

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchung relevanter Modellsysteme im präbiotischen Kontext

Mechanistische Untersuchungen zum Halbacetal-Modell der Soai-Reaktion
als Konzept für die Entstehung von Homochiralität

&

Die Synthese von Monosacchariden unter mechanochemischen Bedingungen

Saskia Lamour

aus

Belzig/Mark, Deutschland

2019

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchung relevanter Modellsysteme im präbiotischen Kontext

Mechanistische Untersuchungen zum Halbacetal-Modell der Soai-Reaktion

als Konzept für die Entstehung von Homochiralität

&

Die Synthese von Monosacchariden unter mechanochemischen Bedingungen

Saskia Lamour

aus

Belzig/Mark, Deutschland

2019

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 7 der Promotionsordnung vom 28. November 2011 von Herrn **Prof. Dr. Oliver Trapp** betreut.

Eidesstattliche Versicherung

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 05.08.2019

.....
(Saskia Lamour)

Dissertation eingereicht am	13. Juni 2019
1. Gutachterin / 1. Gutachter:	Prof. Dr. Oliver Trapp
2. Gutachterin / 2. Gutachter:	Prof. Dr. Anja Hoffmann-Röder
Mündliche Prüfung am	10. Juli 2019

Publikationen und Posterpräsentationen

Publikationen

Saskia Lamour, Sebastian Pallmann, Maren Haas, Oliver Trapp

Life **2019**, 9, 52.

Prebiotic Sugar Formation Under Nonaqueous Conditions and Mechanochemical Acceleration.

Maren Haas, Saskia Lamour, Oliver Trapp

J. Chromatogr. A **2018**, 1568, 160-167.

Development of an Advanced Derivatization Protocol for the Unambiguous Identification of Monosaccharides in Complex Mixtures by GC and HPLC.

Sebastian Pallmann, Jana Steflova, Maren Haas, Saskia Lamour, Ann-Kathrin Henß, Oliver Trapp

New J. Phys. **2018**, 20, 055003.

Schreibersite: an Effective Catalyst in the Formose Reaction Network.

Posterpräsentationen

Molecular Origins of Life, CAS Conference, Oktober 2018, München (Deutschland);

Prebiotic Sugar Formation under Mechanochemical Conditions

Science of Early Life, Juni 2018, Hamilton (Ontario, Kanada);

Derivatization of Monosaccharides for the Unambiguous Identification in Complex Mixtures by GC and HPLC Aiming for Elucidation in the Formose Network.

28th International Symposium on Chiral Discrimination (ISCD), Juli 2016, Heidelberg (Deutschland);

Investigation of the Kinetics of the Soai Reaction via High-Throughput HPLC Measurements.

Syngenta Symposium (SCS), Oktober 2015, Stein (Schweiz);

Investigation of the Kinetics of the Soai Reaction via High-Throughput HPLC Measurements.

Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere Prof. Dr. Oliver Trapp für die Möglichkeit die Promotion mit guter Familienvereinbarkeit in seinem Arbeitskreis anfertigen zu können. Des Weiteren bedanke ich mich für die interessante Thematik, den motivierenden fachlichen Austausch und für die individuell abgestimmte Laborausstattung.

Für die Übernahme meines Zweitgutachtens möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Anja Hoffmann-Röder bedanken.

Ich danke dem Max-Planck-Institut für die finanzielle Unterstützung. Für die Bewältigung der großen und kleinen Hürden der Bürokratie und im Laboralltag möchte ich mich bei Verena, Claudia, Hildegard, Heike, Frau Hölscher, Ute, Brigitte und Carrie bedanken. Des Weiteren danke ich den Abteilungen für Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie in Heidelberg und München für die analytischen Messungen meiner Proben.

Ich möchte dem gesamten AK Trapp danken. Egal ob Heidelberg oder München, Ehemalige oder Gegenwärtige. Alex, Anna, Basti, Brigitte, Carrie, Claudia, Conny, Elina, Fabi, Flo, Frank, Golo, Gloria, Heike, Hildegard, Jan, Jan Felix, Jana, Jenny, Julia, Kai, Laura, Malu, Maren, Max, Michi, MJ, Regina, Sarah, Simone, Skrollan, Sophia, Steffi, Ute, Verena und Yannick. Ich danke euch für unzählige Spiele- und Filmabende, gemeinsames Kochen, Puzzlen und Im-Kaffeezimmer-Versacken.

Aus meiner Heidelberger Zeit möchte ich mich bei meinen Forschungspraktikanten Steffen Ott und Christian Busch, sowie bei meinem HiWi Dosia Bukowska bedanken. Außerdem danke ich Vanessa Weingand vom AK Hashmi für die Möglichkeit, meine ersten mechanochemischen Testansätze durchführen zu können.

Durch fleißiges Korrekturlesen konnten die durchgeführten Experimente in die nun vorliegende schriftliche Form gebracht werden. Hierfür möchte ich mich bei Anna, Kai und Regina, und besonders bei Alex, Basti, Golo, Jan Felix und Maren bedanken.

Ich hatte einen wunderbaren Start meiner Promotion in Heidelberg. Skrollan nahm mich herzlich in ihr Labor auf, erleichterte mir den Wiedereinstieg in den Laboralltag und unterstützte mich, Forschung und Praktikumsbetreuung unter einen Hut zu bekommen. Die Probleme des Alltags konnte ich mit Julia bequatschen: Zum Beispiel freitags bei unserem ganz privaten Semesteressen oder bei einer schnellen Runde „Zug um Zug“.

Tja, und bei „Zug um Zug“ bin ich auch direkt bei meiner Münchener Zeit angekommen. Zuallererst möchte ich mich bei all den lieben Menschen bedanken, die immer ein offenes Ohr oder eine aufbauende Umarmung für mich hatten. Das hat mir viel Kraft gegeben und ich fühlte mich wohl in meiner AK-Ersatzfamilie. Das gemeinsame Mittagessen mit meinen kleinen Kochgruppen und die Abendbrotrunde waren nicht nur Nahrungsaufnahme, sondern vor allem eine Pause vom Laboralltag, die ich vermissen werde.

Ich möchte mich bei all meinen Laborpartnern für die gute Stimmung und die fachliche Unterstützung bedanken. Basti hat unser Labor zwar früher verlassen, aber seine aufbauende „Sassi, du schaffst das“-Motivation hat glücklicherweise nachgewirkt. In Jan Felix habe ich meinen Retter in jeder Lebenslage gefunden: Egal ob MPI-Anmeldung, gemeinsamer Umzug, Labor- oder IT-Probleme. Du warst immer für mich da! Alex, dir danke ich für die Existenz eines Rückzugsortes an dem ein offenes Ohr auf mich gewartet hat, die Ehre deine Münchner Wohnung sehen zu dürfen und für deine kritischen und dennoch hilfreichen Fragen zu meinen Projekten. Steffi danke ich nicht nur als Kollegin und Freundin, sondern auch als Mitbewohnerin. Danke für wöchentlich frische Handtücher, Tür-und-Angel-Gespräche, die auf dem Sofa endeten, und eine wunderbare erste WG-Erfahrung. Jan danke ich für seine innovativen Synthesevorschläge und Versuchsdurchführungen, sowie seine Motivation mir dörfliche Weinfeste näherzubringen. Auch wenn die Maxens gefühlt alles gemeinsam machen, so war der schöne Max mit seinen schönen Waden doch für eine kurze Zeit mein Laborpartner und hilfsbereiter Kistenpacker. MJ vereinfachte mir den Start in München mit lecker Trüffel-Pizza bis zu den Knien und unterhaltsamen Gesprächen über Männer&Frauen. Ich danke euch beiden, dass ihr mir das Gefühl gegeben habt zwei Brüder mehr zu haben, die auf mich aufpassen und ihre Späße mit mir treiben. Fanabsi kann ich witzigerweise gemeinschaftlich danken! Für ein besseres Kennenlernen auf gemeinsamen Zugfahrten, für ihre literarischen Leihgaben, egal ob Schnulze oder Thriller, und für die Möglichkeit euch nach kürzester Zeit ins Herz schließen zu können. Golo, also Herr Storch, wir können es dann doch besser gemeinsam: Studium, Masterarbeit, Promotion in Heidelberg und nun sogar Reunion in München! Ich danke dir nicht nur für deinen fachlichen Austausch, sondern vor allem für die verqueren Gespräche über Gott und die Welt. Maren, mit dir konnte ich motiviert in den Tag starten, mich fachlich austauschen, Probleme des Laboralltags aus dem Weg räumen, Kraft beim selbstgekochten Mittag oder leckerem Kuchen tanken oder einfach nur den Abend verquatschen. Du warst mein perfektes Rund-um-Paket. Dankeschön euch allen.

Für ganz viel Ablenkung während der letzten Jahre, sowohl an sonnigen Nachmittagen auf dem Spielplatz als auch beim gemütlichen Teetrinken bei Regenwetter oder gemeinsamen Familienwochenenden möchte ich mich bei Familie Borchers, Familie Gabrian, Familie Heimpel und Familie Reinhard bedanken.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Bei Mama und Papa, bei meiner Schwester und ihrer Familie und bei meinem Bruder. Ohne andauernde Nachfragen, dafür mit ganz viel Verständnis und Unterstützung von euch konnte ich in den letzten Jahren die kleinen und großen Hürden dieser Promotion meistern.

Meine eigene kleine Familie war am tapfersten! Und nur weil meine beiden Männer so stark waren und das Leben gut ohne Mama geregelt bekommen haben, konnte ich unbeschwert Woche für Woche nach München fahren und meiner Arbeit nachgehen. Ich danke dir Konrad für deine Geduld und deinen Rückhalt, und meinem Frederik für seine bedingungslose Liebe.

Kurzfassung

Der erste Teil befasst sich mit der Soai-Reaktion, die das bekannteste Beispiel einer selbst-amplifizierenden, asymmetrischen Autokatalyse darstellt. Ein tiefgehendes Verständnis für den Mechanismus einer solchen Reaktion ermöglicht es grundsätzliche Konzepte für die Bildung von Homochiralität zu ergründen. In der vorliegenden Arbeit wird die Soai-Reaktion hinsichtlich auftretender Intermediate untersucht. Nachdem in den letzten 20 Jahren bereits eine Vielzahl an Analytikmethoden zu diesem Zweck eingesetzt wurde, lieferte die Beobachtung einer ausgeprägten Halbacetalbildung während dynamischer HPLC-Messungen einen neuen, innovativen Ansatzpunkt. Die Natur solcher Halbacetale, bestehend aus 5-Pyrimidin-carbaldehyd und dem Isopropylalkohol, der während der Reaktion gebildet wird, wurde NMR-spektroskopisch und synthetisch untersucht. Das Auftreten solcher Strukturen konnte ebenso im Laufe der Reaktion massenspektrometrisch mit Hilfe einer gepulsten Orbitrap-MS-Methode nachgewiesen werden. Durch die Identifizierung weiterer Strukturen wurde ein weiterentwickelter Reaktionsmechanismus aufgestellt, auf dessen Basis Reaktionsverläufe simuliert wurden. Erhaltene Reaktionsprofile konnten mit experimentellen Daten für Konzentrationsverläufe der Reaktion, die mittels FIA-HPLC-Methode aufgenommen wurden, abgeglichen werden. Durch Optimierung der Parameter für die Simulation wurden die kinetischen und thermodynamischen Größen des vorgeschlagenen Mechanismus‘ ermittelt und ein tiefer Einblick in ein komplexes Reaktionsnetzwerk erhalten.

Der zweite Teil befasst sich mit der Monosaccharidsynthese als Festphasenreaktion unter präbiotischen Bedingungen. Die klassische Formose-Reaktion ausgehend von Formaldehyd unter basischen Bedingungen generiert in Wasser ein komplexes Gemisch an Monosacchariden. Durch Nass-Trocken-Zyklen können die in präbiotischen Systemen auftretenden Konzentrationsprobleme minimiert werden. Nun wird im Extremfall der vollständigen Austrocknung die Zuckersynthese als Festphasenreaktion untersucht. In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass die Zuckersynthese unter lösungsmittelfreien Bedingungen realisiert und durch mechanische Krafteinwirkung beschleunigt werden kann. Labortechnisch wurden Kugelmöhlen eingesetzt, welche durch Frequenz- oder Umdrehungszahlerhöhung gesteigerte Umsätze zu höheren Monosacchariden aufweisen. Bereits nach 120 min bei 30 Hz wurde Glycolaldehyd mit Calciumhydroxid zu 95% umgesetzt. Die höheren Zucker, wie Tetrosen und Hexosen, wurden stetig aufgebaut, anders als bei der Zugabe von Glycerinaldehyd, wo die Tetrosen ein deutliches Maximum durchliefen. Insgesamt wurde eine wasserunabhängige Syntheseroute zu Zuckerbausteinen aufgezeigt. Neben einer Vielzahl an Aldosen und Ketosen wurde ebenfalls Ribose als essentieller Baustein des Lebens synthetisiert.

Abstract

The first part deals with the Soai reaction, the most prominent example of a self-amplifying, asymmetric autocatalysis. It offers the possibility to fathom fundamental concepts for the emergence of homochirality. This is examined by studying reaction intermediates in order to gain a deeper understanding of the underlying reaction mechanism. After a number of analytical methods have been used for this purpose during the last 20 years, the observation of a pronounced hemiacetal formation from Soai's aldehyde during dynamic HPLC measurements has provided a new, innovative starting point for investigation. The nature of such hemiacetals, consisting of 5-pyrimidinecarbaldehyde and the isopropylalcohol formed during the reaction, was investigated by NMR-spectroscopy and synthesis. Zinc complexes of the hemiacetal could also be detected during the reaction by mass spectrometry using a pulsed Orbitrap-MS method. After identifying numerous structures, an advanced reaction mechanism was proposed. Based on this scheme reactions were simulated and obtained reaction profiles could be compared with experimental data of concentration curves of the reaction, that were previously recorded using an optimized FIA-HPLC method. By iterative improvement of the parameters for the simulation, the kinetic and thermodynamic constants of the proposed mechanism were determined and a deep insight into a complex reaction network was obtained.

The second part deals with monosaccharide syntheses as a solid phase reaction under prebiotic conditions. The classical formose reaction starting from formaldehyde generates a complex mixture of monosaccharides in water under basic conditions. The concentration problems occurring in prebiotic systems can be minimized by wet-dry cycles. Here, the extreme case of complete dehydration is investigated, where sugars are formed in a solid phase reaction. It could be shown that sugar synthesis can be carried out under solvent-free conditions and accelerated by mechanical force. Ball mills were used, which allow increased conversions to higher monosaccharides by increasing their frequency or revolutions per minute. Already after 120 min with 30 Hz and catalyzed by calcium hydroxide, glycolaldehyde was consumed to 95% and higher sugars, such as tetroses and hexoses, were continuously built up continuously. When glyceraldehydes was used as additional substrate the amount of tetroses passed through a distinct maximum. Overall, a water-free synthesis route to sugar building blocks was shown. Aside a large number of aldoses and ketoses, ribose was also synthesized as an essential building block of life.

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
AD-RH	Amylose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbamat) belegt auf Kieselgel (5 µm)
Äq.	Äquivalente
BSTFA	<i>N,O</i> -Bistrifluoracetamid
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
d	Tag
δ	chemische Verschiebung
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DHA	Dihydroxyaceton
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazin
<i>ee</i>	Enantiomerenüberschuss
EE	Ethylacetat
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrosprayionisation
<i>et al.</i>	und andere
Et ₂ O	Diethylether
EtOx·HCl	<i>O</i> -Ethylhydroxylamin-Hydrochlorid
FD	Filmdicke
FID	Flammenionisationsdetektor
GA	Glycolaldehyd
GC	Gaschromatographie
Gly	Glycerinaldehyd
h	Stunde
HACl	Hydroxylamin-Hydrochlorid

HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HR	hochauflösend
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
Hz	Hertz
IB	Cellulose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate) immobilisiert auf Kieselgel (5µm)
ID	Innendurchmesser
IS	Interner Standard
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K	Kelvin
λ	Wellenlänge
LAG	liquid assisted grinding
mM	Millimolar
MBTFA	<i>N</i> -Methyl-bis(trifluoroacetamid)
min	Minute
mL	Milliliter
MM	Schwingkugelmühle (engl. mixer mill)
MS	Massenspektrometrie
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
OV-225	50% Methylsilikon, 25% Cyanopropylsilikon, 25% Phenylsilikon Copolymer
p	Druck
Pa	Pascal
PE	Petrolether
pK _b	negativer dekadischer Logarithmus der Basenkonstante
PM	Planetenkugelmühle
RNA	Ribonukleinsäure

RP	reversed phase
SE-52	5 % Phenylpolysiloxan, 95 % Methylpolysiloxan Copolymer
SiO ₂	Kieselgel
TFA	Trifluoracetyl
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
TIC	total ion count
TMS	Trimethylsilyl
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
v/v	Volumenverhältnis
XIC	extracted ion chromatogramm

Inhaltsverzeichnis

KAPITEL 1	Einleitung	1
KAPITEL 2	Mechanistische Untersuchungen zum Halbacetal-Modell der Soai-Reaktion	5
2.1	Kenntnisstand	6
2.1.1	Der Weg zur selbstamplifizierenden asymmetrischen Autokatalyse	6
2.1.2	Der Einfluss der Reaktionsparameter auf die Soai-Reaktion	9
2.1.3	Mechanistische Untersuchungen	11
2.2	Zielsetzung	19
2.3	Synthese der Reaktanden	20
2.4	Die Methode der Fließinjektionsanalyse	22
2.5	Kinetische Analyse <i>via</i> FIA-HPLC	26
2.5.1	Variation der Aldehydkonzentration	27
2.5.2	Variation der Alkoholkonzentration	28
2.5.3	Variation der Diisopropylzinkkonzentration	29
2.6	Synthesen von Halbacetalstrukturen	30
2.6.1	Halbacetal-Synthese im NMR-Maßstab	31
2.6.2	Mechanochemische Synthese	35
2.6.3	Synthese über ein Silyl-geschütztes Halbacetal	35
2.7	Massenspektrometrische Analyse	39
2.8	Reaktionsmechanismus und Analyse des Reaktionsnetzwerkes	42
2.9	Zusammenfassung	49
KAPITEL 3	Die mechanochemische Synthese von Monosacchariden	53
3.1	Kenntnisstand	54
3.1.1	Szenarien für den Ursprung des Lebens	54
3.1.2	Die Mechanochemie	58
3.1.3	Der Aufbau von Monosacchariden	61
3.1.4	Analytik von Monosacchariden	66
3.2	Zielsetzung	72

3.3	Derivatisierung und Trennung von Monosacchariden.....	73
3.3.1	Oximierung und Silylierung.....	73
3.3.2	Oximierung und Trifluoracetylierung.....	77
3.3.3	Quantifizierung	78
3.3.4	Massenspektrometrie	80
3.4	Basenkatalysierte Aldolreaktion: ein Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk.....	81
3.4.1	Festphasenreaktionen ohne mechanische Krafteinwirkung.....	81
3.4.2	Das Reaktionsverhalten in der Kugelmühle.....	84
3.4.3	Der Einfluss der mechanischen Parameter.....	89
3.4.4	Der Einfluss der chemischen Parameter	95
3.4.5	Kinetische Untersuchungen	99
3.4.6	Vergleichssystem: Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd in Wasser... 108	
3.5	Organokatalysierte Aldolreaktion	110
3.6	Zusammenfassung.....	121
KAPITEL 4	Experimenteller Teil	125
4.1	Allgemeine Angaben.....	126
4.1.1	Dünnschichtchromatographie	126
4.1.2	Säulenchromatographie.....	126
4.1.3	NMR – Kernresonanzspektroskopie	126
4.1.4	MS – Massenspektrometrie.....	127
4.1.5	HPLC-MS – Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie	127
4.1.6	GC-MS – Gaschromatographie-Massenspektrometrie.....	127
4.1.7	Mechanochemische Synthese	128
4.2	KAPITEL 2	129
4.2.1	Synthese von 5-Brom-2-iod-pyrimidin 1 ^[53]	129
4.2.2	Synthese von 5-Brom-2-(<i>tert</i> -butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidin ^[23]	129
4.2.3	Synthese von Pyrimidin-5-carbaldehyd 2-H ^[182]	130
4.2.4	Synthese von 2-(<i>tert</i> -Butylacetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-carbaldehyd 2 ^[23]	130

4.2.5	Synthese von Pyrimidyl-5-(<i>iso</i> -butan-1-ol) 3-H ^[54]	131
4.2.6	Synthese von 2-(<i>tert</i> -Butylacetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-(<i>iso</i> -butan-1-ol) 3 ^[54] ..	131
4.2.7	Synthese von 2-(<i>tert</i> -Butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-carbonsäure 5 ^[184]	132
4.2.8	Synthese von 2-(<i>tert</i> -Butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-carbonsäure-2-(<i>tert</i> -butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-ester 6 nach Steglich ^[59]	133
4.2.9	Synthese von 1-Phenyl-isopropyl-benzoat 6-Ph ^[60]	133
4.2.10	Allgemeine Vorschrift für die Silylierung	134
4.2.11	Allgemeine Vorschrift für die FIA-HPLC-Messungen	135
4.2.12	Allgemeine Vorschrift für die kinetischen HRMS-Messungen	135
4.2.13	Differentialgleichungen des kinetischen Modells	135
4.3	KAPITEL 3	140
4.3.1	Allgemeine Vorschrift für die Aldolreaktion ohne mechanischen Krafteinfluss 140	
4.3.2	Allgemeine Vorschrift für die Aldolreaktion in der Planetenkugelmühle	140
4.3.3	Allgemeine Vorschrift für die Aldolreaktion in der Schwingkugelmühle	140
4.3.4	Vorschrift für die Aldolreaktion mit Zusätzen in der Kugelmühle	141
4.3.5	Vorschrift für die Aldolreaktion mit Paraformaldehyd in der Schwingkugelmühle	141
4.3.6	Vorschrift für die Aldolreaktion ausgehend von Glyolaldehyd und Glycerinaldehyd in der Schwingkugelmühle	141
4.3.7	Vorschrift für die Aldolreaktion in Wasser	142
4.3.8	Allgemeine Vorschrift für die organokatalysierte Aldol-Festphasenreaktion in der Schwingkugelmühle	142
4.3.9	Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit Hydroxylamin-Hydrochlorid (HACl) bzw. <i>O</i> -Ethylhydroxylamin-Hydrochlorid (EtOx·HCl) und BSTFA, sowie GC-Messbedingungen	142
4.3.10	Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit <i>O</i> -Ethylhydroxylamin- Hydrochlorid (EtOx·HCl) und MBTFA und GC-Messbedingungen	143
4.3.11	Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) und GC-Messbedingungen ^[187]	143

4.3.12	Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit Dinitrophenylhydrazin (DNPH) und HPLC-Messungen	144
4.3.13	Evaluierung der ermittelten Daten	144
4.3.14	Berechnung des Umsatzes der Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk	145
4.3.15	Berechnung der Selektivität der Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk	146
4.3.16	Kalibriergeraden für die Derivatisierung mit EtOx·HCl und BSTFA/MBTFA	146
KAPITEL 5	Anhang	149
5.1	FIA-HPLC – Variation der Diisopropylzinkkonzentration (Kapitel 2.5.3)	150
5.2	Produktverteilungen in Zahlen (Kapitel 3.4 und 3.5)	150
5.3	Kalibriergeraden für EtOx-TMS-Aldosen und -Ketosen	155
5.4	Kalibriergeraden für EtOx-TFA-Aldosen	158
KAPITEL 6	Literaturverzeichnis	161

KAPITEL 1

Einleitung

„Wo kommen wir her? Wie sind wir entstanden?“ – Forscher unterschiedlichster Fachrichtungen beschäftigen sich mit dem Ursprung des Lebens. Doch trotz gesammelter Datenpunkte zu herrschenden Bedingungen, ablaufenden Reaktionen und ersten biologischen Systemen zeichnet die chemische Evolution weiterhin ein lückenhaftes Bild.

Vor 4,5 Milliarden Jahren, als unser Sonnensystem gebildet wurde, entstand die Erde.^[1] Die Zeit massiver Meteoriteneinschläge vor 3,9 Milliarden Jahren wird das Große Bombardement genannt.^[2] Uneinigkeit besteht in der Dauer und der Intensität der Einschläge. Doch gerade dieser Punkt entscheidet darüber, ob die Erde durch massive Kollisionen vollständig sterilisiert wurde oder ob Vorläufer des Lebens zuvor gebildet wurden und durch mäßige Einschläge überleben konnten. Vor 3,8 Milliarden Jahren kühlte die Erde ab, die Erdkruste verhärtete sich und flüssiges Wasser konnte existieren.^[3] Nur 300 Millionen Jahre später wurden bereits die ersten fossilen Zellen datiert.^[4] Spätestens in dieser Zeitspanne mussten die ersten organischen Moleküle und zelluläre Strukturen aufgebaut worden sein.

Das Verständnis zur Entstehung des Sonnensystems und die bekannten Eigenschaften der einzelnen Elemente verhalfen zu fundierten Aussagen über die Atmosphärenzusammensetzung. Die Erkenntnis, dass heutige und damalige Vulkanausgasungen ähnlich verliefen,^[5] untermauerte die Annahmen. Die Uratmosphäre war schwach reduzierend bis neutral, hauptsächlich bestehend aus H_2O , H_2 , N_2 , CO und CO_2 . O_2 war nicht vorhanden, bis zur Großen Sauerstoffkatastrophe vor 2,4 Milliarden Jahren.^[6] Stark reduzierte Moleküle wie CH_4 oder NH_3 wurden verhältnismäßig schnell durch photochemische Prozesse abgebaut.^[7] Aus diesen Bausteinen konnten durch Zufuhr von Energie die ersten komplexen organischen Moleküle synthetisiert werden. Die damalige UV-Strahlung war energiereicher, zusätzlich fehlte die schützende Ozonschicht, sodass sie sowohl Moleküle zerstören, als auch chemische Reaktionen aktivieren konnte. Auch Blitzentladungen wurden als Energiequelle diskutiert. Basierend auf dieser Annahme konnten Miller und Urey 1953 tatsächlich den Aufbau zahlreicher organischer Verbindungen, wie zum Beispiel Aminosäuren nachweisen.^[8] Fälschlicherweise wurde dabei eine stark reduzierende Atmosphäre simuliert, welche die damals angenommenen, herrschenden Bedingungen widerspiegelte. Die korrigierten Versuchsreihen wurden von Miller selbst im Jahre 1983 mit schwach reduzierenden und neutralen Gasgemischungen durchgeführt.^[9] Auch hier wurde organisches Material aufgebaut, wenn auch in geringeren Ausbeuten.

Ungeklärt blieb bisher die Frage des selektiven Auftretens von nur einem Enantiomer der essentiellen chiralen biomolekularen Bausteine. Nahezu alle biologisch relevanten Reaktionen

sind auf L-Aminosäuren ausgelegt. Zucker kommen in der Natur dagegen meist in der chiralen D-Form vor. Daher lautet eine grundlegende Frage um die Entstehung des Lebens zu verstehen: „Wie kam es ausgehend von achiralen Molekülen zum Ursprung der Homochiralität?“ Eine Möglichkeit diese Frage zu beantworten offenbart eine bekannte organische Reaktion, die Soai-Reaktion. Aus nahezu achiralen Edukten wird durch kleinste Einflüsse wie zirkular-polarisiertes Licht oder chirale Quarzkristalle ein sehr hoher Enantiomerenüberschuss erhalten.^[10] Mechanistisches Verständnis der Soai-Reaktion würde daher eine Basis für die Aufklärung des Ursprungs der Homochiralität biologisch relevanter Moleküle schaffen.

Ausgehend von den auf der frühen Erde existierenden Aminosäuren mussten für die fortschreitende chemische Evolution Peptide, Proteine und Replikatoren, wie beispielsweise RNA, aufgebaut werden. Unabhängig von der Diskussion über die RNA-Welt-Hypothese^[11] mussten Kondensationsreaktionen zur Bildung dieser polymeren Moleküle ablaufen. Kondensationsreaktionen stellen in Wasser eine thermodynamisch ungünstige Reaktion dar, so dass für präbiotische Ansätze zunehmend Nass-Trocken-Zyklen diskutiert werden. Bei einem vollständigen Ausschluss von Wasser erfolgt der Übergang zur reinen Festphasenchemie. Daher liegt die Frage nahe: „Wie und wo wurden die ersten biologisch relevanten Moleküle unter präbiotischen Bedingungen synthetisiert?“

Eine weitere Möglichkeit für den Ursprung des Lebens auf der Erde lieferte die Panspermia-Hypothese. Diese vertritt die Annahme, dass einfaches Leben auf einem Meteoriten durch das Universum transportiert und auf die Erde gebracht wurde. Diese Hypothese wurde Anfang des 20. Jahrhunderts von Arrhenius aufgestellt,^[12] und in den 70er Jahren erneut aufgegriffen. Im Endeffekt wird hier das bisher ungelöste Problem der Ursprungsfrage lediglich von der Erde in das Universum verschoben, und bleibt unbeantwortet.

KAPITEL 2

Mechanistische Untersuchungen zum
Halbacetal-Modell der Soai-Reaktion

2.1 Kenntnisstand

Die Soai-Reaktion stellt eine Alkylierungsreaktion von Pyrimidincarbaldehyden durch Diisopropylzink zu den entsprechenden Alkoholen dar. Sie wurde 1995 erstmals von dem japanischen Chemiker Kenso Soai beschrieben.^[10] Bislang einmalig ist die Vereinigung von Selbstamplifizierung und asymmetrischer Autokatalyse.

2.1.1 Der Weg zur selbstamplifizierenden asymmetrischen Autokatalyse

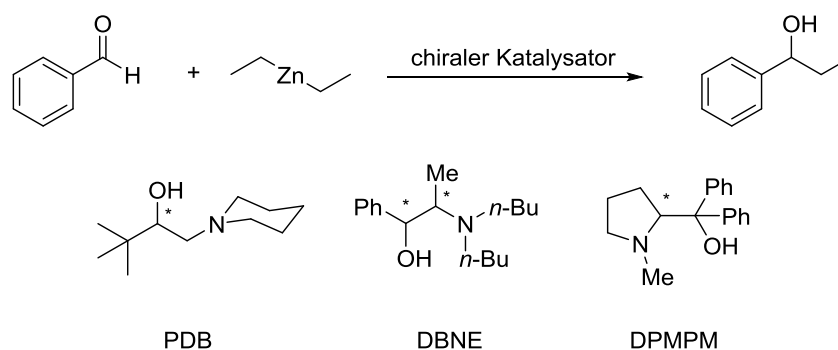
Seitdem erkannt wurde, welche Bedeutung L-Aminosäuren und D-Zucker in unserer Welt haben, sind Wissenschaftler vom Ursprung der Homochiralität fasziniert. Für die hierzu benötigte Chiralitätsverstärkung sind zwei Mechanismen Voraussetzung: asymmetrische Autokatalyse und positive nichtlineare Effekte.^[13-14]

Bereits 1953 stellte Frank ein kinetisches Modell vor, in welchem die Entstehung der Homochiralität nur durch chemische Prozesse vorgeschlagen wurde. Grundidee war ein autokatalytisches System, in dem ein vorliegendes Produktenantiomer die Bildung des gleichen Enantiomers katalysiert und die Bildung des anderen inhibiert. Diese rein theoretische Betrachtung bezog sich auf keine bekannte chemische Reaktion, unterstrich jedoch die Möglichkeit, dass durch die aufgrund statistischer Fluktuation kurzzeitig auftretenden, minimalen Enantiomerenüberschüsse in einer nicht-asymmetrischen Reaktion durch stereoamplifizierende Effekte dennoch Enantiomerenüberschüsse gebildet werden können.^[15]

1969 veröffentlichte Horeau Ergebnisse über starke Abweichungen von vorliegendem Enantiomerenüberschuss und experimentell bestimmtem spezifischem Drehwert von chiralen Bernsteinsäurederivaten in Chloroform.^[16] Die Erklärung dieses Phänomens liegt in der Ausbildung von diastereomeren Assoziaten über Wasserstoffbrückenbindungen. Solch eine Enantiomerenwechselwirkung hat Einfluss auf den Ablauf einer chemischen Reaktion, Ausbeuten und Enantiomerenüberschüsse, wie die Arbeiten von Wynberg und Feringa aus dem Jahre 1976 zeigten.^[17] Unterschiede traten auf, je nachdem ob enantiomerenreine Substrate oder die korrespondierenden racemischen Mischungen in chemischen Reaktionen eingesetzt wurden.

1986 beschrieben Kagan *et al.* die nichtlineare Beziehung zwischen dem Enantiomerenüberschuss eines eingesetzten Katalysators und dem gebildeten Produkt in der asymmetrischen Katalyse.^[18] Diese positiven bzw. negativen nichtlinearen Effekte beruhen auf der Bildung diastereomerer Assoziate zwischen chiralen Spezies in nicht-homochiraler Umgebung.^[13-14] Solche nichtlinearen Effekte treten zum Beispiel bei Sharpless-Epoxidierungen, Prolin-katalysierten Aldol-Cyclisierungen und nukleophilen Additionen von Organozinkverbindungen an Aldehyde auf.^[19]

1988 untersuchten Oguni *et al.* die nukleophile Addition von Diethylzink an Benzaldehyd. Als Katalysatoren wurden chirale β -Aminoalkohole eingesetzt, wie beispielsweise 1-Piperidino-3,3-dimethyl-2-butanol (PDB) (Schema 2-1).^[20] Der beobachtete positive nichtlineare Effekt kann durch Dimerenbildung des chiralen Katalysators mit dem Zinkorganyl erklärt werden. Die heterochirale Form ist stabiler als die homochirale, welche in Lösung zerfällt. Der sogenannte Reservoir-Effekt tritt auf.^[21]

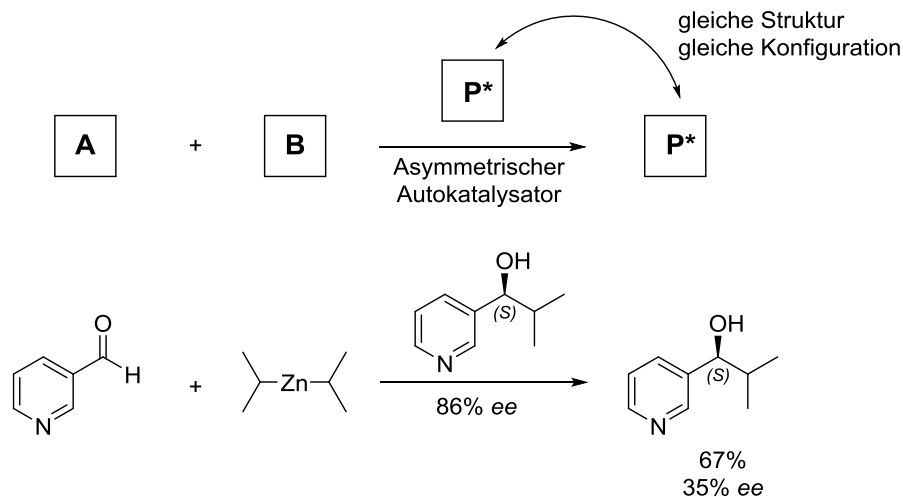


Schema 2-1: Alkylierung von Benzaldehyd mit Diethylzink und verschiedenen chiralen Katalysatoren.

Parallel untersuchten Soai *et al.* die Umsetzung von Aldehyden mit Dialkylzink-Verbindungen in Anwesenheit chiraler β -Aminoalkohole, insbesondere *N,N*-Dibutylnorephedrin (DBNE) und Diphenyl-(1-methylpyrrolidin-2-yl)-methanol (DPMPM) (Schema 2-1).^[22]

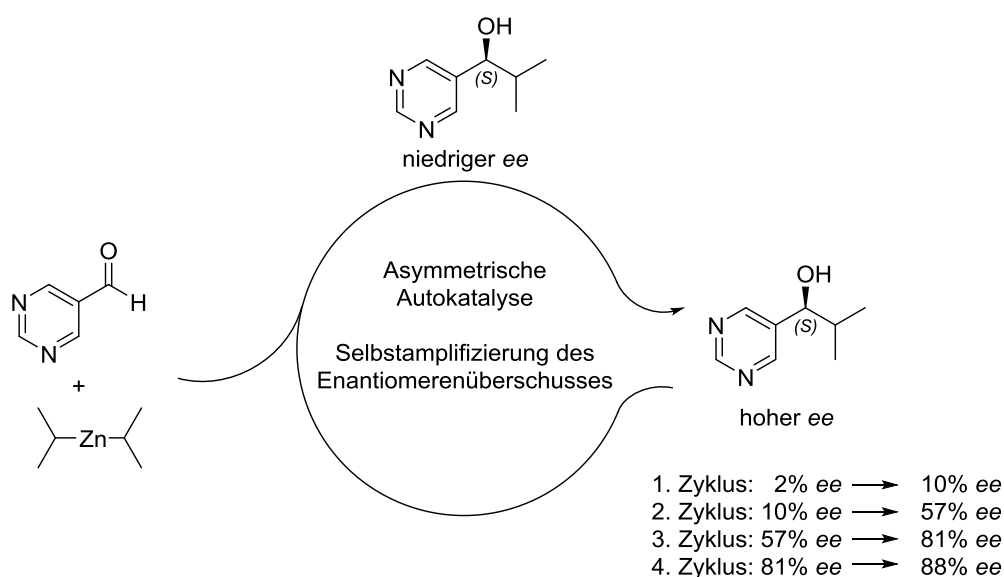
Bis zu diesem Zeitpunkt war der eingesetzte chirale Katalysator nicht identisch mit dem erhaltenen Produkt gewesen. Um nun den Schritt von der konventionellen asymmetrischen Katalyse zur asymmetrischen Autokatalyse zu gehen, müssen Katalysator und Produktmolekül nicht nur in ihrer Struktur übereinstimmen, sondern auch in ihrer absoluten Konfiguration.^[22]

1989 veröffentlichten Soai *et al.* erstmalig eine asymmetrische Autokatalyse bei der Diisopropylzink an 3-Pyridincarbaldehyd addiert wurde. Der zum Reaktionsprodukt strukturell identische 3-Pyridylalkohol wurde mit 86% *ee* als Katalysator eingesetzt. Erhalten wurde exakt der gleiche Alkohol, welcher einen Enantiomerenüberschuss von 35% besaß und nun als asymmetrischer Autokatalysator in seiner eigenen Darstellung fungierte (Schema 2-2).^[22]



Schema 2-2: Asymmetrische Autokatalyse – Konzept und erstes Beispiel nach Soai *et al.*. Modifizierte Abbildung aus Referenz [22]. (Copyright Springer Verlag 2007.)

1995 etablierten Soai *et al.* ein weiterentwickeltes System, wobei der Pyridinring durch eine symmetrische Pyrimidineinheit sowohl im Aldehyd als auch im Alkohol ersetzt wurde. Beim Einsatz von nahezu enantiomerenreinen Katalysatoren (99% *ee*) wurde der Produktalkohol mit bis zu 95% *ee* isoliert. Diese hohe Enantioselektivität in einer asymmetrischen Autokatalyse motivierte Soai *et al.* den Katalysator mit einem minimalen Enantiomerenüberschuss von 2% *ee* einzusetzen. Der aufgebaute Alkohol wies einen gegenüber dem Katalysator erhöhten *ee* von 10% auf und wurde anschließend als Katalysator in einer erneuten Alkylierung eingesetzt. Nach nur vier Zyklen konnte der Enantiomerenüberschuss von den anfänglichen 2% auf 88% gesteigert werden. Dies war die erste Realisierung einer asymmetrischen Autokatalyse mit signifikanter Selbstamplifizierung der Chiralität (Schema 2-3).^[10]



Schema 2-3: Asymmetrische Autokatalyse mit Selbstamplifizierung der Chiralität innerhalb von vier Zyklen von 2% *ee* auf 88% *ee*. Modifizierte Abbildung aus Referenz [10]. (Copyright Nature Publishing Group 1995.)

Ein asymmetrischer Autokatalysator mit optimalen Eigenschaften wurde 1999 von Soai *et al.* vorgestellt.^[23] Dieser ist an der 2-Position im Pyrimidinring durch eine *tert*-Butylethynyl-Gruppe substituiert. Der Alkohol wurde mit über 99,5% *ee* eingesetzt und konnte mit über 99% Ausbeute und über 99,5% *ee* isoliert werden. Anschließend katalysierte der gewonnene Alkohol die nächste Reaktion. Selbst nach zehn Zyklen gab es keinerlei Einbußen in Ausbeute und Enantiomerenreinheit. Vervollständigend wurde 2003 die Selbstamplifizierung untersucht, wobei innerhalb von drei konsekutiven Zyklen ein annähernd racemisches Gemisch (0,00005% *ee*) zu nahezu enantiomerenreinem (>99,5% *ee*) Alkohol umgesetzt wurde.^[24]

2.1.2 Der Einfluss der Reaktionsparameter auf die Soai-Reaktion

Die Soai-Reaktion wurde umfangreich auf die Einflüsse verschiedener Reaktionsparameter hin untersucht. Neben den eingesetzten Ausgangsstoffen spielen auch das Lösungsmittel und die Temperatur eine wichtige Rolle für den Reaktionsverlauf.

Die Kernstruktur des Aldehyds kann sowohl ein Pyridin-, Pyrimidin- als auch ein Chinolinring sein (Abbildung 2-1).^[25] Die erhaltenen Produkte der nukleophilen Addition gleichen somit aliphatischen chiralen β -Aminoalkoholen, die bekanntermaßen gute asymmetrische Katalysatoren sind. Je nach Substitutionsmuster ändern sich die Katalysatoreigenschaften. Hervorzuheben ist der 2-substituierte Pyrimidin-5-carbaldehyd. Ferner liefern der unsubstituierte und der Methyl-substituierte Pyrimidinring vor allem neben Alkynyl-Einheiten gute Ergebnisse. Die höchsten Aktivitäten besitzen Derivate mit *tert*-Butyl-, Trimethylsilyl- und Adamantyl-Gruppen (Abbildung 2-1). Neben dem elektronenziehenden Effekt der Dreifachbindung spielt die Sperrigkeit der an der Dreifachbindung sitzenden Gruppe eine ausschlaggebende Rolle.^[23]

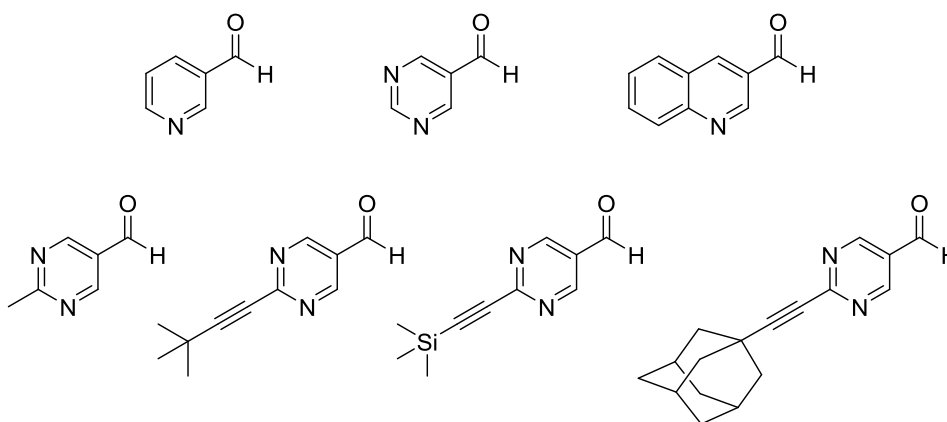


Abbildung 2-1: Gängige Aldehyde als Edukte in der Soai-Reaktion.

Das metallorganische Alkylierungsmittel in der Soai-Reaktion stellt bezüglich der strukturellen Variabilität den limitierenden Faktor dar. Bisher konnten hierbei ausschließlich Zinkorganyle eingesetzt werden. Neben den gebräuchlichen unverzweigten Alkylgruppen^[26] wurden auch Cyclopropyl-, *tert*-Butyl- und Cyclopentyl-Substituenten untersucht.^[27] Dennoch zeigten sich nur bei Diisopropyl-Gruppen die gewünschten Eigenschaften für die Selbstamplifizierung des Enantiomerenüberschusses. Mit Hilfe von DFT-Rechnungen stellten Brown und Ercolani die sterische Hinderung der Isopropylgruppe als entscheidendes Kriterium heraus.^[27]

Der katalytisch eingesetzte Alkohol bringt die chirale Information in das System. In einer Studie von Gehring *et al.* wurde das Zusammenspiel von eingesetztem Enantiomerenüberschuss und Stoffmenge des Alkohols untersucht. Gewöhnlich sollten 20 mol% nahezu enantiomerenreinen Alkohols eingesetzt werden, um auch beim Produktalkohol einen *ee* von über 99% zu gewährleisten. Alkohole mit geringerem Enantiomerenüberschuss (7,2% *ee*) zeigten dagegen ein Maximum von 96% *ee* des Produktalkohols bei nur 2 mol% Katalysatorladung. Im Bereich von 0,2 bis 20 mol% nimmt die Stoffmenge wenig Einfluss auf den Enantiomerenüberschuss des aufgebauten Alkohols (84–96% *ee*). Bei Zugabe von mehr als 20 mol% verringert sich die Selbstamplifizierung. Unabhängig vom *ee* der eingesetzten Katalysators sind die Ergebnisse für Katalysatormengen unter 0,1 mol% nicht mehr reproduzierbar.^[25]

Interessanterweise kann neben dem als Katalysator eingesetzten chiralen Alkohol auch eine Vielzahl anderer Einflüsse chirale Induktion hervorrufen. Hierzu zählen zirkular-polarisiertes Licht,^[28] Quarzminerale^[29] und chirale organische Kristalle^[30] sowie Aminosäuren^[28] und Isotopen-markierte^[31] Moleküle. Zu Beginn der Reaktion initiiert das chirale Additiv die Synthese des Alkohols mit einem geringen *ee*, welcher im weiteren Verlauf einen schnelleren und selektiveren Aufbau des Produktalkohols mit höherem *ee* bewirkt.

Die Soai-Reaktion läuft in vielen Lösungsmitteln ab, getestet wurden unter anderem Diethylether,^[32] Tetrahydrofuran,^[32] Benzol,^[33] Toluol,^[23] Cumol,^[23] *tert*-Butylbenzol^[23] und verschiedene Gemische.^[32] Toluol erwies sich hierbei als am besten geeignet. Durch die starken koordinierenden Effekte des Tetrahydrofurans traten Nebenreaktionen auf, beispielsweise die Reduktion zum primären Pyrimidylalkohol. Allgemein trat das Problem der Niederschlagsbildung zum Ende der Reaktion hin auf. Die Zusammensetzung von Niederschlag und Lösung wurde von Blackmond untersucht.^[32] In Diethylether zeigte der Niederschlag einen höheren *ee* als die Lösung, wogegen es sich in Toluol umgekehrt verhielt. Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, dass die aktive Spezies in Toluol eine höhere Löslichkeit als in Diethylether besitzt.

Die Reaktionstemperaturen variieren gewöhnlich zwischen -5 und 25°C .^[25] Bei Temperaturen unter -35°C oder oberhalb von 25°C läuft die Reaktion weiterhin vollständig ab, dafür aber weniger enantioselektiv. Bemerkenswert ist die inverse Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit, da diese mit abnehmender Reaktionstemperatur (bis zu -10°C) steigt.^[34]

2.1.3 Mechanistische Untersuchungen

Die Soai-Reaktion stellt seit ihrer Entdeckung vor über 20 Jahren das bedeutendste Beispiel für eine selbstamplifizierende, asymmetrische Autokatalyse dar. Weitere Beispiele für asymmetrisches, autoinduktives Verhalten mit positiven nichtlinearen Effekten konnten Danda,^[35] Wulff^[36] und Trapp,^[37] bei der Untersuchung von Cyanohydrierungen, Diels-Alder-Reaktionen sowie Hydrierungen finden. Als selbstamplifizierende asymmetrische Autokatalyse liefert die Soai-Reaktion eine theoretische und experimentelle Basis um den Ursprung der Homochiralität in der Natur erklären zu können. Umso wichtiger ist die vollständige Aufklärung des Mechanismus, die nur durch die Verknüpfung von kinetischen Studien, detaillierter spektroskopischer Charakterisierung und quantenchemischen Rechnungen ermöglicht werden kann.^[38]

Reaktionskalorimetrie

Die Reaktionskalorimetrie misst den Wärmefluss, welcher durch den Verbrauch oder die Freisetzung von Wärme im Zuge einer chemischen Reaktion auftritt. Um reproduzierbare und aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, ist es wichtig andere thermische Effekte ausschließen zu können. In Gleichung (1) wird der Zusammenhang zwischen entstandener Wärme q und der Reaktionsgeschwindigkeit r mit Hilfe der Proportionalitätskonstante ΔH , der charakteristischen Reaktionswärme, beschrieben. Gleichung (2) verdeutlicht die Abhängigkeit des Umsatzes an Substrat von der Wärmeentwicklung bis zum Zeitpunkt t .^[38]

$$q = \Delta H * V * r \quad (1)$$

$$\text{Umsatz} = f(t) = f_{\text{final}} * \frac{\int_0^t q(t) dt}{\int_0^{t(\text{final})} q(t) dt} \quad (2)$$

Die von Blackmond *et al.* etablierte Methode der Reaktionskalorimetrie^[38] zur Untersuchung von zeitaufgelösten Reaktionsverläufen hat den Vorteil der direkten Aufnahme eines Wärmeflussprofils in Abhängigkeit der Zeit (Abbildung 2-2), wodurch die Messung der zeitabhängigen Reaktionsgeschwindigkeit sowie von Umsatz und Konzentration der Reaktanden und Produkte erleichtert wird.^[39]

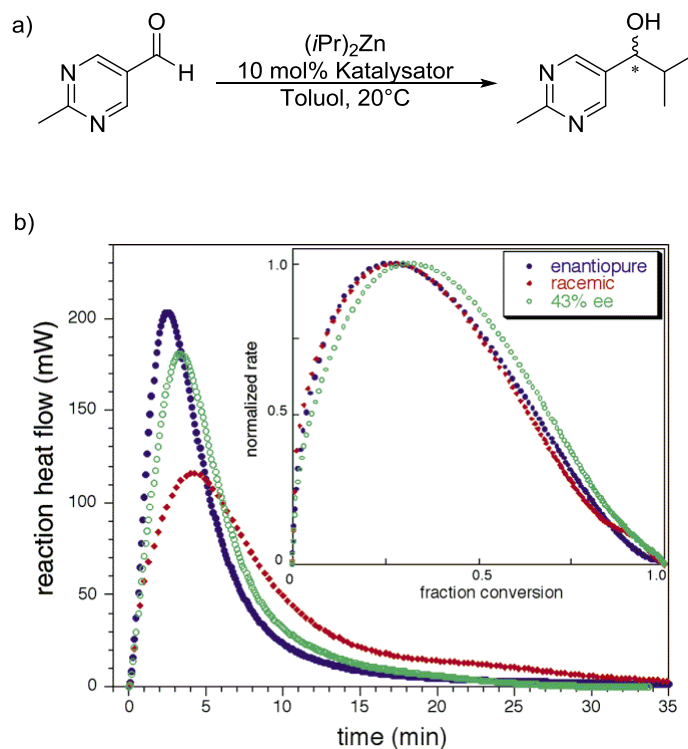


Abbildung 2-2: a) Reaktionsschema der von Blackmond *et al.* untersuchten Soai-Reaktion. b) Zeitaufgelöste Wärmeentwicklung der Soai-Reaktion mit unterschiedlichem Enantiomerenüberschuss des Katalysators. Im Kasten: Normalisierte Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit vom Umsatz. Abbildung übernommen aus Referenz [40]. (Copyright (2001) American Chemical Society.)

Durch die Ermittlung des Geschwindigkeitsgesetzes können Aussagen über den Mechanismus der Soai-Reaktion getroffen werden. Das Reaktionsprofil spiegelt das charakteristische Verhalten einer Autokatalyse wieder. Anfänglich wird durch den Aufbau des Katalysators Wärme erzeugt und nach Erreichen eines Maximums nimmt der Wärmefluss durch den Umsatz von Substraten wieder ab. Im Gegensatz dazu zeigt eine klassische Katalyse konstante Wärmeerzeugung oder direkt einsetzenden zeitlichen Verbrauch.^[41]

Blackmond postulierte 2003 das in Gleichung (3) gezeigte Geschwindigkeitsgesetz für die Soai-Reaktion und zeigte durch Messreihen die Übereinstimmung von Theorie und Praxis.^[42]

Das Zinkorganyl tritt nicht direkt im Geschwindigkeitsgesetz auf, sondern nur in durch den Alkohol koordinierter Form (Alk-Zn). Natürlich kann durch eine Koordination des Aldehyds auch der Aldehyd-Zink-Komplex entstehen (Ald-Zn), wodurch sich Gleichung (4) ergibt.

$$r = k [Ald]^2 [(Alk - Zn)Dimer]_{aktiv} \quad (3)$$

$$r = k' [Ald - Zn] [Ald - Zn] [(Alk - Zn)Dimer]_{aktiv} \quad (4)$$

2010 konnten Blackmond *et al.* durch Variieren der Anfangskonzentrationen und Überschuss- experimente genauere Reaktionsordnungen für die drei Reaktanden Aldehyd, Alkohol und Zinkorganyl bestimmen (Abbildung 2-3).^[34] Der Alkohol tritt als Zink-Alkoholat auf und geht mit erster Ordnung in das Reaktionsgeschwindigkeitsgesetz ein. Das freie Zinkorganyl tritt dagegen in nullter Ordnung auf, wonach die eigentliche Alkylierung offenbar als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt abläuft. Für den Aldehyd wurde die Reaktionsordnung 1,6 ermittelt. Dieser Wert zwischen 1 und 2 suggeriert, dass im Übergangszustand die Addition eines freien Aldehyd-Moleküls an ein ruhendes Molekül erfolgt, welches ein zweites Aldehyd-Molekül enthält.

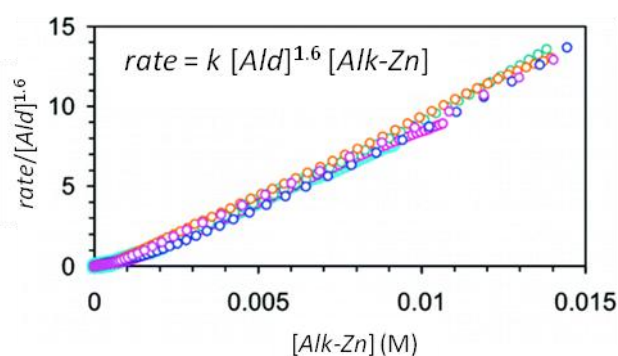
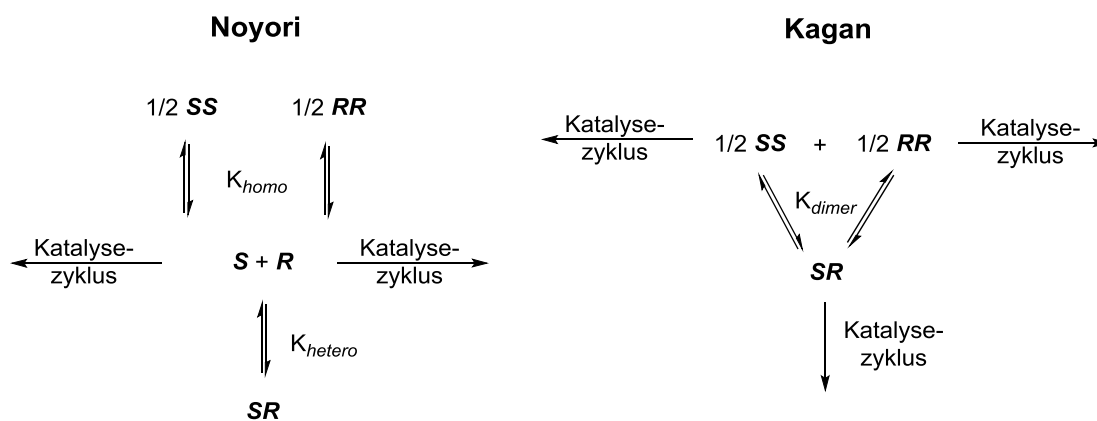


Abbildung 2-3: Kinetische Analyse der variierenden Anfangskonzentrations- und Überschuss- experimente. Modifizierte Abbildung aus Referenz [34]. (Copyright American Chemical Society 2010.)

Noyori^[43] und Kagan^[19] schlugen vor, dass dimere Spezies eine entscheidende Rolle im mechanistischen Geschehen der Soai-Reaktion spielen könnten (Schema 2-4). Es können entweder homo- (*SS*, *RR*) oder heterochirale (*SR*) Dimere aufgebaut werden. Der Unterschied besteht jedoch in deren jeweiliger Aktivität: Trotz Vorliegen von Dimeren sind in Noyoris Modell nur die Monomere katalytisch aktiv. Kagan hingegen ging davon aus, dass die Dimere selbst als aktive Katalysatoren agieren.



Schema 2-4: Vorgeschlagene Mechanismen für die asymmetrische Alkylierung von Aldehyden. Schema nach Referenz [40].

Bereits 2001 zeigten Blackmond *et al.* mit Hilfe der Reaktionskalorimetrie die Übereinstimmung bezüglich des Umsatzes und des Enantiomerenüberschusses von experimentellen und theoretischen Daten unter Anwendung von Kagans Gleichungssystemen.^[40] Beim Einsatz von racemischem Alkohol ist die Reaktionsgeschwindigkeit ungefähr halb so groß wie beim Einsatz von enantiomerenreinem Alkohol. Diese Beobachtung ist auf die katalytische Aktivität der homochiralen Dimere zurückzuführen, welche im statistischen Gleichgewicht mit den inaktiven heterochiralen Dimeren steht. 2003 erhielten Blackmond *et al.* mit dem oben gezeigten Geschwindigkeitsgesetz (Gleichung 4) einen Hinweis auf einen tetrameren Übergangszustand. Dieser setzt sich aus den zwei Zink-komplexierten Aldehyd-Molekülen und dem Dimer, welches zwei Alkoholate enthält, zusammen.^[42] Tetramere Strukturen sind als Intermediate in Reaktionen von Dialkylzink-Verbindungen mit Aminoalkoholen bereits beschrieben worden.^[44] Sie zeigen Ähnlichkeiten zu den „Templat-Templat“-Einheiten, die Miniatursysteme zur Selbstreproduktion nach von Kiedrowski definieren.^[45] Das autokatalytische Verhalten dieser Systeme nimmt im Laufe einer Reaktion ab, da der Katalysator durch zu starke Bindung zwischen Katalysator und Produkt beziehungsweise durch unkatalysierte Nebenreaktionen allmählich vergiftet wird. Die Soai-Reaktion ist dagegen ein selbst-replizierendes System, welches ideales autokatalytisches Verhalten über viele Katalysezyklen hinweg zeigt.^[42]

NMR-Spektroskopie

Der katalytisch eingesetzte Alkohol baut mit dem metallorganischen Alkylierungsreagenz dimere Strukturen auf. Neben dem von Blackmond und Brown vorgestellten 12-gliedrigen Makrozyklus (Abbildung 2-4)^[40] wurden auch homo- und heterochirale Dimere postuliert.^[46] Gridnev und Brown untersuchten 2004 die bei der Soai-Reaktion auftretenden Strukturen in Lösung mittels NMR-Spektroskopie. In deuteriertem Toluol wurden die homo- und heterochiralen Dimere mit der postulierten $[Zn-O]_2$ -Einheit im Verhältnis 1:1 nachgewiesen (Abbildung 2-4). Später wurde über die Bildung von Oligomeren mit geringerer Symmetrie bei tiefen Temperaturen spekuliert.^[46]

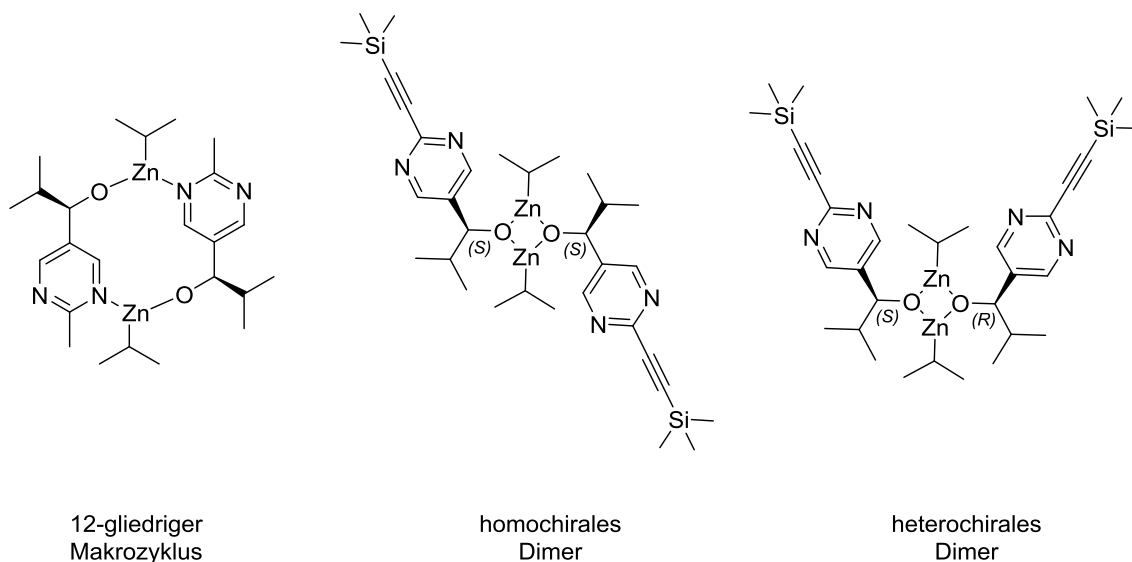


Abbildung 2-4: Makrozyklus sowie homo- und heterochirale Dimere mit der postulierten $[\text{Zn-O}]_2$ -Einheit.

2012 veröffentlichten Blackmond und Brown spektroskopische Daten, die für ein auftretendes Acetal-Intermediat sprechen. Während der Echtzeit-Messung bei 0°C traten schwache Signale im Aromatenbereich auf, welche bei 1–2% der Intensität des Aldehyd-Signals liegen. Für weitere Untersuchungen dieses Intermediats wurden 2D-NMR-Messungen bei -40°C durchgeführt, welche die Acetalstruktur bestätigten (Abbildung 2-5).^[47]

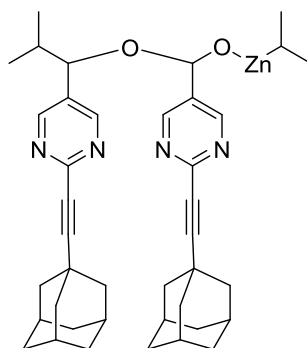


Abbildung 2-5: Möglicherweise bei tiefen Temperaturen auftretendes Acetal-Intermediat.

DFT-Berechnungen

Die postulierten Strukturen und Intermediate konnten mit Hilfe von DFT-Berechnungen an ausgewählten Modellverbindungen diastereomerer Strukturen gestützt werden.^[46] Für die Tetramere wurden verschiedene Geometrien diskutiert, wobei die sogenannte SMS-Form (square-macrocycle-square) die wahrscheinlichste ist (Abbildung 2-6). Die zwei trigonalen Zink-Zentren dienen als potentielle Katalysezentren, wodurch lineare Oligomerisation möglich wird.^[27]

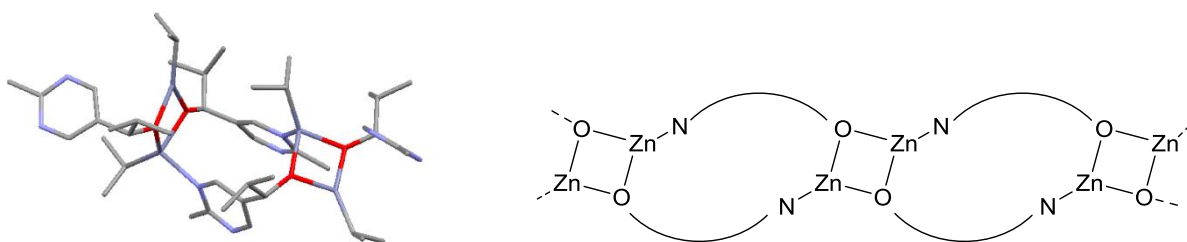
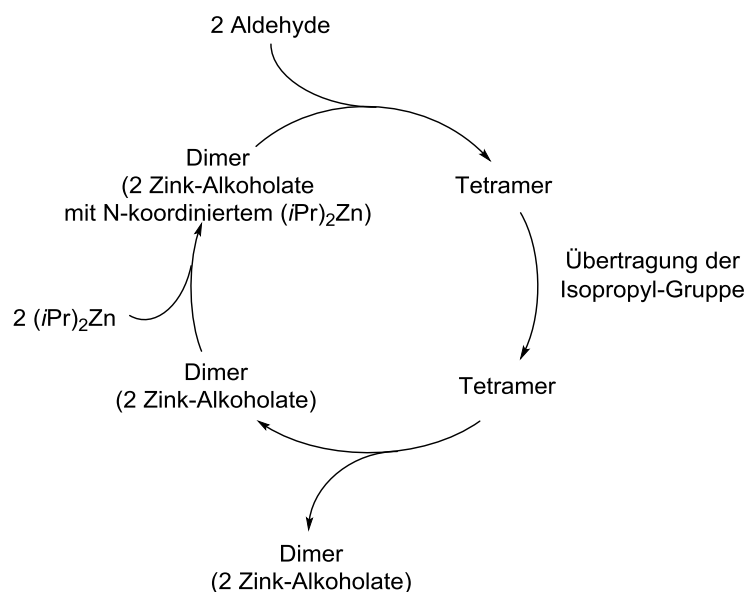


Abbildung 2-6: Oben: SMS-Form eines Tetramers. Abbildung durch die berechneten kartesischen Koordinaten aus Referenz [27]. (Copyright (2007) Royal Society of Chemistry.) Unten: Lineares Oligomer bei tiefen Temperaturen.

Basierend auf den Ergebnissen von DFT-Rechnungen veröffentlichten Ercolani *et al.* 2008 einen Vorschlag für den detaillierten mechanistischen Ablauf der Soai-Reaktion (Schema 2-5). Ausgegangen wurde von Dimeren, welche mit zwei Aldehyd- und zwei Diisopropylzink-Molekülen Tetramere aufbauen. Durch Dissoziation dieser Tetramere konnten erneut zwei katalytisch aktive Dimere gebildet werden. Die Übertragung der Isopropyl-Gruppe erfolgt in der tetrameren Struktur, wobei sich je nach Konfiguration Energiedifferenzen in den Übergangszuständen ergeben. Diese Energiedifferenzen sind verantwortlich für die gewünschte Amplifikation der Chiralität. Zusätzlich wurde die Rolle der Isopropyl-Gruppe, des γ -Stickstoff im Pyrimidinring und des δ -Substituenten berücksichtigt. Vernachlässigt wurden hingegen die Zinkalkoholate im Reaktionsgemisch. Außerdem handelt es sich um eine Gasphasen-DFT-Rechnung, wodurch nur ein eingeschränkter Rückschluss auf die reale, in Toluol ablaufende Soai-Reaktion möglich ist.^[48]

Einen Mechanismus für die Soai-Reaktion in Lösung postulierten Gridnev und Vorobiev im Jahr 2012. Hierbei wurden als zentrale Spezies homochirale tetramere Makrozyklen in der sogenannten *Brandyglas*-Konformation vorgeschlagen. Weiterhin konnte bestätigt werden, dass Dimere, Tetramere und oligomere Formen in verschiedenen Katalysezyklen in Konkurrenz treten.^[49]



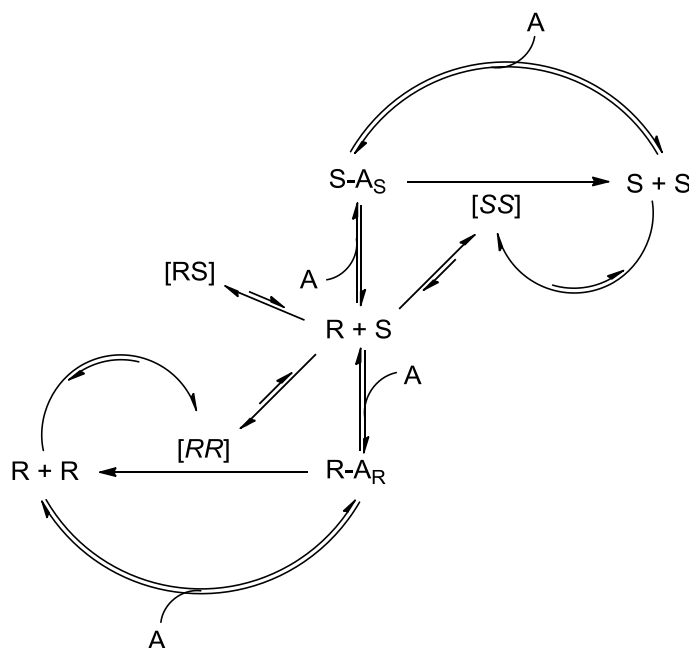
Schema 2-5: Ausschnitt des von Ercolani postulierten Katalysezyklus' für die Soai-Reaktion.

Röntgenstrukturanalyse

Auf Basis der bisher vorgestellten Analysetechniken wurde deutlich, dass ein *in situ* gebildetes Aggregat ein Schlüsselintermediat in der Soai-Reaktion sein könnte. Folglich untersuchten Soai *et al.* 2015 kristallisierte Komponentenmischungen durch Röntgenstrukturanalyse. Der Alkohol wurde sowohl racemisch als auch enantiomerenrein mit äquimolaren Mengen beziehungsweise mit einem Überschuss an Diisopropylzink versetzt und kristallisiert. Es konnten sowohl tetramere als auch oligomere Strukturen nachgewiesen werden, darunter die bereits diskutierte SMS-Konformation (Abbildung 2-6) und der 12-gliedrige Makrozyklus (Abbildung 2-4). Auch wenn die kristallinen Strukturen nicht die aktiven Spezies in Lösung widerspiegeln, so stellen sie einen sehr guten Ausgangspunkt für realistische Modelle des Mechanismus der Soai-Reaktion dar.^[50]

Simulationsmodelle

Als Teil seiner Dissertation^[51] zeigte Frank Maier aus der Gruppe von Prof. Trapp mit Hilfe von Simulationsmodellen die Schwachstellen bestehender Mechanismuvorschläge der Soai-Reaktion auf. Zeitgleich postulierte er einen neuen Mechanismus auf Basis eines Halbacetals als katalytisch aktive Zwischenstufe (Schema 2-6). Wie in den Modellen von Blackmond^[38, 40] und Soai^[52] wurde von Dimerenbildung (siehe Abbildung 2-4) ausgegangen. Zusätzlich wurde eine Halbacetalbildung zwischen Pyrimidinaldehyd und Zinkalkoholat angenommen. Seine erste Beobachtung von Halbacetalen war eine Plateaubildung bei dynamischen HPLC-Messungen eines Pyrimidincarbaldehyds, welches ein Resultat der Interkonversion gebildeter Halbacetalspezies mit dem alkoholischen Eluenten darstellte.



Schema 2-6: Vorgeschlagener Halbacetal-Dimer-Mechanismus von Frank Maier. Abbildung aus der Dissertation [51].

Auf Basis eines Runge-Kutta-Algorithmus wurden etablierte Mechanismen von Blackmond und Soai mit dem Halbacetal-Modell und experimentellen Daten verglichen. Hierbei wurden die zeitlichen Reaktions- und Selektivitätsverläufe, sowie die Abhängigkeiten der Produktselektivität und der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit von dem eingesetzten Katalysatorenenantiomerenüberschuss betrachtet. Für jedes Modell wurden die entsprechenden Differentialgleichungen aufgestellt und die Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten so gewählt, dass die simulierten Konzentrationsverläufe mit den experimentell ermittelten Daten übereinstimmen. Die Simulation zeigte für das Blackmond-Modell bei Katalysatorenenantiomerenüberschüssen unter 30% keine Übereinstimmung mit den experimentellen Daten. Sowohl für das Blackmond- als auch für das Soai-Modell waren die Ergebnisse bezüglich der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit wenig zufriedenstellend. Das Halbacetalmodell zeigte dagegen eine gute Übereinstimmung bei der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit und ermöglichte sogar die Vorhersage der erhaltenen Enantiomerenüberschüsse.

2.2 Zielsetzung

L-Aminosäuren und D-Zucker sind Grundbausteine des Lebens. Der Ursprung dieses faszinierenden Vorliegens nur eines Enantiomers ist nicht final ergründet. Es wird in diesem Kontext jedoch angenommen, dass die katalytische Selbstamplifizierung kleiner Enantiomerenüberschüsse zur Homochiralität geführt hat. Wenngleich zunächst nicht intuitiv mit präbiotischen Transformationen in Verbindung zu bringen, ergibt sich mit der Soai-Reaktion – als selbstamplifizierende Autokatalyse – die Möglichkeit, mechanistische Aufklärung der relevanten Elementarschritte einer solchen Reaktion zu betreiben, um diese als Prinzipien der autokatalytischen Selbstamplifizierung zu verallgemeinern.

Im Rahmen dieser Arbeit soll die Untersuchung von Intermediaten der Soai-Reaktion im Mittelpunkt stehen. In diesem Zusammenhang soll vor allem die Analyse der Bildung von Halbacetalspezies zwischen dem Aldehyd und dem gebildeten Produktalkohol, die ersten Untersuchungen nach eine wichtige Rolle im Katalysezyklus einnehmen, im Fokus stehen.

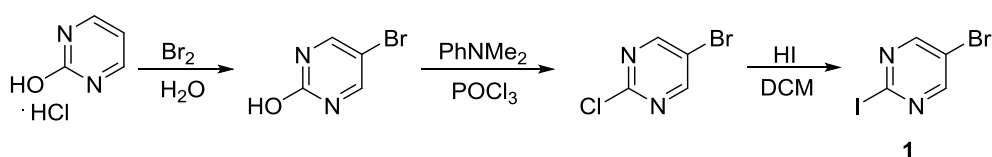
Angestrebt ist die Synthese eines Halbacetalmoleküls, ausgehend von Pyrimidincarbaldehyd und –alkohol, welches im Anschluss in kinetischen Studien der Soai-Reaktion eingesetzt werden soll. Als Methode für die kinetischen Studien soll die Fließinjektionsanalyse (FIA-HPLC) genutzt werden, um eine möglichst große Anzahl an Datenpunkten für genaue Analysen zu erhalten. Des Weiteren soll der gesamte Reaktionsverlauf massenspektrometrisch verfolgt werden, um Aufschluss über das Spektrum der auftretenden Spezies zu liefern und den vorgeschlagenen Mechanismus zu stützen.

Parallel zur experimentellen Herangehensweise soll eine Simulation verwendet werden, um kinetische und thermodynamische Größen für den Halbacetal-Mechanismus zu bestimmen. Für die Verifizierung sollen die kinetischen Verläufe der FIA-HPLC-Messungen mit simulierten Daten verglichen werden. Schlussendlich soll durch die Zusammenführung von Theorie und Praxis in dieser Simulation ein Beitrag zur Aufklärung des Reaktionsverlaufes der Soai-Reaktion geleistet werden.

2.3 Synthese der Reaktanden

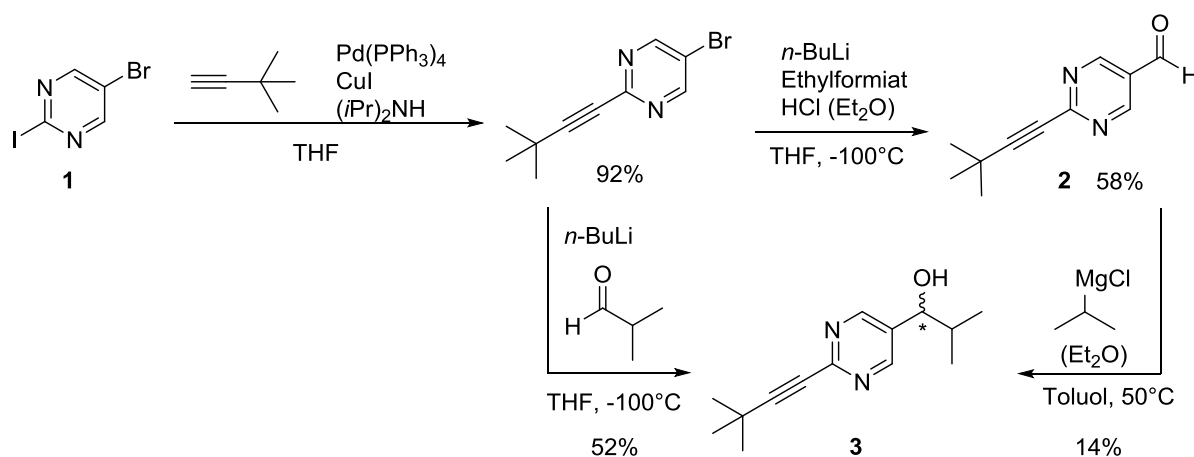
Die Ausgangsstoffe der Soai-Reaktion sind neben dem Alkylierungsmittel Diisopropylzink ein Pyrimidinaldehyd und der in katalytischen Mengen eingesetzte entsprechende Pyrimidin-alkohol.

Für den Aufbau der Pyrimidinsysteme (Schema 2-7) wurde kommerziell erhältliches 2-Hydroxypyrimidinhydrochlorid in wässriger Lösung mit Brom versetzt. Der entstandene Feststoff wurde ohne weitere Aufreinigung direkt mit Dimethylanilin in Phosphorylchlorid zum 5-Brom-2-chlorpyrimidin umgesetzt. Anschließender Halogenaustausch erfolgte in Dichlormethan mit Iodwasserstoffsäure.



Schema 2-7: Synthese von 5-Brom-2-iodpyrimidin nach [53].

Der vorliegende Baustein **1** stellt den Vorläufer für eine Vielzahl von Soai-Systemen mit verschiedenen Substituenten an der 2-Position dar. Mit Hilfe der Sonogashira-Reaktion können die für hohe Enantioselektivitäten notwendigen Alkynylgruppen eingeführt werden. Diese Arbeit konzentriert sich auf das System mit einer *tert*-Butylalkynylgruppe (Schema 2-8), da hier in der selbstamplifizierenden asymmetrischen Autokatalyse nahezu enantiomerenreine Produkte generiert werden.^[23] Die Umsetzung des Iodids **1** mit dem endständigen *tert*-Butylalkin in der Kreuzkupplung erfolgte mit Pd(PPh₃)₄, sowie Kupfer(I)-iodid als Co-Katalysator, in Diisopropylamin und THF. Das Pyrimidylalkin wurde in sehr guten Ausbeuten von 92% isoliert. Der Aldehyd **2** konnte durch Formylierung mittels *n*-Butyllithium und Ethylformiat mit Ausbeuten von 58% aufgebaut werden. Die Synthese des Alkohols **3** wurde zunächst durch eine Grignard-Reaktion mit Isopropylmagnesiumchlorid in Diethylether realisiert. Durch die schlechte Löslichkeit des Substrats **2** in Diethylether konnte kaum Umsatz verzeichnet werden. Toluol als alternatives Lösungsmittel brachte eine Umsatzsteigerung auf 14%. Ausgehend vom alkylierten Bromid konnten mit einem zweiten Syntheseweg Ausbeuten von bis zu 52% erzielt werden. Hierbei erfolgte die Zugabe von *n*-Butyllithium und Isobutyraldehyd in THF.



Schema 2-8: Synthese von *tert*-Butylalkynylpyrimidylaldehyd **2** und -alkohol **3** nach [23] und [54].

Der synthetisierte Alkohol **3** liegt racemisch vor. Die beiden Enantiomere konnten mit Hilfe von semi-präparativer Flüssigkeitschromatographie voneinander getrennt und isoliert werden (Abbildung 2-7). Dies erlaubt den Einsatz des Alkohols für die Untersuchung der Soai-Reaktion nicht nur in racemischer oder enantiomerenreiner Form, sondern in jedem gewünschten Enantiomerenüberschuss.

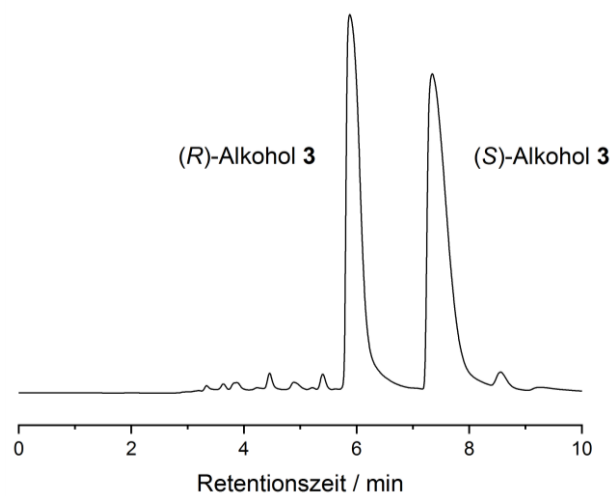
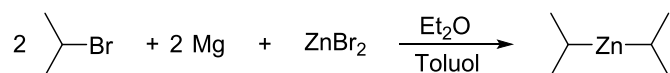


Abbildung 2-7: Chromatogramm der Enantiomertrennung von **3**. Zuordnung der Enantiomere nach [51] Semi-präparative HPLC. Chiralpak IB (25 cm, ID 20 mm, Partikelgröße: 5 μm) *n*-Hexan:Isopropanol 80:20 (v/v), 20 mL/min, $\lambda = 280$ nm.

Die frische Herstellung des Zinkorganyls erfolgte entsprechend einer modifizierten Vorschrift von Knochel *et al.*^[55] Für die Synthese von $(\text{iPr})_2\text{Zn}$ wurde in Diethylether gelöstes Zinkbromid zu einer Isopropylmagnesiumbromid-Lösung gegeben (Schema 2-9). Darauf folgten die Aufreinigung und die Einkondensation in Toluol. Der Grund hierfür waren die koordinierenden Effekte von Etherverbindungen mit Zinkspezies,^[46] welche Einfluss auf die amplifizierenden Eigenschaften der Soai-Reaktion nehmen können.



Schema 2-9: Synthese von Diisopropylzink.

Das von der Lösung des Zinkorganyls aufgenommene $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigt neben den erwarteten Toluol- und Produktsignalen weiterhin Diethylether-Peaks (Abbildung 2-8). Eine quantitative Abtrennung von Diethylether konnte nicht realisiert werden, sodass auf ein industriell hergestelltes Reagenz zurückgegriffen wurde. Kommerziell erhältliche $(i\text{Pr})_2\text{Zn}$ -Lösung (1 M in Toluol) von Merck ergab ein sauberes Spektrum. Die Titration mit Iodlösung^[56] zeigte eine gute Übereinstimmung mit der theoretisch gelieferten Konzentration und daher wurde für die folgenden Experimente diese $(i\text{Pr})_2\text{Zn}$ -Lösung als Alkylierungsmittel eingesetzt.

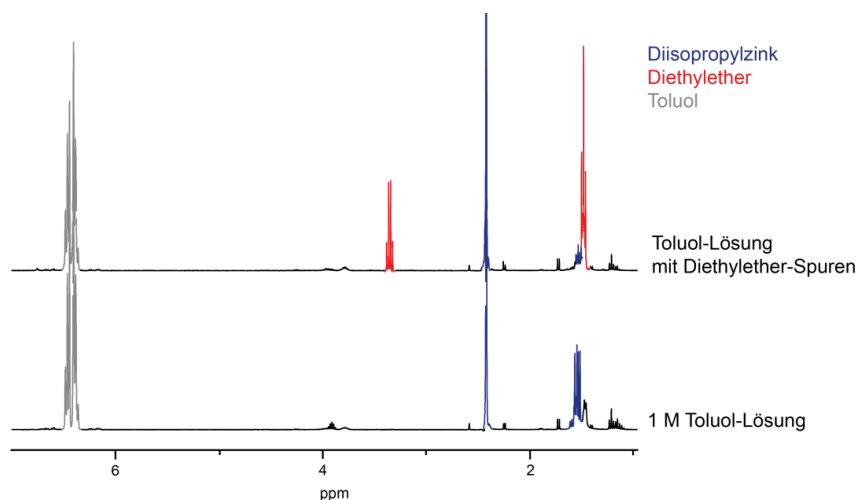


Abbildung 2-8: $^1\text{H-NMR}$ der synthetisierten $(i\text{Pr})_2\text{Zn}$ -Lösung mit Diethylether-Spuren und der kommerziell erhältlichen $(i\text{Pr})_2\text{Zn}$ -Lösung. NMR aufgenommen in CDCl_3 .

2.4 Die Methode der Fließinjektionsanalyse

In der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) wird zur zeitabhängigen Konzentrationsbestimmung die Methode der Fließinjektionsanalyse (FIA) verwendet. Hierbei erfolgen in konstanten Zeitabständen Injektionen aus derselben Probe – hier dem Soai-Reaktionsgemisch – innerhalb einer chromatographischen Messung (Abbildung 2-9). Eine enorme Zeitersparnis kann zusätzlich durch die hohe Signaldichte erreicht werden.

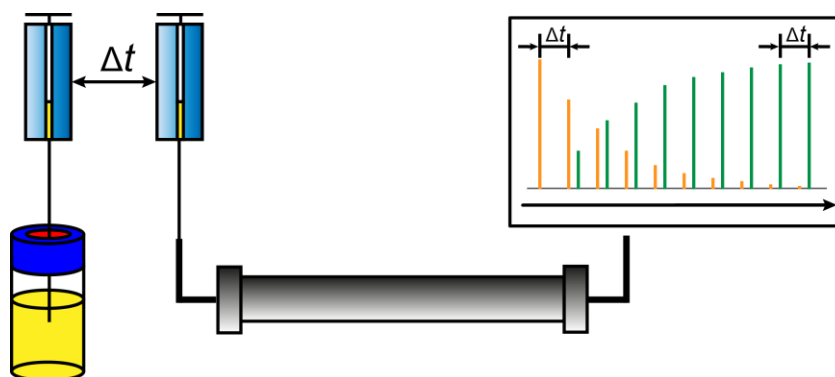


Abbildung 2-9: Schematische Darstellung einer FIA-HPLC-Messung.

Da Reaktanden und Produkte der Soai-Reaktion UV-aktiv sind, ist die Soai-Reaktion prädestiniert für die Untersuchung mittels FIA-HPLC und Diodenarray-Detektor (DAD).

Isopropanol als Lösungsmittel ist jedoch ungeeignet, da wie bereits erwähnt, der Soai-Aldehyd mit dem im Überschuss vorkommenden Alkohol schnell zum Halbacetal reagiert und eine Plateau-Bildung durch die rasche Epimerisierung im Chromatogramm sichtbar wird (Abbildung 2-10). Je nach Konzentration des Soai-Aldehyds ist das Halbacetal als Plateau bzw. als stark verbreiteter Peak zu erkennen. Durch diese Reaktion können die einzelnen Reaktanden nicht basisliniengetrennt werden und eine präzise Bestimmung der Konzentrationen wird erschwert.

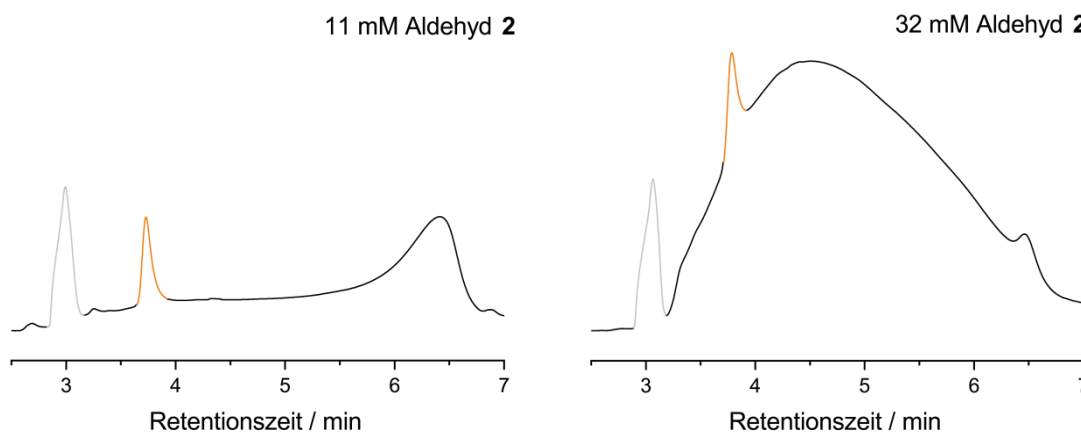


Abbildung 2-10: HPLC-Chromatogramm einer Soai-Reaktionsmischung beim Einsatz von Isopropanol im Eluenten. Aldehyd und Halbacetal (schwarz), (S)-Alkohol (orange), Toluol (grau). Trennbedingungen: Chiralpak IB (25 cm, ID 4,6 mm, Partikelgröße: 5 μm), *n*-Hexan/Isopropanol 75:25 (v/v), 1,2 mL/min, 25°C, $\lambda = 280 \text{ nm}$.

Eine sehr gute Alternative zu Isopropanol stellt Tetrahydrofuran dar, da es nicht mit dem eingesetzten Aldehyd zum Halbacetal reagiert und zeitgleich die Löslichkeit aller Reaktionspartner ermöglicht. Eine Mischung von *n*-Hexan/THF im Verhältnis von 55:45 zeigte alle detektierbaren Komponenten basisliniengetrennt (Abbildung 2-11).

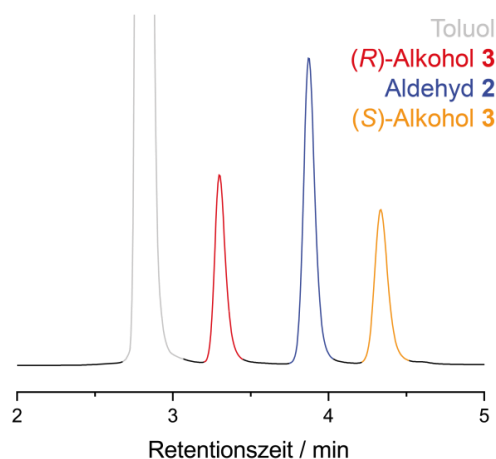
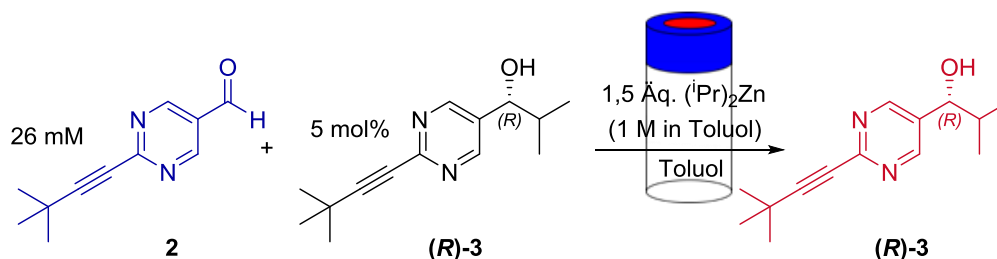


Abbildung 2-11: HPLC-Chromatogramm beim Einsatz von Tetrahydrofuran im Eluenten. Trennbedingungen: Chiralpak IB (25 cm, ID 4,6 mm, Partikelgröße: 5 μm), *n*-Hexan/THF 55:45, 1,2 mL/min, 20°C, $\lambda = 254$ nm.

Für die zeitaufgelöste Untersuchung der Soai-Reaktion mittels FIA-HPLC (Schema 2-10) wurde zunächst in einem Glasfläschchen die Aldehyd- und Alkoholstammlösung in den gewünschten Konzentrationen unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt. Der Beginn der Messung erfolgte unmittelbar nach der Zugabe von Diisopropylzink und dem Durchmischen der Reaktionsmischung.



Schema 2-10: Reaktionsbedingungen der im Glasfläschchen ablaufenden Soai-Reaktion.

Mit Hilfe der optimierten Trennbedingungen können zeitliche Verläufe der Soai-Reaktion erfasst und zu jedem Messzeitpunkt Konzentrationen sowie Enantiomerenüberschüsse des Produktalkohols bestimmt werden (Abbildung 2-12). Als optimale Wellenlänge um sowohl Aldehyd als auch Alkohole zu detektieren wurde die Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm gewählt. Der hierbei detektierte Toluol-Peak (grau) stört die Basislinientrennung der Edukt- und Produkt-Peaks nicht. Deutlich zu sehen ist der Verbrauch an Aldehyd (blau) im Reaktionsverlauf und die Zunahme des gewünschten Alkohol-Enantiomers (rot).

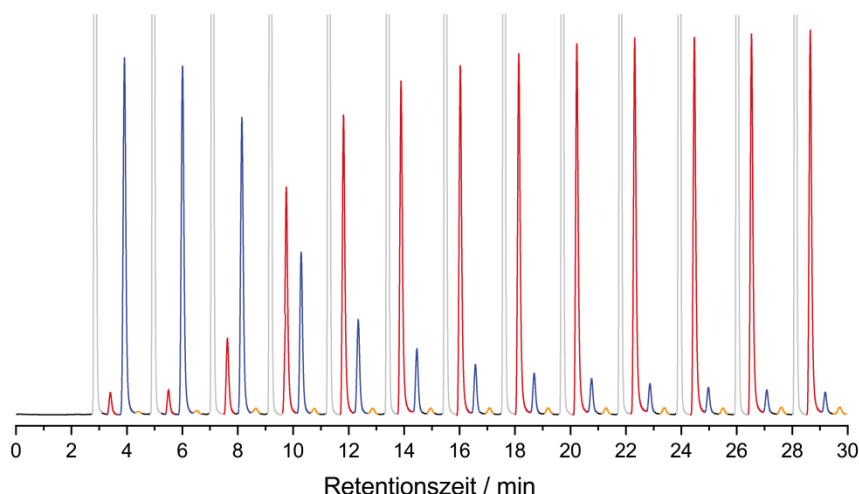


Abbildung 2-12: FIA-HPLC-Chromatogramm der Soai-Reaktion. Aldehyd **2** blau; (*R*)-Alkohol **3** rot; (*S*)-Alkohol **3** orange; Toluol grau. Trennbedingungen: FIA-Intervall 2,1 min. Chiralpak IB (25 cm, ID 4,6 mm, Partikelgröße: 5 μ m), *n*-Hexan/THF 55:45 (v/v), 1,2 mL/min, 25°C, $\lambda = 254$ nm.

Durch den Wechsel von Isopropanol zu Tetrahydrofuran als Lösungsmittel konnte nicht nur die Bildung des Halbacetal unterdrückt, sondern auch das Injektionsintervall von 4,2 auf 2,1 min verkürzt werden. Dadurch können in der gleichen Messzeit doppelt so viele Datenpunkte erhalten werden.

Mit Hilfe von Eichgeraden kann von den integrierten Peakflächen auf die absoluten Konzentrationen der Reaktanden im Reaktionsverlauf geschlossen werden. Im benötigten Konzentrationsbereich wurden für den Soai-Aldehyd **2** (1-32 mM) und den Soai-Alkohol (*R*)-**3** (1-21 mM) Kalibriergeraden aufgenommen (Abbildung 2-13). Aufgrund der stärkeren Absorption wurde beim Alkohol bereits bei geringeren Konzentrationen das Detektorlimit erreicht und der lineare Zusammenhang zwischen Konzentration und Peakfläche war nicht mehr gegeben, wodurch die Kalibriergerade nur für einen schmaleren Konzentrationsbereich erstellt werden konnte.

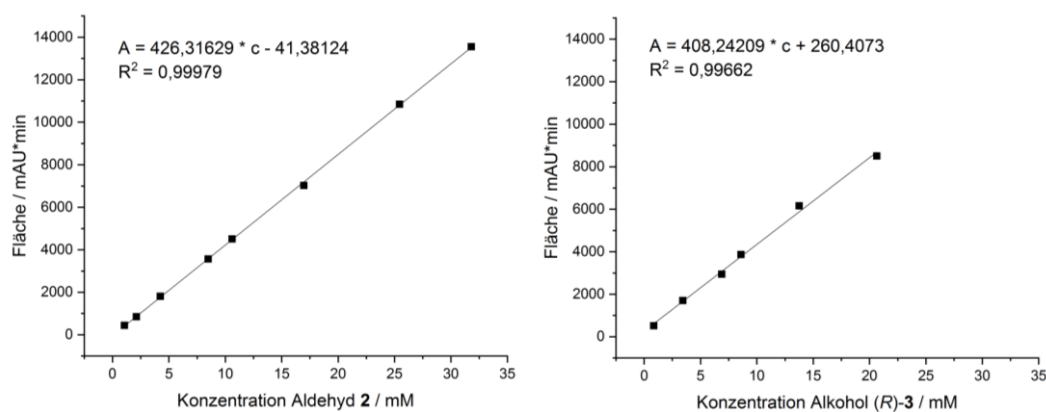


Abbildung 2-13: Kalibriergeraden von Aldehyd **2** und Alkohol (*R*)-**3**. Messbedingungen: Chiralpak IB (25 cm, ID 4,6 mm, Partikelgröße: 5 μ m), *n*-Hexan/THF 55:45, 1,2 mL·min⁻¹, 20°C, $\lambda = 254$ nm.

2.5 Kinetische Analyse via FIA-HPLC

In Abschnitt 2.1.3 wurden bereits die von Blackmond *et al.* veröffentlichten Kinetik-Untersuchungen vorgestellt. Hierbei wurde mittels Reaktionskalorimetrie die Reaktionswärme in Abhängigkeit von der Zeit gemessen, was die Erfassung von Datenpunkten in einer hohen Dichte ermöglicht. Zur Bestimmung der absoluten Konzentrationen mussten jedoch zusätzlich Flüssigkeitschromatographiemessungen durchgeführt werden. Die Reaktion musste zunächst gestoppt, neutralisiert und extrahiert werden und wurde anschließend mit HPLC vermessen. Die Kalibrierung erfolgte mit Hilfe eines internen Standards. Zusätzlichen Zeitaufwand brachte außerdem die anfängliche thermische Äquilibrierung des Reaktionssystems von bis zu 60 min vor der Aldehydzugabe und dem Start der Messung. Auch die Probenmengen sind in der Reaktionskalorimetrie deutlich größer als in der FIA-HPLC, da die Reaktionsgefäße ein Minimumvolumen von 8 mL fassen, statt nur 1 mL.^[34] Letztere Methode erlaubt zwar lediglich die Erfassung einer vergleichsweise geringeren Menge an Datenpunkten, die Anzahl ließ sich jedoch durch die oben beschriebene Verringerung des Injektionsintervall deutlich vergrößern.

Der zeitliche Verlauf einer Soai-Reaktion (siehe Schema 2-10) wurde mit Hilfe von FIA-HPLC nachverfolgt (siehe Kapitel 2.4). Die Konzentrationen von Aldehyd **2** und den zwei enantiomeren Alkoholen (**R**)-**3** und (**S**)-**3** wurde gegen die Reaktionszeit aufgetragen. Gut erkennbar ist der für Autokatalysen typische sigmoidale Konzentrationsverlauf für den Verbrauch des Aldehyds des autokatalytisch agierenden Alkohols (**R**)-**3** (Abbildung 2-14).

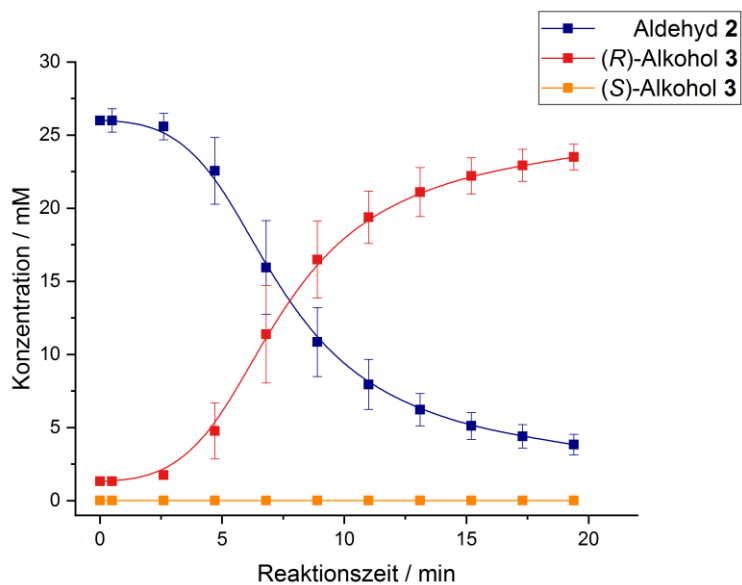


Abbildung 2-14: Reaktionsverlauf einer Soai-Reaktion mit sigmoidalem, für autokatalytische Reaktionen typischen Kurvenverlauf der Substratkonzentrationen.

Zur Bestimmung des Geschwindigkeitsgesetzes einer chemischen Reaktion existieren verschiedene Methoden. Vielseitig einsetzbar ist hierbei die Methode der Anfangsgeschwindigkeiten in Kombination mit der Isolationsmethode. Ein Ausgangsstoff A wird in variierenden Anfangskonzentrationen eingesetzt, alle weiteren Reaktanden im Überschuss, sodass sich folgende Gleichungen für die Reaktionsgeschwindigkeit v ergeben:

$$v = \frac{d[A]}{dt} = k \cdot [A]^a \quad (5)$$

$$\Rightarrow \lg\left(\frac{d[A]}{dt}\right) = \lg k + a \cdot \lg([A]) \quad (6)$$

Abschließend kann durch die lineare Auftragung von Gleichung (6) die Reaktionsordnung a des Ausgangstoffes A aus der Steigung bestimmt werden.

Die Anfangsgeschwindigkeit kann durch die anfängliche Konzentrationsänderung ermittelt werden. Erschwert wird diese Herangehensweise durch den für eine Autokatalyse charakteristischen sigmoidalen Reaktionsverlauf. Zu Beginn einer autokatalysierten Reaktion wird eine nahezu konstante Konzentration beobachtet, die nach einem definierten Zeitintervall eine wesentliche Konzentrationsänderung aufweist. Diese geringe Reaktionsgeschwindigkeit zu Beginn konnte durch die vereinzelt, experimentell-aufgenommenen Messpunkte nicht genau beschrieben werden. Die typische Methode für die Bestimmung eines Reaktionsgesetzes in Kombination mit FIA-HPLC-Messungen greifen daher nicht für eine Autokatalyse.

Der beschriebene mathematische Ansatz konnte dem komplexen Reaktionsnetzwerk der autokatalysierten Soai-Reaktion nicht gerecht werden. Dennoch können variierenden Anfangskonzentrationen der drei Reaktionskomponenten Aldehyd, Alkohol und Zinkorganyl einen Eindruck für jeweilige Einflüsse auf den Reaktionsverlauf liefern.

2.5.1 Variation der Aldehydkonzentration

Der Aldehyd stellt ein Edukt der Soai-Reaktion dar und wird durch Alkylierung von Diisopropylzink zum entsprechenden Alkohol umgesetzt. Wird nun die Anfangskonzentration des Aldehyds variiert, die Konzentrationen der beiden anderen Reaktanden jedoch konstant gehalten werden, so kann es bei einem Überschuss an Aldehyd zu keinem vollständigen Umsatz kommen, da das metallorganische Alkylierungsreagenz im Unterschuss vorliegt.

Die Aldehyd-Anfangskonzentrationen lagen im Bereich von 10-37 mM. Zu beobachten war eine deutliche Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration des Aldehyds und der Ge-

schwindigkeit mit welcher der Aldehyd verbraucht wurde (Abbildung 2-15). Je weniger Aldehyd im Reaktionsgemisch vorlag, desto langsamer war der Reaktionsverlauf und trotz des dadurch vorliegenden Überschusses an Zinkorganyl konnte in der gleichen Reaktionszeit wie beim Referenzsystem (Schema 2-10) kein Ende der Umsatzphase beobachtet werden.

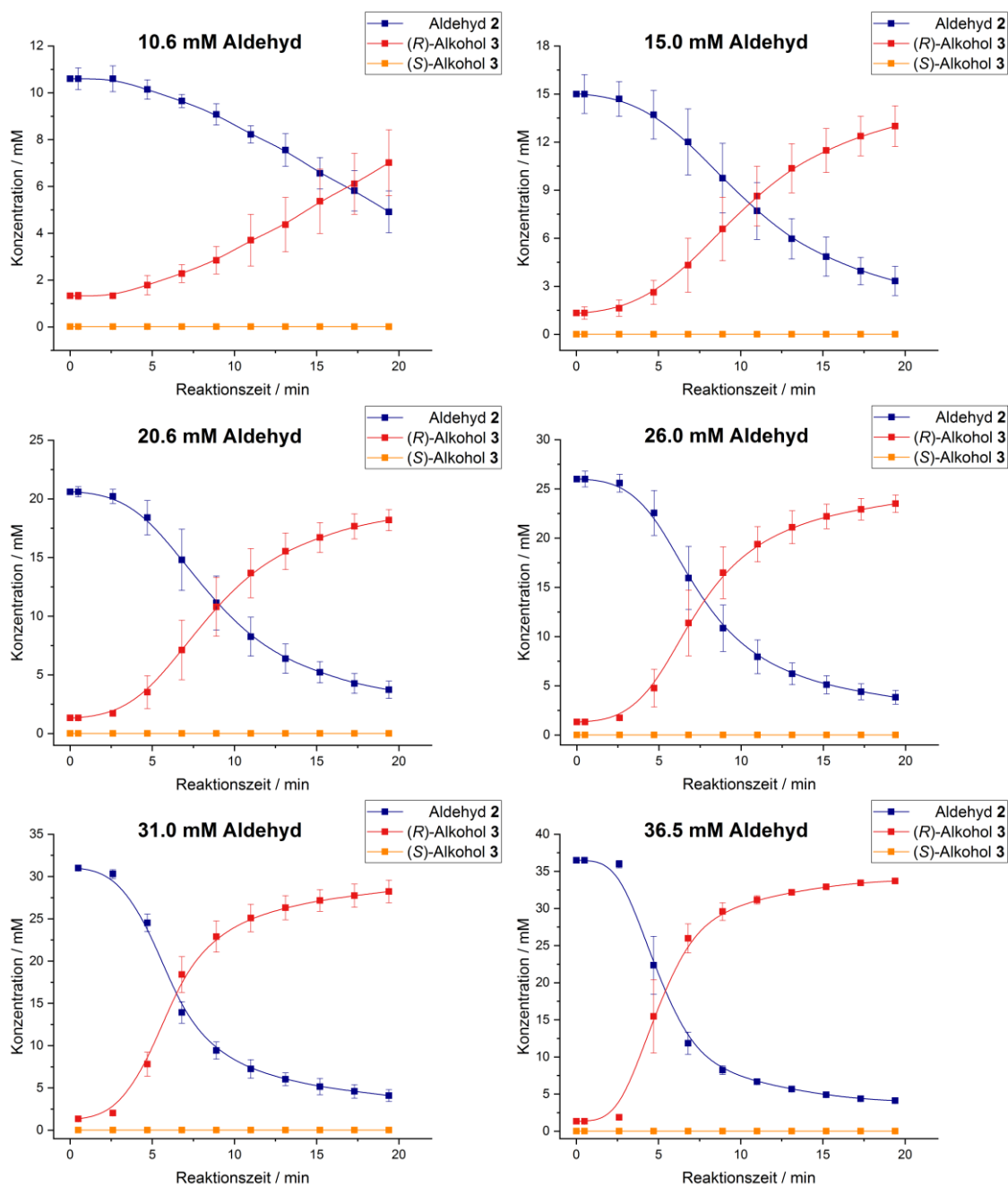


Abbildung 2-15: Kinetische Verläufe nach Variation der Aldehyd-Anfangskonzentration von 10,6-36,5 mM. 5 mol% (R)-Alkohol 3, 1,5 Äq. Diisopropylzink.

2.5.2 Variation der Alkoholkonzentration

Der Alkohol (R)-3 wird in katalytischen Mengen vorgelegt und induziert die chirale Information für die eigene Bildung in der Autokatalyse.

Die Menge eingesetzten Alkohols wurde von 3-15 mol% variiert (Abbildung 2-16). Auch hier konnte eine Abhängigkeit von der Anfangskonzentration des Alkohols nachgewiesen werden, jedoch nicht in gleichem Ausmaß wie beim Aldehyd. Mit erhöhter Alkoholkonzentration verkürzte sich die Induktionsphase, wodurch insgesamt eine Beschleunigung zu beobachten war.

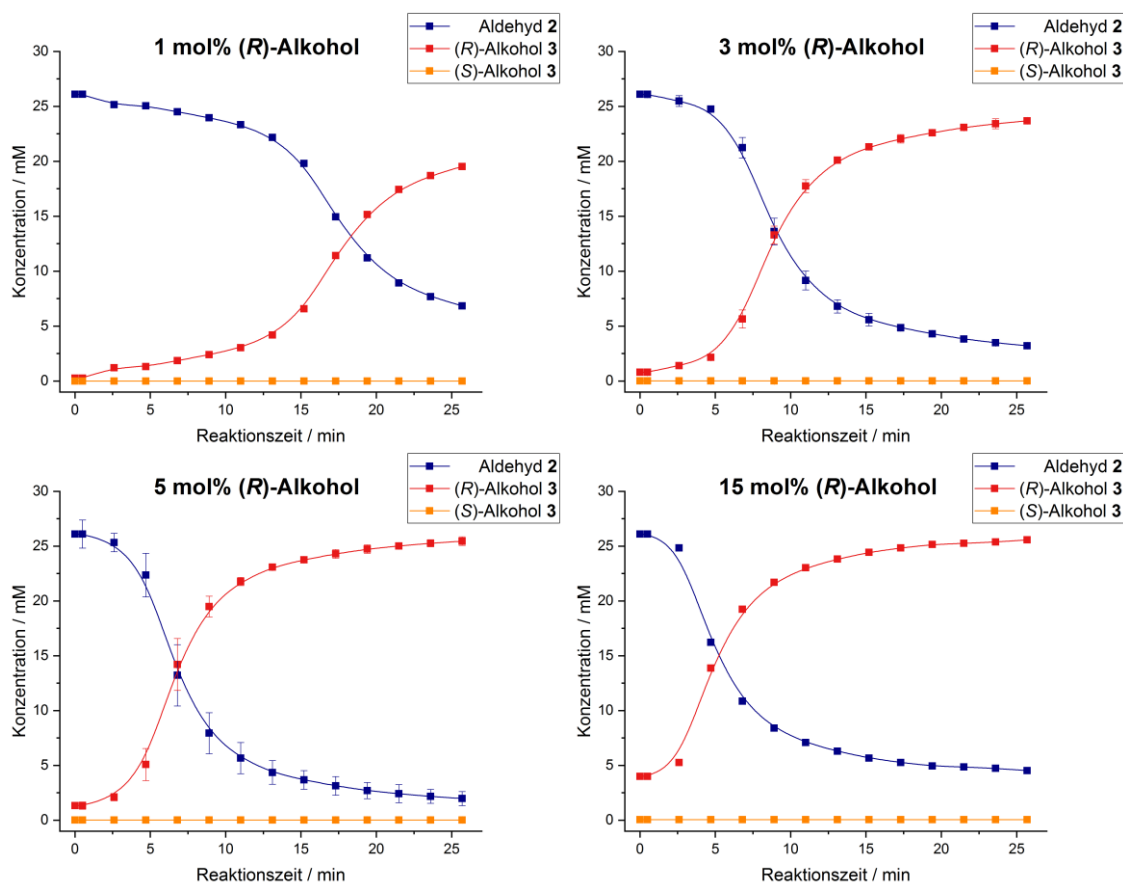


Abbildung 2-16: Kinetische Verläufe nach Variation der Alkohol-Anfangskonzentration des anfangs zugesetzten Produktenantiomers von 1-15 mol%. 26,1 mM Aldehyd, 1,5 Äq. Diisopropylzink.

Im Fall der Soai-Reaktion ohne Alkoholzugabe wurden beide Enantiomere des Alkohols ohne Präferenz aufgebaut und ein racemisches Produktgemisch wurde erhalten.

2.5.3 Variation der Diisopropylzinkkonzentration

Diisopropylzink stellt das metallorganische Alkylierungsmittel für die Soai-Reaktion dar. Das Zinkorganyl ist die einzige Reaktionskomponente, welche nicht mittels HPLC verfolgt werden kann. Dennoch kann der Einfluss auf die Gesamtreaktion beobachtet werden.

Die Anfangskonzentration an Diisopropylzink wurde zwischen 1-5 Äq. in Bezug auf den Aldehyd variiert (siehe Kapitel 5.1). Höhere Diisopropylzinkkonzentrationen führten zu einer quantitativen Additionsreaktion. Insgesamt wurde ein geringerer Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet.

2.6 Synthesen von Halbacetalstrukturen

Wie bereits in Abschnitt 2.1.3 erwähnt, wiesen Blackmond und Brown im Jahr 2012 ein auftretendes Intermediat mit Acetalstruktur mittels NMR-Spektroskopie nach.^[47] Diese Spezies setzt sich aus dem jeweils eingesetzten Aldehyd und Alkohol, als Zink-Alkoholat vorliegend, zusammen.

Frank Maier beschrieb die Reaktion von Pyrimidincarbaldehyden zu Halbacetalen in Gegenwart von Isopropanol.^[51] Anfänglich wurde dieses Phänomen bei der Flüssigkeitschromatographie unter Verwendung eines *n*-Hexan/Isopropanol-Gemisches beobachtet. Für NMR-spektroskopische Experimente wurde der Aldehyd in einer entsprechenden Mischung deuterierter Lösungsmitteln gelöst. Im typischen Halbacetal-Bereich von 5-6 ppm ist ein deutlicher Singulett-Peak zu erkennen, welcher auf die Bildung der Halbacetal-Struktur hinweist (Abbildung 2-17).

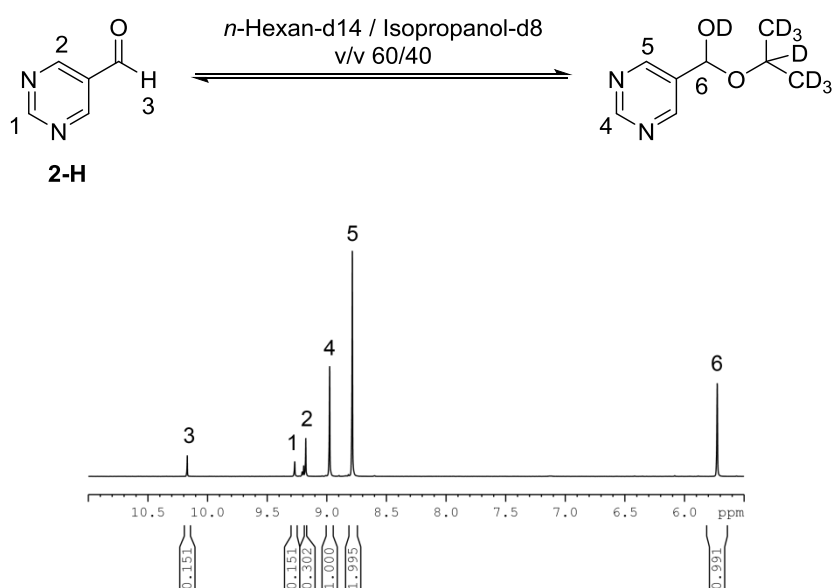
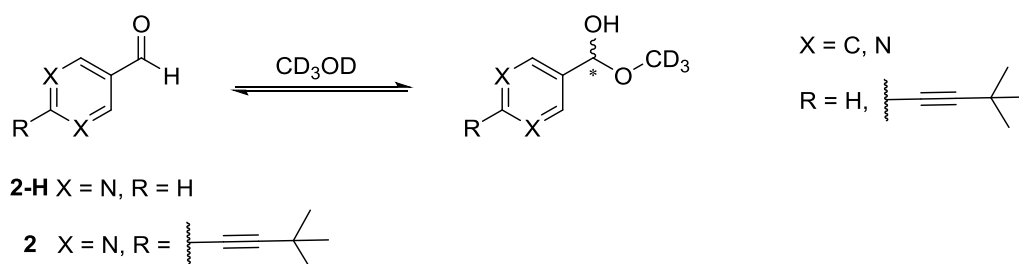


Abbildung 2-17: ¹H-NMR-Spektrum der dynamischen Halbacetal-Bildung zwischen Aldehyd 2-H und Isopropanol-d₈. Modifizierte Abbildung aus [51].

Die Halbacetalstruktur stellt ein potentiell entscheidendes Intermediat in der Soai-Reaktion dar. Frank Maier identifizierte das Potential von chiralen Halbacetal-Zinkalkoxid-Komplexen bei der Amplifizierung der Chiralität.^[51]

2.6.1 Halbacetal-Synthese im NMR-Maßstab

Anknüpfend an diese Beobachtung wurden Aldehyde in deuteriertem Methanol gelöst und die Gleichgewichtslage der Halbacetal-Bildung untersucht (Schema 2-11). Eingesetzt wurden der unsubstituierte Pyrimidincarbaldehyd **2-H** (X = N, R = H), sowie der Pyrimidincarbaldehyd **2**, welcher in δ -Position eine *tert*-Butylalkinylgruppe trägt. Als Vergleich wurde zusätzlich Benzaldehyd untersucht.



Schema 2-11: Reaktion von Aldehyden zu Halbacetalen in deuteriertem Methanol.

Mittels NMR-Spektroskopie (Abbildung 2-18) konnte die Bildung von Halbacetal-Strukturen *in situ* verfolgt werden. Die eingesetzten Pyrimidincarbaldehyde zeigten im Reaktionsverlauf eine Reduzierung der Aldehyd-Signalintensität und Singulett-Signale im Halbacetal-Bereich wurden detektiert. Des Weiteren erfolgte eine Verschiebung der Pyrimidin-Signale im Aromatenbereich, aufgrund der veränderten elektronischen Umgebung der Pyrimidin-Ringe. Nach einer Reaktionszeit von sechs Stunden bei Raumtemperatur wurden die Pyrimidinsysteme zu 95% zu Halbacetalen umgesetzt. Die Reaktion mit Benzaldehyd lag dagegen mit nur 9% auf Seiten der Halbacetalstruktur (Tabelle 2-1). Hierbei wird deutlich, dass elektronenarme Heterozyklen die Bildung von Halbacetalen begünstigt.

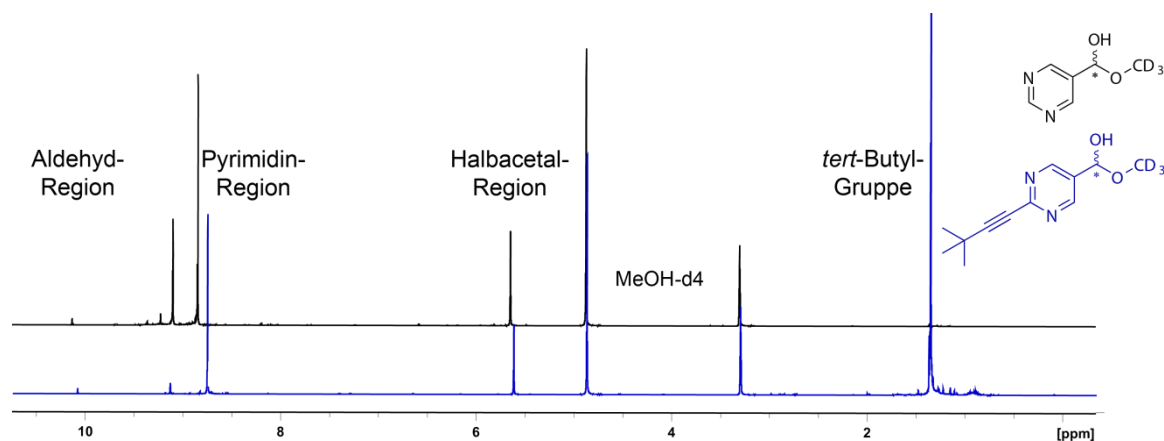
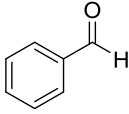
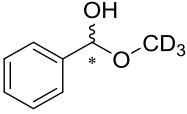
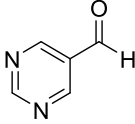
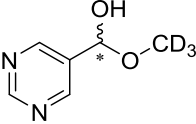
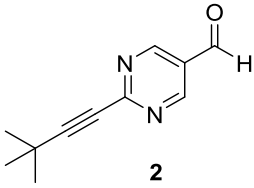
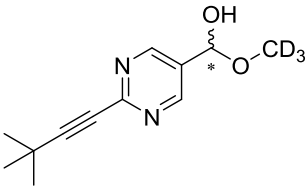
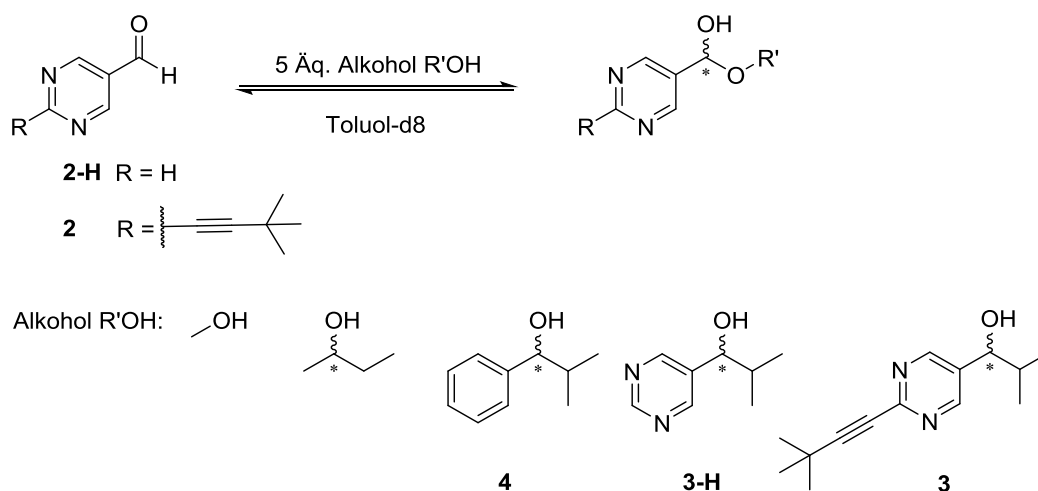


Abbildung 2-18: ^1H -NMR von unsubstituiertem Pyrimidincarbaldehyd **2-H** und *tert*-Butyl-substituierten Pyrimidincarbaldehyd **2** nach 6 Stunden in Methanol- d_4 .

Tabelle 2-1: Aldehyde und gebildete Halbacetale in deuteriertem Methanol nach sechs Stunden bei Raumtemperatur.

Aldehyd	Produkt	Anteil des gebildeten Halbacetals [%]
		9
 2-H		95
 2		95

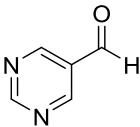
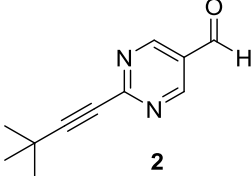

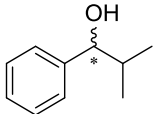
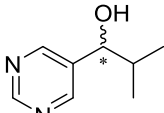
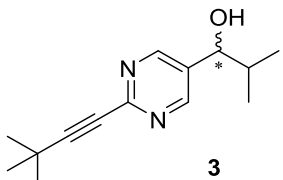
Auf dieses Ergebnis aufbauend wurden die Bedingungen des chemischen Systems denen der Soai-Reaktion angepasst und die Pyrimidincarbaldehyde wurden mit fünf Äquivalenten verschiedener Alkohole in deuteriertem Toluol zusammengegeben (Schema 2-12). Die Reaktion lief auch hier bei Raumtemperatur direkt im NMR-Röhrchen ab.

Schema 2-12: Pyrimidincarbaldehyde **2-H** und **2** mit verschiedenen Alkoholen in deuteriertem Toluol.

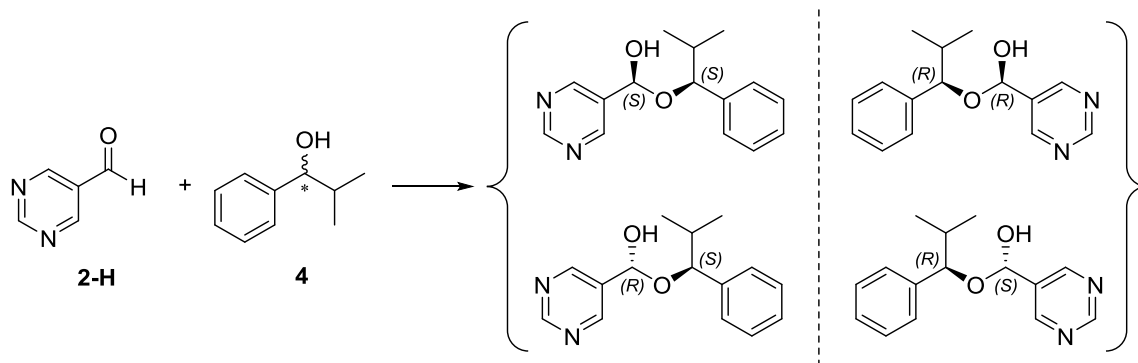
Bei der Zugabe von Methanol im fünffachen Überschuss zum Aldehyd konnte nach sechs Stunden das Gleichgewicht zwischen Halbacetal und Aldehyd auf 47% zum Produkt hin verschoben werden. Die racemisch eingesetzten Alkohole *sec*-Butanol und 2-Methyl-1-phenyl-1-propanol **4** zeigten nach sechs Stunden Gleichgewichtsverschiebungen von bis zu 19 bzw. 13%. Für die Pyrimidinalkohole **3-H** und **3** wurden hingegen auch bei einer verlängerten

Reaktionszeit von 24 Stunden keine Halbacetalbildung beobachtet. Diese Systematik bestätigte die Annahme, dass aufgrund der niedrigeren Konzentration und der elektronischen Struktur des Soai-Alkohols das entsprechende Halbacetal nur in geringem Anteil gebildet wird.

Tabelle 2-2: Eingesetzte Aldehyde und Alkohole für die Halbacetalsynthese im NMR-Maßstab in Toluol-d8. Die angegebenen Gleichgewichtslagen beziehen sich auf die Flächenintegrale von Aldehyd- und Halbacetal-Proton nach einer Reaktionszeit von 6 Stunden.

Eingesetzte Aldehyde und Alkohole mit Gleichgewichtslagen der Halbacetalsynthese [%]	 2-H	 2
—OH	47	46
	19	11
 4	13	9
 3-H	—	—
 3	—	—

Durch den Aufbau eines zweiten Stereozentrums im Halbacetalmolekül bilden sich diastereomere Strukturen aus (Schema 2-13), deren Entstehung mittels 2D-NMR-Spektroskopie bestätigt werden konnte. Im $\{^1\text{H}\}$ - $\{^{13}\text{C}\}$ -HSQC-Spektrum traten jeweils zwei koppelnde Signale im typischen Halbacetalbereich (^1H -NMR-Signal: $\delta \sim 5$ ppm und ^{13}C -NMR-Signal: $\delta \sim 90$ ppm) auf (Abbildung 2-19).



Schema 2-13: Diastereomere Halbacetal-Strukturen (zwei Enantiomerenpaare) bei der Umsetzung von Pyrimidin-carbaldehyd 2-H mit racemischen 2-Methyl-1-phenyl-1-propanol 4 in Toluol-d₈.

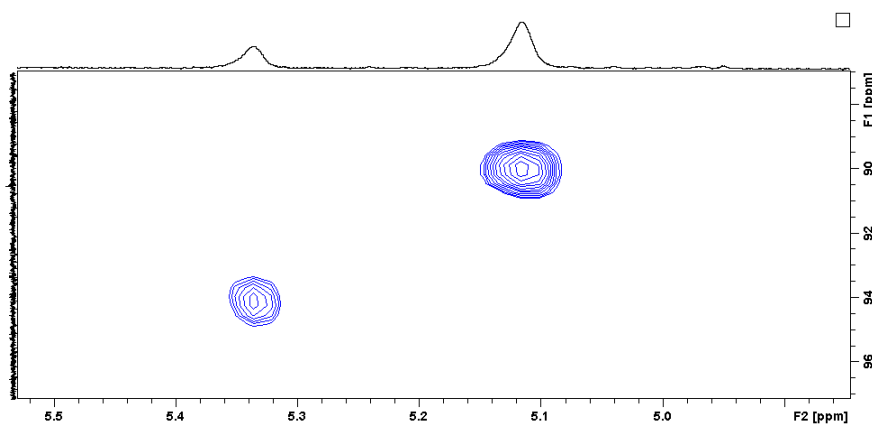
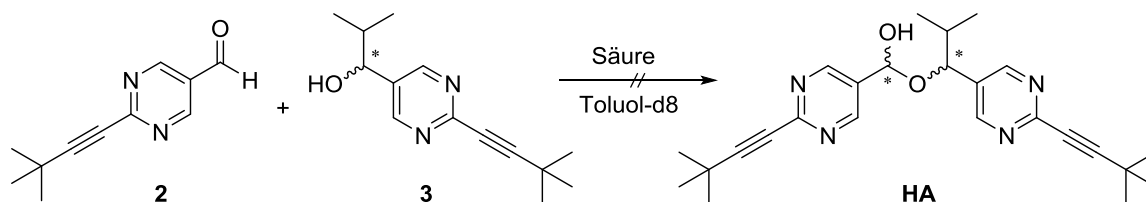


Abbildung 2-19: $\{^1\text{H}\}$ - $\{^{13}\text{C}\}$ -HSQC-Spektrum der diastereomeren Halbacetale.

Aldehyd **2** und Alkohol **3** als alleinige Reaktanden reichten nicht aus um das gewünschte Halbacetal **HA** zu synthetisieren. Da die Halbacetalbildung säurekatalysiert ablaufen kann, wurde im neuen Ansatz die Zugabe von Säure (0,5 Äq.) untersucht. Als Säuren wurden Essigsäure, Trifluoressigsäure, Chlorwasserstoff in Diethylether und *para*-Toluolsulfonsäure getestet (Schema 2-14). Im NMR-Maßstab wurden zunächst Aldehyd **2** und Säure zusammengegeben und im darauffolgenden Schritt erfolgte die Zugabe des Alkohols **3**. In den NMR-Spektren konnte kein Signal einer Halbacetalspezies detektiert werden. Als Nebenreaktion trat dagegen die Veresterung des Alkohols mit den zugesetzten Essigsäuren ein.



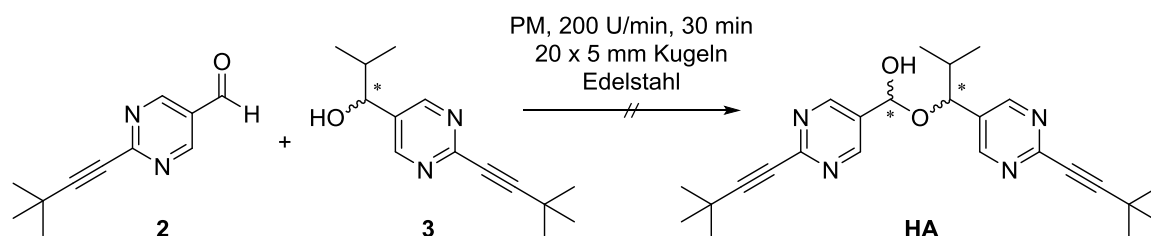
Säure: 1. CH₃COOH // 2. CF₃COOH // 3. HCl in Et₂O // 4. pTsOH

Schema 2-14: Halbacetal-Synthese mit vier verschiedenen Säuren als Katalysatoren.

Um die Stabilität der Halbacetale zu erhöhen und somit die Nachweisbarkeit dieser Spezies zu ermöglichen wurde die Bildung der entsprechenden Zinkspezies in Betracht gezogen. Hierfür wurden die NMR-Ansätze mit Aldehyd und Alkohol zusätzlich mit Zinktriflat als Lewis-Säure versetzt. Jedoch zeigte auch dieser Ansatz nicht das angestrebte Ergebnis.

2.6.2 Mechanochemische Synthese

Die vermeintliche Instabilität der Halbacetalstruktur **HA** in Lösung führte zu einem Syntheseversuch ohne Lösungsmittel. Solch eine Festphasenreaktion kann mechanochemisch in einer Kugelmühle ablaufen (siehe Kapitel 3.1.2). Der Aldehyd **2** und der racemische Alkohol **3** wurden im äquimolaren Verhältnis eingesetzt und für 30 min bei 200 U/min in der Planetenkugelmühle beschleunigt (Schema 2-15).

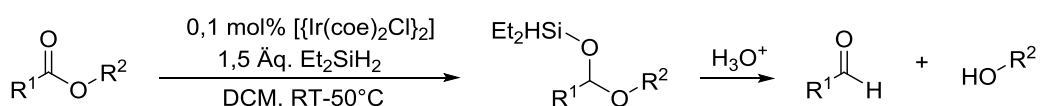


Schema 2-15: Ansatz einer mechanochemischen Halbacetal-Synthese in der Planetenkugelmühle.

Der erhaltene Feststoff wurde als Lösung mittels NMR-Spektroskopie, aber auch direkt mittels FT-IR-Spektroskopie untersucht. Beide Analytikmethoden zeigten keinen Umsatz zum Halbacetal.

2.6.3 Synthese über ein Silyl-geschütztes Halbacetal

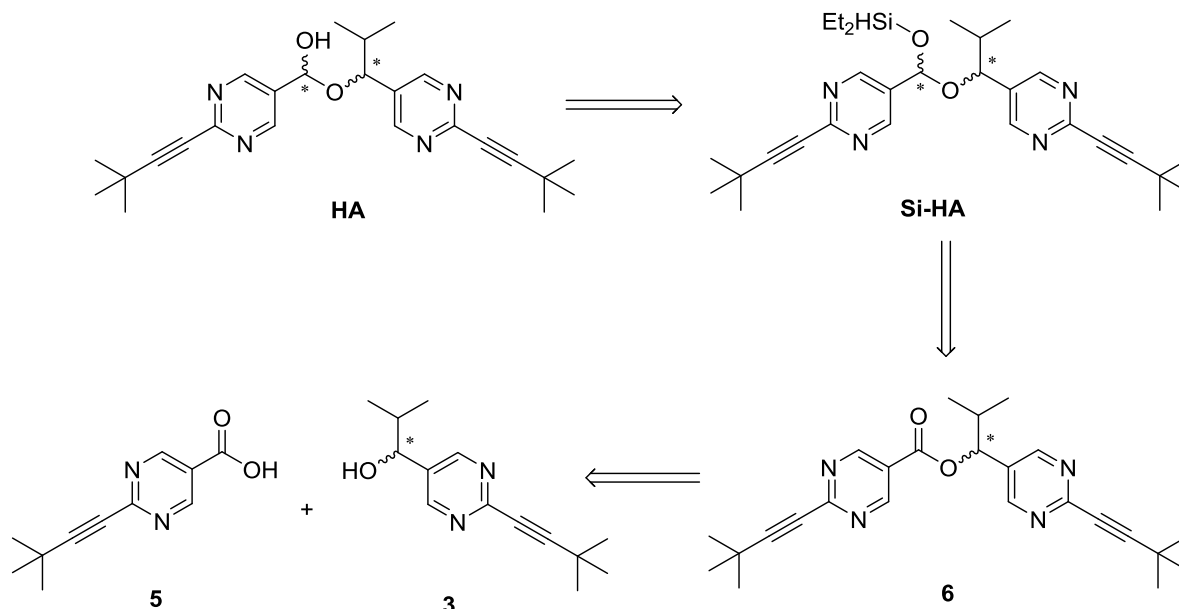
Brookhart *et al.* veröffentlichten 2012 eine Syntheseroute zur Iridium-katalysierte Reduktion von Estern zu Aldehyden über ein Silyl-geschütztes Halbacetal (Schema 2-16).^[57] Hierbei wurden verschiedene Ester sowohl mit aliphatischen als auch mit aromatischen Substituenten unter Erhalt sehr guter Ausbeuten zum Aldehyd reduziert. Zunächst wurde hierbei ein Silylacetal aufgebaut, welches erst nach wässriger Aufarbeitung im Säuren zum entsprechenden Aldehyd und Alkohol zerfiel.



Schema 2-16: Iridium-katalysierte Reduktion von Estern zu Aldehyden nach Brookhart *et al.*^[57]

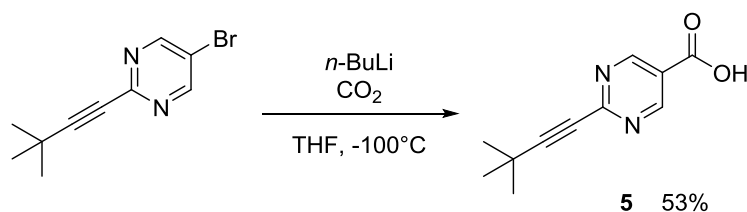
In einer alternativen Strategie für die Synthese des Soai-Halbacetals **HA** wurde der erste Zwischenschritt der Esterreduktion adaptiert (Schema 2-17). Hierfür sollte zunächst die ent-

sprechende Pyrimidylcarbonsäure **5** synthetisiert werden, welche im darauffolgenden Schritt mit dem Soai-Alkohol **3** zum Ester umgesetzt werden sollte. Der Ester **6** kann dann in der vorgestellten Iridiumkatalyse zum Silyl-geschützten Halbacetal **Si-HA** reagieren, welches in einer abschließenden Entschützung in das freie Halbacetal **HA** überführt werden sollte.



Schema 2-17: Entworfenе Retrosynthese zu Halbacetal **HA** über das Silylacetal **Si-HA**.

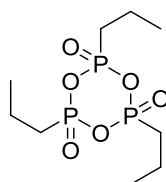
Die unsubstituierte 5-Pyrimidylcarbonsäure wurde von Aakeröy *et al.* ausgehend vom Bromderivat aufgebaut.^[58] An diese literaturbekannte Synthesevorschrift angelehnt erfolgte die Synthese der in 2-Position substituierten Pyrimidylcarbonsäure **5** (Schema 2-18). Ausgegangen wurde vom bromierten Pyrimidinderivat, welches nach Lithiierung mit *n*-Butyllithium im darauffolgenden Schritt mit CO_2 zur Reaktion gebracht wurde. Die Carbonsäure **5** konnte nach Aufarbeitung mit 53% Ausbeute als weißer Feststoff isoliert werden.



Schema 2-18: Synthese der Pyrimidylcarbonsäure **5**.

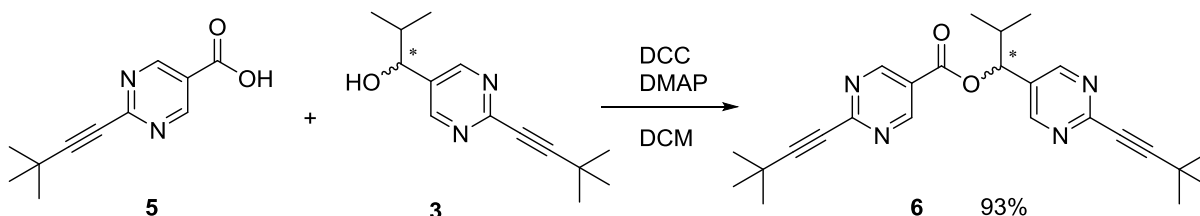
Im zweiten Syntheseschritt erfolgte der Aufbau des Esters **6**, der Schlüsselstruktur dieser Syntheseroute. Zunächst wurde die Darstellung säurekatalysiert erprobt, allerdings konnte bei der Verwendung von Schwefelsäure als auch mit *para*-Toluolsulfonsäure kein Umsatz zum Ester festgestellt werden.

Alternativ wurde T3P[®], ein sehr mildes Reagenz zur Veresterung, erprobt. Hierbei handelt es sich um das Anhydrid der *n*-Propylphosphonsäure (Schema 2-19). In wasserfreiem Pyridin konnte der Ester **6** nach 24 Stunden mit einer Ausbeute von 34% isoliert werden. Mittels Flüssigkeitschromatographie konnte beobachtet werden, dass im Laufe der Reaktion der Alkohol **3** schneller verbraucht wurde als die Carbonsäure **5**. Die zusätzlich aufgetretenen Signale konnten mit Hilfe massenspektrometrischer Analyse als Phosphonsäureester des Alkohols **3** identifiziert werden und stellen folglich unerwünschte Nebenprodukte der Reaktion dar.



Schema 2-19: T3P[®]-Reagenz, Anhydrid der *n*-Propylphosphonsäure.

Eine Verbesserung der Ausbeute konnte mit Hilfe der Veresterungsmethode nach Steglich erzielt werden.^[59] Die Carbonsäure **5** und der Alkohol **3** wurden in Dichlormethan vorgelegt und mit 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) sowie Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) versetzt (Schema 2-20). Nach 24 Stunden bei Raumtemperatur konnte der Ester **6** mit einer Ausbeute von 93% isoliert werden.



Schema 2-20: Aufbau des Esters **6** aus dem Alkohol **3** und der Carbonsäure **5**.

Wurde bei der Veresterung racemischer Alkohol eingesetzt, lag auch der aufgebaute Ester **6** als Racemat vor. Da im nächsten Schritt am prochiralen Kohlenstoffatom ein weiteres Chiralitätszentrum entstehen würde, war die Auftrennung der Enantiomere des Esters von Interesse, um die Anzahl der Isomere im Produktgemisch zu verringern. Die Trennung konnte mittels Flüssigkeitschromatographie realisiert werden.

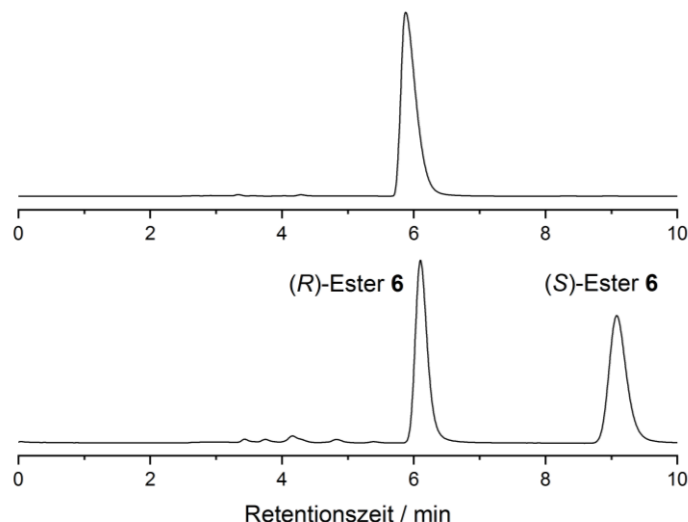
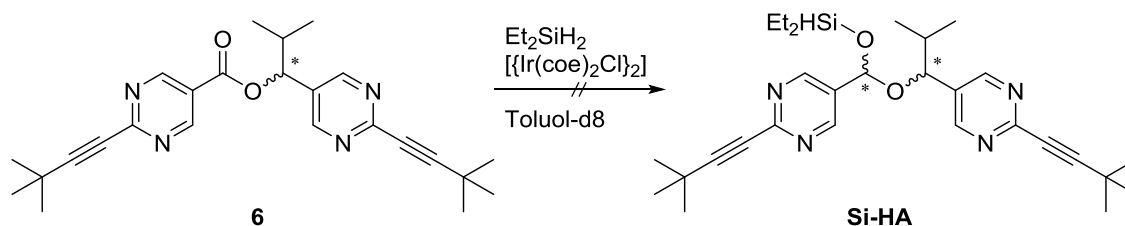


Abbildung 2-20: HPLC-Chromatogramme. Trennung und Zuordnung der Enantiomere des Esters **6**. Trennbedingungen: Chiralpak IB (25 cm, i.D. 4,6 mm, Partikelgröße: 5 μm), *n*-Hexan/Isopropanol 85:15 (v/v), 1,2 mL/min, 25°C, $\lambda = 280 \text{ nm}$.

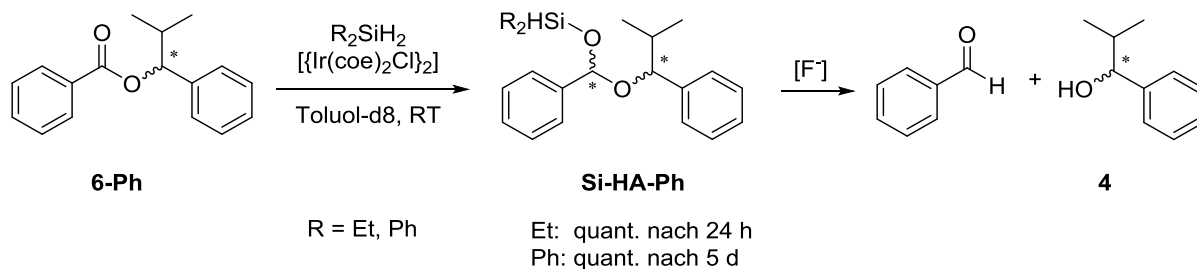
Die Reduktion zum Silyl-geschützten Halbacetal **Si-HA** wurde im NMR-Maßstab nach der Vorschrift von Brookhart *et al.* durchgeführt.^[57] In deuteriertem Toluol wurden der Ester **6** sowie ein dimerer Iridium-Katalysator unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt und Diethylsilan als Silylierungsreagenz hinzugegeben (Schema 2-21). Allerdings konnte weder bei Raumtemperatur noch bei 60°C und auch nach mehrtägiger Reaktionszeit keine Veränderung im NMR-Spektrum beobachtet werden. In dem von Brookhart *et al.* vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Protonierung des Carbonyl-Sauerstoffs des Esters. Da *N*-Heterozyklen aufgrund der Elektronegativität des Stickstoffs elektronenarm sind, könnte die daraus resultierende verringerte Elektronendichte am Carbonyl die Reaktion erschweren.



Schema 2-21: Synthese des Silyl-geschützten Halbacetals **Si-HA** im NMR-Maßstab.

Aufgrund der fehlgeschlagenen Silylschätzung des Pyrimidyl-Derivats wurde die Reaktion an einer vereinfachten Esterstruktur **6-Ph** getestet. Hierfür wurden die substituierten Pyrimidin-Gruppen durch Phenylmotive ersetzt. Der Phenylester wurde aus Benzoylchlorid und 2-Methyl-1-phenyl-1-propanol **4** dargestellt und mit 77% Ausbeute isoliert.^[60] Die Silylschätzung wurde wiederum nach Brookhart *et al.* im NMR-Maßstab durchgeführt.^[57] Mit Diethylsilan

fand nach 24 Stunden bei Raumtemperatur ein vollständiger Umsatz zum Silyl-geschützten Halbacetal statt, mit Diphenylsilan wurden insgesamt fünf Tage benötigt (Schema 2-22).



Schema 2-22: Silylschätzung des Referenzsystems 6-Ph und anschließende Spaltung des Silylesters Si-HA-Ph.

Im Anschluss an den erfolgreichen Aufbau des silylgeschützten Halbacetals **Si-HA-Ph** konnte das freie Halbacetal nach Entschätzung mittels verschiedener Fluorid-Verbindungen (KF, ZnF₂, CsF, TBAF, HF in Pyridin, KF in Kronenether) nicht isoliert werden. Nach Abspaltung der Silylschutzgruppe kam es zur Spaltung des Moleküls und Benzaldehyd sowie der entsprechende sekundäre Alkohol **4** wurden erhalten. Auch die zusätzliche Zugabe von Diisopropylzink, von der sich eine direkte Komplexierung der Halbacetalstruktur erhofft wurde, verhalf nicht zur Stabilisierung des Zwischenproduktes. Wie gezeigt werden konnte, besitzt das Halbacetal eine geringe Stabilität und würde dementsprechend nur in Spuren in der Soai-Reaktionsmischung vorliegen. Ein *in situ* Nachweis des Halbacetals würde die Existenz dieser geringen Mengen stützen.

Da das gewünschte Halbacetal **HA** nicht präparativ isoliert werden konnte, wurde die Soai-Reaktion im Folgenden massenspektrometrisch untersucht. Kurzzeitig auftretende Intermediate sollen so detektiert und identifiziert werden.

2.7 Massenspektrometrische Analyse

Für den Nachweis einer Halbacetalstruktur im Reaktionsverlauf der Soai-Reaktion wurde eine Reaktionsverfolgung mittels gepulster Injektion von Proben in eine APCI-Oribtrap-MS gewählt. Die Soai-Reaktion wurde in einem Glasfläschchen angesetzt und die Messung direkt nach der Zugabe von Diisopropylzink gestartet. Die Reaktionslösung wurde durch eine Spritzenpumpe mit Hilfe eines Ventilsystems in das Massenspektrometer eingebracht (Abbildung 2-21 und Kapitel 4.2.12) und dort mittels APCI-Ionenquelle untersucht. Durch das Umschalten des Ventils im 30-Sekunden-Takt wurde die Messeinheit zwischen zwei Injektionen mit trockenem Toluol gespült. Auf diese Weise wurde sichergestellt, dass die Ionenquelle während der Messungen nicht überladen wird und durch die erhöhte Sensitivität

während der Reaktion neu entstehende Spezies auch in Spuren detektiert werden können. Insgesamt wurde die Reaktion für 20 min verfolgt.

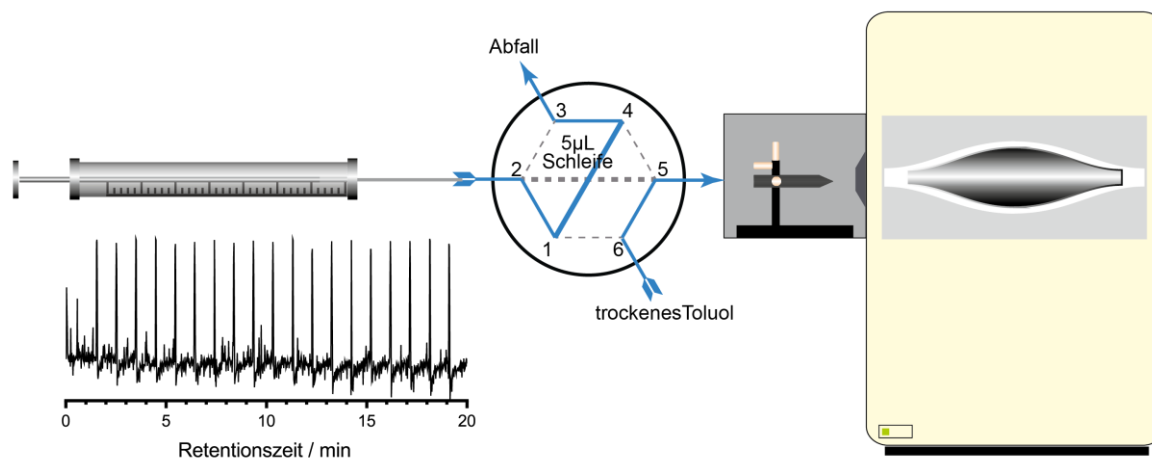
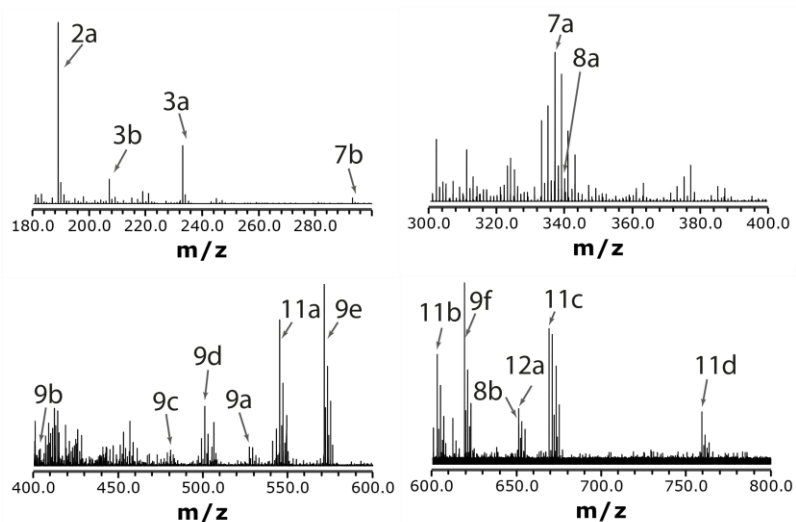
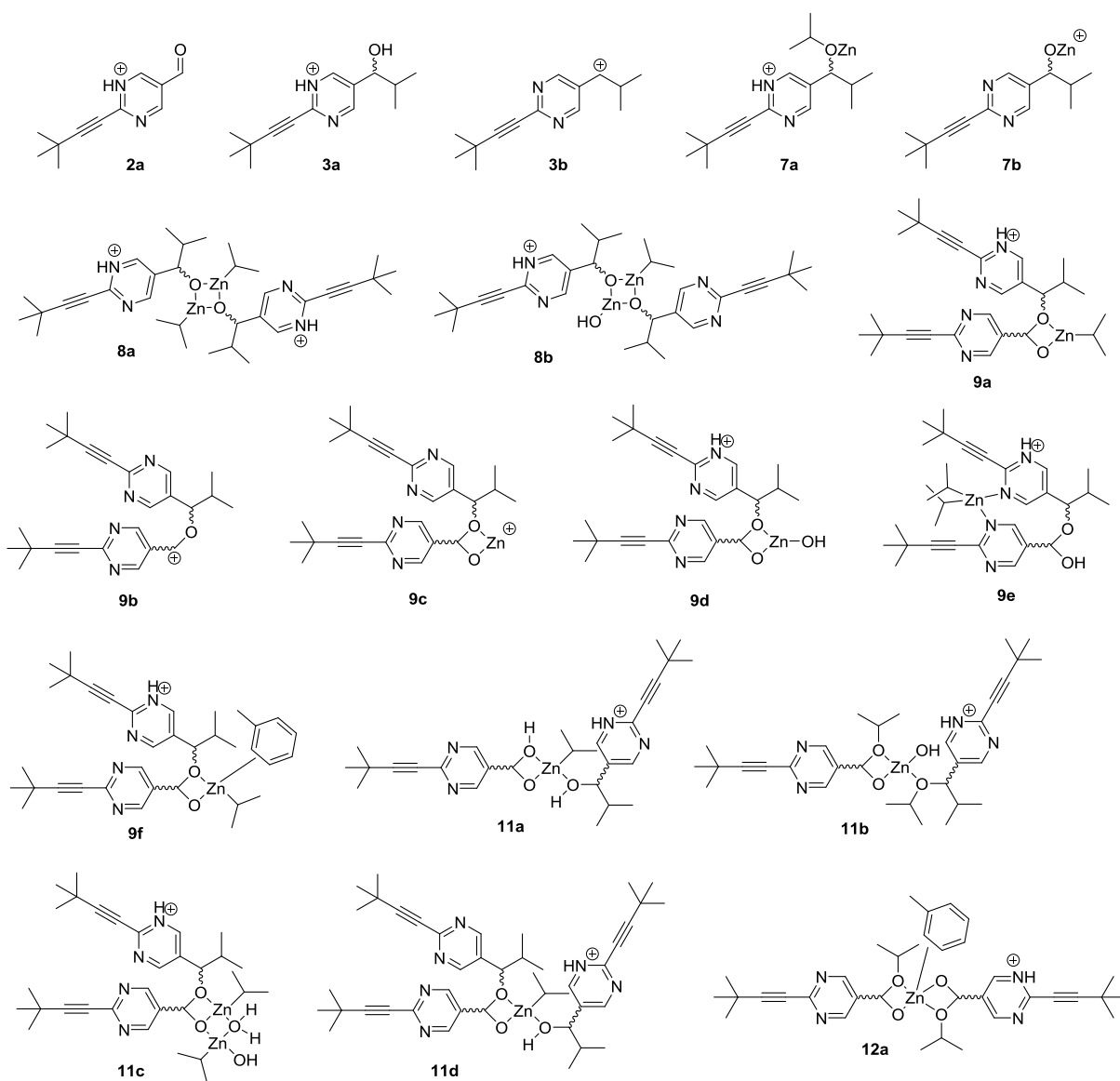


Abbildung 2-21: Spritzenpumpe mit Ventilsystem als Injektionsmethode für die APCI-Orbitrap-MS, sowie die resultierende gepulste TIC-Spur.

Der Ausschnitt der aufgenommenen Massenspur von m/z 180-800 (Abbildung 2-22) zeigte eine Vielzahl an Peaks. Im Summenspektrum konnten verschiedene auftretende Spezies identifiziert werden (Schema 2-23).

Da Aldehyd **2** als Edukt eingesetzt wurde stellt die protonierte Form **2a** den intensivsten Peak der Reaktionskomponenten dar. Des Weiteren wurde der in katalytischen Mengen eingesetzte Alkohol **3** in seiner protonierten Form (**3a**) und nach Abspaltung der Hydroxylgruppe (**3b**) nachgewiesen. Durch die Zugabe des Zinkorganyls konnte der Alkohol ebenfalls als Zinkalkoholat, protoniert (**7a**) oder nach Verlust einer Isopropylgruppe (**7b**), detektiert werden. Zusätzlich konnten Signale der Dimere (**8a**), auch nach Austausch einer Isopropylgruppe mit einer Hydroxylgruppe (**8b**), zugeordnet werden. Bei diesen Strukturen handelt es sich um Komplexe mit $[\text{Zn-O}]_2$ -Einheit, die bereits von Gridnev und Brown als Intermediate für die Soai-Reaktion postuliert wurden.^[46] Der Nachweis der bekannten und etablierten Strukturen unterstützt diese Analysemethode für die Untersuchung der Soai-Reaktion.

Neben bekannten auftretenden Spezies konnten darüber hinaus postulierte Halbacetalstrukturen in verschiedenen Strukturmotiven identifiziert werden, die aus einem Soai-Alkohol und dem entsprechenden Aldehyd aufgebaut sind. Zum einen als Zink-komplexiertes Halbacetal (**9a**) und dessen Abspaltungsfragmente (**9b**), wie beispielsweise ohne Isopropylgruppe (**9c**), mit einem Hydroxylgruppen (**9d**) oder im Zinkkomplex mit zusätzlich koordiniertem Lösungsmittel (**9f**). Zum anderen wurde auch das freie Halbacetal detektiert, welches das Zinkorganyl über jeweils ein Stickstoffatom beider Pyrimidinringe komplexierte (**9e**).

Abbildung 2-22: Summenspektrum der Massenspur der gepulsten Soai-Reaktion von m/z 180-800.

Schema 2-23: Identifizierte Verbindungen während der massenspektrometrischen Analyse mittels APCI-Orbitrap-MS.

Im höheren Massenbereich wurden komplexere Strukturen identifiziert. Zum einen Zink-komplexierte Halbacetalmotive mit einem weiteren koordinierten Alkoholmolekül (**11a**, **11b**, **11d**) beziehungsweise Zinkhydroxid (**11c**). Und zum anderen ein von einer vereinfachten Halbacetalstrukturen zweifach-komplexiertes Zinkatom (**12a**), welches zusätzlich ein Lösungsmittelmolekül koordiniert.

Ein Ausschnitt der Massenspur zeigte die Peaks der Struktur **9e** (Abbildung 2-23). Charakteristisch für die Zinkkomplexe ist das auftretende Zinkisotopenmuster. Die sechs Peaks resultieren aufgrund der fünf stabilen Zinkisotope (^{64}Zn , ^{66}Zn , ^{67}Zn , ^{68}Zn und ^{70}Zn), sowie die akkumulierenden Isotope von Wasserstoff, Kohlenstoff und Stickstoff.

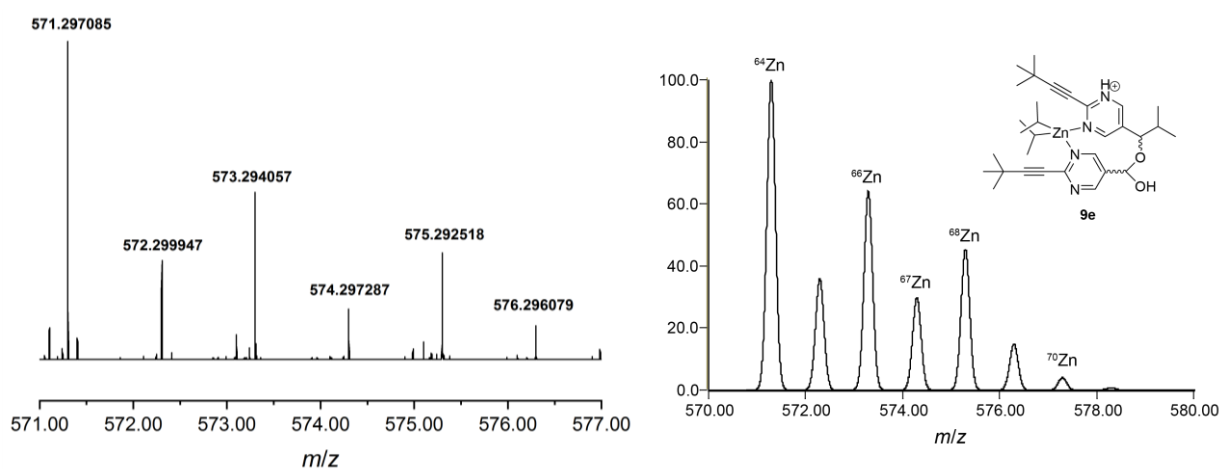


Abbildung 2-23: Molekül **9e** mit einem Ausschnitt aus der zugehörigen Massenspur mit links: dem gemessenen und rechts: dem berechneten Zink-Isotopen-Muster (verwendete Software: Molecular Weight Calculator Version 6.49).

Durch die identifizierten Strukturen mittels APCI-Orbitrap-MS konnten postulierte Strukturen der Halbacetale in monomeren und dimeren Formen identifiziert und auf dieser Basis ein vollständiger Reaktionsmechanismus^[51] im Detail ausgearbeitet werden.

2.8 Reaktionsmechanismus und Analyse des Reaktionsnetzwerkes

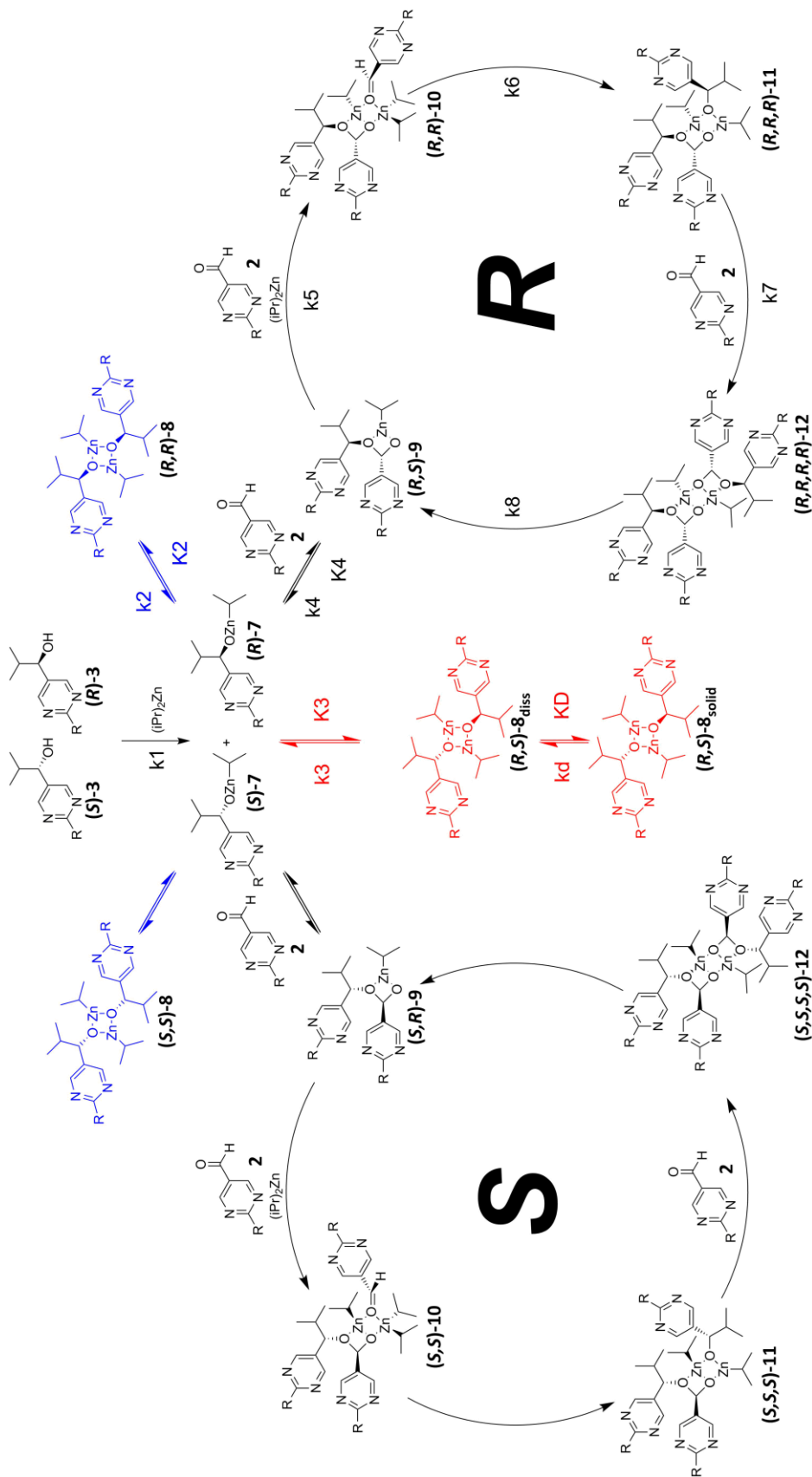
Für die Soai-Reaktion wurden in den letzten Jahren verschiedene Modelle für den Reaktionsmechanismus vorgeschlagen (siehe Kapitel 2.1.3). Häufig traten hierbei dimere Formen als Strukturmerkmal für die zentralen Intermediate auf. Auf Basis der gewonnenen Kinetik- und Orbitrap-MS-Daten wurde ein erweiterter, detaillierter Reaktionsmechanismus postuliert. Dieser bezieht das Halbacetal als Schlüsselstruktur während der selbstamplifizierenden Autokatalyse mit ein (Schema 2-24).

Der Mechanismus setzt sich aus drei verschiedenen, parallel ablaufenden Vorgängen zusammen. Zum Ersten aus der Bildung der Zinkalkoholate, zum Zweiten aus der etablierten Dime-

renbildung und zum Dritten aus den zwei postulierten Katalysezyklen mit Halbacetalstrukturen.

Ausgangspunkt bildet die Reaktion der zwei Alkoholenantiomere (**R**)-**3** und (**S**)-**3** mit Diisopropylzink zu den entsprechenden Zinkalkoholaten (**R**)-**7** und (**S**)-**7**. Diese Zinkalkoholate können sich zu verschiedenen dimeren Strukturen zusammenlagern, welche von Noyori und Kagan vorgeschlagen und von Blackmond und Brown ausführlich untersucht worden sind (Kapitel 2.1.3). Die zwei homochiralen Dimere (**R,R**)-**8** und (**S,S**)-**8** stehen im Gleichgewicht zu den Monomeren und verbleiben in Lösung. Die heterochirale, dimere Struktur (**R,S**)-**8** besitzt eine geringere Löslichkeit und ist weniger katalytisch aktiv. Durch den Aufbau von heterochiralen Dimeren kann die Enantioselektivität und Stereoamplifizierung der Reaktion erklärt werden. Bei einem Überschuss eines Alkoholenantiomers wird dieses statistisch gesehen vermehrt homochirale Dimere aufbauen. Mit seinem Spiegelbild wird es in schwerer lösliche heterochirale Dimere eingebaut und dadurch dem System entzogen. Hierdurch wird das Verhältnis des für die Katalyse zur Verfügung stehenden Alkohols noch weiter auf die Seite des Alkohol-Monomers verschoben, das bereits im Überschuss eingesetzt wurde.^[61] Je nach Enantiomerenüberschuss ergibt sich eine Amplifizierung von bis zu 99%.^[24]

Die monomeren Zinkalkoholate **7** können mit dem Aldehyd **2** in einer Gleichgewichtsreaktion die enantiomeren Zink-komplexierten Halbacetalstrukturen **9** aufbauen. Das Gleichgewicht liegt hierbei auf der Seite der Alkoholate, wie vorangegangene NMR-Studien gezeigt haben (Kapitel 0). Die Halbacetalstrukturen **9** sind jeweils Ausgangspunkt der amplifizierenden Kreisläufe zur Bildung des jeweiligen **S**- und **R**-Enantiomers des Soai-Alkohols. Es folgen die Koordination eines weiteren Aldehydmoleküls und anschließend die Übertragung der Alkylgruppe. Für die weiteren postulierten Intermediate **11** und **12** konnten die nah strukturverwandte Moleküle **11a-d** und **12a** in den Orbitrapmessungen identifiziert werden (siehe Schema 2-23). Die Entstehung weiterer chiraler Zentren fördern die Enantioselektivität während der Alkylierung des Aldehyds zu (**R,R,R**)- oder (**S,S,S**)-**11**.



Schema 2-24: Mechanismus der Soai-Reaktion mit Halbacetalen als zentralem Strukturintermediat mit amplifizierenden Kreisläufen für die beiden Alkoholantimere, sowie den zugehörigen Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten (siehe Tabelle 2-3 für zugehörige Zahlenwerte). Zu beachten ist die wechselnde Konfiguration durch den Einbau eines zweiten Zinkatoms aufgrund der sich ändernden Priorität innerhalb des Moleküls.

Auf Basis dieses Reaktionsnetzwerkes (Schema 2-24) wurde eine kinetische Simulation durchgeführt, in der jeder einzelne Reaktionsschritt durch eine Differentialgleichung repräsentiert wurde (siehe Kapitel 4.2.13). Als Startpunkt für die computergestützte Bestimmung der kinetischen und thermodynamischen Konstanten wurden diese in ihrer Größenordnungen zunächst abgeschätzt. Als Grundlage hierfür diente die gesammelte Erfahrung der im Zusammenhang mit der Soai-Reaktion durchgeführten Studien, wie dynamische HPLC-Messungen zur Halbacetalbildung^[51] oder die Erfassung kinetischer Reaktionsprofile (siehe Kapitel 2.5). Erhaltene Konzentrationsverläufe der simulierten Reaktionen wurden daraufhin mit eben genannten experimentellen Reaktionsabläufen verglichen. Durch iterative Optimierung der Reaktionsparameter in den Differentialgleichungen konnten simulierte Profile (Abbildung 2-24) den experimentell erhaltenen Reaktionsabläufen angepasst werden, sodass schlussendlich eindeutige Zahlenwerte für jede Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstante auf Basis des postulierten Reaktionsmechanismus' erhalten werden konnten (Tabelle 2-3).

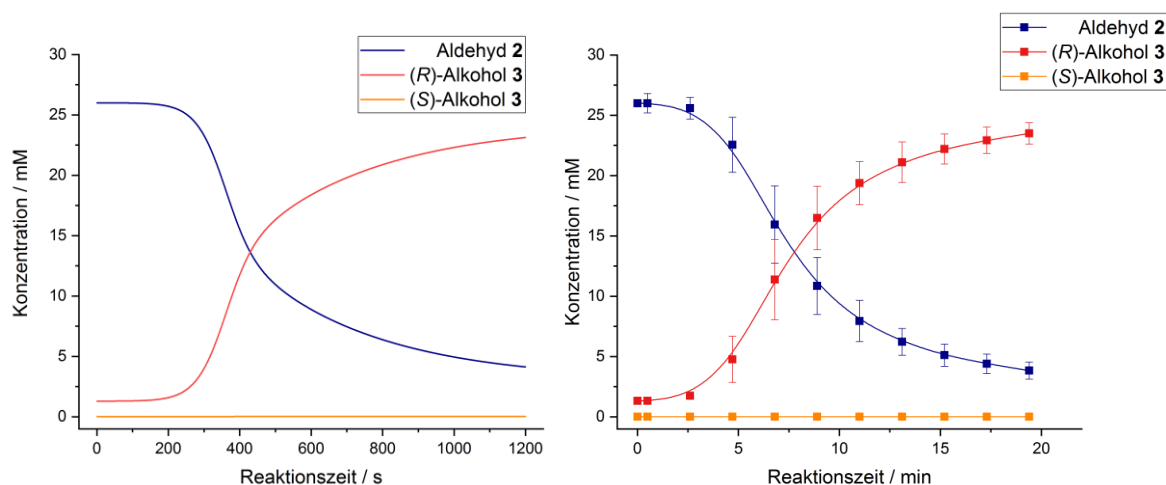


Abbildung 2-24: Links: Simulierter Reaktionsverlauf der Soai-Reaktion. Rechts: Experimentell verfolgter Reaktionsverlauf. Reaktionsbedingungen: 26 mM Aldehyd 2, 5 mol% (R)-Alkohol 3, 1,5 Äq. Diisopropylzink in Toluol.

Durch die ermittelten Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten konnten unter Zuhilfenahme der Eyring-Gleichung die freien Enthalpien des jeweiligen Reaktionsschrittes berechnet werden (Tabelle 2-3). Für die Halbacetalbildung und die Reaktionen innerhalb der Katalysekreisläufe ergaben sich Werte zwischen 61,3 und 87,6 kJ/mol. Die höchste Energiebarriere besitzt die Reaktion von Zinkalkoholat 7 mit Aldehyd 2. Diese Halbacetalbildungskonstante von 87,6 kJ/mol liegt im gleichen Bereich wie die Halbacetalbildungskonstante ($\Delta G = 86,9$ kJ/mol) von Aldehyd 2 und Isopropanol.^[51] Die Energiewerte innerhalb des Kreislaufes alternieren zwischen 60 kJ/mol und 80 kJ/mol. Da die Aktivierungsenergie der Reaktion zwischen Halbacetal 9, Aldehyd 2 und Diisopropylzink den geringsten

Energiewert von 61,3 kJ/mol besitzt, läuft diese Reaktion nach der Bildung des Halbacetals relativ schnell ab. Diese Fakten untermauern die Annahme, dass Halbacetalstrukturen nur in Spuren auftreten und schnell weiterreagieren.

Tabelle 2-3: Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten sowie die zugehörigen freien Enthalpien für die einzelnen Schritte des in Schema 2-24 postulierten Reaktionsmechanismus der Soai-Reaktion.

Reaktionsschritt	k bzw. K ^{a)}	ΔG [kJ/mol] ^{b)}
k1	1,50E+03	53,933
k2	4,57E-01	73,666
k3	2,69E+02	58,121
kd	1,66E+02	59,298
k4	1,50E-03	87,606
k5	7,40E+01	61,267
k6	1,40E-01	76,550
k7	1,62E+01	64,970
k8	2,65E-01	74,995

K2	8,12E+01	-10,717
K3	1,62E+02	-12,406
KD	1,00E+04	-22,449
K4	1,36E-01	4,863

a) Die jeweiligen Einheiten können aus den Differentialgleichungen (siehe Kapitel 4.2.13) abgeleitet werden.

b) ΔG wurde mit Hilfe der Eyring-Gleichung unter Standardbedingungen ($T = 25^\circ\text{C}$) berechnet.

Neben den kinetischen und thermodynamischen Konstanten wurden mit Hilfe der simulierten Reaktionsprofile ebenfalls Reaktionsordnungen für die einzelnen Komponenten bestimmt. Aufgrund der kontinuierlichen Auftragung von der Konzentration in Abhängigkeit der Reaktionszeit konnte trotz des sigmoidalen Kurvenverlaufs die Änderung der Anfangsgeschwindigkeit nach Gleichung (6) (siehe Kapitel 2.5) bestimmt werden (Abbildung 2-25).

Der Aldehyd besitzt eine Reaktionsordnung von 1,9, der Alkohol von 1,0 und das Zinkorganyl von 0,7. Diese Werte stimmen mit den qualitativen Beobachtungen der kinetischen Untersuchungen mittels FIA-HPLC überein. Da auch hier die Konzentration des Aldehyds den größten Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit genommen hat und Diisopropylzink den kleinsten.

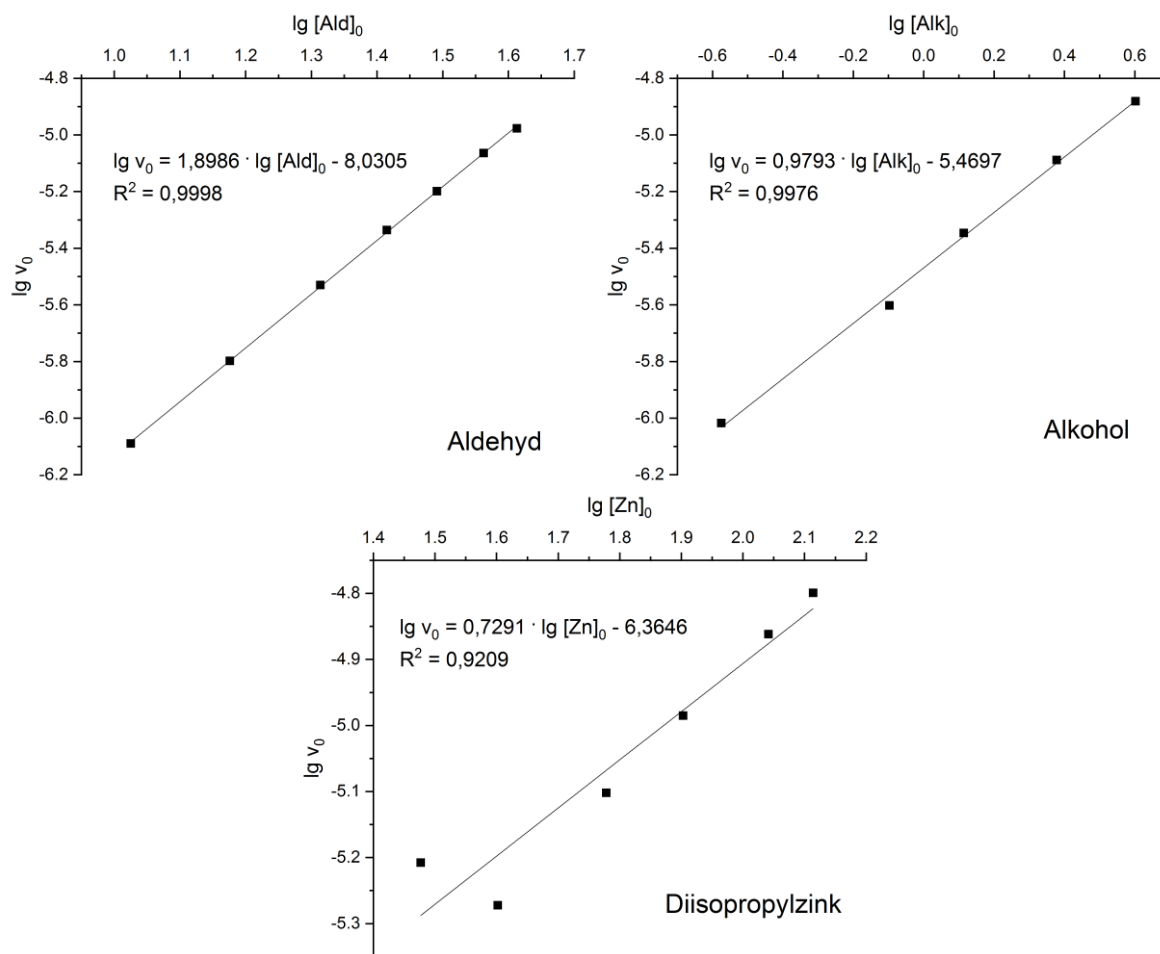


Abbildung 2-25: Grafische Bestimmung der Reaktionsordnungen von Aldehyd 2, Alkohol (*R*)-3 und Diisopropylzink nach Gleichung (6) (siehe Kapitel 2.5).

Insgesamt konnte der postulierte Mechanismus durch verschiedene Methoden gestützt werden. Durch massenspektrometrische Analyse konnte *in situ* eine Vielzahl an essentiellen Molekülstrukturen der Katalysezyklen nachgewiesen werden. Die computergestützten Simulationen zeigten eine sehr gute Übereinstimmung mit experimentellen Reaktionsverläufen, Reaktionsordnungen konnten bestimmt werden und kinetische sowie thermodynamische Konstanten wurden vollständig ermittelt.

2.9 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Soai-Reaktion im Hinblick auf ihren Verlauf und intermediär auftretende Halbacetalstrukturen untersucht (Abbildung 2-26). Nach anfänglicher kinetischer Analyse standen die Synthese und der massenspektrometrische Nachweis der Intermediate im Fokus. Abschließend wurden Reaktionsverläufe auf Basis eines neuen Reaktionsmechanismus⁴ simuliert und kinetische und thermodynamische Größen der Reaktion bestimmt.

Für die kinetische Analyse wurde die Fließinjektionsanalyse (FIA-HPLC) für die Soai-Reaktion optimiert. Isopropanol wurde durch Tetrahydrofuran als Eluent ersetzt, so dass die unerwünschte Reaktion des Alkohols mit dem Soai-Aldehyd ausblieb. Bei einem Eluentenverhältnis von *n*-Hexan/THF 55:45 konnten die UV-aktiven und vollständig gelösten Reaktionskomponenten (Substrat, Produkte, Lösungsmittel) basisliniengetrennt detektiert und das Injektionsintervall ohne Signalüberlappung halbiert werden.

Um qualitative Aussagen über den Einfluss der verschiedenen Reaktionskomponenten treffen zu können wurden diese mit variierenden Anfangskonzentrationen einer einzelnen Komponente eingesetzt und die Veränderung der Reaktionsverläufe beobachtet. Den größten Einfluss hatte hierbei der Aldehyd: Bei geringer Anfangskonzentration verlief die Reaktion verlangsamt, bei hohen Anfangskonzentrationen wurde eine beschleunigte Reaktion beobachtet. In abgeschwächter Form zeigte der in katalytischen Mengen eingesetzte Alkohol das gleiche Verhalten. Im Gegensatz zur Literatur^[34] wurde für das Zinkorganyl ebenfalls eine Abhängigkeit der Anfangskonzentration für die Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet.

Mit NMR-Studien wurde die Bildung von Halbacetalspezies des Soai-Aldehyds **2** bzw. **2-H** mit verschiedenen Alkoholen untersucht. Die elektronenarmen Pyrimidinringe des Aldehyds begünstigten den Aufbau eines Halbacetals in deuteriertem Methanol im Vergleich zu Benzaldehyd von 9% auf 95%. In deuteriertem Toluol mit jeweils fünf Äquivalenten zeigte sich nur mit Methanol und *sec*-Butanol eine signifikante Bildung einer Halbacetalspezies, dagegen nicht mit dem Soai-Alkohol oder ähnlichen Strukturen.

Zum Nachweis einer Halbacetalstruktur **HA** wurden synthetische Darstellungsmöglichkeiten getestet. Da die direkte oder säurekatalysierte Reaktion von Aldehyd und Alkohol keinen Umsatz zeigte, wurde eine Syntheseroute über ein silylgeschütztes Halbacetal **Si-HA** erprobt.^[57] Nach erfolgreichem Aufbau des Esters **6** aus Soai-Alkohol **3** und entsprechender Säure **5** konnte die Ir-katalysierte Reaktion zum Halbacetal **HA** jedoch nicht realisiert werden. Die Silylierung eines vereinfachten Systems mit Phenyleinheiten war möglich, doch auch hier

konnten keine freien Halbacetalstrukturen isoliert werden. Stattdessen wurden die Zerfallsprodukte (Aldehyd und Alkohol) beobachtet. Insgesamt wurde, im Einklang mit den NMR-Studien, eine geringe Stabilität für das Halbacetal beobachtet, woraus geschlossen werden kann, dass dieses nur in Spuren in der Reaktionsmischung auftritt.

Ein neuer Ansatz stellte die massenspektrometrische Analyse instabiler Intermediate dar. Diese konnte durch eine gepulste Reaktionsverfolgung an der Orbitrap-MS realisiert werden, wodurch auch kurzlebige und in Spuren vorkommende Substanzen detektiert werden können. Neben den eingesetzten Substanzen, wie Aldehyd **2** und Alkohol **3** beziehungsweise Zinkalkoholat **7**, konnten die etablierten dimeren $[\text{ZnO}]_2$ -Strukturen **8** nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden die postulierten Halbacetale **9** in verschiedenen Strukturmodifikationen (**9a**–**9f**) detektiert.

Auf Grundlage aller gesammelten Informationen wurde ein erweiterter Reaktionsmechanismus basierend auf der Beteiligung der Halbacetalstrukturen an den enantioselektiven Reaktionsschritten der Katalyse ausgearbeitet. Startend mit der Zinkalkoholatbildung werden darauffolgend die etablierten homo- und heterochiralen Dimere aufgebaut. Parallel dazu können die Zinkalkoholate mit dem Aldehyd zu Zink-komplexierten Halbacetalen reagieren. Durch den hieraus folgenden Aufbau neuer Stereozentren wird eine hochdefinierte, chirale Umgebung erzeugt, die durch spezifische Anlagerung des folgenden Substratmoleküls eine Verstärkung der Enantioselektivität in folgenden Reaktionsschritten erzeugt.

Der postulierte Reaktionsmechanismus wurde mit Hilfe einer computergestützten Simulation überprüft. Jeder einzelne Reaktionsschritt wurde durch eine Differentialgleichung dargestellt. Mittels iterativer Optimierung der Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten durch Vergleich der simulierten Reaktionsprofile mit experimentell *via* FIA-HPLC ermittelten Reaktionsverläufen konnten alle Reaktionsparameter in einer eindeutigen Lösung des Gleichungssystems bestimmt werden. Zusätzlich wurden die Reaktionsordnungen der einzelnen Komponenten ermittelt, welche in Übereinstimmung mit den qualitativen Aussagen der FIA-HPLC-Messungen stehen.

Zusammenfassend wurde ein erweiterter Reaktionsmechanismus für die Soai-Reaktion basierend auf Halbacetalstrukturen postuliert, welcher durch synthetische, analytische und computerbasierte Untersuchungen untermauert werden konnte.

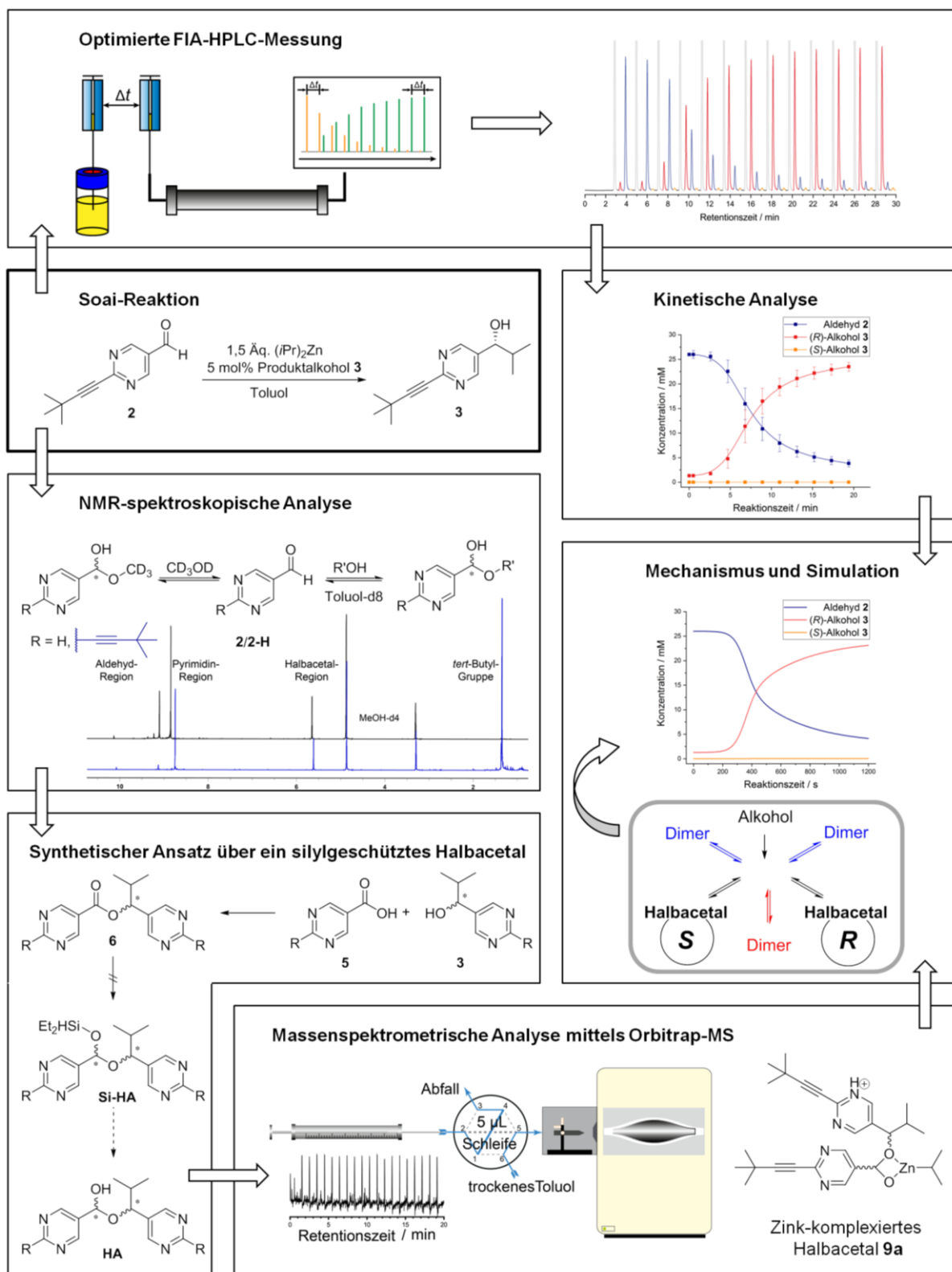


Abbildung 2-26: Zusammenfassende Grafik für das Kapitel 2 „Mechanistische Untersuchungen zum Halbacetal-Modell der Soai-Reaktion“. Die Soai-Reaktion wurde mittels optimierter FIA-HPLC-Methode kinetisch untersucht. Im NMR-Maßstab wurden Halbacetale mit Methanol, aber nicht mit dem Soai-Alkohol aufgebaut. Der synthetische Ansatz über ein silyl-geschütztes Halbacetal konnte nicht realisiert werden. Erfolgreich wurde die Halbacetalstruktur dann durch massenspektrometrische Analyse nachgewiesen. Ein darauf basierender, weiterentwickelter Reaktionsmechanismus wurde formuliert und mittels Simulation von Reaktionsverläufen und deren Abgleich mit experimentellen Daten konnten kinetische und thermodynamische Größen eindeutig bestimmt werden.

KAPITEL 3

Die mechanochemische Synthese von Monosacchariden

3.1 Kenntnisstand

3.1.1 Szenarien für den Ursprung des Lebens

Der Ursprung des Lebens ist ein viel diskutiertes und interdisziplinäres Thema. Die herrschenden Bedingungen stellen hierbei die Grundlage für die Entwicklung lebensfähiger Systeme dar. Aus welchen Elementen, Gasen, einfachsten organischen Molekülen, Salzen und Mineralen waren Atmosphäre, Ozeane und Gesteinsmassen genau zusammengesetzt? Welche Temperaturen herrschten und welchen äußeren Einflüssen wie Meteoriteneinschlägen, elektrischen Entladungen oder energiereicher UV-Strahlung war die junge Erde ausgesetzt?

Einige organische und anorganische Komponenten konnten durch die Untersuchung von Meteoriten und erdähnlichen Planeten ermittelt werden. Neben einfachen Gasen wie H_2 , CO , CO_2 , NH_3 und H_2S , waren erste organische Bausteine zu finden.^[62] Dazu zählten Formaldehyd, Formamid und Cyanwasserstoff sowie die höhere Klassen Aminosäuren und Kohlenwasserstoffe.^[63-64] Anorganische Feststoffe wie Salze und Minerale waren vorhanden.^[64-66] Darunter fielen Tonminerale, Zeolithe, Chloride, Carbonate, Borate und viele mehr.

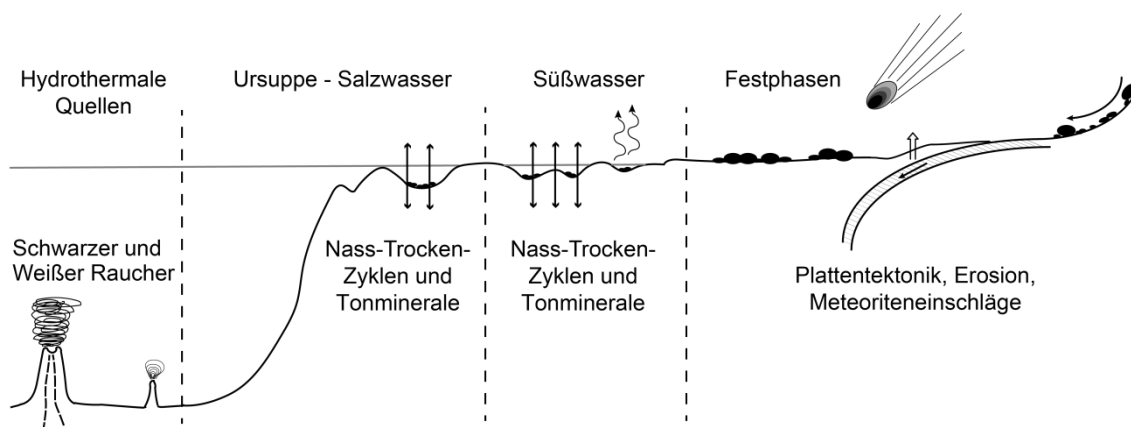


Abbildung 3-1: Verschiedene Szenarien für den Ursprung des Lebens.

Im Folgenden sollen verschiedene Szenarien für den Ursprung des Lebens im Fokus stehen und Kondensationsreaktionen diskutiert werden. Diese könnten die für das (heutige) Leben relevanten Moleküle aufgebaut haben. In Wasser sind solche wasserabspaltenden Reaktionen thermodynamisch ungünstig. Der Überblick (Abbildung 3-1) startet in der Tiefsee, geht anschließend zu Modellen in Oberflächengewässern mit Nass-Trocken-Zyklen über und endet bei Festphasensynthesen mit mechanischen Energieeintrag.

Hydrothermale Quellen

Ende der 70er Jahre wurden auf dem Meeresgrund in über 2000 m Tiefe hydrothermale Schloten entdeckt.^[6] Hierbei wird zwischen Schwarzen und Weißen Rauchern unterschieden (Abbildung 3-1).^[67] Zu finden sind diese in Zonen beweglicher Kontinentalplatten, die aktive

Vulkane hervorbringen und neue Erdkruste entstehen lassen. Die in bis zu 400°C heißem Wasser gelösten Stoffe werden beim Austreten in das 2°C kalte Meerwasser ausgefällt und riesige Schloten entstehen. Die Schwarzen Raucher stehen nahe der hydrothermalen Quelle und bekommen ihre charakteristische Farbe durch die austretenden Metallsulfide und -oxide. Die Weißen Raucher sind dagegen am Rande eines hydrothermalen Feldes zu finden. In dieser kühleren, alkalischen Meereszone findet die Umwandlung von Olivin-Gestein zu Serpentin statt, wodurch die graugrünen Schloten aufgebaut werden.

Trotz der extremen Bedingungen an hydrothermalen Quellen in den Meerestiefen wurden dort unter vollständigem Lichtausschluss lebende Organismen in den Meerestiefen entdeckt, deren Existenz durch chemolithrophe Reaktionen ermöglicht wird. Metalle, so wie die in hohen Konzentrationen vorkommenden Gase CO_2 , H_2S und H_2 , werden durch Bakterien metabolisiert und liefern Nährstoffe für höhere Organismen wie Bartwürmer und Venusmuscheln.^[68] Die einfachsten bisher bekannten Organismen sind thermophil und so stehen selbst Temperaturen über 100°C nicht im Widerspruch zu lebenden Organismen.^[69] Nachweislich konnten bis zu 3,2 Millionen Jahre alte Fossilien in hydrothermalen Systemen gefunden werden.^[70-71]

In den 80er Jahren stellte Wächtershäuser mit der Hypothese einer Eisen-Schwefel-Welt die Schwarzen Raucher als Reaktionsort für das erste Leben in den Fokus.^[72] Die Oxidation von Fe(II) und H_2S zu Pyrit (FeS_2) liefert hierbei die benötigten Reduktionsäquivalente um den Kohlenstoff aus CO und CO_2 in komplexeren Molekülen zu binden.^[68] Des Weiteren stellen die Pyritkristalle eine positiv-geladene Oberfläche zur Verfügung an denen organische Moleküle gebunden werden können und für weitere Reaktionen in räumlicher Nähe verbleiben. Durch Auswaschen werden die Mineralien porös und Mikrokompartimente entstehen. Diese bieten eine Umgebung für chemische Synthesen und ermöglichen die benötigten Konzentrationen für ablaufende Polymerisation.^[67] Auch heutzutage besitzen Enzyme der Atmungskette Eisen-Schwefel-Zentren, was auf eine frühzeitige Beteiligung der zwei Elemente an der Entstehung des Lebens hinweist.

Ebenso wurden die Weißen Raucher als Ursprungsort für lebende Systeme diskutiert. Durch die ablaufende Serpentinisierung von Olivin wird H_2 erhalten. Durch die darauffolgende Reduktion von CO_2 in Fischer-Tropsch-ähnlichen Reaktionen wird eine Vielzahl an organischen Verbindungen zugänglich.^[68] Als Energiequelle könnten die herrschenden pH- und Temperaturgradienten gedient haben. Der Ionengradient wurde möglicherweise später von Proteinen adaptiert und weiterentwickelt, sodass die komplexer-werdende Biochemie durch Plasmamembranen reguliert wird.^[73]

Die Ursuppe

Bereits 1871 formulierte Charles Darwin in einem Brief die Möglichkeit, dass erstes Leben in einem „kleinen, warmen Tümpel“ entstehen könnte, wenn bestimmte anorganische Substanzen vorliegen und mit Energie in Form von Licht, Hitze oder Elektrizität versetzt werden würden.^[74] Die Bestätigung folgte im Jahre 1953 von Stanley Miller mit erfolgreichen Synthese von Aminosäuren und anderen organischen Molekülen durch Entladungsexperimenten unter präbiotischen Bedingungen.^[8]

Unter dem Begriff der Ursuppe werden die Gewässer der Urerde verstanden (Abbildung 3-1), angereichert mit einer Vielzahl an aus unterschiedlichen Quellen entsprungenen, organischen Komponenten. Diese Ursuppe besitzt Besonderheiten, welche für die organische Synthese von Vorteil sind: Anreicherung von Mineralen, die Möglichkeit von Nass-Trocken-Zyklen, aktivitätssteigernde Gradienten innerhalb des Wassers und erhöhte Porosität der Oberflächen.^[75] Die molekulare Komplexität wird durch Folgereaktionen gesteigert. Diese können an mineralischen Oberflächen oder durch verschiedene Szenarien einer Konzentrationserhöhung ablaufen. Zum Beispiel würden die gelösten Stoffe in flachen, wasserbedeckten Gebieten durch Verdunsten oder durch die Bildung eutektischer Salzlösungen beim Gefrieren konzentriert werden.^[76] Aufgrund der guten Löslichkeit von Salzen sollten diese eine Hauptkomponenten der damaligen Ozeane darstellen, obgleich Salze bei der ursprünglichen Beschreibung der Ursuppe unbeachtet blieben. Theoretische Betrachtungen von Salzlösungen mit sehr hohen Konzentrationen zeigten die Möglichkeit auf zum Beispiel Natriumchlorid als Kondensationsreagenz bei der Bildung von Oligopeptiden zu verwenden.^[77] Praktisch wurde dieser Ansatz durch die Salz-induzierte Peptidsynthesen umgesetzt.^[77]

Nass-Trocken-Zyklen

Die bereits erwähnten Nass-Trocken-Zyklen sind für viele Szenarien ein unterstützender Faktor (Abbildung 3-1). Solch ein Zyklus kann durch Tag-und-Nacht-Rhythmen oder die Jahreszeiten abgelaufen sein, wobei in der Nacht nasse und feuchte Bedingungen herrschen und tagsüber trockene und heiße.^[78] Neben dem Verdunsten und erneutem Niederschlag kann der Wasserpegel auch durch Zuflüsse aus Geysiren oder heißen Quellen fluktuieren.^[79] Unabhängig vom Szenario bilden sich bei niedrigem Wasserstand auf den mineralischen Oberflächen Flüssigkeitsfilme, welche eine erhöhte Konzentration an gelösten Stoffen aufweisen. Diese Komponenten können dort durch Kondensationsreaktionen polymerisieren. Ausgedehnte Trockenperioden haben darauf keinen positiven Einfluss,^[78] da die nötige Mobilität der Monomere und Oligomere gehindert ist. Eine zu hohe Verdünnung während der

Nässeperiode ist ebenfalls nachteilig, da die räumliche Nähe und Ordnung fehlt. Ein Vorteil ist dennoch eine erneute Durchmischung.^[80]

Die Anwesenheit von Tonmineralen fördert die Oligomerisierung während der Nass-Trocken-Zyklen. Die katalytisch-aktiven Oberflächen ermöglichen zum Beispiel die Synthese von Oligopeptiden ausgehend von Glycin nach mehreren Hydratations- und Dehydratationsprozessen.^[78] Die Hydratation stellt sich als essentieller Schritt für die Desorption der Oligomere von der Oberfläche heraus. Andernfalls bleiben die aktiven Zentren blockiert, freies Glycin kann nicht adsorbieren und die Polymerisation wird gestoppt.

Festphasenreaktion

Einen Extremfall der Nass-Trocken-Zyklen stellt die vollständige Austrocknung eines Gewässers dar. Anschließend können Festphasenreaktionen auftreten, welche durch weitere Szenarien einen Energieeintrag erfahren. Durch die auf der Erde vorhandene Plattentektonik kann es beispielsweise zur Umwälzung von Erdschichten und Strukturveränderungen der Oberfläche kommen. Darüber hinaus können lithosphärische Aktivitäten wie Erosion und Diagenese auftreten. Zusätzlich könnten Meteoriteneinschläge nicht nur Energie, sondern auch erste organische Moleküle in Mikrokompartimenten geliefert haben.^[81]

Ein vollständiger Wasserausschluss wurde in der Schmelze von Aminosäuren untersucht. Hierbei wurden Mischungen von Aminosäuren auf 170°C erhitzt und nach mehreren Tagen konnten Peptide nachgewiesen werden.^[82] Des Weiteren wurden Phosphorylierungen von Nucleosiden als Festphasenreaktion unter präbiotischen Bedingungen realisiert.^[83] Als Phosphorquelle wurde erfolgreich das häufig auf der Erde vorkommende Mineral Hydroxylapatit eingesetzt. Durch die Zugabe von Harnstoff und Ammoniumchlorid konnten die Ausbeuten der Nucleotide gesteigert werden.

Dieser für Kondensationsreaktionen günstige Ausgangspunkt einer Festphasenreaktion (Abbildung 3-1) wäre auch für den Aufbau von Monosacchariden interessant. Kritisch zu betrachten sind hierbei die hohen Temperaturen, die meist einem Wasserausschluss vorausgehen. Die thermische Zersetzung organischer Substanzen würde dem Ursprung des Lebens entgegenwirken.

3.1.2 Die Mechanochemie

Eine mechanochemische Reaktion stellt laut IUPAC eine chemische Reaktion dar, welche durch die Aufnahme mechanischer Energie hervorgerufen wird.^[84] Der allgemeinere Begriff des Mahlens beschreibt das Verfahren der Partikelverkleinerung durch das Aufeinandertreffen zweier harter Oberflächen. Von Hand betriebene Arbeitsgeräte sind etwa Mörser und Pistill, maschinelle sind beispielsweise Kugelmühlen.

Ende des 19. Jahrhunderts zeigte Carey Lea erstmals in systematischen Studien, dass mechanochemische und thermische Reaktionen zu unterschiedlichen Produkten führen.^[85] Von da an etablierte sich die Mechanochemie als eigener Zweig innerhalb der Chemie. Ostwald untergliederte die Chemie basierend auf der Art der Energiezufuhr während der Reaktion in Mechano-, Thermo-, Elektro- und Photochemie.^[86]

Da es sich bei der Mechanochemie um eine lösungsmittelfreie Synthesemethode handelt, wird sie neben Mikrowellenstrahlung und Ultraschall als „Grünes Verfahren“ angesehen.^[87] Durch die Reduzierung von aus Erdöl produzierten, gesundheits- sowie umweltschädlichen Lösungsmitteln gilt dieser Ansatz als nachhaltig und zukunftsweisend. Der Einsatz von Feststoffen kann einen vollständigen Ausschluss von Flüssigkeiten nicht garantieren, da beispielweise bei der Verwendung von hydratisierten Metallsalzen Kristallwasser frei wird.^[86] Zusätzlich kann auch die umgebende Luftfeuchtigkeit auf die Festphasenreaktion Einfluss nehmen. Beim gezielten Zusatz von definierten molaren Mengen an Flüssigkeit wird von „*liquid assisted grinding*“ (LAG) gesprochen, wodurch chemische Reaktionen zwischen Feststoffen beschleunigt oder überhaupt erst ermöglicht werden.^[88] Allgemein ist für Festphasenreaktionen, neben der effizienten Durchmischung, die Oberflächenvergrößerung der Reaktanden von großer Bedeutung, welche die Kinetik der Reaktion positiv beeinflusst.^[87] Des Weiteren kann die Aktivität einer chemischen Reaktion durch Erhöhung von Druck und Temperatur gesteigert werden. Nach einem Modell von Urakaev und Boldrey herrschen beim Mahlvorgang während einer Kollision auf der Oberfläche extreme Bedingungen, sodass für einen Bruchteil einer Sekunde lokale Temperaturen im Bereich 400-1500 K und Drücke von mehreren tausend Atmosphären auftreten.^[89-90] Die durchschnittliche Temperatur beträgt dagegen nur 40–60°C.^[87]

Um mechanische Energie auf das Reaktionsgemisch übertragen zu können wurden früher Mörser und Pistill verwendet. Heutzutage werden dagegen Kugelmühlen für reproduzierbare Ergebnisse eingesetzt. Die Edukte werden gemeinsam mit einer bestimmten Anzahl an

Kugeln in einen Reaktor gegeben und anschließend beschleunigt. Je nach Art und Richtung der Beschleunigung werden verschiedene Kugelmühlen unterschieden (Abbildung 3-2)

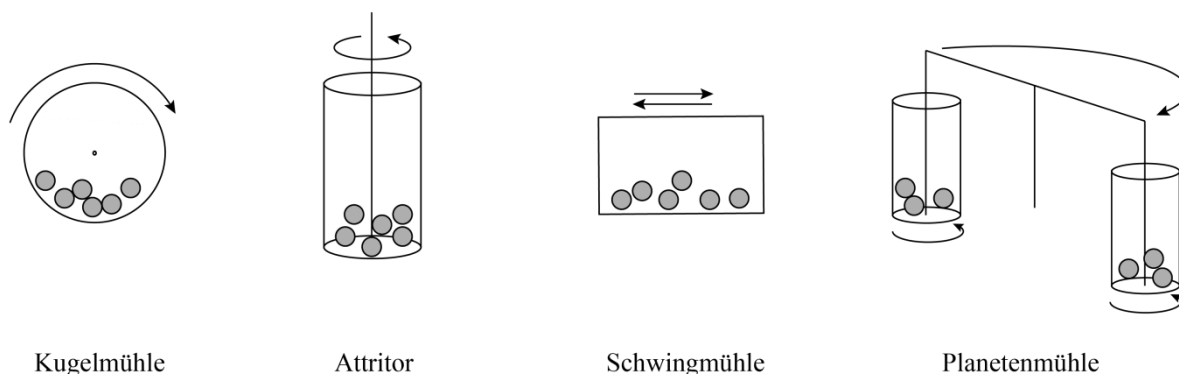
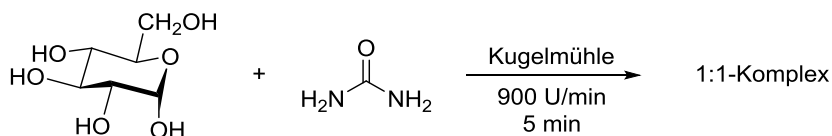


Abbildung 3-2: Verschiedene Kugelmühlen je nach Beschleunigungsbewegung. Modifizierte Abbildung aus Referenz [91]. (Copyright Royal Society of Chemistry 2013)

Bei der einfachsten Kugelmühle liegen Kugeln und Mahlgut in einer Trommel vor. Diese wird in der Vertikalen zum Rotieren gebracht. Der Attritor besteht dagegen aus einem Zylinder, welcher in der Horizontalen um die eigene Achse bewegt wird. Schwingmühlen (MM – engl. *mixer mill*) besitzen zylindrische Mahlgefäße, die in der horizontalen Ebene in Schwingungen versetzt werden. Planetenmühlen (PM) bestehen aus zwei Reaktoren, welche auf einer horizontalen Scheibe beschleunigt werden, aber zeitgleich entgegengesetzt rotieren. Insgesamt treten je nach Beschleunigung verschiedene Bewegungsabläufe der Kugeln auf. Folglich beeinflusst die Umdrehungszahl beziehungsweise die Frequenz die Intensität der mechanischen Krafteinwirkung.^[92]

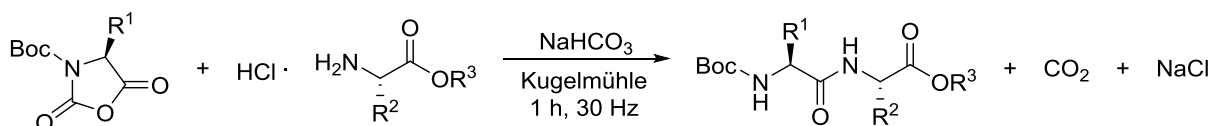
Im Bereich der anorganischen Chemie stellt die Mechanochemie seit über einem Jahrhundert eine etablierte Methode dar. Erst in den letzten Jahrzehnten wurden auch organische Synthesen realisiert.^[93] Das Anwendungsgebiet ist weitgefächert und umfasst zum Beispiel C-C-Knüpfungsreaktionen,^[94] Kondensationsreaktionen,^[95] Synthese von Heterozyklen^[95] sowie den Aufbau von molekularen Nanostrukturen.^[96]

Durch eine direkte Reaktion der Substrate ohne den Verdünnungseffekt von Lösungsmitteln und ausbleibende Kristallisationsschritte kann eine Zeitersparnis resultieren. Beispielsweise wird beim Einsatz von Glucose und Harnstoff quantitativ der entsprechende auf Wasserstoffbrückenbindungen-basierende 1:1-Komplex innerhalb von Minuten aufgebaut (Schema 3-1). Bei der Synthese im wässrigen Medium dauerte der anschließende Kristallisationsschritt dagegen etwa sechs Monate.^[97]



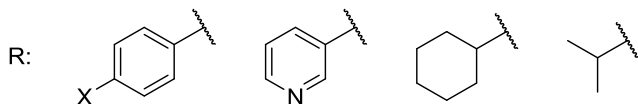
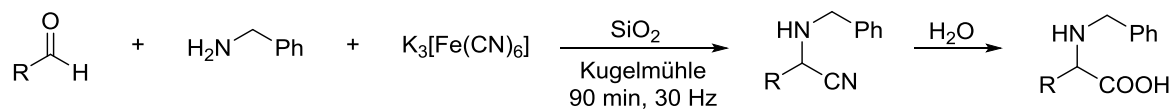
Schema 3-1: Umsatz von α -D-Glucose und Harnstoff in der Kugelmühle.^[97]

Peptidsynthesen in Lösung sind sehr ineffizient, da vor allem die Löslichkeit und die Aufreinigung der längeren Polypeptidstrukturen technische Probleme bereiten. Abhilfe schaffte die nach ihrem Erfinder benannte Merrifield-Synthese (Nobelpreis Chemie 1984). Obwohl auch diese Reaktion in Lösung stattfindet, wird das aufgebaute Peptid an ein unlösliches Polymer gebunden, wodurch der Begriff Festphasensynthese üblich ist.^[98] Im Jahr 2009 wurde die lösungsmittelfreie Peptidsynthese in der Kugelmühle realisiert (Schema 3-2).^[99] Ausgangspunkt sind aktivierte zyklische und offenkettige Formen von Aminosäuren und Natriumhydrogencarbonat. Als Produkte wurden nach einer Stunde Reaktionszeit Di- und Tripeptide in quantitativen Ausbeuten erhalten.



Schema 3-2: Lösungsmittelfreie Peptidsynthese in der Kugelmühle.^[99]

Mit präbiotischen Hintergrund lieferten Bolm *et al.* kürzlich einen Ansatz für eine mechanochemische Aminosäure-Synthese.^[100] Neu war die Aktivierung von Eisencyanidkomplexen in der Kugelmühle. Die freiwerdende Blausäure wurde mittels modifizierter Strecker-Synthese in α -Aminonitrilen eingebaut, welche durch anschließende Hydrolyse Aminosäuren generieren (Schema 3-3).



X: H, Me, OMe, F, Cl, Br

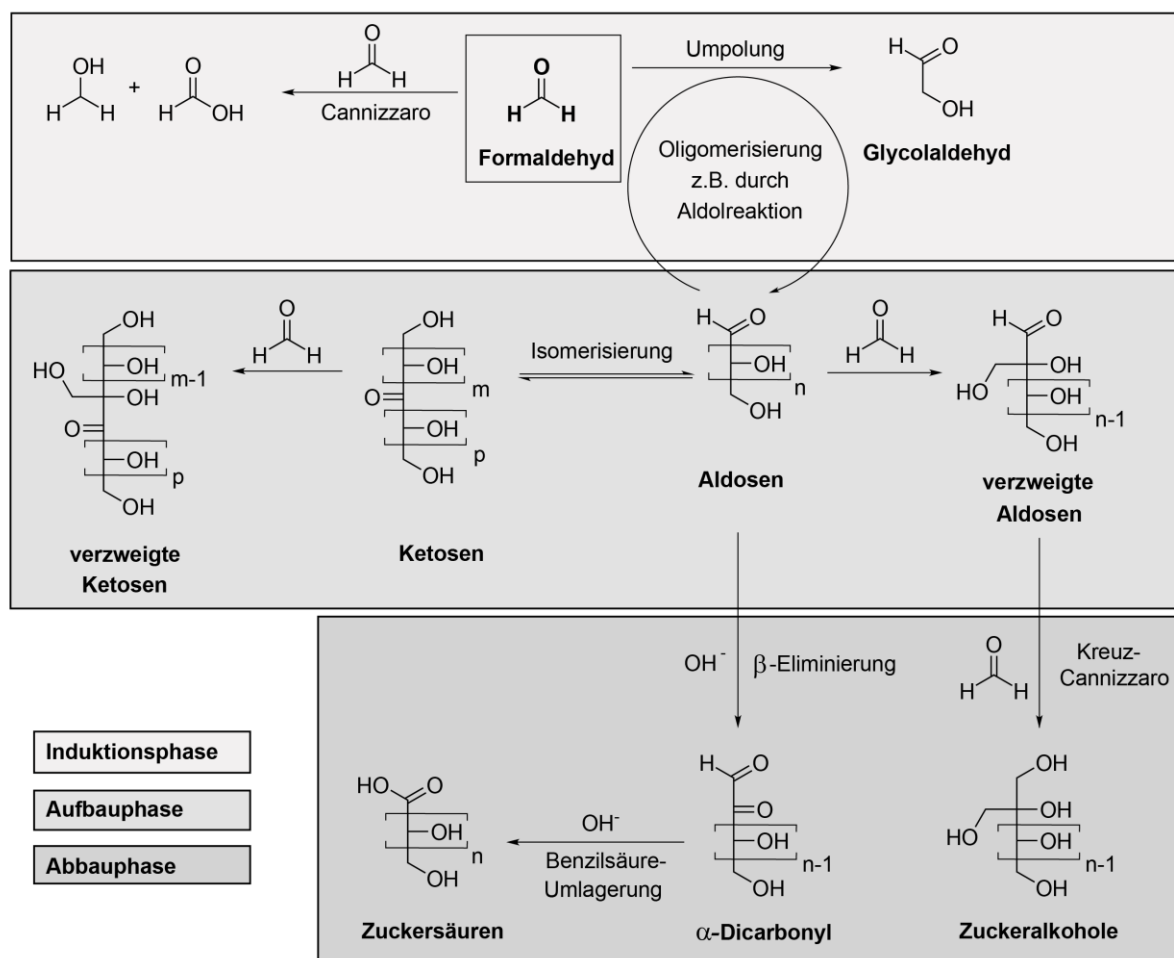
Schema 3-3: Aufbau von Aminonitrilen durch den Einsatz von Eisencyanidkomplexen in der Kugelmühle.

Wie zuvor gezeigt können für den Ursprung des Lebens wichtige Bausteine wie Aminosäuren und Peptide mechanochemisch aufgebaut werden. Im Folgenden ist die Synthese von Monosacchariden als weiterer essentieller Baustein zu untersuchen. Im Hinblick auf die präbiotische Synthese sind hierbei plausible Reaktanden mit einfacher Struktur erforderlich.

3.1.3 Der Aufbau von Monosacchariden

Die Formose-Reaktion

1861 berichtete Butlerow erstmalig von der Synthese einer zuckerartigen Substanz ausgehend von Formaldehyd in wässriger alkalischer Lösung.^[101] Fast 100 Jahre später postulierte Breslow einen ersten Mechanismus, welcher diese sogenannte Formose-Reaktion als Autokatalyse charakterisiert.^[102]



Schema 3-4: Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk einschließlich Induktions-, Aufbau- und Abbauphase.^[103-104]

Die Formose-Reaktion kann in drei Phasen unterteilt werden: Induktionsphase, Aufbau von Zuckern und Abbau der Formose-Kohlenhydrate (Schema 3-4). In der Induktionsphase läuft zunächst die Primärreaktion ab:^[105] die Dimerisierung von Formaldehyd zu Glycolaldehyd. Da dieser Vorgang aufgrund der kinetischen ungünstigen Umpolung des Formaldehyds langsam erfolgt, wird eine lange Induktionsphase beobachtet.^[106] Für die Dimerisierung wird neben dem nucleophilen Angriff von deprotoniertem Formaldehyd-Hydrat^[107] bzw. dem Carbanion von Formaldehyd^[108] auch ein Hydrid-Transfer^[109] diskutiert. Durch die Zugabe von Glycolaldehyd, Glycerinaldehyd oder Dihydroxyaceton kann die Induktionsphase

umgangen werden.^[102] Formaldehyd ist ein Elektrophil, welches eine Umpolung eingehen muss um mit sich selbst Reaktionen eingehen zu können. Durch die Zugabe nukleophiler Reaktionspartner können direkt Reaktionen ablaufen. Parallel zur Primärreaktion tritt als Nebenreaktion die Cannizzaro-Reaktion ein,^[105] wodurch Ameisensäure und Methanol gebildet werden.^[104]

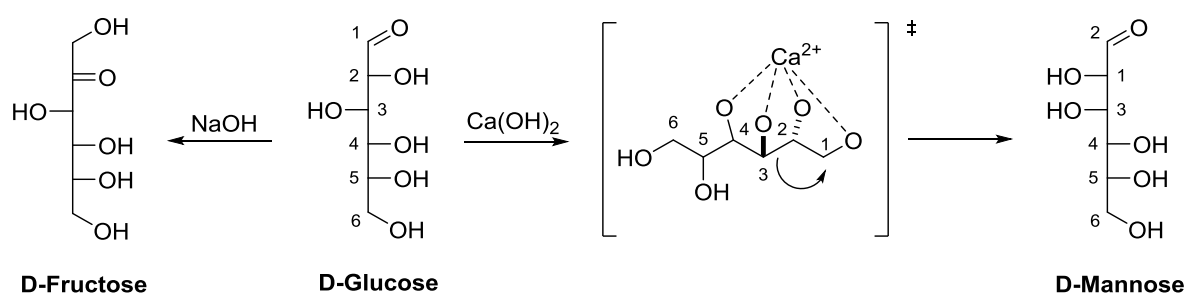
In der Aufbauphase manifestiert sich ein Netzwerk parallel ablaufender organischer Reaktionen (Schema 3-4). Neben Aldol- und Retroaldolreaktionen treten ebenfalls (Kreuz-) Cannizzaro-Reaktionen in Konkurrenz auf.^[110] Die Disproportionierung generiert durch den Verbrauch von Hydroxidionen Zuckeralkohole und Ameisensäure als Nebenprodukte.^[104] Zusätzlich laufen Epimerisierungen und Enolisierungen ab, wie beispielsweise die Lobry-de-Bruyn-Alberda-van-Ekenstein-Umlagerung.^[111-112] Durch diese Vielfalt an gleichzeitig ablaufenden Reaktionen baut sich ein komplexes Gemisch auf.

Startend mit Formaldehyd und Glycolaldehyd sind Monosaccharide, wie Triosen, Tetrosen, Pentosen und Hexosen, sowie höhere Zucker in dem Gemisch enthalten. Beobachtet wird die Präferenz von Pentosen über Hexosen und von Ketosen über Aldosen.^[113] Des Weiteren sind C5- und C6-Monosaccharide kinetisch stabiler, da sie aufgrund der möglichen Halbacetalstruktur eine höhere Aktivierungsbarriere gegenüber Aldolreaktionen aufweisen.^[114] Außerdem treten je nach Reaktionsbedingungen Nebenprodukte wie verzweigte Zucker,^[115] sowie Zuckeralkohole^[103, 115] und -säuren^[103] auf. Der Zeitpunkt, an dem Formaldehyd nahezu vollständig verbraucht wird bzw. beim Erreichen der Maximalkonzentration an Formose-Zuckern, wird aufgrund der charakteristischen Gelbfärbung der Reaktionslösung „Yellowing Point“ genannt.^[116] Darauf folgend nimmt der Zuckerabbau zu, bei dem ein brauner Teer gebildet wird. In der Abbauphase (Schema 3-4) laufen neben (Kreuz-)Cannizzaro-Reaktionen auch β -Eliminierungen ab, wodurch α -Dicarbonylverbindungen aufgebaut werden.^[104] Durch den Angriff von Hydroxidionen setzen Benzilsäure-Umlagerungen ein und Zuckersäuren werden erhalten. Zusätzlich werden Farbstoffe mit unbestimmter Struktur gebildet, welche für die Braunfärbung verantwortlich sind.^[117]

Trotz der hohen Komplexität des Produktgemisches kann durch Einstellen verschiedener Parameter (unter anderem Katalysator, Konzentration, Lösungsmittel und Temperatur) die Produktverteilung gesteuert werden. Bereits die anfängliche Formaldehyd-Konzentration nimmt Einfluss auf das Verhältnis von Formose- und Cannizzaro-Reaktionsprodukten in der Induktionsphase.^[107] Hierbei begünstigen niedrige Konzentrationen die Formose-Reaktion. Zeitgleich ist die an Zuckern aufgebaute Masse aufgrund der gewählten Formaldehyd-Konzentration gering.

Die eingesetzten Katalysatoren, die nachweislich in der Formose-Reaktion Aktivitäten zeigen, können in anorganisch, organisch und mineralisch unterschieden werden. Hydroxide, Oxide und Carbonate sind anorganische Katalysatoren. Darunter fällt Calciumhydroxid, die klassische Base der Formose-Reaktion. Beeinflusst wird die Aktivität der anorganischen Base vor allem durch ihr Kation und weniger durch ihren pK_b -Wert. Calcium-, Strontium-, Blei- und Thallium-Ionen weisen die höchsten Aktivitäten auf.^[117]

Das Gegenion steuert zusätzlich die Epimerisierung der Monosaccharide (Schema 3-5). Wird Glucose beispielsweise mit Natriumhydroxid versetzt, enthält das Produktgemisch viel Fructose und nur geringe Mengen an dem Epimer Mannose. Beim Einsatz von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ wird dagegen keine Fructose, sondern nur Mannose nachgewiesen.^[118] Der Mechanismus der gezielten Epimerisierung verläuft über ein 1,2-Shift, welcher ein starres Grundgerüst voraussetzt. Dieses kann durch Komplexbildung erreicht werden. Neben Calcium- gehen Nickel-, Strontium- und Lanthan-Ionen ebenfalls solche Komplexe ein.^[112]



Schema 3-5: Enolisierung und Epimerisierung von Glucose in Gegenwart verschiedener Hydroxide.

Bei zusätzlicher Zugabe von (Benzo-)Thiazoliumhalogeniden wird bevorzugt Dihydroxyacetone synthetisiert.^[119-121] Unter Verwendung organischer tertiärer Amine kann die Cannizzaro-Reaktion als Nebenreaktion vollständig unterdrückt werden.^[107] Mit Hilfe von Aluminosilikaten werden Zucker sogar in verdünnten, pH-neutralen Lösungen aufgebaut, jedoch bei Temperaturen um die 100°C.^[122]

Im Allgemeinen begünstigt eine erhöhte Temperatur die Formose-Reaktion gegenüber der Cannizzaro-Reaktion.^[104] Bei einer Temperatur von 98°C erfolgt vorrangig der Aufbau von Hexosen, wodurch das gesamte Formose-Gemisch vereinfacht wird.^[123]

Neben Wasser wurden andere protische Lösungsmittel in der Formose-Reaktion eingesetzt, darunter verschiedene Alkohole.^[117, 124] Beispielsweise wird die Reaktion durch Methanol und Isopropanol beschleunigt, mit Ethylenglycol und Glycerol tritt dagegen eine Verlangsamung ein. Beim Einsatz organischer Basen werden aprotische Lösungsmittel wie *N,N*-Dimethylformamid benötigt.^[125] Unter Bestrahlung basischer Formaldehyd-Lösung mit ultraviolettem

Licht^[126] oder γ -Strahlung^[127] wird der Aufbau von Pentaerythritol, einem verzweigten vierwertigen Alkohol, begünstigt.

Bezogen auf den Ursprung des Lebens stellt die Formose-Reaktion einen Weg zum Aufbau von Monosacchariden dar. Vor allem die Existenz von Formaldehyd als Vorläufermolekül ist durch elektrische Entladung^[128] oder UV-Strahlung^[129] plausibel.

Wie oben bereits beschrieben, liefert die Formose-Reaktion ein komplexes Zuckergemisch. Im Hinblick auf den Ursprung des Lebens ist der Aufbau von Ribose besonders interessant, da sie einen essentiellen Bestandteil von Nucleosiden und damit ein Vorläufermolekül der RNA darstellt. Die geringe Selektivität der Formose-Reaktion führt zu Ausbeuten von Ribose unter 1%.^[103] Dieses sogenannte „Ribose-Problem“ beschreibt zudem die geringe Stabilität von Ribose und anderen Monosacchariden unter Formosebedingungen und die damit einhergehende Problematik für die Verwendung als präbiotische Reaktanden.^[130] Einen Fortschritt brachte die Möglichkeit der Stabilisierung von Ribose sowohl mit Boraten^[114, 131] als auch mit Phosphaten^[113] (Abbildung 3-3).

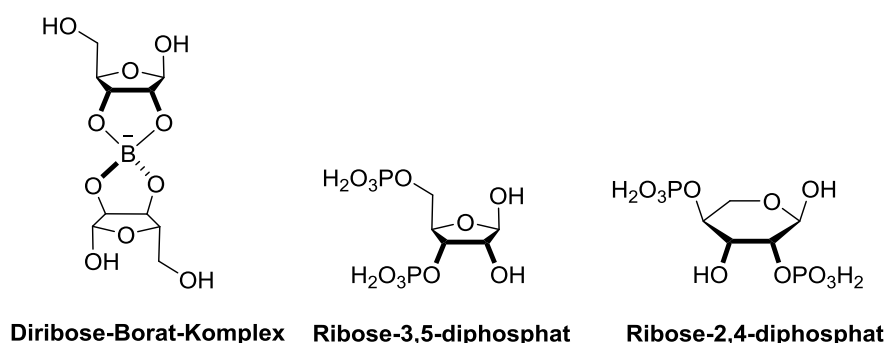


Abbildung 3-3: Strukturen der Ribose-Stabilisierung mit Boraten und Phosphaten.

Die Organokatalyse

Unter Organokatalyse wird die Beschleunigung einer chemischen Reaktion durch die Zugabe organischer, metallfreier Substanzen in substöchiometrischen Mengen verstanden.^[132] Mechanistisch verlaufen die Reaktionen eher wie Enzym- statt Metall-katalysierte Reaktionen.^[133] Vorteile sind zum Beispiel Kosten- und Energieersparnis, einfache Handhabung und Abfallreduzierung. Ein weiterer Vorzug ist die Verfügbarkeit von Vorläufern auf Grundlage natürlicher Ressourcen. So sind Organokatalysatoren gegenüber Sauerstoff und Luftfeuchtigkeit stabil, sowie ungiftig und umweltfreundlich.^[134]

Breite Anwendung findet die Organokatalyse für die Aldolreaktion. Die C-C-Knüpfungsreaktion stellt dabei eine gute Methode zum Aufbau von Kohlenhydratgerüsten dar.^[135]

Prolin (Abbildung 3-4) und seine Derivate (Prolin-Ester, Hydroxyprolin) katalysieren die Synthese von Tetrosen und Hexosen ausgehend von dimerisiertem oder geschütztem Glycolaldehyd in Dimethylformamid oder Wasser.^[136-137] Hierbei wurden nicht-lineare Effekte bezüglich des Enantiomerenüberschusses des Katalysators und des Produktes beobachtet. Für die aufgebauten Zucker wurden bis zu 99% *ee* realisiert, bei einem eingesetzten *ee* von 30-99%. Dieser große Bereich spricht für einen ausgeprägten positiven nicht-linearen Effekt.^[136]

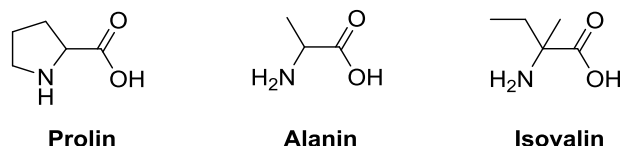
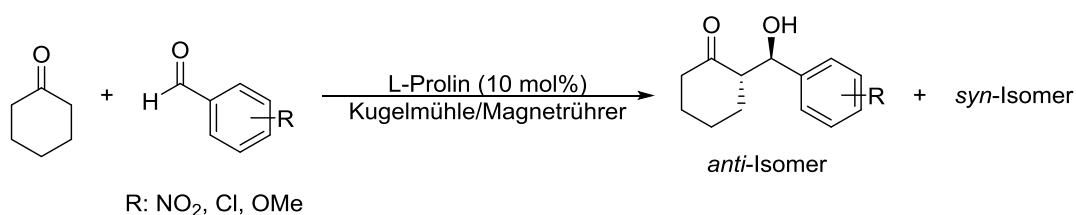


Abbildung 3-4: Erfolgreich eingesetzte Aminosäuren in der organokatalytische Aldolreaktion für den Zuckeraufbau.

Neben Prolin wurden weitere Aminosäuren als Organokatalysatoren eingesetzt. Pizzarello und Weber zeigten den Einfluss von Alanin und Isovalin (Abbildung 3-4) bei der asymmetrischen Synthese von Tetrosen in Wasser ausgehend von Glycolaldehyd.^[138] Alanin ist eine weitverbreitete Aminosäure, Isovalin dagegen die häufigste Aminosäure auf Meteoriten.^[138] Beim Einsatz der Aminosäuren in unterschiedlichen Enantiomerenüberschüssen wies Isovalin eine höhere Stereoselektivität als Alanin auf. Zwei Jahre später veröffentlichten Pizzarello und Weber die Peptid-katalysierte Zuckersynthese basierend auf der Selbstkondensation von Glycolaldehyd in Wasser.^[139] Als Katalysatoren wurden Dipeptide, bestehend aus einer Vielzahl von β -verzweigten und unverzweigten Aminosäuren, eingesetzt. Von den aufgebauten Tetrosen zeigte unter Verwendung von dem Dipeptid L-Val-L-Val die Erythrose mit 80% *ee* den größten asymmetrischen Effekt.



Schema 3-6: Lösungsmittelfreie L-Prolin-katalysierte Aldolreaktion.^[140]

Bolm *et al.* untersuchten die asymmetrische Organokatalyse in der Kugelmühle. Die Prolin-katalysierte Aldolreaktion verknüpfte Cyclohexanon mit Benzaldehydderivaten (Schema 3-6). Die Ergebnisse wurden bezüglich Ausbeute und Stereoselektivität mit mechanochemischen Ansätzen im Kolben verglichen.^[140] Die Durchmischung im Kolben wurde mit Hilfe eines Magnetrührers realisiert. Sowohl Ausbeuten als auch Stereoselektivitäten konnten Werte von bis zu 99% annehmen. Die Reaktionszeit in der Kugelmühle (5-36 h) war im Vergleich zum Magnetrührer (16-96 h) deutlich geringer.

3.1.4 Analytik von Monosacchariden

Zucker gehören zur Klasse der Kohlenhydrate und können in Mono-, Di-, Oligo- und Polysaccharide unterteilt werden. In diesem Abschnitt soll sich auf die Analytik der Monosaccharide konzentriert werden, da sie nicht nur als Produkte in der Formose-Reaktion auftreten, sondern auch die ersten Zuckerbausteine in Bezug auf den Ursprung des Lebens darstellen.

Die Struktur der Monosaccharide

Monosaccharide können nach verschiedenen Gesichtspunkten klassifiziert werden. Je nach Carbonylfunktion können Aldosen und Ketosen unterschieden werden. Ebenso kann die Kettenlänge der Kohlenstoffatome die Einfachzucker in Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen, Heptosen usw. unterteilen. Da laut Definition ein Monosaccharid mindestens aus drei C-Atomen bestehen muss, gehört Glycolaldehyd als Diose offiziell nicht zur gleichen Stoffklasse. Dennoch besitzt Glycolaldehyd die typischen funktionellen Gruppen und liegt als ringförmiges Dimer vor, vergleichbar mit Glycerinaldehyd. Die Carbonylgruppe der höheren Zucker, wie Pentosen und Hexosen, kann mit einer Hydroxygruppe eine Halbacetalbindung aufbauen und so eine intramolekulare Ringstruktur eingehen. Insgesamt können bis zu fünf Strukturen im Gleichgewicht vorliegen: offenkettig, Furanose- und Pyranoseform, jeweils mit α - oder β -C-Atom. Hinzu kommt die Variation in der räumlichen Anordnung der Hydroxygruppen, wodurch sich eine Vielzahl an Stereoisomeren ergibt. Bei der alleinigen Betrachtung von Aldoheptosen sind bereits 16 Stereoisomere möglich, welche als 80 Konstitutionsisomere vorliegen können. Die Monosaccharide stellen folglich eine hoch komplexe Stoffklasse dar. In den bisherigen theoretischen Untersuchungen wurde nur von linearen Monosacchariden ausgegangen und die verzweigten wurden nicht betrachtet.^[141]

Reaktionen, wie beispielsweise die Formose-Reaktion, liefern komplexe Zuckergemische, welche eine Herausforderung für die analytische Chemie darstellen. Das wesentliche Problem ist die Vielzahl an strukturell ähnlichen Reaktionsprodukten. Zusätzlich sind wenige Standardzucker als Referenz zugänglich. Außerdem besitzen verschiedene Zucker aufgrund der gleichen Summenformel das gleiche exakte Molekulargewicht, wodurch eine massenspektrometrische Aufklärung nur hinsichtlich der Kettenlänge das Produktgemisch auflösen kann. Charakteristische Fragmente lassen allerdings Aussagen über Aldosen beziehungsweise Ketosen zu. Die vollständige Aufklärung kann durch die Kombination von Trennmethoden und etablierten Detektoren erfolgen.

Analytische Aufklärung mit Hilfe der Flüssigkeitschromatographie

Monosaccharide sind polare, hydrophile und wenig flüchtige Verbindungen. Daher bietet sich die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) im Modus der Umkehrphase (RP) an. Gekoppelt werden kann dieses System entweder mit einem Brechungsindex- oder mit einem Lichtstredetektor. Beide sind jedoch wenig sensitiv und daher für komplexe Gemische ungeeignet.^[142] Durch den Einbau eines Chromophors können Monosaccharide als UV-Licht absorbierende Substanzen detektiert werden. Anwendungen finden beispielsweise Benzoylchlorid (BzCl),^[143] 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazol (PMP)^[142] und 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH)^[144-145] (Abbildung 3-5).

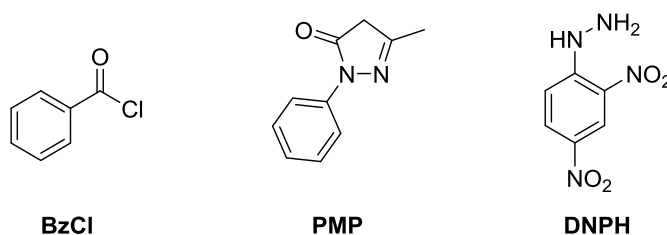


Abbildung 3-5: Derivatisierungsreagenzien zur Einführung eines Chromophors.

DNPH zeichnet sich durch die einfache Handhabung und schnelle Derivatisierung in Wasser aus. Die aufgebauten Hydrazone beschreiben *E/Z*-Isomere der linearen Monosaccharide, so dass eine Peakreduzierung durch die Derivatisierung erfolgt. Da Monosaccharide eine Vielzahl an Isomeren gleicher Kohlenstoffkettenlänge aufweisen, darunter Aldosen und Ketosen sowie Verzweigungen, zeigen höhere Zucker ab Tetrosen vermehrt Peaküberlappungen und eine vollständige Trennung ist nicht gegeben.^[143, 145] Unter Zuhilfenahme gekoppelter Massenspektrometer ESI-MS/MS wurde auch die Trennung höherer Monosaccharide realisiert.^[142] Diese Trennung beruhte jedoch auf extrahierten Ionenchromatogramme und nicht auf der UV-Spur.

Analytische Aufklärung mit Hilfe der Gaschromatographie

Mit der Gaschromatographie (GC) können leicht flüchtige Verbindungen untersucht werden, die unzersetzt verdampfbar sind. Die hydrophilen Zuckermischungen können die notwendige Volatilität durch Derivatisierung erhalten. Zur Derivatisierung werden Hydroxygruppen mittels Alkylierung,^[143, 146] Silylierung^[147-149] sowie (Trifluor)-Acetylierung^[150-151] modifiziert. Durch das alleinige Derivatisieren der Hydroxygruppen bleiben die Strukturisomere erhalten und eine Vielzahl an Signalen wird für ein einzelnes Monosaccharid detektiert. Abhilfe schafft die vorangestellte Derivatisierung der Carbonylfunktion, wodurch die intramolekulare Ringbildung inhibiert wird. Eine andere Methode besteht in der Reduktion der

Carbonylgruppe. Dadurch wird eine weitere Hydroxygruppe eingeführt und ein Alditol erhalten. Nachteilig an dieser Vorgehensweise ist der Informationsverlust, da zum Beispiel sowohl D-Glucose als auch L-Gulose zu D-Sorbit reduziert werden. Eine Unterscheidung ist nicht mehr möglich. Die Reduktion von Ketosen baut dagegen durch ein neu eingeführtes Stereozentrum zwei Alditole auf. Insgesamt kann keine eindeutige Zuordnung von Alditol auf Aldose bzw. Ketose erfolgen.^[141] Diese Problematik kann durch Oximierung umgangen werden. Durch die Überführung in Oxime wird die Monosaccharidstruktur in die offenkettige Form gezwungen, welche jedem Zucker eindeutig zugordnet werden kann. Dennoch werden pro Monosaccharid zwei Signale für die *E/Z*-Isomere erwartet.^[152] Bisher wird Hydroxylamin-Hydrochlorid (HACl)^[147, 149] neben *O*-substituierten Hydroxylaminen erfolgreich eingesetzt.^[151, 153-155] Im Vergleich zu den substituierten Hydroxylaminen wird HACl bei der darauffolgenden Derivatisierung der Hydroxygruppen ebenfalls geschützt.

Die durch Silylierung aufgebauten Trimethylsilylether besitzen eine hohe Flüchtigkeit und sind thermisch stabil. Diese für die GC notwendigen Eigenschaften erklären die verbreitete Anwendung der Silylierung und die Vielfalt an entsprechenden Reagenzien (Abbildung 3-6).^[148] 1963 wurde diese Derivatisierungsmethode für Zucker erstmals von Sweeley *et al.* beschrieben.^[147]

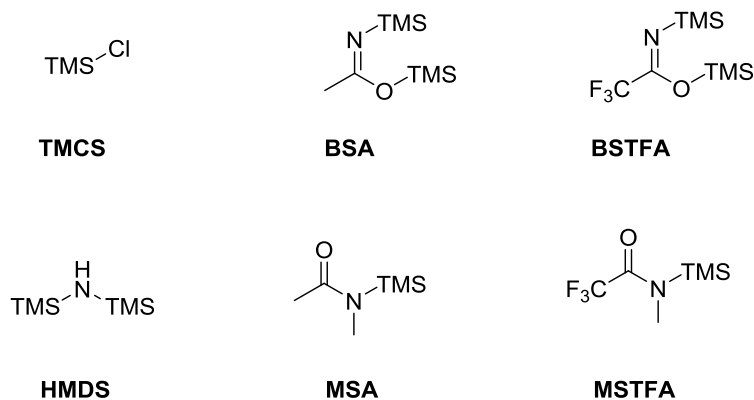
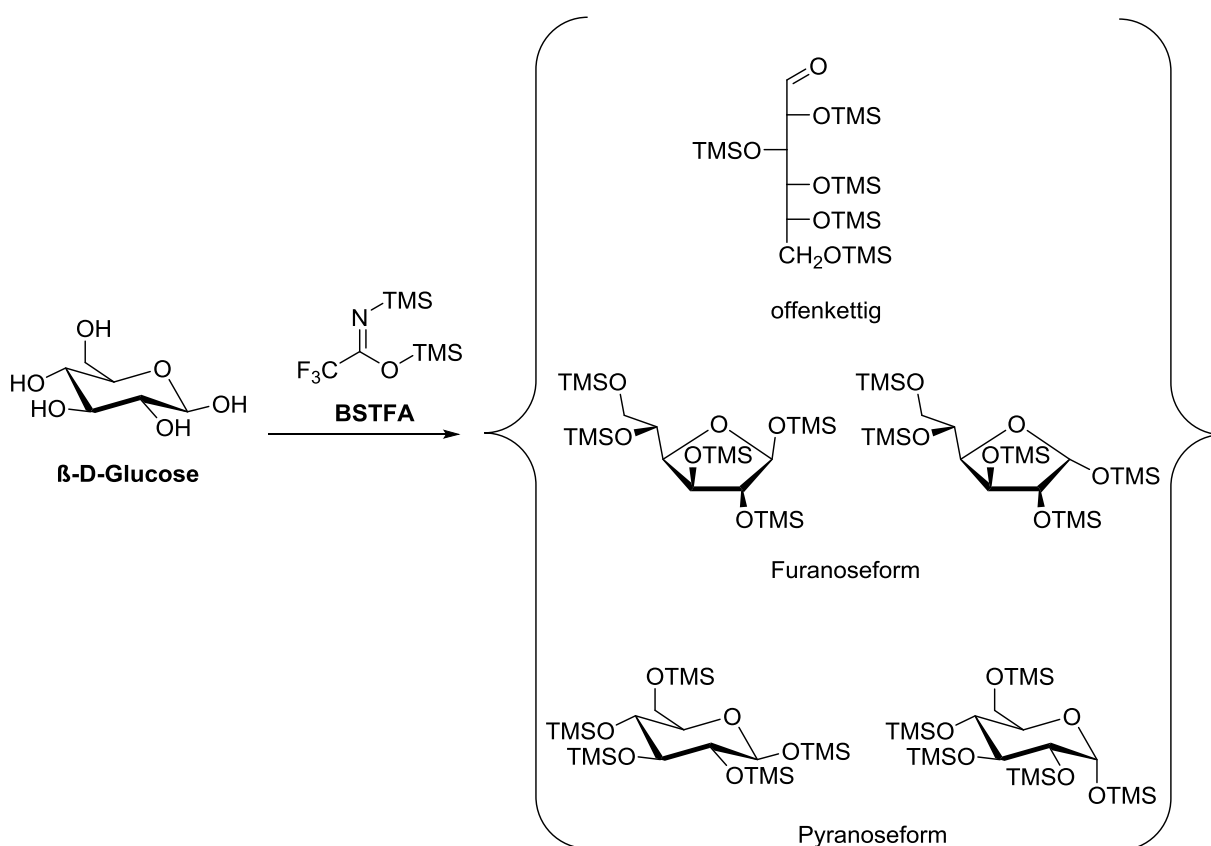


Abbildung 3-6: Gebräuchliche Silylierungsmittel.

Trimethylchlorosilan (TMCS) ist das älteste Silylierungsmittel und wurde 1944 von Sauer zur Silylierung von Alkoholen eingesetzt.^[156] Trotz seiner schwachen Reaktivität findet es breite Anwendung als Komponente bzw. Katalysator in Silylierungsgemischen.^[157] Hexamethyldisilazan (HMDS) beispielsweise kann in Kombination mit TMCS oder TFA Monosaccharid-oxime silylieren.^[149, 157-158] *N*-Methyl-*N*-trimethylsilylacetamid (MSA)^[159] und *N*,*O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA),^[160] sowie ihre Trifluormethylanaloga *N*-Methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamid (MSTFA)^[161] und *N*,*O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (BSTFA),^[162] unterscheiden sich nur leicht hinsichtlich ihrer Reaktivität, Stabilität gegenüber Feuchtigkeit

und der Volatilität der gebildeten Nebenprodukte. BSTFA ist heutzutage das Standard-Silylierungsreagenz.^[155]

Bei der direkten Silylierung mit BSTFA entsteht aus einem einzelnen Zucker bereits eine komplexe Mischung. Die derivatisierten Monosaccharide liegen weiterhin im Gleichgewicht ihrer verschiedenen Strukturen vor: offenkettig, als Furanose oder Pyranose, jeweils als α - oder β -Anomer (Schema 3-7). Diese Komplexität kann wie bereits erwähnt durch Oximierung im ersten Schritt umgangen werden.



Schema 3-7: Komplexes Gemisch nach der Derivatisierung von β -D-Glucose mit BSTFA.

Zweckmair *et al.* verwendeten BSTFA für die Derivatisierung ausgewählter Pentosen und Hexosen.^[163] Durch die zuvor erfolgte Oximierung wurden pro Monosaccharid zwei Signale erhalten. Eine nahezu vollständige Trennung wurde bei den Hexosen realisiert, dagegen zeigten die zwei Pentosen deutliche Überlappungen (Abbildung 3-7).

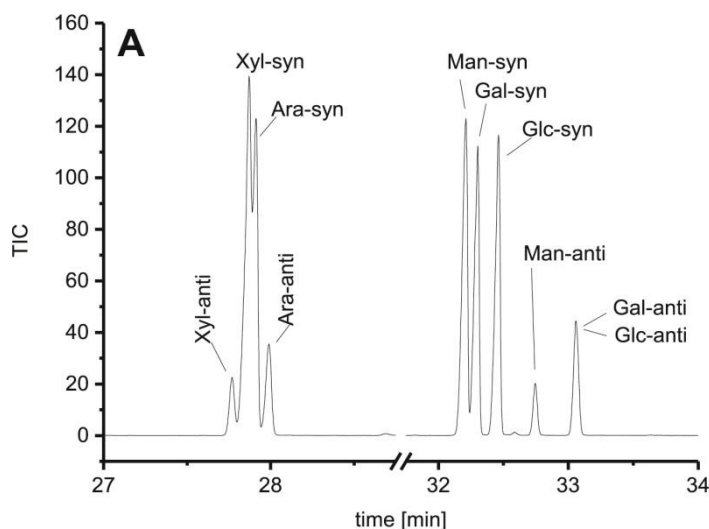


Abbildung 3-7: GC-Trennung von ausgewählten Pentosen und Hexosen nach Oximierung und Silylierung auf einer VF1701-MS-Säule (14% Cyanopropyl bzw. -phenyl, 86% Polydimethylsiloxan). Abbildung aus Referenz [163] (Copyright Elsevier-Verlag 2017).

Als Lösungsmittel für die Derivatisierung wird Pyridin genutzt. Durch das basische Milieu kann gebildete HCl direkt abgefangen werden, Nebenreaktionen werden minimiert und die Stabilität der Silylierungsprodukte steigt.^[155]

Neben silylierten Monosacchariden besitzen die analogen Trifluoracetate ebenfalls eine erhöhte Flüchtigkeit. Diese in der GC etablierte Derivatisierungsmethode weist eine ähnliche Vielzahl an Reagenzien auf (Abbildung 3-8). Anfänglich wurde das Anhydrid der Trifluoressigsäure (TFAA) eingesetzt, welches jedoch aufgrund der hohen Reaktivität vermehrt Nebenreaktionen eingeht. Auch die Verwendung von Trifluoracetylimidazol (TFAI) zeigt zusätzliche Signale.^[164] Allgemein sind die Reagenzien sehr korrosiv, da während der Derivatisierung TFA frei wird. Ein Aufarbeitungsschritt zur Entfernung der TFA vor der GC-Messung ist unumgänglich.^[165] *N*-Methylbis(trifluoracetamid) (MBTFA)^[166] reagiert dagegen schnell und vollständig. Außerdem sind die Nebenprodukte inert und gleichermaßen flüchtig.^[151]

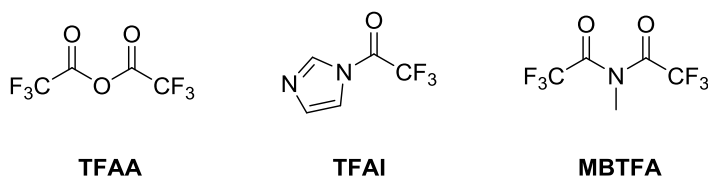


Abbildung 3-8: Gebräuchliche Derivatisierungsreagenzien zur Trifluoracetylierung.

Kürzlich zeigten Zweckmair *et al.* eine erfolgreiche GC-Trennung von fünf Monosacchariden (Pentosen und Hexosen), welche als trifluoracetylierte Zuckeroxime vorlagen (Abbildung 3-9).^[163]

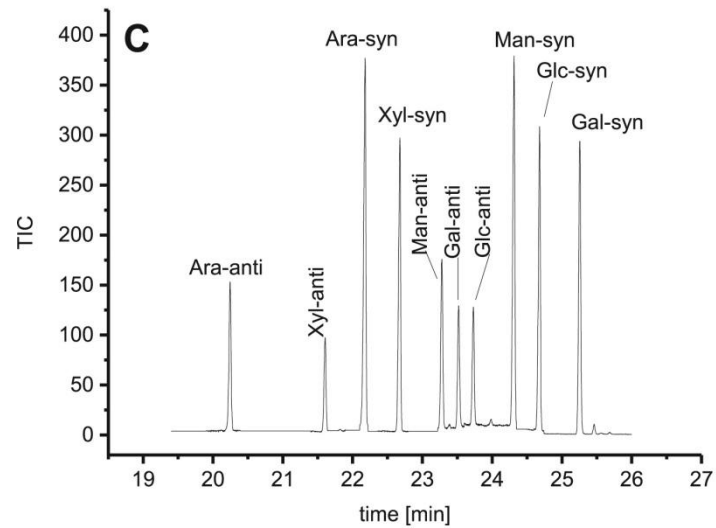


Abbildung 3-9: GC-Trennung von ausgewählten Pentosen und Hexosen nach Oximierung und Trifluoracetylierung auf einer VF1701-MS-Säule (14% Cyanopropyl bzw. -phenyl, 86% Polydimethylsiloxan). Abbildung aus Referenz [163] (Copyright Elsevier-Verlag 2017).

3.2 Zielsetzung

Für die chemische Evolution werden die verschiedensten Reaktionsszenarien diskutiert (Kapitel 3.1.1), darunter hydrothermale Systeme und Nass-Trocken-Zyklen. Die Grundlage für den Aufbau biologisch-relevanter Moleküle stellen Kondensationsreaktionen dar, obwohl diese in Wasser thermodynamisch ungünstig sind. Daher bieten lösungsmittelfreie Ansätze, wie beispielsweise die mechanochemische Synthese von Aminosäuren in der Kugelmühle,^[100] eine interessante Alternative. Präbiotisch könnten solche Festphasenreaktionen durch vollständiges Austrocknen von Oberflächengewässern aufgetreten sein. Lithosphärische Aktivitäten oder meteoritische Einschläge ermöglichten einen zusätzlichen mechanischen Kraftbeitrag.

Von diesen Erkenntnissen motiviert soll die mechanochemische Zuckersynthese untersucht werden. Aus dem Formose-Netzwerk wird zunächst ein Ausschnitt basierend auf Glycolaldehyd betrachtet. Begonnen werden soll mit Festphasenreaktionen ohne äußeren Kraftbeitrag, welche im nächsten Schritt mit Reaktionen in der Kugelmühle verglichen werden. Der mechanochemische Zuckeraufbau soll hinsichtlich seiner mechanischen und chemischen Parameter evaluiert werden und abschließend der klassischen Aldolreaktion in Wasser gegenübergestellt werden. Des Weiteren wird für die Zuckersynthese eine organokatalytische Aldolreaktion mit L-Prolin untersucht. Hierbei sollen die in dem mechanochemischen Formose-Netzwerk angepassten Parameter genutzt und die chemischen Parameter des Organokatalyse-Systems studiert werden. Interessant ist die Untersuchung des Enantiomerenüberschusses der aufgebauten Zucker durch den Einsatz eines enantiomerenreinen Katalysators.

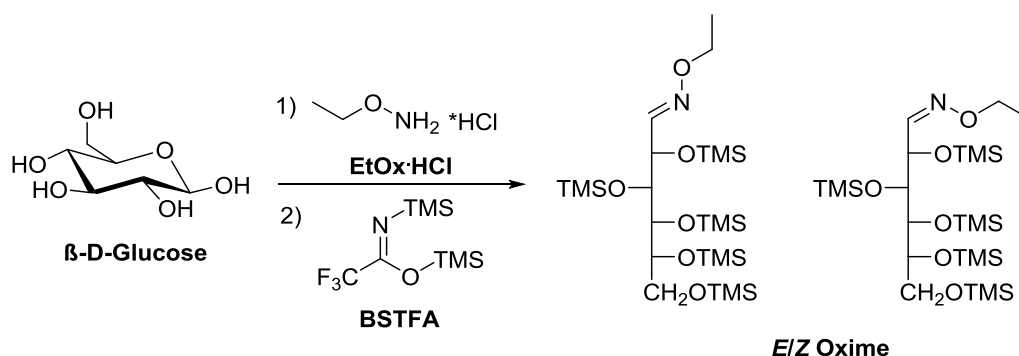
Grundlage für die Untersuchung der oben beschriebenen Reaktionen ist die Zuckeranalytik. Bisherige Trennmethode für komplexe Monosaccharid-Mischungen liefern aber nicht die nötige Auflösung um Isomere einer homologen Gruppe zu trennen oder einzelne Monosaccharide zu identifizieren. Daher soll im ersten Schritt eine Trennmethode für komplexe Mischungen wie das Formose-Netzwerk entwickelt werden.

3.3 Derivatisierung und Trennung von Monosacchariden¹

Für die Auftrennung von Zuckergemischen wurde als Methode die Gaschromatographie gewählt, da diese die notwendige Sensitivität, Auflösung und Reproduzierbarkeit für komplexe Gemische, auch für Komponenten im Bereich der Spurenanalytik, liefert. Wie bereits in Kapitel 3.1.4 beschrieben, müssen zur Erhöhung der Volatilität die Hydroxygruppen derivatisiert werden. Bei alleiniger Silylierung entstehen für einen Zucker mehrere Signale. Veranschaulicht wurde diese Vielfalt am Beispiel der β -D-Glucose bereits in Schema 3-7. Der silylierte Zucker besaß nun zwar die benötigte erhöhte Flüchtigkeit, aber zeigte eine Mehrzahl an Peaks während der gaschromatographischen Trennung (Abbildung 3-10). Eine eindeutige Zuordnung der einzelnen Peaks wäre in komplexeren Zuckerproben nahezu ausgeschlossen.

3.3.1 Oximierung und Silylierung

Solche komplexen Gemische konnten durch den Aufbau von Oximen unterdrückt werden. Vor dem Silylierungsschritt wurde die Carbonylgruppe mit Hydroxylamin-Hydrochlorid (HACl) bzw. *O*-Ethylhydroxylamin-Hydrochlorid (EtOx·HCl) in das entsprechende Oxim umgewandelt, so dass ausschließlich die offenkettige Form erhalten wurde (Schema 3-8). Durch anschließende Derivatisierung mit BSTFA wurden Trimethylsilylether erhalten. Pro Zucker ergab sich nun eine reduzierte Anzahl an Isomeren von jeweils zwei Oximen, die *E*- und *Z*-Form.



Schema 3-8: Oximbildung von β -D-Glucose mit EtOx·HCl und darauffolgender Silylierung mit BSTFA.

Es konnte eine vollständige Trennung der zwei silylierten Glucose-Oxime gezeigt werden (Abbildung 3-10). Die silylierte Glucose zeigte insgesamt fünf Peaks, drei Hauptpeaks und zwei kleine, unvollständig getrennte Peaks. Die reduzierte Peak-Anzahl durch die Einführung der Oxim-Gruppe wurde deutlich. Die unterschiedlichen Retentionszeiten wurden auf die veränderten Molekülstrukturen zurückgeführt.

¹ Das folgende Projekt der „Optimierten Trennung von Monosacchariden“ wurde in Zusammenarbeit mit Maren Haas (AK Trapp, LMU) erarbeitet.[167] M. Haas, S. Lamour, O. Trapp, *Journal of Chromatography A* **2018**, *1568*, 160-167.

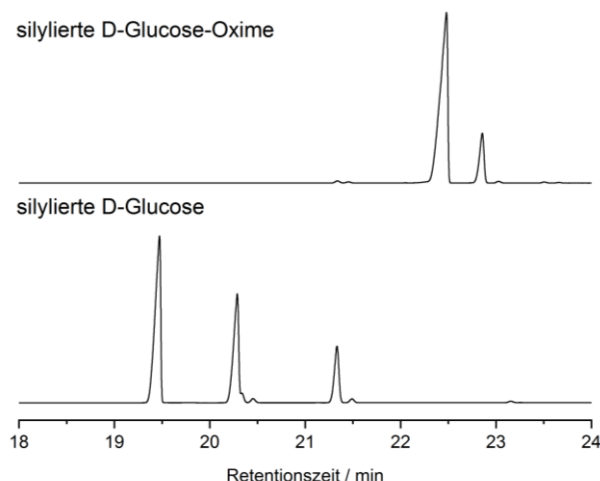
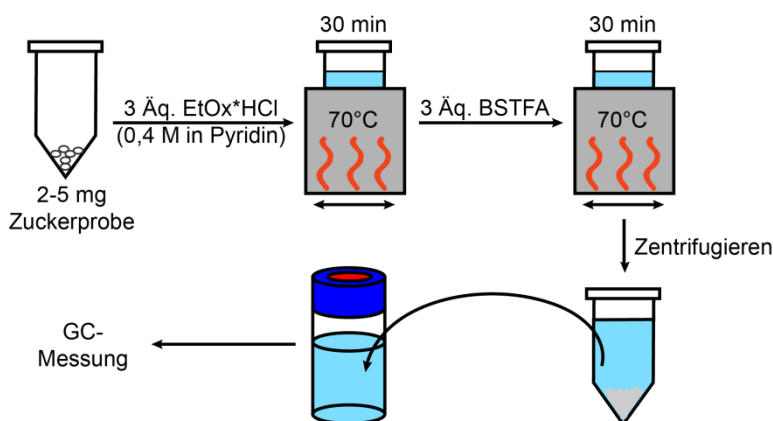


Abbildung 3-10: Vergleich zweier Chromatogramme. Oben: Glucose-Oxim-Peaks nach der Derivatisierung mit EtOx·HCl und BSTFA. Unten: Glucose-Peaks nach der Derivatisierung mit BSTFA. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.

Um eine vollständige Derivatisierung zu garantieren wurden die zwei Derivatisierungsschritte auf folgende Parameter hin untersucht: Äquivalente, Dauer und Temperatur.^[168-169] Bei unvollständigem Umsatz wurden zusätzliche Peaks beobachtet, welche die Komplexität einer Zuckermischung zusätzlich erhöht und quantitative Aussagen erschwert hätten. Für eine optimale Derivatisierung wurden für eine Zuckerprobe (2–5 mg) die Reagenzien mit mindestens drei Äquivalenten², EtOx·HCl bezogen auf die Carbonylfunktion und BSTFA bezogen auf die Hydroxyfunktion, eingesetzt. Für beide Schritte wurden Temperaturen von 70°C für jeweils 30 min gewählt (Schema 3-9).



Schema 3-9: Schema zur Derivatisierung von Zuckergemischen mit EtOx·HCl und BSTFA.

² 3 Äq. EtOx·HCl wurden für 2 mg Glycolaldehyd und 5 mg Aldohehexose ermittelt. 3 Äq. BSTFA sind bezogen auf 5 mg Aldohehexose. Die gleiche Menge an BSTFA entsprechen sogar 5 Äq. bezogen auf 5 mg Glycolaldehyd. Bei Monosaccharidgemischen ist eine genaue Angabe der Äquivalente der Derivatisierungsreagenzien nicht möglich. Wichtig ist eine geringe Probenmenge, wodurch ein Überschuss an EtOx·HCl und BSTFA sichergestellt wird.

Mit Hilfe der entwickelten Derivatisierungsmethode konnte eine komplette Bibliothek linearer Monosaccharide auf einer SE-52-Säule (Poly(methylphenylsiloxan) mit 5% Phenylgruppen) getrennt werden (Abbildung 3-11). Es wurde ein Temperaturprogramm gewählt, startend bei 50°C und über zwei verschiedene Temperaturrampen bei 240°C endend, um eine höchstmögliche Trennung bei gleichzeitiger zeitlicher Effizienz der Methode zu gewährleisten. Mit dieser Methode wurden die Zuckerstandards, angefangen von Glycolaldehyd (GA) über Aldosen und Ketosen bis hin zu den Heptosen in definierten Retentionsbereichen separiert. Glycolaldehyd sowie die Triosen Glycerinaldehyd (Gly) und Dihydroxyaceton (DHA) wurden vollständig als *E/Z*-Isomere aufgetrennt. Als Ausnahme zeigte Dihydroxyaceton aufgrund seines symmetrischen Aufbaus nur einen Oxim-Peak. Trotz Überlappung im Bereich der Tetrosen konnte zu jedem Monosaccharid ein Peak der beiden Oxim-Isomere detektiert werden. Eine eindeutige qualitative und quantitative Zuordnung war gegeben. Mit steigender Kohlenstoffanzahl der Zucker und der daraus größer werdenden Anzahl an Isomeren wurde zunehmend mehr Peaküberlappung beobachtet. Innerhalb der Hexosen bestand eine gute Trennung zwischen Aldosen und Ketosen. Für die Heptosen wurde exemplarisch Galactoheptose (Gah) derivatisiert, sodass der ungefähre Retentionsbereich abgeschätzt werden konnte.

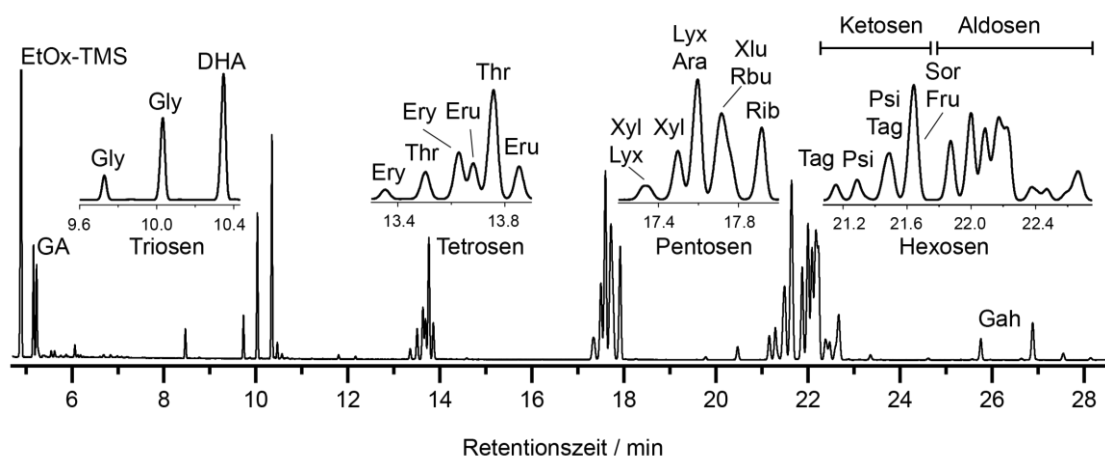


Abbildung 3-11: Chromatogramm der Monosaccharid-Bibliothek nach der Derivatisierung mit EtOx:HCl und BSTFA. GA - Glycolaldehyd, Gly - Glycerinaldehyd, DHA - Dihydroxyaceton, Ery - Erythrose, Thr - Threose, Eru - Erythrose, Xyl - Xylose, Lyx - Lyxose, Ara - Arabinose, Xlu - Xylulose, Rbu - Ribulose, Rib - Ribose, Tag - Tagatose, Psi - Psicose, Sor - Sorbose, Fru - Fructose, Gah - Galactoheptose. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.

Durch die Methode der Oximbildung mit anschließender Silylierung bestand die Möglichkeit ganzheitliche Aussagen über die in der Probe vorliegenden Klassen an Monosacchariden zu treffen, qualitativ und quantitativ. Eine Vielzahl an Zuckern konnte eindeutig qualitativ zugeordnet werden. Zusätzlich wurde ein effektiver Probendurchsatz ermöglicht, da die Trennung der Monosaccharid-Klassen innerhalb einer 30-minütigen GC-Messung realisiert werden konnte.

Abschließend wurde die Unterscheidung zwischen Aldosen, Ketosen und ihrer jeweiligen oxidierten und reduzierten Form ermöglicht. Als Beispielsystem wurden Glucose, Fructose, Gluconsäure und Sorbitol eingesetzt. Der erste Schritt der Derivatisierung wurde parallel mit HAcI und EtOx·HCl durchgeführt. Danach folgte die Silylierung mit BSTFA. Die freie Carbonylgruppe der Aldose und Ketosen wurde unterschiedlich derivatisiert, zum einen als silyliertes Oxim und zum anderen als *O*-alkyliertes Oxim. Diese Produkte wiesen bei gleichen Trennbedingungen unterschiedliche Retentionszeiten auf (Abbildung 3-12). Die oxidierte Form der Carbonsäure weist formal eine Carbonylgruppe auf, welche jedoch mesomeriestabilisiert ist. Daher trat keine Oximbildung auf, beide Derivatisierungsansätze resultierten in der reinen Silylierung und keine Peakverschiebung wurde beobachtet. Identisch verlief die parallele Derivatisierung des Alditols ab. Da diese reduzierte Form keinerlei Carbonylgruppen beinhaltet, wurden letztendlich nur die Hydroxygruppen silyliert. Sorbitol eluierte daher einen einzelnen Peak. Die drei Peaks der Gluconsäure konnten auf die offenkettige Carbonsäure sowie die ringförmigen Lactonformen zurückgeführt werden. Diese Methode kann zum einen für die Unterscheidung verwendet werden und zum anderen für den Nachweis einer freien Carbonylgruppe in einem Molekül.

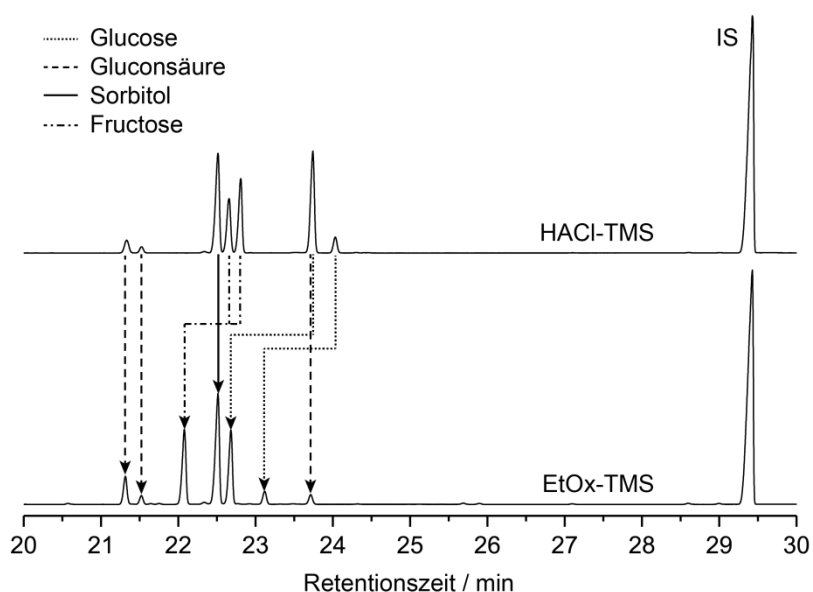
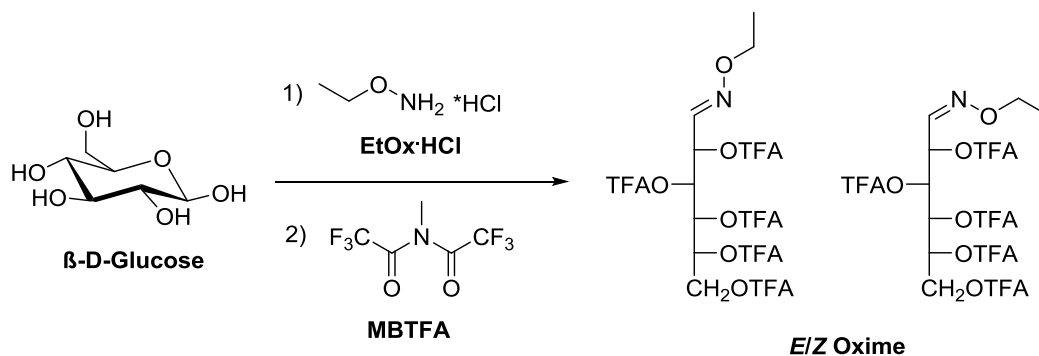


Abbildung 3-12: Vergleichende GC-Trennungen zweier Derivatisierungsprodukte, HAcI-TMS und EtOx-TMS. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.

3.3.2 Oximierung und Trifluoracetylierung

Neben der Silylierung ist die Trifluoracetylierung eine etablierte Derivatisierungsmethode in der Gaschromatographie.^[150-151] Nach dem Einführen des Oxims wurden die Hydroxygruppen mit *N*-Methyl-bis(trifluoroacetamid) (MBTFA) derivatisiert. Auch diese Vorgehensweise erfolgte mit drei Äquivalenten MBTFA bezogen auf die Hydroxygruppen³, bei 70°C für jeweils 30 min und resultierte ebenfalls in zwei Oximen pro Zucker (Schema 3-10).



Schema 3-10: Oximbildung von β -D-Glucose mit EtOx·HCl und darauffolgender Trifluoracetylierung mit MBTFA.

Diese Methode ist jedoch nicht so universell einsetzbar wie die Silylierung, da die Ketosen nicht zuverlässig nachgewiesen werden konnten. Ein Problem könnte die während der Derivatisierung gebildete HCl sein, welche Kohlehydrate zu Hydroxycarbonsäuren zersetzt. Abhilfe sollte der Zusatz von Base in Form von Natrium- oder Kaliumcarbonat schaffen.^[163] Dennoch wurden keine wiederholbaren Resultate produziert.

Zuverlässig ist die Derivatisierung der Aldosen mit EtOx·HCl und MBTFA. Auf einer OV-225-Säule (50% Cyanopropylmethyl, 50% Phenylmethylpolysiloxane) konnten 15 lineare Aldosen der Monosaccharid-Bibliothek erfolgreich getrennt werden (Abbildung 3-13). Trotz Peaküberlappung im höheren Zuckerbereich konnte von allen Aldosen (mit Ausnahme von Gulose) mindestens ein Oximpeak basisliniengetreunt werden. Somit können nicht nur qualitative, sondern auch quantitative Aussagen über die einzelnen Aldosen getroffen werden (Kapitel 3.3.3).

³ 3 Äq. MBTFA sind bezogen auf 5 mg Aldohehexose. Die gleiche Menge an MBTFA entsprechen sogar 5 Äq. bezogen auf 5 mg Glycolaldehyd.

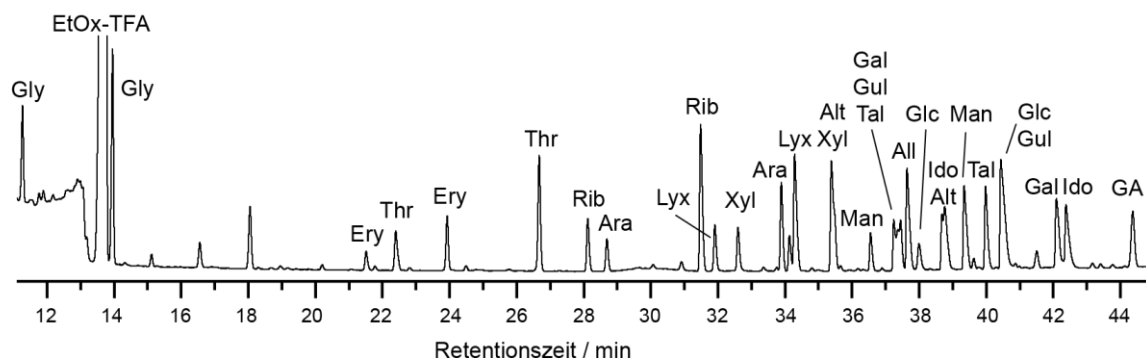


Abbildung 3-13: Trennung von 15 linearen Aldosen nach der Derivatisierung mit EtOxHCl und MBTFA. Gly – Glycerinaldehyd, Ery – Erythrose, Thr – Threose, Rib – Ribose, Ara – Arabinose, Xyl – Xylose, Lyx – Lyxose, Man – Mannose, Alt – Altrose, Gal – Galactose, Gul – Gulose, Tal – Talose, All – Allose, Glc – Glucose, Ido – Idose, GA – Glycolaldehyd. Messbedingungen: Trennsäule OV-225, 30 m, 0,25 mm ID x 0,25 μ m FD; 80°C (5 min), 2 K/min auf 160°C, 10 K/min auf 200°C (12 min); He p=80 kPa.

3.3.3 Quantifizierung

Für die Quantifizierung der Zuckerproben wurde ein interner Standard (IS) etabliert. Dieser sollte ähnliche strukturelle Eigenschaften wie die zu untersuchenden Moleküle aufweisen. Einerseits konnte eine vollständige Derivatisierung überprüft werden, andererseits könnten mögliche Schwankungen bei der Injektion an der GC ausgeglichen werden. In der Literatur wurden bereits verschiedene Substanzen in der Zuckeranalytik als IS eingesetzt, darunter Methyl- β -D-Galactopyranosid^[170] und Phenyl- β -D-Glucopyranosid^[158] (Abbildung 3-14).

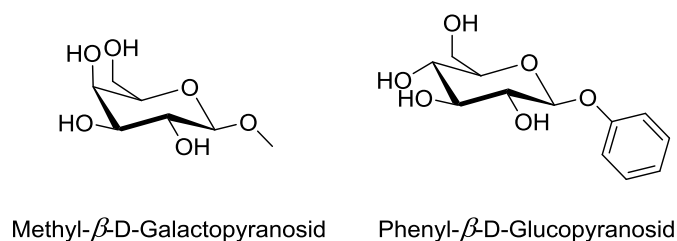


Abbildung 3-14: Methyl- β -D-Galactopyranosid und Phenyl- β -D-Glucopyranosid als interne Standards.

Bei der Verwendung beider Pyranoside in einer Mischung von Repräsentanten der verschiedenen langkettigen Aldosen wurde eine deutliche Differenz in den Retentionszeiten beobachtet (Abbildung 3-15). Methyl- β -D-Galactopyranosid lag im Bereich zwischen Pentosen und Hexosen, wohingegen Phenyl- β -D-Glucopyranosid eine deutlich höhere Retentionszeit aufwies. Trotz daraus resultierenden längeren Messzeiten wurde Phenyl- β -D-Glucopyranosid als IS gewählt, um eine mögliche Überlappung vom IS mit Monosacchariden aus der zu untersuchenden Probe ausschließen zu können.

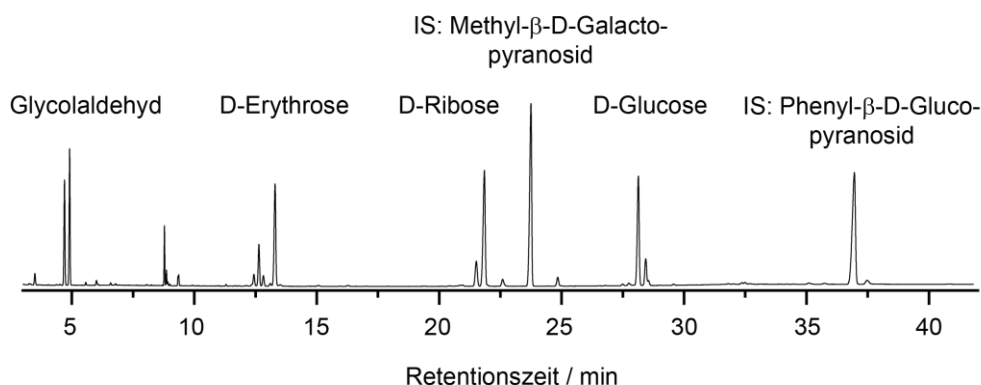


Abbildung 3-15: Chromatogramm mit zwei getesteten internen Standards nach der Derivatisierung mit HCl und BSTFA. (SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 μ m FD; 70°C (4 min), 12 K/min auf 140°C (7 min), 4 K/min auf 200°C (10 min); He p=120 kPa).

Durch das Aufnehmen von Kalibriergeraden (siehe Kapitel 4.3.16) konnte eine quantitative Aussage über den Gehalt der Zucker innerhalb einer Probe getätigt werden. Die Oximierung-Silylierung ermöglichte eine ganzheitliche Aussage über die Menge an Aldosen und Ketosen je nach Länge des Kohlenstoffgerüsts. Eine genauere Aussage über einzelne Aldosen konnte durch die Oximierung-Trifluoracetylierung getroffen werden.

Die Kalibriergeraden wurden für ausgewählte Aldosen und Ketosen (Tabelle 3-1) in einem Konzentrationsbereich von 0,1–100 mM aufgenommen. Die daraus entstandenen linearen Zusammenhänge zwischen Peakfläche und Konzentration zeigten gute Bestimmtheitsmaße (EtOx-TMS: $0,98513 < R^2 < 0,99999$ bzw. EtOx-TFA: $0,96241 < R^2 < 0,99999$). Für jedes Monosaccharid gleicher Kettenlänge wurde ein Repräsentant gewählt und die ermittelte Geradengleichung auf die entsprechenden Stereoisomere übertragen. Die Oximierung-Silylierung erfolgte mit EtOx'HCl und BSTFA, dagegen die Oximierung-Trifluoracetylierung nur für Aldosen mit EtOx'HCl und MBTFA.

Tabelle 3-1: Ausgewählte Monosaccharide für die Erstellung von Kalibriergeraden für die Derivatisierungsmethoden Oximierung-Silylierung und Oximierung-Trifluoracetylierung.

Monosaccharid	Repräsentant für die Kalibrierung
Diose ^a	Glycolaldehyd
Triosen	Glycerinaldehyd Dihydroxyaceton
Tetrosen	Threose Erythrose
Pentosen	Ribose Xylulose
Hexosen	Mannose Fructose

^a Nach der Definition für Monosaccharide (CH₂O)_n mit n≥3 zählt die Diose nicht zu den Monosacchariden.^[141]

3.3.4 Massenspektrometrie

Mit Hilfe von GC-MS wurden die aufgetrennten Peaks analysiert und eine eindeutige Zuordnung der Monosaccharid-Klassen konnte erfolgen. Neben den typischerweise auftretenden Fragmenten (Abbildung 3-16), welche jedoch unabhängig vom Zuckermolekül sind, existieren charakteristische Molekülfragmente, die im Zusammenspiel mit weiteren m/z -Signalen die Identifikation von Monosaccharid-Klassen ermöglichen (Tabelle 3-2).

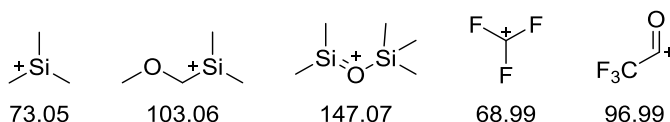


Abbildung 3-16: Typische Fragmente von silylierten und trifluoracetylierten Zuckermolekülen.

Die silylierten Monosaccharide zeigten neben dem Molekülpeak M^+ auch die Fragmente $[M-CH_3]^+$, $[M-103]^+$ und $[M-205]^+$ sowie die Verkürzung auf kleinere Monosaccharid-Analoga. Die trifluoracetylierten Zucker wiesen neben dem Molekülpeak M^+ dagegen den Verlust von TFA-Fragmenten auf in unterschiedlicher Anzahl je nach Größe des Monosaccharids.

Tabelle 3-2: Beobachtete Fragment-Ionen für oximiert-silylierte und-trifluoracetylierte Monosaccharide.

Monosaccharid	EtOx-TMS (m/z Fragmentionen)	EtOx-TFA (m/z Fragmentionen)
Glycolaldehyd	160, 130, 103, 73	214, 145, 117, 90
Aldotriose	277, 262, 217, 174, 147, 73	325, 212, 183, 97, 69
Ketotriose	277, 262, 174, 147, 73	
Aldotetrose	379, 364, 276, 205, 175, 147, 73	451, 337, 224, 199, 195, 98, 69
Ketotetrose	379, 364, 276, 187, 147, 103, 73	
Aldopentose	481, 466, 307, 217, 147, 103, 73	577, 463, 304, 236, 207, 199, 97, 69
Ketopentose	481, 466, 378, 277, 187, 147, 73	
Aldohexose	583, 568, 319, 217, 205, 157, 147, 129, 73	703, 590, 476, 348, 236, 199, 97, 69
Ketohexose	583, 568, 378, 307, 277, 217, 147, 103, 73	
Aldoheptose	670, 331, 217, 191, 147, 73	

3.4 Basenkatalysierte Aldolreaktion: ein Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk

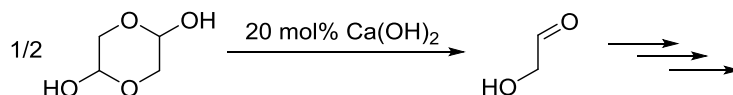
Wie in Kapitel 3.1.3 beschrieben ist die Formose-Reaktion eine Aufbaureaktion von Zuckern ausgehend von Formaldehyd und basischen Katalysatoren. Die Reaktion wird üblicherweise in Wasser bei einer Temperatur um 60°C durchgeführt.^[171-172]

Beim Übergang in die lösungsmittelfreie Formose-Reaktion stellte sich ein Problem in der Wahl der Ausgangsstoffe. Calciumhydroxid als Katalysator ist ein Pulver und damit unmittelbar einsetzbar. Formaldehyd liegt dagegen bei Raumtemperatur gasförmig vor. Normalerweise wird es als Formalin eingesetzt, eine wässrige Formaldehyd-Lösung. Die trimerisierte Form Trioxan und die polymerisierte Form Paraformaldehyd sind zwar Feststoffe, aber als diese inaktiv für chemische Reaktionen ohne drastische Bedingungen wie Temperaturen von 150°C.^[173-174] Zur Untersuchung des Formose-Netzwerkes wurde deswegen Glycolaldehyd als Ausgangstoff gewählt. Dieser C2-Zucker liegt ebenfalls nicht monomer, sondern als ringförmiger Dimer vor, welcher dennoch leichter gespalten werden und chemische Reaktionen eingehen kann.

3.4.1 Festphasenreaktionen ohne mechanische Krafteinwirkung

Untersucht werden soll die lösungsmittelfreie Formose-Reaktion basierend auf Glycolaldehyd ohne äußere Krafteinwirkung oder Durchmischung um Informationen über den Reaktionsablauf bei einer Festphasenreaktion zu erhalten. Im Fokus steht hier vor allem der Einfluss der Temperatur und der Zeit auf die Produktverteilung. Diese Ergebnisse können später mit den mechanochemischen Reaktionen verglichen werden und der Einfluss der verschiedenen Parameter auf den Ablauf der Reaktion abgeschätzt werden.

Das gewählte System setzt sich aus Glycolaldehyd-Dimer und 20 mol% Calciumhydroxid zusammen (Schema 3-11). Dies entspricht einer typischen Katalysatorbeladung der Formose-Reaktion^[117] und wurde auf Glycolaldehyd als Monomer bezogen.



Schema 3-11: Festphasenreaktion zwischen Glycolaldehyd und Calciumhydroxid.

Als Erstes wurde eine Temperatur ermittelt, bei welcher die Proben bis zum Schritt der Derivatisierung gelagert werden können. Die beiden Edukte wurden jeweils zusammen gegeben, durchmischt und bei den verschiedenen Temperaturen für zwei Stunden gelagert (Tabelle 3-3). Zum Vergleich wurde eine Probe ohne Lagerungszeit direkt derivatisiert. Hierbei und bei Temperaturen unter 0°C konnte kein Verbrauch an Glycolaldehyd beobachtet

werden. Bei Temperaturen über 0°C wurden neue Signale im Chromatogramm detektiert. Diese konnten mit Hilfe von Retentionszeiten und Massenspektren Tetrosen zugeordnet werden. Diese Stoffgruppe kann durch eine Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid aufgebaut werden. Da genau diese Reaktion später in der Kugelmühle untersucht werden soll, darf die Temperatur der Proben vor dem Derivatisierungsschritt nicht über 0°C liegen. -50°C wurde als künftige Lagerungstemperatur gewählt. Des Weiteren wurden die Proben der nächsten Experimente auf flüssigen Stickstoff gegeben um einen Reaktionsstopp zu erzwingen, da bei Raumtemperatur die Reaktion langsam fortschreiten würde. Das Ergebnis der direkten Derivatisierung zeigt zusätzlich, dass keine Reaktion zu höheren Zuckern während der Derivatisierung selbst einsetzt.

Tabelle 3-3: Relative Anteile bei der Lagerung von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid für zwei Stunden bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur [°C]	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]
-196	100	0
-20	100	0
5	99	1
Direkte Derivatisierung	100	0

Durch die beobachtete, eintretende Reaktion bei 5°C wurde eine Langzeitstudie bei 18°C über mehrere Wochen geführt, um Vergleichswerte für den Reaktionsverlauf ohne mechanische Einflüsse zu ermitteln. Glycolaldehyd und Calciumhydroxid wurden in einem Glasfläschchen angesetzt, durchmischt und nach unterschiedlich langen Zeiträumen untersucht (Tabelle 3-4).

Tabelle 3-4: Relative Anteile der Langzeitreaktion von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid ohne mechanischen Krafteinfluss bei 18°C.

Zeit [d]	Habitus	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]	Heptosen [%]
1	Farbloses Pulver	99	1	0	0
7	Farbloser Feststoff	95	3	2	0
14	Hellgelber klebriger Feststoff	85	6	6	1
28	Orange-farbener Honig	10	15	67	8

Die Festphasenreaktion ohne mechanischen Krafteinfluss verlief langsam, aber kontinuierlich. Ein deutlich erhöhter Umsatz wurde im Zeitraum von zwei auf vier Wochen beobachtet. Nach 28 Tagen lag Glycolaldehyd mit bis zu 10% vor und Tetrosen, Hexosen und Heptosen wurden verstärkt aufgebaut (Abbildung 3-17). Auch haptisch konnte das Fortschreiten der Reaktion

verfolgt werden. Anfänglich war das Reaktionsgemisch aufgrund der Ausgangsstoffe ein farbloses Pulver, welches mit der Zeit fester und klebriger wurde. Farblich fand eine Veränderung von farblos über Gelb nach Orange statt.

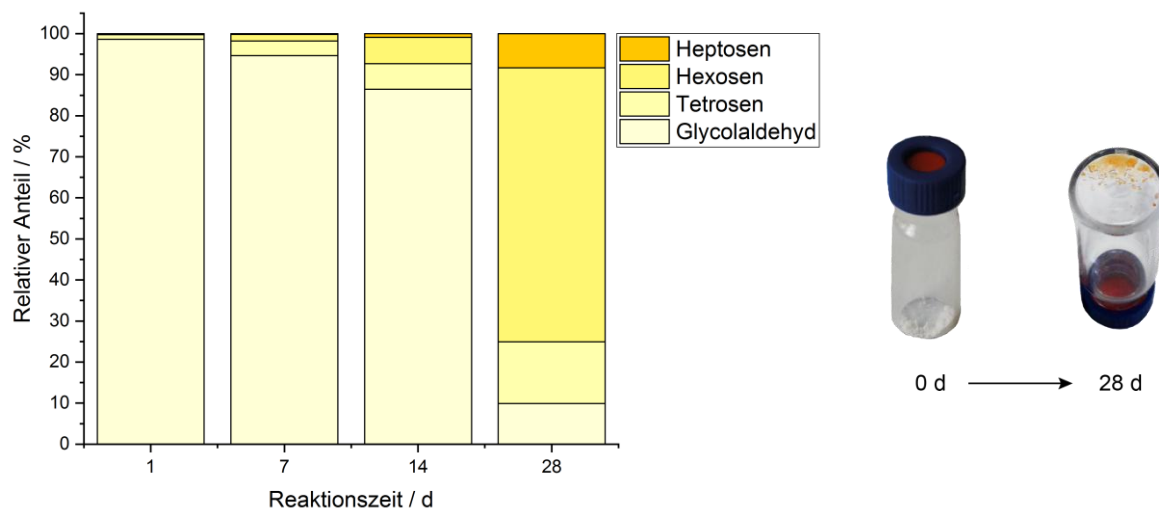


Abbildung 3-17: Reaktionsverlauf von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid ohne mechanische Einflüsse bei Raumtemperatur von 18°C.

Da höhere Temperaturen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit haben und in der Mechanochemie durch die Reibung der Kugeln auch Wärme entsteht, ist es daher wichtig, die in der Kugelmühle herrschenden Temperaturen zu untersuchen, um mechanische und thermische Einwirkungen auf das Formose-Netzwerk zu unterscheiden.

Die Reaktionsmischung wurde dafür jeweils in einem Glasfläschchen vorgelegt, durchmischt und anschließend für 30 min Temperaturen von bis zu 60°C ausgesetzt (Tabelle 3-5). Unter 40°C lief die Reaktion im gewählten Zeitfenster nahezu gar nicht ab. Über 50°C wurde eine deutliche Umsatzsteigerung zu höheren Zuckern beobachtet. Für einen rein mechanischen Einfluss auf die Reaktion dürfte die Reaktionstemperatur im Kugelmühlenreaktor 50°C daher nicht überschreiten.

Tabelle 3-5: Relative Anteile der Reaktion von Glycolaldehyd mit Calciumhydroxid ohne mechanischen Krafteinfluss für 30 min bei Temperaturen über Raumtemperatur.

Temperatur [°C]	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
22	100	0	0
40	99	1	0
50	92	7	1
60	57	38	5

3.4.2 Das Reaktionsverhalten in der Kugelmühle

Die in Abschnitt 3.4.1 gezeigten Temperatureinflüsse auf die lösungsmittelfreie Aldolreaktion von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid sind Ausgangspunkt für die nachfolgenden Untersuchungen um das Reaktionsverhalten in der Kugelmühle zu evaluieren. Zunächst sollen die in der Kugelmühle herrschenden Temperaturen ermittelt werden um thermische und mechanische Reaktionsführungen unterscheiden zu können. Des Weiteren wurde bereits eine haptische Veränderung der Formose-Mischung beobachtet (Abbildung 3-17). Diese könnte die Bewegung der Kugeln in den Reaktoren erschweren und so in einer zeitlich verändernden Durchmischung resultieren. Abschließend soll für die Aussagekraft der Ergebnisse die Wiederholbarkeit der Kugelmühlenreaktionen untersucht werden.

Die herrschende Temperatur

Um die in der Kugelmühle herrschenden Temperaturen zu untersuchen, wurden zwei Ansätze gewählt. Zum einen durch Aggregatzustandswechsel „fest zu flüssig“, zum anderen durch Temperaturmessung mittels Infrarot-Thermometer.

Für den ersten Ansatz wurden Feststoffe mit Schmelzpunkten zwischen 30–55°C ausgewählt und einzeln in der Planetenkugelmühle gemahlen (Tabelle 3-6). Hierbei wurde neben der Umdrehungszahl auch die Kugelanzahl und Kugelgröße variiert. Gearbeitet wurde in einem 20 mL-Edelstahlreaktor mit Edelstahlkugeln. Die Pivalinsäure mit einem Schmelzpunkt von 34°C war unabhängig von den Mahlbedingungen bereits nach zehn Minuten flüssig. *p*-Nitrotoluol dagegen mit einem Schmelzpunkt von 52°C war nach 30 min noch fest. Phenol besitzt einen Schmelzpunkt von 41°C und lag je nach Mahlbedingungen fest oder flüssig vor. Bei einer Umdrehungszahl von 200 U/min war Phenol noch ein Feststoff, bei 600 U/min dagegen bereits eine Flüssigkeit. Bei 400 U/min lag Phenol bei einer niedrigen Kugelbeladung (20 x 5 mm- bzw. 5 x 10 mm-Kugeln) noch fest vor, bei höherer Kugelbeladung (≥40 x 5 mm- bzw. 10 x 10 mm-Kugeln) flüssig.

Tabelle 3-6: Schmelzpunktuntersuchung in der Planetenkugelmühle bei 30 min Mahldauer und verschiedenen Mahlbedingungen.

Feststoff	Schmelzpunkt [°C]	200 U/min	400 U/min	600 U/min
Pivalinsäure	34	Flüssig ¹⁾	Flüssig ¹⁾	Flüssig ¹⁾
Phenol	41	Fest	Fest/Flüssig ²⁾	Flüssig
<i>p</i> -Nitrotoluol	52	Fest	Fest	Fest

¹⁾ 10 min Mahlzeit ²⁾ Je nach Kugelbeladung.

Dieser Versuch veranschaulicht, dass die Temperatur im Reaktor der Planetenkugelmühle unter 52°C lag, unabhängig von der Kugelbeladung und der Umdrehungszahl, da *p*-Nitrotoluol bei jedem Messpunkt als Feststoff vorlag. Eine Temperatur von ungefähr 40°C ist bei höheren Umdrehungszahlen und Kugelbeladungen möglich. Dieser Temperaturbereich ist für die Untersuchung des Formose-Netzwerks in der Kugelmühle akzeptabel, da der thermische Einfluss bei diesen Temperaturen bei rund 1% bezogen auf den Verbrauch von Glycolaldehyd lag (Tabelle 3-5).

Für den zweiten Ansatz wurde die herrschende Temperatur nach dem Öffnen des Kugelmühlenreaktors mit einem Infrarot-Thermometer gemessen. Als Testsubstanz wurde Kieselgur verwendet. Zu beachten war die Abhängigkeit des Emissionsgrades von der Oberflächenbeschaffenheit und der Geometrie des Körpers. Für die Einschätzung des Emissionsgrades wurde ein Referenzsystem über Nacht stehengelassen um die Raumtemperatur von 24°C anzunehmen. Das Infrarot-Thermometer zeigte eine Temperatur von 23,5°C an und stellte damit eine verlässliche Quelle für die herrschenden Temperaturen im Kugelmühlenreaktor direkt nach dem Öffnen dar. Unabhängig von der Kugelbeladung wurden bei 400 U/min Temperaturen unter 40°C gemessen (Tabelle 3-7).

Tabelle 3-7: Herrschende Temperaturen in der Planetenkugelmühle bei 400 U/min je nach Kugelbeladung.

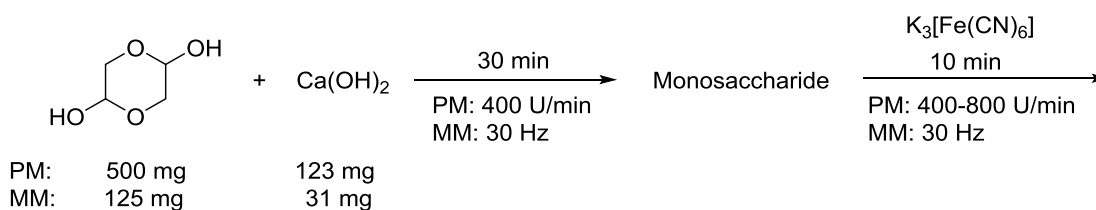
Kugelbeladung	T [°C] nach 10 min	T [°C] nach 20 min	T [°C] nach 30 min
20 x 5 mm	25	28	30
40 x 5 mm	27	32	35
60 x 5 mm	26	31	34
80 x 5 mm	30	33	35
5 x 10 mm	25	29	32
10 x 10 mm	28	31	33

Durch diese praktische Temperaturkontrolle wurde auf die Schmelzpunktuntersuchung in der Schwingkugelmühle verzichtet. Die gemessenen Temperaturen in der Schwingkugelmühle betragen in nachfolgenden Messreihen Werte unter 30°C und lagen damit im Bereich eines geringen thermischen Einflusses auf das Formose-Netzwerk.

Die Durchmischung

Im Verlauf der Formose-Reaktion ausgehend von Glycolaldehyd wird ein immer komplexeres Zuckergemisch aufgebaut, welches als Festphasenreaktion eine zähe, honigartige Masse ergab (Abbildung 3-17). Diese Veränderung der Feststoffe beeinflusst die Bewegungsfreiheit der

Mahlkugeln während der mechanochemischen Reaktion. Die kontinuierliche Durchmischbarkeit des Reaktionssystems bei fortschreitender Reaktion wurde untersucht.



Schema 3-12: Typische Ansatzgrößen der Aldolreaktion in der Planeten- (PM) bzw. Schwingkugelmühle (MM) mit anschließender Zugabe eines Farbstoffes.

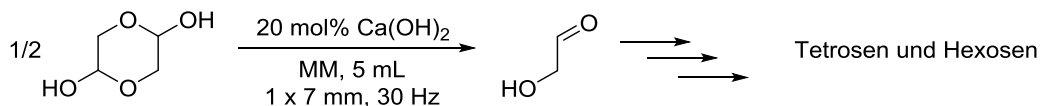
Für die Planetenkugelmühle wurden zwei 20 mL-Reaktoren mit 40 x 5 mm- bzw. 10 x 10 mm-Kugeln beladen und die Edukte hinzugegeben (Schema 3-12). Nach 30 min bei einer Umdrehung von 400 U/min wurde jeweils ein zähes Reaktionsgemisch erhalten. In die Reaktoren wurde kristallines rotes Blutlaugensalz gegeben und die Kugelmühle erneut für zehn Minuten gestartet. Die Kristalle befanden sich nach der mechanischen Krafteinwirkung weiterhin am Eingabeort und wurden nicht in die Reaktionsmasse eingearbeitet. Auch eine Erhöhung der Umdrehungszahl auf 600 bzw. 800 U/min konnte keine Durchmischung erzielen. Unabhängig von Kugelgröße und Höhe der Umdrehung konnte keine Bewegung der Kugeln beobachtet werden, sobald aus den pulvrigen Feststoffen eine zähe Masse geworden ist. Weitere mechanische Einwirkung blieb aus.

Die Schwingkugelmühle wurde ebenfalls auf ihr Durchmischungspotenzial hin untersucht. Ein 5 mL-Reaktor wurde mit einer 7 mm-Kugel beladen und die Ausgangsstoffe vorgelegt (Schema 3-12). Die Reaktion lief für 30 min bei einer Frequenz von 30 Hz ab. Es folgte die Zugabe des kristallinen roten Blutlaugensalzes zur Reaktionsmasse. Nach weiteren zehn Minuten bei höchster Frequenz von 30 Hz konnte eine einheitliche Gelbfärbung des Reaktionsgemisches beobachtet werden trotz weiterer einzelner Kristalle, welche nicht eingearbeitet wurden.

Insgesamt zeigte die Schwingkugelmühle eine höhere Krafteinwirkung auf das gegebene Reaktionssystem als die Planetenkugelmühle. Dennoch ist von einer stark verminderten mechanochemischen Reaktion auszugehen, sobald der Übergang vom Pulver zur zähen Masse stattfindet. Daher wurde im nächsten Schritt der anfängliche Einfluss der mechanischen Krafteinwirkung auf den Reaktionsverlauf genauer untersucht.

Der mechanische Einfluss

Die ersten zehn Minuten des Formose-Netzwerks ausgehend von Glycolaldehyd wurden in der Schwingkugelmühle untersucht. In einem 5 mL-Reaktor, beladen mit einer 7 mm-Kugel, wurden Glycolaldehyd und 20 mol% Calciumhydroxid vorgelegt und bei 30 Hz zur Reaktion gebracht.



Schema 3-13: Festphasenreaktion zwischen Glycolaldehyd und Calciumhydroxid in der Schwingkugelmühle (MM).

In einem Zeitabstand von 2,5 min wurden Proben entnommen, welche anschließend ohne mechanische Krafteinwirkung weiterreagieren konnten. Nach einer Gesamtreaktionszeit von zehn Minuten wurden alle Reaktionen durch Abkühlen auf -196°C gestoppt und anschließend derivatisiert.

Tabelle 3-8: Relative Anteile bei unterschiedlichen zeitlichen, mechanischen Krafteinflüsse der ersten zehn Minuten des Formose-Netzwerks ausgehend von Glycolaldehyd.

Reaktionszeit [min] (Mechanochemie + in Ruhe)	Habitus	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
0 + 10	Farbloses Pulver	100	0	0
2,5 + 7,5	Farbloses Pulver	99	1	0
5 + 5	Farbloses Pulver	94	6	0
7,5 + 2,5	Farblose zähe Masse	85	14	1
10 + 0	Farblose zähe Masse	69	28	3
10 min Mörsern	Farbloses Pulver	99	1	0

Die Reaktionszeit aller Proben betrug zehn Minuten, die mechanochemische Reaktionszeit wurde dagegen variiert (Tabelle 3-8). Ohne mechanische Krafteinwirkung wurde kein Umsatz von Glycolaldehyd zu höheren Zuckern beobachtet. Mit längeren mechanochemischen Reaktionszeiten erhöhte sich deutlich der Verbrauch von Glycolaldehyd und Tetrosen (Abbildung 3-18) sowie Hexosen wurden aufgebaut. Insgesamt lag die Differenz der relativen Verhältnisse im Aufbau der Monosaccharide mit und ohne Einsatz der Kugelmühle bei 30%.

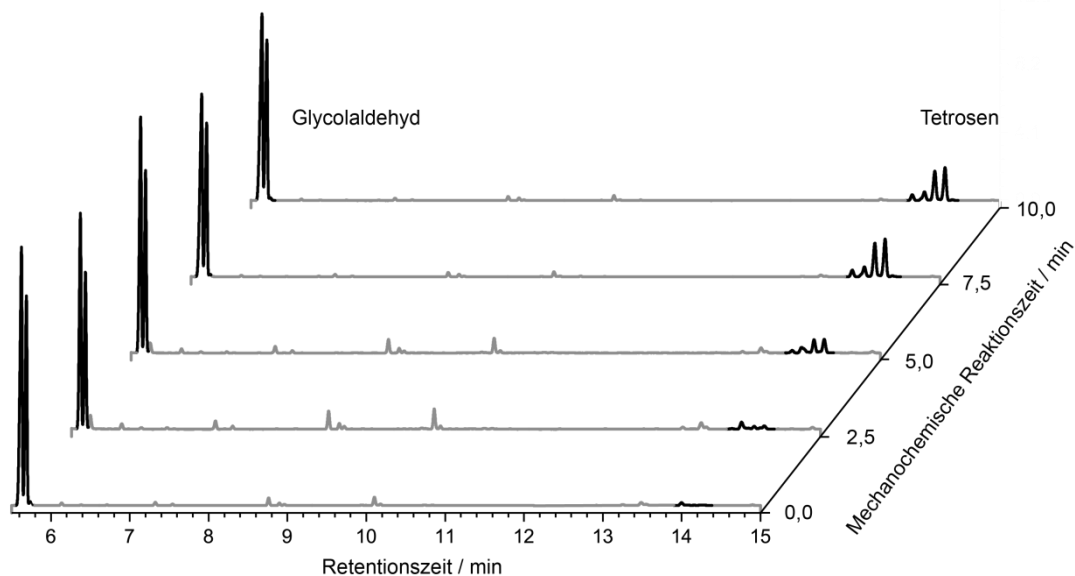


Abbildung 3-18: GC-Chromatogramme für unterschiedliche zeitliche, mechanische Krafteinflüsse der ersten zehn Minuten des Formose-Netzwerks ausgehend von Glycolaldehyd. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 μm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He $p=80$ kPa.

Durch dieses Ergebnis konnte ebenfalls ausgeschlossen werden, dass die reine Durchmischung, gegeben durch das Mahlen, die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht. Eine hohe Durchmischung allein sollte bereits nach kurzer Zeit gegeben sein. Darauf folgend veränderte die einwirkende mechanische Kraft den Reaktionsablauf. Vergleichend wurde eine Probe per Hand gemörsert. Nach zehn Minuten wurden nur vernachlässigbar kleine Umsätze erzielt. Ausschlaggebend für die beschleunigte Aldolreaktion in der Kugelmühle ist demzufolge die mechanische Krafteinwirkung.

Die Wiederholbarkeit

Abschließend wurde in diesem Kapitel die Wiederholbarkeit der Aldolreaktion von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid als Festphasenreaktion in der Schwingkugelmühle getestet um die Aussagekraft der Ergebnisse zu bestärken. Hierfür wurden jeweils zwei Proben bestehend aus Glycolaldehyd und Calciumhydroxid im Abstand von einer Woche angesetzt. Die Reaktion lief für 60 min bei 30 Hz. Die ersten Proben wurden bei -50°C gelagert, um ein zeitgleiches Derivatisieren zu ermöglichen. Die zwei gleichalten Proben wurden mit zwei separat angesetzten Derivatisierungslösungen versetzt. Aus allen vier Ansätzen wurden Mittelwerte berechnet, sodass sich folgende relative Zusammensetzung der Reaktionsgemische ergab (Abbildung 3-19): Glycolaldehyd mit $60,4 \pm 1,5\%$, Tetrosen mit $35,3 \pm 1,3\%$ und Hexosen mit $4,3 \pm 0,2\%$. Diese Werte spiegeln ein gutes Ergebnis für die Wiederholbarkeit wieder.

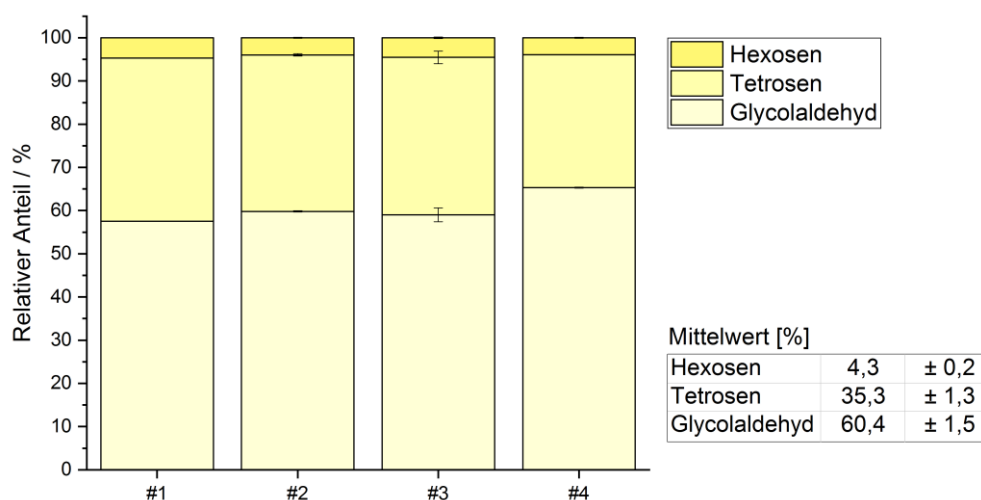


Abbildung 3-19: Wiederholbarkeit in der Schwingkugelmühle, 5 mL-Reaktor, 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz und 60 min Reaktionszeit.

Die eingetragenen Fehlerbalken beziehen sich hierbei auf den Fehler der jeweiligen Derivatisierungsansätze. Jede Probe wurde zweimal derivatisiert und gaschromatographisch analysiert um Pipettier- und gerätebedingte Injektionsfehler ausschließen zu können. Die größte daraus resultierende Schwankung wurde bei Probe #3 gemessen und selbst diese Derivatisierungsfehler lagen im Fehlerbereich der Kugelmühlenmessungen.

3.4.3 Der Einfluss der mechanischen Parameter

Kugelmühlen sollen als Modell für mechanochemische, präbiotische Reaktionen eingesetzt werden. Um diese Systeme besser kennenzulernen werden zunächst die einzelnen Parameter variiert und die Auswirkungen für den Monosaccharid-Aufbau evaluiert. Anschließend können präbiotische Abläufe simuliert werden.

Die zwei verwendeten Kugelmühlen unterscheiden sich in ihrer beschleunigten Bewegung. Die Planetenkugelmühle versetzt die Reaktoren in Rotation. Hierbei kann die Umdrehungszahl variiert werden. Die Schwingkugelmühle lässt dagegen die Reaktoren mit verschiedenen Frequenzen schwingen. Weitergehend kann das Reaktorvolumen und -material, sowie Kugelanzahl und -größe verändert werden. Im folgenden Abschnitt sollen diese Parameter hinsichtlich ihres Einflusses auf das Formose-Netzwerk ausgehend von Glycolaldehyd untersucht werden.

Die Planetenkugelmühle

In der Planetenkugelmühle wurden standardmäßig 20 mL-Reaktoren aus Edelstahl verwendet. Eine vom Hersteller vorgeschlagene Kugelbeladung liegt bei 80 x 5 mm- oder 10 x 10 mm-Kugeln.^[175] Für die lösungsmittelfreie Formose-Reaktion wurden vier verschiedene Beladungen mit 5 mm-Kugeln und zwei mit 10 mm-Kugeln bei 400 U/min getestet. Die Reaktion

wurde im Abstand von 20 min für insgesamt 60 min verfolgt. In allen Versuchen wurden der Verbrauch von Glycolaldehyd und der Aufbau von Tetrosen und Hexosen beobachtet.

Die vier Messreihen der 5 mm-Kugeln zeigten eine kleine Varianz für die verschiedenen Kugelbeladungen (Abbildung 3-20). Eine Tendenz von höherem Umsatz bei größerer Kugelanzahl wie beispielsweise 80 wurde beobachtet.

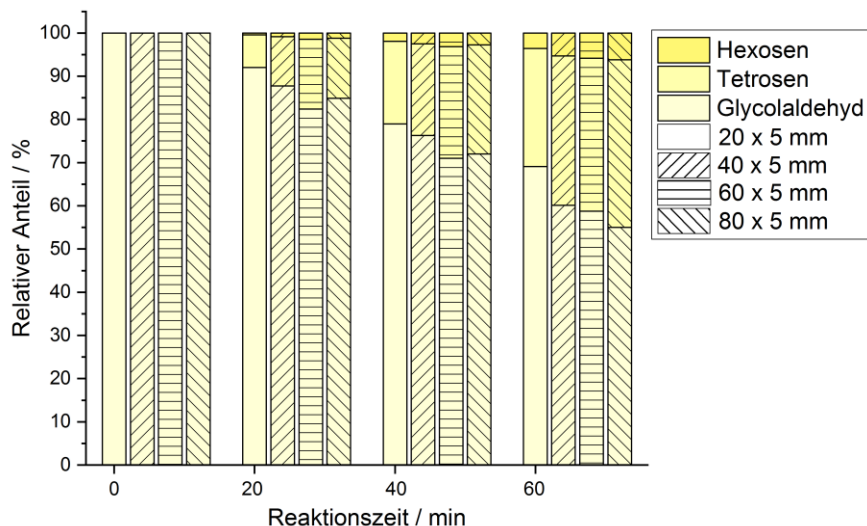


Abbildung 3-20: Zeitlicher Verlauf der lösungsmittelfreien Formose-Reaktion basierend auf Glycolaldehyd bei verschiedenen Kugelbeladungen mit 5 mm-Kugeln in der Planetenkugelmühle bei 400 U/min.

Die Anzahl der 10 mm-Kugeln schien nur wenig Einfluss auf den Aufbau von höheren Monosacchariden zu nehmen (Abbildung 3-21). Im Vergleich zu den kleineren Kugeln war jedoch ein schnellerer Reaktionsverlauf zu beobachten.

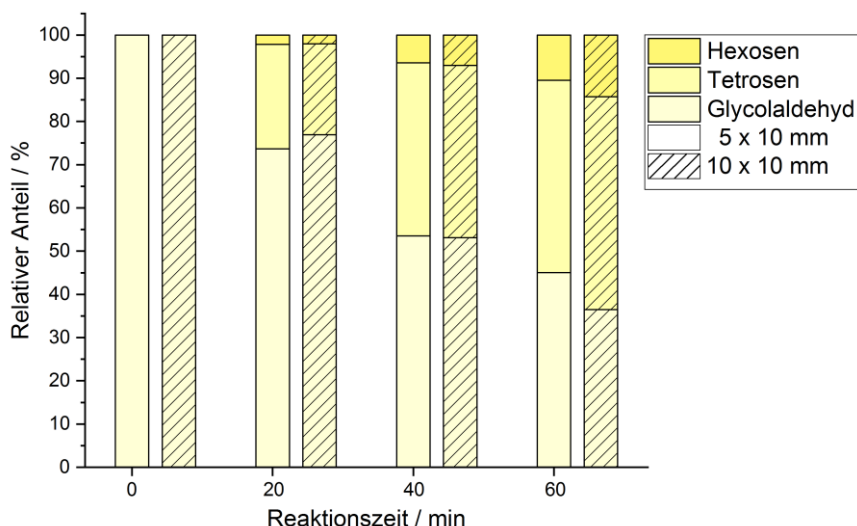


Abbildung 3-21: Zeitlicher Verlauf der lösungsmittelfreien Formose-Reaktion basierend auf Glycolaldehyd bei verschiedenen Kugelbeladungen mit 10 mm-Kugeln in der Planetenkugelmühle bei 400 U/min.

Beim Vergleich aller Versuche mit variierenden Kugelgrößen und Beladungen konnte nach insgesamt 60 min Reaktionszeit eine deutliche Tendenz beobachtet werden (Tabelle 3-9). Hierbei begünstigen sowohl größere Kugeln als auch eine erhöhte Kugelanzahl die Reaktion von Glycolaldehyd zu Tetrosen und Hexosen.

Tabelle 3-9: Umsatz der Aldolreaktion von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid je nach Kugelbeladungen in der Planetenkugelmühle nach 60 min Reaktionszeit bei 400 U/min.

Kugelgröße	5 mm				10 mm	
Kugelanzahl	20	40	60	80	5	10
Umsatz [%]	49	59	60	64	73	79

Der geringste Umsatz von 49% wurde für 20 x 5 mm-Kugeln beobachtet. Dieser konnte durch die vierfache Kugelbeladung auf 64% gesteigert werden. Bei der Verwendung von 10 mm-Kugeln wurden Umsätze von 73 bzw. 79% realisiert. Der Tetrosenanteil nach 60 min lag bei den 5 mm-Kugeln über 25%, erreichte aber nur mit den 10 mm-Kugeln knapp die 50%. Die Hexosen lagen im Bereich von 5% für die 5 mm-Kugeln und bereits im zweistelligen Bereich für die 10 mm-Kugeln.

Die Umdrehungszahl kann bei der Planetenkugelmühle von 100 bis 1100 U/min variiert werden, jedoch ändert sich der wählbare Maximalwert je nach Kugelgröße. Für die lösungsmittelfreie Formose-Reaktion wurde der Bereich von 200 bis 800 U/min untersucht (Abbildung 3-22).

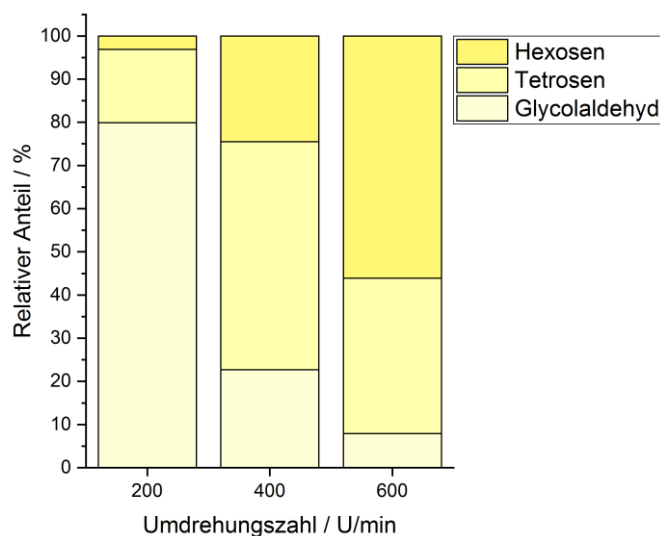


Abbildung 3-22: Relative Monosaccharid-Verhältnisse je nach Umdrehungszahl in der Planetenkugelmühle mit 10 x 10 mm-Kugeln und 90 min Reaktionszeit.

Der Reaktor wurde mit 10 x 10 mm-Kugeln beladen und für 90 min rotiert. Mit einer Steigerung der Umdrehungszahl war ein deutlicher Anstieg zu Gunsten der höheren Zucker zu beobachten. Das Reaktionsgemisch zeigte nach 90 min je nach Umdrehungszahl einen veränderten Habitus (Tabelle 3-10). Ausgangspunkt stellte ein farbloses Pulver dar. Mit 200 U/min wurde dieses in ein hellgelbes Pulver umgewandelt. 400 U/min brachten eine hellgelbe zähe Masse hervor, die bei 600 U/min bereits deutlich Gelb war. Nach 90 min bei 800 U/min wurde ein brauner Feststoff erhalten. Dieser konnte nicht analysiert werden, da er während der Derivatisierung nicht in Lösung ging. Des Weiteren wurde mit Hilfe des IR-Thermometers eine erhöhte Temperatur von 66°C gemessen, sodass dieses Messergebnis aufgrund von vorrangig thermischen Effekten verworfen wurde.

Grundsätzlich kann durch das Aussehen des Reaktionsgemisches bereits grob auf den Fortschritt der Reaktion von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid geschlossen werden.

Tabelle 3-10: Habitus und herrschende Temperatur je nach Umdrehungszahl bei einer Beladung von 10 x 10 mm-Kugeln und 90 min Reaktionszeit.

Umdrehungszahl [U/min]	Temperatur [°C]	Habitus
200	28	Hellgelbes Pulver
400	31	Hellgelbe zähe Masse
600	34	Gelbe zähe Masse
800	66	Brauner Feststoff ^{a)}

a) Der braune Feststoff konnte mit der etablierten Derivatisierungsmethode nicht untersucht werden, da dieser in Pyridin unlöslich war.

Bisher wurden Edelstahl-Reaktoren und -Kugeln für den mechanochemischen Einfluss in der Planetenkugelmühle verwendet. Für Kugelmühlen gibt es eine große Bandbreite an Materialien, um beispielsweise metall- oder sauerstofffrei arbeiten zu können. Als Vergleich zu Edelstahl wurde Achat, ein Quarzmineral, getestet. Ein 20 mL-Reaktor aus Achat wurde mit 10 x 10 mm-Achat-Kugeln gefüllt. Die lösungsmittelfreie Formose-Reaktion wurde bei 400 U/min für 90 min ausgeführt. Einen Einfluss des Materials auf den Reaktionsverlauf konnte nicht beobachtet werden (Tabelle 3-11).

Tabelle 3-11: Relative Anteile je nach Material für Kugeln und Reaktor bei einer Beladung von 10 x 10 mm-Kugeln, 400 U/min und 90 min Reaktionszeit.

Reaktor- und Kugelmateriale	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
Edelstahl	23	53	24
Achat	27	51	22

Die Schwingkugelmühle

Ein Vorteil der Schwingkugelmühle im Vergleich zur Planetenkugelmühle sind die kleinen Edelstahl-Reaktoren mit einem Volumen von 5 oder 10 mL. Bei diesen Volumina werden vom Hersteller eine oder mehrere 7 bzw. 10 mm-Kugeln zur Beladung empfohlen.⁴ Der Einfluss der Reaktorgröße sowie der Kugelanzahl und -größe auf das Formose-Netzwerk wurde bei einer Frequenz von 20 Hz für 60 min getestet. Die erhaltenen Umsätze unterschieden sich von der allgemeinen Verteilung der Zucker nur wenig voneinander (Abbildung 3-23). Herausstechend in dieser Messreihe war der verminderte Verbrauch von Glycolaldehyd zu höheren Zuckern bei Verwendung von 5 x 7 mm-Kugeln in einem 10 mL-Reaktor. Eine hohe Kugelanzahl förderte in der Schwingungsbewegung nicht die Übertragung der mechanischen Energie. Der Unterschied zwischen einer oder zwei Kugeln pro Reaktor lag im Bereich der Ungenauigkeit. Aus praktischen Gründen wurde sich für die weiterführenden Experimente für einen 5 mL-Reaktor mit einer 7 mm-Kugel als Beladung entschieden. Durch das kleine Reaktorvolumen wurde ein geringer Anteil an Ausgangssubstanzen benötigt. Zusätzlich konnten vier 5 mL-Reaktoren mit Hilfe eines Adapters parallel in der Schwingkugelmühle betrieben werden.

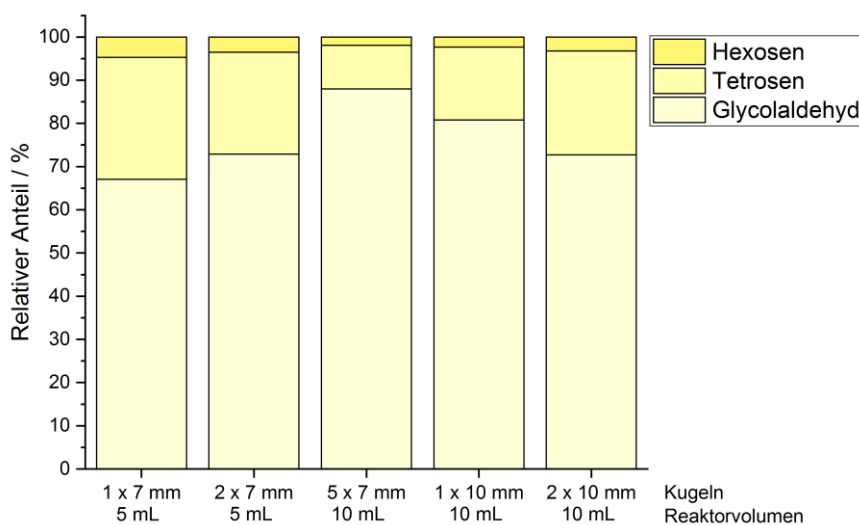


Abbildung 3-23: Relative Monosaccharid-Verhältnisse je nach Reaktorgröße und Kugelbeladung in der Schwingkugelmühle bei 20 Hz nach 60 min Reaktionszeit.

Die Frequenz der Schwingkugelmühle kann in einem Bereich von 10 bis 30 Hz variiert werden. Den Einfluss der Frequenz auf die Zuckerausbeuten der Aldolreaktion wurde untersucht. Hierfür wurde ein 5 mL-Reaktor mit einer 7 mm-Kugel beladen und mit Glycol-

⁴ Für den 5 mL-Reaktor eine oder zwei 7 mm-Kugeln, und für den 10 mL-Reaktor fünf bzw. sieben 7-mm Kugeln oder auch eine oder zwei 10 mm-Kugeln.

aldehyd sowie Calciumhydroxid befüllt. Nach 90 min Reaktionszeit wurde deutlich, dass mit erhöhter Frequenz die Bildung höherer Monosaccharide gesteigert wurde (Abbildung 3-24).

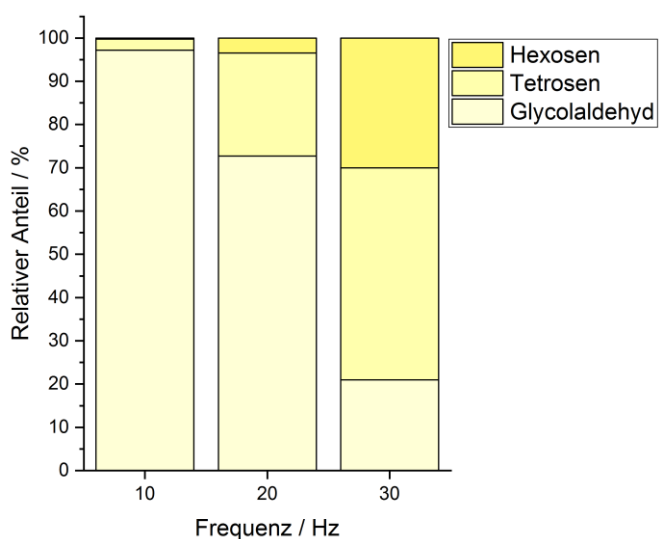


Abbildung 3-24: Relative Monosaccharid-Verhältnisse je nach Frequenz in der Schwingkugelmühle mit 5 mL-Reaktor und 1 x 7 mm-Kugel nach 90 min Reaktionszeit.

Bei einer niedrigen Frequenz von 10 Hz reagierte Glycolaldehyd nur in Spuren zu Tetrosen. Bei mittleren Frequenzen von 20 Hz lagen sie dagegen bereits zu fast 25% vor und die Hexosen wurden in Spuren detektiert. Der größte Aufbau von höheren Zuckern gelang bei der Maximalfrequenz von 30 Hz. Diese wurde dementsprechend für die folgenden Untersuchungen gewählt. Ferner lagen die gemessenen Temperaturen deutlich unter 40°C, sodass die untersuchten Reaktionen nicht thermisch beeinflusst werden.

Tabelle 3-12: Habitus und herrschende Temperatur je nach Schwingungsfrequenz, 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel und 90 min Reaktionszeit.

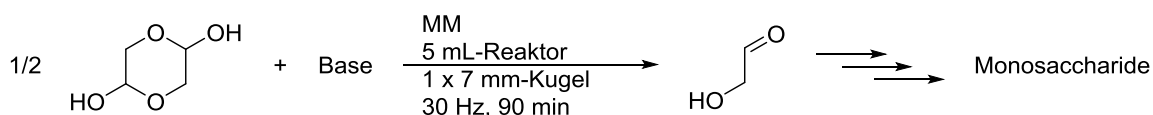
Frequenz [Hz]	Temperatur [°C]	Habitus
10	22	Farbloses Pulver
20	23	Farbloser Feststoff
30	25	Gelber Feststoff

Diese Messreihe verdeutlicht noch einmal den mechanischen Einfluss auf das Formose-Netzwerk. Da auch bei geringen Frequenzen eine gute Durchmischung gegeben sein sollte, ergab sich der erhöhte Aufbau von Tetrosen und Hexosen durch den verstärkten Einfluss mechanischer Energie auf die Reaktionskomponenten.

3.4.4 Der Einfluss der chemischen Parameter

Im vorherigen Abschnitt wurden die Parameter von Planeten- und Schwingkugelmühle variiert und ihren Einfluss auf das Formose-Netzwerk basierend auf Glycolaldehyd untersucht. Im folgenden Abschnitt werden dagegen die Parameter der lösungsmittelfreien Formose-Reaktion selbst verändert. Zu Anfang steht der basische Katalysator im Fokus. Hierbei wird die Katalysatorbeladung variiert und weitere Hydroxide und Carbonate eingesetzt. Des Weiteren werden Zusätze getestet um der haptischen Veränderung entgegenzuwirken. Abschließend sollen in diesem Kapitel Reaktionen ausgehend von einem C1-Baustein untersucht werden.

Als mechanisches System (Schema 3-14) wurde ein 5 mL-Reaktor der Schwingkugelmühle gewählt. Dieser wurde mit einer 7 mm-Kugel beladen und bei einer Frequenz von 30 Hz für 90 min in Schwingungen gebracht.



Schema 3-14: Allgemeines System der Schwingkugelmühle für die Untersuchungen der chemischen Parameter des Formose-Netzwerks.

Der basische Katalysator

Für die bisherigen Untersuchungen wurden Glycolaldehyd-Dimer und 20 mol% Calciumhydroxid als Katalysator verwendet. Nun wurde die eingesetzte Stoffmenge an Calciumhydroxid reduziert. Glycolaldehyd allein reagierte durch die mechanische Krafteinwirkung nicht zu höheren Zuckern. Ein Katalysator ist für das System daher zwingend notwendig. Bei niedrigen Katalysatorbeladungen von 5 oder 10 mol% konnten Umsätze und der Aufbau von höheren Zuckern beobachtet werden. Insgesamt stiegen die Verhältnisse zu Gunsten von Tetrosen und Hexosen deutlich mit zunehmenden Molprozenten von Calciumhydroxid an (Abbildung 3-25). Beim Einsatz von 20 mol% wurden sogar Umsätze von 90% realisiert. In der gleichen Zeiteinheit wurden dementsprechend die meisten Tetrosen und Hexosen aufgebaut. Eine höhere Anzahl an Äquivalenten wurde jedoch nicht getestet, da Calciumhydroxid weiterhin in katalytischen Mengen eingesetzt werden sollte.

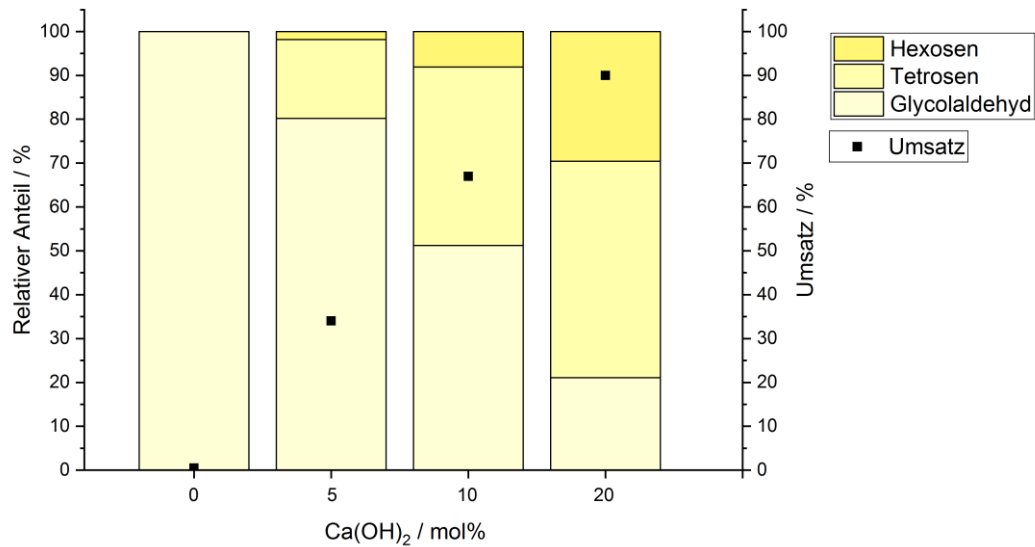


Abbildung 3-25: Relative Monosaccharid-Verhältnisse je nach Katalysatorbeladung in der Schwingkugelmühle mit 5 mL-Reaktor und 1 x 7 mm-Kugel nach 90 min Reaktionszeit.

Neben Calciumhydroxid gibt es eine Vielzahl anderer Substanzen, welche erfolgreich als Katalysatoren in der wässrigen Formose-Reaktion eingesetzt wurden.^[104] Eine Auswahl wurde für die mechanochemische Variante untersucht.

Zunächst wurde die Klasse der Hydroxide als Katalysatoren erprobt. Zum Vergleich für das standardmäßig eingesetzte Calciumhydroxid wurden Natrium- und Kaliumhydroxid als Base getestet. Als Zeitfenster wurden 30 und 60 min gewählt und jeweils die relativen Verhältnisse von Glycolaldehyd und höheren Zuckern analysiert (Abbildung 3-26).

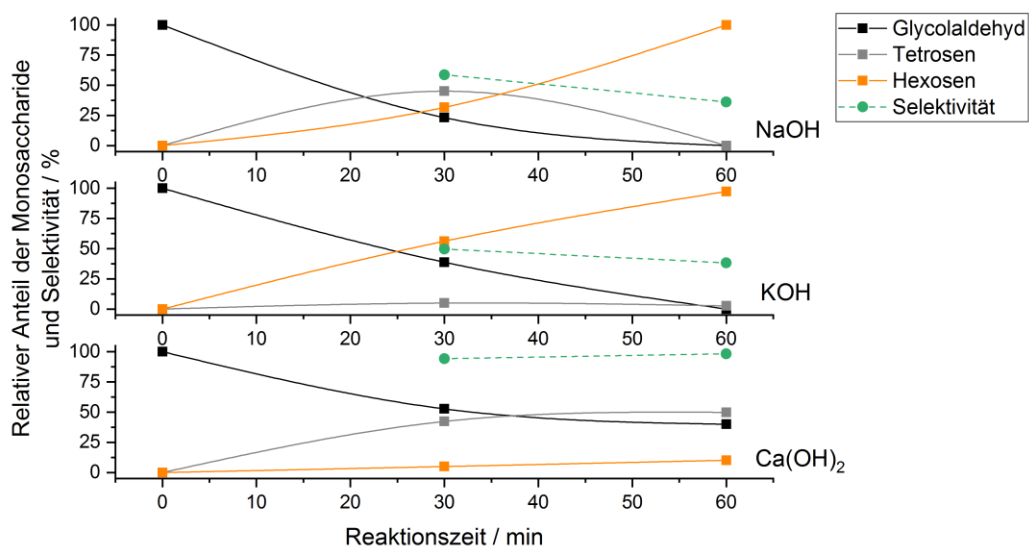


Abbildung 3-26: Reaktionsverlauf beim Einsatz verschiedener Hydroxide als Base in der Aldolreaktion mit Glycolaldehyd.

Des Weiteren wurde die Selektivitäten der ablaufenden Reaktion bezogen auf Edukt und gewünschte Produkte im Vergleich zu der Gesamtheit aller detektierten Signale ermittelt (genaue Definition siehe Kapitel 4.3.15).

Natriumhydroxid zeigte bereits nach 30 min Tetrosen und Hexosen von insgesamt 77%. Nach weiteren 30 min waren weder Glycolaldehyd noch Tetrosen nachweisbar, nur Hexosen wurden von den gewünschten Produkten detektiert. Beim Einsatz von Kaliumhydroxid wurden nach 30 min bereits 56% Hexosen aufgebaut. Und ebenso wie Natriumhydroxid wurde nach 60 min kein Glycolaldehyd mehr nachgewiesen und Tetrosen nur in Spuren. Solche Verhältnisse zu Gunsten der höheren Monosaccharide zeigte Calciumhydroxid weder nach 30 noch nach 60 min. Dennoch wies Calciumhydroxid sehr gute Selektivitäten von 94 und 98% auf, wodurch Glycolaldehyd gezielt zu höheren Zuckern aufgebaut wurde und kaum Nebenreaktionen abliefen. Im Gegensatz verringerten sich die Selektivitäten von Natrium- und Kaliumhydroxid mit fortschreitender Reaktion, da unerwünschte Nebenreaktionen wie die Cannizzaro-Reaktion oder Zerfallsreaktionen auftraten. Diese fielen von 59 bzw. 50% auf 36 bzw. 38% weiter ab. Liefen die Reaktionen insgesamt 90 min in der Schwingkugelmühle mit Natrium- oder Kaliumhydroxid wurden gelbe Feststoffe erhalten, welche während der Derivatisierung nicht in Lösung gingen und daher keine Aussage über die Zusammensetzung getroffen werden konnte. Insgesamt wies Calciumhydroxid als Vertreter der Hydroxide die besten Ergebnisse für die mechanochemische Formose-Reaktion ausgehend von Glycolaldehyd auf.

Des Weiteren wurden Carbonate untersucht: Calcium- und Ammoniumhydrogencarbonat. Mit Calciumcarbonat wurde nach 90 min ein farbloses Pulver erhalten, welches nur zu 1% aus aufgebauten Tetrosen bestand. Anders verhielt es sich mit Ammoniumhydrogencarbonat. Hier wurde ein farbloses Öl erhalten. Da kein Feststoff mehr im Reaktor vorhanden war, betrug die detektierte Temperatur 30°C im Vergleich zu 23°C, da die Kugel nahezu ungehindert auf die Reaktorwände prallte. Dennoch zeigte das Öl ebenfalls nur einen minimalen Umsatz zu Tetrosen. Beim alleinigen Einsatz von Hirschhornsalz wurde bei gleichen Mahlbedingungen ein farbloses Pulver erhalten. Die habitische Veränderung zum Öl schien durch das Zusammenspiel von Ammoniumhydrogencarbonat mit Glycolaldehyd einzutreten, obwohl kein gesteigerter Umsatz zu Monosacchariden zu beobachten war.

Die Zusätze

Bei der Umsetzung von Glycolaldehyd mit Calciumhydroxid ohne Lösungsmittel entsteht eine klebrige zähe Masse, welche die Möglichkeit der Durchmischung hemmt und damit die Reaktion verlangsamt. Durch die Zugabe verschiedener inerter Feststoffe zur Reaktion in der Kugelmühle könnte das Reaktionsgemisch pulvrig bleiben und eine schnellere Produktbildung ermöglicht werden. Getestet wurden Kieselgur, sowie Natrium- und Magnesiumsulfat.

Zuerst wurde der Einfluss verschiedener Volumenverhältnisse (5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:5) auf den Reaktionsverlauf getestet. Bei einem Überschuss an Reaktionsmischung entstand weiterhin eine klebrige Masse. Im entgegengesetzten Fall war die Verdünnung durch die zusätzlichen Feststoffe so groß, dass die Reaktion verlangsamt ablief. Für die folgenden Untersuchungen wurden daher Verhältnisse mit gleichem Volumenanteil (v/v 1:1) gewählt. Anschließend wurden die drei Zusätze nur mit Glycolaldehyd in der Schwingkugelmühle eingesetzt um mögliche Produktbildung allein durch die Feststoffe auszuschließen. Hierbei wurde beim Einsatz von Kieselgur Spuren an Tetrosen nachgewiesen. Die Auswahl an Zusätzen reduzierte sich dementsprechend auf die Sulfate.

Glycolaldehyd und Calciumhydroxid wurden für 90 min bei 30 Hz zur Reaktion gebracht, in Gegenwart von Natrium- bzw. Magnesiumsulfat jeweils im gleichen Volumenverhältnis. Verglichen mit den erhaltenen Zuckerverhältnissen ohne die Zugabe eines inerten Feststoffes wurde für den Umsatz kaum eine Steigerung beobachtet (Tabelle 3-13). Im Falle von Natriumsulfat verringerte sich der Umsatz sogar. Anteilig liegen die Tetrosen annähernd im gleichen Bereich, aber der Verbrauch an Glycolaldehyd bzw. der Aufbau an Hexosen variiert. Für die Aldolreaktion zwischen Glycolaldehyd und Calciumhydroxid in der Kugelmühle lieferte eine dritte inerte Komponente keine Begünstigung für die Produktbildung.

Tabelle 3-13: Relative Anteile bei verschiedenen Zusätze im 1:1-Volumenverhältnis zum Reaktionsgemisch im 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz, 90 min.

Zusatz	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]	Umsatz [%]
Na ₂ SO ₄	40	46	14	77
MgSO ₄	16	52	32	93
kein	21	49	30	90

Zeitgleich wurde gezeigt, dass die Anwesenheit weiterer Stoffe oder Verunreinigungen durch bestimmte Feststoffe kaum Einfluss auf den Zuckeraufbau ausüben. Der präbiotische Ansatz für die Zuckersynthese in der Festphase wurde gestützt.

Der C1-Baustein

Bisher wurde für die mechanochemische Formose-Reaktion Glycolaldehyd als Zuckerbaustein eingesetzt. Für ein komplexeres Reaktions- und Produkt-Netzwerk müsste der C2-Baustein auf C1-Größe reduziert werden. Mit Formaldehyd als Ausgangsstoff würde eine klassische Formose-Reaktion ablaufen, die für die präbiotische Zuckersynthese als Grundlage dient. Alle homologen Gruppen mit jeglichen Strukturen und Verzweigungen wären im Formose-Netzwerk zugänglich. Wie bereits zu Beginn dieses Kapitels 3.4 diskutiert wurde, bieten sich aufgrund der Limitierung auf Feststoffe nur Trioxan und Paraformaldehyd als Edukte an. Als Base wurden die bereits getesteten Hydroxide eingesetzt, trotz verminderter Selektivitäten bei Natrium- und Kaliumhydroxid (siehe Abbildung 3-26). Nach der Reaktion in der Schwingkugelmühle bei 30 Hz für 90 min konnten weder Glycolaldehyd noch höhere Zucker nachgewiesen werden. Durch die gewählten Reaktionsbedingungen und die milden herrschenden Temperaturen wurden entweder die polymeren Formen nicht aufgebrochen oder die notwendige Umpolungsreaktion im darauffolgenden Schritt trat nicht ein. Die Zugabe von Glycolaldehyd als Initiator ermöglichte ebenso wenig einen Monosaccharidaufbau. Diese Spuren an Glycolaldehyd konnten beispielsweise durch Meteoriteneinschläge eingetragen worden sein.^[176]

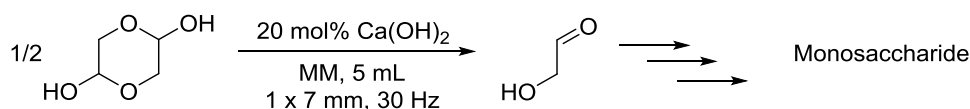
3.4.5 Kinetische Untersuchungen

Nachdem in den vorherigen Abschnitten sowohl mechanische als auch chemische Parameter variiert wurden, soll im folgenden Abschnitt der zeitaufgelöste Verlauf der Aldolreaktionen für den Zuckeraufbau als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk in der Kugelmühle untersucht werden.^[177] Zum einen soll standardmäßig Glycolaldehyd mit Calciumhydroxid untersucht werden, zum anderen sollen Glycol- und Glycerinaldehyd gemeinsam umgesetzt werden, um das Formose-Netzwerk auf eine Vielzahl an Produkt-Monosacchariden zu erweitern.

Auch hier wurde für die Ansätze ein 5 mL-Reaktor der Schwingkugelmühle mit einer 7 mm-Kugel und 30 Hz gewählt.

Die zeitaufgelöste Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd

Zunächst wurde Glycolaldehyd mit 20 mol% Calciumhydroxid versetzt (Schema 3-15). Nach bestimmten Reaktionszeiten wurde die Reaktion durch Abkühlen mit flüssigem Stickstoff gestoppt und die Reaktionsmischung analysiert. Anfänglich wurden kleine Zeitintervalle von 2,5 min gewählt, anschließend auf 10 min erweitert und schlussendlich auf 30 bzw. 60 min Intervalle maximiert.



Schema 3-15: Aldolreaktion von Glycolaldehyd und 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in der Schwingkugelmühle.

Ausgehend nur vom Habitus wurde ein Reaktionsablauf in der Kugelmühle beobachtet (Abbildung 3-27). Die ersten fünf Minuten lag die Reaktionsmischung als ein farbloses Pulver vor, welche anschließend zu einer farblosen zähen Masse reagierte. Nach 90 min trat eine Gelbfärbung ein, welche sich mit Fortschreiten der Reaktion verstärkte. Nach insgesamt 180 min Reaktionszeit in der Kugelmühle wurde ein gelber Feststoff erhalten. Dieser ging bei der Derivatisierung jedoch nur unvollständig in Lösung, sodass keine quantitative Aussage über die Zusammensetzung der Reaktionsmischung getroffen werden konnte. Die Lösung wurde analysiert und zeigte weiterhin Tetrosen, Hexosen und Heptosen, sowie Glycolaldehyd in Spuren. Nach der Derivatisierung und der gaschromatographischen Analyse wurde der Umsatz der Reaktion nach den jeweiligen Zeitabständen bestimmt (Abbildung 3-27). Nach bereits zehn Minuten wurden fast 50% des Glycolaldehyds umgesetzt. Ein nahezu vollständiger Umsatz von 95% trat nach 120 min ein.

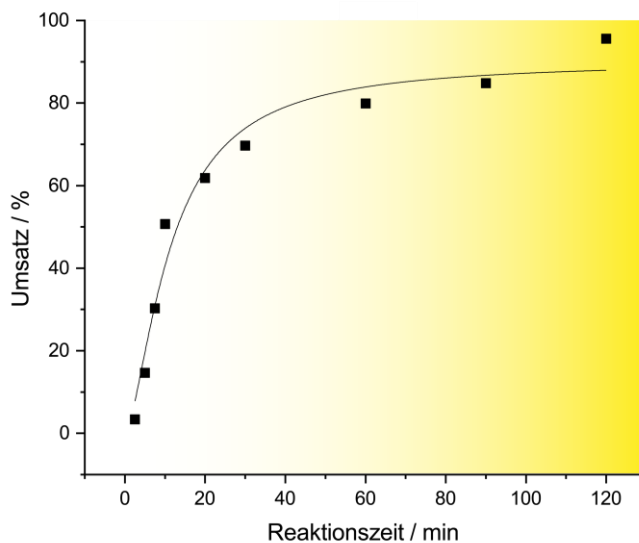


Abbildung 3-27: Zeitaufgelöster Umsatz und farbliche Veränderung der Reaktionsmischung ausgehend von Glycolaldehyd und 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Glycolaldehyd wurde kontinuierlich verbraucht und höhere Zucker wie Tetrosen und Hexosen bis hin zu Heptosen wurden aufgebaut (Abbildung 3-28). Nach zehn Minuten wurde die Stoffmenge an Glycolaldehyd durch den Aufbau von Tetrosen halbiert. Nach einer Stunde dominierten Tetrosen das Reaktionsgemisch über den gebildeten Hexosen und dem unverbrauchten Glycolaldehyd. Im weiteren Reaktionsverlauf wurden die synthetisierten Tetrosen zu höheren Zuckern umgesetzt und durchliefen daher ein Maximum. Hexosen wurden dage-

gen kontinuierlich aufgebaut. Glycolaldehyd wurde nahezu vollständig in höheren Zuckern eingebaut.

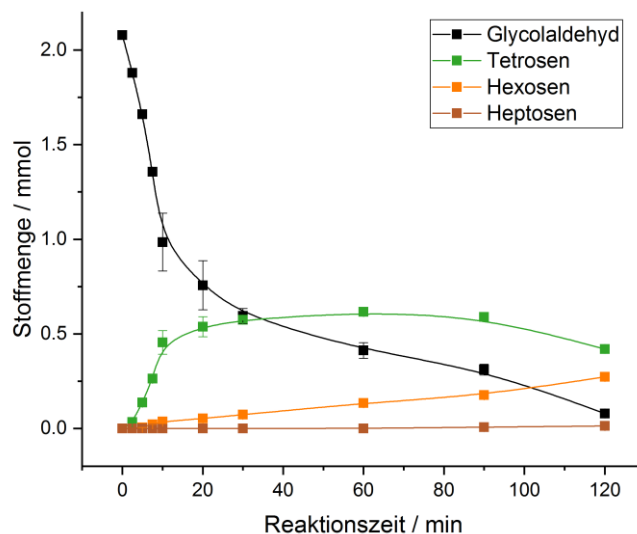


Abbildung 3-28: Reaktionsverlauf bei der Reaktion von Glycolaldehyd mit 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ für bis zu 120 min in einem 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel bei 30 Hz.

Der Nachweis von Heptosen bei einem Ausgangspunkt von Glycolaldehyd wurde bereits bei der Festphasenreaktion als Langzeitmessung beobachtet (Tabelle 3-4). Basierend auf einem C2-System wurden vor allem geradzahlige C4- und C6-Zucker erwartet. Auch Monosaccharide mit einer ungeradzahligen Kettenlänge sind möglich, da beispielsweise durch eine Retroaldolreaktion von Hexosen C3-Bausteine im Reaktionsnetzwerk vorhanden sein könnten. Ausgehend von C3-Bausteinen könnten dementsprechend Pentosen und Heptosen aufgebaut werden.

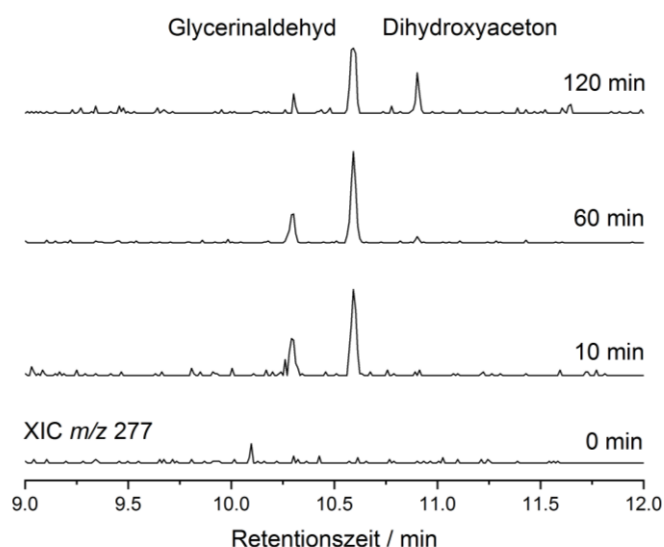


Abbildung 3-29: Extrahiertes Ionenchromatogramm (m/z 277) im Triosenbereich nach verschiedenen Reaktionszeiten. EtOx-TMS-Derivatisierung. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 μm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He $p=80$ kPa.

Die aufgenommenen FID-Spuren zeigten keine Signale im Bereich der Triosen. Durch die Methode der extrahierten Ionen können ionisierte Molekülfragmente bestimmter Masse gezielt nachgewiesen werden, auch in Spuren. Die silylierten Oximderivate der Triosen besitzen einen Molekülpeak von m/z 277 (siehe Tabelle 3-2). Nach erfolgter Extraktion der MS-Spuren wurden Peaks mit dem charakteristischen Masse-Ladungs-Verhältnis im Retentionszeitenbereich der Triosen detektiert (Abbildung 3-29). Am Startpunkt der Reaktion wurde wie zu erwarten kein C3-Baustein nachgewiesen. Nach 10 min wurde Glycerinaldehyd detektiert und nach 120 min ebenso Dihydroxyaceton. Durch die in Spuren auftretenden Triosen konnte der Aufbau von Heptosen nachvollzogen werden.

Beim Vergleich zweier vorangegangener Messungen wurde der Einfluss der Mechanochemie auf die Aldolreaktion im Formose-Netzwerk deutlich. Die Monosaccharid-Zusammensetzung der Formose-Reaktion in der Kugelmühle nach 120 min und die der Festphasenreaktion nach 28 d ohne mechanische Krafteinwirkung veranschaulichten eine Beschleunigung von Glycolaldehyd zu höheren Zuckern (Abbildung 3-30). Hierbei lag Glycolaldehyd in beiden Fällen bei ungefähr 10% bei einem Zeitfaktor von über 300. Nach 120 min in der Kugelmühle bestand die Reaktionsmischung über die Hälfte aus Tetrosen und zu einem Drittel aus Hexosen. Dieses Bild wurde in der Langzeitmessung ohne äußere Krafteinflüsse zu Gunsten der höheren Zucker verschoben. Die Hexosen lagen nun zu zwei Dritteln vor und die Tetrosen wurden auf 15% reduziert. Dennoch besteht durch die erhebliche Zeitersparnis insgesamt eine Beschleunigung im Aufbau höherer Zucker.

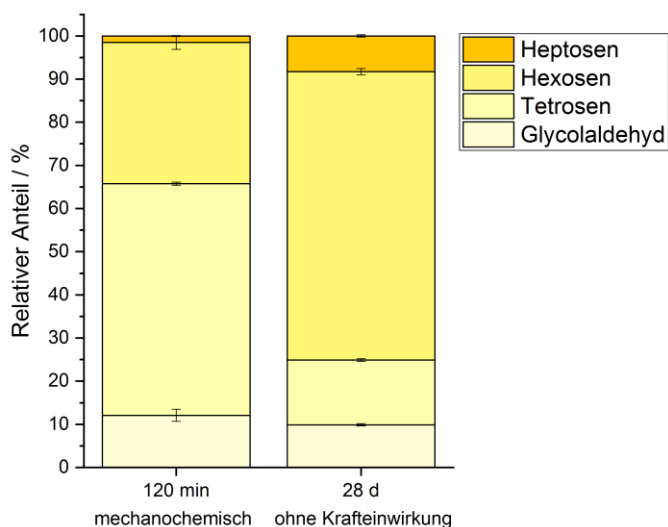
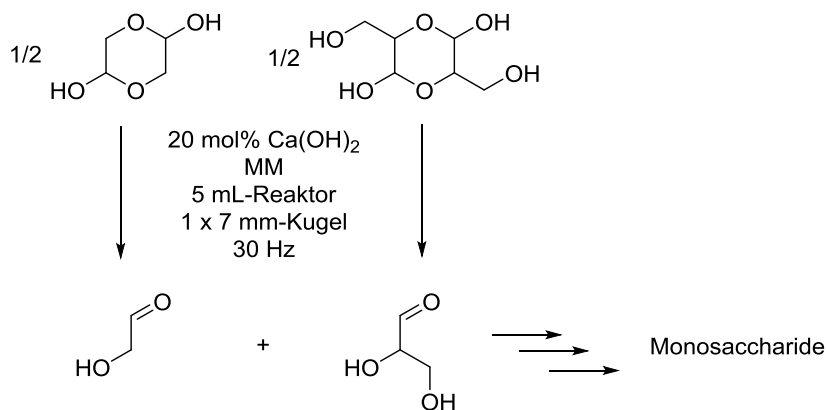


Abbildung 3-30: Vergleich der Formose-Reaktion basierend auf Glycolaldehyd in der Kugelmühle nach 120 min (MM, 5 mL, 1 x 7 mm, 30 Hz) und nach 28 d ohne mechanochemische Krafteinflüsse.

Die zeitaufgelöste, gekreuzte Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd

Im Folgenden wurde das Formose-Netzwerk kontrolliert vergrößert. Ausgangssubstanz war neben Glycolaldehyd auch Glycerinaldehyd, ein C3-Baustein. Diese beiden Aldosen wurden mit Calciumhydroxid in der Schwingkugelmühle umgesetzt (Schema 3-16). Die 20 mol% Base beziehen sich hierbei auf die Gesamtstoffmenge an Monomeren.



Schema 3-16: Gekreuzte Aldolreaktion von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit 20 mol% Ca(OH)₂ in der Schwingkugelmühle.

Für den Zeitverlauf der gekreuzten Aldolreaktion ausgehend von Glycol- und Glycerinaldehyd wurden aufgrund der geringeren Geschwindigkeit der Reaktion größere Zeitintervalle von jeweils einer Stunde gewählt. Insgesamt wurde die Reaktion bis zu sechs Stunden untersucht.

Die ermittelten Gesamtumsätze der gekreuzten Aldolreaktion (Abbildung 3-31) lagen nach einer Stunde bei 30%, nach drei Stunden über 50% und nach fünf Stunden bei maximalen 90%. Die Umsätze bezogen sich hierbei auf die beiden eingesetzten Aldosen und deren Verbrauch zum Aufbau höherer Zucker. Im Vergleich zur Aldolreaktion mit Glycolaldehyd allein (Abbildung 3-27) wurde eine deutlich langsamere Reaktion beobachtet. Zuvor trat ein Umsatz von 25% bereits nach 7,5 min und ein knapper Umsatz von 50% nach 10 min ein. Umsätze von über 90% wurden im Vergleich bereits nach der Hälfte der Reaktionszeit erhalten. Die Zugabe einer Aldotriose beschleunigt dementsprechend nicht den Aufbau zu höheren Monosacchariden.

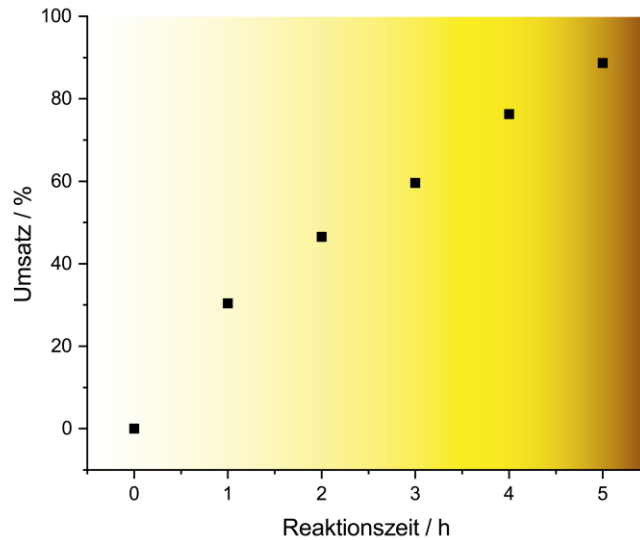


Abbildung 3-31: Zeitaufgelöster Umsatz und farbliche Veränderung des Reaktionsgemisches der gekreuzten Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Der kinetische Verlauf des Umsatzes zeigte eine veränderte Abhängigkeit: Der Gesamtumsatz im Glycolaldehyd-System verlief für die Aldolreaktion exponentiell (Abbildung 3-27), in der gekreuzten Aldolreaktion dagegen eine lineare Abhängigkeit. In der gekreuzten Aldolreaktion wurden die beiden eingesetzten Aldehyde demzufolge unterschiedlich verbraucht.

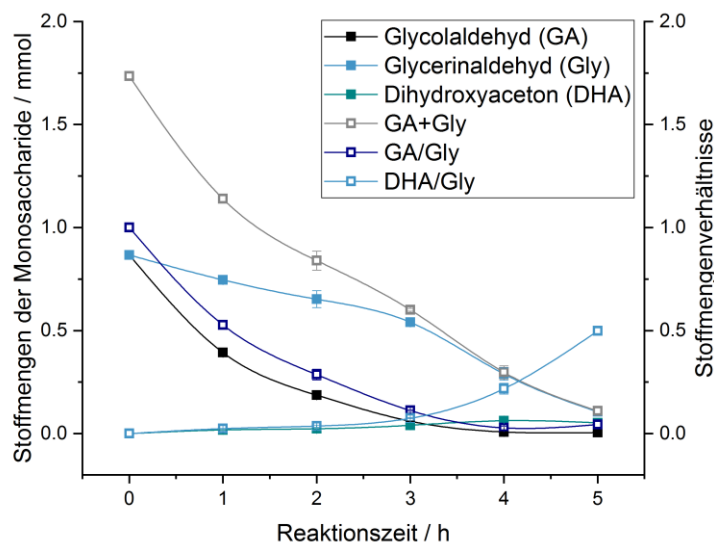


Abbildung 3-32: Reaktionsverlauf der kleinen Zucker beim Umsatz von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ für bis zu 5 h in einem 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel bei 30 Hz.

Bei genauerer Betrachtung der kleinen Zucker Glycolaldehyd, Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton wurde unterschiedliches Verhalten beobachtet (Abbildung 3-32). Innerhalb der ersten drei Stunden wurde Glycolaldehyd nahezu vollständig verbraucht, wohingegen Glycerinaldehyd nur minimal zu anderen Zuckern reagierte. Der Quotient GA/Gly verdeutlicht diesen Verlauf durch die Parallelität zu Glycolaldehyd. Erst nachdem Glycolaldehyd

nicht mehr im System vorhanden war, wurde Glycerinaldehyd verstärkt umgewandelt und verbraucht. Dihydroxyaceton kann ausgehend von Glycerinaldehyd in einer Lobry-de-Bruyn-Alberda-van-Ekenstein-Umlagerung aufgebaut werden oder durch Retroaldolreaktion höherer Zucker generiert werden. Im Laufe der Reaktion wurde Dihydroxyaceton nachgewiesen. Dies stellt einen Hinweis für den Ablauf der eben genannten Reaktionen dar.

Bei der Betrachtung der Monosaccharid-Zusammensetzungen wurden durch den komplexeren Ausgangspunkt vielfältigere Reaktionsmischungen erhalten. Das komplette Spektrum von Glycolaldehyd bis hin zu Heptosen wurde nachgewiesen. Zum Zeitpunkt Null lagen Glycol- und Glycerinaldehyd im 1:1-Verhältnis vor. Nach einer Stunde wurde Glycolaldehyd bereits zur Hälfte verbraucht. Nach zwei Stunden erreichten die Tetrosen ein Maximum, sodass nach vier Stunden sowohl Glycolaldehyd als auch die Tetrosen fast vollständig in höhere Zucker umgewandelt worden sind. Zeitgleich dominierten die Hexosen das Reaktionsgemisch bezüglich der aufgebauten Zucker und nach fünf Stunden bezogen auf alle Zuckerkomponenten. Pentosen und Heptosen wurden annähernd in gleichen Mengen gebildet und waren durch die Wahl der Ausgangssubstanzen mittels direkter Aldolreaktionen zugänglich.

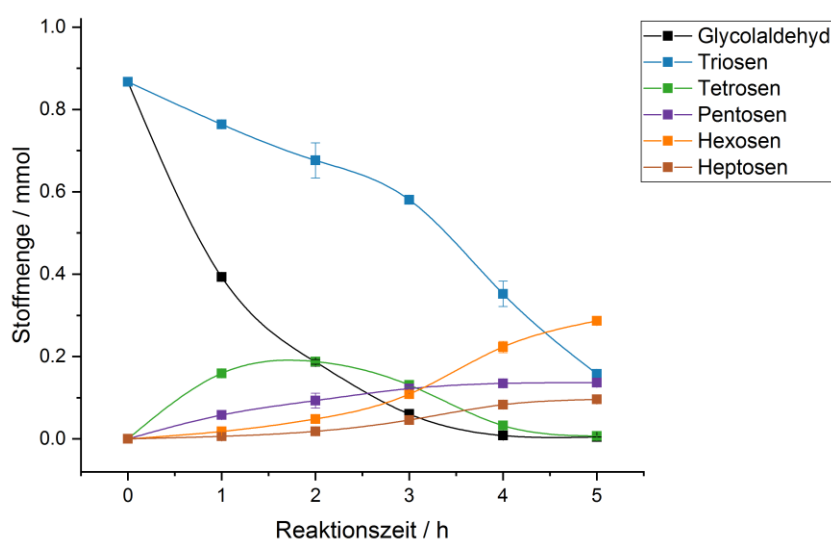


Abbildung 3-33: Reaktionsverlauf beim Umsatz von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ für bis zu 5 h in einem 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel bei 30 Hz.

Qualitativ konnten an höheren Zuckern in der Reaktionsmischung Erythrose, Threose und Erythrulose als Tetrosen nachgewiesen werden. Als Pentosen wurde Ribose, Arabinose, Xylose und Lyxose als Aldopentosen sowie Ketopentosen (Ribulose und/oder Xylulose) aufgebaut. Des Weiteren wurden Psicose, Tagatose und Fructose und/oder Sorbose als Keto-hexosen detektiert.

Vor allem der Aufbau von Ribose ist von besonderem Interesse, da Ribose einen essentiellen Baustein der Nukleotide und somit von RNA darstellt. In der Formose-Mischung nach einer

mechanochemischen Reaktionszeit von fünf Stunden machte Ribose einen relativen Anteil von über 2% aus (Abbildung 3-34). Dies entspricht knapp 12% aller aufgebauten Pentosen. Ein selektiver Syntheseweg für Ribose wurde somit nicht realisiert. Dennoch wird deutlich, dass Ribose auch im lösungsmittelfreien Medium präsent sein konnte um präbiotisch-relevante Folgereaktionen eingehen zu können.

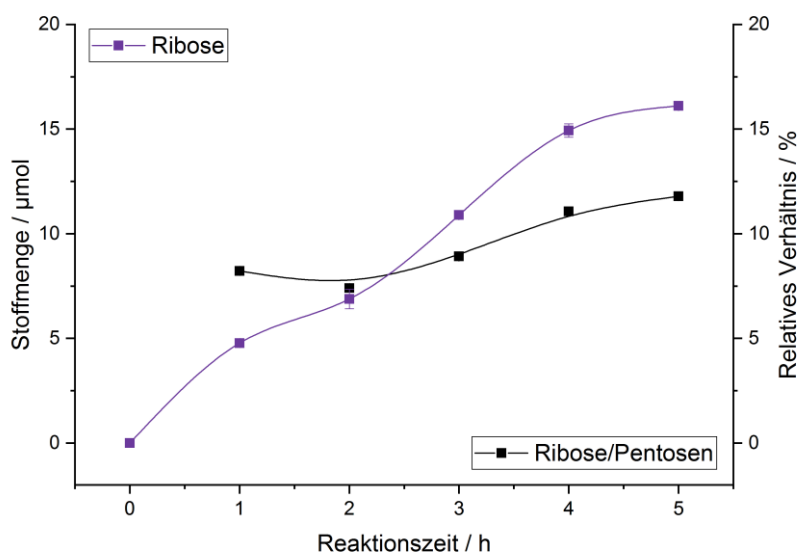


Abbildung 3-34: Ribose im Reaktionsgemisch ausgehend von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd, sowie das Verhältnis von Ribose zu den gebildeten Pentosen.

Neben den bekannten linearen Pentosen wurden weitere Signale im Bereich der Pentosen detektiert (Abbildung 3-35). Mit Hilfe charakteristischer Fragmentationen (siehe Tabelle 3-2) m/z 307 für Aldopentosen und m/z 378 für Ketopentosen konnten den zwei Peaks **A** und **B** Strukturvorschlägen zugeordnet werden. **A** stellt hierbei Apiose, eine verzweigte Aldopentose, dar und kann durch Glycolaldehyd und Dihydroxyaceton aufgebaut werden. Durch zusätzliches Spiken des Reaktionsgemisches mit kommerziell-erhältlicher Apiose konnte die Zuordnung dieses Peaks gestützt werden. In der Natur kommt Apiose als Pflanzenbestandteil in Zellwänden vor.^[178-179] Durch Isomerisierung der Apiose kann **B** entstehen, die Ketoform der Apiose. Beide Moleküle sind dementsprechend im gegebenen Formose-Netzwerk zugänglich.

Im Laufe der Reaktion überwog der Ketosenanteil die jeweilige Monosaccharid-Gruppe. Beispielsweise wurde für die verschiedenen Reaktionsmischungen die Verteilung von Aldosen (m/z 319) und Ketosen (m/z 378) der Hexosen genauer untersucht (Abbildung 3-36). Die Mischung der linearen, kommerziell-erhältlichen Standard-Zucker zeigte eine deutliche zeitliche Trennung von Aldosen und Ketosen. Trotz Überlappung der Monosaccharide innerhalb der Berei-

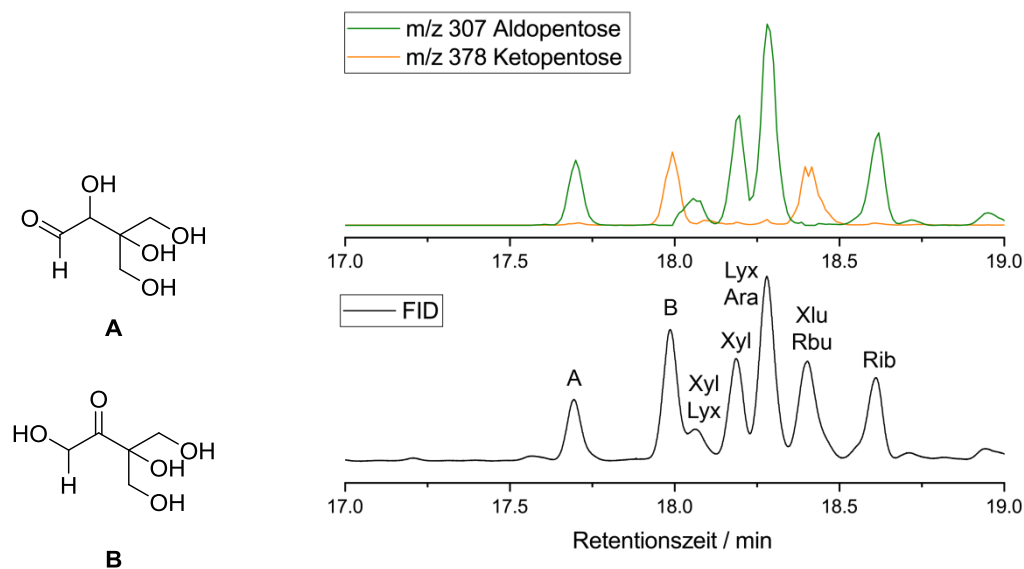


Abbildung 3-35: Strukturvorschläge für die neuen Peaks A und B. A: Apiose. B: Isomerisierte Apiose. FID- und MS-Spur der gekreuzten Aldolreaktion im Pentosenbereich. EtOx-TMS-Derivatisierung. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.

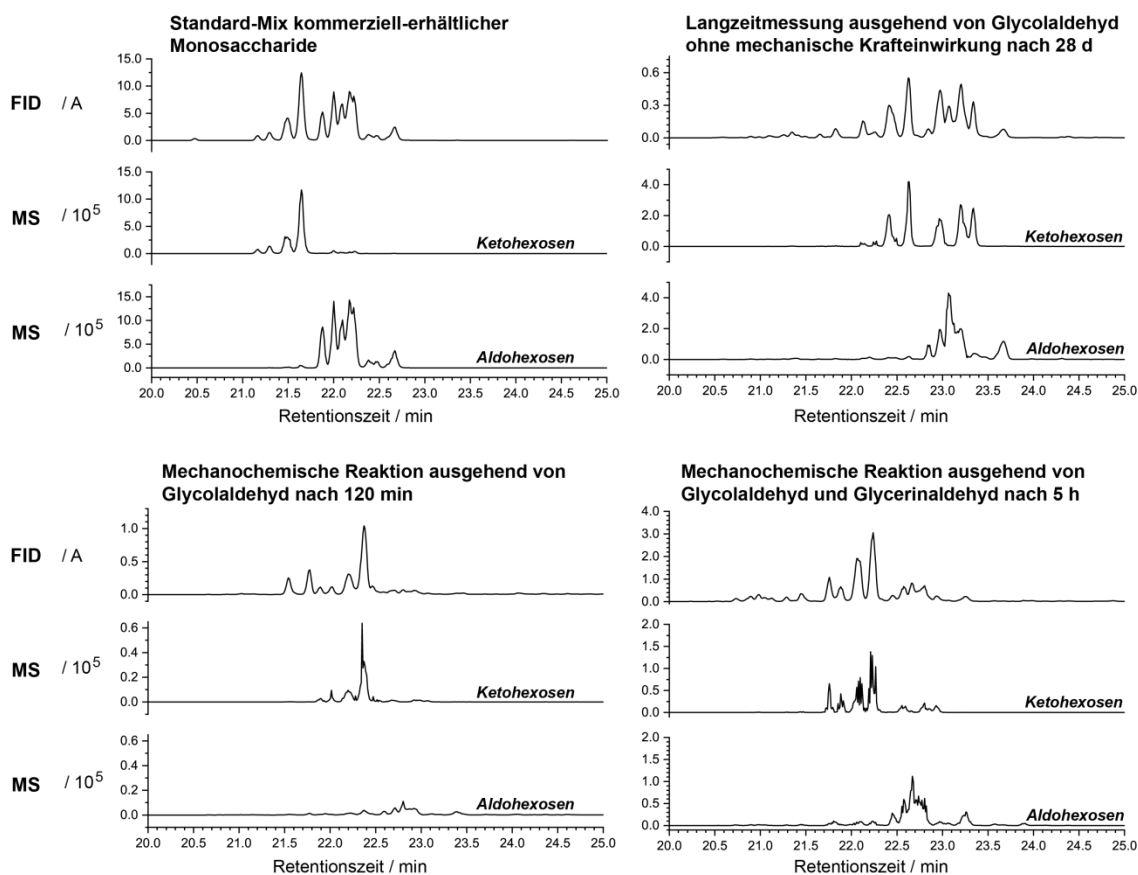


Abbildung 3-36: Vergleich von Aldo- und Ketoheptosen der unterschiedlichen Reaktionsansätze. FID und XIC zeigt (m/z 319 für Aldohexosen, m/z 378 für Ketoheptosen). EtOx-TMS-Derivatisierung. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.

che konnten die Zucker nach ihren funktionellen Gruppen separiert werden. Die Formose-Reaktion ohne mechanischen Einfluss zeigte dagegen zusätzliche Keto-hexosen-Signale im „Aldosen-Bereich“. Beide Zuckerformen waren deutlich vertreten. Die mechanochemische Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd nach 120 min verwies auf einen Überschuss an Keto-hexosen im Vergleich zu Aldo-hexosen. Das gleiche Ergebnis lieferte die gekreuzte Aldolreaktion in der Kugelmühle ausgehend von Glycol- und Glycerinaldehyd. Diese zusätzlichen Keto-hexosen-Signale könnten auf verzweigte Keto-hexosen zurückzuführen sein, da ihr Auftreten bei den linearen Standard-Zuckern ausblieb. Sie veranschaulichen die verschiedenen ablaufenden Reaktionen innerhalb des komplexen Formose-Netzwerkes.

3.4.6 Vergleichssystem: Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd in Wasser

Reaktionen in der Kugelmühle laufen mit Feststoffen ohne Flüssigkeiten oder Lösungsmitteln ab. So wird ein direktes Aufeinandertreffen der Ausgangsstoffe ermöglicht. Im Falle der Aldolreaktion mit Glycolaldehyd wurde innerhalb der ersten zehn Minuten eine haptische Veränderung zu einer zähen Masse beobachtet (siehe Abbildung 3-17). Hierdurch wurde die anfänglich vorteilhafte Durchmischung der pulvrigen Edukte von einer diffusionsgesteuerten Reaktion abgelöst und der Reaktionsverlauf verlangsamt.

Die Aldolreaktion mit Glycolaldehyd und Calciumhydroxid wurde vergleichend in der Kugelmühle und in Wasser durchgeführt. Die mechanochemische Reaktion lief mit den erarbeiteten Parametern ab: Schwingkugelmühle, 5 mL-Reaktor, eine 7 mm-Kugel, 30 Hz. Für die Reaktion in Wasser wurde eine 140 mM Glycolaldehyd-Lösung angesetzt und diese mit 20 mol% Calciumhydroxid versetzt. Die Reaktion lief bei 40°C ab. Vor der Derivatisierung wurden die wässrigen Proben am Lyophilisator getrocknet. Die darauffolgenden Schritte waren für beide Reaktionsansätze identisch.

Insgesamt wurden die Reaktionen für 30 min verfolgt und in einem Abstand von 10 min Proben entnommen. Deutlich wurde der beschleunigte Ablauf der Reaktion in Wasser (Abbildung 3-37). Die mechanochemische Reaktion zeigte vorrangig den Ausgangsstoff Glycolaldehyd. Auch nach 30 min dominierte das Edukt das Reaktionsgemisch. Tetrosen aber auch Hexosen wurden aufgebaut. Ein fortgeschrittenes Formose-Netzwerk wurde nach gleicher Zeit in wässriger Lösung beobachtet. Bereits nach 10 min lag Glycolaldehyd nur noch in Spuren vor. Der gesamte eingesetzte Zucker wurde bereits zu höheren Monosacchariden umgesetzt. Auch der Anteil aufgebauter Tetrosen wurde reduziert und Hexosen dominierten die Monosaccharid-Mischung mit bis zu 80%. Zusätzlich wurden Heptosen detektiert.

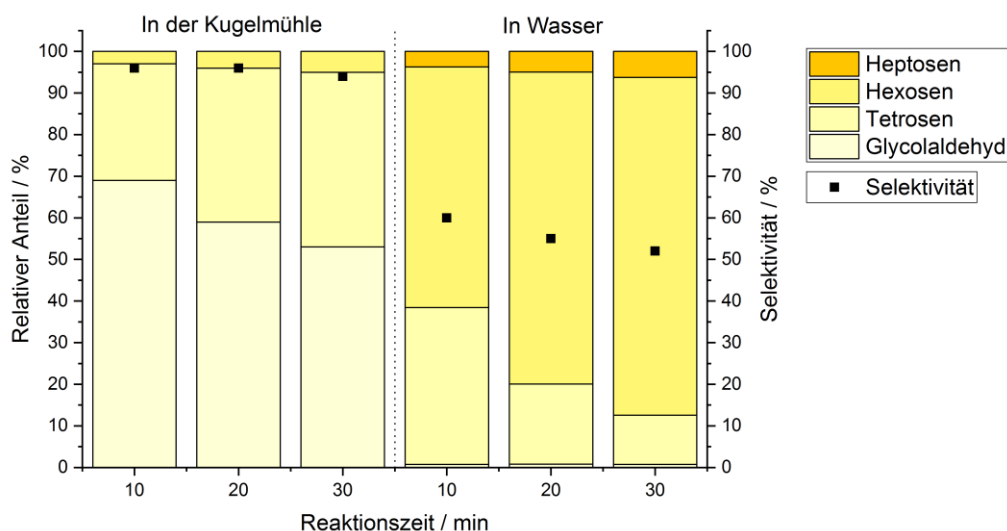


Abbildung 3-37: Vergleich der Monosaccharid-Zusammensetzung und der Selektivität der ersten 30 min der Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid in der Kugelmühle und in Wasser.

Die Beschleunigung der Reaktion in Wasser konnte entweder auf das Lösungsmittel oder die Temperatur zurückgeführt werden. Die Reaktion in Wasser lief bei 40°C ab, wohingegen in der Kugelmühle unter 30°C herrschten. Die Temperatur allein beschleunigte nicht den Monosaccharid-Aufbau, da die 30-minütige Festphasenreaktion bei 40°C nur zu einem Bruchteil Tetrosen aufbaute (siehe Tabelle 3-5). Laufen Reaktionen in Lösung ab, so herrscht eine erhöhte Durchmischung und die Beweglichkeit der Moleküle wird vergrößert. Im Zusammenspiel mit einer Temperatur von 40°C wurde der Aufbau höherer Zucker begünstigt.

Die ausgewählten Aldosen und Ketosen der homologen Monosaccharid-Reihe wurden in Wasser beschleunigt aufgebaut, zeitgleich wurde ein massiver Einbruch in Bezug auf die Selektivität (Definition siehe Kapitel 4.3.15) für genau diese Zucker beobachtet. In der Kugelmühle wurden die Tetrosen und Hexosen gezielt synthetisiert, sodass die Selektivität bei 95% lag. Diese wurde in Wasser durch die Bildung vieler neuer Spezies auf 50-60% dezimiert. Durch vermehrt ablaufende Nebenreaktionen oder bereits eintretende Abbaureaktionen kann die verminderte Selektivität erklärt werden (Kapitel 3.1.3). Beispielsweise wurde Milchsäure detektiert. Diese kann durch Retroaldolreaktion von Hexosen und anschließender Kaskade aus Eliminierung und Umlagerung entstehen.^[116] Die fehlende Selektivität beziehungsweise die geringe Stabilität der Reaktionsprodukte und der rapide Zerfall der gewünschten Zucker in „braunen Teer“ ist einer der Hauptkritikpunkte an der Formose-Reaktion in Wasser als präbiotisches Szenario zum Zuckeraufbau. Der mechanochemische Ansatz verzögert diesen Vorgang und besticht gleichzeitig mit seiner hohen Selektivität.

3.5 Organokatalysierte Aldolreaktion

Im Abschnitt 3.4 wurde eine Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk in der Kugelmühle untersucht. Hierbei wurde standardmäßig Glycolaldehyd mit Calciumhydroxid als katalytische Base eingesetzt. Für den Monosaccharid-Aufbau mittels Organokatalyse in der Kugelmühle wurde ebenfalls Glycolaldehyd als Ausgangssubstanz gewählt. Dieses wurde nun mit L-Prolin als Organokatalysator umgesetzt. Hierbei wäre nicht nur die Synthese höherer Monosaccharide interessant, sondern auch ein möglicher Enantiomerenüberschuss der Produkte.

Zunächst wurde die Beladung des Organokatalysators L-Prolin variiert. Angefangen wurde mit 100 mol%, einer stöchiometrischen Menge, über 50 mol% bis hin zu den typischen organokatalytischen Mengen von 20 oder 10 mol%. Als mechanochemische Parameter wurde die Schwingkugelmühle mit einem 5 mL-Reaktor gewählt. Dieser wurde mit einer 7 mm-Kugel befüllt und für 90 min bei 30 Hz in Schwingung versetzt. Die anschließende Derivatisierung erfolgte analog zu den Proben der mechanochemischen Aldolreaktionen mit Calciumhydroxid.

GC-Analyse

Die erhaltenen GC-Chromatogramme unterschieden sich je nach Katalysatorbeladung und zeigten neue Signale neben den Zuckersignalen, bekannt aus dem Formose-Netzwerk. Exemplarisch in Abbildung 3-38 sind die Chromatogramme der Organokatalyse mit 100 bzw. 20 mol% L-Prolin sowie zum Vergleich die Aldolreaktion mit Glycolaldehyd und 20 mol% Calciumhydroxid gezeigt.

Die Aldolreaktion aus dem Formose-Netzwerk zeigte nach 90 min Reaktionszeit vorrangig Glycolaldehyd, Tetrosen und Hexosen. Nach der gleichen Reaktionszeit wurde auch bei der Organokatalyse Glycolaldehyd nachgewiesen. Bei ähnlichen Retentionszeiten wurden Signale detektiert, darunter Tetrosen, die mit Hilfe der Massenspektrometrie nur in Spuren nachgewiesen werden konnten. Stärkere Signale wurden Addukten zugeordnet, welche die Monosaccharide mit dem eingesetzten Organokatalysator L-Prolin im Laufe einer Amadori-Reaktion^[180] eingegangen sind (Schema 3-17).

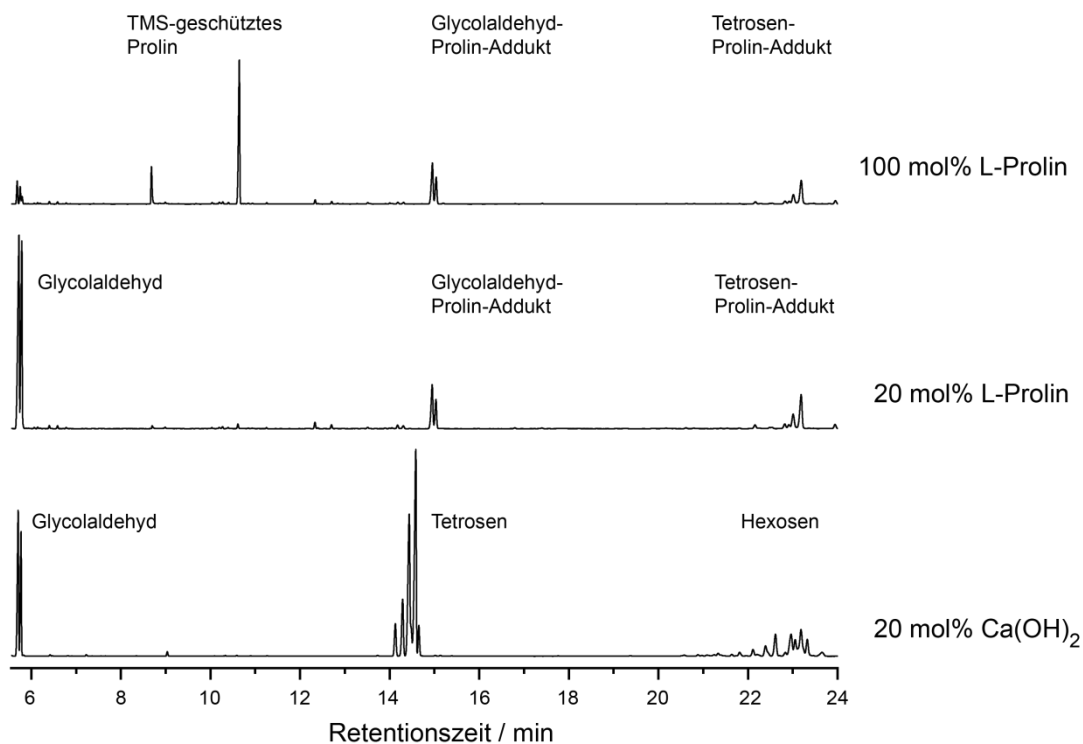
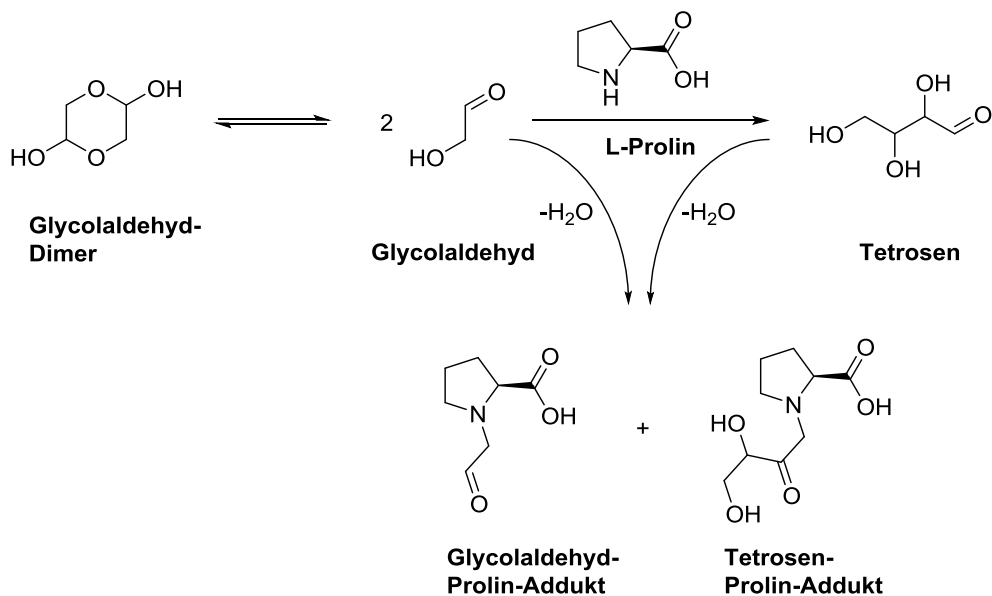


Abbildung 3-38: GC-Chromatogramme der Aldolreaktion mit 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$, sowie der Organokatalyse mit 20 bzw. 100 mol% L-Prolin. Reaktionszeit 90 min. EtOx-TMS-Derivatisierung. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 μm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.



Schema 3-17: Organokatalyse und auftretende Nebenprodukte von Glycolaldehyd und L-Prolin.

Die Amadori-Umlagerung stellt den zweiten Schritt der Maillard-Reaktion dar. Bei der Umsetzung von Zuckern mit Aminen treten zwei Isomere auf. Zunächst das instabile Glycosylamin, welches unter Wasserabspaltung zur stabileren Aminoketose wird. Das Auftreten einer freien Carbonylgruppe konnte durch den Vergleich der zwei Derivatisierungsmethoden mit HAcI und EtOx·HCl und anschließender Silylierung mit BSTFA gezeigt werden (Abbildung 3-12). Die beobachtete Verschiebung der Signale (Abbildung 3-39) schloss eine Enaminfunktion aus und untermauerte die vorgeschlagenen Adduktstrukturen.

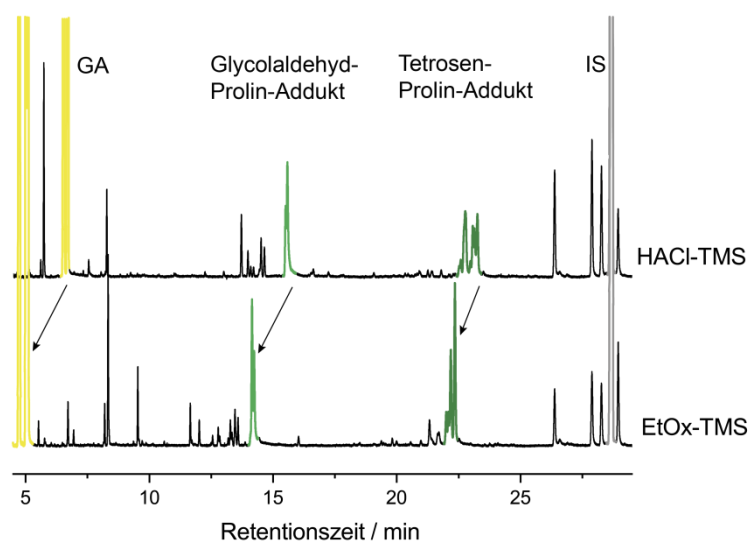


Abbildung 3-39: GC-Chromatogramme der organokatalytischen Reaktionsmischung nach zwei Derivatisierungsmethoden. Oben HAcI und BSTFA. Unten EtOx·HCl und BSTFA. Messbedingungen: Trennsäule SE-52, 14 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm FD; Temperatur-Programm: 50°C (2 min), 10 K/min auf 140°C, 5 K/min auf 240°C (2 min); He p=80 kPa.

Bei der Reaktion mit 100 mol% L-Prolin wurden die gleichen Signalsets detektiert (Abbildung 3-38), hierbei lag Glycolaldehyd in verhältnismäßig geringen Mengen vor. Zusätzlich wurden zwei neue Signale zwischen 9 und 11 min nachgewiesen. Diese konnten L-Prolin zugeordnet werden, welches während der Derivatisierung mit BSTFA an der Hydroxy- bzw. Aminogruppe einfach oder zweifach TMS-geschützt wurde.

In der Organokatalyse verlief die Synthese höherer Monosaccharide verlangsamt ab, da sowohl Edukt als auch Zwischenprodukt mit dem eingesetzten Katalysator eine Kondensationsreaktion eingegangen sind und dabei stabile Addukte aufgebaut wurden, welche dem System die Reaktionskomponenten entzogen wurden.

HPLC-Analyse

Für eine Bestätigung der vorgeschlagenen Addukte wurde als zweite unabhängige Analytikmethode die Flüssigkeitschromatographie mit UV- und MS-Detektor gewählt. Die Reaktionsmischung wurde in Wasser mit DNPH derivatisiert (Kapitel 3.1.4) und auf einer RP-Säule getrennt (Abbildung 3-40). Die detektierten Signale unterschieden in ihrer Intensität und darauffolgend in dem Maße der Überlappung. Die UV-Spur von 360 nm zeigte zwei deutliche Signale zwischen vier und fünf Minuten. Davor waren kleinere Signale erkennbar. Die TIC-Spur zeigte ein Signalwald mit vielen Signalen ähnlicher Intensität. Hier fanden sich die Signale aus der UV-Spur wieder, aber auch deutliche Signale mit kleineren Retentionszeiten.

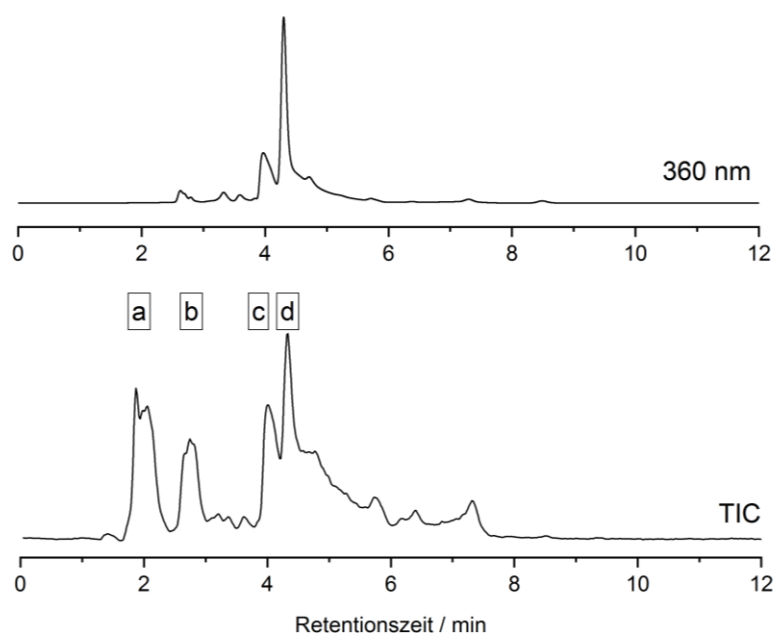


Abbildung 3-40: HPLC-Trennung einer Organokatalyse ausgehend von Glycolaldehyd und L-Prolin nach DNPH-Derivatisierung. Messbedingungen: Trennsäule LiChrosphere® C18-Säule, ACN/Wasser (je 0,1 Vol% Ameisensäure) 50/50, 1 mL/min, $\lambda = 360$ nm.

Die Signale **a-d** der HPLC-Messung (Abbildung 3-40) konnten mit Hilfe der MS-Spuren Derivatisierungs- und Reaktionsprodukten zugeordnet werden (Abbildung 3-41). Signal **a** konnte auf das Tetrosen-Prolin-Addukt zurückgeführt werden. Dieses trug keine DNPH-Einheit und erklärte so das Ausbleiben eines Peaks in der UV-Spur. Auch Signal **b** bestätigte die Addukt-Bildung zwischen Aldosen und L-Prolin während der Reaktion in der Kugelmühle, da hierbei das DNPH-derivatisierte Glycolaldehyd-Prolin-Addukt detektiert wurde. Die Signale **c** und **d** konnten den derivatisierten Tetrosen und Glycolaldehyd zugeordnet werden. HR-MS- und MS²-Experimente unterstützen die Strukturvorschläge.

Mit Ausnahme von Prolin konnten alle beteiligten Reaktionskomponenten mit einer zweiten unabhängigen Analytikmethode nachgewiesen werden. Das underivatisierte Tetrosen-Prolin-

Addukt lässt auf eine verlangsamte Reaktion mit DNPH schließen. Für nachfolgende Untersuchungen der mechanochemischen Organokatalyse wurde weiterhin die GC-Analytik verwendet. Neben der besseren Trennung konnten auch alle Komponenten in einer Messung detektiert werden.

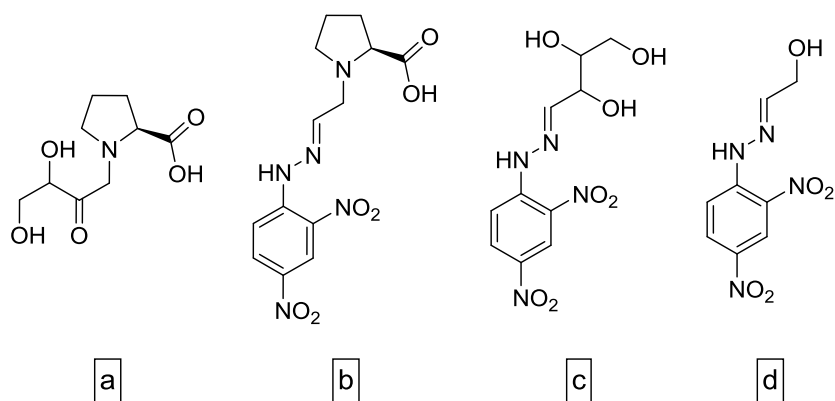


Abbildung 3-41: Moleküle zugeordnet zu den HPLC-Signalen a-d aus Abbildung 3-40.

Die Katalysatorbeladung

Die Betrachtung der verschiedenen Katalysatorbeladungen spiegelt die Varianz der detektierten Reaktionskomponenten wieder (Abbildung 3-42). Bei 10 mol% L-Prolin lag nach 90 min Reaktionszeit noch über 90% Glycolaldehyd vor. Zusätzlich wurde Glycolaldehyd als Addukt mit L-Prolin nachgewiesen. Die aufgebauten Tetrosen wurden ebenfalls als Prolin-Addukt detektiert. Mit 20 mol% verschob sich dieses Ergebnis leicht, da mehr L-Prolin vorlag um Adduktbildung einzugehen. Beim Einsatz von 50 mol% Organokatalysator fiel der Anteil an freiem Glycolaldehyd unter 40%. Der Addukt-Anteil stieg auf knapp 30%. Auch Tetrosen und Tetrosen-Addukte traten verstärkt auf. Außerdem wurde freies L-Prolin mit über 10% nachgewiesen. Bei anfänglichen 100 mol% L-Prolin erhöhte sich dieser Betrag auf über 50% und freies Glycolaldehyd lag unter 15%.

Bei typischen Molprozenten an L-Prolin als Organokatalysator verlief die Zuckersynthese stark verlangsamt. Auch die sukzessive Erhöhung förderte vor allem die Adduktbildung zwischen L-Prolin und Glycolaldehyd, wodurch freies Glycolaldehyd nicht für den Aufbau an Monosacchariden zur Verfügung stand. Durch die Erhöhung an L-Prolin wurden verstärkt Tetrosen aufgebaut, welche nur zu einem Bruchteil als freie Zucker vorlagen. Die Tetrosen bildeten überwiegend Addukte mit dem Organokatalysator. Daher scheinen 50 mol% L-Prolin optimal für die Organokatalyse mit Glycolaldehyd zu sein, da Tetrosen aufgebaut wurden und weiterhin genügend Glycolaldehyd und L-Prolin für fortlaufende Reaktionen verfügbar waren.

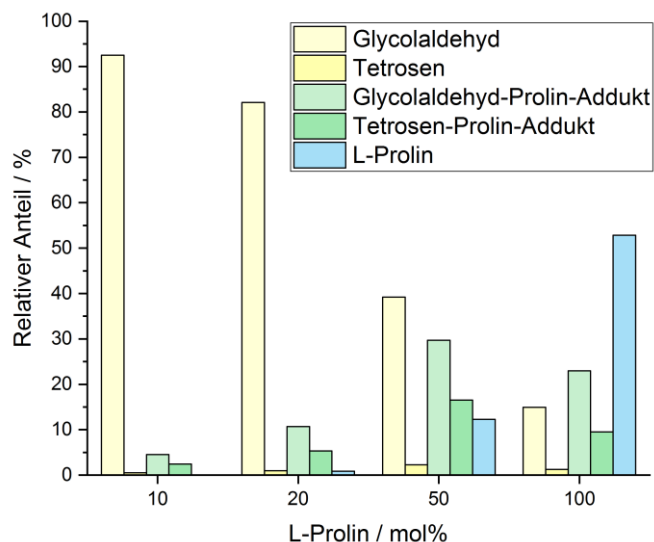


Abbildung 3-42: Reaktionskomponenten der Organokatalyse nach 90 min ausgehend von Glycolaldehyd und verschiedenen Katalysatorbelastungen von L-Prolin.

Da in den vorangegangenen Experimenten nur Tetrosen aufgebaut wurden, konnte bisher keine Aussage über das Verhalten von Hexosen mit L-Prolin getroffen werden. Dementsprechend wurden zwei Vertreter der Hexosen, D-Glucose und D-Fructose, in der Schwingkugelmühle für 60 min bei 30 Hz umgesetzt. Die Keto-hexose zeigte im Chromatogramm nur das Signal der Fructose selbst. Die Aldo-hexose wies dagegen neben einem sehr starken Signal für Glucose ebenso ein Peak auf, welcher dem Glucose-Prolin-Addukt zugeordnet werden konnte. Auch die Retentionszeit dieses Peaks war um zirka 8 min zu höheren Retentionszeiten von den Signalen der reinen Hexosen verschoben (vgl. Abbildung 3-38). Zum Vergleich wurden die jeweiligen Edukte ohne mechanische Umsetzung direkt derivatisiert, aber keinerlei Addukt-Signale nachgewiesen. Die beobachteten Additionsprodukte stammen dementsprechend aus der Reaktion in der Kugelmühle.

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass höhere Zucker ebenfalls ein Addukt mit L-Prolin bilden würden, dies aber deutlich langsamer geschieht als mit kleineren Zuckervertretern. Außerdem wurde die untersuchte Reaktion nur bei Aldo-hexosen und nicht bei Keto-hexosen beobachtet.

LAG durch die Zugabe von Wasser

Durch die Adduktbildung zwischen Edukten bzw. Zwischenprodukten mit dem Organokatalysator wurde die Zuckersynthese gehemmt. Um diesem Phänomen entgegenzuwirken wurde dem System Wasser zugeführt. Diese mechanochemische Methode wird *liquid assisted grinding* (LAG) genannt (Kapitel 3.1.2). Die Gesamtmenge entsprach der Stoffmenge an L-Prolin, welches mit 50 mol% eingesetzt wurde. Für die Wasserzugabe wurden zwei Ansätze verfolgt: erstens, eine vollständige Zugabe zu Beginn der Reaktion und zweitens, eine

sukzessive Zugabe. Hierbei wurde jeweils ein Drittel der Wassermenge zu Beginn der Reaktion und anschließend nach 30 bzw. 60 min hinzugegeben. Insgesamt betrug die Reaktionszeit 90 min.

Vergleichend mit der mechanochemischen Reaktion ohne Wasser wurden weiterhin Addukte mit L-Prolin beobachtet (Abbildung 3-43). Freies Glycolaldehyd lag zu 40-50% in den Reaktionsmischungen vor. Durch die Zugabe von Wasser konnte der Anteil an L-Prolin-gebundenes Glycolaldehyd um 15% reduziert werden. Hierbei hatte die vollständige Zugabe an Wasser einen größeren Einfluss als die sukzessive. Freie Tetrosen lagen weiterhin nur in Spuren vor, aber der Anteil an gebundenen Tetrosen konnte um 25% erhöht werden. Insgesamt wurde die Tetrosenbildung durch die Zugabe von Wasser gesteigert.

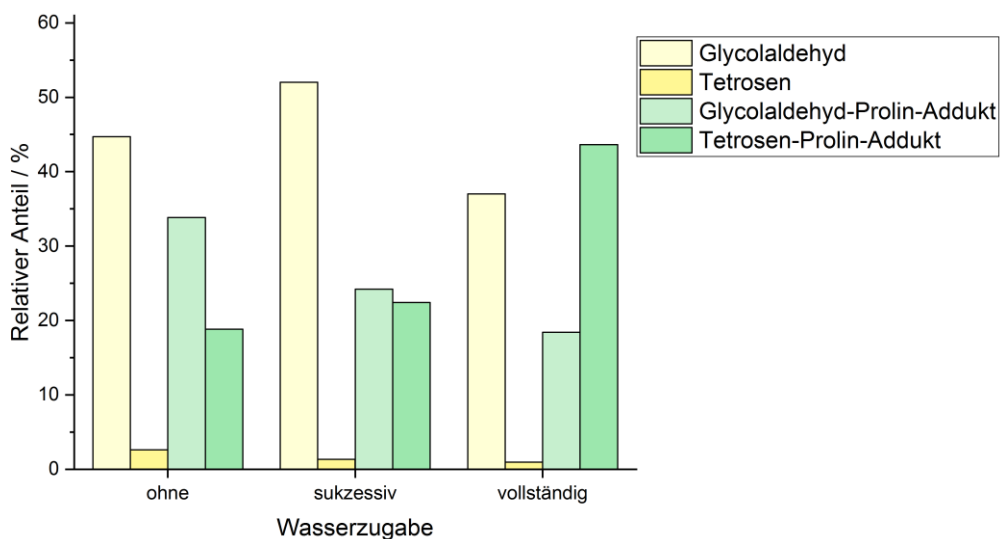


Abbildung 3-43: Reaktionskomponenten der Organokatalyse durchgeführt mit und ohne Wasser, nach 90 min.

Die Analytik der Enantiomerenverhältnisse

Für die Untersuchung der Organokatalyse wurde enantiomerenreines L-Prolin als Katalysator eingesetzt. Sollte L-Prolin mit Glycolaldehyd eine asymmetrische Synthese eingehen, so könnten Zucker mit einem Enantiomerenüberschuss aufgebaut werden. Um diesen Wert zu bestimmen, musste eine chirale Trennmethode entwickelt werden. Als Ansatz wurde die Zuckermischung wie bisher entsprechend der Chromatographie derivatisiert und durch chirale Stationärphasen eine Trennung der Enantiomere ermöglicht.

Die Produktmischung der Organokatalyse zeigte als freie aufgebaute Zucker vor allem Tetrosen. Daher wurde die Trennung exemplarisch an den jeweiligen Enantiomeren von Erythrose und Threose getestet.

Als erste Analytikmethode wurde HPLC gewählt. Die vier Enantiomere wurden mit DNPH derivatisiert und die Trennung mit Hilfe verschiedener chiraler RP-Säulen untersucht. Die

beste Trennung wurde auf der AD-RH-Säule erzielt (Abbildung 3-44). Obwohl unter den gewählten Bedingungen keine Basislinientrennung beobachtet wurde, so wies Erythrose einen Trennfaktor von $\alpha = 1,16$ und Threose von $\alpha = 1,20$ auf. Die Zuordnung der Enantiomere zu den eluierten Peaks erfolgte durch Einzelmessung unter gleichen Messbedingungen.

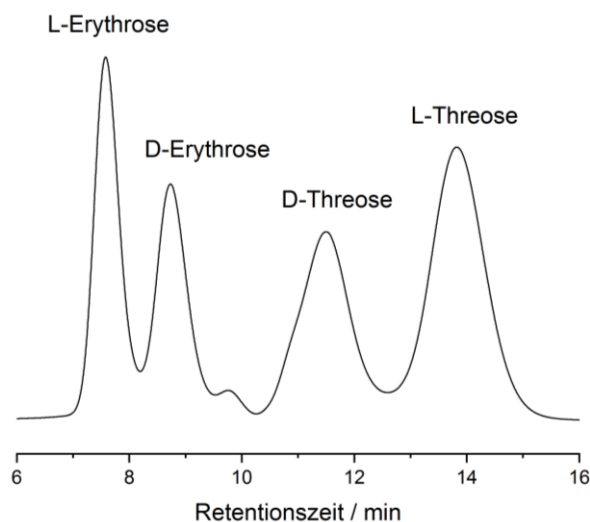


Abbildung 3-44: Enantiomerentrennung der Aldotetrosen als Referenz auf der HPLC. DNPH-Derivatisierung. Messbedingungen: Trennsäule AD-RH, ACN/Wasser 30/70, 1 mL/min, T=40°C, $\lambda = 360$ nm.

Die Anwendung der Enantiomerentrennung mittels HPLC auf reale mechanochemische Proben erbrachte keine neuen Informationen. Zu den Reaktionsmischungen trugen die freien Tetrosen unter 5% zum Gesamtanteil bei. Durch die Trennung der Tetrosen in ihre einzelnen Enantiomere verschwanden die Signale im Rauschen und eine Bestimmung des Enantiomenüberschuss blieb aus.

Für die Untersuchungen mittels GC wurden die Standard-Aldotetrosen und Glycolaldehyd mit TFAA derivatisiert und auf einer chiralen Stationärphasen getrennt (siehe Kapitel 4.3.11). Innerhalb von 20 min konnten die vier Enantiomere der Aldotetrosen aufgetrennt werden (Abbildung 3-45). Alle eingesetzten Tetrosen zeigten zwei Peaks pro Enantiomer, nur L-Erythrose eluierte einen einzelnen Peak. Eine Zuordnung der Tetrosen im Gemisch wurde durch vergleichende Einzelmessungen realisiert. Diese Enantiomerentrennung wurde erfolgreich auf ein Zuckergemisch des Formose-Netzwerks angewandt. Die Probe der Organokatalyse mit 20 mol% L-Prolin zeigte hingegen nur Glycolaldehyd und unverbrauchte Trifluoressigsäure. Diese konnte bei hochviskosen Lösungen während der Derivatisierung nicht ausreichend verdampfen und wurde dementsprechend auf die Trennsäule aufgetragen, wodurch diese chemisch verändert werden könnte. Die aufgebauten freien Tetrosen wurden nicht detektiert.

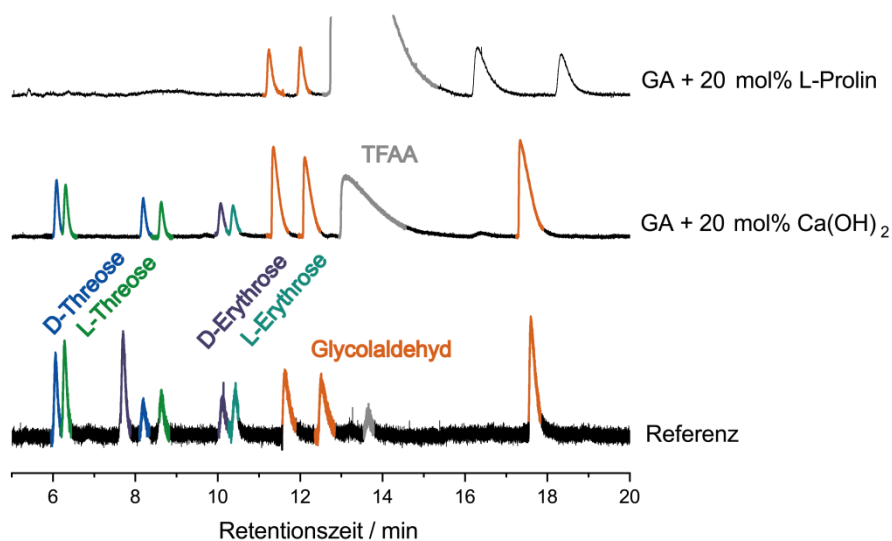


Abbildung 3-45: Gaschromatographische Enantiomerentrennung einer Referenzprobe bestehend aus Glycolaldehyd und Aldotetrosen, einer Aldolreaktion mit 20 mol% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (PM, 20 x 5 mm-Kugeln, 400 U/min, 10 min) und einer Organokatalyse mit 20 mol% L-Prolin (PM, 20 x 5 mm-Kugeln, 400 U/min, 45 min). Messbedingungen: Trennsäule Chirasil- β -Dex, 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 μm FD; Temperatur-Programm: 80°C (15 min), 4 K/min auf 160°C; He $p=100$ kPa.

Insgesamt konnte der Enantiomerenüberschuss der organokatalytischen Aldolreaktion durch den Einfluss von L-Prolin nicht bestimmt werden. Zum einen konnten Trennungen der Tetrosen via HPLC und GC erarbeitet werden, aber die geringen Mengen an gebildeten freien Tetrosen erzeugten nur minimale Signale in den Chromatogrammen. Zum anderen gingen die Tetrosen eine Adduktbildung mit L-Prolin ein und wurden bei der bisherigen Betrachtung der Enantiomere vernachlässigt.

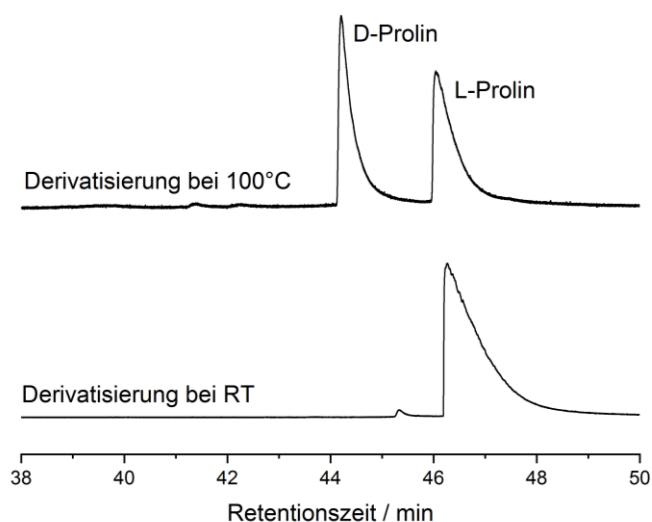


Abbildung 3-46: GC-Chromatogramm nach der Derivatisierung von L-Prolin mit TFAA bei verschiedenen Temperaturen. Messbedingungen: Trennsäule Chirasil- β -Dex, 30 m, 0,25 mm ID, 0,25 μm FD; Temperatur-Programm: 80°C (15 min), 4 K/min auf 160°C; He $p=100$ kPa.

Die beiden Zuckerenantiomere verhalten sich in den Adduktstrukturen wie Diastereomere und könnten sogar achiral aufgetrennt werden. Die Referenzen für die einzelnen Diastereomere müssten synthetisiert werden und eine Racemisierung beispielsweise von L-Prolin müsste ausgeschlossen werden. Dieses Verhalten konnte jedoch bereits bei der Derivatisierung mit TFAA beobachtet werden (Abbildung 3-46). Nach 60 min bei 100°C zeigte die enantiomerenreine L-Prolin-Probe sowohl L- als auch D-Prolin. Die Racemisierung konnte durch Derivatisierung bei geringeren Temperaturen verhindert werden. Raumtemperatur reichte jedoch nicht aus um die Monosaccharide vollständig zu trifluoracetylieren.

Erst nach Ermittlung aller Enantiomere und Diastereomere zugehörig zu einer Tetrose kann eine Aussage über den Enantiomerenüberschuss getroffen werden.

3.6 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die mechanochemische Synthese von Monosacchariden untersucht (Abbildung 3-47). Zuerst wurde die Zuckermanalytik weiterentwickelt und anschließend Festphasenreaktionen mit und ohne mechanischen Krafteinfluss studiert. Synthetisch stand das Formose-Netzwerk im Fokus neben dem organokatalytischen Zuckeraufbau.

Für die Analytik der linearen Kohlenhydrate startend von Glycolaldehyd bis hin zu Heptosen konnte eine neue GC-MS-Methode etabliert werden. Dafür wurden zwei unterschiedliche Strategien entwickelt, die im Fall der Aldosen die vollständige qualitative und individuelle Identifikation erlaubte und im Fall für Aldosen und Ketosen eine qualitative Unterscheidung der Kettenlänge zuließ. Grundlage der Trennung war die Optimierung des Derivatisierungsverfahrens, welches jeweils aus zwei Schritten bestand und in der Schützung der Hydroxygruppen variiert werden konnte. Die Trennung der linearen Monosaccharide in ihre homologen Gruppen erfolgte in einer einzigen 30-minütigen GC-Messung, wodurch eine Zeitersparnis resultierte und ein erhöhter Probendurchsatz ermöglicht wurde.

Der Schwerpunkt dieses Kapitels lag auf dem Formose-Netzwerk ausgehend von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid. Die aufgestellte Hypothese der Zuckersynthese in der Festphase konnte bestätigt werden. Demzufolge können Monosaccharide nicht nur in Wasser, sondern auch in trockener Umgebung gebildet werden. Präbiotisch könnte solch ein Szenario durch eine vollständige Austrocknung eingetreten sein. Meteoriteneinschläge und lithosphärische Aktivitäten wie beispielsweise Erosion würden zusätzliche mechanische Energie einbringen. Solche Krafteinwirkungen konnten durch den Einsatz von Kugelmøhlen untersucht werden.

Aldolreaktionen startend von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid zeigten in der Kugelmøhle im Vergleich zur Festphasenreaktion ohne mechanischen Einfluss eine deutliche Beschleunigung der Zuckerbildung, sodass bei gleichem Umsatz von Glycolaldehyd die Synthese höherer Zucker mechanochemisch um einen zeitlichen Faktor von 300 gesteigert werden konnte. Nachdem eine thermische Beschleunigung der Reaktion in der Kugelmøhle ausgeschlossen werden konnte und die erhöhte Durchmischung bereits nach kürzester Zeit gegeben sein sollte, war der mechanische Krafteintrag entscheidend für den beschleunigten Zuckeraufbau. Des Weiteren wurden höhere Umsätze durch Umdrehungszahl- beziehungsweise Frequenzerhöhung beobachtet.

Neben Calciumhydroxid wurden zwei weitere Hydroxide erfolgreich für die Zuckersynthese eingesetzt, im Gegensatz zu den getesteten Carbonaten. Doch obwohl ein schnellerer Aufbau

beobachtet wurde, traten vermehrt Nebenprodukte auf und die Selektivität der gewünschten Monosaccharide sank. Im Allgemeinen wurde bei zu hoher Kraftereinwirkung oder zu langer Reaktionszeit ein Feststoff erhalten, welcher aufgrund von geringer Löslichkeit nicht analysiert werden konnte.

Der kinetische Verlauf des Formose-Netzwerks ausgehend von Glycolaldehyd zeigte den Aufbau von Tetrosen und Hexosen. In Spuren wurden sogar Triosen detektiert, wodurch das Auftreten von Heptosen mit ungeradzahligem Kohlenstoffgerüst in einem C2-System erklärt werden konnte. Beim Einsatz von Glycol- und Glycerinaldehyd als Ausgangsstoffe der Aldolreaktion wurde ein komplexeres Formose-Netzwerk erhalten, mit allen homologen Gruppen bis hin zu den Heptosen. Pentosen, Hexosen und Heptosen wurden kontinuierlich aufgebaut, nur die Tetrosen durchliefen ein Maximum und wurden anschließend vollständig verbraucht. Als essentiellen Baustein der heutigen Nucleinsäuren wurde Ribose mit bis zu 2% der Gesamtzuckermischung synthetisiert. Doch obwohl durch die gewählte Reaktionsführung keine Präferenz gegenüber Ribose beobachtet wurde, so zeigte der mechanochemische Ansatz eine Möglichkeit der Ribose- und im Allgemeinen der Zuckersynthese unabhängig von Wasservorkommen.

Die Aldolreaktion von Glycolaldehyd und Calciumhydroxid in wässriger Lösung zeigte eine deutliche Beschleunigung für den Aufbau zu höheren Zuckern in derselben Zeiteinheit, gleichzeitig wurde ein massiver Selektivitätsverlust beobachtet. Insgesamt wurden die Zucker in der Kugelmühle gezielt aufgebaut und standen für weitere präbiotische Systeme und komplexere Strukturen als Molekülbaustein zur Verfügung.

Des Weiteren wurde die mechanochemische, organokatalysierte Aldolreaktion mit Glycolaldehyd und L-Prolin untersucht. Hierbei wurden Zucker in Spuren detektiert und Zuckerbeinhaltende Strukturen aufgebaut, welche als Amadori-Produkte identifiziert werden konnten. Durch die Zugabe von Wasser im stöchiometrischen Maßstab konnte die Synthese von Tetrosen gesteigert werden. Der präbiotische Bezug der mechanochemischen Synthese in Gegenwart von Wasser besteht durch die Eingliederung in Nass-Trocken-Zyklen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Monosaccharide unabhängig von Wasser gebildet werden können und der Aufbau durch mechanochemische Reaktionsführung gesteigert wird. Die Kugelmühle ermöglichte reproduzierbare Untersuchungen unter präbiotischen Bedingungen im Labormaßstab.

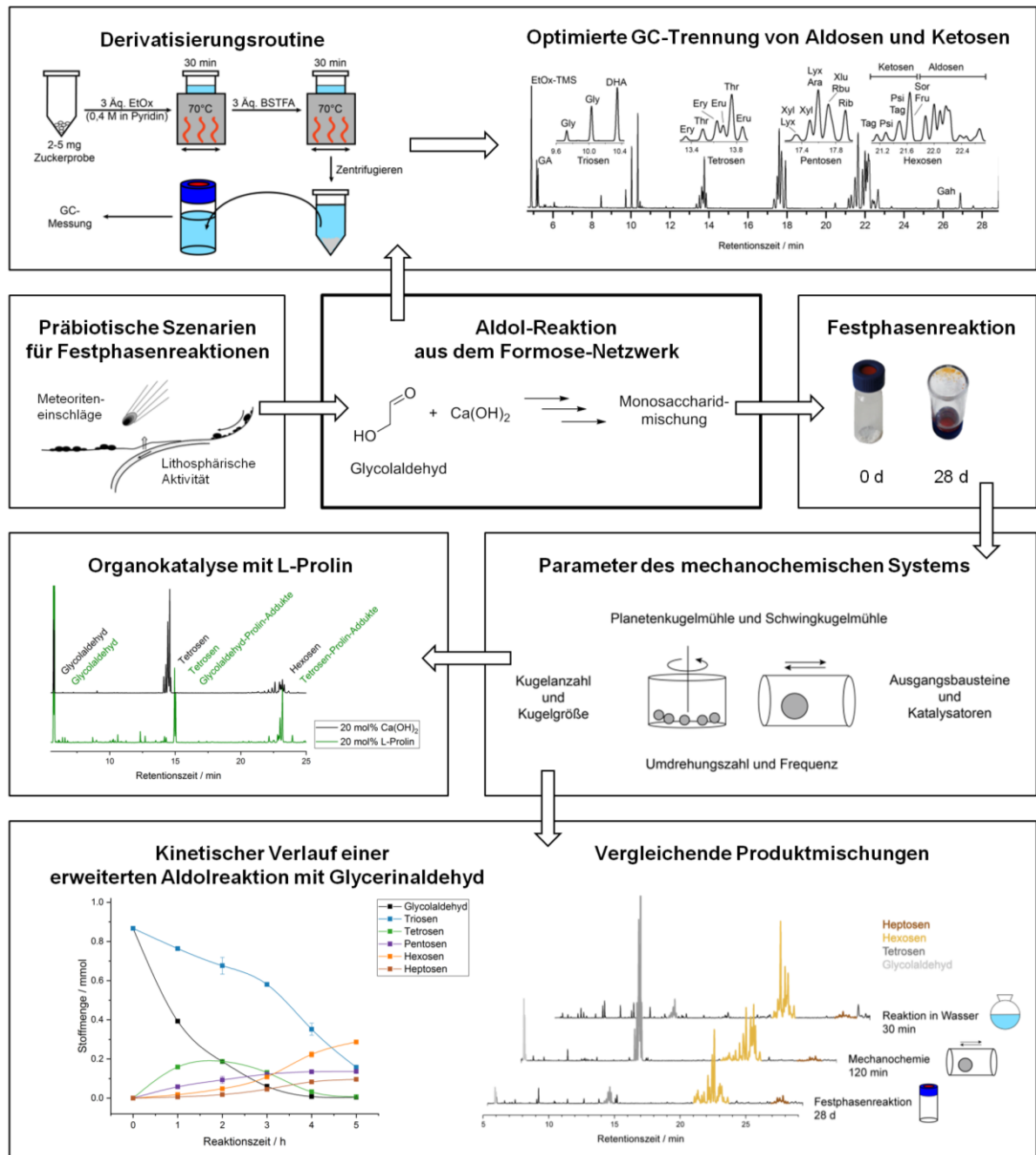


Abbildung 3-47: Zusammenfassende Grafik für das Kapitel KAPITEL 3 „Die mechanochemische Synthese von Monosacchariden“. Ausgehend von Festphasenreaktionen zwischen Glycolaldehyd und Calciumhydroxid wurden Monosaccharide aufgebaut. Die synthetisierten Aldosen und Ketosen konnten mit Hilfe routinierter Derivatisierungsmethoden und optimierter GC-Trennungen analysiert werden. Um präbiotische Festphasenreaktionen mit und ohne mechanischen Krafteinfluss zu untersuchen wurden neben einfachen Glasfläschchen zwei Arten von Kugelmühlen eingesetzt. Diese Systeme wurden in Bezug auf die mechanischen Parameter und herrschende Bedingungen untersucht. Die Variation der chemischen Parameter eröffnete erweiterte Netzwerke und differenzierte Reaktionswege.

KAPITEL 4

Experimenteller Teil

4.1 Allgemeine Angaben

Aufgrund gemeinsamer Projektarbeit wurden Teile dieser Arbeit in Zusammenarbeit mit Kollegen bearbeitet. Dr. Oliver Trapp entwickelte den Reaktionsmechanismus und berechnete bzw. simulierte das kinetische Modell der Soai-Reaktion (Kapitel 2.8). Im Rahmen von Forschungspraktika untersuchten Steffen Ott und Christian Busch unter meiner Anleitung die Synthese der silylierten Halbacetale.

Erste Ansätze der GC-Methodik für Zucker im Arbeitskreis Trapp wurden von Kai Kilian Kohler im Rahmen seiner Masterarbeit getestet.^[169] Gemeinsam mit Maren Haas wurde die Analytik von Monosacchariden für GC und HPLC optimiert (Kapitel 3.3).^[167] Unter ihrer Anleitung im Rahmen eines Forschungspraktikums untersuchte Jacob Lucian Gorenflor López Derivatisierungs- und GC-Parameter.^[168] Die Auswertung und Evaluierung der mechanochemischen, kinetischen Daten erfolgten im Dialog mit Dr. Sebastian Pallmann (Kapitel 3.4.5).^[177]

Die Synthesen (4.2.2-4.2.10) wurden unter Ausschluss von Sauerstoff und Feuchtigkeit in einer Stickstoff- bzw. Argon-Inertgasatmosphäre durchgeführt. Die Glasgeräte wurden vor Gebrauch im Vakuum ausgeheizt und für die Experimente Schlenk-Techniken angewandt.

Die verwendeten Chemikalien wurden über die Chemikalienausgabe des Chemischen Instituts der *Universität Heidelberg* bzw. der *LMU München* oder über die Unternehmen *Alfa Aesar*, *ABCR*, *Acros Organics*, *Apollo Scientific*, *Carbosynth Limited* und *Sigma-Aldrich* bezogen. Alle Chemikalien und Lösungsmittel wurden, soweit nicht anders vermerkt, ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Die absoluten Lösungsmittel DCM, Et₂O, THF und Toluol wurden einer Trocknungsanlage der Firma *MBraun* (MB SPS 800) entnommen. Deuterierte Lösungsmittel zur Aufnahme von NMR-Spektren wurden von *Sigma-Aldrich* bezogen.

4.1.1 Dünnschichtchromatographie

Die dünnschichtchromatographische Analyse erfolgte unter Verwendung von Polygam® Sil G/UV254 Fertigfolien mit Fluoreszenzindikator der Firma *Macherey-Nagel & Co. KG*.

4.1.2 Säulenchromatographie

Die Aufreinigung mittels Säulenchromatographie wurde unter Verwendung von Kieselgel Si 60 (63-200 µm) der Firma *Sigma-Aldrich* durchgeführt.

4.1.3 NMR – Kernresonanzspektroskopie

NMR-spektroskopische Untersuchungen wurden bei Raumtemperatur an Spektrometern des Typs *Bruker Avance 300*, *Bruker Avance 400*, *Bruker Avance 500* und *Bruker Avance 600*

aufgenommen, zum Teil auch von Mitarbeitern der Abteilung des Organisch-Chemischen-Instituts der Universität Heidelberg unter der Leitung von Herrn Dr. Graf. Die chemische Verschiebung δ wurde auf das Lösungsmittelsignal referenziert^[181] und in ppm und die Kopplungskonstante J in Hz angegeben. Als Lösungsmittel wurde deuteriertes Chloroform (CDCl₃), Methanol (MeOH-d₄), Toluol (Toluol-d₈), DMSO (DMSO-d₆) verwendet. Folgende Abkürzungen werden für auftretende Signalstrukturen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), oct (Oktett), m (Multipllett).

4.1.4 MS – Massenspektrometrie

Massenspektrometrische Untersuchungen wurden von den Mitarbeitern der Abteilung des Organisch-Chemischen-Instituts der *Universität Heidelberg* unter der Leitung von Herrn Dr. Gross an den Geräten *Bruker* FT-ICR Apex-Qe und *Finnigan* LCQ aufgenommen. Neben der Ionisationsmethode (ESI) wurde der Molekülpeak angegeben.

Des Weiteren wurden MS-Messungen von den Mitarbeitern der zentralen Analytik-Abteilung der *LMU München* unter der Leitung von Herrn Dr. Spahl an den Geräten Thermo LTQ FT-MS (ESI) und Thermo MAT 95 (GC-EI) aufgenommen.

Kinetische HR-MS-Studien wurden *in situ* an einer Orbitrap Q Exactive Plus von *Thermo Fisher Scientific* gemessen.

4.1.5 HPLC-MS – Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie

Für analytische und semi-präparative HPLC-Messungen wurden Geräte von *Agilent Technologies* verwendet: *Agilent Technologies* 1200 HPLC ausgestattet mit DAD und einem Quadrupol-Massenspektrometer (ESI oder APCI), sowie *Agilent Technologies* 1260 Infinity HPLC mit DAD. Die verwendeten Säulen mit achiralen und chiralen Stationärphasen wurden von der *Daicel-Group*, *Macherey-Nagel*, *Agilent* sowie *Merck* und die Lösungsmittel mit HPLC-Grad-Qualität von *Sigma-Aldrich* bezogen

4.1.6 GC-MS – Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Für GC- bzw. GC-MS-Messungen wurden Geräte von *Thermo Fisher Scientific* verwendet: Gaschromatograph Trace GC Ultra gekoppelt mit Massenspektrometern ISQ (single quadrupole MS) bzw. PolarisQ (quadrupole-ion trap MS). Für die Injektion wurde ein split/splitless-Injektor (300°C) verwendet, sowie ein Flammenionisationsdetektor (FID, 250°C). Als Ionisationsmethode wurde EI (200°C, 70 eV) genutzt. Die Chromatogramme und Massenspuren wurden und mit der Xcalibur Software von *Thermo Fisher Scientific* ausgewertet.

GC-HR-MS-Messungen wurden von Mitarbeitern der zentralen Analytik-Abteilung der *LMU München* unter der Leitung von Herrn Dr. Spahl an der Orbitrap Q Exactive Plus von *Thermo Fisher Scientific* durchgeführt.

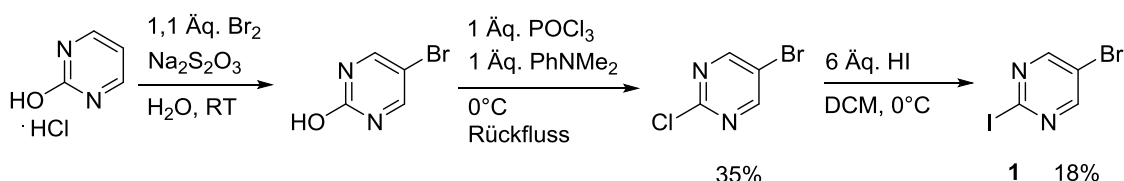
4.1.7 Mechanochemische Synthese

Für die mechanochemische Synthese standen zwei Kugelmøhlen zur Verfügung. Zum einen die Planeten-Mirkomøhle PULVERISETTE 7 premium line von Fritsch und zum anderen die Schwingkugelmøhle CyroMill von Retsch.

Zur Temperaturkontrolle wurde das Infrarot-Thermometer VOLTCRAFT IR 260-8S von Conrad eingesetzt.

4.2 KAPITEL 2

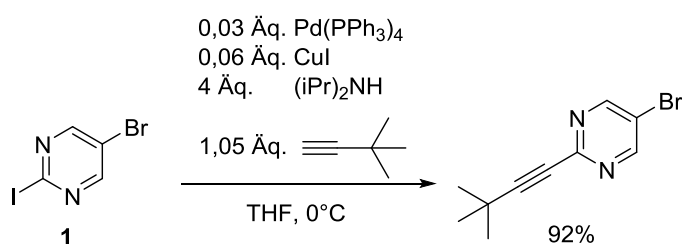
4.2.1 Synthese von 5-Brom-2-iod-pyrimidin **1**^[53]



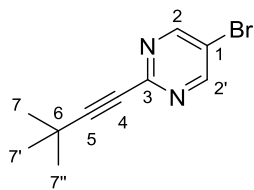
Kommerziell erhältliches 2-Hydroxypyrimidin-Hydrochlorid (67,0 g, 505 mmol, 1,00 Äq.) wurde in Wasser (200 mL) gelöst und tropfenweise mit Brom (28,5 mL, 556 mmol, 1,10 Äq.) versetzt. Nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur wurde Natriumthiosulfat-Lösung (200mL) zur Reaktionsmischung gegeben und das Wasser im Vakuum entfernt. Der erhaltene orange-farbene Feststoff wurde bei 0°C mit Phosphorylchlorid (670 mL, 505 mmol, 1,00 Äq.) und anschließend mit *N,N*-Dimethylanilin (26,8 mL, 505 mmol, 1,00 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für fünf Stunden unter Rückfluss erhitzt und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur vorsichtig auf Eis gegeben. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert und die vereinigten Etherphasen mit NaHCO₃-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und 5-Brom-2-chlor-pyrimidin (34,6 g, 179 mmol, 35%) als hellgelber Feststoff erhalten.

5-Brom-2-chlor-pyrimidin (34,6 g, 179 mmol, 1,00 Äq.) wurde in DCM (200 mL) gelöst und bei 0°C HI-Lösung (57%, 142 mL, 1,07 mol, 6,00 Äq.) zugetropft. Bei gleicher Temperatur wurde für vier Stunden gerührt und im Anschluss für 48 Stunden beim Raumtemperatur. Die Neutralisation erfolgte vorsichtig mit festem K₂CO₃ und die Entfärbung mit Na₂SO₃-Lösung. Nach Abtrennen der organischen Phase wurde die wässrige Phase mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über K₂CO₃ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in *n*-Hexan umkristallisiert und 5-Brom-2-iod-pyrimidin **1** (9,26 g, 32,5 mmol, 18%) als gelber Feststoff isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit bisherigen Veröffentlichungen überein.^[53]

4.2.2 Synthese von 5-Brom-2-(*tert*-butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidin^[23]



5-Brom-2-iod-pyrimidin **1** (10,0 g, 35,1 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (100 mL) vorgelegt und mit Diispropylamin (19,7 mL, 140 mmol, 4,00 Äq.), Pd(PPh₃)₄ (1,22 g, 1,05 mmol, 0,03 Äq.) und Kupfer(I)-iodid (401 mg, 2,11 mmol, 0,06 Äq.) versetzt. Nach dreimaligem Entgasen der Reaktionsmischung wurde bei 0°C das Alkin (4,53 mL, 36,9 mmol, 1,05 Äq.) hinzugegeben. Nach drei Tage Rühren bei Raumtemperatur wurde über Kieseluguhr filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingengt. Nach Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie (SiO₂, PE:DCM 2:1) wurde das Alkylierungsprodukt (7,73 g, 32,3 mmol, 92%) als hellgelber Feststoff isoliert.

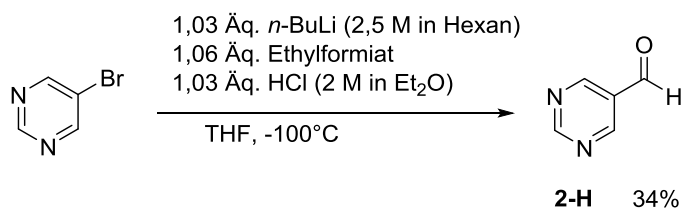


MS (ESI+): m/z berechnet $[M-H]^+$: 239,0184; experimentell: 239,0180.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,71 (s, 2H, H-2/2'), 1,36 (s, 9H, H-7/7'/7'')

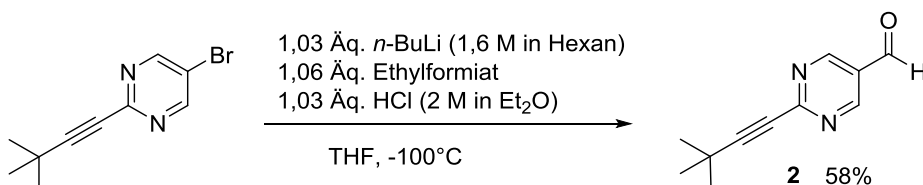
¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 158,0 (C-2/2'), 151,3 (C-3), 118,8 (C-1), 99,7 (C-5), 78,0 (C-4), 30,5 (C-7/7'/7''), 28,1 (C-6) ppm.

4.2.3 Synthese von Pyrimidin-5-carbaldehyd **2-H**^[182]



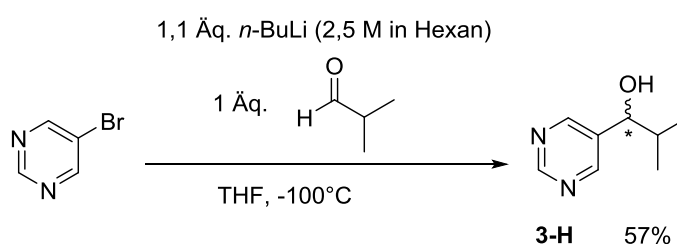
5-Bromopyrimidin (15,0 g, 94,0 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (500 mL) vorgelegt und auf -100°C gekühlt. Es folgte die tropfenweise Zugabe von *n*-BuLi-Lösung (2,50 M in Hexan, 38,9 mL, 97,2 mmol, 1,03 Äq.) und nach 15 min Rühren die tropfenweise Zugabe von Ethylformiat (8,05 mL, 100 mmol, 1,06 Äq.). Nach weiteren 15 min wurde HCl-Lösung (2,00 M in Et₂O, 48,6 mL, 97,2 mmol, 1,03 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 45 min wurde Wasser hinzugegeben und die wässrige Phase mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Sublimation wurde der Aldehyd **2-H** (3,48 g, 32,2 mmol, 34%) als gelbe Kristalle isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit bisherigen Veröffentlichungen überein.^[183]

4.2.4 Synthese von 2-(*tert*-Butylacetylen-1-yl)-pyrimidin-5-carbaldehyd **2**^[23]



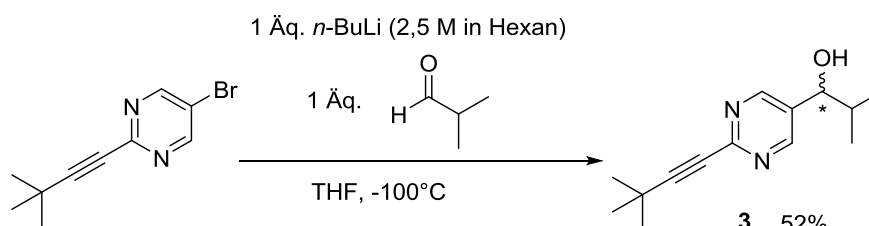
Das Bromid (3,52 g, 14,7 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (100 mL) vorgelegt und auf -100°C gekühlt. Es folgte die tropfenweise Zugabe von *n*-BuLi-Lösung (1,60 M in Hexan, 9,48 mL, 15,2 mmol, 1,03 Äq.) und nach 15 min Rühren die tropfenweise Zugabe von Ethylformiat (1,26 mL, 15,6 mmol, 1,06 Äq.). Nach weiteren 15 min wurde HCl-Lösung (2,00 M in Et₂O, 7,58 mL, 15,2 mmol, 1,03 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 45 min wurde Wasser hinzugegeben und die wässrige Phase mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie (SiO₂, PE:EE 5:1) wurde Aldehyd **2** (1,61 g, 8,55 mmol, 58%) als gelber Feststoff isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit bisherigen Veröffentlichungen überein.^[183]

4.2.5 Synthese von Pyrimidyl-5-(*iso*-butan-1-ol) 3-H^[54]



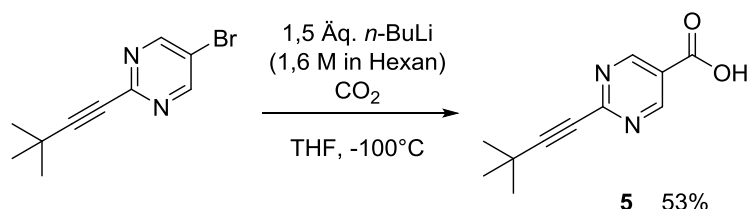
Das Bromid (2,00 g, 12,6 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (80 mL) vorgelegt und auf -100°C gekühlt. Es folgte die tropfenweise Zugabe von *n*-BuLi-Lösung (2,50 M in Hexan, 5,54 mL, 13,8 mmol, 1,10 Äq.) und nach 15 min Rühren die Zugabe von Isobutyraldehyd (1,15 mL, 12,6 mmol, 1,00 Äq.). Nach weiteren 15 min wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 45 min wurde Wasser hinzugegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie (SiO₂, Pentan:EE 3:1) wurde der Alkohol **3-H** (1,09 g, 7,21 mmol, 57%) als farbloses Öl isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit bisherigen Veröffentlichungen überein.^[183]

4.2.6 Synthese von 2-(*tert*-Butylacetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-(*iso*-butan-1-ol) 3^[54]

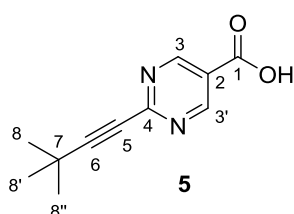


Das Bromid (2,00 g, 8,36 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (80 mL) vorgelegt und auf -100°C gekühlt. Es folgte die tropfenweise Zugabe von *n*-BuLi-Lösung (2,50 M in Hexan, 3,35 mL, 8,36 mmol, 1,00 Äq.) und nach 15 min Rühren die Zugabe von Isobutyraldehyd (763 μL , 8,36 mmol, 1,00 Äq.). Nach weiteren 15 min wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 45 min wurde Wasser hinzugegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie (SiO_2 , Pentan:EE 3:1) wurde Alkohol **3** (1,00 g, 4,32 mmol, 52%) als gelber Feststoff isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit bisherigen Veröffentlichungen überein.^[183] Enantiomerentrennung mittels semi-präparative HPLC: Chiralpak IB (20 x 250 mm) *n*-Hexan:Isopropanol 80:20 (v/v), 20 mL/min, $\lambda = 280$ nm.

4.2.7 Synthese von 2-(*tert*-Butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-carbonsäure **5**^[184]



Das Bromid (3,22 g, 13,5 mmol, 1,00 Äq.) wurde in THF (250 mL) gelöst und bei -100°C tropfenweise mit *n*-BuLi-Lösung (1,60 M in Hexan, 12,6 mL, 20,2 mmol, 1,50 Äq.) versetzt. Nach 10 min wurde die Reaktionsmischung auf mit Diethylether überschichtetes Trockeneis gegeben, auf Raumtemperatur erwärmt und mit Wasser versetzt. Die organische Phase wurde Wasser und 1 M NaOH-Lösung extrahiert. Ein pH-Wert von 2 wurde mit 1 M HCl bei den vereinigten organischen Phasen eingestellt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Die Carbonsäure **5** (1,47 g, 7,20 mmol, 53%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

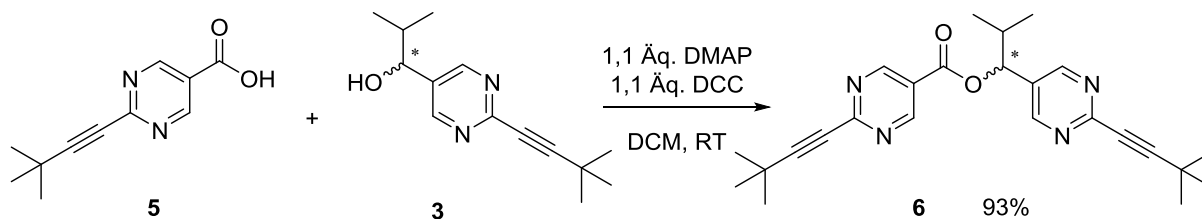


MS (ESI+): m/z berechnet $[\text{M}-\text{H}]^+$: 203,0826; experimentell: 203,0824.

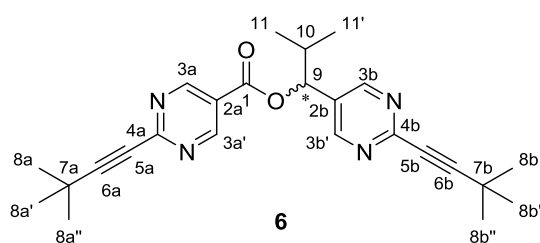
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 9,10$ (s, 2H, H-3/3'), 1,31 (s, 9H, H-8/8'/8'')

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 164,8$ (C-1), 158,3 (C-3/3'), 154,5 (C-4), 122,9 (C-2), 100,3 (C-6), 79,2 (C-5), 30,2 (C-8/8'/8''), 27,8 (C-7) ppm.

4.2.8 Synthese von 2-(*tert*-Butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-carbonsäure-2-(*tert*-butyl-acetylen-1-yl)-pyrimidyl-5-ester **6** nach Steglich^[59]



Carbonsäure **5** (264 mg, 1,29 mmol, 1,00 Äq.) und racemischer Alkohol **3** (300 mg, 1,29 mmol, 1,00 Äq.) wurden mit DMAP (173 mg, 1,42 mmol, 1,10 Äq.) in DCM (60 mL) vorgelegt. Es folgte die Zugabe von DCC (239 mg, 1,42 mmol, 1,10 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 h wurde der ausgefallene Feststoff abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Nach Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie (SiO₂, PE:EE 2:1) wurde Ester **6** (490 mg, 1,17 mmol, 93%) als hellgelber Feststoff erhalten.

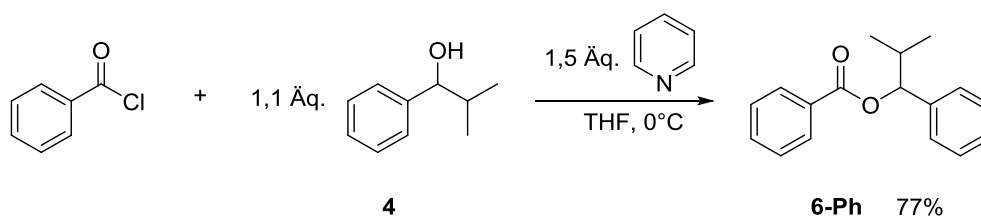


MS (ESI⁺): *m/z* berechnet [M+H]⁺: 419,2442; experimentell: 419,2441.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 9,17 (s, 2H, H-3b/3b'), 8,67 (s, 2H, H-3a/3a'), 5,68 (d, ³J = 7,85 Hz, 1H, H-9), 2,33 (pseudo-oct, ³J = 6,80 Hz, 1H, H-10), 1,37 (s, 9H, H-8a/8a'/8a''), 1,34 (s, 9H, H-8b/8b'/8b''), 1,07 (d, ³J = 6,60 Hz, 3H, H-11), 0,90 (d, ³J = 6,60 Hz, 3H, H-11') ppm.

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 162,7 (C-1), 158,3 (C-3a/3a'), 156,2 (C-4a), 156,1 (C-3b/3b'), 153,2 (C-4b), 130,1 (C-2a), 121,3 (C-2b), 102,5 (C-6a), 99,1 (C-6b), 78,9 (C-9), 78,5/78,4 (C-5a/5b), 33,2 (C-10), 30,5/30,4 (C-8a^(s)/8b^(s)), 28,3/28,0 (C-7a/7b), 18,6/18,4 (C-11/11') ppm.

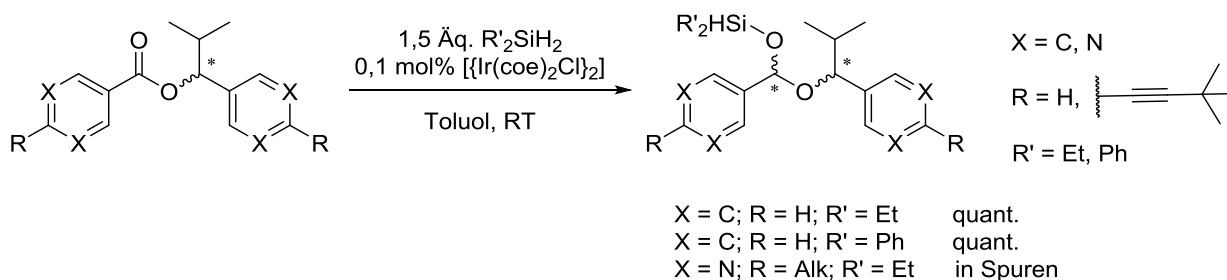
4.2.9 Synthese von 1-Phenyl-isopropyl-benzoat **6-Ph**^[60]



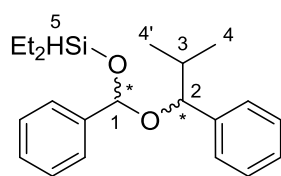
Benzoylchlorid (10,0 g, 71,1 mmol, 1,00 Äq.) und THF (20 mL) wurden vorgelegt und mit Pyridin (8,60 mL, 107 mmol, 1,50 Äq.) versetzt. Bei 0°C erfolgte die Zugabe von Phenylisopropanol **4** (11,8 g, 78,3 mmol, 1,10 Äq.). Die Reaktionsmischung wurde für zwei Stunden bei

Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Wasser versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 1 M HCl, verdünnter NaOH und Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Nach Aufarbeitung mittels Säulenchromatographie (SiO₂, PE:EE 20:1) wurde der Ester **6-Ph** als farbloses Öl isoliert (14,0 g, 55,1 mmol, 77%). Die spektroskopischen Daten stimmen mit bisherigen Veröffentlichungen überein.^[185]

4.2.10 Allgemeine Vorschrift für die Silylierung



Chlorobis(cycloocten)-Iridium(I)-Dimer (0,1 mol%) wurde in Toluol vorlegt und der Ester (1,00 Äq.) gelöst. Es folgte die Zugabe des Silans (1,50 Äq.) und anschließendes Rühren bei Raumtemperatur für mehrere Tage. Lösungsmittel und unverbrauchtes Silan wurden unter vermindertem Druck entfernt.



Si-HA-Ph

Die Integrale beziehen sich auf die zwei Diastereomerenpaare a/b.

¹H-NMR (400 MHz, Toluol-d₈): δ = 7,44 (d, ³J = 7,10 Hz, 4H, H-Ar), 7,26 (d, ³J = 7,10 Hz, 4H, H-Ar), 7,27–7,03 (m, 12H, H-Ar), 5,67 (s, 1H, H-1a), 5,63 (s, 1H, H-1b), 4,64 (d, ³J = 6,68 Hz, 1H, H-2a), 4,63 (m, 2H, H-5), 3,98 (d, ³J = 6,68 Hz, 1H, H-2b), 2,02 (oct, ³J = 6,87 Hz, 1H, H-3a), 1,91 (oct, ³J = 6,87 Hz, 1H, H-3b), 1,14 (d, ³J = 6,64 Hz, 3H, H-4/4'a), 0,94 (d, ³J = 6,64 Hz, 3H, H-4/4'b), 0,84 (d, ³J = 6,64 Hz, 3H, H-4/4'a), 0,70 (d, ³J = 6,64 Hz, 3H, H-4/4'b) ppm.

¹³C-NMR (126 MHz, Toluol-d₈): δ = 142,3 (1C-Ar), 142,1 (1C-Ar), 141,8 (1C-Ar), 141,4 (1C-Ar), 128,7 (1C-Ar-a), 128,5 (1C-Ar-b), 128,4 (2C-Ar), 128,3 (2C-Ar), 128,3 (2C-Ar), 128,2 (2C-Ar), 128,1 (2C-Ar), 127,9 (2C-Ar), 127,8 (1C-Ar), 127,5 (1C-Ar), 126,9 (2C-Ar), 126,6 (2C-Ar), 99,4 (C-1a), 96,3 (C-1b), 84,7 (C-2a), 83,5 (C-2b), 35,4 (C-3a), 35,3 (C-3b), 19,3 (C-4a), 19,3 (C-4b), 19,0 (C-4'a), 18,8 (C-4'b), 7,0 (C-Et), 6,9 (C-Et), 6,8 (C-Et), 6,7 (C-Et), 6,0 (2C-Et), 5,9 (C-Et), 5,8 (C-Et) ppm.

4.2.11 Allgemeine Vorschrift für die FIA-HPLC-Messungen

Ein HPLC-Gläschen (1,5 mL) wurde unter Schutzgasatmosphäre mit Toluol-Stammlösungen von Aldehyd **2** (1,00 Äq.) und Alkohol **3** (5 mol%) befüllt und verschlossen. Direkt nach der Zugabe von Diisopropylzink (1 M in Toluol, 1,50 Äq.) wurde die Reaktionsmischung (Gesamtvolumen 1 mL) geschüttelt und die FIA-HPLC-Messung gestartet. Die erste Injektion erfolgte zirka 1 min nach der Zugabe des Zinkorganyls, die weiteren nach einem Zeitintervall von 2,1 min. Für die chromatographische Trennung wurde eine Chiralpak-IB-Säule (25 cm, ID 4,6 mm, Partikelgröße 5 µm) mit *n*-Hexan/THF 55:45 als Eluent (1,2 mL/min) verwendet.

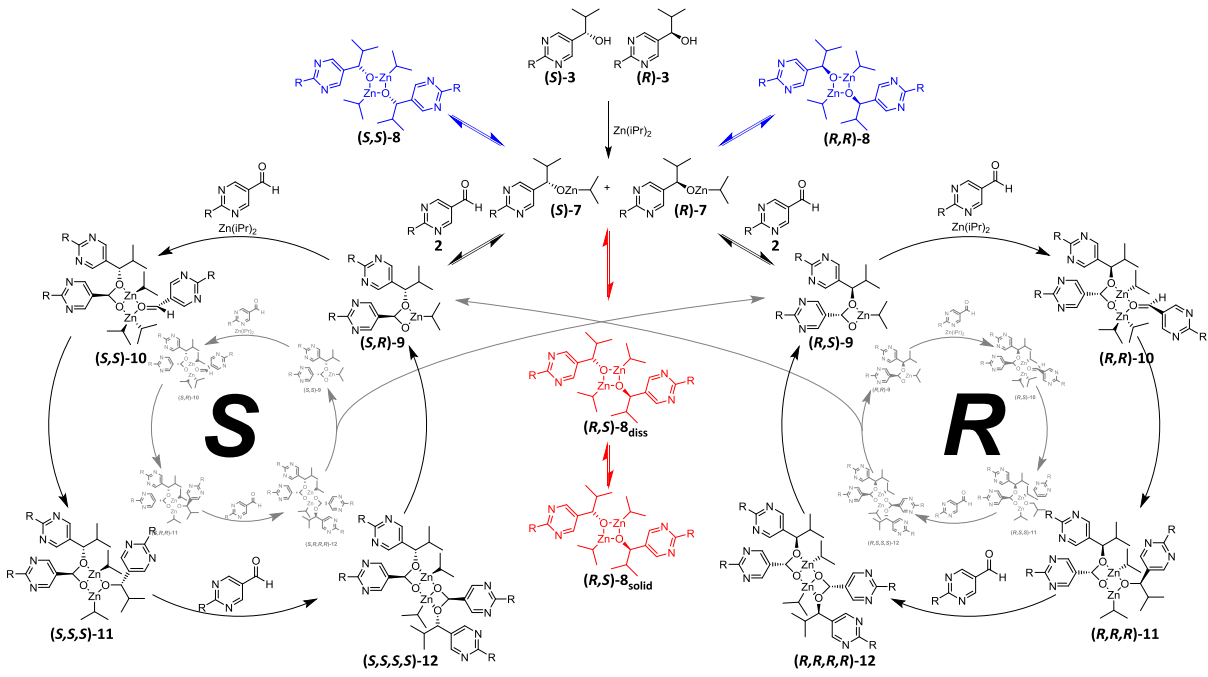
4.2.12 Allgemeine Vorschrift für die kinetischen HRMS-Messungen

Ein HPLC-Gläschen (1,5 mL) wurde unter Schutzgasatmosphäre mit Toluol-Stammlösungen von Aldehyd **2** (1,00 Äq.) und Alkohol **3** (5 mol%) befüllt und verschlossen. Direkt nach der Zugabe von Diisopropylzink (1 M in Toluol, 1,50 Äq.) wurde die Reaktionsmischung (Gesamtvolumen 1 mL) geschüttelt und über eine Spritzenpumpe (10 µL/min) in die Orbitrap injiziert. Ein Ventil schaltete automatisch alle 30 s zwischen der Reaktionsmischung und trockenem Toluol (200 µL/min). APCI wurde als Ionisationsmethode verwendet.

4.2.13 Differentialgleichungen des kinetischen Modells

Basierend auf dem postulierten Reaktionsmechanismus (Schema 4-1) wurde das folgende System von Differentialgleichungen abgeleitet, um die Reaktionskinetik der Soai-Reaktion zu beschreiben. Dieses System wurde numerisch durch einen Runge-Kutta-Algorithmus 4. Ordnung^[186] gelöst, der in Pascal programmiert wurde (Embarcadero Delphi XE 7). Das Programm Soai 7 (Abbildung 4-1) verfügt über eine grafische Benutzeroberfläche zur Eingabe einzelner Datensätze, zur grafischen Darstellung von Berechnungsergebnissen und eine Schnittstelle zur Berechnung großer Datensätze mit automatischer Variation von Eingangsgrößen.

Ein Selektivitätsfaktor *S* wurde definiert, um das Verhältnis der Bildung der Stereoisomeren (*R,R*)-**9** und (*S,S*)-**9** und des entsprechenden autokatalytischen Zyklus zu berücksichtigen, der im Reaktionsschema der Soai-Reaktion grau dargestellt ist (Schema 4-1).



Schema 4-1: Postulierter Reaktionsmechanismus der Soai-Reaktion unter Berücksichtigung des *R*- bzw. *S*- Autokatalysepfads.

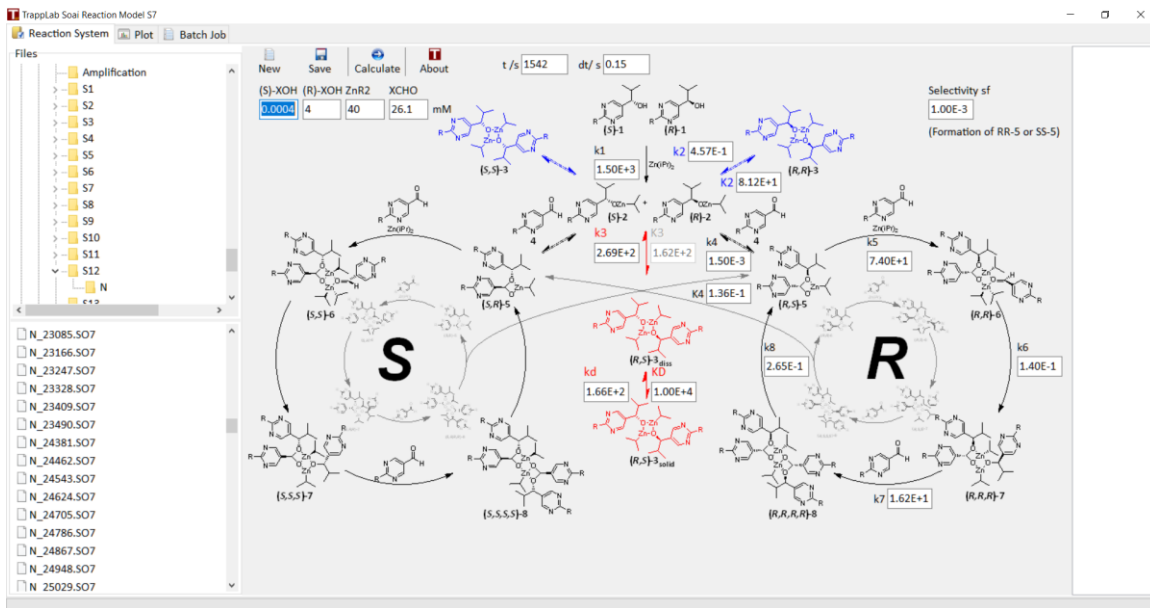


Abbildung 4-1: Benutzeroberfläche von SOAI 7.

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Alkohol 3

$$\frac{d[(R)-3]}{dt} = -k_1[(R)-3][ZnR_2]$$

$$\frac{d[(S)-3]}{dt} = -k_1[(S)-3][ZnR_2]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Dialkylzink

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{ZnR}_2]}{dt} = & -k_1[(R)\text{-}3][\text{ZnR}_2] - k_1[(S)\text{-}3][\text{ZnR}_2] - k_5[(R,S)\text{-}9][\text{ZnR}_2][2] \\ & - k_5[(S,R)\text{-}9][\text{ZnR}_2][2] - k_5[(R,R)\text{-}9][\text{ZnR}_2][2] - k_5[(S,S)\text{-}9][\text{ZnR}_2][2] \end{aligned}$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Zinkalkoholat 7

$$\begin{aligned} \frac{d[(R)\text{-}7]}{dt} = & k_1[(R)\text{-}3][\text{ZnR}_2] - 2k_2[(R)\text{-}7]^2 + 2k_{-2}[(R,R)\text{-}8] - k_3[(R)\text{-}7][(S)\text{-}7] \\ & + k_{-3}[(R,S)\text{-}8] - k_4[2][(R)\text{-}7] + k_{-4}[(R,S)\text{-}9] - Sk_4[2][(R)\text{-}7] \\ & + Sk_{-4}[(R,R)\text{-}9] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{d[(S)\text{-}7]}{dt} = & k_1[(S)\text{-}3][\text{ZnR}_2] - 2k_2[(S)\text{-}7]^2 + 2k_{-2}[(S,S)\text{-}8] - k_3[(R)\text{-}7][(S)\text{-}7] \\ & + k_{-3}[(R,S)\text{-}8] - k_4[2][(S)\text{-}7] + k_{-4}[(S,R)\text{-}9] - Sk_4[2][(S)\text{-}7] \\ & + Sk_{-4}[(S,S)\text{-}9] \end{aligned}$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung der homo- und heterochiralen dimeren Zinkalkoholaten 8

Die heterochiralen dimeren Zinkalkoholate können sowohl gelöst (diss) als auch als ausgefallener Feststoff (solid) vorliegen.

$$\frac{d[(R,R)\text{-}8]}{dt} = k_2[(R)\text{-}7]^2 - k_{-2}[(R,R)\text{-}8]$$

$$\frac{d[(S,S)\text{-}8]}{dt} = k_2[(S)\text{-}7]^2 - k_{-2}[(S,S)\text{-}8]$$

$$\frac{d[(R,S)\text{-}8_{diss}]}{dt} = k_3[(R)\text{-}7][(S)\text{-}7] - k_{-3}[(R,S)\text{-}8_{diss}] - k_d + k_{-d}[(R,S)\text{-}8_{solid}]$$

$$\frac{d[(R,S)\text{-}8_{solid}]}{dt} = k_d[(R,S)\text{-}8_{diss}] - k_{-d}[(R,S)\text{-}8_{solid}]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Aldehyd 2

$$\begin{aligned} \frac{d[2]}{dt} = & -k_4[(R)\text{-}7][2] + k_{-4}[(R,S)\text{-}9] - k_4[(S)\text{-}7][2] + k_{-4}[(S,R)\text{-}9] \\ & - k_5[(R,S)\text{-}9][2][\text{ZnR}_2] - k_5[(S,R)\text{-}9][2][\text{ZnR}_2] - k_7[(R,R,R)\text{-}11][2] \\ & - k_7[(S,S,S)\text{-}11][2] - Sk_4[(R)\text{-}7][2] + Sk_{-4}[(R,R)\text{-}9] - Sk_4[(S)\text{-}7][2] \\ & + Sk_{-4}[(S,S)\text{-}9] - k_5[(R,R)\text{-}9][2][\text{ZnR}_2] - k_5[(S,S)\text{-}9][2][\text{ZnR}_2] \\ & - k_7[(R,S,S)\text{-}11][2] - k_7[(S,R,R)\text{-}11][2] \end{aligned}$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung vom Haupthalbacetal 9

$$\frac{d[(R,S)-9]}{dt} = k_4[(R)-7][2] - k_{-4}[(R,S)-9] - k_5[(R,S)-9][2][ZnR_2] + 2k_8[(R,R,R,R)-12] + k_8[(S,R,R,R)-12]$$

$$\frac{d[(S,R)-9]}{dt} = k_4[(S)-7][2] - k_{-4}[(S,R)-9] - k_5[(S,R)-9][2][ZnR_2] + 2k_8[(S,S,S,S)-12] + k_8[(R,S,S,S)-12]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung vom Nebenthalbacetal 9

$$\frac{d[(R,R)-9]}{dt} = Sk_4[(R)-7][2] - Sk_{-4}[(R,R)-9] - k_5[(R,R)-9][2][ZnR_2] + k_8[(R,S,S,S)-12]$$

$$\frac{d[(S,S)-9]}{dt} = Sk_4[(S)-7][2] - Sk_{-4}[(S,S)-9] - k_5[(S,S)-9][2][ZnR_2] + k_8[(S,R,R,R)-12]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Hauptisomer 10

$$\frac{d[(R,R)-10]}{dt} = k_5[(R,S)-9][2][ZnR_2] - k_6[(R,R)-10]$$

$$\frac{d[(S,S)-10]}{dt} = k_5[(S,R)-9][2][ZnR_2] - k_6[(S,S)-10]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Nebenisomer 10

$$\frac{d[(R,S)-10]}{dt} = k_5[(R,R)-9][2][ZnR_2] - Sk_6[(R,S)-10]$$

$$\frac{d[(S,R)-10]}{dt} = k_5[(S,S)-9][2][ZnR_2] - Sk_6[(S,R)-10]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Hauptisomer 11

$$\frac{d[(R,R,R)-11]}{dt} = k_6[(R,R)-10] - k_7[(R,R,R)-11][2]$$

$$\frac{d[(S,S,S)-11]}{dt} = k_6[(S,S)-10] - k_7[(S,S,S)-11][2]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung von Nebenisomer 11

$$\frac{d[(R,S,S)-11]}{dt} = Sk_6[(R,S)-10] - k_7[(R,S,S)-11][2]$$

$$\frac{d[(S, R, R)-11]}{dt} = Sk_6[(S, R)-10] - k_7[(S, R, R)-11][2]$$

Zeitabhängige Konzentrationsänderung vom dimeren Haupthalbacetal 12

$$\frac{d[(R, R, R, R)-12]}{dt} = k_7[(R, R, R)-11][2] - k_8[(R, R, R, R)-12]$$

$$\frac{d[(S, S, S, S)-12]}{dt} = k_7[(S, S, S)-11][2] - k_8[(S, S, S, S)-12]$$

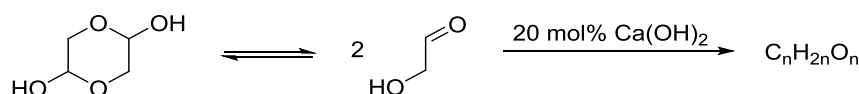
Zeitabhängige Konzentrationsänderung vom dimeren Haupthalbacetal 12

$$\frac{d[(R, S, S, S)-12]}{dt} = k_7[(R, S, S)-11][2] - k_8[(R, S, S, S)-12]$$

$$\frac{d[(S, R, R, R)-12]}{dt} = k_7[(S, R, R)-11][2] - k_8[(S, R, R, R)-12]$$

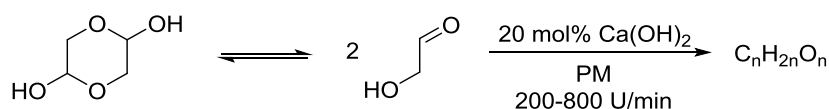
4.3 KAPITEL 3

4.3.1 Allgemeine Vorschrift für die Aldolreaktion ohne mechanischen Krafteinfluss



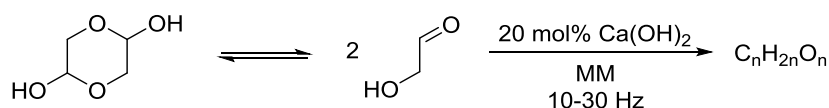
Als Reaktionsgefäß wurden 1,5 mL Schraubdeckelgläser verwendet. Glycolaldehyd und 20 mol% Calciumhydroxid wurden vorgelegt und mit einem Vortex-Schüttler vermischt. Das verschlossene Glasfläschen wurde bei unterschiedlichen Temperaturen für unterschiedliche Zeitspannen gelagert. Die Reaktion wurde durch Abkühlen des Glasfläschens auf -196°C gestoppt.

4.3.2 Allgemeine Vorschrift für die Aldolreaktion in der Planetenkugelmühle



In einem 20 mL-Reaktor (Edelstahl oder Achat) wurden eine bestimmte Anzahl an Kugeln des gleichen Materials (5 oder 10 mm Durchmesser) vorgelegt und Glycolaldehyd mit 20 mol% Calciumhydroxid befüllt. Die Gesamtmasse an Chemikalien betrug ungefähr 620 mg. Die Umdrehungszahl konnte von 200 bis 800 U/min variiert werden, standardmäßig wurden 400 U/min gewählt. Nach entsprechender Reaktionszeit wurde die Temperatur mit einem Infrarot-Thermometer gemessen und anschließend ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

4.3.3 Allgemeine Vorschrift für die Aldolreaktion in der Schwingkugelmühle



Standardmäßig wurde ein 5 mL-Reaktor mit einer 7 mm-Kugel befüllt und Glycolaldehyd und 20 mol% Calciumhydroxid hinzugegeben. Die Gesamtmasse an Chemikalien betrug ungefähr 150 mg. Als Frequenz wurden 30 Hz gewählt. Nach entsprechender Reaktionszeit wurde die Temperatur mit einem Infrarot-Thermometer gemessen, anschließend wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

4.3.4 Vorschrift für die Aldolreaktion mit Zusätzen in der Kugelmühle

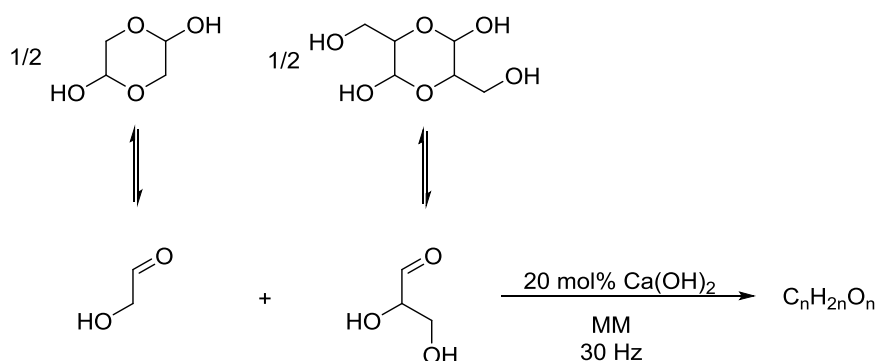
In der Planetenkugelmühle wurden die Volumenverhältnisse getestet. Der Reaktor wurde mit 40 x 5 mm-Kugeln, Glycolaldehyd und 20 mol% Calciumhydroxid sowie Kieselgur in verschiedenen Verhältnissen befüllt. Die Gesamtmasse an Chemikalien betrug ungefähr 600 mg. Die Reaktion lief bei 400 U/min ab. Nach 30 min wurde die Temperatur mit einem Infrarot-Thermometer gemessen, anschließend wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

Die weiteren Versuche wurden in der Schwingkugelmühle durchgeführt. Standardmäßig wurde ein 5 mL-Reaktor mit einer 7 mm-Kugel befüllt und Glycolaldehyd, 20 mol% Calciumhydroxid, sowie ein Zusatz (Kieselgur, Natriumsulfat oder Magnesiumsulfat) im gleichen Volumenverhältnis hinzugegeben. Nach der gewählten Reaktionszeit wurde die Temperatur mit einem Infrarot-Thermometer gemessen, anschließend wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

4.3.5 Vorschrift für die Aldolreaktion mit Paraformaldehyd in der Schwingkugelmühle

Ein 5 mL-Reaktor wurde mit einer 7 mm-Kugel, Paraformaldehyd (200 mg) und 20 mol% Hydroxid (Calcium-, Natrium- oder Kaliumhydroxid) befüllt. Die Reaktion lief bei 30 Hz für 90 min ab. Die Temperatur wurde mit einem Infrarot-Thermometer gemessen, anschließend wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

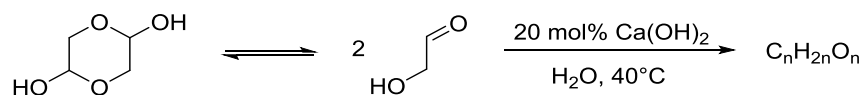
4.3.6 Vorschrift für die Aldolreaktion ausgehend von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd in der Schwingkugelmühle



Ein 5 mL-Reaktor wurde mit einer 7 mm-Kugel, Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd sowie 20 mol% Calciumhydroxid befüllt. Die 20 mol% bezogen sich auf die Gesamtstoffmenge an Aldehyd. Die Gesamtmasse an Chemikalien betrug ungefähr 150 mg. Als Frequenz wurden

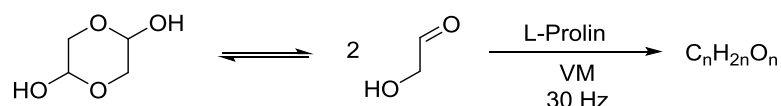
30 Hz gewählt. Nach entsprechender Reaktionszeit wurde die Temperatur mit einem Infrarot-Thermometer gemessen, anschließend wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

4.3.7 Vorschrift für die Aldolreaktion in Wasser



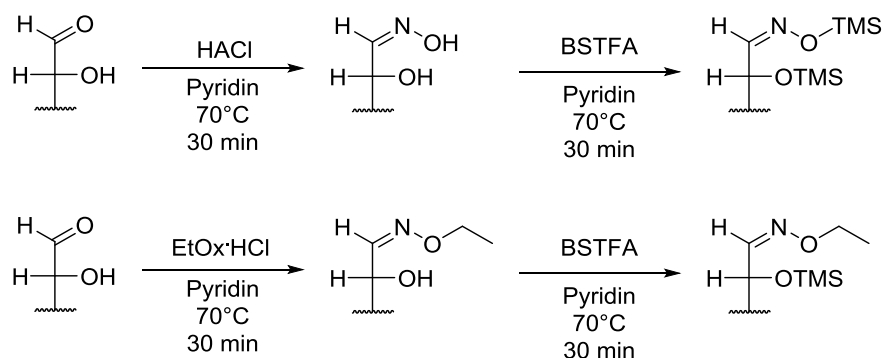
Im Rundkolben wurde eine 140 mM Glycolaldehyd-Lösung in Wasser angesetzt und auf 40°C erhitzt. 20 mol% Calciumhydroxid wurden hinzugegeben und somit die Reaktion gestartet. Nach entsprechender Reaktionszeit wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen. Das Wasser wurde am Lyophilisator entfernt.

4.3.8 Allgemeine Vorschrift für die organokatalysierte Aldol-Festphasenreaktion in der Schwingkugelmühle



Standardmäßig wurde ein 5 mL-Reaktor mit einer 7 mm-Kugel befüllt und Glycolaldehyd und 50 mol% L-Proline hinzugegeben. Die Gesamtmasse an Chemikalien betrug ungefähr 300 mg. Als Frequenz wurden 30 Hz gewählt. Nach entsprechender Reaktionszeit wurde die Temperatur mit einem Infrarot-Thermometer gemessen, anschließend wurde ein Teil der Probe in ein Schnappdeckelgläschen abgefüllt und auf -196°C abgekühlt um die Reaktion zu stoppen.

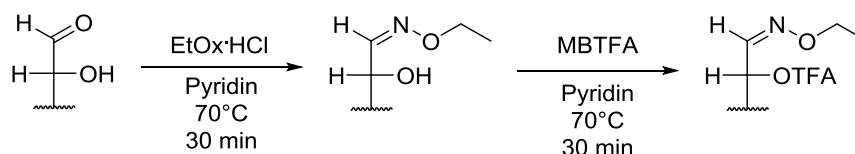
4.3.9 Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit Hydroxylamin-Hydrochlorid (HACl) bzw. *O*-Ethylhydroxylamin-Hydrochlorid (EtOx·HCl) und BSTFA, sowie GC-Messbedingungen



2–5 mg der Reaktionsmischung wurden in 200 µL Pyridin gelöst, mit 200 µL Derivatisierungslösung inklusive Internem Standard (40 mg/mL HAcI bzw. EtOx·HCl mit 50 mM Phenyl-β-D-glucopyranosid) versetzt und für 30 min auf 70°C erhitzt und geschüttelt. Die Lösung wurde mit 120 µL BSTFA versetzt und erneut für 30 min auf 70°C erhitzt und geschüttelt. Der ausgefallene Feststoff wurde zentrifugiert und der klare Überstand abpipettiert.

Die derivatisierte Probe wurde gaschromatographisch auf einer SE-52-Säule (Länge 14 m, I.D. 250 nm, Schichtdicke 250 nm) getrennt, mit 80 kPa Helium und einem Temperaturprogramm startend bei 50°C für 2 min, mit steigender Temperatur von 10 K/min auf 140°C, dann 5 K/min auf 240°C für 2 min.

4.3.10 Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit *O*-Ethylhydroxylamin-Hydrochlorid (EtOx·HCl) und MBTFA und GC-Messbedingungen



2–5 mg der Reaktionsmischung wurden in 200 µL Pyridin gelöst, mit 200 µL Derivatisierungslösung inklusive Interner Standard (40 mg/mL EtOx·HCl mit 50 mM Phenyl-β-D-glucopyranosid) versetzt und für 30 min auf 70°C erhitzt und geschüttelt. Die Lösung wurde mit 120 µL MBTFA versetzt und erneut für 30 min auf 70°C erhitzt und geschüttelt. Der ausgefallene Feststoff wurde zentrifugiert und der Überstand abpipettiert.

Die derivatisierte Probe wurde gaschromatographisch auf einer OV-225-Säule (Länge 30 m, I.D. 250 nm, Schichtdicke 250 nm) getrennt, mit 80 kPa Helium und einem Temperaturprogramm startend bei 80°C für 5 min, mit steigender Temperatur von 2 K/min auf 160°C, dann 10 K/min auf 200°C für 12 min.

4.3.11 Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) und GC-Messbedingungen^[187]

2–5 mg der Reaktionsmischung wurden in 250 µL DCM gelöst, mit 50 µL TFAA versetzt und für 60 min auf 100°C erhitzt. Die TFAA konnte bei RT verdampft. Die Verdünnung erfolgte mit 300 µL DCM.

Die derivatisierte Probe wurde gaschromatographisch auf einer Chirasil-β-Dex-Säule (Länge 25 m, I.D. 250 nm, Schichtdicke 250 nm) getrennt, mit 100 kPa Helium und einem Tempera-

turprogramm startend bei 80°C für 15 min, mit steigender Temperatur von 4 K/min auf 160°C.

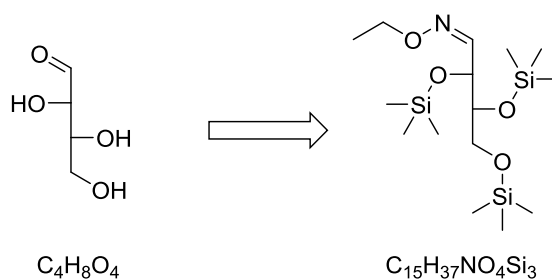
4.3.12 Allgemeine Vorschrift für die Derivatisierung mit Dinitrophenylhydrazin (DNPH) und HPLC-Messungen

2–5 mg der Reaktionsmischung wurden mit 200 µL Wasser, 395 µL ACN, 5 µL 2 M HCl und 400 µL gesättigter DNPH-Lösung in Wasser versetzt. Der Derivatisierung lief bei Raumtemperatur für 30 min ab. Ohne weitere Aufarbeitung konnte die Probe mittels HPLC analysiert werden.

Die derivatisierte Probe wurde auf einer LiChroCART® LiChrospher® C18-Säule untersucht. Der Eluent setzte sich in einer 1:1-Mischung aus Wasser und ACN zusammen, jeweils mit 0,1 Vol% Ameisensäure. Messbedingungen waren ein Fluss von 1 mL/min, $\lambda = 360$ nm und ESI negativ Mode.

4.3.13 Evaluierung der ermittelten Daten

Die mechanochemischen Reaktionen in der Kugelmühle wurden gaschromatographisch untersucht. Die Signale einer Gruppe an Zuckern mit gleicher C-Anzahl (z.B. Glycolaldehyd, Tetrosen oder Hexosen) wurden integriert und die einzelnen Flächen summiert. Dieser Wert wurde durch die sogenannte *effective carbon number*^[188] dividiert. Dadurch bezog sich die integrierte Fläche des stoffspezifischen FID-Signals auf ein Molekül und eine Vergleichbarkeit zwischen Molekülen unterschiedlicher C-Anzahl war gegeben. Zu beachten war die veränderte Struktur des Zuckermoleküls aufgrund der eingeführten Schutzgruppen. Tetrosen besitzen beispielsweise eine Carbonylfunktion und drei Hydroxygruppen an den C-Atomen, aber durch die Oximierung und Silylierung werden weitere C-Atome als Bestandteil verschiedener funktioneller Gruppen eingeführt (Schema 4-2).



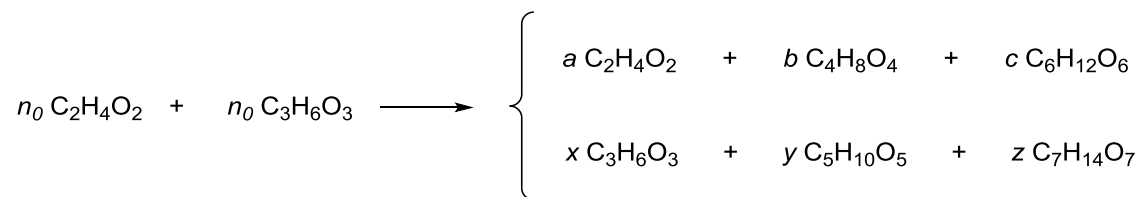
Schema 4-2: Veränderte C-Atomanzahl durch Derivatisierungsschritte.

Die einzelnen ermittelten Werte pro Zuckergruppe wurden mit der Gesamtheit aller untersuchten Zuckergruppen ins Verhältnis gesetzt. Abschließend wurden Mittelwert und Standardabweichung der Mehrfachmessungen berechnet.

Für die kinetischen Untersuchungen wurden mit Hilfe des korrigierten Flächenquotienten und der ermittelten Kalibriergeraden (siehe 4.3.16) die Konzentrationen aller Zuckergruppen in der Derivatisierungsprobe bestimmt. Diese Zusammensetzung wurde anschließend auf die Stoffmengenverteilung in der Kugelmühle übertragen.

4.3.14 Berechnung des Umsatzes der Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk

Um den Umsatz für die Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk zu berechnen wurde angenommen, dass aus den eingesetzten Ausgangsstoffen Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd nur Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen und Heptosen aufgebaut werden (Schema 4-3). Diese Monosaccharid-Gruppen konnten mittels GC-FID nachgewiesen werden und eindeutige Peaks integriert werden. Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd liegen weiterhin in der Reaktionsmischung vor.



Schema 4-3: Formose-Reaktion ausgehend von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd unter der Annahme bestimmter aufgebauter Monosaccharide.

Der Umsatz X setzt sich aus dem unverbrauchten Glycol- und Glycerinaldehyd sowie den höheren Monosacchariden zusammen. X berechnet sich wie folgt:

$$X [\%] = 100 - \frac{2 \cdot a + 3 \cdot b}{2 \cdot a + 3 \cdot b + 4 \cdot c + 5 \cdot x + 6 \cdot y + 7 \cdot z} \cdot 100$$

Die Werte a , b , c , x , y und z sind in Prozent angegeben und können der jeweiligen Tabelle im Anhang entnommen werden.

4.3.15 Berechnung der Selektivität der Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk

Um die Selektivität S für die Aldolreaktion als Ausschnitt aus dem Formose-Netzwerk abschätzen zu können wurde der Quotient zwischen den integrierten Flächen der gewünschten Zielprodukte $C_nH_{2n}O_n$ und aller detektierten Spezies C_{all} gebildet:

$$S [\%] = \frac{\sum A(C_nH_{2n}O_n)}{A(C_{all})} \cdot 100$$

Bei den gewünschten Zielprodukten handelte es sich um Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen und Heptosen (Schema 4-3), aber auch unverbrauchtes Glycolaldehyd wurde summiert. Die Fläche aller detektierten Spezies bezog sich auf ein Gesamtflächenintegral im Bereich der Zucker. Signale von Lösungsmittel, Derivatisierungsreagenzien oder internem Standard wurden nicht integriert.

4.3.16 Kalibriergeraden für die Derivatisierung mit EtOx·HCl und BSTFA/MBTFA

Von den ausgewählten Zuckern (Tabelle 3-1) wurden Stammlösungen in Pyridin mit Konzentrationen von 10 und 100 mM angesetzt. Mittels dieser Stammlösungen wurden jeweils 200 μ L der Zuckerlösungen in Pyridin mit folgenden Konzentrationen angesetzt: 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM und 100 mM. Hierbei erfolgten jeweils drei gleiche Konzentrationsansätze pro Zucker. Anschließend wurden die Proben wie in Kapitel 4.3.9 beschrieben derivatisiert.

Die Flächen wurden mittels *effective carbon number* korrigiert. Hierfür wurden gegebene Literaturwerte^[188] einzelner funktioneller Gruppen für den jeweiligen derivatisierten Zucker addiert. Der Flächenquotient von Zucker und internem Standard wurde gegen die Konzentration der ursprünglich angesetzten Zuckerkonzentration aufgetragen und ein linearer Zusammenhang beobachtet. Beim Auftreten von zwei Zuckersignalen im Chromatogramm wurden die Flächenquotienten jeweils für die einzelnen *E/Z*-Oxime, aber auch für die Gesamtfläche der Zuckerintegrale, aufgetragen. Um die Detektorempfindlichkeit (engl. *response factor*) für die Zucker zu bestimmen, wurden die ermittelten Steigungen auf die jeweilige Kohlenstoffanzahl normiert. Die Steigungen zeigten mit dem Reziprok der *effective carbon number* ($1/ECN$) eine lineare Abhängigkeit (Abbildung 4-2), so dass beispielsweise die Steigung der Kalibriergeraden für Heptosen extrapoliert werden konnte und eine vollständige Analyse aller auftretender Zucker gegeben war.

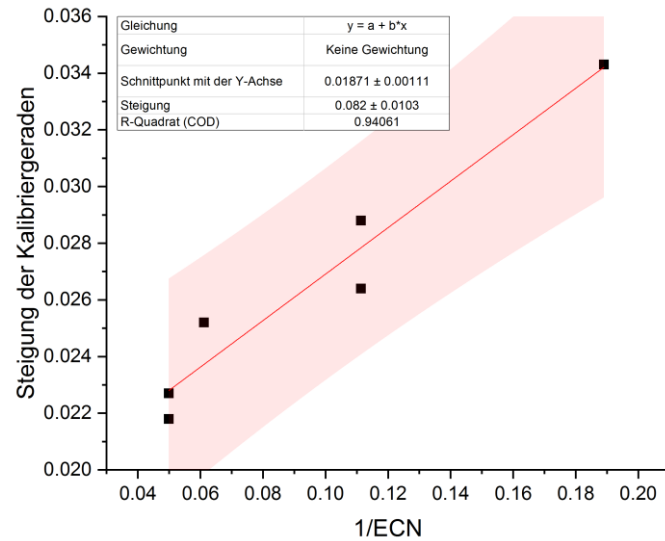


Abbildung 4-2: Lineare Auftragung von dem Reziprok der *effective carbon number* (1/ECN) und der Steigung der Kalibriergeraden.

Die Kalibriergeraden sind im Anhang unter Kapitel 5.3 und 5.4 zu finden.

KAPITEL 5

Anhang

5.1 FIA-HPLC – Variation der Diisopropylzinkkonzentration (Kapitel 2.5.3)

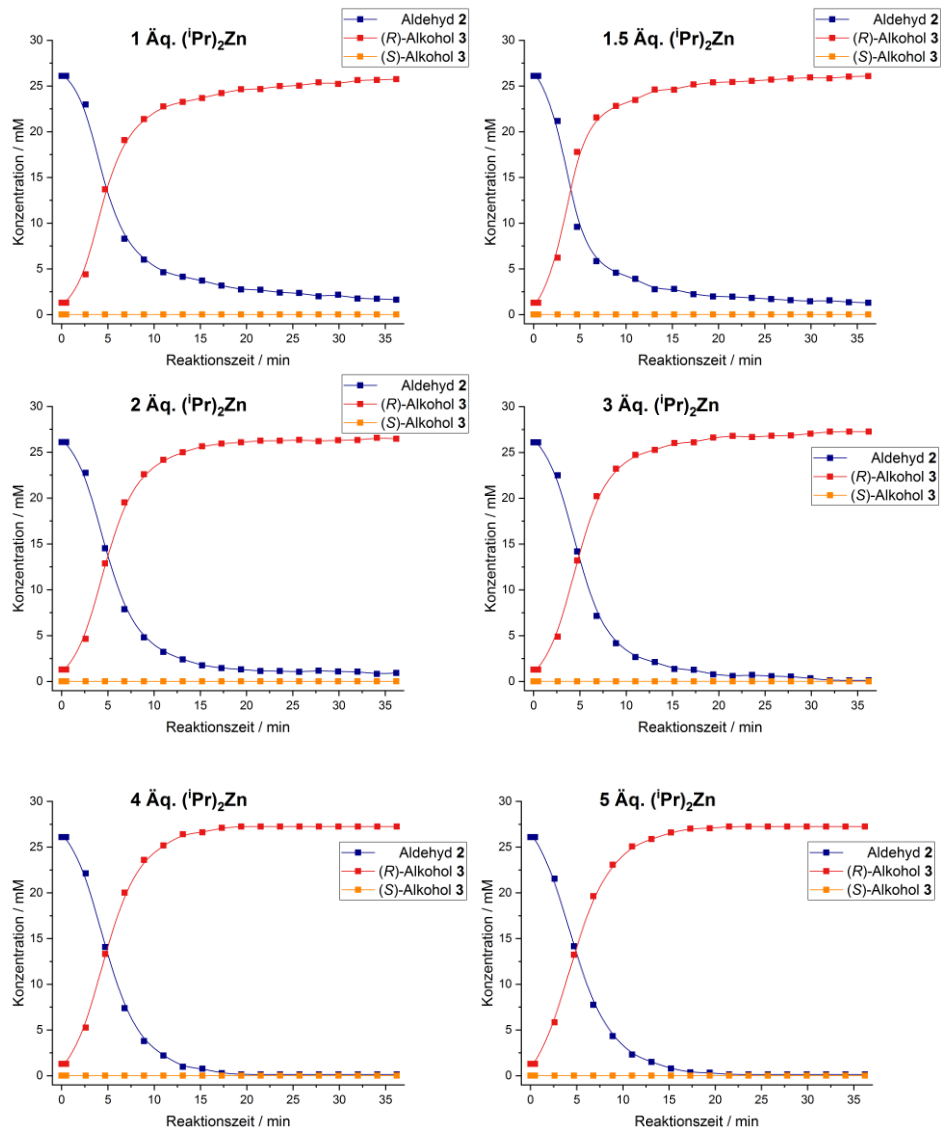


Abbildung 5-1: Kinetische Verläufe nach Variation der Diisopropylzink-Anfangskonzentration von 1-5 Äquivalenten. 26,1 mM Aldehyd, 5 mol% (R)Alkohol.

5.2 Produktverteilungen in Zahlen (Kapitel 3.4 und 3.5)

Tabelle 5-1: Wiederholbarkeit in der Schwingkugelmühle, 5 mL-Reaktor, 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz und 60 min Reaktionszeit (siehe Abbildung 3-19).

Ansatz	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
# 1	58 ± 0	38 ± 0	4 ± 0
# 2	60 ± 0	36 ± 0	4 ± 0
# 3	59 ± 2	36 ± 1	5 ± 0
# 4	65 ± 0	31 ± 0	4 ± 0

Tabelle 5-2: Verschiedene Kugelbeladungen in der Planetenkugelmühle und die Monosaccharid-Verhältnisse nach 60 min Reaktionszeit bei 400 U/min (siehe Abbildung 3-20 und Abbildung 3-21).

Kugelbeladung	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]	Umsatz [%]
20 x 5 mm	69	27	4	49
40 x 5 mm	60	35	5	59
60 x 5 mm	59	35	6	60
80 x 5 mm	55	39	6	64
5 x 10 mm	45	44	11	73
10 x 10 mm	37	49	14	79

Tabelle 5-3: Variation der Umdrehungszahl bei einer Beladung von 10 x 10 mm-Kugeln und 90 min Reaktionszeit (siehe Abbildung 3-22).

Umdrehungszahl [U/min]	Temperatur [°C]	Habitus	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
200	28	Hellgelbes Pulver	80	17	3
400	31	Hellgelbe zähe Masse	23	53	24
600	34	Gelbe zähe Masse	8	36	56
800	66	Brauner Feststoff ^{a)}	-	-	-

a) Der braune Feststoff konnte mit der gängigen Derivatisierungsmethode nicht untersucht werden, da dieser nicht in Lösung ging.

Tabelle 5-4: Variation von Reaktorvolumen und Kugelbeladung, 20 Hz und 60 min Reaktionszeit (siehe Abbildung 3-23).

Reaktorvolumen [mL]	Kugelbeladung	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
5	1 x 7 mm	67	28	5
5	2 x 7 mm	73	24	3
10	5 x 7 mm	88	10	2
10	1 x 10 mm	81	17	2
10	2 x 10 mm	73	24	3

Tabelle 5-5: Variation der Schwingungsfrequenz, 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel und 90 min Reaktionszeit (siehe Abbildung 3-24).

Frequenz [Hz]	Habitus	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]
10	Farbloses Pulver	97	3	0
20	Farbloser Feststoff	73	24	3
30	Gelber Feststoff	21	49	30

Tabelle 5-6: Variation der Katalysatorbeladung, 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz und 90 min Reaktionszeit (siehe Abbildung 3-25).

Ca(OH) ₂ [mol%]	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]	Umsatz [%]
0	100	0	0	0
5	80	18	2	34
10	51	41	8	67
20	21	49	30	90

Tabelle 5-7: Verschiedene Hydroxide als Base in der Formose-Reaktion. 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz (siehe Abbildung 3-26).

Base	Zeit [min]	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]	Selektivität ^{a)} [%]
NaOH	30	23	45	32	59
NaOH	60	0	0	100	36
KOH	30	39	5	56	50
KOH	60	0	3	97	38
Ca(OH) ₂	30	53	42	5	94
Ca(OH) ₂	60	40	50	10	98

a) Bezogen auf die Gesamtheit an Glycolaldehyd und höheren Monosacchariden im Vergleich zur Gesamtheit aller detektierten Spezies.

Tabelle 5-8: Habitus und Umsatz der zeitaufgelösten Formose-Reaktion in der Schwingkugelmühle ausgehend von Glycolaldehyd und Ca(OH)₂ (siehe Abbildung 3-27).

Zeit [min]	Habitus	Umsatz [%]
0	Farbloses Pulver	0 ± 0
2,5	Farbloses Pulver	3 ± 0
5	Farbloses Pulver	15 ± 0
7,5	Farblose zähe Masse	30 ± 0
10	Farblose zähe Masse	51 ± 8
20	Farblose zähe Masse	62 ± 7
30	Farblose zähe Masse	70 ± 2
60	Farblose zähe Masse	80 ± 2
90	Hellgelbe zähe Masse	85 ± 1
120	Gelbe zähe Masse	96 ± 1
180	Gelber Feststoff	-

Tabelle 5-9: Monosaccharid-Zusammensetzung der zeitaufgelösten Formose-Reaktion in der Schwingkugelmühle ausgehend von Glycolaldehyd und $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in der Schwingkugelmühle im 5 mL-Reaktor, 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz (siehe Abbildung 3-28).

Zeit [min]	Glycolaldehyd [mmol]	Tetrosen [mmol]	Hexosen [mmol]	Heptosen [mmol]
0	2,08 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2,5	1,88 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
5	1,66 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
7,5	1,36 ± 0,01	0,26 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,00 ± 0,00
10	0,99 ± 0,20	0,45 ± 0,06	0,04 ± 0,01	0,00 ± 0,00
20	0,76 ± 0,10	0,54 ± 0,05	0,05 ± 0,01	0,00 ± 0,00
30	0,59 ± 0,04	0,57 ± 0,02	0,07 ± 0,00	0,00 ± 0,00
60	0,41 ± 0,04	0,62 ± 0,00	0,13 ± 0,01	0,00 ± 0,00
90	0,31 ± 0,03	0,59 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,01 ± 0,00
120	0,08 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,01 ± 0,00

Tabelle 5-10: Habitus und Umsatz der zeitaufgelösten Formose-Reaktion in der Schwingkugelmühle ausgehend von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (siehe Abbildung 3-31).

Zeit [h]	Habitus	Umsatz [%]
0	Farbloses Pulver	0 ± 0
1	Farblose zähe Masse	30 ± 1
2	Farblose zähe Masse	47 ± 3
3	Hellgelbe zähe Masse	60 ± 0
4	Gelbe zähe Masse	76 ± 2
5	Dunkelgelbe zähe Masse	89 ± 0
6	Brauner Feststoff	-

Tabelle 5-11: Monosaccharid-Zusammensetzung und Umsatz vom Reaktionsverlauf von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ im 5 mL-Reaktor, 1 x 7 mm-Kugel, 30 Hz (siehe Abbildung 3-33).

Zeit [h]	Glycolaldehyd [mmol]	Triosen [mmol]	Tetrosen [mmol]	Pentosen [mmol]	Hexosen [mmol]	Heptosen [mmol]
0	0,87 ± 0,00	0,87 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
1	0,39 ± 0,01	0,76 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00
2	0,19 ± 0,01	0,68 ± 0,04	0,19 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,00
3	0,06 ± 0,00	0,58 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,05 ± 0,00
4	0,01 ± 0,00	0,35 ± 0,03	0,03 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,22 ± 0,01	0,08 ± 0,00
5	0,00 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,01 ± 0,00

Tabelle 5-12: Reaktionsverlauf der kleinen Zucker beim Umsatz von Glycolaldehyd und Glycerinaldehyd mit 20 mol% Ca(OH)₂ für bis zu 5 h in einem 5 mL-Reaktor mit 1 x 7 mm-Kugel bei 30 Hz (siehe Abbildung 3-32).

Zeit [h]	Gly [mmol]	DHA [mmol]	GA+Gly [mmol]	GA/Gly	DHA/Gly
0	0,87 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,73 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
1	0,75 ± 0,00	0,02 ± 0,00	1,14 ± 0,01	0,53 ± 0,02	0,02 ± 0,00
2	0,65 ± 0,04	0,02 ± 0,00	0,84 ± 0,05	0,29 ± 0,03	0,04 ± 0,00
3	0,54 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,60 ± 0,01	0,11 ± 0,00	0,07 ± 0,00
4	0,29 ± 0,03	0,06 ± 0,00	0,30 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,22 ± 0,03
5	0,11 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,50 ± 0,00

Tabelle 5-13: Vergleich der Monosaccharid-Zusammensetzung der ersten 30 min der Formose-Reaktion in der Kugelmühle und in Wasser (siehe Abbildung 3-37).

Reaktionsmedium	Zeit [min]	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Hexosen [%]	Heptosen [%]
Mechanochemisch	10	69	28	3	0
	20	59	37	4	0
	30	53	42	5	0
In Wasser	10	1	38	58	3
	20	1	19	75	5
	30	1	12	81	6

Tabelle 5-14: Reaktionskomponenten der Organokatalyse nach 90 min ausgehend von Glycolaldehyd und verschiedenen Katalysatorbeladungen von L-Prolin (siehe Abbildung 3-42).

L-Prolin [mol%]	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Glycolaldehyd-Prolin-Addukt [%]	Tetrosen-Prolin-Addukt [%]	L-Prolin [%]
10	92	1	5	2	0
20	82	1	11	5	1
50	39	2	30	17	12
100	15	1	23	9	52

Tabelle 5-15: Reaktionskomponenten der Organokatalyse durchgeführt mit und ohne Wasser, nach 90 min (siehe Abbildung 3-43).

Wasserzugabe	Glycolaldehyd [%]	Tetrosen [%]	Glycolaldehyd-Prolin-Addukt [%]	Tetrosen-Prolin-Addukt [%]
ohne	45	2	34	19
sukzessiv	52	1	24	23
vollständig	37	1	18	44

5.3 Kalibriergeraden für EtOx-TMS-Aldosen und -Ketosen

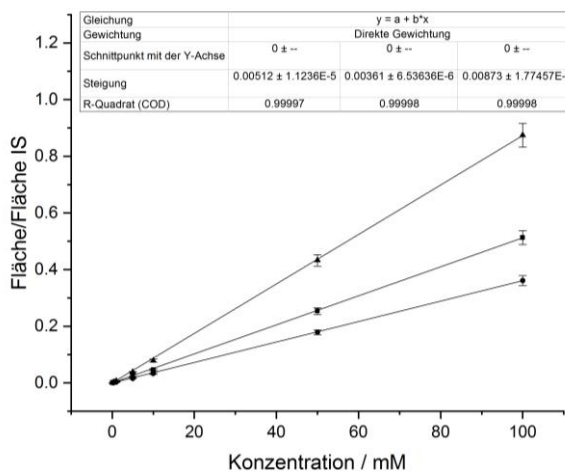


Abbildung 5-2: Kalibriergerade von EtOx-TMS-Glycolaldehyd im Bereich von 0,1–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

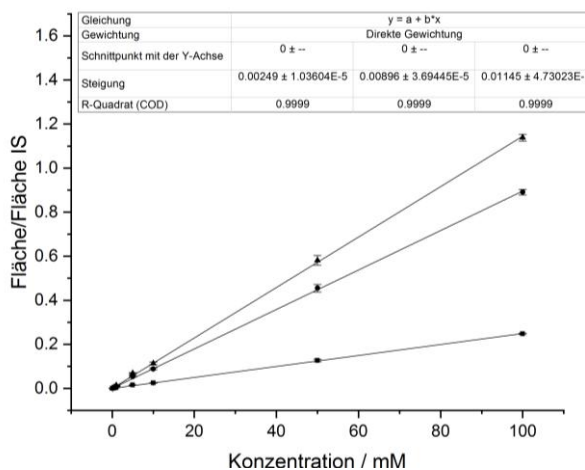


Abbildung 5-3: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Glycerinaldehyd im Bereich von 0,1–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

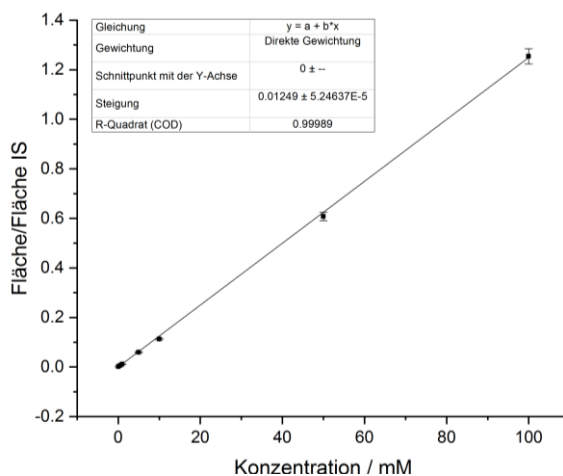


Abbildung 5-4: Kalibriergerade von EtOx-TMS-Dihydroxacetone im Bereich von 0,1–100 mM.

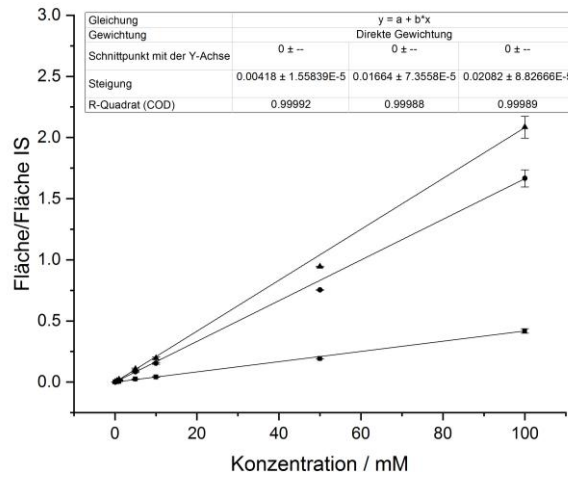


Abbildung 5-5: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Threose im Bereich von 0,1–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

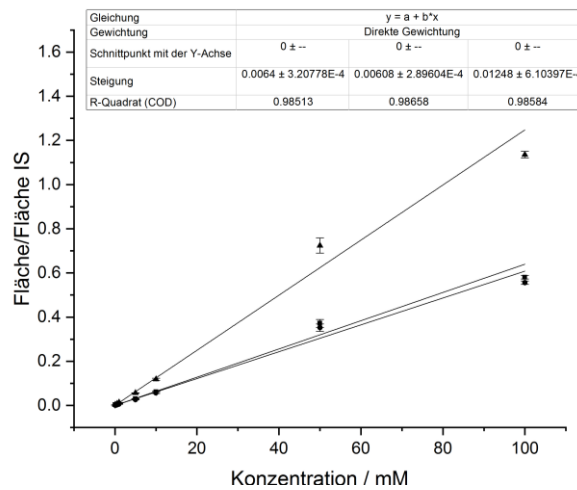


Abbildung 5-6: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Erythrose im Bereich von 0,1–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

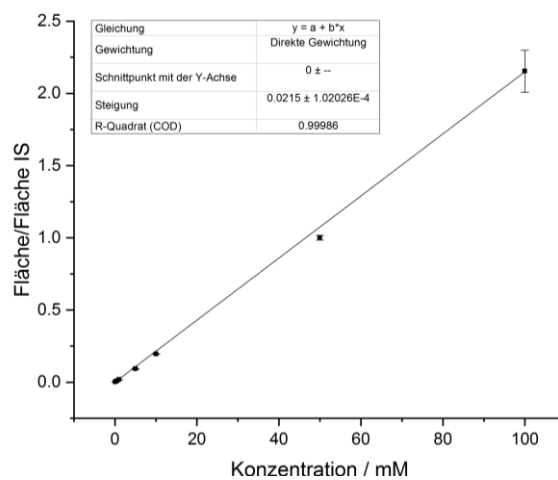


Abbildung 5-7: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Ribose im Bereich von 0,1–100 mM.

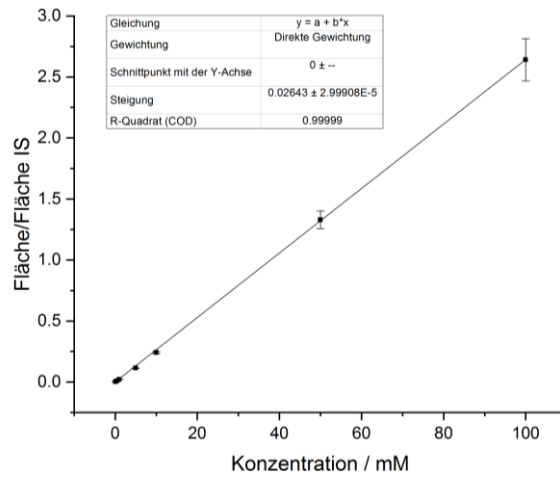


Abbildung 5-8: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Xylulose im Bereich von 0,1–100 mM.

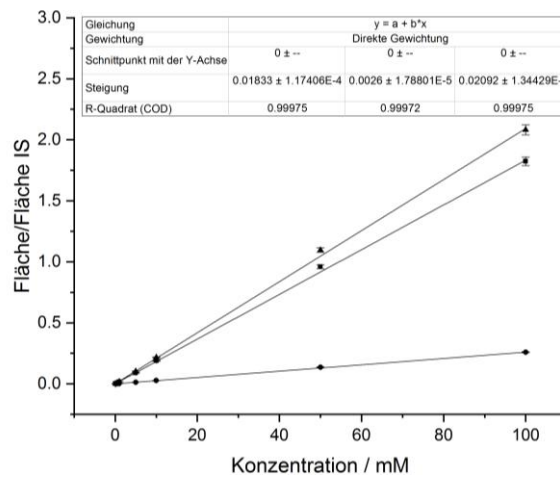


Abbildung 5-9: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Mannose im Bereich von 0,1–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

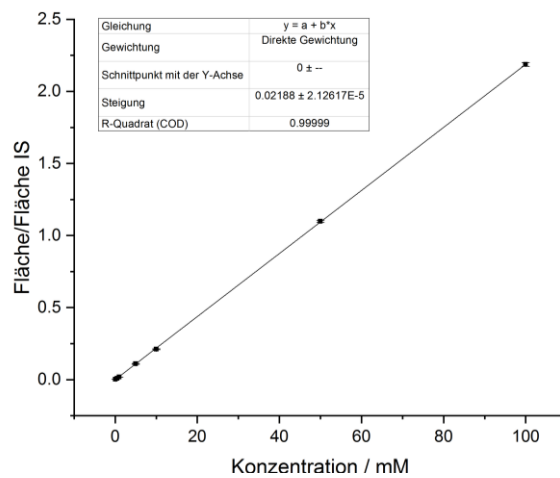


Abbildung 5-10: Kalibriergerade von EtOx-TMS-D-Fructose im Bereich von 0,1–100 mM.

5.4 Kalibriergeraden für EtOx-TFA-Aldosen

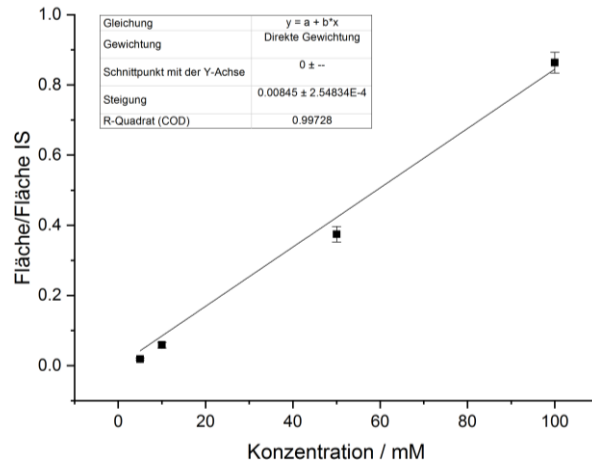


Abbildung 5-11: Kalibriergerade von EtOx-TFA-Glycolaldehyd im Bereich von 5–100 mM.

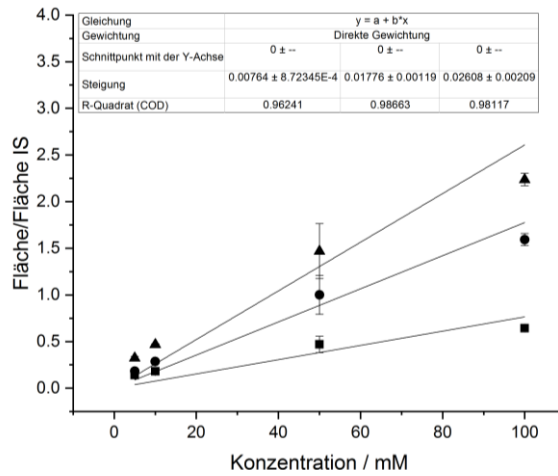


Abbildung 5-12: Kalibriergerade von EtOx-TFA-D-Glycerinaldehyd im Bereich von 5–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

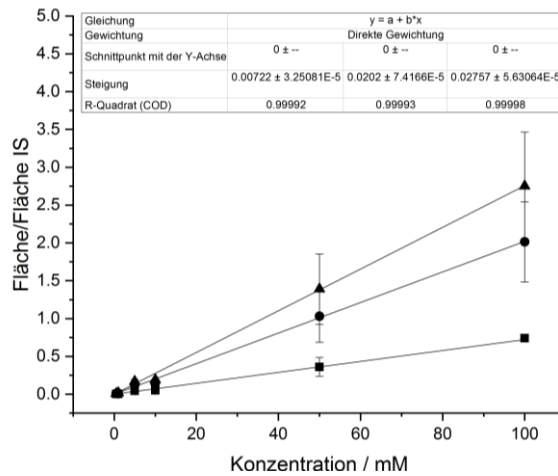


Abbildung 5-13: Kalibriergerade von EtOx-TFA-D-Threose im Bereich von 0,5–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

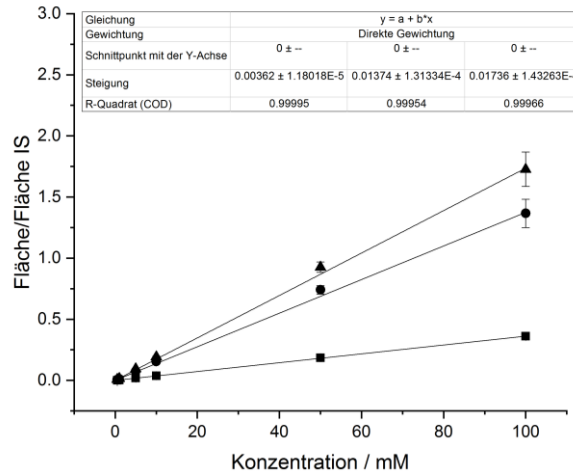


Abbildung 5-14: Kalibriergerade von EtOx-TFA-D-Ribose im Bereich von 0,5–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

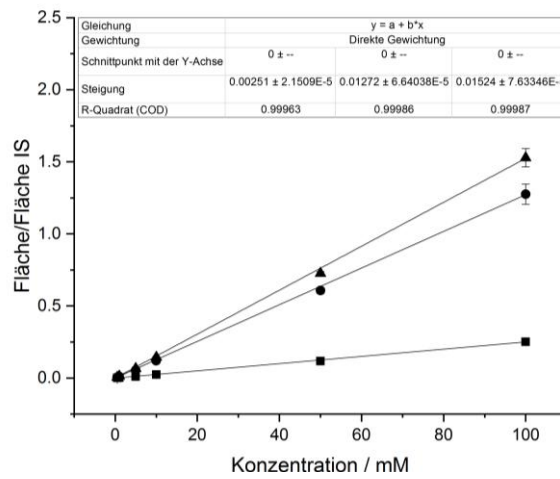


Abbildung 5-15: Kalibriergerade von EtOx-TFA-D-Mannose im Bereich von 0,5–100 mM. ▲ Gesamtintegral; ■ bzw. ● E/Z-Oxime.

KAPITEL 6

Literaturverzeichnis

- [1] G. B. Dalrymple, *Geological Society, London, Special Publications* **2001**, 190, 205-221.
- [2] W. F. Bottke, M. D. Norman, *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **2017**, 45, 619-647.
- [3] J. Valley, *Geology* **2002**, 293, 58-65.
- [4] J. W. Schopf, *Science* **1993**, 260, 640-646.
- [5] J. S. Levine, T. R. Augustsson, M. Natarajan, *Origins of life* **1982**, 12, 245-259.
- [6] A. Lal, *Astrophys Space Sci* **2008**, 317, 267-278.
- [7] C. Sagan, C. Chyba, *Science* **1997**, 276, 1217-1221.
- [8] S. L. Miller, *Science* **1953**, 117, 528-529.
- [9] G. Schlesinger, S. L. Miller, *J Mol Evol* **1983**, 19, 376-382.
- [10] K. Soai, T. Shibata, H. Morioka, K. Choji, *Nature* **1995**, 378, 767-768.
- [11] W. Gilbert, *Nature* **1986**, 319, 618.
- [12] S. Arrhenius, *Die Umschau* **1903**, 7, 481-485.
- [13] B. L. Feringa, R. A. van Delden, *Angewandte Chemie* **1999**, 111, 3624-3645.
- [14] B. L. Feringa, R. A. van Delden, *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, 38, 3418-3438.
- [15] F. C. Frank, *Biochimica et Biophysica Acta* **1953**, 11, 459-463.
- [16] A. Horeau, *Tetrahedron Letters* **1969**, 10, 3121-3124.
- [17] H. Wynberg, B. Feringa, *Tetrahedron* **1976**, 32, 2831-2834.
- [18] C. Puchot, O. Samuel, E. Dunach, S. Zhao, C. Agami, H. B. Kagan, *Journal of the American Chemical Society* **1986**, 108, 2353-2357.
- [19] D. Guillaneux, S.-H. Zhao, O. Samuel, D. Rainford, H. B. Kagan, *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116, 9430-9439.
- [20] N. Oguni, Y. Matsuda, T. Kaneko, *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110, 7877-7878.
- [21] K. Girard, *Angew. Chem.* **1998**, 3088-3127.
- [22] K. Soai, T. Kawasaki, *Top Curr Chem* **2007**, 284, 1-33.
- [23] T. Shibata, S. Yonekubo, K. Soai, *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, 38, 659-661.
- [24] I. Sato, H. Urabe, S. Ishiguro, T. Shibata, K. Soai, *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, 42, 315-317.
- [25] T. Gehring, M. Busch, M. Schlageter, D. Weingand, *Chirality* **2010**, 22, E173-E182.
- [26] K. Soai, S. Niwa, H. Hori, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1990**, 982-983.
- [27] J. Klankermayer, I. D. Gridnev, J. M. Brown, *Chemical Communications* **2007**, 3151-3153.
- [28] T. Shibata, J. Yamamoto, N. Matsumoto, S. Yonekubo, S. Osanai, K. Soai, *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, 12157-12158.
- [29] K. Soai, S. Osanai, K. Kadowaki, S. Yonekubo, T. Shibata, I. Sato, *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, 11235-11236.
- [30] T. Kawasaki, K. Suzuki, K. Hatase, M. Otsuka, H. Koshima, K. Soai, *Chemical Communications* **2006**, 1869-1871.
- [31] T. Kawasaki, Y. Matsumura, T. Tsutsumi, K. Suzuki, M. Ito, K. Soai, *Science* **2009**, 324, 492-495.
- [32] F. G. Buono, H. Iwamura, D. G. Blackmond, *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, 43, 2099-2103.
- [33] D. A. Singleton, L. K. Vo, *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, 10010-10011.
- [34] M. Quaranta, T. Gehring, B. Odell, J. M. Brown, D. G. Blackmond, *Journal of the American Chemical Society* **2010**, 132, 15104-15107.
- [35] H. Danda, H. Nishikawa, K. Otaka, *The Journal of Organic Chemistry* **1991**, 56, 6740-6741.
- [36] D. P. Heller, D. R. Goldberg, W. D. Wulff, *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, 10551-10552.
- [37] G. Storch, O. Trapp, *Nature Chemistry* **2016**, 9, 179.
- [38] D. G. Blackmond, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 584-589.

- [39] A. C. Ferretti, J. S. Mathew, D. G. Blackmond, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2007**, *46*, 8584-8589.
- [40] D. G. Blackmond, C. R. McMillan, S. Ramdeehul, A. Schorm, J. M. Brown, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 10103-10104.
- [41] J. M. Brown, I. Gridnev, J. Klankermayer, in *Amplification of Chirality* (Ed.: K. Soai), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2008**, pp. 35-65.
- [42] F. G. Buono, D. G. Blackmond, *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 8978-8979.
- [43] M. Kitamura, S. Suga, M. Niwa, R. Noyori, *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 4832-4842.
- [44] M. Yamakawa, R. Noyori, *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 6327-6335.
- [45] G. von Kiedrowski, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1986**, *25*, 932-935.
- [46] I. D. Gridnev, J. M. Serafimov, J. M. Brown, *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 4884-4887.
- [47] T. Gehring, M. Quaranta, B. Odell, D. G. Blackmond, J. M. Brown, *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 9539-9542.
- [48] L. Schiaffino, G. Ercolani, *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 6832-6835.
- [49] I. D. Gridnev, A. K. Vorobiev, *ACS Catalysis* **2012**, *2*, 2137-2149.
- [50] A. Matsumoto, T. Abe, A. Hara, T. Tobita, T. Sasagawa, T. Kawasaki, K. Soai, *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54*, 15218-15221.
- [51] F. Maier, *Synthese und Untersuchung schaltbarer, stereodynamischer Systeme* (Heidelberg), **2013**.
- [52] I. Sato, D. Omiya, H. Igarashi, K. Kato, Y. Ogi, K. Tsukiyama, K. Soai, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 975-979.
- [53] J. W. Goodby, M. Hird, R. A. Lewis, K. J. Toyne, *Chemical Communications* **1996**, 2719-2720.
- [54] T. Kawasaki, M. Sato, S. Ishiguro, T. Saito, Y. Morishita, I. Sato, H. Nishino, Y. Inoue, K. Soai, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 3274-3275.
- [55] E. Hupe, M. I. Calaza, P. Knochel, *Chemistry – A European Journal* **2003**, *9*, 2789-2796.
- [56] A. Krasovskiy, P. Knochel, *Synthesis* **2006**, *2006*, 0890-0891.
- [57] C. Cheng, M. Brookhart, *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 9422-9424.
- [58] C. B. Aakeröy, J. Desper, B. Levin, J. Valdés-Martínez, *Inorganica Chimica Acta* **2006**, *359*, 1255-1262.
- [59] B. Neises, W. Steglich, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1978**, *17*, 522-524.
- [60] Y. Nishimoto, S. A. Babu, M. Yasuda, A. Baba, *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, *73*, 9465-9468.
- [61] M. H. Todd, *Chemical Society Reviews* **2002**, *31*, 211-222.
- [62] P. Ehrenfreund, S. B. Charnley, *Annual Review of Astronomy and Astrophysics* **2000**, *38*, 427-483.
- [63] G. Cooper, N. Kimmich, W. Belisle, J. Sarinana, K. Brabham, L. Garrel, *Nature* **2001**, *414*, 879.
- [64] J. P. Ferris, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2006**, *361*, 1777-1786.
- [65] R. P. Harvey, *Science* **2010**, *329*, 400-401.
- [66] C. Ponnamperna, A. Shimoyama, E. Friebele, *Origins of life* **1982**, *12*, 9-40.
- [67] W. Martin, J. Baross, D. Kelley, M. J. Russell, *Nature Reviews Microbiology* **2008**, *6*, 805.
- [68] H. Rauchfuß, *Chemische Evolution und der Ursprung des Lebens.*, Springer Berlin Heidelberg, **2005**.
- [69] K. Kashefi, D. R. Lovley, *Science* **2003**, *301*, 934-934.
- [70] B. Rasmussen, *Nature* **2000**, *405*, 676.
- [71] K. Juniper, Y. Fouquet, *Canadian Mineralogist* **1988**, *26*, 859-869.
- [72] G. Wächtershäuser, *Progress in Biophysics and Molecular Biology* **1992**, *58*, 85-201.
- [73] W. Martin, M. J. Russell, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2007**, *362*, 1887-1926.

- [74] C. Darwin, The correspondence of Charles Darwin, **1871**.
- [75] E. E. Stüeken, R. E. Anderson, J. S. Bowman, W. J. Brazelton, J. Colangelo-Lillis, A. D. Goldman, S. M. Som, J. A. Baross, *Geobiology* **2013**, *11*, 101-126.
- [76] J. L. Bada, *Earth and Planetary Science Letters* **2004**, *226*, 1-15.
- [77] M. G. Schwendinger, B. M. Rode, *Analytical Sciences* **1989**, *5*, 411-414.
- [78] N. Lahav, D. White, S. Chang, *Science* **1978**, *201*, 67-69.
- [79] D. David, D. Bruce, *Astrobiology* **2017**, *17*, 834-839.
- [80] P. G. Higgs, *Life* **2016**, *6*, 24.
- [81] K. Kvenvolden, J. Lawless, K. Pering, E. Peterson, J. Flores, C. Ponnampereuma, I. R. Kaplan, C. Moore, *Nature* **1970**, *228*, 923.
- [82] S. W. Fox, K. Harada, *Journal of the American Chemical Society* **1960**, *82*, 3745-3751.
- [83] R. Lohrmann, L. E. Orgel, *Science* **1971**, *171*, 490-494.
- [84] IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book")*. Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML online corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
- [85] L. Takacs, *Journal of Materials Science* **2004**, *39*, 4987-4993.
- [86] S. L. James, C. J. Adams, C. Bolm, D. Braga, P. Collier, T. Friscic, F. Grepioni, K. D. M. Harris, G. Hyett, W. Jones, A. Krebs, J. Mack, L. Maini, A. G. Orpen, I. P. Parkin, W. C. Shearouse, J. W. Steed, D. C. Waddell, *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 413-447.
- [87] A. Bruckmann, A. Krebs, C. Bolm, *Green Chemistry* **2008**, *10*, 1131-1141.
- [88] F. C. Strobridge, N. Judas, T. Friscic, *CrystEngComm* **2010**, *12*, 2409-2418.
- [89] F. K. Urakaev, V. V. Boldyrev, *Powder Technology* **2000**, *107*, 197-206.
- [90] F. K. Urakaev, V. V. Boldyrev, *Powder Technology* **2000**, *107*, 93-107.
- [91] E. Boldyreva, *Chemical Society Reviews* **2013**, *42*, 7719-7738.
- [92] P. Balaz, *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2008**.
- [93] L. Takacs, *Chemical Society Reviews* **2013**, *42*, 7649-7659.
- [94] R. Belén, B. Angelika, B. Carsten, *Chemistry – A European Journal* **2007**, *13*, 4710-4722.
- [95] G. Kaupp, *CrystEngComm* **2006**, *8*, 794-804.
- [96] B. Içli, N. Christinat, J. Tönnemann, C. Schüttler, R. Scopelliti, K. Severin, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 3154-3155.
- [97] G. Kaupp, J. Schmeyers, M. R. Naimi-Jamal, H. Zoz, H. Ren, *Chemical Engineering Science* **2002**, *57*, 763-765.
- [98] R. B. Merrifield, *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [99] D. Valérie, N. Pierrick, M. Jean, L. Frédéric, *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 9318-9321.
- [100] C. Bolm, R. Mocchi, C. Schumacher, M. Turberg, F. Puccetti, J. G. Hernández, *Angewandte Chemie* **2018**, *130*, 2447-2450.
- [101] A. Butlerow, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1861**, *120*, 295-298.
- [102] R. Breslow, *Tetrahedron Letters* **1959**, *1*, 22-26.
- [103] R. Shapiro, *Origins Life Evol Biosphere* **1988**, *18*, 71-85.
- [104] I. Zafar, N. Senad, *Current Organic Chemistry* **2012**, *16*, 769-788.
- [105] G. Harsch, M. Harsch, W. Voelter, *Z. Naturforsch.* **1983**, *38b*, 1257-1268.
- [106] E. Pfeil, G. Sehroth, *Chemische Berichte* **1952**, *85*, 293-307.
- [107] K. Runge, R. Mayer, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1967**, *707*, 161-169.
- [108] H. W. Wanzlick, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1962**, *1*, 75-80.
- [109] A. H. Weiss, T. John, *Journal of Catalysis* **1974**, *32*, 216-229.
- [110] H. Tambawala, A. H. Weiss, *Journal of Catalysis* **1972**, *26*, 388-400.
- [111] J. C. Speck, in *Advances in Carbohydrate Chemistry, Vol. 13* (Ed.: M. L. Wolfrom), Academic Press, **1958**, pp. 63-103.
- [112] S. J. Angyal, *Carbohydrate Research* **1997**, *300*, 279-281.
- [113] D. Müller, S. Pitsch, A. Kittaka, E. Wagner, C. E. Wintner, A. Eschenmoser, G. Ohlofjgewidmet, *Helvetica Chimica Acta* **1990**, *73*, 1410-1468.

- [114] H.-J. Kim, A. Ricardo, H. I. Illangkoon, M. J. Kim, M. A. Carrigan, F. Frye, S. A. Benner, *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 9457-9468.
- [115] R. D. Partridge, A. H. Weiss, D. Todd, *Carbohydrate Research* **1972**, *24*, 29-44.
- [116] J. M. De Bruijn, A. P. G. Kieboom, H. V. Bekkiun, *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1986**, *5*, 561-569.
- [117] I. V. Delidovich, A. N. Simonov, O. P. Taran, V. N. Parmon, *ChemInform* **2014**, *45*.
- [118] K. A., *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **1936**, *69*, 1041-1049.
- [119] T. Matsumoto, S. Inoue, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1983**, 171-172.
- [120] T. Matsumoto, H. Yamamoto, S. Inoue, *Journal of the American Chemical Society* **1984**, *106*, 4829-4832.
- [121] J. Castells, F. Geijo, F. López-Calahorra, *Tetrahedron Letters* **1980**, *21*, 4517-4520.
- [122] N. W. Gabel, C. Ponnampuruma, *Nature* **1967**, *216*, 453.
- [123] V. A. Likholobov, A. H. Weiss, M. M. Sakharov, *Reaction Kinetics and Catalysis Letters* **1978**, *8*, 155-166.
- [124] Y. Shigemasa, T. Taji, C. Sakazawa, R. Nakashima, T. Matsuura, *Journal of Catalysis* **1979**, *58*, 296-302.
- [125] J. Castells, F. López-Calahorra, F. Geijo, *Carbohydrate Research* **1983**, *116*, 197-207.
- [126] S. Yoshihiro, M. Yoshinobu, S. Chikahiro, M. Teruo, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1977**, *50*, 222-226.
- [127] S. Irie, *Carbohydrate Research* **1989**, *190*, 23-28.
- [128] R. Stribling, S. L. Miller, *Origins Life Evol Biosphere* **1987**, *17*, 261-273.
- [129] J. S. Hubbard, J. P. Hardy, N. H. Horowitz, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1971**, *68*, 574-578.
- [130] R. Larralde, M. P. Robertson, S. L. Miller, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1995**, *92*, 8158-8160.
- [131] A. Ricardo, M. A. Carrigan, A. N. Olcott, S. A. Benner, *Science* **2004**, *303*, 196-196.
- [132] P. I. Dalko, L. Moisan, *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 5138-5175.
- [133] B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas, *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 2395-2396.
- [134] D. W. C. MacMillan, *Nature* **2008**, *455*, 304.
- [135] N. A. B., M. I. K., H. Frank, M. D. W. C., *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 2152-2154.
- [136] A. Cordova, M. Engqvist, I. Ibrahim, J. Casas, H. Sunden, *Chemical Communications* **2005**, 2047-2049.
- [137] L. Burroughs, M. E. Vale, J. A. R. Gilks, H. Forintos, C. J. Hayes, P. A. Clarke, *Chemical Communications* **2010**, *46*, 4776-4778.
- [138] S. Pizzarello, A. L. Weber, *Science* **2004**, *303*, 1151-1151.
- [139] A. L. Weber, S. Pizzarello, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, *103*, 12713-12717.
- [140] R. Belén, R. Toni, B. Carsten, *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 6924-6926.
- [141] V. S. R. Rao, *Conformation of Carbohydrates*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, **1998**.
- [142] G. McRae, C. M. Monreal, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2011**, *400*, 2205-2215.
- [143] T. Zweckmair, S. Böhmendorfer, A. Bogolitsyna, T. Rosenau, A. Potthast, S. Novalin, *Journal of Chromatographic Science* **2014**, *52*, 169-175.
- [144] N. K. Karamanos, T. Tsegenidis, C. A. Antonopoulos, *Journal of Chromatography A* **1987**, *405*, 221-228.
- [145] M. Z. Iqbal, S. Novalin, *Journal of Chromatography A* **2009**, *1216*, 5116-5121.
- [146] S.-I. Hakomori, *The Journal of Biochemistry* **1964**, *55*, 205-208.
- [147] C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita, W. W. Wells, *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 2497-2507.
- [148] A. I. Ruiz-Matute, O. Hernández-Hernández, S. Rodríguez-Sánchez, M. L. Sanz, I. Martínez-Castro, *Journal of Chromatography B* **2011**, *879*, 1226-1240.

- [149] E. Rojas-Escudero, A. L. Alarcón-Jiménez, P. Elizalde-Galván, F. Rojo-Callejas, *Journal of Chromatography A* **2004**, *1027*, 117-120.
- [150] S. W. Gunner, J. K. N. Jones, M. B. Perry, *Canadian Journal of Chemistry* **1961**, *39*, 1892-1899.
- [151] M. A. Andrews, *Carbohydrate Research* **1989**, *194*, 1-19.
- [152] W. Funcke, C. von Sonntag, *Carbohydrate Research* **1979**, *69*, 247-251.
- [153] R. A. Laine, C. C. Sweeley, *Analytical Biochemistry* **1971**, *43*, 533-538.
- [154] M. M. Koek, B. Muilwijk, M. J. van der Werf, T. Hankemeier, *Analytical Chemistry* **2006**, *78*, 1272-1281.
- [155] M. Becker, F. Liebner, T. Rosenau, A. Potthast, *Talanta* **2013**, *115*, 642-651.
- [156] R. O. Sauer, *Journal of the American Chemical Society* **1944**, *66*, 1707-1710.
- [157] D. G. v. Look, in *Silylating Agents*, Fluka Chemie AG, **1995**.
- [158] B. W. Li, K. W. Andrews, *Chromatographia* **1986**, *21*, 596-598.
- [159] L. Birkofer, M. Donike, *Journal of Chromatography A* **1967**, *26*, 270-273.
- [160] J. F. Klebe, H. Finkbeiner, D. M. White, *Journal of the American Chemical Society* **1966**, *88*, 3390-3395.
- [161] M. Donike, *Journal of Chromatography A* **1969**, *42*, 103-104.
- [162] D. L. Stalling, C. W. Gehrke, R. W. Zumwalt, *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1968**, *31*, 616-622.
- [163] T. Zweckmair, S. Schiehser, T. Rosenau, A. Potthast, *Carbohydrate Research* **2017**, *446-447*, 7-12.
- [164] J. E. Sullivan, L. R. Schewe, *Journal of Chromatographic Science* **1977**, *15*, 196-197.
- [165] D. J. Harvey, *Journal of Chromatography B* **2011**, *879*, 1196-1225.
- [166] M. Donike, *Journal of Chromatography A* **1973**, *78*, 273-279.
- [167] M. Haas, S. Lamour, O. Trapp, *Journal of Chromatography A* **2018**, *1568*, 160-167.
- [168] J. L. G. Lòpez, **2017**.
- [169] K. K. Kohler, **2017**.
- [170] M. Becker, T. Zweckmair, A. Forneck, T. Rosenau, A. Potthast, F. Liebner, *Journal of Chromatography A* **2013**, *1281*, 115-126.
- [171] P. Emanuel, R. Hans, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1961**, *641*, 121-131.
- [172] S. Yoshihiro, F. Takashi, S. Chikahiro, M. Teruo, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1977**, *50*, 1527-1531.
- [173] E. J. Grajales, E. A. Alarcón, A. L. Villa, *Thermochimica Acta* **2015**, *609*, 49-60.
- [174] T. Cablewski, A. F. Faux, C. R. Strauss, *The Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 3408-3412.
- [175] Fritsch, **2013**.
- [176] V. P. McCaffrey, N. E. B. Zellner, C. M. Waun, E. R. Bennett, E. K. Earl, *Orig Life Evol Biosph* **2014**, *44*, 29-42.
- [177] S. Lamour, S. Pallmann, M. Haas, O. Trapp, *Life*, submitted.
- [178] E. Vongerichten, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1901**, *318*, 121-136.
- [179] M. Pičmanová, B. L. Møller, *Glycobiology* **2016**, *26*, 430-442.
- [180] F. Ledl, E. Schleicher, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1990**, *29*, 565-594.
- [181] G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* **2010**, *29*, 2176-2179.
- [182] T. Rho, Y. F. Abuh, *Synthetic Communications* **1994**, *24*, 253-256.
- [183] G. A. Rance, S. A. Miners, T. W. Chamberlain, A. N. Khlobystov, *Chemical Physics Letters* **2013**, *557*, 10-14.
- [184] J. G. Petersen, T. Sørensen, M. Damgaard, B. Nielsen, A. A. Jensen, T. Balle, R. Bergmann, B. Frølund, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *84*, 404-416.
- [185] N. Hara, S. Fujisawa, M. Fujita, M. Miyazawa, K. Ochiai, S. Katsuda, T. Fujimoto, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 296-302.
- [186] J. Wolff, *Starch - Stärke* **1985**, *37*, 33-34.
- [187] W. A. König, P. Mischnick-Lübbecke, B. Brassat, S. Lutz, G. Wenz, *Carbohydrate Research* **1988**, *183*, 11-17.
- [188] D. E. Willis, J. T. Scanlon, *Journal of Chromatographic Science* **1985**, *23*, 333-340.