

Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung

PHASENVERHALTEN VON POLYPEPTID-BLOCKCOPOLYMEREN

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

in der Wissenschaftsdisziplin Physikalische Chemie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Potsdam

von

Magdalena Losik

geboren am 04.04.1970 in Elblag/Polen

Potsdam im Mai 2004

Beobachte und lerne.

Für meinen Vater

INHALTVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	2
2.1	Blockcopolymere.....	2
2.2	Phasenverhalten.....	3
2.2.1	Bulkphasen von Blockcopolymeren.....	4
2.2.2	Phasenverhalten in verdünnter Lösung	7
2.2.3	Lyotrope Phasen	11
2.2.4	Thermotrope Phasen.....	12
2.3	Polypeptide.....	16
2.4	Anionische Polymerisation.....	18
2.5	NCA-Polymerisation	20
3	Charakterisierungsmethoden	23
3.1	Polymercharakterisierung.....	23
3.1.1	Gelpermeationschromatographie (GPC)	23
3.1.2	Bestimmung des Blocklängenverhältnisses aus NMR.....	27
3.1.3	Zirkulardichroismus (CD).....	27
3.2	Mikroskopie.....	30
3.2.1	Polarisationsmikroskopie	31
3.2.2	Rasterkraftmikroskopie (AFM).....	32
3.3	Streumethoden.....	34
3.3.1	Dynamische lichtstreuung (DLS).....	34

3.3.2	Statische Lichtstreuung (SLS).....	37
3.3.3	Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS).....	39
4	Synthese und Charakterisierung der Polypeptid-Blockcopolymeren.....	44
4.1	Makroinitiatoren.....	44
4.2	Blockcopolymeren.....	47
4.3	Entfernung der Peptidschutzgruppen.....	51
5	Festphasenstruktur.....	54
5.1	Einfluss der Polydispersität auf die Mesophasen.....	56
5.2	Einfluss der Chiralität der Mesogene auf die Mesophasen.....	64
5.2.1	Phasenverhalten in Bulk.....	66
5.2.2	Mesophasen in dünnen Filmen.....	72
6	Aggregationsverhalten in verdünnter Lösung.....	78
6.1	Selbstorganisation in organischen Lösemitteln.....	78
6.2	Selbstorganisation in wässrigen Lösungen.....	87
7	Zusammenfassung und Ausblick.....	96
8	Anhang.....	99
8.1	Experimentelle Vorschriften.....	99
8.2	Methoden.....	105
8.3	Abkürzungsverzeichnis.....	108
9	Danksagung.....	110
10	Literaturverzeichnis.....	112

1 EINLEITUNG

Selbstorganisation und Strukturbildung sind charakteristische Eigenschaften von Vielteilchensystemen. Die dabei geltenden Ordnungsprinzipien und Naturgesetze sind erst in den letzten Jahrzehnten erkannt und zum Teil verstanden worden. Einen überwältigenden Reichtum an Formen der Selbstorganisation findet man in der Natur. Ausgehend von der molekularen Ebene (Proteinfaltung, enzymatische Prozesse, etc.) über molekulare Motoren (Myosin und Actin bei der Muskelbewegung), bis hin zur Selbstorganisation lebender Organismen, z.B. in Bakterien- und Ameisenkolonien oder Vogel- und Fischeschwärmen („Biomimetik“ oder „Bionik“). Der Mensch macht sich diese Prinzipien zu Nutze und versucht die Natur nachzubilden. Die Liposomen, sich spontan bildende Sphären aus Doppelschichten, entsprechen dem Modell einer lebenden Zelle und werden dazu genutzt, Arzneimittel in den Körper zu transportieren (*drug carrier*). Durch die weitere Forschung auf diesem Gebiet, wird es wohl möglich sein, immer bessere, intelligenteren Werkstoffe durch Selbstorganisation herzustellen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Selbstorganisationsprozesse von Blockcopolymeren auf Polypeptidbasis. Von besonderem Interesse sind hier die Entmischungsphänomene aufgrund der chemischen Unverträglichkeit in fester Phase und die Aggregationszustände in verdünnter Lösung wegen unterschiedlicher Löslichkeit beider Blöcke. Kristallisationsprozesse der formanisotropen Elemente und zwischenmolekulare Dipol-Dipol-Wechselwirkungen sollen die Phasenbildung maßgeblich beeinflussen und neue Erkenntnisse über das Phasenverhalten der hier untersuchten sog. Stäbchen-Knäuel-Blockcopolymeren gewinnen lassen. Des Weiteren sollte die Schaltbarkeit der Aggregate durch Verändern der Sekundärstruktur des Peptids von Knäuel zu Helix untersucht werden.

2 GRUNDLAGEN

2.1 BLOCKCOPOLYMERE

Blockcopolymere sind Makromoleküle, die aus mindestens zwei verschiedenen, kovalent miteinander verknüpften Homopolymeren aufgebaut sind. Durch diese Verknüpfung können die Blockcopolymere, im Vergleich zu den sie bildenden Homopolymeren, ein völlig neues Eigenschaftsprofil aufweisen. Je nach Molekülarchitektur kann zwischen linearen (Zwei-, Drei-, Multiblockcopolymere), verzweigten (Stern- und Propfblockcopolymere), zyklischen, hantelförmigen und Leiterblockcopolymeren unterschieden werden. Aufgrund des unterschiedlichen chemischen Charakters der Komponenten sind Blockcopolymere amphiphil. Das bedeutet, dass die Blöcke unterschiedliche Löslichkeitseigenschaften aufweisen, wobei im Extremfall ein Block hydrophob und der andere hydrophil ist. Dadurch sind sie in der Lage, die Grenzfläche zwischen Materialien verschiedener Kohäsionsenergie: Öl/Wasser (Emulsion), Polymer/Polymer, Metall/Polymer (Blends) und Öl/Luft (Schäume, Aerosole) zu stabilisieren.

Die Asymmetrie in der Blockcopolymerkette muss nicht nur auf das chemische Potential bezogen sein, sondern auch auf andere physikalische Eigenschaften wie z.B. Härte, Zähigkeit, Steifigkeit, Dipolmoment, Ladungsdichte oder Konformation. Die Blocklängen und Blocklängenverhältnisse bestimmen unter gegebenen Bedingungen zusätzlich das Verhalten der Ketten.

Für die Herstellung von Blockcopolymeren sind in der Literatur zahlreiche Synthesewege beschrieben, die sich jedoch im wesentlichen auf zwei Methoden zurückführen lassen. Kompliziertere Strukturen lassen sich durch Kombination verschiedener Methoden realisieren. Zum einen durch sequentielle Monomeraddition, dabei führt ein monofunktionaler Polymerisationsstart zu AB- ABA- oder ABC-Strukturen, ein

bifunktionaler Polymerisationsstart gestattet die ABA- oder CBABC-Anordnung und ein multifunktionaler Propfcopolymere. Der zweite Weg ist die Kopplung von Homo- oder Blockcopolymeranionen unter Bildung von Blockpolymeren.

Der kontrollierte, sequentielle Weg der Polymerisation erfolgt durch lebende Polymerisationsverfahren: anionische^{1,2}, kationische²⁻⁵, radikalische^{6,7} und koordinative.^{8,9}

2.2 PHASENVERHALTEN

Unter dem Begriff Selbstorganisation versteht man in der Chemie die Fähigkeit des Systems, aus den einzelnen Komponenten durch nichtkovalente Kräfte spontan definierte Strukturen zu bilden. Die Stoffgruppen, die sich unter gegebenen Bedingungen so verhalten, nennt man Flüssigkristalle und deren geordnete Zustände flüssigkristalline Phasen oder Mesophasen. Der Ordnungszustand solcher Phasen liegt zwischen dem der isotropen Flüssigkeit und dem der Kristalle. Eine Unterscheidung der Mesophase von der isotropen Flüssigkeit ist relativ leicht, da eine strukturelle Nahordnung in Flüssigkristallen vorhanden ist. Das Differenzieren zwischen Kristallen und Mesophasen kann problematisch sein. Generell liegt im Kristall eine Orientierungs- und Positionsfernordnung der Gitterbausteine vor, im Flüssigkristall aber nur eine Orientierungsfernordnung und eine reduzierte oder komplett verschwundene Positionsfernordnung. Es wird prinzipiell zwischen zwei Arten von Flüssigkristallen unterschieden, den thermotropen und den lyotropen. Thermotrope Flüssigkristalle bilden bei Temperaturänderung flüssigkristalline Phasen aus, während lyotrope durch Konzentrationsänderung die Mesophasen zeigen. Zwischen diesen beiden Grenzfällen existiert ein Übergangsbereich, in dem sich beide Phänomene überlagern. Da die hier untersuchten Blockcopolymeren als lyotrope Flüssigkristalle auch thermotrope Komponenten beinhalten (amphotrope Flüssigkristalle), soll auf beide Grenzfälle der Systematik von Flüssigkristallen kurz eingegangen werden. Im folgenden werden auch die Entmischungsphänomene in der festen Phase und das Aggregationsverhalten in verdünnten Lösungen besprochen.

2.2.1 BULKPHASEN VON BLOCKCOPOLYMEREN

Die Mikrophasenseparation von Knäuel-Knäuel-Blockcopolymeren in der Schmelze ist durch die Existenz von kurzreichweitigen Anziehungs- und langreichweitigen Abstoßungskräften bedingt. Während die Inkompatibilität der Blöcke zur Phasenseparation führt, gestattet die kovalente Bindung zwischen zwei Komponenten die Entmischung nur auf der Moleküllängenskala (5-100 nm). Nach Bates und Fredrickson^{10,11} hängt die Phasenseparation der AB-Blockcopolymeren von dem Polymerisationsgrad $N=N_A+N_B$, der Zusammensetzung $f=N_A/N$ und dem Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameter χ zwischen den beiden Komponenten A und B ab, der wie folgt definiert ist:

$$\chi = \frac{Z}{k_B T} \left[\varepsilon_{AB} - \frac{1}{2} (\varepsilon_{AA} + \varepsilon_{BB}) \right] \quad \text{Gl. 2.2-1}$$

ε_{AB} beschreibt die Wechselwirkungsenergie zwischen jeweils zwei benachbarten Monomeren und Z ist die Anzahl der nächstliegenden Monomere in der Copolymeranordnung. Da der Wechselwirkungsparameter χ umgekehrt proportional zur Temperatur T ist, steigt der Grad der Entmischung mit sinkender Temperatur. Zusätzlich ist die Mischungsentropie einer Homopolymerkette kleiner als die der einzelnen Monomere in der gleichen Umgebung. Dies führt dazu, dass selbst wenn die Monomere beider Blöcke mischbar sind, die Homopolymere mit steigendem Polymerisationsgrad zur Phasenseparation neigen. Somit ist die Thermodynamik der Phasenseparation überwiegend durch zwei Beiträge beeinflusst. Die Änderung der freien Energie setzt sich additiv aus der abstoßenden Wechselwirkung F_χ zwischen den beiden Blöcken und dem Entropieverlust F_N durch die Streckung der Polymerketten als Folge der Mikrophasenseparation zusammen:

$$\Delta F = F_\chi(\chi) + F_N(N) \quad \text{Gl. 2.2-2}$$

Die Tendenz zur Mikrophasenseparation ist durch das Verhältnis des enthalpischen $F_\chi \sim \chi$ und des entropischen $F_N \sim 1/N$ Beitrages bestimmt. Das heißt, der Parameter χN charakterisiert und klassifiziert die thermodynamischen Segregationsbereiche eines Systems. Nach Leibler¹² kann die Abhängigkeit der Segregationsparameter χN in Abhängigkeit von der

Zusammensetzung des Blockcopolymeres f in Form eines Phasendiagramms dargestellt werden. Matsen und Bates^{13,14} haben so ein theoretisches Diagramm berechnet (Abbildung 2-1).

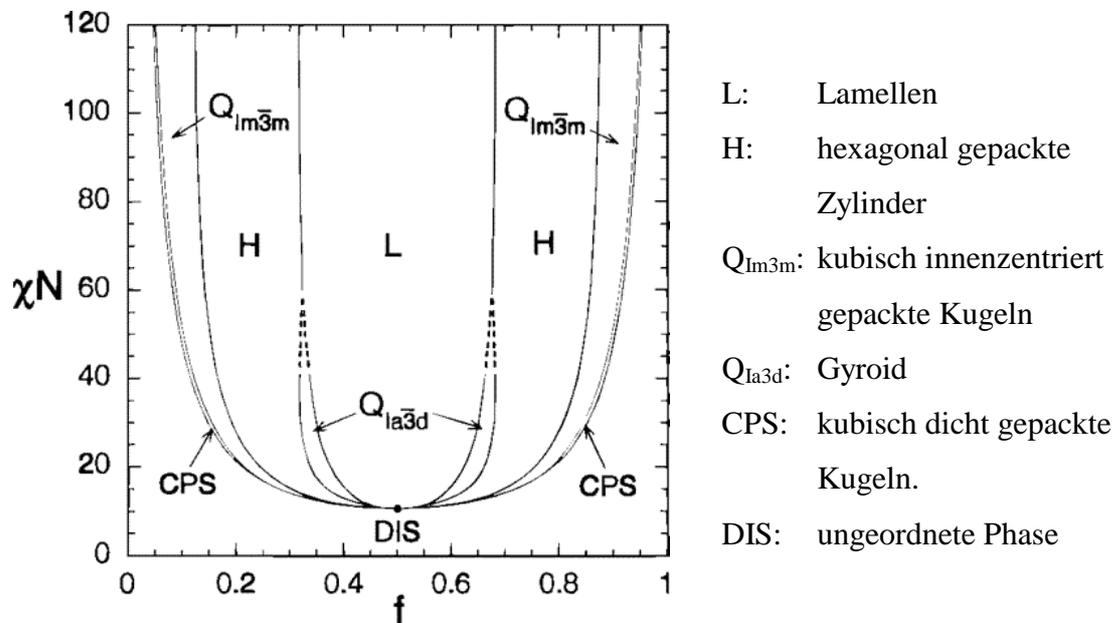


Abbildung 2-1 Berechnetes Phasendiagramm nach MATSEN und BATES

Die Mikrophasenentmischung bei Diblockcopolymeren ist in vier Bereiche eingeteilt. Bei niedrigen χN -Werten (1-10) liegt eine homogene Schmelze vor, bei $\chi N = 10$ bis 20 folgt der Bereich der schwachen Entmischung (*weak segregation limit*, WSL), der durch einen breiten Übergang zwischen den Phasen charakterisiert ist. Mit steigenden χN -Werten wird der Phasenübergangsbereich immer „schmäler“ und somit kommt man in den Bereich der starken (*strong segregation limit*, SSL) und super starken (*super-strong segregation limit*, SSSL) Entmischung, in dem die Grenzen aus einzelnen kovalenten Bindungen zwischen zwei Blöcken bestehen. Die entsprechende Dichteprofile sind in Abbildung 2-2 dargestellt.

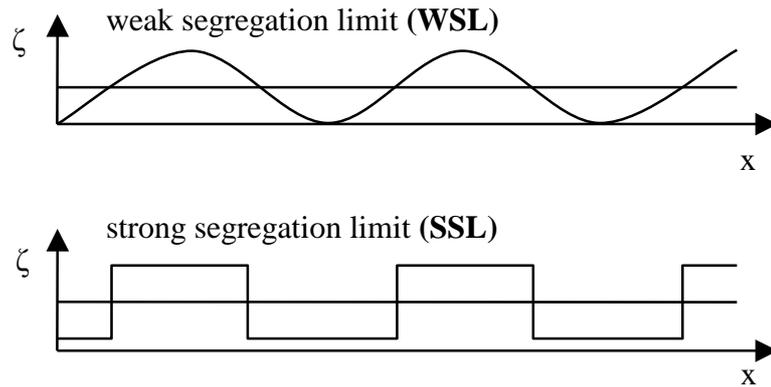


Abbildung 2-2 Verschiedene Dichteprofile (ζ) eines Zweiphasensystems

Die Morphologie der Phase hängt hauptsächlich vom relativen Platzbedarf (den Volumenanteilen) der Blöcke ab, zur Vereinfachung wird jedoch mit der Molfraktion f gearbeitet. Je nach Zusammensetzung des Moleküls, verändert sich die Krümmung zwischen den Domänen, und es bilden sich lamellare, zylindrische und kugelförmige Strukturen. Neben diesen thermodynamisch stabilen Strukturen existieren metastabile Phasen wie z.B. perforierte Lamellen und Gyroide. Einige von den Morphologien sind in der Abbildung 2-3 dargestellt.

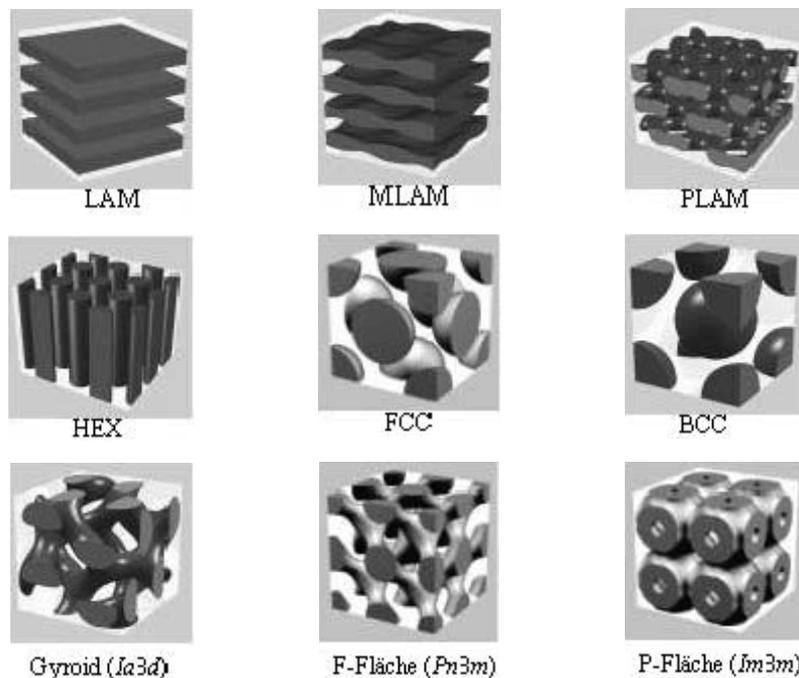


Abbildung 2-3 Selbstorganisationstrukturen von Blockcopolymeren Schichtstrukturen glatte (LAM), ondulierte (MLAM) und perforierte (PLAM) Lamellen, hexagonal gepackte Zylinder (HEX), kubisch gepackte Kugeln (FCC und BCC), Minimalflächen (Gyroid, F-Fläche, P-Fläche)¹⁵

Die aufgrund der Phasentrennung entstehenden Regime haben eine charakteristische Größe R , die wegen der Raumfüllung von der Aggregationszahl Z (Anzahl der Blockcopolymere pro Einheitsvolumen einer Mikrodomäne) und dem Gesamtpolymerisationsgrad N abhängig ist.¹⁶ Die typischen Zusammenhänge sind in Tabelle 2.2-1 zusammengefasst.

Tabelle 2.2-1 Abhängigkeit der Mikrostrukturgröße R und der Aggregationszahl Z vom Polymerisationsgrad N für die unterschiedlichen Segregationsbereiche.

χN	Segregationsbereich	Mikrostrukturgröße R	Aggregationszahl Z
≈ 10	WSL	$R \sim N^{1/2}$	$Z \sim N^{1/2}$
$\gg 10$	SSL	$R \sim N^{2/3}$	$Z \sim N$
$\gg 100$	SSSL	$R \sim N$	$Z \sim N^2$

2.2.2 PHASENVERHALTEN IN VERDÜNNTER LÖSUNG

Wie schon erwähnt, bilden amphiphile Knäuel-Knäuel-Blockcopolymere im selektiven Lösungsmittel Aggregate, deren Morphologie mit der Molekülarchitektur, der Molekülmasse, der Konzentration des Amphiphils, dem Charakter des Lösungsmittels und der Temperatur zusammenhängt. In Lösung kommt es aufgrund unterschiedlicher Löslichkeit beider Blöcke zur Bildung von kugelförmigen und zylindrischen Mizellen oder Vesikeln.



Abbildung 2-4 Aggregationsstrukturen von amphiphilen Blockcopolymeren in verdünnter Lösung.

Jedes der in Abbildung 2-4 gezeigten Aggregate wird charakterisiert durch eine streng definierte Krümmung der Grenzfläche zwischen den Komponenten. Diese ist durch eine mittlere Krümmung H und eine Gauß'sche Krümmung K beschreibbar, und es gilt:

$$H = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad \text{Gl. 2.2-3}$$

$$K = \frac{1}{R_1 R_2} \quad \text{Gl. 2.2-4}$$



Abbildung 2-5 Geometrische Größen. Mittlere und Gauß'sche Krümmung.

Die Krümmung der Grenzfläche ist wiederum direkt mit dem Packungsparameter des Moleküls gekoppelt, der durch das Volumen des hydrophoben Teils v , der Kettenlänge senkrecht zur Grenzfläche l und der Fläche zwischen beiden Komponenten pro Blockcopolymer a definiert ist¹⁷:

$$P = \frac{v}{al} = 1 + Hl + \frac{Kl^2}{3} \quad \text{Gl. 2.2-5}$$

Die Zusammenhänge zwischen Geometrie, Packungsparameter P und der Krümmung sind in der Tabelle 2.2-2 zusammengestellt.

Tabelle 2.2-2 Zusammenhänge zwischen der Morphologie der Aggregate und dem Packungsparameter P .

Geometrie	Packungsparameter P	H	K
Sphäre	1/3	1/R	1/R ²
Zylinder	1/2	1/(2R)	0
Flache Grenzfläche	1	0	0

Mizellen entstehen durch spontane Bildung eines Mizellkerns aus dem unlöslichen Block A, der durch eine Korona aus der löslichen Komponente B umhüllt ist. Je nach Längenverhältnis beider Blöcke kann zwischen zwei Fällen unterschieden werden: „haarigen“ Mizellen (*hairy micelles*) für $N_A \ll N_B$, und sogenannten „kurzgeschorenen“ Mizellen (*crew cut micelles*) für den umgekehrten Fall. Die dritte Klasse von Mizellen sind sog. amphiphile Mizellen, die durch einen großen Flory-Huggins-Parameter charakterisiert sind. Der Zusammenhang zwischen der Mizellengröße R sowie der Aggregationszahl Z mit dem Polymerisationsgrad N ist in Tabelle 2.2-3 zusammengefasst.

Tabelle 2.2-3 Skalierungsverhalten für verschiedene Mizelltypen (N_A – Polymerisationsgrad).

Mizelltyp	Radius R	Aggregationszahl Z
hairy	$R \sim N_A^{3/5}$	$Z \sim N_A^{4/5}$
crew cut	$R \sim N_A^{2/3}$	$Z \sim N_A$
amphiphilic	$R \sim N_A$	$Z \sim N_A^2$

Förster *et al.*¹⁵ hat für stark segregierende Systeme ein Skalierungsgesetz postuliert, das die Zusammenhänge zwischen den Polymerisationsgraden der einzelne Blöcke N_A und N_B , dem Packungsparameter sowie dem Wechselwirkungsparameter χ und der Aggregationszahl Z der Mizelle beschreibt.

$$Z = Z_0 N_A^2 N_B^{-0.8} \quad \text{Gl. 2.2-6}$$

$$\text{mit } Z_0 = 36 \cdot \pi N_B^{6\varepsilon} \left(\frac{V}{al} \right)^3 \quad \text{Gl. 2.2-7}$$

Da für viele Systeme Z_0 bekannt ist¹⁸, ist es möglich, durch gezielte Blocklängeneinstellung eine erwünschte Größe der Aggregate einzustellen.

Die Bildung von Vesikel kann als Zwei-Schritte-Mechanismus erfasst werden (Abbildung 2-6).¹⁹ Zuerst bildet sich eine Doppelschicht (engl.: *bilayer*), die „sich biegt“ und dann zu einer hohlen Sphäre schließt.

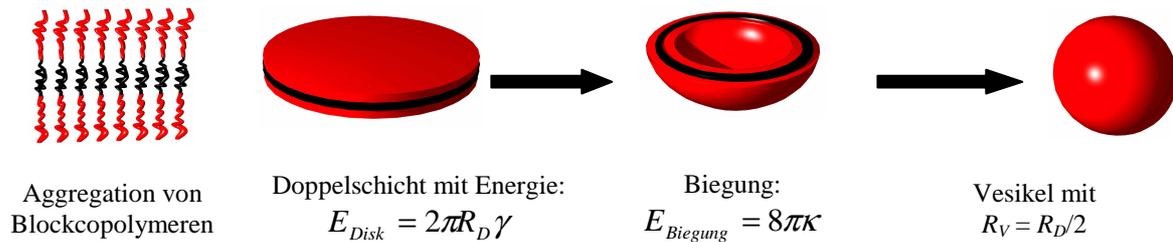


Abbildung 2-6 Vesikelbildungsmechanismus¹⁹

Die planare Schicht aus parallel angeordneten Molekülen besitzt entlang des Randes eine Linienenergie E_{Disk} , die vom Umfang des Randes (minimales Fläche/Rand Verhältnis ist bei einer Scheibe gegeben) und der Linienspannung γ abhängig ist:

$$E_{Disk} = 2\pi R_D \gamma \quad \text{Gl. 2.2-8}$$

Bei der Biegung einer Fläche muss ein Energiebeitrag $E_{Biegung}$ aufgebracht werden, der direkt mit der Elastizität der Membran verknüpft ist:

$$E_{Biegung} = 8\pi\kappa \quad \text{Gl. 2.2-9}$$

κ ist das Biegemodul, das stoffspezifisch ist. Es kann also nur dann zum Schließen einer flachen Lamelle kommen, wenn ihre Fläche so groß ist, dass der Energieverlust durch die Spannungseffekte für das System günstig ist. Bei gegebener Fläche ist der Scheibenradius R_D zwei mal so groß wie der Kugelradius R_V , somit ist der minimale Radius des Aggregates gegeben durch das Verhältnis:

$$R_V = \frac{2\kappa}{\gamma} \quad \text{Gl. 2.2-10}$$

Dies bedeutet, dass die Vesikel um so leichter gebildet werden, je niedriger das Biegeelastizitätsmodul κ und je größer die Grenzflächenspannung ist. Thermodynamisch stabile (Gleichgewichts-) Aggregate entstehen, wenn der Entropieverlust beim Anordnen der Moleküle, der mit der Aggregationszahl steigt, durch die molare Biegeenergie, die

umgekehrt proportional zur Aggregationszahl ist, ausgeglichen wird. Da die Löslichkeit der Amphiphile meistens sehr niedrig ist und dadurch keine Gleichgewichtstrukturen gebildet werden können, ist der Herstellungsweg ein zusätzlicher Faktor, der die Größe der Aggregate beeinflusst.

2.2.3 LYOTROPE PHASEN

Durch Aufkonzentrieren einer verdünnten Lösung zwingt man die Aggregate, sich zueinander anzuordnen und sog. lyotrope Flüssigkristalle zu bilden. Die lyotropen Phasen von amphiphilen Blockcopolymeren sind noch relativ wenig erforscht, und die Nomenklatur orientiert sich weitgehend an dem Phasenverhalten von niedermolekularen Tensiden. In Abbildung 2-7 ist ein theoretisches Phasendiagramm eines Tensid-Wasser Systems gezeigt.

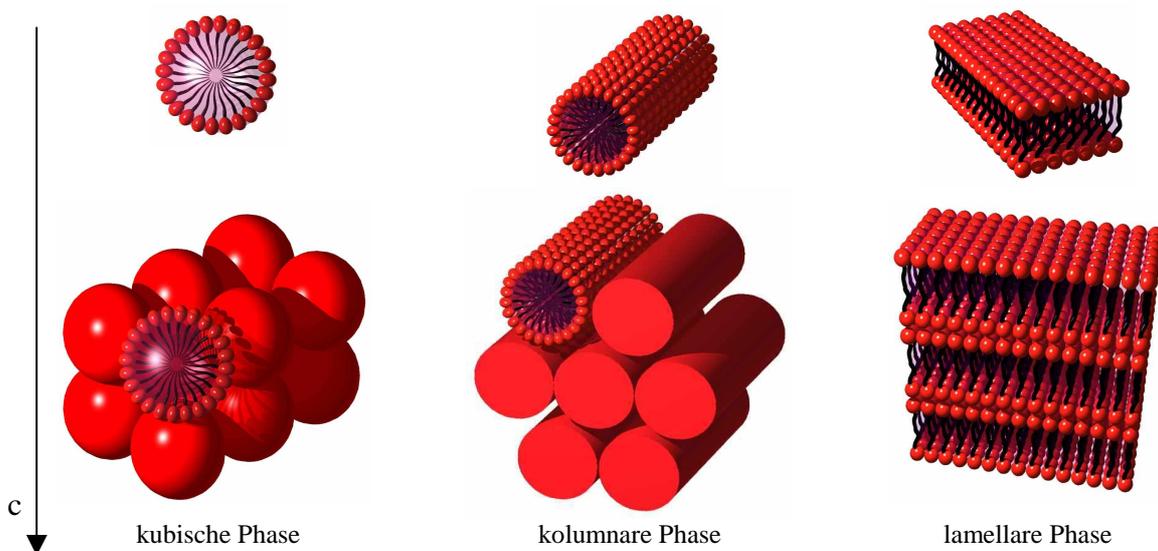


Abbildung 2-7 Lyotrope Phasen eines Tensid-Wasser Systems (c = Konzentration).

Die so entstandene Ordnung ist der in der Bulkphase ähnlich. Die kugelförmigen Mizellen bilden zunächst kubische Phasen (raum- (bcc) oder flächenzentriert (fcc)), die zylindrischen Mizellen ordnen sich entlang ihrer Längsachsen zu einer hexagonalen Phase und die lamellare Phase entsteht aus doppelschichtigen Aggregaten. Zwischen den klassischen Phasen existieren, so wie in der Schmelze, bikontinuierliche Strukturen, die als durchgehendes

Netzwerk angesehen werden können und ähnlich wie kubische Phasen optisch isotrop sind. Die Phasenübergänge sind außer von der Konzentration auch von der Molekülgeometrie und der Molekülmasse, vom Lösungsmittel und von der Temperatur abhängig.

2.2.4 THERMOTROPE PHASEN

Die thermotropen flüssigkristallinen Phasen sind temperaturabhängig und existieren nur im Temperaturbereich zwischen isotroper Schmelze und festem Zustand. Der Ordnungsgrad in der Phase sinkt stufenweise mit steigender Temperatur, so dass innerhalb des flüssigkristallinen Zustands Phasenübergänge stattfinden. Eine Voraussetzung für die Bildung thermotroper Phasen ist die Existenz formanisotroper Moleküle, die als Mesogene bezeichnet werden. Diese Mesogene können aufgrund ihrer Geometrie in stäbchenförmige (stabförmige), diskotische (scheibenförmige), sanidische (brettförmige) und bananenförmige unterteilt werden. Thermotrope Flüssigkristalle können unterschiedliche Mesophasen ausbilden, deren Unterscheidung sich aus der Art und dem Umfang der Positionsordnung und der Lage der Moleküle in den Schichten ergibt (Abbildung 2-8).

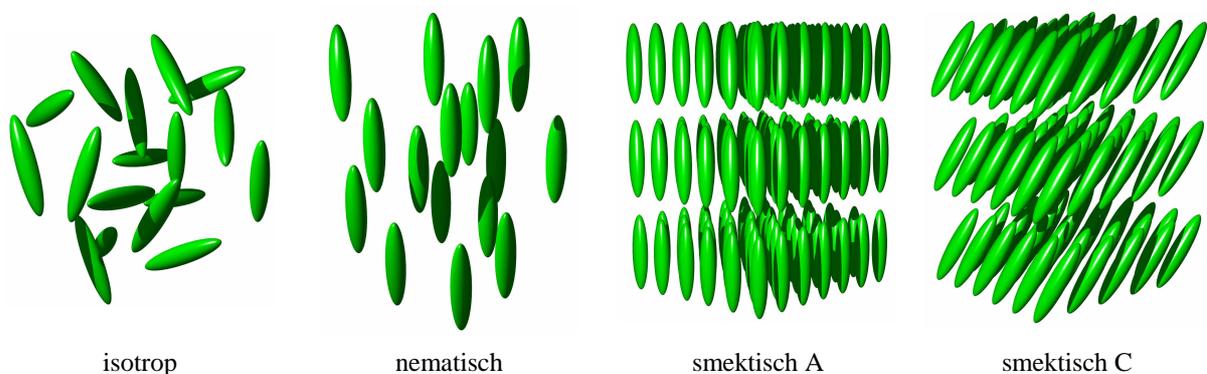


Abbildung 2-8 Schematische Darstellung isotroper, nematischer (N), smektischer A (SmA) und smektischer C (SmC) Phase.

In nematischen Phasen richten sich die stäbchenförmigen Moleküle mit ihrer Längsachse entlang einer lokalen Vorzugsrichtung, des sog. Direktors n , aus. In der smektischen Phase ist eine zusätzliche Anordnung der Mesogene in Schichten zu beobachten. Der Ordnungsgrad ist hier entsprechend höher. Die Moleküle können innerhalb der Schicht senkrecht zur Phasengrenze stehen (SmA) oder unter einem Kippwinkel geneigt sein (SmC). Die

Ausrichtung der Molekülachsen kann von Schicht zu Schicht unterschiedlich sein, beispielsweise alternierend. Da polare Moleküle ein permanentes Dipolmoment besitzen, kann eine damit verbundene polare Asymmetrie zu Modifikationen der Struktur der SmA- und SmC-Phase führen. Neben der normalen Struktur SmA₁ mit antiparalleler Anordnung und Schichtdicke d , die der Länge der Moleküle l entspricht, treten noch Modifikationen vom Typ SmA_d und SmA₂ auf (Abbildung 2-9).

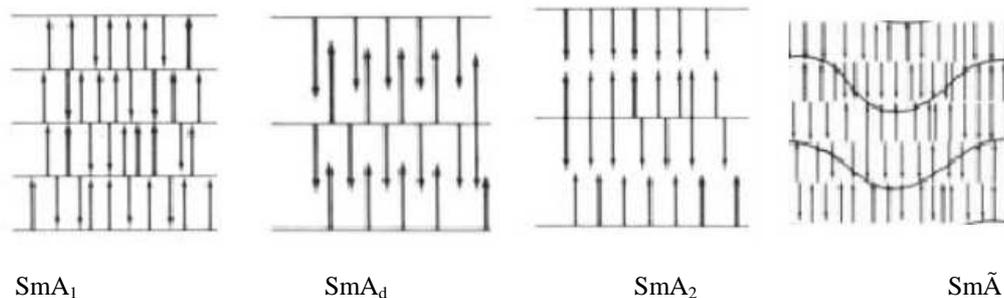


Abbildung 2-9 Schematische Darstellung der Strukturen der SmA-Phase, die bei polaren Verbindungen gefunden wurden.²⁰

Durch interdigitierende (SmA_d) oder *face-to-face* Anordnung (SmA₂) können Dipolmomente kompensiert werden.

Ein weiterer Faktor, der die Morphologie der Flüssigkristalle beeinflusst, ist die Chiralität. Chiral sind die Moleküle, die keine Spiegelebene, kein Inversionszentrum und keine Drehspiegelachse haben. Aufgrund der chiralen Elemente können helikale Überstrukturen induziert werden. Die Händigkeit dieser Phasen ist unmittelbar an die Händigkeit der chiralen Moleküle gekoppelt. Chirale Systeme können auf verschiedene Weise realisiert werden:

- Die Phase besteht ausschließlich aus chiralen Molekülen. Um eine makroskopische Chiralität beobachten zu können, ist ein Enantiomerenüberschuss erforderlich.
- Die Phase besteht weitgehend aus achiralen Molekülen und einer kleinen Menge eines chiralen Dotierstoffes. Dessen Chiralität überträgt sich bei Flüssigkristallen in Form helikaler Strukturen auf die ganze Phase.
- Die Probe besteht ausschließlich aus achiralen Bausteinen, die sich zu chiralen Aggregaten zusammenlagern. In diesen Fällen bilden sich chirale Domänen. Die Bilanz über alle Domänen oder Kristalle ergibt keine makroskopische Chiralität.

In Abbildung 2-10 sind die chiralen Phasen dargestellt. Sie werden mit (*) gekennzeichnet

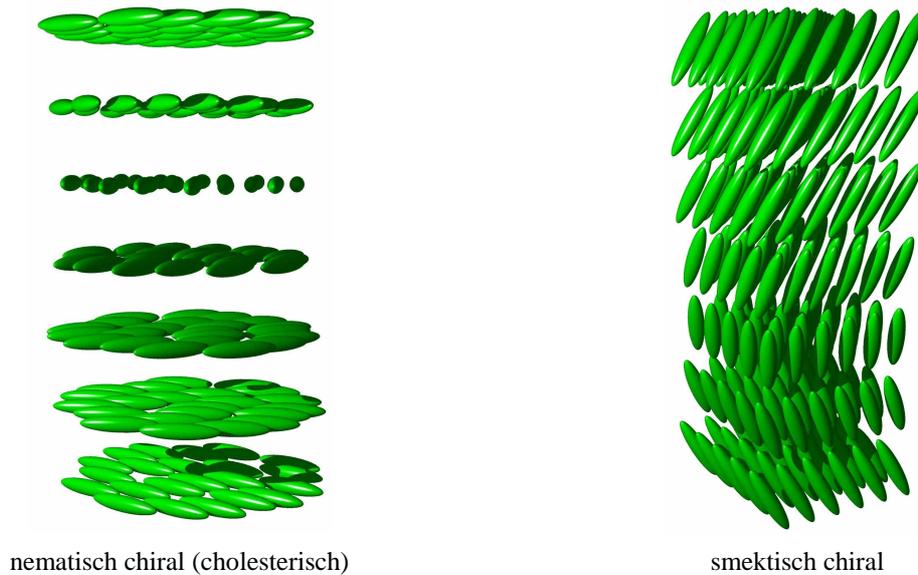


Abbildung 2-10 Schematische Darstellung chiraler Phasen: cholesterische Phase C^* (nematisch chiral) (links) und smektisch chirale Phase SmA^* (rechts)

Die chirale nematische Phase, auch cholesterische Phase genannt (C^*), hat innerhalb der Schichten eine Vorzugsrichtung. Jedoch die Orientierung der Mesogene ändert sich um einen bestimmten Winkel von Schicht zu Schicht. Innerhalb der chiralen smektischen Phase (Sm^*) ändert sich die Ausrichtung der unter dem Tiltwinkel zur Schichtebene geneigten Mesogene. So entstandene helikale Strukturen sind durch die Ganghöhe der Spirale charakterisiert. Eine andere Möglichkeit, die chirale Spannung innerhalb von Phasen auszugleichen ist die Bildung von sog. TGB-Phasen (engl.: *Twisted Grain Boundary*). In diesen Phasen sind die Mesogene parallel angeordnet (N) oder auch schichtweise (Sm), so dass die dichteste Packung der Moleküle gewährleistet ist. Die Orientierungsausrichtung der Mesogene ändert sich aber von Domäne zur Domäne um einen bestimmten Winkelbetrag, der für die Phase charakteristisch ist (Abbildung 2-11).

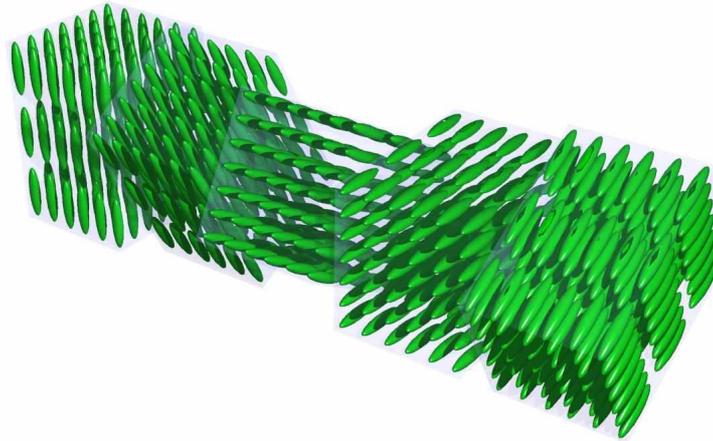


Abbildung 2-11 Schematische Darstellung der TGBA*-Phase.

Bei den klassischen flüssigkristallinen Verbindungen handelt es sich um niedermolekulare Substanzen. Aber auch Polymere können flüssigkristalline Phasen ausbilden (engl.: *liquid crystalline polymers, LCP`s*). Zu diesen Polymeren gehören Peptid²¹⁻²³ und Zellulosederivate^{24,25} sowie aromatische Polyamide²⁶, die sich aufgrund der Kettensteifigkeit in konzentrierten Lösungen zu Domänen organisieren. Thermotropes Verhalten im klassischen Sinne (Schmelze) können bei diesen Verbindungen nicht beobachtet werden, da die Schmelztemperatur oberhalb der Zersetzungstemperatur liegt. In den 70er Jahren wurden dann auch zunehmend thermotrope flüssigkristalline Polymere synthetisiert. Dabei folgte man dem Prinzip, niedermolekulare mesogene Einheiten über flexible Spacer²⁷ miteinander zu Hauptkettenpolymeren²⁸ zu verbinden oder die Mesogene wiederum über flexible Spacer als Seitenketten am Polymerrückgrat zu verankern.²⁹⁻³¹

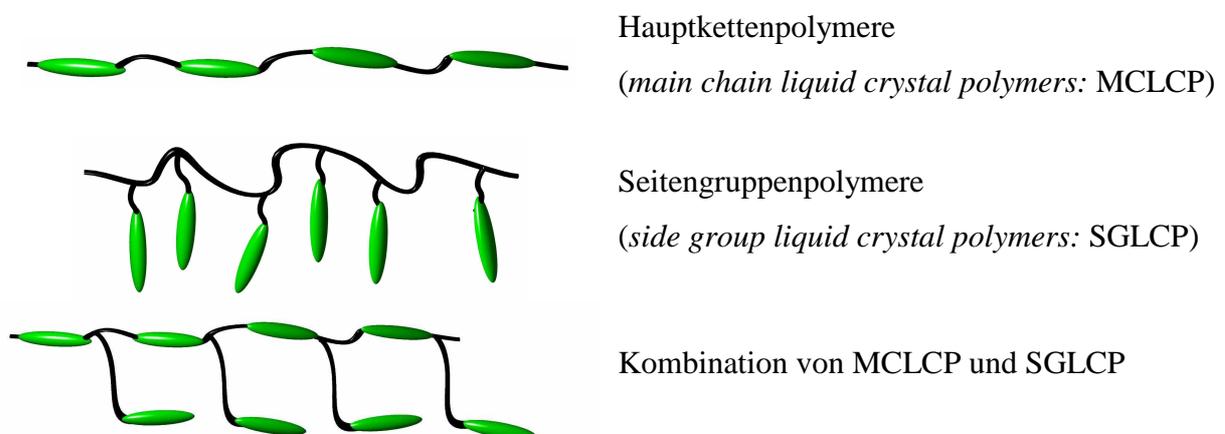


Abbildung 2-12 Arten von flüssigkristallinen Polymeren.

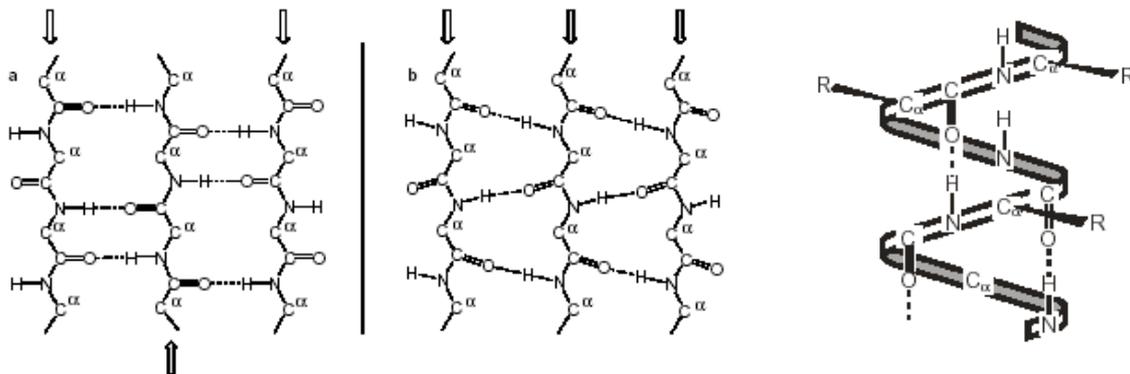


Abbildung 2-14 Sekundäre Strukturen eines Peptids: antiparalleles (links) und paralleles (Mitte) Faltblatt und Helix (rechts).

In der Faltblattstruktur sind die benachbarten Peptidketten parallel oder antiparallel angeordnet. Die helikale Struktur, die in der Natur am häufigsten vorkommt, ist die rechtsgängige α -Helix. Sie ist dadurch charakterisiert, dass zwischen jeder vierten Aminosäure Wasserstoffbrücken existieren und dass eine Windung aus 3,6 Monomeren gebildet wird (18₅-Helix: 18 Aminosäuren pro 5 volle Windungen). Die Ganghöhe dieser Helix beträgt, je nach Wechselwirkung zwischen übereinander liegenden Aminosäuren, 0,35-0,5 nm. Die Peptide in Helixkonformation besitzen ein von der Länge der Kette abhängiges Dipolmoment, das sich aus der Summe der einzelnen Dipolmomente (3,5 Debye je Peptidbindung)³³ ergibt (Abbildung 2-15).

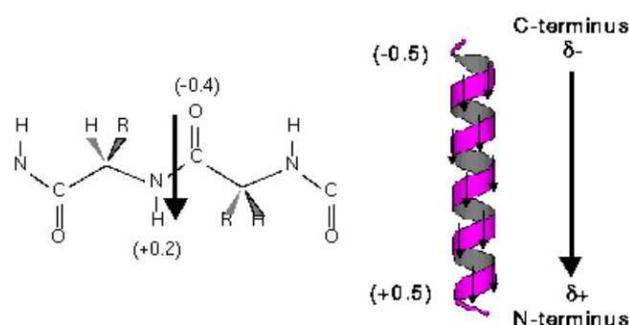


Abbildung 2-15 Dipolmoment der Peptidbindung und seine Ausrichtung in der Helix.

Weitere, weniger häufig auftretende, helikale Überstrukturen sind die linksgängige α -Helix, die π -Helix, die 3₈-Helix und die Kollagenhelix. Die weitere Faltung führt zur Ausbildung der tertiären Struktur, die durch Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren, die weit voneinander

entfernt sind, z.B. zu Fasern und globulären Proteinen, stabilisiert wird. Die räumliche Anordnung der Proteine untereinander ist als quartäre Struktur klassifiziert.

Da die sekundäre Struktur durch Wasserstoffbindungen stabilisiert wird, kann sie durch deren Zerstören zur Knäuelkonformation reversibel geschaltet werden. Dies kann durch das Erhöhen der Temperatur³⁴ oder den Einfluss stark saurer Lösungsmittel z.B. Dichloressigsäure oder Trifluoressigsäure, geschehen.³⁵ Bei ionischen Polypeptiden kann das durch Erhöhen des Ionisierungsgrades der Seitengruppen realisiert werden. Dabei sind es die abstoßenden elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren, die die Wasserstoffbrücken und damit die sekundäre Struktur destabilisieren.³⁶

Die in dieser Arbeit verwendeten Polypeptide besitzen keine primäre Struktur. Sie sind aus Aminosäuren einer Sorte aufgebaut und werden hier Homopolypeptide genannt. Neben den in der Natur vorkommenden Aminosäuren werden oft auch ihre Derivate zur Untersuchung eingesetzt, z.B. die Ester der Glutaminsäure.

2.4 ANIONISCHE POLYMERISATION

Die anionische Polymerisation wurde erstmals im Jahre 1956 von Schwarz^{37,38} beschrieben und ermöglicht die Synthese von Polymeren mit kontrollierten Molekulargewichten und engen Molekulargewichtsverteilungen.

Der Verlauf der anionischen Polymerisation kann in drei Schritte unterteilt werden: Initiierung, Kettenwachstum und Abbruch. Für den Idealfall einer „lebenden“ Polymerisation treten keine Kettenübertragungs- und Abbruchsreaktionen während des Kettenwachstums auf. Bei schneller Initiierung ergibt sich eine Reaktionskinetik pseudo-erster Ordnung bezüglich des Monomers.

Die Molmassenverteilung der auf diesem Weg hergestellten Polymere ist durch eine Poisson-Verteilung gegeben. Für die Polydispersität PDI gilt:

$$PDI = \frac{M_w}{M_n} = \frac{P_w}{P_n} \approx 1 + \frac{1}{P_n} \quad \text{Gl. 2.4-1}$$

für $P_n \gg 1$

Das Zahlenmittel des Polymerisationsgrades P_n ergibt sich aus dem Verhältnis der eingesetzten Monomermenge $[M]$ und der Anzahl der aktiven Zentren $[P^*]$ und ist proportional dem Umsatz x :

$$P_n = \frac{[M]}{[P^*]} x \quad \text{Gl. 2.4-2}$$

mit $[P^*] = f [I]_0$

Die Konzentration der aktiven Zentren ist durch die Anfangskonzentration des Initiators $[I]_0$ und dessen Effektivität f bestimmt.

Die anionische Polymerisation stellt folgende experimentelle Anforderungen: schnelle Initiierung, gute Vermischung der Reaktanden, Ausschluß von Verunreinigungen und Depolymerisationsprozessen. Nur unter diesen Bedingungen lassen sich Polymere mit sehr enger Verteilung (Poisson-Verteilung) herstellen.

Zu den anionisch polymerisierbaren Monomeren zählen Styrole, Diene, (Meth)acrylate, Epoxide, Lactone und cyclische Siloxane. Ob die Polymerisation lebenden Charakter hat, hängt von den gewählten Bedingungen ab: Initiator, Gegenion, Lösungsmittel, Temperatur und Zusatz von Additiven. Die Initiierung erfolgt in der Regel durch Metallalkyle (z.B. Butyllithium für Polystyrol und Polybutadien), Esterenolate, Amide (für Acrylate) oder Alkoholate (für Epoxide und Siloxane). Als Lösungsmittel eignen sich nur aprotische Lösungsmittel wie Kohlenwasserstoffe (Hexan, Cyclohexan, Benzol, Toluol) oder Ether (THF).

Aufgrund des lebenden Charakters der anionischen Polymerisation besteht die Möglichkeit, durch Abbruch mit Elektrophilen funktionelle Gruppen am Kettenende einzuführen. Solche ω -funktionellen Polymere sind interessant, da an den Kettenenden der Polymere definierte chemische Reaktionen stattfinden können. Man kann dann beispielweise die Polymere als Bausteine für eine weitere Polymerisation (Makroinitiatoren) verwenden.

Die anionische Herstellung von Blockcopolymeren erfolgt durch sequentielle Zugabe von verschiedenen Monomeren. Dabei muss die Nukleophilie der entsprechenden aktiven Zentren beachtet werden. Die folgende Reihe der Carbanionen nach pK_a -Wert gibt die Sequenzfolge der Monomeren an:³⁹

1,3-Butadien > Styrol > 4-Vinylpyridin > Methacrylate > Acrylate > Ethylenoxid

2.5 NCA-POLYMERISATION

Die ringöffnende Polymerisation von Aminosäure-N-Carboxyanhydriden ist die am häufigsten eingesetzte Technik zur Herstellung von (Homo)polypeptiden oder Polypeptidblockcopolymeren. Auf diese Weise sind synthetische Polypeptide zugänglich, die durch Festphasensynthese oder biotechnische Verfahren nicht hergestellt werden können.

Die Synthese des N-Carboxyanhydrids (NCA) - auch Leuchs' Anhydrid genannt - einer N-unsubstituierten α -Aminosäure kann auf zwei Wegen erfolgen. Bei der Leuchs-Methode⁴⁰⁻⁴² wird das Produkt durch Zyklisierung eines N-Alkoxy-carbonylamino-säurehalogenids erhalten. Die Fuchs-Farthing-Methode⁴³⁻⁴⁷ sieht die direkte Phosgenierung der freien α -Aminosäure oder derer Derivate vor. Dazu wird heutzutage statt gasförmigen Phosgens festes Triphosgen (Bis(trichloromethyl)carbonat) eingesetzt. Als Nebenprodukte entstehen Chlorwasserstoff, Chloroformyl-Aminosäure und α -Isocyanato-Säurechloride, die die nachfolgende Polymerisation stören können. Somit ist es erforderlich, das NCA durch mehrmalige Umkristallisation zu reinigen.

N-Carboxyanhydride der Aminosäuren besitzen vier mögliche Reaktionszentren (elektrophile Zentren C-5, C-2 und acide Zentren NH und C-4). Erwünscht ist nur der Angriff eines Nucleophils am C-5 Kohlenstoff. Dies führt dazu, dass während der Polymerisation mehrere Prozesse mit verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeiten zustande kommen können. Durch Einsatz bestimmter Initiatoren, meist Amine, ist es möglich den Verlauf der Reaktion zu steuern.⁴⁸

Der nukleophile Angriff am Carbonylkohlenstoff C-5 führt unter Ringöffnung zur Bildung einer Carbamat-Verbindung (Abbildung 2-16). Das Kettenwachstum kann nun auf zwei verschiedenen Wegen verlaufen. Beim Aminmechanismus entsteht durch direkte Abspaltung der Carboxylgruppe eine aktive Spezies, die weiter ein anderes NCA-Molekül nukleophil angreifen kann. Hierzu in Konkurrenz steht der Carbamat-Mechanismus. Im ersten Schritt entstandenes Carbamat kann ein weiteres NCA-Molekül anlagern. Das Entstehen des Carbamats und die Decarboxylierung sind Gleichgewichtsreaktionen und die Kettenfortpflanzung ist somit stark von den Reaktionsbedingungen (Temperatur, Lösungsmittel, CO₂-Druck) abhängig.

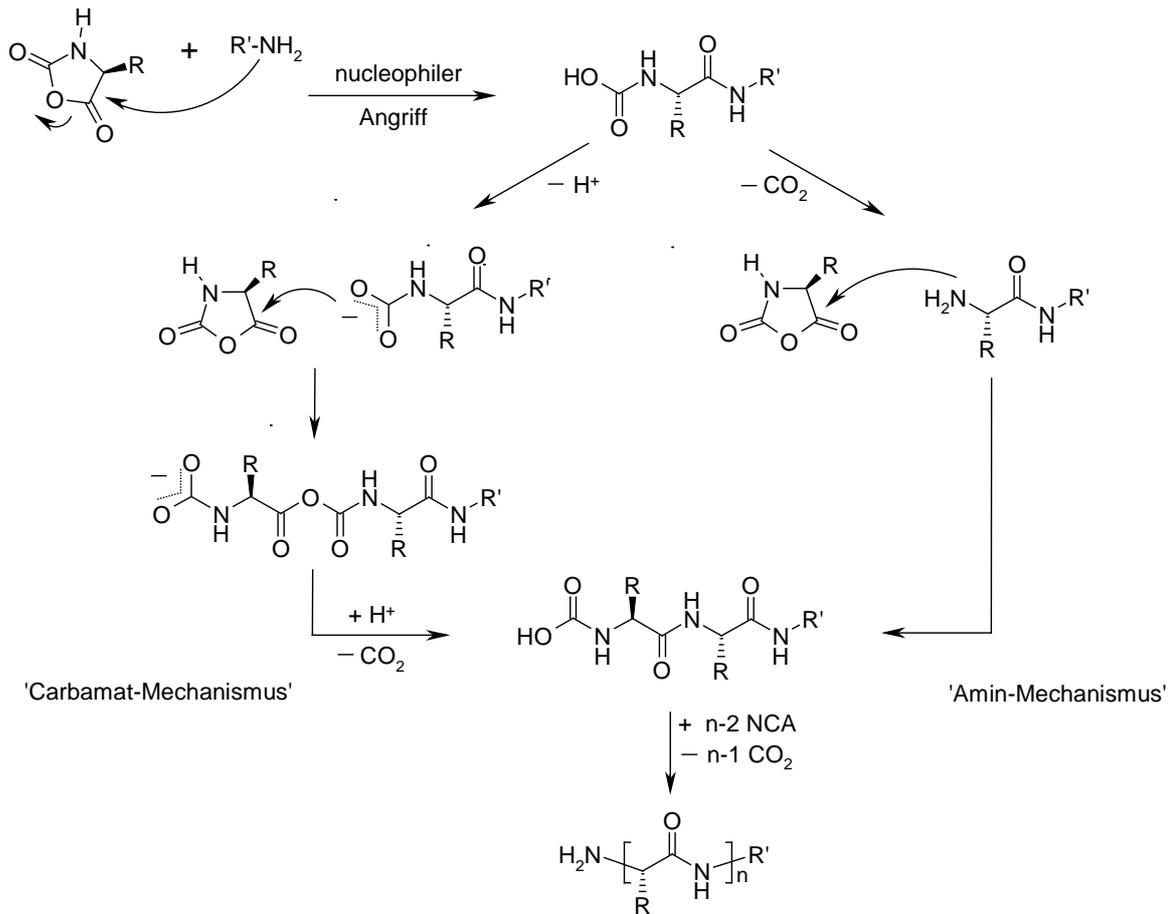


Abbildung 2-16 Reaktionsmechanismus der NCA-Polymerisation durch nukleophilen Angriff von primärem Amin via Carbamat- und Amin- Mechanismus

Während der Einsatz von primären Aminen durch nukleophilen Angriff nach Amin- bzw. Carbamat-Mechanismus verläuft, führen tertiäre Amine bevorzugt zum aktivierten Monomer (AM) Mechanismus.

Der Initiator fungiert hier als Base und die Deprotonierung der NH-Gruppe führt zur Bildung eines NCA-Anions. Dieses wirkt als Nukleophil und kann ein zweites NCA-Molekül angreifen und ein Dimer bilden, welches weiter nach dem Carbamat- oder Amin-Mechanismus reagieren oder polykondensieren kann.

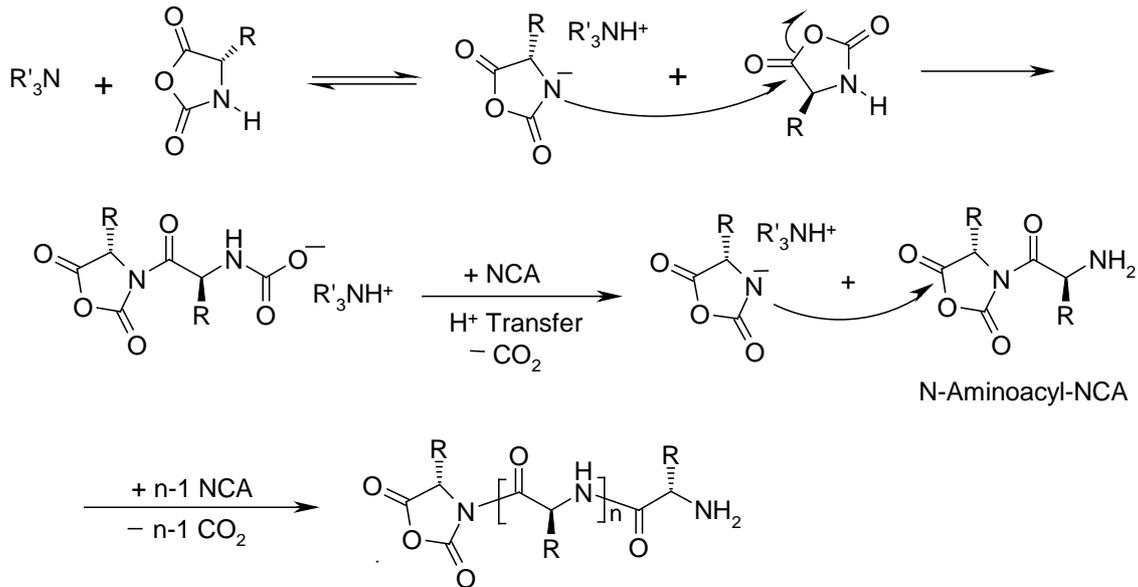


Abbildung 2-17 Reaktionsmechanismus der NCA-Polymerisation durch Deprotonierung der NH-Gruppe mit tertiären Aminen via aktiviertem Monomer (AM) Mechanismus

Die oben beschriebenen und in Konkurrenz zueinander stehenden Mechanismen führen zu breiten Molmassenverteilungen der Polypeptide. Deswegen wird versucht, den AM-Mechanismus zu unterdrücken und so die Kontrolle über den Verlauf der Polymerisation zu haben. Um enge Molekulargewichtsverteilungen zu erhalten, wurden Übergangsmetall-Amin-Komplexe als Initiatoren für eine koordinative Polymerisation eingesetzt.^{49,50} Vor kurzem wurde von Schlaad *et al.*⁵¹ über den Einsatz eines Amin-Hydrochlorides als Initiator berichtet, der die Synthese von Polypeptiden mit Poisson-Verteilung erlaubt (Abbildung 2-18). Durch Dissoziation der Ammoniumgruppe entsteht das primäre Amin, welches NCA anlagern kann. Die außerdem im Gemisch vorhandenen Protonen können eventuell gebildete NCA-Anionen reprotonieren und so den AM-Mechanismus unterdrücken.

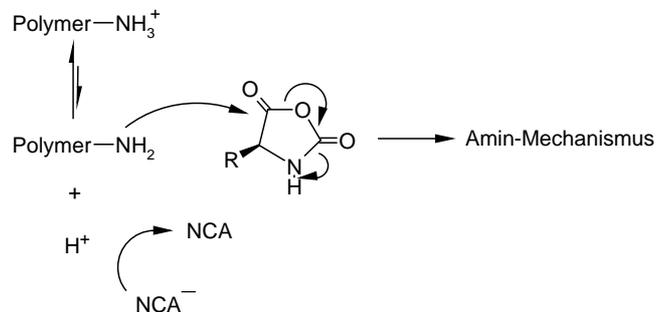


Abbildung 2-18 Reaktionsmechanismus der NCA-Polymerisation durch Initiierung mit Amin-Hydrochlorid via Aminmechanismus

3 CHARAKTERISIERUNGSMETHODEN

3.1 POLYMERCHARAKTERISIERUNG

3.1.1 GELPERMEATIONSSCHROMATOGRAPHIE (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie (GPC) oder Größenausschlusschromatographie ist die am weitesten verbreitete Methode zur Bestimmung von Molmassen und –verteilungen von Polymeren. Sie ist sowohl für die Untersuchung oligomerer als auch hochmolekularer Proben geeignet, es werden nur sehr geringe Probenmengen benötigt (< 2 mg), und die Analysenzeiten sind vergleichsweise kurz (2-60 min). Fraktioniert werden die Polymermoleküle in der GPC nach ihrem hydrodynamischen Volumen und nicht nach ihrer Molmasse. Die GPC ist demnach eine Relativmethode, und für die Übersetzung hydrodynamischer Volumina in Molmassen ist eine geeignete Kalibrierung erforderlich.

Die Trennung der Polymerketten erfolgt in einer mit einem definiert porösen Material (Polymergel oder poröses Glas) gefüllten Säule. Entscheidend für eine „saubere“ Trennung nach hydrodynamischem Volumen ist, dass nur entropische und keinerlei enthalpische Wechselwirkungen zwischen Polymermolekülen und Säulenmaterial auftreten (vgl. Adsorptionschromatographie, HPLC). Entsprechend müssen die Messbedingungen, insbesondere Temperatur, Eluent und Säulenmaterial, an die chemischen Eigenschaften der Probe angepasst und optimiert werden. Allgemein gilt für die Trennung mit GPC: Große Moleküle eluieren schneller als kleine Moleküle. Die Teilchen, deren hydrodynamisches Volumen die Dimension der Poren (V_p) übersteigt, können nicht in die Poren diffundieren und werden als erste beim sogenannten oberen Ausschlussvolumen (V_o) eluieren. Kleinere Moleküle verweilen länger in den Poren und folgen entsprechend ihrer Größe zu einem späteren Zeitpunkt bzw. Elutionsvolumen V_e . Sind die Moleküle deutlich kleiner als die Poren, ist die untere Ausschlussgrenze der Säule erreicht.

Das Elutionsvolumen V_e , mit dem ein Molekül über die Säule transportiert wird, kann empirisch mit Hilfe des Verteilungskoeffizienten k_{GPC} und den Säulenvolumina erfasst werden:

$$V_e = V_o + V_p k_{\text{GPC}} \quad \text{Gl. 3.1-1}$$

$$k_{\text{GPC}} = \frac{V_e - V_o}{V_p} \quad \text{Gl. 3.1-2}$$

k_{GPC} beschreibt das Verhältnis der mittleren Konzentration des Polymermoleküls innerhalb und außerhalb der Poren und kann entsprechend Werte zwischen 0 und 1 annehmen.

Während die Moleküle über die Säule wandern, stellt sich ein Gleichgewicht ein, in dem das chemische Potential aller gelösten Komponenten innerhalb und außerhalb der Poren gleich ist. Für verdünnte Lösungen im Gleichgewicht kann der Verteilungskoeffizient k_{GPC} mit der Differenz der freien Energie ΔG zwischen den Phasen korreliert werden:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln k_{\text{GPC}} \quad \text{Gl. 3.1-3}$$

mit $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad \text{Gl. 3.1-4}$

Da es im Idealfall keine Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial gibt, kann ΔH gleich null gesetzt werden. Der Trennprozess in der GPC kann daher als rein entropischer Vorgang beschrieben werden:

$$k_{\text{GPC}} \cong e^{\Delta S^\circ/R} \quad \text{Gl. 3.1-5}$$

Da die Bewegungsmöglichkeit der Moleküle in den Poren abnimmt, ist die Diffusion in die Poren mit einer Entropieabnahme verbunden und damit ist $k_{\text{GPC}} < 1$. Weiterhin folgt, dass die Trennung von der Temperatur unabhängig erfolgt.

Als Ergebnis der Messung erhält man ein Eluogramm, d.h. die Konzentration der Polymerfraktion c_i (siehe unten) in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen V_e . Mit Hilfe einer Eichkurve, die üblicherweise aus gleichartigen engverteilten Standardpolymeren mit bekannter Molmasse erstellt wird, können den Elutionsvolumina entsprechende Molmassen M zugeordnet werden. Stehen solche Eichstandards nicht zur Verfügung, kann eine Eichkurve durch universelle Kalibrierung⁵² generiert werden. Für das hydrodynamische Volumen V_h eines Polymermoleküls gilt nach Fox und Flory:

$$V_h = [\eta]M \quad \text{Gl. 3.1-6}$$

$[\eta]$ = intrinsische Viskosität oder Staudinger Index. Für zwei unterschiedliche Polymere mit gleichen Elutionsvolumen gilt dann:

$$[\eta_1]M_1 = [\eta_2]M_2 \quad \text{Gl. 3.1-7}$$

Unter Anwendung der Mark-Houwink-Beziehung

$$[\eta] = K M^\alpha \quad \text{Gl. 3.1-8}$$

erhält man:

$$\log M_2 = \frac{1}{1+\alpha_2} \log \frac{K_1}{K_2} + \frac{1+\alpha_1}{1+\alpha_2} \log M_1 \quad \text{Gl. 3.1-9}$$

Die entsprechenden Mark-Houwink-Koeffizienten α und K sind für viele Polymere bekannt und in Tabellen zusammengefasst (siehe Polymer Handbook).

Im Routinebetrieb werden für die Detektion der Polymerfraktionen meist RI- und UV-Detektoren eingesetzt. Ersterer liefert immer ein zur Masse des gelösten Stoffs proportionales Signal. Für UV-Detektion gibt es zwei unterschiedliche Modi: Ist die Wellenlänge auf das Absorptionsmaximum der Monomereinheit eingestellt, erhält man die gleiche Information wie beim RI, also ein massenproportionales Signal. Misst man beim Absorptionsmaximum chromophorer Endgruppen, erhält man ein zur Kettenzahl proportionales Signal. Des Weiteren kommen molmassenspezifische Detektoren wie beispielsweise Lichtstreu- und Viskositätsdetektoren zum Einsatz, die die Bestimmung absoluter Molekulargewichte und -verteilungen ermöglichen. Die Möglichkeiten und Schwierigkeiten bei der Lichtstreu- und Viskositätsdetektion, insbesondere bei der Charakterisierung von Copolymeren, sind in entsprechenden Lehrbüchern ausführlich diskutiert.^{53,54}

Kürzlich wurde von Schlaad und Kilz⁵⁵ eine einfache Auswertemethode beschrieben, mit der absolute Molekulargewichtsverteilungen von AB-Diblockcopolymeren ohne Verwendung molmassenspezifischer Detektoren bestimmt werden können. Zunächst wird die chemische Zusammensetzung jeder Copolymerfraktion i mit Hilfe zweier Detektoren (UV und RI) ermittelt. Die Masse einer jeden Komponente (m_A und m_B) im Fraktionsstreifen ergibt sich aus den Signalintensitäten unter Berücksichtigung der Responsefaktoren der Detektoren. Für

die Molenbrüche beider Monomereinheiten in jeder chromatographischen Fraktion ergibt sich dann:

$$f_{B,i} = 1 - f_{A,i} = \left(1 + \frac{M_B}{M_A} \frac{m_{A,i}}{m_{B,i}} \right)^{-1} \quad \text{Gl. 3.1-10}$$

M: Molmassen der beiden Monomere

Ist die Molmasse des ersten Blocks des Copolymeres aus unabhängigen Messungen (z.B. Osmometrie oder GPC) bekannt, kann das absolute Molekulargewicht (M') für jede Copolymerfraktion berechnet werden:

$$M'_i = \left(1 + \frac{M_B}{M_A} \frac{f_{B,i}}{f_{A,i}} \right) \cdot \bar{M}_{PA} \quad \text{Gl. 3.1-11}$$

Da die Gesamtmasse der Polymere in der Fraktion berechnet werden kann und das (konstante) Volumen für jeden Streifen bekannt ist, kann die Konzentration c in den Streifen berechnet werden, und so auch die absolute Molekulargewichtsverteilung und die entsprechenden Mittelwerte M_n und M_w des Copolymeren.

$$\bar{M}_n \equiv \frac{\sum_i c_i}{\sum_i c_i / M'_i} \quad \text{Gl. 3.1-12}$$

$$\bar{M}_w \equiv \frac{\sum_i c_i M'_i}{\sum_i c_i} \quad \text{Gl. 3.1-13}$$

3.1.2 BESTIMMUNG DES BLOCKLÄNGENVERHÄLTNISSSES AUS NMR

Eine wichtige Methode zur Bestimmung des zahlenmittleren Molekulargewichts (M_n) von Blockcopolymeren ist die Kernresonanzspektroskopie (^1H NMR). Aus dem Flächenverhältnis charakteristischer Signale zweier Monomereinheiten A und B ergibt sich die Zusammensetzung des Copolymers und damit die entsprechenden Molenbrüche f_A und f_B . Ist das Molekulargewicht des ersten Blocks (Precursor) durch GPC-Messungen oder sonstige Absolutmethoden bekannt, kann M_n des Copolymers berechnet werden:

$$M_n = \left(1 + \frac{M_B f_B}{M_A f_A} \right) \cdot M_n^{\text{Precursor}} \quad \text{Gl. 3.1-14}$$

(M_A, M_B : Molmasse der Monomereinheiten A und B).

3.1.3 ZIRKULARDICHROISMUS (CD)

Zirkulardichroismus (CD) sowie Optische Rotationsdispersion (ORD) sind spektroskopische Methoden, die auf chiroptischen Eigenschaften chiraler Verbindungen und dadurch bedingter optischer Aktivität basieren. Während die ORD die Möglichkeit darstellt, die Ebene von polarisiertem Licht als eine Funktion der Wellenlänge zu drehen (Drehung der Polarisationssebene), gibt die CD-Spektroskopie Information über die ungleiche Absorption links- und rechtszirkular polarisierten Lichts durch optisch aktive Moleküle. Eine Überlagerung beider Effekte führt zu einem positiven bzw. negativen Cotton-Effekt (anomale ORD), der durch seine Position, die Magnitude, sein Vorzeichen und den Kurvenverlauf charakterisiert ist.

Das Phänomen des Zirkulardichroismus äußert sich in unterschiedlichen molaren Extinktionskoeffizienten der optisch aktiven Substanz bezüglich den links- und rechtszirkular polarisierten Wellen ($\epsilon_L \neq \epsilon_R$). Mit anderen Worten: zusätzlich zur Phasenverschiebung und damit einer Drehung der beiden Komponenten zueinander (ORD) besitzen die beiden Vektoren eine unterschiedliche Länge (Abbildung 3-1).

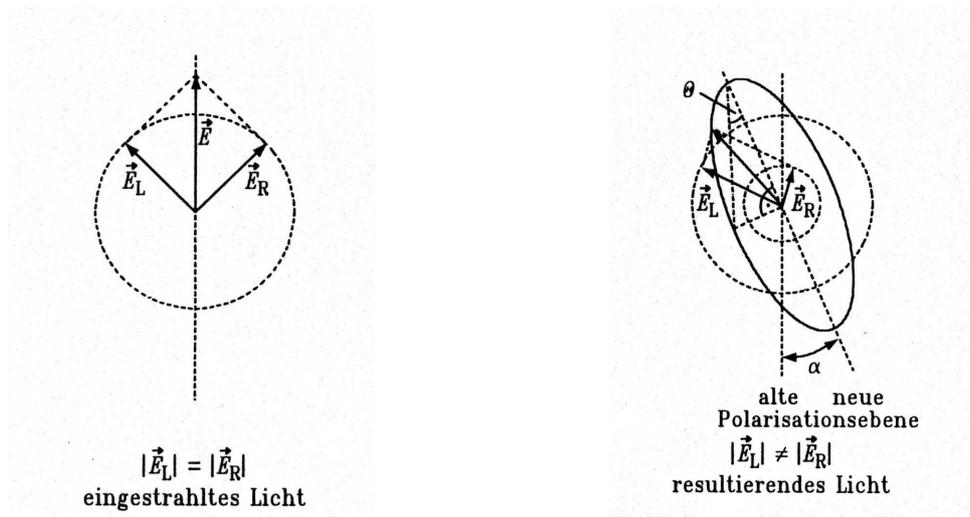


Abbildung 3-1 Vektordarstellung zur Entstehung von elliptisch polarisiertem Licht (rechts) beim Durchgang von linear polarisiertem Lichtes (links) durch ein optisch aktives Medium ($n_L \neq n_R$; $\epsilon_L \neq \epsilon_R$). Die Hauptschwingungsachse ist gegenüber dem einfallenden Licht um den Winkel α gedreht. Das Verhältnis der kurzen zur langen Ellipsenachse definiert die Elliptizität. \vec{E}_R und \vec{E}_L sind die Beträge der Feldvektoren.

Die Folge davon ist, daß das Licht das Medium mit einer elliptischen Polarisation verläßt. Die Elliptizität (Θ) ist definiert als der Arcus-Tangens des Verhältnisses von kleiner zu großer Halbachse. Da der Unterschied der Extinktionen sehr klein ist im Vergleich zu den Absolutwerten der Extinktion der beiden Komponenten, ist die entstehende Ellipse sehr langgestreckt. Es kann also angenähert werden $\tan \Theta = \Theta$. Daraus folgt:

$$\Theta \approx \tan \Theta = \frac{\left| \begin{array}{c} \rightarrow \\ E_L \end{array} \right| - \left| \begin{array}{c} \rightarrow \\ E_R \end{array} \right|}{\left| \begin{array}{c} \rightarrow \\ E_L \end{array} \right| + \left| \begin{array}{c} \rightarrow \\ E_R \end{array} \right|} \quad \text{Gl. 3.1-15}$$

Des weiteren unterscheidet man zwischen:

spezifischer Elliptizität

$$[\psi] = \frac{\Theta}{c d} \quad [\text{deg cm}^2 / \text{g}] \quad \text{Gl. 3.1-16}$$

(c: Konzentration)

und molarer Elliptizität:

$$[\Theta] = \frac{100 \Theta}{c_M d} \quad [\text{deg cm}^2 / \text{dmol}] \quad \text{Gl. 3.1-17}$$

(c_M : molare Konzentration, d: Schichtdicke)

Der einfachste Ausdruck für den Zirkulardichroismus ist die Differenz der Extinktionen der beiden Komponenten A_L und A_R bzw. molaren Extinktionskoeffizienten ϵ_L und ϵ_R , so dass nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz gilt:

$$\Delta A = A_L - A_R = (\epsilon_L - \epsilon_R) \cdot c \cdot d = \Delta \epsilon \cdot c \cdot d \quad \text{Gl. 3.1-18}$$

Fasst man nun die Definition des Zirkulardichroismus, wie in Gl. 3.1-15 und Gl. 3.1-18 angegeben, zusammen, so erhält man unter Anwendung einer Taylor-Reihenentwicklung über die Beziehung

$$\Theta = \frac{\Delta A \cdot 180 \cdot \ln 10}{4\pi} \quad [\text{deg}] \quad \text{Gl. 3.1-19}$$

den Ausdruck:

$$[\Theta] = 3000 \cdot \Delta \epsilon \quad [\text{deg} \cdot \text{c}^2 / \text{dmol}] \quad \text{Gl. 3.1-20}$$

Die eigentliche Messgröße ist die Differenz der molaren Extinktionskoeffizienten ($\Delta \epsilon$).

Im Gegensatz zur ORD, die auf der wellenlängenabhängigen Messung von Brechungsindizes basiert, ist die Voraussetzung für ein CD-Signal ein Chromophor in einer chiralen Umgebung. CD-Banden von Polypeptiden und Proteinen erscheinen in zwei spektralen Regionen. Im Fern-UV- Bereich (Amidbereich 170-250 nm) dominieren die Peptidbindungen, wohingegen CD-Banden in der Nah-UV-Region (230-300 nm) von aromatischen Aminosäuren stammen. Zusätzlich erscheinen noch CD-Banden im Bereich um 250 nm, die von Disulfid-Brücken herrühren. Diese zwei Regionen geben unterschiedliche Informationen über die Proteinstruktur. Die CD-Banden im Nahbereich werden beobachtet, wenn aromatische Seitenketten in einem Protein fixiert sind und dieses in eine asymmetrische Umgebung gebracht wird. Damit ist dies ein höchst empfindliches Kriterium zur Charakterisierung des nativen Zustands eines Proteins. Die Signale im Fern-UV-Bereich enthalten Informationen über die Peptidbindungen und die Sekundärstruktur. Sie werden häufig benutzt, um Änderungen in der Konformation der Peptidkette zu verfolgen. Sehr gute Signale liefern α -Helices bei einer Wellenlänge von 222 nm. Die Chromophore liegen nahe beisammen in einer chiralen Umgebung und es kommt dadurch zu einer Verstärkung der Signalintensität. Weniger gut definierte CD-Spektren liefern die β -Sheet- und Knäuelkonformation (217 und 210 nm).

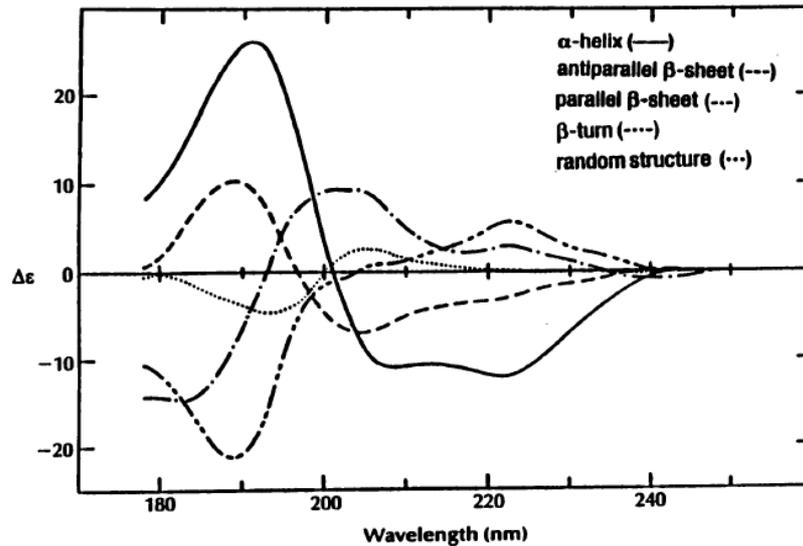


Abbildung 3-2 Darstellung der Spektren der wichtigsten Sekundärstrukturelemente: α -Helix, antiparalleles β -Faltblatt, paralleles β -Faltblatt, β -Rückfaltung und Knäuel von 178 bis 260 nm.

Meist liegen jedoch mehrere Sekundärstrukturen gleichzeitig in einem Protein vor, so dass das gemessene CD-Spektrum sich aus einer additiven Überlagerung der einzelnen Strukturen ergibt. Das Ermitteln der Anteile von vorhandenen Konformationen ist möglich durch die Anpassung der experimentellen Kurven an die theoretischen Spektren, die anhand röntgenographischer Daten berechnet wurden.⁵⁶

3.2 MIKROSKOPIE

Mikroskopie ist eine Visualisierungsmethode, die in der Kolloidchemie immer wieder zum Einsatz kommt. Je nach Wellenlänge der Sonde ist es möglich, Strukturen abzubilden, deren Größen im Mikrometer- (Lichtmikroskopie) bis Nanometerbereich (Elektronenmikroskopie) liegen. Für die Untersuchungen der Oberfläche der Präparate dienen rastermikroskopische Methoden, wobei die Proben mit Elektronenstrahl (SEM) oder mechanisch (AFM) abgetastet werden können.

3.2.1 POLARISATIONSMIKROSKOPIE

Das wichtigste Werkzeug in der Flüssigkristallforschung ist ohne Zweifel das Polarisationsmikroskop. Mit dieser Methode ist es möglich, den Aufbau und die innere Ordnung transparenter anisotroper Materialien zu analysieren. Die optische Anisotropie bedeutet, dass der Brechungsindex und damit die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Lichtes in der Probe richtungsabhängig ist.

Der Aufbau des Polarisationsmikroskops gleicht im Prinzip dem eines normalen Lichtmikroskops, arbeitet jedoch mit einer Anordnung gekreuzter Polarisationsfilter (Polarisator und Analysator). Das zur Beleuchtung notwendige Licht wird bei dem Durchgang durch den Polarisator linear polarisiert. Der Analysator oberhalb des Objektes ermöglicht dann, das Licht zu analysieren, das beim Durchgang durch das anisotrope Medium eine Veränderung erfährt.

Optisch anisotrope Materialien sind charakterisiert durch mindestens zwei Brechungsindizes und eine definierte Richtung entlang derer sich das Medium isotrop verhält, die sogenannte optische Achse - in Flüssigkristallen ist dies der Direktor. Trifft das Licht, das parallel zur optischen Achse polarisiert ist, auf die Probe, so wird es mit einem Brechungsindex n_{\parallel} gebrochen. Dieser ist in anisotropen Medien von dem Brechungsindex senkrecht zur optischen Achse n_{\perp} verschieden. Die Brechungsindexanisotropie, auch Doppelbrechung genannt, wird wie folgt definiert:

$$\Delta n = n_{\parallel} - n_{\perp} \quad \text{Gl. 3.2-1}$$

Ist die Polarisationsrichtung des einfallenden Lichts nicht parallel oder senkrecht zur optischen Achse ausgerichtet, so wird das Licht in zwei senkrecht zueinander linear polarisierte Lichtstrahlen aufgespalten, die das Medium mit unterschiedlicher Geschwindigkeit passieren. Beim Verlassen der Probe haben die beiden Strahlen einen Gangunterschied (Γ), der von der Doppelbrechung (Δn) und der Dicke der Probe (d) abhängt (Gl. 3.2-2).

$$\Gamma = \Delta n \cdot d \quad \text{Gl. 3.2-2}$$

Von diesen beiden phasenverschobenen Wellen wird beim Auftreffen auf den Analysator wiederum nur der Vektor in der Analysatordurchlassrichtung durchgelassen. Diese beiden Vektoren schwingen nun phasenverschoben in derselben Ebene und sind daher

interferenzfähig. Dadurch entstehende Interferenzfarben hängen mit dem Ordnungsgrad der Probe und damit der Doppelbrechung und der Dicke des Präparats zusammen. Im Endeffekt kann man Texturen beobachten, deren Muster aufgrund von Fehlstellen (Disklinationen und Dislokationen) bestimmten Anordnungen in der Probe zugeordnet werden können.

Bei den cholesterischen Phasen kommt es zusätzlich zu einer sog. Selektivreflexion, die mit der helikalen Ganghöhe verbunden ist. Bei einer Wellenlänge (λ_{SR}), deren Dimension die halbe Ganghöhe (p) hat, wird unpolarisiertes oder auch polarisiertes Licht, das entlang der Helixachse den cholesterischen Kristall durchläuft, in eine links- und eine rechtszirkular polarisierte Komponente aufgespalten. Je nach Drehsinn der Phase wird die eine Komponente total reflektiert, während die andere den Flüssigkristall ungehindert durchläuft:

$$\lambda_{SR} = 2 \cdot d \cdot n_{mit} \cdot \sin\phi \quad \text{Gl. 3.2-3}$$

mit

$$d = \frac{p}{2} \quad (\text{halbe Ganghöhe})$$

$$n_{mit} = \frac{1}{2}(n_{\parallel} - n_{\perp}) \quad (\text{mittlerer Brechungsindex})$$

So können je nach Einfallswinkel und Ausfallswinkel außergewöhnliche, metallisch schillernde Reflexionfarben beobachtet werden, wie das Blau bei einigen Käferarten. Aufgrund der reflektierten Wellenlänge kann die Ganghöhe der cholesterischen Phase bestimmt werden (Gl. 3.2-3).

3.2.2 RASTERKRAFTMIKROSKOPIE (AFM)

Das von Binnig, Quate und Geber⁵⁷ im Jahre 1986 entwickelte Rasterkraftmikroskop (*Atomic force microscope* AFM) ist eine Einrichtung, die es erlaubt lokale Eigenschaften einer Oberfläche, wie Höhe, optische Absorption, Magnetismus oder Härte auf Nanometerskala zu gemessen. Die Funktionsweise des Mikroskops basiert auf dem Abtasten der Oberfläche mit einer Spitze (im Idealfall nur ein Atom an der Spitze).

Das Bewegen der Spitze in alle drei Raumrichtungen erfolgt piezoelektrisch, was sehr genaue Bewegungen durch das Sich-Zusammenziehen oder Ausdehnen eines Kristalls beim Anlegen elektrischer Spannung gewährleistet. Das Verfolgen der Spitzenhöhe während des

Messvorgangs wird optisch realisiert. Der Lichtstrahl eines Lasers wird von der Blattfeder, auf dem sich die Spitze befindet, reflektiert und fällt auf eine Photodiode, die als Detektor dient. Die Bewegung der Spitze und somit der Feder führt zu einer Veränderung des Reflexionswinkels und dadurch zu einer Wanderung des Laserpunktes auf der Diode.

Das Signal kann direkt in einen Höhen-Wert umgewandelt werden, oder die z-Lage durch Rückkopplung so nachgestellt werden, daß die Biegung der Feder konstant bleibt und die z-Position die Information über die Oberflächenmorphologie bis zu einer Atomgrößen-Skala ergibt.

Eine andere Variante des AFM ermöglicht nahezu kontaktfreie Messungen. In diesem Fall befindet sich die federnd aufgehängte Spitze in einem Abstand von 2 bis 20 nm von der Probenfläche. Im allgemeinen herrscht bei diesem Abstand zwischen der Spitze und der Oberfläche die Van der Waals-Kraft, deren Gradient in Abhängigkeit vom Abstand r dynamisch gemessen werden kann. Bringt man die Spitze mit der Feder zum Schwingen, so ist die Amplitude der Schwingung durch die Federkonstante und die Anregungsenergie der Biegefeder gegeben. Nähert man nun die Spitze der Oberfläche, so erniedrigt sich die Resonanzfrequenz durch Überlagerung des Van der Waals-Potentials mit dem Spitzenpotential. Außerdem ändert sich auch die Amplitude der Schwingung. Diese Änderung ist ein Maß für den Abstand der Spitze von der Oberfläche, wodurch oberflächentopographische Informationen gewonnen werden können. Mit dieser Methode können die Proben zerstörungsfrei gemessen werden, wobei das Auflösungsvermögen durch den Abstand zwischen Spitze und Probe auf ca. 1 nm reduziert wird.

Ein zusätzlicher Vorteil dieser Abbildungsmethode ist die Tatsache, dass der chemische Charakter der Probenträgeroberfläche nicht fest vorgeschrieben ist. Somit ist es möglich, ihn der Probe anzupassen, um bei empfindlicheren Proben deren Stabilität zu gewährleisten.

3.3 STREUMETHODEN

Bei Streuexperimenten kann zwischen statischen (statische Lichtstreuung, Neutronenstreuung, Röntgenkleinwinkelstreuung: SAXS) und dynamischen (zeit- oder energieaufgelösten) Methoden (dynamische Lichtstreuung, Neutronenspinecho) unterschieden werden. Die statischen Methoden basieren auf einer elastischen Streuung und ermöglichen eine absolute Bestimmung der molekularen bzw. supramolekularen Parameter. Die dynamische Lichtstreuung erlaubt Aussagen über die hydrodynamische Größe der gemessenen Teilchen. Voraussetzung für den Einsatz dieser analytischen Methoden ist die Wechselwirkung der Strahlung mit der Materie in Form von Streuung in dem nicht absorbierenden Bereich des elektromagnetischen Spektrums.

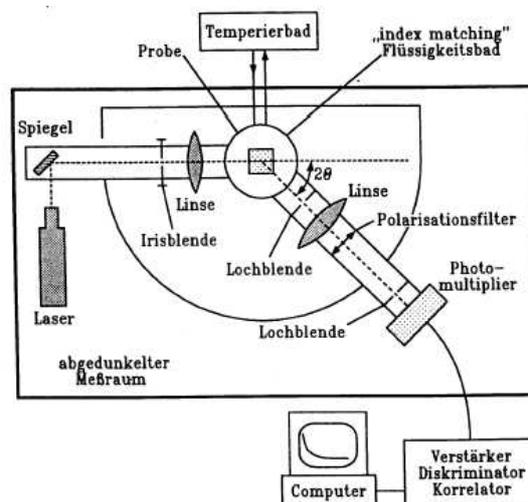


Abbildung 3-3 Schematische Darstellung einer Einrichtung für die Lichtstreuemessungen.

3.3.1 DYNAMISCHE LICHTSTREUUNG (DLS)

Bei der dynamischen (quasielastischen) Lichtstreuung wird die Energieveränderung des gestreuten Lichtes zum Primärstrahl analysiert und daraus die Dynamik der untersuchten Probe (Translation, Rotation, intermolekulare Wechselwirkungen) charakterisiert.

Die Brown'sche Bewegung der Teilchen führt bei der Wechselwirkung der elektromagnetischen Strahlung mit den Streuzentren zur Verbreiterung des Frequenzspektrums $I(\omega)$ (Doppler-Effekt) in Form einer Lorentz-Kurve (Abbildung 3-4),

wobei die Halbwertsbreite mit der mittleren Geschwindigkeit und damit der Größe der Teilchen zusammenhängt. Da diese Änderungen sehr klein sind (10^{-10} - 10^{-12} relativer Linienbreite), ist die Messung im Frequenzbereich wegen der Auflösung der Signale nicht möglich.

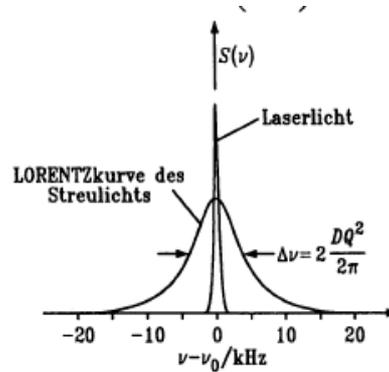


Abbildung 3-4 Spektrale Verteilung des durch Translationsdiffusion verbreiterten Streulichtes und des anregenden Laserlichtes. Lorentz-Verteilung.

Deswegen wird die Feldautokorrelationsfunktion $g_1(q,t)$ in der Zeitdomäne bestimmt, die mit dem Frequenzspektrum $I(\omega, q)$ über das Wiener-Khintchine-Theorem^{58,59} verbunden ist:

$$I(\omega, q) \approx \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} g_1(q, t) \exp(-i\omega t) dt \quad \text{Gl. 3.3-1}$$

$$g_1(q, t) \approx \int_{-\infty}^{\infty} I(\omega, q) \exp(-i\omega t) d\omega \quad \text{Gl. 3.3-2}$$

mit

$$g_1(q, t) = \frac{\langle E(q, t') E(q, t' + t) \rangle}{\langle E(q, t') \rangle^2} \quad \text{Gl. 3.3-3}$$

(E: elektrische Feldstärke)

In der Praxis wird die Fluktuation der Streuintensität $I(q,t)$ gemessen und daraus die Intensitätskorrelationsfunktion $g_2(q,t)$ berechnet:

$$g_2(q, t) = \frac{\langle I(q, t') I(q, t' + t) \rangle_{t'}}{\langle I(q, t') \rangle_{t'}^2} \quad \text{Gl. 3.3-4}$$

mit

$$q = \frac{4\pi n \sin(\theta)}{\lambda} \quad \text{Gl. 3.3-5}$$

Über die Siegert-Relation kann die Relaxationsfunktion $g_1(q,t)$ erhalten werden⁶⁰:

$$g_2(q, t) = 1 + |g_1(q, t)|^2$$

Gl. 3.3-6

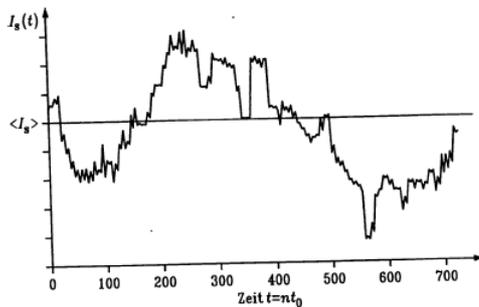


Abbildung 3-5 Zeitliche Fluktuation der Streulichtintensität $I_s(t)$ um ihr zeitliches Mittel I_s .

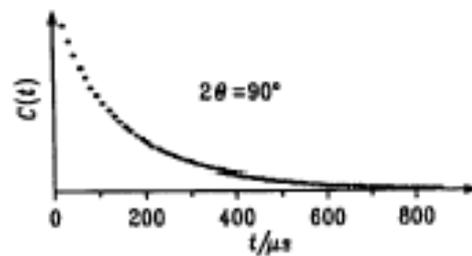


Abbildung 3-6 Intensitäts-Zeitkorrelationsfunktion.

Für monodisperse Teilchen bei unendlicher Verdünnung gilt:

$$g_1(t) = e^{(-\Gamma_1 \cdot t)} \quad \text{mit} \quad \Gamma_1 = D \cdot q^2$$

Gl. 3.3-7

Aus der Abklingkonstante Γ_1 , die durch Anpassung einer exponentiellen Funktion an die Meßwerte gewonnen wird, kann der Translationsdiffusionskoeffizient (D) berechnet werden. Mit der Stokes-Einstein-Beziehung lässt sich, unter Annahme kugelförmiger Partikel, der hydrodynamische Radius, der gleich dem Radius der Kugel ist, ermitteln:

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 D}$$

Gl. 3.3-8

(η : Viskosität des Lösemittels)

Bei realen Systemen kommen zusätzlich die Rotationsbewegung und intermolekulare Wechselwirkungen zum Vorschein. Dieses Problem kann durch polarisations- und winkelabhängige Messungen aufgehoben werden.

Im Fall von polydispersen Systemen klingt die Autokorrelationsfunktion nicht einfach exponentiell ab. Sie muß als Überlagerung von Exponentialfunktionen mehrerer diffuser Prozesse verstanden werden.

$$g_1(t) = \left\langle e^{-\Gamma t} \right\rangle = \int_0^{\infty} e^{-\Gamma t} G(-\Gamma) d\Gamma$$

Gl. 3.3-9

In der vorliegenden Arbeit wurde die Analyse der Verteilungsfunktion $G(\Gamma)$ durch inverse Laplace-Transformation mittels der Programme CONTIN^{61,62} und FASTORT⁶³ durchgeführt.

3.3.2 STATISCHE LICHTSTREUUNG (SLS)

Die statische (elastische) Lichtstreuung (SLS) ist eine wichtige Absolutmethode zur Bestimmung der Molmasse von Makromolekülen. Zusätzlich liefert sie Information ein über die Größe und Gestalt der Moleküle sowie intermolekulare Wechselwirkungen.

Die winkelabhängige Streuintensität, die bei dieser Methode als Messgröße dient, ist stark von den Dimensionen des Streukörpers abhängig. Deswegen wird grundsätzlich zwischen drei Fällen unterschieden: punktförmigen Teilchen mit $D \ll \lambda$, kleinen Makromolekülen mit $D < \lambda/20$ und großen supramolekularen Strukturen mit $\lambda/20 \leq R_g \leq \lambda/2$.

Im Jahre 1871 hat Lord Rayleigh die Theorie für Lichtstreuung an kleinen Teilchen im Vakuum entwickelt.⁶⁴ Dabei hat er das Teilchen als Hertz'schen Dipol betrachtet.

$$\vec{\mu}_{ind} = \alpha \cdot \vec{E}_0 \cos(\omega t) \quad \text{Gl. 3.3-10}$$

(μ_{ind} - induziertes Dipolmoment, α - Polarisierbarkeit des Moleküls

und \vec{E}_0 - Feldstärke)

Die einfallende elektromagnetische Welle induziert in dem Teilchen einen oszillierenden elektrischen Dipol, der nun seinerseits elektromagnetische Strahlung derselben Frequenz richtungsabhängig emittiert. Der Zusammenhang zwischen eingestrahelter (I_o) und gestreuter Intensität (I_s) ist durch die Gl. 3.3-11 gegeben:

$$\frac{I_s}{I_o} = \frac{16 \cdot \pi^2 \cdot \alpha^2 \cdot \langle \cos^2 \varphi \rangle}{\lambda^4 \cdot r^2} \quad \text{Gl. 3.3-11}$$

Aus der Gleichung ergibt sich eine starke Abhängigkeit der Streuung von der Wellenlänge (je kurzwelliger die Strahlung desto stärker die Streuung) und der Polarisierbarkeit des Streuvolumens. Die Polarisierbarkeit ist proportional dem Brechungsinkrement eines gelösten Stoffes, so daß man nach der Kontinuumstheorie für eine ideal verdünnte Lösung nach Rayleigh folgende reduzierte Streuintensität (R_θ) erhält¹²:

$$R_\theta = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_L^2}{N_A \cdot \lambda^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \text{ cM} \quad \text{Gl. 3.3-12}$$

(n_L - Brechungsindex des Lösungsmittels, c - Konzentration,
 M - Masse des Streuzentrums und N_A - Avogadrokonstante)

Diese Gleichung gilt jedoch nicht für reale Lösungen, in denen Fluktuationen des Brechungsindex durch zusätzliche Dichtefluktuationen hervorgerufen werden.

$$\delta n = \left(\frac{\delta n}{\delta \rho} \right)_c d\rho + \left(\frac{\delta n}{\delta c} \right)_\rho dc \quad \text{Gl. 3.3-13}$$

(ρ : Dichte)

Nach der Fluktuationstheorie von Einstein und Smoluchowski^{13,14} sind die Dichteschwankungen auf das kontinuierliche Medium zurückzuführen und können als Beitrag direkt von der Streuintensität abgezogen werden (experimentelle Messung von reinem Lösemittel). Die Brechungsindexfluktuationen, die durch den Konzentrationsgradienten in der Lösung verursacht werden, können auf das Gelöste zurückgeführt werden.

$$R(\vec{q}) = R(\vec{q})_{Lsg} - R(\vec{q})_{Lsm} = K \cdot c \cdot R \cdot T \cdot \left(\frac{\delta \Pi}{\delta c} \right)_{\rho, T} \quad \text{Gl. 3.3-14}$$

$$\text{mit } K = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_L^2}{N_A \cdot \lambda^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2$$

Die osmotische Kompressibilität läßt sich in eine Virialreihe entwickeln:

$$\left(\frac{\delta \Pi}{\delta c} \right)_{\rho, T} = RT \left(\frac{1}{M} + 2Ac + 3Bc^2 \right) \quad \text{Gl. 3.3-15}$$

So ergibt sich für die reduzierte Streuintensität:

$$\frac{Kc}{R(\vec{q})} = \frac{1}{M} + 2Ac + 3Bc^2 + \dots \quad \text{Gl. 3.3-16}$$

(K : Konstante, A : zweite osmotische Virialkoeffizient)

Die Reihenentwicklung läßt sich für sehr kleine Konzentrationen nach dem zweiten Glied abbrechen. Eine Auftragung von $Kc/R(q)$ gegen die Konzentration c liefert als Ordinatenabschnitt das reziproke Molekulargewicht, und aus der Steigung der Kurve kann der zweite osmotische Virialkoeffizient A_2 berechnet werden. Ist das System polydispers, liefern die Lichtstreuwerte das über die Masse gemittelte Molekulargewicht M_w .

In dem Fall, in dem der Radius des Moleküls größer als $\lambda/20$ ist und somit in einem Molekül mehrere Streuzentren vorhanden sind, können die gestreuten Wellen interferieren. Deswegen ist es nötig, einen Formfaktor zu benutzen, der vom Beobachtungswinkel abhängig ist.

$$P(q) = \frac{1}{N_s^2} \sum_{i=1}^{N_s} \sum_{j=1}^{N_s} \frac{\sin(q \cdot r_{ij})}{q \cdot r_{ij}} \quad \text{mit } q = \frac{4\pi}{\lambda} n \sin \theta \quad \text{Gl. 3.3-17}$$

Damit gilt für die Streufunktion:

$$\frac{1}{P(q)} \approx 1 + \frac{q^2 R_G^2}{3} \quad \text{Gl. 3.3-18}$$

$$\frac{Kc}{R(q)} \approx \left(1 + \frac{q^2 R_g^2}{3} \right) \cdot \left(\frac{1}{M} + 2Ac \right) \quad \text{Gl. 3.3-19}$$

Die Streufunktion ist neben dem Winkel auch von der Wellenlänge des Lichtes und der räumlichen Anordnung der streuenden Dipole und damit der Molekülform abhängig. Durch das Doppelpextrapolationsverfahren gegen die Konzentration und den Streuwinkel ist das Gewichtsmittel der Masse, der zweite Virialkoeffizient A_2 und der Gyrationradius R_g bestimmbar.⁶⁵

3.3.3 RÖNTGENKLEINWINKELSTREUUNG (SAXS)

Allgemeine Theorie

Die Röntgenstreuung verwendet hochenergetische Strahlung, d.h. solche mit kleiner Wellenlänge (z.B: Cu-K α -Strahlung 0.1542 nm). Die Röntgenstrahlung wird während des Experiments an den Elektronenhüllen der Atome gestreut und winkelabhängig gemessen. Dies erlaubt es 1- bis 100-nm große Elektronendichtefluktuationen zu messen. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist die Möglichkeit, die Proben in verschiedenen Zuständen zu messen, auch wenn sie optisch undurchsichtig sind. Im Gegensatz zur Weitwinkelstreuung (WAXS) ist die

Kenntnis der Atomformfaktoren nicht erforderlich, die mittlere Elektronendichte der Phase ist ausreichend.

Trifft ein Strahl auf ein Streuzentrum, so gehen von diesem Kugelwellen mit einer komplexen Amplitude $A(\vec{s})$ aus, die sich aus der Summe der Streuung an punktförmigen Zentren mit der Streukraft n_k ergibt:

$$A(\vec{s}) = \sum_{k=1}^N n_k \exp(2\pi i \vec{r}_k \vec{s}) \quad \text{Gl. 3.3-20}$$

$$\vec{s} := \frac{\vec{e} - \vec{e}_0}{\lambda} \quad \text{mit} \quad |\vec{s}| = s = \frac{2 \sin \theta}{\lambda} \quad \text{Gl. 3.3-21}$$

(θ : halber Streuwinkel)

Für die Streuung an der kontinuierlichen Elektronendichteverteilung $\rho(\vec{r})$ über das gesamte Volumen der Probe V ergibt sich:

$$A(\vec{s}) = \int_V d^3 r \rho(\vec{r}) \exp(2\pi i \vec{r} \vec{s}) = F[\rho(\vec{r})] \quad \text{Gl. 3.3-22}$$

Somit ist die komplexe Streuamplitude die Fouriertransformierte der Elektronendichteverteilung in der Probe. Experimentell wird jedoch im reziproken Raum die Intensitätsverteilung $I(\vec{s})$ gemessen, die dem reellen Betragsquadrat der Amplitude $A(\vec{s})$ entspricht.

$$I(\vec{s}) = |A(\vec{s})|^2 = A(\vec{s})^* A(\vec{s}) \quad \text{Gl. 3.3-23}$$

Durch Fouriertransformation erhält man aus der $I(\vec{s})$, die sog. Pattersonfunktion $P(\vec{r})$ das Faltungsquadrat, d.h. die Autokorrelationsfunktion der Elektronendichteverteilung $\rho(\vec{r})$ im realen Raum ist:

$$I(\vec{s}) = |A(\vec{s})|^2 = \int dV P(\vec{r}) \exp(2\pi i \vec{r} \vec{s}) = F[P(\vec{r})] \quad \text{Gl. 3.3-24}$$

In der Abbildung 3-7 ist der Zusammenhang zwischen den Größen des realen und des reziproken Raumes dargestellt.

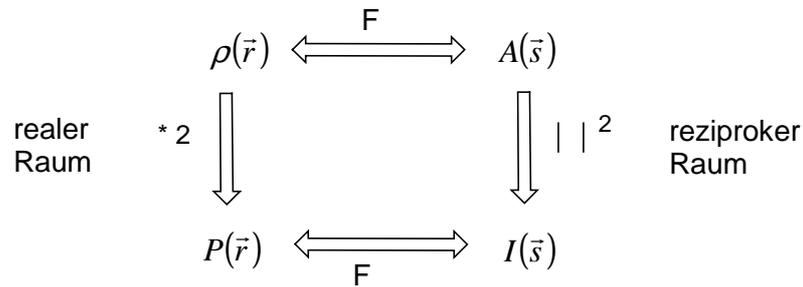


Abbildung 3-7 Zusammenhang der streutheoretischen Größen des realen und reziproken Raumes (*2: Bildung der Autokorrelationsfunktion (Selbstfaltung)).

Durch dieses Schema wird das Phasenproblem der Röntgenstreuung sichtbar: durch die Nichtumkehrbarkeit des Faltungsquadrates der Elektronendichteverteilung kann sie nicht direkt aus der Pattersonfunktion berechnet werden. Normalerweise wird die Elektronendichteverteilung durch die Analyse der Pattersonfunktion oder durch die Anpassung der Streukurve für simulierte Elektronendichteverteilung an die gemessene Intensitätsverteilung ermittelt. Für beide Verfahren sind noch zusätzliche Informationen notwendig, die durch Überlegung oder andere analytische Methoden zugänglich sind.

Zweiphasensystem

Eine andere Möglichkeit, die Morphologie eines mikrophasenseparierten Zweiphasensystems zu bestimmen, ist die Anwendung des Verfahrens, das von Micha *et al.*⁶⁶ entwickelt wurde. Die Methode basiert auf einem universellen Phasendiagramm, das die Phasenmorphologie in Abhängigkeit von zwei reduzierten Parametern ($\kappa; t$) darstellt. Einer der beiden Parameter (κ) ist von der spezifischen Grenzfläche abhängig, der andere (t) repräsentiert die mittlere Krümmung der Grenzfläche.

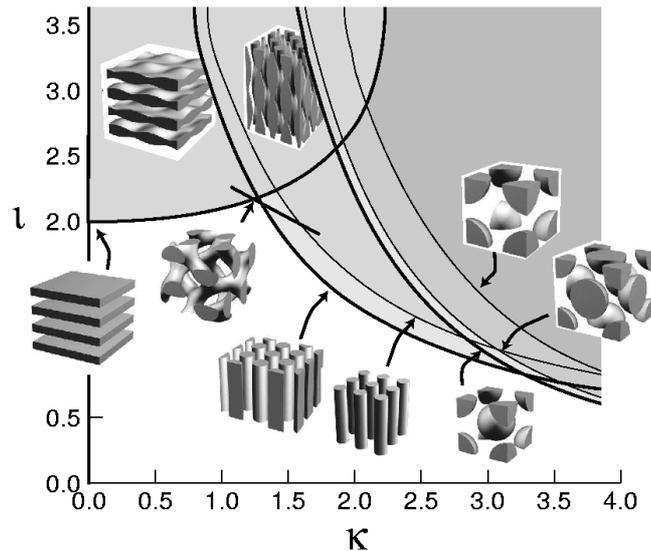


Abbildung 3-8 Universelles Phasendiagramm nach MICHA *et al.*⁶⁶ Die durchgezogenen Kurven repräsentieren die möglichen Paare (κ, l) für die idealen Strukturen.

Mittels spezieller Auswertung lässt sich aus der Röntgenstreuung die Position des realen Zweiphasensystems im Phasendiagramm bestimmen. Dazu bedient man sich des KIRSTE-POROD-Gesetzes im realen Raum. $\gamma(r)$ ist die auf $r = 0$ normierte Pattersonfunktion („charakteristische Funktion“):

$$\gamma(r) = 1 - \frac{r}{l_p} + \frac{r^3}{8l_p} \left(\langle H^2 \rangle_s - \frac{1}{3} \langle K \rangle_s \right) + O(r^5) \quad \text{Gl. 3.3-25}$$

Der Koeffizient des linearen Terms, ist die sog. mittlere Segmentlänge l_p (mittlere Durchschlusslänge, *average chord length*), die von der Phasengrenzfläche S/V und vom Volumenbruch ϕ einer der beiden Phasen abhängig ist.

$$l_p = \frac{4\phi(1-\phi)V}{S} \quad \text{Gl. 3.3-26}$$

Der r^3 -Koeffizient stellt den KRISTE-POROD-Parameter b dar und enthält die mittlere Gauss'sche Krümmung $\langle K \rangle$ und das gemittelte Quadrat der mittleren Krümmung $\langle H^2 \rangle$.

In der Praxis wird aus der Streukurve durch Parametrisierung mit analytischen Basisfunktionen die charakteristische Funktion $\gamma(r)$ ermittelt. Nun wird ein Ausdruck in der Form: $1 - r/l_p + br^3/l_p$ an den Anfangsbereich der charakteristischen Funktion angepasst. Aus dem Wert für l_p berechnet sich die spezifische Grenzfläche l :

$$t = \frac{4\phi(1-\phi)}{l_p} L \quad \text{Gl. 3.3-27}$$

Den Krümmungsparameter κ erhält man aus dem KIRSTE-POROD-Parameter b :

$$\kappa = L\sqrt{8b} \quad \text{Gl. 3.3-28}$$

Nach Einsetzen der Wertepaare in das universelle Phasendiagramm ist es möglich, die Morphologie des untersuchten Zweiphasensystems zu identifizieren.

4 SYNTHESE UND CHARAKTERISIERUNG DER POLYPEPTID-BLOCKCOPOLYMERE

Die Synthese der in dieser Arbeit eingesetzten Polypeptid-Blockcopolymerer erfolgte in zwei Schritten. Zuerst wurde der synthetische Block (Polystyrol bzw. Polybutadien) durch lebende anionische Polymerisation hergestellt. Die lebenden Ketten wurden mit einem Chlorsilanderivat mit TMS-geschützter Aminfunktion abgebrochen und so ω -aminofunktionalisierte Polymere erhalten. Diese wurden dann als Makroinitiatoren zur Polymerisation von α -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden (NCA) eingesetzt.

Als Aminosäuren wurden *N*_ε-benzyloxycarbonyl-L-lysin (ZLLys) und L-Glutaminsäure-5-benzylester (BLGlu) gewählt. Die Polypeptide gelten als starke Helixbildner in organischen Lösemitteln so wie auch in entschützter Form in Wasser. Die Voraussetzung für die Ausbildung der Sekundär-Struktur ist die enantiomere Reinheit der Monomereinheit. Es wurden die natürlich vorkommenden L-(S-)Aminosäuren verwendet.



Abbildung 4-1 Chemische Strukturen von *N*_ε-benzyloxycarbonyl-L-lysin (ZLLys) (links) und L-Glutaminsäure-5-benzylester (BLGlu) (rechts)

4.1 MAKROINITIATOREN

Die NCA-Polymerisation erfordert für die Initiierung eine Aminofunktionalität. Es ist jedoch sehr schwierig, Polymere mit primärer Aminfunktion durch lebende anionische Polymerisation zu erhalten^{67,68} und es erfordert Schutzgruppenchemie. Als erfolgreich hat sich der Abbruch der Anionen mit ω -funktionalisierte Alkylhalogeniden erwiesen. De Simone *et al.*⁶⁹ verwendete ein Chlorsilanderivat, das durch die polare Silicium-Chlor-Bindung eine hohe Reaktivität gegenüber den anionischen Ketten und dadurch eine hohe Effizienz aufweist.

Aufgrund der oben genannten Vorteile wurde zur Darstellung der ω -aminofunktionalisierten Makroinitiator ein Chlorsilanderivat eingesetzt, dessen modifizierte zweistufige Synthese von Kukula *et al.*⁷⁰ übernommen wurde (Abbildung 4-2).

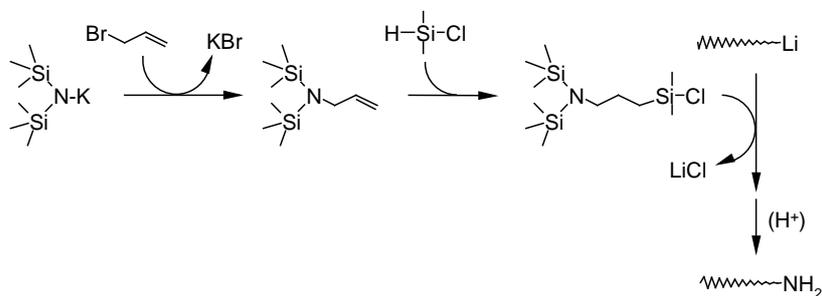


Abbildung 4-2 Synthese von 1-(Chlordimethyl-3-[N,N-bis(trimethylsilyl)amino]-propan (CAP).

Monomere und Lösungsmittel wurden nach Standardverfahren gereinigt. Die anionische Synthese des Makroinitiators wurde an einer Vakuum-Linie unter Argonatmosphäre durchgeführt:

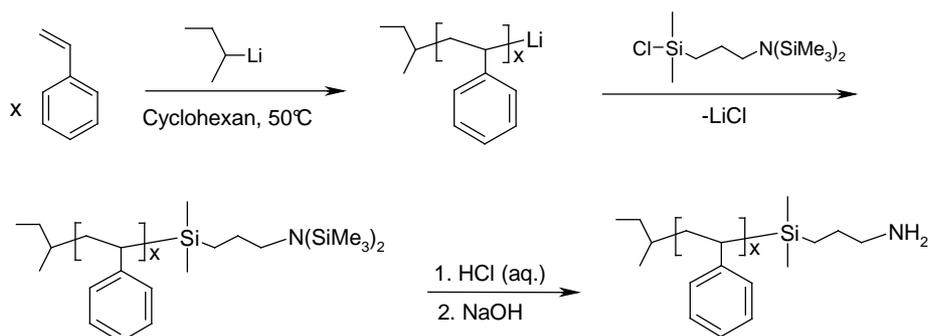


Abbildung 4-3 Reaktionsschema der Synthese von ω -endfunktionalisiertem Makroinitiator in Cyclohexan.

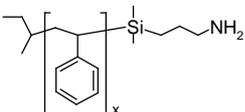
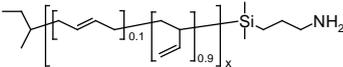
Die Polymerisation von Styrol wurde nach der von De Simone⁶⁹ beschriebenen Vorschrift, in Cyclohexan oder Tetrahydrofuran (THF) durchgeführt. In Cyclohexan wurde das Reaktionsgemisch nach der Initiierung mit *sec*-Butyllithium drei Stunden bei 50°C gerührt, bei THF wurde die Reaktionstemperatur auf -70°C gesenkt und die Reaktionszeit auf eine Stunde verkürzt. Die Kontrolle des Polymerisationsgrades erfolgte durch eine GPC-Untersuchung einer Probe, die vorher aus dem Reaktionsgemisch entnommen und mit Methanol abgebrochen wurde. Die Polymerisation wurde durch Zugabe des Funktionalisierungsreagenzes beendet. Dazu wurden 1,3 Äquivalente des Terminierungsreagenzes (bezogen auf die eingesetzte Initiatormenge) in wenigen Millilitern absoluten THF gelöst, zur Reinigung mit 5 mol % *sec*-Butyllithium versetzt und nach dem

Entgasen der Reaktionslösung zugespritzt. Die Lösung wurde sofort farblos, und es entstand langsam ein Niederschlag von Lithiumchlorid. Das Lösungsmittel wurde dann weitgehend einrotiert, das Polymer aus Ethanol ausgefällt und im Vakuumschrank bei 40 °C getrocknet. Zum Entfernung der Silylschutzgruppen wurde das Polystyrol in Benzol aufgenommen, mit verdünnter Salzsäure versetzt und als Zweiphasengemisch über Nacht gerührt. Die beiden Phasen wurden nach Neutralisation mit NaOH getrennt, die organische Phase mehrmals mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Produkt wurde durch Gefriertrocknung aus der salzfreien Benzollösung gewonnen.

Die Polymerisation von 1,3-Butadien wurde ähnlich wie Styrol in THF bei -70°C mit sec-Butyllithium als Initiator durchgeführt. Das Reaktionsgemisch wurde mindestens über Nacht gerührt. Aufarbeitung sowie Entfernung der Silylschutzgruppen erfolgten auf die gleiche Weise wie zuvor beschrieben.

Die Makroinitiatoren wurden mit GPC und ¹H NMR charakterisiert. Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen wurden mit GPC in THF bei 25 °C ermittelt. Dazu wurden die Eichkurven mit Polystyrol- bzw. Poly(1,2-butadien)-Standards erstellt. Um Störungen durch die Aminendgruppe während der Elution der Polymere zu vermeiden, wurden die vor der Terminierung genommenen Proben zur Analyse eingesetzt. Aus ¹H NMR-Spektren wurde die Mikrostruktur des Polybutadiens ermittelt.⁷¹ Der Anteil am 1,2-Addukt lag in allen Fällen bei 90 %, was bei den gegebenen Reaktionsbedingungen der erwarteten Mikrostruktur entspricht. In der Tabelle 4.1-1 alle verwendeten Makroinitiatoren und ihre charakteristischen Daten zusammengestellt.

Tabelle 4.1-1 Molekulare Parameter von ω-aminofunktionalisierten PS- and PB- Makroinitiatoren nach der Terminierung mit CAP.

Chemische Struktur	Probe	$x^{\#}$	PDI [§]	Lösungsmittel
	S1	52	1.04	Cyclohexan
	S2	258	1.04	THF
	S3	388	1.04	THF
	B1	74	1.06	THF
	B2	165	1.12	THF

[#] Polymerisationsgrad (Zahlenmittel); GPC. [§] Polydispersitätsindex; GPC.⁵⁵

Der Funktionalisierungsgrad der Makroinitiatoren konnte nicht direkt aus ^1H NMR-Spektren bestimmt werden. Wegen der hohen Molekularmassen war es nicht möglich, die Trimethylsilylprotonen ($\delta_{\text{ppm}} = 0.0\text{-}0.3$ (m, 18H, $-\text{NSi}(\text{CH}_3)_3$)) quantitativ zu erfassen und dadurch den Funktionalisierungsgrad der Makroinitiatoren zu ermitteln. Einzige Möglichkeit stellt hier die kritische Chromatographie (LACCC) dar. Mit der Flüssigchromatographie am kritischen Punkt der Adsorption sind die durch Endgruppen verursachten chemischen Heterogenitäten detektierbar und somit ist die Bestimmung der Endfunktionalitäten bei den Polymeren mit Molekulargewichten bei etwa 100 kg/mol möglich. Entsprechend vorheriger Arbeiten⁷² sollten die Polymere einen Funktionalisierungsgrad von 90 % haben.

4.2 BLOCKCOPOLYMERE

Die Synthese von linearen Polypeptid-Blockcopolymeren erfolgte durch nukleophile ringöffnende Polymerisation der *N*-Carboxyanhydride (NCA) von ZLLys bzw. BLGlu. Zur Initiierung wurden die vorher beschriebenen ω -aminoendfunktionalisierten Makroinitiatoren eingesetzt, Polystyrol bzw. Polybutadien.

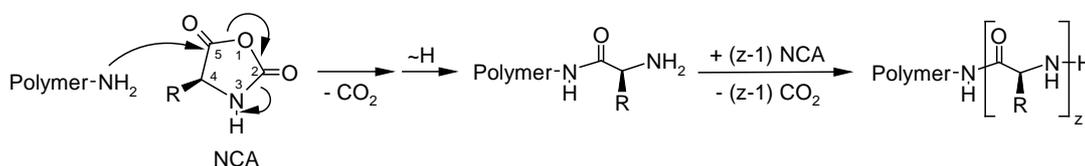


Abbildung 4-4 Reaktionsschema der Synthese von Polypeptid-Blockcopolymeren.

Es ist bekannt, dass elektrophile Verunreinigungen im NCA Einfluss auf die Molekulargewichtsverteilung der Polypeptide haben können.⁷³ Wegen ihrer Hydrolyseempfindlichkeit wurden die *N*-Carboxyanhydride immer frisch hergestellt. Die NCA-Synthese wurde auf drei verschiedene Weisen durchgeführt. Zuerst in THF als Lösungsmittel, wobei das Aufreinigen durch Umkristallisation aus Petrolether erfolgte.⁷⁴ Die zweite Methode nach Poché⁷⁵ führte zu Produkten hoher Reinheit. Die Aminosäure wurde in Ethylacetat (über CaH_2 getrocknet und kryodestilliert) suspendiert und auf 90°C erhitzt. Dann wurde zu dem Reaktionsgemisch in wenigen Milliliter Ethylacetat gelöstes (Triphosgen) als Phosgenierungsreagenz im Argongegenstrom zugegeben. Nach ca. drei Stunden wurde die Lösung klar, was auf praktisch vollständige Umsetzung hindeutet. Nach dem Abkühlen wurde

die Lösung mit kaltem Wasser und NaHCO_3 gewaschen und die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Das Produkt wurde durch zweimalige Umkristallisation aus Petrolether (über Na_2SO_4 getrocknet) erhalten.

Bei der dritten Methode wurde α -Pinen als Abfangreagenz für die freiwerdende HCl eingesetzt.⁷⁶ Durch die Hydrochlorierung der labilen Doppelbindung des α -Pinens wurde das entstehende HCl aus dem Reaktionsgemisch entfernt. Zusätzlich konnte auch ein Überschuss an Triphosgen vermieden werden, indem die Triphosgenlösung langsam in das Reaktionsgemisch getropft wurde und zwar nur so lange, bis die weiße Suspension der Aminosäure klar wurde. Die Umkristallisation aus Petrolether erlaubte, das NCA von sonstigen Verunreinigungen zu befreien. Die chemische Struktur und Qualität der N-Carboxyanhydride wurde mittels ^1H NMR und DSC ermittelt (siehe Anhang).

Makroinitiator und NCA wurden vor der Polymerisation in separaten Schlenkkolben vorgelegt und zwei Stunden lang im Vakuum getrocknet. Dann wurden sie in trockenem und amin-freiem N,N-Dimethylformamid (über CaH_2 getrocknet und kryodestilliert) gelöst, welches sehr gute Lösungseigenschaften im gesamten Verlauf der Polymerisation hat, d.h. auch das entstehende Polypeptid bleibt homogen gelöst. Zum Lösen von Polybutadien wurde Chloroform (auch über CaH_2 getrocknet und kryodestilliert) verwendet und die Polymerisation in dem Chloroform/DMF Gemisch durchgeführt. Nach dreimaligem Entgasen der Lösungen, wurden sie mit einer Spritze vereinigt. Die Polymerisation wurde unter Argon bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ drei Tage lang durchgeführt. Der Polymerisationsgrad des Peptidblocks wurde durch das Initiator-Monomer-Verhältnis eingestellt. Nach dem Beenden der Reaktion wurde das Lösungsmittel weitgehend im Vakuum entfernt und das Produkt mehrmals aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Da die Effektivität des Initiators immer niedriger als 100 % ist,⁵¹ musste nicht umgesetztes Polystyrol bzw. Polybutadien entfernt werden. Dies erfolgte durch Extraktion mit Cyclohexan (Polystyrol) oder Petrolether (Polybutadien). Polymere mit längerem Peptidblock waren nach der Extraktion schlechter in DMF oder Dioxan löslich als zuvor. Dies wurde durch ein Auskristallisieren des Peptidblockes verursacht und konnte durch Auflösen des Polymers in THF und Fällung aus Ethanol aufgehoben werden.

Die Blockcopolymere wurden mittels GPC und ^1H NMR charakterisiert. Die GPC-Analytik ist bei amphiphilen Blockcopolymeren nur beschränkt möglich da in der Regel keine Eichkurve zur Verfügung steht. Ein zusätzliches Problem stellt das Finden des geeigneten Lösungsmittels dar, in dem die Polymere unimolekular gelöst werden können. Die in dieser Arbeit eingesetzten Polypeptide sind starke Helixbildner, die Blöcke weisen also nicht nur

chemische sondern auch konformative Heterogenitäten auf, was mit einer Änderung der Viskosität und dem hydrodynamischen Volumen verbunden ist. Die erhöhte Polarität der Helixkonformation kann zur Adsorption an das Säulematerial führen.⁷⁷ All diese Phänomene verändern das Elutionsverhalten gravierend und verfälschen die Ergebnisse der Analyse.

Aus diesen Gründen wurden die GPC-Messungen der meisten Proben in *N,N*-Dimethylacetamid (DMA) bzw. *N*-Methylpyrrolidon (NMP) mit Zusatz von 0,5 Gew. % LiBr bei 70 °C durchgeführt. Als Säulenmaterial wurde statt eines unpolaren Polystyrolgels (SDV) ein PSS-GRAM Polyester material verwendet. Die ermittelten Molmassen sowie die Molmassenverteilungen sind in Tabelle 4.2-1 und Tabelle 4.2-2 zusammengestellt

Absolute, zahlengemittelte Molmassen der Blockcopolymere wurden mit NMR-Spektroskopie bestimmt. Der Polymerisationsgrad des synthetischen Blocks ist aus GPC-Analysen bekannt. Die Länge des zweiten Blocks wurde wie im Kapitel 3.1.2. beschrieben, aus den Verhältnissen der Integrale der charakteristischen Signale im NMR-Spektrum ermittelt. Abbildung 4-6 und Abbildung 4-6 zeigt die NMR-Spektren von PS-PBLGlu und PB-PZLLys und veranschaulicht die Signalzuordnung.

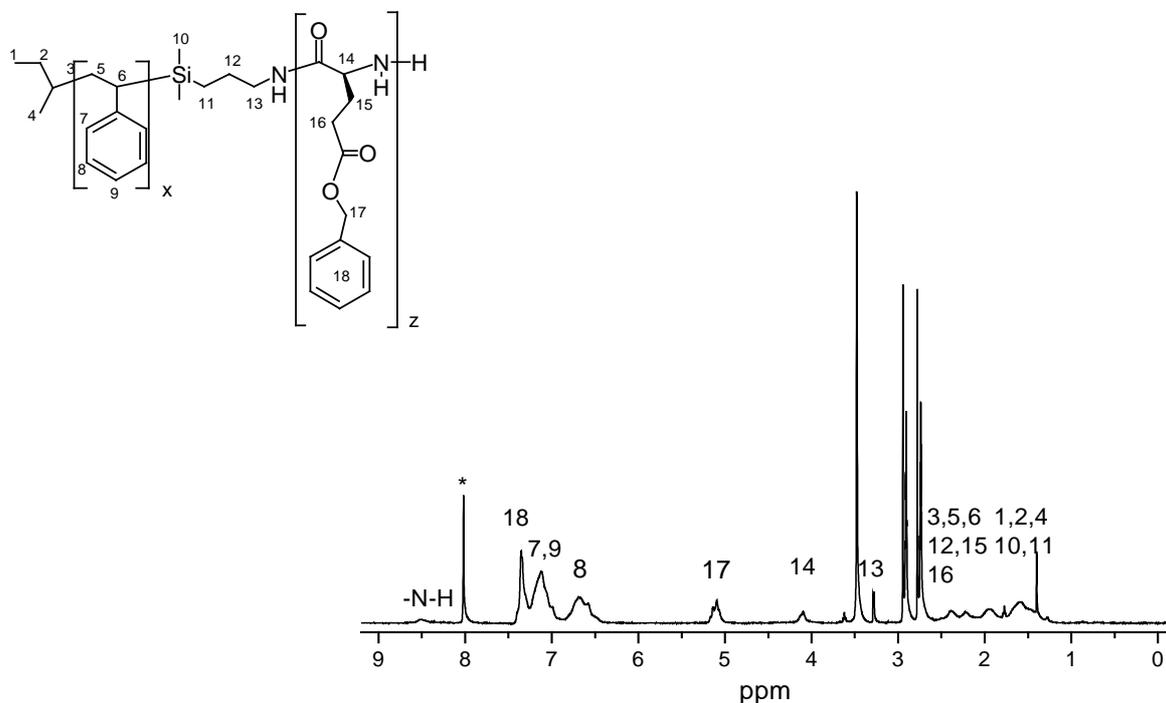


Abbildung 4-5 ¹H-NMR Spektrum (400 MHz) von PS-PBLGlu SG-7 (DMF-d₇, 40 °C) (* DMF).

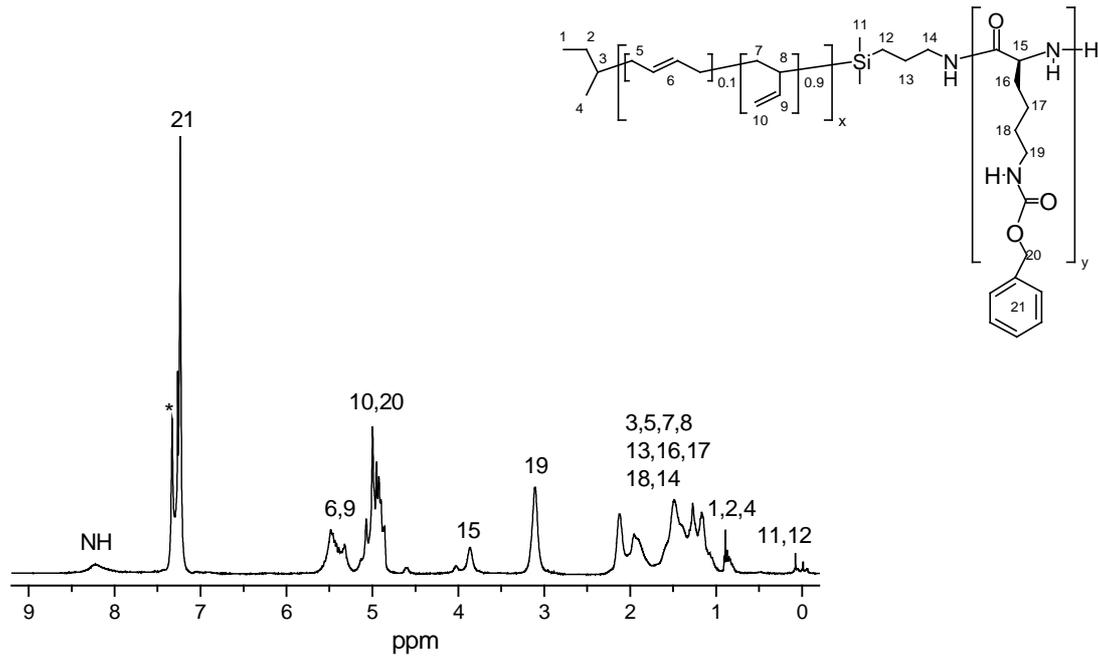


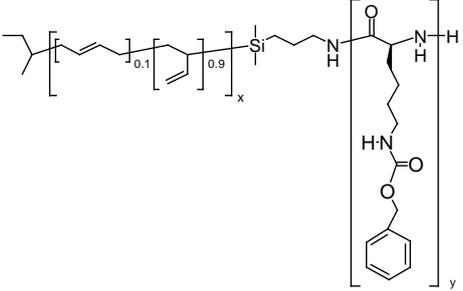
Abbildung 4-6 $^1\text{H-NMR}$ Spektrum (400 MHz) von PB-PZLLys BL-1 (CDCl_3 , 25 °C)

Tabelle 4.2-1 Molekulare Parameter der PS-Polypeptid-Blockcopolymere

Chemische Struktur	Probe	$x^{\#}$	$z^{\$}$	PDI^{\S}
	SL-1	52	69	1.64
	SL-2	52	111	1.27
	SL-3	52	60	1.24
	SL-4	52	50	1.01
	SL-5	52	40	1.01
	SL-6	258	108	1.2
	SL-7	258	57	1.2
	SL-8	388	60	1.05
	SG-1	52	104	1.1
	SG-2	52	90	1.02
	SG-3	40	80	1.02
	SG-4	52	29	1.5
	SG-5	218	598	1.4
	SG-6	258	26	1.03
	SG-7	258	84	1.04
	SG-8	366	43	1.03

$^{\#}$ Polymerisationsgrad (Zahlenmittel) des PS-Blocks; GPC. $^{\$}$ Polymerisationsgrad des Polypeptid-Blocks; $^1\text{H NMR}$. § Polydispersitätsindex; GPC.⁵⁵

Tabelle 4.2-2 Molekulare Parameter der PB-Polypeptid-Blockcopolymere

Chemische Struktur	Probe	x	y	PDI
	BL-1	165	108	1.5
	BL-2	165	88	1.5
	BL-3	74	37	1.3

[#] Polymerisationsgrad (Zahlenmittel) des PB-Blocks; GPC. [§] Polymerisationsgrad des Polypeptid-Blocks; ¹H NMR. [§] Polydispersitätsindex; GPC.⁵⁵

4.3 ENTFERNUNG DER PEPTIDSCHUTZGRUPPEN

Für die Untersuchungen des Aggregationsverhaltens in wässriger Lösung war es erforderlich, die Schutzgruppen in den Polyaminosäuren (Z- bei Lysin und Benzyl-Schutzgruppe bei der Glutaminsäure) zu entfernen und dadurch die Blöcke in die ionische Form zu überführen. Dies ist jedoch aufgrund des hydrophoben synthetischen PB-Blocks mit einigen Problemen verbunden.

Zuerst konzentrierten sich die Versuche auf die Abspaltung der Schutzgruppe der Glutaminsäure durch katalytische Hydrierung unter milden Bedingungen (Abbildung 4-7).⁷⁸

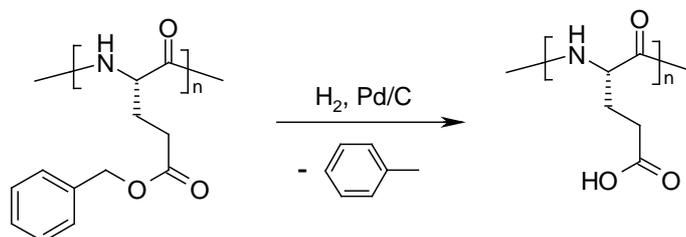


Abbildung 4-7 Reaktionsschema für die Abspaltung der Benzylschutzgruppe an der γ -ständigen Carboxylfunktion der Glutaminsäure durch katalytische Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle.

Als Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus DMF, Eisessig und Wasser (im Verhältnis von etwa 7/5/1 Verhältnis) verwendet. Als Katalysator diente Palladium auf Aktivkohle (10 %) und als Wasserstoffquelle Ammoniumformiat.⁷⁹ Die Reaktion wurde unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur zwei Tage lang durchgeführt. Um den Fortgang der Reaktion zu

überprüfen, wurden IR-Messungen durchgeführt. In den IR-Spektren war stets noch die Bande der Schwingung des Benzylesters ($\nu = 1729 \text{ cm}^{-1}$) zu sehen. Weder die Verlängerung der Reaktionszeit, noch die Erhöhung der Reaktionstemperatur und Änderung der Zusammensetzung des Lösemittelgemisches führte zu höheren Umsätzen. Aller Wahrscheinlichkeit nach, führte die sich ändernde Löslichkeit des Polypeptidblockes zur Bildung von Aggregaten, und nicht umgesetzte Gruppen wurden so vom Palladiumkatalysator abgeschirmt. Auf das Entschützen mit NaOH wurde verzichtet, weil dies mit einer unerwünschten Razemisierung der Aminosäuren verbunden ist.⁷²

Da für die Hydrolyse von PB-PBLG mit für diese Arbeit relevanten Blocklängenverhältnissen und Molmassen keine geeignete Bedingungen gefunden werden konnten, wurden die Untersuchungen auf PB-PZLlys konzentriert. Abspaltung ϵ -ständigen Benzoyloxycarbonyl (Z)-Funktion wurde mit Bromwasserstoffsäure in Eisessig (30 %) erreicht.^{80,81}

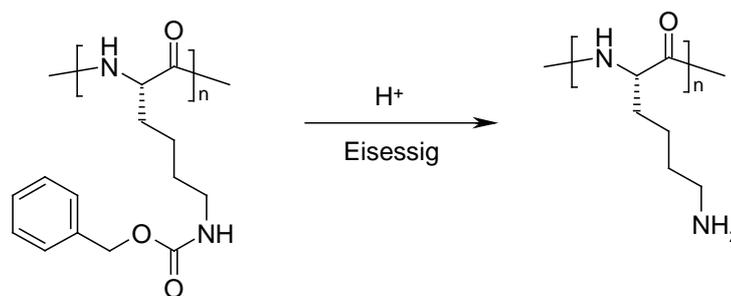


Abbildung 4-8 Reaktionsschema für die Abspaltung der ϵ -ständigen Benzoyloxycarbonyl (Z)-Aminschutzgruppe des Lysins

Um einen eventuellen Abbau des Peptids zu vermeiden, wurde die Reaktion auf eine Stunde limitiert. Nach der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch neutralisiert und mit verdünnter HCl versetzt. Dadurch konnten die freien Amine in Ammoniumchloride überführt werden, was die bessere Löslichkeit der Polymere in Wasser gewährleistet. Das Rohprodukt wurde (erschöpfend) dialysiert und anschließend aus Wasser gefriergetrocknet. Die Kontrolle der entschützten Blockcopolymere wurde mittels IR-Spektroskopie durchgeführt. Das Fehlen der Urethanbande ($\nu = 1729 \text{ cm}^{-1}$) zeigte die vollständige Umsetzung (Abbildung 4-9).

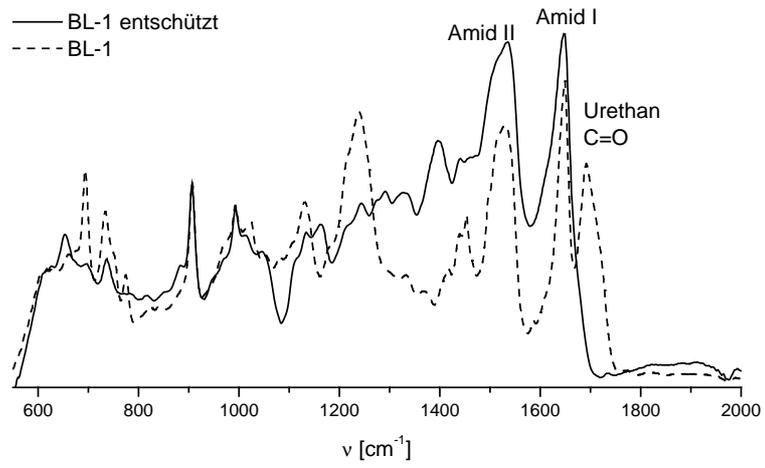


Abbildung 4-9 FT-IR-Spektren vor und nach Abspaltung der Z-Gruppe.

5 FESTPHASENSTRUKTUR

Einen besonderen Platz in der Materialforschung nehmen Untersuchungen zur Selbstorganisation von AB-Diblockcopolymeren in fester Phase ein. Durch geschickte Auswahl der nicht-mischbaren Komponenten A und B (Flory-Huggins-Parameter, χ), Blocklängen so wie des Blocklängenverhältnisses ist es möglich, gezielt Überstrukturen auf der Nanometerskala einzustellen.

In der Forschung werden mit steigendem Interesse Stäbchen-Knäuel-Systeme untersucht, bei denen die Inkompatibilität der Blocksegmente durch Asymmetrie in der Kettensteifigkeit, das Auftreten effektiver Dipolmomente und Chiralität verstärkt und die Phasenbildung beeinflusst wird. Dazu eignen sich sehr gut Blockcopolymeren auf der Basis von Polypeptiden. Abhängig vom Charakter der Seitengruppen der einzelnen Aminosäuren kann sich eine α -helikale Sekundärstruktur ausbilden, die neben Steifigkeit optische Aktivität und ein Dipolmoment entlang der Helixachse besitzt. Es ist zu erwarten, dass diese Klasse von Blockcopolymeren wegen der Entmischung beider Komponenten, den Packungseigenschaften des steifen Blocks, des Ausgleichs der Dipolmomente und der Fähigkeit, cholesterische Phasen zu induzieren, eine Vielfalt von Mesophasen ausbildet, wobei hierarchische Überstrukturen nicht ausgeschlossen sind.

Die hier durchgeführten Experimente konzentrieren sich auf die Untersuchung der Festkörperstrukturen von linearen Blockcopolymeren, die als Stäbchen Poly(N_ϵ -benzoyloxycarbonyl-L-lysin) (PZLLys) und Poly(L-glutaminsäure-5-benzylester) (PBLGlu) enthalten. Von besonderem Interesse erscheint hier der Einfluss der Kettenlängenverteilung sowie des chemischen und damit auch physikalischen Charakters des Polypeptidblocks auf die Phasenmorphologie; Polydispersität spielt bei niedermolekularen Flüssigkristallen keine Rolle. Dazu wurden Filme durch *solvent casting* hergestellt: Auflösen der Blockcopolymeren in einem nicht-selektiven Lösemittel (DMF oder Dioxan) und langsames Verdampfen der flüssigen Phase auf einer teflon-beschichteten (BYTAC[®]) Folie. Als Untersuchungsmethoden dienten Zirculardichroismus (CD), Polarisationsmikroskopie, Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS), Rasterkraftmikroskopie (AFM) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).

Erste systematische Arbeiten an AB-Polypeptid-Blockcopolymeren wurden von Gallot *et al.*^{50,82-85} mittels SAXS und IR-Spektroskopie durchgeführt. Als Polypeptidblöcke wurden PBGLu, PZLLys und deren hydrophiles Derivat Poly(L-lysin) eingesetzt. Das amorphe Knäuel bestand entweder aus Polystyrol (PS) oder dem weicheren Polybutadien (PB). Auf Grund von Röntgenmessungen an Gelen und festen Filmen konnte eine alternierend lamellare Morphologie festgestellt werden, unabhängig vom Blocklängenverhältnis und der Molmasse der Proben. Zusätzlich wurden SAXS-Signale detektiert, die auf eine hexagonale Anordnung von Stäbchen innerhalb der Schicht hindeuteten. Dies wurde einer hexagonal-dichtesten Packung von Peptid-Helices mit einem Durchmesser von 1,5 nm zugeordnet (Abbildung 5-1). Die Konformation des Polypeptidblocks wurde mittels IR-Spektroskopie festgestellt.



Abbildung 5-1. Schematische Darstellung der *hexagonal-in-lamellaren* Morphologie von Polyvinyl-Polypeptid-Blockcopolymeren.

Auf Grund von geometrischen Überlegungen und Vergleichen der berechneten Helixlänge mit der Dicke der Peptidschicht (SAXS) wurden verschiedene Modelle der Anordnung der Stäbchen postuliert: interdigitiert, *face-to-face*, relativ zur Grenzfläche gekippte Stäbchen oder Rückfaltung. Dies kann mit der Minimierung der Energie durch Ausgleich effektiver Dipolmomente erklärt werden, die in der hexagonalen Packung keine optimale Anordnung findet.

Die Untersuchungen von Hayashi *et al.*^{86,87} an ABA-Triblockcopolymeren mit zentralem Polybutadien-Segment haben erwiesen, dass neben einer lamellaren Phase bei bestimmtem Blocklängenverhältnis auch stark gekrümmte Strukturen, nämlich Sphären oder Zylinder aus einem amorphen mittleren Block, in der Matrix aus hexagonal geordneten Peptidhelices, existieren.

Klok *et al.*⁸⁸ beobachteten für PS-PBGLu Oligomere einen zusätzlichen SAXS-Peak, der auf eine *doppelt-hexagonale*-Überstruktur zurückgeführt wurde. Im Weitwinkel-Bereich traten

außerdem Signale auf, die mit einer lamellaren Anordnung von Peptidoligomeren mit β -Sheet-Konformation korrelieren.

5.1 EINFLUSS DER POLYDISPERSITÄT AUF DIE MESOPHASEN

Die folgenden Untersuchungen basieren auf den Vorarbeiten von Kukula *et al.*⁸⁹ Die hergestellten Filme aus PS-PZLLys) wurden mittels SAXS, CD, TEM und AFM charakterisiert. In Kleinwinkelbereich der Röntgenstreuung wurden nur diffuse Signale für eine lamellare Struktur detektiert, dennoch zeigte sich in AFM-Bildern eine langreichweitige Ordnung der Lamellen. Aufgrund der Reflexe im WAXS-Bereich konnte eine hexagonale Anordnung der Helices innerhalb der Polypeptidschicht nachgewiesen werden (Abbildung 5-2).

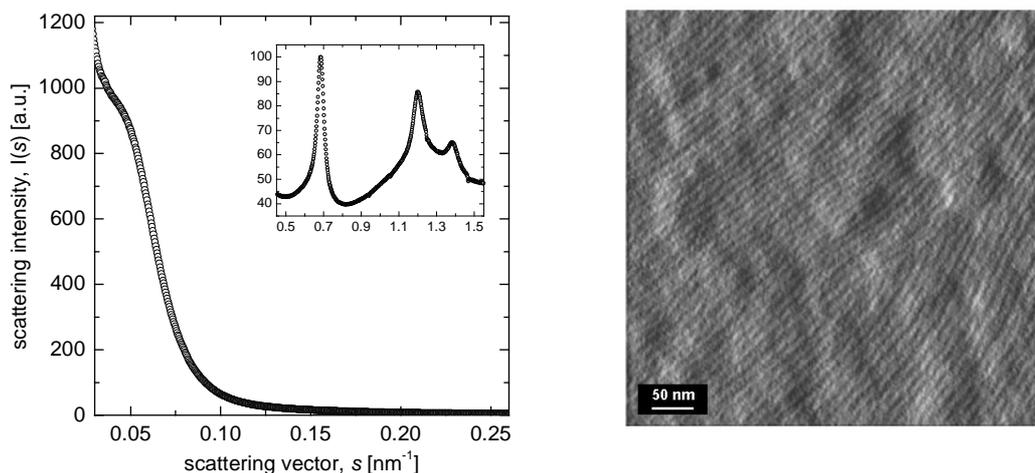


Abbildung 5-2 Links: Radial gemittelt SAXS-Diffraktogramm eines Films aus PS-PZLLys SL1 (Tabelle 5.1-1). Die Einfügung zeigt die ersten drei Reflexe der hexagonalen Packung der PZLLys-Helices. Rechts: AFM Amplitudenbild ($0.5 \times 0.5 \mu\text{m}$) eines Films SL1, der durch *spin-coating* einer 2 gew.-%-igen DMF-Lösung auf einen Siliziumträger hergestellt wurde (Ausrichtung der Lamellen orthogonal zur Oberfläche).

Anhand dieser Messergebnisse konnten die früheren Erkenntnisse von Gallot *et al.* in wesentlichen Punkten bestätigt werden. Es kann angenommen werden, dass die *hexagonal-in-lamellare* Morphologie für dieses System die energetisch günstigste Anordnung darstellt, unabhängig von der Zusammensetzung der Blockcopolymere. Die „Diskrepanz“ zwischen den Ergebnissen aus SAXS und AFM wurden auf statistische Fluktuationen in der Dicke der Polypeptidschicht zurückgeführt,⁹ die, so eine erste Vermutung, von der

Kettenlängenverteilung des rigiden Peptidblockes hervorgerufen werden (Abbildung 5-3). Dieser Effekt sollte hier im Detail untersucht werden.



Abbildung 5-3 Schematische Darstellung der *hexagonal-in-onduliert lamellaren* Morphologie von linearen PS-PZLLys-Blockcopolymeren.

Die im diesen Kapitel zu Herstellung der Filme eingesetzten Proben sind in Tabelle 5.1-1 aufgeführt. Sie unterscheiden sich neben den Molmassen und der Zusammensetzung vor allem in der Molmassenverteilung. Die absoluten Verteilungen bzw. Polydispersitätsindices (PDI) wurden mit Gelpermeationschromatographie (GPC; Eluent: DMA + 0.5 Gew.-% LiBr, 70°C, Säulen: PSS-GRAM, Detektoren: UV und RI; Auswertemethode nach Schlaad und Kilz)⁵⁵ bestimmt (Abbildung 5-4). Die Helixanteile wurden mittels CD-Spektroskopie ermittelt (Greenfield und Fasman).⁵⁶

Tabelle 5.1-1 Molekulare Parameter der untersuchten linearen PS-PZLLys Blockcopolymeren.

Chemische Struktur	Probe	$x^{\#}$	z^{\S}	$f_z^{\&}$	PDI [§]	% Helix [*]
	SL-1	52	69	0.57	1.64	65
	SL-2	52	111	0.68	1.27	90
	SL-3	52	60	0.54	1.24	90
	SL-4	52	50	0.49	~1.01	95
	SL-5	52	40	0.43	~1.01	85

[#] Polymerisationsgrad (Zahlenmittel) des PS-Blocks; GPC. [§] Polymerisationsgrad des PZLLys-Blocks; ¹H NMR. [&] Molenbruch der ZLLys-Einheiten im Copolymer. [§] Polydispersitätsindex; GPC.⁵⁵ ^{*} Anteile an α -Helix im Polypeptidblock; CD.⁵⁶

Die festen Filme wurden mit SAXS untersucht und die 2-dimensionalen Beugungsbilder, radial gemittelt in Form einer Kurve dargestellt (Abbildung 5-5). Aus den Lagen der Intensitätsmaxima ergibt sich die Langperiode (d) der lamellaren Struktur.

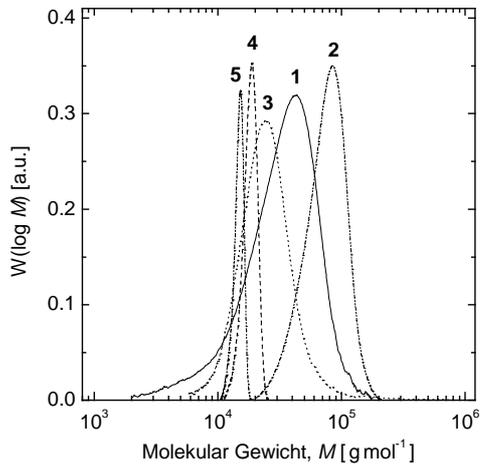


Abbildung 5-4 Molmassenverteilung der PS-PZLLys Proben SL-1 bis SL-5 (Tabelle 5.1-1).

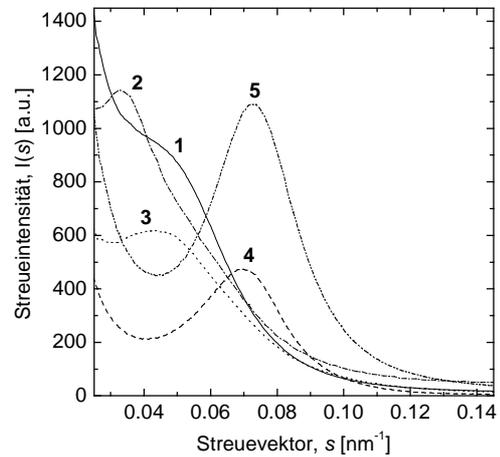


Abbildung 5-5 Radial-gemittelte SAXS Kurven für die Filme SL-1 bis SL-5.

Basierend auf dem Konzept der Grenzflächenverteilungsfunktion von Ruland^{90,91} ist es dann möglich, bei Kenntnis der Porod-Länge l_p und des Volumenbruchs ϕ die Dicken einzelnen Schichten innerhalb einer Lamelle zu ermitteln:

$$d_S = l_p / 2\phi \quad \text{Gl. 5.1-1}$$

$$d_L = l_p / 2(1-\phi) \quad \text{Gl. 5.1-2}$$

$$d = d_S + d_L \quad \text{Gl. 5.1-3}$$

Die Ergebnisse für die Filme SL-1 bis SL-5 sind in Tabelle 5.1-2 zusammengestellt.

Tabelle 5.1-2 Resultate der SAXS-Analyse von PS-PZLLys-Filmen.

Probe	$\phi_L^{\#}$	d (nm) [§]	d_S (nm) ^{&}	d_L (nm) ^{&}	κ^*	l^*
SL-1	0.74	16.7	4.5	12.2	1.2 ± 0.1	2.0 ± 0.2
SL-2	0.82	29.4	4.8	21.7	1.9 ± 0.2	2.2 ± 0.2
SL-3	0.71	14.1	3.5	10.6	1.8 ± 0.2	2.0 ± 0.1
SL-4	0.68	13.4	3.7	9.7	1.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1
SL-5	0.63	12.1	3.9	8.2	0.8 ± 0.1	2.0 ± 0.1

[#] Volumenbruch von ZLLys in dem Copolymer (zur Kalkulation eingesetzte Dichten: $\rho/g\text{ cm}^{-3} = 1.090$ (PS) und 1.265 (PZLLys), ermittelt mit Dichteschwinger in DMF bei $+40\text{ }^\circ\text{C}$).⁸⁹ [§] Langperiode der PS-PZLLys-Lamelle (SAXS). [&] Dicke der einzelnen Schichten: PS (d_S) und PZLLys (d_L), experimenteller Fehler: $\pm 10\%$.⁹⁰ ^{*} Normierte mittlere Krümmung (κ) und spezifische Grenzfläche (l).⁶⁶

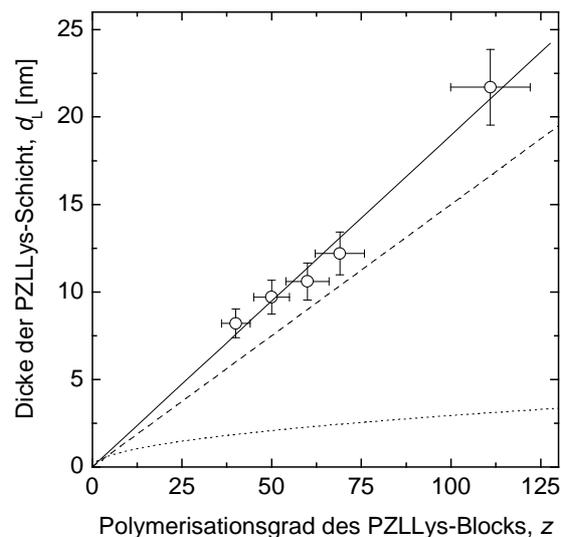


Abbildung 5-6 Abhängigkeit der Polypeptidschichtdicke (d_L , SAXS) vom Zahlenmittel des Polymerisationsgrads des PZLLys-Blocks (z , NMR) Durchgezogene Linie: lineare Anpassung der experimentellen Daten, Steigung: 0.19 ± 0.02 nm. Gestrichelte Linie: $d_L/\text{nm} = 0.15 \cdot z$, berechnete PZLLys-Schichtdicke bei vollgestreckter Helix mit einer Helixhöhe von 0.15 nm pro ZLLys-Einheit.⁵⁰ Gepunktete Linie: $d_L/\text{nm} \sim 2R_g = (2/3)^{0.5} l_L z^{0.5}$, berechnete PZLLys-Schichtdicke bei Knäuelkonformation (R_g : Gyrationradius, $l_L = 0.36$ nm: Segmentlänge ZLLys).

Die Dimension d_L der PZLLys-Schicht zeigt eine lineare Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad des Polypeptidblocks. Aus der Steigung ergibt sich die Ganghöhe der Helix pro Aminosäure zu $1,9 \text{ \AA} \pm 0,2 \text{ \AA}$, sie ist damit geringfügig aber signifikant größer als die einer

kristallinen Polypeptid α -(18₅)-Helix (1,5 Å). Dies kann mit amorphen Anteilen des Peptids innerhalb der kristallinen Phase erklärt werden und lässt sich mit dem Modell interdigitierender, orthogonal zur Grenzfläche geordneter Stäbchen vereinbaren. Die von Gallot postulierte Rückfaltung wurde somit für PZLLys-Blockcopolymeren mit der Stäbchenlänge bis 20 nm nicht gefunden. Die interdigitierende Anordnung (als auch Rückfaltung) ist durch das Dipolmoment von 3,5 Debye/Aminosäure³³ entlang der Helixachse zu erklären. Da es nicht möglich ist, lokale Dipolmomente in hexagonaler Anordnung völlig auszugleichen, sollten die Stäbchen in der Länge begrenzt und somit auch die Lamellendicke limitiert sein.

Gallot *et al.* beobachtete mit SAXS für die Filme sorgfältig fraktionierter Blockcopolymer-Proben lamellare Peaks bis zur 7-ten Ordnung. Eine Erklärung kann in der Tatsache liegen, dass die Polypeptidstäbchen aufgrund der engen Molmassenverteilung steife Lamellen mit hoch definierter Persistenzlänge in der Mesophase gebildet haben. Die hier untersuchten, nicht fraktionierten Proben ergaben meistens nur einen breiten Reflex erster Ordnung. Bei höheren Molekulargewichten konnte zusätzlich ein schwacher Peak 2-ter Ordnung detektiert werden. Dies ist jedoch kein zwingender Beweis für ein geringeres Maß an Entmischung. Die gemessene Streuintensität setzt sich aus dem Produkt des Formfaktors, der auf die Form und Größe eines Streukörpers zurückgeht, und des Strukturfaktors zusammen, der die Anordnung der Streukörper untereinander einbezieht. Die Auslöschung von Reflexen höherer Ordnung kann daher auf eine bestimmte Elektronendichteverteilung innerhalb der Schicht zurückgehen oder auf auch nur geringste Dichteveränderung in der Langperiode oder der Schichtdicke. Unter der Annahme einer *hexagonal-in-lamellaren* Morphologie mit der „Beimischung“ amorpher Anteile mit geringer Dichte (zur Erinnerung: die Helices besitzen einen eigenen Formfaktor, der durch Elektronendichteverteilung entlang des Stäbchenradius bestimmt ist), kann die Elektronendichteverteilung innerhalb der Phase Fluktuationen aufweisen, was unter Umständen trotz der starken Entmischung auch zu einer Verringerung der Streuintensität führt (Abbildung 5-7). Die Verbreiterung der Reflexe ist einerseits von der Domänengröße, andererseits von den Ondulationen bei konstanter Langperiode abhängig.

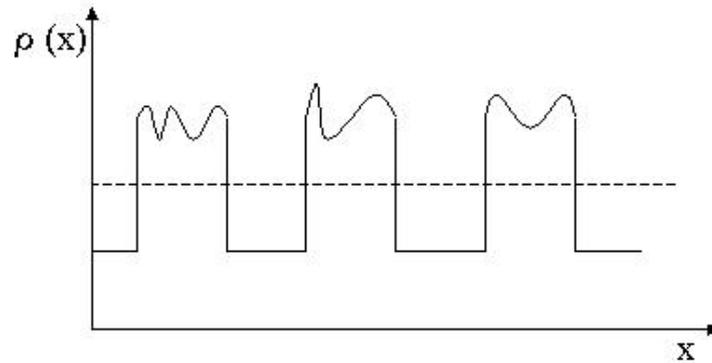


Abbildung 5-7 Elektronendichteverteilung für stark entmischte Systeme mit Elektronendichtefluktuationen innerhalb einer Phase.

Um nun den Einfluss der Polydispersität in der Stäbchenlänge der Blockcopolymeren auf Phasenbildung zu untersuchen, wurden SAXS-Daten mit dem *kappa-iota*-(κ - ι)-Formalismus von Burger *et al.*⁹² analysiert. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass auch schwach geordnete Systeme charakterisiert werden können. Insbesondere kann jede Art der Änderung der Topologie erfasst werden. Ondulierte Strukturen können mit dieser Methode von glatten Morphologien unterschieden werden, auch wenn die Ondulationen nicht geordnet sind. Es muss allerdings starke Entmischung vorliegen, die Phasengrenzen müssen also scharf sein. Diese Bedingung erfüllt das hier untersuchte System PS-PZLLys.

Die Methode basiert auf der Extraktion charakteristischer geometrischer Größen aus dem asymptotischen Porod-Bereich, und zwar den dimensionslosen Parametern der Grenzflächenkrümmung (κ) und der spezifischen Grenzfläche (ι). Diese Größen definieren die Strukturen in einem universellen Phasendiagramm, welches die meisten bekannten Morphologien von Blockcopolymeren beinhaltet (siehe Abbildung 5-8). Die lokale Grenzfläche und deren Krümmung sollten sich dabei schnell einstellen und vom Herstellungsweg unabhängig sein. Die Ergebnisse für SL-1 bis SL-5 sind in Tabelle 5.1-2 zusammengefasst und in das universelle Phasendiagramm in Abbildung 5-8 eingetragen.

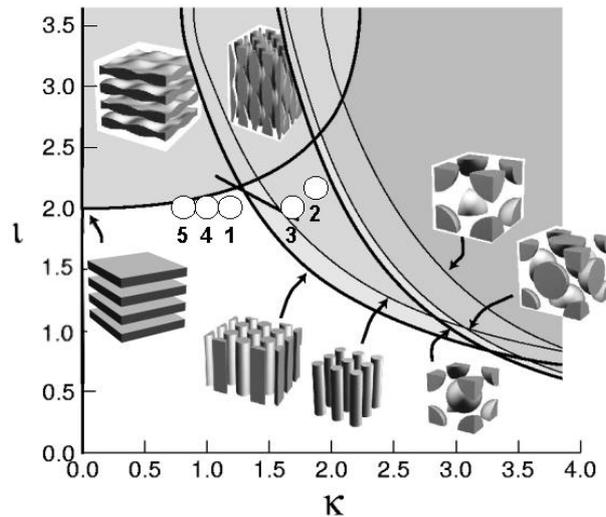


Abbildung 5-8 Experimentelle κ - ι -Werte für die Filme SL-1 bis SL-5, eingefügt in das universelle Phasendiagramm.⁶⁶

Der Wert der reduzierten spezifischen Grenzfläche beträgt jeweils $\iota = 2,0$ (SL-2 = 2,2), was für das Vorliegen glatter Lamellen spricht. Unabhängig davon weisen aber alle Strukturen nennenswerte Grenzflächenkrümmungswerte $\kappa = 0,8-1,9$ auf. Als das am besten geeignete Modell zur Beschreibung einer „gekrümmt“ lamellaren Struktur ($\kappa > 1$) mit minimaler Grenzfläche ($\iota = 2,0$) erscheint eine ungeordnete *zick-zack*-Morphologie (Abbildung 5-9); hierbei sind Bereiche mit glatter Grenzfläche durch „Knicke“ unterbrochen. Ähnliche Mesophasen, allerdings auf einer viel größeren Längenskala (100-200 nm), wurden für Polystyrol-Poly(hexylisocyanat)-Blockcopolymeren gefunden.^{93,94} Die Existenz von glatten Grenzflächen zwischen den Knicken lässt auf eine Fraktionierung der Polymerketten nach der Länge der PZLLys-Helices schließen. Gegen die Bildung einer rauhen Grenzfläche spricht eine ungünstige Gesamtenergiebilanz (größere Grenzfläche) und $\iota = 2,0$.

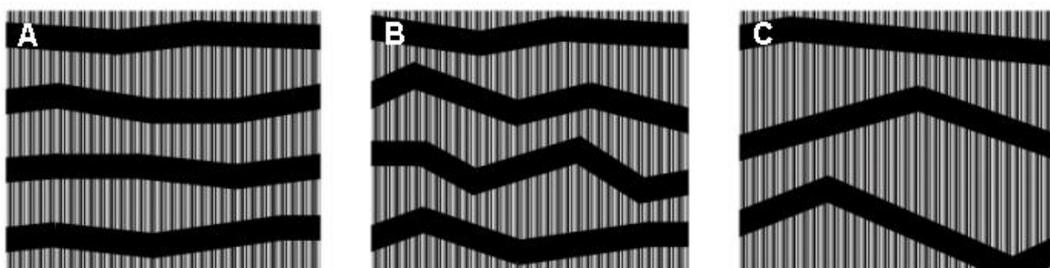


Abbildung 5-9 Schematische Darstellung der ungeordneten *zick-zack*-Morphologie von PS-PZLLys-Blockcopolymeren mit niedriger (A), moderater (B), und hoher Polydispersität (C) bezüglich der Längensverteilungen der PZLLys-Helices.

Aus der Auswertung ist der Zusammenhang zwischen der Polydispersität des Polypeptidblocks und der Grenzflächenkrümmung deutlich zu sehen. Die Strukturen mit niedrigstem κ entstanden aus fast monodispersen Blockcopolymeren: SL-4 (1,0) und SL-5 (0,8) mit PDI \sim 1,01. Die größten κ -Werte wurden dagegen bei den moderat verteilten Proben SL-2 (1,9) und SL-3 (1,8) (PDI \sim 1,25) gefunden. Die Verbreiterung der Längenverteilung der rigiden Mesogene verursacht größere Fluktuationen in der PZLLys-Schicht, d.h. mehr Knicke und eine stärkere Krümmung (Abbildung 5-9, A und B). Dieser Mechanismus findet so lange statt, wie der entropische Beitrag zur freien Energie größer ist als der der Grenzflächenspannung. Jede Krümmungszunahme bedeutet eine Vergrößerung der Grenzfläche zwischen den PS und PZLLys-Schichten. Ist die Molekulargewichtverteilung zu breit, wie bei Probe SL-1 (PDI = 1,6), werden Lamellen mit moderater Krümmung gebildet ($\kappa = 1,2$). Die Zahl der Knicke pro Volumeneinheit muss aus energetischen Gründen abnehmen, was mit der Zunahme von glatten Abschnitten der Fläche verbunden ist (Abbildung 5-9, C). Die Fraktionierung der Blockcopolymeren erfolgt parallel zu der Grenzfläche, d.h. alle PZLLys-Schichten haben die gleiche mittlere Dicke. Der Grenzfall perfekt glatter Lamellen mit jeweils unterschiedlicher Dicke kann hier ausgeschlossen werden; für diese Morphologie gilt $\kappa = 0$ und $\nu = 2$. Dieses Fall wird in dünnen Filmen beobachtet (Kapitel 5.2.2).

Der Befund, dass selbst die Proben mit Poisson-Verteilung trotz starker Entmischung und langreichweitiger Ordnung nur breite SAXS-Peaks erster Ordnung liefern, macht weitere systematische Untersuchungen notwendig. Basierend auf den hier vorgestellten Modellen, sollten Proben mit streng monodispersen PZLLys-Block dann Peaks höherer Ordnung zeigen. Diese Untersuchungen konnten im Rahmen dieser Arbeit allerdings nicht mehr angestellt werden.

Die Tatsache, dass die Kettenlängenverteilung erheblichen Einfluss auf die Strukturbildung nehmen kann, wirft grundsätzliche Fragen hinsichtlich des Phasenverhaltens von Knäuel-Stäbchen Blockcopolymeren auf. Es sei hier nur darauf hingewiesen, dass sich viele Beispiele aus der Literatur auf Proben beziehen, die durch Polykondensation hergestellt wurden, denen also eine Schulz-Flory (PDI = 2) oder noch breitere Verteilung zugrunde liegt. Jegliche Abweichungen vom vorhergesagten Phasenverhalten (vergl. Gersappe et al. ⁹⁵) oder das Auftreten neuer, ungewöhnlicher Morphologien könnten schlicht durch Polydispersitätseffekte erklärt werden.

5.2 EINFLUSS DER CHIRALITÄT DER MESOGENE AUF DIE MESOPHASEN

Im folgenden wird der Einfluss der Chiralität der Mesogene auf die Phasenmorphologie betrachtet. Dazu wurde PBLGlu als Modellverbindung gewählt, dessen semiflüssigkristallines Verhalten bereits mehrfach in der Literatur beschrieben wurde.⁹⁶ Da, wie auch bei vielen anderen polymeren Flüssigkristallen, die Zersetzungstemperatur unterhalb der Schmelztemperatur der geordneten Phase liegt, wurde die Strukturbildung in organischen Lösemitteln untersucht.⁹⁶⁻¹⁰⁰

Schon 1956 hat Flory *et al.*¹⁰¹ das theoretische Phasendiagramm für Stäbchen in einem Lösemittel beschrieben. Darin enthalten ist eine Koexistenz von isotroper und flüssigkristalliner Phase, welche 20 Jahre später von Möller *et al.*¹⁰² auch experimentell bestätigt werden konnte. Die Phasenbildung hängt von der Wechselwirkung zwischen dem Polymer und der kontinuierlichen Phase ab, sowie von der Konzentration, Temperatur, Stäbchenlänge und Polydispersität der Polymerketten.¹⁰³⁻¹⁰⁹ Die bisherigen Untersuchungen haben gezeigt, dass PBLGlu überwiegend cholesterische Mesophasen bildet,^{110,111} in denen eine Koexistenz hexagonaler Domänen zulässig ist und zur sogenannten *twisted grain boundary* (TGB) Phase führt.¹¹² Die Arbeiten von Tirell *et al.*^{113,114} haben ergeben, dass streng monodisperse PBLGlu-Proben neue smektische Strukturen ausbilden, die zusätzlich einen chiralen Charakter haben und als TGB-ähnliche Phasen erfasst werden können (Abbildung 5-10).

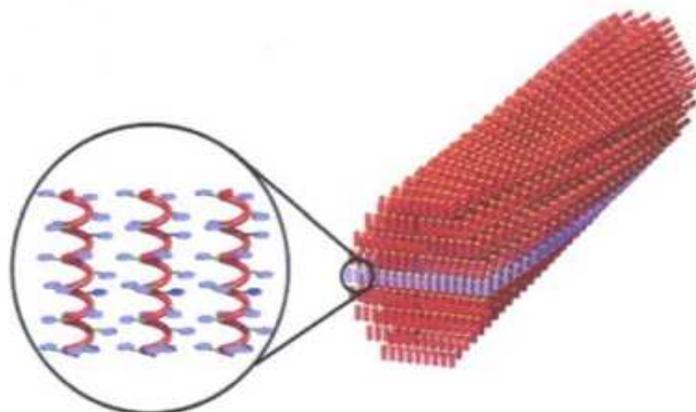


Abbildung 5-10. Schematische Darstellung der TGB-ähnlichen Festphasen-Morphologie eines monodispersen PBLGlu.^{114,115}

PBLGlu als auch PZLLys bilden in organischen Lösemitteln helikale Stäbchen. Der Unterschied zwischen diesen Polypeptiden liegt im chemischen Charakter der Seitengruppen und deren räumlicher Anordnung. Mit Hilfe computersimulierter Bilder konnte der strukturelle Aufbau beider Homopolymere sichtbar gemacht werden (Abbildung 5-11 und Abbildung 5-12). Beide Homopolypeptide bilden eine rechtsgängige 18_5 -Helix, deren Rückgrad durch Wasserstoffbindungen stabilisiert ist. Während bei PZLLys die Benzylringe aufgrund der Entfernung von der Helixachse frei im Raum „schweben“ können (Abbildung 5-11), sind die PBLGlu so zueinander versetzt, dass π - π Wechselwirkungen auftreten können (Abbildung 5-12). Dies führt zur Stauchung der PBLGlu-Helix entlang der Längsachse um etwa 20% und damit zur weiteren Stabilisierung der Sekundärstruktur; der Durchmesser der Helix bleibt davon unberührt ($\varnothing = 2,5$ nm). Die daraus resultierende Änderung der Polarisierbarkeit (Dielektrizitätskonstante) hat dann Einfluss auf die Polymer-Lösemittel bzw. Polymer-Polymer Wechselwirkungen. Die Seitengruppen bei PZLLys sind „rechtsgängig“ angeordnet während sie bei PBLGlu in entgegengesetzter Richtung zur Hauptachse, „linksgängig“, verlaufen. Die entlang der Helixachse gemittelte und auf Polymerisationsgrad normierte Elektronendichte und deren Verteilung entlang des Radius ist für beide Polypeptide unterschiedlich. Es ist somit anzunehmen, dass die individuellen Eigenschaften der Peptidhelices die Phasentstehung maßgeblich beeinflussen.

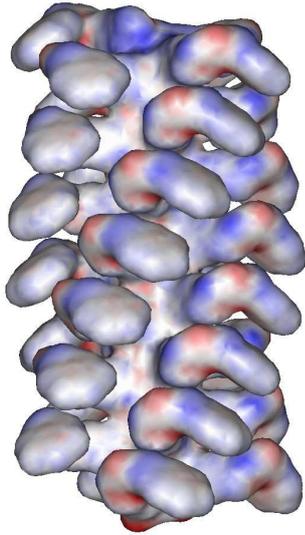


Abbildung 5-11. Computersimulation (Cerius²) einer PZLLys₃₀-Helix der Länge $h = 4,3$ nm und Durchmesser $\varnothing = 2,5$ nm.

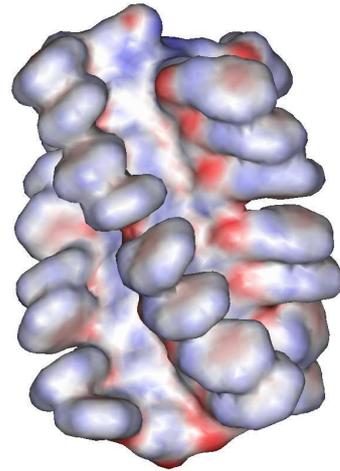


Abbildung 5-12. Computersimulation (Cerius²) einer PBLGlu₃₀-Helix der Länge $h = 3,4$ nm und Durchmesser $\varnothing = 2,5$ nm.

5.2.1 PHASENVERHALTEN IN BULK

Im folgenden werden PS-PBLGlu Blockcopolymerer auf ihr Verhalten in fester Phase untersucht und dem von PS-PZLLys gegenübergestellt. Die in dieser Serie eingesetzten Polymere sind in Tabelle 5.2-1 aufgelistet.

Tabelle 5.2-1 Molekulare Parameter der untersuchten linearen PS-*b*-PBLGlu Blockcopolymerer.

Chemische Struktur	Probe	$x^{\#}$	z^{\S}	$f_z^{\#}$
	SG-1	52	104	0.68
	SG-2	52	90	0.63
	SG-3	40	80	0.67
	SG-4	52	29	0.36
	SG-5	218	598	0.73
	SG-6	258	26	0.10
	SG-7	258	84	0.25
	SG-8	388	43	0.10

[#] Polymerisationsgrad des PS-Blocks; GPC. [§] Polymerisationsgrad des PBLGlu-Blocks; ¹H NMR. & Molenbruch von BLGlu im Copolymer.

Die Voruntersuchungen wurden mittels Polarisationsmikroskopie durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden aus 10-30 gew.-%igen Polymerlösungen Filme auf Objektträgern hergestellt. Die Ränder zwischen Objekt- und Deckglas wurden mit einem schnellhärtenden Zweikomponentenharz abgedichtet, um den Austrocknungsprozess zu verlangsamen bzw. zu verhindern. Bereits in der flüssigen Phase konnten doppelbrechende Domänen in einer isotropen Matrix beobachtet werden. Das Polymer mit dem kürzesten Polypeptidblock (SG-4, $z = 25$) bildete sogenannte Malteser-Kreuze (Abbildung 5-13), die auf lamellare Domänen deuten. Die Probe mit langem Block (SG-5, $z = 550$) ergab cholesterische *droplets*, die für getwistete cholesterische Phasen charakteristisch sind (Abbildung 5-14).

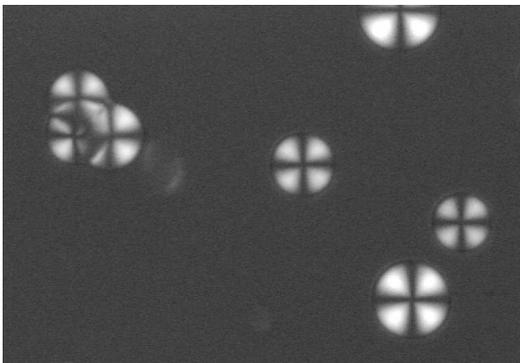


Abbildung 5-13 Polarisationsmikroskopische Aufnahme (gekreuzte Polarisatoren) von SG-4 in Dioxan: Malteser-Kreuze, charakteristisch für lamellare Phase.

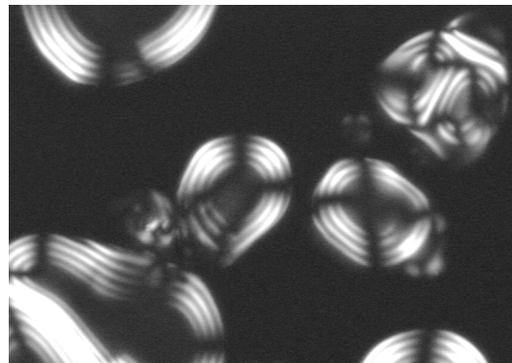


Abbildung 5-14 Polarisationsmikroskopische Aufnahme (gekreuzte Polarisatoren) von SG-5, in Dioxan: cholesterische *droplets*, charakteristisch für chirale Phase.

Die Untersuchungen der festen Filme zeigten eine starke Polymorphie der Proben. Je nach Molmasse, Blocklängenverhältnis, Güte des Lösemittels und Herstellungszeit konnte eine Vielfalt von Texturen beobachtet werden, die auf verschiedene Morphologien hinweisen (Abbildung 5-15 und Abbildung 5-16). Wie aus den Polarisationsbildern ersichtlich ist, können in der Molmasse ähnliche Polymere (SG-2 und SG-3) sowohl hexagonale als auch cholesterische Phasen bilden.

Somit konnte für PS-PBLGlu-Blockcopolymeren die Ausbildung lamellarer, smektischer, cholesterischer und hexagonaler Überstrukturen auf makroskopischer Längenskala nachgewiesen werden.

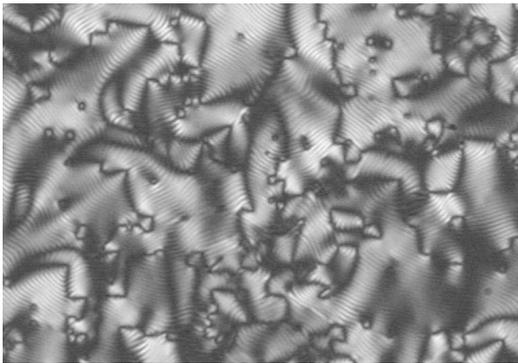


Abbildung 5-15 Polarisationsmikroskopische Aufnahme (gekreuzte Polarisatoren) eines festen Films von SG-2 (aus Dioxan): *Fingerprint*-Textur, charakteristisch für cholesterische Phase.

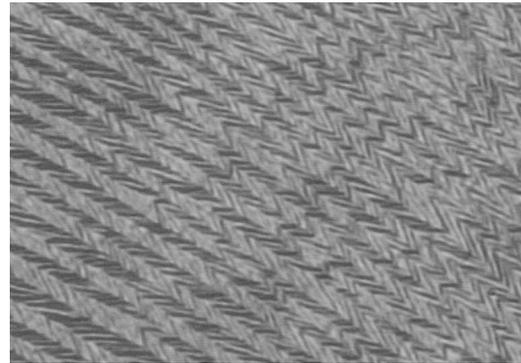


Abbildung 5-16 Polarisationsmikroskopische Aufnahme (gekreuzte Polarisatoren) eines festen Films von SG-3 (aus Chloroform): *Herringbone*-Textur, charakteristisch für hexagonale Phase.

Um genauere Aussagen über die Morphologie treffen zu können, wurden analog zu den oben beschriebenen PS-PZLLys-Proben dicke Filme hergestellt und mit SAXS untersucht. Die Streureflexe werden in Form eines Diagramm dargestellt und die für die Strukturen charakteristische Werte in der Tabelle zusammengefasst.

Die festen Filme zeigten, im Gegensatz zu früher untersuchten PS-PZLLys-Blockcopolymeren, zwischen gekreuzten Polarisatoren farbige Texturen, die jedoch wegen ihrer Dicke nicht identifiziert werden konnten, aber auf eine langreichweitige anisotrope Ordnung hinweisen. Für alle hier untersuchten Filme aus PS-PBLGlu-Blockcopolymeren konnten im SAXS-Bereich Peaks erster Ordnung einer lamellaren Phase detektiert werden.

Aus dem Vergleich der SAXS-Kurven für zwei Filme von SG-8, die aus Dioxan bzw. Benzylalkohol hergestellt wurden (Abbildung 5-17), ergibt sich kein signifikanter Einfluss des Lösemittels auf die Langperiode der Lamelle: $d = 24$ nm (Dioxan) und 27 nm (Benzylalkohol). Der geringe Unterschied in der Langperiode könnte auf unterschiedliche Geschwindigkeiten bei der Phasenbildung (unterschiedliche Dampfdrücke der Lösemittel) oder eventuelle Lösemittelreste im Film zurückgeführt werden.

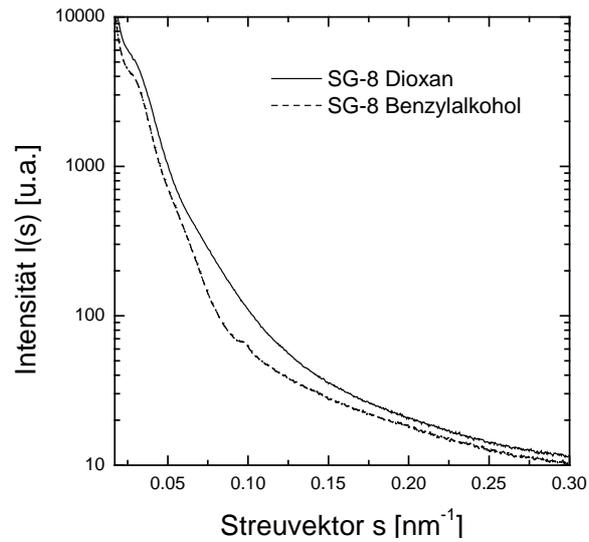


Abbildung 5-17 Radial-gemittelte SAXS Kurven von PS-PBLGlu Probe SG-8 aus Dioxan und Benzylalkohol.

Weitere Untersuchungen zeigen starke Korrelation zwischen Blocklängen und der Schichtdicke der Lamelle (Abbildung 5-18).

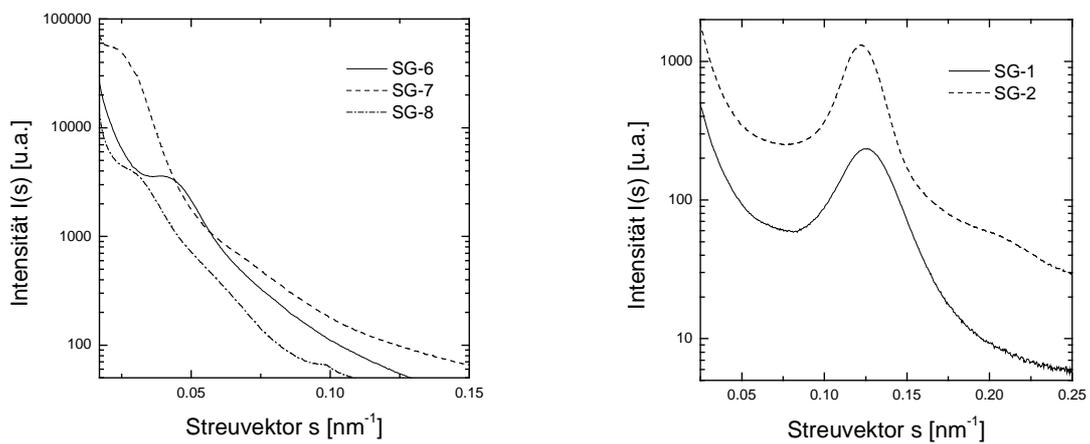


Abbildung 5-18 Radial gemittelte SAXS Kurven von PS-PBLGlu Proben. Links: SG-6 bis SG-8. Rechts: SG-1 und SG-2.

Tabelle 5.2-2 Mit SAXS ermittelte Langperioden (d) der PS-PBLGlu-Filme SG-1, 2, 6-8.

Probe	$x^{\#}$	$z^{\$}$	d (nm)	Lösemittel
SG-1	52	104	8.3	DMF
SG-2	52	90	8.7	Dioxan
SG-6	258	26	21	Dioxan
SG-7	258	84	32	Dioxan
SG-8	388	43	24	Dioxan

[#] Polymerisationsgrad des PS-Blocks. ^{\$} Polymerisationsgrad des PBLGlu-Blocks.

Der Vergleich der Filme der PS-PZLLys und PS-PBLGlu Blockcopolymerer zeigt deutliche Unterschiede in der Dimension der Lamellen. Die Langperioden und Schichtdicken sind, bei sonst vergleichbaren Blocklängen, für PS-PBLGlu (SG-1 und SG-2) um einen Faktor zwei kleiner als für PZLLys (SL-1 und SL-2) (Tabelle 5.2-3). Wie schon erwähnt, sind zwar die Radien beider Helices vergleichbar, die auf Monomere normierte Helixhöhe unterscheidet sich aber um etwa 20%. Diese Differenz ist jedoch nicht groß genug um dieses Phänomen zu verursachen. Die Abnahme der Schichtdicken kann nur mit einer einfachen (interdigitierende Anordnung) oder dreifachen Rückfaltung (*face-to-face*) der PBLGlu-Helix erklärt werden (entsprechend den Ergebnissen von Gallot et al.). Dabei kann die Existenz eines Tiltwinkels der Stäbchen zur Grenzfläche nicht ausgeschlossen werden.

Tabelle 5.2-3 Resultate der SAXS-Analyse von PS-PZLLys- und PS-PBLGlu-Filmen.

Probe	$\phi_L^{\#}$	d (nm) ^{\$}	d_S (nm) ^{&}	d_L (nm) ^{&}	κ^*	l^*
SL-1	0.74	16.7	4.5	12.2	1.2	2.0
SL-2	0.82	29.4	4.8	21.7	1.9	2.2
SG-1	0.79	8,3	1.75	5.9	1.7	2.2
SG-2	0.76	8,7	2.0	6.0	2.0	2.2

[#] Volumenbruch der Peptidkomponente im Copolymer.⁸⁹ ^{\$} Langperiode der PS-Polypeptid-Lamelle.

[&] Dicke der einzelnen Schichten: PS (d_S) und Polypeptid (d_L), experimenteller Fehler: $\pm 10\%$.⁹⁰ ^{*} Normierte mittlere Krümmung (κ) und spezifische Grenzfläche (l).⁶⁶

Die Reflexe im WAXS-Bereich konnten in Gegensatz zu PS-b-PZLLys (Abbildung 5-19) in keiner Weise der hexagonalen Packung zugeordnet werden. Wegen fehlender Signale höherer Ordnung war es nicht möglich, die Anordnung der Stäbchen innerhalb der Peptidschicht eindeutig zu bestimmen (Abbildung 5-19).

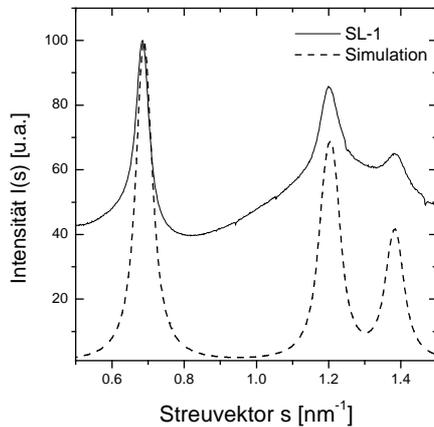


Abbildung 5-19 Durchgezogene Linie: radial gemittelte SAXS Signal von SL-1
Gestrichene Linie: Cerius²-Simulation für eine triklone Zelle mit $a = 1.688 \text{ nm}$, $b = 1.645 \text{ nm}$ $\alpha = \beta = 90^\circ$ und $\gamma = 120^\circ$ und dem Tilt von $1,5^\circ$.

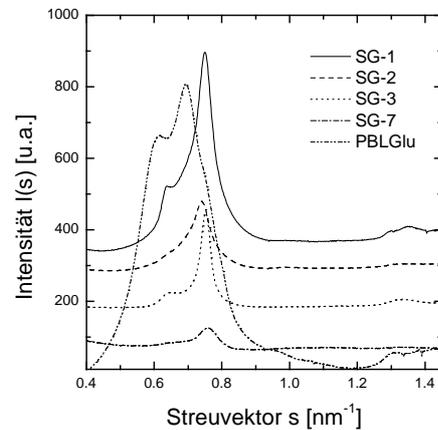
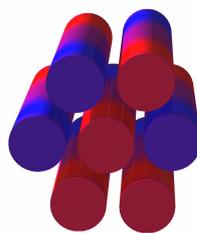
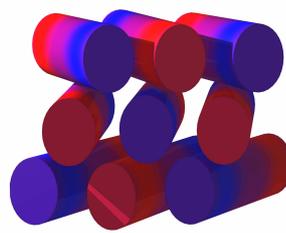


Abbildung 5-20 Radial gemittelte SAXS Kurven von PS-PBLGlu-Filmen und PBLGlu.

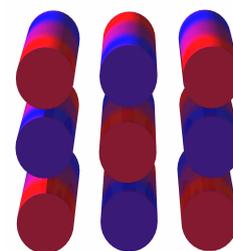
Die Reflexe lassen sich jedoch mit einer monoklinen oder tetragonalen Orientierung der Helices zueinander vereinbaren (Abbildung 5-21).



Hexagonal



Monoklin



Quadratisch

Abbildung 5-21 Modelle für die Packung der Helices innerhalb der Polypeptidschicht. Der farbige Übergang von blau nach rot zeigt die Ausrichtung des Dipolmomentes entlang der Helixachse.

Wie aus der Skizze ersichtlich wird, hat die hexagonale Anordnung die höchste Dichte, während bei quadratisch gepackten Zylindern das Dipolmoment optimal ausgeglichen ist. Zwischen diesen zwei Randfällen existieren Übergangstrukturen, die durch Verschiebung oder Verdrillung („Twist“) zustande kommen.

Aus dem Vergleich der Peaklagen für Homopolymer und Blockcopolymer ergibt sich, dass die Phasenbildung durch den PS-Block maßgeblich beeinflusst wird. Die Signale sind zu größeren Streuvektoren verschoben, was auf eine engere Packung der Stäbchen hinweist. Dies ist wahrscheinlich mit der Existenz der Grenzfläche verbunden, die Kristallisationsvorgänge nicht nur induzieren sondern auch steuern kann. Andererseits hindert der zweite Block die Ausprägung der Ordnung in der Polypeptidschicht, was sich in der Intensität der Signale widerspiegelt. Bei der Probe mit dem geringsten Polypeptidanteil (Volumenanteil: 0.25) sind die Reflexe deutlich schwächer (SG-7), weil die Mobilität der Mesogene und somit die Phasenbildung während der Filmherstellung gehindert war. Ob die hier beobachtete Orientierung der Helices innerhalb der Lamelle mit den Herstellungsbedingungen oder dem chiralen Charakter der Stäbchen verbunden ist, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden.

5.2.2 MESOPHASEN IN DÜNNEN FILMEN

Die hier vorgestellten Messungen wurden von Sabine Ludwigs im Rahmen einer Kooperation mit den Arbeitsgruppen von Prof. Georg Krausch, Fachbereich Physikalische Chemie II der Universität Bayreuth und Dr. Günter Reiter, CNRS, Mulhouse, Frankreich durchgeführt.¹¹⁶ Es wurden dünne Filme von bis zu 40 nm Dicke des Blockcopolymeren PS₅₂-PBLGlu₁₀₄ (SG-1) mit dem Rasterkraftmikroskop (AFM) untersucht.

Die verwendeten Siliziumträger wurden mit Argon und Wasser plasmageätzt und so die Oberfläche von organischen Resten befreit. Das Blockcopolymer wurde in Chloroform gelöst (5 mg/ml) und durch *spincoating* (2000 U/min) auf den Träger aufgebracht. Die Dicke des Präparates wurde durch die Konzentration der Stammlösung und die Drehzahl eingestellt. Die Filmdicke wurde ellipsometrisch (SOPRA, Spectroscopic ellipsometer, ES4M) bestimmt. Mit AFM konnte bei den zuerst hergestellten Filmen kein signifikanter Ordnungsgrad detektiert

werden (Abbildung 5-22). Wahrscheinlich führte das sehr schnelle Verdampfen des Lösemittels zur Erstarrung des Systems im ungeordneten Zustand.

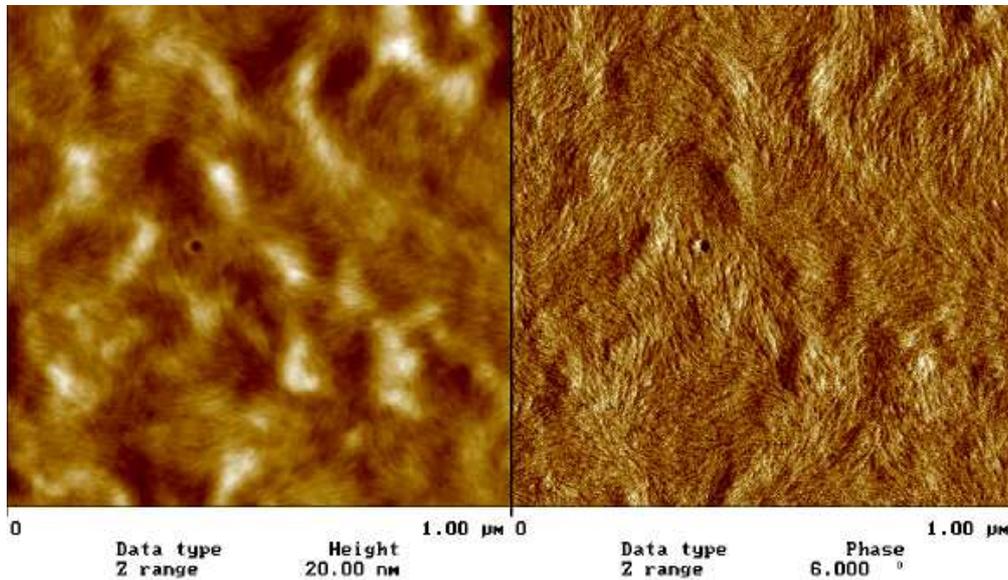


Abbildung 5-22 AFM-Höhen- und Phasenbild eines unbehandelten, ca. 40 nm dicken Films von SG-1, hergestellt durch spincoating aus Chloroformlösung.

Um Entmischungs- und Kristallisationsprozesse zu ermöglichen, wurden die Filme nachbehandelt. Wie schon erwähnt, liegt die Schmelztemperatur des Polypeptides oberhalb der Zersetzungstemperatur von PS. Daher wurde, analog zur Herstellung der dicken Filme, dem System Lösemittel zugeführt, um die Mobilität der einzelnen Polymermoleküle zu gewährleisten. Das Tempern im Lösemitteldampf erfolgte in einer speziellen Probenkammer in der Proben- und Umgebungstemperatur und damit Dampfdruck und Quellungsgrad kontrolliert werden können. Die Veränderungen der Probe während der Behandlung auf makroskopischer Längenskala wurden mittels Lichtmikroskopie verfolgt.

Zuerst wurden die Präparate mit Lösemittel gequollen, wobei die Probetemperatur mit der der Umgebung gleich war. Danach wurde die Temperatur des Präparates um 1-3°C erhöht, was zum Verringern des Quellungsgrades und damit zur Reduzierung der Beweglichkeit einzelner Ketten führte. Dies kann einem Unterkühlungsprozess gleichgesetzt werden und führte zu einer langsamen Kristallisation innerhalb des Films. Um eventuelle Effekte durch nicht kontrollierbares Austrocknen des Präparates bei der Entnahme aus der Kammer zu vermeiden, wurde die Temperatur der Probe noch mal kurz vor dem Öffnen für einige Minuten stark erhöht, bei konstantem Dampfdruck des Lösemittels in der Umgebung. Das anschließende

schnelle Entfernen des Lösemittels führte zum Einfrieren der Strukturen, die dann weiter im Rasterkraftmikroskop untersucht wurden.

Bereits die ersten Versuche die Filme mit dem Lösemittel zu quellen, führten zu Veränderungen der Oberfläche auf makroskopischer Skala. Die durch *spincoating* entstandenen Muster „lösten sich auf“ und der Film begann, sich glatt zuziehen (Lichtmikroskopie). Je nach Quellungsmittel, Temperatur und Zeit wurde eine Vielfalt von Texturen auf der Mikrometerskala beobachtet. Als das am besten geeignete Lösemittel hat sich, wegen seiner Wasserstoff-Donor-Eigenschaften, Chloroform ergeben.

Abbildung 5-23 zeigt zwei Höhenbereiche eines in Chloroform behandelten Films SG-1, deren Muster auf verschiedene Morphologien hindeutet. Der Bereich mit geringerer Höhe stellt eine Fingerprint-Textur mit ihren charakteristischen Dislokationen und Disklinationen dar, die typisch für eine cholesterische Phase ist und schon früher für PBLGlu mit TEM¹¹⁴ und AFM¹¹⁷ beobachtet wurde. Direkt daneben konnten Strukturen beobachtet werden, deren Höhe wesentlich größer ist als die der cholesterischen Domänen und deren gestreifte Muster auf die Existenz einer lamellaren Phase hindeuten. Diese Befunde zeigen wiederholt die Polymorphie der Phasen, die auf die Eigenschaften des PBLGlu-Blocks zurückzuführen ist.

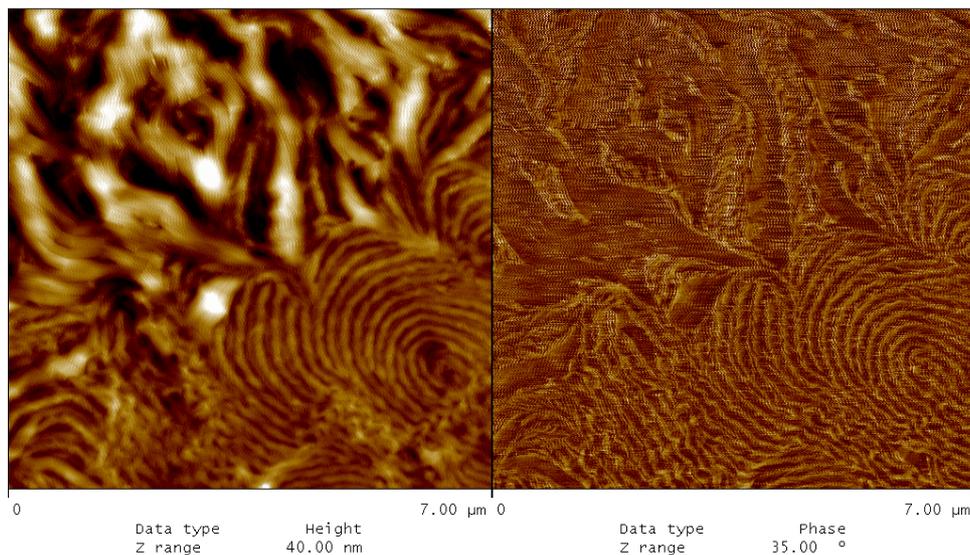


Abbildung 5-23 AFM-Höhen- und Phasenbild eines in Chloroformdampf behandelten Films SG-1: 1h bei 33/34°C, 1h bei 36°C, 1 min. bei 70°C.

Die gezielte Einstellung der Präparationsbedingungen führte zur Bildung von Domänen, deren Gestalt von Behandlungszeit und -temperatur abhängig war. Tempern für zwei Stunden bei 23°C, einer Stunde bei 26°C und einer Minute bei 70°C in Chloroformdampf führte zur Ausbildung körniger Domänen (Abbildung 5-24). Jeweils eine Stunde bei 33/34°C und 36°C und

eine Minute bei 70°C ergab größere bandartige Überstrukturen auf der Mikrometerskala (Abbildung 5-25). Beide Strukturen weisen die gleiche gestreifte Morphologie auf, die sowohl in den Höhen- als auch in den Phasenbildern zu sehen ist. Dies deutet darauf hin, dass in diesem Temperatur- und Zeitfenster bei gegebener Oberfläche, Lösemittel und Filmdicke nur die Größe der Domänen, nicht aber die Morphologie beeinflusst wird.

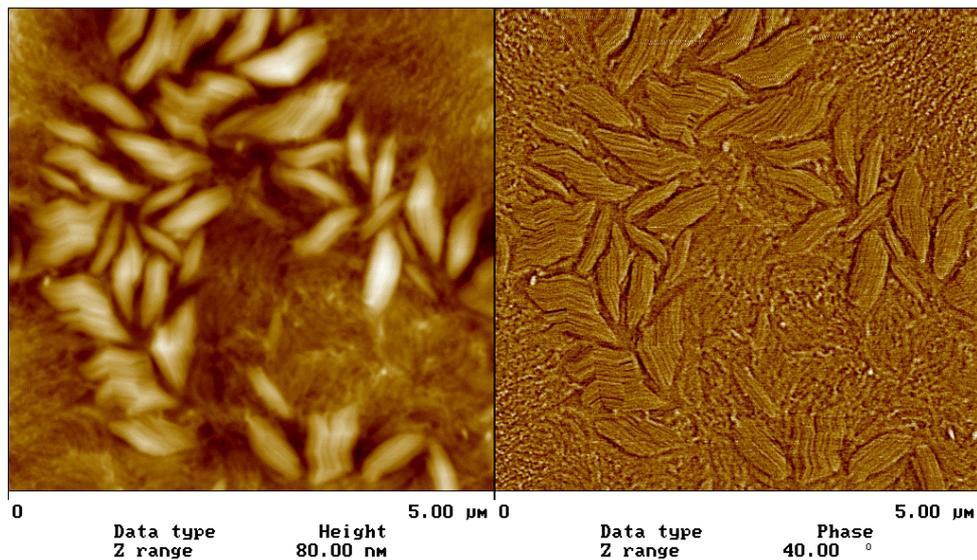


Abbildung 5-24 AFM, Höhen- und Phasenbild eines in Chloroformdampf behandelten Films SG-1 (2h bei 23°C, 1h bei 26°C, 1 min. bei 70°C).

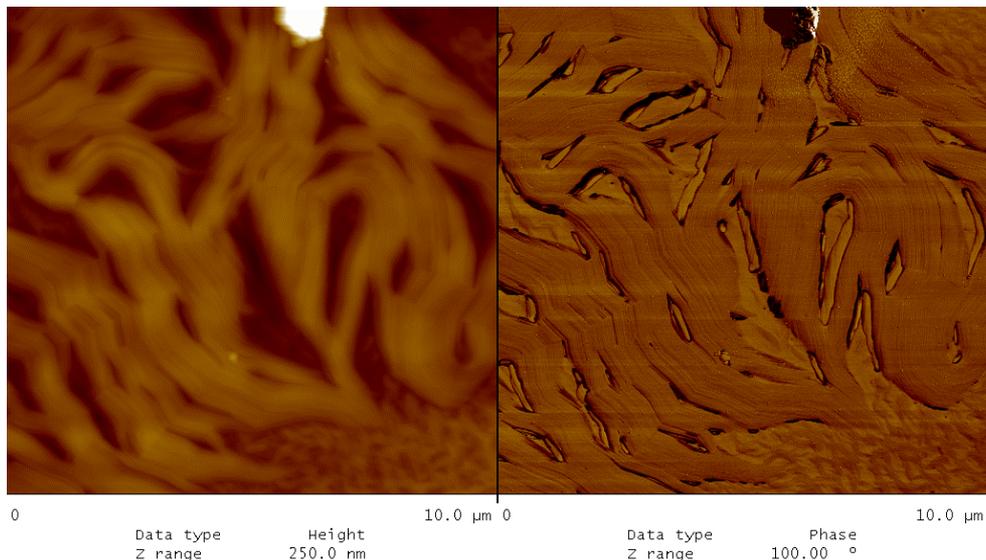


Abbildung 5-25 AFM, Höhen- und Phasenbild eines in Chloroformdampf behandelten Films SG-1 (1h bei 33/34°C-1h bei 36°C-1 min. bei 70°C).

Auf höher aufgelösten Bildern ist innerhalb der gestreiften Domänen eine lamellare Struktur zu erkennen (Abbildung 5-26). Die Höhedifferenzen weisen auf einen mehrschichtigen Aufbau hin, der sich über mikrometergroße Bereiche erstreckt.

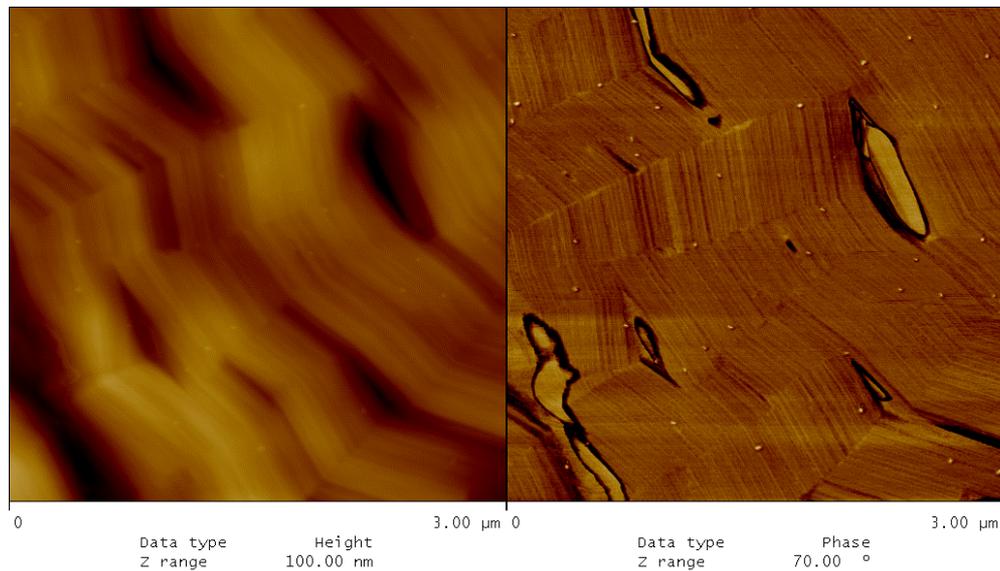


Abbildung 5-26 AFM, Höhen- und Phasenbild eines in Chloroformdampf behandelten Films SG-1 (1h bei 33/34°C-1h bei 36°C-1 min. bei 70°C).

Aufgrund der Phasenbilder kann angenommen werden, dass die glatten Lamellen aus alternierenden Schichten von PS- und PBLGlu-Blöcken bestehen. Die Streifen bilden ein *zick-zack*-Muster, wobei der Tiltwinkel immer zwischen 140-150° beträgt und nach einem ca. 500 nm langen Abschnitt zustande kommt. Dies deutet darauf hin, dass während der Nachbehandlung ein Phasenübergang stattfindet. Wenn der Film gequollen ist, können die Helices getwistete Mesophasen ausbilden, so wie es auch in dicken Filmen der Fall ist. Während des Trocknungsprozesses werden die Packungsmöglichkeiten reduziert, und die Stäbchen müssen eine parallele Ordnung annehmen (Abbildung 5-27). Dies führt zu Frustrationen innerhalb der Peptidschicht, die mit immer größer werdender Persistenzlänge der Lamellen zunehmen. Spannungen, die dadurch entstehen, dass die Helices in einem Tiltwinkel zueinander angeordnet sind, werden durch eine Veränderung der Wachstumsrichtung der Lamelle abgebaut.

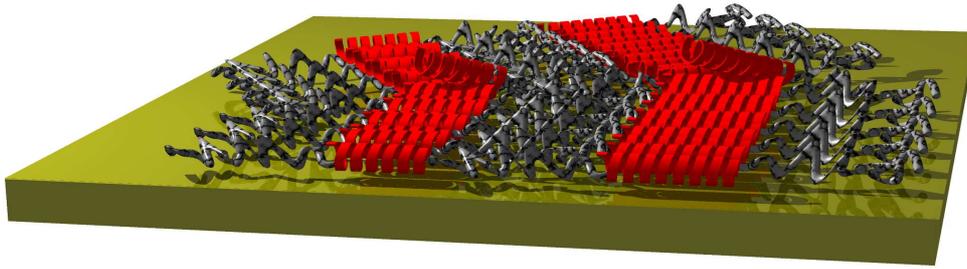


Abbildung 5-27. Schematische Darstellung der lamellaren Phase mit *Zick-zack*-Verlauf im dünnen Film.

In einem dreidimensionalen Raum existieren in solchen Fällen sogenannte *TGB*-Phasen, in denen die Helices innerhalb einer Domäne parallel ausgerichtet sind, die Domänen aber untereinander eine cholesterische Superstruktur mit definiertem Twistwinkel und Pitch-Höhe ausbilden. Da dies im dünnen, „zweidimensionalen“ Film nicht realisierbar ist, kann der *zickzack*-artige Verlauf der Lamellen als zusätzlicher Hinweis auf die Fähigkeit von PS-PBLGlu-Blockcopolymeren gelten, getwistete *TGB*-Phasen zu bilden.

Die Langperiode ist innerhalb der Lamelle trotz des Tiltwinkels fortlaufend konstant, während von Schicht zu Schicht deutliche Oszillationen zu sehen sind. Das Wachstum der Phase ist demnach senkrecht zur Grenzfläche PS-PBLGlu schneller als parallel dazu. Diese Phänomene sind mit einer Fraktionierung der Ketten nach Stäbchenlänge zwischen Lamellen im gequollenen Zustand zu erklären. Im Endeffekt werden die Wechselwirkungen zwischen den gleichlangen interdigitierenden Stäbchen optimal ausgeglichen, die Grenzfläche minimiert und somit die Gesamtenergie des Systems herabgesetzt.

6 AGGREGATIONSVERHALTEN IN VERDÜNNTER LÖSUNG

Die Selbstorganisation von amphiphilen Blockcopolymeren in Lösung wurde bereits vielfach untersucht.¹⁵ Knäuel-Stäbchen Blockcopolymeren nehmen, wegen ihres flüssigkristallinen Verhaltens, einen besonderen Platz in dieser Gruppe ein,¹¹⁸ sind bislang aber noch wenig erforscht. Im folgenden Kapitel wird das Aggregationsverhalten von Polypeptid-Blockcopolymeren in selektiven Lösemitteln beschrieben, zum einen in organischen Lösemitteln, zum anderen in Wasser. Im ersten Fall liegen die Peptidsegmente in geschützter Form vor und bilden den unlöslichen Kern, im zweiten sind sie als Polyelektrolytkomponente Bestandteil der wasserlöslichen Außenschicht.

6.1 SELBSTORGANISATION IN ORGANISCHEN LÖSEMITTELN

Als erste haben Nolte *et al.*¹¹⁹ die Selbstorganisation von Blockcopolymeren zu Vesikeln beschrieben, bei der die unlösliche Komponente der rigide Block war. Jenekhe und Chen^{120,121} haben über große Aggregate mit mizellähnlicher Morphologie aus Polyphenylchinolin-*block*-Polystyrol (PPQ-PS) berichtet, die dank ihrer Stabilität poröse Überstrukturen bilden können. Wie schon in Kapitel 5 beschrieben, besitzen Polypeptide mit Helix-Konformation in der Festphase eine nematische bzw. smektische Ordnung, die zusätzlich durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen stabilisiert ist. Es wird erwartet, dass die Polypeptid-Blockcopolymeren in einem selektiven Lösemittel spontan Doppelschichten ausbilden, die trotz „2D-kristalliner“ Anordnung flexibel genug sind, um sich zu Vesikeln zu schließen (Abbildung 6-1).

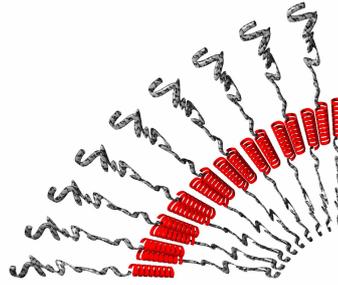


Abbildung 6-1 Mögliche Morphologie von Aggregaten in einem selektiven Lösemittel für den PS-Block.

Für diese Versuchsreihe wurde PS-PZLLys und Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) als selektives Lösungsmittel für PS gewählt. In Tabelle 6.1-1 sind die chemische Strukturen der eingesetzten Proben angegeben.

Tabelle 6.1-1 Molekulare Parameter der untersuchten linearen PS-PZLLys Blockcopolymeren

Chemische Struktur	Probe	$x^{\#}$	$y^{\$}$	$f_y^{\&}$	$\text{PDI}^{\$}$
	SL-6	258	108	0.30	1.2
	SL-7	258	57	0.18	1.2
	SL-8	388	60	0.14	1.05

[#] Polymerisationsgrad (Zahlenmittel) des PS-Blocks; GPC. ^{\$} Polymerisationsgrad des PZLLys-Blocks; ¹H NMR. [&] Molenbruch der ZLLys-Einheiten im Copolymer. [§] Polydispersitätsindex; GPC ⁵⁵ (PS-Eichung).

Die Polymere wurden direkt in CCl_4 gelöst. SL-7 bildet schimmernde, klare Lösungen, während die von SL-6 und SL-8 optisch trüb sind.

Statische Lichtstreuung (SLS)

Aus den durch SLS erhaltenen Daten lassen sich direkt die Gewichtsmittel der Molmasse (M_w), der Trägheitsradius (R_g) und der zweite osmotische Virialkoeffizient (A_2), ermitteln. Die konzentrations- und winkelabhängigen Messungen wurden in Form eines Zimm-Diagramms aufgetragen und die Gyrationradien durch Extrapolation auf $q = 0$ und $c = 0$ bestimmt

(Abbildung 6-2). Der Guinier-Plot, der für „kugelförmige“ Partikel linear verlaufen sollte, liefert den kleineren R_g -Wert (Abbildung 6-3), siehe Tabelle 6.1-2.

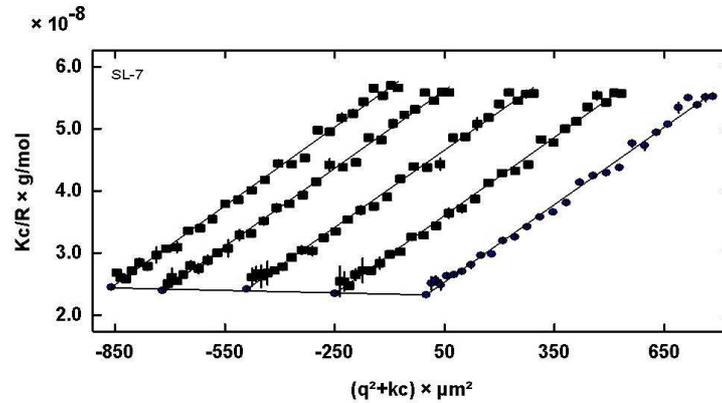


Abbildung 6-2 Zimm-Plot für die Probe SL-7.

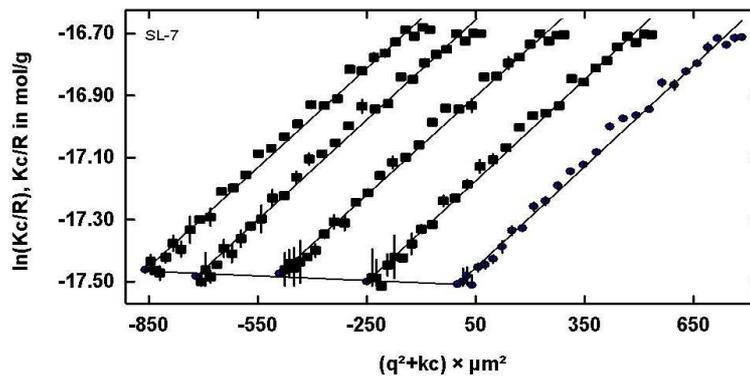


Abbildung 6-3 Guinier-Auftragung für die Probe SL-7.

Auch die Zimm-Plots für die Proben SL-6 und SL-8 zeigen eine lineare Winkelabhängigkeit. Die ermittelten Gyrationradien sind relativ groß (>150 nm), was für die zunächst als sphärisch angenommenen Aggregate dieser Dimension ungewöhnlich ist. Die Zimm-Plots sollten in diesem Fall nach oben gekrümmt sein. Zusätzlich liegt bei der Probe SL-8 der extrapolierte Wert für M_w im negativen Bereich, wodurch auch die Ermittlung des Trägheitsradius nicht möglich war. Deswegen wurden die Trägheitsradien der Proben SL-6 und SL-8 aus einem Guinier-Plot bestimmt. Für monodisperse kugelförmige Partikel ist die Guinier-Auftragung besser geeignet, weil sie die Winkelabhängigkeit über einen größeren Bereich linearisiert, und so die Extrapolation genauer durchgeführt werden kann. Wenn bei der Zimm-Auftragung die Extrapolation nahe am Koordinatenursprung liegt, führt bereits eine nur geringe Varianz zu Änderungen in M_w und R_h um ein bis zwei Größenordnungen. Die

Guinier-Auftragung hat zusätzlich den Vorteil, dass bei sehr großen Aggregaten, trotz nicht-linearer Winkelabhängigkeit, die Molmassen meist bis auf den Faktor 5 bestimmt werden können.

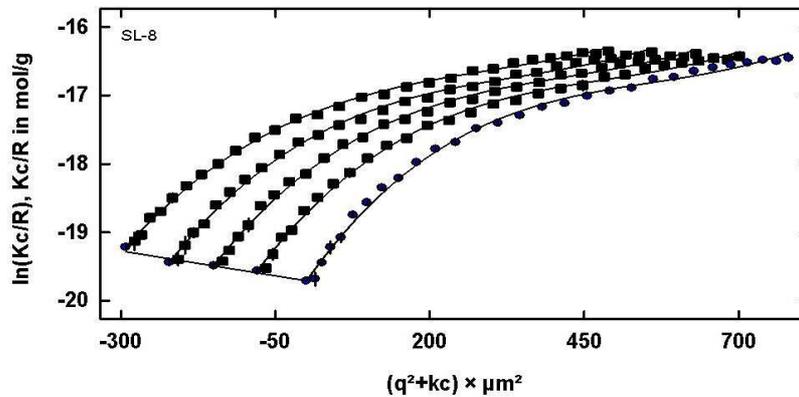


Abbildung 6-4 Guinier-Auftragung für die Probe SL-8.

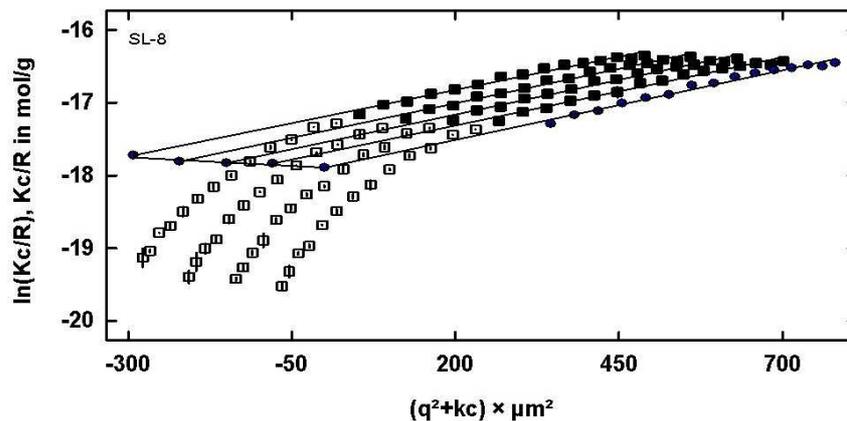


Abbildung 6-5 Guinier-Auftragung für die Probe SL-8 mit linearer Anpassung im Bereich großer q^2 -Werte.

Die Guinier-Plots für die Proben SL-6 und SL-8 sind stark nach unten gekrümmt (Abbildung 6-4). Es können jedoch zwei unterschiedliche Steigungen angepaßt werden: bei kleinen Winkeln sind große Partikel und bei großen Winkeln kleine Aggregate zu sehen. Beide Winkelbereiche wurden separat durch Extrapolation ausgewertet (Abbildung 6-5). So konnten die Trägheitsradien beider Spezies (Grenzfälle) ermittelt werden. Bei allen Proben wurden positive zweite Virialkoeffizienten ermittelt, was auf geschlossene Aggregate hinweist. Die Problematik des unterschiedlichen Kontrastes beider Blockcopolymerer wurde bei der Auswertung vernachlässigt. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Tabelle 6.1-2 zusammengefasst.

Tabelle 6.1-2 Ergebnisse der Auswertung der statischen Lichtstreuexperimente.

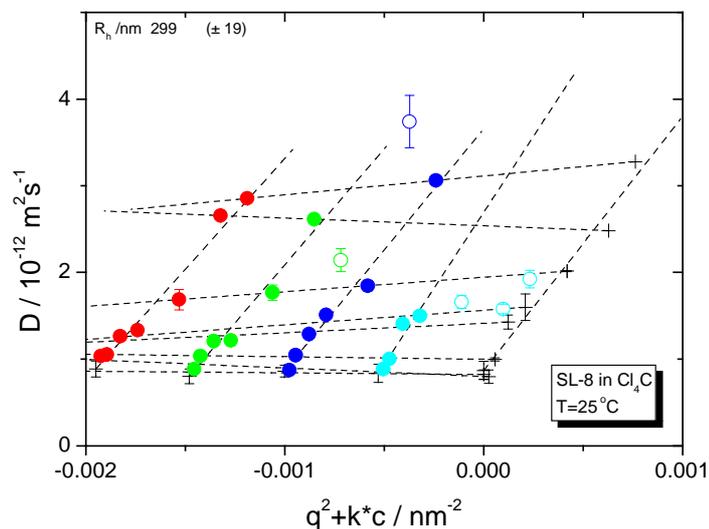
Probe	R_g^s [nm]	R_g (groß) ^s [nm]	R_g (klein) ^{&} [nm]
SL-6	500	180	75
SL-7	73	57	-
SL-8	-	190	77

Auswertung, ^s Zimm-Plot, ^s Guinier-Plot; Grenzwert der Steigung bei $q^2=0$, [&] Guinier-Plot; Steigung bei großen Werten von q^2 .

Die Ergebnisse deuten auf ein polydisperses System mit mindestens zwei Spezies unterschiedlicher Größe hin. Die Größenverteilung der Aggregate ist mit Standardauswertemethoden nicht zugänglich.

Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Aus der winkel- und konzentrationsabhängigen dynamischen Lichtstreuung können mit Hilfe des sogenannten dynamischen Zimm-Plots zuerst die Diffusionskoeffizienten und daraus die hydrodynamischen Radien ermittelt werden (Abbildung 6-6).

**Abbildung 6-6** Der dynamische Zimm-Plot für die Probe SL-8.

Wie erwartet, weisen auch die dynamische Messungen auf ein polydisperses System hin. Da es nicht möglich ist, die hydrodynamischen Radien, die sich um einen Faktor 2-3

unterscheiden, zu trennen, wurden die Radien für größere Spezies durch Extrapolation auf $q = 0$ und $c = 0$ ermittelt. In der Tabelle 2.2-1 sind die ermittelten hydrodynamischen Radien zusammengestellt.

Tabelle 6.1-3 Hydrodynamische Radien aus der Auswertung der dynamischen Zimm-Plots.

Probe	R_h [nm]	R_g/R_h
SL-6	260	0.7
SL-7	75	1.0
SL-8	299	0.6

Die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von q^2 ist nach unten gekrümmt. Dies deutet auf eine breite Aggregatgrößenverteilung hin, die eine Auswertung mit Standardmethoden unmöglich macht. Die auf diesem Weg ermittelten hydrodynamischen Radien können daher nur als apparente Werte betrachtet werden. Des Weiteren konnte keine Depolarisierung des Lichtes beobachtet werden, die auf eine elongierte Morphologie hinweisen würde.

Aus dem R_g/R_h Verhältnis kann man auf die Morphologie der Aggregate schließen. Für die Probe SL-7 ist der Koeffizient gleich eins, dies ist charakteristisch für die Vesikel. Für die großen Aggregate in den Proben SL-6 und SL-8 ist das R_g/R_h -Verhältnis liegt im Bereich 0.6-0.7, was auf kompakte Kugeln hinweist. Allerdings kann der Wert durch Polydispersitätseffekte verfälscht sein.

Zusammenfassend lässt sich aufgrund der Lichtstremessungen feststellen, dass PS-PZLLys in einem für PS selektiven Lösungsmittel aggregieren. Die Aufklärung der Morphologie dieser Superstrukturen war nur im Fall von Probe SL-7 möglich, bei der Vesikel detektiert wurden. Die Größe der Aggregate der Proben SL-6 und SL-7 weisen sehr breite Verteilungen auf, und somit konnten keine Aussagen getroffen werden. Es ist jedoch eindeutig, dass die Polydispersität der Polymere selbst nicht mit der Größenverteilung der Superstrukturen korreliert. Die Probe SL-7 mit relativ hoher Polydispersität der Ketten ($PDI = 1.2$) bildet kleinere Aggregate im Gegensatz zur Probe SL-8, bei der trotz enger Verteilung ($PDI = 1.05$) auch sehr große Strukturen detektiert wurden. Ein Zusammenhang zwischen Copolymerzusammensetzung und Aggregatgröße ist nicht erkennbar.

Rasterelektronenmikroskopie (SEM)

Um die Morphologie der Strukturen aufzuklären, wurden SEM-Bilder herangezogen. Dazu wurden die Lösungen aus der Lichtstreuung (0.2 gew. %) bei der Temperatur von flüssigen Stickstoff (Schmp. $\text{CCl}_4 = -23\text{ °C}$) schockgefroren und im Hochvakuum getrocknet. Nach dem Bedampfen mit Gold wurden die Präparate mit SEM untersucht.

Die Aufnahmen bestätigen die Polydispersität der Proben, die mit der Lichtstreuung erfasst wurde. Außerdem konnten verschiedene nebeneinander vorliegende Morphologien beobachtet werden.

Die Bilder der Probe SL-7 bestätigen die vesikuläre Morphologie. Auf Abbildung 6-7 sind runde Aggregate mit Löchern zu sehen. Dadurch können Mizellen oder volle Kontaktvesikel ausgeschlossen werden. Zusätzlich sind auch lamellenartige Gebilde zu sehen, die wahrscheinlich aus Doppelschichten bestehen.

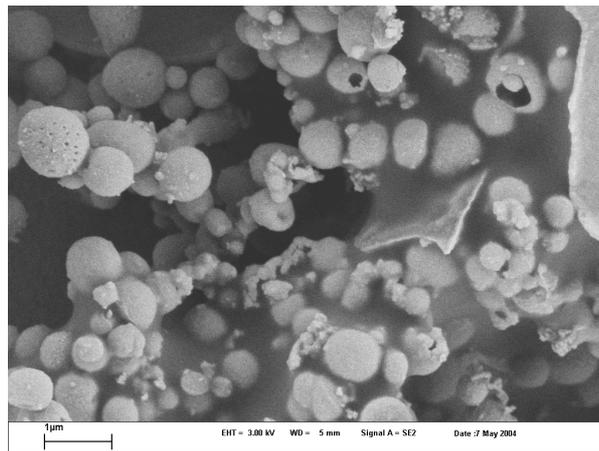


Abbildung 6-7 SEM-Bild der gefriergetrockneten Probe SL-7

Auf den Bildern der Probe SL-8 (Abbildung 6-8) sind neben den runden Aggregaten auch viele wurmartige und lamellare Strukturen zu sehen. Alle Aggregate sind geschlossen, was auf eine höhere Stabilität der Membran hinweist.

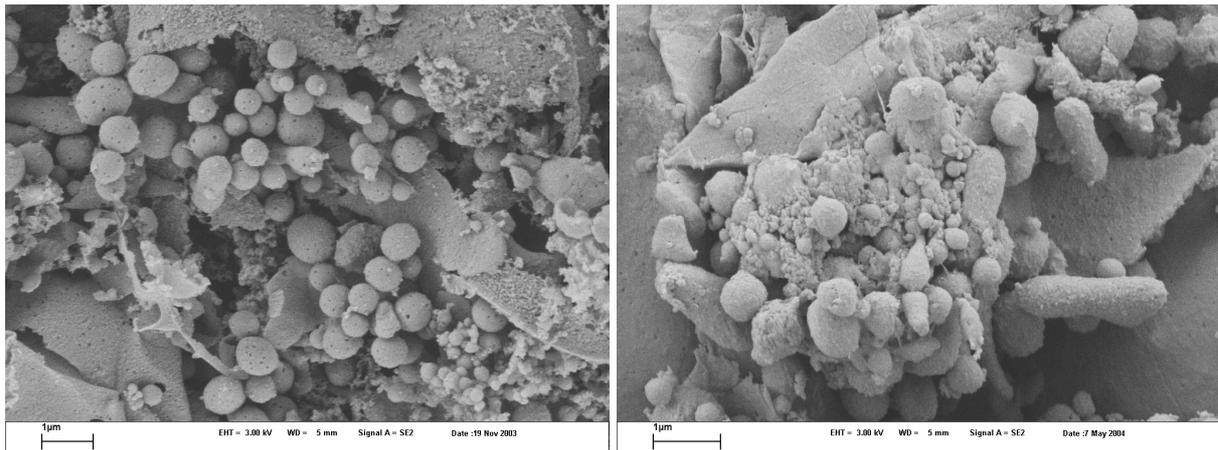


Abbildung 6-8 SEM-Bilder der gefriergetrockneten Probe SL-8

Die Probe SL-6 bildet, neben blattartigen, vor allem wurmartige Aggregate (Abbildung 6-9). Die Bruchstellen zeigen, dass die Aggregate voll sind und unter Berücksichtigung der Polymerkettenlänge als wurmartige Kontakt- oder multilamellare Vesikel interpretiert werden können.

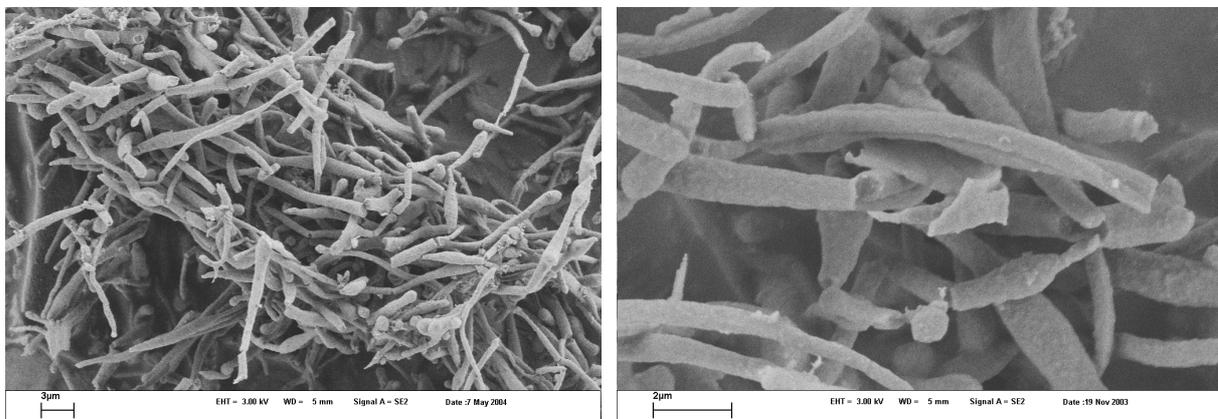


Abbildung 6-9 SEM-Bild der gefriergetrockneten Probe SL-6

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die mit Lichtstreuung ermittelten Radien mit den Dimensionen der Aggregate auf den Bildern nicht übereinstimmen. Für Probe SL-7, bei der Vesikel mit einem Radius von 75 nm ermittelt wurden, finden sich in den SEM-Bildern viele Sphären mit einem Radius von 250 nm. Das Aggregationsverhalten von PS-PZLLys ist demnach sehr stark vom Herstellungsweg, bzw. der Vorgeschichte abhängig. Die mit Lichtstreuung untersuchten Lösungen wurden vor der Messung gefiltert (Porengröße 5 µm). Dadurch könnten dabei auftretende Scherkräfte zur Veränderung des Aggregationszustands

geführt haben. Da die SEM-Preparate nach dem Auflösen der Polymere nicht mehr behandelt wurden, sind sie repräsentativ für das Aggregationsverhalten dieser Blockcopolymere. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind es jedoch keine Gleichgewichtstrukturen, sondern eher metastabile Zustände, die durch die kristalline Struktur des unlöslichen Blocks (sog. „*memory effect*“) hervorgerufen wurden.

Die zuvor beschriebenen Phänomene treten mit unterschiedlicher Intensität auf, was mit der Elastizität der Membranen zusammenhängt. Alle hier untersuchten Stäbchen-Knäuel-Blockcopolymere bilden bevorzugt lamellare Superstrukturen aus. Die Morphologie der Aggregate ist stark mit dem Molekulargewicht der Probe und vor allem mit dem Peptidanteil verbunden. Die Probe SL-7 mit der kurzen Helix und dem niedrigsten Molekulargewicht bildet vor allem Vesikel, also Flächen mit hoher Krümmung. Die Membran der Probe SL-6 mit einem doppelt so langen Helix-Block ist weniger flexibel. Dies führt dazu, dass nur Strukturen mit geringerer Krümmung entstehen können (wurmartige Kontaktvesikel). Zusätzlich konnte festgestellt werden, dass nicht nur der rigide Block das Schließen der Membran beeinflusst. Die Probe SL-8 mit einem längeren löslichen Block bildet deutlich mehr flache Lamellen, was mit dem Biegemodul verbunden ist. Mit steigender Dicke der Doppelschicht sinkt seine Elastizität und damit die Fähigkeit sich zu Vesikeln zu schließen.

Für eine Weiterführung der hier vorgestellten Arbeiten müssen erst die Bedingungen für die Bildung von Gleichgewichtsaggregaten gefunden werden. Durch vollständiges molekulares Auflösen und nachfolgend langsames Überführen in das selektive Lösungsmittel (z.B. durch Dialyse) könnten die „*memory*“-Effekte ausgeschaltet werden. Da die Gleichgewichtstrukturen durch eine engere Größenverteilung charakterisiert sein sollten, könnten die Aggregate mit Streumethoden dann besser untersucht werden.

6.2 SELBSTORGANISATION IN WÄSSRIGEN LÖSUNGEN

Beim Aggregationsverhalten von Blockcopolymeren, die aus einem hydrophoben und einem geladenen Block bestehen, sogenannten „Polyelektrolyt-Blockcopolymeren“ (PEBC), spielen sowohl Packungs- als auch Ladungseffekte eine wesentliche Rolle. Sie bilden, ähnlich wie niedermolekulare Tenside, mizellare und vesikuläre Überstrukturen. Die kritische Aggregationskonzentration ist aber niedriger und die Stabilität der PEBC-Aggregate größer. Es ist bekannt, dass die Strukturbildung durch Molekulargewicht und Polymerkonzentration, aber auch durch die Salzkonzentration beeinflusst wird.¹²²

Die in dieser Arbeit eingesetzten PEBC basieren auf einem hydrophoben PB-Block und einem ionischen Peptidblock, der durch Entschützen von PZLLysin erhalten wurde. Bisherige Arbeiten auf diesem Gebiet konzentrierten sich auf Untersuchungen von Blockcopolymeren auf der Basis von Glutaminsäure.¹²³⁻¹²⁵ Dynamische Lichtstreuexperimente haben gezeigt, dass bei einer Molmasse kleiner als 15 kDa und dem Blocklängenverhältnis f_{Glu} größer als 20 % nur ein kleiner Anteil der Makromoleküle tatsächlich aggregiert vorlag (ca. 1%). Der Rest der Probe war unimolekular gelöst. Da es nicht möglich war, PBLGlu-Blockcopolymere mit entsprechendem Blocklängenverhältnis und Molekulargewicht zu synthetisieren, ohne dabei im letzten Schritt, der Verseifung der Bzl-Ester, die Proben zu razemisieren, wurden kationische PLLys-Blockcopolymere untersucht. Die Hydrolyse der Z-Schutzgruppe gelingt ohne Razemisierung in Gegenwart von HBr oder CF_3COOH .

Die wasserlöslichen Polypeptide haben eine zusätzliche interessante Eigenschaft, nämlich die „Schaltbarkeit“ der Konformation durch pH-Wertänderung des Mediums. Je nach Dissoziationsgrad der Elektrolyteinheiten kann die Sekundärstruktur des Polypeptids reversibel von einem Knäuel zu einer Helix geschaltet werden. Da sich dabei der Platzbedarf der Ketten und die Wechselwirkungen zwischen den Peptidblöcken ändern, wird erwartet, dass auch das Aggregationsverhalten beeinflusst wird. Somit kann der pH-Wert als Parameter für schaltbare Überstrukturen genutzt werden (Abbildung 6-10).

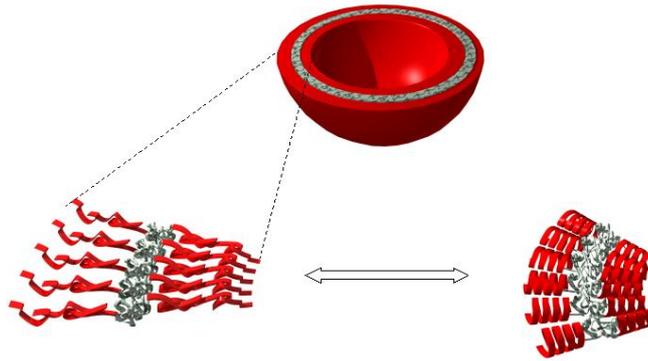


Abbildung 6-10 Modell eines Vesikels mit einem Polypeptidsegment in Knäuel- und Helixkonformation.

Die verwendeten PB-PLLys können direkt in wässriger Salzlösung aufgelöst werden (~ 0.03 gew. % in 0.15 %iger NaCl-Lösung), wobei es aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit beider Komponenten zur Bildung von Aggregaten kommt. Da der Glaspunkt ($T_g \approx -10$ °C) der hydrophoben Komponente unterhalb Raumtemperatur liegt, handelt es sich hier um Gleichgewichtsstrukturen, d.h. ihre Größe und Morphologie ist nicht vom Herstellungsweg abhängig. Zwischen Aggregaten und Unimeren in Lösung existiert ein ständiger Austausch, dessen Geschwindigkeit vor allem von der Temperatur abhängt.

Die hier durchgeführten Untersuchungen konzentrieren sich auf das Aufklären von Größe und Morphologie der Aggregate in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Polymers und des pH-Wertes des Mediums. In Tabelle 6.2-1 sind die verwendeten PB-PLLys zusammengestellt. Die Probe BL-1 und BL-2 bilden bei hohen Konzentrationen (~ 0.1 gew. %) schimmernde Lösungen, Probe BL-3 ist deutlich schlechter löslich und bereits bei niedrigen Konzentrationen (0,05 %) optisch trüb.

Tabelle 6.2-1 Molekulare Parameter der untersuchten PB-PLLys Blockcopolymeren

Chemische Struktur	Probe	$x^{\#}$	y^{\S}	$f_y^{\&}$	PDI^{\S}
	BL-1	165	108	0.40	1.5
	BL-2	165	88	0.35	1.5
	BL-3	74	37	0.33	1.3

[#] Polymerisationsgrad (Zahlenmittel) des PB-Blocks; GPC. [§] Polymerisationsgrad des PLLys-Blocks; ¹H NMR. [&] Molenbruch der Llys-Einheiten im Copolymer. [§] Polydispersitätsindex; GPC.

Zirkulardichroismus (CD)

Aus CD-Messungen kann direkt die Sekundärstruktur der Peptidkette abgeleitet werden. Wie schon in dem Kapitel 3.1.3 beschrieben, haben die jeweilige Konformationen charakteristische Kurvenverläufe. Die Existenz mehrerer Strukturen führt zur Überlagerung der Signale, und die Bestimmung der jeweiligen Anteile ist nur durch Anpassung der theoretischen Kurven aus Datenbanken zugänglich.

Da PLLys ein sehr starker α -Helix-Bildner ist, kann angenommen werden, dass es sich nur um zwei Konformationen handelt: α -Helix oder Knäuel. Um dies zu quantifizieren wurden 0,02 %-ige (bezogen auf LLys) wässrige Salzlösungen bei verschiedenen pH-Werten vermessen.

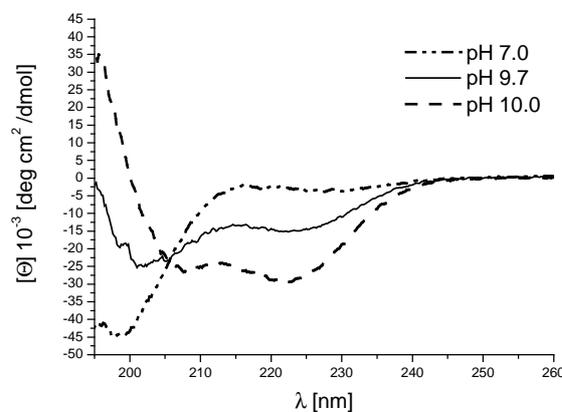


Abbildung 6-11 CD-Spektren der Probe BL-1 in NaCl-Lösung.

Die Spektren in Abbildung 6-11 wurden für Probe BL-1 erhalten (BL-2 und BL-3 entsprechend). In beiden Fällen erfolgt mit steigendem pH-Wert der Übergang vom Knäuel zur α -Helix. Das Auftreten des isodichrotischen Punktes bei $\lambda=204$ nm deutet auf einen Übergang zwischen nur zwei Spezies hin.¹²⁶ Bis zum pH-Wert von ca 9,5 existiert nur die Knäuel-Konformation. Dies ist mit dem Dissoziationsgrad der Lysin-Einheiten zu erklären: die elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen benachbarten Ladungen führen zur Destabilisierung der Wasserstoffbindungen entlang der Helixachse und somit zur Bildung der energetisch günstigeren Knäuelkonformation. Deswegen erfolgt der Übergang in Salzlösung auch bei niedrigeren pH-Werten (9,7), weil durch die Abschirmung der Anionen die Wechselwirkungen bis zu einem gewissen Grad unterdrückt werden können. In dem engen pH-Bereich 9,6-9,8 findet der Übergang statt, wobei es sich um einen kooperativen Prozess handelt. Ab pH 10 wurde praktisch immer die gleiche Anteil der Helix-Konformation gefunden. Messungen oberhalb pH 10,6 waren nicht möglich, da die Löslichkeit des

Blockcopolymers nicht mehr gewährleistet ist, was ein Ausfallen des Polymeres zur Folge hat.

Lichtstreuung

Um die Größe und Morphologie der Aggregate zu ermitteln, wurden Lichtstreuexperimente durchgeführt. Die PB-PLLys wurden in NaCl-Lösung (0,1 gew.%) gelöst und der pH-Wert der Lösung entsprechend eingestellt (pH-Elektrode). Der pH-Wert der Lösung wurde so gewählt, dass das PZLLys entweder in Knäuel- (7.0) oder Helixkonformation (10.3) vorlag. Die Ausgangslösungen wurden dann für konzentrationsabhängige Streumessungen jeweils mit Salzlösungen gleichen pH-Werts verdünnt, um die Konformation der Peptidkette nicht zu verändern. Anschließend wurden die Proben mit einem 5 µm Filter von Staubpartikel befreit. Die Auswertemethode der winkel- und konzentrationsabhängigen Lichtstremessungen ist die gleiche wie im Fall von organischen Lösungen (Kapitel 6.1), d.h. bei der Guinier-Auftragung wurden zwei Steigungen angepasst und beide Grenzfälle in der Größenverteilung bestimmt. Da bereits wenige große Aggregate ausreichen um einem signifikanten Streubeitrag zu leisten, ist davon auszugehen, dass der Hauptteil der Probe als kleine Aggregate vorliegt. Eine Auswertung unter Gleichsetzung der Gesamtkonzentration mit der Konzentration kleiner Aggregate ergibt eine untere Abschätzung von deren Molekulargewicht. Die Molekulargewichtsverteilung der großen Aggregate ist mit dieser Methode, wegen der unbekanntenen Konzentration einzelner Fraktionen, nicht zugänglich. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Tabelle 6.2-2 zusammengefasst.

Tabelle 6.2-2 Ergebnisse der Auswertung der statischen Lichtstreuexperimente

Probe	pH	Knäuel:Helix [#] [%]	R _g (groß) [§] [nm]	R _g (klein) ^{&} [nm]	M _w (klein) [§] [g/mol]
BL-1	7.0	100:0	207	78	0.58 10 ⁸
BL-1	10.3	15:85	174	74	2.6 10 ⁸
BL-2	7.0	100:0	186	86	1.1 10 ⁸
BL-2	10.3	20:80	173	85	2.1 10 ⁸
BL-3	7.0	100:0	180	84	3.0 10 ⁸
BL-3	10.3	40:60	200	80	2.5 10 ⁸

Auswertung, [#] Anteile der Knäuel- und Helix -Konformation, CD, [§] Guinier-Plot, Grenzwert der Steigung bei $q^2=0$, [&] Guinier-Plot, Steigung bei großen Werten von q^2 , [§] Molekulargewicht den kleinen Aggregaten aus Guinier-Plot, Steigung bei großen Werten von q^2

Es konnte eine geringe Veränderung des Trägheitsradius mit der Konformationsänderung festgestellt werden. Im Fall der Proben BL-1 und BL-2, die einen langen Peptidblock besitzen, wurde eine Erhöhung des Molekulargewichtes der kleinen Aggregate um Faktor 2 bis 4.4 detektiert, wenn der PLLys-Block von Knäuel zu Helix geschaltet wurde. Die Probe BL-3 mit dem kurzen Peptidblock zeigte nur minimale Schwankungen des Molekulargewichtes, die innerhalb der Mess- und Auswertefehlergrenzen liegen.

Sollte sich die Konformationsänderung, die eine Funktion des pH-Wertes ist, auf die Größe der Aggregate auswirken, kann dies auch durch die Messung des Diffusionskoeffizienten, aus dem R_h erhältlich ist, erfasst werden. Die nicht abgeschirmten Ladungen des Polyelektrolytes können aber die Diffusionsgeschwindigkeiten der Aggregate in der Lösung beeinträchtigen (Strukturfaktor) und dadurch die ermittelten hydrodynamischen Radien verfälschen. Dieser Effekt sollte durch Salzzusatz unterdrückt werden. Die hydrodynamischen Radien (R_h) wurden durch die Extrapolation aus konzentrations- und winkelabhängigen Messungen (dynamischer Zimm-Plot) bestimmt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6.2-3 zusammengefasst.

Tabelle 6.2-3 Die hydrodynamische Radien aus der Auswertung der dynamischen Zimm-Plots.

Probe	R_h [nm] bei pH = 7.0	R_h [nm] bei pH = 10.3
BL-1	295	330
BL-2	305	295
BL-3	220	280

Die auf diesem Weg ermittelten hydrodynamischen Radien können nur als apparente Werte betrachtet werden. Diese zeigen jedoch in Abhängigkeit vom pH-Wert nur kleine Änderungen, die innerhalb des Messfehlers liegen. Des weiteren wurde keine Depolarisierung des Lichtes beobachtet.

Abbildende Methoden

Aufgrund der Polydispersität der Proben ist das Verhältnis R_g/R_h und somit die Strukturaufklärung aus Lichtstreudaten nicht zugänglich. Eine weitere Möglichkeit Einblicke in die Morphologie zu erhalten, bieten hochauflösende Abbildungsmethoden, wie Elektronen- und Rasterkraftmikroskopie.

Die einfache Präparation für TEM-Untersuchungen, durch Auftragen der Suspension auf ein Grid, war nur teilweise erfolgreich (Abbildung 6-12). Während des Verdampfens des Wassers kollabierten die Aggregate, so dass nur die Spuren von runden, innen hohlen Aggregaten in einer amorphen Matrix zu sehen sind.

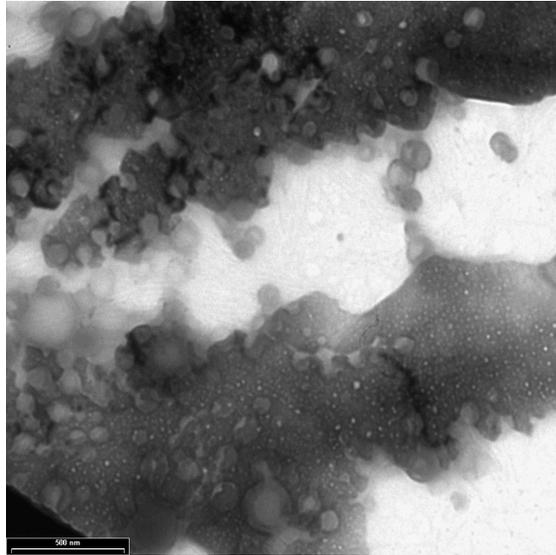


Abbildung 6-12 TEM-Aufnahme von Probe BL-1 (pH 7.0).

Des Weiteren wurden die wässrigen Lösungen schockgefroren und vakuumgetrocknet. Unmittelbar danach wurden die Proben mit Gold bedampft und dadurch stabilisiert. Die SEM-Bilder (Abbildung 6-13) zeigen ein Gemisch aus kleinen und großen kugelförmigen Aggregaten, die kollabiert sind. Dies deutet darauf hin, dass es sich ursprünglich um hohle Kugeln, also Vesikel gehandelt haben muß.

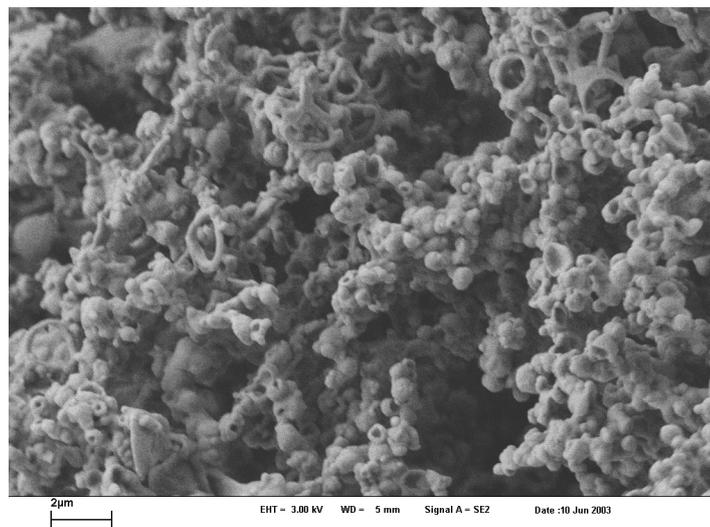


Abbildung 6-13 SEM-Bild der gefriergetrockneten Probe BL-1 (0.033 gew.%, pH 7.0).

Eindeutige Hinweise bezüglich der Morphologie der kleineren Aggregate liefern die AFM-Aufnahmen (Abbildung 6-14). Das Höhenbild zeigt Ringe, charakteristisch für eingetrocknete Vesikelm, mit einem Durchmesser von 140 nm sind.

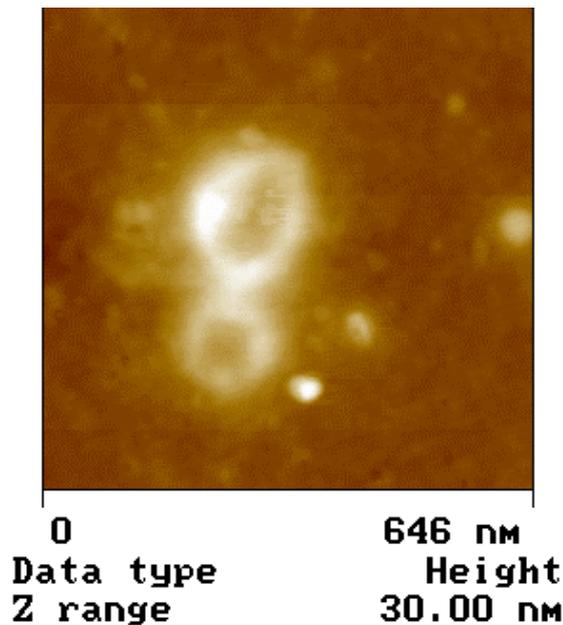


Abbildung 6-14 AFM-Höhenbild von Probe BL-1 auf Mica.

Da die untersuchten Aggregate sehr instabil sind und deren Abbildung sich als sehr schwierig erwies, wurde nach einer Methode gesucht, um sie zu stabilisieren. Da der Kern bzw. die innere Schale aus Polybutadien besteht, bietet sich die Vernetzung mit Gamma-Strahlung an. Dazu wurden die Lösungen (jeweils 0,1 und 0,03 %) vorbereitet und zwei Wochen einer Dosis von ca. 200 kGy Gamma-Wellen ausgesetzt. Alle 0,1 gew. %-igen Lösungen sind koaguliert und bei allen Proben ist der pH-Wert um zwei Einheiten gefallen. Diese Effekte deuten auf Zersetzung oder Denaturierung des Peptidblockes hin ¹²⁷. Die nicht ausgefallenen Proben bei der Konzentration von 0,03 gew. % wurden unter TEM und SEM untersucht. Die SEM-Aufnahmen zeigen sehr polydisperse kugelförmige Aggregate, die keine Löcher oder Anzeichen von Instabilität zeigen (Abbildung 6-15).

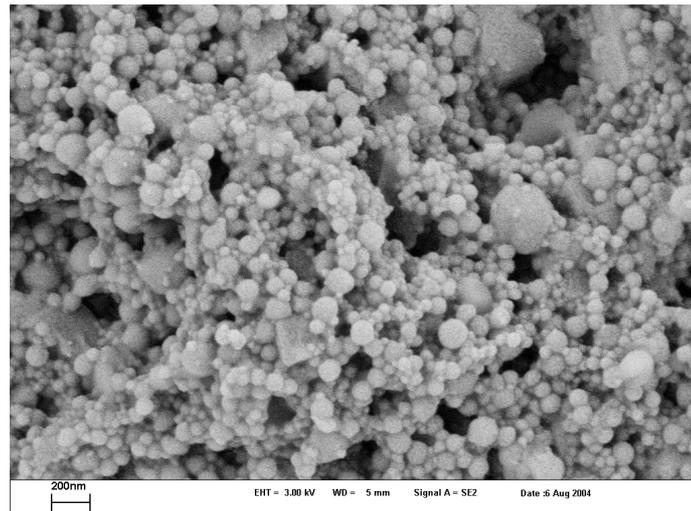


Abbildung 6-15 SEM-Aufnahme der vernetzten und gefriergetrockneten Probe PB-1 (0.033 gew.%, pH = 7.0).

Die Frage, ob es sich um vernetzte Vesikel oder Mizellen handelt, konnte mit TEM aufgeklärt werden. Die TEM-Bilder zeigen, dass der Kontrast entlang des Radius gleichmäßig stark ist. Somit läßt sich feststellen, daß die Kugeln voll sind (Abbildung 6-16).

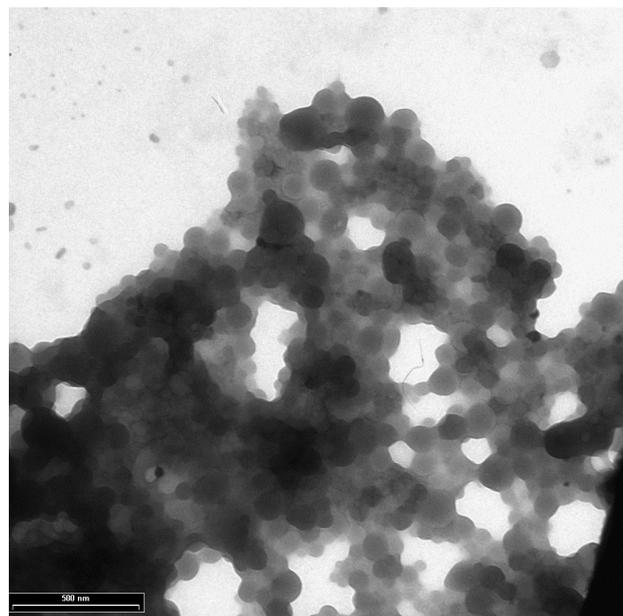


Abbildung 6-16 TEM-Bild von vernetzter Probe BL-1 (0.033 gew. %, pH = 7.0).

Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass die während der Bestrahlung aufgetretene chemische Veränderung des PLLys-Blocks sich auf die Morphologie der Aggregate ausgewirkt hat (Veränderung des Packungsparameters) und Mizellen gebildet wurden. Die zweite Möglichkeit ist, dass die PB-Schale während der Vernetzung schrumpfte, was zum Entstehen von Kontaktvesikeln führte.

Aufgrund der durchgeführten Untersuchungen lässt sich feststellen, dass die PB-PLLys Blockcopolymere in wässriger Lösung Vesikel bilden, deren Größe nur geringfügig von der Peptidkonformation abhängig ist. Das Schalten der Sekundärstruktur von Knäuel zu Helix hat jedoch bei den Proben BL-1 und BL-2 zu signifikantem Erhöhen der Molekulargewichte und damit der Aggregationszahl geführt. Dies lässt sich mit dem höheren Platzbedarf einer Kette (Knäuel) an der Grenzfläche und höherer Dichte der Helix erklären.

Um den Schaltprozess und deren Folgen genauer charakterisieren zu können, bedarf es an Proben, die engverteilte Aggregate bildet. So wird es vielleicht möglich mit Neutronenstreuung (SANS) die Änderungen der Membrandicke in Abhängigkeit von der Peptidkonformation zu erfassen.

7 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Hauptthema dieser Arbeit war die Phasenbildung von Blockcopolymeren auf Polypeptidbasis. Es wurden Entmischungsphänomene in fester Phase, sowie die Selbstorganisation zu Aggregaten in selektiven Lösungsmitteln untersucht.

Polypeptid-Blockcopolymeren, die in dieser Arbeit eingesetzt wurden, gehören wegen ihrer helikalen sekundären Struktur zu den sog. Stäbchen-Knäuel-Blockcopolymeren. Sie sind neben ihrer chemischen Heterogenität durch eine zusätzliche Asymmetrie in der Kettensteifigkeit charakterisiert. Dies führt dazu, dass das Phasenverhalten durch die Packungseigenschaften des rigiden Blocks stark beeinflusst wird. Das Vorhandensein eines permanenten Dipolmomentes führt außerdem zu Wechselwirkungen zwischen den Helices und zur Erhöhung des Ordnungsgrades in der Phase. Die in dieser Arbeit untersuchten Polypeptide sind Poly(L-glutaminsäure-5-benzylester) (PBLGlu) und Poly(N_ϵ -benzoyloxycarbonyl-L-lysin) (PZLLys). Als synthetische Komponenten wurden aufgrund ihrer unterschiedlichen Glasübergangstemperaturen Polystyrol (PS) und Polybutadien (PB) eingesetzt.

Die Synthese der Blockcopolymeren erfolgte in zwei Schritten. Zuerst wurden synthetische Blöcke hergestellt, die durch Endfunktionalisierung mit einer Aminogruppe als Makroinitiatoren für die Peptidsynthese geeignet sind. Im zweiten Schritt wurde der Peptidblock durch ringöffnende NCA-Polymerisation hergestellt. Die erhaltenen Produkte wurden mittels GPC und $^1\text{H-NMR}$ charakterisiert.

Zur Untersuchung des Verhaltens in fester Phase wurden aus einer Polymerlösung Filme hergestellt und mittels SAXS untersucht. Für PS-PZLLys konnte eine lamellare Struktur mit einer hexagonalen Packung der Helices innerhalb der Peptidschicht bestätigt werden. Durch die Auswertung der Kurven mit dem *kappa-iota*-(κ - ι)-Formalismus wurde die spezifische Grenzfläche zwischen den Lamellen ($\iota = 2$) und deren Krümmung ($\kappa = 0.8-1.9$) ermittelt. So konnte festgestellt werden, dass mit der Längeverteilung der Stäbchen die Morphologie der Phase ändert. Im Allgemeinen werden *zick-zack* lamellare Phasen gebildet. Die Strukturen mit

dem niedrigsten Wert für κ (geringste Krümmung) entstanden aus fast monodispersen Blockcopolymeren (PDI \sim 1,01). Die größten κ -Werte wurden dagegen bei den moderat verteilten Proben (PDI \sim 1,25) gefunden. Die Verbreiterung der Längenverteilung der rigiden Mesogene verursacht größere Fluktuationen in der PZLLys-Schicht, d.h. eine stärkere Krümmung. Dieser Mechanismus findet so lange statt, wie der entropische Beitrag zur freien Energie größer ist als die Grenzflächenspannung. Jede Krümmungszunahme bedeutet eine Vergrößerung der Grenzfläche zwischen den PS und PZLLys-Schichten. Ist die Molekulargewichtsverteilung zu breit (PDI = 1,6), werden Lamellen mit moderater Krümmung gebildet. Die Bildung glatter Lamellen mit Krümmungseigenschaften (*zick-zack*) ist mit einer Fraktionierung der Stäbchen innerhalb der Schicht verbunden.

Zusätzlich wurde festgestellt, dass die eingesetzten Peptide sich auf unterschiedliche Weise verhalten. Während die PZLLys bis zu einer Stäbchenlänge von 20 nm interdigitierend angeordnet sind, erfahren die PLBGlu-Stäbchen eine Rückfaltung, so dass die Dicken der Lamellen um etwa die Hälfte geringer sind. Im Falle von PBLGlu konnte keine hexagonale Packung der Helices detektiert werden, sondern eine Verschiebung der Mesogene zueinander in Richtung monokliner oder tetragonaler 2D-Anordnung. Dies ist mit einem besseren Ausgleich des Dipolmomentes verbunden.

Um die Kristallisationsprozesse innerhalb der Phase zu untersuchen, wurden Experimente an dünnen Filmen (40 nm) durchgeführt. Dazu wurden Filme aus PS-PBLGlu auf einem Siliziumträger durch *spincoating* hergestellt und im Lösungsmitteldampf getempert. Durch Quellung konnten sich die zuerst amorphen Filme neu organisieren. Durch Untersuchung der Filme mit AFM wurden lamellare Strukturen mit unterschiedlicher Langperiode beobachtet. Die Lamellen bildeten zusätzlich ein zick-zack-Muster in Mikrometergröße. Das weist darauf hin, dass während der Quellung Fraktionierungsprozesse zustande kamen. So konnten Schichten aus gleichlangen Stäbchen gebildet werden. Der zick-zack-artige Verlauf der Lamellen ist durch die Fehlstellen in Form eines Tiltwinkels verursacht. Nur so könnte die durch die Chiralität parallel angeordneter Mesogene aufgebaute Spannung innerhalb der Lamelle gemindert werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde das Aggregationsverhalten von Polypeptid-Blockcopolymeren in selektiven Lösemitteln beschrieben, zum einen in organischen Lösemitteln, zum anderen in Wasser. Im ersten Fall liegen die Peptidsegmente in geschützter

Form vor und bilden den unlöslichen Kern, im zweiten sind sie als Polyelektrolytkomponente Bestandteil der wasserlöslichen Außenschicht.

Für die Untersuchungen in einem organischen Lösungsmittel (CCl_4) wurde PS-PZLLys gewählt. Wegen der Polydispersität der Proben, konnten aus den Lichtstreuexperimenten keine eindeutigen Aussagen gewonnen werden. Die Untersuchungen der gefriergetrockneten Proben mit SEM haben erwiesen, dass die Polypeptid-Blockcopolymere in einem selektiven Lösemittel spontan Doppelschichten ausbilden, die trotz „2D-kristalliner“ Anordnung flexibel genug sind, um sich zu kugel- und wurmförmigen Vesikeln zu schließen.

Zur Untersuchung des Aggregationsverhaltens in Wasser wurden die PB-PLLys durch Entfernen der Z-Schutzgruppe in wasserlösliche Polyelektrolyte überführt. Die wasserlöslichen Polypeptide haben eine zusätzliche interessante Eigenschaft, nämlich die „Schaltbarkeit“ der Konformation durch pH-Wertänderung des Mediums. Je nach Dissoziationsgrad der Elektrolyteinheiten kann die Sekundärstruktur des Polypeptids reversibel von einem Knäuel zu einer Helix geschaltet werden. Da sich dabei der Platzbedarf der Ketten und die Wechselwirkungen zwischen den Peptidblöcken ändern, konnte das Aggregationsverhalten beeinflusst werden. Somit wurde der pH-Wert als Parameter für schaltbare Überstrukturen genutzt. Aufgrund von EM-Aufnahmen konnten Vesikel festgestellt werden. Durch Lichtstreuung konnte ein Beweis erbracht werden, dass das Schalten der sekundären Struktur von einem Knäuel zu einer Helix keine detektierbare Auswirkung auf die Größe der Aggregate, aber auf die Aggregationszahl hatte, die erhöht wurde. Der Effekt war um so größer, je länger die Peptidkette war. Somit haben die Untersuchungen gezeigt, dass es sich in wässrigen Lösungen um Gleichgewichtsstrukturen handelt, die je nach Konformation der Peptidkomponente ihren Aggregationszustand ändern und fähig sind, schaltbare Überstrukturen zu bilden.

Die hier vorgestellten Polypeptid-Blockcopolymere besitzen ein großes Potential zur Bildung hochgeordneter Phasen in Lösung und im Bulk. Die Eigenschaften der Polypeptidhelix, wie flüssigkristallines Verhalten, Dipolmoment und Schaltbarkeit, kann zur Entwicklung neuartiger stimuliresponsiver Materialien ausgenutzt werden. Dazu jedoch sind umfangreiche Untersuchungen notwendig, um die Thermodynamik und Kinetik des Systems besser verstehen zu können.

8 ANHANG

8.1 EXPERIMENTELLE VORSCHRIFTEN

Allgemeines:

Die Polymerisationsreaktionen, sowie alle sonstigen sauerstoff- und/oder feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen, wurden an einer kombinierten Vakuum/Argon-Linie (Schlenk-Linie), die mit Rotaflo[®]-Ventilen aus Teflon versehen ist, durchgeführt. Das verwendete Argon (99.99 %) wurde über Phosphorpentoxid getrocknet und zur Entfernung von Sauerstoffspuren anschließend über einen Oxysorb[®] Katalysator (Messer Griesheim) geleitet. Alle Glasgeräte wurden unter Vakuum ausgeheizt und mit Argon gespült.

THF (BASF AG) wurde durch zweifache Aufreinigung über KOH sowie Na/K-Legierung und Destillation erhalten. Cyclohexan (BASF AG) wurde vor der Destillation über Natrium getrocknet. Für anionische Polymerisationen wurden die Lösungsmittel nochmals durch Cryo-Destillation von LiAlH₄ an der Vakuum-Linie unter Hochvakuum getrocknet. DMF (99 %, Aldrich), Ethylacetat und CHCl₃ (p.a.) wurden über Nacht über CaH₂ gerührt und anschließend unter Vakuum destilliert. Niedrigsiedender Petrolether (p.a., Fluka) wurde über Na₂SO₄ getrocknet.

Käufliche Chemikalien wurden von Aldrich oder Fluka in möglichst hoher Reinheit bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt, wenn nicht anders vermerkt.

3-[N,N-bis(trimethylsilyl)amino]-1-propen

8.5 g (70 mmol) Allylbromid (99 %, Aldrich) in 10 ml Hexamethyldisilazan (HMDS, 97 %, Aldrich) wurden in einer Argonatmosphäre unter Rühren zu einer eisgekühlten Suspension von 15.0 g (75 mmol) Kalium-N,N-bis(trimethylsilyl)amid (95 %, Aldrich) in 60 ml HMDS getropft. Anschließend wurde die Reaktionsmischung für weitere 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration über Celite[®] 500 (neutral, Fluka) zum Entfernen der entstandenen Salze wurde das klare, gelbe Filtrat im Vakuum fraktioniert destilliert. Es wurden 9.3 g (46 mmol, 66 %) des Produktes als klare, farblose Flüssigkeit erhalten.

Siedepkt.: 82 °C, 30 mbar.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.9 -5.7 (m, 1H, =CH), 5.2 -5.0 (m, 2H, =CH₂), 3.50 (m, 2H, CH₂N), 0.10 (s, 18H, NSi(CH₃)₃).

1-(Chlorodimethylsilyl)-3-[N,N-bis(trimethylsilyl)amino]-propan

Eine Mischung aus 9.0 g (45 mmol) 3-[N,N-bis(trimethylsilyl)amino]-1-propen und 8.5 g (90 mmol) Chlordimethylsilan (98 %, Aldrich) wurde unter Argon mit einer Spatelspitze Chlorplatin säure-Hydrat ($\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 99 %, Aldrich) versetzt und langsam unter Rühren auf 60 °C erwärmt. Sobald eine exotherme Reaktion einsetzte, wurde nicht mehr weiter erhitzt, sondern die Reaktionsmischung für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die anschließende fraktionierte Destillation im Vakuum ergab 9.9 g (31 mmol, 70 %) des Produktes als klare, farblose, stechend riechende Flüssigkeit.

Siedepkt.: 104 °C, 1mbar.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.75 (t, 2H, CH₂N), 1.45 (m, 2H, CH₂), 0.72 (t, 2H, ClSi-CH₂), 0.43 (s, 6H, ClSi-CH₃), 0.10 (s, 18H, NSi(CH₃)₃).

Synthese der linearen Makroinitiatoren

Die Aufreinigung der eingesetzten Monomere erfolgte direkt an der Vakuum-Linie durch Cryo-Destillation über verschiedenen Trocknungsmitteln. Bei den in Lösung vorliegenden Reinigungsreagenzien Dibutylmagnesium $\text{Mg}(\text{n-C}_4\text{H}_9)_2$ (1 M in Heptan, Aldrich) und *n*-Butyllithium (2 M in Cyclohexan, Aldrich) wurde vor dem Aufkondensieren der Monomere jeweils das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Zu Beginn wurde das Monomer mehrmals entgast (*freeze-pump-thaw-cycle*). Im letzten Reinigungsschritt wurde jeweils eine graduierte Ampulle verwendet, die das Abmessen der gewünschten Monomermenge ermöglichte.

Styrol (99 %, stabilisiert, Aldrich) wurde 2-3 h auf CaH_2 gerührt, anschließend auf Dibutylmagnesium kondensiert und über Nacht gerührt.

1,3-Butadien (99 %, Aldrich) wurde je eine Stunde über Dibutylmagnesium sowie zweimal über *n*-Butyllithium bei einer Temperatur von mindestens -40 °C (Ethanol/Trockeneis-Kühlung) gerührt.

Polystyrol-NH₂

Cyclohexan wurde über Nacht auf LiAlH₄ gerührt, entgast und in den mit flüssigem Stickstoff gekühlten Reaktionskolben (Zweihalskolben, versehen mit Hahn) kondensiert. Anschließend wurde die gewünschte Menge an gereinigtem Styrol eindestilliert. Nach dem Auftauen wurde bei Raumtemperatur im Argon-Gegenstrom mit der berechneten Menge an *sec*-Butyllithium initiiert, wodurch sich in wenigen Minuten eine klare, tief orangerote Lösung bildete. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h unter Argon bei 50 °C gerührt. Zur Molekulargewichtsbestimmung wurde vor der Zugabe des Funktionalisierungsreagenzes mittels einer Transfernadel eine kleine Menge der Polymerlösung (Precursor) entnommen und mit entgastem Methanol abgebrochen. Zur Funktionalisierung der lebenden Ketten wurden 1.3 Äquivalente 1-(Chlorodimethylsilyl)-3-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)amino]-propan bezogen auf die eingesetzte Menge Initiator in einigen Millilitern absolutem THF gelöst, entgast und zur Beseitigung von Verunreinigungen mit 5 mol% *sec*-Butyllithium versetzt. Diese Lösung wurde im Argon-Gegenstrom in die lebende Polymerlösung gespritzt, wodurch sich die Lösung nach kurzer Zeit entfärbte. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde über Nacht bei RT gerührt.

Für die Polymerisation in THF wurde destilliertes Lösungsmittel nochmals über Nacht über LiAlH₄ gerührt und in den Reaktionskolben kondensiert. Nach Eindestillieren des Styrols wurde die Polymerisation bei -78 °C (Ethanol/Trockeneis-Kühlung) wie oben beschrieben initiiert und eine Stunde gerührt. Das Terminieren erfolgte auf die gleiche Weise wie in Cyclohexan.

Zur Aufarbeitung und Entfernung der Silylschutzgruppen wurde das Lösungsmittel möglichst vollständig am Rotationsverdampfer entfernt. Nach Lösen des Rückstandes in Benzol und Zugabe wässriger, verdünnter HCl-Lösung wurde das Zweiphasengemisch über Nacht heftig gerührt. Durch Zugabe von NaOH-*pellets* wurde das Gemisch alkalisch gestellt und die Phasen im Scheidetrichter getrennt. Die organische Phase wurde mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Polymer wurde nach Gefriertrocknung aus der benzolischen Lösung erhalten.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 7.35-6.4 (2m, 5H, Ar-H), 2.35-0.9 (m, -CH-, -CH₂, Polymerrückgrat), 0.0-(-0.3) (m, 8H, CHSi(CH₃)₂).

Polybutadien-NH₂

Destilliertes THF wurde nochmals über Nacht über LiAlH₄ gerührt und in den Reaktionskolben kondensiert. Nach Eindestillieren des Butadiens wurde die Polymerisation bei -78 °C (Ethanol/Trockeneis-Kühlung) initiiert, wodurch eine gelbe Reaktionslösung resultierte. Zur Steigerung des Umsatzes wurde über Nacht unter Ethanol/Trockeneis-Kühlung polymerisiert. Vor dem Abbruch der Polymerisationsreaktion durch Zugabe des Funktionalisierungsreagenzes wurde ebenfalls ein Precursor entnommen. Der Abbruch erfolgte in gleicher Weise wie oben beschrieben.

Zur Aufarbeitung des Polymers wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitgehend entfernt und der Rückstand in tiefsiedendem Petrolether gelöst. Die Entschützungsreaktion wurde dann wie zuvor beschrieben unter Zugabe von verdünnter, wässriger HCl-Lösung in einem Zweiphasengemisch durchgeführt. Das aminofunktionalisierte Polybutadien wurde nach Entfernen des Petrolethers am Rotationsverdampfer und im Vakuumtrockenschrank bei 35°C als farbloses zähflüssiges Öl erhalten, das bis zur weiteren Verwendung im Gefrierschrank aufbewahrt wurde.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 5.6-5.2 (m, =CH-, 1,2-Addukt; -CH=CH-, 1,4-Addukt), 4.95-4.75 (m, 2H, =CH₂, 1,2-Addukt), 2.2-0.9 (m, -CH-, -CH₂-, Polymerrückgrat), 0.1-(-0.1) (m, 8H, CHSi(CH₃)₂).

Synthese der N-Carboxyanhydride

10 g der jeweiligen Aminosäure (*N*_ε-Z-L-lysin (35.7 mmol; 99 %, Fluka) bzw. L-Glutaminsäure-5-benzylester (42.1 mmol; 99 %, Fluka)) wurden in 250 ml absolutem Ethylacetat suspendiert und in einer trockenen Argonatmosphäre unter Rühren auf 96°C erwärmt. 0.36 Äquivalente (bezogen auf die Stoffmenge eingesetzten Aminosäure) Bis(trichlormethyl)carbonat (Triphosgen, 99 %, Fluka), gelöst in 20 ml Ethylacetat, wurden langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe des Phosgenierungsreagenzes wurde solange unter Erwärmen weitergerührt, bis sich eine klare Reaktionslösung bildete. In seltenen Fällen war eine weitere Zugabe von wenigen Milligramm Triphosgen zur Vervollständigung der Reaktion erforderlich. Anschließend wurde trockenes Argon in die Reaktionslösung eingeleitet, um gelöstes HCl und überschüssiges Triphosgen zu entfernen. Bei Verwendung von α-Pinen als Abfangreagenz für HCl wurde nur so lange Triphosgenlösung zugegeben bis das Reaktionsgemisch klar wurde. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer auf 1/3 des Volumens eingengt und das Produkt durch zweimalige Fällung aus Petrolether erhalten.

ZLLys-NCA:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.35 (m, 5H, Ar-H), 6.85 (s, br, 1H, NHC(O), Ring), 5.10 (s, 2H, Ar- CH_2), 4.90 (s, br, 1H, NHC(O), Z-), 4.25 (t, 1H, α -CH), 3.20 (t, 2H, ϵ - CH_2), 1.95, 1.75, 1.50 (m, 6H, $(\text{CH}_2)_3$).

Schmp.: 100 °C (Lit.: 101°C).

BLGlu-NCA:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.35 (m, 5H, Ar-H), 6.80 (s, br, 1H, NHC(O), Ring), 5.10 (s, 2H, Ar- CH_2), 4.35 (t, 1H, α -CH), 2.60 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 2.25, 2.10 (m, je 1H, β - CH_2).

Schmp.: 97 °C (Lit.: 97°C).

NCA-Polymerisationen

Das frisch umkristallisierte NCA wurde zuerst im Hochvakuum bei RT getrocknet. Ausgehend von der zur Verfügung stehenden Menge an NCA wurde aufgrund des angestrebten Polymerisationsgrades die benötigte Menge an Makroinitiator berechnet. Makroinitiator sowie NCA wurden in getrennten Schlenkkolben eingewogen, evakuiert und in entgastem DMF (Polybutadien-Makroinitiatoren in CHCl_3) gelöst. Beide Lösungen wurden mittels einer Spritze vereinigt. Die Reaktionslösung wurde für mindestens 72 h bei 60°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt und der feste Rückstand in Chloroform gelöst. Diese Lösung wurde zum Ausfällen des Polymers in Petrolether bzw. Methanol (Fällungsmittel teils mit flüssigem N_2 gekühlt) verwendet. Das Polymer wurde über eine Fritte abgesaugt und im Vakuumtrockenschrank bei 40°C (Polybutadien-Blockcopolymeren bei 35°C) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

PS-PZLLys-Blockcopolymeren:

^1H NMR (400 MHz, DMF-d_7) δ [ppm] = 8.60-8.25 (m, b, NH), 7.55-7.35 (m, 5H, Ar-H, Z-Lys), 7.35-6.4 (m, 5H, Ar-H, PS), 5.2-5.0 (m, 2H, CH_2 -Ar, Z-Lys), 4.15-3.9 (m, 1H, α -CH, Z-Lys), 3.25-3.0 (m, 2H, ϵ - CH_2 , Z-Lys), 2.3-1.2 (m, $(\text{CH}_2)_3$, Z-Lys; -CH-, - CH_2 -, PS-Polymerückgrat); 0.1(-0.1) (m, 8H, $\text{CHSi}(\text{CH}_3)_2$).

PS-PBLGlu-Blockcopolymeren:

^1H NMR (400 MHz, DMF-d_7) δ [ppm] = 8.60-8.10 (m, b, NH), 7.55-7.35 (m, 5H, Ar-H, Bzl-Glu), 7.35-6.4 (m, 5H, Ar-H, PS), 5.2-4.9 (m, 2H, CH_2 -Ar, Bzl-Glu), 4.20-3.80 (m, 1H, α -

CH, Bzl-Glu), 2.8-1.2 (m, CH₂C(O), β-CH₂, Bzl-Glu; -CH-, -CH₂-, Polymerrückgrat, PS);
lineare Blockcopolymer: 0.1-(-0.1) (m, 8H, CHSi(CH₃)₂).

PB-PBLGlu-Blockcopolymer:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 8.70-7.9 (m, NH), 7.4-7.0 (m, 5H, Ar-H, Bzl-Glu),
5.65-5.20 (m, =CH-, 1,2-Addukt; -CH=CH-, 1,4-Addukt), 5.20-4.7 (m, =CH₂, 1,2-Addukt,
PB; -CH₂-Ar, Bzl-Glu), 4.20-3.75 (m, 1H, α-CH, Bzl-Glu), 2.8-0.8 (m, -CH-, -CH₂-,
Polymerrückgrat, PB), 0.2-0.0 (m, 8H, CHSi(CH₃)₂).

PB-PZLLys-Blockcopolymer:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 8.70-7.9 (m, NH), 7.55-7.35 (m, m, 5H, Ar-H,
Z-Lys), 5.65-5.20 (m, =CH-, 1,2-Addukt; -CH=CH-, 1,4-Addukt), 5.20-4.7 (m, =CH₂, 1,2-
Addukt, PB; -CH₂-Ar, Z-Lys), 4.15-3.9 (m, 1H, α-CH, Z-Lys), 2.8-0.8 (m, -CH-, -CH₂-,
Polymerrückgrat, PB), 2.3-1.2 (m, (CH₂)₃, Z-Lys), 0.2-0.0 (m, 8H, CHSi(CH₃)₂).

Entschützung der Polymere

1.5-2g des möglichst fein pulverisierten PS (oder PB)-PZLLys-Blockcopolymer wurden mit
20-30 ml einer 30 Gew.-% Lösung von HBr in Eisessig (Fluka) versetzt und maximal 1.5 h
unter Argon gerührt. Der pH-Wert der stark sauren Lösung wurde durch Zugabe von NaOH
unter Eiskühlung neutralisiert und die resultierende Lösung anschließend einen Tag gegen
Wasser dialysiert (Dialysemembran von SpetraPore[®], MWCO: 1000 g/mol). Zur Isolierung
der Hydrochloride wurde die Polymerlösung dann mit konz. HCl-Lösung angesäuert und
danach erschöpfend dialysiert. Das Polymer wurde nach Gefriertrocknung der wässrigen
Lösung erhalten.

8.2 METHODEN

NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte an einem Bruker DPX 400-Spektrometer in CDCl_3 bei Raumtemperatur oder DMF-d_7 bei 40°C . Signale von Spuren nicht-deuterierten Lösungsmittels dienten als interne Standards bezogen auf Tetramethylsilan. Zur Bearbeitung der Spektren wurde das Programm Win-NMR (Bruker) verwendet.

Gelpermeationschromatographie (GPC)

Zur Gelpermeationschromatographie wurden Anlagen der Firma Thermo Separation Products (TPS) verwendet, die mit einem RI- (Shodex RI-71) und UV-Detektor (TSP UV1000) ausgestattet waren. GPC in THF wurde unter Verwendung von drei 30 cm Säulen vom Typ MZ-SDV ($5\ \mu\text{m}$ Korngröße) mit den Porengrößen 10^3 , 10^5 und $10^6\ \text{\AA}$ bei $RT\ ^\circ\text{C}$ durchgeführt. GPC-Analytik der Polypeptid-Blockcopolymere wurde in 0.5 Gew.-% Lösung von LiBr in NMP bei $70\ ^\circ\text{C}$ durchgeführt. Hierzu wurden zwei 30 cm $7\ \mu\text{m}$ PSS-Gram[®]-Säulen (PSS, Mainz) mit den Porengrößen 100 und $1000\ \text{\AA}$ verwendet. Zur Detektion wurden ein RI- sowie ein UV-Detektor eingesetzt.

In allen Fällen wurden jeweils $100\ \mu\text{l}$ einer etwa 0.15 Gew.-% Polymerlösung injiziert und mit einer Flussrate von 1.0 ml/min (THF) bzw. 0.8 (NMP) eluiert. Standard-Eichkurven wurden unter Verwendung von Polystyrol- bzw. Polybutadien-Standards (PSS, Mainz) erstellt. Molekulargewichte sowie Molekulargewichtsverteilungen wurde mit dem Programm-Paket NTeqGPC V5.1.5 (hs GmbH) berechnet.

Röntgenstreuung

Die SAXS-Messungen wurden an einer am MPI-KG konstruierten Kamera mit Punktfokus vermessen. Die Strahlungsquelle ist eine Drehanode FR 951 der Firma Nonius mit einer Leistung von max. 4 kW. Die Proben wurden unter Vakuum in Punktfokus-Geometrie mit Röntgenstrahlung der Wellenlänge $\lambda = 0.154\ \text{nm}$ (Cu-K α) durchstrahlt. Die zur Detektion der gestreuten Strahlung verwendeten *image plates* (Typ BAS III, Fuji, Japan) besitzen eine Auflösung von 1 Pixel pro 0.1 mm und wurden mit einem *image plate reader* (MAC-Science Dip-Scanner IPR-420, IP reader DIPR-420, Japan) ausgelesen. Der Probe-Detektor-Abstand ist auf Längen von 40 und 160 cm einstellbar.

Die Polymerfilme wurden auf einer mit Teflon beschichteten Aluminiumfolie (BYTAC®) präpariert. Dazu wurden 5-10 % Lösungen der Polymere in DMF oder Dioxan bei Raumtemperatur getrocknet.

IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden an einem Gerät der Firma BioRad, Modell FTS 6000 erstellt. Die polymeren Feststoffe wurden in abgeschwächter Totalreflexion unter Verwendung einer sog. Golden Gate-Anordnung (Single Reflection Diamond ATR) gemessen.

Lichtstreuung (LS)

Dynamische Lichtstreuung zur Untersuchung von wässrigen Lösungen amphiphiler Blockcopolymere wurde mit einem im Institut gebauten Goniometer mit Temperaturkontrolle ($\pm 0.05\text{K}$) und angeschlossenem Einzelphotonen-Detektor (ALV/SO-SIPD) sowie einem Multiple-Tau Digitalkorrelator (ALV 5000/ FAST) der Firma ALV, Langen, durchgeführt. Als Lichtquelle diente ein Argon-Ionen-Laser mit der Wellenlänge $\lambda = 488 \text{ nm}$ der Firma Coherent (Modell Innova 300), dessen Leistung im Bereich von 30 bis etwa 600 mW variiert werden kann. Die aufgenommene Korrelationsfunktion wurde mit dem Programm FASTORT.EXE in eine intensitätsgewichtete Radienverteilung umgerechnet.

Die zylindrischen Quarzküvetten (1 cm Durchmesser) wurden mit Tensidlösung (Hellmanex, Hellma) im Ultraschallbad gereinigt, mit Reinstwasser mehrfach gespült, anschließend in einer Acetondestillie mindestens 10 min staubfrei gespült und bis zum Gebrauch in einem Exsikkator aufbewahrt.

Zirculardichroismus

Messungen des Zirculardichroismus wurden an einem Spektrometer J 715 der Firma Jasco durchgeführt. Dazu wurden wässrige Polymerlösungen bei einer Konzentration von etwa 0.2 g/l in einer Quarzküvette mit der Dicke 1 mm bei Raumtemperatur vermessen (Messparameter: Auflösung: 0.2 nm; Scangeschwindigkeit: 10 nm/s; Antwortzeit: 1 s; Bandbreite; 1 nm). Für jede Messung wurden mindestens 10 Einzelmessungen akkumuliert und anschließend um das Spektrum des reinen Lösungsmittels korrigiert.

Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

TEM-Aufnahmen wurden mit einem Elektronenmikroskop Omega 912 der Firma Zeiss (100 kV Beschleunigungsspannung) durchgeführt. Als Probenträger wurden mit Kohlenstoff bedampfte Kupfer-Grids verwendet.

Rasterelektronenmikroskopie (SEM)

SEM-Aufnahmen wurden mit einem Model Gemini 1550 der Firma Zeiss durchgeführt. Die Proben wurden durch Schockgefrieren und Gefriertrocknung vorbereitet. Die Präparate wurden anschließend mit Gold bedampft.

Polarisationsmikroskopie

Die Bider wurden mit einem Olympus Lichtmikroskop (Model BX50) mit gekreuzten Polarisatoren aufgenommen. Die Präparate wurden durch Auftragen von ca. 20 % Lösungen auf das Objektglas und Zudecken mit einem Deckglas hergestellt. In manchen Fällen wurde der Rand mit einem schnelltrocknenden Zweikomponenten Harz abgedichtet um das Verdampfen des Lösungsmittels zu verlangsamen.

8.3 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AFM	<i>Atomic force microscopy</i>
A ₂	Zweiter osmotischer Virialkoeffizient
CD	Circulardichroismus
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMA	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
Glu	Glutaminsäure
GPC	Gelpermeationschromatographie
FT-IR	<i>Fourier transform infrared</i>
LACCCL	<i>Liquid adsorption chromatography at critical conditions</i>
Lit.	Literatur
Lys	Lysin
NCA	<i>N</i> -Carboxyanhydrid
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i> , kernmagnetische Resonanz
PB	Polybutadien
PDI	Polydispersitätsindex
ppm	<i>parts per million</i>
PS	Polystyrol
RI	<i>refractive index</i> , Brechungsindex
RT	Raumtemperatur
SAXS	<i>Small angle X-ray scattering</i> , Röntgenkleinwinkelstreuung
Siedepkt.	Siedepunkt
Schmp.	Schmelzpunkt
SSL	<i>strong segregation limit</i>
SSSL	<i>super strong segregation limit</i>
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TFA	Trifluoroessigsäure
THF	Tetrahydrofuran
T _g	Glasübergangstemperatur

WAXS	<i>Wide angle X-ray scattering</i> , Röntgenweitwinkelstreuung
WSL	<i>weak segregation limit</i>
Z	Aggregationszahl

9 DANKSAGUNG

Anschließend möchte ich mich bei all denen herzlich bedanken, die zum erfolgreichen Beenden dieser Arbeit beigetragen haben.

Prof. Dr. Markus Antonietti danke ich für die interessante Aufgabenstellung und die Diskussionen, die diese Arbeit voran getrieben haben.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Helmut Schlaad, meinem Chef, für die Betreuung und die intensive Zusammenarbeit während der gesamten Zeit.

Herzlich danken möchte ich Dr. Reinhard Siegel und Dr. Bernd Smarsly für die Hilfe bei der Interpretation der Streuergebnisse.

Ein Dankeschön geht an Ines Below für die Einweisung und die hilfreichen praktischen Tipps bezüglich „der Anlage“, die Synthese einiger Polymere und vor allem für den problemlosen und freundschaftlichen Umgang im Laboralltag.

Sabine Ludwigs (Universität Bayreut) danke ich für die Erstellung der AFM-Bilder, die Diskussionen über dünne Filme und die erfolgreiche Zusammenarbeit.

Für die Charakterisierung der Polymere durch die GPC bin ich Marlies Gräwert dankbar, sowie Olaf Niemeyer, der für mich die NMR-Spektren aufgenommen hat.

Birgit Schonert und Andreas Erbe danke ich für die Durchführung der Lichtstreuexperimente, sowie Ingrid Zenke für die Hilfe bei den Röntgenmessungen.

Bei Anne Heilig bedanke ich mich für die Aufnahme der AFM-Bilder. Genauso möchte ich auch Dr. Jürgen Hartmann und vor allem Rona Pitschke für die wunderschönen EM-Bilder danken. Fr. Dr. Tiersch (Universität Potsdam) danke ich für die Gefrierbruchpräparate.

Bei Antje Völkel möchte ich mich für die Durchführung der Messungen an der analytischen Ultrazentrifuge und den „lebensrettenden“ Kaffee am frühen Morgen bedanken.

Hr. Dr. Janata (Hahn Meitner Institut) danke ich für die Behandlung der Proben mit γ -Strahlung.

Vielen Dank an Doreen Ekhard, Matthijs Groenewolt und Charl Faul für die Korrekturen der Arbeit und die tolle Zeit am Institut.

Bei meinen Bürokollegen Stefan Schrage, Theodora Krasia und Danielle Franke möchte ich mich für das Verständnis und die ungetrübte Atmosphäre bedanken.

Justyna Justynska und Stephan Kubowicz danke ich für die Freundschaft, die gesunde Kritik und vieles mehr.

Bei meiner Freundin Ingrid Höher bedanke ich mich für geistige Unterstützung und unermüdliche Korrekturen dieser Arbeit.

Meinen Kindern, Jenny und Michael danke ich für ihre Geduld.

Zum Schluß bedanke ich mich bei meinen Eltern, die nie an mir gezweifelt haben und dadurch mein Studium, so wie diese Arbeit, ermöglicht haben.

10 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Hsieh, H. L.; Quirk, R. P. *Anionic Polymerization: Principles and Practical Applications*; Marcel Dekker: New York, 1996.
- (2) Faust, R.; Schlaad, H. In *Applied Polymer Science: 21st Century*; Carraher Jr., C. E., Ed.; Elsevier: Oxford, 2000.
- (3) Faust, R.; Kennedy, J. P. *Polym. Bull.* **1986**, *15*, 317.
- (4) Faust, R.; Kennedy, J. P. *Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1987**, *25*, 1847.
- (5) Miyamoto, Y.; Sawamoto, M.; Higashimura, T. *Macromolecules* **1984**, *17*, 265.
- (6) Hawker, C. J. *Trends in Polym. Sci.* **1996**, *4*, 183.
- (7) Matyjaszewski, K. *Curr. Opin. in Colloid and Interface Science* **1996**, *1*, 769.
- (8) Scollard, H. D.; McConville, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10008.
- (9) Baumann, R.; Davis, W. M.; Schrock, R. R., *119*, 3830.
- (10) Bates, F. S.; Fredrickson, G. H. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1990**, *41*, 525-557.
- (11) Bates, F. S.; Fredrickson, G. H. *Physics Today* **1999**, *52*, 32-38.
- (12) Leibler, L. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1602-1617.
- (13) Matsen, M. W.; Bates, F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 7641-7644.
- (14) Matsen, M. W.; Bates, F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1091-1098.
- (15) Förster, S.; Plantenberg, T. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 712-739.
- (16) Förster, S.; Zisenis, M.; Wenz, E.; Antonietti, M. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 9956-9970.
- (17) Israelachvili, J. N. *Intermolecular and Surface Forces*; Academic Press: London, 1985.
- (18) Förster, S.; Antonietti, M. *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 195-217.
- (19) Antonietti, M.; Förster, S. *Advanced Materials* **2003**, *15*, 1323-1333.
- (20) Gray, G. W. *Thermotropic Liquid Crystals*; John Wiley & Sons, 1987.
- (21) Elliot, A.; Ambrose, E. *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 246.
- (22) Robinson, C. *Trans. Faraday. Soc.* **1956**, *52*, 571.
- (23) Robinson, C. *Tetrahedron* **1961**, *13*, 219.
- (24) Gray, D. J. *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.* **1983**, *37*, 179.

- (25) Zugenmaier, P. *Handbook of Liquid Crystals*; Wiley-VCH: Weinheim, New York, 1998; Vol. 3.
- (26) Morgan, P. W. *Macromolecules* **1977**, *10*, 1381.
- (27) Blumstein, A.; Gauthier, M. M.; Thomas, O.; Blumstein, R. B. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1985**, *79*, 33.
- (28) Keller, P. *Macromol. Chem. Rapid Commun.* **1985**, *6*, 255.
- (29) Rehage, G. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1984**, *32*, 287.
- (30) Finkelmann, H.; Rehage, G. *Macromol. Chem. Rapid Commun.* **1980**, *181*, 31.
- (31) Finkelmann, H.; Ringsdorf, H.; Wendorff, J. H. *Macromol. Chem.* **1978**, *179*, 273.
- (32) Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L. *Biochemie*; Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg: Berlin, 2003.
- (33) Hol, W. G. J.; Vanduijnen, P. T.; Berendsen, H. J. C. *Nature* **1978**, *273*, 443-446.
- (34) von Dreele, P. H.; Lotan, N.; Ananthanarayanan, V. S.; Andreatta, R. H.; Poland, D.; A., S. H. *Macromolecules* **1871**, *4*, 408.
- (35) Karlson, R. H.; Norland, N. S.; Fasman, G. D.; Blout, E. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 2268.
- (36) Doty, P.; Wada, J. T.; Yang, J. T.; Blout, E. R. *J. Polym. Sci.* **1057**, *23*, 851.
- (37) Szwarc, M. *Nature* **1956**, *178*, 778.
- (38) Szwarc, M.; Levy, M.; Milkovick, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2656.
- (39) Cram, D. J. *Fundamentals of carbanion Chemistry*; Academic Press,: New York, 1965.
- (40) Leuchs, H. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1906**, *39*, 857.
- (41) Leuchs, H.; Geiger, W. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1908**, *41*, 1721.
- (42) Leuchs, H.; Mannasse, W. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1907**, *40*, 3235.
- (43) Fuchs, F. *Chem. Ber.* **1922**, *55*, 2943.
- (44) Brown, C. J.; Coleman, D.; Farthing, A. C. *Nature* **1949**, *163*, 834.
- (45) Farthing, A. C.; Reynolds, R. J. W. *Nature* **1950**, *165*, 647.
- (46) Farthing, A. C. *J. Chem. Soc.* **1950**, 3213.
- (47) Coleman, D.; Farthing, A. C. *J. Chem. Soc.* **1950**, 3218.
- (48) Kricheldorf, H. R. In *Models of biopolymers by ring-opening polymerization*; Penczek, S., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 1990; pp 1-132.
- (49) Deming, T. J. *Nature* **1997**, *390*, 386-389.
- (50) Douy, A.; Gallot, B. *Polymer* **1982**, *23*, 1039-1044.

- (51) Dimitrov, I.; Schlaad, H. *Chem. Commun.* **2003**, 2944-2945.
- (52) Benoit, H.; Grubisic, Z.; Rempp, P.; Decker, D.; Zilliox, J. G. *J. Chem. Phys.* **1966**, *63*, 1507.
- (53) Mori, S.; Barth, H. G. *Size exclusion chromatography*; Springer: Berlin Heidelberg, 1999.
- (54) Pasch, H.; Trathnigg, B. *HPLC of Polymers*; Springer: Heidelberg, 1997.
- (55) Schlaad, H.; Kilz, P. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 1548-1551.
- (56) Greenfield, N.; Fasman, G. D. *Biochemistry* **1969**, *8*, 4108-4116.
- (57) Binning, G.; Quate, C.; Gerber, C. *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930.
- (58) Wiener, N. *Acta Math.* **1930**, *55*, 118.
- (59) Khintine, A. J. *Math. Ann.* **1934**, *109*, 604.
- (60) Siegert, A. J. F. *MIT Rad. Lab.* **1943**, 465.
- (61) Provencher, S. W. *Computer Phys. Commun.* **1982**, *27*, 229.
- (62) Provencher, S. W. *Computer Phys. Commun.* **1982**, *27*, 214-228.
- (63) Schnablegger, H.; Glatter, O. *Appl. Opt.* **1991**, *30*, 4889.
- (64) Rayleigh, S. J. W. *Philos. Mag.* **1899**, *47*, 375.
- (65) Zimm, B. J. *Chem. Phys.* **1948**, *16*, 1093.
- (66) Micha, M. A.; Burger, C.; Antonietti, M. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5930-5933.
- (67) Ueda, K.; Hirao, A.; Nakahama, S. *Macromolecules* **1990**, *23*, 939-945.
- (68) Quirk, R. P.; Cheng, P. *Macromolecules* **1986**, *19*, 1291.
- (69) Peters, M. A.; Belu, A. M.; Linton, R. W.; Dupray, L.; Meyer, T. J.; DeSimone, J. *M. J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3380-3388.
- (70) Kukula, H.; Schlaad, H.; Falkenhagen, J.; Krüger, R.-P. *Macromolecules* **2002**, *35*, 7157-7160.
- (71) Tanaka, Y.; Takeuchi, Y.; Kobayashi, M.; Tadokoro, H. *J. Appl. Polym. Sci. A2* **1971**, *9*, 43-57.
- (72) Kukula, H.; University of Potsdam: Potsdam, 2001.
- (73) Kricheldorf, H. R. *Alpha-Aminoacid-N-Carboxyanhydrides and Related Heterocycles*; Springer: Berlin, 1987.
- (74) Daly, W. H.; Poché, D. S. *Tetrahedron Letters* **1988**, *29*, 5859-5862.
- (75) Poché, D. S.; Moore, M. J.; Bowles, J. L. *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 843-854.
- (76) Patent. *Nr EP 1 201 659 A1*.
- (77) Dimitrov, I.; Kukula, H.; Cölfen, H.; Schlaad, H. *Macromol. Symp.* **2004**, accepted.

- (78) Johnstone, R. A. W.; Woilby, A. H.; Entwistle, I. D. *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 129-170.
- (79) Anwer, M. K.; Spatola, A. F. *Synthesis* **1980**, 929.
- (80) Tsuchida, E.; Nishide, H.; Ishimaru, N.; Montgomery, D. D.; Anson, F. C. *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 2898-2902.
- (81) Hrkach, J. S.; Ou, J.; Lotan, N.; Langer, R. *Macromolecules* **1995**, *28*, 4736-4739.
- (82) Billot, J.-P.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 1889-1893.
- (83) Perly, B.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 2569-2589.
- (84) Billot, J.-P.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 1641-1650.
- (85) Gervais, M.; Douy, A.; Gallot, B.; Erre, R. *Polymer* **1988**, *29*, 1779-1783.
- (86) Nakajima, A.; Hayashi, T.; Kugo, K.; Shinoda, K. *Macromolecules* **1979**, *12*, 840-843.
- (87) Hayashi, T.; Chen, G. W.; Nakajima, A. *Polym. J.* **1984**, *16*, 739-749.
- (88) Klok, H.-A.; Langenwalter, J. F.; Lecommandoux, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819-7826.
- (89) Schlaad, H.; Kukula, H.; Smarsly, B.; Antonietti, M.; Pakula, T. *Polymer* **2002**, *43*, 5321-5328.
- (90) Ruland, W. *Colloid Polym. Sci.* **1977**, *255*, 417.
- (91) Smarsly, B.; Antonietti, M.; Wolff, T. *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 2618-2627.
- (92) Burger, C.; Micha, M. A.; Oestreich, S.; Förster, S.; Antonietti, M. *Europhys. Lett.* **1998**, *42*, 425-429.
- (93) Chen, J. T.; Thomas, E. L.; Ober, C. K.; Hwang, S. S. *Macromolecules* **1995**, *28*, 1688-1697.
- (94) Chen, J. T.; Thomas, E. L.; Ober, C. K.; Mao, G.-P. *Science* **1996**, *273*, 343-346.
- (95) Li, W.; Gersappe, D. *Macromolecules* **2001**, *34*, 6783-6789.
- (96) Ten Bosch, A.; Maissa, P.; Sixou, P. *Polymer Liquid Crystals, ed. A Blumstein, Plenum, New York* **1985**, 109.
- (97) Miller, W. G. *Ann. Rev. Phys. Chem.* **1978**, *29*, 519.
- (98) Papkov, S. P., Springer Verlag, Berlin ed., 1984.
- (99) Ronca, G.; Yoon, D. Y. *J. Chem. Phys.* **1982**, *76*, 3295.
- (100) Hill, A.; Donald, A. M. *Liquid Crystals* **1989**, *6*, 93-110.
- (101) Flory, P. J. *Proc. Roy. Soc.* **1956**, *234A*, 73.
- (102) Miller, W. G.; Wu, C. C.; Wee, E. L.; Santee, G. L.; Ray, T. H., K. *Pure & Appl. Chem.* **1974**, *38*, 37.

- (103) Abe, A.; Flory, P. J. *Macromolecules* **1978**, *11*, 1122.
- (104) Flory, P. J.; Frost, R. S. *Macromolecules* **1978**, *11*, 1126.
- (105) Frost, R. S.; Flory, P. J. *Macromolecules* **1978**, *11*, 1134.
- (106) Wee, E. L.; Miller, W. G. *Liquid crystals and Ordered Fluids*, Plenum, New York ed., 1978; Vol. 3.
- (107) Balbi, C.; Bianchi, E.; Ciferri, A.; Tealdi, A. *J. Poly. Sci. Poly.* **1980**, *18*, 2037.
- (108) Bair, T. I.; Morgan, P. W.; Kilian, F. L. *Macomolecules* **1977**, *10*, 1396.
- (109) Aharoni, S. M. *Polym. Bull.* **1983**, *9*, 186.
- (110) Uematsu, I.; Uematsu, Y. *Advances in Polymer Science*, M. Gordon ed.; Springer Verlag: Berlin, 1984.
- (111) Livolant, F. *J. Physique* **1986**, *47*, 1605-1616.
- (112) Livolant, F.; Bouligand, Y. *J. Pysique* **1986**, *47*, 1813-1827.
- (113) Yu, S. M.; Conticello, V. P.; Zhang, G.; Kayser, C.; Fournier, M. J.; Mason, T. L.; Tirrell, D. A. *Nature* **1997**, *389*, 167-170.
- (114) He, S.-J.; Lee, C.; Gido, S. P.; Yu, S. M.; Tirrel, D. A. *Macromolecules* **1998**, *31*, 9387-9389.
- (115) Yu, S., M; Conticello, V. P.; Zhang, G.; Kayser, C.; Fournier, M. J.; Mason, T. L.; Tirrel, D. A. *Nature* **1997**, *389*, 167.
- (116) Ludwigs, S.; Krausch, G.; Reiter, G.; Losik, M.; Schlaad, H.; Antonietti, M. **in preparation.**
- (117) Minich, E. A.; Nowak, A. P.; Deming, T. J.; Pochan, D. J. *Polymer* **2004**, *45*, 1735-2079.
- (118) Lee, M.; Cho, B.-K.; Zin, W.-C. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3869-3892.
- (119) Holder, S. J.; Hiorns, R. C.; Sommerdijk, N.; Williams, S. J.; Jones, R. G.; Nolte, R. J. M. *Chem. Commun.* **1998**, 1445.
- (120) Jenekhe, S. A.; Chen, X. L. *Science* **1999**, *283*, 372-375.
- (121) Jenekhe, S. A.; Chen, X. L. *Science* **1998**, *279*, 1903-1907.
- (122) Hermsdorf, N. *Dissertation* **1999**, Potsdam.
- (123) Kukula, H.; Schlaad, H.; Antonietti, M.; Förster, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1658-1663.
- (124) Chécot, F.; Lecommandoux, S.; Gnanou, Y.; Klok, H.-A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 1340-1343.

- (125) Chécot, F.; Lecommandoux, S.; Klok, H.-A.; Gnanou, Y. *Eur. Phys. J. E* **2003**, *10*, 25-35.
- (126) Kamatari, Y. O.; Konno, T.; Kataoka, M.; Akasaka, K. *J. Mol. Biol.* **1996**, *259*, 512-523.
- (127) Edwards, A. M.; Ruiz, M.; Silva, E.; Lissi, E. *Free Radical research* **2002**, *36*, 277-284.