

# Oligomere der (R)-3-Hydroxybuttersäure und ihre Wechselwirkungen mit Metallsalzen

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Bürger, Hans Michael

**Publication date:**

1993

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000940327>

**Rights / license:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH Nr. 10436

**Oligomere der (R)-3-Hydroxybuttersäure  
und ihre Wechselwirkungen mit Metallsalzen**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels  
Doktor der Naturwissenschaften  
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

HANS MICHAEL BÜRGER

Dipl. Chem. ETH  
geboren am 20. Februar 1962  
in Lörrach (Deutschland)

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. Dieter Seebach, Referent  
Prof. Dr. Ulrich W. Suter, Korreferent

Zürich 1993

## I Zusammenfassung

Von *R.N. Reusch* wurde aufgrund experimenteller Befunde und 'Molecular Modeling'-Berechnungen ein nichtproteinogener Ionenkanal für Calcium- und Phosphat-Ionen durch Zellmembranen postuliert, der auch für den Transport von DNA in kompetenten Bakterien verantwortlich sein soll. Der Komplex soll aus einem anorganischen Polyphosphat mit etwa 130 bis 170 Phosphat-Einheiten bestehen, welches von einem Oligomer der (*R*)-3-Hydroxybuttersäure mit 120 bis 200 Monomereinheiten umhüllt ist. Die Stabilisierung dieser Struktur erfolgt durch Calcium-Ionen, welche einerseits die Gegenionen zu dem Polyphosphat bilden und andererseits mit den Carbonylsauerstoffatomen des Polyesters komplexieren.

Um Struktur und Wirkungsweise dieses Komplexes besser kennenzulernen, wurden in dieser Arbeit die Wechselwirkungen von Poly[(*R*)-3-hydroxybuttersäure] (P(3-HB)) oder geeigneten Modellverbindungen mit Alkalimetall- und Erdalkalimetall-Salzen untersucht.

Oligomere der 3-HB mit verschiedenen mittleren Kettenlängen wurden durch partielle Depolymerisation des kommerziell erhältlichen, hochmolekularen P(3-HB) erhalten. Unter basischen Bedingungen oder durch Pyrolyse wurden Oligomere erhalten, deren HO-Endgruppen mit Crotonsäure verestert waren; eine Methode zur Abspaltung dieser Endgruppe wurde gefunden. Die ungewöhnliche Produktverteilung, die beim Abbau von P(3-HB) bei tiefer Temperatur mit Lithiumamid-Basen erhalten wird, konnte erklärt und ein plausibler Mechanismus gefunden werden. Unter sauren Bedingungen konnten Oligomere mit freier HO-Endgruppe und mit freier oder veresteter Säure-Endgruppe erhalten werden.

Die MALDI-MS-Methode wurde erstmals zur Untersuchung von Oligomermischungen der 3-HB angewendet und ein Vergleich mit der klassischen Gelpermeationschromatographie durchgeführt; beide Methoden führten, mit gewissen Einschränkungen, zu vergleichbaren Ergebnissen.

Einkristalle der Komplexe des zyklischen Trimeren von 3-(*R*)-Hydroxybuttersäure mit Natrium-, Kalium- und Bariumrhodanid konnten hergestellt und deren Struktur bestimmt werden. Eine Ionophorwirkung von Derivaten der 3-HB für Alkalimetall- und Erdalkalimetall-Ionen wurde in Flüssigmembran-Systemen nachgewiesen und auch eine schwache Wirkung in Experimenten mit Vesikeln gefunden.

Die Rekonstitution des postulierten Komplexes aus Oligomeren der 3-HB und Calciumpolyphosphat oder die Isolierung des Polyphosphates aus kompetenten Mikroorganismen gelangen nicht, allerdings konnte ein 3-HB-Oligomer aus genetisch kompetenten *Escherichia coli* isoliert und  $^1\text{H-NMR}$ -spektrometrisch nachgewiesen werden, die Kettenlänge konnte gelchromatographisch und die absolute Konfiguration der Monomereinheiten gaschromatographisch bestimmt werden.

## II Summary

Deduced from experimental results and from molecular modeling studies *R.N. Reusch* postulated a non-proteinogenic ion channel for the transport of calcium and phosphate ions across cell membranes, which might also be responsible for the transport of DNA into competent bacteria. The modeling of the complex yielded a structure built of an inorganic polyphosphate, containing 130 to 170 phosphate units, which is wrapped by an oligomer of (*R*)-3-hydroxybutanoic acid with a chain length of 120 to 200 units. The structure is stabilized by calcium ions, which are a) counterions for the polyphosphate and are b) complexed to the carbonyl oxygens of the polyester.

In order to learn more about structure and function of this complex the interactions of poly[(*R*)-3-hydroxybutanoic acid] (P(3-HB)) or suitable model compounds with alkali- and alkaline earth metal salts were investigated.

It was possible to obtain oligo(3-HB) of different average chain lengths by partial depolymerisation of the commercially available, high molecular weight P(3-HB). Pyrolysis or degradation with bases gave oligomers carrying a crotonic acid end group; a method for removal of this end group was found. A rather astonishing explanation for the unusual product distribution obtained by partial degradation of P(3-HB) with lithium amid bases at low temperature was also found. Oligomers with a free HO-endgroup could be obtained by acid catalyzed partial degradation, the acid end group was either free or esterified.

For the analysis of the 3-HB oligomer mixtures the MALDI-MS methode proved to be a valuable tool; a comparison with gel permeation chromatography showed that both methods yield, although with some limitations, similar results.

Complexes of the cyclic trimer of (*R*)-3-hydroxybutanoic acid with sodium-, potassium- and barium thiocyanate could be crystallized to yield single crystals suitable for X-ray structure determination. Furthermore an ionophoric activity of 3-HB

derivatives for alkali- and alkaline earth metal salts was demonstrated by bulk liquid membrane experiments; a rather small effect was also found in vesicle systems.

However, the postulated complex could not be reconstituted from 3-HB oligomers and calcium polyphosphate, and all attempts to isolate the polyphosphat component from genetically competent *Escherichia coli* failed, although it was possible to isolate an oligomeric 3-HB from the competent microorganisms and detect it by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. The chain length was determined gelchromatographically and the absolute configuration of the monomer units was determined by gas chromatography.