

Synthese von (*S,S*)-1,2-Diphenylethan-1,2-diol

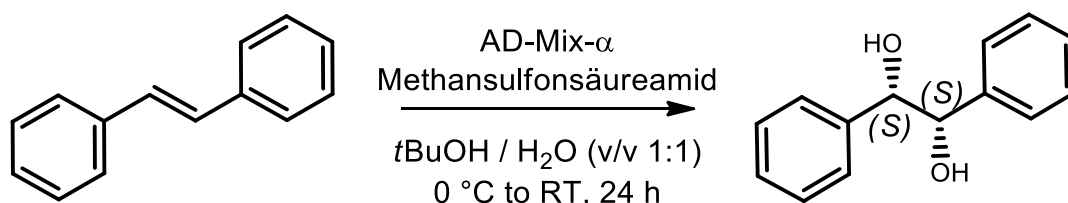
Reaktionstyp: Asymmetrische Sharpless-Dihydroxylierung

Analysemethode: NMR, polarimetrische α -Wert-Messung, HPLC (chirale stationäre Phase)

Geräte: 100-ml-Dreihalskolben, Magnetrührer, Thermometer, Scheidetrichter

Chemikalien: *trans*-Stilben, AD-Mix- α , Methansulfonsäureamid, Natriumsulfit, Ethylacetat, Natronlauge, Natriumchlorid, Magnesiumsulfat, *t*-Butanol

Reaktionsgleichung:



Durchführung:

In einem 100-ml-Dreihalskolben mit Thermometer werden AD-Mix- α (2,34 g) und Methansulfonsäureamid (159 mg, 1,67 mmol, 1,0 Äquiv.) zu einem Gemisch aus *t*-BuOH (8 ml) und H₂O (8 ml) gegeben und auf 0 °C abgekühlt. Bei 0 °C wird *trans*-Stilben (300 mg, 1,67 mmol) zugesetzt. Das Zweiphasen-Gemisch wird 24 h bei Raumtemperatur kräftig gerührt. Die Reaktion wird dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt. Als Laufmittel wird ein Gemisch aus Cyclohexan und Ethylacetat (beide wasserfrei) im Verhältnis 10:1 verwendet. Die Reaktion ist beendet, wenn der Fleck des Eduktes unter der UV-Lampe nicht mehr nachweisbar ist. Durch Zugabe von Na₂SO₃ (0,4 g) und H₂O (4 ml) wird die Reaktion beendet und das Gemisch 30 min bei RT gerührt. Die organische Phase wird getrennt und die wässrige Phase dreimal mit jeweils 10 ml Ethylacetat extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden mit wässriger ges. NaCl-Lösung (7 ml) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Cyclohexan/AcOEt im Verhältnis 10:3) gereinigt. Der zu reinigende Rückstand wird nur in Ethylacetat gelöst, um ihn auf die Säule aufzutragen. Eine kleine Probe des in Ethylacetat gelösten Rückstandes wird aufbewahrt, um den Verlauf der Säulenchromatographie

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

dünnschichtchromatographisch überwachen zu können. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wird das Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute

Literaturausbeute: 210 mg (0,98 mmol, 59 %)

Schmelzpunkt:

Schmelzpunkt (Literatur) 148 °C

Spezifischer Drehwert:

$\alpha_D^{20} = -92,5$ (in EtOH gemessen)

Synthese von *trans*-Stilben (*trans*-1,2-Diphenylethen)

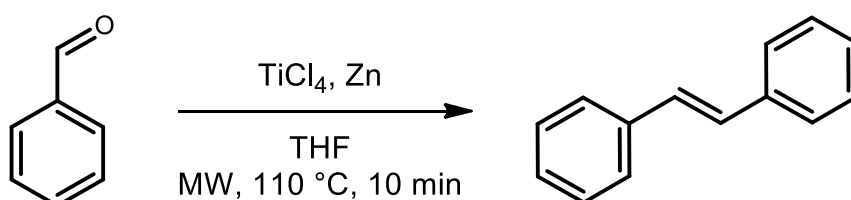
Reaktionstyp: McMurry-Reaktion durch Mikrowellentechnik

Analysemethode: NMR, Schmelzpunkt

Geräte: 2 Mikrowellen-Röhrchen mit Rührfisch und Septum, Labor-Mikrowelle, Spritze, Scheidetrichter

Chemikalien: Benzaldehyd, Titan-tetrachlorid, Zinkstaub, Tetrahydrofuran, Ether, Toluol, Aluminiumoxid, Ethanol

Reaktionsgleichung:



Durchführung: Die angegebenen Chemikalien werden auf zwei Röhrchen aufgeteilt!

Zinkstaub (0,63 g, 9,6 mmol) wird in wasserfreiem THF (6 ml) unter Rühren (Magnetrührer!) suspendiert. Danach wird TiCl_4 (0,53 ml, 4,8 mmol) tropfenweise mit Hilfe einer Spritze durch das Septum des Röhrchens zur gerührten Suspension hinzugegeben. Nach vollständiger Zugabe des Titan-tetrachlorids wird Benzaldehyd (0,40 ml, 4,0 mmol) in einer Portion

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

hinzugefügt. Die resultierende Suspension wird in einer Labormikrowelle bei 110 °C für 10 Minuten bei einer Leistung von 30 W erwärmt.

Die entstehende erkaltete purpurfarbene Suspension wird in Wasser gegeben und anschließend dreimal (jeweils 25 ml) mit einem Gemisch aus Ether und Toluol (jeweils 25 ml, zweimal 1:1 und einmal reines Toluol) extrahiert.

Die gesammelten organischen Phasen werden über basisches Al₂O₃ (10 g) filtriert und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die anschließende Umkristallisation des Rohproduktes aus Ethanol ergibt *trans*-Stilben als farblose Kristalle.

Ausbeute:

Literaturausbeute: 166 mg (0,92 mmol, 46 %)

Schmelzpunkt:

Schmelzpunkt (Literatur): 121 – 124 °C

Quellen

Einsatz von Mikrowellenstrahlung in der Synthese:

Fischer, *Chemie in unserer Zeit* **2002**, 36, 240–244.

Kappe, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 6408–6443.

Mechanismus:

R. Brückner, *Reaktionsmechanismen. Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden*, Elsevier, Spektrum, Akad. Verl., München, Heidelberg, **2004**.

Lenoir, *Synthesis*, **1989**, 12, 883-897

McMurry, *Chemical Review*, **1989**, 89, 1513-1524

Lectka, *Active metals*, **1996**, 85, VCH Weinheim

Fürstner, *Angewandte Chemie*, **1996**, 108, 2582-2609

Festphasensynthese von Oligopeptiden

Reaktionstyp: Festphasenpeptidsynthese

Analysenmethoden: NMR, ESI-Massenspektrometrie

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

Antestat-Themen: Prinzip der Festphasensynthese, Harze, Linker, Schutzgruppenstrategien (N-Terminus, C-Terminus, Seitenkette, Fmoc insbesondere), Mechanismen, Abspaltung vom Harz, Vorteile/Nachteile gegenüber „normaler“ Synthese, Durchführung und Reagenzien kennen (und insbesondere deren Sinn), 1D- und 2D-NMR Spektroskopie, ESI-Massenspektrometrie

Literatur:

- Überblick über Peptidkupplungsreagenzien:
S. Han, *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447
- Prinzipien und Mechanismus der Festphasenpeptidsynthese
„*Reaktionsmechanismen*“, R. Brückner, 3. Aufl., Kapitel 6.4.3
P. Lloyd-Williams et al., *Tetrahedron* **1993**, 49, 11065
- 1D- und 2D-NMR Spektroskopie
„*Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*“, H. Friebolin, Wiley-VCH
- ESI-Massenspektrometrie
„*Instrumentelle Analytik*“, D. A. Skoog, F.J. Holler, S. R. Crouch, Springer Spektrum

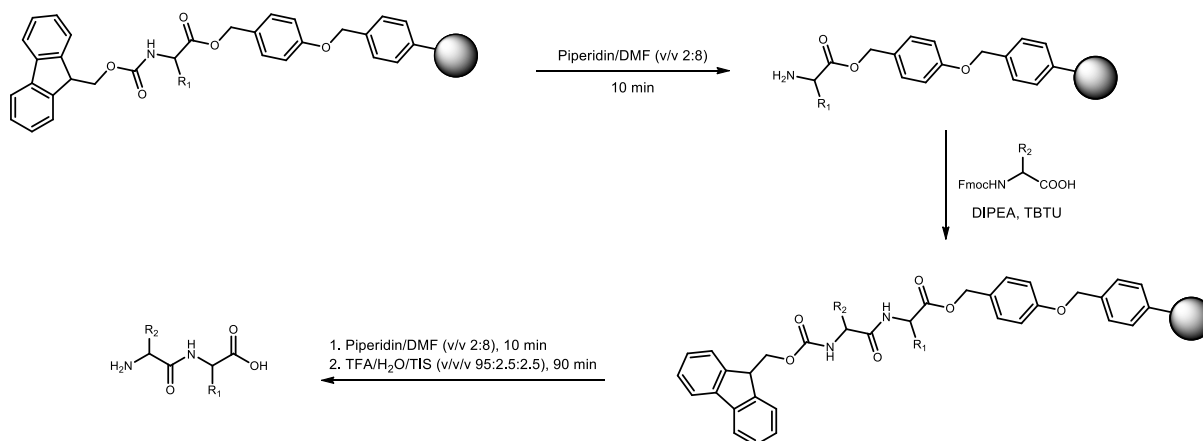
benötigte Geräte: 7 kleine Rollrandgläschen (für Aminosäuren und Abspaltungslösung), 1 großes Rollrandgläschen (für die Piperidin-Lösung), 2 Erlenmeyerkolben (für Waschlösungen → DMF, DCM), 100-ml-Becherglas (Abfallbehälter), 2 Spritzen mit Fritte (5 ml), 2 Spritzen (1 ml → DIPEA, DMF), 1 Spritze (2 ml → Abspaltlösung), 1 Spritze (5 ml → Piperidin), 1 Spritze (10 ml → DMF), 7 Kanülen, 4 Zentrifugenröhrchen + 4 Septen + Zentrifuge, 1 Exsikkator, Pipetten + Pipettenhütchen, Tücher (zum Reinigen der Kanüle von der Frittenspritze nach jeder Verwendung), Aluminiumfolie, 2 NMR-Röhrchen, 2 Mikro-Schraubdeckelgläschen (für ESI-Probe)

Chemikalien: N-Fmoc-L-Leucin beladenes Wang-Harz, N,N-Dimethylformamid (DMF), Piperidin, N-Fmoc-L-Isoleucin, N-Fmoc-O-tert-Butyl-L-tyrosin, N^α-Fmoc-N^ε-Boc-L-Lysin, O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TBTU),

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

Diisopropylethylamin (DIPEA), Dichlormethan (DCM), Trifluoressigsäure (TFA), Triisopropylsilan (TIS), bidest. Wasser, Diethylether, DMSO-d₆

Reaktionsschema:



Durchführung:

Ziel des Versuches ist die Darstellung der Tetrapeptide **H-Tyr-Ile-Lys-Leu-OH** und **H-Lys-Tyr-Lys-Leu-OH** mittels Festphasenpeptidsynthese. Die beiden Peptide sollten aus zeitlichen Gründen parallel synthetisiert werden.

Achtung! Die verwendeten Chemikalien (Reagenzien und Lösemittel) sind besonders sauber und extra für diesen Versuch angeschafft worden! Keine technischen Lösemittel verwenden! Keine Chemikalien verschwenden! Vorher ausrechnen, wieviel Reagenzien und Lösemittel benutzt werden müssen!

Vorbereitungen:

In zwei 5 ml Spritzen mit Fritte werden jeweils 100 mg des Fmoc-Leucin beladenen Wang-Harzes eingewogen und mit je 2 ml DMF, sowie 1 ml Luft für 1 h bei RT quellen lassen (das DMF über die Spritze aufziehen, dann Spritze umdrehen und Luft einziehen und sofort wieder Kanülenschutzkappe befestigen, um Auslaufen zu vermeiden!).

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

Während der Quellzeit sollten folgende Vorbereitungen getroffen werden (dabei gilt, dass aus den Vorratsgefäßen nur mit unbenutzten Spritzen/Kanülen sowie Spateln die gewünschte Menge entnommen wird. Bei der Versuchsdurchführung werden nur die vorbereiteten Gefäße pro Gruppe benutzt, um eine Fehlerrate durch Verunreinigungen möglichst gering zu halten):

- Benötigte Geräte zusammensuchen
- Piperidin-Lösung (20%-ig in DMF) für die Entschützungs-schritte ansetzen (4 ml Piperidin in 16 ml DMF)
- DMF (160 ml) und DCM (60 ml) für die Waschschr- itte jeweils in Erlenmeyerkolben abfüllen
- Die bereitgestellte Abspalllösung (4 ml) (95% TFA, 2.5% TIS, 2.5% bidest. H₂O) in ein Gläschen abfüllen
- Diethylether (technische Qualität) wird von allen Gruppen gemeinsam über KOH am Rotationsverdampfer destilliert (vorheriges Reinigen und Spülen!).
- Die einzelnen Aminosäuren pro Kupplungsschritt in 6 Gläschen abwiegen (die Kupplungsgemische (aus Aminosäure, TBTU, DIPEA und DMF) dann **frisch** direkt vor der Kupplung ansetzen)

Alle Gläschen **beschriften!**

Behandlung des Fmoc-Leucin beladenen Wang-Harzes nach dem Quellen:

Das DMF wird aus der Spritze gedrückt und in einem bereitgestellten Abfallgefäß aufgefangen. Anschließend wird das ans Wang-Harz gekuppelte Leucin Fmoc-entschützt. Dazu werden 2 ml der 20%-igen Piperidin-Lösung und etwas Luft (für eine bessere Durchmischung) in die Spritze aufgezogen und es wird 10 min geschüttelt (die Kanülenschutzkappe **jedesmal** wieder aufsetzen!). Die Lösung wird ins Abfallgefäß gegeben und das Leucin beladene Wang-Harz gewaschen, indem es jeweils für 1 min mit DMF (5 x 2 ml) und anschließend mit DCM (2 x 2 ml) geschüttelt wird. Auch hier ist für eine gute Durchmischung das Aufziehen von etwas Luft empfehlenswert. Weiterhin sollte die Kanüle der Spritze dabei **jedesmal** kurz mit einem Tuch **gereinigt** werden, um eine Kontamination

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

der vorbereiteten Lösungen zu vermeiden! Achtung: Beim Waschen mit DCM spritzt das Lösungsmittel am Anfang etwas aus der Spritze. Daher vorsichtig schütteln!

Peptidkupplung: (die Arbeitsschritte werden für jede zu kuppelnde Aminosäure wiederholt)

1. Kupplung:

Zu einer Lösung aus 4 Äq. der Aminosäure (Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Tyr-(tBu)-OH oder Fmoc-Lys-(Boc)-OH) und 4 Äq. TBTU in DMF (1 ml) werden 0,1 ml DIPEA gegeben und die Lösung wird leicht geschwenkt. Nachdem die Reaktionsmischung für 1 min reagiert hat, wird sie in die Spritze aufgezogen und 20 min geschüttelt.

2. Waschen:

Die Lösung wird in ein Abfallgefäß gegeben und das Harz gewaschen, indem es für jeweils 1 min mit DMF (5 x 2 ml) und anschließend mit DCM (2 x 2ml) geschüttelt wird.

3. Fmoc-Abspaltung:

Hierzu werden 2 ml der 20%-igen Piperidin-Lösung in der Spritze aufgezogen und 10 min geschüttelt.

4. Waschen:

Die Lösung wird in ein Abfallgefäß gegeben und das Harz gewaschen, indem es jeweils für 1 min mit DMF (5 x 2 ml) und anschließend mit DCM (2 x 2 ml) geschüttelt wird.

Denkt an das Reinigen der Kanüle bei jedem Schritt und Waschvorgang!!

Anschließend wird die nächste Aminosäure ans Peptid gekuppelt (Schritt 1-4 wiederholen).

Aufarbeitung:

Nach Kupplung und Entschützung der letzten Aminosäure wird der letzte Waschschrift leicht variiert. Das Harz wird mit DMF (5 x 2 ml) und DCM (5 x 2 ml) gewaschen (Die zusätzlichen Waschschrift mit dem leichter flüchtigen DCM sind wichtig, um das DMF vor dem Abspaltungsschrift möglichst ganz zu entfernen (Warum?)). Die Spritze wird dann für 2 h im Exsikkator getrocknet (Kanüle abnehmen). Anschließend werden 2 ml der Abspaltungslösung (95% TFA, 2,5% TIS und 2,5% bidest. Wasser) in der Spritze aufgezogen und 1,5 h bei RT

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

stehen gelassen bzw. gelegentlich vorsichtig geschüttelt. Die Lösung wird nach den 1,5 h in ein Gläschen gegeben, die Spritze bzw. das Harz nochmals mit 1 ml TFA gespült, ebenfalls der Lösung hinzugefügt und auf Eis kaltgestellt.

Zwischenzeitlich wird auch die benötigte Menge Diethylether (destilliert) auf Eis kalt gestellt. Vier (2 pro Peptid) Zentrifugenröhrchen (**vorher wiegen und beschriften!**) werden mit jeweils 5 ml Diethylether gefüllt und ebenfalls kaltgestellt. Die gekühlte TFA-Peptid-Lösung wird dann in gleichen Teilen in 2 gekühlte Zentrifugenröhrchen mit Diethylether getropft, wobei ein weißer Feststoff ausfällt. Die Fällung sollte je nach zeitlichen Gegebenheiten entweder 30 min bzw. über Nacht im Eisbad bzw. Kühlschrank vervollständigt werden. Die Zentrifugenröhrchen werden mit Parafilm verschlossen. Die Suspension wird 10 min mit 4000 U/min zentrifugiert (vom Assistenten). Dabei ist eine gleichmäßige Mengenverteilung fürs Zentrifugieren zu gewährleisten. Die überstehende Lösung wird anschließend vorsichtig mit einer Pipette abgenommen. Der erhaltene Feststoff wird jeweils 2 Mal mit eisgekühltem Diethylether (pro Zentrifugenröhrchen 5 ml) gewaschen, anschließend mit einer Pasteurpipette in eisgekühltem Ether suspendiert, wieder zentrifugiert und abpipettiert. Die gesamten Diethylether-Überstände sollten vereinigt und aufbewahrt werden. Das Produkt wird schließlich über Nacht im Exsikkator getrocknet. Dafür sollten die Zentrifugenröhrchen mit Aluminiumfolie verschlossen und diese mit kleinen Löchern versehen werden (**vorsichtig** Vakuum ziehen!).

Analyse und Auswertung:

Nach Bestimmung der Ausbeute wird in ein Mikro-Gläschen eine kleine Menge für die ESI-Messung abgefüllt (eine sichtbare Menge reicht). Für die NMR-Analyse werden mindestens 20 mg (besser mehr) direkt in ein NMR-Röhrchen eingewogen und mit 0,5 ml DMSO-d₆ versetzt.

Für die Analyse mittels ESI-TOF-MS müssen die Oligopeptide in einem Gemisch aus Acetonitril /1%ige Ameisensäure im Verhältnis 9:1 gelöst werden. Die Probenkonzentration soll dabei 0,1 mg/ml betragen. Dazu sollen zunächst ca. 2 ml einer Stammlösung (c = 1,0

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

mg/ml) hergestellt werden. Im Anschluss werden 0,1 ml dieser Stammlösung um den Faktor 10 verdünnt. Für die Messung werden ca. 0,5 ml Probelösung benötigt.

Die benötigten Eppendorf-Pipetten, Eppendorf-Hütchen sowie das Lösungsmittelgemisch können in der OC-Ausgabe erhalten werden.

Die Termine für die ESI-MS-Messungen werden gesondert bekannt gegeben. Zu den jeweiligen Messterminen müssen die fertigen Probelösungen mitgebracht werden.

Kontrollierte Radikalische Polymerisation von *N*-Isopropylacrylamid

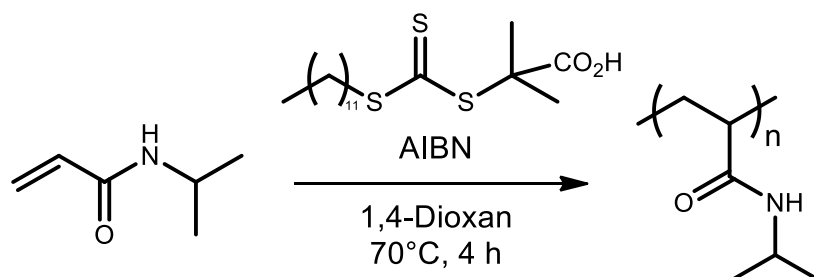
Reaktionstyp: Reversible Addition/Fragmentation Chain Transfer Radical Polymerization (RAFT)

Analysemethode: NMR, Größenausschlusschromatographie (GPC, SEC)

Geräte: Stickstoffvorlage, Schlenk-Line, Magnetrührer, Kristallisierschale bzw. Becherglas (500 ml), zwei 250-ml- Einhalskolben, Dewar-Gefäß für 250-ml-Rundkolben, sechs Spritzen (1 ml), sechs NMR-Röhrchen, Analysenwaage

Chemikalien: *N*-Isopropylacrylamid (NIPAAm), 1,4-Dioxan (mind. 99,5 % p.a.), 2-Dodecylsulfanylthiocarbonylsulfanyl-2-methyl-propionsäure (DMP), Azo-bis-(isobutyronitril) (AIBN), Tetrahydrofuran, Diethylether

Reaktionsgleichung:



Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

Durchführung:

Eine Stickstoffvorlage mit Rührfisch und Silikonseptum wird evakuiert und mit Argon 5.0 geflutet. Es werden 1,38 g (12,2 mmol) NIPAAm, 44,5 mg DMP (0,12 mmol) und 1 mg AIBN (0,006 mmol) eingewogen und anschließend in 4 ml 1,4-Dioxan gelöst. Danach wird das Reaktionsgemisch in der Stickstoffvorlage für ca. 20 min mit Argon 5.0 gespült. Die Polymerisation wird durch Erhitzen des Reaktionsgemisches auf 70 °C gestartet. Das Reaktionsgemisch soll für 4 h bei 70 °C gerührt werden.

Bei der Untersuchung zur Reaktionskinetik der RAFT von NIPAAm werden nach definierten Abständen (30 min, 60 min, 120 min, 180 min und 240 min) Aliquote (jeweils 0,1 ml) per Spritze aus der Reaktionsmischung entnommen und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach dem Auftauen werden diese Aliquote direkt zur ¹H-NMR-Spektroskopie (ca. 0,05 ml verdünnt mit ca. 0,7 ml CDCl₃) und zur GPC-Untersuchung (ca. 0,05 ml) verwendet. Die Proben für die GPC werden in 1,5 ml THF (mit BHT als internem Standard) gelöst.

Nach 4 h wird die Polymerisation durch Einfrieren des Reaktionsgemisches in flüssigem Stickstoff und Luftzufuhr abgebrochen. Das Lösungsmittel 1,4-Dioxan wird am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird in ca. 5 ml THF gelöst und in ca. 200 ml Diethylether bei -50 °C ausgefällt (Aceton/fl. Stickstoff) ausgefällt. Die Fällung wird anschließend wiederholt. Das Polymer wird unter Feinvakuum getrocknet. Man erhält Poly(*N*-isopropylacrylamid) als feines, weißes Pulver. Von dem getrockneten Polymer wird ebenfalls eine Probe für die ¹H-NMR-Spektroskopie (in 0,7 ml CDCl₃) vorbereitet.

Auswertung:

Mit Hilfe der ¹H-NMR-Spektren werden die Monomerumsätze in Abhängigkeit der Reaktionszeit berechnet. Anschließend wird überprüft und diskutiert, ob die Polymerisation einer Kinetik 1. Ordnung bezüglich der Monomerkonzentration (bzw. des Monomerumsatzes) folgt. Wie groß ist die Geschwindigkeitskonstante der durchgeführten ATRP von NIPAAm und wodurch wird sie beeinflusst? Aus dem ¹H-NMR-Spektrum der aufgearbeiteten und getrockneten Polymerprobe soll der zahlenmittlere Polymerisationsgrad des Poly(*N*-isopropylacrylamid) bestimmt werden.

Präparatives Praktikum Organische Chemie ab WS 2012/13
Versuchsvorschriften

Liegt eine direkte Proportionalität zwischen der zahlenmittleren Molmasse und dem Monomerumsatz vor? Wodurch wird der Anstieg dieser Geraden bestimmt und wie groß müsste der Anstieg theoretisch sein? Wie groß kann die zahlenmittlere Molmasse der Poly(*N*-isopropylacrylamid)-Ketten theoretisch werden? Wie verhält sich die Breite der Molekulargewichtsverteilung in Abhängigkeit vom Monomerumsatz? Verläuft die durchgeführte Polymerisation von NIPAAm kontrolliert?

Besonderes Augenmerk während der Vorbereitung sollte folgenden Punkten gewidmet werden:

- Mechanismus der freien radikalischen Polymerisation¹
- Grundlagen und Merkmale einer kontrolliert radikalischen Polymerisation¹
- Grundlagen der RAFT²
- Grundlagen zur Molekulargewichtsbestimmung bei Polymeren (besonders Gelpermeationschromatographie)³
- Grundlagen der Reaktionskinetik

Literatur:

¹ H.G. Elias; *Makromoleküle, Bd. 1 Chemische Struktur und Synthese*, 6. Aufl.

² G.Moad; *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 177 - 219

(besonders Mechanismus der RAFT-Polymerisation, Monomere und RAFT-Reagenzien)

³ a) E. Schröder, G. Müller, K.-F. Arndt, *Leitfaden der Polymercharakterisierung*, **1982**, Akademie Verlag Berlin, Kapitel: „Gelpermeationschromatographie“; b) K.-F. Arndt, G. Müller, *Polymercharakterisierung*, **1996**, Carl Hanser Verlag München, Kapitel 5.3.2.4: „Grundlagen der Größenausschlusschromatographie“