechselwirken, konnte aber wegen der statistischen Methylierung der 2- und der 6-Position der Cyclodextrine und den daraus resultierenden breiten Signalen auch in diesem Fall nicht einwandfrei getroffen werden.

### 3.1.4 600 MHz $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -ROESY und 600 MHz $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY-NMR-Untersuchungen zur Struktur der 2,6-Dimethyl- $\beta$ -Cyclodextrin-komplexe von 4-Hydroxyphenylmaleinimid (1) und *N*-Methacryloyl-4-hydroxyanilid (2)

Die vorangegangenen Ergebnisse hatten untermauert, daß mit dem für die Polymerisation verwendeten technischen 2,6-methyliertem Cyclodextrin Einschlußkomplexe in wäßriger Lösung gebildet werden. Zur Klärung der genauen Position des Gastes im Cyclodextrintorus wurden Cyclodextrinkomplexe von 1 und 2 mit Heptakis-2,6-Dimethyl- $\beta$ -Cyclodextrin synthetisiert, und die räumlichen Wechselwirkungen mit dem 600 MHz-NMR untersucht. In **Abbildung 3.1.9** ist zunächst das komplette 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum des Komplexes 5 gezeigt.

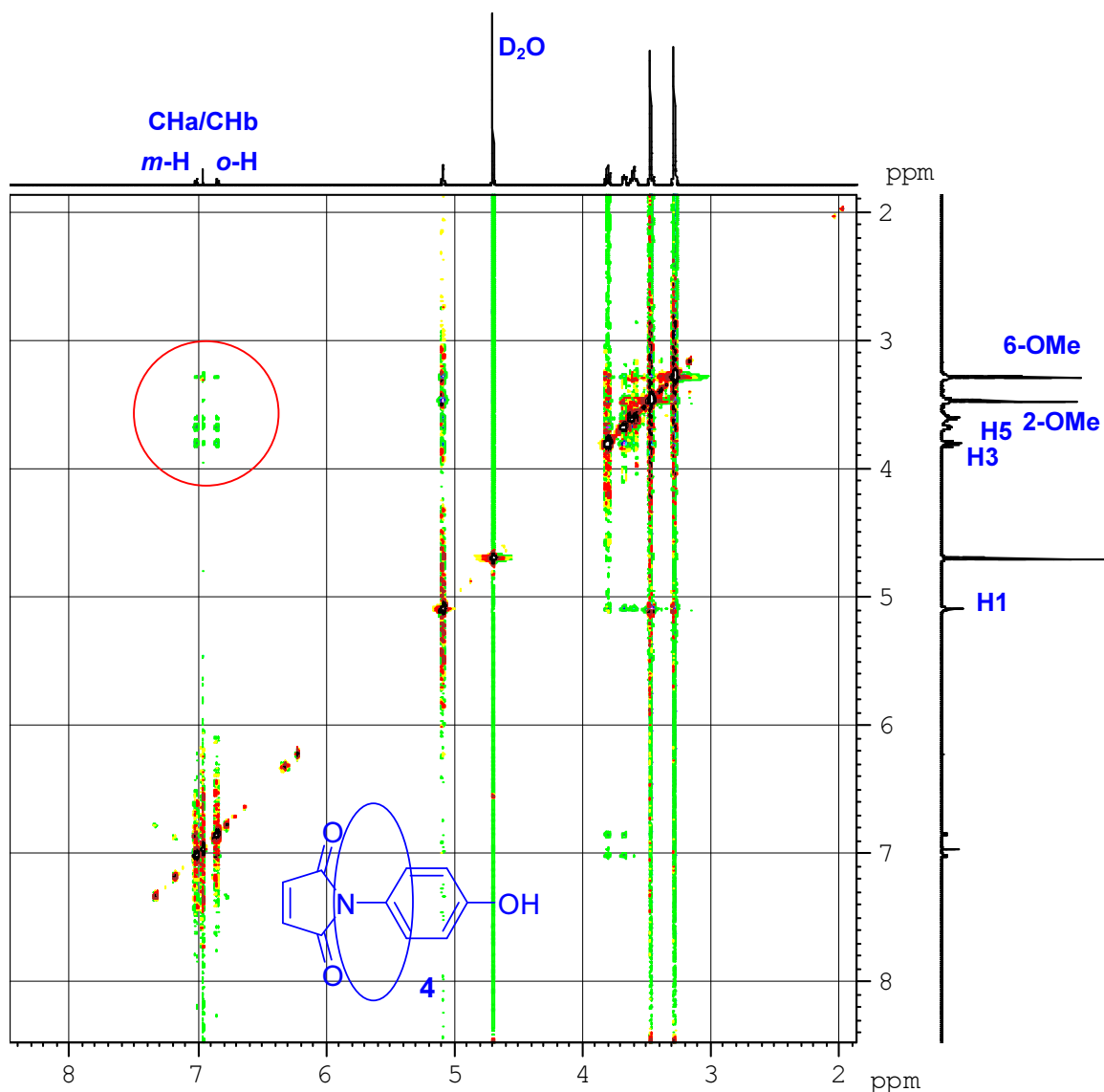
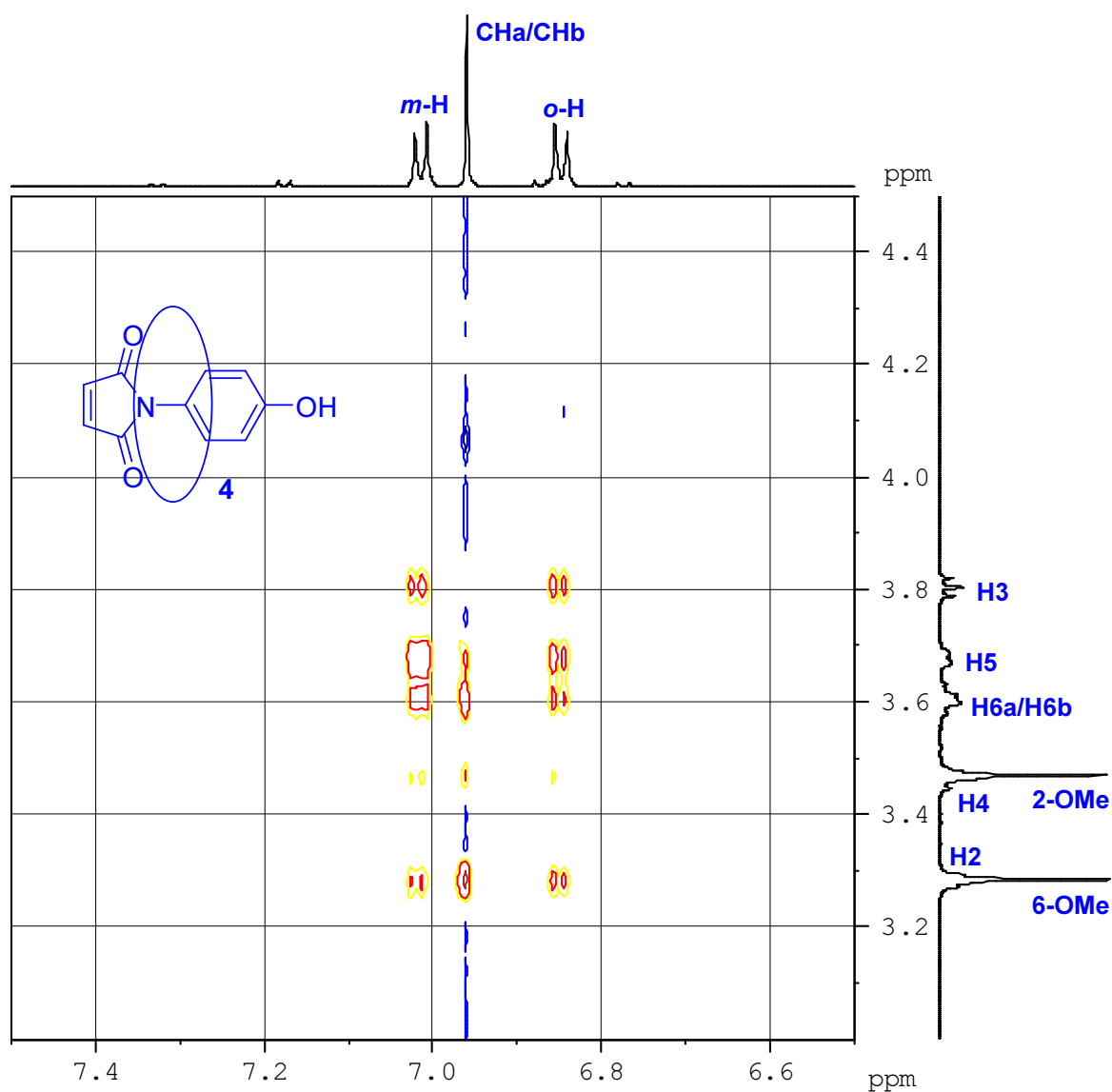


Abbildung 3.1.9: 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum des Komplexes 4 in D<sub>2</sub>O

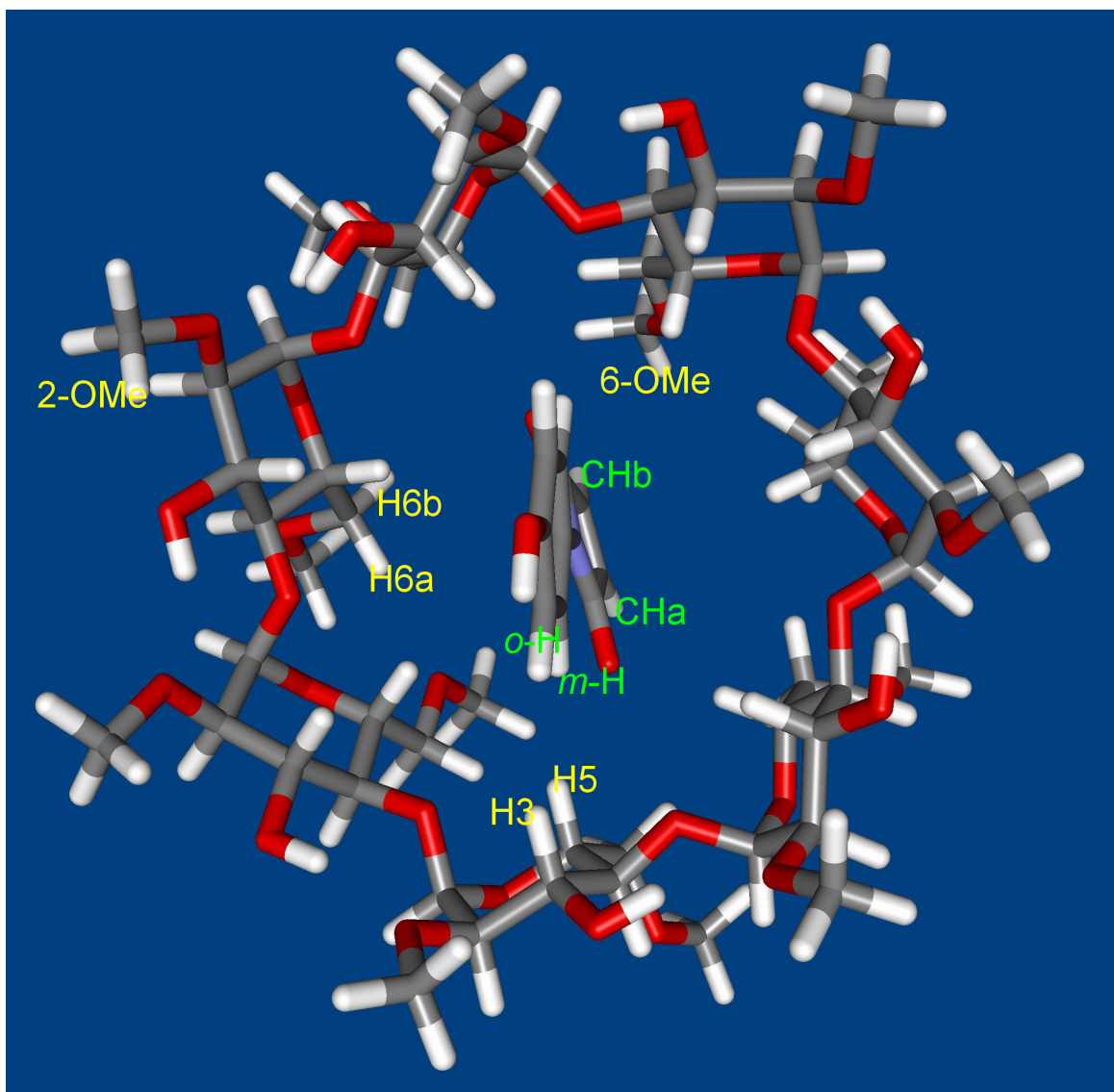
Anhand des negativen Vorzeichens der Kreuzpeaks (blau – grün) erkennt man zunächst, daß es sich tatsächlich um Wechselwirkungen durch den Raum handelt, während die Diagonalpeaks ein positives Vorzeichen besitzen (gelb bis rot). Der in **Abbildung 3.1.10** gezeigte vergrößerte Ausschnitt aus dem 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY-Spektrum des Komplexes **4** zeigt deutliche Kreuzpeaks (umgekehrte Phase) für die Wechselwirkung der aromatischen Protonen des Phenols (*o*-H/*m*-H) mit den inneren Protonen **H3** und **H5** des Cyclodextrins. Die olefinischen Protonen der Maleininimidgruppe sind räumlich den sich an den 6-Positionen im Cyclodextrin befindlichen Methoxygruppen (**6-OMe**) nahe. Diese Protonen befinden sich an der engeren Seite des Cyclodextrintorus.



**Abbildung 3.1.10:** 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY-Spektrum des Komplexes **4** in  $\text{D}_2\text{O}$

Dies spricht für die Bildung eines Komplexes, wie er in **Abbildung 3.1.11** Kraftfeld-optimiert (MM2) illustriert ist. Der Aromat befindet sich im weiten Teil des Torus, der Maleininimid-

Rest dagegen im engeren (vgl. **Abbildung 3.1.2**). Eine ähnliche Topologie ist für den Komplex zwischen Phenol und  $\beta$ -Cyclodextrin quantenmechanisch errechnet worden<sup>[108]</sup>.



**Abbildung 3.1.11:** Aus den NMR-Studien entwickelte, Kraftfeld-optimierte (MM2) Illustration der wahrscheinlichsten Topologie des Komplexes 4

Bei hoher Signalverstärkung erkennt man auch weitere Kreuzpeaks, die zu einer Komplexstruktur passen, in welcher sich **1** in umgekehrter Weise im Cyclodextrintorus befindet, also mit der Maleinimidgruppe in Richtung der breiteren Seite des Hohlraums. Dies ist an den Kreuzpeaks zwischen den Signalen der Maleinimidgruppe mit den **2-OMe** zu sehen und denen des Phenolrests mit den **6-OMe**; erwartungsgemäß werden die *meta*-Protonen (*m-H*) sehr viel deutlicher beeinflusst, als die *ortho*-Protonen (*o-H*).

Die Analyse des Komplexes **5** ergab ähnliche Ergebnisse. Wie man dem 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum (**Abbildung 3.1.12**) entnehmen kann, ist auch **2** im Inneren des Cyclodextrins eingeschlossen. Der Methacryloylrest zeigt bevorzugt zur engen Seite des Torus, wie aus den intensiven Kreuzpeaks speziell zwischen den dort befindlichen Methylgruppen (**6-OMe**) und der Methylgruppe von **2** (**Me**, blauer Kreis) hervorgeht. Sehr gut in das Bild der in (**Abbildung 3.1.14**) illustrierten Komplexstruktur paßt auch, daß zwar das zur Methylgruppe *cis*-ständige olefinische Proton (**CHa**) deutliche Kreuzpeaks mit den **6-OMe** zeigt (grüner Kreis), das *trans*-ständige **CHb**, das mehr in das Innere des Cyclodextrins weist, jedoch kaum. Die eindeutige Zuordnung der Signale zu **CHa** und **CHb** wird aus dem ROESY-Spektrum ersichtlich, da nur eines der beiden Olefin-Signale einen Kreuzpeak mit der Methylgruppe aufweist (gelber Kreis). Dieses muß damit zu dem *cis*-ständigen **CHa** gehören. Der Phenolrest von **2** befindet sich bevorzugt im Cyclodextrintorus (roter Kreis) und weist zur breiteren Seite des Torus. Dieser Ausschnitt ist in **Abbildung 3.1.13** auch für das NOESY-Spektrum gezeigt.

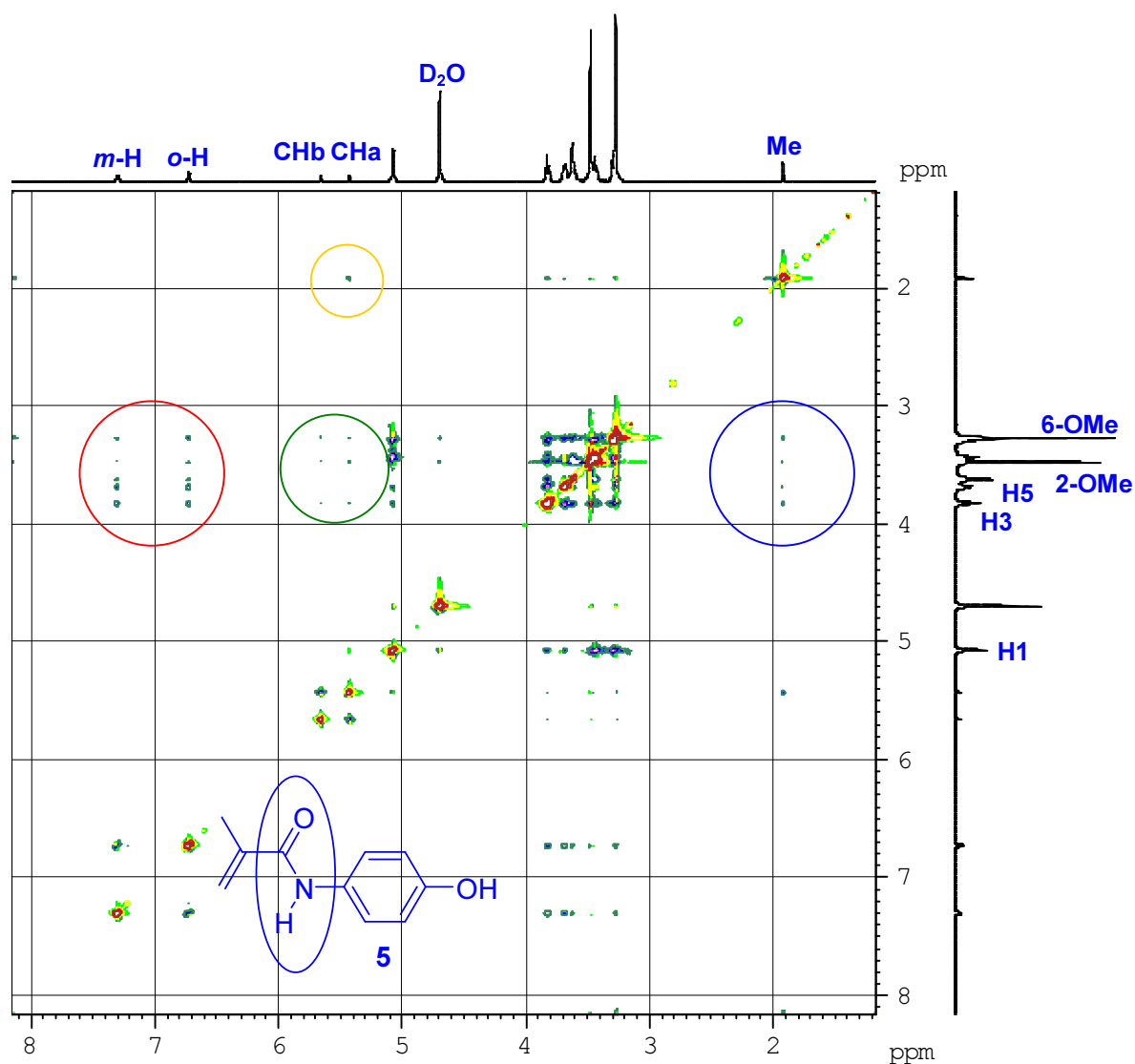


Abbildung 3.1.12: 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum des Komplexes 5 in  $\text{D}_2\text{O}$

Die räumliche Nähe zu den inneren Cyclodextrinprotonen spiegelt sich in den Kreuzpeaks zwischen beiden Aromaten-Dubletts mit den **H3**, den **H5**, und den **H6a** und den **H6b**-Protonen des 2,6-Dimethyl- $\beta$ -Cyclodextrins wieder. Insbesondere die ***o*-H** von **2** zeigen noch eine schwache Wechselwirkung mit den **2-OMe** am äußeren Rand des Torus.

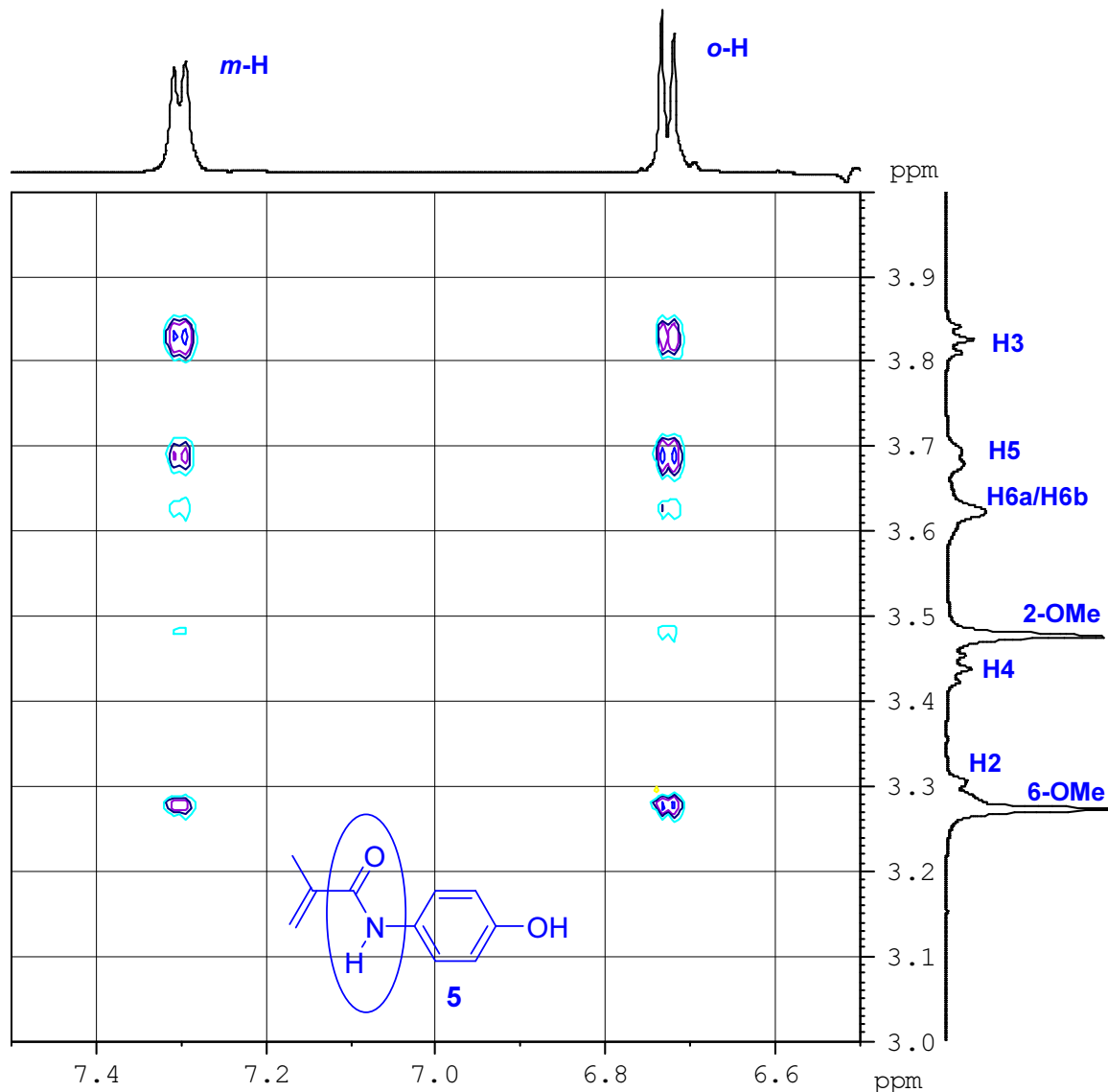


Abbildung 3.1.13: 600 MHz <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum des Komplexes 5 in D<sub>2</sub>O

Die äußeren Cyclodextrinprotonen **H1**, **H2** und **H4** zeigen erwartungsgemäß keine Wechselwirkung. Dies ist eine wichtige Erkenntnis, da frühere Vergleiche eindimensionaler <sup>1</sup>H-NMR-Spektren eine starke Verschiebung des **H1** aufgedeckt hatten. Diese Verschiebung rührt aber eindeutig nicht von einer räumlichen Beeinflussung des **H1** durch ein Gastmolekül her. Daneben enthüllt die Verstärkung und Vergrößerung des NOESY-Spektrums im Aromatenbereich auch in diesem Fall, daß neben der dominierenden Komplexstruktur, die in **Abbildung 3.1.14** illustriert ist, wahrscheinlich noch eine zweite Form existiert, in der **2** mit dem Phenolrest zur engeren Seite des Torus zeigt. Dies zeigen die Kreuzpeaks der Aromaten-Signale mit den **6-OMe** und der Kreuzpeak der Methylgruppe von **2** mit den **2-OMe**.



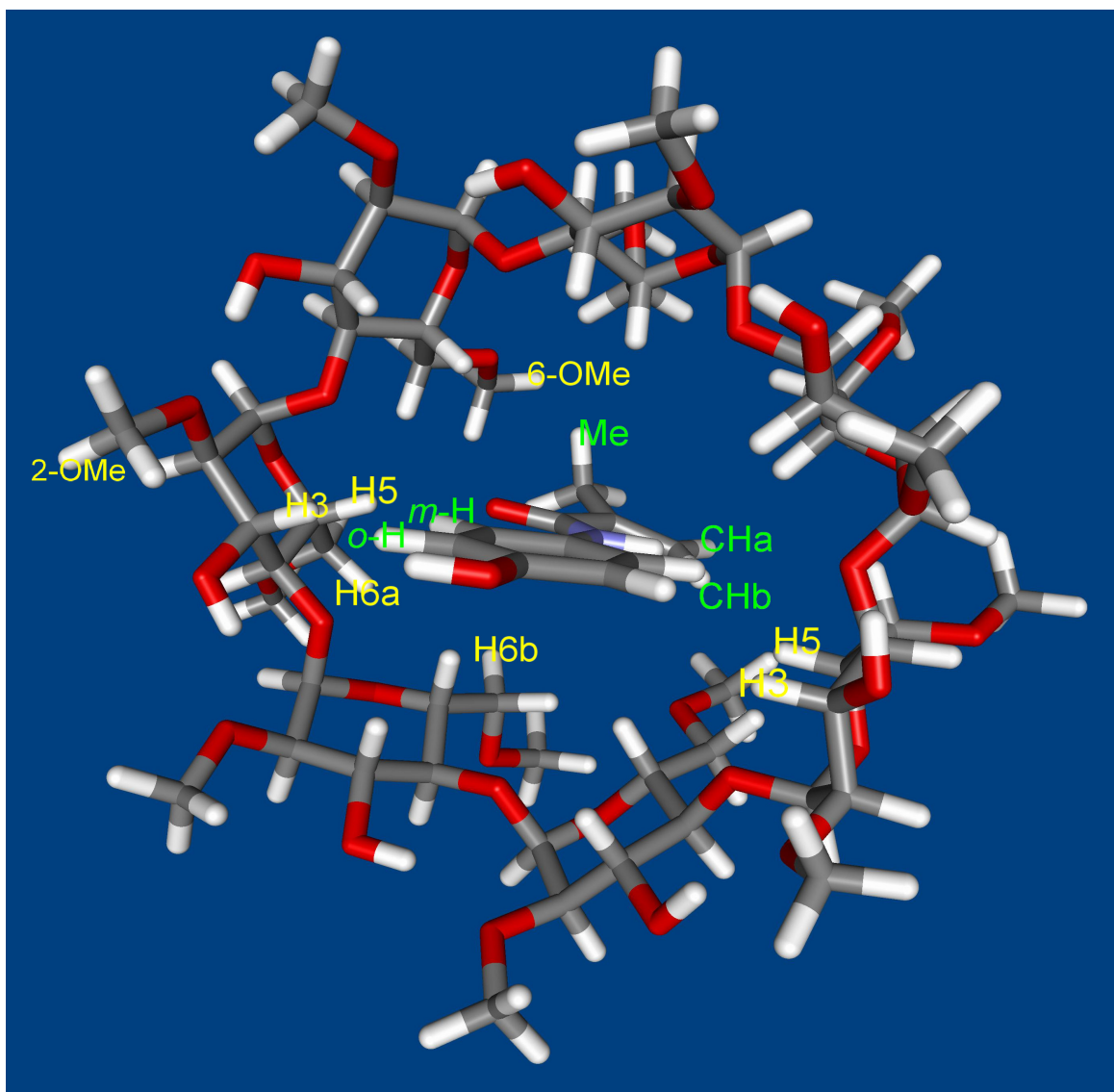
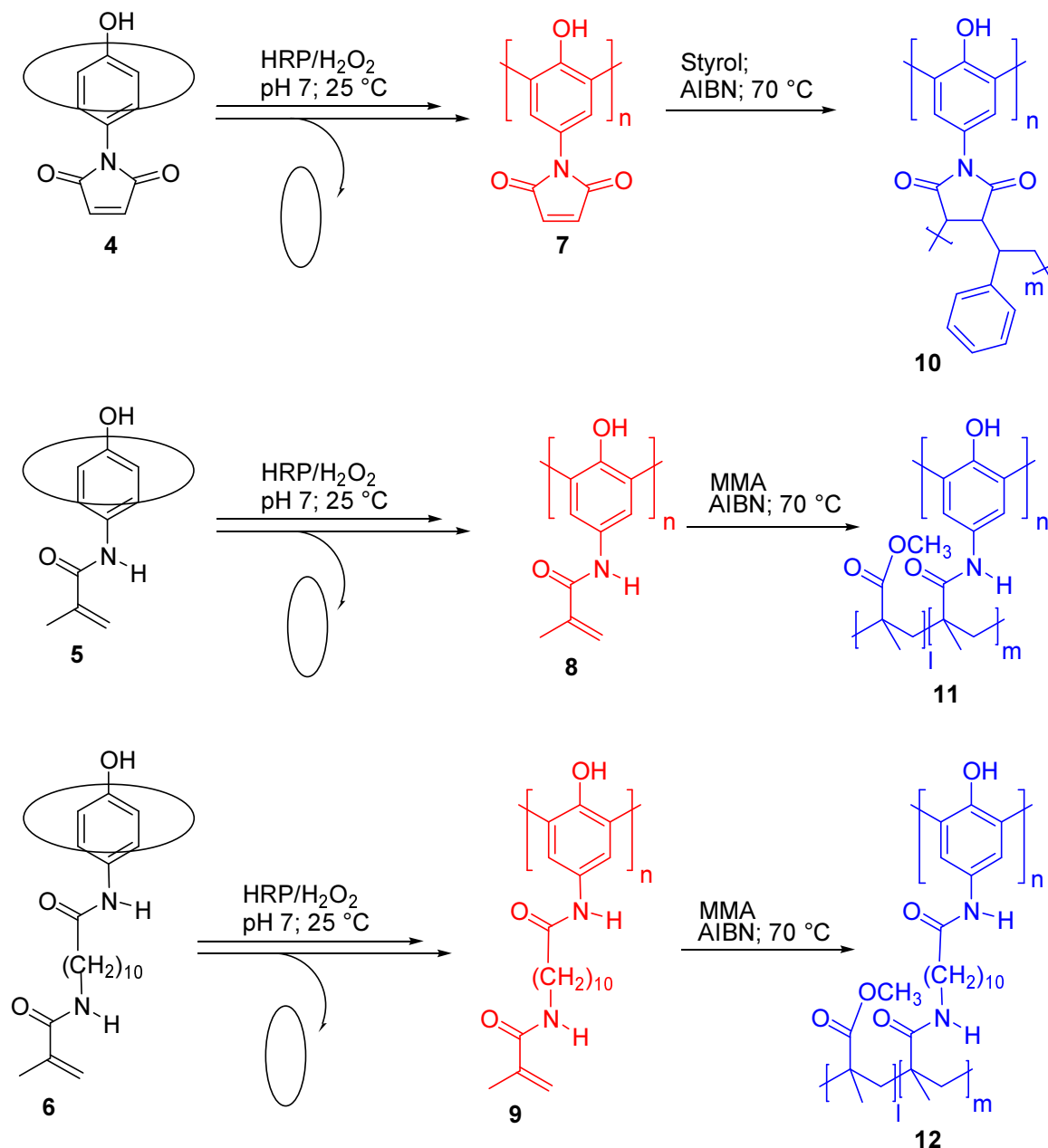


Abbildung 3.1.14: Aus den NMR-Studien entwickelte, Kraftfeld-optimierte (MM2) Illustration der wahrscheinlichsten Topologie des Komplexes 5

Eine andere mögliche Erklärung für das Auftreten von Kreuzpeaks zwischen ein und derselben funktionellen Gruppe der Gastmoleküle **1** (oder **2**) mit sowohl den **2-OMe** als auch den **6-OMe** wäre die Bildung von 2:1 Sandwich-Komplexen. Aufgrund der mit ESI-MS und der MALDI-TOF-MS erhaltenen Resultate muß diese Erklärung aber als weniger wahrscheinlich angesehen werden. Außerdem sind sowohl **1** als auch **2** ohne Cyclodextrinüberschuß quantitativ komplexierbar. Es gibt auch keinerlei Hinweise in Form doppelter Signalsätze auf eine Mischung aus 1:1 und 2:1 Komplexen oder freiem Monomer und freiem Cyclodextrin im  $^1\text{H-NMR}$ .

### 3.1.5 Der Einfluß der Cyclodextrinkonzentration auf die enzymatische Polymerisation

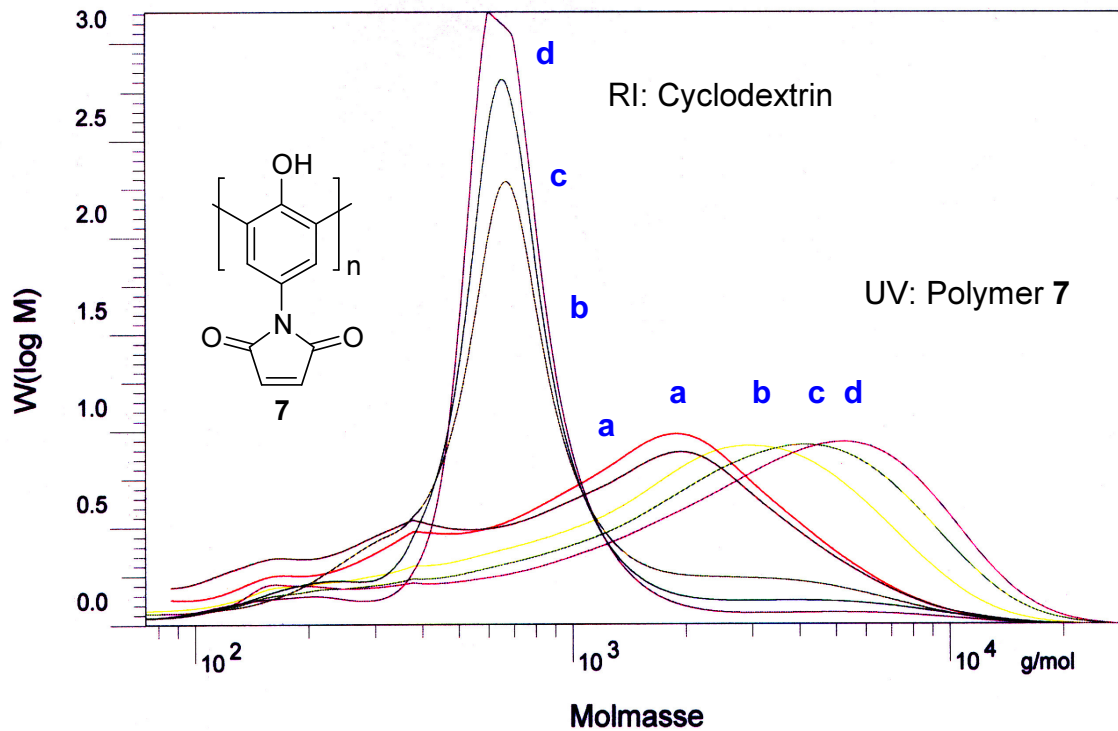
Es wurde gezeigt, daß die mit Cyclodextrin komplexierten Monomere in Wasser als Lösungsmittel enzymatisch katalysiert zu Polyphenolen kondensiert (**Abbildung 3.1.15, 7-8**), und die entstehenden funktionalisierten Polyphenole durch radikalische Copolymerisation mit Styrol bzw. MMA vernetzt werden können (**Abbildung 3.1.15, 10-12**)<sup>[98]</sup>.



**Abbildung 3.1.15:** Enzymatische Polymerisation der komplexierten Phenole und die radikalisch initiierte Vernetzung der resultierenden Polyphenole

Dabei zeigte sich, daß sich der Restgehalt an Cyclodextrin im ausgefallenen Polymeren durch Reinigungsprozesse auf unter 3% (w/w) reduzieren läßt. Die enzymatische Polymerisation der komplexierten Phenolderivate lieferte Molekulargewichte, die mit denen der Polyphenole, die durch konventionelle enzymatische Polymerisation in 1,4-Dioxan/Wasser erhalten wurden, vergleichbar waren

Aus sterischen Gründen sollte ein sich im Cyclodextrintorus befindliches Phenol nicht mit dem aktiven Zentrum des Enzyms HRP in Wechselwirkung treten können. Aus diesen Grund konnte man schließen, daß die Phenole den sie umgebenden Cyclodextrintorus im Verlauf des Polymerisationsprozesses verlassen müssen. Dafür spricht auch, daß sich das Cyclodextrin recht leicht aus dem Polymer extrahieren ließ. Trotzdem konnten die entstehenden Polyphenole durch das Cyclodextrin noch einige Zeit in Lösung gehalten werden, sei es durch eine detergierende Wirkung der methylierten Cyclodextrinmoleküle, oder durch die Bildung von Pseudo-Seitenkettenrotaxanen<sup>[109]</sup>. Anderweitig wäre die Entstehung höhermolekularer Polyphenole nicht möglich gewesen, da die schlecht wasserlöslichen Dimere und Trimere sofort aus der wäßrigen Pufferlösung ausfallen und der Polymerisationsprozeß damit zum Erliegen kommt, wie in **Abschnitt 2.9** dargelegt wurde<sup>[44]</sup>. Der Einfluß der Cyclodextrinkonzentration auf den Polymerisationsgrad der resultierenden Polyphenole war bereits an Proben von polymeren Isoflavonoiden, die durch Dialyse gereinigt worden waren, untersucht worden<sup>[109b]</sup>. In einem vergleichbaren Experiment wurde viermal die gleiche Menge an **1** unter identischen Bedingungen in Gegenwart unterschiedlicher molarer Überschüsse an Cyclodextrin einer enzymatischen Polymerisation in wäßrigem Phosphatpuffer unterworfen. Das Ergebnis der Untersuchung zeigt **Abbildung 3.1.16**. Die Polymerisation ohne Cyclodextrin (**a**) lieferte nur einen geringen Umsatz, da sie wegen der schlechten Wasserlöslichkeit von **4** nur heterogen ausgeführt werden konnte. Wie in **Abschnitt 2.9** beschrieben, sollte nach Berichten anderer Arbeitsgruppen dieser Versuch hauptsächlich zur Bildung von Dimeren und Trimeren führen. Tatsächlich wurde auch die Bildung von Oligomeren beobachtet, doch dominiert der Anteil an niedermolekularen Verbindungen, und auch das Maximum der GPC-Kurve ist im Vergleich zu allen anderen Kurven niedriger. Der Hauptanteil (>70%) des Ultraschall-dispergierten **4** wurde in Wasser als Lösungsmittel jedoch während 24 h nicht umgesetzt. Mit dem Zusatz von Cyclodextrin entstand hingegen eine homogene Lösung des Phenols in Wasser, so daß das Monomer tatsächlich nahezu 100%ig umgesetzt werden konnte.



**Abbildung 3.1.16:** Einfluß der Cyclodextrinkonzentration auf den Polymerisationsgrad von 7: a.) ohne Cyclodextrin, b.) äquimolare Menge Cyclodextrin, c.) 2,5facher Überschuß Cyclodextrin, d.) 5facher Überschuß Cyclodextrin

Während bei äquimolarem Zusatz von Cyclodextrin (**b**) das Ausfallen der entstehenden Polymere aus der Reaktionslösung den Polymerisationsgrad limitierte, verblieben bei den beiden Ansätzen mit Cyclodextrinüberschuß (2,5 Äquivalente (**c**), 5 Äquivalente (**d**)) die Polymere auch nach einer Nachreaktionszeit von 12 h in Lösung. **Abbildung 3.1.17** zeigt die Entwicklung des Molekulargewichts mit steigender Cyclodextrinkonzentration. Auf welchem Weg die Polymerisation in diesem Fall abgebrochen hatte, ist noch unklar. Auch bei der Polymerisation wasserlöslicher Phenolederivate werden nur relativ kleine Molmassen ( $< 10^4$  g/mol) erhalten<sup>[40-44, 60]</sup>.

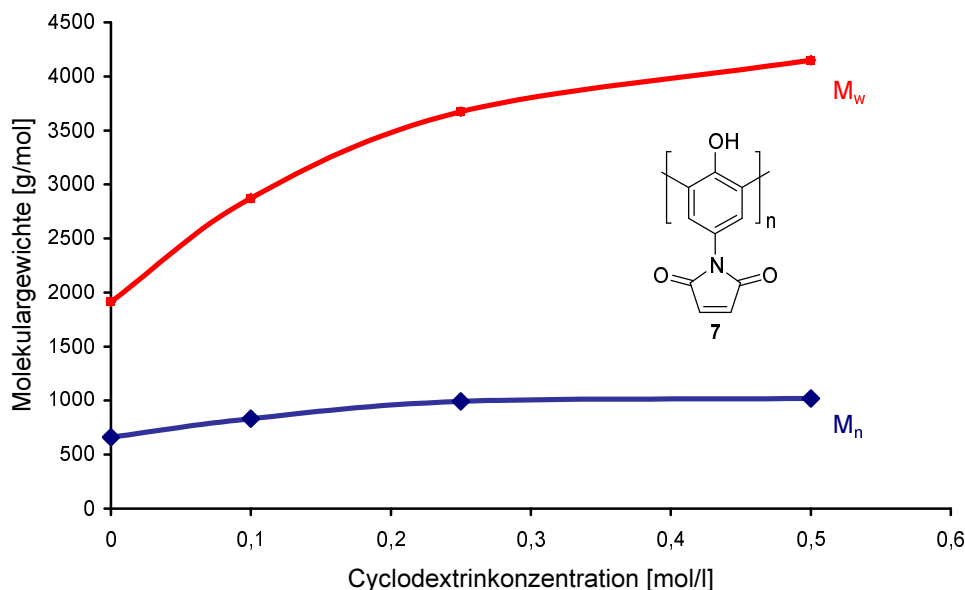


Abbildung 3.1.17: Einfluß der Cyclodextrinkonzentration auf den Polymerisationsgrad von 7

### 3.1.6 $^1\text{H-NMR}$ zur Untersuchungen der Struktur von Poly-(*N*-methacryloyl-4-hydroxyanilid) (8) und der Vergleich mit der bestehenden Literatur

FT-IR-Spektren der radikalisch vernetzbaren Polyphenole 7 und 8 wiesen gegenüber den entsprechenden Monomeren keine zusätzlichen Banden auf. Bei einer Bildung von Oxyphenyleneinheiten im Polymeren sollte man neue Schwingungen zwischen  $1169\text{ cm}^{-1}$  und  $1100\text{ cm}^{-1}$  für die gebildeten Arylether-Strukturen erwarten. Da dies nicht der Fall war, wurde postuliert, daß die Polyphenole 7 und 8 zum überwiegenden Anteil aus *ortho-ortho* verknüpften Phenyleneinheiten bestehen (Abbildung 3.1.15). Kobayashi *et al.* berichteten aber von der Bildung von Oxyphenyleneinheiten für das Poly[2-(4-hydroxyphenyl)ethylmethacrylat]<sup>[110]</sup>. Dessen Struktur gleicht der von Poly[*N*-methacryloyl-4-hydroxyanilid] (8). In ihrer Argumentation stützten sich Kobayashi *et al.* auf ein  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eines niedermolekularen Polyphenols aus 2-(4-Hydroxyphenyl)ethylmethacrylat. In Abbildung 3.1.18 ist dieses  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum im Vergleich zum Monomeren gezeigt. Das Verhältnis der Integrationen der mit D und mit A bezeichneten Peakflächen betrug 53:47. Im Falle einer ausschließlich über die aromatische Ringe erfolgten Rekombination sollten zwei aromatische Protonen pro Monomereinheit verbleiben. Nimmt man die beiden  $\beta$ -Protonen (f) (Abbildung

3.1.18) als Referenz, sollte ein Verhältnis der Integrationsflächen von **A:D** = 50:50 bei einer Verknüpfung über die Aromaten erwartet werden.

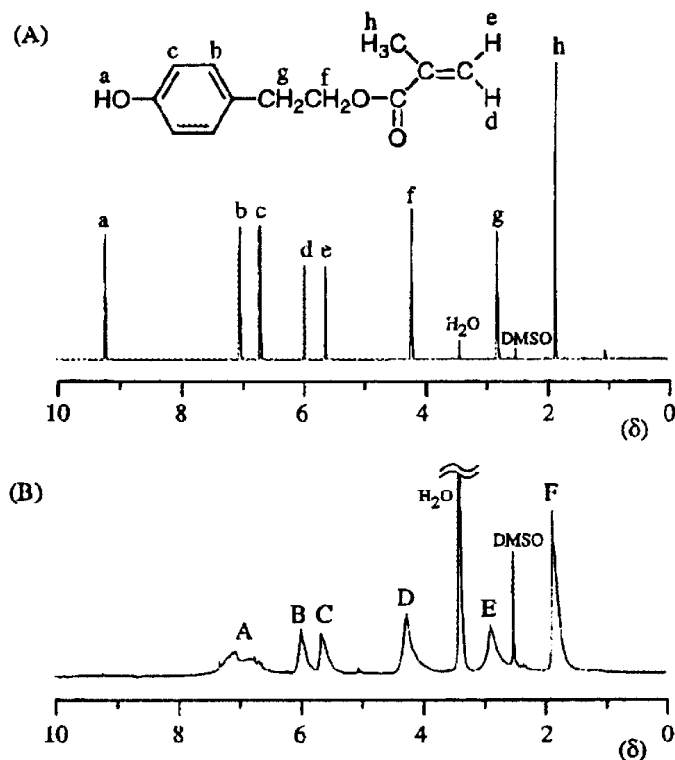


Abbildung 3.1.18: Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren von 2-(4-Hydroxyphenyl)ethylmethacrylat (A) und des entsprechenden Polymeren (B)<sup>[110]</sup>

Das tatsächlich gefundene Verhältnis von **A:D** = 53:47 veranlaßte die Autoren, nach Strukturen mit mehr als zwei aromatischen Protonen pro Monomereinheit zu suchen. Daraus resultierte die Schlußfolgerung, daß das Polymer aus einem Gemisch aus Phenylen-Phenylen und Phenylen-Oxyphenylen-Verknüpfungen bestehen sollte, und zwar in einem Verhältnis von 70:30 (Abbildung 3.1.19).

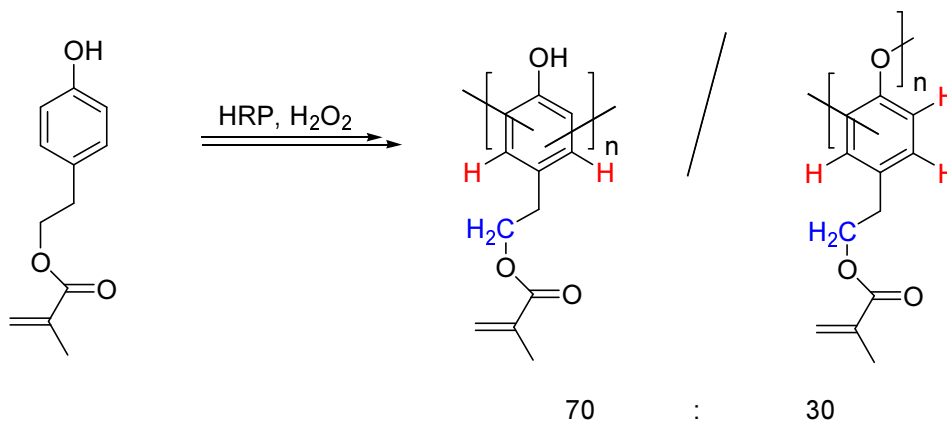
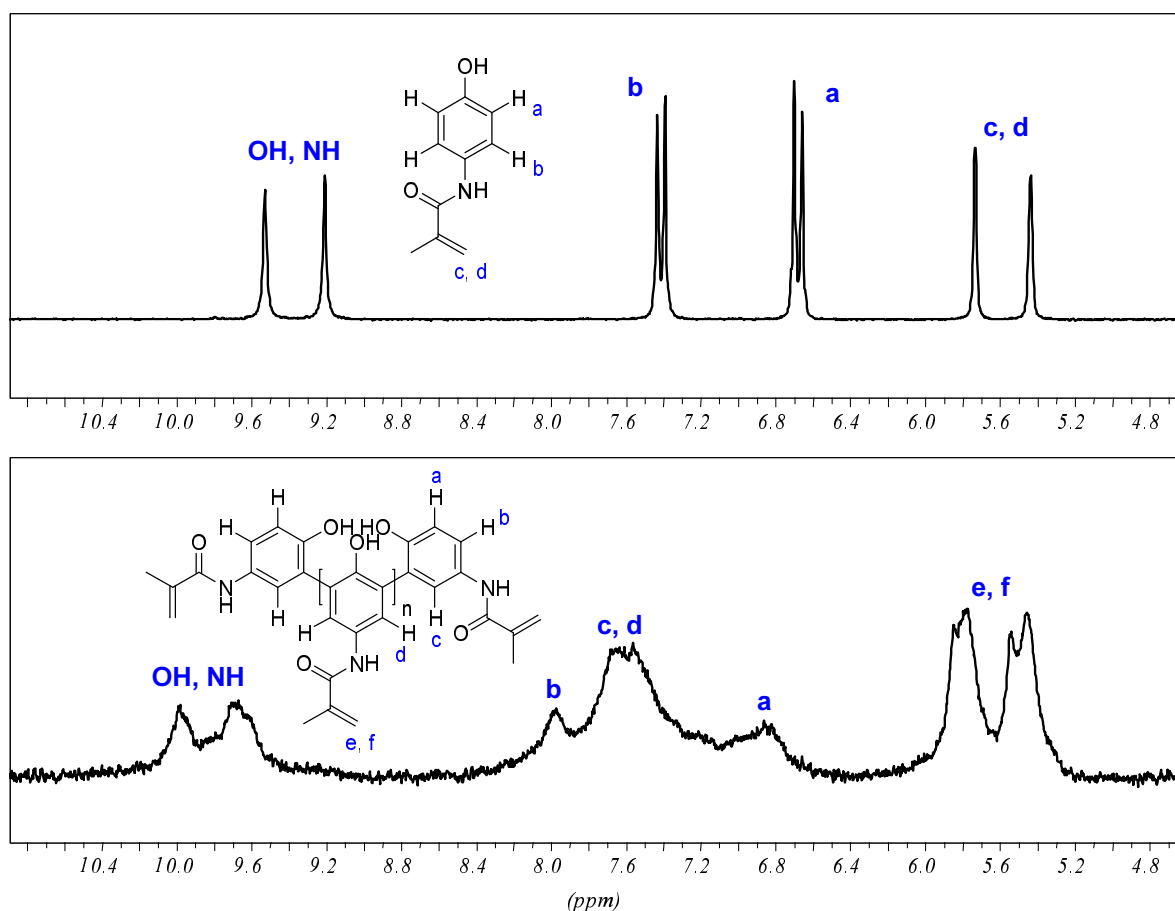


Abbildung 3.1.19: Das Reaktionsschema der HRP-katalysierte Polymerisation von 2-(4-Hydroxyphenyl)ethylmethacrylat nach Kobayashi *et al.*<sup>[110]</sup>

Das untersuchte Polyphenol besaß aber nur eine mittlere Molmasse von 1400 g/mol, was einem Polymerisationsgrad von 6.8 entspricht. Somit scheint die Interpretation der  $^1\text{H-NMR}$ -Ergebnisse unvollständig, da die *ortho*-Protonen vernachlässigt wurden, die als Endgruppen des Polyphenols bestehen bleiben. Es läßt sich ausrechnen, daß in einem Heptamer das Verhältnis der aromatischen Protonen – inklusive dieser *ortho*-Protonen - zu den zur Normierung benutzten  $\beta$ -Protonen (**f**) der Seitenkette exakt 53.3 zu 46.7 beträgt - in Übereinstimmung mit dem von Kobayashi *et al.* ermittelten Wert von 53:47. Das heißt, daß das Poly[2-(4-hydroxyphenyl)ethylmethacrylat] wahrscheinlich nur Phenylen-Verknüpfungen enthielt.

Für das Polyphenol **8** konnte ein  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erhalten werden, dessen Aromatenbereich gut aufgelöst ist, und das Indizien für eine *ortho*-Verknüpfung der Phenole zeigt. Dieses ist in **Abbildung 3.1.20** gezeigt. Der Vergleich mit dem Monomeren zeigt hier deutlich, daß innerhalb der breiten Peakstruktur für die aromatischen Protonen der Anteil der *ortho*-Protonen (**a**) im Vergleich zu denen in *meta*-Stellung (**b-d**) stark zurückgegangen ist.



**Abbildung 3.1.20:** 200 MHz  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Monomeren (**2**) (oben) im Vergleich zum Spektrum von Polyphenol **8** (unten), beide aufgenommen in  $\text{DMSO-d}_6$

Das Splitten des Signals für die *meta*-Protonen ist darauf zurückzuführen, daß die *meta*-Protonen (**b**) am Kettenende nach der Polymerisation eine andere magnetische Abschirmung aufweisen, als die *meta*-Protonen innerhalb der Kette (**c** mit **d**). Insgesamt lieferte die Integration des gesamten Aromatenbereiches einen Wert von 2,3 in Übereinstimmung mit dem gemessenen Molekulargewicht von **8** ( $M_n = 1200$ ,  $M_w = 1500$ ). Als Bezug diente das Signal der Methylgruppen bei 1,93 ppm (in der **Abbildung 3.1.20** nicht gezeigt), das auf 3 gesetzt wurde. Die Integration der beiden Signale um 10,0 ppm lieferte nicht ganz den erwarteten Wert von 2, da sich die Signale sowohl der Protonen der phenolischen Hydroxy-Gruppen als auch die der Amid-Gruppen aufgrund von intra- und intermolekularen Wasserstoffbrücken stark verbreitern. Die Protonen der phenolischen OH-Gruppen tauschen zudem mit den Protonen des im  $d_6$ -DMSO enthaltenen  $H_2O$  aus.

### 3.1.7 $^1H$ -MAS-Doppelquanten-Festkörper-NMR zur Strukturuntersuchung von Poly[4-hydroxyphenylmaleinimid] (**7**)

Am MPI für Polymerforschung wurde ein  $^1H$ -MAS-Doppelquanten-Festkörper-NMR von Polyphenol **7** aufgenommen. Die Festkörper-Probe wurde dabei mit Hilfe eines Rotors mit hoher Frequenz gedreht (10-30.000 Rotationen pro Sekunde). Auf der Diagonalachse des Spektrums (**Abbildung 3.1.21**) tauchen die Resonanzen von Protonen-Paaren mit gleicher magnetischer Entschirmung auf (rote Linie). Die sogenannten Kreuzpeaks, die in Relation zur Diagonalen stehen, geben die Kopplung von Protonen an, die unterschiedliche Resonanzfrequenzen aufweisen. Die Summenfrequenz ist auf der x-Achse aufgetragen. Mit Hilfe des  $^1H$ -DQ-Spektrums konnte somit zwischen räumlicher Nähe spektroskopischer Resonanzen von Protonen mit ähnlicher magnetischer Entschirmung und zwischen Resonanzen von Protonen mit unterschiedlicher Entschirmung unterschieden werden.

Aus dem Spektrum geht hervor, daß im Polyphenol **7** mehrere Arten von phenolischen OH-Gruppen existieren. Beide tauchen in der integralen Projektion des Spektrums bei 13 ppm auf. Die meisten OH-Gruppen befinden sich in sogenannten „pockets“ mit OH-Gruppen, die ebenfalls eine Resonanz bei 13 ppm zeigen (**a**). Nur einige OH-Gruppen besitzen einen Kontakt zu Protonen der aromatischen Kette bei 9 ppm (**b**), welche wiederum ihrerseits „pockets“ mit aromatischen Protonen zeigen, die bei 11 ppm eine Resonanz aufweisen (**c**).



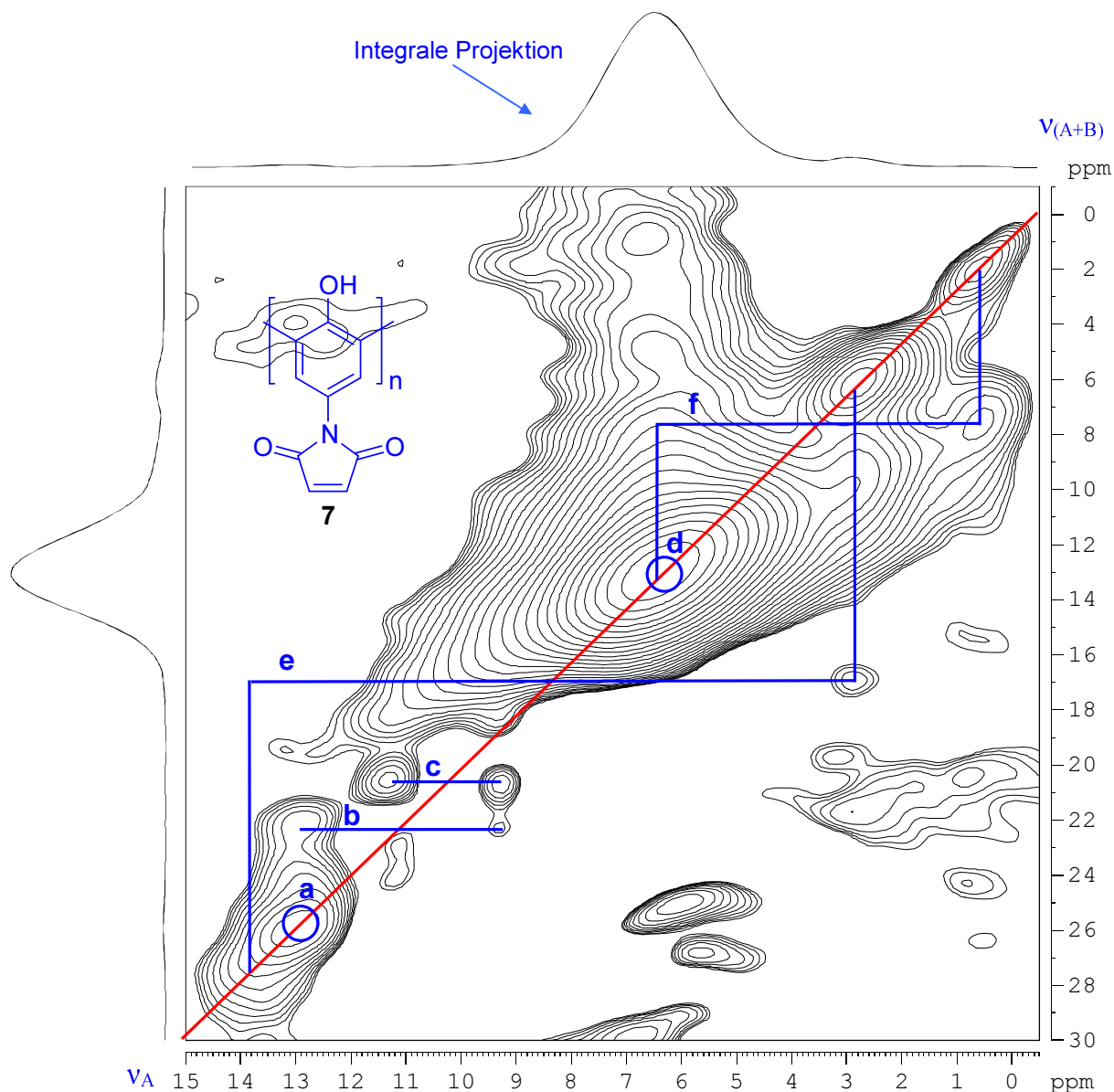


Abbildung 3.1.21:  $^1\text{H}$ -MAS-Doppelquanten-Festkörper-Spektrum von Polyphenol 7

Eine sehr wahrscheinliche Interpretation des Spektrums im Hinblick auf die Struktur des Polyphenols **7** ist in **Abbildung 3.1.22** illustriert. Für ein Polyphenol, dessen Aromaten mehrheitlich über die *ortho*-Positionen verknüpft sind, sollte man erwarten, daß die meisten OH-Protonen innerhalb der Kette nur mit OH-Gruppen in Kontakt treten, die ihnen selbst in der chemischen Umgebung ähnlich sind. Im Spektrum sind diese Kontakte als breiter Diagonalpeak sichtbar (**a**). Die OH-Gruppen, die sich an den endständigen Phenolen befinden, haben dagegen eine andere chemische Umgebung. Sie stehen in räumlichen Kontakt mit aromatischen Protonen, mutmaßlich den *ortho*-Protonen am Kettenende (**b**) und diese wiederum mit den *meta*-Protonen bei höherem Feld (**c**). Da sich aufgrund von Packungseffekten im Festkörper die Resonanzen in der integralen Projektion des Spektrums

im Vergleich zu denen im Lösungs-NMR stark ändern können, ist eine eindeutige Zuordnung dieses Kontaktes allerdings nicht möglich. Die übrigen markierten Kreuzpeaks zeigen die Wechselwirkungen der aromatischen Protonen innerhalb der Kette (**d**), sowie eingebautes Lösungsmittel (Wasser oder THF) in der Nähe der OH-Gruppen (**e**) und der aromatischen Kette (**f**) an. Auffällig ist, daß in der integralen Projektion die Zahl der OH-Protonen gegenüber der Anzahl an aromatischen Protonen deutlich geringer ausfällt als erwartet. Die OH-Protonen weisen demzufolge auch im Festkörper ein hohes Maß an Mobilität auf.

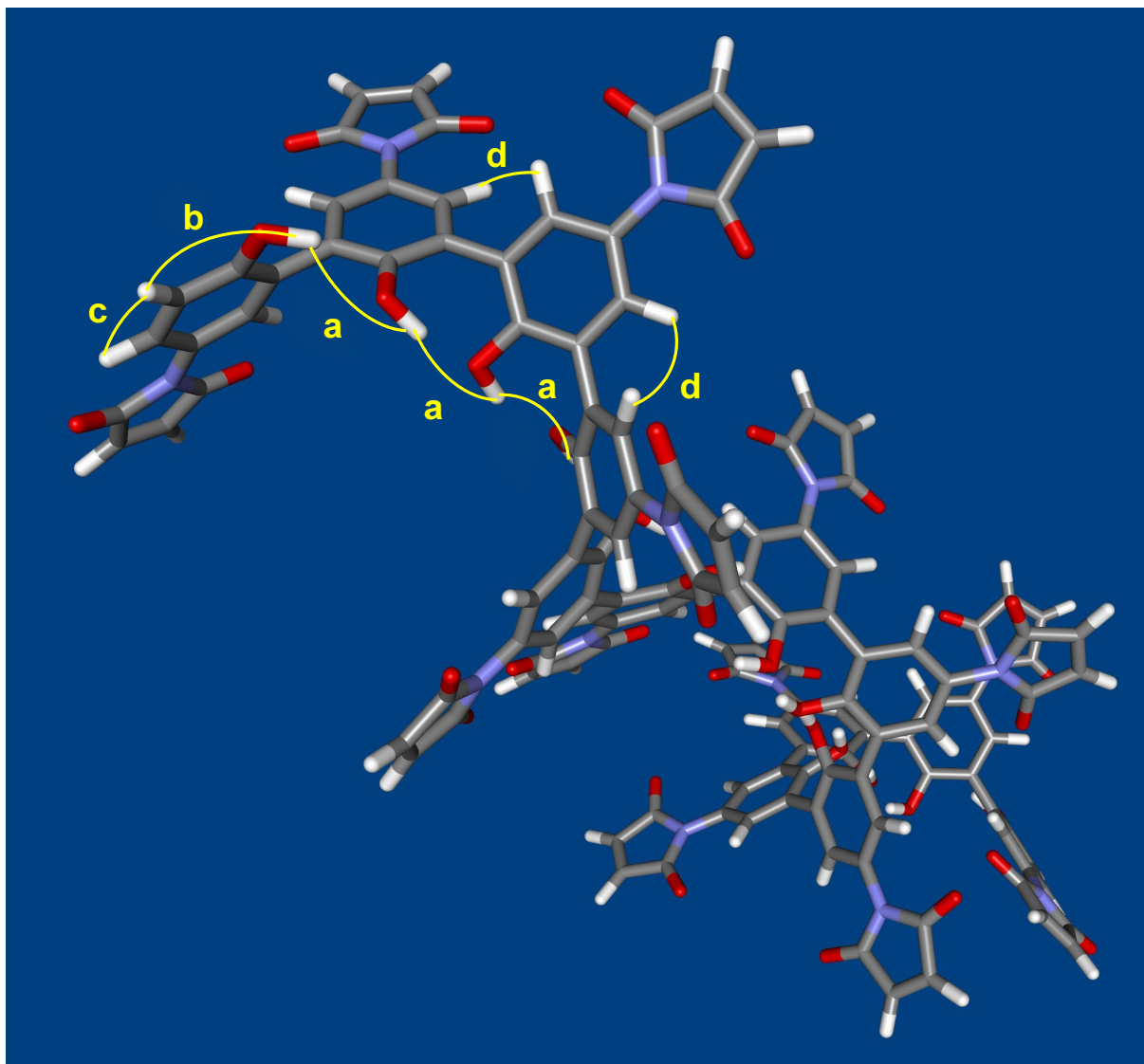


Abbildung 3.1.22: Strukturvorschlag für das Polyphenol 7

Die weitgehende Einheitlichkeit der Wechselwirkung zwischen den OH-Protonen und zwischen den aromatischen Protonen innerhalb der Polyaromatenkette (Diagonalpeaks **a** und **d**) überrascht nicht, wenn man die Aussagen des DQ-MAS-Spektrums mit computer-gestützten energieminierten Strukturvorschlägen vergleicht. Wie auch bereits in der

**Abbildung 3.1.22** angedeutet wurde, führt eine einheitlich über die *ortho*-Positionen erfolgende Verknüpfung aufgrund der 60°-Bindungswinkel theoretisch zur Bildung einer helikalen Struktur mit ca. 6 Aromaten pro Windung. Im Inneren einer solchen Helix kommen sich OH-Protonen von sehr ähnlicher chemischer Umgebung nahe, und führen zum Diagonalpeak (**a**). Ihre Ausbildung intramolekularen H-Brücken erklärt auch die hohe Mobilität dieser Protonen. Die Enden der Helix werden durch die Kreuzpeaks (**b** und **c**) repräsentiert. Die Wechselwirkungen der *meta*-Protonen innerhalb der Kette kommt mit dem Diagonalpeak **d** zum Ausdruck. Diese Interpretation korreliert auch ausgezeichnet mit den Aussagen, die für das 200 MHz <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Polyphenol **8** in Lösung (**Abbildung 3.1.20**) in **Abschnitt 3.1.6** getroffen wurden.

## 3.2 Photovernetzbare Polyphenole

### 3.2.1 Motivation

Neben der Synthese radikalisch vernetzbarer Polyphenole (**Abschnitt 3.1**) wurde auch der Aufbau photovernetzbarer Polyphenole realisiert<sup>[111, 112]</sup>. Photovernetzbare Biopolymere, wie z.B. funktionalisierte Peptide, sind ein aktuelles Arbeitsgebiet anderer Arbeitsgruppen<sup>[113]</sup>. Die bei den radikalisch vernetzbaren Polyphenolen gewonnenen Ergebnisse ließen erwarten, daß der Einbau von z.B. Zimtsäurefunktionen in die Seitenkette eines Polyphenols kein Problem darstellen sollte, da auch der Einbau von z.B. Methacryloylgruppen in die Seitenkette von Polyphenolen geglückt war. Die resultierenden Polyphenole sollten dann durch photochemisch initiierte [2+2]-Cycloadditionen vernetzt werden können. Bei der Syntheseplanung konnte auf Ergebnisse, die bei der enzymatischen Polymerisation von Aminochalkonen bereits von Ritter und Goretzki erhalten worden waren, zurückgegriffen werden<sup>[114]</sup>. Bei dem Monomeren **13** hatte der Rekombinationsprozeß der entstehenden Radikale sowohl am Aromaten, als auch an der Doppelbindung des Aminochalkons stattgefunden. Eine Konjugation der photovernetzbaren Doppelbindung und der Phenolfunktion schien daher nicht ratsam, weshalb z.B. 4-Hydroxymethylzimmtsäureester als Monomere ausschieden.

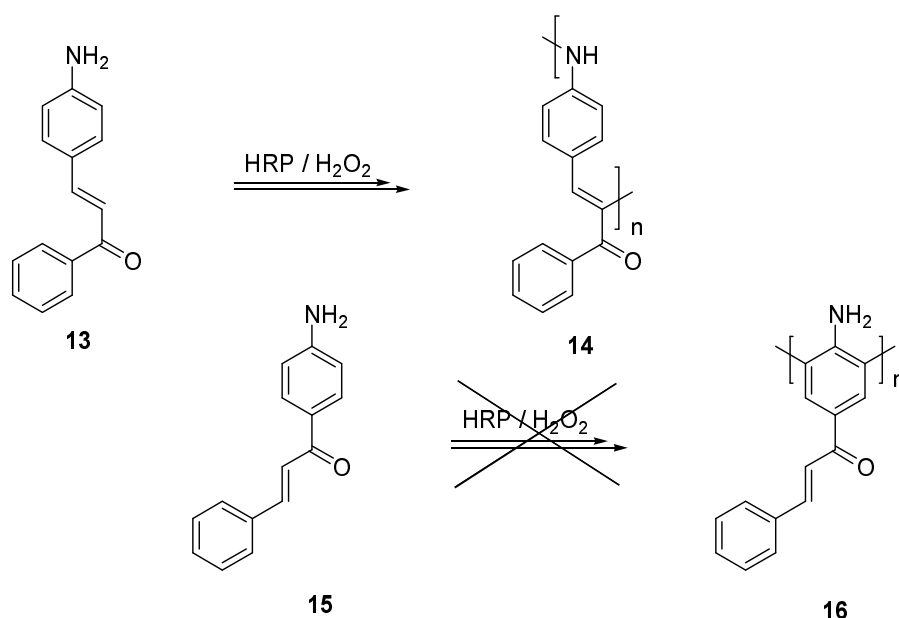


Abbildung 3.2.1: Versuche zur enzymatischen Polymerisation von Aminochalkonen nach Ritter *et al.*

Die Aminochalkone vom Typ **15** hingegen, deren Doppelbindung nicht in Konjugation mit der Zimtsäuregruppe stand, waren aus bislang noch unbekannter Ursache nicht enzymatisch

polymerisierbar. Die einfachste mögliche Erklärung wäre, daß der Phenolrest zu elektronenarm ist, bzw. das HOMO zu tief liegt, um mit der oxidierten HRP-Spezies Compound I in Wechselwirkung zu treten. Im Rahmen dieser Promotionsarbeit wurden daher zwei elektronenreiche Phenole synthetisiert, die eine mit dem Aromaten nicht konjugierte Zimtsäurefunktion trugen.

### 3.2.2 Synthese der photovernetzbaren Polyphenole

Die Synthese der Monomere erfolgte durch Reaktion von Zimtsäurechlorid mit Hydrochinon zum Zimtsäure-4-hydrochinonester (**17**) bzw. durch Kondensation von Zimtsäurechlorid mit 4-Aminophenol zum Zimtsäure-4-hydroxyanilid (**18**) (**Abbildung 3.2.2**). Die enzymatische Polymerisation führten dann zu den Polyphenolen **19** und **20**.

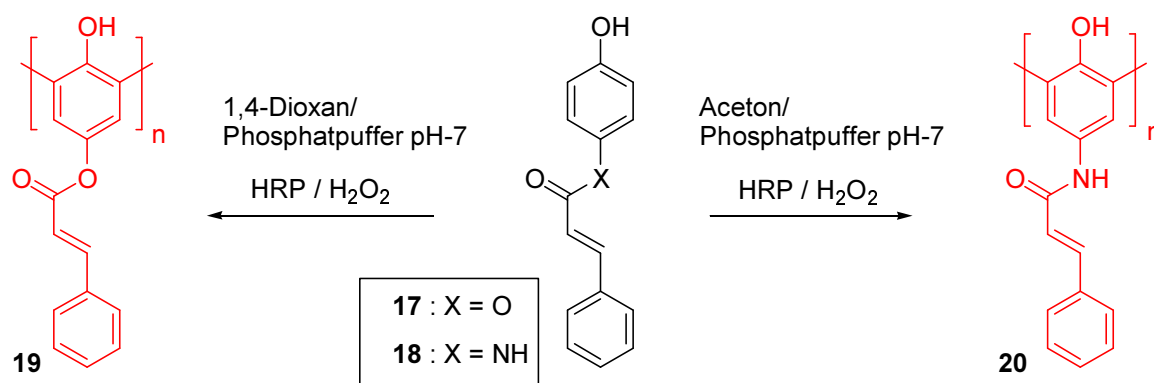


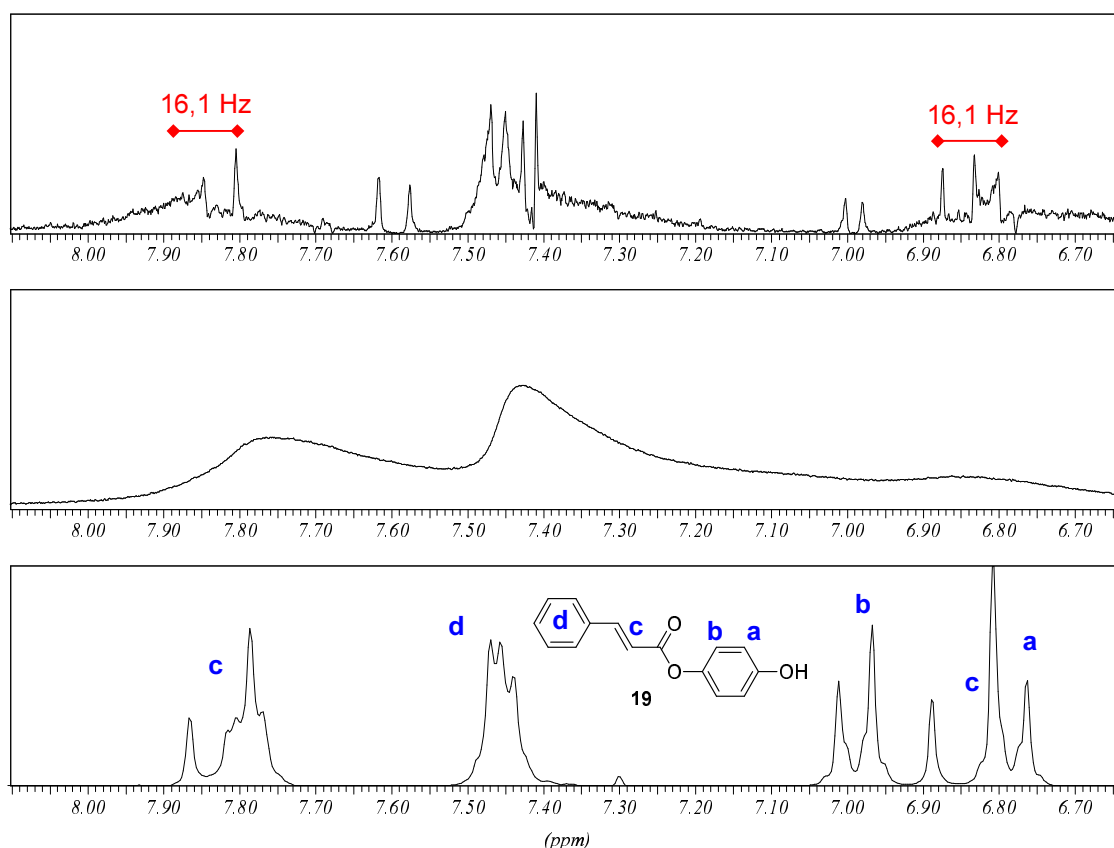
Abbildung 3.2.2: Enzymatische Polymerisation der Zimtsäurederivate

### 3.2.3 $^{13}\text{C}$ NMR-, FT-IR- und $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie zur Strukturuntersuchung der Polyphenole **19** und **20**

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Polyphenole **19** bzw. **20** zeigten, daß die Verknüpfung der Phenole über die *ortho*-Positionen erfolgt war. Für das Polyphenol **19** waren zum Beispiel alle Kohlenstoffe, die den Zimtsäureresten zugeordnet werden konnten, als scharfe Peaks bei 165,8; 146,5; 133,7; 130,8; 128,9; 128,5 und 117,1 ppm sichtbar. Mit zunehmender räumlicher Nähe zur rigiden polyaromatischen Kette wurden die Kohlenstoffsignale breiter. Die Signale der *meta*-Protonen der Phenole tauchten in Form einer breiten Resonanz um 122,9 ppm auf, während die Signale der *ortho*-Protonen um 115,1 ppm fehlten. Die Polymerisation hatte demzufolge hauptsächlich über die *ortho*-Positionen stattgefunden.

Mit der FT-IR-Spektroskopie wurde die Existenz von Oxyphenyleneinheiten ausgeschlossen. Diese hätten zwischen  $1160$  und  $1100\text{ cm}^{-1}$  deutlich sichtbar sein müssen. Während sich die OH-Absorption in Polyphenol **19** gegenüber dem entsprechenden Monomer **17** nur leicht von  $1207$  zu  $1201\text{ cm}^{-1}$  änderte, wurde sie im Polyphenol **20** gegenüber **18** wahrscheinlich durch intra- und/oder intermolekulare Wasserstoffbrücken von  $1232$  zu  $1214\text{ cm}^{-1}$  verschoben. Bei beiden Polyphenolen war die OH-Absorption stark verbreitert, ebenso die Signale um  $3430\text{ cm}^{-1}$ .

Die Charakterisierung der Polyphenole mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie war aufgrund der breiten Resonanzen erschwert (**Abbildung 3.2.3, mitte**). Die Charakterisierung der olefinischen Protonen gelang jedoch mit Spin-Echo  $^1\text{H}$ -NMR (**Abbildung 3.2.3, oben**). Die Kopplungskonstanten für die Doppelbindungsprotonen betragen  $16,1\text{ Hz}$  für **19** (Ester) und  $15,7\text{ Hz}$  für **20** (Amide) und bestätigten damit die Gegenwart von *trans*-Zimtsäure-Seitenketten.

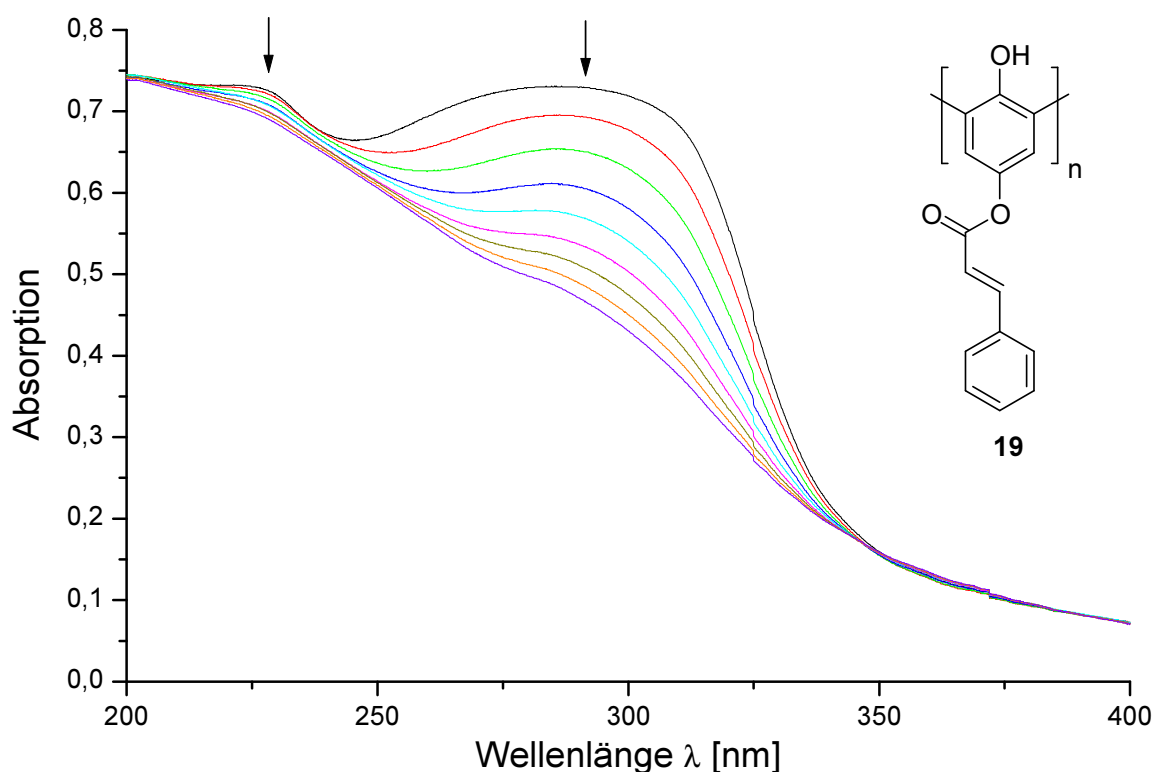


**Abbildung 3.2.3:**  $^1\text{H}$  Spin-Echo-NMR von Polyphenol **19** (oben) im Vergleich zum  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Polymeren **19** (mitte) und des Monomeren **17** (unten)

Ergänzende massenspektrometrische Aufnahmen (MALDI-TOF-MS) im niedermolekularen Bereich bestätigten mit Differenzen von  $m/z$  238,06 für **19** und  $m/z$  237,07 für **20** die Gegenwart der intakten Zimtsäureseitenketten und die Verknüpfung der Phenole durch Abstraktion von jeweils zwei Protonen.

### 3.2.4 Photochemische Vernetzung von Filmen der Polyphenole **19** und **20** durch UV-Bestrahlung

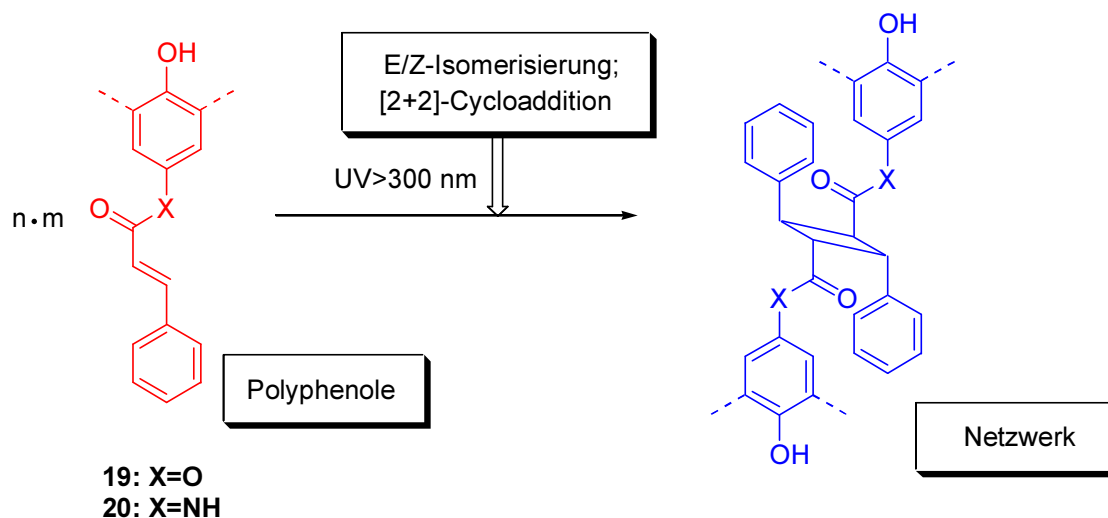
Von Tripathy *et al.* wurden Untersuchungen zur Bestrahlung eines dünnen transparenten Films aus Poly[Azophenol], dessen Polymerisationsgrad etwa 15 betrug, veröffentlicht [115]. Der Polymerisationsgrad der neuen Polyphenole **19** und **20** war von ähnlicher Größenordnung und für die Bildung von transparenten Filmen mit befriedigenden mechanischen Eigenschaften ausreichend. In **Abbildung 3.2.4** ist die zeitliche Veränderung der UV-Spektren des Polyphenolfilms **19** in Intervallen von 30 min gezeigt. Die Absorption der Zimtsäuregruppe um 290 nm nahm mit der Zeit immer stärker ab.



**Abbildung 3.2.4:** Die zeitliche Veränderung der UV-Spektren von Polyphenol **19** während der Bestrahlung

Wie man **Abbildung 3.2.4** entnehmen kann, handelt es sich bei der photochemischen Vernetzung nicht um eine einheitliche photochemische Reaktion. Dies war auch nicht zu

erwarten, da durch die Anhebung eines Elektrons vom bindenden HOMO in das antibindende LUMO die Aktivierungsenergie für die E/Z-Isomerisierung erniedrigt wird<sup>[116]</sup>. Das heißt, die photochemische Vernetzung der Polyphenole wird durch [2+2]-Cycloadditionen der Zimtsäurereste ausgelöst und parallel zu dieser Reaktion finden E/Z-Isomerisierungen der Zimtsäurereste statt (**Abbildung 3.2.1**)<sup>[117]</sup>.



**Abbildung 3.2.5: Vernetzung der Polyphenole 19 und 20 durch UV-Bestrahlung**

Als Beweis zeigt auch der Absorptions-Differenzplot (**Abbildung 3.2.6**) zwei Steigungen als Indiz dafür, daß mehr als eine Photoreaktion abläuft<sup>[118]</sup>. Im oberen Bereich scheint die Steigung der zweiten Gerade weiter abzunehmen, was ein Indiz für eine weitere Nebenreaktion sein könnte. Als mögliche Erklärung käme eine Photo-Fries-Nebenreaktion in Betracht<sup>[117, 119]</sup>. Unterstützt wird diese Annahme dadurch, daß der Absorptions-Differenz-Plot der Photoreaktion der Polyphenole **20**, in denen die Esterfunktionen durch Anilide ausgetauscht worden waren, kein Abknicken der zweiten Gerade zeigt.



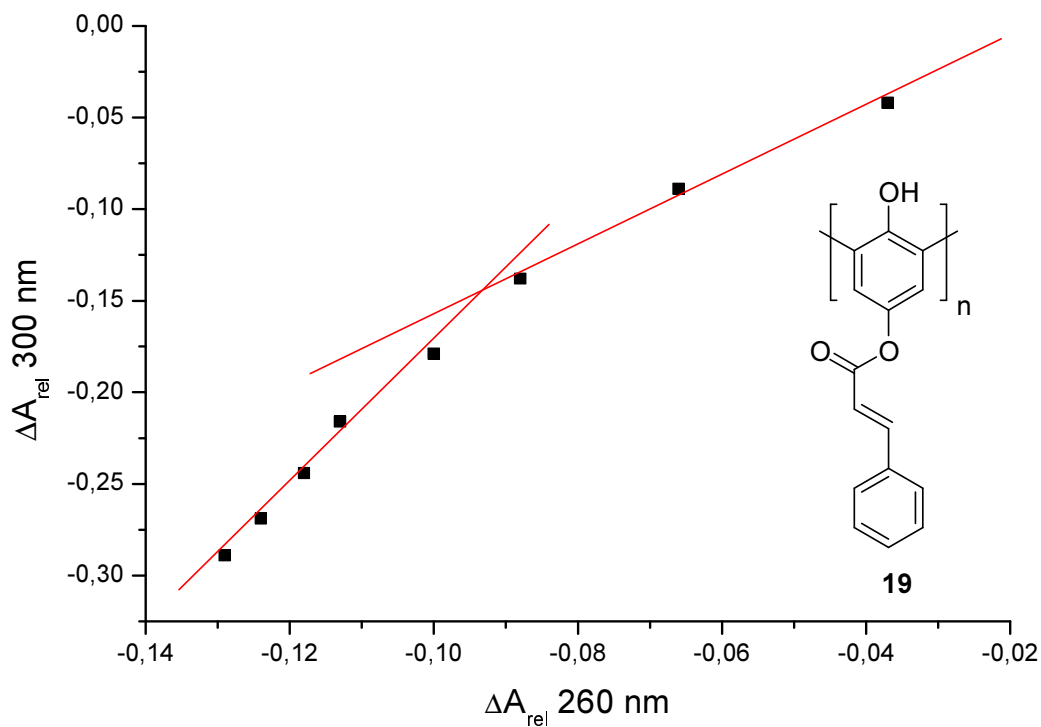


Abbildung 3.2.6: Absorptions-Differenz-Plot der Bestrahlung von Polyphenol 19

Die Polyphenole des Typs **20** zeigten während der Bestrahlung mit UV > 300 nm einen ähnlichen Bandenabbau im UV-Spektrum (Abbildung 3.2.7).

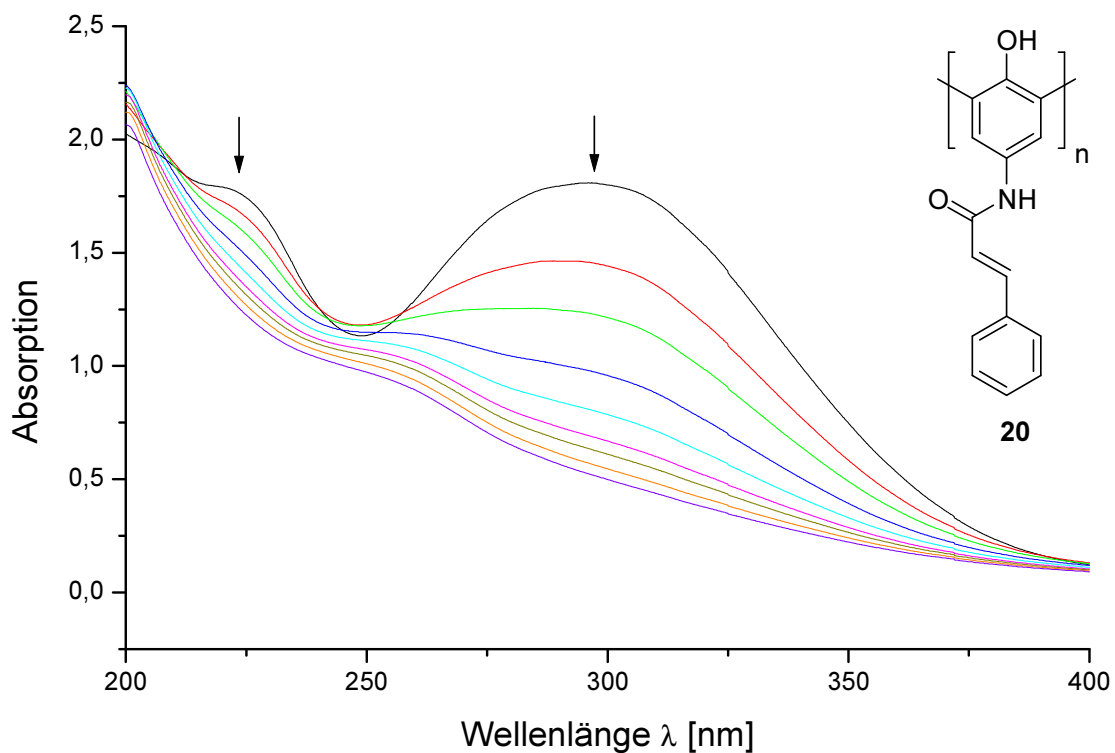
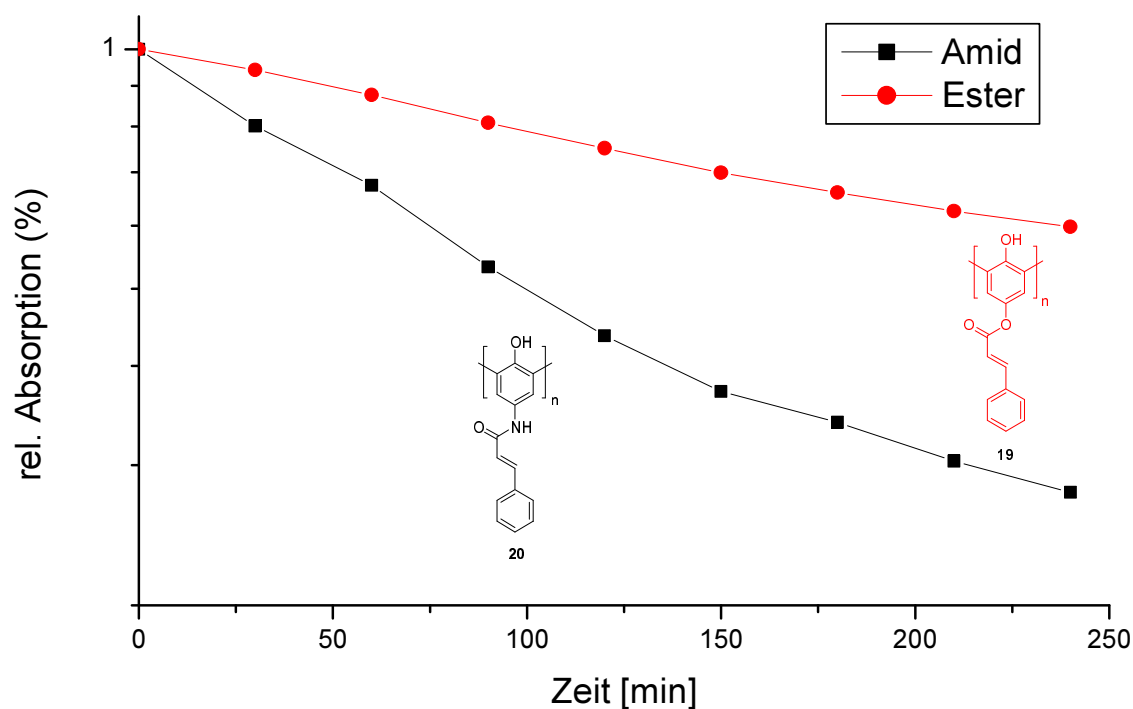


Abbildung 3.2.7: Die zeitliche Veränderung der UV-Spektren von Polyphenol 20 während der Bestrahlung

Bei vergleichbaren Meßintervallen (30 min) erfolgte hier der Bandenabbau jedoch deutlich schneller und die Absorptionsbande bei 300 nm wurde im vergleichbarem Zeitraum auch deutlich stärker degradiert (**Abbildung 3.2.8**). Der Absorptions-Differenz-Plot dieser Photoreaktion zeigt wie bereits erwähnt zwei klar erkennbare Steigungen (**Abbildung 3.2.9**). Dies bestätigt, daß neben der E/Z-Isomerisierung der Zimtsäureamid-Seitenketten ausschließlich deren Vernetzung über [2+2]-Cycloadditionen abläuft. Ein Abknicken der zweiten Gerade läßt sich nicht erkennen, was die These untermauert, daß das leichte Abknicken der zweiten Gerade im Fall des Polyphenols **19** mit Zimtsäureester-Seitenketten auf eine Photo-Fries-Verschiebung zurückzuführen ist. Das Auftreten der Photo-Fries-Verschiebung bei Polymeren wurde auch bereits an anderer Stelle von Ritter *et al.* postuliert<sup>[117]</sup>.



**Abbildung 3.2.8:** Vergleich der relativen Absorptionen von **19** und **20** zu verschiedenen Bestrahlungszeiten

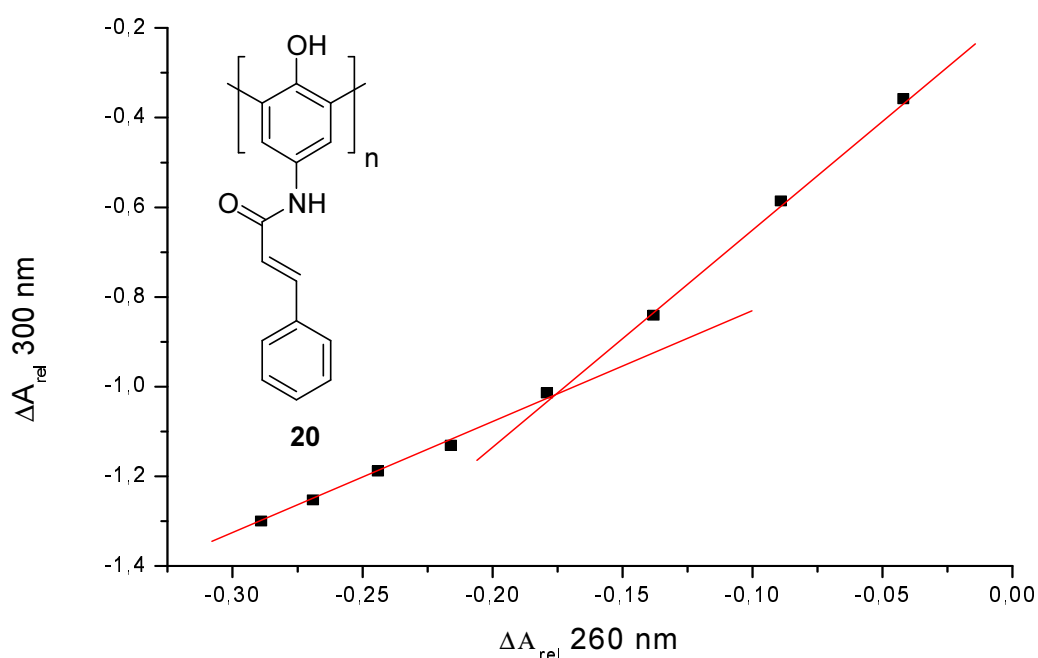


Abbildung 3.2.9: Absorptions-Differenz-Plot der Bestrahlung von Polyphenol 20

### 3.2.5 Charakterisierung der Vernetzungsreaktionen von 19 und 20 mit FT-IR-Spektroskopie

Die Bestrahlung sowohl der Polyphenole vom Typ **19**, als auch der vom Typ **20** führte erwartungsgemäß zu Materialien, die in organischen Lösungsmitteln wie DMF, NMP und DMSO nicht mehr löslich waren. Diese Beobachtung war ein starkes Indiz dafür, daß beide Polyphenole erfolgreich durch UV-Bestrahlung vernetzt worden waren.

In **Abbildung 3.2.10** sind die Unterschiede zwischen den FT-IR-Spektren von Polyphenol **19** vor und nach der Bestrahlung dokumentiert. Nach der Bestrahlung zeigt das Spektrum deutlich verbreiterte Banden. Dies ist ein erster Hinweis auf eine weitere konformative Einschränkung der funktionellen Gruppen durch die Vernetzung der starren Polymergerüste. Die der olefinischen Doppelbindung zugeordnete Absorptionsbande bei  $980 \text{ cm}^{-1}$  wurde während der Photoreaktion fast vollständig abgebaut. Das Maximum des Signals der Estergruppe wurde von  $1730 \text{ cm}^{-1}$ , charakteristisch für einen in Konjugation mit einer Doppelbindung stehenden Ester, auf  $1735 \text{ cm}^{-1}$  verschoben. Die Aromatenabsorptionsbande bei  $1497 \text{ cm}^{-1}$  blieb dagegen unverändert. Ein geänderter *fingerprint*-Bereich zwischen  $765\text{--}700 \text{ cm}^{-1}$  weist auf eine Veränderung des aromatischen Substitutionsmusters hin, was

wiederum ein Hinweis auf die postulierte Photo-Fries-Verschiebung sein könnte. Auch beim Polyphenol **20** fällt beim Vergleich der FT-IR-Spektren vor und nach der Bestrahlung die starke Bandenverbreiterung auf. Auch in diesem Fall wurde die Absorptionsbande bei  $977\text{ cm}^{-1}$  fast vollständig abgebaut. Die Carbonyl-Absorption der Amidgruppe wurde durch den Wegfall der konjugierten Doppelbindung aber kaum beeinflusst. Der Vergleich mit FT-IR-Spektren anderer Amidgruppen-haltiger Polyphenole zeigte jedoch, daß deren Carbonyl-Absorption ebenfalls stets bei  $1662\text{ cm}^{-1}$  zu finden war, unabhängig davon, ob Konjugation zu einer Doppelbindung bestand oder nicht.

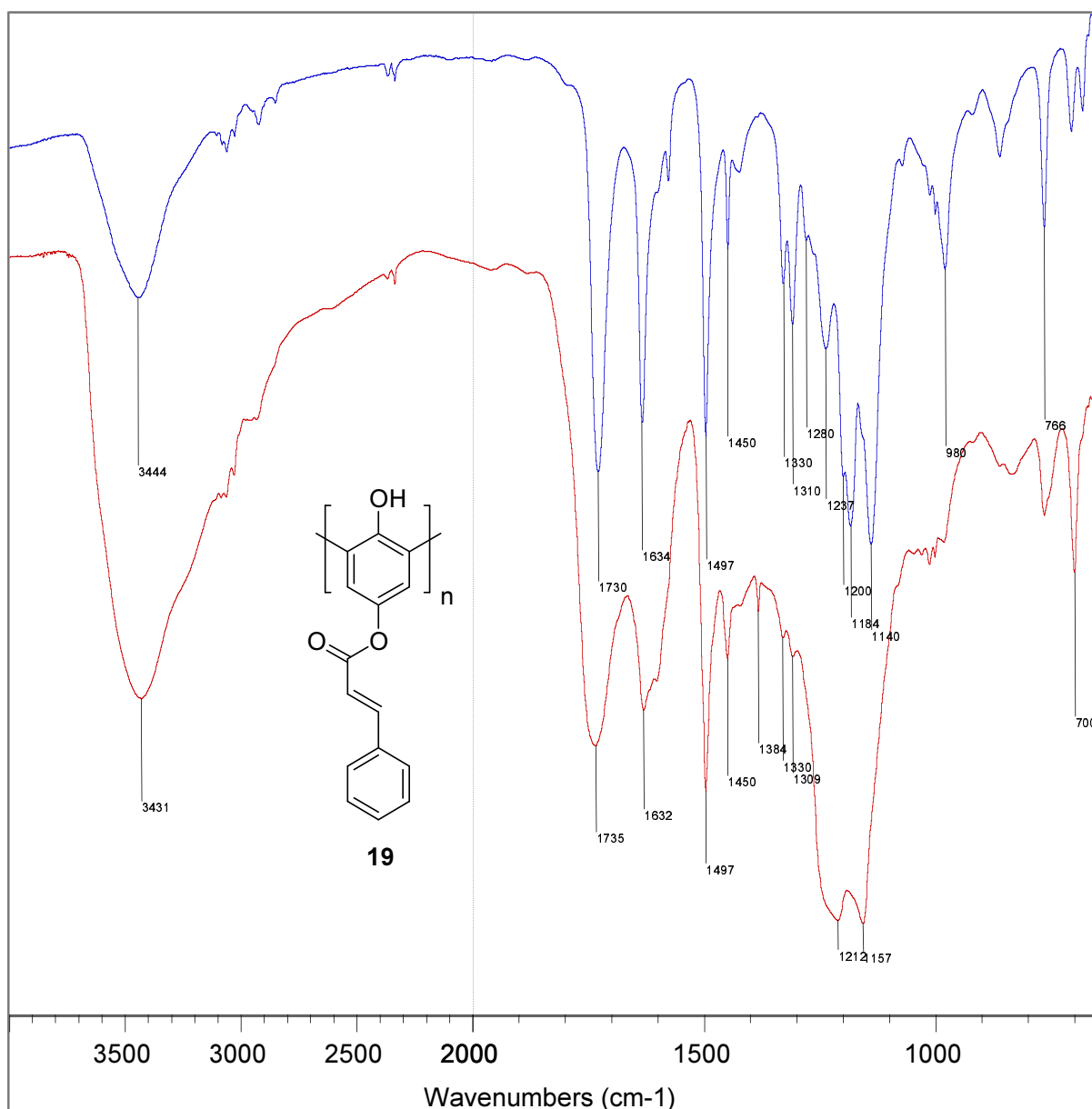


Abbildung 3.2.10: FT-IR-Spektren von Polyphenol **19** vor (oben) und nach (unten) der Bestrahlung

Eine weitere den olefinischen Protonen zugeordnete Absorptionsbande lag bei  $1626\text{ cm}^{-1}$ . Diese wurde durch den Bestrahlungsvorgang abgebaut und verbreitert. Im *fingerprint*-Bereich

kam es ebenfalls zu leichten Veränderungen im Aromatenbereich, diese fielen jedoch bei weitem nicht so stark aus, wie es bei der Bestrahlung von Polyphenol **19** zu beobachten war.

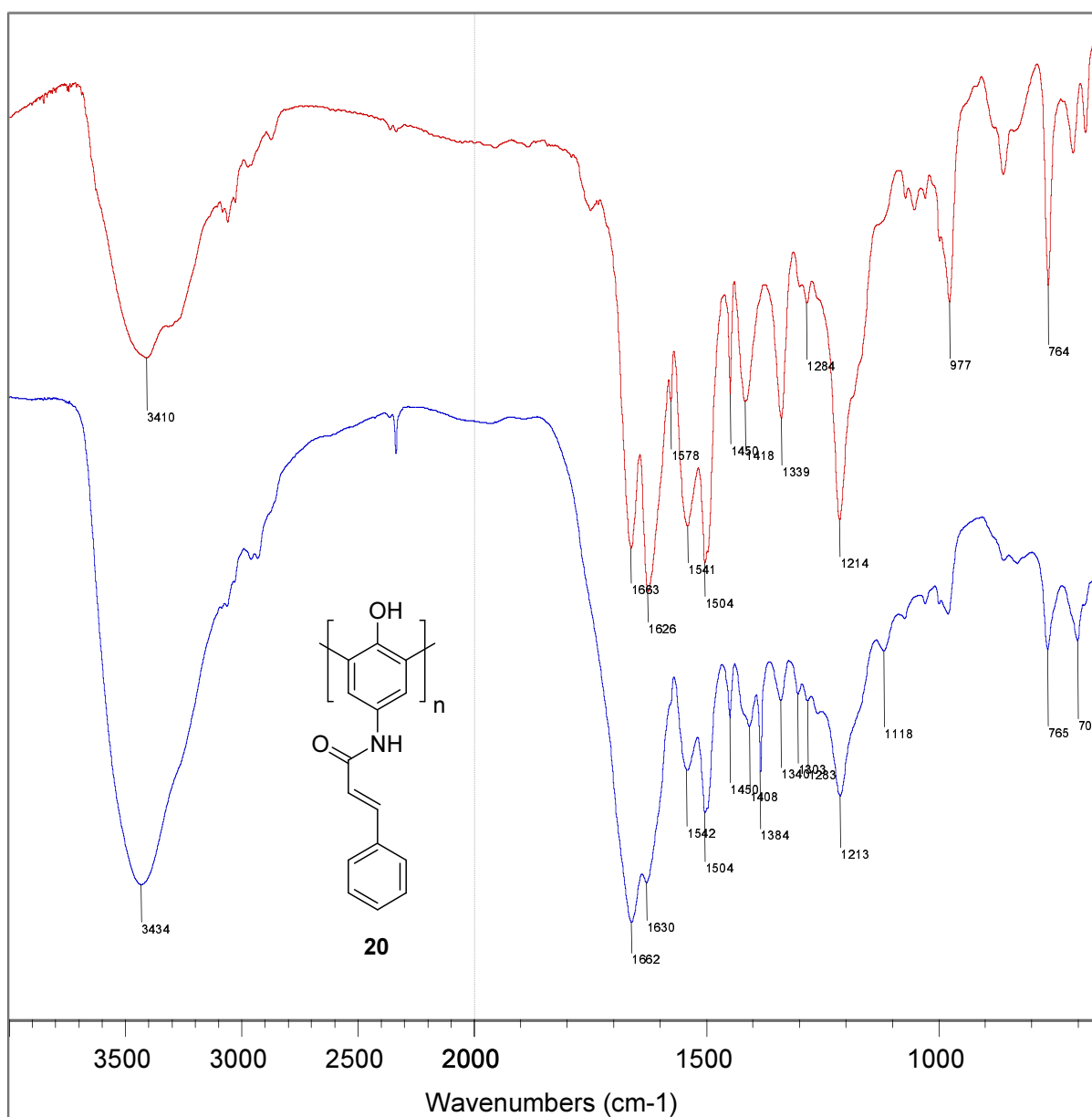


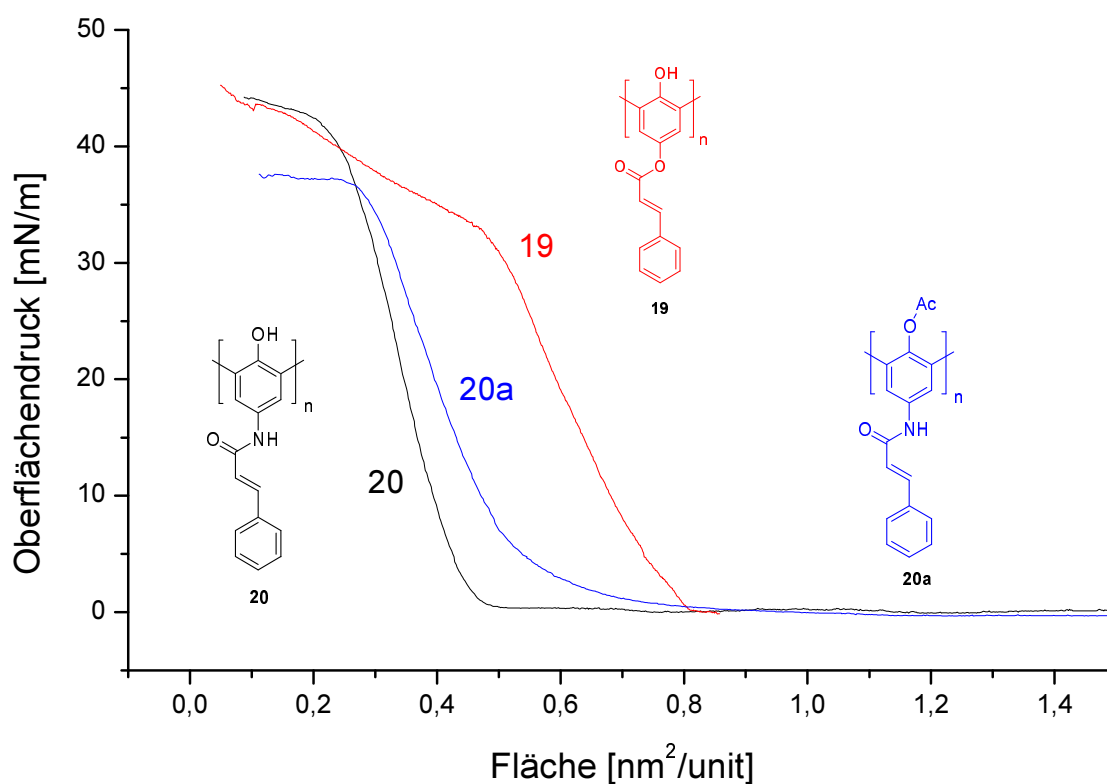
Abbildung 3.2.11: FT-IR-Spektren von Polyphenol **20** vor (oben) und nach (unten) der Bestrahlung

### 3.2.6 Monomolekulare Filme der Polyphenole **19** und **20**

Wie bereits in **Abschnitt 3.2.4** gezeigt wurde, erfolgte die Photovernetzung der Polyphenole **20** mit amidisch gebundenen Zimtsäureseitenketten schneller als die der esterhaltigen Polyphenole **19**. Es war unklar, ob dieser Effekt durch elektronische Effekte (niedrigerer HOMO-LUMO-Abstand) oder durch sterische Effekte verursacht wurde. Auf einer Filmwaage mit Wilhelmy-Meßsystem wurden deshalb Lösungen der Polyphenole in THF auf

Wasser und Pufferlösungen gespreitet. Falls die Amidgruppen durch H-Brücken eine für die Photoreaktion günstigere Konformation erzielen (*pre-ordering*)<sup>[120]</sup>, sollte ein Film von Polyphenol **20** im Schub-Flächen-Diagramm beispielsweise einen höheren Kollapspunkt erzielen als ein Film des Polyphenols **19**.

In **Abbildung 3.2.1** ist das Schub-Flächen-Diagramm von Polyphenol **19** dem des Polyphenols **20** gegenübergestellt. In einem Kontrollversuch wurden die OH-Gruppen des Polyphenols **20** acetyliert (**20a**), um ihren Einfluß auf die Wasserstoffbrückenbildung zu den Amidgruppen zu untersuchen. Das Polyphenol **20** zeigte die beste Packung auf der Wasseroberfläche. Der Kollapspunkt wurde erst bei ca. 45 mN/m erreicht.



**Abbildung 3.2.12:** Schub-Flächen-Diagramme der Polyphenole **19** und **20** und des acetylierten Polyphenols **20** (**20a**)

Das Polyphenol **19** hingegen zeigte offensichtlich keine Packung. Ab einem Flächenbedarf von 0,8 nm<sup>2</sup>/Molekül schoben sich die Polymerketten vermutlich übereinander. Auch nach der Acetylierung des Polyphenols **20** mit Acetanhydrid bildete das modifizierte Polyphenol **20a** immer noch fest-analoge Filme, jedoch wurde der Kollapsdruck um ca. 7,5 mN/m abgesenkt und die Packung verschlechterte sich. Dieses Experiment bestätigt den Verdacht, daß die Polyphenole vom Typ **20** aufgrund von intermolekularen Wasserstoffbrücken über die

Amidgruppen einen geordneteren Film ergeben könnten, und so die Photoreaktion beschleunigt wird. Der Vergleich der Kristallstrukturen der Monomere zeigt, daß die Amide **18** erwartungsgemäß mehr Wasserstoffbrücken bilden können als die Ester **17**, und somit eine geordnetere Struktur ausbilden. Die Doppelbindungen liegen gestaffelt.

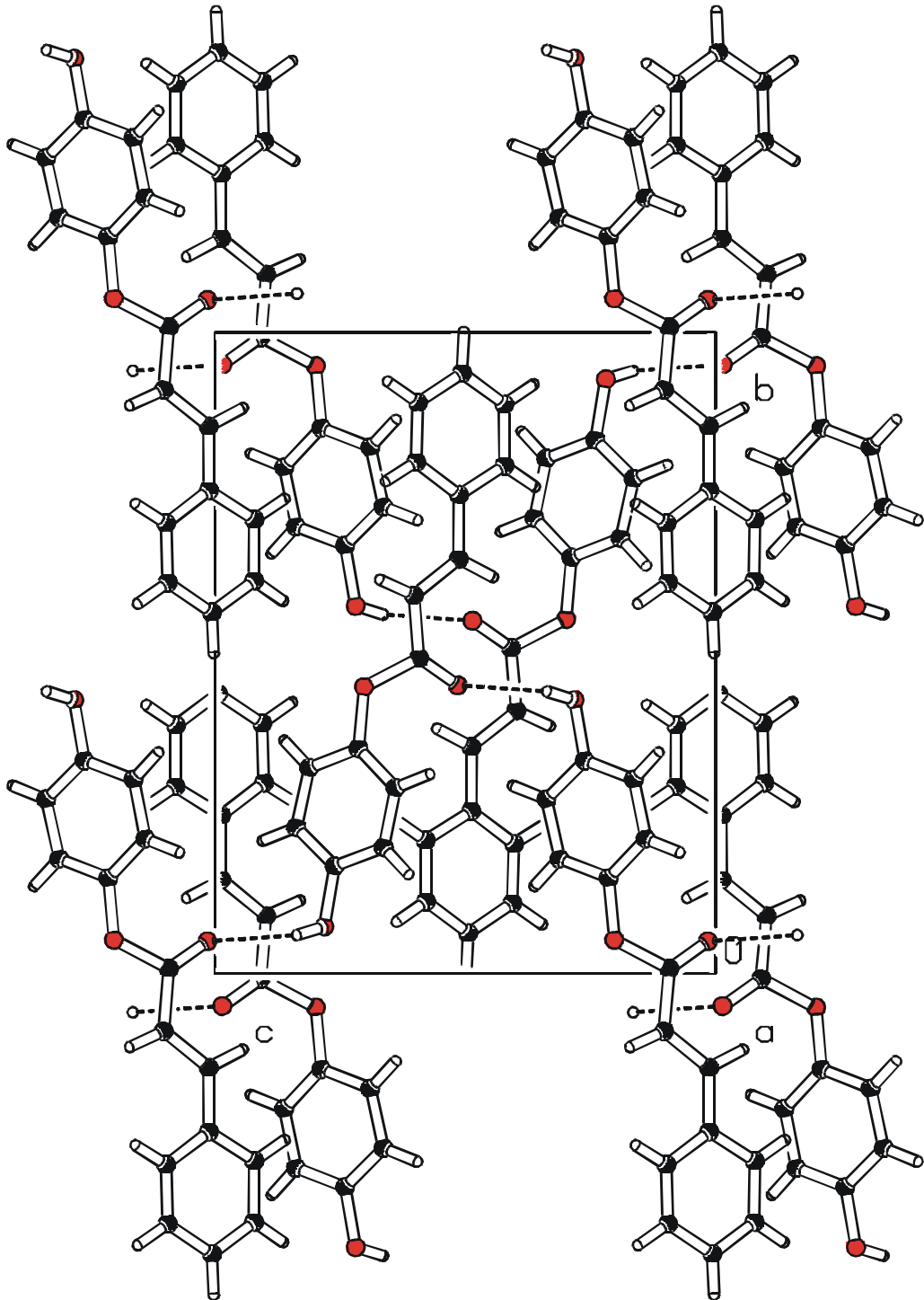


Abbildung 3.2.13: Röntgenstruktur von Zimtsäure-4-hydrochinonester (17)

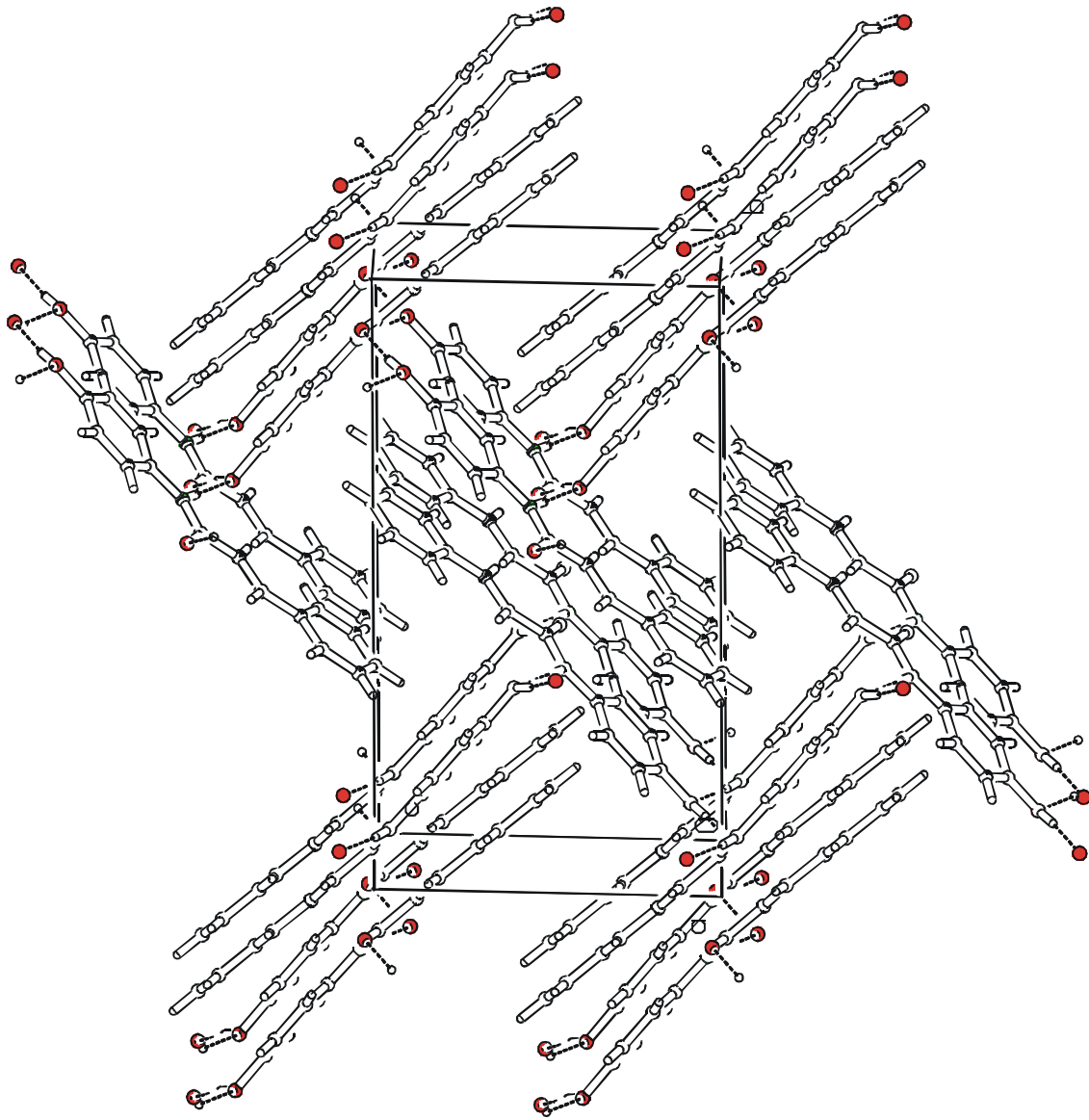


Abbildung 3.2.14: Röntgenstruktur von Zimtsäure-4-hydroxyanilid (18)



### 3.3 Polyphenole mit photoreaktiven Nitrongruppen

#### 3.3.1 Motivation

Im eigenen Arbeitskreis waren Versuche zur Synthese nitronhaltiger Polymere unternommen worden<sup>[121]</sup>. Eine radikalische Polymerisation von Nitrongruppen-tragenden Styrol- oder Methacrylsäurederivaten, wie z.B. **21**, hatte nicht zum Aufbau von Polymeren mit Nitron-Funktionen geführt. Mit Hilfe von FD-MS wurde vielmehr nachgewiesen, daß Oligomere durch eine 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen der zu polymerisierenden Doppelbindung und der Nitrongruppe (**23**) gebildet worden waren<sup>[121]</sup>. Augenscheinlich übte die Nitrongruppe einen zu starken Radikal-inhibierenden Effekt aus. Die 1,3-dipolare Cycloaddition als Konkurrenzreaktion wurde deshalb bevorzugt und die direkte Synthese von polymeren Nitronen (**22**) war so nicht möglich<sup>[121]</sup>.

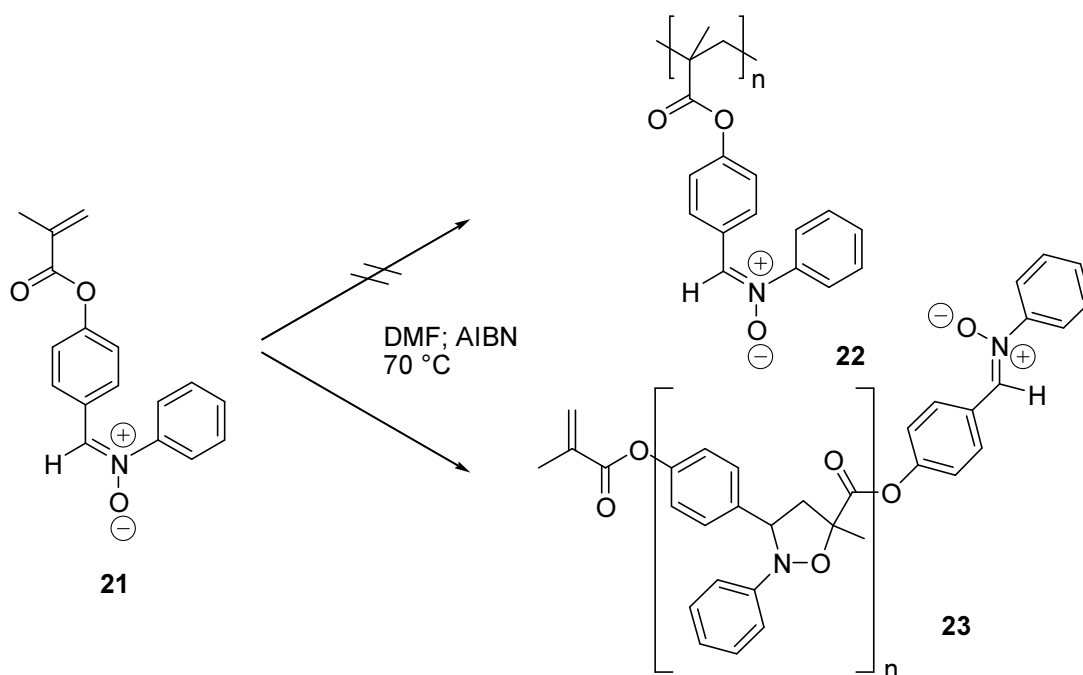


Abbildung 3.3.1: 1,3-dipolare Cycloaddition von 4-(Methacryloyloxy)benzaldehyd-phenylnitron (**21**)

Die enzymatische Synthese von Polyphenolen mit photoreaktiven Nitrongruppen sollte erstmals einen Weg eröffnen, auf radikalischem Wege zu diesen photo-sensitiven Polymeren zu gelangen.

### 3.3.2 Synthese der Polyphenole mit Seitenketten-Nitrongruppen

Die Synthese eines *p*-substituierten Phenols **26** als Ausgangsverbindung wurde durch die Umsetzung von 4-Hydroxybenzaldehyd mit *N*-Methylhydroxylamin realisiert<sup>[121]</sup>.

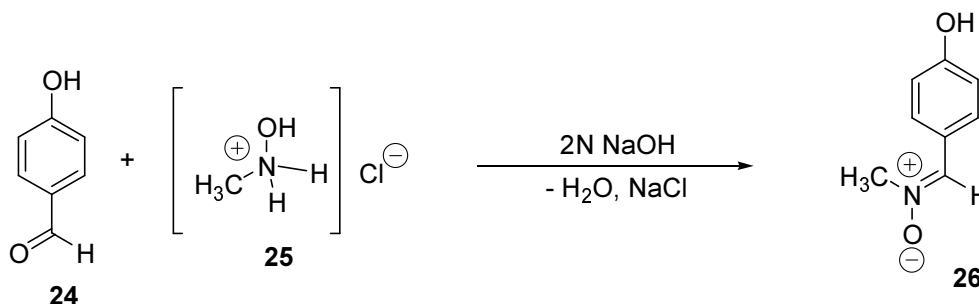


Abbildung 3.3.2: Synthese der Ausgangsverbindung **26**

### 3.3.3 <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie, FT-IR-Spektroskopie und Elementaranalyse zur Strukturuntersuchung der Polyphenole **27**

Wie in **Abbildung 3.3.3** angedeutet, ging aus den Ergebnissen der Strukturuntersuchungen hervor, daß sich ein hauptsächlich *ortho-ortho*-verknüpftes Polyphenol gebildet hatte. Das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum in DMSO-*d*<sub>6</sub> zeigte scharfe Signale für die Nitrongruppen bei 133,5 ppm und für die Methylgruppen bei 53,4 ppm. Die der aromatischen Hauptkette zugeordneten Peaks waren stark verbreitert und nur die C4-Kohlenstoffe der Phenole waren deutlich zuzuordnen. Die breiten Resonanzen für die Kohlenstoffatome C2 und C6 waren bei 128,8 ppm erkennbar. Bei 135 ppm waren neue Signale entstanden, die der Bildung der *ortho-ortho*-Kohlenstoff-Verküpfungen zugeschrieben wurden.

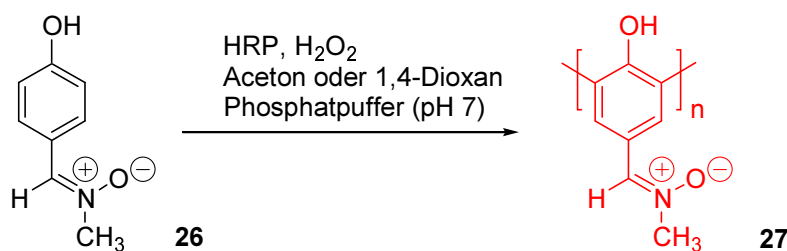


Abbildung 3.3.3: Enzymatische Synthese der Polyphenole mit Nitronseitenketten

Die Polymeranalytik wurde auch mit FT-IR- und UV-Spektroskopie, sowie mittels Elementaranalyse durchgeführt. Da im Vergleich zum 4-Hydroxybenzaldehyd-methylnitron (**26**) keine neuen Signale im Bereich von 1160-1100 cm<sup>-1</sup> gefunden wurden, konnte die Bildung von Oxyphenyleneinheiten ausgeschlossen werden. Dieses Ergebnis korreliert auch

mit den oben vorgestellten Ergebnissen zur  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie. Das FT-IR-Spektrum des Polyphenols (**Abbildung 3.3.6**) zeigte die Präsenz von Nitron-Seitengruppen durch ein intensives Signal bei  $1158\text{ cm}^{-1}$  für die N-O-Streckschwingung, aber auch ein recht intensives Signal bei  $1676\text{ cm}^{-1}$ , das einer Aldehydfunktion zugeordnet wurde. Durch eine elementaranalytische Bestimmung des Stickstoffgehaltes im Polyphenol **27** wurde dieser Sachverhalt aufgeklärt. Bei der Hydrolyse der Nitrongruppe entsteht flüchtiges Methylhydroxylamin, das beim Trocknungsprozeß des Polyphenols entweicht und so zu einer Reduktion des  $\text{N}_2$ -Gehaltes im Polymer führt. Wie man **Tabelle 3.3.2** entnehmen kann, zeigt sich eine partielle Hydrolyse der Nitronfunktionen der Polyphenolseitenketten in Form einer deutlichen Reduktion des Stickstoffgehalts des Polymeren. Eine genaue Quantifizierung des Hydrolysegrads war nicht möglich, da während der Entstehung eines Polyphenols mit einem Polymerisationsgrad  $n$  genau  $(2n-2)$  H-Atome abstrahiert werden. Die elementare Zusammensetzung der Polyphenole verändert sich deshalb mit dem Polymerisationsgrad. Mit den in **Tabelle 3.3.1** angegebenen Werten läßt sich jedoch abschätzen, das ein Teil der Nitrongruppen (<15%) während dem Polymerisationsprozeß zu Aldehydfunktionen hydrolysiert wurde.

**Tabelle 3.3.1: Vergleiche zur Elementaranalyse des Polyphenols 27**

	<b>C [%]</b>	<b>H [%]</b>	<b>N [%]</b>	<b>O [%]</b>
<b>berechnet:</b>				
Monomer ( <b>26</b> )	63,3	5,96	<b>9,27</b>	21,2
Polphenol <b>27</b> ( $n = 10$ )	64,3	4,69	<b>9,38</b>	21,5
4-Hydroxybenzaldehyd ( <b>24</b> )	68,8	4,92	<b>0</b>	26,2
Polphenol <b>27</b> ( $n = 10$ ; 50%ige Hydrolyse der Nitronfunktionen)	66,8	4,08	<b>5,2</b>	23,8
<b>gefunden:</b>				
Polyphenol <b>27</b>	62,2	4,43	<b>8,17</b>	25,2

### 3.3.4 ESI-TOF-Massenspektroskopie zur Strukturuntersuchung der Polyphenole **27**

Mit einem Tandem-Massenspektrometer<sup>[104]</sup> gelang der direkte Nachweis der Nitron-haltigen Polyphenole **27**. Das Massenspektrum bestätigte sowohl die Bildung eines Polyphenols durch Abstraktion zweier Wasserstoffmoleküle, als auch die Existenz vollständig intakter Nitrongruppen in den Seitenketten. Die Komplexität des Massenspektrums entstand durch

Einwirkung von Ameisensäure während des Ionisierungsvorgangs, die zur Hydrolyse vieler Nitrongruppen führte.

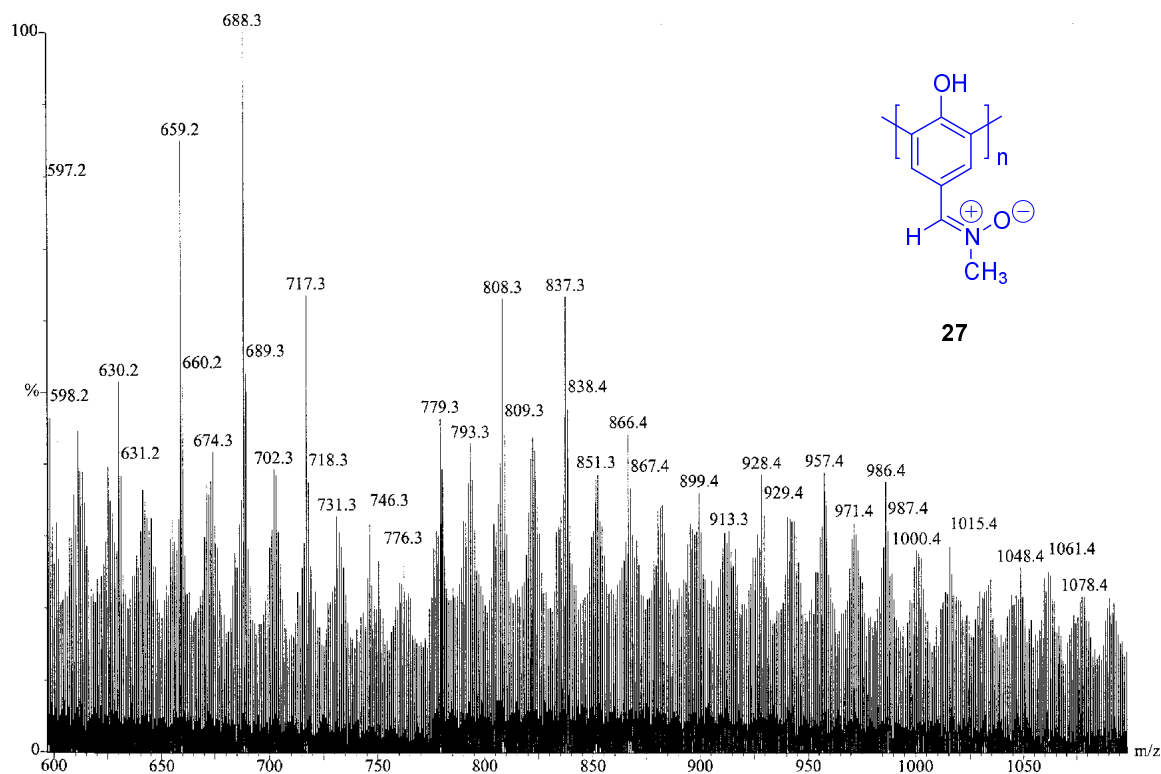


Abbildung 3.3.4: Ausschnitt aus dem ESI-TOF-Massenspektrum von Polyphenol 27

In **Tabelle 3.3.2** sind die theoretisch berechneten Massen verschieden langer Polyphenole einschließlich der entsprechenden teil-hydrolysierten Produkte den gemessenen Massen gegenübergestellt. Somit konnte nachgewiesen werden, daß Polyphenole mit Nitrongruppen in der Seitenkette aufgebaut wurden. Allerdings trat eine partielle Hydrolyse der Nitronfunktionen zu Aldehydfunktionen auf.

Tabelle 3.3.2: molekulare Massen von Polyphenol 27 mit verschiedenen Polymerisationsgraden

	Hydrolyse- grad	Tetramer (P <sub>n</sub> = 4)	Pentamer (P <sub>n</sub> = 5)	Hexamer (P <sub>n</sub> = 6)	Heptamer (P <sub>n</sub> = 7)
m/z (berechnet)		598,7	747,9	897,1	1046,3
<b>m/z (gefunden)</b>	0	<b>598,2</b>	<b>746,3</b>	<b>899,4</b>	<b>1048,4</b>
m/z (berechnet)		569,7	718,9	868,1	1017,3
<b>m/z (gefunden)</b>	1	<b>569,3</b>	<b>718,3</b>	<b>867,4</b>	<b>1015,4</b>
m/z (berechnet)		-	689,8	839,0	988,2
<b>m/z (gefunden)</b>	2	-	<b>689,3</b>	<b>838,4</b>	<b>987,4</b>
m/z (berechnet)		-	660,8	810,0	959,2
<b>m/z (gefunden)</b>	3	-	<b>660,2</b>	<b>809,3</b>	<b>957,4</b>
m/z (berechnet)		-	631,8	780,9	930,1
<b>m/z (gefunden)</b>	4	-	<b>631,2</b>	<b>779,3</b>	<b>929,4</b>
m/z (berechnet)		-	-	-	901,1
<b>m/z (gefunden)</b>	5	-	-	-	<b>899,4</b>

Der Nachweis intakter Nitrongruppen wurde abschließend auch auf chemischem Wege durchgeführt. Als 1,3-Dipol sollte sich die Nitronfunktion mit Acrylaten zu fünfgliedrigen Oxazolinen (**Abbildung 3.3.5**) umsetzen lassen. Mit Hilfe der FT-IR-Spektroskopie wurde die polymeranaloge Reaktion von Methylacrylat (**28**) mit Polyphenol **27** verfolgt.

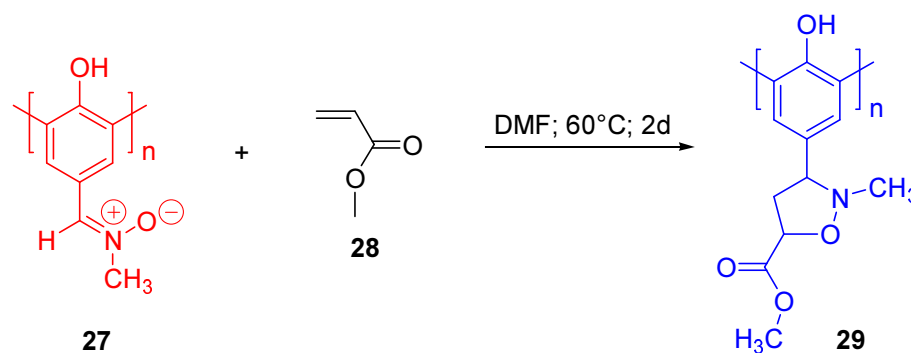


Abbildung 3.3.5: Polymeranaloge Umsetzung von Polyphenol 27 mit Methylacrylat

Wie der Vergleich der FT-IR-Spektren zeigt (**Abbildung 3.3.1** und **Abbildung 3.3.7**) wird die der Nitrongruppe zugeordnete N-O Streckschwingung bei  $1158\text{ cm}^{-1}$  während der polymeranalogen Reaktion abgebaut. Eine neue Bande bei  $1735\text{ cm}^{-1}$  zeigt den Einbau der Methylester-Funktion durch die Cycloadditionen an. Anhand des Signals bei  $1667\text{ cm}^{-1}$  kann man die partielle Hydrolyse der Nitron-Gruppen zu Aldehyden erkennen.

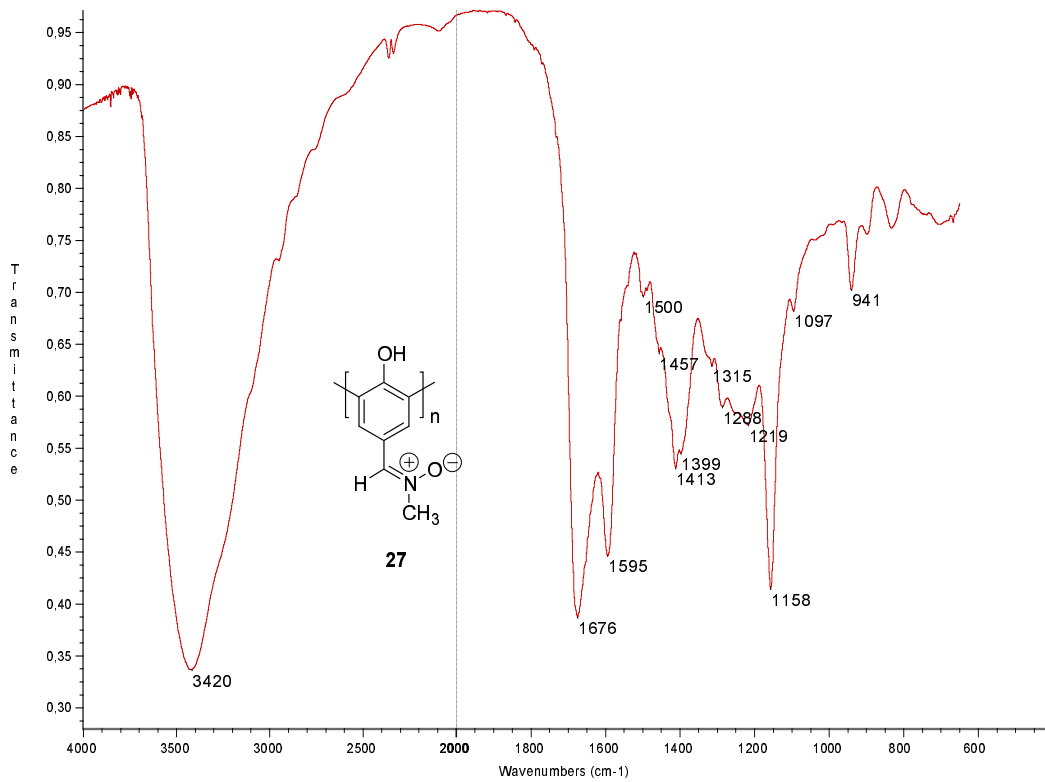


Abbildung 3.3.6: FT-IR-Spektrum von Polyphenol 27

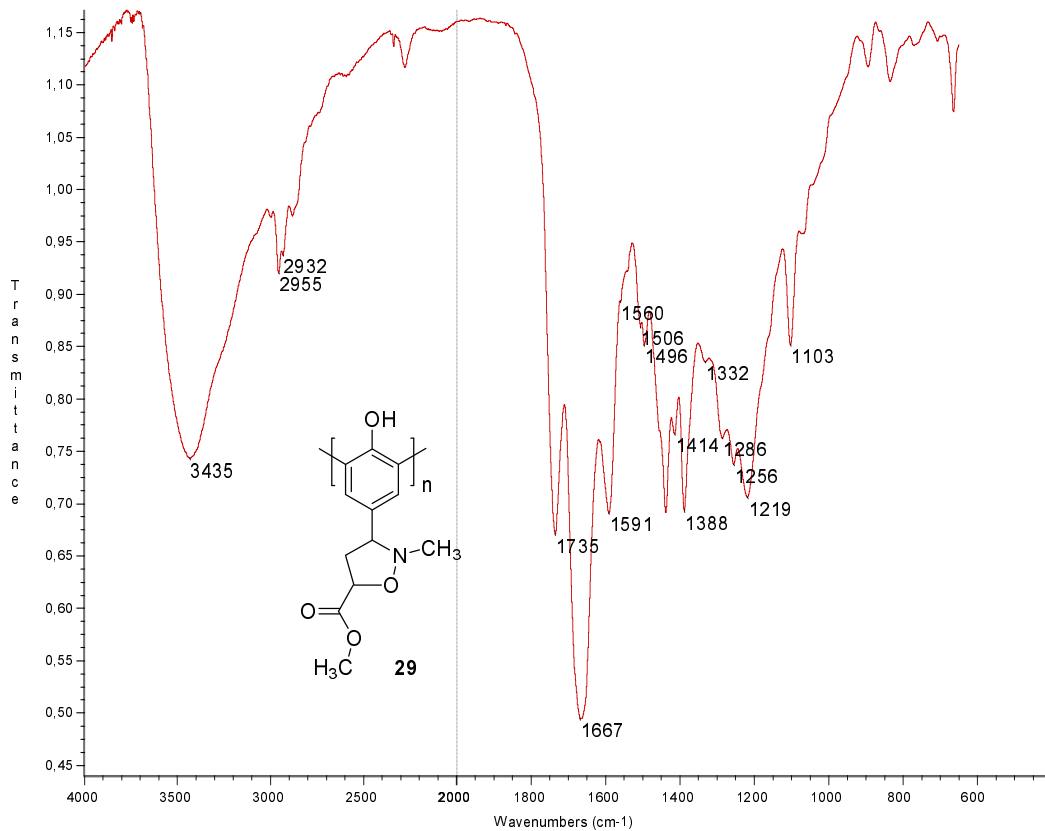


Abbildung 3.3.7: FT-IR-Spektrum des mit Methylacrylat umgesetzten Polyphenols 29

### 3.3.5 UV-Bestrahlung von Polyphenol 27

Das photochemische Verhalten der Polyphenole **27** wurde an dünnen Filmen untersucht. Durch die UV-Bestrahlung sollten sich die polaren Nitrongruppen zu den weniger polaren Oxaziridin-Dreiringen schließen lassen<sup>[122-124]</sup>.

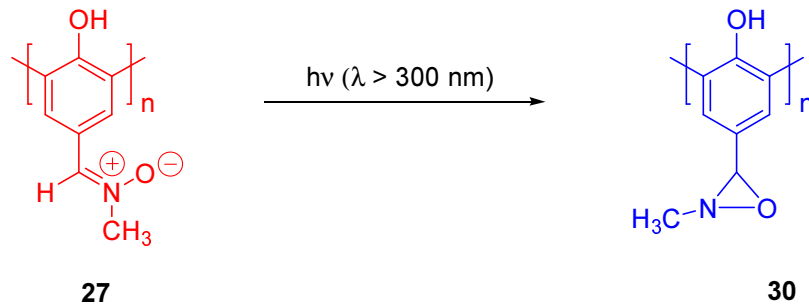


Abbildung 3.3.8: Photochemisch induzierte Umlagerung der Nitrone zu Oxaziridinen

Die chemischen Veränderungen während der UV-Bestrahlung zeigt **Abbildung 3.3.9**. Die den Nitrongruppen zugeordnete UV-Absorptionsbande bei  $\lambda_{\text{max}} = 304 \text{ nm}$  wurde während des Bestrahlungsvorgangs abgebaut.

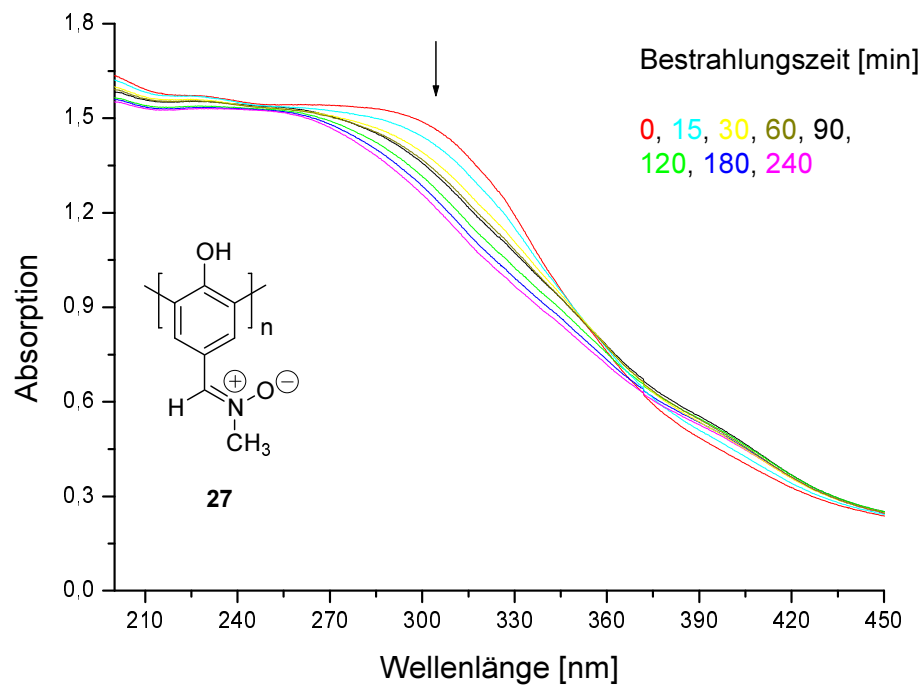


Abbildung 3.3.9: Änderungen der UV-Spektren des Films von Polyphenol **27** durch die Bestrahlung mit UV-Licht ( $\lambda > 300 \text{ nm}$ )

## 3.4 Thermisch vernetzbare Polyphenole

### 3.4.1 Motivation

Zur Realisierung eines thermisch vernetzbaren Polyphenols sollten Copolymere aus zwei Phenolen mit verschiedenen *p*-substituierten Phenolen dienen, deren Funktionalitäten entweder durch Diels-Alder- oder 1,3-dipolare Cycloadditionen zur Vernetzung von Oligomereinheiten befähigt sein sollten. Damit rückte natürlich auch die grundsätzliche Frage nach dem Copolymerisationsverhalten zweier verschieden substituierter Phenole in den Vordergrund. In der Literatur waren dazu bisher nur wenig Daten vorzufinden<sup>[84, 126]</sup>.

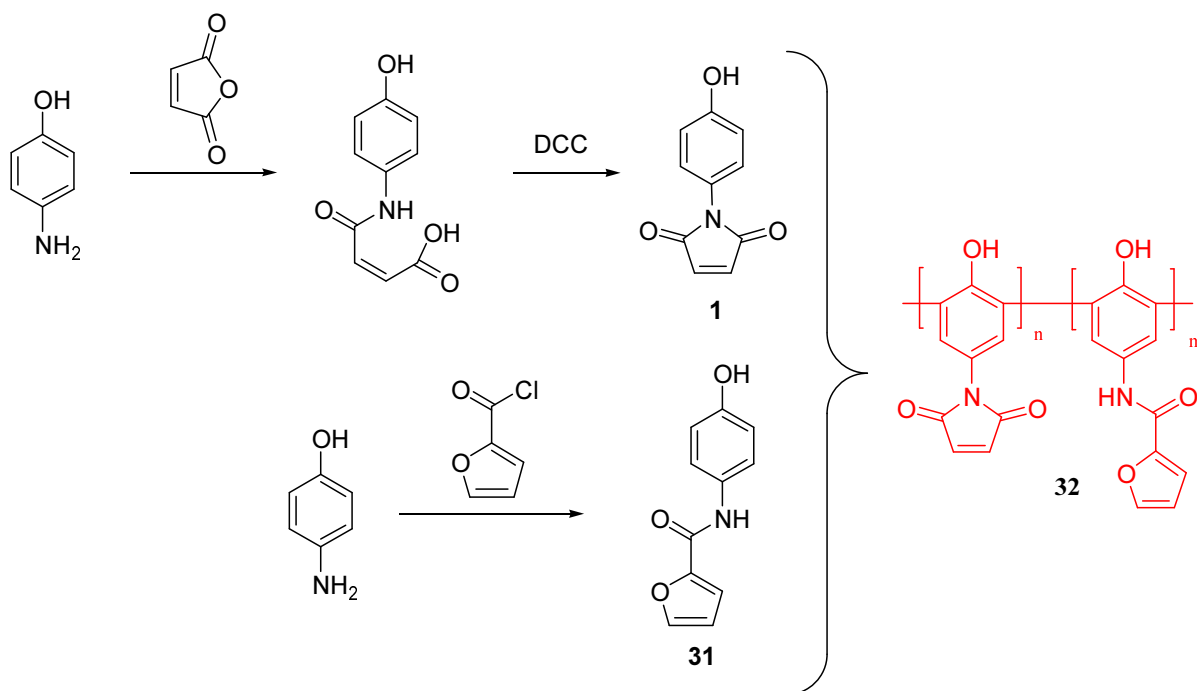
### 3.4.2 Synthese der thermisch vernetzbaren Polyphenole

Das Copolymer **32** sollte durch einfache Diels-Alder-Cycloadditionen thermisch vernetzbar sein. Als ein Monomer mit einem Dienophil als Rest in *para*-Position sollte das 4-Hydroxyphenylmaleinimid (**1**) aus **Kapitel 3.1** verwendet werden. Um ein copolymerisierbares Phenol mit einem Dien in *para*-Position zu erhalten, wurde *N*-Furanosyl-(4-hydroxyanilid) (**31**) synthetisiert (**Abbildung 3.4.1**). Die beiden Monomere **1** und **31** wurden in zwei verschiedenen Konzentrationen polymerisiert (**Tabelle 3.4.1**).

Tabelle 3.4.1: Synthese der Copolymere **32** und **33** und des Terpolymeren **35**

Polymer	Verhältnis	C <sub>monomer</sub> [mol/l]	M <sub>n</sub> [g/mol]	M <sub>w</sub> [g/mol]	M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub>	Ausb. (%)
<b>32a</b>	1:1	0,01	1400	4000	2,8	95
<b>32b</b>	1:1	0,05	1600	3900	2,4	50
<b>33</b>	1:1	0,014	3100	6400	2,0	80
<b>35</b>	1:1:1	0,013	-	-	-	25





**Abbildung 3.4.1:** Die Synthese des mittels Diels-Alder-Cycloadditionen thermisch vernetzbaren Copolymeren 32

Zur Darstellung mittels 1,3-dipolarer Cycloadditionen thermisch vernetzbarer Copolymerer wurden 4-Hydroxybenzaldehyd-methylnitron (**26**) (**Kapitel 3.3**) und *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid (**3**) (**Kapitel 3.1**)<sup>[98, 121]</sup> in äquimolaren Mengen (**Tabelle 3.4.1**) zu Copolymer **33** (**Abbildung 3.4.2**) umgesetzt. Um ein weniger reaktives Material zu erhalten, wurde eine intramolekulare „Ausdünnung“ der reaktiven Reste in Copolymer **33** durch den Einbau von 4'-Benzoyloxybiphenyl-4-ol (**34**) versucht. Diese Umsetzung ergab Terpolymer **35**.

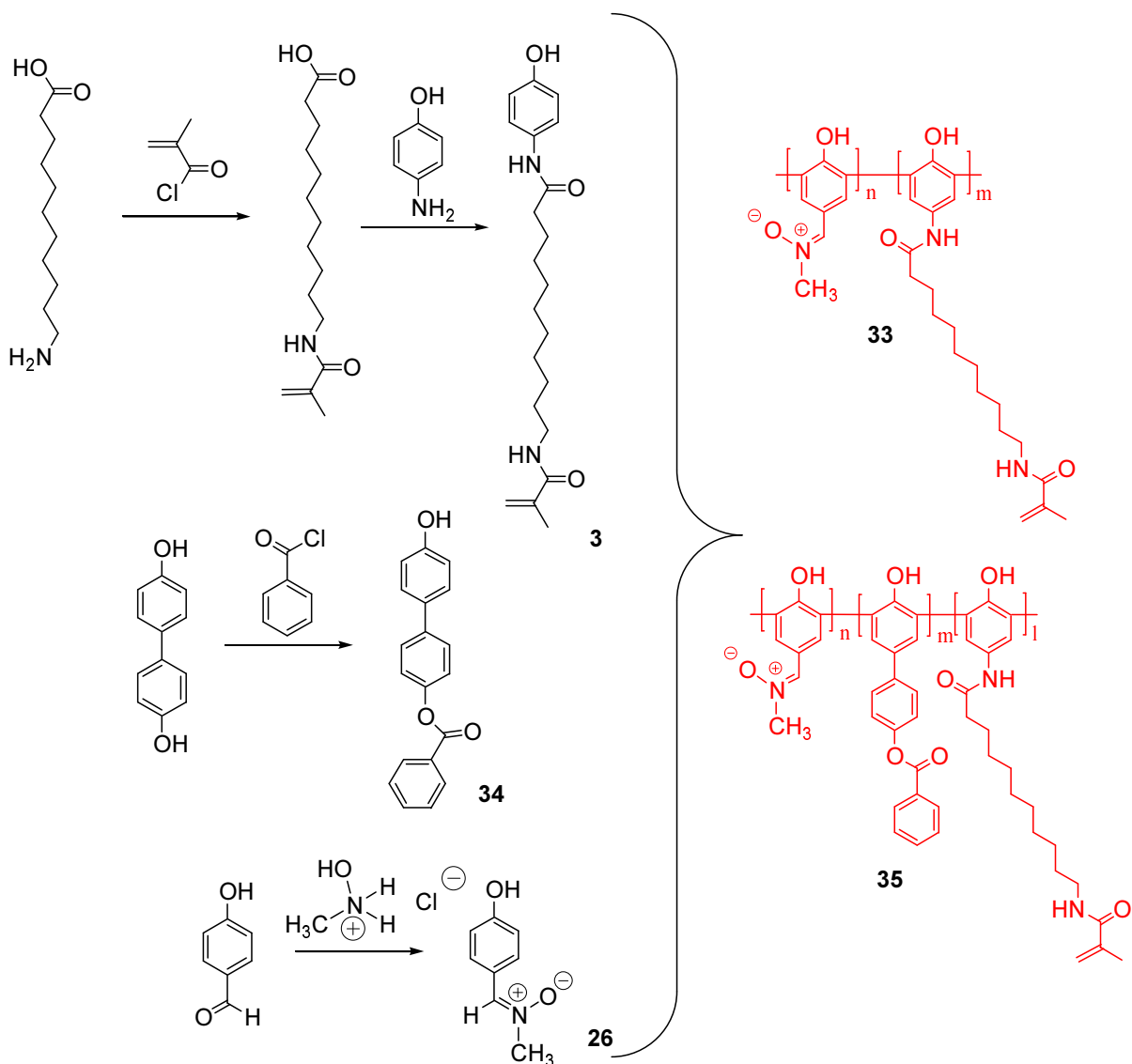
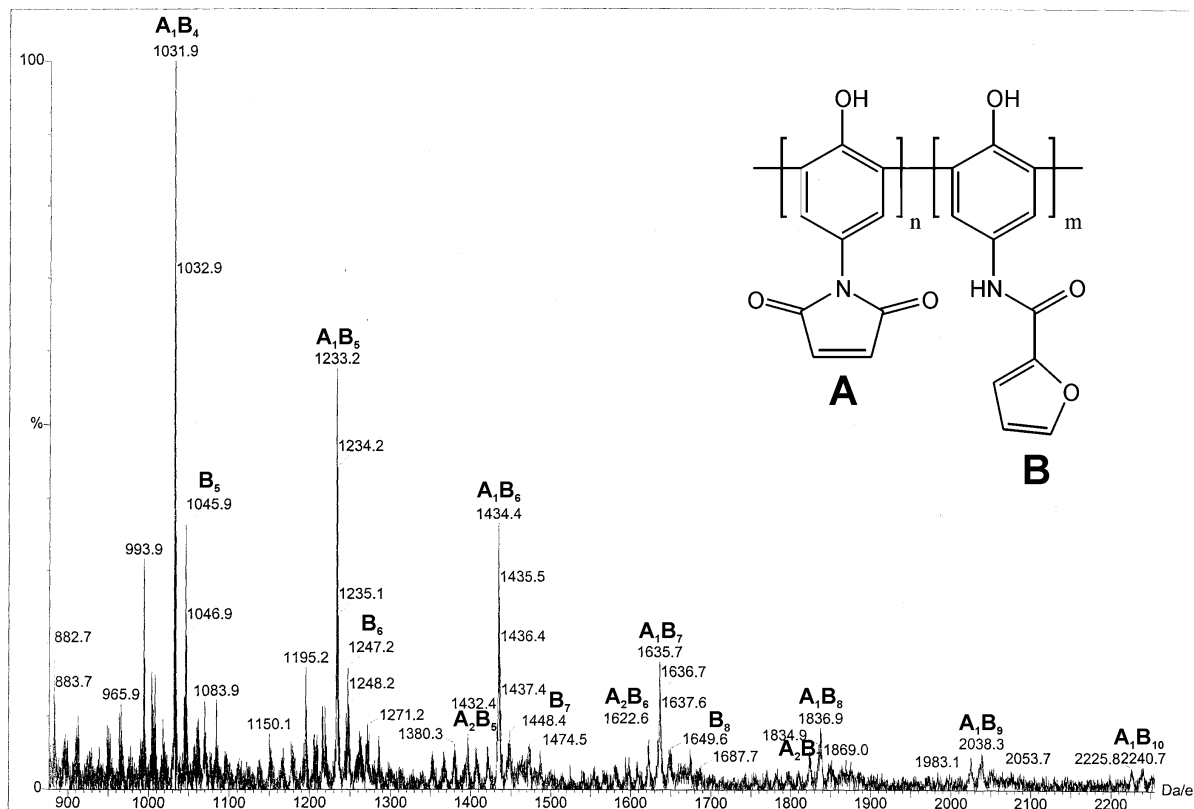


Abbildung 3.4.2: Die Synthese des durch 1,3-dipolare Cycloadditionen thermisch vernetzbaren Copolymeren **33** und des Terpolymeren **35**

### 3.4.3 Charakterisierung der thermisch vernetzbaren Polyphenole mit MALDI-TOF Massenspektroskopie (Copolymer **32**) und FT-IR Spektroskopie (Copolymere **32** und **33** und Terpolymer **35**)

In **Abbildung 3.4.3** ist ein Ausschnitt des MALDI-TOF-Massenspektrums von Copolymer **32b** gezeigt. Deutlich erkennbar ist eine Peakserie, welche die Bildung eines Homopolymeren aus *N*-Furanosyl-(4-hydroxyanilid) (**31** = **B** in **Abbildung 3.4.3**) anzeigt. Die Kalium-Addukte des Homopolymeren sind mit  $B_5$  –  $B_8$  markiert. Weitere auftretende Serien

repräsentieren verschieden zusammengesetzte Copolymere aus 4-Hydroxyphenylmaleinimid (**1** = **A** in **Abbildung 3.4.3**) und *N*-Furanosyl-(4-hydroxyanilid) (**31**). Diese sind mit  $A_xB_y$  gekennzeichnet, wobei  $y$  stets größer als  $x$  ist. Dies läßt vermuten, das **31** bevorzugt in das Copolymere eingebaut wurde.



**Abbildung 3.4.3:** Ausschnitt aus dem MALDI-TOF-Massenspektrum des Copolymeren **32**

Wie in **Kapitel 3.1** dargelegt wurde, läßt sich aus **1** jedoch auch ein Homopolymer unter identischen Reaktionsbedingungen herstellen. Der ungleiche Einbau der beiden Monomere ist also nicht einfach damit zu erklären, daß einer der beiden Reaktionspartner, nämlich **1**, nicht zur Homopolymerisation befähigt wäre. Bei der niedrigeren Monomerkonzentration von 0,01 M pro Monomer (**32a**) wurden nahezu alle Monomere umgesetzt.

Bei einer Konzentration von 0,05 M (**32b**) wurde nur ein Umsatz von 50% erzielt. Da die FT-IR-Spektren der beiden Copolymere **32a** und **32b** nahezu identisch waren, konnte ausgeschlossen werden, daß bei höherer Monomerkonzentration z.B. ausschließlich ein Homopolymer von **2** erhalten wurde. Offenbar war bei höherer Monomerkonzentration ein großer Anteil des Enzyms HRP durch ausfallende Polymerketten inaktiviert worden. Eine ähnliche Beobachtung war auch bereits von Taylor *et al.* und Nicell *et al.* publiziert worden<sup>[67, 68, 127]</sup>.

Das FT-IR Spektrum von Copolymer **32** zeigte die Präsenz freier Hydroxylgruppen in Form einer breiten Absorptionsbande bei  $3420\text{ cm}^{-1}$  und bei  $1215\text{ cm}^{-1}$ . Neuen Signale zwischen  $1160\text{ cm}^{-1}$  und  $1100\text{ cm}^{-1}$  für Oxyphenyleneinheiten wurden nicht gefunden. Eine Absorption bei  $1710\text{ cm}^{-1}$  für die Maleinimid-Gruppe von **1** und bei  $1640\text{ cm}^{-1}$  für die Amidgruppe von **31** zeigte den Einbau beider Funktionalitäten in das Copolymer an. Auch die FT-IR Spektren der Polymere **33** und **35** zeigten freie Hydroxylgruppen mit Banden bei  $4320\text{ cm}^{-1}$  und  $1200\text{ cm}^{-1}$  an. Außerdem enthielt das FT-IR-Spektrum von **33** eine deutliche Bande bei  $1157\text{ cm}^{-1}$ , die den Einbau der Nitrongruppen anzeigte. Das Spektrum von Terpolymer **35** enthielt bei  $1737\text{ cm}^{-1}$  ein neues Signal, das der Valenzschwingung der aromatischen Ester zugeordnet werden konnte und somit ein Indiz für den Einbau von **34** erbrachte.

#### 3.4.4 Untersuchung zur Copolymerisation von **1** und **31** mit HPLC und GPC

Zur genaueren Untersuchung des Copolymerisationsverhaltens wurde die HRP-katalysierte Copolymerisation von **1** und **31** mit HPLC und GPC verfolgt. In **Abbildung 3.4.4** ist die Entwicklung des Molekulargewichtes mit fortschreitendem Reaktionsumsatz bei einer Startkonzentration von  $0,05\text{ M}$  gezeigt. Diese Meßgrößen sind in Relation zum Gesamtumsatz wiedergegeben, der nach der folgenden Formel berechnet wurde:

$$\text{Gesamtumsatz [mol-\%]} = \frac{[A_0] + [B_0] - [A_t] - [B_t]}{[A_0] + [B_0]} \quad (1)$$

wobei  $[A_t]$  = Konzentration von **1** in [mol/l] zur Zeit t

$[B_t]$  = Konzentration von **31** in [mol/l] zur Zeit t

$[A_0]$  = Startkonzentration von **1** in [mol/l]

$[B_0]$  = Startkonzentration von **31** in [mol/l]

**Abbildung 3.4.4** zeigt, bis zu einem Gesamtumsatz von 50%, die für eine Polykondensation typische Form, da das Kettenwachstum bei der enzymatischen Phenolpolymerisation durch schrittweise Polyrekombination stattfindet<sup>[44]</sup>. Bis zum Gesamtumsatz von 50% steigt das Molekulargewicht in dieser Weise an, denn es rekombinieren immer größere Polymerketten, je weiter die Reaktion fortschreitet<sup>[60]</sup>.

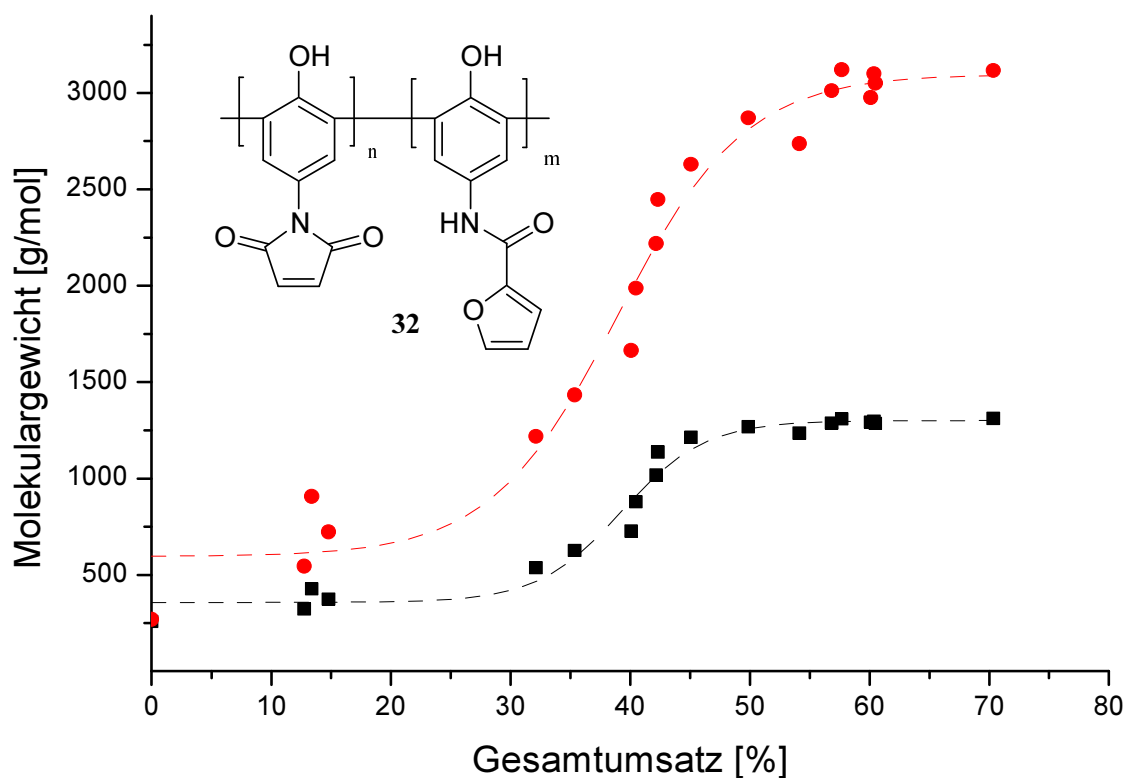
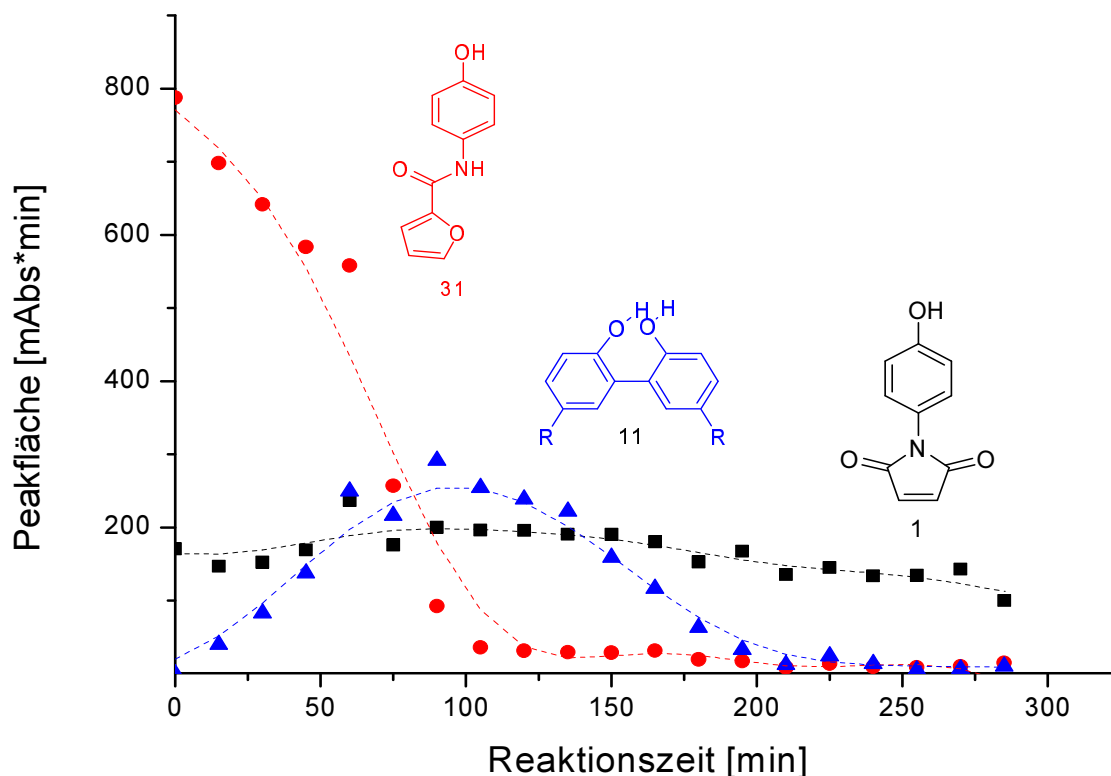


Abbildung 3.4.4: Die Entwicklung des Molekulargewichtes mit fortschreitendem Reaktionsumsatz

(●  $M_w$ ; ■  $M_n$ )

Anhand der mit der HPLC gewonnenen Daten (**Abbildung 3.4.5**) sieht man, daß zunächst hauptsächlich *N*-furanosyl-(4-hydroxyanilid) (**31**) polymerisiert wurde. Das 4-Hydroxyphenylmaleinimid (**1**) hingegen wurde erst in nennenswerten Maße in die wachsenden Polymerketten eingebaut, als **31** schon fast vollständig dem Reaktionsgemisch entzogen war.

Aus den in **Abbildung 3.4.5** vorgelegten Ergebnissen, lassen sich auch Rückschlüsse auf den Polymerisationsmechanismus *p*-substituierter Phenole ziehen. So fallen insbesondere drei Dinge auf. Erstens nimmt die relative UV-Absorption, die sich **31** zuordnen läßt, dramatisch schneller ab, als die von **1**. Zweitens nimmt die UV-Absorption von **31** zu Beginn der Reaktion sehr schnell ab, bleibt dann aber über den Rest der Wasserstoffperoxid-Zugabe relativ konstant. Drittens ist das Auftreten eines neuen UV-Signals während der Polymerisation zu beobachten, dessen Intensität zu Beginn der Reaktion ansteigt, bei einer Reaktionsdauer von etwa 100 min ihren Maximalwert erreicht, und dann wieder abnimmt. Das Signal war genau zu der Zeit maximal, zu der **31** nahezu vollständig umgesetzt worden war, und wurde der Bildung von Dimeren zugeschrieben.



**Abbildung 3.4.5:** Die während der Wasserstoffperoxid-Zugabe gemessenen relativen UV-Absorptionen (270 nm) der Monomere und der Dimere. (Diese Auftragung wurde gewählt, da die UV-Absorptionen der Dimere nicht mit molaren Konzentrationen korreliert werden können)

Das in (Abbildung 3.4.6) aufgestellte Reaktionsschema, welches sich in weiten Teilen auf die bisher in den Artikeln von Dunford *et al.*<sup>[47, 82]</sup> und Nayak *et al.*<sup>[60]</sup> wiedergegebenen Theorien stützt, erklärt zwanglos alle eben genannten Beobachtungen. Wie bereits in Kapitel 2.8 erläutert wurde, startet die enzymatische Polymerisation mit der HRP-katalysierten Oxidation der monomeren Phenole (36) in Gegenwart von  $H_2O_2$  zu Phenoxyradikalen (37). Zu Beginn der Reaktion ist nur die Oxidation, die Radikalübertragung und die Dimerisierung als Reaktion möglich. Die Oxidation wird durch die Natur der verwendeten Monomere und durch die lokal hohe Konzentration an Phenoxyradikalen unterdrückt. Die Radikalübertragung kann zunächst ignoriert werden, da die entstehenden Edukte gleich den Produkten sind<sup>[44, 60]</sup>. Dies beeinflusst die Reaktionsgeschwindigkeit, aber nicht den Reaktionsverlauf.

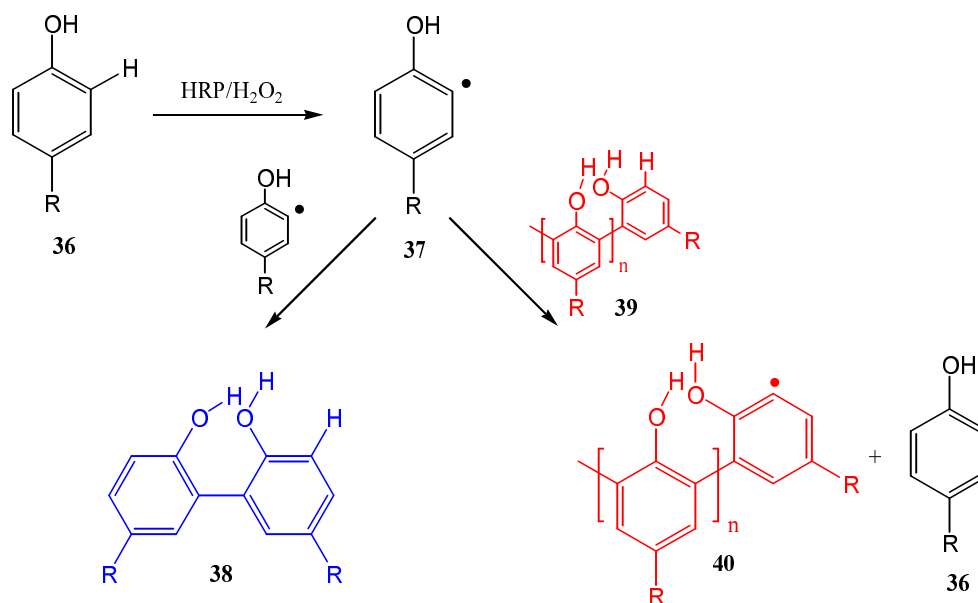


Abbildung 3.4.6: Ein wahrscheinlicher Reaktionsmechanismus der HRP-katalysierten Polyrekombination

Daher werden zu Beginn der Polymerisation hauptsächlich Dimere (**38**) gebildet<sup>[95]</sup>, was die Beobachtung der Bildung eines neuen anwachsenden UV-Signals in **Abbildung 3.4.5** erklärt. Die Dimere sind noch im HPLC-Eluenten (EtOAc:PE 1:1) löslich. Erst im weiteren Verlauf der Polymerisation wird die Konzentration der Phenoxyradikale so klein, daß sie keinen Reaktionspartner für eine Dimerisierung finden. Dadurch gewinnt die Radikalübertragung an Bedeutung<sup>[44, 95]</sup>. Durch die Radikalübertragung z.B. eines Dimeren mit einem Phenoxyradikal, begleitet von einem Protonentransfer, entsteht ein Biphenol-Radikal (**40**) und ein monomeres Phenol wird zurückgebildet. Die weiteren Rekombinations- und Radikalübertragungsschritte führen zum Aufbau größerer Polymerketten. Da diese nicht mehr im HPLC-Eluenten (EtOAc:PE 1:1) löslich sind, reduziert sich das den Dimeren zugeordnete Signal nach 100 min wieder.

Die für das Kettenwachstum nötige Radikalübertragung ist wohl auch der Grund dafür, daß die Monomerkonzentration von **31** nach 100 min nur noch langsam abnimmt, da bei jeder Radikalübertragung ein monomeres Phenol (**36**) zurückgebildet wird. Diese Behauptung wird auch dadurch untermauert, daß die GPC-Messungen des Polyphenols **32a** Restanteile von Monomeren und Dimeren aufzeigten. Weitere Kontrollversuche - auch von Mitarbeitern mit anderen Verbindungen<sup>[109b, 109c, 128]</sup> - belegten, daß es entgegen einigen Berichten der Literatur nicht möglich zu sein scheint, bei der HRP-katalysierten Polymerisation eines Phenols einen 100%igen Umsatz zu Polymeren zu erreichen, auch nicht durch überschüssige Wasserstoffperoxidzugabe oder Enzymnachdosierung.

Als Gründe für einen bevorzugten Einbau von **31** in das wachsende Polyphenol kommen chemischen und sterischen Faktoren in Betracht. Das Reduktionspotential der Phenole ist ihrer HOMO-Energie proportional und diese sollte mit der Geschwindigkeit der Oxidation der Phenole zu Phenoxyradikalen korrelieren. Die unter Verwendung der Dichte-funktionellen Methode pBP/DN\* errechneten Werte zeigen ein deutlich höher liegendes HOMO für das *N*-Furanosyl-(4-hydroxyanilid) (**31**). Bei diesem Molekül ist es demnach einfacher, ein Elektron aus dem HOMO zu entfernen. Außerdem herrscht an den Wasserstoffen der *ortho*-Positionen von **31** eine größere Elektronendichte, wie der Vergleich der Werte für die chemische Verschiebung, ermittelt anhand eines 200 MHz <sup>1</sup>H-NMR Spektrums, zeigt.

Zudem ist der Maleinimid-Fünfring von **1** laut den Dichte-funktionalen Berechnungen mit rund 4,67 Å von O1-Atom zu O2-Atom breiter, als der phenolische Ring mit seiner mittleren Distanz von 4,4 Å von H2-Atom zu H6-Atom. Der Furanosylamid-Rest von **31** ist dagegen deutlich schmaler, als der phenolischer Ring. Es ist deshalb möglich, daß **31** den Kanal zum aktiven Zentrum des Enzym einfacher erreicht als **1**.

**Tabelle 3.4.2: Die berechneten HOMO-Energien und die gemessenen chemische Verschiebungen von 1 und 31, sowie die mittleren berechneten maximalen Ausdehnungen ihrer Substituenten**

Monomer	HOMO [eV]	$\delta$ [ppm] <sub>H2/H6</sub>	$\delta$ [ppm] <sub>H3/H5</sub>	max. Breite [Å]
<b>1</b>	-5,68	6,81	7,07	4,67
<b>31</b>	-5,34	6,72	7,47	3,18

### 3.4.5 Thermische Vernetzung von Copolymer 32

In **Abbildung 3.4.8** sind vier FT-IR-Spektren gezeigt, welche die Änderungen der Absorptionen des Materials während dem Erhitzen dokumentieren. Besonders auffällig ist die Reduktion der Absorption bei 1710 cm<sup>-1</sup>, gepaart mit einem Aufbau einer neuen Bande bei 1661 cm<sup>-1</sup> innerhalb der ersten Stunde, was auf eine Änderung der Maleinimid-Struktur durch inter- oder auch intramolekulare (2+4)-Cycloadditionen schließen läßt (**Abbildung 3.4.7**). Nach 12 h bei 120 °C war dieser Prozeß weitgehend abgeschlossen.



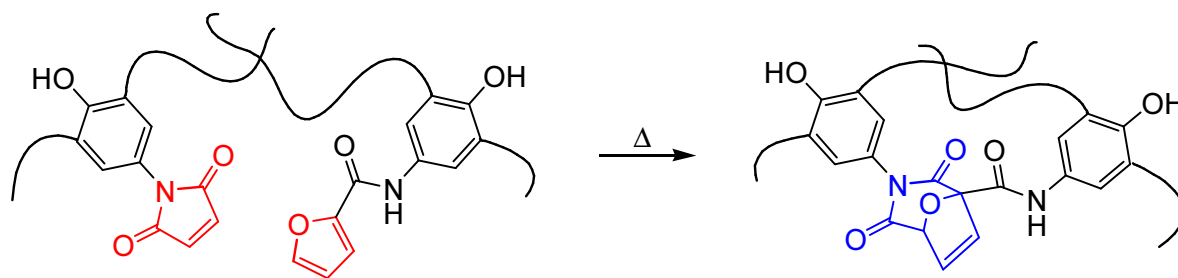


Abbildung 3.4.7: Schematische Darstellung des thermisch induzierten Vernetzungsprozesses des Copolymeren 32

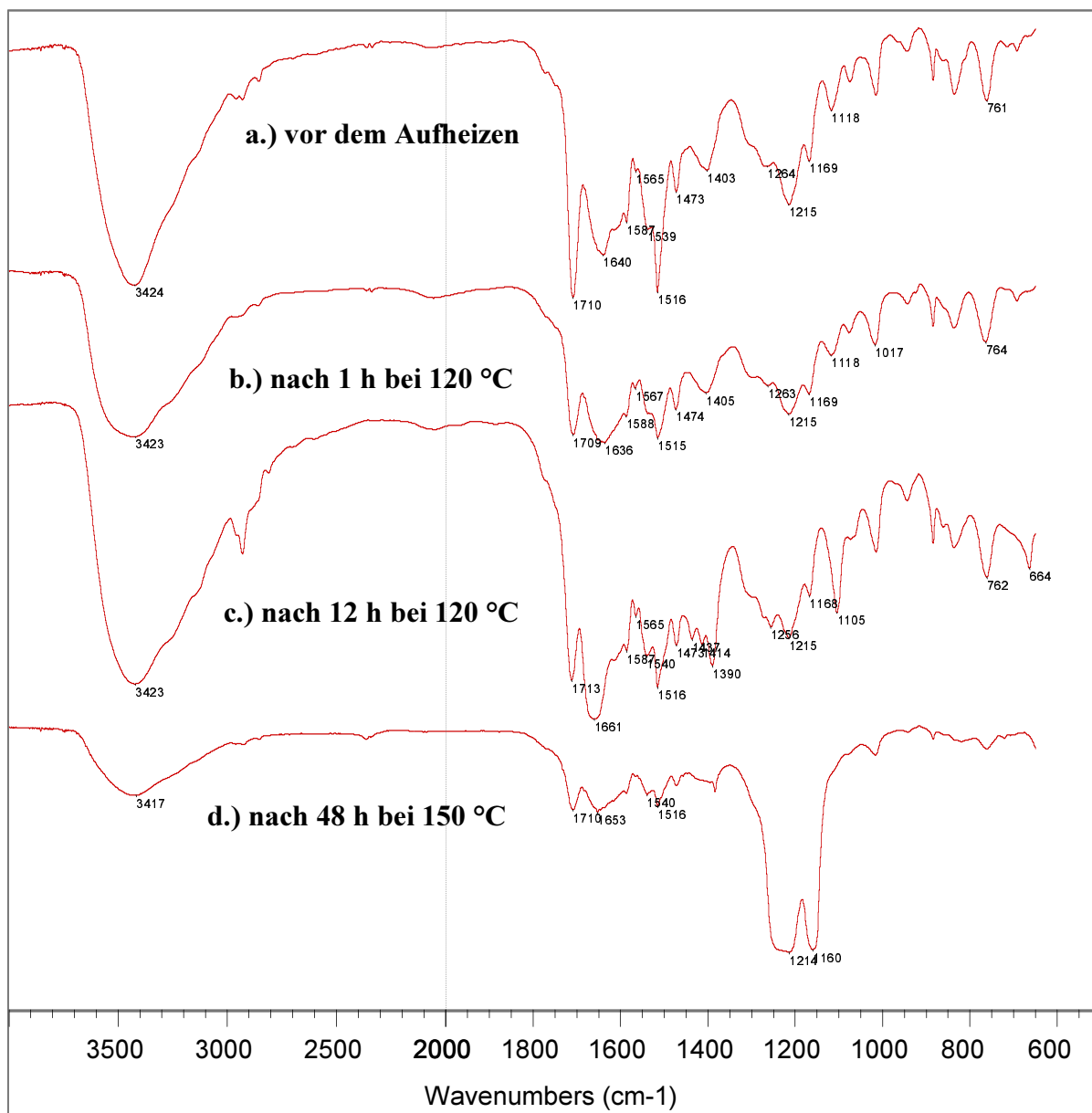


Abbildung 3.4.8: Spektrenunterschiede während des Aufheizens eines Films von Copolymer 32

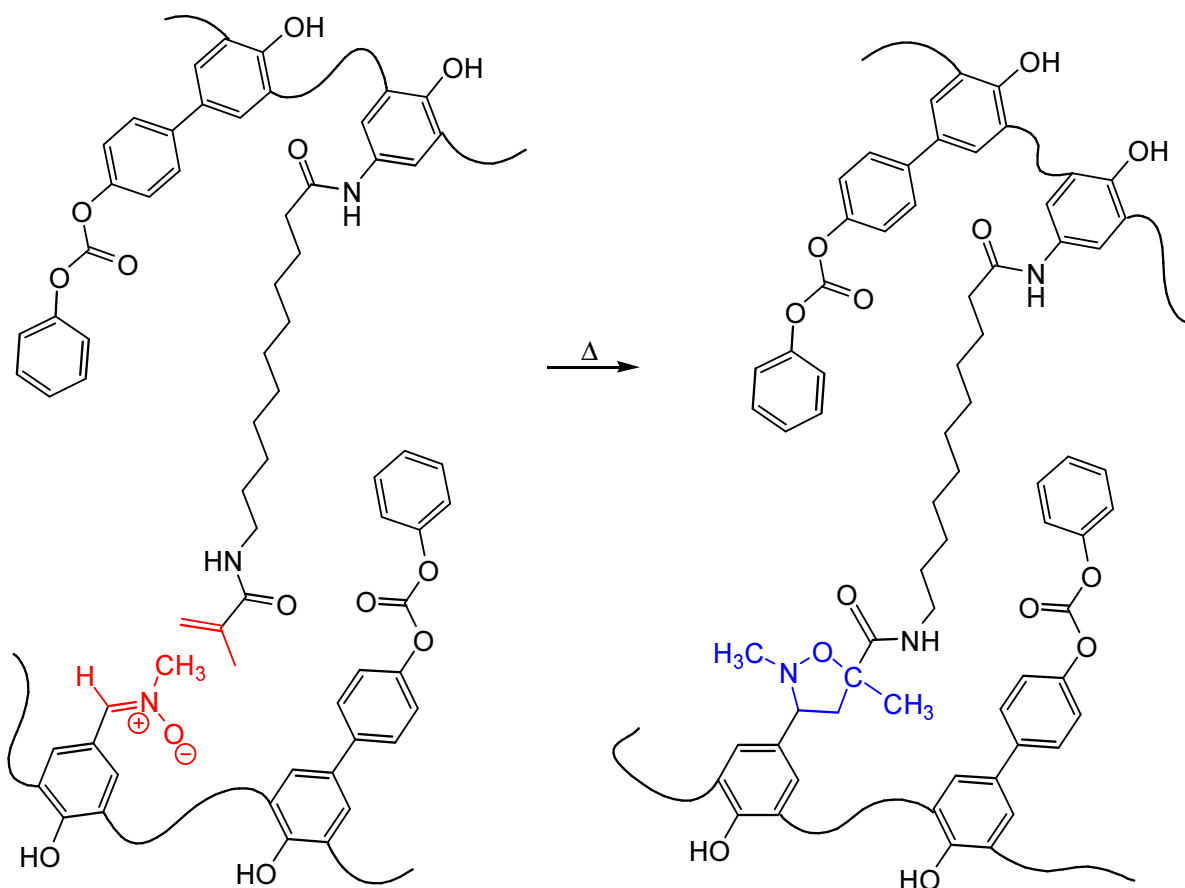
Ab diesem Zeitpunkt begann auch eine Nebenreaktion einzutreten, denn bei  $1105\text{ cm}^{-1}$  trat ein neues Signal in Erscheinung. Dies läßt auf die Bildung von aromatischen Etherbrücken durch oxidative Vernetzung der Phenole schließen. Veränderungen im Substitutionsmuster der Aromaten waren nur bei  $664\text{ cm}^{-1}$  erkennbar. Um die Nebenreaktionen besser zu analysieren wurden die Bedingungen nochmals verschärft, und das Material bei  $150\text{ °C}$  für 48h erhitzt. Dabei wurde ein irreversibel vernetztes Material erhalten. **Abbildung 3.4.8.d** stellt ein typisches Spektrum eines oxidativ vernetzten Polyphenols dar, wie es auch für andere Polyphenole von Mitarbeitern erhalten wurde<sup>[109b]</sup>. Durch die oxidative Vernetzung formierten sich wahrscheinlich neue Oxyphenylen- und Phenylen-Verbrückungen. Dies führt zu einem starren Grundgerüst, so daß die Signale für alle funktionellen Gruppen verbreitert werden. Deutlich zu erkennen sind nur die phenolischen OH-Gruppen, die zu einem breiten Signal bei  $1214\text{ cm}^{-1}$  führen, und die aromatischen Ethergruppen, die eine Absorption bei  $1160\text{ cm}^{-1}$  hervorrufen. Dieses ist nicht zu verwechseln mit der schwächeren Absorption bei  $1169\text{ cm}^{-1}$ , die durch die Furanosyl-Gruppe von **31** in den Spektren **a-c** hervorgerufen werden. Aufgrund der irreversiblen Nebenreaktionen war es nicht möglich, eine Retro-Diels-Alder Reaktion durchzuführen. Dies vereitelte die Absicht, ein reversibel vernetzbares Copolymer zu erhalten.

### 3.4.6 Thermische Vernetzung des Copolymeren **33** und des Terpolymeren **35**

Aus dem FT-IR-Spektrum von Copolymer **33** verschwand die Absorption der N-O-Streckschwingung der Nitrongruppe bei  $1157\text{ cm}^{-1}$  während weniger Stunden Aufbewahrungszeit bei Raumtemperatur vollständig. Da keine Hydrolyse zu Aldehyden anhand einer neuen IR-Absorption bei  $1676\text{ cm}^{-1}$  festzustellen war, ist dies ein starker Hinweis auf einen Verbrauch der Nitrongruppen durch 1,3-dipolare Cycloadditionen mit den Methacryloylgruppen zu Isooxazolidin-Ringen (**Abbildung 3.4.9**), zumal ähnliche Reaktionen schon in **Kapitel 3.3** bewiesen worden waren. Im Gegensatz zum Copolymeren **32** vernetzte das Copolymer **33** schon bei Raumtemperatur, oftmals auch bereits direkt bei der Polymersynthese.

Um ein weniger reaktives Material zu erhalten, war in das Copolymer **33** noch ein Äquivalent 4'-Benzoyloxybiphenyl-4-ol (**34**) eingebaut worden, um die mittleren Abstände zwischen den reaktiven Gruppen von **3** und **26** zu erhöhen (vgl. **Abbildung 3.4.2**). Das resultierende

Terpolymer **35** wurde jedoch nach der Aufarbeitung stets nur als unlöslicher Feststoff gewonnen. Es wurden Löseversuche in z.B. THF, DMF, DMSO, NMP und NaOH unternommen, wobei aber keine Fraktionen aus dem Netzwerk herausextrahiert werden konnten. Das FT-IR-Spektrum zeigte bei  $1157\text{ cm}^{-1}$  keine Nitronbande (**Abbildung 3.4.10**). Demzufolge hatten alle Nitrongruppen entweder durch 1,3-dipolare Cycloaddition oder durch Hydrolyse reagiert. Zwar konnte aufgrund der breiten Absorption der Amidgruppen bei  $1664\text{ cm}^{-1}$  nicht ausgeschlossen werden, daß teilweise eine Hydrolyse der Nitrongruppen eingetreten war. Die Unlöslichkeit des Terpolymeren in den oben erwähnten Lösungsmitteln zeigt aber, daß ein Netzwerk durch 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen Nitrongruppen und Methacryloylgruppen gebildet worden war.



**Abbildung 3.4.9: Schematische Darstellung des thermisch induzierten Vernetzungsprozesses der Terpolymeren 35 (prinzipiell identisch mit 33)**

Aus Forschungsergebnissen der Diplomarbeit war bekannt, daß Homopolymere von **34** ein verhältnismäßig großes Molekulargewicht erreichen. Da die Löslichkeit der enzymatisch hergestellten Polyphenole mit steigendem Polymerisationsgrad schnell abnimmt<sup>[44]</sup>, kann man

spekulieren, daß im Vergleich zum Copolymer **33**, in dem mehrere verknüpfte kurze Ketten noch einen löslichen Verbund bzw. ein hyperverzweigtes Polymer bilden könnten, im Terpolymer **35** wegen des größeren Molekulargewichts schon wenige Verknüpfungspunkte zur Unlöslichkeit des Materials führten. Wahrscheinlich ließ sich aus diesem Grund das Terpolymer nicht unvernetzt bei Raumtemperatur erhalten.

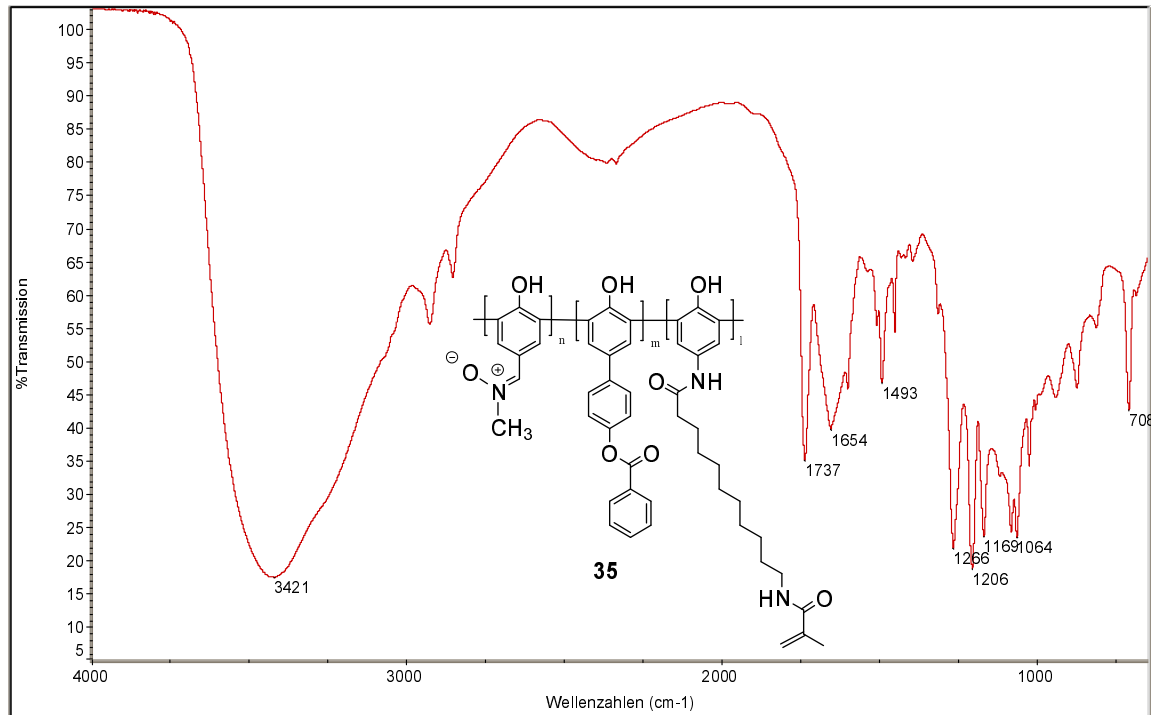


Abbildung 3.4.10: FT-IR-Spektrum von Terpolymer **35**

## 3.5 Poly[4-aminophenol] als Redoxpolymer

### 3.5.1 Motivation

Von Dordick *et al.* wurde 1995 über die multi-enzymatische Synthese von Poly[hydrochinon] ausgehend von Hydrochinon- $\beta$ -glucosid berichtet<sup>[92]</sup>. Ritter, Kobayashi *et al.* publizierten die Synthese von Poly[hydrochinon] ausgehend von 4-Hydroxyphenylbenzoat<sup>[94]</sup>. Redoxpolymere dieses Typs zeigten bei cyclovoltammetrischen Messungen Potential für technische Anwendungen<sup>[92]</sup>. Daher wurde die Synthese eines ähnlichen Redoxpolymeren versucht, dessen Synthese aber einfacher und kostengünstiger ausfallen sollte.

### 3.5.2 Synthese von Poly[4-aminophenol] (45)

Als Grundkörper für die Synthese des neuen Redoxpolymeren wurde 4-Aminophenol (**41**) gewählt. Bei der HRP-katalysierten Umsetzung von **41** mit  $H_2O_2$  trat, wie erwartet, bevorzugt eine Oxidation zum [1,4]Benzochinon-monoimin ein. Dies war analytisch an charakteristischen Peaks im  $^{13}C$ -NMR-Spektrum bei 185,0 und 146,3 ppm erkennbar. Die Aminogruppe wurde daher durch Bildung eines Azomethins mit 4-Nitrobenzaldehyd (**42**) geschützt. Das so erhaltene 4-(4-Nitrobenzylidenamino)-phenol (**43**) ließ sich mit HRP/ $H_2O_2$  zum entsprechenden Polyphenol (**44**) umsetzen. Nach der polymeranalogen sauren Abspaltung der Azomethin-Schutzgruppen wurde das Poly[4-aminophenol] (**45**) erhalten.

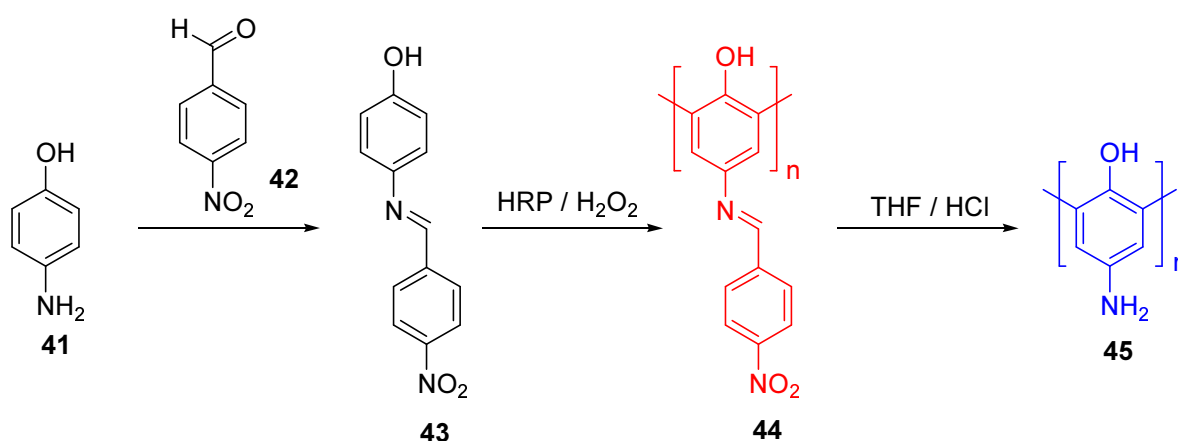


Abbildung 3.5.1: Synthese von Poly[1,3-(4-aminophenol)] (44)

### 3.5.3 Charakterisierung von Poly[4-(4-nitrobenzylidenamino)-phenol] (44)

Das FT-IR-Spektrum von **44** (**Abbildung 3.5.2, Mitte**) zeigt breite Absorptionsbanden bei  $3200\text{ cm}^{-1}$  für die Valenzschwingungen der OH-Gruppen und um  $1200\text{ cm}^{-1}$  die Deformationsschwingungen der OH-Gruppen und die C-O Valenzschwingungen. Die asymmetrischen Valenzschwingungen der Nitrogruppen sind bei  $1518\text{ cm}^{-1}$ , die symmetrischen bei  $1342\text{ cm}^{-1}$  als starke Absorptionsbanden erkennbar.

Während für das Monomer **43** (**Abbildung 3.5.2, oben**) die Absorptionen der beiden 1,4-disubstituierten aromatischen Ringe im *fingerprint* bei  $853\text{ cm}^{-1}$  und  $833\text{ cm}^{-1}$  auftauchen, zeigt das Polymer **44** nur einen breiten Peak bei  $852\text{ cm}^{-1}$ . Dieser Peak kann eindeutig der 4-Nitrobenzyl-Schutzgruppe zugeordnet werden, denn er fehlt im FT-IR-Spektrum von **45** (**Abbildung 3.5.2, unten**) nach der sauren Abspaltung der Schutzgruppen. Dies bedeutet aber im Umkehrschluß, daß der Abbau der Absorptionsbande bei  $833\text{ cm}^{-1}$  im Spektrum von **44** durch eine Änderung des Substitutionsmusters des Phenolrings während der Polymerisation von **43** zustande gekommen sein muß. Es wurden also Phenylen-Verknüpfungen gebildet. Als Folge der Bildung der Phenylen-Verknüpfungen bleiben an der Aromatenkette isolierte H-Atome zurück, die nur schwache Signale bei  $900\text{ cm}^{-1}$  bis  $800\text{ cm}^{-1}$  verursachen, so daß hierfür kein neues Signal im FT-IR-Spektrum beobachtet werden kann. Die Restintensität der Bande bei  $833\text{ cm}^{-1}$  rührt offensichtlich von den Endgruppen der Polyphenole her. Der Absorptionsbereich der aromatischer Ether von  $1169\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$  war zu stark überlagert, um ausgewertet zu werden.

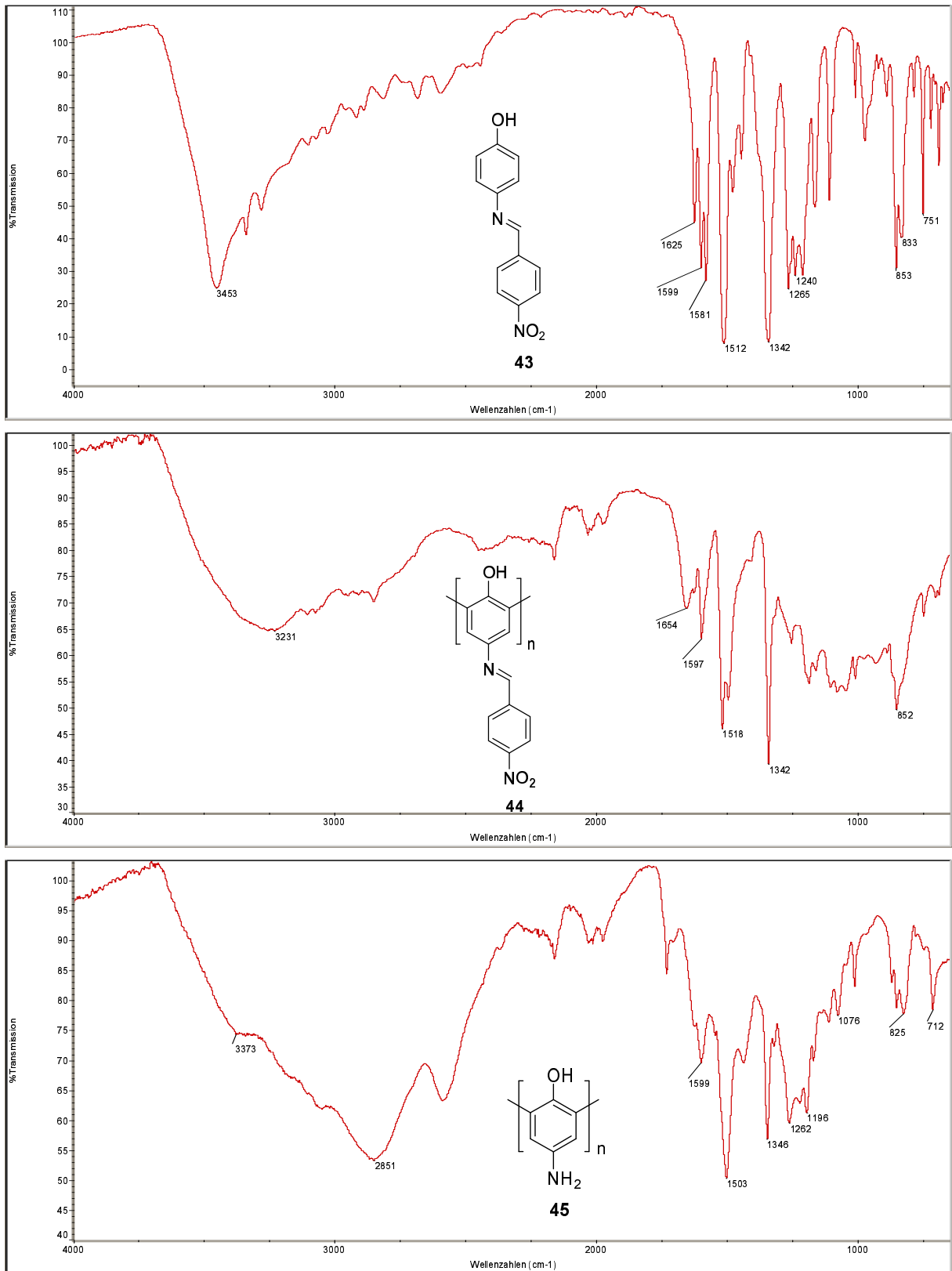
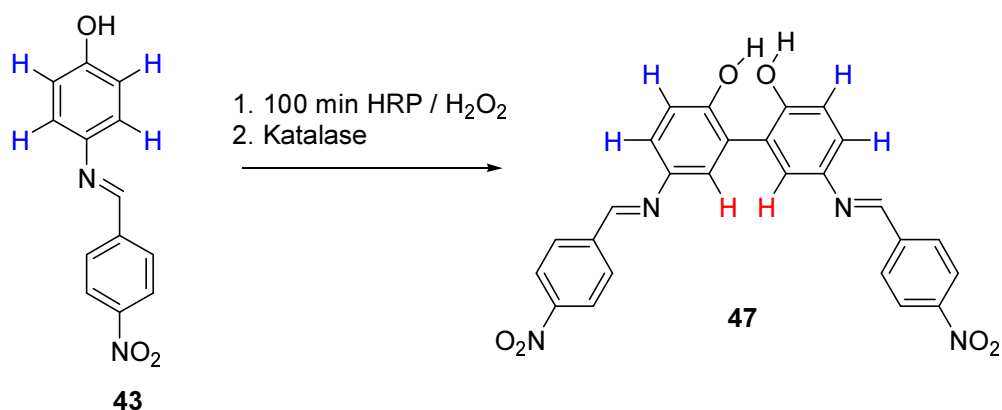


Abbildung 3.5.2: Die FT-IR-Spektren von Monomer 3 und den Polymeren 4 und 5 (von oben nach unten)

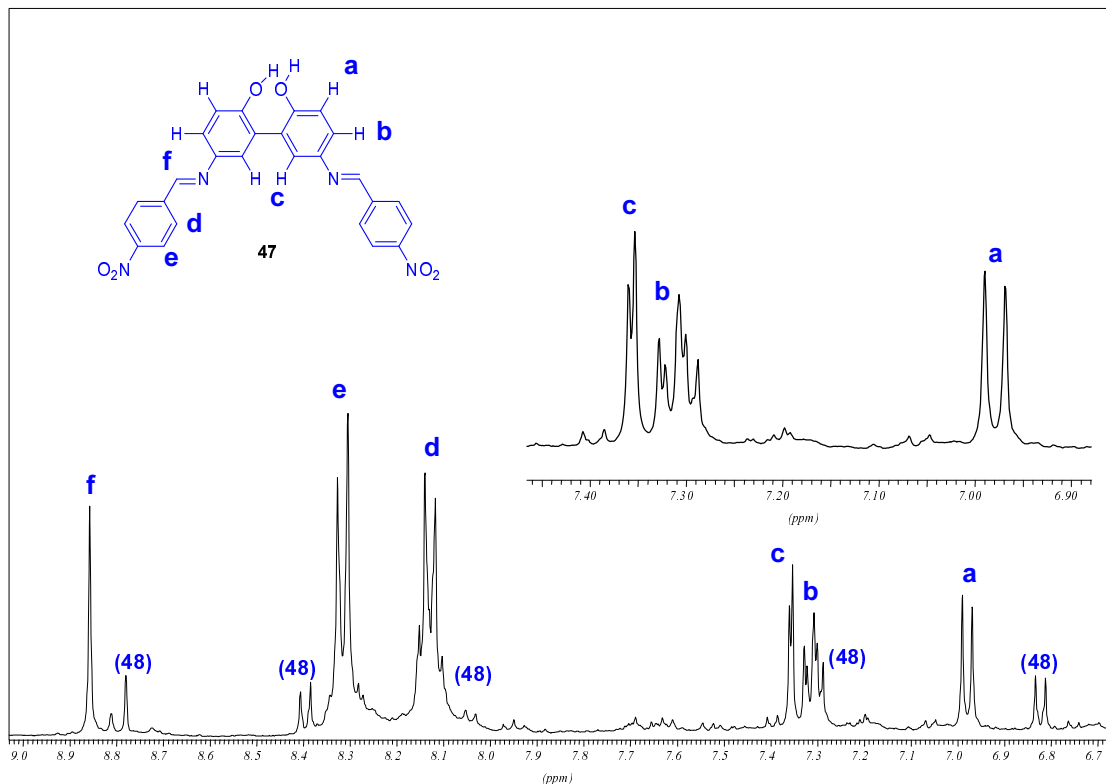
Da die Struktur des Polyphenols **44** aufgrund stark verbreiteter Resonanzen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nicht direkt aufgeklärt werden konnte, wurden selektiv Dimere synthetisiert und deren Verknüpfung mit  $^1\text{H-NMR}$ - und  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie charakterisiert. Dazu wurden die im vorangegangenen **Kapitel 3.4, Abschnitt 3.4.4** vorgestellten GPC- und HPLC Ergebnisse benutzt, nach denen die Anzahl der während der enzymatischen Polymerisation gebildeten Dimere nach etwa 100 min maximal sein sollte **Abbildung 3.4.5**.



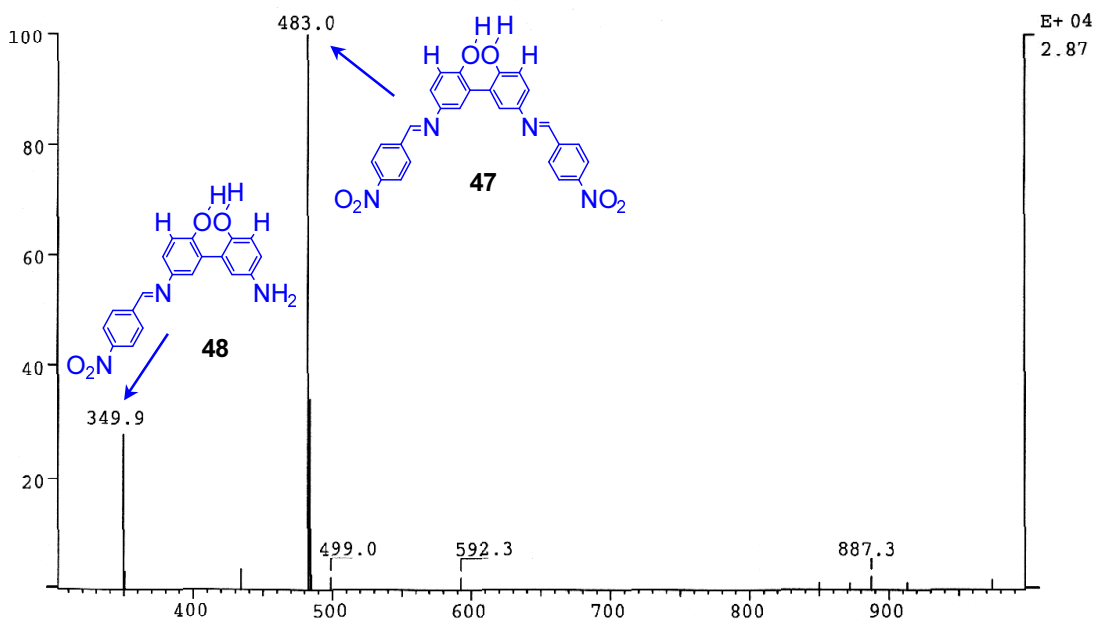
**Abbildung 3.5.3: Selektive HRP-katalysierte Synthese eines Dimers von 43**

Im Polymerisationsansatz von **43** wurden nach 100 min Reaktionszeit wie erwartet hauptsächlich Dimere (**47**), neben einer kleinen Menge höhermolekularer Anteile und noch verbliebenem Monomer gefunden. Die Dimere (**47**) wurden chromatographisch abgetrennt. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **47** zeigte im Vergleich zu **43** bei 7,3 ppm kein Dublett für das AB-System von **43**. Die Aufspaltung der bei 7,36 ppm und 7,32 ppm liegenden Signale korrespondiert mit der Bildung eines ABX-Systems, wie erwartet (**Abbildung 3.5.4**).



Abbildung 3.5.4: 400 MHz  $^1\text{H}$ -NMR des Dimeren **47**

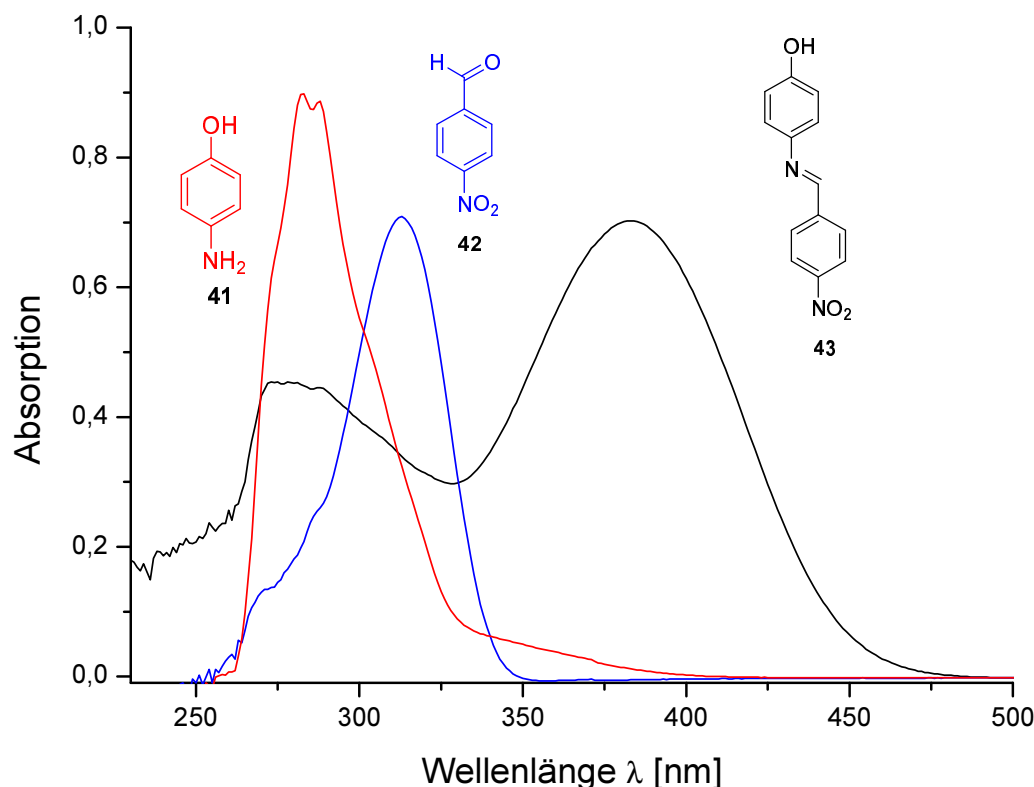
Das kleinere Dublett bei 6,83 ppm wurde durch teilweise Hydrolyse von Azomethinen (vgl. **48**) verursacht, wie mit FD-MS festgestellt wurde (Abbildung 3.5.5). Die Hydrolyse kam durch die Chromatographie von **47** an saurem Kieselgel zustande.

Abbildung 3.5.5: FD-MS-Spektrum des Dimeren **47** (full scan)

Das Dimer **47** wurde abschließend auch mit  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie charakterisiert. Die Analyse des Dimers **47** zeigte somit auf, daß die Phenole **43** zu Beginn der enzymatischen Polymerisation über die *ortho*-Positionen rekombinierten. Eine Extrapolation dieser Verknüpfungen sollte zu einem *ortho-ortho*-verknüpften Polyphenol **44** führen.

### 3.5.4 Charakterisierung von Poly[4-aminophenol] (**45**)

Die polymeranaloge Abspaltung der Schutzgruppen von **44** verlief quantitativ, wie mit UV-Vis-Spektroskopie gezeigt werden konnte. Wie aus **Abbildung 3.5.6** hervorgeht, kann dem Azomethin ein UV-Absorptionsmaximum bei 380 nm zugeordnet werden, das weder im Spektrum von 4-Aminophenol, noch in dem von 4-Nitrobenzaldehyd auftaucht.



**Abbildung 3.5.6:** UV-Vis-Spektren von 4-Nitrobenzaldehyd (blau), 4-Aminophenol (rot) und **43** (schwarz)

Die Tatsache, daß das UV-Vis-Spektrum von **44** eine Absorption bei 380 nm aufweist, ist somit auch ein Beweis für die Präsenz intakter 4-Nitrobenzylschutzgruppen in diesem Polymer (**Abbildung 3.5.7**). Nach deren Abspaltung ist die Absorptionsbande bei 380 nm verschwunden. Statt dessen hat sich bei 300 nm eine Schulter aufgebaut, deren Lage mit dem Maximum von 4-Nitrobenzaldehyd korreliert. Die Abspaltung der Schutzgruppen verlief

demnach quantitativ, die 4-Nitrobenzylreste waren aber zunächst nicht komplett aus dem Polymeren **45** extrahierbar, so daß auch das FT-IR-Spektrum noch immer die Nitrobande bei  $1342\text{ cm}^{-1}$  zeigte. Die 4-Nitrobenzylreste ließen sich erst nach weiteren Reinigungsschritten quantitativ entfernen.

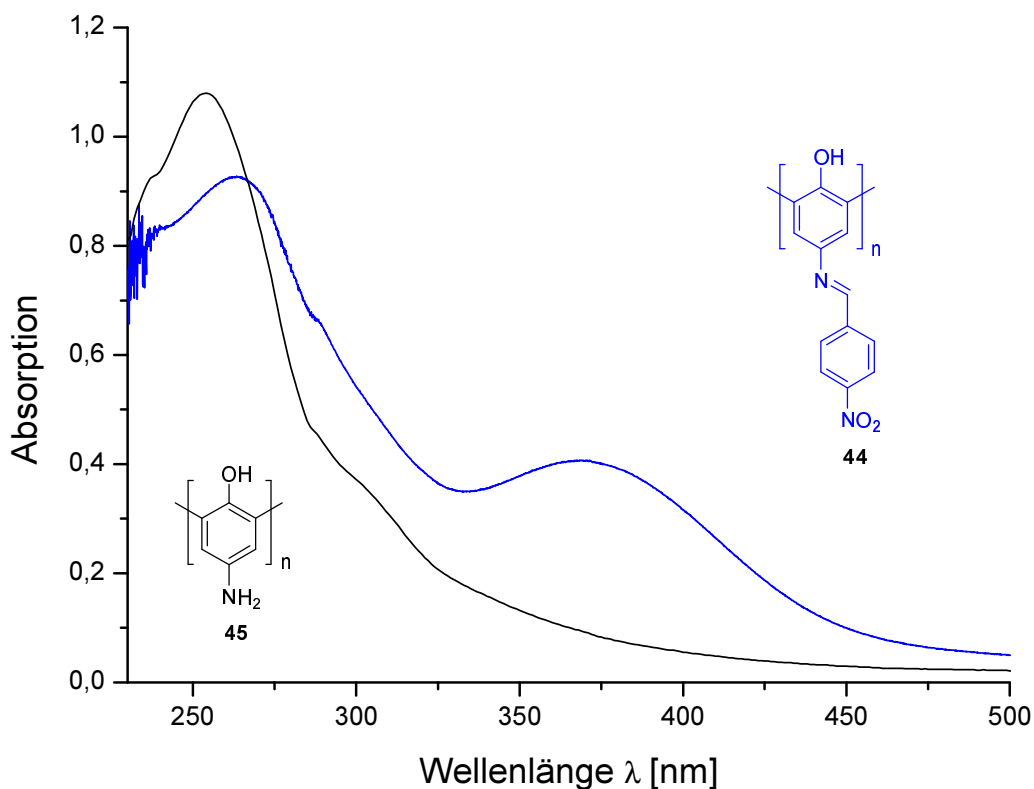


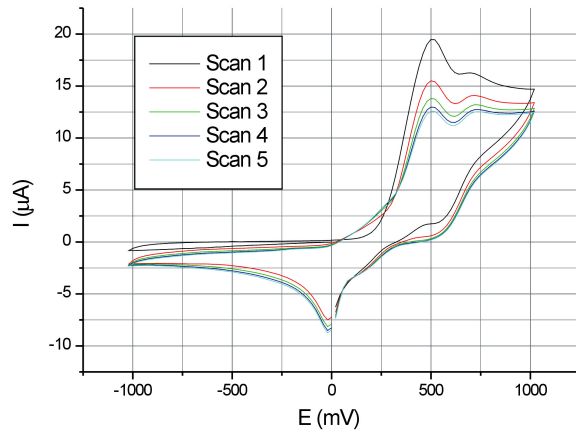
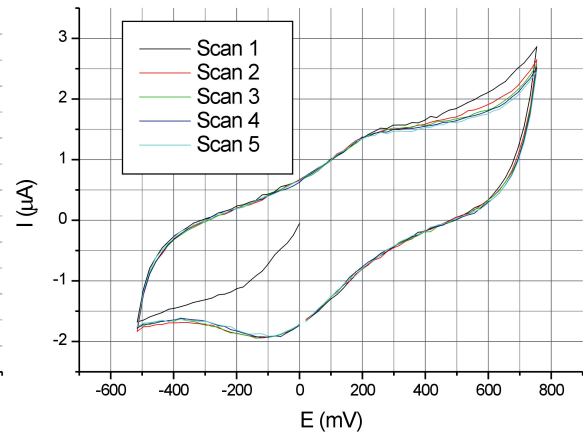
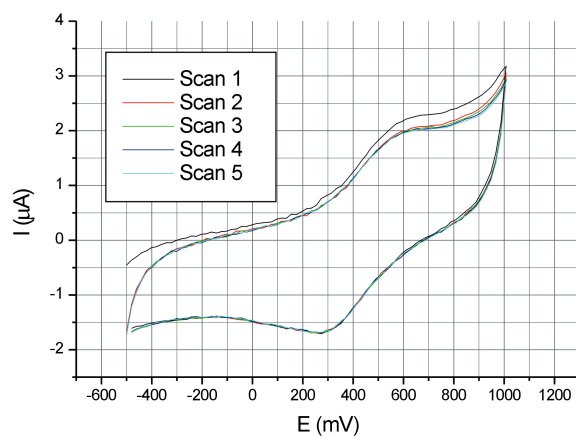
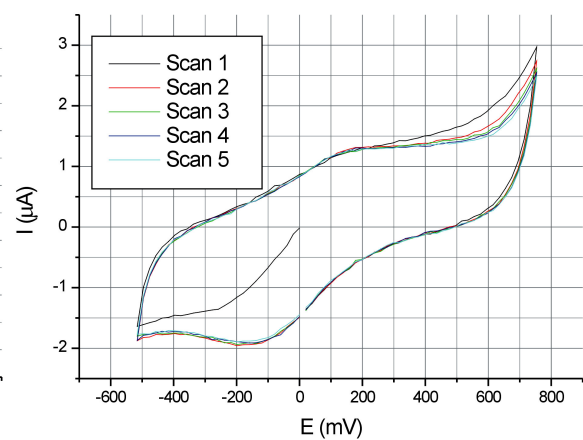
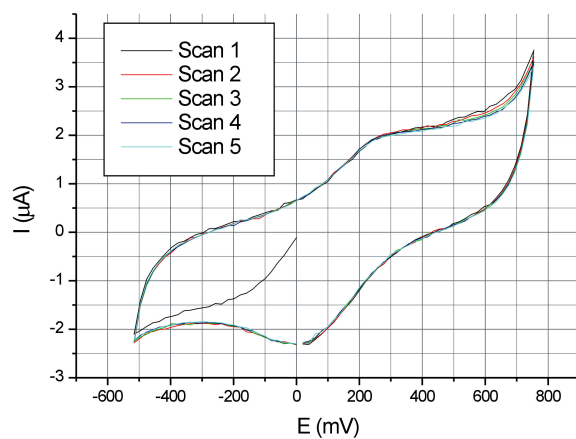
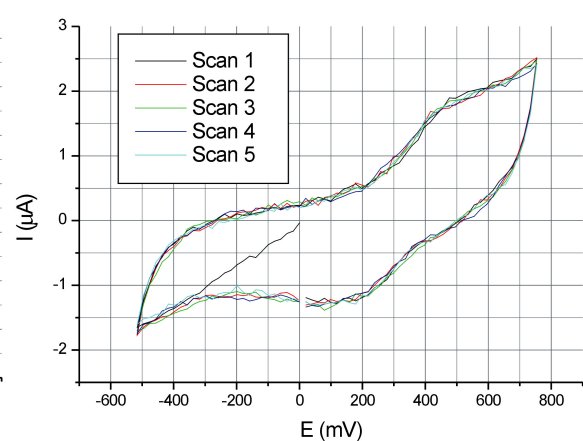
Abbildung 3.5.7: UV-Vis-Spektren der Polymere **44** und **45**

### 3.5.5 CD-Spektroskopie am Polyphenol **44**

Zum Abschluß wurden mit dem Polyphenol **44** Circular dichroismus-Messungen durchgeführt. Die Verknüpfung der Phenole über die *ortho*-Positionen sollte zu einer helikalen Struktur des resultierenden Polyphenols führen. Eine Helixstruktur mit einer Vorzugsgängigkeit sollte ein großes CD-Signal liefern. Gefunden wurde aber, daß links- bzw. rechtsgängige Helices, deren Existenz vorausgesetzt, praktisch zu gleichen Teilen vorkommen müssen (0,05 % Überschuß an rechtsgängiger Helix), da nur ein äußerst schwaches Signal beobachtet werden konnte. Dieser Befund steht aber in Einklang mit dem in der biochemischen Literatur anerkannten Ping-Pong-Mechanismus für die Oxidation der Phenole durch HRP in Gegenwart von  $\text{H}_2\text{O}_2$ <sup>[60, 61]</sup>. Wenn nämlich der Rekombinationsprozeß der Phenoxyradikale außerhalb des aktiven Zentrums stattfindet, gibt es bei einem achiralen Molekül wie **43** auch keine vorgegebene Gängigkeit für die entstehende Helix.

### 3.5.6 Cyclovoltametrische Messungen am Polyphenol 45

Ein Film von **45** wurde in verschiedenen Pufferlösungen mittels Cyclovoltametrie untersucht. Wie erwartet waren die Redox-Eigenschaften des Materials sehr abhängig vom pH-Wert<sup>[131]</sup>. In 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurden klare Signale für die Oxidation bei 580 mV und für die Reduktion bei 370 mV erhalten. Eine Erhöhung des pH-Werts in den Stufen 5,5; 7,0 und 8,3 verursachte einen Shift beider Peaks zu niedrigeren Spannungen. Dieser Befund wurde für eine reversible Oxidation der 4-Aminophenol-Einheiten erwartet, da bei höherem pH-Wert Phenolate vorliegen und die Aminogruppen deprotoniert sind. Beides begünstigt die Oxidation. Man kann davon ausgehen, daß bei der Oxidation einer 4-Aminophenol-Einheit ein  $2e^-/2H^+$  Transfer zu einem 4-Imino-2,5-cyclohexadien-1-on stattfindet<sup>[92]</sup>. Für das in DMSO/Tetra-butylammonium-hexafluorophosphat (0,1 M) gelöste Monomer (0,01 M) wurden auch entsprechend zwei Oxidationspeaks und zwei Reduktionspeaks gefunden. Die Cyclovoltamogramme des Polymerfilms waren nicht gut genug aufgelöst, um nähere Aussagen zu treffen.

a.) **1** in DMSO gelöstd.) Film von **45** in wässrigem Puffer (pH 7,0)b.) Film von **45** in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>e.) Film von **45** in wässrigem Puffer (pH 8,3)c.) Film von **45** in wässrigem Puffer (pH 5,5)f.) Film von **45** in wässrigem Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>Abbildung 3.5.8: Cyclovoltammogramme von 4-Aminophenol und einem Polyphenolfilm von **45**

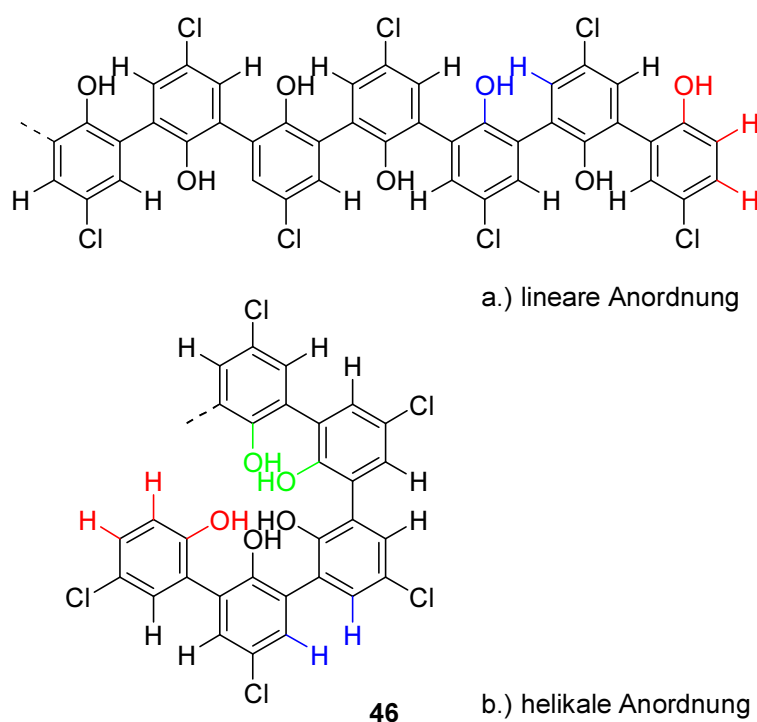
## 3.6 Strukturbestimmungen an Poly[4-chlorphenol]

### 3.6.1 Motivation

An einem größeren Polyphenol ( $P_n > 50$ ) wurden 2D-NMR Studien zur Strukturaufklärung durchgeführt. Für diesen Zweck waren die bisher vorgestellten Polyphenole wegen ihrer Reste zu komplex. Für ein auswertbares 600 MHz ROESY-NMR eines Polyphenols wurde deshalb 4-Chlorphenol als Monomer ausgewählt. Die Polymerisation dieses Monomeren war bereits Gegenstand zahlreicher Untersuchungen zum Polymerisationsmechanismus (Nicell *et al.*<sup>[60]</sup>) und Eigenschaften der Polyphenole (Dordick *et al.*<sup>[81]</sup>). Es wurden jedoch noch keine Strukturdaten veröffentlicht.

### 3.6.2 600 MHz $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -ROESY-NMR von Poly[4-chlorphenol] (46)

In **Abbildung 3.6.1** ist die Motivation zur Aufnahme des 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrums von Poly[4-chlorphenol] (46) anhand zweier möglicher Polymer-Konformationen, einer linearen und einer helikalen, verdeutlicht.



**Abbildung 3.6.1:** Zwei verschiedene Konformationen von Poly[4-chlorphenol] (46)

Bei einer linearen Anordnung der 4-Chlorphenole über *ortho-ortho*-Verknüpfungen sollten nur zwischen Hydroxygruppen und *meta*-Protonen (**Abbildung 3.6.1.a, blau**) räumliche

Kopplungen vorhanden sein. Zwischen *ortho*- und *meta*-Protonen am Kettenende (**Abbildung 3.6.1.a, rot**) bestehen Kopplungen durch die Kette. Eine helikale Anordnung jedoch, für die in den vorangegangenen Kapiteln bereits experimentelle Bestätigungen geschildert wurden, führt zur räumlichen Nähe der *meta*-Protonen (**Abbildung 3.6.1.b, blau**) innerhalb der Kette. Diese helikale Struktur sollte durch die Wasserstoffbrücken der phenolischen OH-Protonen stabilisiert werden. Es entstehen bei dieser Konformation dann keine räumlichen Wechselwirkungen von aromatischen *meta*-Protonen mit OH-Gruppen innerhalb der Kette. Kreuzpeaks zwischen Signalen von OH-Gruppen und aromatischen Protonen wären dann nur für die *ortho*-Protonen am Kettenende zu erwarten (**Abbildung 3.6.1.b, rot**).

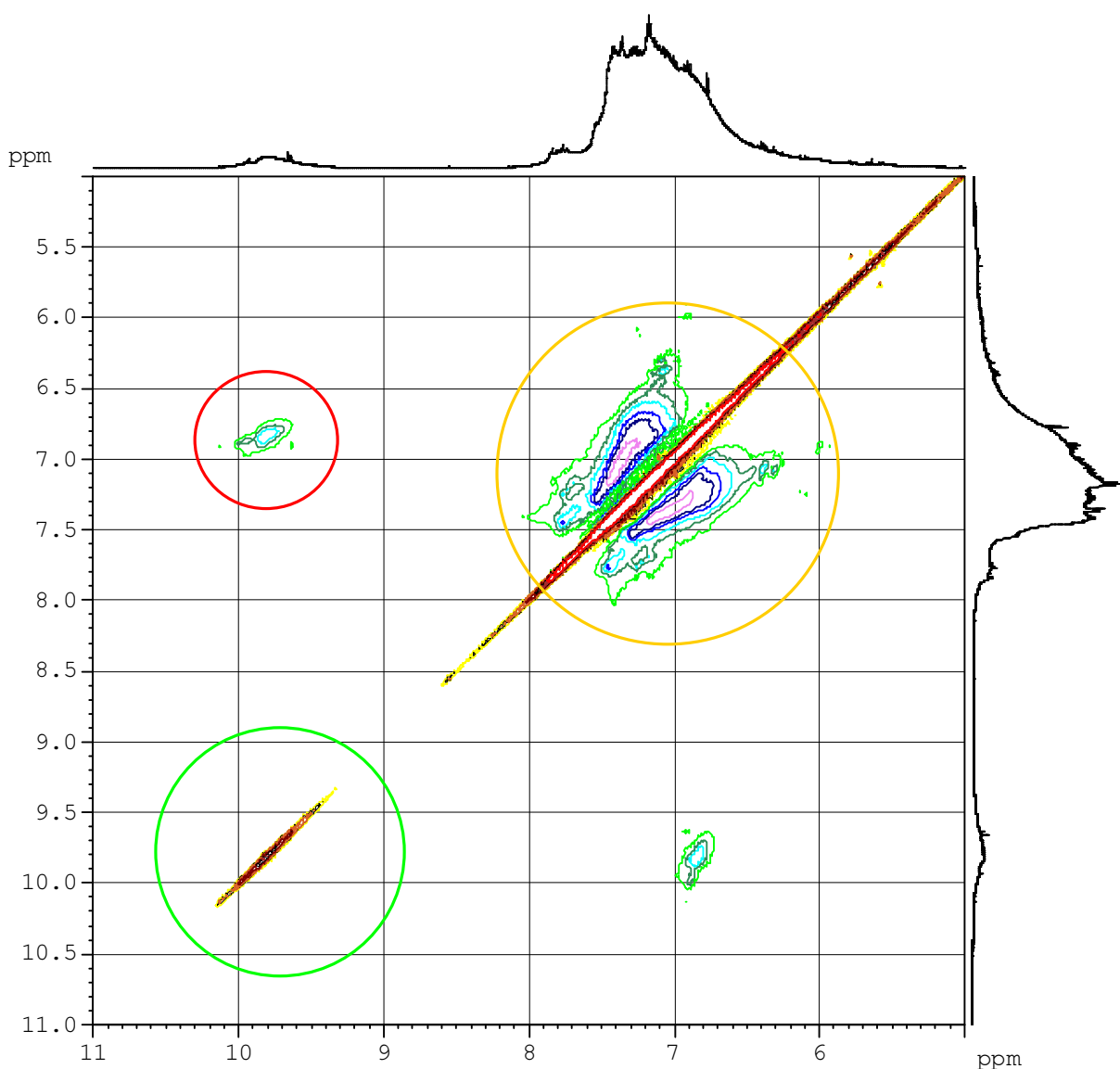
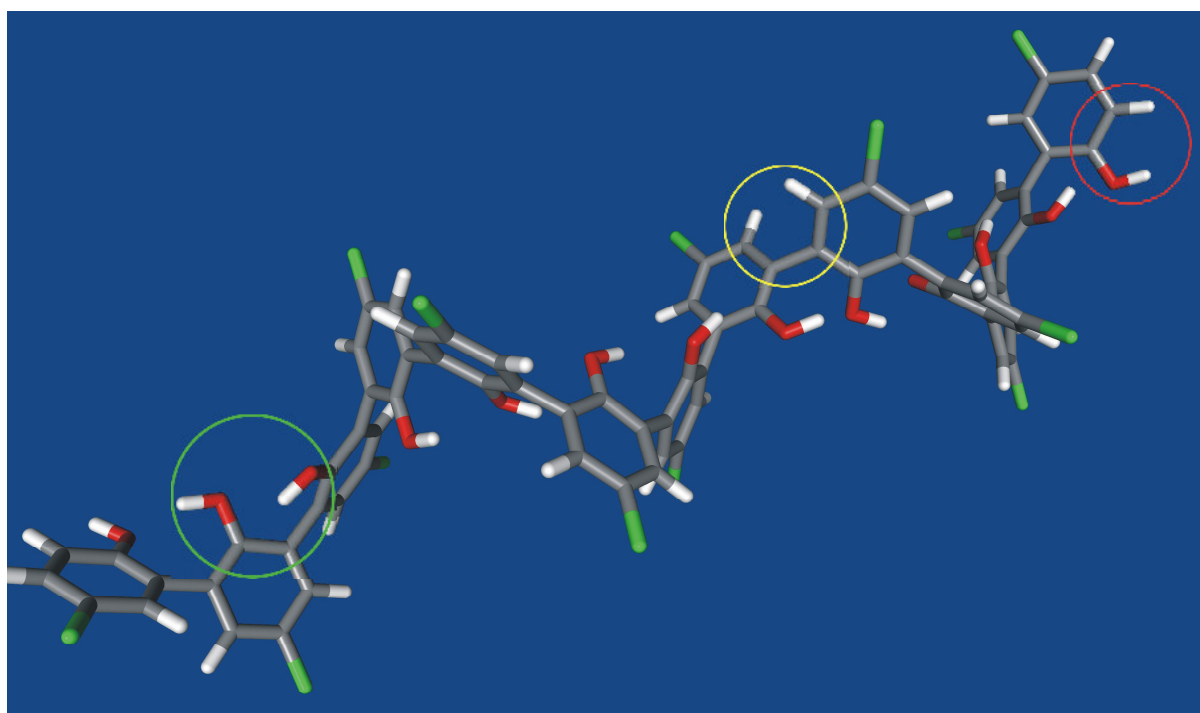


Abbildung 3.6.2: 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum von Polyphenol 46

Das 600 MHz  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-Spektrum von **46** korreliert mit den zuvor getroffenen Aussagen. Im Spektrum (**Abbildung 3.6.2**) sind neben der Diagonalen breite Kreuzpeaks zu

sehen, welche die räumlichen Wechselwirkungen zwischen den *meta*-Protonen repräsentieren (gelber Kreis). Der Abstand der *meta*-Protonen muß demnach deutlich unter 5 Å, eher noch unter 4 Å liegen<sup>[105-107]</sup>. Ein Kraftfeld-optimiertes (MM2) Computermodell, das ausgehend von einem Dichte-funktional gerechneten Dimer (pBP/DN\*) entwickelt wurde (**Abbildung 3.6.3**), schlägt für den mittleren Abstand zweier *meta*-Protonen in der Kette etwa 2,46 Å (gelber Kreis) vor. Der mittlere Abstand der OH-Protonen untereinander wurde mit 2,48 Å berechnet (grüner Kreis). Besonders wichtig erscheint aber die Tatsache, daß nur ein kleiner Teil der aromatischen Protonen einen Kreuzpeak mit OH-Gruppen im 600 MHz <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum zeigt. Diese Aromaten-Protonen zeigen Resonanz bei höchstem Feld. Da die *ortho*-Protonen an den Kettenenden bei deutlich höherem Feld Resonanz zeigen als alle *meta*-Protonen, muß es sich also bei dem in **Abbildung 3.6.1** mit einem roten Kreis gekennzeichneten Kreuzpeak um die Wechselwirkung der *ortho*-Protonen mit den OH-Gruppen handeln, der nach Computer-Berechnungen 3,40 Å beträgt. Dies wurde auch an Hand von <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR-Korrelationen deutlich.



**Abbildung 3.6.3:** MM2-energieoptimierte Computersimulation der helikalen Struktur von 46 ( $P_n = 13$ )

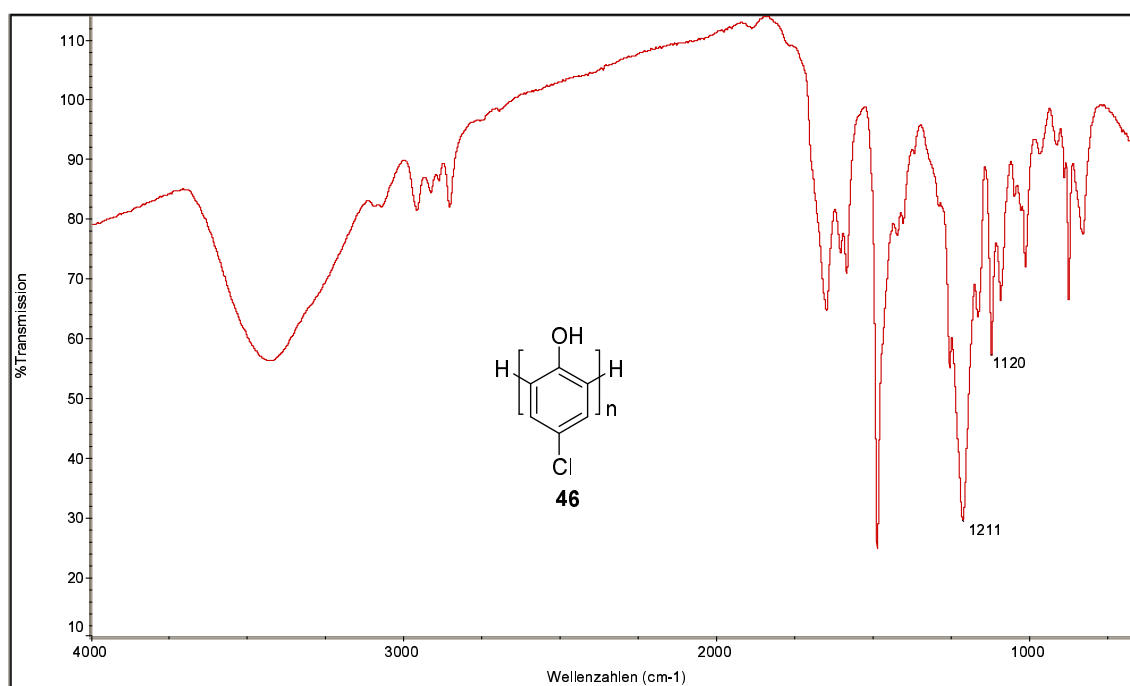
Der mittlere Abstand eines *meta*-Protons zu einem Hydroxyproton jedoch beträgt innerhalb der helikalen Struktur nach den Berechnungen mehr als 4,5 Å, und daher ist für diesen Raumkontakt im 600 MHz <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-ROESY-Spektrum kein Kreuzpeak zu beobachten. Da keine Raumkontakte zwischen *meta*-Protonen und Hydroxyprotonen existieren, kann eine lineare Anordnung des Polyphenols ausgeschlossen werden. Zusätzlich impliziert das



Spektrum, daß das Poly[4-chlorphenol] in einer weitgehend aus *ortho-ortho*-verküpften Phenolen gebildeten Struktur vorliegt, da anderweitig räumliche Nähe zwischen *meta*-Protonen und OH-Gruppen vorliegen sollte. Außerdem existierten Wechselwirkungen zwischen *ortho*-Protonen und OH-Gruppen nachweislich nur am Kettenende.

### 3.6.3 FT-IR-Messungen zur Untersuchung der Lagerbeständigkeit von Polyphenolen

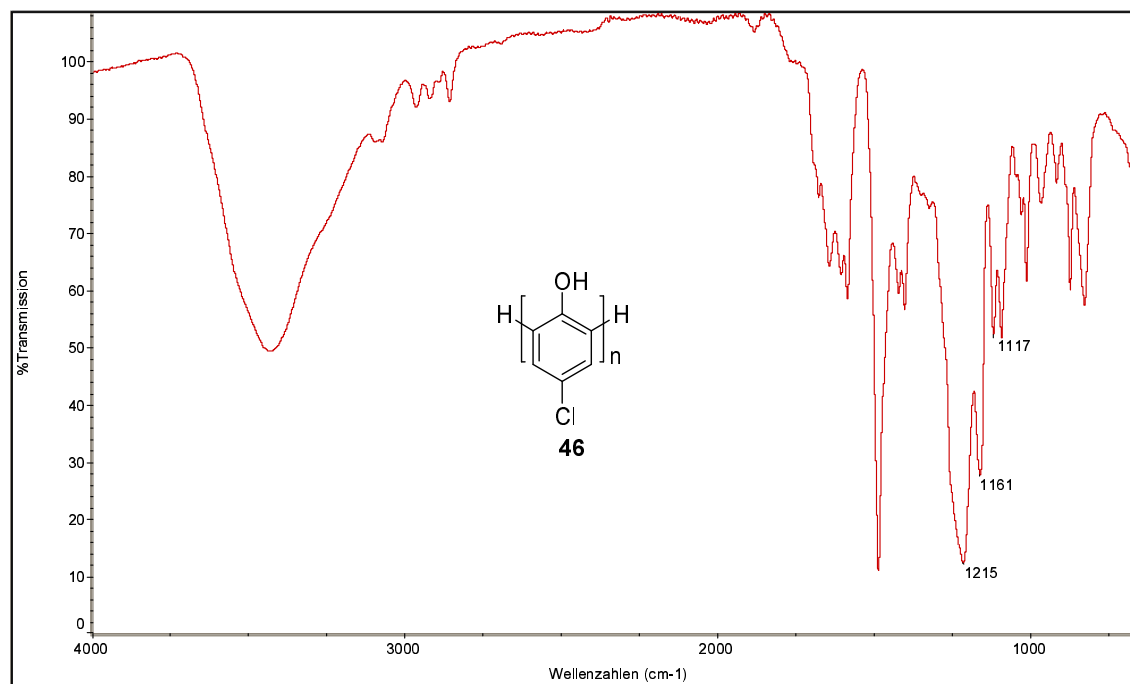
Für das zuvor mit NMR untersuchte Poly[4-chlorphenol] (**46**) wurde die Abwesenheit von Oxyphenyleneinheiten mit FT-IR-Spektroskopie bestätigt, da zwischen  $1169\text{ cm}^{-1}$  und  $1100\text{ cm}^{-1}$  gegenüber dem Spektrum von 4-Chlorphenol kein neuer Peak auftauchte (das Signal bei  $1120\text{ cm}^{-1}$  des Monomeren diente für die weiteren Untersuchungen als Referenz (**Abbildung 3.6.4**). Von anderen Arbeitsgruppen war aber die Bildung von Phenoxyethern bei vergleichbaren Polyphenolen anhand ihrer FT-IR-Spektren nachgewiesen worden<sup>[42]</sup>.



**Abbildung 3.6.4:** FT-IR-Spektrum von **46**, aufgenommen direkt nach der Synthese

Da während der vorliegenden Promotionsarbeit häufiger die Beobachtung gemacht wurde, daß sich die Löslichkeit von Polyphenolen, speziell die von Poly[4-chlorphenol] (**46**), im Laufe ihrer Lagerung verschlechtert, lag der Verdacht nahe, daß sich während der Lagerung der Phenolpolymere auf bislang unbekanntem Weg intermolekulare Etherbrücken bilden. **Abbildung 3.6.5** zeigt das FT-IR-Spektrum von **46** nach einer Lagerzeit von 12 h bei

Raumtemperatur. Der Vergleich mit dem Ursprungsspektrum zeigt, daß ein neuer Peak bei  $1161\text{ cm}^{-1}$  während der Lagerung aufgetreten ist. Dieses neue Signal deutet auf die nachträgliche Bildung von Phenoxyethern in **46** hin. Eine Bildung von Chinonen durch Oxidationen im Polyphenol kann ausgeschlossen werden, da keine neuen Banden zwischen  $1690\text{ cm}^{-1}$  und  $1660\text{ cm}^{-1}$  auftauchen.



**Abbildung 3.6.5: FT-IR-Spektrum von 46, nach Lagerung für 12 h bei Raumtemperatur**

Die Lagerung von **46** bei tiefen Temperaturen ( $-25\text{ °C}$ ) verlangsamte die Bildung der Phenoxyether. Das in **Abbildung 3.6.6** bei  $1162\text{ cm}^{-1}$  erscheinende Signal ist deutlich weniger ausgeprägt. Es wurde dann versucht, die Lagerbeständigkeit der Polyphenole durch Entzug von Luftsauerstoff zu verlängern. Dies allein führte jedoch auch nicht zum gewünschten Erfolg. Der Stabilitätsgewinn fiel nicht so groß aus, wie bei der Absenkung der Lagertemperatur auf  $-25\text{ °C}$ .

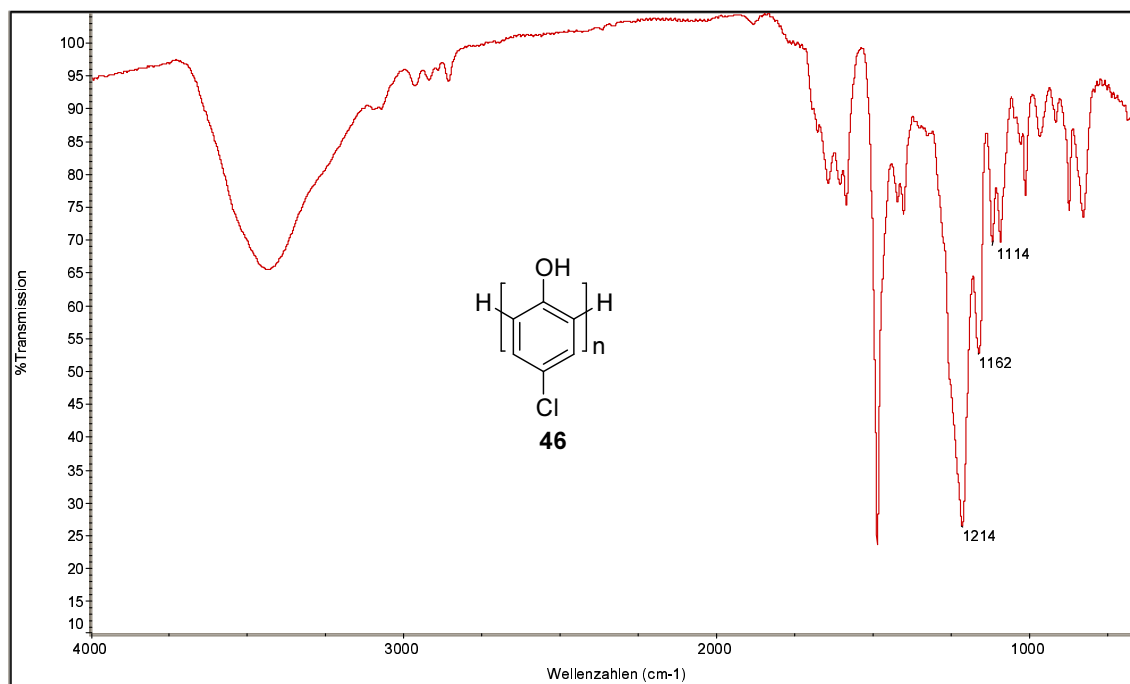


Abbildung 3.6.6: FT-IR-Spektrum von 46, nach Lagerung für 12 h bei -25°C

Erst mit der Kombination aus Stickstoffatmosphäre und tiefer Lagertemperatur gelang es, den Prozeß der Etherbildung aufzuhalten. In der untenstehenden **Abbildung 3.6.7** sieht man, daß gegenüber dem ursprünglichen Spektrum kein neues Signal bei 1161 cm<sup>-1</sup> entstanden ist. Das bei -25 °C unter N<sub>2</sub> gelagerte Material war als auch nach einer Woche noch vollständig in THF löslich, die anderen Proben nur teilweise. In DMF und DMSO waren jedoch alle Proben nach einer Woche noch vollständig löslich.

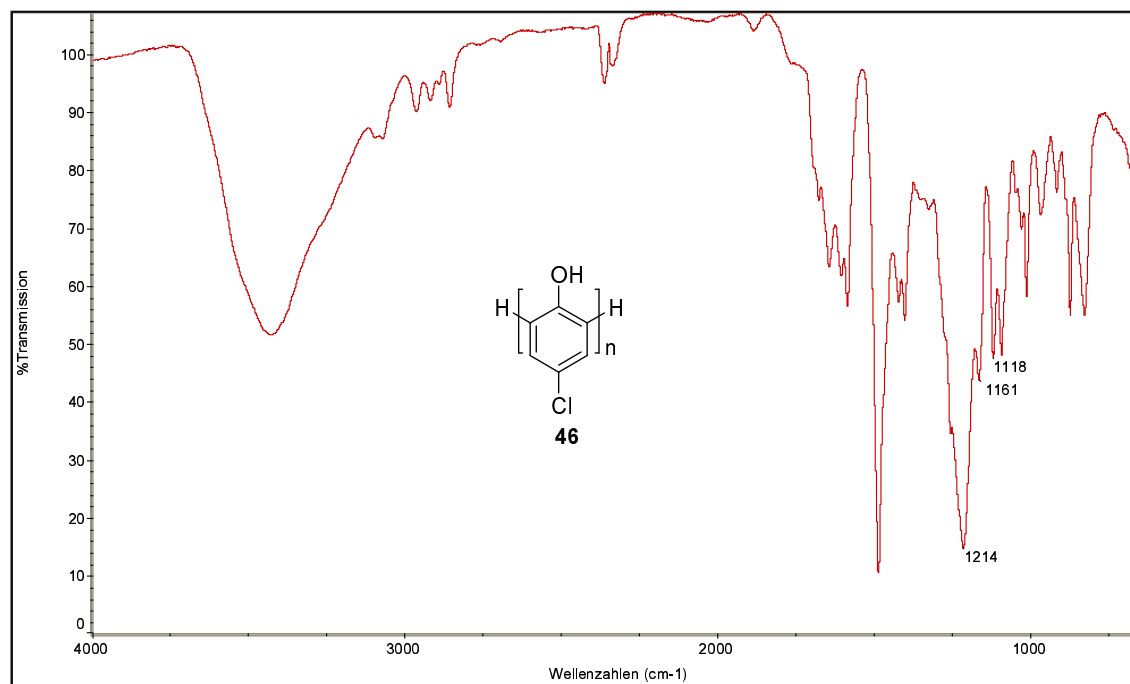


Abbildung 3.6.7: FT-IR-Spektrum von **46**, nach Lagerung für 12 h bei  $-25^{\circ}\text{C}$  unter  $\text{N}_2$

Während die GPC-Kurve von **46** direkt nach der Synthese eine monomodale Verteilung aufwies ( $M_n$  1100 g/mol,  $M_w$  3300 g/mol), zeigte die GPC-Kurve desselben Materials nach zehn Tagen Lagerzeit bei Raumtemperatur neben dem ursprünglichen Peak mit einem Maximum bei 25 ml Elutionsvolumen (ca.  $5 \cdot 10^3$  g/mol) einen weiteren Peak mit einem Maximum bei ca. 15 ml Elutionsvolumen (ca.  $2 \cdot 10^6$  g/mol). Die Werte für  $M_n$  und  $M_w$  vergrößerten sich damit auf 2100 g/mol bzw. 40000 g/mol. Dies weist stark auf die Bildung von hypervverzweigten Polyphenolen durch Vernetzung einzelner Polymerketten hin<sup>[132]</sup>.

## 3.7 Hyperverzweigte Polyphenole

### 3.7.1 Motivation

Hyperverzweigte Polymere und Dendrimere sind ein aktuelles Forschungsgebiet zahlreicher Arbeitsgruppen, zum Beispiel von Fréchet *et al.*<sup>[133]</sup> und Frey *et al.*<sup>[134]</sup>. Die Vorteile der hyperverzweigten Polymere gegenüber den Dendrimeren liegen in dem deutliche reduzierten Arbeits- und Zeitaufwand bei der Synthese, allerdings besitzen sie eine ungeordnetere Struktur<sup>[135]</sup>. Die Synthese von hyperverzweigten Polyphenolen sollte lösliche Polyaromaten mit größerem Molekulargewicht liefern.

### 3.7.2 Syntheseveruche eines hyperverzweigten Polyphenols ausgehend von Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan (47)

Als Grundbaustein für alle vorgestellten hyperverzweigten Polyphenole wurde das Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan (47) benutzt. Die Polymerisation von 47 lieferte ein in DMF, DMSO und NaOH unlösliches drei-dimensionalen Netzwerk (48) (Abbildung 3.7.1).

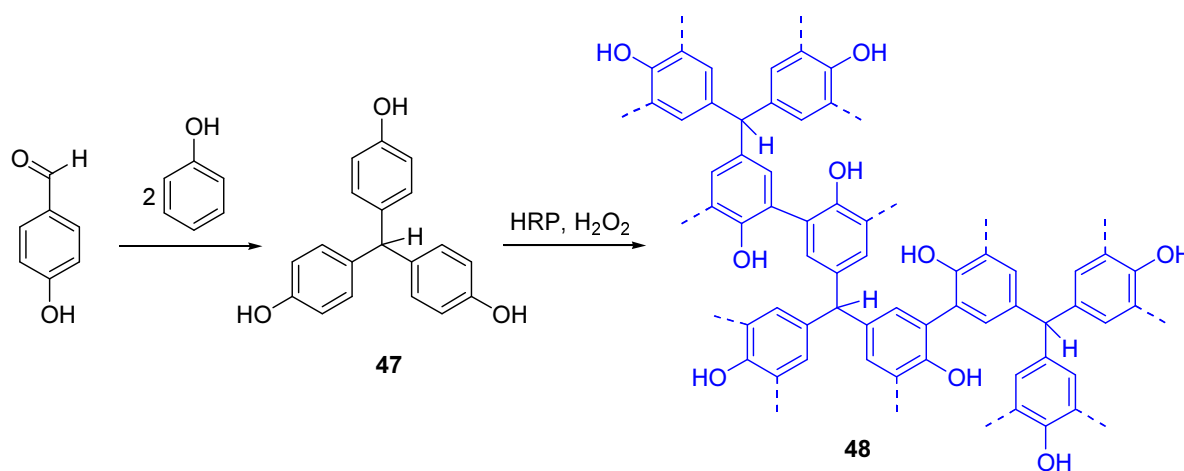


Abbildung 3.7.1: Synthese eines Netzwerks aus Tri-(4-Hydroxyphenyl)-methan (47)

Daher wurde versucht, durch Copolymerisation von ungeschütztem Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan (47) mit zulaufendem 4-(4-Nitrobenzylidenamino)-phenol (45) (vgl. Kapitel 3.5.2) ein hyperverzweigtes Polymer zu synthetisieren. Dabei entstand ein in DMF lösliches Polyphenol mit einem  $M_n$  von 1200 g/mol und einem  $M_w$  von 9000 g/mol, über dessen Zusammensetzung und Struktur bislang aber keine Aussagen getroffen werden konnten.

### 3.7.3 Syntheseveruche eines hyperverzweigten Polyphenols ausgehend von geschütztem Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan

Die folgenden Experimente hatten zum Ziel, zuerst ein lineares Polyphenol von zweifach geschütztem Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan (**47**) zu synthetisieren (Verbindungen des Typs **49** und **55** in **Abbildung 3.7.2**). Nach Abspaltung der Schutzgruppen  $Sg_1$  bzw.  $Sg_3$ , die im Falle von **55** orthogonal spaltbar zu  $Sg_2$  sein mußten, sollte an dem löslichen linearen Polyphenol **51** eine Kammpolymerisation mit einem *para*-substituierten Phenol (z.B. 4-Chlorphenol) versucht werden. Die geschützten Ausgangsverbindungen des Typs **49** und **55** konnten im  $^1\text{H-NMR}$  identifiziert werden. Eine saubere Abtrennung von den entstandenen Nebenprodukten gelang jedoch nicht. Nachdem die Synthese von Verbindungen des Typs **49** aufgegeben wurde, weil eine saubere Isolierung der zweifach geschützten Produkte nicht gelang, konzentrierten sich die Arbeiten auf die Synthese solcher des Typs **55**. Hier war die Schwierigkeit, daß die Reaktionsbedingungen zur Synthese von geschützten Tri-(4-hydroxyphenyl)-methan **53** (konz. HCl, Phenol<sub>(l)</sub>, 60-80°C, 3 h) sehr harte Anforderungen an die Stabilität der Schutzgruppe stellten. Zwei Verbindungen der Vorstufe **54** konnten in reiner Form erhalten werden, und zwar mit den Schutzgruppen-Kombinationen  $Sg_2 = \text{Bzl}$ ;  $Sg_3 = \text{Acetyl}$  und  $Sg_2 = \text{Me}$  und  $Sg_3 = \text{Acetyl}$ . Die Spaltung von Me mit HBr/Eisessig führte zu einem komplexen Reaktionsgemisch, obwohl die Acetylgruppen laut  $^1\text{H-NMR}$  vollständig intakt waren. Deshalb wurde nicht nach weiteren Schutzgruppen gesucht. Mangels ausreichender Reaktivität konnte im Reaktionsschritt von **52** nach **53** auch nicht alternativ ein Phenoxyether als O-geschütztes Phenol eingesetzt werden.

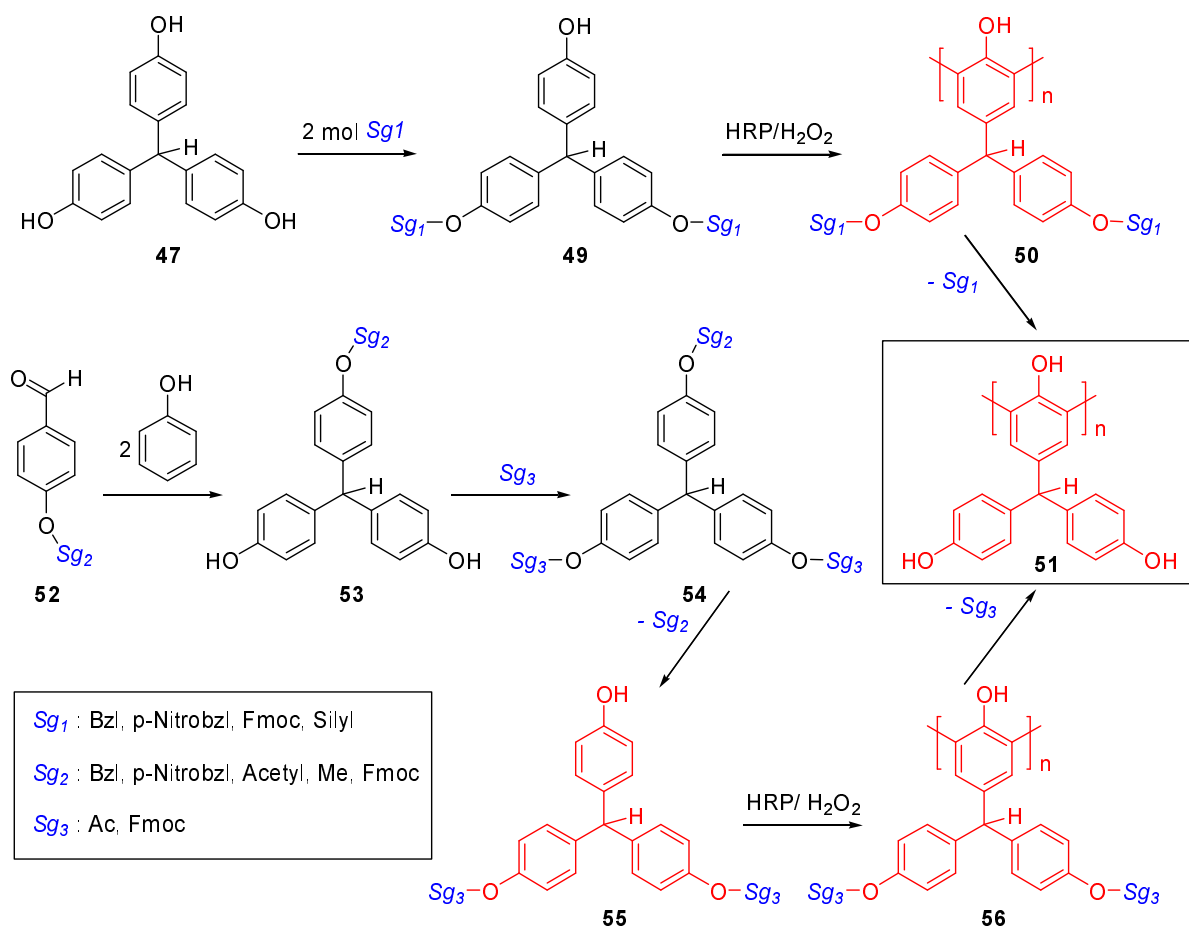


Abbildung 3.7.2: Zwei Synthesewege über geschütztes Tri-(4-Hydroxyphenyl)-methan

### 3.7.4 Syntheserversuche eines hyperverzweigten Polyphenols/ Polyphenolamins ausgehend von *para*-substituierten Di-(4- hydroxyphenyl)-phenyl-methan

Um im Syntheseschritt von **52** nach **53** (Abbildung 3.7.2) das Problem der Schutzgruppenstabilität zu umgehen, wurde in weiteren Synthesen versucht, die freie Phenolgruppe erst nach dem Schützen der beiden anderen phenolischen Gruppen einzuführen. Zum Beispiel wurden nach der Synthese von 4-Chlorphenyl-di-(4-hydroxyphenyl)-methan (**58**) die verbliebenen OH-Gruppen methyliert (**59**). Diese Substanz wurde isoliert und identifiziert. Am Aromat sollte dann das Chloratom nucleophil substituiert werden (**60**). Nach erfolgreicher Polymerisation (**61**) wären die Methylether mit HBr/Eisessig abgespalten worden (**51**). Da die Isolierung von **60** jedoch schwierig war, wurden diese Experimente bisher noch nicht durchgeführt.

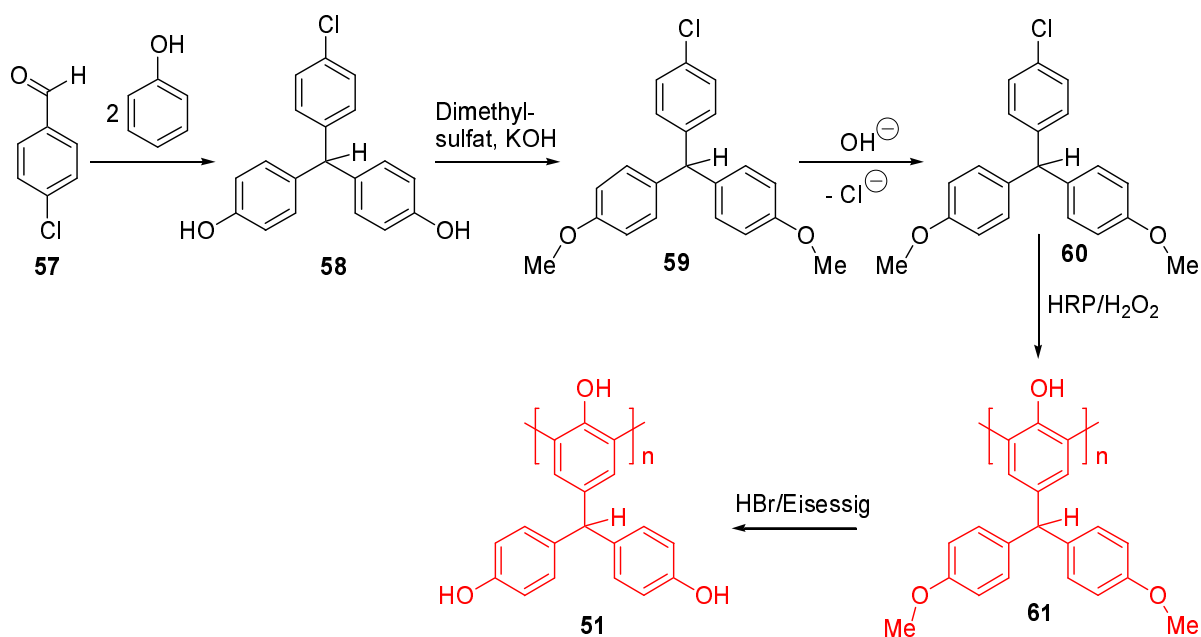


Abbildung 3.7.3: Syntheseweg ausgehend von 4-Chlorbenzaldehyd (57)

Als Alternative wurde auch die Synthese eines Polyamins in Betracht gezogen. Dazu wurde zunächst 4-Nitrophenyl-di-(4-hydroxyphenyl)-methan (**63**) dargestellt, und die verbliebenen OH-Gruppen acetyliert (**64**). Diese Substanz konnte charakterisiert werden. Die Reduktion der Nitrogruppe mit Amoniumformiat in Gegenwart von Pd/C lieferte **65** in guten Ausbeuten, doch war die Isolierung schwierig. Die Polymerisation zu **66** und die Abspaltung der Schutzgruppen zu Polymer **67** wurden daher noch nicht durchgeführt.

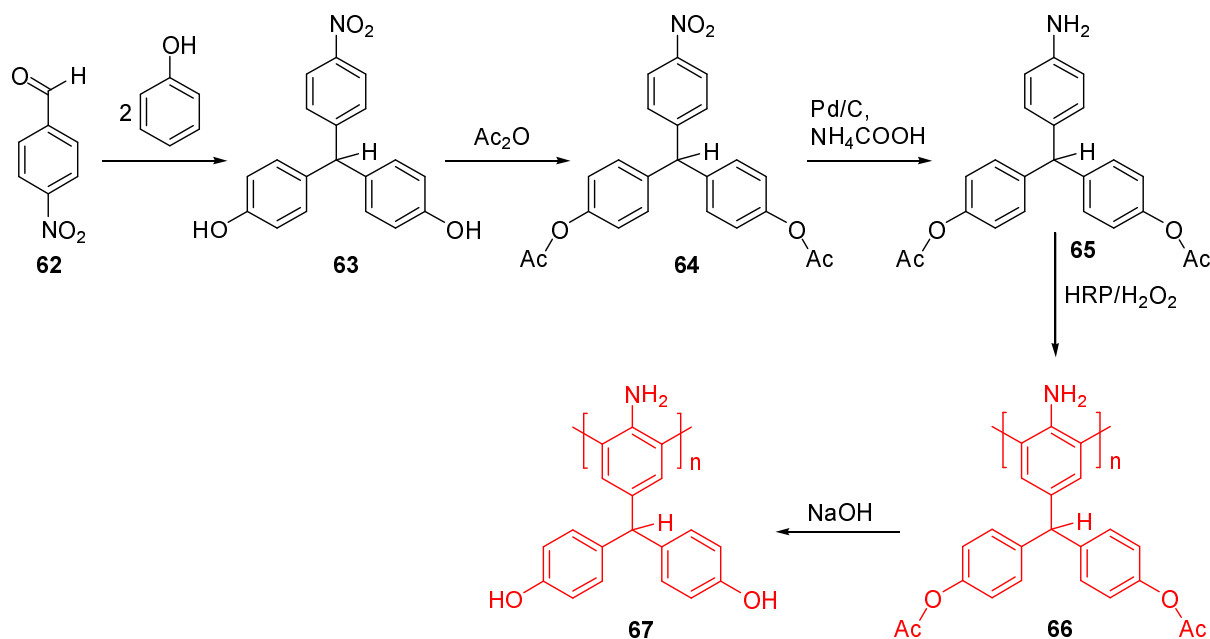


Abbildung 3.7.4: Syntheseweg zu einem Polyamin ausgehend von 4-Nitrophenol (62)



## 3.8 Polymerisation eines Isoflavonoids

### 3.8.1 Motivation

Flavonoide und Isoflavonoide sind momentan als mögliche Wirkstoffe gegen Tumore und Herzerkrankungen ein Gegenstand aktueller Forschungen<sup>[136]</sup>. In zahlreiche Publikationen der letzten Jahre wurde ihre Wirkung gegen *oxidativen Streß* und ihre Toxizität gegenüber Mikroorganismen, Bakterien und Viren bewiesen<sup>[137]</sup>. Da erste Untersuchungen auch zeigten, daß viele Isoflavonoide Substrate von HRP sind<sup>[138, 139]</sup>, wurde der Versuch unternommen, Polyphenole von Isoflavonoiden aufzubauen, um deren biologische Aktivität zu testen<sup>[109b]</sup>.

### 3.8.2 HRP-katalysierte Polymerisation von Rutin (68)

Die HRP-katalysierte Polymerisation von Rutin führte zur Bildung eines Polymeren mit einem  $M_n$  von 3100 g/mol und einem  $M_w$  von 9000 g/mol bei nahezu quantitativer Ausbeute.

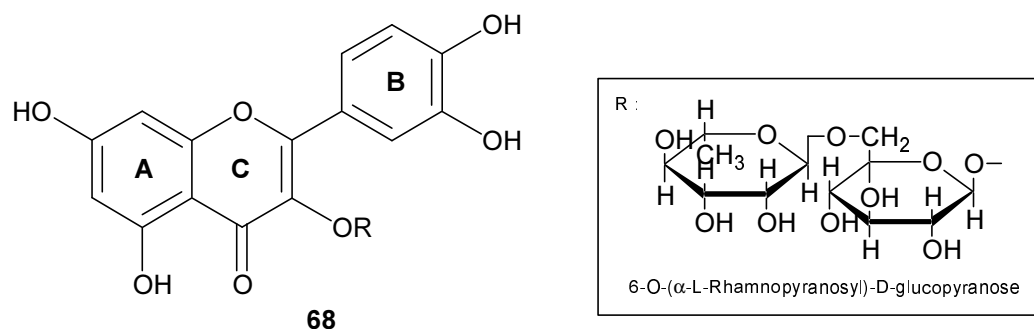


Abbildung 3.8.1: Struktur von Rutin

Im Gegensatz zu den bisher vorgestellten *para*-substituierten Phenolen weist das Rutin mehrere reaktive Positionen an den Ringen A, B und C auf, an denen eine Rekombination zu Polymeren stattfinden kann. Die Rekombination erfolgt bevorzugt am elektronenreichsten Ring, da dort eine Oxidation zum Phenoxyradikal begünstigt ist. Ferner ist entscheidend, wie das entstehende Phenoxyradikal am besten stabilisiert werden kann. Nach Berechnungen der Elektronendichteverteilung und der HOMO-Koeffizienten von Taxifolin ( $R = H$ ) ist eine solche Reaktion an Ring A (**69a**) nicht wahrscheinlich. Dies erklärt auch den experimentellen Befund, daß Isoflavonoide, die an Ring B über keine Hydroxygruppe verfügen, nicht mit dem System HRP/ $H_2O_2$  an Ring A (**69a**) polymerisierbar sind<sup>[109b]</sup>.

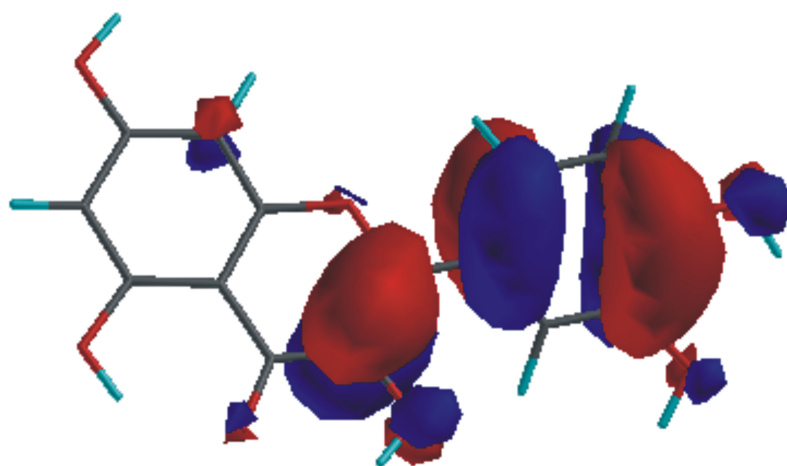


Abbildung 3.8.2: Graphische Darstellung der HOMO-Koeffizienten von Taxifolin, berechnet mit der semiempirischen Methode AM1

An Ring B ist eine Verknüpfung zwischen aromatischen C-Atomen (**69c**), aber auch die Bildung von Phenoxyethern (**69b**) möglich.

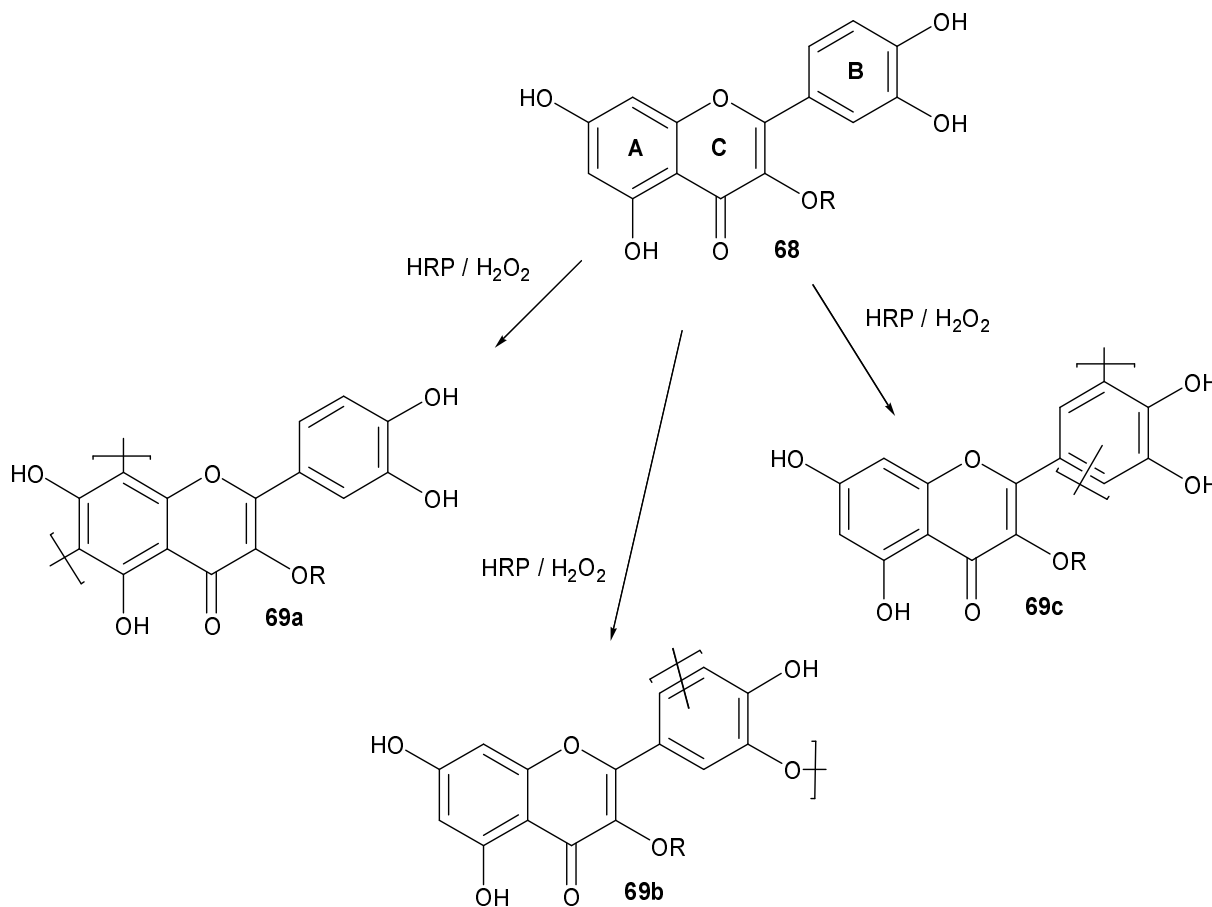
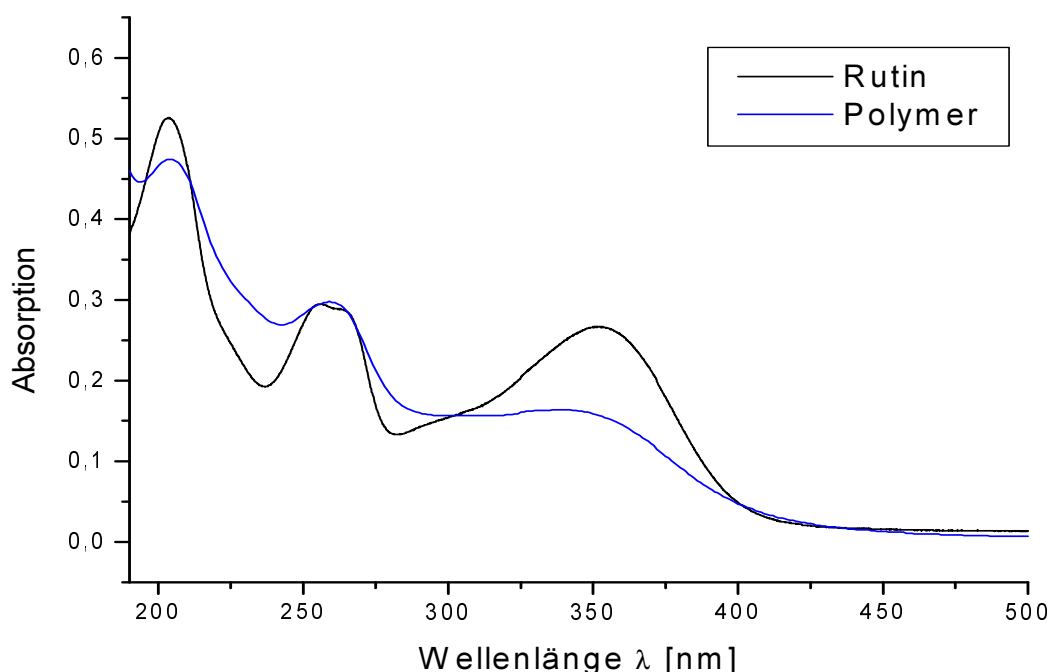


Abbildung 3.8.3: Übersicht über die möglichen Strukturelemente im Poly[rutin] (**69**)

### 3.8.3 Untersuchungen des Poly[rutin] (69) mit FT-IR und UV-Vis-Spektroskopie

Im Gegensatz zu den zuvor untersuchten Polyphenolen zeigte das FT-IR-Spektrum von Poly[rutin] (69) eine starke Absorption bei  $1158\text{ cm}^{-1}$ , die nicht durch die Vinyletherstruktur an Ring C des Rutins verursacht wird. Dieses Signal läßt auf die Bildung von Oxyphenyleneinheiten schließen. Allerdings muß auch die antioxidative Wirkung der Isoflavonoide in Betracht gezogen werden<sup>[136-140]</sup>. So könnten die Phenoxyether auch erst nach der Polymerisation durch Luftzutritt gebildet worden sein (vgl. **Kapitel 3.6.3**). Das FT-IR-Spektrum zeigte aber keine neuen Absorptionen, die auf die Bildung von *o*-Benzochinonen in der Polymerkette hingewiesen hätten. Diese sollten durch Oxidation der Brenzcatechin-analogen Struktur **69c** entstehen können und bei  $1760\text{-}1730\text{ cm}^{-1}$  im IR-Spektrum sichtbar sein<sup>[138, 141]</sup>. In **Abbildung 3.8.4** sind die UV-Vis-Spektren von Rutin (68) und Poly[rutin] (69) zusammengefaßt. Das Spektrum des Polymeren erscheint gegenüber dem des Rutins verbreitert. Das Absorptionsmaximum von Rutin (68) liegt bei 350 nm, das des Polymeren (69) bei 340 nm. Hinweise auf die Bildung von Oxidationsprodukten finden sich nicht.



**Abbildung 3.8.4:** UV-Vis-Spektren von Rutin (68, schwarz) und dem entsprechenden Polymeren (69, blau) in THF

### 3.9 Untersuchungen zum Aufbau von Poly[*para*-phenylenen]

#### 3.9.1 Motivation

In den vorangegangenen Kapiteln wurde gezeigt, daß die HRP-katalysierte Polymerisation von *para*-substituierten Phenolen eine einfache Methode zum Aufbau 1,3-verknüpfter Poly[phenylene] darstellt. Durch Variation des Substitutionsmusters sollte in analoger Weise auch die Synthese von Poly[*para*-Phenylenen] auf enzymatischem Weg möglich sein<sup>[144]</sup>. Diese werden bisher hauptsächlich durch Suzuki Kupplung aus 1,4-Diod-substituierten Aromaten erhalten<sup>[145-147]</sup>. Dieser Syntheseweg gilt als anspruchsvoll und zeitaufwendig. Die verwendeten Katalysatoren sind zudem hydrolyseempfindlich und an Luft nicht beständig<sup>[148]</sup>. Ferner sind die verwendeten Chemikalien, beispielsweise Boronsäure, gesundheitlich bedenklich.

#### 3.9.2 Versuche zum HRP-katalysierten Aufbau von 2,6-substituierten Poly[*para*-phenylenen]

Die ersten Versuche zur Herstellung von Poly[*para*-phenylenen] starteten mit 2,6-disubstituierten Hydrochinonen und ihren Methylethern. Wie im Vorfeld erwartet, waren die Hydrochinon-Derivate **70a**, **70b** und **70c** zwar geeignete Substrate des Enzyms, bildeten jedoch stabile Radikale, die keiner Rekombination unterlagen.

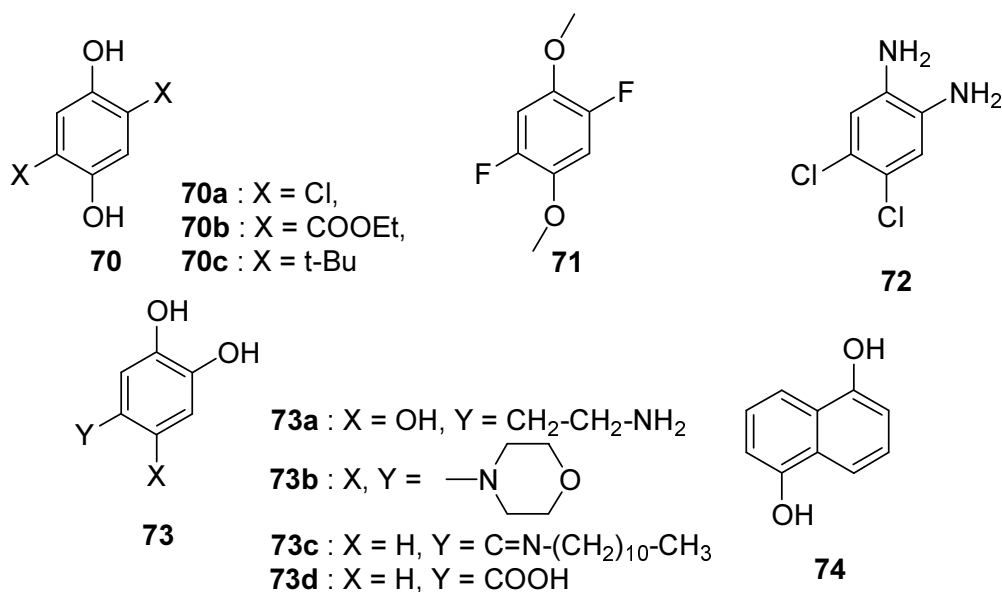


Abbildung 3.9.1: Untersuchte Monomere zur Synthese von Poly[*para*-phenylenen]

Der Methoxyether (**71**) ließ sich nicht umsetzen; das 4,5-Dichlorphenylendiamin (**72**) reagierte in Gegenwart des HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Systems zu Dimeren. Im Fall der Brenzkatechin-Derivate **73a**, **73b**, **73c** und **73d** stand zu befürchten, daß die Oxidation zu 1,2-Diketonen gegenüber der Rekombination bevorzugt wäre<sup>[144]</sup>. Die Polymerisation von **73a** führte zu einem unlöslichen schwarzen Feststoff<sup>[149]</sup>. Der Vergleich der FT-IR-Spektren von **73a** (Dopamin) und dem Feststoff zeigte den typischen Shift der Absorption der Hydroxylgruppen um 3200 cm<sup>-1</sup> auf 3400 cm<sup>-1</sup> und die charakteristische Verbreiterung, die für Phenolpolymere zuvor gefunden wurde. Die Aromatenabsorption im *fingerprint* zeigte sich deutlich reduziert. Eine breite Bande bei 1157 cm<sup>-1</sup> und eine neue breite Absorption um 1552 cm<sup>-1</sup> ließen den Schluß zu, daß **73a** wahrscheinlich bereits während der Synthese unter Einbeziehung der Hydroxy-Funktionalitäten vernetzt hatte.

Die Synthese von **73b** wurde nicht zu Ende geführt, da die Aufreinigung des Produktes schwierig war, und zudem **73b** als sehr toxisch eingeschätzt wurde<sup>[150]</sup>. **73c** konnte mit HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu THF-löslichen Oligomeren umgesetzt werden. Die Oligomere bestanden aus einer Mischung von Phenylen- und Oxyphenylen-Einheiten. Im FT-IR-Spektrum zeigte sich dies durch ein neue, im Spektrum des Monomeren nicht auftretende Absorptionsbande bei 1158 cm<sup>-1</sup> für die Phenoxyether, und ein Verschwinden der Absorption bei 831 cm<sup>-1</sup> durch die Änderung des aromatischen Substitutionsmusters.

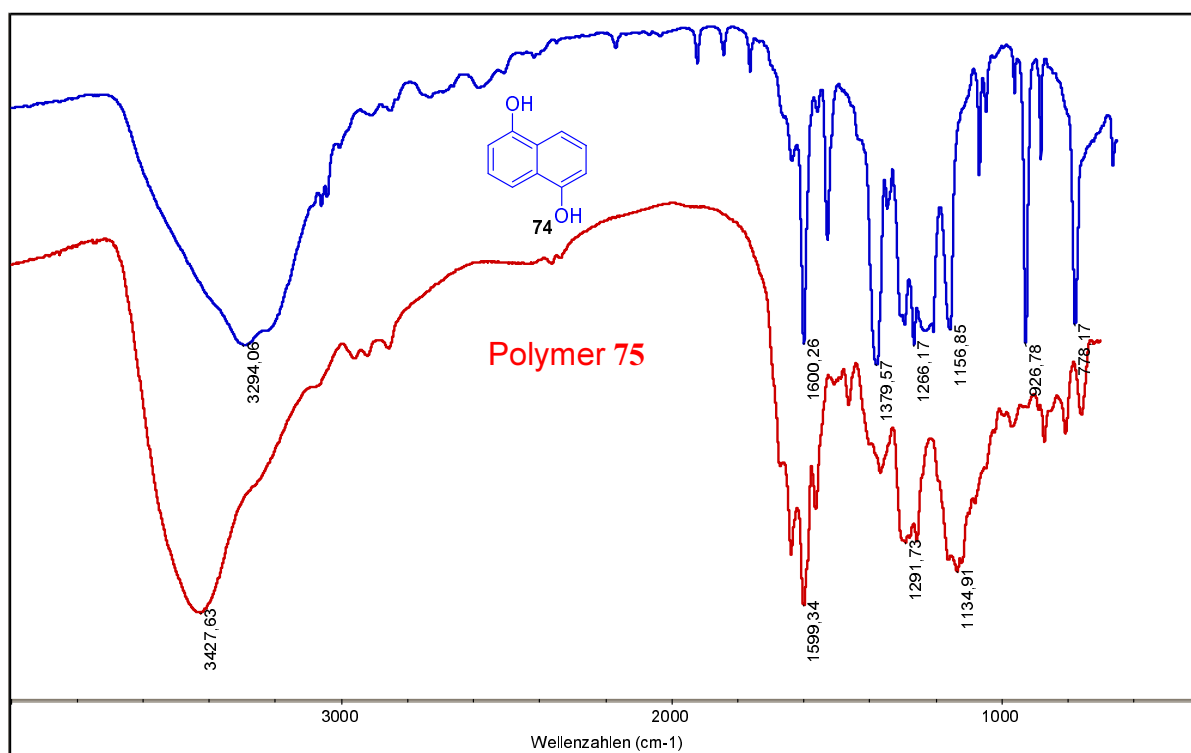
Tabelle 3.9.1: GPC-Ergebnisse der als HRP-Substrat geeigneten Monomere

Verbindung	Org.Lösungsmittel	Puffer	Mn	Mw	Ausb. (%)
<b>72</b>	1,4-Dioxan	Phosphat pH 7.0	360	390	95
<b>73a</b>	1,4-Dioxan	Phosphat pH 7.0	-	-	70
<b>73c</b>	1,4-Dioxan	THMA pH 8.3 / N <sub>2</sub>	830	2300	75
<b>73c</b>	1,4-Dioxan	Acetat pH 5.5 / N <sub>2</sub>	750	2200	90
<b>73d</b>	1,4-Dioxan	Phosphat pH 7.0	900	2800	80
<b>74</b>	1,4-Dioxan	Phosphat pH 7.0	1500	4600	90

**73d** konnte ebenfalls mit HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> umgesetzt werden. Der Vergleich der FT-IR-Spektren zeigte auch in diesem Fall eine Veränderung des Substitutionsmusters am Aromaten bei 769 cm<sup>-1</sup>. Die Verbreiterung des Spektrums des Polymeren gegenüber dem des Monomeren fiel aber nicht so deutlich aus, wie bei einem Polyphenol mit einem M<sub>w</sub> von 2800 g/mol zu erwarten gewesen wäre. Da die GPC-Ergebnisse zudem eine extrem breite Verteilung zeigten, erscheint es sehr wahrscheinlich, daß lediglich Aggregate aus Mono- oder Dimeren vorlagen

und durch das so erhöhte hydrodynamische Volumen höhere Massen bei der GPC in DMF vorgetäuscht wurden.

Auch die enzymatisch katalysierte Polyrekombination von **74** führte nicht zu ausschließlich C-C-verknüpften Polyaromaten<sup>[91]</sup>. Zwar wurde bei der Polymerisation von **74** das höchste Molekulargewicht der in **Tabelle 3.9.1** aufgeführten Verbindungen erreicht. Der Vergleich der FT-IR-Spektren zwischen 1,5-Dihydroxynaphtalin und dem entsprechenden Polymeren macht aber deutlich, daß eine große Zahl an Oxyphenyleneinheiten gebildet wurden.



**Abbildung 3.9.2:** FT-IR-Spektren von 1,5-Dihydroxynaphtalin (**74**, oben) und Poly(1,5-dihydroxynaphtalin) (**75**, unten)

Während sich das Signal der OH-Gruppen reduzierte und von 1266 cm<sup>-1</sup> auf 1292 cm<sup>-1</sup> verschob, verstärkte und verbreiterte sich der Bereich um 1134 cm<sup>-1</sup> vermutlich durch die Bildung von Arylethern. Dies wurde auch durch <sup>13</sup>C-Festkörper-NMR-Messungen untermauert. Die über die C1-Kohlenstoffe verknüpften Naphtalinringe verursachten neue Absorptionen um 125 ppm (**Abbildung 3.9.3, 75a**). Ein neu auftretendes Signal bei 150 ppm ließ auf die Bildung von Phenoxyethern über einen der C4-Kohlenstoffe (**Abbildung 3.9.3, 75b**) schließen. Diese Problematik trat bei den *para*-substituierten Phenolen nicht auf, da bei diesen die Stabilisierung des Phenoxyradikals am deutlichsten ausfällt, wenn sich das Radikal an den *ortho*-Positionen zur Hydroxygruppe aufhält<sup>[47]</sup>.

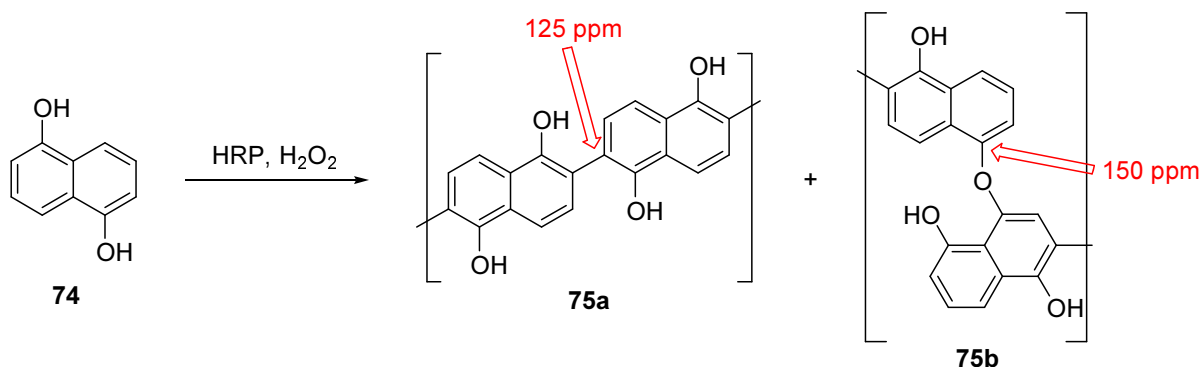


Abbildung 3.9.3: Die am wahrscheinlichsten auftretenden Strukturelemente im Polyphenol 75

### 3.9.3 Versuche zum HRP-katalysierten Aufbau von 2,6-verbrückten Poly[para-phenylenen]

Nachdem die vorangegangenen Experimente nicht selektiv zum Aufbau von Poly[para-phenylenen] geführt hatten, wurde die Polymerisation von 3,3'-Dihydroxybiphenyl in Erwägung gezogen<sup>[151, 152]</sup>. Für eine befriedigende Regioselektivität beim Rekombinations-schritt sollte dieses Molekül jedoch an den Stellen 2, 2', 6 und 6' blockiert sein (76). Eine einfache Lösung stellte die Synthese von Proellagsäure (78) aus 3,4-Dihydroxybenzoesäure dar<sup>[153]</sup>. Neben der Blockierung sämtlicher gewünschter Positionen in einem Schritt zwingt die Verbrückung durch die inneren Ester die Phenylringe in eine ebenere Konformation und verbessert dadurch die Konjugation im Molekül.

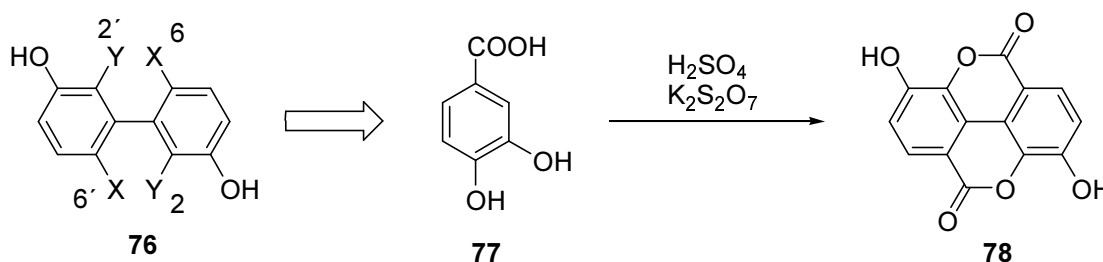


Abbildung 3.9.4: Proellagsäure als Zugang zu 2,6-verbrückten Poly[para-Phenylenen]

Die überaus schlechte Löslichkeit<sup>[153]</sup> von 78 erwies sich als Problem bei der Polymer-synthese. Eine Polymerisation mit Pyridin/Phosphatpuffer (80:20 vol%) führte zu einem Produkt, das als Feststoff ausfiel, was implizierte, daß eine Umsetzung von 78 eingetreten war. Die GPC ergab ein M<sub>n</sub> von 6000 und ein M<sub>w</sub> von 9000 g/mol. Die FT-IR-Spektren von 78 und dem entstandenen Material wiesen keine nennenswerten Unterschiede auf. Weitere Analysen, z.B. NMR-Spektroskopie, GPC und MALDI-TOF-MS waren aufgrund der

schlechten Löslichkeit des Materials nicht möglich.  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des Festkörpers waren nicht gut genug aufgelöst. Um die Löslichkeit des Monomeren und die der mutmaßlich entstehenden Polymere zu erhöhen, wurde der Einbau von Alkylketten erwogen. Die Darstellung eines Alkylketten-tragenden Proellagsäure-Derivats wurden jedoch noch nicht abgeschlossen. In einem ersten Syntheseversuch wurde wegen der einfachen Zugänglichkeit von **79** die Synthese eines Capronsäureamids (**80**) angestrebt. Die Amidgruppen waren aber nicht stabil genug, um die harten Synthesebedingungen im Schritt von **80** nach **81** zu bestehen.

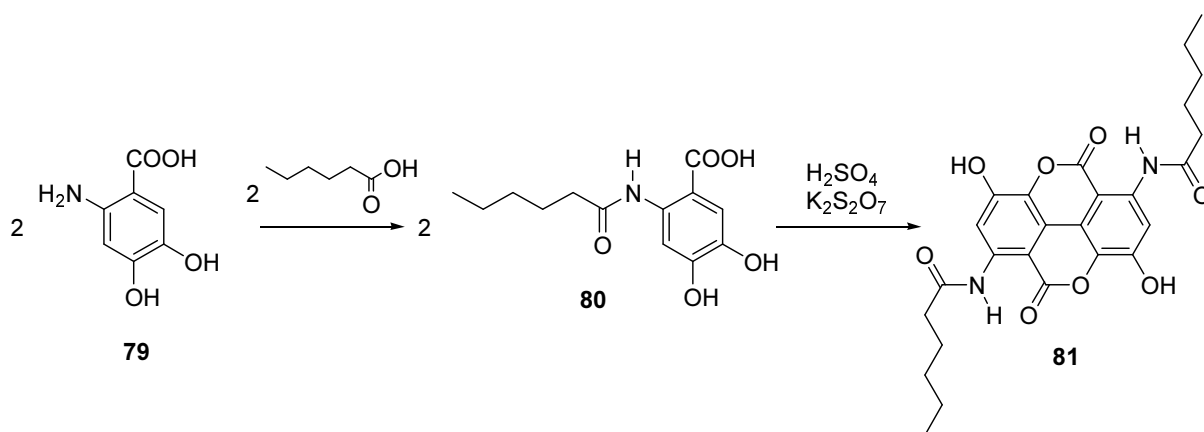
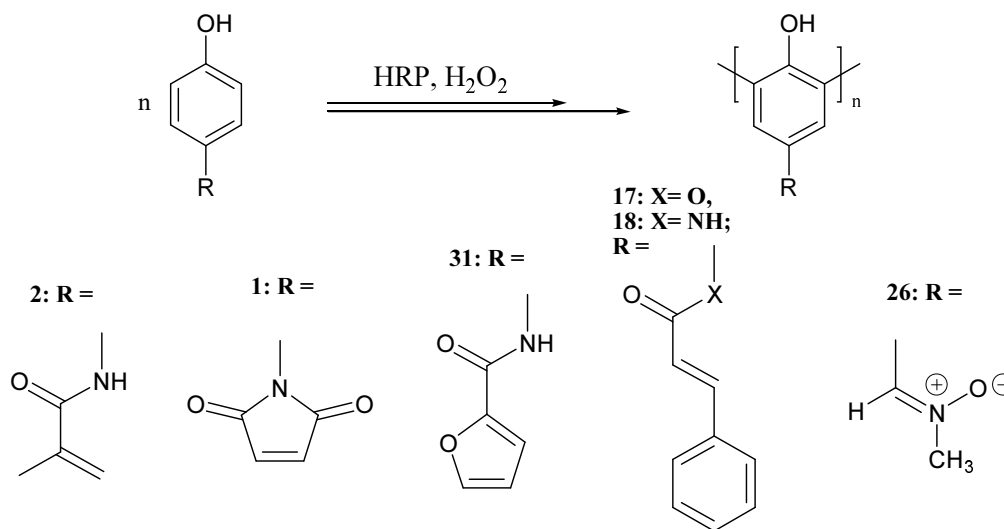


Abbildung 3.9.5: Syntheseversuch eines Capronamids der Proellagsäure



## 4 Zusammenfassung und Ausblick

In den vorangegangenen Kapiteln wurde demonstriert, daß die HRP-katalysierte Rekombination *para*-substituierter Phenole einen bequemen Zugang zu funktionalisierten 1,3-Polyphenylen gewährten. Zum breiten Spektrum der möglichen *para*-Substituenten am Phenol zählten z.B. reaktive Gruppen wie Methacryloyl- (**2**), Maleinimid- (**1**), Furanosyl- (**31**) oder Zimtsäuregruppen (**17**, **18**) sowie Nitrongruppen (**26**).



**Abbildung 4.1:** Für die HRP-katalysierte Polymerisation geeignete Phenolderivate

Durch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, FT-IR-Spektroskopie und MALDI-TOF-MS wurde die Existenz der Phenolpolymere mit den jeweiligen intakten reaktiven Seitenkettenresten bestätigt. Die so erhaltenen funktionalisierten Oligomere ließen sich radikalisch bzw. photochemisch oder thermisch vernetzen und könnten somit als Alternative zu konventionellen Phenol-Formaldehydharzen dienen. Photo-vernetzbare Polyphenole kämen für eine Anwendung als Photo-Resists in Frage. Der Vernetzungsprozeß wurde in allen Fällen durch FT-IR-Spektroskopie nachgewiesen.

Auch andere Anwendungen der Polyphenole wurden erforscht. Der Einsatz einer einfachen Schutzgruppentechnik machte die Synthese eines Redox-Polyphenols aus 4-Aminophenol möglich. Das ungeschützte 4-Aminophenol (**41**) stellte dagegen kein polymerisierbares Derivat dar. Die quantitative polymeranaloge Abspaltung der Schutzgruppen von **44** wurde unter anderem durch UV-Vis-Messungen belegt. Das Redoxverhalten des Polyphenols **45** erwies sich bei cyclovoltametrischen Messungen als pH-abhängig, wie erwartet.

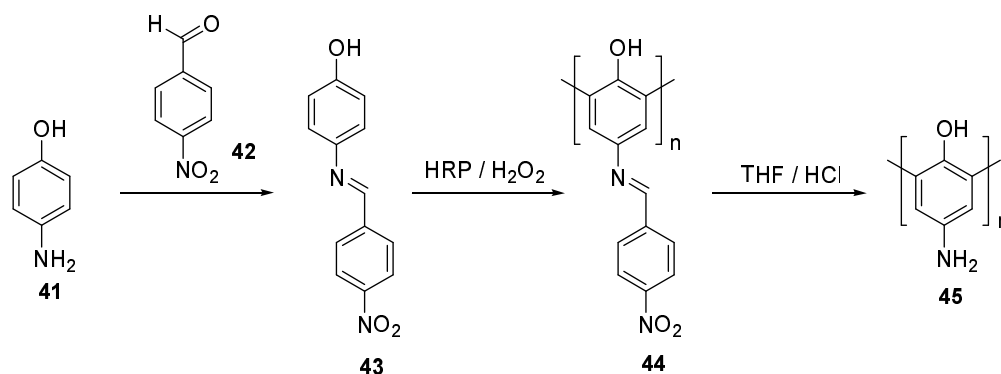


Abbildung 4.2: Synthese eines Redoxpolymeren ausgehend von 4-Aminophenol

Das Studium des Copolymerisationsverhaltens zweier verschiedener Phenole mit GPC, HPLC und FD-MS zeigte, daß zu Beginn der Polymerisation das elektronenreichere, sterisch weniger anspruchsvolle Phenol bevorzugt reagierte. Die erhaltenen Daten erlaubten auch Rückschlüsse auf den Polymerisationsmechanismus. Die Polymerisation begann mit der Oxidation von Phenolen zu Phenoxyradikalen, die zunächst fast ausschließlich zu Dimeren rekombinierten. Dies wurde mit GPC und FD-MS dadurch bewiesen, daß ein im Startstadium abgebrochener Polymerisationsansatz fast nur Dimere des Typs **38** als Produkte aufwies. Das weitere Kettenwachstum beinhaltet wahrscheinlich den in der Literatur postulierten Radikaltransfer. Indizien dafür wurden durch die simultane Erfassung von Molekulargewicht (GPC) und Restmonomergehalt (HPLC) während der Polymerisation gefunden.

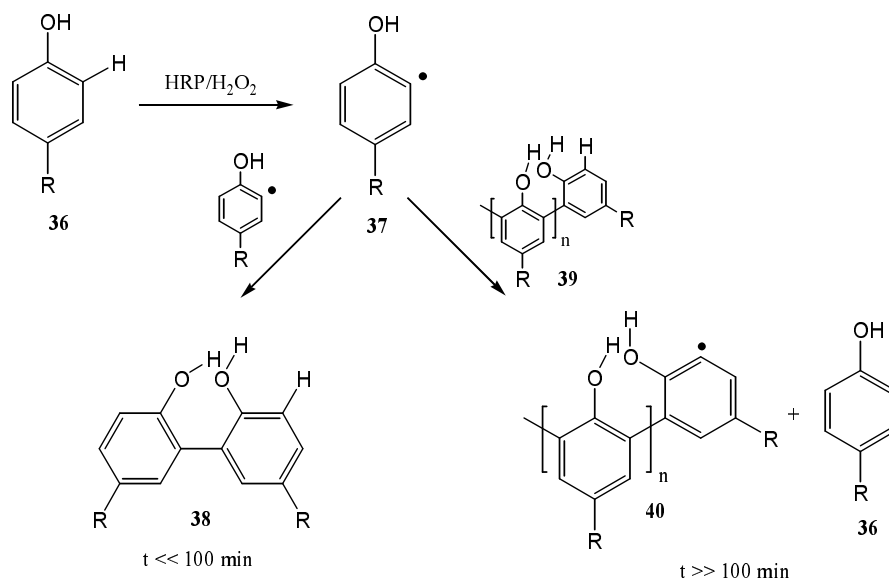


Abbildung 4.3: Der mutmaßliche Polymerisationsmechanismus

Zum Zeitpunkt der durchgeführten Experimente galt eine Mischung aus 80% 1,4-Dioxan und 20% Wasser als bestes literaturbekanntes Reaktionsmedium für die HRP-katalysierte Phenolpolymerisation<sup>[40-42, 44, 81, 84]</sup>. Ein höherer Anteil an 1,4-Dioxan führte wegen beginnender

Enzymdenaturierung zu geringeren Ausbeuten an Polymer. Ein höherer Anteil an Wasser hingegen führte zwar zu größeren Polymerausbeuten, durch das frühere Ausfallen der Polymerketten aus der Reaktionslösung verringerte sich aber das Molekulargewicht der erhaltenen Polyphenole. Dieser literaturbekannte Kompromiß zwischen Polymerisationsgrad und Polymerausbeute (Enzymaktivität) konnte durch den Einsatz von 2,6-methyliertem  $\beta$ -Cyclodextrin überwunden werden, da die Bildung wasserlöslicher Cyclodextrin-Komplexe eine Polymerisation der sonst wasserunlöslichen Phenolderivate im nativen Medium des Enzyms ermöglicht. Die enzymatische Polymerisation der komplexierten Phenolderivate resultierte bei äquimolarer Cyclodextrinkonzentration in Molekulargewichten, die mit denen der Polyphenole, die durch konventionelle enzymatische Polymerisation in 1,4-Dioxan/Wasser erhalten wurden, vergleichbar waren. Mit steigender Cyclodextrinkonzentration nahm das Molekulargewicht der erhaltenen Polyphenole weiter zu. Die ausfallenden Polymere enthielten nur wenig Cyclodextrin, was bedeutet, daß die Phenolderivate im Verlauf der Polymerisation den sie umgebenden Cyclodextrintorus (**84**) verlassen müssen. Durch  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-NMR konnte für die Phenolderivate **1** und **2** gezeigt werden, daß diese in wäßriger Lösung als Einschlußkomplexe vorliegen. Der Aromat zeigte dabei bevorzugt zur weiten Seite des Cyclodextrintorus, der *p*-Substituent zur engeren Seite des Torus. Bei größeren Phenolderivaten war, wie die Ergebnisse der ESI-TOF-MS aufzeigten, auch die Bildung von Cyclodextrin-Gast-Komplexen mit 2:1 und 3:1 Stöchiometrie zu beobachten.

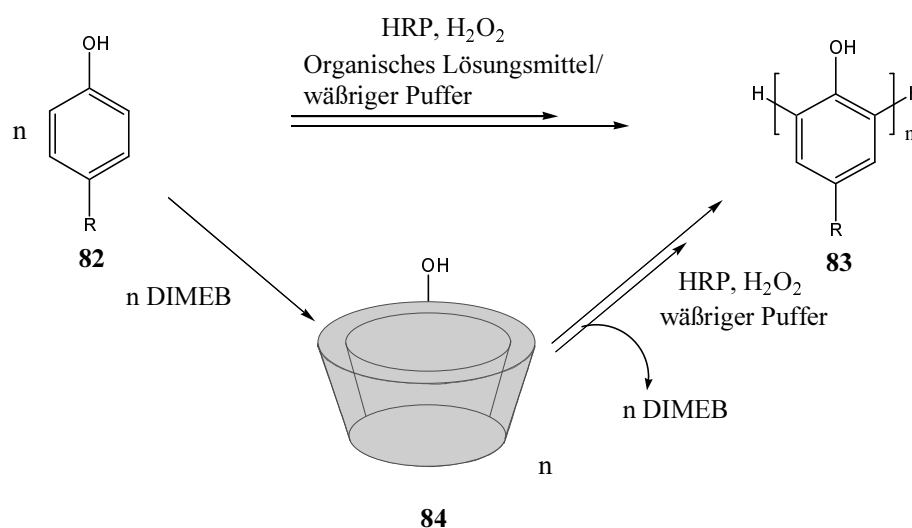


Abbildung 4.4: Der Einsatz von Cyclodextrin bei der HRP-katalysierten Polymerisation

Strukturuntersuchungen an den erhaltenen Phenolpolymeren mit FT-IR-Spektroskopie, sowie mit  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie in Lösung und im Festkörper, ließen den Schluß zu, daß die Verknüpfung der einzelnen Aromaten im Polyphenol hauptsächlich über die *ortho*-

Positionen erfolgte. Daraus resultiert wahrscheinlich eine helikale Struktur der Polyphenole, die durch die Wasserstoffbrücken der nach innen weisenden OH-Gruppen stabilisiert wird.

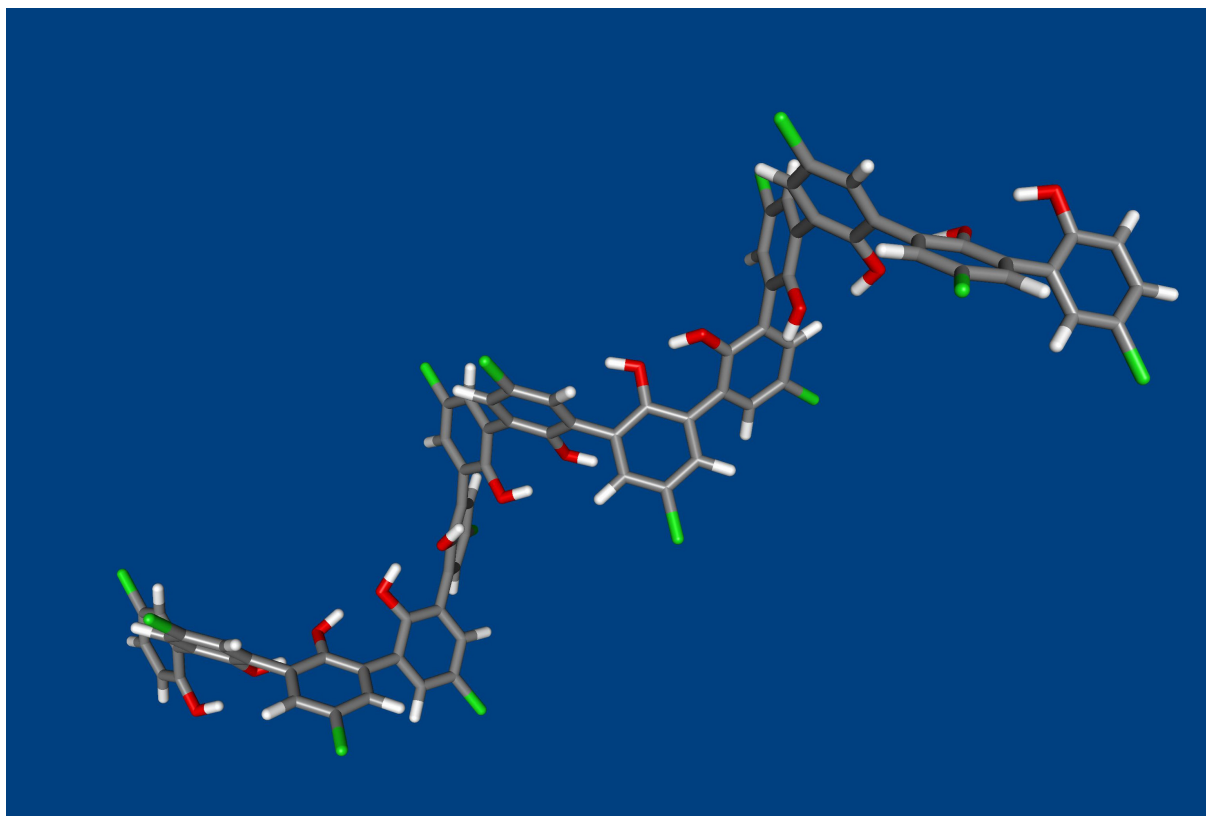


Abbildung 4.5: MM2-energieoptimierte Computersimulation der helikalen Struktur von Poly[4-chlorphenol] ( $P_n = 13$ )

Eine polymeranaloge Umsetzung der phenolischen OH-Gruppen ist daher kaum möglich, während polymeranaloge Reaktionen an den *para*-ständigen Resten nicht erschwert sind. Hinweise auf eine helikale Struktur der Phenole wurden durch  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY-NMR an Poly[4-chlorphenol] (**46**) erhalten. So existierten Raumkontakte, repräsentiert durch Kreuzteaks im 2D-NMR-Spektrum, zwischen den *meta*-Protonen innerhalb der Polymerkette. Es wurden aber keine Raumkontakte zwischen *meta*-Protonen und Hydroxyprotonen aufgefunden. Nur einige der Hydroxygruppen lagen in räumlicher Nähe zu aromatischen Protonen. Bei letzteren handelte es sich nachweislich nur um *ortho*-Protonen am Kettenende.

Untersuchungen zur Stabilität der Polyphenole deckten auf, daß bei deren Lagerung bei Raumtemperatur an Licht und ohne Schutzgasatmosphäre eine Vernetzung eintritt, wobei zunächst lösliche, wahrscheinlich verzweigte, höhermolekulare Polyphenole entstanden. Dies zeigte sich an einer signifikant erniedrigten Elutionszeit bei der GPC. Der Wert für  $M_w$  vergrößerte sich von anfangs 3300 g/mol auf 40000 g/mol. Bei diesem Vernetzungsprozeß entstanden anscheinend Phenoxyether-Strukturen, deren neu gebildete Absorptionsbanden im

FT-IR-Spektrum bei  $1169\text{ cm}^{-1}$  zu sehen waren. Diese Beobachtung muß bei der Interpretation von IR-Spektren und GPC-Ergebnissen berücksichtigt werden. Eine kritische Bewertung der in der Literatur publizierten Polymerdaten und Strukturanalysen ist daher ratsam<sup>[40-44, 84, 110]</sup>. Kritisch zu betrachten ist auch die Interpretation von NMR-Spektren in der Literatur, wenn die endständigen Protonen der Polyphenole in der Integrationsbilanz vernachlässigt werden<sup>[110]</sup>.

Basierend auf diesen Erkenntnissen fällt es leicht, einen Ausblick auf zukünftige Arbeiten zu geben. Nachdem sich Hinweise auf eine helikale Konformation der Polyphenole ergeben haben, sollte die Synthese von Phenolen mit einem großen chiralen Rest in *para*-Position realisiert werden. Erste Arbeiten zur Anbindung von z.B. Phenylalanin an 4-Aminophenol wurden gegen Ende dieser Arbeit bereits durchgeführt. Der chirale Rest sollte dann bei der Rekombination der Phenole eine bevorzugte Gängigkeit der entstehenden Helix induzieren<sup>[154]</sup>. Diese könnte dann mittels CD-Spektroskopie charakterisiert werden. Eine andere Möglichkeit wäre der Versuch einer Kristallisation eines fraktionierten Polyphenols für die Röntgenstrukturanalyse.

Daneben steht die erfolgreiche Synthese hyperverzweigter Polyphenole und Poly[*para*-phenylene] noch am Anfang. Letztere sind wahrscheinlich aus Proellagsäure (**78**) zugänglich, wenn es gelingt, deren Löslichkeit durch den Einbau von längeren Alkylketten an geeigneter Position zu verbessern.

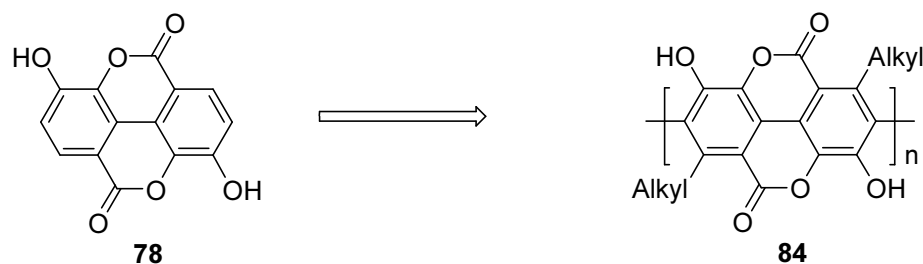


Abbildung 4.6: Konzeptioneller Ansatz zur HRP-katalysierten Synthese löslicher Poly[*para*-phenylene]

Außerdem muß noch aufgeklärt werden, welche Prozesse bei der Lagerung von Polyphenolen bei Raumtemperatur ohne Schutzgasatmosphäre den zuvor beschriebenen Vernetzungsprozeß auslösen, und welche Faktoren die dunkle Farbe der Polyphenole verursachen<sup>[142, 156]</sup>. Die Polyphenole sind in festem Zustand von brauner Farbe. Ihre Lösungen in THF oder DMF sind, abhängig von ihrer Konzentration, gelb gefärbt bis farblos.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Arbeitsgeräte, Trennverfahren und Meßmethoden

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden nach den üblichen Verfahren gereinigt und getrocknet. Die Chemikalien wurden, soweit nicht anders beschrieben, bei der Firma Fluka oder Acros erworben und ohne weitere Reinigung verwendet. Phosphat-Pufferlösungen wurden aus gebrauchsfertigen Pufferkonzentraten der Firma Baker durch Verdünnung mit entmineralisiertem Wasser hergestellt. Acetat- und THMA-Pufferlösungen wurden von der Firma Fluka bezogen. Die verwendeten Enzyme Peroxidase aus Meerrettich (HRP,  $\approx 650$  U/mg), und Katalase aus Rinderleber ( $\approx 2,33$  U/mg) wurden bei BioChemika bzw. Sigma bestellt. Für synthetische Zwecke kam (2,6-Di-*O*-methyliertes)- $\beta$ -cyclodextrin (Methylierungsgrad 1,8) der Firma Wacker zum Einsatz. Für die NMR-Spektroskopie wurde hochreines Heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin der Firma Cyclolabs R&D Lab. Ltd., Budapest, Ungarn verwendet. DMSO- $d_6$  (99,8 Atom-% D),  $CDCl_3$  (99,8 Atom-% D) und  $D_2O$  (99,9 Atom-% D) wurden von der Firma Deutero bezogen.

Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Folien der Firma Merck (Kieselgel 60 F<sub>254</sub> auf Alufolie und auf Kunststoff) verwendet. Säulenchromatographien wurden, soweit nicht anders beschrieben, als Flash-Chromatographie an Kieselgel der Firma Baker, durchschnittliche Partikelgröße 40  $\mu m$ , durchgeführt. Falls nicht explizit Reaktionstemperaturen angegeben sind, wurde bei Raumtemperatur gearbeitet. Destillationen im Vakuum wurden mit dem Rotationsverdampfer mit angeschlossener Membranpumpe ausgeführt, falls nicht ausdrücklich auf die Verwendung einer Drehschieberölpumpe (im Feinvakuum) hingewiesen wird. Die Zusammensetzung von Lösungsmittelgemischen ist stets in Vol.% angegeben, anderenfalls wird ausdrücklich auf %(w/w) hingewiesen.

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mettler Toledo FP62 gemessen. Zur Untersuchung der Polyphenole wurde eine konventionelle Apparatur nach Dr. Tottoli der Firma Büchi benutzt. Alle Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Für die Messung von FT-IR-Spektren wurden Spektralphotometer des Typs Nicolet FTIR-5 SXB (KBr bzw. ATR der Firma LOT, MCT-Detektor) und FTIR-5 DXC (KBr, DTGS-Detektor) verwendet. Zur Kalibrierung diente ein HeNe-Laser. Für UV-VIS-Messungen wurde ein Gerät der Firma Unicam, Modell UV540 benutzt. Die GPC-Messungen wurden mit einer Anlage der Firma PSS durchgeführt. Für die meisten Messungen wurde DMF als Eluent verwendet: 0.1% LiBr im Eluent; Flußrate 1,0

mL/min; 75 °C; Knauer RI-Detektor bzw. Shodex RI-Detektor; TSP UV2000 UV-Vis-Detektor; Säulensatz PSS-HEMA 8\*300mm, 10 µ, 40, 100, 3000 Å Porosität; Vorsäule 8\*50 mm, 40 µ, 10<sup>3</sup> Å Porosität. Bei Messungen in THF: Flußrate 1,0 mL/min; 25 °C; Shodex RI-Detektor; TSP UV2000 UV-Vis-Detektor; Säulensatz PSS-SDV 8\*300mm, 5 µ, 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> Å Porosität; Vorsäule 8\*50 mm, 5 µ, 10<sup>3</sup> Å Porosität. Als interner Standard wurde den Proben Toluol zugesetzt (0,5 µl/ml). Zur Kalibrierung dienten PSS Polystyrolstandards (374 - 10<sup>6</sup> D). Bei der verwendeten Software handelte es sich um PSS-WinGPC Version 4.01 bzw. Version 6.1 unter Windows NT Version 4.0. Für die HPLC wurde eine Pumpe der Firma Biotech, Modell 525 mit einem UV-Detektor Biotech 540 (Dioden Array) von Kontron Biotech und einem Knauer RI-Detektor benutzt. Es kamen verschiedene Kieselgel- und *reverse-phase*-Säulen von Waters und Machery & Nagel zum Einsatz.

DSC-Untersuchungen der Polyphenole erfolgten an einem Gerät der Firma Perkin-Elmer, Typ DSC 7, Heizrate 10 °C/min, von 0 bis 300 °C, Kalibrierung mit Pb und In. Die Bestrahlung der Polymerfilme erfolgte mit einem UV-Reaktor-System Typ 4 der Firma Heraeus Noblelight GmbH: Lampe Quecksilber-Mitteldruck (TQ718Z4; 700 W), Filter 300 nm (Typ UB2) auf Quarzträgern der Firma Starna GmbH (Typ 20-C, 1 mm). Molecular modeling wurde mit einem PC (1000 MHz Athlon CPU) mit dem Programm PC Spartan Pro Version 1.03 unter Windows NT Version 4.0 durchgeführt.

Die folgenden Messungen wurden in Zusammenarbeit mit dem Mikroanalytische Labor des Instituts für Organische Chemie der Johannes-Gutenberg-Universität ermöglicht: Die Aufnahme der 200 MHz <sup>1</sup>H-NMR-Spektren und der 50,29 MHz <sup>13</sup>C-NMR-Spektren erfolgte auf einem automatisierten FT-NMR-Spektrometer vom Typ Bruker AC200. Die 400 MHz <sup>1</sup>H-NMR-Spektren und 100,6 MHz <sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden an einem Spektrometer des Typs Bruker AM400 aufgenommen. Die 2D-NMR-Spektren wurden an einem Bruker ARX400 (400 MHz) bzw. einem Bruker DRX600 (600 MHz) aufgenommen. Neben den als Hochtemperatur-Messungen gekennzeichneten Spektren erfolgten alle anderen Messungen bei Raumtemperatur. Die angegebenen Werte der chemischen Verschiebungen beziehen sich auf das Signal des verwendeten Lösungsmittels. EI- und FD-Massenspektren wurden an einem Massenspektrometer Typ Varian MAT CH7A (70 eV) bzw. einem Finigan MAT 95 (10 mA/min) aufgenommen. Elementaranalysen wurden mit einem Foss Heraeus vario EL durchgeführt. Die angegebenen Werte sind das arithmetische Mittel zweier Messungen. Röntgenstrukturanalysen wurden an einem CAD4-Diffraktometer der Firma Enraf-Nonius

(Cu-K $\alpha$ ) bzw. einem SMART CCD, Modell Bruker AXS (Mo-K $\alpha$ ), erhalten. Die vollständigen Kristallstrukturdaten sind im Mikroanalytische Labor des Instituts für Organische Chemie der Johannes-Gutenberg-Universität abrufbar.

MALDI-TOF-Spektren wurden in Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Professor Schmidt an einem Micromass-Tofspec-E-Massenspektrometer gemessen. Bei der Firma Micromass gelang die Charakterisierung zweier Komplexverbindungen an einem Q-TOF<sup>®</sup>-Tandem-Massenspektrometer. Cyclovoltametrische Messungen entstanden im Arbeitskreis von Prof. Meier: Potentiostat/Galvanostat der Firma EcoChemie, Modell Autolab PGSTAT12, Metrohm Glassy-Carbon-Arbeits Elektrode (Scheibendurchmesser 2,0 mm), Methrom Ag/AgCl-Referenzelektrode, Methrom Platin-Gegenelektrode, Software GPES.

## 5.2 Synthese der Monomere

### 5.2.1 4'-Benzoyloxy-biphenyl-4-ol

Zu 5,0 g 4,4'-Dihydroxybiphenyl (26,85 mmol) in einem Gemisch aus 40 ml 1,4-Dioxan und 40 ml H<sub>2</sub>O wurden in Gegenwart von 25 ml 1,13 N NaOH langsam 3,78 g Benzoylchlorid (26,85 mmol) bei 5 °C eingetropft. Die Lösung wurde anschließend noch 5 Minuten stark gerührt. Durch Verdünnen der Lösung wurde ein weißer Feststoff erhalten, der abfiltriert und aus Ethanol/Wasser umkristallisiert wurde. Nach dem Trocknen im Feinvakuum wurden 7,21 g 4'-Benzoyloxy-biphenyl-4-ol erhalten.

Ausb.: 93%

Smp.: 234,5-236 °C

R<sub>F</sub>: 0,85 (MeOH)

C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>: M = 290,32

Elementaranalyse:

gef. : C 78,61 H 4,86 O 16,53

ber. : C 78,59 H 4,85 O 16,67

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ /ppm: 8,21 (d, 2H, H2, H6-Benzyl,  $J = 6,84$  Hz); 7,68-7,43 (m, 7H, H3, H4, H5-Benzyl, H3, H3', H5, H5'-Biphenyl); 7,24 (d, 2H, H2', H6'-Biphenyl  $J = 8,79$  Hz); 6,88 (d, 2H, H2, H6-Biphenyl,  $J = 8,79$  Hz); 4,88 (s, 1H, HO-Biphenyl)



FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3448 (breit, OH); 1719; 1612 (C=O); 1598 (Aryl); 1500 (Aryl); 1451; 1313; 1292; 1267; 1226 (C-OH); 1169; 1090; 1066; 809 (Aryl); 702 (Benzyl)

### 5.2.2 N-Hydroxy-phenyl-maleinsäureamid

4,02 g Maleinsäureanhydrid (41,0 mmol) und 4,47 g *p*-Aminophenol (41,0 mmol) wurden in 40 ml Methylenchlorid für 2 h stark gerührt. Der entstandene gelbe Feststoff wurde abfiltriert und im Feinvakuum getrocknet. Es wurden 8,43 g *N*-Hydroxy-phenylmaleinsäure-amid erhalten.

Ausb.: 99%

Smp.: 204,0 °C

R<sub>F</sub>: 0,67 (EtOAc : Hac, 10:1)

C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>: M = 207,18

Elementaranalyse:

gef.: C 57,97 H 4,38 N 6,76 O 30,89

ber.: C 57,42 H 4,48 N 6,55 O 31,55

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ /ppm: 13,45 (s, 1H, COOH); 10,38 (s, 1H, OH); 9,35 (s, 1H, NH); 7,41 (d, 2H, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>-Phenol,  $J = 8,79$  Hz); 6,72 (d, 2H, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>-Phenol,  $J = 8,79$  Hz); 6,45 (d, 1H, HC=C;  $J = 12,21$ ); 6,28 (d, 1H, C=CH;  $J = 12,21$ )

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3487 (OH); 3303 (COOH); 1706,0 (O=C-N-C=O); 1631 (C=O); 1551 (Aryl); 1514; 1464 (Aryl); 1399; 1231 (C-OH); 1157; 979; 837 (Aryl); 809

### 5.2.3 N-Hydroxy-phenyl-maleinimid

7,89 g *N*-Hydroxy-phenyl-maleinsäureamid (38,08 mmol) und 7,84 g Dicyclohexylcarbodiimid (38,08 mmol) wurden in 30 ml Methylenchlorid unter Stickstoffatmosphäre suspendiert. Das Gemisch wurde für 24 h stark gerührt. Die Lösung wurde filtriert und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde mit einem PE/EtOAc-Gemisch (1:1) an Kieselgel chromatographiert. Nach dem Trocknen im

Feinvakuum wurden insgesamt 2,75 g reines Endprodukt in Form eines orangefarbenen Feststoffs erhalten.

Ausb.: 38%

Smp.: 180,0 °C

R<sub>F</sub>: 0,88 (EtOAc : Hac, 10:1)

C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>: M = 189,17

Elementaranalyse:

gef.: C 63,49 H 3,73 N 7,40 O 25,37

ber.: C 63,49 H 3,71 N 7,50 O 25,26

400 MHz <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>), δ/ppm: 7,15 (d, 2H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,79 Hz); 6,87 (d, 2H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,79 Hz); 6,82 (s, 2H, CH=CH); 5,01 (s, 1H, OH)

100,6 MHz <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 170,25 (C=O); 156,95 (C1-Phenol); 134,45 (C=C); 128,34 (C4-Phenol); 122,43 (C3, C5-Phenol); 115,35 (C2, C6-Phenol)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3484 (OH); 1706 (O=C-N-C=O); 1523 (Aryl); 1448 (Aryl); 1416; 1404; 1271; 1217 (C-OH); 1151; 832 (Aryl); 690

UV-VIS (Ethanol): λ<sub>max</sub> = 202 nm

#### 5.2.4 N-Methacrylsäure-4-hydroxyanilid

1 g 4-Aminophenol (9,16 mmol) wurden zusammen mit 0,77 g NaHCO<sub>3</sub> (9,16 mmol) in einem Gemisch aus 20 ml 1,4-Dioxan und 20 ml H<sub>2</sub>O gelöst. Innerhalb von 15 min wurden 0,96 g (9,16 mmol) Methacrylsäurechlorid eingetropft. Nach 30 min wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde mit THF aufgenommen, die Lösung filtriert, im Vakuum eingeeengt und mit einem PE/EtOAc-Gemisch (1:1) an Kieselgel chromatographiert. Es wurden nach dem Trocknen im Feinvakuum 0,81 g (50%) reines Produkt neben einer leicht verunreinigten Mischfraktion erhalten.

Ausb.: 50%

Smp.: 156-157 °C

R<sub>F</sub>: 0,76 (EtOAc : Hac, 10:1)

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>: M = 177,20

Elementaranalyse:

gef.: C 67,73 H 6,32 N 7,71 O 18,24

ber.: C 67,78 H 6,27 N 7,40 O 18,06

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 9,53 (s, 1H, OH); 9,21 (s, 1H, NH); 7,41 (d, 2H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,79 Hz); 6,68 (d, 2H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,79 Hz); 5,73 (d, 1H, CH<sub>2</sub>=C, *J* = 9,28 Hz); 5,43 (d, 1H, C=CH<sub>2</sub>, *J* = 9,28 Hz); 1,92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)

100,6 MHz <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 166,15 (C=O); 153,46 (C1-Phenol); 140,48 (C-CH<sub>3</sub>); 130,48 (C4-Phenol); 122,00 (CH<sub>2</sub>-C); 119,23 (C3, C5-Phenol); 114,81 (C2, C6-Phenol); 18,75 (C-CH<sub>3</sub>)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3286; (Aryl); 3209 (OH); 1729 (Amid); 1646 (C=C); 1604 (C=O); 1590 (Aryl); 1547 (Amid); 1507 (Aryl); 1442; 1273; 1215 (C-OH); 1167; 1010; 963; 936; 831 (Aryl); 810; 740

### 5.2.5 N-Methacryloyl-11-aminoundecansäure

9,6 g 11-Aminoundecansäure (47,83 mmol) wurden in 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und dazu 5 g Methacrylsäurechlorid, gelöst in wenig CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, eingetropft. Nach 24 h unter Stickstoffatmosphäre wurde die Reaktionsmischung im Vakuum eingengt, mit wenig Diethylether versetzt und das Produkt mit kaltem Petrolether ausgefällt. Es wurden 8,48 g eines weißen Feststoffs erhalten.

Ausb.: 72%

Smp.: 72-73 °C

R<sub>F</sub>: 0,93 (EtOAc : HAc, 10:1)

C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>: M = 269,38

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 5,79 (breites s, 1H, NH); 5,65 (s, 1H,  $\text{CH}_2=\text{C}$ ); 5,29 (s, 1H,  $\text{CH}_2=\text{C}$ ); 3,28 (q, 2H,  $\text{CH}_2=\text{C-NH-CH}_2$ ,  $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2} = J_{\text{NH}-\text{CH}_2} = 6,83$  Hz); 2,32 (t, 2H,  $\text{HO-OC-CH}_2$ ,  $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2} = 7,33$  Hz); 1,94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1,60-1,51 (zwei breite Signale, 4H,  $\beta\text{-H}$ ); 1,24 (s, 12H, aliph. H)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3313 (OH); 2918; 2854; 1700 (Amid); 1650 (C=C); 1616 (C=O); 1533; 1477; 1430; 1410; 1217; 1188; 1120; 918; 871; 719

### 5.2.6 *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid

5,0 g *N*-Methacryloyl-11-aminoundecansäure (19 mmol) wurden zusammen mit 2,03 g *p*-Aminophenol und 4,59 g EEDQ unter Stickstoffatmosphäre in 200 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  für 24 h gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen und getrocknet. Nach dem Umkristallisieren aus Ethylacetat wurden 5,12 g *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid in Form eines weißen Feststoffs gewonnen.

Ausb.: 77%

Smp.: 114,7 °C

$R_f$ : 0,83 (EtOAc : Hac, 10:1)

$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ : M = 360,50

Elementaranalyse:

gef.: C 69,14 H 9,08 N 7,67 O 14,11

ber.: C 69,96 H 8,95 N 7,77 O 13,31

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 9,85 (s, 1H,  $\text{NH-Aryl}$ ); 9,14 (s, 1H, OH); 7,88 (t, 1H,  $\text{NH-CH}_2$ ,  $J = 6,83$  Hz); 7,34 (d, 2H, H3, H5-Phenol,  $J = 8,79$  Hz); 6,65 (d, 2H, H2, H6-Phenol,  $J = 8,79$  Hz); 5,60 (s, 1H,  $\text{CH}_2=\text{C}$ ); 5,28 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CH}_2$ ); 3,06 (q, 2H,  $\text{NH-CH}_2$ ,  $J_{\text{NH}-\text{CH}_2} = 6,83$  Hz); 2,21 (t, 2H,  $\text{CO-CH}_2$ ,  $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2} = 7,33$  Hz); 1,82 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1,62-1,32 (zwei breite Signale, 4H,  $\beta\text{-H}$ ); 1,24 (s, 12H, aliph. H)

100,6 MHz  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 170,42 ( $\text{CH}_2=\text{C}(-\text{CH}_3)-\text{CO}$ ); 167,25 ( $\text{Aryl-NH-CO}$ ); 153,00 (C1-Phenol); 140,08 ( $\text{CH}_2=\text{C}(-\text{CH}_3)$ ); 130,99 (C4-Phenol); 120,74

(C3, C5-Phenol); 118,52 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2=\text{C}$ ); 114,89 (C2, C6-Phenol); 36,19 (NH- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ); 28,98 CO- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ); 28,90-25,18 (aliphatic  $\text{CH}_2$ ); 18,64 ( $\text{CH}_3$ )

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3305 (OH); 2920; 2850; 1657 (C=C); 1613 (C=O); 1545 (Aryl); 1519; 1469 (Aryl); 1437; 1247 (C-OH); 1162; 1104; 960; 928; 833 (Aryl); 721

### 5.2.7 Zimtsäure-4-hydroxy-phenylester

2,52 g (30,0 mmol)  $\text{NaHCO}_3$  wurden zu einer Lösung von 9,0 g (0,82 mmol) Hydrochinon und 30 ml Aceton unter Stickstoffatmosphäre gegeben. Durch starkes Rühren wurde eine Suspension hergestellt. Dann wurde eine Lösung von 5,0 g (30,0 mmol) Zimtsäurechlorid in 20 ml Aceton bei  $0^\circ\text{C}$  eingetropft und der Ansatz für 24 h gerührt. Nach Filtration und Einengen der Lösung im Vakuum wurde durch den Zusatz von Wasser das Produkt ausgefällt. Der weiße Niederschlag wurde in EtOAc aufgenommen und die Lösung mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung ausgeschüttelt. Nach Phasentrennung und dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 5,86 g Zimtsäure-4-hydroxy-phenylester erhalten.

Ausb.: 82%

Smp.:  $172,4^\circ\text{C}$

$R_f$ : 0,85 (EtOAc : PE, 1:1)

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3$ : M = 240,25

Elementaranalyse:

gef.: C 74,45 H 5,02 O 20,53

ber.: C 74,99 H 5,03 O 19,98

200 MHz  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 9,53 (s, 1H, OH); 7,83 (d, 1H,  $\text{HC}=\text{C}$ ,  $J = 16,1$  Hz); 7,79 (m, 2H, H2, H6-Phenyl); 7,46 (m, 3H, H3, H4, H5); 6,99 (d, 2H, H3, H5-Phenol,  $J = 8,78$  Hz); 6,85 (d, 1H,  $\text{C}=\text{CH}$ -Phenyl,  $J = 16,1$  Hz); 6,78 (d, 2H, H2, H6-Phenol,  $J = 8,78$  Hz)

100,6 MHz  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 165,30 (C=O); 154,88 (C1-Phenol); 145,96 (C=CH-C=O); 142,59 (C4-Phenol); 133,88 (C1-Phenyl); 130,75 (C4-Phenyl); 128,96 (C3, C5-Phenyl); 128,55 (C2, C6-Phenyl); 122,44 (C3, C5-Phenol); 117,41 (C=C); 115,51 (C2, C6-Phenol)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3401 (OH); 1708 (C=C-COO); 1632 (C=C); 1595; 1509 (Aryl); 1224; 1207 (C-OH); 982 (C=C); 847; 829 (1,4-Aryl); 766 (1-Aryl); 682

### 5.2.8 Zimtsäure-4-hydroxy-phenylanilid

2,52 g (30,0 mmol)  $\text{NaHCO}_3$  wurden zu einer Lösung von 3,28 g (30 mmol) 4-Aminophenol und 50 ml Aceton unter Stickstoffatmosphäre gegeben. Durch starkes Rühren wurde eine Suspension hergestellt. Dann wurde eine Lösung von 5,0 g (30 mmol) Zimtsäurechlorid in 30 ml Aceton bei 0 °C eingetropft und der Ansatz für 24 h gerührt. Nach Filtration und Entfernen des Acetons im Vakuum verblieb ein gelber Feststoff. Dieser wurde noch mit Ethanol gewaschen.

Ausb.: 99%

Smp.: 216,1 °C

$R_f$ : 0,70 (EtOAc : PE, 1:1)

$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ : M = 239,27

Elementaranalyse:

gef.: C 74,05 H 6,96 N 5,25 O 13,47

ber.: C 75,30 H 5,48 N 5,85 O 13,37

400 MHz  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 10,00 (s, 1H, NH); 9,25 (s, 1H, OH) 7,59 (d, 2H, H3, H5-Phenol,  $J = 8,80$  Hz); 7,52 (d, 2H, CO-HC=C,  $J = 15,7$  Hz); 7,49 (d, 2H, H2, H6-Phenyl); 7,41 (m, 3H, H3, H4, H5-Phenyl); 6,80 (d, 2H, C=CH-O,  $J = 15,7$  Hz); 6,72 (d, 2H, H2, H6-Phenol,  $J = 8,80$  Hz)

100,6 MHz  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 162,84 (C=O); 153,43 (C1-Phenol); 139,27 (C=C); 134,85 (C4-Phenol); 130,96 (C1-Phenyl); 129,54 (C4-Phenyl); 128,95 (C3, C5-Phenyl); 127,56 (C2, C6-Phenyl); 122,58 (C3, C5-Phenol); 120,86 (C=C); 115,14 (C2, C6-Phenol)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3308 (OH); 1654 (Amid I); 1623 (C=C); 1557 (Amid II); 1515 (Aryl); 1441; 1232 (C-OH); 982 (C=C); 992 (C=C); 831 (1,4-Aryl); 762 (1-Aryl); 678

### 5.2.9 4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron

7,3 g (0,06 mol) 4-Hydroxybenzaldehyd wurden in 35 ml 2N NaOH suspendiert und 5,4 g (0,06 mol) *N*-Methylhydroxylamin-hydrochlorid, gelöst in 13 ml Wasser, zugetropft. Nach 15 min Rühren wurde das gebildete Nitron abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Nach Flash-Chromatographie an Kieselgel mit einem PE/EtOAc-Gemisch (Gradient) und Entfernen des Lösungsmittels im Vak. wurde das 4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron erhalten.

Ausb.: 67%

Smp.: 220,0 °C

R<sub>F</sub>: 0,70 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>: M = 151,16

Elementaranalyse:

gef.: C 63,37 H 6,05 N 8,92 O 21,66

ber.: C 63,56 H 6,00 N 9,27 O 21,17

400 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 10,0 (s, 1H, OH), 8,09 (d, 2H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,80 Hz), 7,64 (s, 1H, -CH=N), 6,79 (d, 2H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,80 Hz), 3,68 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>)

50,3 MHz <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 158,87 (C1-Phenol), 133,74 (CH), 129,95 (C3, C5-Phenol), 122,53 (C4-Phenol), 115,11 (C2, C6-Phenol), 53,38 (CH<sub>3</sub>)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3436 (OH), 2922, 2877, 2794, 2582, 2471 (Alkyl, Aryl), 1605, 1577, 1513 (Aryl), 1399, 1287, 1247 (C-O), 1178, 1148 (N-O), 933, 868, 836

FD-MS: m/z = 151,3 (M<sup>+</sup>, 84,7 %); 152,3 (MH<sup>+</sup>, 10,8 %); 302,4 (Dimer, 0,8 %)

UV-VIS (Acetonitril): λ<sub>max</sub> = 297 nm

### 5.2.10 Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid

12,5 g (0,11 mol) 4-Aminophenol und 15,2 g (0,11 mol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> wurden in 250 ml Ethylacetat suspendiert. Dann wurden 15 g (0,11 mol) 2-Furanosylchlorid langsam bei 0 °C eingetropft

und die Mischung 3 h unter Rückfluß erhitzt (Stickstoffatmosphäre). Die Suspension wurde dann heiß filtriert, auf 40 °C abgekühlt und im Vakuum auf etwa 100 ml eingengt. Nach dem Abkühlen auf -25 °C kristallisierten 13 g Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid. Erneutes Einengen und Abkühlen ergab weitere 6 g. Je nach Qualität des verwendeten 4-Aminophenols kann ein Umkristallisieren aus Ethylacetat oder eine Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem PE/EtOAc-Gemisch (Gradient) nötig sein.

Ausb.: 85%

Smp.: 218,4 °C

R<sub>F</sub>: 0,50 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>: M = 203,19

Elementaranalyse:

gef.: C 64,41 H 5,18 N 5,13 O 23,89

ber.: C 65,02 H 4,46 N 6,89 O 23,62

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 9,95 (s, 1H, NH); 9,28 (s, 1H, OH); 7,88 (d, 1H, H4-Furanosyl, *J* = 0,98 Hz); 7,49 (d, 2H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,78 Hz); 7,25 (d, 1H, H2-Furanosyl, *J* = 2,92 Hz); 6,72 (d, 2H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,78 Hz); 6,66 (m, 1H, H3-Furanosyl)

100,6 MHz <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 155,80 (C=O); 153,75 (C1-Phenol); 147,78 (C1-Furanosyl); 145,22 (C4-Furanosyl); 129,87 (C4-Phenol); 122,26 (C3, C5-Phenol); 114,95 (C2, C6-Phenol); 113,98 (C2-Furanosyl); 111,93 (C3-Furanosyl)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3200 (OH); 1612 (Amid); 1580; 1511 (C=C); 1269; 1224; 1219 (C-OH); 1167; 1026 (Furanosyl); 831 (1,4-Aryl); 761 (1-Aryl); 733

### 5.2.11 4-(4-Nitro-benzylidenamino)-phenol

10 g (66,2 mmol) 4-Nitrobenzaldehyd, 11,2 g (66,2 mmol) 4-Aminophenol und 0,2 g 4-Toluolsulfonsäure wurden in 200 ml Chloroform suspendiert. Die Mischung wurde 4 h am Wasserabscheider erhitzt. Die Mischung wurde dann gekühlt und der gebildete orangefarbene Feststoff abgesaugt. Dieser wurde mit Wasser gewaschen und aus Methanol umkristallisiert.



Je nach Qualität des verwendeten 4-Aminophenols kann eine Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem EtOAc/PE-Gemisch (1:1) nötig sein.

Ausb.: 87%

Smp.: 152,2 °C

R<sub>F</sub>: 0,86 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: M = 242,23

Elementaranalyse:

gef.: C 64,23 H 4,37 N 11,64 O 19,76

ber.: C 64,46 H 4,16 N 11,56 O 19,82

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 9,69 (s, 1H, OH); 8,78 (s, 1H, NC=H); 8,32 (d, 2H, H3, H5-Phenyl, *J* = 8,78 Hz); 8,11 (d, 2H, H2, H6-Phenyl, *J* = 8,78 Hz); 7,30 (d, 2H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,78 Hz); 6,82 (d, 2H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,78 Hz)

100,6 MHz <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 157,21 (N=CH); 154,61 (C1-Phenol); 148,29 (C4-Phenyl); 142,01 (C4-Phenol); 141,58 (C1-Phenyl); 128,99 (C2, C6-Phenyl); 123,87 (C3, C5-Phenol); 123,06 (C3, C5-Phenyl); 115,76 (C2, C6-Phenol)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3453 (OH); 1625; 1599 (C=N); 1581; 1512 (Aryl); 1342 (NO<sub>2</sub>); 1265; 1240; 1211 (C-OH); 1164; 1108 (C-O); 973; 853 (Aryl); 833; (Phenol); 751; 690

UV-VIS (THF): λ<sub>max</sub> = 380 nm

### 5.2.12 Tri(4-hydroxy-phenyl)-methan

9,73 g (0,08 mol) 4-Hydroxybenzaldehyd und 30 g (0,32 mol) Phenol wurden mit 10 ml HCl<sub>(konz)</sub> bei 50 °C für 6 h unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Danach wurde die Schmelze abgekühlt, und 30 ml kaltes Chloroform zugegeben. Nach Filtration wurde das Produkt mittels Flash-Chromatographie an Kieselgel mit einem PE/EtOAc-Gemisch (1:1) isoliert.

Ausb.: 86%

Smp.: 231,3 °C

R<sub>F</sub>: 0,67 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>: M = 292,33

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 9,20 (s, 3H, OH); 6,85 (d, 6H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,70 Hz); 6,65 (d, 6H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,70 Hz); 5,21 (s, 1H, CH)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3285 (OH), 1601, 1510 (Aryl), 1445, 1247 (C-O), 1173, 834 (1,4-Aryl)

FD-MS: m/z = 292,4 (M<sup>+</sup>, 80,6%); 293,4 (MH<sup>+</sup>, 17,6%); 490,6 ([Dimer – 1 Phenol]<sup>+</sup>, 1,74%)

### 5.2.13 [Di(4-hydroxyphenyl)-4-methoxyphenyl]-methan

Zu 15 ml Anisaldehyd (0,12 mol) und 46,5 g Phenol (0,49 mol) wurden 10 ml HCl<sub>(konz.)</sub> gegeben und die Mischung 4 h bei 60 °C unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Das entstandene tiefrote Reaktionsgemisch wurde dann zunächst mit etwas Methanol verdünnt und dann das überschüssige Phenol weitgehend durch Wasserdampfdestillation abgetrennt. Der rote Rückstand wurde an Kieselgel mit einem EtOAc/PE-Gemisch (1:1) chromatographiert. Das gewünschte Produkt wurde in Form von violetten Kristallen erhalten.

Ausb.: 86%

R<sub>F</sub>: 0,62 (Aceton : CHCl<sub>3</sub>, 1:1)

C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>: M = 306,36

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 10,20-8,50 (s, 2H, OH); 6,95 (d, 2H, H3, H5-Anisol, *J* = 8,78 Hz); 6,74 (d, 4H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,30 Hz); 6,82 (d, 2H, H2, H6-Anisol, *J* = 8,78 Hz); 6,65 (d, 4H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,30 Hz); 5,27 (s, 1H, CH); 3,70 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>)

### 5.2.14 [Di(4-acetyloxyphenyl)-4-methoxyphenyl]-methan

0,5 g (1,63 mmol) Di(4-hydroxyphenyl)-4-methoxyphenylmethan wurden in 4 ml Acetanhydrid gelöst. Die orangefarbene Lösung wurde 24 h unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Eingießen in 30 ml kaltes Wasser wurde die gelbe organische Phase abgetrennt und im Vakuum getrocknet.

Ausb.: 98%

R<sub>F</sub>: 0,82 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>: M = 390,43

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 7,25 (m, 12H, Phenyl); 5,58 (s, 1H, CH); 3,71 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>); 2,24 (s, 6H, (CO)CH<sub>3</sub>)

ESI-TOF-MS: m/z = 413,14 (MNa<sup>+</sup>, 100,0 %)

### 5.2.15 [Di(4-hydroxyphenyl)-4-benzyloxyphenyl]-methan

Zu 5,0 g (23,56 mmol) 4-Benzyloxybenzaldehyd und 8,87 g (94,25 mmol) Phenol wurden 5 ml HCl<sub>(konz.)</sub> gegeben und die Mischung 5 h bei 60 °C unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Aus dem dunkelroten Reaktionsgemisch wurde dann das überschüssige Phenol weitgehend durch Wasserdampfdestillation abgetrennt. Der orangefarbene Rückstand wurde an Kieselgel mit einem EtOAc/PE-Gemisch (1:1) chromatographiert. Das gewünschte Produkt wurde in Form von roten Kristallen erhalten.

Ausb.: 70%

R<sub>F</sub>: 0,65 (Aceton : CHCl<sub>3</sub>, 1:1)

C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>: M = 382,16

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 9,70-8,60 (s, 2H, OH); 7,19 (m, 5H, Benzyl) 7,00 (d, 2H, H3, H5-Phenoxy, *J* = 8,38 Hz); 6,74 (d, 4H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,30 Hz); 6,66 (d, 2H, H2, H6-Phenoxy, *J* = 8,38 Hz); 6,64 (d, 4H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,30 Hz); 5,21 (s, 1H, CH); 3,85 (s, 1H, CH<sub>2</sub>)

### 5.2.16 [Di(4-acetyloxyphenyl)-4-benzyloxyphenyl]-methan

0,5 g (1,63 mmol) Di(4-hydroxyphenyl)-4-benzyloxyphenylmethan wurden in 4 ml Acetanhydrid gelöst. Die orangefarbene Lösung wurde 24 h unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Eingießen in 30 ml kaltes Wasser wurde die bräunlich organische Schicht abgetrennt und im Vakuum getrocknet. Nach Flash-Chromatographie an Kieselgel mit einem PE/EtOAc-Gemisch (1:1) wurde das Produkt erhalten.

Ausb.: 65%

R<sub>F</sub>: 0,85 (EtOAc : Pe 1:1)

C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>: M = 466,52

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 7,25-6,93 (m, 5H, Benzyl); 7,71 (2H, H3, H5-Benzyloxyphenyl, *J* = 8,78 Hz) 7,03 (4H, H3, H5-Acetyloxyphenyl, *J* = 8,30 Hz) 6,69 (d, 4H, H2, H6-Acetyloxyphenyl, *J* = 8,30 Hz); 6,66 (d, 2H, H2, H6-Benzyloxyphenyl, *J* = 8,78 Hz); 5,52 (s, 1H, CH); 3,85 (2H, CH<sub>2</sub>); 2,24 (s, 6H, (CO)CH<sub>3</sub>)

ESI-TOF-MS: m/z = 465,16 (M<sup>+</sup>, 100,0 %)

### 5.2.17 [Di(4-hydroxyphenyl)-4-nitrophenyl]-methan

Zu 2,0 g (13,23 mmol) 4-Nitrobenzaldehyd und 4,98 g (52,94 mmol) Phenol wurden 3 ml HCl<sub>(konz.)</sub> gegeben und die Mischung 3 h bei 60 °C unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Nach dem Verdünnen der Mischung mit Aceton wurde das überschüssige Phenol weitgehend durch Wasserdampfdestillation abgetrennt. Das gewünschte Produkt wurde in Form von orangefarbenen Kristallen erhalten.

Ausb.: 94%

R<sub>F</sub>: 0,70 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>: M = 321,33

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 9,50-9,15 (s, 2H, OH); 8,14 (d, 2H, H2, H6-Phenyl, *J* = 8,50 Hz); 7,32 (d, 2H, H3, H5-Phenyl, *J* = 8,50 Hz); 6,87 (d, 4H, H3, H5-Phenol, *J* = 8,30 Hz); 6,69 (d, 4H, H2, H6-Phenol, *J* = 8,30 Hz); 5,53 (s, 1H, CH)

### 5.2.18 [Di(4-acetyloxyphenyl)-4-nitrophenyl]-methan

2,0 g (6,24 mmol) Di(4-hydroxyphenyl)-4-nitrophenylmethan und 76 mg Natriumacetat wurden in 3 ml Acetanhydrid gelöst. Die orangefarbene Lösung wurde 12 h unter Schutzgasatmosphäre bei 60 °C gerührt. Nach dem Eingießen in 30 ml kaltes Wasser wurde CHCl<sub>3</sub> zugegeben und mit 1 N HCl und ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung ausgeschüttelt. Die CHCl<sub>3</sub>-

Phase wurde mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde die Substanz in Form von gelb-orangefarbenen Kristallen erhalten.

Ausb.: 50%

$R_f$ : 0,82 (EtOAc : PE, 1:1)

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ :  $M = 405,40$

200 MHz  $^1\text{H}$ -NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 8,04 (d, 2H, H2, H6-Phenyl,  $J = 8,78$  Hz); 7,21 (d, 2H, H3, H5-Phenyl,  $J = 8,78$  Hz); 7,02 (m, 8H, H3, H5, H2, H6-Phenol); 5,58 (s, 1H, CH); 2,20 (s, 6H, O- $\text{CH}_3$ )

### 5.2.19 [Di(4-hydroxyphenyl)-4-chlorphenyl]-methan

Zu 5,0 g (35,57 mmol) 4-Chlorbenzaldehyd und 13,39 g (0,14 mol) Phenol wurden 7,5 ml  $\text{HCl}_{(\text{konz.})}$  gegeben und die Mischung 3 h bei 60 °C unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Nach dem Verdünnen der Mischung mit Aceton wurde das überschüssige Phenol weitgehend durch Wasserdampfdestillation abgetrennt. Das gewünschte Produkt wurde in Form von orangefarbenen Kristallen erhalten.

Ausb.: 95%

$R_f$ : 0,78 (EtOAc : PE, 1:1)

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClO}_2$ :  $M = 310,77$

200 MHz  $^1\text{H}$ -NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 9,27 (s, 2H, OH); 7,31 (d, 2H, H2, H6-Chlorphenyl,  $J = 8,50$  Hz); 7,05 (d, 2H, H3, H5-Chlorphenyl,  $J = 8,50$  Hz); 6,85 (d, 4H, H3, H5-Phenol,  $J = 8,30$  Hz); 6,67 (d, 4H, H2, H6-Phenol,  $J = 8,30$  Hz); 5,35 (s, 1H, CH)

### 5.2.20 [Di(4-methoxyphenyl)-4-chlorphenyl]-methan

2 g (6,44 mmol) Di(4-hydroxyphenyl)-4-chlorphenylmethan wurden in 10 ml 10%iger wäßriger KOH-Lösung unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Unter Rühren wurde dann das Dimethylsulfat so eingetropft, daß die Reaktionstemperatur 40 °C nicht überschritt. Die Lösung wurde 30 min bei RT gerührt, und dann 30 min mit einem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die wäßrige Phase abgegossen. Der klebrige Rückstand

wurde kurz mit Wasser gewaschen und dann in Ether aufgenommen. Die etherische Phase wurde mit 1 N NaOH ausgeschüttelt und mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt in Form von gelben Kristallen erhalten.

Ausb.: 85%

R<sub>F</sub>: 0,89 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>ClO<sub>2</sub>: M = 338,83

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 7,23 (d, 2H, H2, H6-Chlorphenyl, *J* = 8,30 Hz); 7,02 (d, 2H, H3, H5-Chlorphenyl, *J* = 8,30 Hz); 6,98 (d, 4H, H3, H5-Methoxyphenyl, *J* = 8,50 Hz); 6,81 (d, 4H, H2, H6-Methoxyphenyl, *J* = 8,50 Hz); 5,41 (s, 1H, CH); 3,77 (s, 6H, O-CH<sub>3</sub>)

### 5.2.21 *N,N*-4,5-Dimorpholino-1,2-dihydroxybenzol

22 g Brenzcatechin und 35 g Morpholin wurden in 250 ml Ethanol gelöst. Unter schwacher Drucklufteinleitung wurde die Lösung 12 h unter Rückfluß erhitzt. Die entstandene rot-braune Lösung wurde im Vakuum auf etwa 100 ml eingengt, gekühlt und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Das Produkt wurde in Form weißer nadelförmiger Kristalle nach wiederholter Umkristallisation aus Ethanol erhalten.

Ausb.: 40%

R<sub>F</sub>: 0,70 (EtOAc : PE, 1:1)

C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: M = 280,32

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 6,34 (s, 2H, Phenyl); 3,67 (t, 8H, O-CH<sub>2</sub>, *J* = 3,95 Hz); 2,92 (t, 8H, N-CH<sub>2</sub>, *J* = 3,95 Hz)

### 5.2.22 4-[(Dodecylimino)methyl]-1,2-dihydroxybenzol

10 g (72,40 mmol) 3,4-Dihydroxybenzaldehyd und 13,4 g (43,87 mmol) 1-Dodecylamin wurden mit 0,2 g 4-Toluolsulfonsäure in 300 ml Toluol 12 h am Wasserabscheider erhitzt. Die Mischung wurde dann gekühlt und der gebildete orangefarbene Feststoff abgesaugt. Nach

Flash-Chromatographie an Kieselgel mit einem PE/EtOAc-Gemisch (1:1) wurde das Produkt erhalten.

Ausb.: 92%

R<sub>F</sub>: 0,52 (EtOAc : PE 1:1)

C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>2</sub>: M = 305,46

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 8,02 (s, 1H, CH); 7,17 (d, 1H, H3-Phenyl, <sup>4</sup>J = 1,96 Hz); 6,92 (dd, 1H, H5-Phenyl, <sup>3</sup>J = 8,30 Hz, <sup>4</sup>J = 1,96 Hz); 6,71 (d, 1H, H6-Phenyl, <sup>3</sup>J = 8,30 Hz); 3,42 (t, 2H, N-CH<sub>2</sub>, J = 6,34 Hz); 1,53 (m, 2H, β-CH<sub>2</sub>); 1,20 (m, 18H, aliphatic CH<sub>2</sub>); 0,82 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 6,36 Hz)

### 5.2.23 3,8-Dihydroxy-ellagsäure

9 g (58,40 mmol) 3,4-Dihydroxybenzoesäure wurden in 100 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(konz.) gelöst. Dann wurden portionsweise 13,5 g (58,08 mmol) Kalimeroxodisulfat so eingetragen, daß die Reaktionstemperatur 60 °C nicht überschritt. Die dunkelgrüne Lösung wurde 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Sie wurde dann in Eiswasser eingegossen, der braune Niederschlag wurde abfiltriert, und 12 h mit Ethanol am Soxhlet extrahiert. Alternativ kann mit Pyridin umkristallisiert werden.

Ausb.: 78%

C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>: M = 270,19

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 11,62 (s, 2H, OH); 7,96 (d, 2H, H5, H5', J = 8,78 Hz); 7,32 (d, 2H, H6, H6' J = 8,78 Hz)

FT-IR (KBr), λ<sup>-1</sup> [cm<sup>-1</sup>]: 3159 (OH); 1704 (OC=O); 1614; 1578 (Aryl); 1312 (O-C=O); 1200 (C-OH); 1115; 1086; 850 (Aryl); 768

### 5.2.24 4,5-Dimethoxy-2-(pentylcarboxyamido)-benzoesäure

Zu einer Suspension von 15 g (75,68 mmol) 2-Amino-4,5-dimethoxybenzoesäure und 6,34 g (75,68 mmol) NaHCO<sub>3</sub> in 200 ml Aceton wurden 10,3 g (88,67 mmol) Capronsäurechlorid

langsam bei 5°C eingetropft. Die Mischung wurde noch für 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde filtriert, der Rückstand mit Aceton gewaschen, und die vereinigten Acetonfraktionen einrotiert. Der Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen und mit 1 N HCl sowie mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen mit MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand nochmals mit Toluol gewaschen.

Ausb.: 50%

R<sub>F</sub>: 0,77 (MeOH : Aceton, 1:2)

C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>: M = 295,33

200 MHz <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>), δ/ppm: 13,32 (s, 1H, COOH); 11,22 (s, 1H, NH); 8,31 (s, 1H, H5-Benzoessäure); 7,40 (s, 1H, H2-Benzoessäure); 3,79 (s, 3H, O3-CH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, O4-CH<sub>3</sub>); 2,35 (t, 2H, CO-CH<sub>2</sub>, *J* = 7,82 Hz); 1,57 (m, 2H, β-CH<sub>2</sub>); 1,30 (m, 4H, CH<sub>2</sub>); 0,86 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, *J* = 6,84 Hz)

### 5.3 Synthese der Polymere

Zuerst wurde das Monomer im organischen Lösungsmittel vorgelegt. Dann wurde die berechnete Menge an wäßriger Pufferlösung abzüglich 5-10 ml Puffervolumen zugegeben und die Mischung mit einem Kreisschüttler homogenisiert. Die restliche Pufferlösung wurde benutzt, um das Enzym vor der Zugabe zum Polymerisationsansatz zu stabilisieren. Dazu wurde die benötigte Enzymmenge als lyophiles Pulver eingewogen, dieses dann im Puffer gelöst und diese Lösung tropfenweise zum Reaktionsansatz gegeben. Die dem Monomer entsprechende molare Menge an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wurde dann als 30%ige Lösung in Wasser (Perhydrol, Merck) entweder zu 20 Portionen alle 15 Minuten zugesetzt (variable Pipette, Eppendorf) oder mit einer Schlauchpumpe kontinuierlich in den Ansatz eingefahren. Die Ansätze wurden dann noch 12 – 24 h geschüttelt. Die entstandenen Polyphenole wurden dann abfiltriert oder abzentrifugiert und mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen im Vakuum wurden die Polymere nochmals durch Umfällen gereinigt und im Feinvakuum (10<sup>-3</sup> mbar), wenn nötig mit einer Diffusionspumpe (10<sup>-6</sup> mbar) getrocknet.



### 5.3.1 Poly[*N*-hydroxy-phenyl-maleinimid]

a.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 65%; b.) 0,1 M Monomer, 0,1 M (2,6-di-*O*-methyliertes)- $\beta$ -cyclodextrin (Methylierungsgrad 1,8), 0,15 mg/ml HRP, Phosphatpuffer pH-7 (100 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 79%

a.) GPC (THF, PS):  $M_n = 1400$ ,  $M_w = 1530$ , PD = 1,2

b.) GPC (THF, PS):  $M_n = 890$ ,  $M_w = 1000$ , PD = 1,1

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 7.45-6.22 (m, Phenyl, CH=CH)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3447 (breit, OH); 1717 (O=C-N-C=O); 1506 (Aryl); 1436; 1419; 1405; 1222 (C-OH); 1156; 830 (Aryl); 696

MALDI-TOF-MS (Dithranol, K), Da/e: 639.3 (100.0%, 3M+2K); 827.4 (86.4%, 4M+2K); 976.1 (43.8%, 5M+K); 1014.6 (82.7%, 5M+2K); 1163.2 (41.4%, 6M+K); 1201.8 (74.7%, 6M+2K); 1241.0 (44.4%, 6M+3K); 1389.2 (62.3%, 7M+2K); 1428.2 (48.8%, 7M+3K); 1576.3 (48.1%, 8M+2K); 1763.7 (35.2%, 9M+2K); 1802.6 (38.3%, 9M+3K); 1841.5 (28.4%, 9M+4K); 1989.7 (30.2%, 10M+3K); 2176.9 (23.5%, 11M+3K); 2216.1 (19.8%, 11M+4K); 2365.0 (14.8%, 12M+3K); 2442.6 (10.5%, 12M+5K); 2591.4 (9.3%, 13M+4K)

### 5.3.2 Poly[*N*-methacrylsäure-4-hydroxyanilid]

a.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 79%; b.) 0,1 M Monomer, 0,1 M (2,6-di-*O*-methyliertes)- $\beta$ -cyclodextrin (Methylierungsgrad 1,8), 0,15 mg/ml HRP, Phosphatpuffer pH-7 (100 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 74%

a.) GPC (THF, PS):  $M_n = 1200$ ,  $M_w = 1500$ , PD = 1,3

b.) GPC (THF, PS):  $M_n = 1260$ ,  $M_w = 1560$ , PD = 1,2

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 9.98-9.56 (s, 2H, OH, NH); 8.31-6.55 (s, 2,2H, Phenyl); 5.78 (m, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 5.47 (m, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 1.93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3431 (breit, OH); 1662 (C=C); 1625 (C=O); 1533 (Amid); 1506 (Aryl); 1456; 1417; 1220 (C-OH); 932

MALDI-TOF-MS (Dithranol, K), Da/e: 566.3 (58.5%, 3M+K); 741.6 (78.1%, 4M+K); 779.5 (23.4%, 4M+2K); 916.7 (65.2%, 5M+K); 954.8 (27.1%, 5M+2K); 1091.9 (57.8%, 6M+K); 1266.8 (49.8%, 7M+K); 1441.0 (46.1%, 8M+K); 1616.0 (37.5%, 9M+K); 1791.1 (31.4%, 10M+K); 1966.1 (27.1%, 11M+K); 2141.3 (18.5%, 12M+K); 2316.1 (15.4%, 13M+K); 2490.5 (12.3%, 14M+K)

### 5.3.3 Poly[N-methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid]

0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 23%

GPC (THF, PS):  $M_n = 1900$ ,  $M_w = 1400$ , PD = 1,4

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ /ppm: 10.32 (2H, NH-Aryl, OH); 7.88-6.50 (m, 3,3H, NH-CH<sub>2</sub>, Phenyl); 5.58 (m, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 5.25 (m, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 3.62-3.38 (m, 2H, NH-CH<sub>2</sub>); 3.06 (s, 2H, CO-CH<sub>2</sub>), 1.80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.61-0.8 (m, 16H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3300 (OH); 2926; 2854; 1657 (C=C); 1614 (C=O); 1542; 1505; 1456 (Aryl); 1431; 1215 (C-OH); 1120; 1037; 931; 861 (Aryl)

MALDI-TOF-MS (Dithranol, K), Da/e: 361.5 (70.6%, M); 399.5 (100,0%, M+K); 758.0 (73.5%, 2M+K); 1116.4 (38.2%, 3M+K); 1473.8 (41.8%, 4M+K); 1832.7 (29.4%, 5M+K); 2191.0 (22.0%, 6M+K); 2549.1 (12.7%, 7M+K); 2907.4 (7.2%, 8M+K)

### 5.3.4 Poly[zimtsäure-4-hydroxy-phenylester]

0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Wasser, Ausb.: 48%

GPC (DMF, PS):  $M_n = 4300$ ,  $M_w = 2900$ , PD = 1,5

400 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 8,10-7,55 (m, H2, H6-Phenyl,  $\text{CH}_2=\text{C}$ ); 7,55-6,86 (m, H3, H4, H5-Phenyl, H3, H5-Phenol,  $\text{C}=\text{CH}_2$ ); 6,86-6,22 (m, H2, H6-Phenol)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3444 (OH); 1728 ( $\text{O}=\text{C}-\text{O}$ ); 1634 ( $\text{C}=\text{O}$ ); 1497 (Aryl); 1431; 1201; 1184 ( $\text{C}-\text{OH}$ ); 1141; 980 ( $\text{C}=\text{C}$ ); 766 (Aryl)

MALDI-TOF-MS (Dithranol, K), Da/e: 1193,50 (38,5%, 5M); 1232,45 (35,4%, 5M+K); 1431,56 (64,4% 6M), 1669,67 (50,6%, 7M); 1905,67 (39,3%, 8M)

### 5.3.5 Poly[zimtsäure-4-hydroxy-phenylanilid]

0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, Aceton/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Wasser, Ausb.: 72%

GPC (DMF, PS):  $M_n = 2000$ ,  $M_w = 2500$ , PD = 1,25

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 10,74-9,88 (NH, OH); 7,79-7,53 (m, H3, H5-Phenol,  $\text{CO}-\text{HC}=\text{C}$ ); 7,53-7,12 (m, Phenyl,  $\text{C}=\text{CH}$ ); 7,12-6,40 (m, H2, H6-Phenol)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3410 (OH); 1663 (Amid); 1626 ( $\text{C}=\text{O}$ ); 1541; 1504 (Aryl); 1214 ( $\text{C}-\text{OH}$ ); 977 ( $\text{C}=\text{C}$ ); 861 (Aryl); 764 (Aryl)

### 5.3.6 Poly[4-hydroxy-benzaldehyd-methylnitron]

0,1 M Monomer; 0,15 mg/ml HRP; a.) 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 90%; b.) Aceton/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 85%

a.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 1600$  g/mol,  $M_w = 8200$  g/mol, PD = 5,1

b.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 760$  g/mol,  $M_w = 9300$  g/mol, PD = 12,2

50,6 MHz  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 158.30 (C1-Phenol); 133.50 ( $\text{CH}=\text{N}$ ); 128.76 (C3, C5-Phenol); 122.48 (C4-Phenol); 115.71 (C2, C6-phenol); 53.38 ( $\text{CH}_3$ )

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3431 (OH); 2922; 2877; 2794; 2582; 2471 (Alkyl, Aryl); 1676 (CH=O); 1593 (C=C); 1412; 1289; 1257; 1214 (C-OH); 1158 (N-O); 941; 830 (Aryl)

UV (DMF):  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm} = 304$  (Nitron)

### 5.3.7 [Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid/N-Hydroxy-phenyl-maleinimid]-Copolymer

a.) 0,01 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (85:15 vol%), Umfällen aus THF/0,1 N HCl, Ausb.: 98%; b.) 0,05 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (85:15 vol%), Umfällen aus THF/0,1 N HCl, Ausb.: 49%

a.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 1400$  g/mol,  $M_w = 4000$  g/mol, PD = 2,8

b.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 1600$  g/mol,  $M_w = 3900$  g/mol, PD = 2,4

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 10,71-9,00 (m, OH, NH); 8,32-6,15 (m, Phenol, Furanosyl)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3424 (OH); 1710 (O=C-N-C=O); 1640 (Amid); 1516 (C=C); 1215 (C-OH); 1118; 1013; 885; 761 (Aryl)

MALDI-TOF-MS (Dithranol, K), Da/e: 1031,9 (100,0%,  $4M_F1M_{HK}$ ); 1045,9 (28,4%,  $5M_FK$ ); 1195,2 (17,3%,  $5M_FM_H$ ); 1233,2 (57,8%,  $5M_F1M_{HK}$ ); 1247,2 (15,5%,  $6M_FK$ ); 1434,4 (35,2%,  $6M_F1M_{HK}$ ); 1448,4 (7,8%,  $7M_FK$ ); 1622,6 (6,3%,  $6M_F2M_{HK}$ ); 1635,7 (17,4%,  $7M_F1M_{HK}$ ); 1649,6 (4,9%,  $7M_FK$ ); 1823,8 (4,3%,  $7M_F2M_{HK}$ ); 1836,9 (8,4%,  $8M_F1M_{HK}$ ); 2038,3 (3,8%,  $9M_F1M_{HK}$ ); 2240,7 (1,6%,  $10M_F1M_{HK}$ )

### 5.3.8 [4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron/N-Methacryloyl-11-amino-undecanoyl-4-hydroxyanilid]-Copolymer

0,014 M Monomer; 0,15 mg/ml HRP; Aceton/Phosphatpuffer pH-7 (85:15 vol%); lösliche Fraktion: Umfällen aus THF/Wasser; Ausb.: 82%

GPC (DMF, PS):  $M_n = 3170$ ,  $M_w = 6400$ , PD = 2,0

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3376 (OH); 2926, 2854 (Alkyl); 1655 (Amid); 1611 (C=O); 1543 (Aryl); 1219 (C-OH); 1157 (Nitron); 937 (Aryl)

### 5.3.9 [4-Hydroxy-benzaldehyd-methylnitron/*N*-Methacryloyl-11-amino-undecanoyl-4-hydroxyanilid/4'-Benzoyloxy-biphenyl-4-ol]-Terpolymer

0,013 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, Aceton/Phosphatpuffer pH-7 (85:15 vol%)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3421 (OH); 2927, 2854 (Alkyl); 1737 (O-C=O); 1654 (Amid); 1601 (C=O); 1509; 1493 (Aryl); 1266, 1206 (C-OH); 1025; 941; 873; 811; 708 (Aryl)

### 5.3.10 Poly[4-(4-nitro-benzylidenamino)-phenol]

a.) 0,1 M Monomer; 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Acetatpuffer pH-5,5 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 60%; b.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 85%; c.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/THMA-Puffer pH-8,3 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 30%; d.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/0,2 M Toluol/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 40%; e.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/0,2 M DMF/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 70%; f.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP DMF/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 15%; g.) 0,1 M Monomer, 0,15 mg/ml HRP, 1,4-Dioxan/Phosphatpuffer pH-7 (80:20 vol%), Eingießen in Acetonitril, Ausb.: 10%

a.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 1200$  g/mol,  $M_w = 12000$  g/mol, PD = 10,0

b.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 2100$  g/mol,  $M_w = 12300$  g/mol, PD = 5,9

c.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 900$  g/mol,  $M_w = 8100$  g/mol, PD = 9,0

d.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 2300$  g/mol,  $M_w = 9000$  g/mol, PD = 3,9

e.) GPC (DMF, PS):  $M_n = 2800$  g/mol,  $M_w = 11800$  g/mol, PD = 4,2

f.) GPC (DMF, PS):  $M_n < 500$  g/mol,  $M_w < 500$  g/mol

g.) GPC (DMF, PS):  $M_n < 500$  g/mol,  $M_w < 500$  g/mol

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 9,20-7,70 (m, Phenyl, HC=N); 7,70-6,38 (m, Phenol)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3231 (OH); 3107 (HC=N); 1645 (C=N); 1597; 1518 ( $\text{NO}_2$ ); 1496 (Aryl); 1342 ( $\text{NO}_2$ ); 1187 (C-OH); 1097; 1010; 852 (Aryl); 748 (Aryl)

UV-VIS (THF):  $\lambda_{\text{max}} = 260$  nm (Phenyl); 370 nm (Imin)

### 5.3.11 Poly[4-chlorphenol]

0,1 M Monomer; 0,15 mg/ml HRP; 1,4-Dioxan/Acetatpuffer pH-5,5 (80:20 vol%), Umfällen aus THF/Ethanol, Ausb.: 60%

400 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 8,00-5,50 (m, Phenol)

GPC (DMF, PS):  $M_n = 1100$ ,  $M_w = 3300$ , PD = 3,0

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3438 (OH); 1486 (Aryl); 1215 (C-OH); 1119 (Aryl-Cl); 1012; 872 (Aryl); 828 (C-Cl)

## 5.4 Anderweitige Syntheseschritte

### 5.4.1 Poly[4-aminophenol]

1,5 g Bi[4-(4-nitro-benzylidenamino)-phenol] wurden in 100 ml THF unter Argonatmosphäre gelöst. Zur dunkelbraunen Lösung wurden 15 ml  $\text{HCl}_{(\text{konz.})}$  gegeben und die Mischung zwei Stunden gerührt. Dann wurde das THF im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ethylacetat suspendiert. Der schwarze Niederschlag wurde abgesaugt, mit EtOAc gewaschen und im Feinvakuum getrocknet.

Ausb. quant.

200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 10,70-9,50 (s, OH,  $\text{NH}_2$ ); 7,70-6,30 (m, Phenol)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3342; 3050 (OH); 2851 ( $\text{NH}_2$ ); 2590 ( $\text{NH}_2^+$ ); 1503 (Aryl); 1262; 1194 (C-OH); 1076 (Aryl); 825 (Aryl); 712 (Aryl)

UV-VIS (THF):  $\lambda_{\text{max}} = 254$  nm (Phenyl)

#### 5.4.2 Dimere von [4-(4-Nitro-benzylidenamino)-phenol] zur Strukturbestimmung

Zunächst wurde die enzymatische Polymerisation mit 0,1 M 4-(4-Nitro-benzylidenamino)-phenol und 0,15 mg/ml HRP gestartet, wie im **Abschnitt 5.3.** beschrieben. Es wurden aber nur 35% der dem Monomer äquivalenten Menge an  $\text{H}_2\text{O}_2$  zugesetzt. Die Zugabe erfolgte als 30%ige Lösung in Wasser (Perhydrol, Merck) in 7 Portionen alle 15 Minuten (variable Pipette, Eppendorf). Nach 100 min Gesamtreaktionszeit wurde Katalase aus Rinderleber im Überschuß (310 mg in wenig Phosphatpuffer) zugesetzt. Der Ansatz wurde dann gefriergetrocknet und mit GPC charakterisiert. Erst dann wurden die entstandenen Dimere durch Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem PE/EtOAc-Gemisch (Gradient) von Enzym, Puffersalz, Monomer und höheren Oligomeren getrennt.

Ausb. 60%

$R_f$ : 0,86 (EtOAc : PE 1:1)

$\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{NO}_6$ :  $M = 482,44$

GPC (DMF, PS):  $M_n = 230$ ,  $M_w = 610$ , PD = 2,7

400 MHz  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta/\text{ppm}$ : 8,86 (s, 2H, HC=N); 8,32 (d, 4H, H3, H5-Phenyl,  $J = 8,78$  Hz); 8,11 (d, 4H, H2, H6-Phenyl,  $J = 8,78$  Hz); 7,36 (d, 2H, H4, H4'-Biphenyl,  $^4J = 2,72$  Hz); 7,32 (dd, 2H, H2, H2'-Biphenyl,  $^3J = 8,24$  Hz,  $^4J = 2,72$  Hz); 6,98 (d, 2H, H5, H5'-Biphenyl,  $^3J = 8,24$  Hz)

FT-IR (KBr),  $\lambda^{-1}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3251 (OH); 1597 (C=N); 1513 (Aryl); 1339 ( $\text{NO}_2$ ); 1272; 1231; 1198 (C-OH); 1161; 1105 (C-O); 1010; 852 (Aryl); 842 (Biphenyl); 831; (Phenol)

FD-MS:  $m/z = 349,9,3$  ( $M^+$  monohydroliert, 32,3%); 483,0 ( $M^+$ , 67,7 %)

## 5.5 Cyclodextrinkomplexe

Zur Herstellung der wasserlöslichen Einschlußverbindungen der (2,6-di-*O*-methylierten)- $\beta$ -Cyclodextrine mit Phenolen wurde die betreffende Substanz zusammen mit einer äquimolaren Menge an getrocknetem (2,6-di-*O*-methyliertem)- $\beta$ -Cyclodextrin in einer Konzentration von 0,1 mmol/ml im gewünschtem Lösungsmittel (z.B. Phosphatpuffer pH-7) bei Raumtemperatur suspendiert. Die Mischungen konnten im Fall von *N*-Hydroxy-phenyl-maleinimid, *N*-Methacrylsäure-4-hydroxyanilid und 4-Chlorphenol mit Hilfe eines Kreisschüttlers innerhalb 2 bis 5 min zu klaren homogenen Lösungen umgesetzt werden. Zur Komplexierung von *N*-Methacryloyl-11-aminoundecanoyl-4-hydroxyanilid mußte ein dreifacher Überschuß an Cyclodextrin verwendet werden. Eine klare Lösung bildete sich erst nach 2 h bei 40°C unter Rühren. Mit der Verwendung von Ultraschallbädern konnten die Ergebnisse nicht verbessert werden.

## 5.6 Photosensitive Polymerfilme

Die photosensitiven Filme wurden aus Lösungen von Poly[zimtsäure-4-hydroxy-phenylester], Poly[zimtsäure-4-hydroxy-phenylanilid] oder Poly[4-hydroxy-benzaldehyd-methylnitron] in DMF bzw. NMP hergestellt. Die Lösungen (1 mg/10  $\mu$ l) wurde auf Quarzträger gespreitet und zunächst 1 h bei 100°C unter Normaldruck getrocknet. Danach wurde bei gleicher Temperatur im Feinvakuum getrocknet. Die Quarzplatten wurden mit Trägern in einem Abstand von 5 cm vor einen Quarzglas-Bestrahlungsreaktor mit wassergekühltem Mantel gestellt. Die Bestrahlung erfolgte dann mit einer 700 W Quecksilbermitteldrucklampe und einem UV-Filter ( $\lambda > 300$  nm). Proben für die IR-Spektroskopie wurden auf Glasplatten (4 $\times$ 14 cm) gespreitet. Trocknung und Bestrahlung erfolgte dann in analoger Weise. Nach der Bestrahlung wurden die Glasplatten in 80°C heiße Wasserbäder getaucht. Die Filme wurden mit Pinzette und Spatel abgelöst, über Nacht im Vakuumtrockenschrank getrocknet und dann mit KBr zu Preßlingen verarbeitet.

## 5.7 Thermisch vernetzbare Filme

Die thermisch vernetzbaren Filme wurden aus Lösungen des [Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid/*N*-Hydroxy-phenyl-maleinimid]-Copolymeren in DMF hergestellt. Die Lösung (1 mg/10  $\mu$ l) wurde in Petrischalen gespreitet und bei Raumtemperatur im



Vakuumtrockenschrank getrocknet. Nach intensiven Trocknen im Feinvakuum (Diffusionspumpe  $10^{-6}$  mbar) wurden die Proben während eines vorgewählten Zeitintervalls auf  $120^{\circ}\text{C}$  erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Filme mit dem Spatel abgehoben und das Material dann mit KBr zu Preßlingen verarbeitet.

## 5.8 HPLC/GPC

Zur Copolymerisation von Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid und *N*-Hydroxy-phenyl-maleinimid wurde in Intervallen von 15 min der Restmonomergehalt mit der HPLC (UV 340 nm/RI) bestimmt. Der Polymerisationsgrad und die Molekulargewichtsverteilung wurden simultan mit der GPC (UV 270 nm/RI) bestimmt. Die Startkonzentration pro Monomer betrug 0,05 mol/l, das Reaktionsvolumen 55 ml. Es wurde ein Probenvolumen von 25  $\mu\text{l}$  entnommen. 0,2 mg Katalase wurden zur Terminierung der Reaktion zugegeben und die Probe für die HPLC mit EtOAc, für die GPC mit DMF auf 200  $\mu\text{l}$  aufgefüllt.

Kalibrierung der HPLC:

Die bei 340 nm gemessenen UV-Absorptionen wurden gegen die eingewogenen Konzentrationen in der Form  $y [\text{mAbs} \cdot \text{min}] = a \cdot x [\text{mol/l}] + b$  aufgetragen.

	<i>N</i> -Hydroxy-phenyl-maleinimid	Furan-2-carboxylsäure-(4-hydroxy-phenyl)-amid
Einwaage	0 mg	107 mg
	25 mg	80,3 mg
	50 mg	53,5 mg
	75 mg	26,8 mg
	100 mg	0 mg
$y = a \cdot x + b$	$a = 0,00923$	$a = 0,00112$
	$b = -0,03217$	$b = -0,05267$
	$\Delta_a = 0,000962962$	$\Delta_a = 8,40173\text{E-}5$
	$\Delta_b = 0,07345$	$\Delta_b = 0,05791$
	$R^2 = 0,98406$	$R^2 = 0,99164$

## 5.9 Cyclovoltametrie

4-Aminophenol (0,01 M) und Tetrabutylammonium-hexafluorophosphat (0.1 M) als Leitelektrolyt wurden in trockenem zuvor mit Argon begastem DMSO gelöst. Die Lösung wurde dann vor der Messung nochmals 10 min mit Argon gespült. Für die Messung wurden

eine mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  vorbehandelte Glassy-Carbon-Arbeits Elektrode, eine Ag/AgCl-Referenzelektrode und eine Platin-Gegenelektrode benutzt: Scanrate 0,1 V/s; Startpotential 0 V; 1. Umkehrpotential -0,5 V; 2. Umkehrpotential 0,75 V.

Das Poly[4-aminophenol] wurde in THF gelöst (2% (w/w)) und die Lösung auf die Oberfläche einer mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  vorbehandelten Glassy-Carbon-Arbeits Elektrode (2,0 mm Scheibendurchmesser) gespreitet. Das THF wurde dann während 12 h im Feinvakuum entfernt, so daß ein dünner Polymerfilm auf der Arbeits Elektrode zurückblieb. Diese wurde mit einer Ag/AgCl-Referenzelektrode und einer Platin-Gegenelektrode für die Messung benutzt. Der Film wurde in verschiedenen wäßrigen Lösungen (0,1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; 0,1 M  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ ; Pufferlösungen: Acetat, pH 5,5; Phosphat pH 7,0; THMA, pH 8,3), denen  $\text{KClO}_4$  (0,1 M) als Leitelektrolyt zugesetzt worden war: Scanrate 0,1 V/s; Startpotential 0 V; 1. Umkehrpotential -0,5 V; 2. Umkehrpotential 0,75 V.

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] H. Ritter in: *Desk Reference of Functional Polymers, Syntheses, and Applications*; R. Arshady Ed., American Chemical Society, Washington, DC **1997**, 103-113
- [2] G. M. Whitesides, C. H. Wong, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 851
- [3] J. B. Jones, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 3351
- [4] K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer, Berlin **1992**
- [5] E. Sananiello, P. Ferraboschi, P. Griseni, A. Manzocchi, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1071
- [6] C. H. Wong, G. M. Whitesides, *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon, Trowbridge **1994**
- [7] F. Theil, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2203
- [8] K. Drauz, H. Waldmann, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim **1995**
- [9] R. D. Schmidt, R. Verger, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1694
- [10] R. J. Kazlauskas, U. T. Bornscheuer in: *Biotechnology Series, Vol. 8a*; H. J. Rehm, G. Reed, V. Puhlet, P. J. W. Stadler, D. R. Kelly Ed., Wiley-VCH, Weinheim **1998**, 37-191
- [11] U. T. Bornscheuer, R. J. Kazlauskas, *Hydrolases in Organic Synthesis - Regio- and Stereoselective Biotransformations*, Wiley-VCH, Weinheim **1999**
- [12] C. S. Chen, Y. Fujimoto, G. Girdaukas, C. J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7294
- [13] C. S. Chen, S. H. Wu, G. Girdaukas, C. J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2812
- [14] R. J. Kazlauskas, A. N. E. Weissfloch, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6959
- [15] P. J. Halling, *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *16*, 178
- [16] A. Zaks, A. M. Klivanov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 3192
- [17] A. D. Blackwood, L. J. Curran, B. D. Moore, P. J. Halling, *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1206*, 161
- [18] K. Xu, A. M. Klivanov, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9815
- [19] C. R. Wescott, A. M. Klivanov, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3166
- [20] F. Terradas, M. Teston-Hanry, P. A. Fitzpatrick, A. M. Klivanov, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 390
- [21] M. T. Reetz, A. Zonta, K. Schimossek, K. Liebeton, K. E. Jaeger, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2961
- [22] K. Faber, G. Ottolina, S. Riva, *Trends Biotechnol.* **1995**, *13*, 63
- [23] S. Kobayashi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1999**, *37*, 3041

- [24] S. Kobayashi, *High Polymers, Jpn.* **1993**, *42*, 308
- [25] S. Kobayashi, *High Polymers, Jpn.* **1999**, *48*, 124
- [26] R. Verger, *Trends Biotechnol.* **1997**, *15*, 32
- [27] S. M. Roberts, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1989**, *324*, 557
- [28] T. Umemora, H. Hiohara, *Biocatalysis in Agricultural Biotachnology, ACS Symp. Ser.* **1989**, *389*, 371
- [29] L. E. Janes, R. J. Kazlauskas, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 3719
- [30] R. J. Kazlauskas, A. N. E. Weissfloch, *J. Mol. Catal. B* **1997**, *3*, 65
- [31] K. Lemke, M. Lemke, F. Theil, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6268
- [32] Y. Hirose, K. Kariya, J. Sasaki, Y. Kurono, H. Ebike, K. Achiwa, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7157
- [33] S. Kobayashi, S. Shoda, H. Uyama, *Adv. Polym. Sci.* **1995**, *121*, 1
- [34] S. Kobayashi, S. Shoda, H. Uyama in: *The Polymeric Materials Encyclopedia*; J. C. Salomone, Ed., CRC Press, Boca Raton **1996**, 2102-2107
- [35] S. Kobayashi, S. Shoda, H. Uyama in: *Catalysis in Precision Polymerization*; S. Kobayashi, Ed., John Wiley & Sons, Chichester **1997**, Chapter 8
- [36] *ACS Symposium Series*; R. A. Gross, D. L. Kaplan, G. Swift, Ed., American Chemical Society, Washington, DC **1998**, 684
- [37] S. Kobayashi, H. Uyama in: *Material Science an Technology – Synthesis of Polymers*; A. D. Schlüter, Ed., Wiley-VCH, Weinheim **1998**, Chapter 16
- [38] H. Joo, Y. J. Yoo, J. S. Dordick, *Korean J. Chem. Eng.* **1998**, *15*, 362
- [39] z.B. Enzymol International, Inc., Columbus, Ohio, USA
- [40] R. A. Gross, A. Kumar, B. Kalra, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2097
- [41] S. Kobayashi, H. Uyama, S. Kimura, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3793
- [42] a.) S. Kobayashi, H. Uyama, M. Ohmae, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2001**, *74*, 613  
b.) H. Uyama, S. Wada, S. Kobayashi, *Chem. Lett.* **1999**, 893
- [43] G. Carrea, S. Riva, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2312
- [44] P. L. Nayak, *Designed Monomers and Polymers* **1998**, *1*, 259
- [45] C. F. Schönbein, *Verh. Nat. Ges. Basel* **1856**, *1*, 467
- [46] R. Wilstätter, A. Stoll, *Ann. Chem.* **1919**, *416*, 21
- [47] H. B. Dunford in: *Peroxidases in chemistry and biology*; J Everse, K. E. Everse, M. B. Grisham, Eds., CRC Press, Boca Raton, FL **1991**, 1
- [48] L. Flohé, *CIBA Foundation Symposium* **1979**, *65*, 95

- [49] E. de Boer, Y. van Kooyk, M. G. M. Tromp, H. Plat, R. Wever, *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, 869, 48
- [50] M. Kuwahara, J. K. Glenn, M. A. Morgan, M. H. Gold, *FEBS Lett.* **1984**, 169, 247
- [51] M. I. Dolin, *J. Biol. Chem.* **1957**, 225, 557
- [52] W. Adam, M. Lazarus, C. R. Saha-Möller, O. Weichold, U. Hoch, D. Häring, P. Schreier in: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*; T. Scheper, Ed., Springer, Berlin Heidelberg **1999**, 63, 74
- [53] W. D. Hewson, B. Dunford, *J. Biol. Chem.* **1976**, 251, 6036
- [54] W. D. Hewson, B. Dunford, *J. Biol. Chem.* **1976**, 251, 6043
- [55] S. M. Khopde, K. Indira Priyadarsini, *Biophys. Chem.* **2000**, 88, 103
- [56] T. L. Poulos, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1993**, 4, 484
- [57] H. K. Baek, H. E. Van Waert, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 718
- [58] T. Lalot, M. Brigodiot, E. Maréchal, *Polym. Int.* **1999**, 48, 288
- [59] W. D. Hewson, L. P. Hager, *J. Biol. Chem.* **1979**, 254, 3182
- [60] J. A. Nicell, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **1994**, 60, 203
- [61] A. Cornish-Bowden, C. W. Wharton, *Enzyme Kinetics*, IRL Press Limited, Oxford, UK **1998**
- [62] J. H. Dawson, *Science* **1988**, 240, 433
- [63] H. Anni, T. Yonetani in: *Metal ions in biological systems: Degradation of environmental pollutants by microorganisms and their metalloenzymes*; H. Sigel, A. Sigel, Eds., Marcel Dekker, New York **1992**, 219
- [64] P. R. Oritz de Montellano, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1992**, 32, 89
- [65] M. P. J. van Deurzen, F. van Rantwijk, R. A. Sheldon, *Tetrahedron* **1997**, 53, 13
- [66] M. Filizola, G. H. Loew, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 112, 18
- [67] K. J. Baynton, J. K. Bewtra, N. Biswas, K. E. Taylor, *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, 1206, 272
- [68] M. Ghiourelotis, J. A. Nicell, *Enzym. Microb. Technol.* **1999**, 25, 185
- [69] H. Joo, H. J. Chae, J. S. Yeo, Y. J. Yoo, *Process Biochemistry* **1997**, 32, 291
- [79] K. Matsumoto, H. Takahashi, Y. Miyake, Y. Fukuyama, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 3185
- [80] M. García-Moreno, M. Moreno-Conesa, J. Neptuno Rodríguez-López, F. García-Cánovas, R. Varón, *Biol. Chem.* **1999**, 380, 689
- [81] J. Dordick, A. M. Marletta, A. M. Klibanov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, 83, 6255

- [82] D. Job, H. B. Dunford, *Eur. J. Biochem.* **1976**, *66*, 607
- [83] J. Dec, J. M. Bollag, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1990**, *19*, 543
- [84] J. A. Akkara, K. J. Senecal, D. L. Kaplan, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1991**, *29*, 1561
- [85] W. Liu, L. Ma, I. D. Wang, S. M. Jiang, Y. H. Cheng, T. J. Li, *J. Polym. Sci. Chem. Ed.* **1995**, *33*, 2339
- [86] T. Oguchi, A. Wakisaka, S. -i. Tawaki, H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, *J. Phys. Chem. B*, **2002**; *106*, 1421
- [87] H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugihara, S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1996**, *69*, 189
- [88] H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugihara, I. Komatsu, S. Kobayashi, *J. Polym. Sci. Chem. Ed.* **1997**, *35*, 1453
- [89] S. Banerjee, P. Ramannair, K. Wu, V. T. John, G. McPherson, J. A. Akkara, D. Kaplan in: *ACS Symposium Series: Enzymes in Polymer Synthesis*; R. A. Gross, D. Kaplan, G. Swift, Ed., American Chemical Society, Washington, DC **1998**, *684*, Chapter 7
- [90] J. A. Akkara, M. Ayyagari, F. Bruno, L. Samuelson, V. T. John, C. Karayigitoglu, S. Tripathy, K. A. Marx, D. V. G. L. N. Rao, D. L. Kaplan, *Biotechnol. Bioeng.* **1993**, *41*, 531
- [91] R. S. Premachandran, S. Banerjee, X. K. Wu, V. T. John, G. L. McPherson, J. Akkara, M. Ayyagari, D. Kaplan, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6452
- [92] P. Wang, B. D. Martin, S. Parida, D. G. Rethwisch, J. S. Dordick, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12885
- [93] P. Wang, J. S. Dordick, *Macromolecules* **1998**, *31*, 941
- [94] H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, K. Rettig, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, *200*, 1998
- [95] W. Liu, A. L. Cholli, J. Kumar, S. Tripathy, L. Samuelson, *Macromolecules* **2001**, *34*, 3522
- [96] H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, M. Kubota, *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, *200*, 2365
- [97] M. Ayyagari, J. A. Akkara, D. L. Kaplan in: *ACS Symposium Series: Enzymes in Polymer Synthesis*; R. A. Gross, D. Kaplan, G. Swift, Ed., American Chemical Society, Washington, DC **1998**, *684*, Chapter 6
- [98] M. H. Reihmann, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 798

- [99] W. Saenger, *Angew. Chem.* **1980**, 92, 343
- [100] J. Szejtli, *J. Mater. Chem.* **1997**, 7, 575
- [101] G. Wenz, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 851
- [102] J. Jeromin, O. Noll, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, 199, 2641
- [103] J. Jeromin, H. Ritter, *Macromolecules* **1999**, 32, 5236
- [104] H. R. Morris, T. Paxton, M. Panico, A. Dell, R. McDowell, *Proc. 45<sup>th</sup> ASMS Conf. Mass Spectrom. Allied Topics, Palm Springs, CA, 1-5 June 1997*, 770
- [105] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 3. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**
- [106] M. Hesse, H. Meier, B. Zeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, **1995**, Kapitel 3
- [107] D. Neuhaus, *The nuclear Overhauser effect in structural and conformational analysis*, VCH Publishers, Inc., New York, **1989**
- [108] M.-Ju Huang, J. D. Watts, N. Bodor, *Int. J. Quant. Chem.* **1997**, 65, 1135
- [109] a.) Y. Kawaguchi, A. Harada, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 3797  
b.) M. Reihmann, *Diplomarbeit*  
c.) L. Mejias, *Dissertation*
- [110] H. Uyama, C. Lohavisavapanich, R. Ikeda, S. Kobayashi, *Macromolecules* **1998**, 31, 554
- [111] M. H. Reihmann, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 1593
- [112] R. Ikeda, H. Tanami, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21, 496
- [113] K. Ohkawa, K. Shoumura, M. Yamada, A. Nishida, H. Shirai, H. Yamamoto, *Macromol. Biosci.* **2001**, 1, 149
- [114] C. Goretzki, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **1998**, 199, 1019
- [115] N. K. Viswanathan, D. Y. Kim, S. Bian, J. Williams, W. Liu, L. Li, L. Samuelson, J. Kumar, S. K. Tripathy, *J. Mater. Chem.* **1999**, 9, 1941
- [116] H. J. Ommer, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, 197, 797
- [117] J. Stumpe, O. Zaplo, D. Kreysing, M. Niemann, H. Ritter, *Makromol. Chem.* **1992**, 193, 1567
- [118] M. Hesse, H. Meier, B. Zeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, **1995**, Kapitel 1
- [119] D. Bellus, P. Hrdlovic, *Chem. Rev.* **1967**, 67, 599

- [120] D. A. Halliday, P. I. Burn, D. D. C. Bradley, R. H. Friend, O. M. Gelsen, A. B. Holmes, J. H. F. Martens, K. Pichler, *Adv. Mater.* **1993**, *5*, 40
- [121] M. Heinenberg, H. Ritter, *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, *200*, 1792
- [122] J. Hamer, A. Macaluso, *Chem. Rev.* **1964**, *64*, 473
- [123] J. S. Splitter, M. Calvin, *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 3426
- [124] J. S. Splitter, M. Calvin, *Tetrahedron Lett.* **1968**, *12*, 1445
- [125] H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, M. Reihmann, H. Ritter, *e-polymers* **2002**, no. 003
- [126] J. Liu, F. Yang, M. Xian, L. Qiu, L. Ye, *Macromol. Chem. Phys.* **2001**, *202*, 840
- [127] A. A. Lin, A. Reiser, *Macromolecules* **1989**, *22*, 3898
- [128] L. Mejias, M. H. Reihmann, S. Sepulveda-Boza, H. Ritter, *Macromo. Biosci.* **2002**, *2*, 24
- [129] B. K. Mandal, C. J. Walsh, T. Sooksimuang, S. J. Behroozi, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 6
- [130] W. Liu, J. Kumar, S. Tripathy, K. J. Senecal, L. Samuelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 71
- [131] J. Heinze, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 823
- [132] J. M. Laza, J. L. Vilas, M. Rodríguez, M. T. Garay, F. Mijangos, L. M. León, *J. Appl. Polym. Sci.* **2002**, *83*, 57
- [133] S. Grayson, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10335
- [134] S. E. Stiriba, H. Frey, R. Haag, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 8
- [135] A. Sunder, R. Mühlhaupt, R. Haag, H. Frey, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 235
- [136] N. Zarkovic, *Pharm. Ztg.* **2000**, *145*, 391
- [137] H. Sies, *Oxidative Streß: Oxidants and Antioxidants*, Academic Press, London, **1991**
- [138] U. Takahama, *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, *882*, 445
- [139] V. V. Rogozhin, V. V. Verkhoturov, *Biochemistry (Moscow). Translated from Biokhimiya* **1998**, *63*, 781
- [140] B. Nakanishi, K. Fukuhara, K. Ohkubo, T. Shimada, H. Kansui, M. Kurihara, S. Urano, S. Fukuzumi, N. Miyata, *Chem. Lett.* **2001**, 1152
- [141] M. Rojo, M. Gómez, P. Estrada, *J. Chem. Biotechnol.* **2001**, *76*, 69
- [142] I. Vulic, G. Vitarelli, J. M. Zenner, *Macromol. Symp.* **2001**, *176*, 1
- [143] S. A. Jeneckhe, P. O. Johnson, *Macromolecules* **1990**, *23*, 4419
- [144] S. Dubey, D. Singh, R. A. Misra, *Enzyme Microb. Technol.* **1998**, *23*, 432
- [145] T. I. Wallow, B. M. Novak, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7411
- [146] D. K. Taylor, E. T. Samulski, *Macromolecules* **2000**, *33*, 2355



- [147] R. Fáber, A. Staško, O. Nuyken, *Macromol. Chem. Phys.* **2001**, 202, 2321
- [148] S. Schlüter, J. Frahn, B. Karakaya, A. D. Schlüter, *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 139
- [149] M. García-Moreno, M. Moreno-Conesa, J. N. Rodríguez-López, F. García-Cánovas, R. Varón, *Biol. Chem.* **1999**, 380, 689
- [150] R. A. Henry, W. M. Dehn, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 279
- [151] R. Adams, N. Kornblum, *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, 63, 197
- [152] R. Benedikt, P. Julius, *Monatsh. Chem.* **1884**, 5, 177
- [153] A. G. Perkin, M. Nierenstein, *J. Chem. Soc.* **1905**, 87, 1412
- [154] T. J. Katz, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1997
- [155] K. A. Marx, K. Shridhara Alva, R. Sarma, *Mater. Sci. Eng.* **2000**, 11, 155
- [156] S. Jahromi, *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, 200, 2230

## Publikationen und Tagungsbeiträge

### Publikationen

Oxidative oligomerization of cyclodextrin-complexed bifunctional phenols catalyzed by horseradish peroxidase in water

Matthias Reihmann, Helmut Ritter

*Macromolecular Chemistry and Physics*, **201**, 798-804 (2000)

Enzymatically catalyzed synthesis of photocrosslinkable oligophenols

Matthias Reihmann, Helmut Ritter

*Macromolecular Chemistry and Physics*, **201**, 1593-1597 (2000)

Enzymes in polymer synthesis: Horseradish peroxidase-catalyzed oxidative polymerization of phenols bearing nitron groups in *p*-position and their photochemical behavior

Michael Heinenberg, Matthias Reihmann, Helmut Ritter

*Designed Monomers and Polymers*, **3**, 501-509 (2000)

Oxidative copolymerization of *para*-functionalized phenols catalyzed by horseradish peroxidase and thermocrosslinking via Diels-Alder and (1+3)cycloaddition

Matthias Reihmann, Helmut Ritter

*Macromolecular Bioscience*, **1**, 85-90 (2001)

New polymers from natural phenols using horseradish (HRP) or soybean peroxidase (SBP)

Lorenzo Mejias, Matthias Reihmann, Silvia Sepulveda-Boza, Helmut Ritter

*Macromolecular Bioscience*, **2**, 24-32 (2002)

Enzymatic polymerization of *m*-substituted phenols in the presence of 2,6-di-*O*-methyl- $\beta$ -cyclodextrin in aqueous medium

Hiroyuki Tonami, Hiroshi Uyama, Shiro Kobayashi, Matthias Reihmann, Helmut Ritter

*e-Polymers*, **no. 003** (2002)

Regioselective polymerization of 4-amino-phenol

Matthias Reihmann, Helmut Ritter

*Journal of Macromolecular Science; Pure and Applied Chemistry*, eingereicht

## Tagungsbeiträge

Patrick Glöckner, Christian Kloninger, Matthias Reihmann, Joachim Storsberg, Alexander Theis, Helmut Ritter: „**Cyclodextrins in Polymer Chemistry: Polymerization of Molecular Covered Hydrophobic Monomers in Homogenous Aqueous Solution**“, *37<sup>th</sup> IUPAC Congress and 27<sup>th</sup> GDCh General Meetings*, Berlin (1999) – Poster

Matthias Reihmann, Thomas Klabunde, Helmut Ritter: „**Enzymatic synthesis and potential application of poly(phenolesters)**“, *World Polymer Congress, IUPAC Macro 2000, 38<sup>th</sup> Macromolecular IUPAC Symposium*, Warschau (2000) – Vortrag

Michael Heinenberg, Matthias Reihmann, Alexander Theis, Helmut Ritter: „**Photosensitive Polymers**“, *XVIII IUPAC Symposium on Photochemistry*, Dresden (2000) - Poster

Lorenzo-Mejias, Thomas Klabunde, Michael Heinenberg, Matthias Reihmann, Helmut Ritter: „**Funktionelle Polyphenole durch Enzym-katalysierte Polyrekombination**“, *Makromolekulares Kolloquium*, Freiburg (2001) – Poster und Einführung des Posters