

Aus dem Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung

# **Lineare und verzweigte Blockcopolymere aus Polypeptiden und synthetischen Polymeren**

**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

**Hildegard Kukula**

aus Homberg/Ohm

Golm, im April 2001

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von September 1998 bis April 2001 am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Golm.

Gutachter: Prof. Dr. M. Antonietti  
Dr. sc. K. Tauer  
Prof. Dr. S. Förster

Tag der mündlichen Prüfung: 09.07.2001

*Auch in Wissenschaften kann  
man eigentlich nichts wissen,  
es will immer getan sein.*

J. W. VON GOETHE

*Für meine Familie*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>4</b>
2.1	Blockcopolymere	4
2.2	Phasenverhalten	5
2.3	Aggregation in Lösung	7
2.4	Anionische Polymerisation	10
2.5	Ringöffnende Polymerisation von <i>N</i> -Carboxyanhydriden	12
2.6	Polypeptid-Blockcopolymere	16
<b>3</b>	<b>Charakterisierungsmethoden</b>	<b>18</b>
3.1	Polymercharakterisierung	18
3.1.1	<i>Gelpermeationschromatographie (GPC)</i>	18
3.1.2	<i>Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LACCC)</i>	21
3.1.3	<i>MALDI-TOF-Massenspektrometrie</i>	22
3.2	Streumethoden	23
3.2.1	<i>Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS)</i>	24
3.2.2	<i>Dynamische Lichtstreuung (DLS)</i>	29
3.3	Circulardichroismus	31
<b>4</b>	<b>Synthese und Charakterisierung der Polypeptid-Blockcopolymere</b>	<b>34</b>
4.1	Lineare Blockcopolymere	36
4.1.1	<i>Synthese und Charakterisierung der monofunktionellen Makroinitiatoren</i>	36
4.1.2	<i>Synthese und Charakterisierung der linearen Polypeptid-Blockcopolymere</i>	43
4.2	Verzweigte Polypeptid-Blockcopolymere	48
4.2.1	<i>Synthese und Charakterisierung der polyfunktionellen Makroinitiatoren</i>	48
4.2.2	<i>Synthese und Charakterisierung der verzweigten Polypeptid-Blockcopolymere</i>	53
4.3	Entfernung der Peptidschutzgruppen	56

---

<b>5</b>	<b>Strukturuntersuchungen in fester Phase</b> .....	<b>60</b>
5.1	Lineare Polypeptid-Blockcopolymerer .....	61
5.2	Verzweigte Blockcopolymerer .....	65
5.2.1	<i>Strukturmodell</i> .....	72
<b>6</b>	<b>Aggregationsverhalten in wässriger Lösung</b> .....	<b>75</b>
6.1	Circulardichroismus .....	76
6.2	Dynamische Lichtstreuung (DLS) .....	78
6.3	Transmissionselektronenmikroskopie .....	82
6.4	Oberflächenspannung.....	83
<b>7</b>	<b>Polypeptid-Blockcopolymerer als Stabilisatoren in der Emulsionspolymerisation</b> .....	<b>86</b>
7.1	Einleitung .....	86
7.2	Verzweigte und lineare polymere Stabilisatoren .....	89
7.3	Stabilisatoreffizienz .....	94
7.4	Einfluss der polymeren Stabilisatoren auf den Reaktionsverlauf .....	97
7.5	Eigenschaften der elektrosterisch stabilisierten Latizes .....	99
7.5.1	<i>Stabilität gegenüber Fremdsalz</i> .....	99
7.5.2	<i>Elektrophoretische Mobilität</i> .....	101
<b>8</b>	<b>Polypeptid-Blockcopolymerer als Wirkstoff-Trägersysteme</b> .....	<b>103</b>
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b> .....	<b>110</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>114</b>
10.1	Experimentelle Vorschriften .....	114
10.2	Methoden .....	122
10.3	Abkürzungsverzeichnis .....	127
<b>11</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>128</b>

# 1 Einleitung

Die in der Natur vorkommenden Makromoleküle sind nur aus einer begrenzten Anzahl von ‚Monomerbausteinen‘ aufgebaut. Dennoch übernehmen diese polymeren Substanzen eine Vielzahl verschiedenster Funktionen, was fast immer auf die Strukturierung der Polymere zurückzuführen ist. Insbesondere Proteine (Polypeptide) bilden definierte, hierarchisch geordnete Strukturen aus, die eng mit der Funktion des Proteins verknüpft sind: Aufgrund der dreidimensionalen Struktur eines Enzyms entstehen spezifische Reaktionsorte, an denen Umsetzungen katalysiert werden. Im Falle von Struktur-Proteinen wie der Collagen-Faser gewährleistet die Selbstorganisation der Proteinketten eine hohe Festigkeit bei gleichzeitiger Elastizität. Ein weiteres Beispiel für die außergewöhnlichen Eigenschaften von Proteinfasern sind Spinnennetze, deren Festigkeit bislang von keiner synthetischen Faser erreicht wird.

Biologische Proteine stellen monodisperse Copolymere der 20 natürlich vorkommenden L-Aminosäuren dar, deren Zusammensetzung über die Aminosäuresequenz (Primärstruktur) genau festgelegt ist. Bestimmt durch die Primärstruktur nehmen die Polypeptide eine regelmäßige stabile Konformation ( $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt, Knäuel) ein, die als Sekundärstruktur bezeichnet wird. Durch Ausbildung einer intramolekularen Tertiärstruktur und nachfolgend einer intermolekularen Quartärstruktur entsteht somit eine hierarchische Ordnung, deren Ausdehnung sich über mehrere Größenordnungen (mehrere Ångström bis einige Mikrometer) erstrecken kann. Aus einem linearen Polymer kann so nur aufgrund einer definierten Kettenzusammensetzung ein geordnetes dreidimensionales Material mit außergewöhnlichen Eigenschaften entstehen. Die Strukturbildung erfolgt dabei nicht durch kovalente Bindungen, sondern ausschließlich über sekundäre Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen, Coulomb-Wechselwirkungen, hydrophobe Wechselwirkungen und  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen.

Die Übertragung dieses Prinzips der supramolekularen Selbstorganisation in natürlichen Systemen auf das Gebiet der Materialwissenschaft ist seit einiger Zeit Gegenstand intensiver Forschung. Mit einfachen chemischen Modulen wird hierbei versucht, durch Selbstorganisation zu Materialien mit neuen und verbesserten Eigenschaften zu gelangen.

Besonders aussichtsreiche chemische Module sind Blockcopolymere, da sie eine ausgeprägte Tendenz zur Selbstorganisation durch die Bildung geordneter Nanostrukturen sowohl in fester Phase als auch in selektiven Lösungsmitteln zeigen. Der

chemische Aufbau der Blockcopolymeren lässt sich über weite Bereiche variieren und somit den gewünschten Anforderungen anpassen. Aufgrund der Unverträglichkeit der Segmente kommt es zur Mikrophasenseparation im Bereich der Nanometerskala. Die im Allgemeinen vorliegende Knäuel-Konformation der Polymerketten verhindert jedoch die Ausbildung einer nächsthöheren Ordnungsebene [1], und das Einbringen von Blocksegmenten, die zusätzliche Möglichkeiten zur Strukturbildung bieten, ist daher besonders interessant: Beispiele hierfür sind Stäbchen-Knäuel-Polymeren (engl.: *rod-coil-polymers*), deren Packung der Stäbchensegmente den Grad der räumlichen Ordnung erhöhen kann. Die Komplexität natürlicher Systeme bleibt dabei allerdings unerreicht.

Aus diesem Grund werden zunehmend ‚hybride‘ Polymersysteme synthetisiert und untersucht, die natürliche Segmente wie Polypeptide oder Polysaccharide enthalten. Diese sind nicht nur in Hinblick auf ihre Strukturbildungseigenschaften, sondern auch als potenziell bioverträgliche Materialien von Interesse. Solche Materialien finden jetzt schon zahlreiche Anwendungen, z. B. für Implantate, künstliche Gewebe, Biosensoren und ‚Drug-Carrier-Systeme‘.

Biologische Verfahren bzw. der schrittweise Aufbau von Polypeptiden garantieren monodisperse Polymere mit definierter Aminosäuresequenz, sind allerdings sehr aufwendig und liefern oft nur geringe Mengen der gewünschten Substanz. Polymerisationsverfahren, wie die seit langem bekannte ringöffnende Polymerisation von Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden [2], bieten zwar eine nur geringe Kontrolle über die Zusammensetzung der Polymerketten, jedoch sind Polypeptide so leicht zugänglich und können zumindest kontrollierte Blocksequenzen verschiedener Aminosäuren enthalten. Darüber hinaus ist der Einbau der selteneren D-Aminosäuren sowie synthetischen, natürlich nicht vorkommenden Aminosäuren einfach zu erreichen.

Einen großen Einfluss auf die Eigenschaften hat die Verzweigung von Makromolekülen. Ein Beispiel aus der Natur sind die beiden Stärkebestandteile Amylose und Amylopektin, die jeweils aus D-Glucose-Einheiten aufgebaut sind. Die unverzweigte Amylose bildet eine  $\alpha$ -helikale Struktur aus, wodurch bei Zugabe von Iod die typische blaue Färbung entsteht. Amylopektin dagegen ist stark verzweigt, weshalb die Ausbildung einer Helix-Konformation nicht möglich ist. Beide Substanzen unterscheiden sich daher deutlich in ihren Lösungs- und Materialeigenschaften.

Entsprechendes wird bei Blockcopolymeren beobachtet. Hier kann die Molekülarchitektur einen größeren Einfluss auf das Phasenseparationsverhalten haben als die Änderung der chemischen Zusammensetzung und der Blocklängen. Berechnungen des Phasendiagramms für ein verzweigtes Blockcopolymer ergaben eine deutliche

Asymmetrie und somit eine Verschiebung der Phasengrenzen im Vergleich zu einem linearen Blockcopolymer [3].

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Synthese und Charakterisierung neuartiger verzweigter Polypeptid-Blockcopolymere bestehend aus Polypeptidsegmenten in Kombination mit synthetischen hydrophoben Polymerblöcken. Die amphiphile Struktur in Verbindung mit einer nichtlinearen Molekülarchitektur lässt ein ausgeprägtes Aggregationsverhalten erwarten. Bei allen Untersuchungen zum Phasenverhalten steht ein Vergleich zu den entsprechenden linearen Blockcopolymeren im Vordergrund, um gezielt den Einfluss der Verzweigung auf die Eigenschaften zu charakterisieren. Die Polypeptidsegmente sind in der Lage, eine Sekundärstruktur zu bilden, die in wässrigen Lösungen durch Änderung des pH-Wertes beeinflusst werden kann. Dies eröffnet die Möglichkeit, diese zusätzlichen Strukturelemente im Sinne ‚schaltbarer‘ Aggregate zu nutzen und einen Übergang zwischen verschiedenen Aggregatformen zu induzieren. Wie im Falle anderer amphiphiler Blockcopolymere können wasserlösliche Verbindungen dieser Substanzklasse als Makrotenside aufgefasst werden, wobei durch die Verzweigung der Polymere eine hydrophile Kopfgruppe mit größerem Platzbedarf im Vergleich zu den linearen Polymeren entsteht; dies sollte zu verbesserten Tensideigenschaften führen.



## 2 Grundlagen

### 2.1 Blockcopolymere

Als Blockcopolymere werden Makromoleküle bezeichnet, die aus mindestens zwei kovalent verknüpften Homopolymersegmenten verschiedener Monomere bestehen und somit eine besondere Klasse innerhalb der Copolymere darstellen. Je nach Anzahl der verknüpften Blöcke entstehen Di-, Tri- oder Multiblockcopolymere. Dabei ist die Molekülgeometrie nicht allein auf die lineare Verknüpfung der Segmente beschränkt, auch der Aufbau von entsprechenden Pfropf- oder Sternpolymeren ist möglich. Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Natur der Monomere besitzen Blockcopolymere im Allgemeinen einen amphiphilen (griech.: ampho = beide; philos = Freund) Charakter. Der Begriff der Amphiphilie bezieht sich dabei nicht nur auf die Bedeutung im engeren Sinn, also der Kombination von hydrophilen und hydrophoben Segmenten in Analogie zu niedermolekularen Tensiden. Vielmehr sind Blockcopolymere je nach ihrem Aufbau in der Lage, neben der Öl/Wasser-Grenzfläche auch eine Vielzahl anderer Grenzflächen zwischen Materialien unterschiedlicher Kohäsionsenergie zu stabilisieren, wie z. B. der Polymer/Polymer- oder Metall/Polymer-Grenzfläche [4]. Die Eigenschaften von Blockcopolymeren lassen sich durch die Wahl der Monomere sowie die Anzahl und Länge der Blocksegmente in weiten Bereichen gezielt variieren. Dazu zählen insbesondere Löslichkeiten in verschiedenen Lösungsmitteln sowie die Kontrolle von Funktionalität.

Die Synthese von Blockcopolymeren kann entweder über eine nachträgliche kovalente Verknüpfung zweier Homopolymersegmente mittels einer geeigneten Kopplungsreaktion oder durch eine sequenzielle Polymerisation verschiedener Monomere erfolgen. Im Falle der zweiten Vorgehensweise sind lebende bzw. kontrollierte Polymerisationen, wie anionische, kationische [5], radikalische [6] oder koordinative Polymerisation, die bevorzugten Techniken.

Blockcopolymere sind ebenfalls von industriellem Interesse, da sie aufgrund ihrer außergewöhnlichen Eigenschaften vielfache Verwendung finden, z. B. als Emulgatoren (Pluronic<sup>®</sup>: PEO-*b*-PPO-*b*-PEO) oder thermoplastische Elastomere (Kraton<sup>®</sup>: PS-*b*-PB-*b*-PS).

## 2.2 Phasenverhalten

Zwei Homopolymere sind in der Regel aufgrund ihrer geringen Mischungsentropie in der Polymerschmelze („bulk“) unverträglich, auch wenn deren beiden Monomere vollständig mischbar sind. Dies hat zur Folge, dass bei Mischungen von Polymeren (Blends) meist makroskopische Entmischung auftritt. Eine kovalente Verknüpfung der beiden Homopolymerblöcke, wie sie in einem Diblockcopolymer vorliegt, verhindert jedoch eine Entmischung auf makroskopischer Größenskala. Stattdessen führt die Segregation der jeweiligen Blöcke zur Mikrophasenseparation und somit zur Ausbildung von Mikrodomänen mit einem typischen Größenbereich von 5 bis 100 nm. Zur Beschreibung des Phasenverhaltens eines Diblockcopolymer  $A_nB_m$  können nach BATES und FREDERICKSON als Parameter der Polymerisationsgrad  $N=N_A+N_B$ , die Zusammensetzung  $f=N_A/N$  und der FLORY-HUGGINS-Wechselwirkungsparameter  $\chi$  zwischen den Monomeren  $A$  und  $B$  herangezogen werden [7]. Der FLORY-HUGGINS-Parameter  $\chi$  hängt reziprok von der Temperatur  $T$  ab:

$$\chi = \frac{Z}{k_B T} \left[ \varepsilon_{AB} - \frac{1}{2}(\varepsilon_{AA} + \varepsilon_{BB}) \right] \quad (2.1)$$

$Z$  ist dabei die Anzahl der nächstliegenden Monomere innerhalb einer Copolymer-Anordnung und  $\varepsilon_{AB}$  beschreibt die Wechselwirkungsenergie zwischen den Monomeren  $A$  und  $B$ .

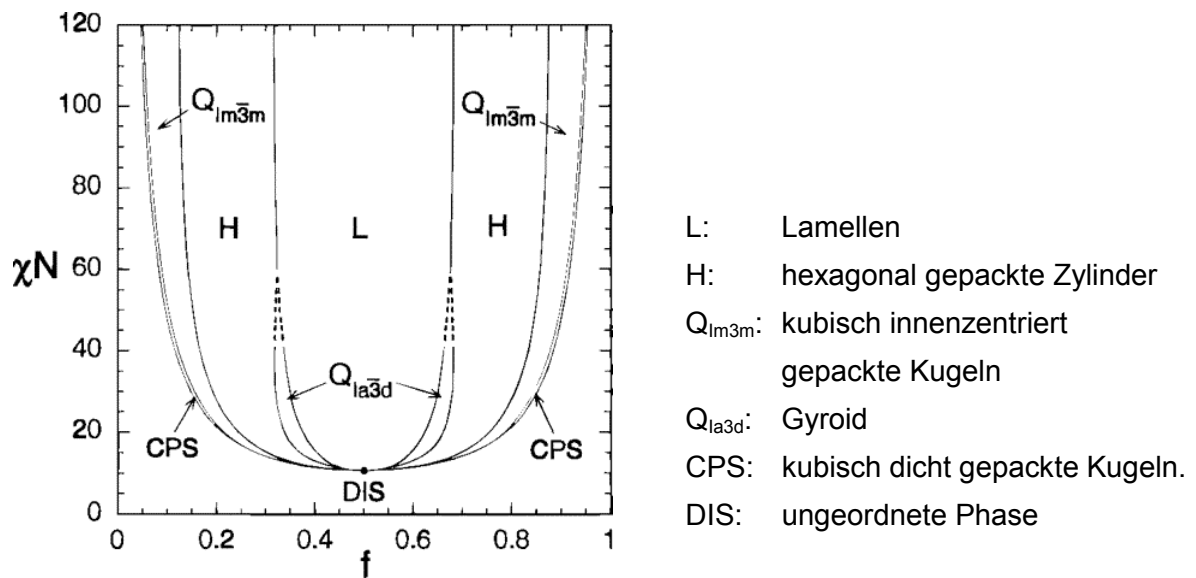
Die Tendenz der Mikrophasenseparation wird unter thermodynamischer Betrachtung im Wesentlichen durch zwei Beiträge beeinflusst: Der Betrag der Freien Energie  $\Delta F$  setzt sich additiv aus der abstoßenden Wechselwirkung  $F_\chi$  der inkompatiblen Blöcke und dem Entropieverlust  $F_N$  bei der Streckung der Blockcopolymerketten aufgrund der Mikrophasenseparation zusammen [8]:

$$\Delta F = F_\chi(\chi) + F_N(N) \quad (2.2)$$

Das Verhältnis des enthalpischen Beitrages  $F_\chi \sim \chi$  und des entropischen Beitrages  $F_N \sim 1/N$  bestimmt somit das Ausmaß der Mikrophasenseparation. Der Segregationsparameter  $\chi N$  charakterisiert und klassifiziert verschiedene Segregations-Regime, die mit jeweils charakteristischen Kettenkonformationen und Grenzflächeneigenschaften verbunden sind.

Nach LEIBLER kann das Phasenverhalten von Blockcopolymeren in einem Phasendiagramm dargestellt werden, bei dem der Segregationsparameter als Funktion der Blockcopolymer-Zusammensetzung  $f$  aufgetragen wird [9]. Ein derartiges Phasendiagramm wurde von MATSEN und BATES nach theoretischen Ansätzen berechnet und ist in Abbildung 2.1 dargestellt [10, 11].

Oberhalb der homogenen Schmelze liegt ab einem Wert  $\chi N \approx 10$  ein Bereich schwacher Entmischung (*weak segregation limit*, WSL) vor, der sich durch breite Grenzflächen zwischen den Phasen mit einem sinusförmigen Konzentrationsprofil auszeichnet. Für steigende Werte des Segregationsparameters folgt ein Gebiet starker Entmischung (*strong segregation limit*, SSL). Hier liegen die Ketten in einer gestreckten Knäuel-Konformation in nahezu reinen A oder B Domänen vor, so dass ein eindimensionales Konzentrationsprofil der Phasengrenzfläche einer Stufenfunktion entspricht. Aufgrund der starken Segregation ist das Phasenverhalten nicht mehr temperaturabhängig. In diesem Bereich werden drei Phasenmorphologien, nämlich Lamellen ( $L_\alpha$ ), hexagonal gepackte Zylinder (H) sowie eine kubische Phase gefunden. Zusätzlich zu diesen Morphologien existiert im WSL-Bereich eine Gyroid-Phase. Von KHOKLOV et al. [12] wurde zudem ein Bereich super-starker Entmischung (*super-strong segregation limit*, SSSL) für  $\chi N \gg 100$  postuliert, in welchem die Phasengrenzfläche nur noch aus den Bindungen besteht, die die beiden Blöcke A und B kovalent verknüpfen.



**Abbildung 2.1:** Berechnetes Phasendiagramm nach MATSEN und BATES [10, 11].

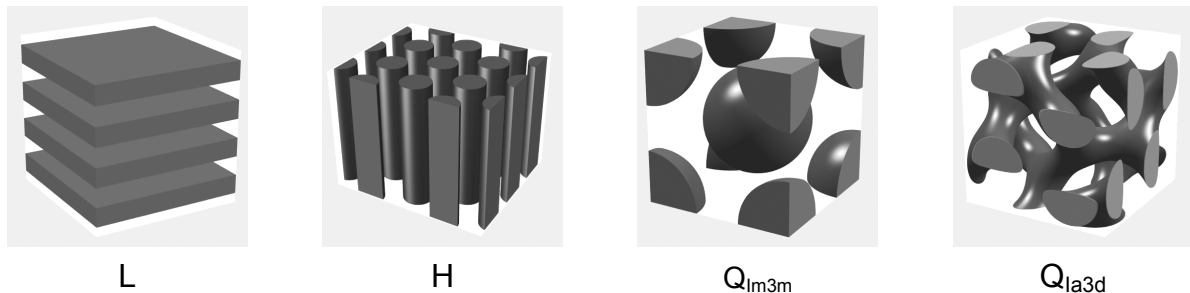
Für alle oben genannten Fälle ergibt sich die charakteristische Größe der Mikrostruktur  $R$  (z. B. Lamellendicke) aus Gründen der Raumerfüllung durch die Beziehung  $R \sim Z^{1/3} N^{1/3}$ , wobei  $Z$  die Anzahl an Blockcopolymeren pro Einheitsvolumen in einer Mikrodomäne (Aggregationszahl) und  $N$  der Gesamtpolymerisationsgrad sind. Skaliert die Aggregationszahl mit  $Z \sim N^\alpha$ , ergibt sich für die Mikrodomänengröße  $R \sim N^\delta$  mit  $\delta = (\alpha + 1)/3$  [13].

Für jedes der drei oben genannten Segregations-Regime resultieren unterschiedliche Skalierungsverhalten [7, 12]. Die Charakteristika der drei Regime sind in Tabelle 2.1 zusammengestellt.

**Tabelle 2.1:** Skalierungsverhalten in den verschiedenen Segregationsbereichen.

$\chi N$	Segregationsbereich	Mikrostrukturgröße $R$	Aggregationszahl $Z$
$\approx 10$	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	$R \sim N$	$Z \sim N^2$

Zusätzlich zu den hier genannten Phasenmorphologien wurde im WSL-Bereich von BATES et al. eine metastabile, jedoch recht langlebige Übergangsstruktur hexagonal perforierter Lamellen beobachtet [14-17]. Zudem wurden von FÖRSTER und ANTONIETTI für stark segregierende Systeme ebenfalls ‚nicht-klassische‘ Phasen wie quadratisch perforierte Lamellen und sanidisch entartete Zylinder gefunden [18].



**Abbildung 2.2:** Räumliche Darstellung einiger Phasenmorphologien.

### 2.3 Aggregation in Lösung

Phänomene der Segregation und Selbstorganisation von Blockcopolymeren treten nicht nur in der Schmelze oder in fester Substanz auf, sondern auch in binären Mischungen mit anderen Homopolymeren oder Lösungsmitteln. Die grundlegenden Konzepte zur Beschreibung der Mikrophasenseparation gelten auch in diesen Fällen. Allerdings müssen noch zusätzliche Parameter, wie der Polymerisationsgrad des Homopolymers bzw. des Lösungsmittels, die FLORY-HUGGINS-Wechselwirkungsparameter zwischen jeweils einem der Blöcke und dem Lösungsmittel sowie der

relative Volumenanteil jeder Komponente, zur Charakterisierung des Phasenverhaltens berücksichtigt werden.

Einen einfachen Fall der Mikrophasenseparation stellt beispielsweise die Bildung von Mizellen in einem selektiven Lösungsmittel dar, wie sie auch für niedermolekulare Tenside beobachtet wird [19-22]. Ein selektives Lösungsmittel löst im Idealfall nur einen der beiden Blöcke eines  $AB$ -Diblockcopolymers, während es für den anderen Block ein Fällungsmittel oder zumindest ein sehr schlechtes Lösungsmittel darstellt. Das unlösliche Molekülsegment  $A$  bildet den Kern der Mizelle, während der lösliche Block  $B$  die umgebende Korona bildet. Ausgehend von den relativen Größenverhältnissen zwischen Kern und Korona werden Modelle für zwei Grenzfälle diskutiert: Ist die Dimension der Korona sehr viel größer als der Kern ( $N_A \ll N_B$ ), so dass die Größe der Korona die Größe der Mizelle dominiert, spricht man von ‚haarigen‘ Mizellen (*hairy micelles*). Im umgekehrten Fall eines deutlich größeren Kerns im Vergleich zur Korona ( $N_A \gg N_B$ ), liegen sogenannte ‚kurzgeschorene‘ Mizellen (*crew cut micelles*) vor. Eine dritte Klasse stellen die ‚amphiphilen‘ Mizellen (*amphiphilic micelles*) dar, die von amphiphilen Blockcopolymeren gebildet werden. Charakteristisch für diese Mizellen ist ein großer Wert des Wechselwirkungsparameters  $\chi$ . Der Begriff ‚amphiphile Mizelle‘ bezieht sich somit auf ein System starker Segregation (SSL) unabhängig vom strukturellen Aufbau – ‚crew cut‘ oder ‚hairy‘ – der Mizelle. Diese Systeme zeigen eine charakteristische Abhängigkeit der Aggregationszahl von  $N_A^2$ , die aufgrund eines einfachen geometrischen Modells in Analogie zu niedermolekularen Tensiden erklärt werden kann [23]. Das Skalierungsverhalten der verschiedenen Mizelltypen ist in Tabelle 2.2 zusammengefasst:

**Tabelle 2.2:** Skalierungsverhalten für verschiedene Mizelltypen.

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. konnten für stark segregierende Systeme einen allgemein gültigen Zusammenhang zwischen der Aggregationszahl  $Z$  und den Polymerisationsgraden der beiden Blöcke herstellen [13]:

$$Z = Z_0(\chi)N_A^2N_B^{-0.8} \quad (2.3)$$

Der Parameter  $Z_0(\chi)$  ist eine spezifische Konstante, die vom Blockcopolymersystem abhängt. Die Abhängigkeit von  $N_B^{-0.8}$  steht dabei im Einklang mit theoretischen Vorhersagen für Sternpolymere in guten Lösungsmitteln.

Amphiphile Blockcopolymere zeigen unter vielen Gesichtspunkten ein sehr ähnliches Verhalten wie niedermolekulare Tenside. Letztere können in verdünnter Lösung nicht nur Mizellen, sondern eine Vielzahl weiterer Aggregationsformen bilden, was im Wesentlichen durch molekulare Parameter bestimmt wird. In einem von ISRAELACHVILI [24] ursprünglich für niedermolekulare Tenside entwickelten Modell wird das Verhältnis aus dem Volumen  $V$ , das ein Tensidmolekül einnimmt, sowie dem mittleren Flächenbedarf  $a$  der Kopfgruppe und der Konturlänge  $l_{kont}$  der hydrophoben Kette betrachtet.

$$P = \frac{V}{a \cdot l_{kont}} \quad (2.4)$$

Der so erhaltene kritische Packungsparameter  $P$  kann zur Vorhersage der Aggregatstruktur genutzt werden.

**Tabelle 2.3:** Erwartete Aggregatstruktur in Abhängigkeit des Packungsparameters.

P	Molekülgeometrie	Aggregatstruktur
<1/3	Kegel	sphärische Mizellen
1/3 – 1/2	stumpfer Kegel	zylindrische Mizellen
1/2 - 1	stumpfer Kegel	Vesikel, gekrümmte Doppelschichten
1	Zylinder	planare Doppelschichten (Bilayer)

Wie im Falle der niedermolekularen Tenside beschränken sich die gefundenen Aggregatstrukturen amphiphiler Blockcopolymere nicht allein auf sphärische Mizellen. Für verschiedene Blockcopolymersysteme wurden ebenfalls zylindrische oder wurmartige Mizellen sowie vesikuläre Strukturen gefunden [25-29].

## 2.4 Anionische Polymerisation

Mit der 1956 von SZWARC [30, 31] erstmals beschriebenen lebenden anionischen Polymerisation können Polymere mit kontrolliertem Molekulargewicht und engen Molekulargewichtsverteilungen, verschiedenste Blockcopolymere sowie Polymere mit definierten Funktionalitäten („telechele“ Polymere, Makromonomere), Topologien (Pfropfcopolymere, Sterne) und Mikrostrukturen hergestellt werden.

Es handelt sich bei der anionischen Polymerisation um eine Kettenwachstumsreaktion, deren Verlauf in die drei Schritte Initiierung, Wachstum und Abbruch unterteilt werden kann. Der lebende Charakter der Polymerisation ist dabei durch das Fehlen von Übertragungs- und irreversiblen Abbruchreaktionen gekennzeichnet [32, 33]. Unter diesen Bedingungen sowie einer schnellen Initiierung bleibt die Konzentration der aktiven Zentren, die Monomer anlagern, während des gesamten Reaktionsverlaufes konstant. In diesem Fall bestimmt die Wachstumsreaktion die Polymerisationsgeschwindigkeit und es ergibt sich ein Geschwindigkeitsgesetz von pseudo-erster Ordnung.

Das Zahlenmittel des Polymerisationsgrades  $P_n$  ergibt sich aus dem Verhältnis der eingesetzten Monomerkonzentration  $[M]_0$  und der Konzentration aktiver Zentren  $[P^*]$  und ist proportional zum Umsatz  $x_p$ . Die Konzentration der aktiven Zentren ergibt sich aus der Initiatorkonzentration  $[I]$  und der Initiatoreffektivität  $f_i$ .

$$P_n = \frac{[M]_0}{[P^*]} x_p = \frac{[M]_0}{f_i [I]} x_p \quad (2.5)$$

Für eine ideal lebende Polymerisation mit schnellem Initiierungsschritt und gleicher Anlagerungswahrscheinlichkeit der Monomere an jede der wachsenden Ketten ist die zu erwartende Molekulargewichtsverteilung durch eine Poisson-Verteilung gegeben [34]. Für die Polydispersität  $PD$  der Polymere gilt:

$$PD = \frac{M_w}{M_n} = 1 + \frac{P_n}{(P_n + 1)^2} \approx 1 + \frac{1}{P_n} \quad \text{für } P_n \gg 1 \quad (2.6)$$

Somit lassen sich durch anionische Polymerisation sehr engverteilte Polymere herstellen. Verbreiterte Verteilungen lassen sich auf nicht ideale Bedingungen, wie Übertragungsreaktionen, Abbruch durch Verunreinigungen, langsame Mischung der Reaktanden sowie langsame Initiierung, Koexistenz verschieden aktiver Spezies oder Depolymerisation zurückführen.

Die Durchführung einer anionischen Polymerisation erfordert im Allgemeinen das Arbeiten in Inertgasatmosphäre mittels Vakuumtechniken, da die aktiven Kettenenden

sowie meist auch der Initiator durch Kontakt mit Feuchtigkeit, Sauerstoff oder Kohlendioxid deaktiviert werden [35, 36]. Ob die Polymerisation eines eingesetzten Monomers in einer kontrollierten und lebenden Weise abläuft, hängt in starkem Maße von den gewählten Reaktionsbedingungen – Initiator, Gegenion, Lösungsmittel, Temperatur und Additiven – ab [37, 38].

Als Monomere eignen sich solche Olefine oder Ringmoleküle, die durch Elektronen ziehende oder delokalisierende Substituenten das Carbanion des aktiven Kettenendes stabilisieren können. Dazu zählen Styrole, 1,3-Diene, Vinylpyridine, Acryl- und Methacrylsäurederivate, Oxirane, Lactone und cyclische Siloxane.

Als Initiatoren werden Basen oder Lewis-Basen (z. B. Metallalkyle, Alkalimetalle, Alkoholate) eingesetzt. Dabei wird die Polymerisation eines ungesättigten Monomers um so leichter initiiert, je größer der  $pK_a$ -Wert des Initiators ist. Neben der Basizität spielen allerdings auch sterische Effekte, die Resonanzstabilisierung der Initiatoranionen und die Solvatisierung der Gegenionen durch Lösungsmittel oder Monomer eine Rolle. Zur Initiierung von Vinylmonomeren werden im Wesentlichen Lithiumorganyle verwendet, die eine große Elektronenaffinität und -negativität besitzen und direkt nucleophil an die Vinylverbindungen addieren.

Die Synthese funktionalisierter Polymere kann entweder durch die Verwendung eines funktionalisierten Initiators oder durch Abbruch der Polymerisationsreaktion mit einem funktionalisierten Elektrophil erfolgen. Zahlreiche Reagenzien zur Einführung verschiedener funktioneller Gruppen sind in der Literatur beschrieben. Je nach Art der einzuführenden funktionellen Gruppen, z. B. protische OH- oder  $NH_2$ -Gruppen, ist die Verwendung von Schutzgruppen erforderlich [39].

Die anionische Polymerisation hat große Bedeutung für die Synthese von Block-, Stern- und Pfropfcopolymeren, da hier Blocksegmente mit unterschiedlichen Eigenschaften definiert kovalent verknüpft werden können. Aufgrund des lebenden Charakters der Reaktion lassen sich lineare Blockcopolymere leicht durch sequenzielle Monomerzugabe herstellen. Der Kreuzschritt zwischen den beiden verschiedenen aktiven Spezies verläuft allerdings nur dann glatt, wenn das entstehende Kettenende eine niedrigere Reaktivität aufweist. Demnach spielt die Reihenfolge der Monomerzugabe eine entscheidende Rolle. Die Reaktivität der Carbanionen kann mit Hilfe der  $pK_a$ -Werte der konjugierten Säuren abgeschätzt werden [40].

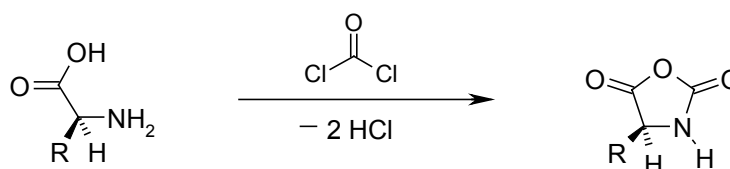


## 2.5 Ringöffnende Polymerisation von *N*-Carboxyanhydriden

Die ringöffnende Polymerisation von Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden ist die am weitesten verbreitete Technik zur Darstellung synthetischer Polypeptide. Allerdings sind so nur Homopolymere, statistische Copolymere oder Pfropfcopolymere zugänglich, welche nicht die Monodispersität und spezifische Aminosäuresequenz natürlicher Proteine aufweisen [41, 42]. Dennoch konzentriert sich ein großes Interesse auf solche Homo- und Copolypeptide: Sie dienen als Modelle für natürliche Proteine bei Konformationsanalysen und sind aufgrund ihrer Bioverträglichkeit und -abbaubarkeit potenziell für pharmazeutische und medizinische Zwecke einsetzbar.

Die Synthese des *N*-Carboxyanhydrids (NCA) – auch LEUCHS Anhydrid genannt – einer *N*-unsubstituierter  $\alpha$ -Aminosäure kann prinzipiell auf zwei verschiedenen Wegen erfolgen:

Bei der sogenannten LEUCHS-Methode [43] wird das Produkt durch Zyklisierung eines *N*-Alkoxy-carbonylamino-säurehalogenids erhalten. Die häufiger eingesetzte FUCHS-FARTHING-Methode [44] sieht die direkte Phosgenierung der freien  $\alpha$ -Aminosäure bzw. geeigneter Derivate vor (Abb. 2.3). Anstelle gasförmigen Phosgens, das nur schlecht dosiert werden kann, wird heutzutage bevorzugt das feste Triphosgen (Bis(trichlormethyl)carbonat) eingesetzt. Einige *N*-Carboxyanhydride *N*-substituierter Aminosäuren, wie z. B. des Prolins, lassen sich nicht durch direkte Phosgenierung erhalten, so dass zusätzliche Syntheseschritte erforderlich sind.



**Abbildung 2.3:** Synthese von *N*-Carboxyanhydriden mit Phosgen.

Als Nebenprodukte der Phosgenierungsreaktion treten neben Chlorwasserstoff Chloroformyl-Aminosäurechloride und  $\alpha$ -Isocyanato-Säurechloride auf, die beide einen elektrophilen Charakter besitzen und somit bei der Polymerisation der *N*-Carboxyanhydride stören. Allerdings ermöglichen sie auf der anderen Seite eine längere Lagerung des Rohproduktes, da beide mit Wasser reagieren und so eine Polymerisation durch Feuchtigkeitsspuren verhindern. Da viele der *N*-Carboxyanhydride im Gegensatz zu den Verunreinigungen kristallin sind, erfolgt die Reinigung durch Umkristallisieren aus geeigneten Lösungsmitteln.

*N*-Carboxyanhydride unsubstituierter Aminosäuren besitzen vier reaktive Zentren – zwei elektrophile Gruppen (CO-2 und CO-5) sowie zwei nucleophile Gruppen (NH und C-H nach Deprotonierung) –, welche für die komplexe Chemie dieser Verbindungsklasse verantwortlich sind.

Die Initiierung der ringöffnenden Polymerisation kann durch eine Reihe verschiedener Nucleophile und Basen erfolgen. Unter mechanistischen Gesichtspunkten können die Initiatoren in zwei Klassen unterteilt werden, nämlich diejenige der protischen und der aprotischen Nucleophile/Basen. Zusätzlich können die Initiatoren auch hinsichtlich ihrer bevorzugten Angriffsstelle am *N*-Carboxyanhydrid, ihrer Reaktivität im Vergleich zum aktiven Kettenende und dem Einbau in die wachsende Kette klassifiziert werden. Im Folgenden werden die beiden wichtigsten Reaktionsmechanismen vorgestellt, eine detaillierte Darstellung bezüglich der verschiedenen Initiatoren findet sich in [42].

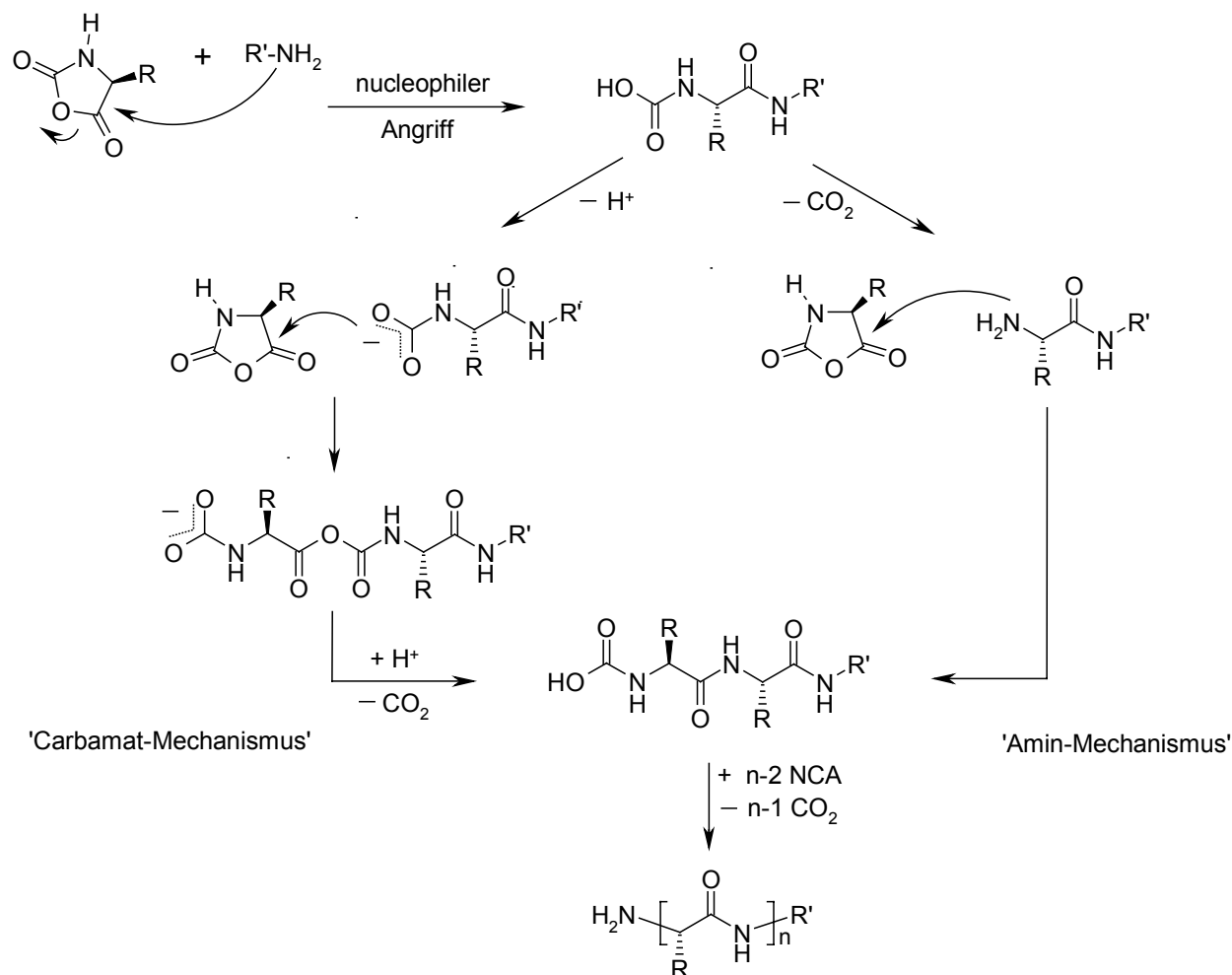
### ***Primäre Amine als Initiatoren:***

Primäre Amine, die der Klasse der protischen Nucleophile angehören, greifen *N*-Carboxyanhydride am Carbonylkohlenstoff C-5 nucleophil an, so dass unter Ringöffnung zunächst eine Carbamat-Verbindung entsteht. Das Kettenwachstum kann nun nach zwei verschiedenen Mechanismen erfolgen: Durch direkte Decarboxylierung entsteht eine aktive Spezies, die wiederum eine primäre Aminofunktion als Kettenende besitzt, welches somit ein weiteres NCA-Molekül nucleophil angreifen kann (Amin-Mechanismus). Das ursprüngliche Carbamat-Ion kann jedoch auch als aktives Kettenende fungieren und seinerseits ein weiteres NCA-Molekül anlagern (Carbamat-Mechanismus). Dabei entstehen neue Carbamat-Ionen, die ebenfalls decarboxylierbar sind und damit in das Produkt des Amin-Mechanismus übergehen (Abb. 2.4).

Da sowohl die Protonierung der Carbamat-Ionen sowie die Decarboxylierung der Carbamat-Säure reversibel sind, wird der Mechanismus der Kettenfortpflanzung durch die Reaktionsbedingungen, insbesondere Temperatur, Lösungsmittel und CO<sub>2</sub>-Druck, bestimmt. Experimentelle Beobachtungen deuten darauf hin, dass der Carbamat-Mechanismus nur eine untergeordnete Rolle spielt. Da das Kettenende nach Verbrauch des gesamten Monomers weiterhin als Nucleophil reagieren kann, ist die Herstellung von Blockcopolymeren bestehend aus unterschiedlichen Aminosäuren durch Zugabe von weiterem *N*-Carboxyanhydrid prinzipiell möglich.

Primäre Alkylamine besitzen eine größere Nucleophilie als das aktive Kettenende, so dass der Initiierungsschritt schneller als die Kettenfortpflanzung erfolgt. In diesem Fall kann der Polymerisationsgrad in Analogie zu lebenden anionischen Polymerisationen über das Monomer-Initiator-Verhältnis eingestellt werden. Polymerisationsgrade >150 sind allerdings auf diesem Wege nicht zugänglich. Es

werden eine Reihe von Abbruchreaktionen diskutiert, welche die Bildung höherer Polymerisationsgrade verhindern. Zudem werden keine engen Molekulargewichtsverteilungen erhalten. Dies zeigt, dass die Amin initiierte NCA-Polymerisation keinen echten lebenden, sondern einen nur mäßig kontrollierten Charakter besitzt.

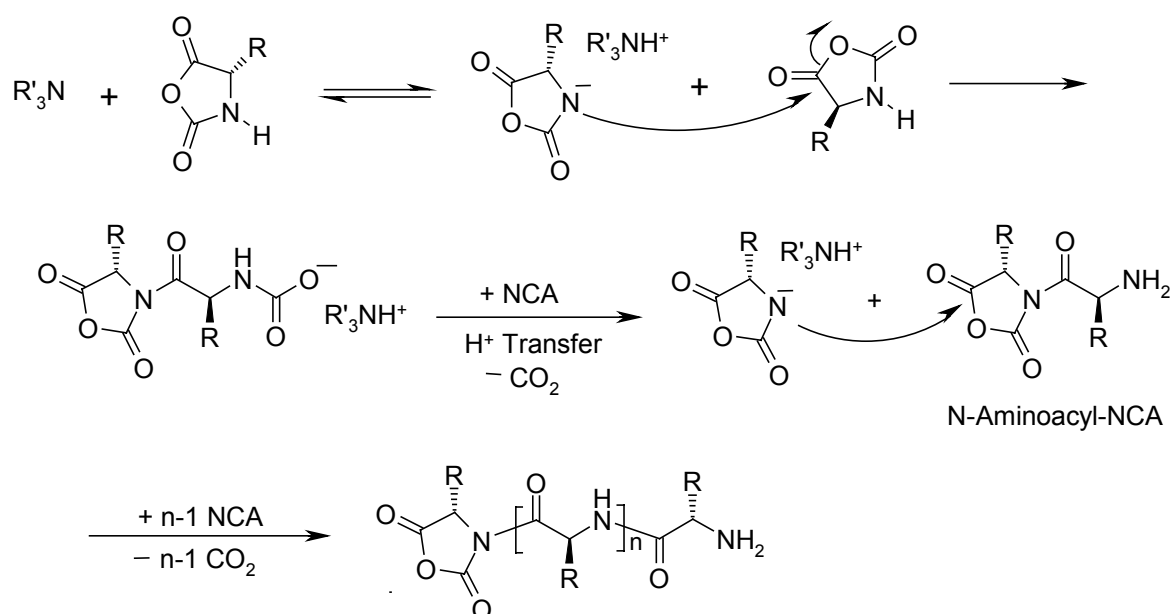


**Abbildung 2.4:** Reaktionsmechanismus der Polymerisation von *N*-Carboxyanhydriden bei Verwendung eines primären Amins als Initiator.

### **Tertiäre Amine als Initiatoren:**

Bei der Initiierung mit tertiären Aminen verläuft die Polymerisation nach dem sogenannten ‚Aktivierten Monomer‘ (AM)-Mechanismus: Anstelle eines nucleophilen Angriffs erfolgt eine Deprotonierung der unsubstituierten NH-Gruppe, d. h. das Initiatormolekül reagiert ausschließlich als Base und nicht als Nucleophil. Das entstandene Anion greift dann ein weiteres *N*-Carboxyanhydrid nucleophil an C-5 an, so dass zunächst ein Dimer entsteht, das ein Carbamat als auch ein Amin als

Kettenende aufweisen kann. Dieses Dimer kann durch ein weiteres deprotoniertes *N*-Carboxyanhydrid angegriffen werden, wodurch im weiteren Verlauf der Reaktion Oligopeptide entstehen, welche in nachfolgenden Schritten zu einem Polymer mit hohem Molekulargewicht kondensieren können. Der Initiator wird dabei nicht in die wachsende Polymerkette inkorporiert, sondern fungiert vielmehr als Katalysator in einem Protonierungs/Deprotonierungs-Gleichgewicht. Eine Kontrolle des Molekulargewichtes oder der Molekulargewichtsverteilung ist daher nicht möglich. Im Allgemeinen werden mit dieser Methode bei einem nahezu vollständigen Umsatz Polymere mit hohen Molekulargewichten erhalten.



**Abbildung 2.5:** Reaktionsmechanismus der Polymerisation von *N*-Carboxyanhydriden bei Verwendung eines tertiärenamins als Initiator („Aktiviertes-Monomer“-Mechanismus).

Beide oben beschriebene Polymerisationsmechanismen stehen in Konkurrenz zueinander und stellen jeweils eine Nebenreaktion der anderen dar, da ein Wechsel zwischen Amin- und AM-Mechanismus im Verlauf einer Polymerisationsreaktion stattfinden kann.

Um eine bessere Kontrolle über den Reaktionsverlauf und die angestrebten Molekulargewichte zu erhalten, wurden Übergangsmetall-Amin-Komplexe als Initiatoren zur koordinativen Polymerisation von *N*-Carboxyanhydriden eingesetzt [45]. Es konnten so wohldefinierte Homo- und Blockcopolymere mit apparenten Polydispersitäten  $< 1.13$  erhalten werden.

## 2.6 Polypeptid-Blockcopolymere

Als Polypeptid-Blockcopolymere werden in der vorliegenden Arbeit solche Blockcopolymere bezeichnet, die aus Segmenten eines herkömmlichen synthetischen Polymers (Polystyrol, Polybutadien, Polyethylenglycol, usw.) und Polypeptidsegmenten (Poly( $\alpha$ -aminosäure) $_n$ ) bestehen. Je nach Wahl der Monomere für beide Segmente können die Eigenschaften der entstehenden Blockcopolymere gezielt eingestellt werden: Neben amphiphilen Blockcopolymeren können ebenfalls doppelt-hydrophile oder vollkommen unpolare Blockcopolymere erhalten werden. Liegt ein enantiomerenreines und somit optisch aktives Polypeptidsegment vor, so besteht die Möglichkeit zur Ausbildung einer Sekundärstruktur ( $\alpha$ -Helix oder  $\beta$ -Faltblatt), was ein zusätzliches Strukturelement dieser Polymer-Klasse darstellt. Im Gegensatz dazu bildet das synthetische Polymersegment eine isotrope Knäuel-Konformation aus und zeigt keinerlei Vorzugsrichtung. Gerade diese Eigenschaften machen diese Polymere aus theoretischen und praktischen Gründen interessant.

In der Literatur finden sich zahlreiche Beispiele zur Synthese, Charakterisierung und Anwendung von linearen Polypeptid-Blockcopolymeren. Einige der Arbeiten setzen Peptidsegmente wegen ihrer Strukturbildungseigenschaften ein, um Mikrophasen-separation dieser Systeme zu untersuchen. In vielen Arbeiten dagegen wurden Blöcke aus Poly( $\alpha$ -aminosäure) $_n$  im Hinblick auf ihre Bioverträglichkeit zur Anwendung im pharmazeutischen Bereich oder als Modelle für natürliche Systeme gewählt.

GALLOT et al. [46] synthetisierten (amphiphile) Polypeptid-Blockcopolymere bestehend aus Polystyrol oder Polybutadien als hydrophobem Segment und verschiedenen Aminosäuren, darunter L-Glutaminsäure-5-benzylester und  $N_\epsilon$ -Benzyloxycarbonyl-L-lysin. Sie untersuchten anschließend die Struktur der Polymere in mesomorphen Gelen und festen Filmen mit Röntgenkleinwinkelstreuung.

SAMYN et al. [47] führten später in Analogie dazu Strukturuntersuchungen an ABA-Triblockcopolymeren (A: Poly(L-glutaminsäure-5-benzylester), B: Polystyrol) durch.

Ein ähnliches ABA-Triblockcopolymer, jedoch mit einem B-Segment bestehend aus Polybutadien und zwei Segmenten aus Poly(L-glutaminsäure-5-benzylester), wurde von HAYASHI et al. [48] als Modellsubstanz für Membranen synthetisiert und untersucht.

Im Gegensatz zu den vielfach untersuchten hochmolekularen Blockcopolymeren setzten KLOK et al. Diblock-Oligomere als Bausteine zum Aufbau von Nanostrukturen durch Selbstorganisation ein [49]. Die aus einem Oligostyrol sowie einem Oligo(L-glutaminsäure-5-benzylester) aufgebauten Oligomere zeigten verschiedene

thermotrope flüssigkristalline Phasen in Abhängigkeit der Blocklänge und Konformation des Peptidsegmentes.

Zahlreiche Arbeiten zur Synthese und Anwendung von Polyethylenglycol-*block*-polypeptid-Copolymeren wurden von KATAOKA et al. durchgeführt. Da Polyethylenglycol ebenso wie das Polypeptidsegment bioverträglich ist, sind Blockcopolymerer dieser Art als Trägersysteme für Wirkstoffe („drug delivery“) und DNA („gene delivery“) interessant. KATAOKA et al. setzten als Aminosäure im Wesentlichen L-Asparaginsäure-4-benzylester ein, die aufgrund des Benzylesters als Schutzgruppe einen hydrophoben Charakter besitzt. Nach Entfernen der Schutzgruppe entsteht dann eine negativ geladene hydrophile Monomereinheit. Aufgrund dieser variablen Eigenschaften konnte das gleiche Polymer als Trägersystem für unterschiedlichste Wirkstoffe eingesetzt werden. PEG-*b*-P(L-lysin)-Copolymere werden aufgrund der Komplexierungseigenschaften des kationischen Polylysins an DNA als Vektoren zum Gen-Transport untersucht.

Bei Mischung von Polypeptid-PEG-Blockcopolymeren mit den beiden gegensätzlich geladenen Polypeptidsegmenten Polylysin und Polyasparaginsäure in Wasser beobachtete KATAOKA et al. die Bildung von Mizellen (*polyion complexes*) mit einem Kern aus den neutralisierten Polypeptidsegmenten und einer Korona aus PEG-Ketten [50]. Darüber hinaus wurde gefunden, dass nur gegenläufig geladene Polypeptidsegmente gleicher Kettenlänge bei dieser Neutralisationsreaktion miteinander reagieren, so dass die Bildung der Komplex-Mizellen einen Schritt der Selbsterkennung beinhaltet [51].

Eine stabilisierende Wirkung des synthetischen Blocksegmentes auf die Ausbildung einer  $\alpha$ -Helix wurde sowohl von KATAOKA [52] als auch von KLOK [49] beschrieben.

## 3 Charakterisierungsmethoden

### 3.1 Polymercharakterisierung

#### 3.1.1 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie, GPC (engl.: *size exclusion chromatography*, SEC), ist die wichtigste Methode zur Bestimmung von Molekulargewichten und Molekulargewichtsverteilungen von Polymeren.

Es handelt sich hierbei um eine spezielle Form der Flüssigchromatographie. Im Gegensatz zur sogenannten Affinitätschromatographie (z. B. HPLC) erfolgt die Trennung nicht durch Adsorption der Moleküle an die stationäre Phase, sondern durch Größenausschluss in den Poren des Säulenmaterials (meist ein vernetztes Polymergel). Das hydrodynamische Volumen des Polymers in Lösung ist somit die eigentliche physikalische Trenngröße und nicht sein Molekulargewicht.

Makromoleküle, deren hydrodynamisches Volumen das der Poren übersteigt, werden als erstes am sogenannten ‚oberen Ausschlussvolumen‘  $V_0$  eluiert, welches dem Volumen außerhalb der Poren entspricht. Kleine Moleküle können in die Poren hineindiffundieren und verweilen somit länger auf der Säule. Große Moleküle eluieren so vor den kleinen Molekülen mit dem Elutionsvolumen  $V_e = V_0 + k_{GPC} V_i$ , wobei  $k_{GPC}$  der Verteilungskoeffizient und  $V_i$  das Volumen innerhalb der Poren darstellt.

Die Detektion der Polymerkonzentration im Eluat erfolgt als Funktion der Zeit bzw. des Elutionsvolumens. Üblicherweise werden dazu ein Differentialrefraktometer (RI) oder ein UV-Detektor (bei UV-aktiven Proben) verwendet. Da das Brechungsindexinkrement proportional zur Masse des gelösten Stoffes ist, liefert der RI-Detektor ein Signal proportional zur Konzentration des Polymers in der jeweiligen Fraktion. Im Falle der UV-Detektion sind zwei verschiedene Modi möglich: Liegt ein UV-aktives Monomer vor und wird in dessen Absorptionsmaximum (z. B.  $\lambda = 260$  nm für PS) detektiert, so wird ebenfalls ein massenproportionales Signal erhalten. Besitzt das Polymer eine spezifische UV-aktive Endgruppe, so wird ein endgruppenproportionales Signal detektiert.

Da es sich bei der GPC um eine Relativmethode zur Bestimmung von Molekulargewichten handelt, ist eine Eichung erforderlich, um den gemessenen Elutionsvolumina entsprechende Molekulargewichte zuordnen zu können. Dazu werden engverteilte Polymerstandards verwendet, deren Molekulargewichtsmittelwerte durch Absolutmethoden (Osmometrie, Lichtstreuung) bestimmt wurden. Das jeweils gemessene Elutionsvolumen wird als Funktion des Molekulargewichtes  $M$  bzw.

Polymerisationsgrades  $N$  dargestellt. Durch Interpolation mit Polynomen höherer Ordnung erhält man die Eichkurve  $\log M = f(V_e)$ . Mittels der Eichkurve können nun die Mittelwerte der Molekulargewichte sowie die Polydispersitäten bestimmt werden.

Für Polymere unterschiedlicher Monomere sowie unterschiedlicher Topologie müssen jeweils eigene Eichkurven erstellt werden. Dies ist jedoch nicht immer möglich, da die entsprechenden Polymerstandards nicht zur Verfügung stehen. Insbesondere für (Block)Copolymere werden nur apparente Werte der Molekulargewichte und Polydispersitäten erhalten.

Für Copolymere ergeben sich zusätzliche Schwierigkeiten, da nicht nur eine Verteilung der Gesamtmolekulargewichte vorliegt, sondern die jeweiligen Ketten desselben Molekulargewichtes eine chemische Heterogenität aufweisen. Diese chemische Inhomogenität der Copolymerketten ist Folge des Polymerisationsprozesses und entsteht durch die unterschiedliche Verteilung der Komponenten entlang der Polymerkette. Da das hydrodynamische Volumen nicht notwendigerweise linear von der Copolymerzusammensetzung abhängt, ist mittels GPC eine Auftrennung nach der Größe des Molekulargewichtes in diesen Fällen nicht gewährleistet. Eine umfassende Charakterisierung von Copolymeren ist erst durch Kombination von Chromatographiemethoden möglich: Mittels kritischer Chromatographie (LACCC, siehe unten) kann zunächst die Trennung nach chemischen Heterogenitäten erfolgen, der dann eine Charakterisierung der jeweiligen Fraktionen durch GPC folgt (2D-Chromatographie) [53].

Verschiedene Monomereinheiten besitzen normalerweise verschiedene Brechungsindexinkremente  $dn/dc$ , so dass ein detektiertes RI-Signal nicht mehr direkt massenproportional ist. Bei Kenntnis der Brechungsindexinkremente der jeweiligen Homopolymere wäre eine Korrektur prinzipiell möglich, die allerdings die genaue Kenntnis der Zusammensetzung der eluierenden Kettenfraktion erfordert. Dies kann mit einem zweiten Detektor erfolgen, der spezifisch nur auf eines der beiden Monomere anspricht (z. B. ein UV-Detektor, falls nur eines der beiden Monomere UV-aktiv ist.)

Ein generelles Problem, das insbesondere bei amphiphilen Blockcopolymeren auftritt, ist die Bildung von Aggregaten, sofern das verwendete Lösungsmittel nicht beide Blöcke gleich gut löst. Somit kommt der Wahl der experimentellen Parameter, wie Lösungsmittel und Säulenmaterial eine große Bedeutung zu, da Aggregatbildung und Adsorptionsphänomene das Messergebnis verfälschen.

Da die Trennung der Polymere aufgrund des hydrodynamischen Volumens  $V_h$  erfolgt, können Eichkurven mittels universeller Kalibrierung erstellt werden [54]. Besitzen zwei Polymere unter gleichen apparativen Bedingungen das gleiche Elutionsvolumen, so sind auch ihre hydrodynamischen Volumina gleich. Nach der Fox-



Flory-Beziehung ist das hydrodynamische Volumen mit dem Molekulargewicht  $M$  und der intrinsischen Viskosität  $[\eta]$  verknüpft:

$$V_h = \Phi' \cdot [\eta] \cdot M \quad \text{mit} \quad [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c}$$

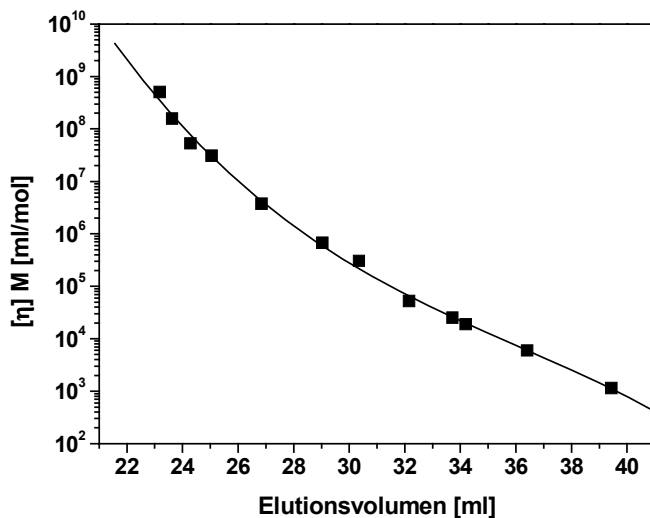
$$\Phi' \quad \text{Fox-Flory-Konstante} \quad (3.1)$$

$$\eta_{sp} \quad \text{spezifische Viskosität}$$

Aufgrund dieser Beziehung ergibt sich die universelle Eichkurve aus der Auftragung  $\log([\eta] \cdot M)$  als Funktion des Elutionsvolumens (Abb. 3.1). Mit Hilfe der Mark-Houwink-Beziehung

$$[\eta] = KM^\alpha \quad (3.2)$$

können im Falle von Homopolymeren bei Kenntnis der Mark-Houwink-Koeffizienten die Eichkurven zweier Polymere (bei gleicher Konformation und Topologie) ineinander umgerechnet werden; für eine Vielzahl von Polymeren sind die entsprechenden Koeffizienten tabelliert (z. B. Polymer Handbook)



**Abbildung 3.1:** Universelle Eichkurve; Kurve stellt verwendete Fitfunktion dar.

Unter Verwendung eines differentiellen Viskosimeters wird die spezifische Viskosität  $\eta_{sp}$  jeder Fraktion online gemessen, so dass mit der jeweils zugehörigen Polymerkonzentration das Molekulargewicht jeder Fraktion nach Gl. 3.1 berechnet werden kann und somit die Molekulargewichtsverteilung der gesamten Probe. Bei dem in der Arbeit untersuchten Polymersystem konnte das Konzept der universellen Kalibrierung jedoch nicht zur Berechnung von Molekulargewichtsverteilungen eingesetzt werden, da die benötigte Polymerkonzentration  $c$  mittels RI- bzw. UV-Detektion nicht zugänglich war. Nach einer Methode nach GOLDWASSER [55] ist jedoch

die Bestimmung des absoluten Zahlenmittels des Molekulargewichtes  $M_n$  für Blockcopolymerer ohne diese Information trotzdem möglich (Gl. 3.3):

$$M_n \equiv \frac{\sum_i c_i}{\sum_i c_i / M_i} = \frac{\sum_i c_i}{\sum_i (\eta_{\text{spez}})_i / (V_h)_i} \quad (3.3)$$

Die Summe im Zähler entspricht dabei gerade der injizierten Polymermenge. Der Nenner kann direkt aus den Messdaten des Viskosimeters und der universellen Eichung berechnet werden.

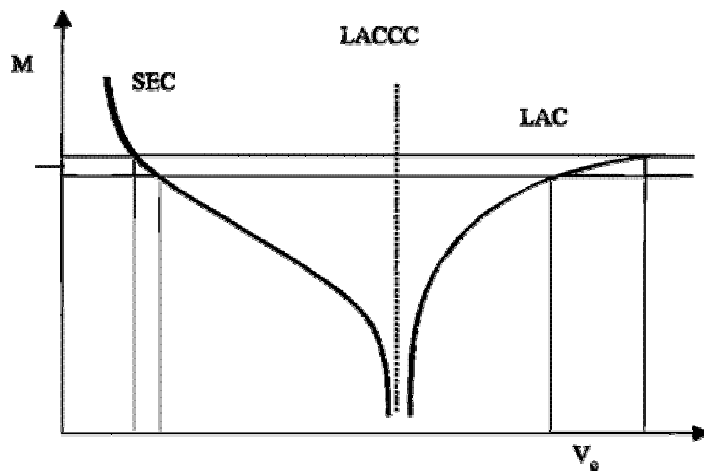
Der Einsatz eines Lichtstreuendetektors ermöglicht die direkte Bestimmung des Gewichtsmittels des Molekulargewichtes  $M_w$ . Für das hier untersuchte System bereitete die geringe Streulichtintensität der Polymere mit verhältnismäßig kleinen Molekulargewichten ( $< 10^5$  g/mol) im verwendeten Lösungsmittel (DMA) erhebliche Probleme.

Im Falle der verzweigten Blockcopolymerer können auch nach der GOLDWASSER-Methode die Molekulargewichte nicht direkt bestimmt werden, da die Fox-Flory-Konstante unter anderem von der Topologie der Polymere abhängt. Da die universelle Kalibrierung jedoch unter Verwendung von linearen Polymeren erstellt wurde, ist sie für verzweigte Blockcopolymerer nicht oder nur bedingt geeignet. Die oben diskutierte Problematik der chemischen Heterogenität gilt hier im besonderen Maße, da eine Mischung unterschiedlicher Topologien zu Co-Elution führen kann, d. h. verschiedene Verzweigungsgrade zeigen das gleiche hydrodynamische Volumen und können so nicht getrennt werden.

### 3.1.2 Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LACCC)

Der Verteilungskoeffizient  $k_{GPC}$  der GPC wird im Wesentlichen durch Entropieänderungen bestimmt, wohingegen zum Verteilungskoeffizient bei der HPLC enthalpische Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase den entscheidenden Beitrag liefern. Bei der HPLC eluieren – im Gegensatz zur GPC – daher kleine Moleküle vor den großen. Durch geeignete Wahl der experimentellen Bedingungen (Lösungsmittel, Säulenmaterial, Temperatur) können sich enthalpische und entropische Effekte gerade kompensieren. Dadurch ergibt sich für die Moleküle in den Poren (stationäre Phase) und denen in Lösung der gleiche Beitrag zur freien Energie, so dass  $\Delta G=0$  ist; dieser Zustand wird als kritischer Punkt der Adsorption bezeichnet. Unter diesen Bedingungen erfolgt die Trennung nicht nach der Kettenlänge oder dem Molekulargewicht, sondern ausschließlich aufgrund von chemischen Inhomogenitäten des Polymers, wie z.B. funktionellen Gruppen,

Verzweigungen oder unterschiedlichen Blocklängen. Dieses Verfahren eignet sich daher zur Bestimmung von Funktionalitätsgraden auch bei hochmolekularen Proben, die mit NMR-Spektroskopie nur unzuverlässig zu bestimmen sind.



**Abbildung 3.2:** Vergleich der Abhängigkeit des Elutionsvolumens von der Molmasse für die drei Chromatographiemethoden (LAC: Liquid Adsorption Chromatography) [53].

### 3.1.3 MALDI-TOF-Massenspektrometrie

Die 1988 von HILLENKAMP und KARAS [56, 57] entwickelte MALDI-TOF-Massenspektrometrie ermöglicht die massenspektrometrische Analyse von Makromolekülen. Die konventionell üblichen Methoden zur Ionisation und Desorption sind für Polymere nicht bzw. nur bedingt geeignet, da diese nicht flüchtig und zudem thermisch instabil sind, wodurch es zu Fragmentierungen und Umlagerungen kommen kann.

Bei der MALDI-Methode (*matrix assisted laser desorption/ionization*) wird die zu analysierende Substanz in großer Verdünnung in eine Matrix eingebettet. Diese sollte im Bereich der Laserwellenlänge ( $\lambda=337$  nm) stark absorbieren und die Energie des Laserpulses effizient auf den Analyten übertragen. Meist handelt es sich dabei um substituierte aromatische Verbindungen (z.B. 1,8,9-Trihydroxyanthracen (Dithranol) oder 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB)). Durch Protonentransfer bzw. Adduktbildung mit zugegebenen Alkali- oder Übergangsmetallionen (z. B. AgTFA, KCl) kommt es zur Ionisierung der Makromoleküle und Überführung in die Gasphase. Da der Ionisierungs- und Desorptionsmechanismus bisher noch nicht verstanden ist, beruhen die verwendeten experimentellen Bedingungen auf empirischen Untersuchungen [58].

Die desorbierten Ionen werden in einem elektrischen Feld beschleunigt und mit einem Time-of-Flight (TOF)-Detektor analysiert. Aufgrund unterschiedlicher Verhältnisse von Masse zu Ladung ( $m/z$ ) besitzen die Ionen verschiedene Geschwindigkeiten beim Verlassen der Beschleunigungsstrecke, so dass sie den Detektor nach unterschiedlichen Flugzeiten erreichen.

Um die gemessenen Flugzeiten dem zugehörigen Molekulargewicht zuordnen zu können, ist eine Kalibrierung notwendig. Dazu werden meist monodisperse Biomoleküle (z. B. Insulin) bzw. engverteilte Polymerstandards bekannter Endgruppenzusammensetzung verwendet. Aus den erhaltenen Massenspektren sollten prinzipiell absolute Häufigkeitsverteilungen und Molekulargewichte zugänglich sein. Ein Vergleich mit den mittels GPC bestimmten Mittelwerten ( $M_n$  und  $M_w$ ) zeigt jedoch, dass nur für sehr engverteilte Polymere (PD<1.1) vertrauenswürdige Werte für die Molekulargewichtsverteilung erhalten werden [58]. Da die Desorptionswahrscheinlichkeit mit steigender Molmasse abnimmt, kann es je nach experimentellen Bedingungen zur Diskriminierung hoher Molmassen kommen, wodurch  $M_w$  zu niedrig berechnet wird [59]. Die hochaufgelösten Spektren ermöglichen jedoch eine Endgruppenbestimmung.

In der vorliegenden Arbeit wird die MALDI-TOF-Massenspektrometrie ausschließlich zur Analyse von Oligomeren in einem Bereich  $M=500-3000$  g/mol angewendet.

### 3.2 Streumethoden

Streumethoden nehmen einen wichtigen Platz bei der Untersuchung von Struktur und Dynamik von Polymeren und kolloidalen Teilchen ein. Prinzipiell lassen sich zwei verschiedene Messmethoden unterscheiden:

#### **Statische Methoden:**

Hierbei wird die gestreute Intensität als zeitlicher Mittelwert winkelabhängig gemessen. Dabei werden Informationen über die Struktur erhalten. Die Wellenlänge  $\lambda$  der verwendeten Strahlung bestimmt die Dimensionen, die aufgelöst werden können. Je nach Strahlungsquelle unterscheidet man:

Röntgenstreuung (SAXS/WAXS, Streuung an der Elektronendichteverteilung)

Neutronenstreuung (SANS, Streuung an Atomkernen, Streulängenverteilung)

Lichtstreuung (SLS, Streuung an Fluktuationen der Polarisierbarkeit)

#### **Dynamische Methoden:**

Um die Dynamik eines Systems (Translation, Rotation, Schwingung) zu analysieren, wird die gestreute Intensität zeitabhängig bei festem Streuwinkel gemessen. Als Strahlungsquelle werden im Wesentlichen kohärentes Licht (DLS) oder auch Neutronen verwendet.

In den folgenden Abschnitten sollen die in der Arbeit verwendeten Streumethoden näher erläutert werden.

### 3.2.1 Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS)

#### Allgemeines:

Nach der allgemeinen Streutheorie lässt sich die komplexe Amplitude einer gestreuten Welle als lineare Superposition der Streuung an  $N$  Streuzentren am Ort  $\vec{r}_k$  mit der ‚Streukraft‘  $n_k$  des  $k$ -ten Streuzentrums beschreiben [60]:

$$A(\vec{s}) = \sum_{k=1}^N n_k \exp(2\pi i \vec{r}_k \vec{s}) \quad (3.4)$$

$$\vec{s} := \frac{\vec{e} - \vec{e}_0}{\lambda} \quad \text{und} \quad |\vec{s}| = s = \frac{2 \sin \theta}{\lambda},$$

$\theta$  halber Streuwinkel

Dabei wird der Streuvektor  $\vec{s}$  als Differenz der beiden Einheitsvektoren  $\vec{e}$  und  $\vec{e}_0$  in Richtung des gestreuten bzw. des einfallenden Strahls geteilt durch die Wellenlänge  $\lambda$  definiert. Reale Systeme weisen jedoch anstelle diskreter Streuzentren eine kontinuierliche Elektronendichteverteilung  $\rho(\vec{r})$  (bzw. Streulängendichteverteilung im Falle der Neutronenstreuung) auf, so dass sich für die Streuamplitude  $A(\vec{s})$  folgendes Integral ergibt:

$$A(\vec{s}) = \int_V d^3 r \rho(\vec{r}) \exp(2\pi i \vec{r} \vec{s}) = \mathcal{F}[\rho(\vec{r})] \quad (3.5)$$

Somit stellt die komplexe Streuamplitude die Fouriertransformierte der Elektronendichteverteilung  $\rho(\vec{r})$  dar. Da es sich bei der Fourier-Transformation um eine eindeutig umkehrbare Transformation handelt, wäre die Bestimmung der Elektronendichteverteilung  $\rho(\vec{r})$  aus der Streuamplitude  $A(\vec{s})$  direkt möglich. Experimentell ist diese allerdings nicht zugänglich, sondern nur deren reelles Betragsquadrat, die Intensitätsverteilung  $I(\vec{s})$ .

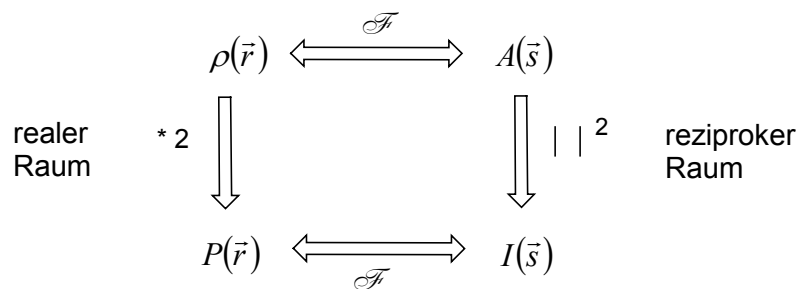
$$I(\vec{s}) = |A(\vec{s})|^2 = A^*(\vec{s}) A(\vec{s}) \quad (3.6)$$

Die Beziehung zwischen  $A(\vec{s})$  und  $I(\vec{s})$  ist nicht eindeutig umkehrbar, so dass bei der Messung Informationen über die Phase der gestreuten Welle verloren gehen. Aufgrund der fehlenden Phaseninformation („Phasenproblem“) kann die Elektronendichteverteilung  $\rho(\vec{r})$  somit nicht eindeutig allein aus der Intensitätsverteilung  $I(\vec{s})$  bestimmt werden.

Die Streuintensität  $I(\vec{s})$  lässt sich zudem als Fouriertransformierte der sogenannten Patterson-Funktion  $P(\vec{r})$  auffassen, welche die Autokorrelationsfunktion (Selbstfaltung) der Elektronendichteverteilung  $\rho(\vec{r})$  darstellt:

$$I(\vec{s}) = |A(\vec{s})|^2 = \int dV P(\vec{r}) \exp(2\pi i \vec{r} \cdot \vec{s}) = \mathcal{F}[P(\vec{r})] \quad (3.7)$$

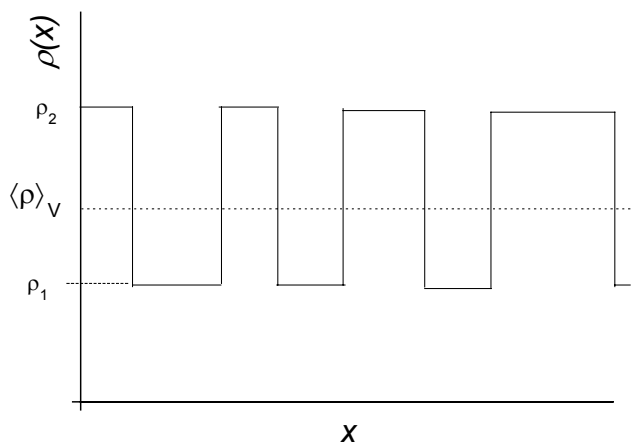
Da die Bildung der Autokorrelationsfunktion ebenfalls nicht eindeutig umkehrbar ist, kann die Elektronendichteverteilung auch unter Verwendung der Patterson-Funktion nicht direkt ermittelt werden. Der Zusammenhang zwischen der Elektronendichteverteilung  $\rho(\vec{r})$  im Ortsraum und der Messgröße  $I(\vec{s})$  im reziproken Raum ist in Abbildung 3.3 dargestellt.



**Abbildung 3.3:** Zusammenhang der streutheoretischen Größen des realen und reziproken Raumes (\*2: Bildung der Autokorrelationsfunktion (Selbstfaltung)).

### Zweiphasensystem:

Ein ideales Zweiphasensystem besteht aus zwei Phasen mit den jeweils konstanten Elektronendichten (bzw. Streulängendichten)  $\rho_1$  und  $\rho_2$  mit einem unendlich scharfen Dichtesprung an der Grenzfläche der beiden Phasen (Abb. 3.4).



**Abbildung 3.4:** Eindimensionales Dichteprofil eines idealen Zweiphasensystems.

Die gemessene Streuintensität hängt nur von der Abweichung der Elektronendichte  $\Delta\rho(\vec{r})$  von der mittleren Elektronendichte  $\langle\rho\rangle_V$  ab. Ist das Gesamtvolumen  $V$  der Probe groß gegen die mittlere Ausdehnung der jeweiligen Phasenbereiche und sind die beiden Phasen isotrop in der Probe verteilt, dann ergibt sich für die Patterson-Funktion als Autokorrelationsfunktion der Elektronendichteverteilung folgende Darstellung:

$$P(\vec{r}) = \Delta\rho(\vec{r}) * \Delta\rho(-\vec{r}) \quad (3.8)$$

Die POROD'sche Invariante  $k$  ist definiert als der Wert der Patterson-Funktion  $P(\vec{r})$  an der Stelle  $\vec{r} = 0$  [61]:

$$k \equiv P(0) = \Delta\rho(\vec{r})^2 = \int_V dV I(\vec{s}) = (\rho_2 - \rho_1)^2 V \phi(1 - \phi) \quad (3.9)$$

Unter Verwendung der POROD'schen Invarianten  $k$  als Normierungskonstante wird die normierte Patterson-Funktion  $\gamma(\vec{r})$  erhalten, die als ‚charakteristische Funktion‘ eine wichtige Rolle bei der Behandlung von Zweiphasensystemen einnimmt:

$$\gamma(\vec{r}) = \frac{P(\vec{r})}{P(0)} \quad (3.10)$$

Somit kann die Streuintensität  $I(\vec{s})$  eines Zweiphasensystems als Fourier-transformierte der normierten Patterson-Funktion dargestellt werden:

$$I(\vec{s}) = k \mathcal{F}[\gamma(\vec{r})] \quad (3.11)$$

Die Entwicklung der Patterson-Funktion bzw.  $\gamma(\vec{r})$  nach Potenzen von  $r$  liefert Zusammenhänge mit der Geometrie und Größe der Grenzfläche der Phasen:

$$\gamma(\vec{r}) = \gamma(r) = 1 - \frac{|\vec{r}|S}{4\phi(1-\phi)V} + \dots = 1 - \frac{r}{l_p} + \dots \quad (3.12)$$

Als Koeffizient des linearen Terms in  $r$  erhält man die mittlere Segmentlänge  $l_p$  (mittlere Durchschusslänge, engl.: *average chord length*) mit der Phasengrenzfläche  $S/V$  und dem Volumenbruch  $\phi$  der Phase 1.

$$l_p = \frac{4\phi(1-\phi)V}{S} \quad (3.13)$$

Der Zusammenhang zwischen der mittleren Segmentlänge  $l_p$  und den Zahlenmitteln der Segmentlängen der beiden Phasen  $l_i$  ist gegeben durch

$$\frac{1}{l_p} = \left\langle \frac{1}{l_1} \right\rangle + \left\langle \frac{1}{l_2} \right\rangle \text{ und } l_p = \phi_1 \langle l_2 \rangle = \phi_2 \langle l_1 \rangle. \quad (3.14)$$

Ist also der Volumenbruch einer der beiden Phasen bekannt, können aus der mittleren Durchschusslänge  $l_p$  die Segmentlängen der beiden Phase erhalten werden.

Kennzeichnend für das Vorliegen eines Zweiphasensystems ist nach dem POROD-Gesetz das Auftreten einer sogenannten POROD-Asymptote im reziproken Raum, d. h. die Streuintensität  $I(\vec{s})$  fällt für große Streuvektoren mit der vierten Potenz von  $s$  ab.

$$\lim_{s \rightarrow \infty} s^4 I(\vec{s}) = \frac{k}{2\pi^3 l_p} \quad (3.15)$$

Somit sind im asymptotischen Verhalten von SAXS- und SANS-Kurven wesentliche Strukturparameter des Zweiphasensystems enthalten.

Im Falle einer lamellaren Morphologie kann durch den Vergleich der mittleren Segmentlänge  $l_p$  mit der Langperiode  $L$  eine Aussage über die Unebenheit der Grenzfläche erhalten werden. Als Maß für die Welligkeit dient die relative Oberfläche  $S/S_0$ , die sich aus dem Verhältnis der Gesamtoberfläche  $S$  der Lamelle zu der einer ideal planaren Oberfläche  $S_0$  ergibt:

$$\frac{S}{S_0} = \frac{2L\phi(1-\phi)}{l_p} = \left\langle \frac{1}{\cos \alpha} \right\rangle_{s_0} \quad (3.16)$$

Der Winkel  $\alpha$  beschreibt hierbei an jedem Punkt den Winkel zwischen der Oberfläche  $S$  und der Lamellennormalen.

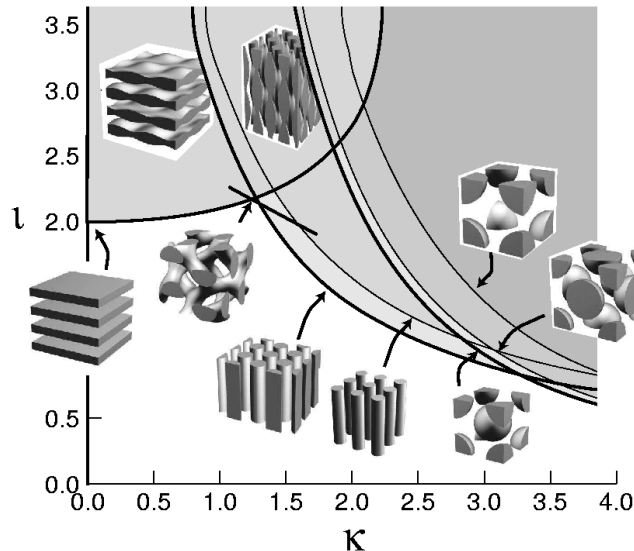
Bei einer Entwicklung der charakteristischen Funktion  $\gamma(\vec{r})$  nach höheren Potenzen von  $r$  werden Koeffizienten erhalten, die im Zusammenhang mit den Krümmungseigenschaften der Grenzfläche  $S$  stehen. Für ein System ohne Ecken oder Kanten entlang der Grenzfläche wird folgender Ausdruck erhalten:

$$\gamma(r) = 1 - \frac{r}{l_p} + \frac{r^3}{8l_p} \left( \langle H^2 \rangle_s - \frac{1}{3} \langle K \rangle_s \right) + O(r^5) \quad (3.17)$$

Der  $r^3$ -Koeffizient stellt den KIRSTE-POROD-Parameter dar und enthält die mittlere GAUSS'sche Krümmung  $\langle K \rangle$  und das gemittelte Quadrat der mittleren Krümmung  $\langle H^2 \rangle$ . Diese topologischen Parameter können in Beziehung zur Morphologie mikrophasenseparierter Polymersysteme gesetzt werden, wie dies von MICHA et al. [62] durchgeführt wurde. Sie entwickelten ein generelles Phasendiagramm ( $t$ - $\kappa$ -Phasendiagramm), das anhand der Krümmungsparameter  $H$  und  $K$  die



Bestimmung der Morphologie von mikrophasenseparierten Systemen, wie z. B. im Falle von Blockcopolymeren, erlaubt.



**Abbildung 3.5:**  
l-k-Phasendiagramm  
nach MICHA et al. [62].

Eine weitere wichtige Größe, die mit der charakteristischen Funktion  $\gamma(\vec{r})$  in Verbindung steht, ist die dreidimensionale Segmentlängenverteilung  $g(r)$  (engl.: *chord length distribution*), welche sich zur Beschreibung insbesondere ungeordneter Zweiphasensysteme im Realraum eignet. Sie stellt eine quantitative statistische Beschreibung der Häufigkeit für die Verbindungsstrecken zwischen Phasengrenzen im Zweiphasensystem dar.  $g(r)$  ergibt sich aus der zweiten Ableitung der charakteristischen Funktion:

$$\begin{aligned}
 \gamma(r) &= 1 - \frac{|r|}{l_p} + \dots \\
 \gamma'(r) &= -\frac{\text{sgn}(r)}{l_p} + \dots \\
 \gamma''(r) &= \frac{[-2\delta(r) + g(r) + g(-r)]}{l_p} \\
 g(r) &= l_p \gamma''(r), \quad r > 0
 \end{aligned}
 \tag{3.18}$$

In dichten Systemen kann  $g(r)$  positive und negative Werte annehmen, je nachdem ob eine Strecke  $r$  wieder in derselben Phase oder in einer anderen endet.

Je nach Problemstellung kann die Segmentlängenverteilung ebenfalls für ein- und zweidimensionale Systeme definiert werden. Ein Beispiel ist die von RULAND eingeführte eindimensionale Segmentlängenverteilung  $g_l(r)$  (Grenzflächenverteilungsfunktion) zur Beschreibung der Abfolge von Lamellenstapel senkrecht zur

Lamellenebene [63]. Ist das Vorliegen einer lamellaren Morphologie gesichert, können mittels einer Gl. 3.15 analogen Beziehung bei Kenntnis des Volumenbruches einer Phase die Schichtdicken  $d_1$  und  $d_2$  ermittelt werden:

$$\frac{1}{d_p} = \frac{1}{d_1} + \frac{1}{d_2} \quad \text{und} \quad d_p = \phi_1 d_2 = \phi_2 d_1 \quad (3.19)$$

### 3.2.2 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Bewegt sich ein streuendes Teilchen, so erfährt die Streustrahlung – bedingt durch den Dopplereffekt – eine Frequenzverschiebung relativ zur eingestrahlten Frequenz  $\nu_0$  des Primärlichtes, deren Größe abhängig von Geschwindigkeit und Richtung des streuenden Teilchens ist. Ein Ensemble von Teilchen mit BROWN'scher Molekularbewegung erzeugt eine symmetrische Verbreiterung des Frequenzspektrums  $S(\omega)$ , welches im Falle eines einfachen translatorischen Diffusionsprozesses die Form einer Lorentz-Kurve besitzt. Die Halbwertsbreite  $\Gamma_1$  der spektralen Verteilung des Streulichtes ist proportional zum translatorischen Diffusionskoeffizienten  $D$ . Da sich Polymere bzw. kolloidale Teilchen in Lösung relativ langsam bewegen, ergibt sich eine nur kleine spektrale Verbreiterung  $\Gamma_1$ , die experimentell nicht aufgelöst werden kann.

Ein alternativer Zugang ist die Beobachtung von Fluktuationen der Streuintensität  $I$  und Bestimmung der zeitlichen Intensitätskorrelationsfunktion:

$$g_2(q, t) = \frac{\langle I(q, t') I(q, t' + t) \rangle_{t'}}{\langle I(q, t') \rangle_{t'}^2} \quad \text{mit} \quad q = \frac{4\pi n \sin \theta}{\lambda} \quad (3.20)$$

Teilchenbewegung im Streuvolumen führt zu einem Wechsel von konstruktiver und destruktiver Interferenz der Streustrahlung auf dem Detektor im Fernfeld, so dass die zeitlichen Schwankungen der gemessenen Streuintensität mit der Dynamik der Streuzentren in direktem Zusammenhang stehen.

Gemäß des WIENER-KHINTCHINE-Theorems ist das Frequenzspektrum  $S(\omega)$  über Fourier-Transformation mit der zeitlichen Feld-Autokorrelationsfunktion verknüpft [64, 65]

$$g_1(q, t) \propto \int_0^{\infty} S(\omega) \exp(-iq\omega t) d\omega, \quad (3.21)$$

die über die SIEGERT-Relation mit  $g_2(q, t)$  in Zusammenhang steht [66]:

$$g_2(q, t) = 1 + |g_1(q, t)|^2 \quad (3.22)$$

Für monodisperse Teilchen, deren Bewegungen nicht korreliert sind (unendliche Verdünnung), ist  $g_1(t)$  eine abklingende Exponentialfunktion [64]

$$g_1(t) = \exp(-\Gamma_1 t) \quad \text{mit } \Gamma_1 = Dq^2, \quad (3.23)$$

aus deren Abklingkonstante der Translationsdiffusionskoeffizient  $D$  erhalten wird. Mit Hilfe der STOKES-EINSTEIN-Beziehung lässt sich aus  $D$  der hydrodynamische Radius  $R_h$  einer reibungsäquivalenten Kugel bestimmen:

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 D} \quad (3.24)$$

Hierbei ist  $\eta_0$  die Viskosität des Lösungsmittels,  $k_B$  die Boltzmann-Konstante und  $T$  die absolute Temperatur.

In realen Systemen haben intermolekulare Wechselwirkungen Einfluss auf die diffusive Bewegung der Teilchen. Die Einflüsse der Konzentration und des Streuvektors auf den apparenten Diffusionskoeffizienten wird in Analogie zur statischen Lichtstreuung mit Hilfe von Reihenentwicklungen beschrieben:

$$D_{app}(q) = D(1 + C_{app} R_g^2 q^2 + \dots) \cdot (1 + k_D c + \dots) \quad (3.25)$$

Durch gleichzeitige Extrapolation auf unendliche Verdünnung und  $q=0$  (analog zum Zimm-Plot) kann der Diffusionskoeffizient  $D$  des freien Teilchens bestimmt werden.

Liegt ein polydisperses System vor, so ergibt sich  $g_1(t)$  als multi-exponentieller Abfall durch Superposition unterschiedlicher diffusiver Prozesse:

$$g_1(t) = \langle e^{-\Gamma t} \rangle = \int_0^\infty e^{-\Gamma t} G(\Gamma) d\Gamma \quad (3.26)$$

Zur Bestimmung des mittleren Diffusionskoeffizienten  $D$  muss die Verteilungsfunktion  $G(\Gamma)$  analysiert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Auswertung vorwiegend durch inverse Laplace-Transformation

$$G(\Gamma) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty g_1(t) \exp(-\Gamma t) dt \quad (3.27)$$

mit dem Programm FASTORT.EXE [67] durchgeführt.

### 3.3 Circulardichroismus

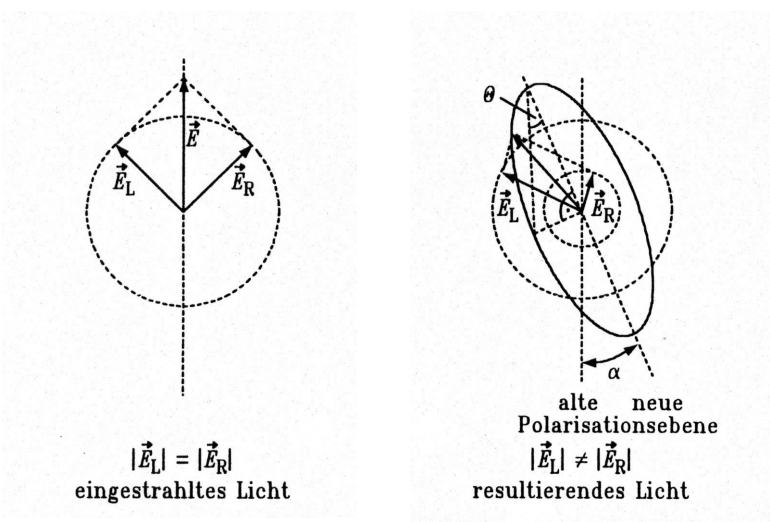
Circulardichroismus (CD) zählt zusammen mit der optischen Rotationsdispersion (ORD) zu den chiroptischen Methoden. Voraussetzung für beide Spektroskopiearten ist das Vorliegen von Chiralität und dadurch bedingter optischer Aktivität.

Nach FRESNEL [68, 69] lässt sich linear polarisiertes Licht als Überlagerung zweier zirkular polarisierter Strahlen auffassen, deren  $\vec{E}$ -Feld-Vektoren  $\vec{E}_R$  und  $\vec{E}_L$  den gleichen Betrag besitzen und die mit der gleichen Drehfrequenz gegenläufig zirkular um die Ausbreitungsrichtung rotieren.

Chirale Moleküle zeichnen sich nun dadurch aus, dass sie sich unterschiedlich gegenüber rechts und links zirkular polarisiertem Licht verhalten: Die Ausbreitungsgeschwindigkeiten des Lichtes und somit die beiden Brechungsindizes der beiden Komponenten in einem chiralen Medium sind unterschiedlich, d. h.  $n_L \neq n_R$ .

Da sich die Beträge der Feldvektoren  $\vec{E}_R$  und  $\vec{E}_L$  jedoch nicht ändern, ergibt sich eine Drehung der Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes um den Winkel  $\alpha$  nach Austritt des Lichtstrahles aus dem Medium (normale ORD). Die Größe des Drehwinkels hängt neben Konzentration und durchlaufener Weglänge ebenfalls von der verwendeten Wellenlänge ab.

Im Bereich einer Absorptionsbande kommt hinzu, dass sich die molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten  $\varepsilon_R$  und  $\varepsilon_L$  unterscheiden. Dies bezeichnet man als Circulardichroismus und die Differenz  $\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$ , die ein Maß für die Stärke des Circulardichroismus ist, kann sowohl negative als auch positive Werte annehmen.



**Abbildung 3.6:** Vektordarstellung zur Entstehung von elliptisch polarisiertem Licht (rechts) beim Durchgang von linear polarisiertem Lichtes (links) durch ein optisch aktives Medium ( $n_L \neq n_R$ ;  $\varepsilon_L \neq \varepsilon_R$ ). Die Hauptschwingungsachse ist gegenüber dem einfallenden Licht um den Winkel  $\alpha$  gedreht. Das Verhältnis der kurzen zur langen Ellipsenachse definiert die Elliptizität.

Das Auftreten von Circular dichroismus bewirkt, dass sich der normalen ORD-Kurve eine S-förmige Kurve mit Minima und Maxima überlagert (anormale ORD). Dabei entspricht der Wendepunkt  $\lambda$  der ORD-Kurve dem Maximum der zugehörigen CD-Kurve. Beide Effekte werden als positiver bzw. negativer COTTON-Effekt bezeichnet.

Verlässt ein ursprünglich linear polarisierter Lichtstrahl ein Medium, das im untersuchten Bereich einen COTTON-Effekt aufweist, ist dieser elliptisch polarisiert, da sich die Beträge  $\vec{E}_R$  und  $\vec{E}_L$  durch die unterschiedliche Absorption verändert haben. Der Summenvektor beschreibt eine Ellipse, deren Hauptachse um den Drehwinkel  $\alpha$  gedreht ist (Abb. 3.6).

Die Form der Ellipse lässt sich durch die Elliptizität  $\Theta$  beschreiben, welche über das Verhältnis der Neben- und Hauptachse definiert ist.

$$\Theta \approx \tan \Theta = \frac{\left| \vec{E}_L \right| - \left| \vec{E}_R \right|}{\left| \vec{E}_L \right| + \left| \vec{E}_R \right|} \quad (3.28)$$

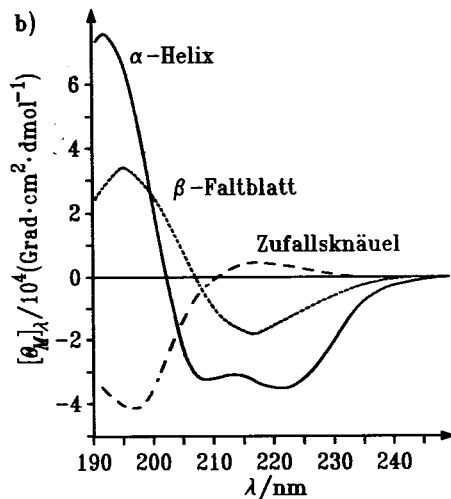
Üblicherweise ist der Winkel  $\Theta$  sehr klein, so dass  $\tan \Theta$  näherungsweise durch den Winkel selbst ersetzt werden kann. Durch Normierung auf die molare Konzentration  $c_M$  und die Schichtdicke  $d$  erhält man die molare Elliptizität  $[\Theta]$ .

$$[\Theta] = 100 \frac{\Theta}{c_M d} \quad (3.29)$$

Aufgrund historischer Konvention wird der Wert der molaren Elliptizität in  $\text{Grad cm}^2 \text{ dmol}^{-1}$  angegeben.

Das Auftreten eines COTTON-Effekts ist an die Anwesenheit eines Chromophors gebunden. Dabei kann der Chromophor oder das absorbierende Molekül bzw. dessen Orbitalsystem selbst chiral gebaut sein (z. B. Hexahelicen) oder eine lokale Symmetrie besitzen, sich aber in chiraler Umgebung befinden (z. B. Ketogruppe im Campher).

CD-Spektroskopie stellt eine wichtige Methode zur Untersuchung der Sekundärstruktur von Biopolymeren, wie Polypeptide und Proteine oder auch DNA und RNA, dar. Proteine besitzen aufgrund ihres Aufbaus aus Aminosäuren eine chirale Grundstruktur. Durch die Ausbildung einer Sekundärstruktur wie  $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt oder Zufallsknäuel (*engl.: random coil*) kommt es zusätzlich zu einer Kopplung von Chromophoren, hier der Amidgruppe der Peptidbindung. Für jede der Sekundärstrukturen, findet man spezifische CD-Spektren (siehe Abb. 3.7)



**Abbildung 3.7:**  
CD-Spektren von drei unterschiedlichen Sekundärstrukturen von Poly(L-lysin). Sie sind charakteristisch für eine Vielzahl von Polypeptiden [70].

Ausgehend von den Übergängen der Amidgruppe ( $\pi\pi^*$  und  $n\pi^*$ ) lassen sich den beobachteten CD-Banden die entsprechenden Übergänge zuordnen:

Für die  $\alpha$ -Helix findet man neben dem  $n\pi^*$ -Übergang (222 nm, negatives  $\Delta\varepsilon$ ) zwei  $\pi\pi^*$ -Übergänge (208 nm, negatives  $\Delta\varepsilon$  sowie 190 nm, positives  $\Delta\varepsilon$ ), die durch Exitonenaufspaltung zustande kommen. Dabei entspricht der längerwelligere Übergang der parallel zur Helix polarisierten Bande und der kurzwelligere entsprechend der senkrecht polarisierten Bande.

Das  $\beta$ -Faltblatt besitzt eine negative Bande bei 215 nm ( $n\pi^*$ -Übergang) sowie eine positive Übergang bei 198 nm ( $\pi\pi^*$ ). Die Größe der Banden hängt dabei vom Verdrillungsgrad des Faltblattes ab.

Das Zufallsknäuel zeigt ebenfalls zwei Banden: die negative Bande bei 197 nm korrespondiert zum  $\pi\pi^*$ -Übergang, während die kleinere positive Bande bei etwa 210 nm dem  $n\pi^*$ -Übergang zuzuordnen ist.

Meist liegen jedoch mehrere Sekundärstrukturen gleichzeitig in einem Protein vor, so dass das erhaltene CD-Spektrum sich aus einer additiven Überlagerung der einzelnen Strukturen ergibt. Somit lässt sich die beobachtete molare Elliptizität bei einer Wellenlänge  $\lambda$  darstellen als

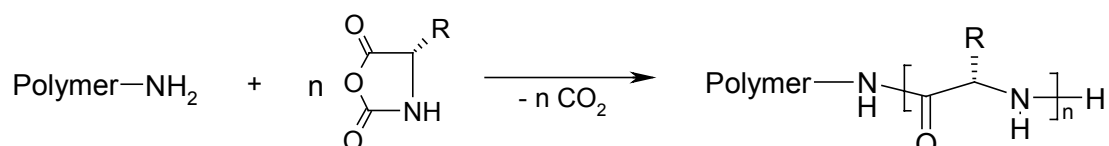
$$[\Theta] = f_{\alpha} [\Theta_{\alpha}] + f_{\beta} [\Theta_{\beta}] + f_{rc} [\Theta_{rc}] \quad (3.30)$$

$$\text{mit } f_{\alpha} + f_{\beta} + f_{rc} \leq 1$$

Das Aussehen solcher Kurven wurde von GREENFIELD und FASMAN für verschiedene Anteile der drei Konformationen auf der Grundlage röntgenographischer Daten berechnet [71].

## 4 Synthese und Charakterisierung der Polypeptid-Blockcopolymere

Im folgenden Kapitel wird die Synthese sowie die molekulare Charakterisierung der verwendeten Polypeptid-Blockcopolymere beschrieben. Das zweistufige Synthesekonzept umfasst in Analogie zu Beispielen in der Literatur [46-49] zunächst die Synthese eines ein- bzw. mehrfach aminofunktionalisierten Polymers, welches anschließend als Makroinitiator für die ringöffnende Polymerisation von *N*-Carboxyanhydriden (NCA) fungiert. Eine direkte Darstellung der Blockcopolymere in einer ‚Eintopfreaktion‘ durch sequenzielle Monomerzugabe ist nicht möglich.



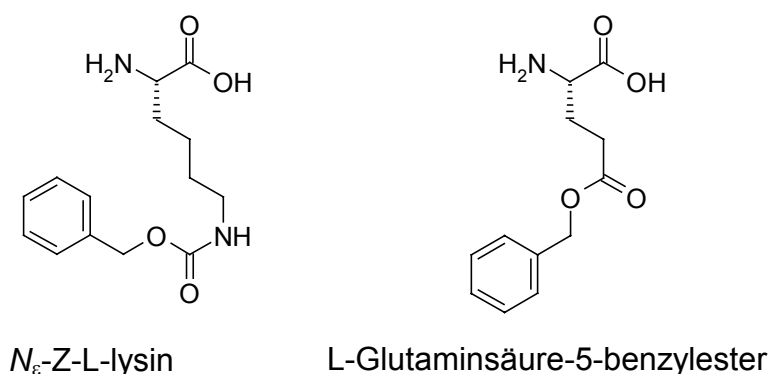
**Abbildung 4.1:** Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung von Polypeptid-Blockcopolymeren.

Die Makroinitiatoren sollten mittels lebender anionischer Polymerisationsverfahren dargestellt werden, um neben einer engen Molekulargewichtsverteilung gleichzeitig einen hohen Funktionalisierungsgrad erzielen zu können. Dabei stellt ein hoher Funktionalisierungsgrad die Grundvoraussetzung dafür dar, das gewünschte Blockcopolymer in möglichst reiner Form, d. h. frei von Precursor-Polymer, zu erhalten. Die während der anionischen Polymerisation vorliegenden aktiven Spezies selbst sind als Makroinitiatoren nicht geeignet, da sie eine zu große Reaktivität und insbesondere Basizität besitzen. Dies begünstigt eine Deprotonierung des *N*-Carboxyanhydrids gegenüber eines nucleophilen Angriffs und die nachfolgende Polymerisation verläuft nach dem AM-Mechanismus (siehe Kapitel 2.3), wodurch keine Blockcopolymere, sondern Mischungen zweier Homopolymere erhalten werden. Die Einführung der als Initiatorgruppen erforderlichen primären Aminogruppen in der anionischen Polymerisation ist allerdings wegen der erforderlichen Schutzgruppenchemie mit einem erheblichen synthetischen Aufwand verbunden.

Zur Herstellung der *N*-Carboxyanhydride wurde die FUCHS-FARTHING-Methode mit Triphosgen in THF gewählt [72]. Das nach der Phosgenierung erhaltene Rohprodukt enthält noch Spuren von Phosgen, ist daher weniger hydrolyseempfindlich als das aufgereinigte Produkt und kann so auch über einige Wochen gelagert werden. Das

Rohprodukt wurde erst unmittelbar vor den Polymerisationsreaktionen durch mehrmaliges Umkristallisieren aus THF/Petrolether (1:2 v/v) aufgearbeitet.

Aus mehreren Gründen beschränkte sich die Wahl der umgesetzten Aminosäuren auf die trifunktionellen Aminosäuren Glutaminsäure (Glu) und Lysin (Lys): Die Synthese der *N*-Carboxyanhydride sowie deren Polymerisation wurden bereits vielfach beschrieben, und die jeweiligen Homopolymere zeichnen sich – auch bei höheren Molekulargewichten – durch relativ gute Löslichkeit im Vergleich zu anderen Poly( $\alpha$ -aminosäure)<sub>n</sub> aus. Wegen der zusätzlichen funktionellen Gruppen sind die Polymere dieser Aminosäuren prinzipiell wasserlöslich, und die Ausbildung einer helikalen Sekundärstruktur kann leicht durch die Änderung des pH-Wertes beeinflusst werden. Glutaminsäure wird dabei als starker, Lysin als moderater  $\alpha$ -Helix-Bildner klassifiziert [73], so dass in Abhängigkeit des pH-Wertes ein Knäuel-Helix-Übergang zu erwarten ist. Voraussetzung hierfür jedoch ist, dass jede Monomereinheit in derselben Konfiguration, d.h. enantiomerenrein, vorliegt. Aus diesem Grund wurden ausschließlich die enantiomerenreinen, natürlich vorkommenden L-(S-)Aminosäuren für die Synthesen eingesetzt.



**Abbildung 4.2:**  
Strukturformeln der  
eingesetzten  
Aminosäuren.

In Analogie zur klassischen schrittweisen Peptidsynthese ist es auch hier notwendig, die dritte Funktionalität mit geeigneten Schutzgruppen zu versehen, um Nebenreaktionen bei der Phosgenierung und der anschließenden Polymerisation zu vermeiden. Als Schutzgruppe für die  $\epsilon$ -ständige Aminogruppe des Lysins wurde die Urethanschutzgruppe Benzyloxycarbonyl- (Z) eingesetzt, während die  $\gamma$ -ständige Carboxylfunktion der Glutaminsäure in Form des Benzylesters (Bzl) geschützt wurde. Beide Schutzgruppen lassen sich durch katalytische Hydrierungen unter milden Bedingungen wieder leicht abspalten [74, 75]. Die entsprechend geschützten Aminosäuren sind kommerziell erhältlich, so dass kein zusätzlicher synthetischer Aufwand entstand.

Der Einsatz der Schutzgruppen gewährleistet darüber hinaus nicht nur eine reibungslose Synthese, sondern maskiert auch den hydrophilen Charakter der jeweiligen Monomereinheiten im Polymer, wodurch das Arbeiten in polaren



organischen Lösungsmitteln überhaupt erst ermöglicht wird. Somit spielt das Vorhandensein der Schutzgruppe im Polymer eine wichtige Rolle für dessen Eigenschaften.

## 4.1 Lineare Blockcopolymere

### 4.1.1 *Synthese und Charakterisierung der monofunktionellen Makroinitiatoren*

Die Synthese endfunktionalisierter Polymere mittels lebender Polymerisation kann prinzipiell auf zwei unterschiedlichen Wegen erfolgen:

Mit der Verwendung funktionalisierter Initiatoren wird die gewünschte Funktionalität in jede der wachsenden Ketten eingeführt [76-78]. Es handelt sich hier meist um hochreaktive Alkalimetall-Organyle, die aufgrund einer oft geringen chemischen Stabilität und schlechten Löslichkeit in den verwendeten organischen Lösungsmitteln nur eine beschränkte Einsetzbarkeit besitzen.

Der häufiger beschrittene Weg setzt demgegenüber auf eine Modifikation des lebenden carbanionischen Polymerkettenendes mit einem funktionalisierten Abbruchreagens [79]. Analoge Reaktionen von Organolithium-Verbindungen mit einer Vielzahl von Elektrophilen spielen in der klassischen organischen Chemie zur Bindungsknüpfung eine wichtige Rolle [80]. Die Wahl des Abbruchreagenzes und der entsprechenden Reaktionsbedingungen ist entscheidend für den erzielten Funktionalisierungsgrad sowie die Unterdrückung von Nebenreaktionen. Zahlreiche Beispiele in der Literatur beschäftigen sich mit der Synthese und Umsetzung verschiedener Funktionalisierungsreagenzien [79].

Die primäre aliphatische Aminogruppe zählt nach wie vor zu den am schwierigsten direkt einführbaren funktionellen Gruppen in der lebenden anionischen Polymerisation [81, 82]. Da das anionische Kettenende sofort durch Deprotonierung mit einer freien Aminogruppe reagiert, ist es erforderlich, beide Protonen quantitativ zu schützen. Dies kann z. B. durch Maskierung in Form einer Schiff'schen Base erfolgen [83, 84]. Viel häufiger allerdings werden Silylschutzgruppen zu diesem Zweck eingesetzt, die sich sehr leicht im sauren Milieu wieder abspalten lassen:

QUIRK und LYNCH [85] stellten in einer dreistufigen Synthese ein Diphenylethylenderivat dar, welches nicht nur eine Endfunktionalisierung des Polymers ermöglicht, sondern aufgrund der zunächst entstehenden carbanionischen Lithiumspezies die Option bietet, die Polymerisation durch Zugabe weiteren Monomers fortzusetzen. Die von HIRAO und NAKAHAMA synthetisierten  $\omega$ -funktionalisierten  $\alpha$ -Halogenalkane eignen sich zur Einführung unterschiedlicher funktioneller Gruppen,

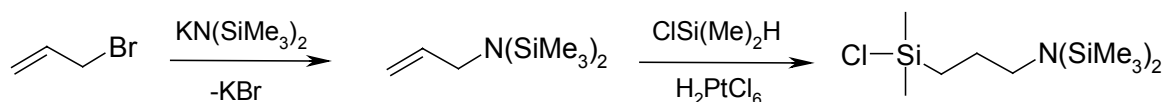
wie der Hydroxyl-, Amino-, Thiol- und verschiedener Carbonylgruppen. Zum Schutz der primären Aminogruppe wurden unter anderem auch verbrückte Silylderivate verwendet [82, 86]. Ein ebenfalls sehr vielseitig variierbarer Weg wurde von DESIMONE et al. beschrieben [87]: Sie verwendeten Chlorsilanderivate, die durch eine stark polarisierte Silicium-Chlor-Bindung eine große Reaktivität besitzen und somit einen hohe Effizienz bei der Reaktion mit dem lebenden Kettenende aufweisen. Eine Reihe von funktionellen Gruppen – darunter die Hydroxyl-, Amino-, Thiol- und Carboxylgruppe – sind mit Hilfe dieser Chlorsilanderivate zugänglich. Die dreistufige Synthese des entsprechenden Derivates zur Einführung der Aminogruppe beginnt mit der Addition von Lithium-*N,N*-bis(trimethylsilyl)amid an (Chloromethyl)methylether, der sich im zweiten Schritt eine Grignard-Reaktion mit Allylbromid anschließt. Das erhaltene  $\alpha$ -Olefin wird unter Platin-Katalyse mit Chlordimethylsilan in einer Hydrosilylierungsreaktion zum gewünschten Produkt umgesetzt. Die Verwendung des Lithium-*N,N*-bis(trimethylsilyl)amids garantiert hierbei bereits, dass beide Protonen des Amins maskiert sind, da eine nachträgliche Entfernung nur partiell geschützten Amins schwierig ist [88]. Zudem erfordert das nachträgliche Einbringen der Silylschutzgruppen eine zweistufige Reaktionssequenz.

Zur Darstellung des monofunktionellen Makroinitiators wurde aufgrund der oben genannten Vorteile die Endfunktionalisierung des lebenden Kettenendes unter Verwendung eines Chlorsilanderivates gewählt. Das Synthesekonzept des Funktionalisierungsreagenzes wurde jedoch gegenüber der Literaturvorschrift dahingehend modifiziert, dass nur noch eine zweistufige Synthese erforderlich ist (Abb. 4.3):

Der erste Schritt der Synthese beinhaltet die Darstellung silylgeschützten Allylamins durch die Reaktion von Lithium- oder Kalium-*N,N*-bis(trimethylsilyl)amid mit Allylbromid in Hexamethyldisilazan (HMDS) [89, 90]. Von großer Bedeutung für den Erfolg der Reaktion sind die Qualität des sehr hydrolyseempfindlichen Kalium-*N,N*-bis(trimethylsilyl)amids und insbesondere die Verwendung von Hexamethyldisilazan als Lösungsmittel. Versuche in anderen üblichen organischen Lösungsmitteln, wie z. B. THF, ergaben nur sehr geringe bis gar keine Ausbeuten des gewünschten Produktes. Das gewünschte silylgeschützte Allylamin konnte in verschiedenen Ansätzen mit Ausbeuten im Bereich von 65-70 % isoliert werden. Eine Lagerung des Produktes unter Argon im Kühlschrank ist für wenige Wochen möglich, so dass der nachfolgende Syntheseschritt bei Bedarf durchgeführt werden kann.

Analog zur Literatur [87] schließt sich als zweiter Schritt der Synthese eine platinkatalysierte Hydrosilylierungsreaktion unter Verwendung von Chlordimethylsilan an. Ein rigider Ausschluss von Feuchtigkeit ist hierbei unbedingt erforderlich, da die Chlor-Silicium-Bindung des eingesetzten Chlordimethylsilan sowie des Produktes sehr leicht hydrolysiert wird. Entscheidenden Einfluss auf den Verlauf der Reaktion hat die

Güte der als Katalysator eingesetzten, sehr hygroskopischen Hexachloroplatinsäure: Das eindeutige Einsetzen einer exothermen Reaktion sowie eine sofortige Grünfärbung der Reaktionslösung – und hiermit verbunden eine gute Ausbeute des Hydrosilylierungsproduktes (60 %) – konnte nur bei Verwendung von frisch geöffneter und fester Hexachloroplatinsäure beobachtet werden. Wurde demgegenüber eine durch Feuchtigkeitskontakt bereits zerlaufene Platinverbindung eingesetzt, musste das Reaktionsgemisch lange Zeit ohne sichtbares Einsetzen einer Reaktion erhitzt werden. Die isolierten Ausbeuten betragen im letztgenannten Fall zudem nur rund 30 %.



**Abbildung 4.3:** Reaktionsschema zur Synthese des verwendeten Funktionalisierungsreagenzes 1-(Chlorodimethylsilyl)-3-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)amino]-propan.

Die Reaktionsprodukte beider Stufen wurden mittels  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie charakterisiert. Wegen der Hydrolyseempfindlichkeit des erhaltenen Funktionalisierungsreagenzes wurde dieses jeweils frisch hergestellt und möglichst am nächsten Tag direkt eingesetzt.

Lebende anionische Polymerisationen wurden an einer kombinierten Vakuum/Argon-Linie durchgeführt, die mit Rotaflo<sup>®</sup>-Ventilen aus Teflon versehen ist. Alle Schritte der Polymerisation, insbesondere die erforderlichen Reinigungsoperationen der Monomere und des Lösungsmittels, wurden dabei direkt an der Vakuum-Linie durchgeführt. Als Monomere wurden Styrol und Butadien gewählt, da hier die Funktionalisierungsreaktion mit dem lithiierten Kettenende glatt verlaufen sollte. Zudem unterscheiden sich die jeweils angestrebten Makroinitiatoren drastisch durch ihre Glasübergangstemperatur: Polystyrol besitzt eine Glasübergangstemperatur weit oberhalb der Raumtemperatur (je nach Molekulargewicht zwischen 40 und 100 °C), während Polybutadien als sogenannter ‚soft block‘ sich bei Raumtemperatur bereits oberhalb der Glasübergangstemperatur befindet ( $T_g$  von 1,2-Polybutadien: etwa –10 °C), was die beiden Polymere für unterschiedliche Einsatzgebiete interessant macht (siehe z. B. Kapitel 6).

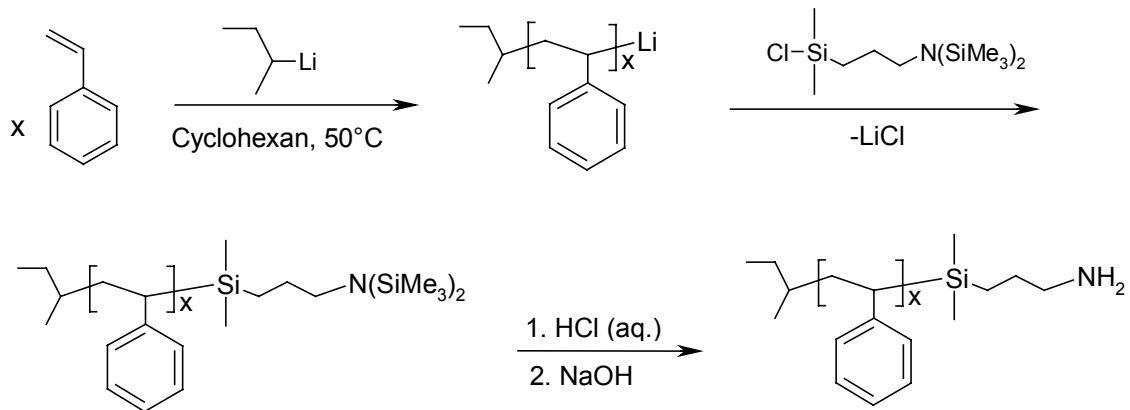
Styrol wurde wie von DESIMONE beschrieben in Cyclohexan polymerisiert [87]. Nach Initiierung der Polymerisation mit *sec*-Butyllithium bei Raumtemperatur wurde die orangefarbene Reaktionslösung drei Stunden bei 50 °C gerührt. Mit einer zweiseitigen Transfernadel wurde eine Probe der Polymerlösung (Precursor) entnommen und für die Molekulargewichtsbestimmung mit GPC mit Methanol abgebrochen. Anschließend wurde die Polymerisationsreaktion im Reaktor durch Zugabe des Funktionalisierungs-

reagenzes terminiert. Dazu wurden 1.3 Äquivalente des Chlorsilanderivates, bezogen auf die eingesetzte Initiatormenge, in einigen Millilitern absolutem THF gelöst, zur Beseitigung von Verunreinigungen mit 5 mol% *sec*-Butyllithium versetzt und die entgaste Lösung zu der lebenden Polymerlösung gespritzt. Die Zugabe von THF beschleunigt in diesem Fall die Abbruchreaktion, da aufgrund seiner Polarität die in Cyclohexan vorliegenden Ionenpaar-Aggregate leichter ‚aufgebrochen‘ werden. Die Farbe der Reaktionslösung wechselte nach der Zugabe in wenigen Sekunden zu schwach gelb. In den folgenden Stunden entfärbte sich die Lösung vollständig und es bildete sich ein Niederschlag des bei der Abbruchreaktion entstandenen Lithiumchlorids (Abb. 4.4).

Beim nächsten Schritt, der Entfernung der Silylschutzgruppen der Aminofunktion, wurden verschiedene Methoden angewendet. Zunächst wurde jedoch in allen Fällen das Lösungsmittel Cyclohexan am Rotationsverdampfer möglichst vollständig entfernt. Anschließend wurde das Polymer in THF wieder gelöst und nach Zugabe von verdünnter HCl-Lösung zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Mit NaOH wurde die Lösung alkalisch gestellt, das Polymer dann in Methanol ausgefällt und im Vakuumtrockenschrank getrocknet. In späteren Versuchen wurde dazu übergegangen, das Polymer in Benzol zu lösen und zusammen mit verdünnter HCl als Zweiphasengemisch über Nacht zu rühren. Die beiden Phasen wurden nach Zugabe von NaOH im Scheidetrichter getrennt, die organische Phase nochmals mit Wasser nachgewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und gefriergetrocknet. Letztere Vorgehensweise hat den Vorteil, dass Salze sich nicht in der benzolischen Phase lösen und darüber hinaus durch wässrige Extraktion entfernt werden können. Das Gefrier-trocknen des Polymers hat durch die Wasser schleppende Eigenschaft des Benzols einen zusätzlichen Trocknungseffekt gegenüber der einfachen Trocknung im Vakuumtrockenschrank. Dies gewährleistet einen wasserfreien Makroinitiator, was eine wichtige Voraussetzung für eine kontrollierte ringöffnende Polymerisation der *N*-Carboxyanhydride ist, die ebenfalls durch Wasserspuren initiiert werden kann (siehe Kapitel 2.5).

Die Polymerisation von Butadien wurde in THF bei -78 °C mit *sec*-Butyllithium initiiert. Um einen möglichst hohen Umsatz zu erzielen, wurde über Nacht (mindestens 15 Stunden) polymerisiert. Dennoch wurden die angestrebten Molekulargewichte in keinem der Versuche erreicht, da jeweils ein Umsatz von nur etwa 50-60 % erzielt werden konnte. Der Abbruch der Polymerisationsreaktion wurde nach Entnahme einer Vergleichsprobe durch Zugabe des Funktionalisierungsreagenzes nach der oben beschriebenen Vorgehensweise durchgeführt. Die Reaktionslösung wurde dann am Rotationsverdampfer eingeeengt und zur Entfernung der Silylschutzgruppen mit wässriger HCl-Lösung gerührt. Wiederum erfolgte die Neutralisation der Lösung mit Natriumhydroxid und das Ausfällen des Polymers in Methanol. Bedingt durch die

niedrige Glasübergangstemperatur des Polybutadiens kann das Polymer nur in Form eines sehr zähflüssigen, klebrigen Öls isoliert werden. Die Entschützungsreaktion wurde als Zweiphasensystem bestehend aus Petrolether und wässriger HCl durchgeführt. Petrolether wurde wegen seines niedrigen Siedepunktes als organische Phase gewählt, da es sich leicht aus dem zähflüssigen Polymer im Vakuumtrockenschrank entfernen ließ.



**Abbildung 4.4:** Reaktionsschema zur Synthese der monofunktionellen Makroinitiatoren.

Die Charakterisierung der dargestellten monofunktionellen Makroinitiatoren erfolgte auf zweifache Weise:

Molekulargewichte sowie Molekulargewichtsverteilungen wurden mit GPC in THF unter Verwendung der entsprechenden Eichkurven für Polystyrol und Poly(1,2-butadien) bestimmt. Es wurden die vor der Funktionalisierungsreaktion entnommenen Precursor vermessen, da freie Amine sowie deren Hydrochloride durch Adsorption an das Säulenmaterial das Elutionsverhalten der Polymere gravierend verändern und somit die GPC-Analytik verfälschen können.

Der Funktionalisierungsgrad der Polymere wurde aus den jeweiligen  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren in deuteriertem Chloroform berechnet. Die Protonen der zu den Siliciumatomen nachbarständigen Methylgruppen korrespondieren zu Signalen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei sehr hohem Feld: Bei  $\delta=0.10$  ppm findet man das Singulett der Trimethylsilylschutzgruppen (18 Protonen), bei etwas niedrigerem Feld ( $\delta=0.4-0.7$  ppm) werden die Methyl- und Methylenprotonen in Nachbarstellung zum Siliciumatoms der neu geknüpften Kohlenstoff-Silicium-Bindung als Multiplett (acht Protonen) detektiert. Anhand des ersteren Signals kann die Freisetzung der Aminogruppe leicht überprüft werden. Zur Berechnung des Funktionalisierungsgrades können die Integrale der beiden genannten Signale im Vergleich zum Integral der aromatischen Protonen (im Falle von PS) unter Einbeziehung des durch GPC

ermittelten Molekulargewichtes bzw. Polymerisationsgrades herangezogen werden. Da die Silylschutzgruppen bereits durch kleine Spuren von Säure abgespalten werden, ist es jedoch verlässlicher, das oben genannte Multipllett des entschützten Polymers für die Berechnung einzusetzen. Bei Polymeren mit kleinem Molekulargewicht kann meist das Protonensignal des Initiatorfragmentes identifiziert und dessen Integral direkt verglichen werden; in diesen Fällen ist die Einbeziehung des GPC-Molekulargewichtes nicht erforderlich.

Aus den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurde ebenfalls die vorliegende Mikrostruktur des Polybutadiens ermittelt [91]. Der Anteil an 1,2-Addukt lag in allen Fällen im Bereich von 90 %, der an 1,4-Addukt bei etwa 10 %, was der zu erwartenden Mikrostruktur eines unter oben genannten Reaktionsbedingungen hergestellten Polybutadiens entspricht. In Tabelle 4.1 sind alle dargestellten monofunktionellen Makroinitiatoren und ihre Charakterisierung zusammengestellt.

**Tabelle 4.1:** Molekulare Parameter der synthetisierten monofunktionellen Makroinitiatoren.

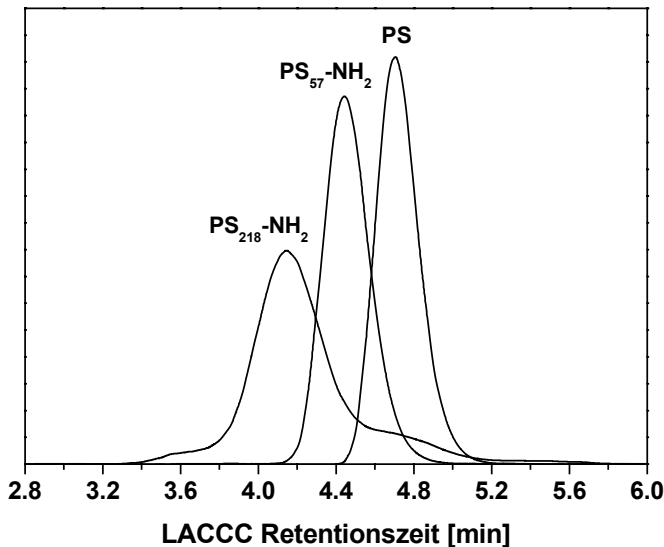
Polymer	$P_n$ (GPC)	PD	$f_{\text{amino}}$
PS <sub>52</sub> -NH <sub>2</sub>	52	1.04	0.90 <sup>a</sup>
PS <sub>57</sub> -NH <sub>2</sub>	57	1.04	> 0.95 <sup>a,b</sup>
PS <sub>218</sub> -NH <sub>2</sub>	218	1.03	0.90 <sup>b</sup>
PB <sub>27</sub> -NH <sub>2</sub>	27	1.10	> 0.95 <sup>a</sup>
PB <sub>43</sub> -NH <sub>2</sub>	43	1.09	> 0.95 <sup>a</sup>
PB <sub>85</sub> -NH <sub>2</sub>	85	1.08	0.87 <sup>a</sup>
PB <sub>119</sub> -NH <sub>2</sub>	119	1.08	>0.95 <sup>a</sup>

(a)  $^1\text{H-NMR}$ , (b) LACCC

Es wurden meist sehr hohe Funktionalisierungsgrade >90 % gefunden, was für eine hohe Effizienz des verwendeten Chlorsilan-Reagenzes spricht. In den Fällen, in denen eine deutlich geringere Funktionalisierung festgestellt wurde, zeigten sich auch in der GPC bimodale Verteilungen des Polymers, was auf apparative Probleme bei der Polymerisation bzw. beim Abbruch zurückzuführen ist (Kettenkopplung durch Sauerstoff-Spuren).

Als eine weitere Möglichkeit zur Charakterisierung der endfunktionalisierten Polymere hinsichtlich ihres Funktionalisierungsgrades bietet sich die Flüssigchromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LACCC) an. Wie in Kapitel 3.1 erläutert, erfolgt dabei die Trennung nicht nach Molekulargewicht, sondern nach chemischen Heterogenitäten wie sie z. B. unterschiedliche Endgruppen darstellen. Die synthetisierten monofunktionellen Polystyrole wurden mit dieser

Methode unter den für Polystyrol kritischen Bedingungen vermessen (THF/Hexan 60/40, w/w, 45 °C, NH<sub>2</sub>-modifiziertes Silicagel). In Abbildung 4.5 sind die erhaltenen Messdaten dargestellt.



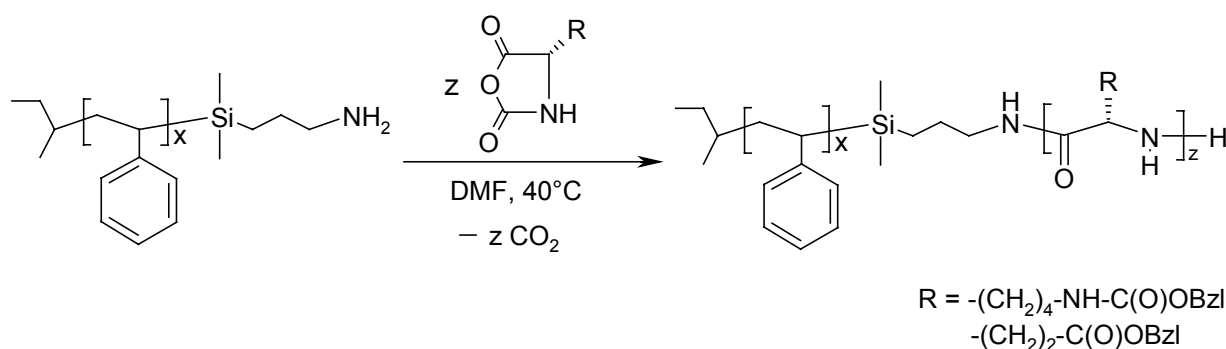
**Abbildung 4.5:**  
Flächennormierte  
Chromatogramme (ELSD-Signal)  
monofunktionaler Polystyrol-  
Makroinitiatoren gemessen unter  
kritischen Bedingungen für  
Polystyrol (siehe Text).

Nicht funktionalisiertes Polystyrol eluiert unter kritischen Bedingungen mit einer Retentionszeit von 4.706 Minuten, während für die beide aminofunktionalisierten Polymere Retentionszeiten von 4.441 Minuten (PS<sub>57</sub>-NH<sub>2</sub>) und 4.146 Minuten (PS<sub>218</sub>-NH<sub>2</sub>) erhalten werden, die somit also im GPC-Modus eluieren. Für PS<sub>57</sub>-NH<sub>2</sub> ergibt sich ein monomodales Signal, das einen geringfügigen Ausläufer im Bereich des Polystyrols besitzt. Die Auswertung der Signalfächen ergibt einen nicht funktionalisierten Restanteil von maximal 5 %. Dies zeigt einen sehr hohen Funktionalisierungsgrad (> 95 %) an, so wie er auch mittels NMR-Spektroskopie ermittelt wurde. Im Falle von PS<sub>218</sub>-NH<sub>2</sub> dagegen wird ein bimodales Chromatogramm erhalten, und ein deutlicher Anteil des Polymers von etwa 10 Gew.-% eluiert mit der Retentionszeit des nicht funktionalisierten Polystyrols, trägt somit also auch keine Aminofunktion. Die Bestimmung des Funktionalisierungsgrades aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ergab einen Wert von etwa 70 %, der aber aufgrund der geringen Signalintensität des zugehörigen Signals nur abgeschätzt werden konnte und somit mit einem großen Fehler behaftet ist.

Prinzipiell erlaubt LACCC somit zuverlässige Bestimmungen von Funktionalitätsgraden auch bei Polymeren mit Molekulargewichten > 20000 g/mol, im Gegensatz zur NMR-Spektroskopie.

#### 4.1.2 Synthese und Charakterisierung der linearen Polypeptid-Blockcopolymere

Die synthetisierten monofunktionellen Polymere wurden als Makroinitiatoren in der ringöffnenden Polymerisation der *N*-Carboxyanhydride von *N*<sub>ε</sub>-Z-L-lysin und L-Glutaminsäure-5-benzylester eingesetzt. Die Polymerisation dieser *N*-Carboxyanhydride in verschiedenen Lösungsmitteln wurde in der Literatur bereits vielfach beschrieben [41, 42]. Das relativ häufig verwendete Lösungsmittel *N,N*-Dimethylformamid (DMF) zeichnet sich durch sehr gute Lösungseigenschaften im gesamten Verlauf der Polymerisation aus, d. h. auch das entstehende Polypeptid bleibt homogen gelöst. Da DMF durch Zersetzungsreaktionen Spuren von Aminen enthalten kann und Wasser sehr leicht löst, ist es zwingend erforderlich, das Lösungsmittel frisch zu destillieren und anschließend unter Ausschluss von Licht zu lagern. Im Hinblick auf die Synthese von Blockcopolymeren ist zu beachten, dass auch der hydrophobe Makroinitiator gelöst vorliegen muss, damit der Initiatorschritt überhaupt erst möglich wird. Im Falle von Polystyrol war eine gute Löslichkeit gegeben, so dass für diese Reaktionen auch DMF als Lösungsmittel gewählt wurde. Bei den in DMF unlöslichen Polybutadien-Makroinitiatoren wurden Mischungen aus Chloroform/DMF eingesetzt; der Anteil an DMF wurde je nach gewähltem Ansatz zwischen 30-50 % eingestellt, um die Löslichkeit des entstehenden Polypeptidsegmentes zu gewährleisten.



**Abbildung 4.6:** Reaktionsschema zur Synthese linearer Polypeptid-Blockcopolymere.

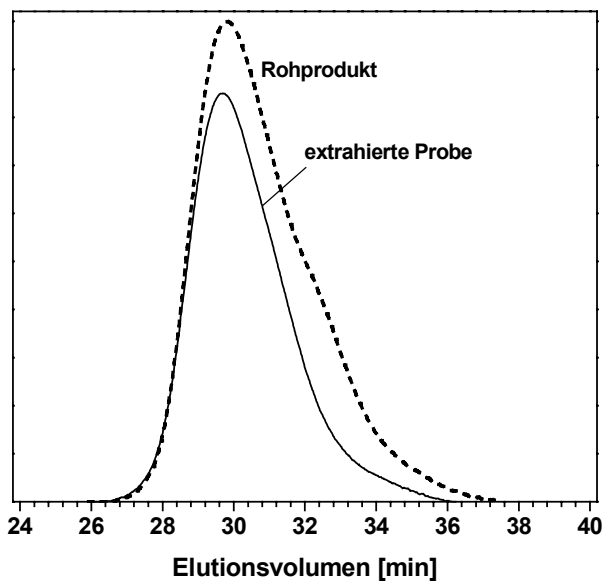
Die *N*-Carboxyanhydride der beiden Aminosäuren wurden – wenn möglich – erst am Vortag synthetisiert und in allen Fällen am Tag der Polymerisationsreaktion mindestens dreimal aus THF/Petrolether umkristallisiert und bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet. Der Makroinitiator sowie die berechnete Menge *N*-Carboxyanhydrid wurden jeweils in getrennten Schlenkkolben in zuvor entgastem Lösungsmittel gelöst. Im Falle der Polybutadiene wurde der Makroinitiator in Chloroform und das zugehörige *N*-Carboxyanhydrid in DMF gelöst. Anschließend wurden die beiden Lösungen mittels einer zweiseitigen Transfernadel vereinigt und der



Reaktionskolben mit Argon belüftet. Die Reaktionslösungen wurden danach für mindestens 48 Stunden, meist über ein Wochenende, bei 40 °C unter Argon gerührt. Eine Kontrolle des Monomerumsatzes mittels IR-Spektroskopie [46] zum Reaktionsverlauf wurde nicht vorgenommen.

Da ein Abbruch der Polymerisationsreaktion nicht erforderlich ist, wurde zur Aufarbeitung des Reaktionsgemisches das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum vollständig entfernt und der meist feste Rückstand wiederum in Chloroform gelöst. Reste von DMF stören die Fällung des Produktes erheblich: Auch bei großem Überschuss an Fällungsmittel bildet sich nur wenig eines öligen Niederschlages, der sich sehr schlecht isolieren lässt. Die Fällung der Blockcopolymeren erfolgte meistens in – teils mit flüssigem Stickstoff gekühltem – Petrolether, einige der PS-*b*-P(Bzl-Glu)-Copolymere wurden auch in Methanol ausgefällt. In allen Fällen wurde die Güte des Fällungsmittels vorher mit einer kleinen Probe getestet. Da Petrolether Polybutadien löst, hat seine Verwendung als Fällungsmittel hier den Vorteil, dass nicht umgesetzter Makroinitiator gelöst bleibt und so direkt aus dem Blockcopolymer entfernt werden kann. Insbesondere im Fall der Blockcopolymeren, die unter Verwendung des Polybutadien-Makroinitiators PB<sub>85</sub>-NH<sub>2</sub> synthetisiert wurden, konnte durch zweimaliges Umfällen in Petrolether der nicht funktionalisierte Anteil des Makroinitiators aus dem vorliegenden Gemisch entfernt werden. Dass sich Petrolether als Fällungsmittel eignet, zeigt, dass der aufpolymerisierte Polypeptidblock auch schon bei kurzen Blocklängen entscheidenden Einfluss auf die Lösungseigenschaften des Blockcopolymeren nimmt.

Obwohl die Polystyrol-Makroinitiatoren durchweg einen hohen Funktionalisierungsgrad aufwiesen, wurden in den Blockcopolymerproben erhebliche Anteile an nicht umgesetztem Makroinitiator gefunden. Aus diesem Grund wurden die Polystyrol-Polypeptid-Blockcopolymeren mit Cyclohexan extrahiert. Dazu wurden die ausgefallten Blockcopolymeren wiederholt mit Cyclohexan versetzt und mehrere Stunden (bzw. über Nacht) gerührt; das Polymer wurde jeweils dazwischen abzentrifugiert oder über eine sehr feine Fritte abgesaugt. Bereits der Mengenverlust bei einigen Blockcopolymerproben durch die Extraktion deutete darauf hin, dass nur relativ niedrige Initiatoreffektivitäten (< 70 %) erreicht wurden. Zu Vergleichszwecken wurde jeweils eine kleine Probe des ursprünglich isolierten Blockcopolymeren zurückbehalten, um eine Charakterisierung vor und nach der Extraktion zu ermöglichen. Einige der extrahierten Proben zeigten eine deutlich schlechtere Löslichkeit, z. B. in deuteriertem Chloroform. Die Charakterisierung der erhaltenen Polypeptid-Blockcopolymeren wurde mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie sowie GPC durchgeführt. Die GPC-Analytik ist nur unter bestimmten apparativen Voraussetzungen möglich, was die Ermittlung von Molekulargewichten und insbesondere Molekulargewichtsverteilungen sehr erschwert.



**Abbildung 4.7:** GPC-Eluogramme (RI-Signal) des linearen Blockcopolymers *l*-S<sub>52</sub>-ZL<sub>69</sub> vor (Rohprodukt) und nach Extraktion mit Cyclohexan.

Die chemische Zusammensetzung, d. h. die jeweiligen Blocklängen der Peptidblöcke, lassen sich unter Einbeziehung der Polymerisationsgrade der verwendeten Makroinitiatoren aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren bestimmen. Hierbei ist es wichtig, die NMR-Spektren der extrahierten Polymerproben zu verwenden, da nicht zwischen Blockcopolymer und nicht umgesetztem Makroinitiator unterschieden werden kann. Ein weiterer wichtiger Aspekt besteht in der Wahl des deuterierten Lösungsmittels, um die tatsächlichen Blocklängen ermitteln zu können: Stellt das gewählte Lösungsmittel nicht für beide Blöcke ein gleichsam gutes Lösungsmittel dar, kann es sehr leicht zu Aggregatbildung in der Lösung kommen. Dies wiederum kann die Signalintensitäten (Integralgrößen) aufgrund sehr unterschiedlicher Relaxationszeiten für die Protonen des aggregierten bzw. gelösten Blockes verfälschen.

<sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Polybutadien-Polypeptid-Blockcopolymere wurden ausschließlich in CDCl<sub>3</sub> aufgenommen, um die Löslichkeit des Polybutadienblockes zu gewährleisten. Zur Berechnung wurden jeweils die Integrale der aromatischen Protonen (5 Protonen) der Urethan- bzw. Benzylschutzgruppen des Peptidblockes mit dem einzelnen vinylischen Proton (5.3-5.5 ppm) des Polybutadiens verglichen.

Die Polystyrol-Polypeptid-Blockcopolymere wurden zunächst ebenfalls in CDCl<sub>3</sub> vermessen, da diese sich überwiegend gut lösten und keine sichtbare Aggregatbildung auftrat. Als Vergleichssignale wurden das *meta*-Aromatensignal des Styrols bei höherem Feld (6.5-6.9 ppm, 2 Protonen) sowie das Signal der benzylichen Protonen der Peptidschutzgruppen (5.2 ppm, 2 Protonen) herangezogen. Der so berechnete Polymerisationsgrad des Polypeptidsegments stimmte im Rahmen der Messgenauigkeit jedoch nicht immer mit den Werten überein, die aus Messungen in deuteriertem DMF ermittelt wurden.

Messungen mit der Analytischen Ultrazentrifuge (AUZ) konnten zeigen, dass das Blockcopolymer in DMF bei 40 °C unimolekular gelöst, in unpolaren Lösungsmitteln (THF, CHCl<sub>3</sub>) dagegen aggregiert vorliegt. Somit ergeben sich aus den in DMF vermessenen <sup>1</sup>H-NMR-Spektren die genaueren Werte bezüglich der vorliegenden Blocklängenverhältnisse. Ein ähnlicher Effekt kann für die PB-Blockcopolymeren vermutet werden, jedoch stellt Chloroform hier schon das am besten geeignete Lösungsmittel dar.

Ausgehend vom angestrebten Blocklängenverhältnis und dem ermittelten tatsächlichen Wert lässt sich unter Annahme vollständigen NCA-Umsatzes die Initiatoreffektivität des Makroinitiators ermitteln. Dies wurde für einige der Polymere beispielhaft durchgeführt, wobei sich jeweils Initiatoreffektivitäten im Bereich von etwa 60 % ergaben. Ein Grund dafür könnte in einer mangelnden Reinheit der eingesetzten *N*-Carboxyanhydride liegen. Es ist nicht auszuschließen, dass bei der Phosgenierungsreaktion entstandene Nebenprodukte, wie Chloroformyl-Aminosäurechloride und  $\alpha$ -Isocyanato-Säurechloride, durch den Umkristallisierungsprozess nicht vollständig entfernt wurden und somit noch im Monomer enthalten sind. Da die Nebenprodukte einen elektrophilen Charakter aufweisen, stören sie die Polymerisationsreaktion (vgl. Kap. 2.4). POCHÉ et al. [92] berichteten in diesem Zusammenhang ebenfalls von unregelmäßigen Ergebnissen der Polymerisationsreaktionen. Sie entwickelten daher eine neue Vorgehensweise zur Aufreinigung der *N*-Carboxyanhydride: Diese werden – gelöst in organischem Lösungsmittel – trotz ihrer hohen Empfindlichkeit gegenüber Wasser mit einer eiskalten wässrigen Hydrogencarbonatlösung extrahiert, um Nebenprodukte sowie Reste von HCl und Phosgen vollständig zu entfernen. Eigene Versuche in der Arbeitsgruppe konnten die positiven Ergebnisse der Literatur bisher bestätigen.

Wie bereits in Kapitel 3.1 erläutert, ist die Analytik von Blockcopolymeren mit GPC nur in eingeschränktem Maße möglich, da in der Regel eine Eichkurve nicht zur Verfügung steht. Im Fall der vorliegenden Polypeptid-Blockcopolymeren handelt es sich um stark amphiphile Blockcopolymeren, deren Polypeptidblock sich durch eine große Polarität auszeichnet. Dadurch besteht unter anderem die Gefahr der Adsorption des Polymers an das Säulenmaterial, was eine Verfälschung der Elutionsvolumina oder sogar die Elution im HPLC- anstelle des GPC-Modus zur Folge hat.

Unter Berücksichtigung der bisherigen Erkenntnisse über die Aggregatbildung der Polymere (Aggregatfreiheit in DMF bei 40 °C) wurde die GPC der linearen Polystyrol-Polypeptid-Blockcopolymeren in einer 0.5 Gew.-% Lösung von LiBr in DMA bei 70 °C durchgeführt. Als Säulenmaterial wurde nicht die meist üblichen unpolaren Polystyrolgele (SDV), sondern PSS-GRAM<sup>®</sup>-Säulen auf Polyesterbasis verwendet. Zur Detektion wurde neben den routinemäßig angeschlossenen RI- und UV-Detektoren ein

differentieller Viskositätsdetektor eingesetzt, welcher für jeden ‚Streifen‘ des Chromatogramms die Bestimmung der spezifischen bzw. intrinsischen Viskosität gestattet. Aus den Daten der universellen Eichkurve, des Viskositätsdetektors und der injizierten Probenmenge kann das zahlenmittlere Molekulargewicht  $M_n$  berechnet werden (siehe Kapitel 3.1), welches mit den mittels NMR-Spektroskopie berechneten Werten direkt verglichen werden kann. Dabei zeigt sich jeweils eine gute bis sehr gute Übereinstimmung beider Werte im Rahmen von  $< 15\%$ . Mit diesem GPC-Verfahren können somit absolute Molekulargewichte linearer Blockcopolymere mit einer einzigen Messung ohne Berücksichtigung eines Precursors bestimmt werden. Eine Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung sowie der Polydispersität war bisher nicht möglich. GPC-Analytik der Polybutadien-Polypeptid-Blockcopolymere konnte nicht durchgeführt werden, da die Polymere nur schlecht in DMA löslich sind und bei Verwendung von THF oder  $\text{CHCl}_3$  als Eluenten eine starke Adsorption an das Säulenmaterial zeigten.

In Tabelle 4.2 sind exemplarisch die ermittelten Molekulargewichte für einige der linearen Blockcopolymere zusammengestellt.

**Tabelle 4.2:** Molekulare Parameter linearer Polypeptid-Blockcopolymere (S=Styrol, ZL= $N_\epsilon$ -Z-L-lysin, BG=Glutaminsäure-5-benzylester, l=linear)

Polymer	Makroinitiator	$P_n$ (Peptid) (NMR)	$M_n$ [g/mol] (NMR)	$M_n$ [g/mol] (GPC)
<i>l</i> -S <sub>52</sub> -ZL <sub>69</sub>	PS <sub>52</sub> -NH <sub>2</sub>	69	23700	25300
<i>l</i> -S <sub>52</sub> -ZL <sub>111</sub>	PS <sub>52</sub> -NH <sub>2</sub>	111	34700	35800
<i>l</i> -S <sub>52</sub> -BG <sub>104</sub>	PS <sub>52</sub> -NH <sub>2</sub>	104	32700	35600
<i>l</i> -S <sub>57</sub> -BG <sub>274</sub>	PS <sub>57</sub> -NH <sub>2</sub>	274	77700	57100
<i>l</i> -S <sub>218</sub> -ZL <sub>93</sub>	PS <sub>218</sub> -NH <sub>2</sub>	93	47200	55200
<i>l</i> -S <sub>218</sub> -ZL <sub>295</sub>	PS <sub>218</sub> -NH <sub>2</sub>	295	100000	89500

## 4.2 Verzweigte Polypeptid-Blockcopolymere

### 4.2.1 *Synthese und Charakterisierung der polyfunktionellen Makroinitiatoren*

Die Synthese eines polyfunktionellen Makroinitiators – wäre in Analogie zu dem im vorangegangenen Kapitel vorgestellten Konzept – mit polyfunktionellen Funktionalisierungsreagenzien denkbar. Eine solche Vorgehensweise würde allerdings einen großen synthetischen Aufwand erfordern, insbesondere falls die Anzahl der gewünschten Aminogruppen variiert werden soll.

Daher wurde eine andere, variable Synthesestrategie entwickelt: Die Verwendung eines aminofunktionalisierten in Kombination mit einem beliebigen anderen Monomer zur Synthese eines Blockcopolymers würde es ermöglichen, durch die Blocklänge des aminofunktionalisierten Blockes den Funktionalisierungsgrad des Makroinitiators gezielt zu variieren. Um neben einer engen Molekulargewichtsverteilung ebenfalls eine gute Kontrolle über das Blocklängenverhältnis zu erreichen, bietet sich wiederum die lebende anionische Polymerisation an, bei der der Polymerisationsgrad über das Initiator/Monomer-Verhältnis eingestellt werden kann. Die Wahl eines geeigneten aminofunktionalisierten Monomers wurde dabei durch die folgenden Überlegungen bestimmt: Für einen schnellen und effizienten Start der ringöffnenden NCA-Polymerisation sollte es eine primäre, aliphatische Aminogruppe aufweisen. Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln erläutert, muss die Aminogruppe während der anionischen Polymerisation maskiert werden. Das Monomer sollte unter akzeptablem synthetischem Aufwand zugänglich sein und sich mit gängigen anderen Monomeren, insbesondere Styrol und Butadien, copolymerisieren lassen.

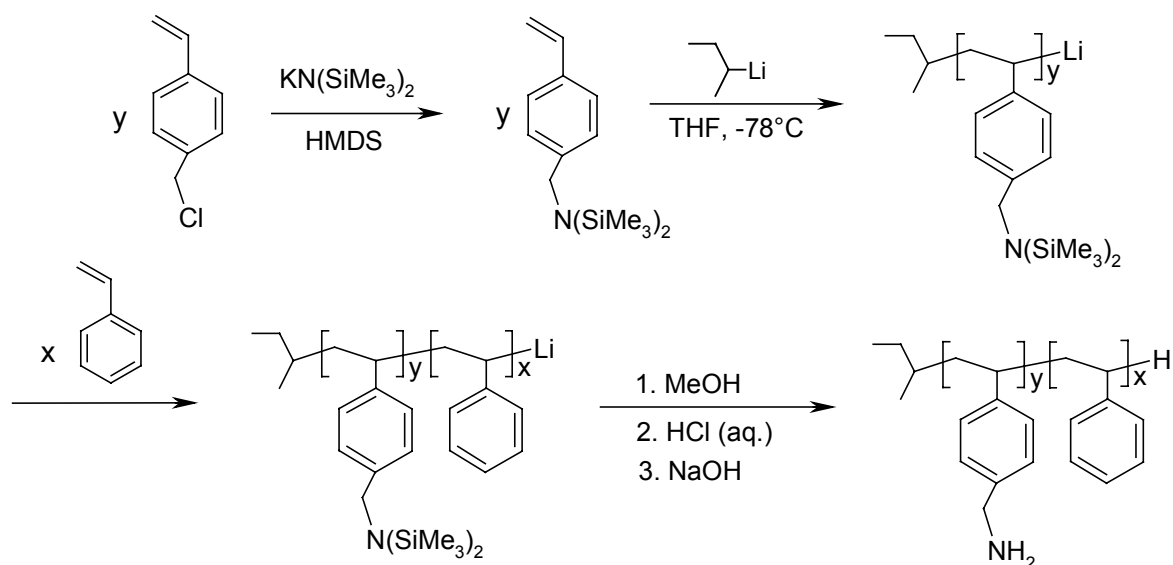
Aufgrund dieser Überlegungen wurde 4-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)aminomethyl]styrol als Monomer gewählt, dessen Synthese und anionische Polymerisation bereits von HIRAO und NAKAHAMA beschrieben wurde [88]. Sie erhielten das Styrolerivat durch Reaktion von (*N,N*-Bis(trimethylsilyl)aminomethyl)methylether mit 4-Vinylphenylmagnesiumchlorid in isolierten Ausbeuten von 40-50 %. Dieses ursprünglich von BESTMANN et al. [93] sowie MORIMOTO et al. [94] entwickelte Synthesekonzept wurde später ebenfalls von DESIMONE zur Darstellung entsprechender Chlorsilanderivate (siehe Kapitel 4.2.1) eingesetzt.

Wie bereits im Falle des monofunktionellen Funktionalisierungsreagenzes wurde die Synthese modifiziert: Dazu wurde 4-Vinylbenzylchlorid direkt mit Kalium-*N,N*-bis(trimethylsilyl)amid in Hexamethyldisilazan umgesetzt [89]. Nach fraktionierender Destillation wurde das gewünschte 4-[*N,N*-Bis(trimethylsilyl)aminomethyl]styrol in einer Ausbeute von 43 % erhalten. Das zugehörige Reaktionsschema ist in Abb. 4.8 dargestellt. Somit stellt der von uns beschrittene Syntheseweg bei ähnlichen Ausbeuten eine deutliche Vereinfachung gegenüber der Literatur dar. Die chemische

Struktur des Monomers wurde durch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestätigt und zeigte sonst keine auffälligen protonischen Verunreinigungen.

Zur Synthese des polyfunktionellen Makroinitiators erschien es sinnvoll, zunächst als ersten Block das aminofunktionalisierte Monomer zu polymerisieren und durch anschließende Zugabe von Styrol bzw. Butadien die gewünschte Blockstruktur zu erhalten. Diese Vorgehensweise bietet den Vorteil, dass durch Entnahme einer Probe der Reaktionslösung vor Zugabe des zweiten Monomers die Bestimmung des Funktionalisierungsgrades erheblich erleichtert wird. Sollte das synthetisierte Monomer noch Verunreinigungen enthalten, wäre es zudem möglich, diese zu Beginn der Polymerisation mit *sec*-Butyllithium ‚auszutitrieren‘. HIRAO und NAKAHAMA [88] beschrieben bereits die Darstellung eines Blockcopolymers ausgehend vom lebenden 4-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)aminomethyl]styryl-Anion durch Zugabe von Styrol als zweitem Monomer.

Die anionischen Polymerisationen wurden wiederum an einer kombinierten Vakuum/Argon-Linie durchgeführt. Zunächst wurde versucht, das synthetisierte 4-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)aminomethyl]styrol nochmals durch Rühren über  $\text{CaH}_2$  und anschließendes Umkondensieren an der Vakuumlinie zu reinigen. Aufgrund des hohen Siedepunktes ( $72\text{ }^\circ\text{C}$  bei  $0.05\text{ mbar}$ ) konnte ein Umkondensieren nur unter starkem Erhitzen des Monomers erreicht werden, wodurch aber die thermische Polymerisation einsetzte. Es wurde daher dazu übergegangen, das nach der Synthese erhaltene Produkt ohne weitere Reinigung einzusetzen. Die anionische Polymerisation wurde bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  in THF durchgeführt und obwohl das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine nennenswerten Verunreinigungen zeigte, bereitete die Initiierung des Styrolderivates mit *sec*-Butyllithium erhebliche Schwierigkeiten: In einigen Fällen zeigte sich zunächst eine tief grüne Farbe, die sich jedoch in wenigen Minuten wieder entfärbte. Teilweise bildete sich nur in unmittelbarer Umgebung des zugespritzten *sec*-Butyllithiums ein dunkelgrüner Hof, der zudem sofort wieder verschwand. Aus diesem Grund wurde in späteren Versuchen mindestens die doppelte der berechneten Initiatormenge zugegeben, bis sich eine tief grüne Färbung der Lösung einstellte. Die so erzielten Blocklängen und folglich die Funktionalitätsgrade stimmten daher nicht mit den ursprünglich angestrebten Werten überein.



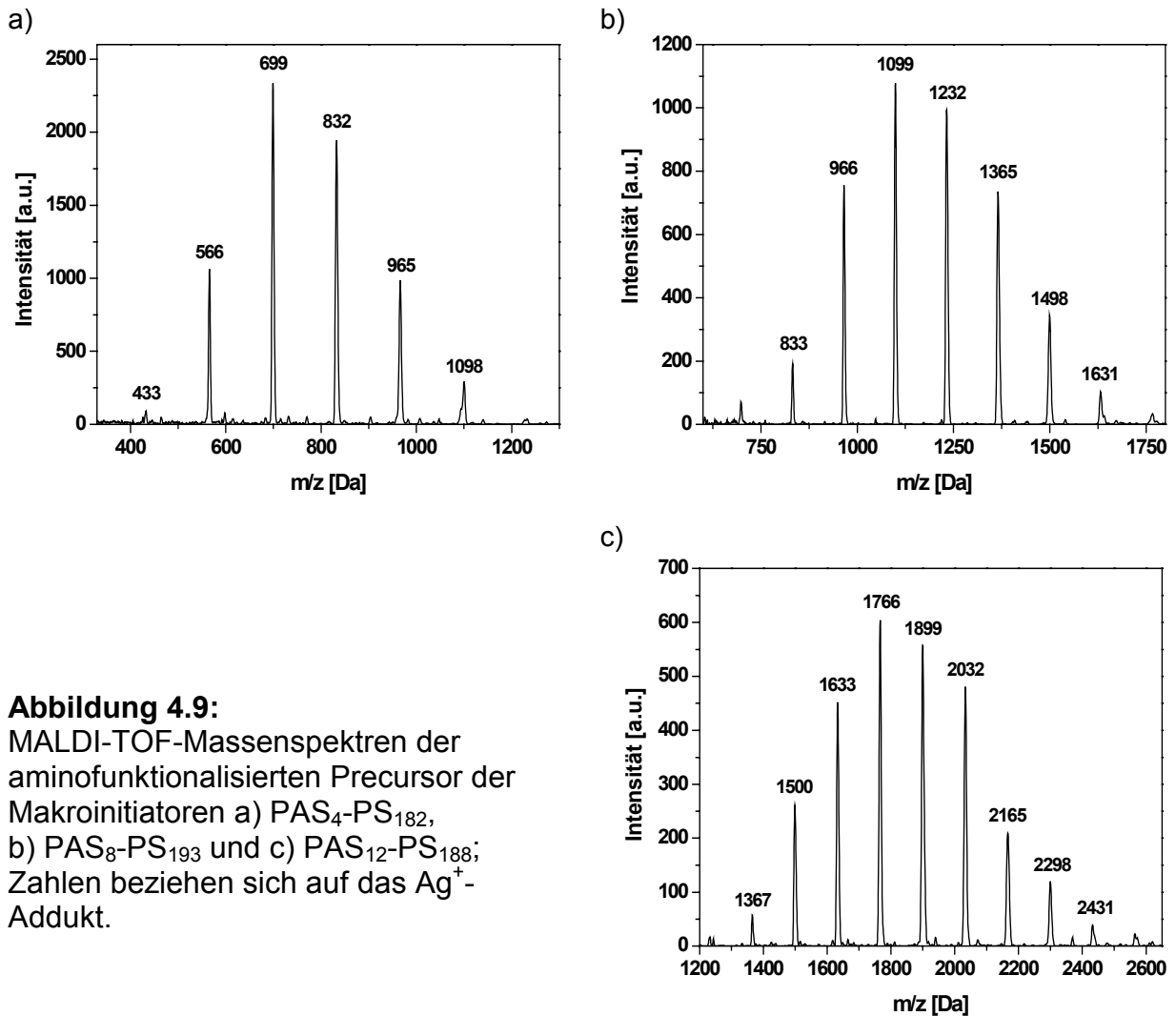
**Abbildung 4.8:** Reaktionsschema zur Synthese polyfunktioneller Makroinitiatoren.

Eine mögliche Erklärung des beobachteten Verhaltens könnte in einer Desilylierung der Aminofunktion durch *sec*-Butyllithium und der daraus resultierenden Bildung eines entsprechenden Stickstoff-Anions zu finden sein. Aufgrund der niedrigen Polymerisationstemperatur sollte diese Nebenreaktion jedoch weitestgehend unterdrückt sein. HIRAO und NAKAHAMA berichten nicht von ähnlichen Problemen bei der Polymerisation.

Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde wurde zu Charakterisierungszwecken eine kleine Probe der Reaktionslösung entnommen und mit Methanol abgebrochen. Anschließend wurde das zweite Monomer in den Reaktionskolben einkondensiert. Hierzu wurde zunächst Styrol eingesetzt, um die Reihe linearer PS-Makroinitiatoren mit den entsprechenden polyfunktionellen Polymeren zu ergänzen. Nach dem Aufkondensieren des Styrols änderte sich die zuvor dunkelgrüne Farbe hin zu braungrün. Die zu erwartende orange-rote Farbe des lebenden Styryl-Anions wurde in keinem der Fälle beobachtet. Nach weiteren zwei Stunden Reaktionsdauer wurde entgastes Methanol zugegeben, wodurch sich die Reaktionslösung sofort entfärbte und somit den Abbruch der lebenden Ketten anzeigte.

Durch analoge Vorgehensweise wurde ebenfalls versucht, ein Blockcopolymer mit Polybutadien zu synthetisieren. Dazu wurde anstelle des Styrols Butadien in die Lösung des lebenden Oligo(4-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)-aminomethyl]styrol) einkondensiert, wodurch sich die Farbe nur geringfügig änderte. Die Lösung wurde anschließend über Nacht bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und am nächsten Morgen durch Zugabe von Methanol abgebrochen. In allen Fällen zeigte sich jedoch, dass nur eine sehr geringe Menge Butadien aufpolymerisiert war. In weiteren Versuchen konnten keine wesentlichen Verbesserungen erzielt werden; weder die umgekehrte Monomerfolge

noch das Einfügen eines kurzen Oligostyrol-Spacers brachten den gewünschten Erfolg. Aufgrund dieser Schwierigkeit wurden nur polyfunktionelle Polystyrol-Makroinitiatoren synthetisiert. Die Polymere wurden nach dem Ausfällen in Ethanol wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben zur Abspaltung der Silylschutzgruppen ebenfalls wässrig sauer aufgearbeitet und aus Benzol gefriergetrocknet.



**Abbildung 4.9:**  
MALDI-TOF-Massenspektren der aminofunktionalisierten Precursor der Makroinitiatoren a) PAS<sub>4</sub>-PS<sub>182</sub>, b) PAS<sub>8</sub>-PS<sub>193</sub> und c) PAS<sub>12</sub>-PS<sub>188</sub>; Zahlen beziehen sich auf das Ag<sup>+</sup>-Addukt.

Bei der Charakterisierung der polyfunktionellen Makroinitiatoren steht insbesondere die Bestimmung des Funktionalisierungsgrades, d. h. des Polymerisationsgrades des Oligo(4-[N,N-bis(trimethylsilyl)-aminomethyl]styrol) im Mittelpunkt, was anhand der entnommenen Precursor-Probe einfach möglich ist.

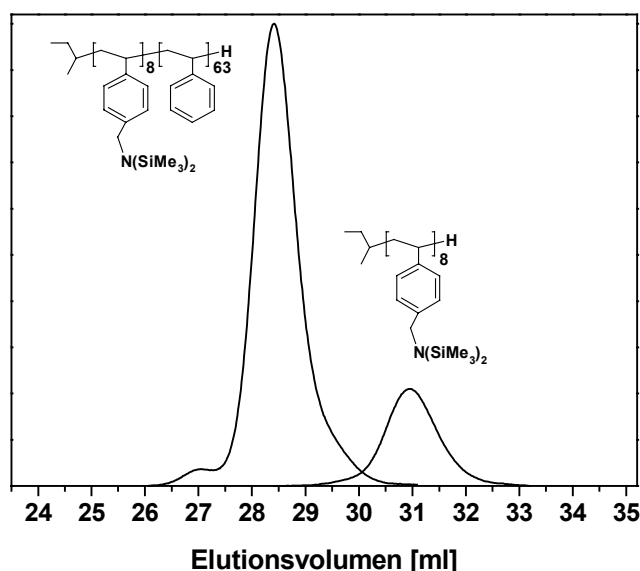
Dazu wurde die Probe mit dem MALDI-TOF-Massenspektrometer analysiert, wobei 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) als Matrix und Silbertrifluoracetat (AgTFA) als Adduktbildner eingesetzt wurden. Das erhaltene Spektrum zeigte direkt die Oligomerenverteilung (Abb. 4.9). Der Abstand der Peaks zueinander sollte dabei einheitlich der Masse einer silylierten Monomereinheit entsprechen; man findet jedoch



nur eine Differenz  $\Delta m=133.3$  Da, was der Masse des ungeschützten Styrolderivates entspricht. Es ist daher anzunehmen, dass die Trimethylsilylschutzgruppen während der Laserpulse in der aciden Matrix abgespalten wurden. Die Restmasse von 58 Da korrespondiert zu derjenigen der erwarteten Endgruppen des Polymers, *sec*-Butyl und H (gesamt:  $C_4H_{10}$ ).

Aus dem Massenspektrum kann direkt der zahlenmittlere Polymerisationsgrad  $P_n$  bestimmt werden, der gerade dem Funktionalisierungsgrad des späteren Makroinitiators entspricht.

Das Blockcopolymer wurde mittels GPC in THF charakterisiert und so die zugehörigen apparenten Werte der Massenmittelwerte in Bezug auf eine PS-Eichung ermittelt. In allen Fällen signalisierte eine deutliche Verschiebung der Elutionsvolumina von Blockcopolymer und Precursor eine signifikante Änderung des hydrodynamischen Volumens (Abb. 4.9). Zur GPC-Analytik wurden die silylgeschützten Polymere herangezogen, da es durch die freien Aminogruppen zu Adsorptionsphänomenen kommt. GPC-Messungen der entschützten polyfunktionellen Makroinitiatoren in DMA ergaben viel zu große (apparente) Molekulargewichte gegenüber den mittels NMR-Spektroskopie erhaltenen Werten, was auf Aggregation der Polymere hindeutet. Die Tendenz zur Aggregatbildung stieg dabei mit steigendem Funktionalisierungsgrad deutlich an.



**Abbildung 4.10:** GPC-Eluogramme (RI-Signal, THF) des Makroinitiators  $PAS_8-PS_{63}$  (links) sowie des zugehörigen aminofunktionalisierten Precursors (rechts).

Der Polymerisationsgrad des PS-Blockes lässt sich aus dem  $^1H$ -NMR-Spektrum unter Berücksichtigung des zuvor bestimmten Polymerisationsgrades des funktionalisierten Blockes bestimmen. Anhand des Protonenspektrums kann die vollständige Entfernung der Silylschutzgruppen leicht überprüft werden, da nicht nur

das Signal der Trimethylsilylgruppen verschwindet, sondern die benzylichen Protonen zudem eine geringfügige Verschiebung (etwa 0.2 ppm) zu höherem Feld erfahren.

Um den mit MALDI-TOF-MS ermittelten Funktionalisierungsgrad zu bestätigen, wurden die Aminogruppen der entschützten Polymere im Lösungsmittelgemisch THF/Eisessig (7:1 v/v) unter Verwendung von 0.1 N HCl titriert; der Umschlagspunkt wurde potentiometrisch bestimmt. Dabei wurde die vorher bestimmte Anzahl der Aminogruppen der Blockcopolymere im Rahmen der Messgenauigkeit (10 %) erhalten. In Tabelle 4.3 sind alle synthetisierten Makroinitiatoren sowie die zugehörigen charakteristischen Daten zusammengestellt.

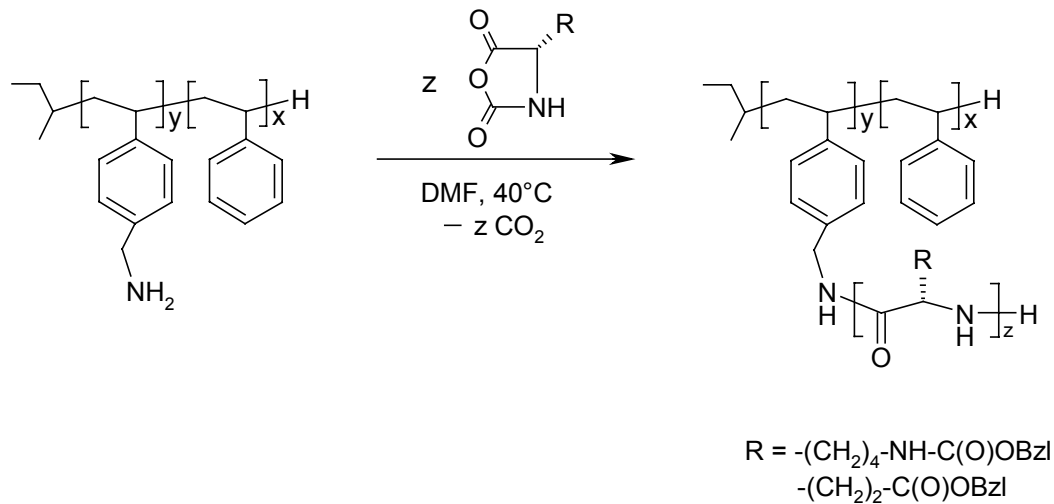
**Tabelle 4.3:** Molekulare Parameter der synthetisierten monofunktionellen Makroinitiatoren; PAS=Poly(aminomethylstyrol).

Polymer	$f_{\text{amino}}^{(a)}$	$P_n$ Styrol (NMR)	$M_n$ (NMR)	$M_n(\text{GPC})^{(b)}$	PD (GPC) <sup>(b)</sup>
PAS <sub>8</sub> -PS <sub>63</sub>	8	63	7600	7200	1.08
PAS <sub>4</sub> -PS <sub>182</sub>	4	182	19500	19400	1.13
PAS <sub>8</sub> -PS <sub>193</sub>	8	193	21200	19300	1.14
PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	12	188	21200	23500	1.14

(a) MALDI-TOF (Precursor) und Titration(Blockcopolymer); (b) PS-Eichung.

#### 4.2.2 *Synthese und Charakterisierung der verzweigten Polypeptid-Blockcopolymere*

Die ringöffnende NCA-Polymerisation wurde mit den oben aufgeführten polyfunktionellen Makroinitiatoren analog zu der in Kapitel 4.1.2 beschriebenen Vorgehensweise in DMF durchgeführt. Nach Entfernen von DMF und Lösen des Rückstandes in Chloroform wurde das Polypeptid-Blockcopolymer in Petrolether gefällt. Laut GPC (DMA) waren die Proben frei von Verunreinigungen an nicht umgesetztem Makroinitiator, weshalb auf eine Extraktion mit Cyclohexan verzichtet wurde. Durch Verwendung anderer Lösungsmittel bzw. –gemische zur Extraktion wäre es eventuell möglich, das Blockcopolymeregemisch nach Anzahl der aufgewachsenen Peptidketten zu fraktionieren. Darauf wurde an dieser Stelle jedoch verzichtet.



**Abbildung 4.11:** Reaktionsschema zur Synthese verzweigter Polypeptid-Blockcopolymere.

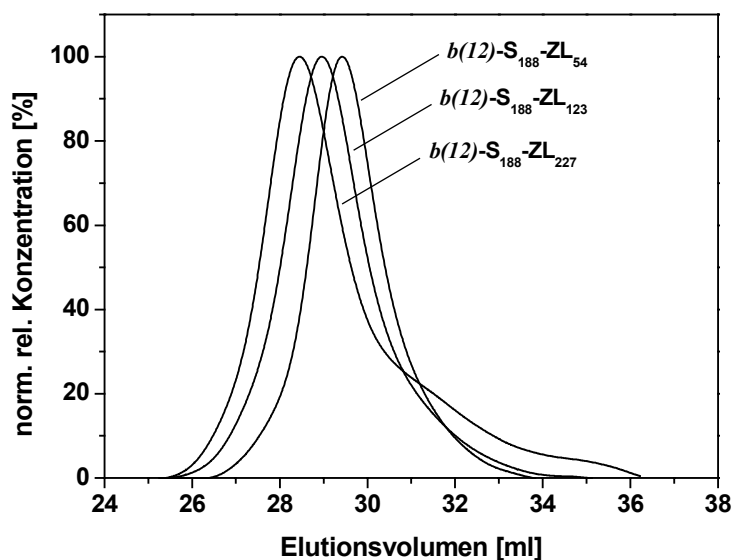
Zur Charakterisierung der Polypeptid-Blockcopolymere wurden die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zur Ermittlung der Gesamtzahl an Aminosäureeinheiten herangezogen. Bezüglich des verwendeten deuterierten Lösungsmittel gilt das in Kapitel 4.1.2 Gesagte. In Tabelle 4.4 sind exemplarisch die Daten einiger verzweigter Blockcopolymere zusammengestellt. Aus der Gesamtzahl der Aminosäureeinheiten kann bezogen auf den Funktionalisierungsgrad des Makroinitiators ein mittlerer Polymerisationsgrad der Polypeptidketten angenommen werden. Dieser Wert muss allerdings nicht mit den tatsächlich vorliegenden Seitenkettenlängen korrespondieren, da hierzu zuerst der effektive Verzweigungsgrad bestimmt werden muss.

**Tabelle 4.4:** Molekulare Parameter einiger verzweigter Polypeptid-Blockcopolymere (S=Styrol, ZL= $N_\epsilon$ -Z-L-lysin, BG=Glutaminsäure-5-benzylester, *b*=verzweigt (*,branched'*), (*x*)=Aminofunktionalität des Makroinitiators).

Polymer	Makroinitiator	$P_n$ (Peptid) (NMR)	$M_n$ [g/mol] (NMR)	Volumenbruch $\Phi_{\text{Peptid}}$
<i>b</i> (8)-S <sub>63</sub> -BG <sub>176</sub>	PAS <sub>8</sub> -PS <sub>63</sub>	176	46200	80.7
<i>b</i> (8)-S <sub>63</sub> -BG <sub>293</sub>	PAS <sub>8</sub> -PS <sub>63</sub>	293	71800	87.4
<i>b</i> (4)-S <sub>182</sub> -ZL <sub>243</sub>	PAS <sub>4</sub> -PS <sub>182</sub>	243	83200	74.1
<i>b</i> (8)-S <sub>193</sub> -ZL <sub>65</sub>	PAS <sub>8</sub> -PS <sub>193</sub>	65	38200	40.9
<i>b</i> (8)-S <sub>193</sub> -ZL <sub>255</sub>	PAS <sub>8</sub> -PS <sub>193</sub>	255	88000	73.1
<i>b</i> (12)-S <sub>188</sub> -ZL <sub>54</sub>	PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	54	35400	36.5
<i>b</i> (12)-S <sub>188</sub> -ZL <sub>123</sub>	PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	123	53400	56.7
<i>b</i> (12)-S <sub>188</sub> -ZL <sub>227</sub>	PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	227	80700	70.8

Die Polymere eluierten in DMA gemäß ihrer Größe im GPC-Modus und hatten überwiegend monomodale Verteilungen. Bei hohen Peptidanteilen (> 70 %) werden multimodale Verteilungen erhalten, die vermutlich durch Adsorptionsphänomene auf der Säule und nicht durch die molekulare Zusammensetzung der Proben hervorgerufen werden. In Abbildung 4.12 sind die Eluogramme dreier Blockcopolymere desselben Makroinitiators mit unterschiedlichem Polypeptid-Anteil dargestellt. Eine Bestimmung der Molekulargewichte von monomodalen Proben nach der GOLDWASSER-Methode ergab deutliche Abweichungen von den NMR-Werten von zum Teil über 100 %. Die mit linearen PS-Standards erstellte universelle Eichkurve ist somit (erwartungsgemäß) nicht geeignet, um daraus  $V_h$  und  $M$  von verzweigten Polymeren zu ermitteln, da hier die Fox-Flory-Konstante  $\Phi'$  berücksichtigt werden muss.

Die Bestimmung des effektiven bzw. tatsächlichen Verzweigungsgrades sowie der Molekulargewichtsverteilung des Blockcopolymeres sowie auch der Polypeptid-segmente stellen die wichtigsten - gleichzeitig jedoch auch schwierigsten - Fragen der Charakterisierung dar. Bisher konnten keine Methoden zur direkten Bestimmung gefunden bzw. entwickelt werden. Eine Analyse der Endgruppen zur Bestimmung des Verzweigungsgrades, z. B. durch Titration oder Fluoreszenzmarkierung der jeweiligen Seitenketten, erscheint nur wenig sinnvoll, da es sich sowohl bei den Endgruppen der Peptidketten als auch den Initiatorgruppen um primäre Aminofunktionen handelt.



**Abbildung 4.12:** GPC-Eluogramme (RI-Signal) verzweigter Polystyrol-*block*-poly(Z-L-lysin)-Copolymere mit unterschiedlichen Polypeptidgehalten.

Eine Abspaltung der Polypeptidketten vom Makroinitiator zur separaten Charakterisierung ist nur dann möglich, wenn die Anbindung der Ketten eine labile, unter milden Bedingungen spaltbare Gruppierung enthält, was bei den hier synthetisierten Blockcopolymeren nicht der Fall ist. Zudem beinhaltet auch die Charakterisierung der Polypeptidketten selbst, insbesondere hinsichtlich der Molekulargewichtsverteilung, noch zahlreiche nicht gelöste Probleme.

Eine alternative Methode zur Problemlösung stellt wiederum die kritische Chromatographie (LACCC) dar: Unter kritischen Bedingungen für Styrol wäre die Molekulargewichtsverteilung der Peptidsegmente zugänglich, sofern eine entsprechende Eichkurve zur Verfügung stände.

Einen Hinweis auf den tatsächlichen Verzweigungsgrad könnte bereits aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum erhalten werden: Die benzylicchen Protonen des Makroinitiators liegen bei deutlich höherem Feld (3.7 ppm) als die in Nachbarschaft zur Peptidbindung (5.2 ppm). Da jedoch nur mit geringen Signalintensitäten und Überlagerung durch Signale des Polypeptidanteils ( $\alpha$ -CH) zu rechnen ist, wären dazu spezielle NMR-Experimente notwendig.

### 4.3 Entfernung der Peptidschutzgruppen

Für einige der geplanten Untersuchungen in wässrigen Systemen war es erforderlich, den hydrophilen Charakter der  $\epsilon$ -ständigen Aminogruppe des Lysins sowie der  $\gamma$ -ständigen Carboxylfunktion der Glutaminsäure durch Abspaltung der verwendeten Benzyloxycarbonyl (Z)- bzw. Benzylschutzgruppe wieder herzustellen. Wie bereits erwähnt, sollten beide Schutzgruppen durch katalytische Hydrierung unter milden Bedingungen abspaltbar sein. Im Falle der synthetisierten Polypeptid-Blockcopolymeren ergaben sich allerdings einige Probleme, so dass die Entschützungsreaktionen zunächst auf anderen Wegen durchgeführt wurden:

Die Benzylschutzgruppe stellt den einfachen Ester einer Carbonsäure dar und lässt sich daher unter den üblichen Bedingungen verseifen. Kalium- oder Natriumhydroxid in wässrigen Lösungen bzw. in Gemischen mit kurzkettigen Alkoholen finden dabei ebenso Anwendung [95-97] wie die saure Esterspaltung unter Verwendung sehr starker Säuren [98, 99]. Obwohl im alkalischen Reaktionsmilieu die Gefahr der Racemisierung der enantiomerenreinen L-Aminosäuren besteht, wurden einige der linearen und verzweigten PS-*b*-P(Bzl-Glu)-Polymere auf diese Weise entschützt. Dazu wurden verdünnte wässrige Natriumhydroxid-Lösungen im Gemisch mit THF, Methanol und 2-Propanol – teilweise unter Erwärmung auf 40 °C – eingesetzt.

Abhängig von der Reaktionsdauer und –temperatur konnte bei späteren Messungen des Circular dichroismus eine deutliche Abnahme der beobachteten Drehwerte festgestellt werden, was für eine teilweise Racemisierung der Aminosäuren spricht.

Eine spätere Entschützungsreaktion eines linearen PB-*b*-P(Bzl-Glu) wurde in THF unter Zusatz von wässriger NaOH bei Raumtemperatur vorgenommen, wonach keine signifikante Abnahme des Circular dichroismus beobachtet werden konnte. Es ist auch hier allerdings nicht auszuschließen, dass es bei einem sehr kleinen Bruchteil der Aminosäuren zur Racemisierung gekommen ist. Aufgrund der genannten Beobachtungen kann angenommen werden, dass die Anwesenheit von Alkoholat-Ionen in Verbindung mit erhöhter Temperatur die Racemisierungsreaktion begünstigt.

Eine IR-spektroskopische Überprüfung der Entschützungsprodukte zeigte anhand der Bande bei  $1709\text{ cm}^{-1}$  noch verbliebene Carbonsäureester an.

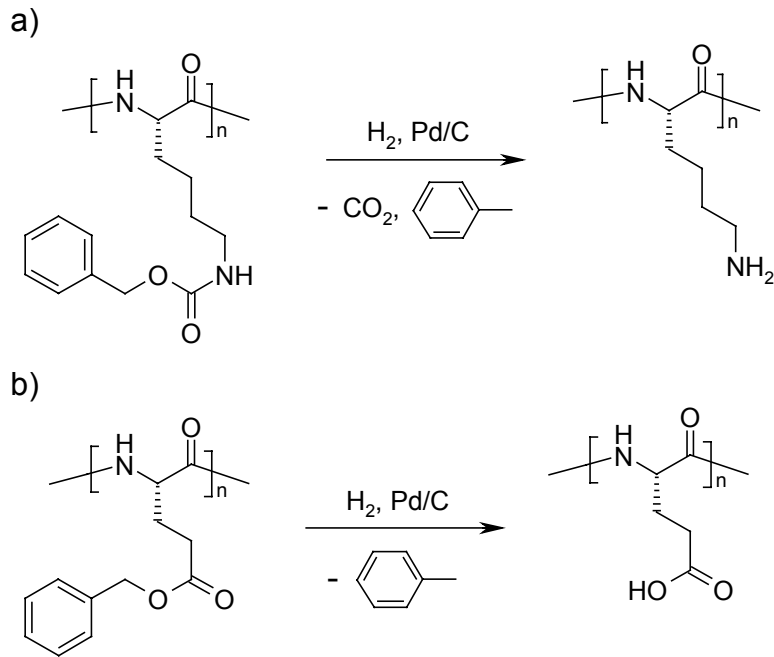
Die Abspaltung der Urethanschutzgruppe Benzyloxycarbonyl kann unter Einsatz starker Säuren vorgenommen werden. Üblich sind hier Bromwasserstoffsäure – gasförmig [46, 100] oder in Eisessig [101, 102] gelöst – oder auch Trifluoressigsäure in Kombination mit Methansulfonsäure [97]. In einigen Fällen werden auch aromatische Ether wie z. B. Anisol zugesetzt, die als Abfangreagens für die entstehende Benzylgruppe dienen und somit die Rückreaktion verhindern sollen. Aufgrund der sehr stark sauren Reaktionsbedingungen besteht die Gefahr des Abbaus der Polypeptidkette durch Hydrolyse der Amidbindungen, insbesondere dann, wenn die verwendeten Säuren nicht wasserfrei sind. Der Abbau der Ketten lässt sich allerdings durch möglichst kurze Reaktionszeiten minimieren.

Ein Großteil der PS-*b*-P(Z-Lys)-Polymere wurden unter Verwendung von 30 %iger Bromwasserstoffsäure in Eisessig entschützt. Dazu wurde das möglichst fein gepulverte Polymer direkt mit der Eisessig-Lösung versetzt und unter Argon bei Raumtemperatur etwa eine Stunde gerührt. Trotzdem sich das Polymer selbst nicht in Eisessig löst, ist die Entfernung der Schutzgruppe quantitativ, was eine Kontrolle der entschützten Produkte mittels IR-Spektroskopie durch Fehlen der zur Urethangruppe zugehörigen Bande ( $1729\text{ cm}^{-1}$ ) zeigte.

Die katalytische Hydrierung sollte die Abspaltungen beider eingesetzten Schutzgruppen unter milden Bedingungen ermöglichen [103]. Während im Wesentlichen Palladium in verschiedenen Erscheinungsformen als Katalysator Verwendung findet, werden als Wasserstoffquellen neben molekularem Wasserstoff [104] auch Cyclohexen [105], Ameisensäure [106] oder auch Ammoniumformiat [107] beschrieben.

Zu den ersten Versuche zur hydrogenolytischen Abspaltung wurde eine Lösung des Polymers in THF mit Pd/C (10 %) als Katalysator unter Normaldruck unter

Verwendung eines Wasserstoffballons eingesetzt. In folgenden Hydrierungen wurden neben der Erhöhung des Wasserstoffdruckes auf 5 bar (Durchführung im Autoklaven) zudem DMF bzw. Mischungen THF/DMF als Lösungsmittel eingesetzt. Keiner der Versuche war erfolgreich. Auch der Einsatz von Ammoniumformiat als Wasserstoffquelle in den bisherigen Lösungsmitteln erbrachte keine Verbesserung.



**Abbildung 4.13:** Reaktionsschema zur Entfernung der Schutzgruppen: a) Benzyloxycarbonyl-Gruppe, b) Benzylester.

Aufgrund der zahlreichen durchgeführten erfolgreichen Versuche kann angenommen werden, dass im vorliegenden Blockcopolymer-System der Wahl des Lösungsmittels eine entscheidende Rolle zukommt: Im Verlauf der Hydrierungsreaktion ändert sich zunehmend der Charakter des Polypeptidblockes und somit seine Lösungseigenschaften im Reaktionsmedium. Dies macht die Bildung von Aggregaten wahrscheinlich, deren Außenseite von den hydrophoben Blöcken gebildet werden. Dies wiederum erschwert bzw. verhindert den Zugang der Hydrierungsreaktionszentren zum heterogenen Katalysator.

Als Folge dieser Überlegungen wurde neben Ammoniumformiat als Wasserstoffquelle ein ternäres Lösungsmittelgemisch bestehend aus DMF, Eisessig und Wasser (etwa 7/5/1, v/v) für weitere Hydrierungsversuche eingesetzt, das sowohl das eingesetzte Blockcopolymer löste als auch gute Lösungseigenschaften für das entstehende amphiphile Blockcopolymer besitzen sollte. Unter diesen Bedingungen konnte sowohl die Benzyloxycarbonyl- als auch die Benzylschutzgruppe erfolgreich abgespalten werden. Die Abspaltung wurde mittels IR-Spektroskopie überprüft und

zeigte vollständige Umsetzung für die Z-Schutzgruppe. Im Falle des Benzylesters wurde jedoch noch eine kleine Bande der Esterschwingung gefunden, die auch durch verlängerter Reaktionsdauer nicht beseitigt werden konnte. Dies entspricht dem Befund, der bei Abspaltung durch Verseifen gefunden wurde, so dass für keine der beiden Varianten eine vollständige Entschützung erreicht wurde. Dennoch waren die erhaltenen amphiphilen Blockcopolymere gut in Wasser löslich. Bisher konnte keine Erklärung für dieses Ergebnis gefunden werden.

Alle entschützten Polymere wurden nach den oben beschriebenen Reaktionen durch Dialyse bzw. Ultrafiltration von Reaktionsnebenprodukten befreit und anschließend gefriergetrocknet. Teilweise wurden die Polymere vor der Dialyse neutralisiert, so dass die freie Aminogruppe bzw. Carbonsäure vorlag. Aufgrund der schlechten direkten Löslichkeit dieser Polymere in Wasser wurde jedoch dazu übergegangen, die jeweiligen Salze – Lysinhydrochlorid bzw. Natriumglutamat – zu isolieren.



## 5 Strukturuntersuchungen in fester Phase

Wie bereits in Kapitel 2 erläutert, führt bei Blockcopolymeren die Inkompatibilität der Segmente zu Mikrophasenseparation und somit zur Ausbildung verschiedenster Morphologien. Diese wiederum werden durch das Blocklängenverhältnis und den Parameter  $\chi N$  (vgl. Kapitel 2.1) bestimmt. Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Polypeptid-Blockcopolymere weisen neben großer Unverträglichkeit zudem eine unterschiedliche Flexibilität bzw. Steifigkeit im Rückgrat der jeweiligen Segmente auf. Des Weiteren besteht die Möglichkeit einer ‚inneren Strukturbildung‘ des enantiomerenreinen Polypeptidblockes durch Ausbildung einer Sekundärstruktur.

Blockcopolymere, deren Segmente sich sehr stark in ihrer Steifigkeit unterscheiden, werden als ‚Stäbchen-Knäuel-Polymer‘ (engl.: *rod-coil-polymers*) bezeichnet. Zahlreiche Beispiele in der Literatur beschäftigen sich mit derartigen Blockcopolymeren und deren Eigenschaften [108, 109]. Ein besonderes Interesse richtete sich dabei auf die Ausbildung supramolekularer Strukturen, deren treibende Kraft die guten Packungseigenschaften der kettensteifen Segmente sein sollte. In diesem Zusammenhang sollen ebenfalls die sogenannten *Liquid-Crystalline* (LC)-Polymere [110] genannt werden, bei denen Mesogene in die Molekülstruktur, oft als Seitenketten-Mesogene, eingebunden werden. Da die Mesogene normalerweise Phasen hoher Ordnung ausbilden, ergeben sich ebenfalls hoch geordnete Mesophasen dieser Polymere. Handelt es sich um thermotrope Flüssigkristalle, zeigen die Polymere beim Erwärmen einen Phasenübergang in die flüssigkristalline Phase.

Die hier durchgeführten Untersuchungen der Festkörperstrukturen konzentrieren sich insbesondere auf die synthetisierten verzweigten Polypeptid-Blockcopolymere mit Poly(Z-L-lysin)-Segmenten. Hierbei steht die Frage im Vordergrund, ob und wie die Verzweigung einen Einfluss auf die ausgebildete Morphologie im Vergleich zu analogen linearen Blockcopolymeren hat.

Es wurden dazu Filme von Blockcopolymeren mit verschiedenen Verzweigungsgraden und Gewichtsanteilen an Polypeptid mittels Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) untersucht. Die Herstellung der Polymerfilme erfolgte nach der Methode des ‚solvent casting‘ der geschützten Blockcopolymere aus DMF.

Im Folgenden wird zunächst die Morphologie linearer Polypeptid-Blockcopolymere erläutert und diese dann den Ergebnissen der Röntgenuntersuchungen an den verzweigten Blockcopolymeren gegenübergestellt.

## 5.1 Lineare Polypeptid-Blockcopolymere

Grundlegende Arbeiten zur Morphologie von AB-Polypeptid-Blockcopolymeren in konzentrierter Lösung sowie im Film wurden von GALLOT et al. durchgeführt [46]. In Analogie dazu wurden später ABA-Polypeptid-Triblockcopolymere von SAMYN et al. untersucht [47].

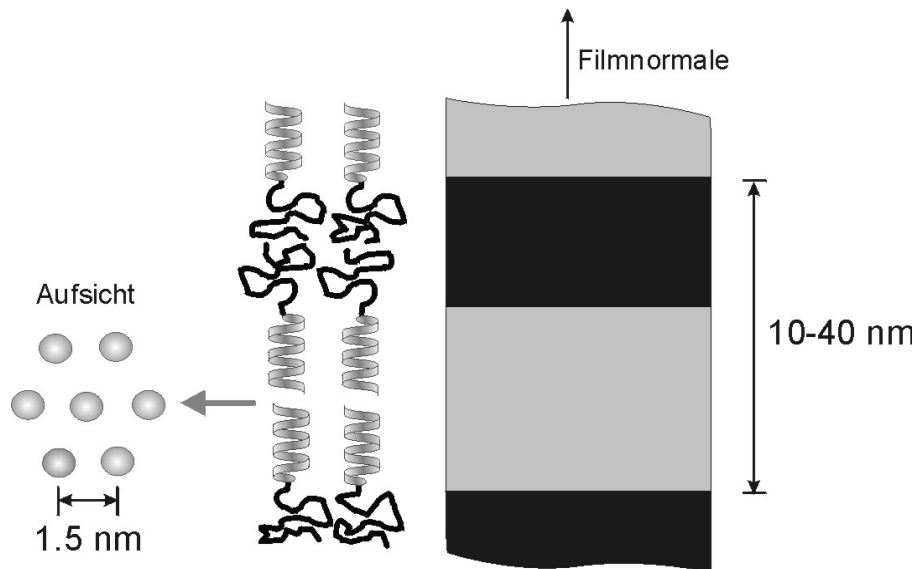
GALLOT et al. synthetisierten und untersuchten lineare AB-Blockcopolymere, die aus einem hydrophoben Polystyrol- oder Polybutadiensegment (B) und einem Polypeptidblock (A) bestehen. Als Polypeptidsegment wurden neben Poly(Z-L-lysin) und Poly(L-glutaminsäure-5-benzylester) ebenfalls Poly( $N^5$ -hydroxypropylglutamin) sowie das hydrophile Poly(L-lysin) eingesetzt. Der Syntheseweg entspricht mit Ausnahme der Methode zur Aminofunktionalisierung der hydrophoben Segmente der in Kapitel 4.1 beschriebenen Darstellung für lineare Blockcopolymere.

Für die untersuchten Blockcopolymere wurde für einen weiten Bereich der Blockcopolymer-Zusammensetzung (20-75 % Gewichtsanteil Peptid) mittels SAXS jeweils eine lamellare Morphologie festgestellt, bei der Schichten des hydrophoben Blockes mit Schichten aus Polypeptidsegmenten alternieren. Während der hydrophobe Block in Knäuel-Konformation vorliegt, befinden sich die Polypeptidsegmente in einer  $\alpha$ -Helix-Konformation und bilden innerhalb ihrer lamellaren Schicht eine hexagonal-dichteste Packung. Das Vorliegen der Helix-Konformation wurde mittels IR-Spektroskopie bestätigt.

Abhängig vom Molekulargewicht der Polymere und der Lösungsmittelkonzentration in den mesomorphen Gelen wurden für die Langperiode Werte zwischen 15 und 35 nm gefunden. Auf der Grundlage geometrischer Überlegungen wurden die einzelnen Schichtdicken berechnet. Durch selektive Quellung des hydrophoben Blockes wurde eine Vergrößerung der Langperiode bei steigender Lösungsmittelkonzentration wesentlich von dieser Schicht bestimmt, wohingegen sich die Polypeptidschicht nur geringfügig ausdehnte bzw. sogar schrumpfte. Im Falle des PS-*b*-P(Lys)-Blockcopolymeres wurde bei Erhöhung des Wassergehaltes das umgekehrte Verhalten gefunden.

Aus einem Vergleich der berechneten Konturlänge des helikalen Peptidsegmentes mit der berechneten Schichtdicke schlossen GALLOT et al., dass die Polypeptidketten innerhalb der Schicht gefaltet vorliegen müssen, da sie eine größere Segmentlänge aufweisen, als der gefundenen Schichtdicke entspricht. In weiter gehenden Untersuchungen wurde eine Abhängigkeit der Anzahl der Faltungen innerhalb der Schicht von einer Reihe von Faktoren postuliert, wie z. B. dem Molekulargewicht des Peptidsegmentes oder der chemischen Natur und der Größe des hydrophoben Polyvinyl-Blockes.

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen Untersuchungen kann angenommen werden, dass die lamellare Morphologie nahezu unabhängig von der Zusammensetzung des Blockcopolymeren auftritt und somit die bevorzugte Struktur dieser Klasse von Blockcopolymeren darstellt.



**Abbildung 5.1:** Modell zur Struktur der linearen Polypeptid-Blockcopolymeren.

Zur Bestätigung der Literaturdarstellungen und zu Vergleichszwecken wurden zunächst Polymerfilme linearer Blockcopolymeren hergestellt und mit Röntgenkleinwinkelstreuung untersucht.

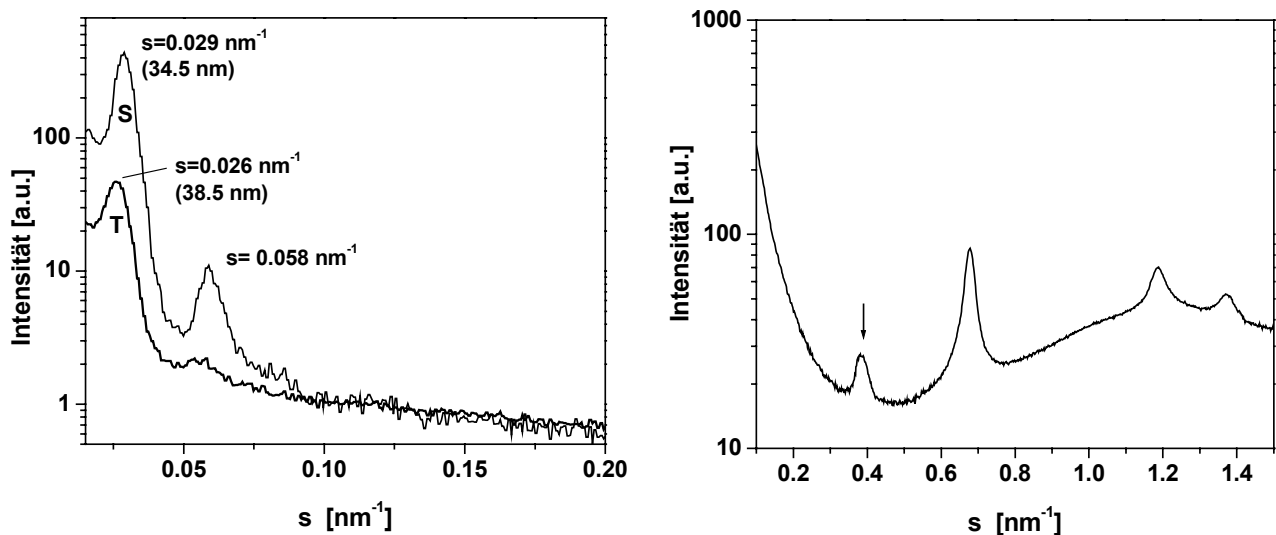
Nachfolgend werden die erhaltenen Daten exemplarisch am Beispiel des Polymeren  $l$ -S<sub>218</sub>-ZL<sub>93</sub> mit einem Volumenanteil Polypeptid  $\Phi_{\text{Peptid}} = 0.48$  erläutert:

Der aus DMF hergestellte, freistehende Polymerfilm wurde – ebenso wie alle anderen hier beschriebenen Proben – in zwei unterschiedlichen Richtungen vermessen (Abb. 5.3): Zum einen wurde der Film parallel zur Filmnormalen durchstrahlt und in einer weiteren Messung so gedreht, dass der Verlauf der Röntgenstrahlung senkrecht zur Filmnormalen erfolgt, d. h. der Primärstrahl auf die Schmalseite des Filmes trifft.

Bei Durchstrahlung des Filmes parallel zur Filmnormalen findet man im Streubild isotrope Ringe, die nach radialer Mittelung einen intensiven Reflex bei einem Streuvektor  $s=0.026 \text{ nm}^{-1}$  ergeben. Zudem ist ein schwach ausgeprägter, verbreiteter Reflex höherer Ordnung erkennbar. Dagegen zeigt das Streubild der zweitgenannten Messanordnung eine ausgeprägte Vorzugsorientierung, da sichelförmige Reflexe in äquatorialer Richtung vorliegen. Diese liegen bei Streuvektoren von  $s=0.029 \text{ nm}^{-1}$  und  $s=0.059 \text{ nm}^{-1}$ , die ein für eine lamellare Struktur charakteristisches Verhältnis von 1:2 aufweisen. Aus der Reflexlage kann eine Langperiode von etwa 35 nm bestimmt

werden. Die Größe der Langperiode steht im Einklang mit den von GALLOT in Abhängigkeit des Molekulargewichtes beobachteten Langperioden zwischen 15 und 35 nm. Aufgrund der beiden Streubilder ist erkennbar, dass ein zweiphasiges System vorliegt, in dem die Lamellen parallel zur Oberfläche des Films, also senkrecht zur Filmmormalen, angeordnet sind. Es kann angenommen werden, dass die Oberfläche des Polymerfilms aus energetischen Gründen nur von einer der beiden Phasen, nämlich derjenigen mit der geringeren Grenzflächenenergie zu Luft (wahrscheinlich Polystyrol), gebildet wird, was einer Vorzugsorientierung der Lamellen parallel zur Grenzfläche bedingt.

Von GALLOT et al. wurden bis zu sechs scharfe Bragg-Reflexe mit den charakteristischen Abständen für eine lamellare Morphologie gefunden, was auf einen deutlich höheren Ordnungsgrad im Vergleich zu der hier vermessenen Probe schließen lässt. Da in der Literatur keine expliziten Angaben darüber gemacht werden, dass der Ordnungsgrad der Probe durch zusätzliche Behandlung, z. B. Temperung oder Verstrecken, erhöht wurde, muss dieses Verhalten durch das Blockcopolymer selbst bestimmt werden. Eine Erklärung könnte in der Fraktionierung der dort verwendeten Blockcopolymeren zu finden sein, was zu einer engen Molekulargewichtsverteilung innerhalb der isolierten Fraktion führt.



**Abbildung 5.2:** Röntgenstreuukurven des Polymers  $l$ -S<sub>218</sub>-ZL<sub>93</sub>: Reflexe der lamellaren Überstruktur (links, für beide Messanordnungen S und T) sowie der hexagonalen Packung (rechts; mit Pfeil gekennzeichnete Reflex konnte bisher nicht zugeordnet werden).

Zusätzlich zu den Reflexen der lamellaren Morphologie findet man bei größeren Streuvektoren drei weitere Reflexe ( $s = 0.679 \text{ nm}^{-1}$ ,  $s = 1.186 \text{ nm}^{-1}$ ,  $s = 1.376 \text{ nm}^{-1}$ ), die für eine hexagonale Packung charakteristischen Abstände im Verhältnis  $1:\sqrt{3}:2$  aufweisen. Aufgrund der Reflexlagen ergibt sich eine Gitterkonstante von 1.7 nm. Somit lässt sich diese Struktur einer hexagonalen Packung von  $\alpha$ -Helices der Peptidsegmente zuordnen. Die  $\alpha$ -Helix-Konformation wurde mittels CD-Spektroskopie nachgewiesen. Die Ausprägung der hexagonalen Packung hängt dabei stark vom Polymerisationsgrad des Polypeptidsegmentes ab, d. h. für kurze Segmente wird keine bzw. nur eine schwach ausgeprägte hexagonale Struktur gefunden. Dies ist zu erwarten, wenn man berücksichtigt, dass zum einen eine Mindestanzahl von 10 Peptideinheiten erforderlich ist, damit sich eine Helix-Konformation ausbilden kann [111], und zum anderen längere helikale Segmente einen höheren Ordnungsgrad begünstigen. Zusätzlich wurde ausschließlich im Falle des hier vorgestellten Polymers *I*-S<sub>218</sub>-ZL<sub>93</sub> ein weiterer Reflex ( $s = 0.378 \text{ nm}^{-1}$ ) gefunden, der bisher noch keiner strukturellen Einheit zugeordnet werden konnte.

Somit konnte die von GALLOT sowie SAMYN beschriebene hierarchische Struktur bestehend aus einer lamellaren Morphologie und einer hexagonalen Packung von  $\alpha$ -Helices für die linearen Polypeptid-Blockcopolymere bestätigt werden. Die postulierte Faltung der Peptidsegmente innerhalb der lamellaren Schicht wurde allerdings nicht näher untersucht und kann somit bisher nicht bestätigt werden.

## 5.2 Verzweigte Blockcopolymere

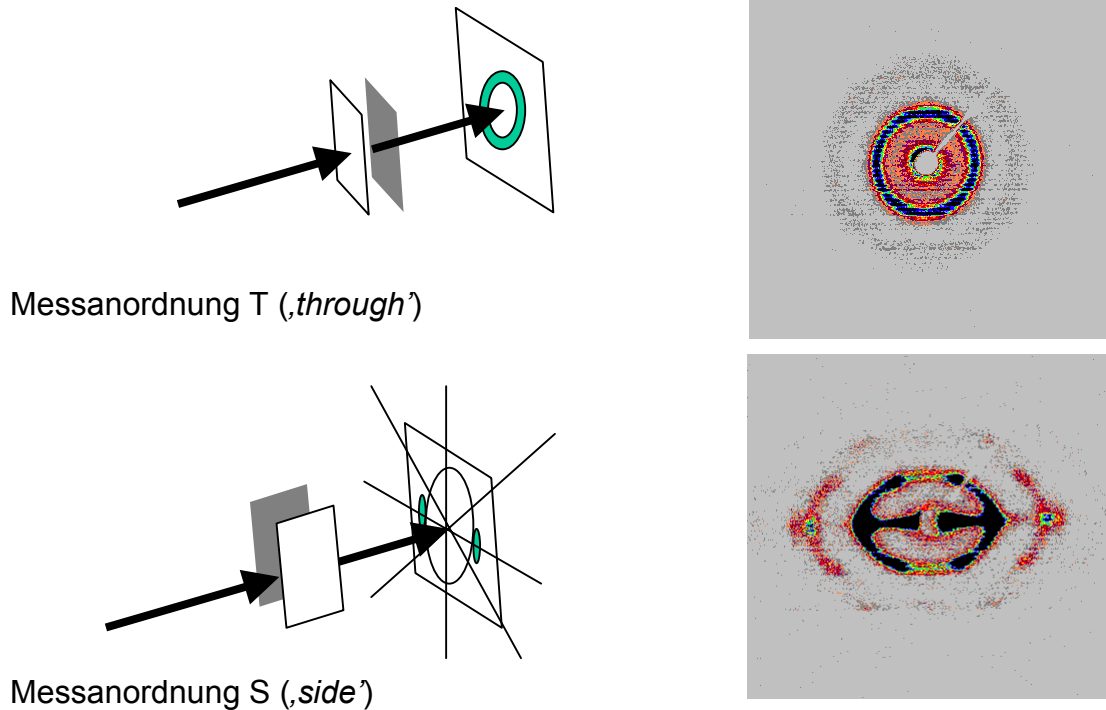
Zur Untersuchung der verzweigten Polypeptid-Blockcopolymere wurden diese ebenfalls aus DMF verfilmt und die erhaltenen Polymerfilme in den oben beschriebenen zwei Messanordnungen (Abb. 5.3) mittels Röntgenkleinwinkelstreuung vermessen. Aus Vergleichsgründen wurden Polymere mit verschiedenen Verzweigungsgraden und Gewichtsanteilen an Peptid ausgewählt, deren charakteristischen Parameter in Tabelle 5.1 zusammengestellt sind.

**Tabelle 5.1:** Molekulare Parameter der untersuchten verzweigten Polypeptid-Blockcopolymere.

Polymer	Makroinitiator	$P_n$ (Peptid) (NMR)	$M_n$ [g/mol] (NMR)	Volumenbruch $\Phi_{\text{Peptid}}$
<i>b(4)</i> -S <sub>182</sub> -ZL <sub>243</sub>	PAS <sub>4</sub> -PS <sub>182</sub>	243	83200	74.1
<i>b(8)</i> -S <sub>193</sub> -ZL <sub>65</sub>	PAS <sub>8</sub> -PS <sub>193</sub>	65	38200	40.9
<i>b(8)</i> -S <sub>193</sub> -ZL <sub>255</sub>	PAS <sub>8</sub> -PS <sub>193</sub>	255	88000	73.1
<i>b(12)</i> -S <sub>188</sub> -ZL <sub>54</sub>	PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	54	35400	36.5
<i>b(12)</i> -S <sub>188</sub> -ZL <sub>123</sub>	PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	123	53400	56.7
<i>b(12)</i> -S <sub>188</sub> -ZL <sub>227</sub>	PAS <sub>12</sub> -PS <sub>188</sub>	227	80700	70.8

Das Blockcopolymer *b(12)*-S<sub>188</sub>-ZL<sub>54</sub> nimmt eine Ausnahmestellung ein, da es den höchsten Ordnungsgrad aller Polymere zeigte, so dass dessen Struktur zuerst erläutert werden soll. Da der Gesamtpolymerisationsgrad der Poly(Z-L-Lys)-Segmente nur 54 beträgt, kann von einer sehr kurzen mittleren Peptidkettenlänge ausgegangen werden, wodurch die Ausbildung einer  $\alpha$ -Helix nicht möglich ist (Abb. 5.10d). Aufgrund der kurzen Seitenketten kann das Polymer somit auch als ein Sonderfall eines linearen Blockcopolymer angesehen werden. Die Ausbildung der beobachteten Struktur lässt sich allerdings eindeutig auf das Vorhandensein des Peptidanteils zurückführen, da bei der Untersuchung des zugehörige polyfunktionelle Makroinitiator PAS<sub>12</sub>-PS<sub>188</sub> keine Strukturbildung in fester Phase beobachtet wurde.

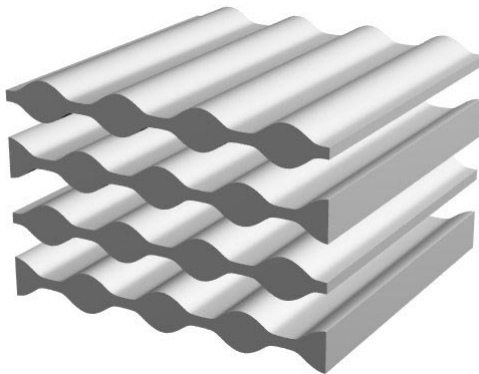
In Abbildung 5.3 sind die Streubilder der beiden Durchstrahlrichtungen abgebildet. Während sich bei Durchstrahlung des Filmes parallel zur Filmnormalen ein Streubild (T-Streubild) aus zwei isotropen Ringen ergibt, zeigt das Streubild der anderen Messanordnung (S-Streubild) intensive punktförmige Reflexe, die ein verzerrtes hexagonales Muster mit höherer Intensität in der Horizontalen bilden.

Messanordnung T (*through*)Messanordnung S (*side*)

**Abbildung 5.3:** Schematische Darstellung der Messanordnung (links) sowie die beiden zugehörigen Streubilder für das Polymer  $b(12)$ -S<sub>188</sub>-ZL<sub>54</sub>.

Da das S-Streubild in horizontaler Richtung ein intensives Zweipunktmuster mit äquidistanten höheren Ordnungen zeigt, spricht dies für ein lamellares System. Aufgrund der zusätzlichen schwächeren Reflexe kann es sich jedoch nicht um einfache Lamellen handeln, sondern diese müssen eine Modifizierung aufweisen, welche die verzerrt hexagonalen Reflexe verursacht. Die Horizontale des Streubildes entspricht dabei der Lamellen- bzw. Filmnormalen, in dessen Richtung die größte Dichteschwankung auftritt. Zunächst zweidimensional betrachtet, korrespondiert ein im reziproken Raum auf einer Kante stehendes Sechseck im realen Raum zu einem Sechseck, welches auf einer Spitze steht. Da der Film auf seiner Schmalseite durchstrahlt wurde, bedeutet dies, dass die Lamellen senkrecht zur Filmnormalen angeordnet sind und die Kante des Sechsecks in der Lamellenebene liegt. Unter Berücksichtigung einer Zylindersymmetrie um die Lamellen-Normale ergibt sich für den dreidimensionalen Fall – zunächst unter Annahme eines  $\delta$ -Punktgitters – im realen Raum ein zweidimensionales hexagonales Gitter aus unendlich langen Stäben parallel zur Lamellenebene. Berücksichtigt man die unterschiedlichen Intensitäten der Reflexe und somit die Dichteschwankungen der verschiedenen Richtungen, so erhält man als einfachst mögliches, mit beiden Streubildern zu vereinbarendes Modell eindimensional peristaltisch undulierte Lamellen, die in gestaffelter Weise angeordnet sind. Das Modell ist in Abbildung 5.4 dargestellt, die Dicke der jeweiligen Phasen stellt dabei jedoch nicht die real vorliegenden Verhältnisse dar.

Aus den Reflexpositionen wurde für die Langperiode der lamellaren Struktur ein Wert von 17 nm ermittelt. Der Abstand der Undulationen ergibt sich aus der Lage der hexagonalen Reflexe zu 20 nm. Die Peakposition des T-Streubildes entspricht ebenfalls 20 nm, so dass das T-Streubild die räumliche Anordnung der Undulationen widerspiegelt (und Mischung der anderen Längen aufgrund verkippter Domänen). Die Übereinstimmung der Werte des hexagonalen Reflexes des S-Streubildes mit dem Reflex des T-Streubildes bestätigt somit die oben gemachte Modellvorstellung der vorliegenden Morphologie.

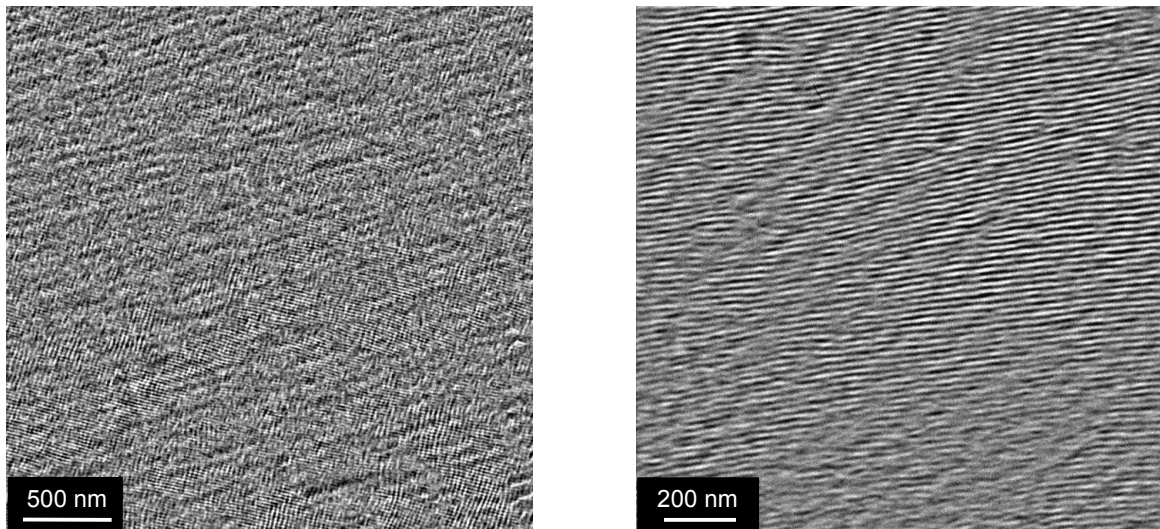


**Abbildung 5.4:** Modell zur Struktur des Polymers  $b(12)$ -S<sub>188</sub>-ZL<sub>54</sub>: eindimensional peristaltisch undulierte Lamellen.

Die lamellare Struktur der Probe wurde durch TEM-Aufnahmen an Ultradünnschnitten des Filmes bestätigt (Abb. 5.5). Aus den Bildern wurden Werte für die Langperioden der Lamellen im Bereich von 17 bis 24 nm erhalten, die somit sehr gut mit den Werten der Röntgenuntersuchungen korrespondieren. Wie zu erwarten können die Undulationen der Lamellen durch die abbildende Methode allerdings nicht aufgelöst werden.

Keine der anderen untersuchten Polymerproben zeigte eine so hoch geordnete Struktur mit einer Vorzugsorientierung innerhalb des Polymerfilms. In allen Fällen wurden für beide Messanordnungen Reflexe in Form isotroper Ringe gefunden –  $b(12)$ -S<sub>188</sub>-ZL<sub>227</sub> und  $b(4)$ -S<sub>182</sub>-ZL<sub>243</sub> zeigten dabei im S-Streubild in horizontaler Richtung eine leichte Verzerrung der Ringe zu Ellipsen. Zur Auswertung wurde die Steuintensität der T-Streubilder radial gemittelt: Die so erhaltenen Streukurven enthielten einen einzelnen intensiven Reflex – Reflexe höherer Ordnung waren nur bei den Polymeren  $b(4)$ -S<sub>182</sub>-ZL<sub>243</sub> und  $b(8)$ -S<sub>193</sub>-ZL<sub>255</sub> als schwache, sehr verbreiterte Schultern erkennbar. Aufgrund der fehlenden Reflexe höherer Ordnung war eine Zuordnung der vorliegenden Morphologie zunächst nicht direkt möglich.





**Abbildung 5.5:** TEM-Aufnahmen von Ultradünnschnitten des Polymerfilms von  $b(12)$ -S<sub>188</sub>-ZL<sub>54</sub> in unterschiedlicher Vergrößerung. Bei kleiner Vergrößerung (links) sind deutlich Domänen lamellarer Struktur erkennbar.

Durch Auswertung des Ausläufers der Röntgenstreucurve, d. h. für große Streuvektoren  $s$ , können quantitative Aussagen über die vorliegende Struktur gewonnen werden. Das Auswerteverfahren wurde hier exemplarisch für die Streukurve des Blockcopolymers  $b(12)$ -S<sub>188</sub>-ZL<sub>227</sub> ( $\Phi_{\text{Peptid}} = 70.8$ ) durchgeführt:

Zunächst wurde die dreidimensionale Segmentlängenverteilung  $g(r)$  berechnet, aus welcher der KIRSTE-POROD-Parameter ermittelt wurde (siehe Kapitel 3.2.1). Unter Verwendung des KIRSTE-POROD-Parameters wurde die Werte  $\iota \approx 2.1$  und  $\kappa \approx 1.1$  bestimmt, welche innerhalb des  $\iota$ - $\kappa$ -Phasendiagramms zu einer lamellaren Phase mit geringer Krümmung korrespondieren.

Unabhängig von dieser Vorgehensweise wurde das Verhältnis der Grenzflächen  $S/S_0$  bestimmt; es wurde ein Wert  $S/S_0 = 1.1$  erhalten, der aufgrund des geringen Flächenüberschusses wiederum mit großer Sicherheit auf eine lamellare Struktur hindeutet. Anhand dieser beiden unabhängigen Auswertemethoden konnte somit gezeigt werden, dass es sich um eine lamellare Morphologie handelt. Eventuell vorhandene Undulationen sind allerdings nur schwach ausgeprägt.

Auf der Grundlage eines lamellaren Systems können die Schichtdicken der beiden Phasen ermittelt werden. Dazu wurde die eindimensionale Grenzflächenverteilungsfunktion  $g_l(r)$ , die als Korrelationsfunktion der Lamellenphase in Richtung der Lamellennormalen verstanden werden kann, berechnet. Aus dem ersten Maximum der Verteilungsfunktion können die Schichtdicken  $d_1$  und  $d_2$  erhalten werden (vgl. Kap. 3.2.1), während das erste Minimum der Langperiode  $L$  entspricht. Für höhere Werte von  $r$  geht  $g_l(r)$  gegen null. Für das Polymer  $b(12)$ -S<sub>188</sub>-ZL<sub>227</sub> wurden so für die Schichtdicken die Werte  $d_1 = 4.8$  nm und  $d_2 = 11.6$  nm erhalten.

Auch wenn dieses Auswerteverfahren nur für eine der Polymerproben durchgeführt wurde, kann doch davon ausgegangen werden, dass im Falle der restlichen untersuchten Blockcopolymere ebenfalls eine lamellare Morphologie vorliegt, bei der jedoch aufgrund eines geringen Ordnungsgrades oder sehr kleiner Korrelationslängen keine Reflexe höherer Ordnung gefunden werden. Um genauere Aussagen treffen zu können, ist jedoch die detaillierte Auswertung aller Röntgenkurven erforderlich.

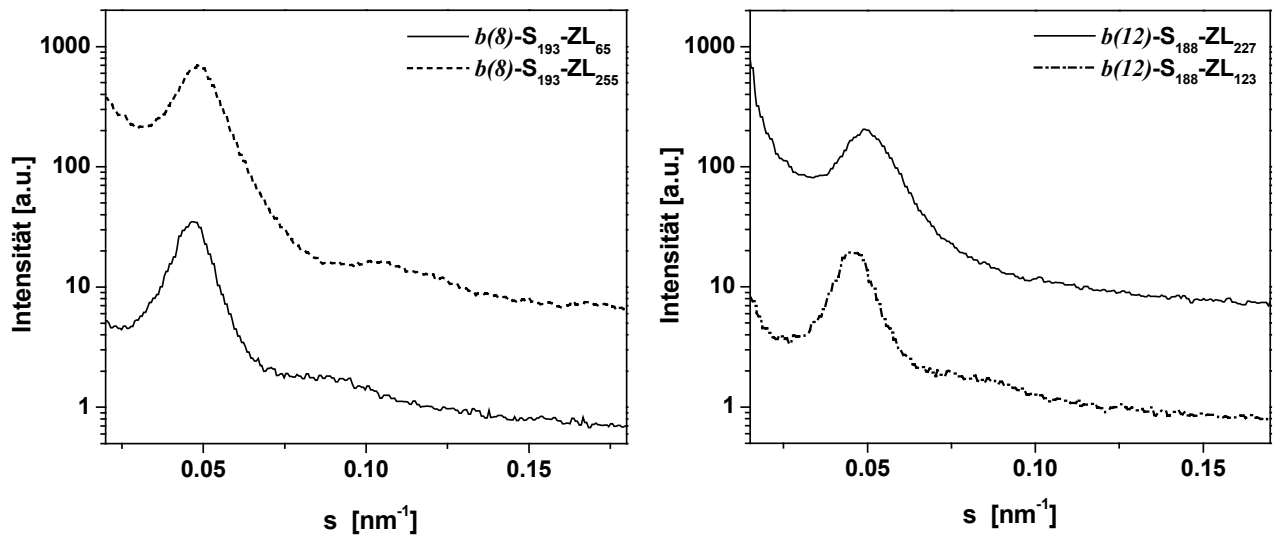
Unter der Annahme einer lamellaren Struktur für alle der Polymerproben wurde aus den Reflexlagen des intensiven Reflexes im T-Streubild jeweils ein Wert für die Langperiode  $L$  ermittelt und in Tabelle 5.2 zusammengestellt.

**Tabelle 5.2:** Aus den Röntgendaten ermittelte Reflexlagen und zugehörige Langperioden.

	$b(4)\text{-S}_{182^-}$ ZL <sub>243</sub>	$b(8)\text{-S}_{193^-}$ ZL <sub>255</sub>	$b(8)\text{-S}_{193^-}$ ZL <sub>65</sub>	$b(12)\text{-S}_{188^-}$ ZL <sub>123</sub>	$b(12)\text{-S}_{188^-}$ ZL <sub>227</sub>
$s$ [ $\text{nm}^{-1}$ ]	0.0436	0.0486	0.0469	0.0455	0.0491
$L$ [nm]	22.9	20.6	21.3	22.0	20.4

Anhand der Tabelle ist bereits ersichtlich, dass sich die Werte der Langperiode für alle Blockcopolymere-Proben nur wenig unterscheiden und zudem um etwa 15 nm deutlich kleiner sind als im Falle des oben beschriebenen linearen Polypeptid-Blockcopolymers. Um dennoch Hinweise auf den Einfluss molekularer Parameter zu erhalten, werden im Folgenden die erhaltenen Röntgenkurven hinsichtlich des Volumenbruches der Peptidphase sowie des Verzweigungsgrades betrachtet:

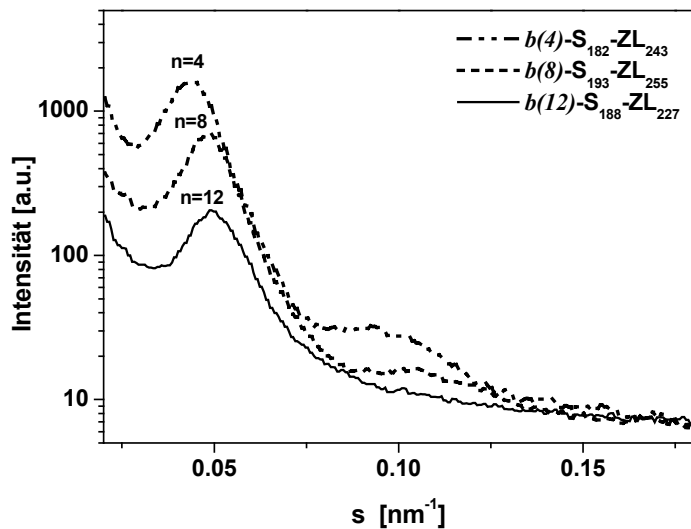
Zunächst wurde der Einfluss des Volumenbruches der Peptidphase untersucht. Dazu wurden die Röntgendaten der Blockcopolymere desselben Makroinitiators verglichen. (Abb. 5.6). Unter der Voraussetzung, dass für alle verzweigten Blockcopolymere die gleiche relative Initiatoreffektivität angenommen werden kann – die Aminofunktionalität des jeweiligen Makroinitiators entspricht der maximal vorhandenen Anzahl an Peptidketten –, ist eine Erhöhung des Volumenbruches der Peptidphase ebenfalls mit einer größeren mittleren Polypeptidkettenlänge verbunden. Da ein effektiver Verzweigungsgrad bisher nicht bestimmt werden konnte, ist es jedoch nicht möglich, einen tatsächlichen Polymerisationsgrad der Polypeptidketten anzugeben. Für die beiden polyfunktionellen Makroinitiatoren mit den höchsten Aminofunktionalitäten ( $n=8$  sowie  $n=12$ ) zeigt sich jeweils die gleiche Tendenz: Der Wert der Langperiode sinkt – wenn auch nur geringfügig – mit steigendem Volumenbruch der Peptidphase und somit steigender Polypeptidkettenlänge.



**Abbildung 5.6:** Vergleich der Röntgenstreu曲ven für verzweigte Blockcopolymerer mit jeweils gleichen Makroinitiatoren aber unterschiedlichen Volumenanteilen Peptid: Blockcopolymerer des Makroinitiators  $\text{PAS}_8\text{-PS}_{193}$  (links) sowie Blockcopolymerer des Makroinitiators  $\text{PAS}_{12}\text{-PS}_{188}$  (rechts).

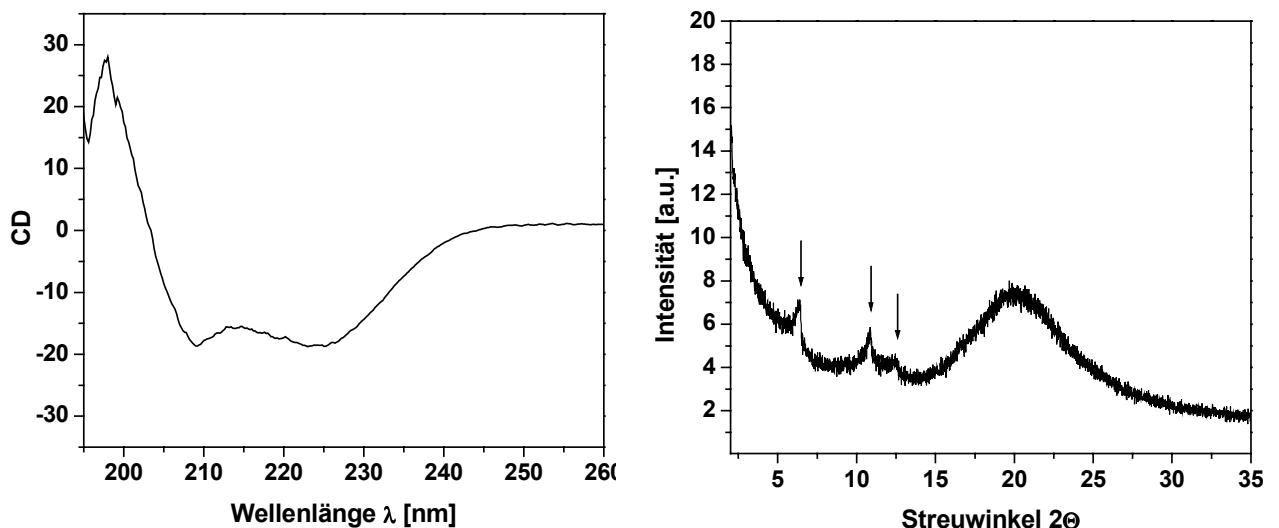
Zur Untersuchung des Einflusses des Verzweigungsgrades wurden Blockcopolymer-Proben ähnlichen Volumenbruches der Peptidphase, jedoch unterschiedlichen Verzweigungsgrades, betrachtet. Eine Erhöhung des Verzweigungsgrades bei gleichbleibendem Volumenbruch entspräche hierbei einer Verkürzung der Polypeptidketten. Beim Übergang von einer Aminofunktionalität des Makroinitiators von  $n=4$  zu  $n=12$  verringert sich der Wert der Langperiode. Diese Beobachtung steht gerade im Gegensatz zu der oben festgestellten Tendenz. Es ist möglich, dass sich hierbei zwei gegenläufige Effekte überlagern, da sich sowohl der Verzweigungsgrad als auch der Polymerisationsgrad der Polypeptidketten gleichzeitig ändert.

Die Ergebnisse zeigen einen deutlichen Einfluss der Molekülarchitektur, d. h. der Verzweigung, auf die Strukturbildung: Während man für lineare Blockcopolymerer im SSL-Regime eine Abhängigkeit der charakteristischen Größe  $R$  einer Mikrostruktur vom Gesamtpolymerisationsgrad  $N$  nach der Beziehung  $R \sim N^{2/3}$  erwartet (vgl. Kap. 2.2), findet man bei den hier untersuchten verzweigten Blockcopolymeren nahezu keinerlei Abhängigkeit der Dimension der ausgebildeten lamellaren Struktur vom Gesamtpolymerisationsgrad bzw. vom Peptidanteil bei gleichbleibendem Styrol-Anteil (vgl. Abb. 5.6). Betrachtet man verzweigte Polymere mit sehr ähnlicher Zusammensetzung jedoch unterschiedlichem Verzweigungsgrad, so ist hier ebenfalls – wenn auch nur ein geringer – Einfluss feststellbar.



**Abbildung 5.7:** Röntgenstreuungen von verzweigten Polypeptid-Blockcopolymeren mit ähnlichem Volumenanteil Peptid bei unterschiedlichen Verzweigungsgraden.

Die Blockcopolymerproben wurden zusätzlich im Bereich größerer Streuvektoren vermessen, in dem bei den linearen Blockcopolymeren die Reflexe der hexagonalen Packung der Polypeptidketten in  $\alpha$ -Helix-Konformation auftreten. Wiederum wurden bei einigen Polymerproben drei Reflexe mit dem charakteristischen Peakverhältnis einer hexagonalen Packung gefunden. Für die Ausprägung der hexagonalen Packung wurde auch hier eine starke Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad der Polypeptidketten beobachtet. Da eine vorliegende  $\alpha$ -Helix-Konformation mittels CD-Spektroskopie an dünnen Filmen der verzweigten Polypeptid-Blockcopolymeren nachgewiesen wurde, kann die beobachtete hexagonale Packung der Packung von  $\alpha$ -Helices zugeordnet werden.



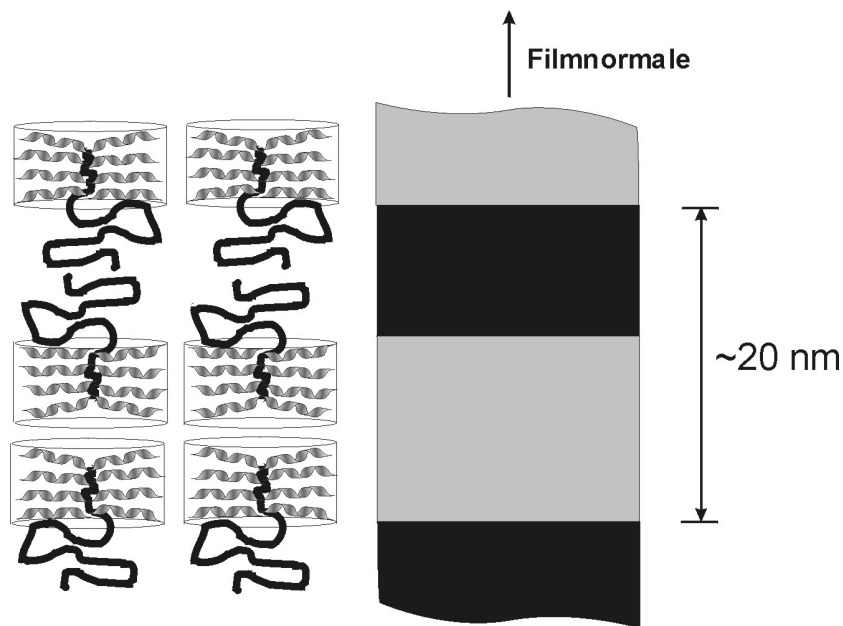
**Abbildung 5.8:** Nachweis der vorliegenden  $\alpha$ -Helix-Konformation für das Polymer  $b(4)\text{-S}_{182}\text{-ZL}_{243}$  mittels CD-Spektroskopie (links) sowie Röntgenweitwinkelstreuung (rechts, Pfeile markieren die Reflexe einer hexagonalen Packung).

### 5.2.1 Strukturmodell

Es stellt sich nun die Frage, wie die gefundenen strukturellen Parameter mit der Molekülarchitektur der Blockcopolymeren in Einklang gebracht werden können.

Bezogen auf die bisherigen Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass wie im Falle der linearen Polypeptid-Blockcopolymeren eine lamellare Morphologie die bevorzugte Struktur darstellt, die zudem nahezu unabhängig von den hier untersuchten molekularen Parametern die gleichen strukturellen Größen aufweist.

Aufgrund geometrischer Überlegungen lässt sich die Molekülarchitektur der Blockcopolymeren mit einer lamellaren Struktur vereinbaren, wenn man annimmt, dass das Polymerrückgrat senkrecht zur Lamellenebene verläuft, während die Peptidketten parallel zur Phasengrenzfläche angeordnet sind (vgl. Abb. 5.9). In diesem Modell ist somit die Länge des funktionalisierten Polymerrückgrates, d. h. die Anzahl der Aminofunktionalitäten des Makroinitiators, die bestimmende Größe für die Schichtdicke der Peptidphase und nicht der Polymerisationsgrad der Polypeptidkette, wie es für die linearen Blockcopolymeren der Fall ist.

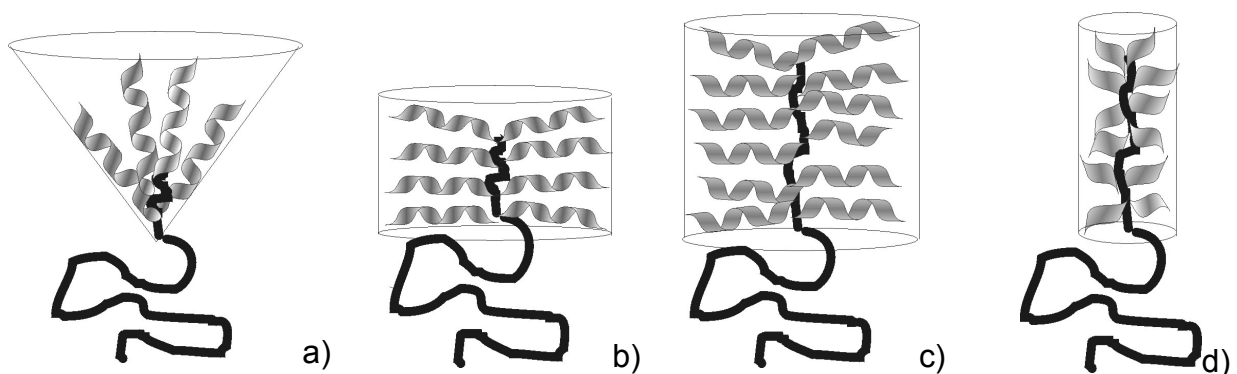


**Abbildung 5.9:** Modell zur Struktur der verzweigten Polypeptid-Blockcopolymeren.

Eine Abschätzung der Konturlänge des Polymerrückgrates ergibt bei voller Streckung der Kette für das Polystyrolsegment eine Länge von etwa 48 nm sowie je nach Anzahl der Aminofunktionalitäten Längen zwischen 1 und 3 nm für den aminofunktionalisierten Anteil. Vergleicht man dies mit den Werten der Schichtdicken, die aus der Röntgenkurve von *b(12)*-S<sub>188</sub>-ZL<sub>227</sub> erhalten wurden, so findet man bei

Berücksichtigung der Knäuelung des Polystyrolsegmentes und der Annahme einer Doppelschicht eine gute Übereinstimmung der jeweiligen Dimensionen. Somit stellt das Modell eine sinnvolle Annahme zur Anordnung der Moleküle dar.

Betrachtet man dieses Modell zunächst zweidimensional und nimmt an, dass die Peptidketten sich jeweils abwechselnd auf den gegenüberliegenden Seiten des Rückgrates erstrecken, so fungieren sie als ‚Abstandshalter‘ zwischen den Blockcopolymer-Molekülen. Unter Berücksichtigung einer dreidimensionalen Verteilung der Polypeptidketten um das Polymerrückgrat ergibt sich für dieses Molekülteil ein Platzbedarf, der in seiner räumlichen Ausdehnung mit der Form eines Zylinders beschrieben werden kann, wobei die Anzahl der Peptidketten die Länge und der Polymerisationsgrad der Polypeptidketten den Radius des imaginären Zylinders bestimmen. Da die Packung der Polymermoleküle innerhalb der Struktur durch den Durchmesser dieses Zylinders limitiert ist, bestimmt die Länge der Polypeptidseitenketten somit, wie dicht die Polystyrolketten des Polymerrückgrates innerhalb der Polystyrol-Schicht nebeneinander liegen und somit, wie stark diese gestreckt sind. Je kürzer die Polypeptidketten sind, desto näher kommen sich die Polystyrolketten, was eine stärkere Streckung der Ketten – verbunden mit einem Verlust an Entropie – erfordert, während sie im umgekehrten Fall die bevorzugtere Knäuel-Konformation einnehmen können. In diesem Verhalten findet sich eine mögliche Erklärung dafür, dass die gemessene Langperiode sich trotz unterschiedlicher Polypeptidkettenlängen nur wenig verändert und sogar für größere Kettenlängen abnimmt: Längere Polypeptidketten bedeuten eine geringere Streckung des Polystyrolrückgrates und somit eine geringere Schichtdicke der Polystyrolphase, wodurch sich bei gleichbleibender Schichtdicke der Peptidphase eine kleinere Langperiode ergibt. Die Effekte sind allerdings nur gering, da sich die Werte der Langperioden nur geringfügig unterscheiden.



**Abbildung 5.10:** Modelle zur räumlichen Ausdehnung der verzweigten Blockcopolymere für verschiedene Verzweigungsgrade (a-c) sowie unterschiedliche Länge der Peptidseitenketten bei gleichem Verzweigungsgrad (c, d)

Ist der Polymerisationsgrad der Peptidseitenketten jedoch sehr klein, wie es bei  $b(12)\text{-S}_{188}\text{-ZL}_{54}$  der Fall ist, so würde dies eine starke Streckung der Polystyrolketten erfordern, da das Volumen des imaginären Zylinders nur wenig größer ist als das Polymerrückgrat selbst. Die Molekülstruktur ähnelt dabei stark einem linearen Stäbchen-Knäuel-Polymer, wobei hier das funktionalisierte Rückgrat als Stäbchen-segment fungiert. Aufgrund eines hohen Entropieverlustes ist dies jedoch nicht begünstigt. Eine Undulation der Lamelle hingegen bedingt einer Vergrößerung der Phasengrenzfläche gegenüber einer planaren Grenzfläche, wodurch eine größere Fläche für jede der Polystyrolketten zur Verfügung steht. Man kann daher annehmen, dass die Peptidphase die Phase konstanter Dicke bildet (helle Bereiche im Modell, Abb. 5.4). Die von OBER und THOMAS [108] gefundenen Zig-Zag-Morphologien von Stäbchen-Knäuel-Polymeren ähneln der hier gefundenen Morphologie.

In Abbildung 5.10 sind zur Veranschaulichung Modelle zur räumlichen Ausdehnung der verzweigten Blockcopolymere für unterschiedliche molekulare Parameter dargestellt: Je nach Verzweigungsgrad kann die räumliche Anordnung der Polypeptidketten mit der Form eines Kegels oder eines Zylinders beschrieben werden. Die Dimensionen dieser imaginären dreidimensionalen Körper werden durch den Polymerisationsgrad und somit der Länge der Polypeptidseitenketten bestimmt. Sind die Seitenketten relativ kurz ( $< 10$  Aminosäureeinheiten) kann sich keine helikale Konformation der Polypeptidketten ausbilden (vgl. 5.10d), und das verzweigte Blockcopolymer kann als Spezialfall eines linearen Blockcopolymers aufgefasst werden. Längere Polypeptidseitenketten liegen in Form einer  $\alpha$ -Helix vor, wobei anzunehmen ist, dass die ersten Aminosäureeinheiten einer jeden Polypeptidkette amorph vorliegen und somit als ‚Spacer‘ zwischen  $\alpha$ -Helix und Polymerrückgrat fungieren. Auf diese Weise kann die vorliegenden hexagonale Packung der  $\alpha$ -Helix mit der lamellaren Überstruktur sowie dem Molekülbau vereinbart werden.

## 6 Aggregationsverhalten in wässriger Lösung

Das Aggregationsverhalten verschiedener amphiphiler Blockcopolymerer in selektiven Lösungsmitteln wurde bereits vielfach untersucht [112-115]. Ein großes Interesse richtete sich dabei auf Aggregation in wässrigem Medium, wie sie von Polyelektrolytblockcopolymeren, aber auch wasserlöslichen nicht-ionischen Blockcopolymeren gezeigt wird. Im Falle der Polyelektrolytblockcopolymerer stellt neben den beiden Größen Polymerkonzentration und Blocklängenverhältnis die Elektrolytkonzentration im wässrigen Medium einen zusätzlichen Parameter dar. So wurde eine Abhängigkeit des Aggregationsverhalten von Polyelektrolytblockcopolymeren von der zugesetzten Salzkonzentration gefunden [25, 116].

Aus den im Rahmen der Arbeit synthetisierten Polypeptid-Blockcopolymeren entstehen nach Entfernen der Schutzgruppen (siehe Kapitel 4.3) ebenfalls Polyelektrolytblockcopolymerer. Abhängig vom Gewichtsanteil des hydrophilen Segmentes sind sie in Wasser löslich. Das enantiomerenreine hydrophile Polypeptidsegment macht diese Blockcopolymerer für Untersuchungen in Wasser besonders interessant: Durch Änderung des pH-Wertes kann leicht ein Knäuel-Helix-Übergang dieses Segmentes induziert werden, d. h. die Sekundärstruktur wird durch das umgebende Medium bestimmt. Es ist zu erwarten, dass eine Änderung in der Konformation einen deutlich geänderten Platzbedarf des hydrophilen Segmentes zur Folge hat. Bilden die Blockcopolymerer eine bestimmte Aggregatstruktur, so sollte sich dieser geänderte Platzbedarf der hydrophilen Segmente aufgrund einer Änderung des Packungsparameters ebenfalls auf das Aggregationsverhalten auswirken. In diesen Fällen wird daher der pH-Wert als zusätzlicher Parameter zur Erzeugung ‚schaltbarer Aggregate‘ angenommen.

Bisher wurden keine systematischen Untersuchungen durchgeführt, die auf die pH-Abhängigkeit des Aggregationsverhaltens von Polypeptidblockcopolymeren abzielen.

Für die Untersuchungen in wässrigem Medium wurden Polybutadien-*block*-poly(natriumglutamat)-Copolymere verschiedener Molekulargewichte und Blocklängenverhältnisse eingesetzt. Polybutadien als hydrophober Block wurde aufgrund seiner niedrigen Glasstemperatur ( $T_g = -10\text{ °C}$ ) gewählt. Da sich das hydrophobe Polymersegment bei Raumtemperatur somit oberhalb seiner Glasstemperatur befindet, sind die Blockcopolymerer direkt in Wasser löslich, und die sich ausbildenden Aggregatstrukturen befinden sich im thermodynamischen Gleichgewicht. Polymere unterhalb ihrer Glasstemperatur können aufgrund ihrer fehlenden Segment-



beweglichkeit nur ‚eingefrorene‘ Strukturen – sogenannte *frozen mizelles* – ausbilden, da sie eine reduzierte Austauschdynamik zeigen. Diese hängen in starkem Maße von der angewendeten Präparationstechnik ab und repräsentieren in keinsten Weise Gleichgewichtsstrukturen [25].

Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurden ausschließlich Blockcopolymere mit einem Poly(natriumglutamat)-Segment verwendet. Aufgrund einzelner durchgeführter Messungen ist jedoch anzunehmen, dass sich analoge Blockcopolymere mit einem Poly(lysinyhydrochlorid)-Block grundsätzlich in ähnlicher Weise verhalten.

Da die Darstellung eines polyfunktionellen Polybutadien-Makroinitiators aufgrund synthetischer Probleme nicht möglich war (vgl. Kapitel 4.2), konnten keine verzweigten Polypeptid-Blockcopolymere in die Untersuchungen miteinbezogen werden.

In Tabelle 6.1 sind die verwendeten Polybutadien-*block*-poly(natriumglutamat)-Copolymere zusammengestellt. Die Polymere *l*-B<sub>27</sub>-NaG<sub>64</sub>, *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub>, und *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>75</sub> bilden bis zu hohen Konzentrationen in Wasser durchsichtige, klare Lösungen. *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) und *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(II) bilden bereits bei kleinen Konzentrationen optisch trübe Lösungen.

**Tabelle 6.1:** Molekulare Parameter der untersuchten Blockcopolymere (B=Butadien, NaG=Natriumglutamat, *l*=linear).

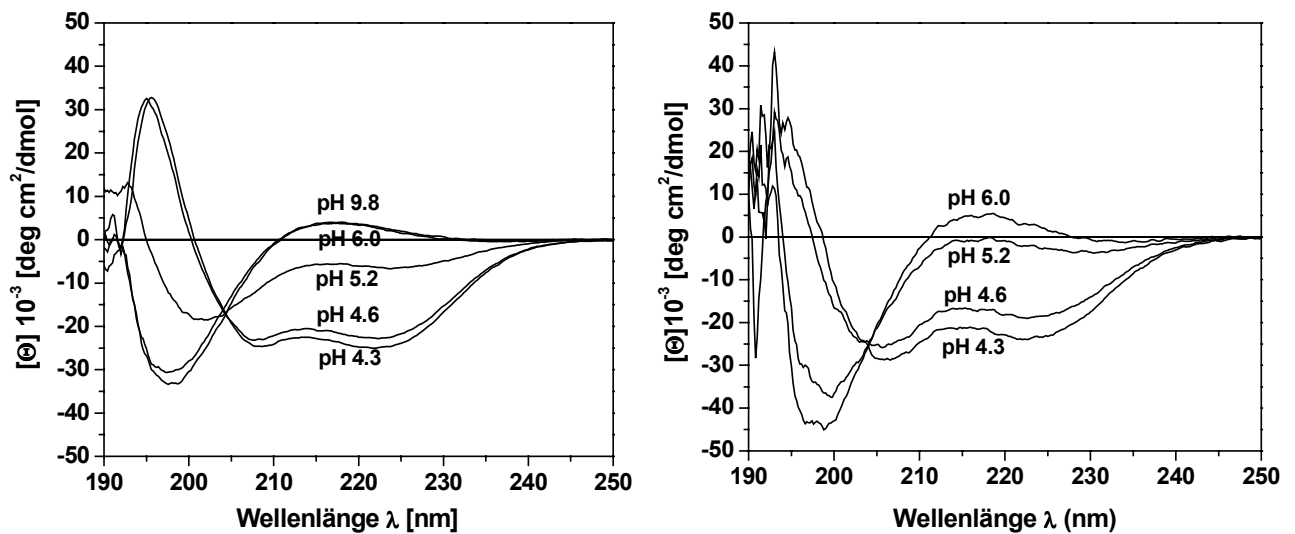
Polymer	P <sub>n</sub> (PB)	P <sub>n</sub> (NaGlu)	M <sub>n</sub> [g/mol]	Gew.-% (NaGlu)
<i>l</i> -B <sub>27</sub> -NaG <sub>64</sub>	27	64	11100	86.9
<i>l</i> -B <sub>85</sub> -NaG <sub>55</sub>	85	55	12900	64.4
<i>l</i> -B <sub>85</sub> -NaG <sub>75</sub>	85	75	15900	71.2
<i>l</i> -B <sub>119</sub> -NaG <sub>24</sub> (I) <sup>a</sup>	119	24	10100	35.9
<i>l</i> -B <sub>119</sub> -NaG <sub>24</sub> (II) <sup>a</sup>	119	24	10100	35.9

(a) Beide Polymere wurden aus demselben geschützten Blockcopolymer in zwei unterschiedlichen Entschützungsreaktionen hergestellt.

## 6.1 Circular dichroismus

Aus Messungen des Circular dichroismus können direkt Informationen über die Sekundärstruktur von Proteinen und Peptiden in Lösung erhalten werden, da sich für die jeweiligen Konformationen –  $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt und Knäuel – charakteristische Banden ergeben. Liegen mehrere Konformationen nebeneinander vor, so setzt sich die erhaltene Kurve additiv aus den gewichteten Beiträgen der einzelnen Sekundärstrukturen zusammen (vgl. Kapitel 3.3).

Da es sich im Falle der Glutaminsäure um einen starken  $\alpha$ -Helix-Bildner handelt, ist hier bei Änderung des pH-Wertes ausschließlich ein Knäuel-Helix-Übergang zu erwarten. Um dies zu verifizieren, wurden wässrige Lösungen der Blockcopolymere mit einer Konzentration von etwa 0.5 Gew.-% Polymer in einem pH-Bereich von etwa 4.0 bis 9.0 vermessen. Da diese Messungen in Verbindung mit den Daten aus der dynamischen Lichtstreuung diskutiert werden sollen, wurden die identischen Polymerlösungen (mit Salzzusatz) verwendet bzw. erforderliche Verdünnungen der Lösungen durch Verwendung der entsprechenden Salzlösung (NaCl) durchgeführt.



**Abbildung 6.1:** CD-Spektren in Abhängigkeit des pH-Wertes für die beiden Polymere *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> (links) und *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) (rechts).

In Abbildung 6.1 sind die CD-Spektren als mittlere molare Elliptizitäten (bezogen auf die Monomereinheit) für zwei der Polymere exemplarisch gegenübergestellt. In beiden Fällen erfolgt mit sinkendem pH-Wert ein gradueller Übergang von einer Knäuel- (etwa pH 6) zu einer Helix-Konformation (pH 4.3). Das Auftreten eines einzigen isodichrotischen Punktes bei  $\lambda = 204$  nm deutet darauf hin, dass der Übergang nur zwischen zwei Spezies stattfindet [117, 118]. Wie die Spektren von *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> zeigen, hat eine deutliche Erhöhung des pH-Wertes keine weiteren Auswirkungen auf die bereits vorliegende Knäuel-Konformation. Bereits bei einem pH-Wert oberhalb des  $pK_a$ -Wertes der Glutaminsäure ( $pK_a = 4.3$ ) nimmt der größte Teil der Peptidsegmente eine helikale Sekundärstruktur ein. Messungen bei pH-Werten kleiner als 4.3 wurden nicht durchgeführt, da schon bei diesem pH-Wert ein langsames Ausfallen des Polymers beobachtet wurde. Vergleichsmessungen mit salzfreien Lösungen zeigten qualitativ gleiches Verhalten, jedoch trat der Übergang zu einer helikalen Sekundärstruktur bereits bei höheren pH-Werten auf. Wie zu erwarten, erfolgt der

Übergang zwischen den beiden Sekundärstrukturen innerhalb eines sehr engen pH-Bereiches, da es sich hierbei um einen kooperativen Prozess handelt.

Hinsichtlich der beiden abgebildeten CD-Spektren lassen sich einige Unterschiede feststellen: Im Falle von *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> sind die für eine Sekundärstruktur spezifischen Banden deutlich ausgeprägt, während das Polymer *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) unter gleichen Messbedingungen und ähnlicher Polymerkonzentration stärker verrauschte Spektren liefert. Diese Beobachtung ist jedoch nicht unerwartet, wenn man berücksichtigt, dass der gemessene Circular dichroismus bei Polypeptiden von der Kettenlänge abhängt [71]. *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) enthält nur ein kurzes Poly(natriumglutamat)-Segment von etwa 24 Monomereinheiten, während das Polypeptidsegment von *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> etwa die doppelte Länge aufweist. Somit ist die Ausbildung einer Sekundärstruktur, insbesondere einer  $\alpha$ -Helix, bei *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) nur in beschränktem Maße möglich, wodurch charakteristische Banden, die durch die kollektive Anregung von Amidgruppen innerhalb einer spezifischen supramolekularen räumlichen Anordnung entstehen, nicht so gut ausgeprägt werden. Ein Vergleich der molaren Elliptizitäten der jeweiligen Banden mit Literaturwerten ist daher nur bedingt sinnvoll, da diese Literaturwerte auf der Grundlage von hochmolekularen Homopolymeren erhalten wurden. Somit wurde an dieser Stelle auf eine quantitative Auswertung der Spektren bezüglich des Gehaltes einer der beiden Sekundärstrukturen verzichtet.

## 6.2 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Die Charakterisierung der Aggregate in Lösung hinsichtlich ihrer Form und Größe ist durch Kombination verschiedener Streumethoden möglich.

Um erste Informationen über die hydrodynamische Größe der Aggregate, insbesondere in Abhängigkeit des pH-Wertes, zu erhalten, wurde dynamische Lichtstreuung an den Polymerlösungen durchgeführt. Sollte sich eine Änderung des pH-Wertes und damit der Sekundärstruktur auf die vorliegende Aggregatstruktur auswirken, so ist ebenfalls mit einer Änderung des gemessenen Diffusionskoeffizienten und des hydrodynamischen Radius zu rechnen.

Da die Blockcopolymere einen Polyelektrolytblock enthalten, erfolgte die Herstellung der zu vermessenden Lösungen unter Zugabe von Salz (NaCl), um elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den geladenen Polymerketten zu unterdrücken. Mit Ausnahme der Blockcopolymere *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) und *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(II) wurde für alle Proben eine Polymerkonzentration von 5 g/l bei einer Salzkonzentration von 0.12 bzw. 0.26 mol/l gewählt ( $c_{\text{NaGlu}} / c_{\text{NaCl}} > 6$ ). Die Polymere *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) und

*l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(II) bildeten bei diesen Polymerkonzentrationen trübe, sehr stark streuende Lösungen, so dass diese bis zu einer Konzentration von 0.1 g/l (0.12 mol/l NaCl) verdünnt wurden. Der pH-Wert der Lösungen wurde anschließend durch Zugabe von 0.1 N HCl bzw. NaOH unter Verwendung einer pH-Elektrode eingestellt. Die dadurch entstehenden Konzentrationsänderungen wurden im Folgenden vernachlässigt. Aufgrund der zuvor gemessenen CD-Spektren wurden drei pH-Werte gewählt: Bei pH 6.0 liegt das Polypeptidsegment als Zufallsknäuel vor, während es bei pH 4.6 bereits überwiegend eine helikale Konformation einnimmt. Auf die Verwendung eines niedrigeren pH-Wertes wurde trotz eines höheren Anteils an  $\alpha$ -Helix verzichtet, um ein Ausfällen des Polymers, bedingt durch die sukzessive Neutralisation des Polyelektrolytsegmentes, zu vermeiden, da dies die Lichtstremessungen erheblich stören würde. Bei pH 5.2 können die Polymeraggregate gerade in einem Übergangsstadium zwischen beiden Sekundärstrukturen vermessen werden.

In Tabelle 6.2 sind die aus den jeweiligen Messungen erhaltenen hydrodynamischen Radien zusammengestellt.

**Tabelle 6.2:** Zusammenfassung der DLS-Experimente.

Polymer	C <sub>Polymer</sub> [g/l]	C <sub>NaCl</sub> [mol/l]	R <sub>h</sub> [nm]		
			pH 4.6	pH 5.2	pH 6.0
<i>l</i> -B <sub>27</sub> -NaG <sub>64</sub>	5.0	0.26	49.7/99.3	15.9	16.5
<i>l</i> -B <sub>85</sub> -NaG <sub>55</sub>	5.0	0.12	81.0	69.4	89.9
<i>l</i> -B <sub>85</sub> -NaG <sub>75</sub>	5.0	0.26	31.8	-	34.7
<i>l</i> -B <sub>119</sub> -NaG <sub>24</sub> (I)	0.1	0.12	83.8	85.5	89.6
<i>l</i> -B <sub>119</sub> -NaG <sub>24</sub> (II)	0.1	0.12	88.2	-	98.5

Das kleinste der Blockcopolymer *l*-B<sub>27</sub>-NaG<sub>64</sub>, welches allerdings mit etwa 87 Gew.-% den größten Anteil an Poly(natriumglutamat) besitzt, zeigte bei pH 6.0 und 5.2 einen hydrodynamischen Radius von etwa 16 nm. Es handelt sich hier sehr wahrscheinlich um Mizellen. Wurde der pH-Wert weiter erniedrigt und somit der Anteil helikaler Konformation des Peptidsegmentes stark erhöht, so konnte eine leichte Trübung der vorher klaren Lösung festgestellt werden, was mit einer deutlichen Vergrößerung des hydrodynamischen Radius auf 50 nm verbunden war. Bei der Messung der identischen Lösung 24 Stunden später wurde ein doppelt so großer Wert erhalten. Dies legte die Vermutung nahe, dass die Größenveränderung der Aggregate durch einen langsamen Ausfällungsprozess des Polymers verursacht wurde und nicht mit einer definierten Änderung der Aggregatstruktur korrespondiert. Um diese Beobachtung genauer zu untersuchen, wurden zusätzlich Lösungen mit einem

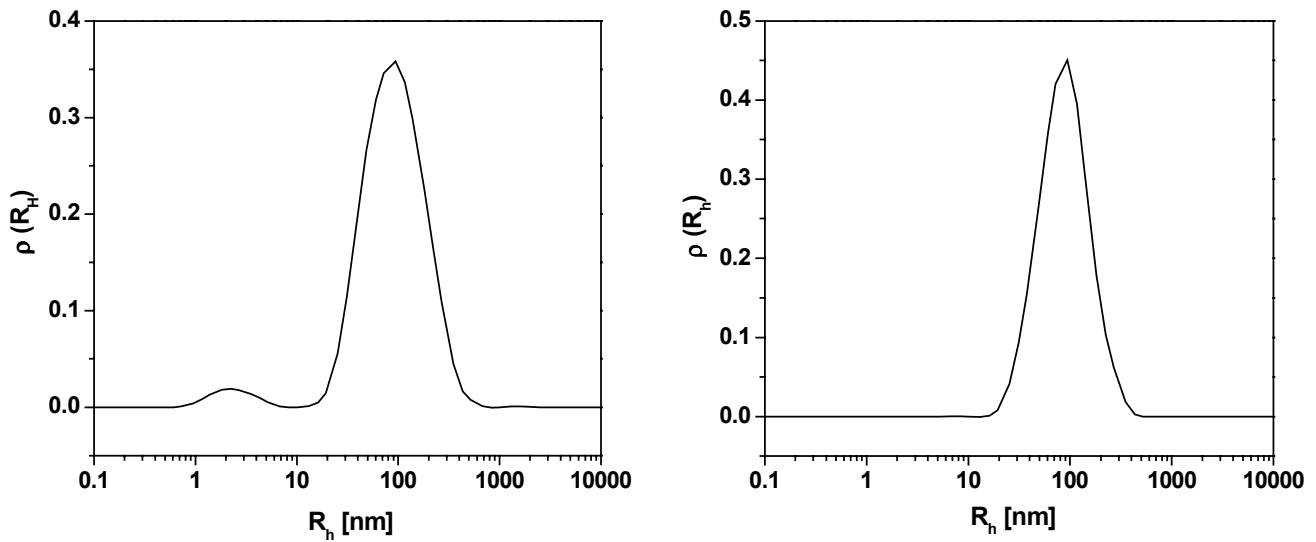
niedrigeren Polymer- und Salzgehalt ( $c_{\text{Polymer}} = 1 \text{ g/l}$ ,  $c_{\text{NaCl}} = 0.12 \text{ mol/l}$ ) mit den pH-Werten 4.6 und 4.8 vermessen. Direkt nach der Herstellung der Lösungen wurden für den hydrodynamischen Radius vergleichbare Werte von 79 nm (pH 4.6) sowie 72 nm (pH 4.8) erhalten. Beide Messungen wurden 60 Stunden später nochmals wiederholt, wobei für die Lösung mit niedrigerem pH-Wert ein etwa um den Faktor drei größerer hydrodynamischer Radius (223 nm) erhalten wurde, wohingegen sich der Wert für pH 4.8 nur geringfügig änderte (86 nm). Diese Messungen zeigen, dass trotz geringeren Polymer- und Salzgehaltes eine signifikante Vergrößerung der vorliegenden Aggregatstruktur bei pH 4.6 auftritt, während er bei pH 4.8 bereits deutlich verlangsamt ist. Bei keinem der anderen Blockcopolymere wurden ähnliche Beobachtungen gemacht, jedoch zeichnen sich diese durch geringere Anteile an Poly(natriumglutamat) aus. Die Vermutung, dass die deutliche Vergrößerung des hydrodynamischen Radius durch das Vorliegen einer zylindrischen, nicht rotationssymmetrischen Aggregatstruktur bedingt wird, konnte nicht bestätigt werden, da keine depolarisierte Streuung beobachtet wurde.

Es konnte aufgrund der vorliegenden Messungen nicht geklärt werden, welche Aggregatstrukturen hierbei im Einzelnen vorliegen - dazu sind weitere Messungen, insbesondere statische Lichtstreuexperimente, erforderlich.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, zeigte keines der anderen Blockcopolymere eine solche signifikante Änderung des hydrodynamischen Radius bei Änderung der Sekundärstruktur des Polypeptidsegmentes durch den pH-Wert. Es traten in allen Fällen nur geringfügige Größenänderungen auf, wobei in der Regel mit sinkendem pH-Wert kleinere hydrodynamische Radien gemessen wurden. Es fällt allerdings auf, dass *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>75</sub> deutlich kleinere Aggregate als die Polymere *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub>, *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) und *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(II) ausbildet, für die sehr große Werte des hydrodynamischen Radius ermittelt wurde. Als Abschätzung für einen maximal möglichen Mizelldurchmesser kann ein Vergleich mit der doppelten Länge einer gestreckten Polymerkette (etwa 30 nm für einfache Kette) dienen. Der für das Polymer *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>75</sub> gefundene hydrodynamische Radius von etwa 32 nm ließe sich somit noch mit einer mizellaren Struktur in Einklang bringen unter der Annahme dicht gepackter stark elongierter Polymerketten. Die geringe Größenänderung bei pH-Wert-Änderung spricht allerdings eher für eine vesikuläre Struktur. Hier könnte Neutronenkleinwinkelstreuung wertvolle Hinweise liefern, welche Aggregatstruktur vorliegt.

Im Falle der restlichen untersuchten Blockcopolymere kann eine Vergrößerung des hydrodynamischen Radius nur aufgrund von Polyelektrolyt-Wechselwirkungen weitestgehend ausgeschlossen werden, so dass unter Berücksichtigung der relativ kleinen Molekulargewichte mizellare Aggregate sehr unwahrscheinlich sind. Da bei keiner der vermessenen Lösungen eine signifikante Intensität des Streulichtes bei

gekreuzten Polarisatoren (depolarisierte Streuung) gemessen werden konnte, muss es sich um sphärische Aggregate handeln. Somit ist es sehr wahrscheinlich, dass vesikuläre Strukturen vorliegen. Diese Annahme lässt sich zudem mit der geringen Größenänderung bei pH-Änderung in Einklang bringen: Da die Blockcopolymer eine Doppelschicht bilden, würde sich eine Änderung im Platzbedarf des hydrophilen Segmentes auf beiden Seiten der Doppelschicht auswirken, so dass sich nur eine geringfügige Änderung in der Krümmung ergeben sollte.



**Abbildung 6.2:** Intensitätsgewichtete Verteilungen des hydrodynamischen Radius für die Polymere *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> (links) und *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) (rechts) für pH 6.0.

Ausschließlich im Falle des Blockcopolymers *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> wurde bei der dynamischen Lichtstreuung zusätzlich ein geringer Anteil eines schnelleren Diffusionsprozesses gefunden, der zu Teilchen mit einem hydrodynamischen Radius von 2-3 nm korrespondiert (siehe Abb. 6.2). Es ist anzunehmen, dass es sich hierbei um nicht aggregiertes Blockcopolymer (Unimere) handelt. Der Grund könnte hier in der möglichen Polydispersität des Blockcopolymers zu finden sein: Die Molekulargewichtsverteilung des Blockcopolymers konnte bisher nicht bestimmt werden, weshalb nicht auszuschließen ist, dass ein erheblicher Anteil des Polymers ein deutlich größeres hydrophiles Segment besitzt, welches somit eine hohe Wasserlöslichkeit gewährleistet. Da bei der Auswertung zunächst eine intensitätsgewichtete Radienverteilung ermittelt wird, ist der zahlengewichtete Anteil um ein Vielfaches höher. Somit läge nur ein kleiner Bruchteil des Polymers als Vesikel aggregiert vor. Dies wiederum könnte erklären, warum die Lösungen von *l*-B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> auch bei relativ hohen Polymerkonzentrationen (40 g/l) durchsichtig klar erscheinen, da die Konzentration der stark streuenden, großen Aggregate vergleichsweise gering ist. Im Falle der Polymere *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) und *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(II) hingegen liegt das

Polymer vollständig aggregiert als Vesikel vor, weshalb sich bereits bei niedrigen Konzentrationen eine starke Trübung der Lösung ergibt. Da die beiden letzteren Blockcopolymere einen deutlich höheren Anteil an hydrophobem Polybutadien enthalten als  $I\text{-B}_{85}\text{-NaG}_{55}$ , sollte bei diesen die Tendenz zur Aggregation in wässriger Lösung wesentlich höher sein. Zudem erhöht ein größerer Anteil Polybutadien den Brechungsindexunterschied und somit den Streukontrast zwischen Aggregat und Lösungsmittel.

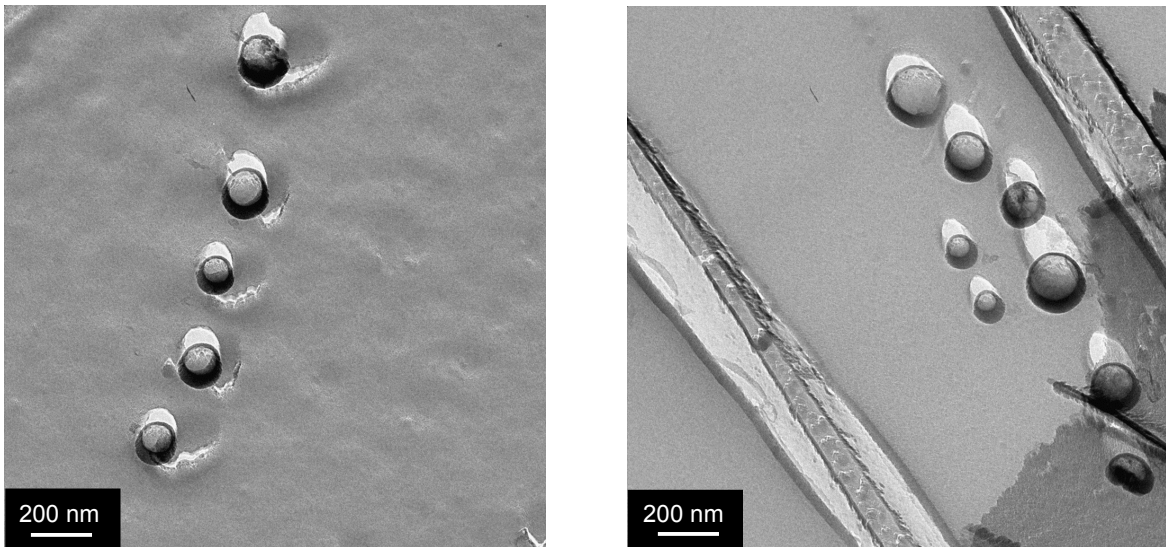
Statische Lichtstreuung könnte zusätzliche Informationen zur Charakterisierung der Aggregate liefern. Insbesondere das Verhältnis zwischen Trägheits- und hydrodynamischem Radius könnte weiteren Aufschluss über die Form der Aggregate erbringen. In ersten Messungen wurden starke Abhängigkeiten von der Polymer- und Salzkonzentration gefunden, wie sie für Polyelektrolyte typisch sind. Somit wären umfangreiche Messreihen erforderlich, die im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht mehr durchgeführt werden konnten.

Um dennoch die Annahme zu stützen, dass es sich bei den Aggregaten um Vesikel handelt, wurden Lösungen von  $I\text{-B}_{85}\text{-NaG}_{55}$ ,  $I\text{-B}_{119}\text{-NaG}_{24}(\text{I})$  und  $I\text{-B}_{119}\text{-NaG}_{24}(\text{II})$  mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie als abbildender Methode untersucht.

### 6.3 Transmissionselektronenmikroskopie

Um einen visuellen Eindruck der vorliegenden Aggregate in Lösung zu erhalten, wurde die Transmissionselektronenmikroskopie als abbildende Methode herangezogen. Als Präparationstechnik wurde hier Gefrierbruch der Lösungen gewählt, da Vesikel beim einfachen Eintrocknen einer Aggregatlösung auf einem Grid meist nicht stabil sind und während des Eintrocknungsprozesses zudem Veränderungen der Aggregatstruktur eintreten können.

Im Falle der Gefrierbruchtechnik wird die Polymerlösung sehr schnell eingefroren, gebrochen und durch Bedampfung mit Kohlenstoff eine Replik der Bruchoberfläche hergestellt. Diese wird nochmals mit Platin schräg bedampft, um den Kontrast und die Stabilität im Elektronenstrahl zu erhöhen. Um Artefakte zu vermeiden, wurden wässrige Blockcopolymerlösungen (5 g/l) ohne Salzzusatz verwendet.



**Abbildung 6.3:** TEM-Aufnahmen nach Gefrierbruchpräparation der Aggregate des Polymers  $I\text{-B}_{85}\text{-NaG}_{55}$  in Lösung.

Auch wenn die Bilder keinen repräsentativen Querschnitt durch die Probe darstellen, werden im Wesentlichen kugelförmige Aggregate gefunden, deren Durchmesser zwischen 100 und 200 nm sehr gut mit den Werten der dynamischen Lichtstreuung korrespondieren. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Vesikel mit jeweils unterschiedlicher Höhe in die Bruchfläche der gefrorenen Lösung hineinragen, was zu scheinbar unterschiedlichen Durchmessern der Aggregate in der Replik führt. Da die abgebildeten Aggregate aufgrund der Platin-Bedampfung einen einseitigen hellen Schatten aufweisen, sind offenbar beim Bruchvorgang die Aggregate selbst unbeschädigt geblieben und der Bruch erfolgte somit an der Oberfläche der Vesikel.

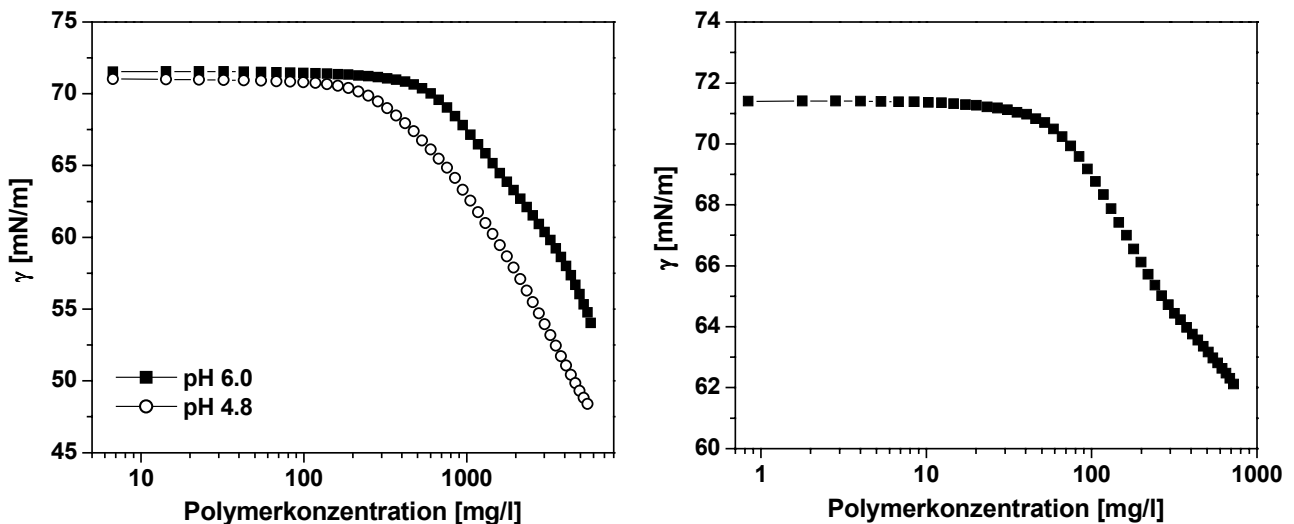
Somit bestätigen die TEM-Aufnahmen die mittels dynamischer Lichtstreuung ermittelte Größe der Aggregate und gleichzeitig die Annahme, dass es sich hierbei um Vesikel handelt.

## 6.4 Oberflächenspannung

Um die Polymere hinsichtlich ihrer Grenzflächeneigenschaften gegenüber der Wasser/Luft-Grenzfläche näher zu charakterisieren, wurden Messungen der Oberflächenspannung von wässrigen Polymerlösungen in Abhängigkeit der Polymerkonzentration mit der Ringmethode nach DuNoüy durchgeführt [119]. Da es sich bei den vorliegenden Carbonsäuregruppen um schwache Elektrolyten handelt,



deren Dissoziationsgrad empfindlich vom jeweiligen pH-Wert abhängt, wurden die Messungen zunächst bei pH 6 durchgeführt, bei dem der Großteil der Säuregruppen deprotoniert vorliegt. Zum Vergleich wurden die Messungen teils auch bei niedrigerem pH-Wert (4.8) durchgeführt, wodurch das Blockcopolymer aufgrund der Protonierung von Säuregruppen einen hydrophoberen Charakter erhält. In Abbildung 6.4 sind exemplarisch die Oberflächenspannungskurven für zwei der untersuchten Polymere als Funktion der Polymerkonzentration dargestellt.



**Abbildung 6.4:** Oberflächenspannung  $\gamma$  als Funktion der Polymerkonzentration für das Polymer  $l$ -B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> bei den beiden pH-Werten 6.0 und 4.8 (links) sowie das Polymer  $l$ -B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(l) bei pH 6 (rechts).

Für alle hier untersuchten Blockcopolymere ergibt sich ein ähnlicher Verlauf der Kurve: Der Anfangswert der Oberflächenspannung ändert sich über einen weiten Konzentrationsbereich zunächst nicht. Erst bei relativ hohen Polymerkonzentrationen kommt es zu einer langsamen Absenkung der Oberflächenspannung. Bei einem niedrigeren pH-Wert ist der Beginn des Abfalls der Kurve zu geringeren Polymerkonzentrationen verschoben, was bei gleichen Polymerkonzentrationen in einem niedrigeren Wert der Oberflächenspannung resultiert. Insbesondere im Falle des Polymers  $l$ -B<sub>85</sub>-NaG<sub>55</sub> wird eine Absenkung der Oberflächenspannung bei pH 6 erst ab einer Polymerkonzentration von etwa 0.4 g/l beobachtet. Dies spricht für ein Unimeren-Aggregat-Gleichgewicht, das bis zu hohen Polymerkonzentrationen auf der Seite der Unimeren liegt. Dieses Verhalten korrespondiert zu dem Anteil an nicht aggregiertem Blockcopolymer, der bei dynamischer Lichtstreuung gefunden wurde (vgl. Abb. 6.3). Für keines der Blockcopolymere konnte auch bei recht hohen Polymerkonzentrationen (> 4g/l) die Annäherung der Oberflächenspannung an einen unteren Grenzwert beobachtet werden. Dabei waren Messungen zu noch höheren

Polymerkonzentrationen durch die zur Verfügung stehende Menge an Blockcopolymer limitiert.

Vergleicht man diese Messergebnisse mit dem Verhalten niedermolekularer Tenside, wie z. B. SDS, so erkennt man ein anderes Grenzflächenverhalten der amphiphilen Blockcopolymeren: Eine kritische Aggregationskonzentration ist auf diese Weise nicht zugänglich, da die Bildung von Aggregaten in der Lösung offensichtlich nicht mit einer vorherigen Bedeckung der Wasser-Luft-Grenzfläche einher geht. So können im Falle des Polymers *l*-B<sub>119</sub>-NaG<sub>24</sub>(I) bei einer Konzentration von 0.1 g/l mittels dynamischer Lichtstreuung Aggregate detektiert werden, während die gemessene Oberflächenspannung (69 mN/m) noch nahezu den Wert von reinem Wasser (72 mN/m) aufweist. Von EISENBERG et. al. [112] wurden über die ‚Pyren-Methode‘ (konzentrationsabhängige Einlagerung von Pyren in den hydrophoben Mizellkern und Messung der zugehörigen Fluoreszenzspektren) für amphiphile Blockcopolymeren extrem niedrige kritische Mizellbildungskonzentrationen (engl: *critical micelle concentration, cmc*) im Bereich von 10<sup>-9</sup> bis 10<sup>-4</sup> mol/l bestimmt. Es ist somit anzunehmen, dass die Ringtensiometrie als Methode zur Bestimmung von kritischen Mizellbildungskonzentrationen von amphiphilen Blockcopolymeren nicht geeignet ist.

# 7 Polypeptid-Blockcopolymerer als Stabilisatoren in der Emulsionspolymerisation

## 7.1 Einleitung

Die Emulsionspolymerisation zählt zu den ältesten Polymerisationstechniken und ermöglicht die Herstellung von wässrigen Polymerdispersionen, die trotz eines hohen Polymergehaltes eine niedrige Viskosität aufweisen. Sie spielt daher eine wichtige Rolle zur Darstellung einer Reihe industrieller Produkte, wie etwa Dispersionsfarben und Klebstoffen.

Es handelt sich hierbei um eine freie radikalische Kettenpolymerisation [120], bei der wasserunlösliche Monomere, wie z. B. Styrol oder Acrylatderivate, unter Zusatz von Tensiden als Grenzflächenvermittler mit einem wasserlöslichen Initiator polymerisiert werden. Der Mechanismus der Emulsionspolymerisation wurde von HARKINS bereits 1948 qualitativ beschrieben und in die drei Phasen Teilchenbildung, Teilchenwachstum und Monomerverarmung unterteilt [121]. Insbesondere die Beschreibung des Nukleierungsmechanismus zur Teilchenbildung ist jedoch nach wie vor Gegenstand intensiver Forschung [122]. Auf Grundlage der Beschreibung von HARKINS entwickelten SMITH und EWART eine quantitative Theorie zur Kinetik der Emulsionspolymerisation [123]. Zur Berücksichtigung der Abweichungen in realen Systemen wurden bereits mehrfach Verbesserungsvorschläge dieses Modells erarbeitet [124].

Neben niedermolekularen Tensiden sind auch polymere Stabilisatoren seit längerer Zeit bekannt und finden vielfältige Anwendungen in industriellen Prozessen [125]. Insbesondere amphiphile Blockcopolymerer eignen sich als effektive Stabilisatoren in der Emulsionspolymerisation. Die hydrophoben Segmente fungieren dabei durch starke Adsorption an die Polymer-Wasser-Grenzfläche als ‚Ankerblock‘. Die hydrophilen Segmente bleiben im Dispersionsmedium gelöst und erzeugen so eine hydrophile Schicht, die das Partikel umgibt und somit sterisch stabilisiert. Im Gegensatz dazu ist die Stabilisierung mit niedermolekularen Tensiden meist ausschließlich durch elektrostatische Abstoßung gegeben. Handelt es sich bei dem hydrophilen Segment des Blockcopolymerers um einen Polyelektrolyten, liegt eine Kombination beider Stabilisierungsmechanismen vor, die als elektrosterische Stabilisierung bezeichnet wird. Liegt ein starker Elektrolyt vor, so ist dieser über den gesamten pH-Bereich dissoziiert und gewährleistet eine entsprechende Stabilisierung, während bei schwachen Elektrolyten mit einer signifikanten pH-Wert-Abhängigkeit zu

rechnen ist. Das Konzept der elektrosterischen Stabilisierung findet man ebenfalls in der Natur, z. B. bei Milch, wo Proteine Stabilisierungsfunktionen übernehmen.

Bei einem Großteil der eingesetzten polymeren Stabilisatoren handelt es sich um nicht-ionische amphiphile Blockcopolymere. Als hydrophiler Block findet sehr oft Polyethylenglycol (PEG) in Verbindung mit verschiedensten hydrophoben Segmenten Verwendung. Als Beispiele für eingesetzte Stabilisatoren seien hier die Blockcopolymere PS-*b*-PEO [126], PMMA-*b*-PEO [125, 127] sowie PEO-*b*-PPO-*b*-PEO [128] genannt.

Seit etwa 20 Jahren ist die Synthese und Untersuchung von definierten Polyelektrolytblockcopolymeren Gegenstand intensiver Forschung [129]. Trotzdem finden sich in der Literatur nur wenige Beispiele zur Verwendung solcher Polymere als Stabilisatoren in der Emulsionspolymerisation. LEEMANS et al. [130] verwendeten als erste ein Polyelektrolytblockcopolymer mit starkem Elektrolyten zur Stabilisierung von Dispersionen. Dabei untersuchten sie die Stabilisatoreigenschaften von Poly(methylmethacrylat)-*block*-poly([2-hydroxy-1-sulfonyl]-ethylmethacrylat) während der Emulsionspolymerisation sowie bei nachträglicher Zugabe. MÜLLER et al. [131] setzten mittels anionischer Polymerisation hergestellte Poly(2-ethylethylen)-*block*-poly(styrolsulfonat)e unterschiedlichen Sulfonierungsgrades zur Herstellung von Polystyrol-Latizes ein. Unter Einsatz kontrolliert radikalischer Polymerisationstechniken synthetisierten CHARLEUX et al. Blockcopolymere, die neben einem hydrophoben Polystyrolsegment einen hydrophilen Poly(styrolsulfonat)- [132], Poly(acrylsäure)- oder Poly(vinylbenzyltriethylammoniumchlorid)-Block [133] enthielten. Alle drei Blockcopolymere wurden erfolgreich zur Emulsionspolymerisation von Styrol eingesetzt. Ein weiteres Beispiel zum Einsatz kationischer Polyelektrolytblockcopolymere wurde von JÄGER et al. [134] beschrieben.

In allen bisher genannten Beispiele besitzen die eingesetzten Polyelektrolytblockcopolymere eine lineare Struktur. Analoge verzweigte Strukturen wurden in diesem Zusammenhang noch nicht beschrieben, obwohl ein starker Einfluss der Molekülarchitektur auf die Stabilisatoreigenschaften zu erwarten ist. Aus diesem Grund werden im folgenden Kapitel verzweigte Polystyrol-*block*-poly(natriumglutamat)-Copolymere im Vergleich zu linearen Analoga untersucht.

Um die eingesetzten Stabilisatoren miteinander vergleichen zu können, ist es zunächst erforderlich, Kriterien für die Effizienz eines Stabilisators zu definieren und ein entsprechendes Maß zur Quantifizierung zu finden.

Zur Beurteilung der Effizienz eines Stabilisators während der Polymerisation ist die erhaltene Teilchengröße allein nicht ausreichend. Vielmehr müssen auch der Gesamtfeststoffgehalt, die eingesetzte Stabilisatormenge und die entstandene Menge an Koagulat berücksichtigt werden, um ein umfassendes Bild zu erhalten.

Die Quantifizierung der Stabilisatoreffizienz  $E_{stab}$  kann nun dadurch erfolgen, dass man die während der Polymerisation entstandene bzw. stabilisierte Grenzfläche pro Gramm eingesetztem Stabilisator ermittelt. Unter der Annahme, dass sich alle Stabilisatormoleküle an der Latexteilchen-Wasser-Grenzfläche befinden und eine monodisperse Teilchengrößenverteilung vorliegt, berechnet man zunächst die entstandene Gesamtoberfläche  $A_{ges}$  und bezieht diesen Wert auf die eingesetzte Stabilisator- und Wassermenge. Die beiden Größen  $A_{ges}$  und  $E_{stab}$  sind gegeben durch:

$$A_{ges} = \frac{FG}{(100 - FG)} \frac{6}{10^{-7} \rho_p D} \quad \begin{array}{ll} FG & \text{Feststoffgehalt [\%]} \\ \rho_p & \text{Polymerdichte [g/cm}^3\text{]} \\ D & \text{mittlerer Teilchendurchmesser} \\ & \text{[nm]} \end{array} \quad (7.1)$$

$$E_{stab} = A_{ges} \frac{W}{S} \quad \begin{array}{ll} W & \text{eingesetzte Wassermenge [g]} \\ S & \text{eingesetzte Stabilisatormenge [g]} \end{array} \quad (7.2)$$

Die Größe  $E_{stab}$ , die sich auf die eingesetzte Stabilisatormenge in Gramm bezieht, ist vor allem unter praktischen Gesichtspunkten relevant, da in der Regel möglichst wenig Stabilisator relativ zum Monomer eingesetzt werden soll und daher die Effizienz pro eingesetzter Menge entscheidend ist.

Allerdings wird bei dieser Vorgehensweise nicht das Molekulargewicht des Stabilisators berücksichtigt, welches im Falle von Polymeren deutlich von jenem niedermolekularer Tenside differiert. Aus diesem Grund kann zur Quantifizierung auch die Stabilisatoreffizienz pro Molekül  $E_M$ , d. h. die von einem Stabilisatormolekül stabilisierte Fläche, berechnet werden.  $E_M$  ergibt sich aus der Gesamtoberfläche  $A_{ges}$  unter Berücksichtigung der Anzahl an Stabilisatormolekülen  $S_M$ :

$$S_M = \frac{S}{M} N_A \quad \begin{array}{ll} M & \text{Molekulargewicht des Stabilisators} \\ N_A & \text{Avogadro-Zahl} \end{array} \quad (7.3)$$

$$E_M = A_{ges} \frac{W}{S_M 10^{-14}} \quad (7.4)$$

Im Folgenden werden beide Größen zur Beurteilung der Stabilisatoreffizienz verwendet.

## 7.2 Verzweigte und lineare polymere Stabilisatoren

Als polymere Stabilisatoren wurden je zwei lineare sowie verzweigte Polystyrol-*block*-poly(natriumglutamat)-Copolymere (PS-*b*-P(NaGlu)) eingesetzt, die sich durch verschiedene Gewichtsanteile – und somit verschiedene Blocklängen – des anionischen Poly(NaGlu)-Blockes unterscheiden. Zur Synthese dieser Blockcopolymeren wurden jeweils derselbe mono- bzw. polyfunktionelle Makroinitiator eingesetzt, so dass identische hydrophobe Styrol-Blöcke (etwa 5500 g/mol) als Ankergruppen innerhalb eines Funktionalisierungsgrades vorliegen. In Tabelle 7.1 sind die charakteristischen Daten der verwendeten PS-*b*-P(NaGlu)-Blockcopolymeren zusammengestellt. Die Blockcopolymeren wurden unter Verwendung von Natriumhydroxid entschützt, was zu einer partiellen Racemisierung der Aminosäuren im hydrophilen Segment führte, wie Messungen des Circular Dichroismus zeigten (siehe Kapitel 4.3). Aus diesem Grund wurden im weiteren Verlauf keinerlei Messungen durchgeführt, die auf Effekte durch einen Knäuel-Helix-Übergang abzielen.

**Tabelle 7.1:** Molekulare Parameter der als Stabilisatoren eingesetzten Polymere.

Polymer	$P_n$ (Styrol)	$P_n$ (NaGlu)	$M_n$ [g/mol]	Gew.-% NaGlu
<i>l</i> -S <sub>52</sub> -NaG <sub>104</sub>	52	104	21300	74
<i>l</i> -S <sub>57</sub> -NaG <sub>274</sub>	57	274	47500	87
<i>b</i> ( $\delta$ )-S <sub>63</sub> -NaG <sub>176</sub>	63	176	34300	78
<i>b</i> ( $\delta$ )-S <sub>63</sub> -NaG <sub>293</sub>	63	293	51900	85

Eine Verwendung der Polystyrol-*block*-poly(lysinehydrochlorid)-Copolymere ist analog zu den folgenden Versuchen ebenfalls denkbar. Es wurden einige Emulsionspolymerisationen mit diesen Stabilisatoren durchgeführt, die jedoch aufgrund ihrer ungenügenden Löslichkeit zu sehr schlecht stabilisierten Dispersionen mit großem Koagulatanteil führten. Daher wurden diese Untersuchungen nicht weiter verfolgt und werden hier nicht näher erläutert.

Die Emulsionspolymerisationen wurden in kleinen Ansätzen unter Einsatz von 1 g Styrol als Monomer bei einem theoretischen Feststoffgehalt von etwa 21 % durchgeführt. Für die Polymerisationsreaktion wurde ein drehbarer Thermostat verwendet, der die in schmalen Schraubgläsern befindlichen Reaktionsmischungen auf die gewünschte Innentemperatur von 80 °C erwärmt und durch gleichzeitiges Umschütteln anstelle einer Rührung für die notwendige Durchmischung sorgt.

Die nachfolgend aufgeführten Rezepturen gewährleistete einheitliche Reaktionsbedingungen und somit eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Die polymeren

Stabilisatoren wurden jeweils in 1-5 Gewichtsprozenten bezogen auf das Monomer eingesetzt: 1 g Styrol, 2 g Wasser, 2 g 0.1 N NaOH, 32 mg VA-086 (Initiator), 10-50 mg Blockcopolymer.

Der Zusatz von Natronlauge war hierbei erforderlich, um eine gute Löslichkeit der Polymere zu gewährleisten, da diese nach der Entschützungsreaktion neutralisiert worden waren und sich daher sehr schlecht direkt in Wasser lösten. Da es sich zudem um einen schwachen Elektrolyten handelt, bedingt der basische pH-Wert vollständige Dissoziation der Säuregruppen und somit bestmögliche Stabilisierungseigenschaften.

**Tabelle 7.2:** Zusammenfassung der charakteristischen Daten aller Latexprouben.

Stabilisator	Stabilisator- gehalt [%]	$D_{(DLS)}$ [nm]	$D_{w(TEM)}$ [nm]	$\Delta D^a$ [nm]	PD <sup>b</sup>	Feststoff- gehalt [%]
<i>l</i> -S <sub>52</sub> -NaG <sub>104</sub>	1.06	153	144	9	1.01	17.5
	2.02	118	129	(-11)*	1.00	19.5
	3.09	116	79	37	1.03	20.3
	3.74	104	77	27	1.02	20.8
	4.67	99	76	23	1.03	21.8
<i>l</i> -S <sub>57</sub> -NaG <sub>274</sub>	1.01	214	194	20	1.01	14.8
	1.93	168	152	16	1.01	18.9
	3.08	141	121	20	1.02	21.3
	4.18	132	-	-	-	19.3
	4.88	132	107	25	1.02	19.7
<i>b</i> ( $\delta$ )-S <sub>63</sub> -NaG <sub>176</sub>	1.03	131	125	6	1.16	18.6
	2.02	107	102	5	1.22	21.3
	3.03	95	-	-	-	21.6
	3.90	76	62	14	1.22	22.2
	4.88	74	68	6	1.23	21.7
<i>b</i> ( $\delta$ )-S <sub>63</sub> -NaG <sub>293</sub>	1.04	130	123	7	1.14	19.3
	2.09	104	82	22	1.15	17.1
	3.03	91	61	30	1.18	18.2
	4.09	80	-	-	-	18.2
	4.97	88	92	(-4)*	1.15	18.5

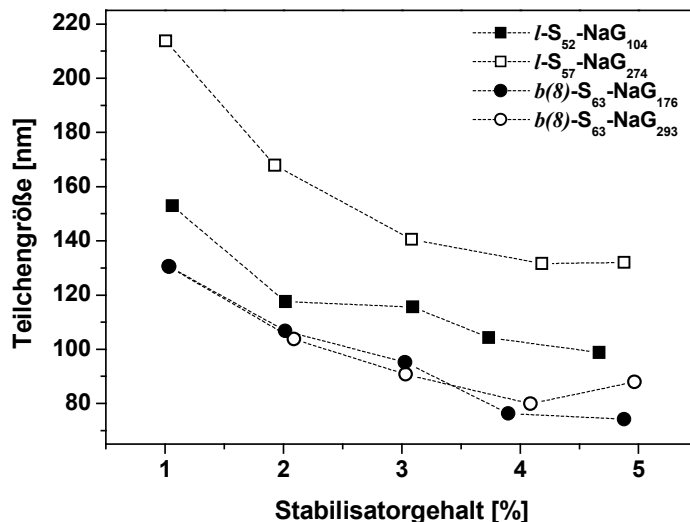
<sup>(a)</sup>  $\Delta D = D_{(DLS)} - D_{(TEM)}$ ; <sup>(b)</sup> Polydispersität =  $D_w/D_n$  (TEM); \* hydrodynamischer Durchmesser ausnahmsweise größer als TEM-Durchmesser.

Als Initiator wurde ein neutraler wasserlöslicher Azoinitiator gewählt, um das Einbringen zusätzlicher Ladungen durch den Initiator und dadurch bedingte

Stabilisierungseffekte auszuschließen. Dass die durch Ladungen des Initiators verursachten Stabilisierungseffekte nicht unerheblich sind, zeigt die Möglichkeit, stabile Polymerdispersionen ohne Zusatz von Emulgatoren herstellen zu können [135].

Vor der weiteren Charakterisierung wurden die erhaltenen Dispersionen zur Abtrennung des entstandenen Koagulates filtriert. Neben der Bestimmung des verbliebenen Feststoffgehaltes wurde die Teilchengröße sowohl mittels dynamischer Lichtstreuung (*Particle Sizer*, Nicomp) als auch durch Auszählen von TEM-Aufnahmen bestimmt. In Tabelle 7.2. sind alle erhaltenen Werte zusammengestellt.

In Abbildung 7.1 sind die mittels dynamischer Lichtstreuung ermittelten Teilchengrößen aller Latexprouben in Abhängigkeit der eingesetzten Menge an polymerem Stabilisator aufgetragen: Für alle Stabilisatoren nimmt der Teilchendurchmesser mit steigender Menge ab und nähert sich einem Grenzwert.



**Abbildung 7.1:** Hydrodynamische Teilchengrößen (DLS) in Abhängigkeit der eingesetzten Stabilisatormenge. (Verbindungslinien dienen nur der Übersicht und sollen keinen Funktionsverlauf darstellen.)

Durch Einsatz der verzweigten Polymere können über den gesamten untersuchten Bereich deutlich kleinere Teilchen (75-130 nm) erhalten werden, wobei sich die Durchmesser der Latexteilchen der beiden verzweigten Polymere untereinander nur wenig unterscheiden. Im Falle der linearen Polymere ist ein stärkerer Einfluss der unterschiedlichen Blocklängenverhältnisse anhand der erzielten Teilchengrößen (213-99 nm) – insbesondere bei kleinen Stabilisatormengen – zu erkennen.

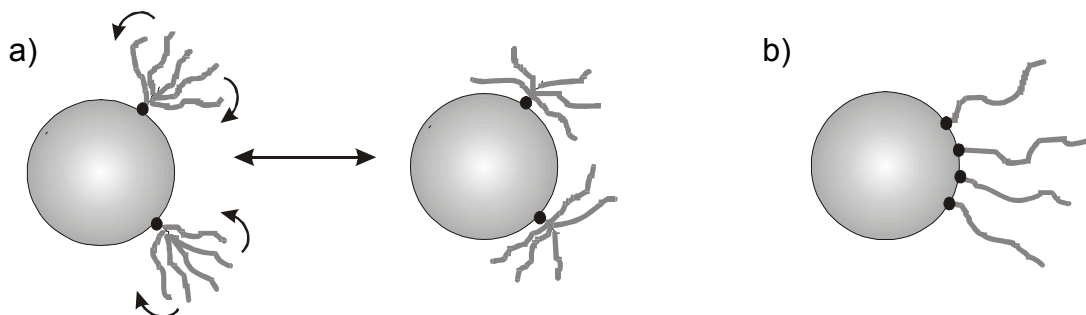
Aus TEM-Aufnahmen wurden die beiden Mittelwerte  $D_n$  und  $D_w$ , der Kerndurchmesser der Latexpartikel (die eingetrocknete Stabilisatorschicht vergrößert den Durchmesser nur unwesentlich) bestimmt, um sie mit den zugehörigen hydrodynamischen Werten aus der dynamischen Lichtstreuung zu vergleichen. MÜLLER [131] fand bei einem solchen Vergleich für Latexteilchen, die ebenfalls mit einem Polyelektrolytblockcopolymer als Stabilisator hergestellt wurden, eine sehr



große Abweichung der beiden Durchmesser um einen Wert von bis zu 120 nm, die sich für elektrosterisch stabilisierte Teilchen (*hairy particles*) mit einer Korona aus Polyelektrolytketten um das Latexteilchen erklären lässt.

Da aus der dynamischen Lichtstreuung intensitätsgewichtete Werte der Teilchengrößen erhalten werden, wurde zum Vergleich der Durchmesser hier das Massenmittel  $D_w$  der TEM-Kerndurchmesser verwendet, um Unterschiede aufgrund verschiedener Mittelwertbildung zu minimieren. Für monodisperse Proben ist die Abweichung der verschiedenen Mittelwerte voneinander ohnehin nur gering. Aus den Mittelwerten  $D_n$  und  $D_w$  wurde die Polydispersität  $PD=D_w/D_n$  der jeweiligen Probe bestimmt.

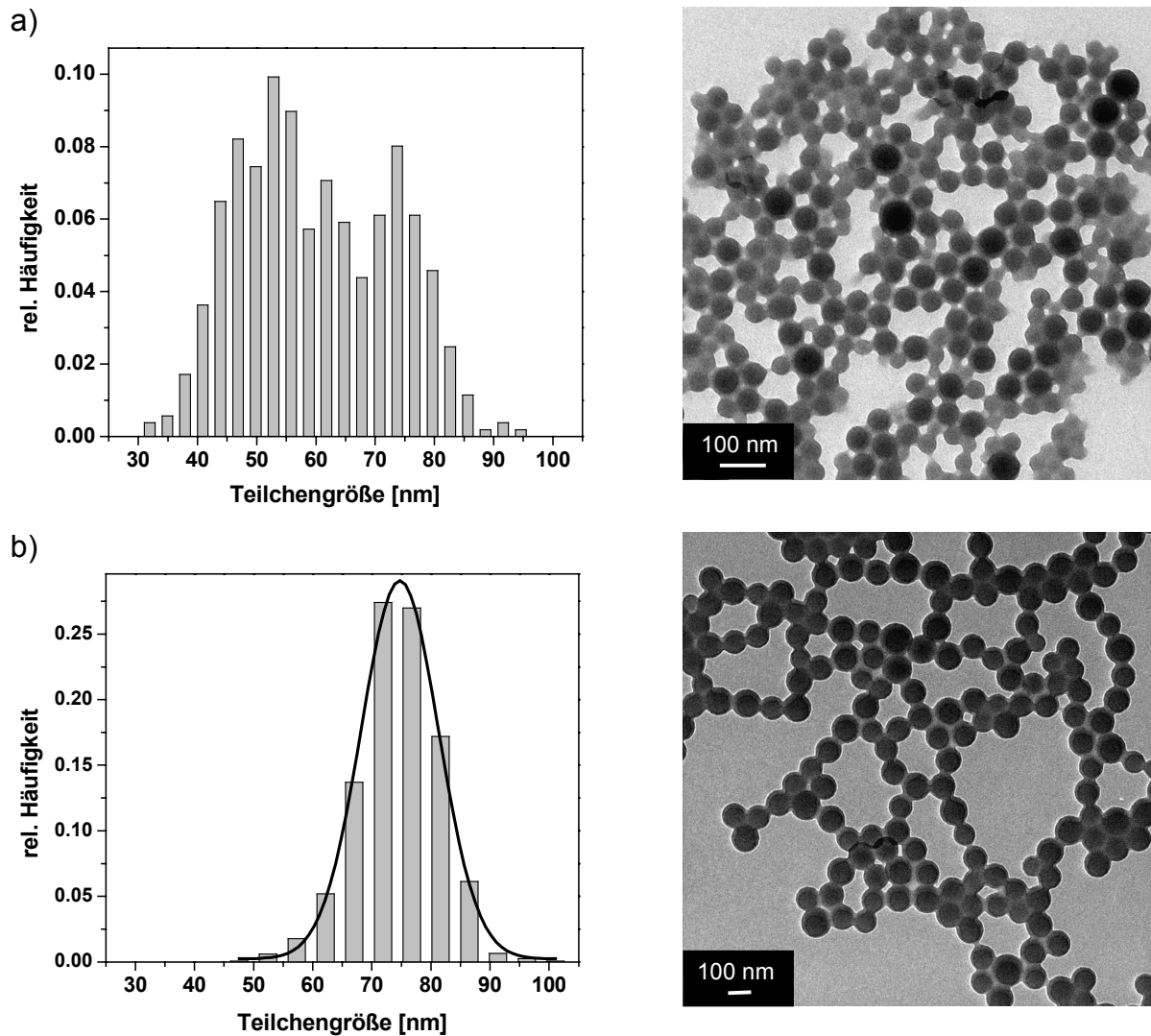
Bis auf wenige Ausnahmen sind die mit TEM ermittelten Kerndurchmesser immer kleiner als die hydrodynamischen Durchmesser. Im Falle der verzweigten Polymere ist diese Differenz allerdings meist kleiner als für die linearen Blockcopolymere. Bei den Latizes der linearen Stabilisatoren bewegt sich die Differenz  $\Delta D$  der Durchmesser im Bereich von 20-35 nm. Im Modell der elektrosterisch stabilisierten Latexpartikel bedeutet dies, dass die verzweigten Stabilisatoren nur in geringerem Maße zur radialen Vergrößerung der Teilchen beitragen, während für die linearen Stabilisatoren eine Korona bestehend aus abstehenden Polyelektrolytketten mit einer radialen Ausdehnung von 10-15 nm angenommen werden kann.



**Abbildung 7.2:** Modellvorstellung zur Anordnung der verzweigten (a) und linearen (b) Stabilisatoren auf der Oberfläche der Latexteilchen. Schwarze Punkte symbolisieren den hydrophoben Styrol-Ankerblock der Stabilisatoren.

Dies lässt sich leicht mit der Molekülarchitektur der verwendeten polymeren Stabilisatoren in Einklang bringen: Geht man jeweils davon aus, dass der hydrophobe Polystyrolblock an das Latexteilchen adsorbiert, wird bei den linearen Stabilisatoren die Blocklänge des Polyelektrolytblockes die entscheidende Größe sein, da dieser direkt in radialer Richtung von der Oberfläche in das Dispersionsmedium hineinragt. Die im Vergleich zu den Systemen von MÜLLER gefundenen deutlich kleineren Schichtdicken für die Polyelektrolytkorona kann durch eine kleinere Konturlänge (etwa 50-90 nm) des hydrophilen Blocksegmentes der verwendeten Blockcopolymere erklärt

werden. Im Falle der verzweigten Stabilisatoren liegen prinzipiell kürzere hydrophile Segmente vor, da sich bei gleichem Polymerisationsgrad die Monomereinheiten auf mehrere Ketten verteilen.



**Abbildung 7.3:** Teilchengrößenverteilung sowie zugehörige TEM-Aufnahmen zweier Latexprouben bei einem Stabilisatorgehalt von etwa 5 % für a) den verzweigten Stabilisator  $b(\delta)$ -S<sub>63</sub>-NaG<sub>176</sub> und b) den linearen Stabilisator  $l$ -S<sub>52</sub>-NaG<sub>104</sub> (Kurve zeigt Gauß-Verteilung).

Zudem können sich die Polypeptidketten eines verzweigten Blockcopolymermoleküls unterschiedlich auf der Oberfläche des Latexteilchens anordnen, was Einfluss auf den Platzbedarf eines Stabilisatormoleküls hat. Je nach Bedeckungsgrad der Teilchenoberfläche mit Stabilisator können die hydrophilen Segmente eines jeweiligen Stabilisatormoleküls entweder relativ eng beieinander

liegen oder eine maximale Entfernung voneinander einnehmen (Abb. 7.2), wodurch sich der Platzbedarf eines einzelnen Stabilisatormoleküls erhöht.

Aus den TEM-Daten ergibt sich ein weiterer signifikanter Unterschied zwischen den verzweigten und linearen Stabilisatoren, der bereits beim Betrachten der TEM-Aufnahmen deutlich wird: Beide verzweigten Polymere liefern breiter verteilte Latexteilchen ( $PD > 1.13$ ) – bei einigen dieser Proben liegen bimodale Verteilungen vor. Aufgrund der Größe der kleinen Partikel (etwa 40-50 nm) kann davon ausgegangen werden, dass es sich dabei nicht um ‚frozen micelles‘ des eingesetzten Polymers handelt, so wie sie MÜLLER in einigen seiner Latizes fand. Bei Verwendung der linearen Stabilisatoren hingegen entstehen monodisperse Latexproben ( $PD < 1.03$ ), deren jeweilige Größenverteilung sich sehr gut mit einer GAUSS-Verteilung anpassen lässt.

In Abbildung 7.3 sind zum Vergleich für beide Stabilisatortypen jeweils eine TEM-Aufnahme der Latizes sowie die zugehörige Größenverteilung bei gleichem Gehalt (5 Gew.-% bezogen auf Styrol) an Stabilisator abgebildet.

### 7.3 Stabilisatoreffizienz

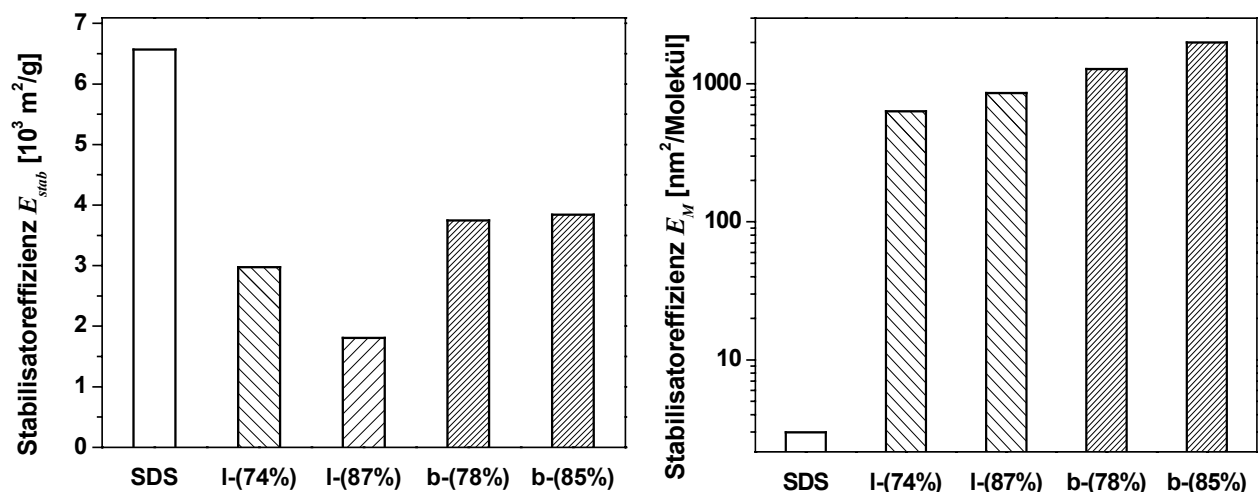
Wie bereits zu Beginn des Kapitels erläutert, kann die Beurteilung der Stabilisatoreffizienz nach verschiedenen Gesichtspunkten erfolgen.

Die Stabilisatoreffizienzen  $E_{stab}$  sowie  $E_M$  wurden für jeden der durchgeführten Versuche berechnet. Innerhalb eines jeweiligen polymeren Stabilisatorsystems nimmt die Effizienz mit steigender Stabilisatormenge ab. Dieses Verhalten ist zu erwarten, da sich die Menge des eingesetzten Polymers um den Faktor fünf erhöht, der Teilchendurchmesser jedoch bei ähnlichen Feststoffgehalten nicht um den gleichen Faktor abnimmt (vgl. Gl. 7.1 und Gl. 7.2).

**Tabelle 7.3:** Berechnete Daten zur Stabilisatoreffizienz.

Stabilisator	$E_{stab}$ [m <sup>2</sup> /g]	$E_M$ [nm <sup>2</sup> /Molekül]
SDS	6566	2.99
<i>l</i> -S <sub>52</sub> -NaG <sub>104</sub>	1808	633.1
<i>l</i> -S <sub>57</sub> -NaG <sub>274</sub>	2973	858.6
<i>b</i> (8)-S <sub>63</sub> -NaG <sub>176</sub>	3745	1283.3
<i>b</i> (8)-S <sub>63</sub> -NaG <sub>293</sub>	3840	1994.5

Zum Vergleich der Stabilisatoren untereinander wurden die Versuche bei geringstem Stabilisatorzusatz (1 %) herangezogen (Tab. 7.3). Die jeweiligen Werte von  $E_{stab}$  sowie  $E_M$  der polymeren Stabilisatoren sind in Abbildung 7.4 der Stabilisatoreffizienz des niedermolekularen anionischen Tensids Natriumdodecylsulfat (SDS) unter gleichen Polymerisationsbedingungen (die Werte wurden anhand des Kalorimetrieversuches berechnet) gegenübergestellt: Im Falle von  $E_{stab}$ , der Effizienz pro Gramm Stabilisator, zeigen alle untersuchten Polymere eine deutlich geringere Effizienz als das niedermolekulare SDS. Während ein Gramm SDS etwa 7000 m<sup>2</sup> Grenzfläche stabilisiert, können mit den polymeren Stabilisatoren Werte von bis zu 3900 m<sup>2</sup>/g erreicht werden. Wiederum zeigt sich ein deutlicher Unterschied aufgrund der Molekülarchitektur der Polymere: Die beiden verzweigten Polymere differieren nur wenig voneinander und zeigen eine höhere Effizienz im Vergleich zu den linearen Polymeren. Das lineare Polymer  $l$ -S<sub>57</sub>-NaG<sub>274 weist dabei eine deutlich niedrigere Effizienz als  $l$ -S<sub>52</sub>-NaG<sub>104 auf, welches einen kürzeren hydrophilen Glutaminsäureblock besitzt.</sub></sub>



**Abbildung 7.4:** Stabilisatoreffizienz während der Emulsionspolymerisation: stabilisierte Grenzfläche pro Gramm Stabilisator (links) sowie pro Stabilisatormolekül (rechts). Prozentzahlen nennen die Gewichtsanteile an Natriumglutamat: I-(74 %):  $l$ -S<sub>52</sub>-NaG<sub>104</sub>; I-(87 %):  $l$ -S<sub>57</sub>-NaG<sub>274</sub>, b-(78 %):  $b(\delta)$ -S<sub>63</sub>-NaG<sub>176</sub>; b-(85 %):  $b(\delta)$ -S<sub>63</sub>-NaG<sub>293</sub>

Berücksichtigt man jeweils das Molekulargewicht der Stabilisatoren und betrachtet die stabilisierte Fläche pro Molekül ( $E_M$ ), ergibt sich für das niedermolekulare SDS erwartungsgemäß eine deutlich geringere Stabilisatoreffizienz verglichen mit den polymeren Stabilisatoren: Ein Molekül SDS stabilisiert nur eine Fläche von etwa 3 nm<sup>2</sup>. Dagegen sind alle eingesetzten polymeren Stabilisatoren in der Lage, sehr viele

größere Flächen zu stabilisieren. Wiederum besitzen die verzweigten Stabilisatoren eine größere Effizienz als die entsprechenden linearen Polymere. Sogar ein größerer Gewichtsanteil an Natriumglutamat im Falle des linearen Polymers  $l\text{-S}_{57}\text{-NaG}_{274}$  kann die durch die Verzweigung bedingte höhere Effizienz nicht ausgleichen. Für die verzweigten Polymere ergeben sich stabilisierte Flächen von fast 2000 ( $b(\delta)\text{-S}_{63}\text{-NaG}_{293}$ ) bzw. 1300 nm<sup>2</sup> ( $b(\delta)\text{-S}_{63}\text{-NaG}_{176}$ ). Die eingesetzten linearen Polymere können demgegenüber nur Flächen von 633 ( $l\text{-S}_{52}\text{-NaG}_{104}$ ) und 858 nm<sup>2</sup> ( $l\text{-S}_{57}\text{-NaG}_{274}$ ) stabilisieren. Bei dieser Betrachtungsweise der Stabilisatoreffizienz zeigen jeweils diejenigen Polymere derselben Molekülarchitektur die größere Effizienz, die auch einen größeren Gewichtsanteil an hydrophilem Segment aufweisen.

MÜLLER findet im Rahmen seiner Effizienzbewertung polymerer Stabilisatoren im Vergleich zu niedermolekularen Tensiden, insbesondere auch SDS, für lineare Blockcopolymere vergleichbare Werte für  $E_M$ . Dies zeigt, dass durch Verzweigung die Effizienz enorm gesteigert werden kann.

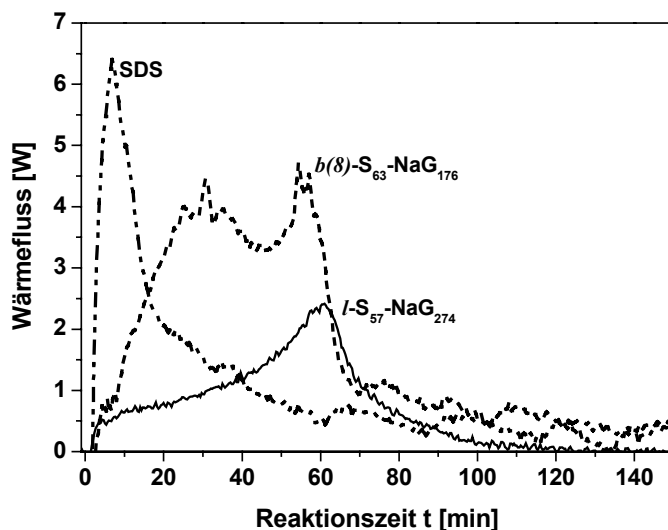
Aufgrund der höheren Stabilisatoreffizienz der verzweigten Stabilisatoren lassen sich die zuvor beschriebenen breiten Verteilungen der Teilchengrößen erklären: Die während der Reaktion durch weiteren Initiatorzerfall entstehenden Oligoradikale bzw. die sich daraus neu bildenden Latexteilchen im Sinne einer Sekundärnukleation können durch verzweigte Stabilisatoren noch stabilisiert werden, auch wenn schon größere Teilchen in der Dispersion vorliegen. Dies geschieht durch Umverteilung des Stabilisators im System, jedoch nur dann, wenn die bereits bestehenden Partikel auch nach der Umverteilung noch ausreichend gegen Koagulation stabilisiert sind. Wie in Kapitel 7.1 erläutert, weisen die verzweigten Stabilisatoren je nach Anordnung der hydrophilen Polypeptidketten einen variablen Platzbedarf auf, d. h. sie sind somit in der Lage einen geringeren Bedeckungsgrad des Partikels mit Stabilisator bei gleichbleibender Stabilisierung auszugleichen. Im Fall der linearen Stabilisatoren ist eine Stabilisierung neu gebildeter Partikel nicht mehr möglich, so dass es zu Koagulation, d. h. Anlagerung der neu entstehenden Polymerteilchen an bereits vorliegende stabilisierte Partikel, kommt.

Bedingt durch die hohe Stabilisatoreffizienz der verzweigten Stabilisatoren wird ein einzelnes Latexteilchen von durchschnittlich etwa 25 ( $b(\delta)\text{-S}_{63}\text{-NaG}_{293}$ ) bzw. 40 ( $b(\delta)\text{-S}_{63}\text{-NaG}_{176}$ ) Blockcopolymermolekülen stabilisiert. Im Falle der linearen Stabilisatoren ergibt sich pro Latexteilchen eine Anzahl von etwa 115 ( $l\text{-S}_{52}\text{-NaG}_{104}$ ) bzw. 170 ( $l\text{-S}_{57}\text{-NaG}_{274}$ ) Stabilisatormolekülen. Die Anzahl der stabilisierenden Blockcopolymermoleküle ist jedoch einer natürlichen Schwankungsbreite unterworfen. Ist die Anzahl an Stabilisatormolekülen pro Latexteilchen nur gering, so wie es für die verzweigten Stabilisatoren der Fall ist, so wird sich eine Fluktuation der Stabilisatormoleküle, d. h. eine ungleichmäßige Verteilung der Stabilisatormoleküle

zwischen den Latexteilchen, bei der Emulsionspolymerisation stärker auswirken als für die linearen Stabilisatoren zu erwarten. Aufgrund dieser Überlegungen ist die Entstehung polydisperser Latizes bei Verwendung der verzweigten Stabilisatoren bereits aus rein statistischen Gründen begünstigt.

## 7.4 Einfluss der polymeren Stabilisatoren auf den Reaktionsverlauf

Um den Einfluss polymerer Stabilisatoren auf den Reaktionsverlauf der Polymerisation näher zu untersuchen, wurden entsprechende Versuche im Reaktionskalorimeter durchgeführt. Hierbei kann der gesamte Reaktionsverlauf online verfolgt werden, indem eine Wärmebilanzierung durchgeführt wird. Unter der Voraussetzung, dass nur eine einzige Reaktion zu dem gemessenen Wärmestrom beiträgt, ist dieser zur Reaktionsgeschwindigkeit  $r_p$  der Kettenwachstumsreaktion direkt proportional. Es wurde ein kombiniertes isothermes Wärmefluss-/Wärmebilanzkalorimeter vom Typ *ChemiSens RM2-S* verwendet [136]. Zur Durchführung der Versuche wurde die oben genannte Standardrezeptur für 1 Gew.-% Stabilisator zur Vergrößerung der Ansatzmenge mit dem Faktor 21.5 multipliziert. Als Vertreter eines niedermolekularen anionischen Tensids wurde SDS zum Vergleich gewählt und unter Verwendung der Standardrezeptur zur Polymerisation (ebenfalls Zugabe von NaOH) eingesetzt.



**Abbildung 7.5:** Kalorimetrischer Reaktionsverlauf: Wärmefluss in Abhängigkeit der Reaktionszeit für einen verzweigten und linearen polymeren Stabilisator sowie SDS.

Abbildung 7.5 zeigt die erhaltenen Wärmeflusskurven in Abhängigkeit der Reaktionszeit für je einen verzweigten sowie linearen polymeren Stabilisator und SDS. Aufgrund apparativer Probleme und der damit verbundenen ungenauen Kalibrierung (wellenförmiger Signalverlauf) wird an dieser Stelle auf eine quantitative Auswertung der Kurven verzichtet, so dass ihr Verlauf nur qualitativ diskutiert werden soll.

Bei Verwendung von SDS als Tensid zeigt ein steiler Anstieg des gemessenen Wärmeflusses einen sofortigen Beginn der Polymerisationsreaktion nach Zugabe des Initiators an. Bereits nach etwa sieben Minuten ist ein Maximum erreicht und die Kurve beginnt ebenso steil wieder abzufallen. Im Falle des verzweigten polymeren Stabilisators verläuft der Anstieg der Wärmeflusskurve deutlich flacher und ein erstes Maximum wird erst nach 30 Minuten erreicht. Es folgt ein zweites Maximum nach etwa 55 Minuten bevor der Wärmefluss wieder absinkt. Der lineare Stabilisator (es wurde hier nur ein Umsatz von etwa 80 % erreicht) verzögert den Anstieg des Wärmeflusses und somit die Polymerisationsreaktion nochmals signifikant: Während die Polymerisation mit SDS nahezu beendet ist und auch die Reaktion mit dem verzweigten Stabilisator bereits wieder abklingt, wird hier erst nach 60 Minuten ein Maximum erreicht. Unter identischen Reaktionsbedingungen wurden im Falle der polymeren Stabilisatoren somit verlängerte Reaktionszeiten im Vergleich zu dem niedermolekularen SDS gefunden.

Wie aufgrund der Stabilisatoreffizienz  $E_{stab}$  – es wurden jeweils gleiche Gewichtsmengen an Stabilisator eingesetzt – zu erwarten, lieferte die Emulsionspolymerisation mit SDS die kleinsten Latexteilchen mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 86 nm. Für den verzweigten Stabilisator  $b(\delta)$ -S<sub>63</sub>-NaG<sub>176</sub> wurde eine Teilchengröße von 145 nm erhalten, während die Verwendung des linearen Stabilisators  $l$ -S<sub>57</sub>-NaG<sub>274</sub> Teilchen mit einem Durchmesser von 200 nm ergab.

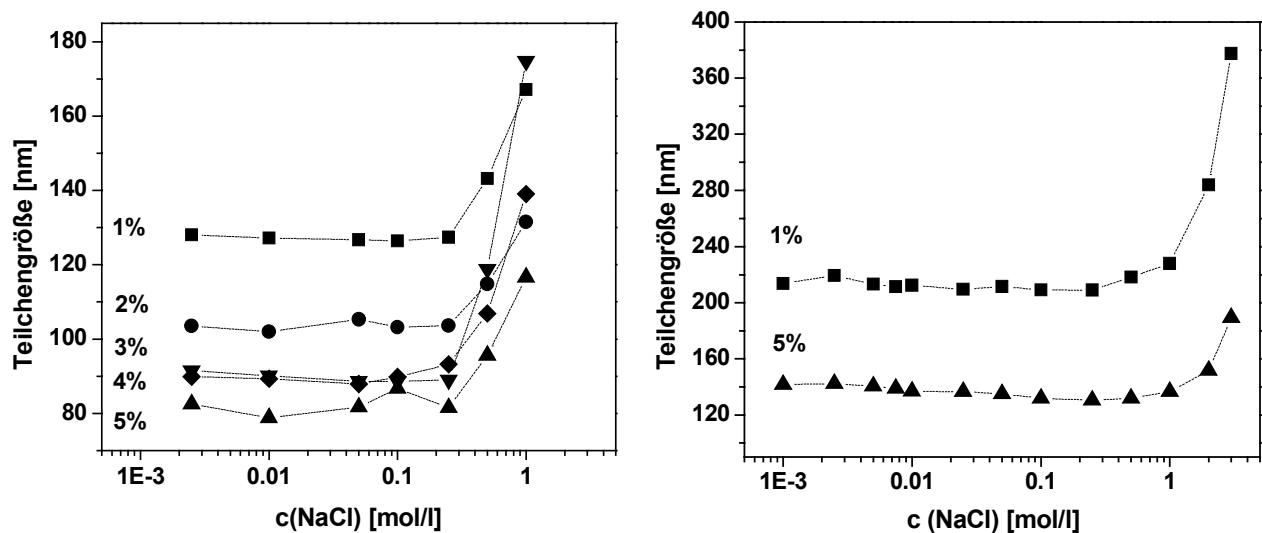
Ausschließlich im Falle des verzweigten Stabilisators  $b(\delta)$ -S<sub>63</sub>-NaG<sub>176</sub> wurde eine Wärmeflusskurve mit zwei Maxima erhalten. Der zweite Anstieg des Wärmeflusses gegen Ende der Reaktion kann als Hinweis auf eine Sekundärnukleation angesehen werden. Diese wurde bereits oben als Ursache für die Polydispersität der Latizes bei Verwendung der verzweigten Stabilisatoren diskutiert, so dass die Reaktionskalorimetrie diese Annahme stützt.

## 7.5 Eigenschaften der elektrosterisch stabilisierten Latizes

Die bisherigen Untersuchungen konnten zeigen, dass bei Verwendung der PS-*b*-P(NaGlu)-Copolymere als Stabilisatoren elektrosterisch stabilisierte Latexteilchen entstehen. Dabei hat die Molekülarchitektur der eingesetzten Polymere einen deutlichen Einfluss auf den Reaktionsverlauf sowie die Stabilisatoreffizienz, was durch eine unterschiedliche Anordnung der Polyelektrolytketten (Abb. 7.2) erklärt werden kann. Es stellte sich nun die Frage, ob sich diese Unterschiede der Stabilisatoren ebenfalls in den Eigenschaften der Latizes wiederfinden. Hierzu wurden der Einfluss der nachträgliche Zugabe von Fremdsalz und die elektrophoretischen Mobilitäten in Abhängigkeit von Salzgehalt und pH-Wert untersucht.

### 7.5.1 Stabilität gegenüber Fremdsalz

Zur Untersuchung des Fremdsalzeinflusses wurden die jeweiligen Latexprouben sehr stark mit einer Natriumchloridlösung im Konzentrationsbereich zwischen  $10^{-4}$  M und 3 M verdünnt (1  $\mu$ l Latex- in 25 ml Salzlösung) und anschließend die Teilchengröße mittels dynamischer Lichtstreuung bestimmt. Für jeweils einen verzweigten und linearen Stabilisator sind die erhaltenen Daten in Abbildung 7.6 dargestellt.



**Abbildung 7.6:** Einfluss von NaCl auf die Teilchengröße bei Verwendung eines verzweigten (links) sowie linearen (rechts) polymeren Stabilisators. Prozentzahlen nennen den Stabilisatorgehalt; Verbindungslinien dienen nur der Übersicht.

Bei beiden untersuchten Latexprouben findet man ein ähnliches Verhalten: Über einen weiten Konzentrationsbereich an zugesetztem Natriumchlorid ändert sich die



Teilchengröße im Rahmen der Messgenauigkeit nicht. Erst nach Überschreiten einer bestimmten Konzentration an Fremdsalz kommt es durch Koagulation zu einer deutlichen Vergrößerung des Teilchendurchmessers, die auch durch längeres Behandeln mit Ultraschall nicht verhindert oder aufgelöst werden kann. Für Salzkonzentrationen oberhalb dieser Koagulationskonzentration kann schon während der Messung ein kontinuierlicher Anstieg der Teilchengröße beobachtet werden.

Ein Einfluss der Molekülarchitektur der Stabilisatoren spiegelt sich in der jeweiligen Koagulationskonzentration wider: Im Falle des verzweigten Stabilisators tritt eine Koagulation der Teilchen bereits ab einer Konzentration von etwa 0.3 M Natriumchlorid auf, während das lineare Polymer die Latizes bis zu einer Fremdsalzkonzentration von 1 M stabilisiert. Durch eine größere radiale Schicht der Polyelektrolytketten, wie sie durch die linearen Polymere entsteht, können zugegebene Ladungen besser und bis zu höheren Konzentrationen kompensiert werden. Es ist anzunehmen, dass diese hydrodynamische Schicht aufgrund von Ladungsabschirmung komprimiert wird, jedoch konnte dies hier experimentell nicht gefunden werden. MÜLLER beobachtete eine solche Komprimierung anhand einer steten Abnahme des Teilchendurchmessers bis zum Erreichen der Koagulationskonzentration, die sich abhängig vom Stabilisatorgehalt zwischen 0.18 und 0.56 M NaCl bewegte. Da die Konturlänge des hydrophilen Segmentes des hier verwendeten linearen Blockcopolymers jedoch deutlich kleiner ist als die des von MÜLLER verwendeten Polyelektrolytblockcopolymers, kann davon ausgegangen werden, dass die Abnahme des Teilchendurchmessers im Bereich der Messgenauigkeit liegt und somit nicht detektiert werden kann. Für die verzweigten Stabilisatoren ist ohnehin ein solcher Effekt nicht zu erwarten, da die radiale Ausdehnung der hydrodynamischen Schicht noch kleiner ist. Für ausschließlich elektrostatisch stabilisierte Teilchen, wie man sie bei Verwendung von SDS als Tensid erhält, werden um eine Größenordnung niedrigere Koagulationskonzentrationen im Bereich von 0.03 M NaCl gefunden [131].

Die deutlich höhere kritische Koagulationskonzentration im Vergleich zu SDS bestätigt somit die elektrosterische Stabilisierung der Latexteilchen.

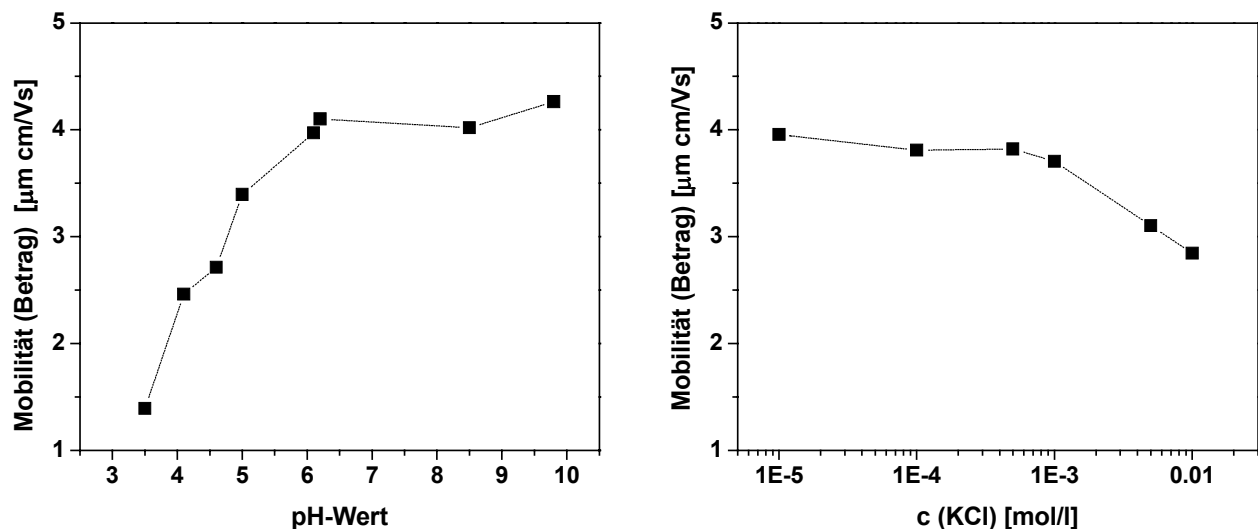
### 7.5.2 Elektrophoretische Mobilität

Die verwendeten Polyelektrolytblockcopolymere erzeugen auf den Latexpartikeln negative Oberflächenladungsdichten, deren Wert jedoch signifikant vom pH-Wert abhängt, da es sich bei den Carboxylgruppen nur um schwache Elektrolyten handelt. Es ist daher zu erwarten, dass sich in Abhängigkeit des pH-Wertes die elektrophoretische Mobilität der Latizes ändert. Aufgrund von Abschirmungseffekten sollte eine Änderung des Salzgehaltes ebenfalls einen Einfluss ausüben.

Zur Durchführung der Messungen wurden die Latexprouben der Kalorimeterversuche verwendet. Diese wurden zuvor zur Entfernung der Natronlauge zwei Tage gegen doppelt deionisiertes Wasser dialysiert. Die Latexproube, die unter Verwendung des linearen Stabilisator  $l\text{-S}_{57}\text{-NaG}_{274}$  hergestellt wurde, enthielt zudem noch nicht umgesetztes Styrol, welches durch Wasserdampfdestillation entfernt wurde.

Die elektrophoretischen Mobilitäten wurden jeweils über einen Bereich des pH-Wertes von 3.5 bis 11 salzfrei, d. h. ohne weiteren Salzzusatz, gemessen, während zur Messung der Salzabhängigkeit die Salzkonzentration zwischen  $10^{-5}$  und  $0.01$  M Kaliumchlorid variiert wurde.

Der qualitative Verlauf der Messkurven unterscheidet sich für die verzweigten und linearen Stabilisatoren nicht, so dass sich die Diskussion der Daten nur auf den mit dem verzweigten Stabilisator  $b(\delta)\text{-S}_{63}\text{-NaG}_{176}$  hergestellten Latex mit einer Oberflächenladungsdichte von  $5.2 \mu\text{C}/\text{cm}^2$  beschränkt (Abb. 7.7).



**Abbildung 7.7:** Elektrophoretische Mobilität eines  $b(\delta)\text{-S}_{63}\text{-NaG}_{176}$ -stabilisierten Latex in Abhängigkeit des pH-Wertes ohne Salzzusatz (links) sowie der Salzkonzentration (rechts).

Die elektroforetische Mobilität nimmt erwartungsgemäß mit steigendem pH-Wert zu und nähert sich ab etwa pH 6 asymptotisch einem Maximalwert. Ein steigender pH-Wert bedingt die sukzessive Deprotonierung der Carboxylfunktion der Glutaminsäure, wodurch ebenfalls die Oberflächenladung der Partikel steigt. Ab einem pH-Wert von 6 liegen bereits fast alle Säuregruppen deprotoniert vor, so dass eine weitere Zugabe von Base nahezu keine Veränderung mehr verursacht. Unabhängige Messungen der Teilchengrößen in Abhängigkeit des pH-Wertes ergaben keine messbaren Veränderungen der Teilchengrößen. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Änderung der Mobilität durch die Änderung der Oberflächenladung der Teilchen bestimmt wird und eine Änderung der Teilchengröße nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Im Falle der Salzabhängigkeit ändert sich die gemessene Mobilität nur wenig und nimmt mit steigender Salzkonzentration geringfügig ab. VORWERG et al. [137] untersuchten elektroforetische Mobilitäten von Modell-Latizes und verglichen diese mit theoretischen Berechnungen. Im Falle von mit Polyelektrolytblockcopolymeren elektrosterisch stabilisierten Latexteilchen fanden sie keine ausgeprägte Salzabhängigkeit. Dieses Verhalten konnte somit mit den vorliegenden Messungen ebenfalls bestätigt werden.

## 8 Polypeptid-Blockcopolymere als Wirkstoff-Trägersysteme

Im nachfolgenden Kapitel werden Versuche beschrieben, die in Kooperation mit PROF. DR. J. A. WERNER und DR. A. DÜNNE, Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg, durchgeführt wurden. Dabei wurden Polypeptid-Blockcopolymere als ‚Drug-Carrier‘-System für Zytostatika in der Krebstherapie eingesetzt und in Tierversuchen getestet. Diese Versuchsreihe soll allerdings nur als erster Vorversuch verstanden werden, um eine neue Vorgehensweise zur Bekämpfung von Lymphknoten-Metastasen zu untersuchen. Für weitergehende Aussagen sind jedoch noch zusätzliche Versuchsreihen zur Kontrolle und Optimierung dieser ersten Ergebnisse erforderlich.

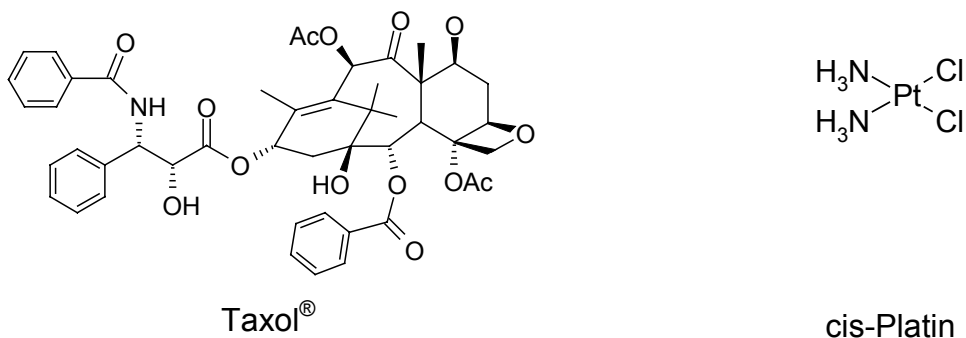
Bei 90 Prozent der malignen, d. h. bösartigen, Tumore der oberen Luft- und Speisewege handelt es sich um Plattenepithelkarzinome, die sich durch eine lymphogene Metastasierung auszeichnen. Die Lebenserwartung der Patienten wird dabei weniger durch die Größe des Primärtumors bestimmt, der meist durch Operation und/oder Strahlentherapie entfernt werden kann, sondern vom Ausmaß der Metastasierung. Liegen histologisch gesicherte Halslymphknotenmetastasen vor, so reduziert sich die 5-Jahres-Überlebensrate drastisch. Eine chemotherapeutische Behandlung der Metastasen durch eine hämatome (über die Blutgefäße erfolgende) Verabreichung von Zytostatika ist meist nur in einem geringen Maße erfolgreich, was auf eine zu geringe Zytostatikakonzentration in den Lymphknoten zurückgeführt werden kann [138]. Eine Verbesserung der Wirkungsweise des verabreichten Zytostatikums könnte durch eine interstitielle Injektion, d. h. Injektion in den Primärtumor oder im Falle entfernter Lymphknotenmetastasen in das angrenzende Gewebe, erzielt werden. Diese lymphogene Applikation ist jedoch nur sinnvoll, wenn das Zytostatikum vorwiegend lymphogen transportiert wird oder in ein entsprechendes Trägersystem eingebunden ist. Ein kolloidales Trägersystem erscheint dabei Erfolg versprechend, da zur Lymphographie, der radioaktiven Markierung von Lymphknoten, bereits modifizierte Kolloide erfolgreich verwendet werden.

Als Zytostatika wurden das zur Behandlung von Plattenepithelkarzinomen im Hals-Kopf-Bereich bereits anerkannte ‚cis-Platin‘ sowie das sehr wirkungsvoll erscheinende Taxol [139] gewählt.

Der quadratisch-planare Komplex *cis*-Diamin-dichloro-Platin(II) – oft nur als ‚cis-Platin‘ bezeichnet – zeigt im Gegensatz zum analogen *trans*-Komplex zytotoxische

Wirkung. In wässriger Lösung entsteht durch Verlust der beiden Chlor-Liganden der positiv geladene und somit elektrophile Aqua-Komplex, der die eigentliche Wirkform darstellt. Er bewirkt die Vernetzung der DNA-Stränge - bevorzugt durch Quervernetzung der Einzelstränge - und hemmt dadurch die Zellteilung. Eine Variante des cis-Platins stellt das sogenannte ‚Carboplatin‘ dar, bei dem ein Cyclobutan-Dicarboxylat-Ligand die beiden Chlor-Liganden ersetzt, wodurch sich die Stabilität des Komplexes erhöht. Carboplatin zeichnet sich durch gleiche Wirksamkeit, jedoch geringere Nebenwirkungen gegenüber cis-Platin aus.

Taxol<sup>®</sup> (Paclitaxel) aus der Gruppe der Taxane wird aus der Rinde der pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia*) gewonnen bzw. partialsynthetisch hergestellt. Seine Wirkweise beruht auf einer Blockierung des Zellzyklus durch Beeinträchtigung des Spindelapparates, was zum Absterben der Zelle führt. Da Taxol stark toxisch ist, wird die Chemotherapie meist von starken Nebenwirkungen begleitet. Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit ist die Suche nach geeigneten Darreichungsformen bereits seit einigen Jahren Gegenstand intensiver Forschung [140].



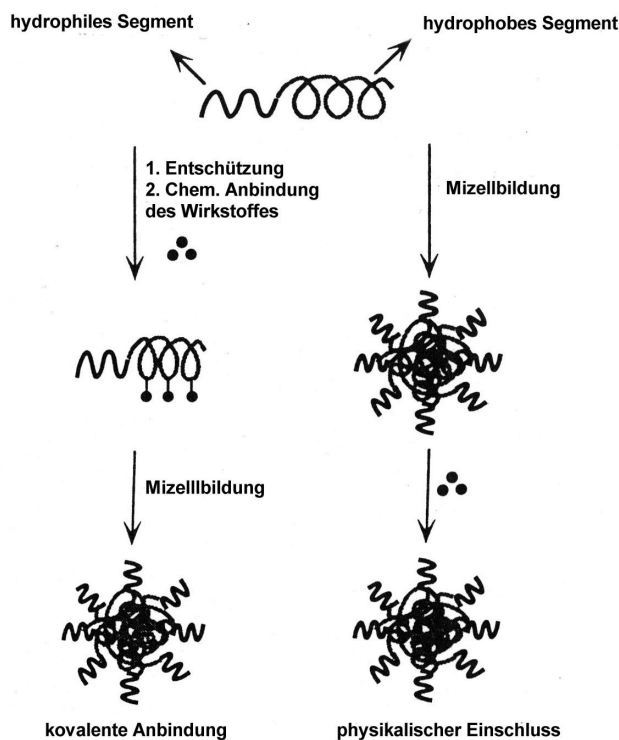
**Abbildung 8.1:** Chemische Struktur der verwendeten Zytostatika: Taxol (links) und cis-Platin (rechts).

Wie die Eingangserläuterungen gezeigt haben, erscheint der Einsatz eines kolloidalen ‚Tracer‘-Systems zur Applikation der beiden vorgestellten Zytostatika sinnvoll. Als Anforderungen an ein solches Trägersystem müssen hierbei neben einer definierten, beschränkten Größe vor allem eine gute Bioverträglichkeit sowie lange Zirkulationszeiten im Organismus genannt werden. Die Verteilung des Trägersystems und somit des Wirkstoffes hängt dabei in starkem Maße von den Oberflächeneigenschaften des Trägersystems wie Hydrophilie und sterische Stabilität ab. Der Einsatz kolloidaler Trägersysteme auf der Grundlage biokompatibler Blockcopolymere für verschiedenste Wirkstoffe wird seit Jahren von mehreren Arbeitsgruppen intensiv erforscht [141].

Werden amphiphile Blockcopolymere verwendet, kann in wässrigem Medium ein lipophiler Wirkstoff in den hydrophoben Kern der Mizelle eingeschlossen werden, während der hydrophile Polymerblock die Stabilisierung garantiert. Eine andere Vorgehensweise besteht darin, das Wirkstoffmolekül über geeignete funktionelle Gruppen chemisch an das Polymer zu binden.

Bei fast allen der bisher beschriebenen biokompatiblen Blockcopolymeren besteht das hydrophile Segment aus Polyethylenglycol [141,142]. Dieses ist bei Raumtemperatur unabhängig vom Polymerisationsgrad vollständig in Wasser löslich und zeichnet sich durch positive Eigenschaften in pharmazeutischer Hinsicht, wie z. B. geringe Proteinadsorption, aus.

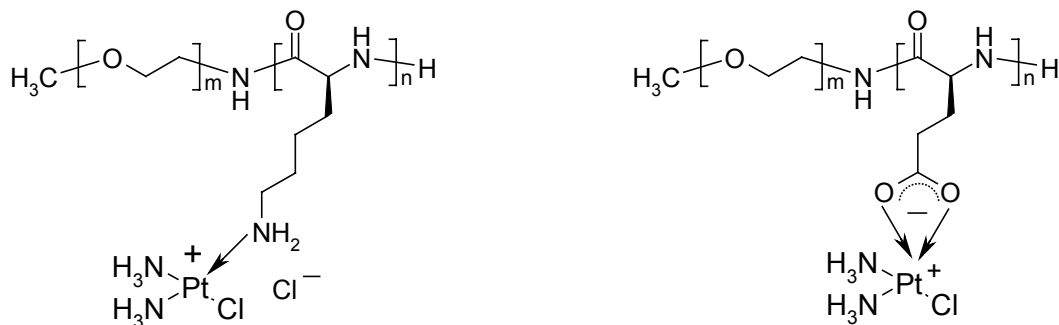
Polyethylenglycol-*block*-poly(asparaginsäure)-Copolymere wurden von KATAOKA et al. bereits vielfach als Trägersysteme für verschiedene Anti-Krebs-Mittel eingesetzt [143]. Diese Blockcopolymere wurden mittels ringöffnender NCA-Polymerisation unter Verwendung eines aminofunktionalisierten Polyethylenglycols als Makroinitiator synthetisiert. Da die  $\beta$ -ständige Carboxylgruppe der Asparaginsäure eine Benzylschutzgruppe trägt, wird somit zunächst ein amphiphiles Blockcopolymer erhalten, das in Wasser Mizellen bildet. Nach Entfernen der Schutzgruppen steht ein doppelhydrophiles Blockcopolymer zur Verfügung, dessen Säurefunktionen zur chemischen Anbindung eines Wirkstoffes geeignet sind. Somit kann das einmal synthetisierte Polymer auf unterschiedliche Weise als Trägersystem genutzt werden (Abb. 8.2).



**Abbildung 8.2:** PEG-*b*-P(Bzl-Asp)-Copolymer als variables Trägersystem zur chemischen und physikalischen Einbindung von Wirkstoffen [141].

Im Falle des cis-Platins handelt es sich um einen Wirkstoff, der durch eine Komplexierungsreaktion an das Trägersystem gebunden werden kann. Daher wurden für die hier beschriebenen Versuche PEG-*b*-P(Glu) sowie PEG-*b*-P(Lys) als Polymere gewählt, da beide über funktionelle Gruppen zur Komplexierung verfügen. Im Falle der Glutaminsäure-Polymere entsteht bei der Komplexierungsreaktion ein polymer-analoges Carboplatin, da die beiden Chlor-Liganden durch die Carboxylfunktion der Glutaminsäure-Reste ersetzt werden. Die Komplexierung kann sowohl intra- als auch intermolekular erfolgen, so dass eine Vernetzung von Polymerketten möglich ist. Zudem hydrophobisiert der komplexierte Wirkstoff das Polyaminosäuresegment, wodurch es zur Mizellbildung kommt. Ein analoges Träger-System mit Asparaginsäure als komplexierendes Monomer wurde bereits von KATAOKA et al. [144] hergestellt und charakterisiert.

Die Verwendung basischer Aminosäuren zur Komplexierung des cis-Platins wird in der Literatur als wenig sinnvoll erachtet, da sehr stabile Komplexe entstehen, die keine weitere Ligandensubstitution mehr zulassen und somit keine Aktivität zeigen. Aufgrund anderer Untersuchungen ist jedoch bekannt, dass positiv geladene Trägersysteme weitaus bessere Transvektionseigenschaften als negativ geladene Substanzen besitzen, weshalb die Verwendung von PEO-*b*-P(Lys) dennoch Erfolg versprechend erscheint [145].



**Abbildung 8.3:** Chemische Struktur der verwendeten Träger-Systeme für cis-Platin.

Die Synthese der Polymere sowie die Komplexierungsreaktionen mit cis-Platin wurden analog zu Literaturvorschriften durchgeführt [50, 144]. Zur Entfernung nicht komplexierten Wirkstoffes wurden die Proben ultrafiltriert (MWCO: 1000g/mol) und danach unter Verwendung von ‚*Macrosep Centrifugal Concentrators*‘ aufkonzentriert. Die ersten Lösungen wurden zunächst gefriergetrocknet, was jedoch eine schlechte Redispersierbarkeit zur Folge hatte. Daher wurden nachfolgende Proben in Lösung belassen. Der Plattingehalt der hergestellten Proben wurde im Labor Rolf Sachse, Berlin, durch Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt. Die ermittelten Werte sind in

Tabelle 8.1 zusammengestellt. Es fällt auf, dass die Polylysin-Proben deutlich weniger Platin enthalten als die entsprechenden Polyglutaminsäureproben. Dies widerspricht bereits der Annahme, dass in Verbindung mit Aminogruppen sehr stabile Komplexe entstehen. Es wurden allerdings keinerlei Versuche zur Optimierung der Reaktion, z. B. durch Änderung des pH-Wertes, unternommen.

Taxol<sup>®</sup> ist ein hydrophober Wirkstoff, der aufgrund seines relativ hohen Molekulargewichtes (854 g/mol) in wässrigem Medium nur schwierig in einem hydrophoben Mizellkern zu stabilisieren ist. In der Literatur wurden zahlreiche Versuche beschrieben, ein geeignetes Trägersystem für diesen Wirkstoff zu finden [140].

Für die vorliegende Versuchsreihe wurde das amphiphile Copolymer Polyethylenglycol-*block*-poly(glutaminsäure-5-benzylester) als mizellarer Träger gewählt. Dazu wurde sowohl das Taxol<sup>®</sup> als auch das Polymer in THF gelöst, mit Wasser verdünnt und anschließend das organische Lösungsmittel unter Vakuum wieder entfernt.

Da nur insgesamt 5 mg Taxol<sup>®</sup> zur Verfügung standen, konnte keinerlei Analytik an der Probe vorgenommen werden.

**Tabelle 8.1:** Platingehalte der hergestellten Trägersysteme. Die mit (a) gekennzeichneten Proben wurden gefriergetrocknet und als Feststoff analysiert; restliche Analyseergebnisse beziehen sich auf wässrige Lösungen.

Polymer	Platingehalt	
	[mg/kg]	[Gew.-%]
PEG-b-P(Glu)	210420	21.04 <sup>a</sup>
	11110	1.11
	8610	0.86
PEG-b-P(Lys)	2980	0.30 <sup>a</sup>
	150	0.015
	36.7	0.004

Die Auswahl eines geeigneten Tiermodells hat grundlegende Bedeutung für die Aussagekraft der Ergebnisse: Trotz umfassender Kenntnis des Lymphgefäßsystems und der Topographie der Lymphknoten, ist die Ratte als Versuchstier hier nicht geeignet, da die Plattenepithelkarzinome bei Ratten in der Regel hämatom metastasieren und somit gerade die lymphogene Metastasierung nicht untersucht werden kann.

Das beim weißen Neuseelandkaninchen auftretende Plattenepithelkarzinom VX2 zeichnet sich durch eine lymphogene Metastasierung aus, so dass dieses für die Versuchsreihe gewählt wurde. Nach Anzüchten der VX2-Karzinomzellen in der



Oberschenkelmuskulatur der Kaninchen werden diese als Zellsuspension isoliert. Durch Injektion dieser Zellsuspension in die Ohrmuschel eines anderen Kaninchens wird dort ein Tumor induziert (Abb. 8.4).

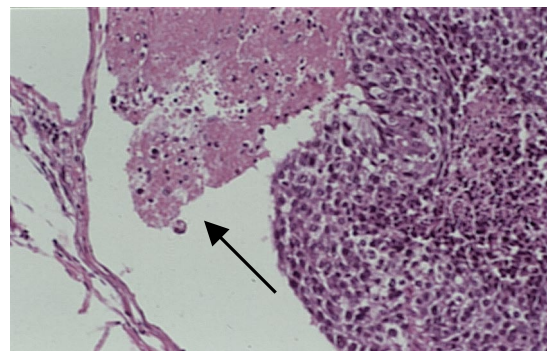
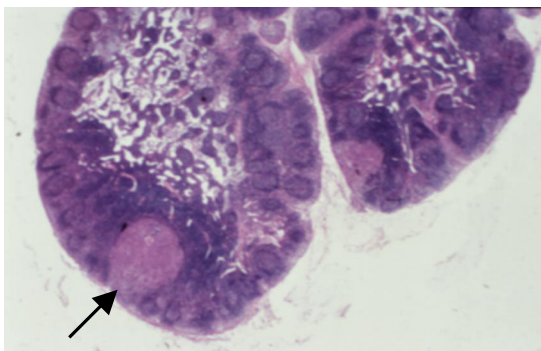


**Abbildung 8.4:** Tumor in der Ohrmuschel des Kaninchens nach 8 Tagen Wachstum.

In Vorversuchen wurden zunächst das Tumorstadium sowie der zeitliche Verlauf der Metastasierung beobachtet und untersucht: Erste Mikrometastasen konnten nach acht Tagen Tumorstadium im nächstliegenden Lymphknoten festgestellt werden.

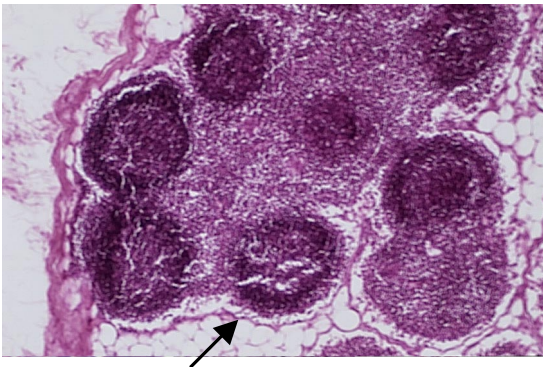
Aus diesem Grund wurden die hergestellten Wirkstoffsysteme ab dem achten Tag nach Tumorstadium je dreimal (je 0.3 ml Probenlösung) über einen Zeitraum von 14-21 Tagen in die Ohrmuschel injiziert.

Das Kontrolltier (ohne Injektion von Wirkstoff) zeigte nach 21 Tagen Tumorstadium ausgeprägte, makroskopisch sichtbare Metastasen in den nächstliegenden Lymphknoten. In den zugehörigen histologischen Schnitten konnten nicht nur Metastasen im Lymphknoten, sondern auch Tumorzellen im zuführenden (afferenten) Lymphgefäß gefunden werden, was eine lymphogene Metastasierung beweist (Abb. 8.5).



**Abbildung 8.5:** Histologische Schnitte von Lymphgewebe des Kontrolltieres ohne Behandlung zeigen deutlich Metastasen im Lymphknoten (rechts, mit Pfeil gekennzeichnet, 10fache Vergrößerung) sowie Tumorzellen im afferenten Lymphgefäß (links, Tumorzellen mit Pfeil gekennzeichnet, 200fache Vergrößerung).

Bei den Tieren, welche die Wirkstoffsysteme erhalten haben, waren die Lymphknoten zwar in allen Fällen vergrößert, es wurden allerdings keine Metastasen bei den histologischen Untersuchungen gefunden. Auffällig war die Häufung hyperplastischer Sekundärfollikel in den Lymphknoten, die als Immunoantwort nach Kontakt mit B-Zellen entstehen. Trotz einer nur geringen Zahl von zwölf Versuchstieren konnten Unterschiede in den eingesetzten Wirkstoff-Systemen festgestellt werden: Bei gleicher injizierter Probenmenge, aber geringerem Platingehalt zeigten die Lysin- eine ebenso gute Wirkung wie die Glutaminsäure-Trägersysteme, was auf eine – absolut gesehen – höhere Wirksamkeit schließen lässt. Dies widerspricht der in der Literatur vertretenen Ansicht, dass solche Trägersysteme ungeeignet für cis-Platin seien. Die Verabreichung der Taxol-Proben wurde mit Haarausfall als Nebenwirkung begleitet.



**Abbildung 8.6:** Lymphknoten nach Verabreichung von Wirkstoffsystemen: Häufung von Sekundärfollikel (mit Pfeil gekennzeichnet; 100fache Vergrößerung).

Diese Versuche zeigen, dass der Ansatz, lymphogene Metastasierung durch Einsatz eines lymphgängigen Wirkstoffsystems zu behandeln, Erfolg versprechend ist. Polyethylenglycol-*block*-poly(aminosäure)n konnten hierbei als geeignete Trägersysteme für die Zytostatika cis-Platin und Taxol<sup>®</sup> eingesetzt werden.

## 9 Zusammenfassung und Ausblick

Polypeptid-Blockcopolymerer stellen sowohl unter strukturellen Gesichtspunkten als auch in Bezug auf pharmazeutische und medizinische Anwendungen eine interessante Substanzklasse dar. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Synthese und Eigenschaften von linearen und verzweigten Polypeptid-Blockcopolymeren. Diese wurden hinsichtlich ihres Aggregationsverhaltens in fester Phase sowie in wässriger Lösung charakterisiert. Zudem wurden als exemplarische Anwendung die Stabilisatoreigenschaften der Blockcopolymerer in der Emulsionspolymerisation untersucht. Die Frage nach dem Einfluss der Topologie auf die Eigenschaften der Polypeptid-Blockcopolymerer stellte dabei einen wichtigen Aspekt der Untersuchungen dar. Als Beispiel für eine pharmazeutische Anwendung wurden bioverträgliche Polypeptid-Blockcopolymerer als Trägersysteme für zwei verschiedene Zytostatika eingesetzt und getestet.

Die Synthese der Polypeptid-Blockcopolymerer erfolgte nach einem zweistufigen Schema: Zunächst wurden ein- bzw. mehrfach aminofunktionalisierte Polymere mittels lebender anionischer Polymerisation synthetisiert, welche im Anschluss als Makroinitiatoren für die ringöffnende Polymerisation von  $\alpha$ -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden fungierten. Die monofunktionellen Makroinitiatoren wurden durch Polymerisation von Styrol oder 1,3-Butadien mit anschließender Funktionalisierung des lebenden carbanionischen Kettenendes mit einem Chlorsilan-Derivat erhalten. Die Darstellung der polyfunktionellen Makroinitiatoren erfolgte über die Synthese eines Blockcopolymerer unter Verwendung des funktionalisierten Styrol-Derivates 4-[*N,N*-bis(trimethylsilyl)aminomethyl]styrol in Kombination mit Styrol. Die Variation der Blocklänge des aminofunktionalisierten Segmentes ermöglichte die Synthese von Makroinitiatoren unterschiedlichen Funktionalisierungsgrades. Ein polyfunktioneller Makroinitiator bestehend aus Polybutadien konnte aufgrund synthetischer Schwierigkeiten nicht erhalten werden. Die Bestimmung des Funktionalisierungsgrades erfolgte im Falle der linearen Makroinitiatoren durch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und teils durch kritische Chromatographie (LACCC), während für die polyfunktionellen Makroinitiatoren das funktionalisierte Precursor-Oligomer mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie analysiert wurde.

Zur Polymerisation der Polypeptidsegmente wurden jeweils die *N*-Carboxyanhydride von  $N_\epsilon$ -Benzyloxycarbonyl-L-lysin oder L-Glutaminsäure-5-benzylester eingesetzt, welche durch Reaktion der freien Aminosäuren mit Triphosgen erhalten wurden. Lineare Polypeptid-Blockcopolymerer wurden vor weiteren Untersuchungen

einer Extraktion mit Cyclohexan unterworfen, um nicht umgesetzten Makroinitiator zu entfernen. Die Gesamtzusammensetzung der Blockcopolymeren wurde aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren bestimmt. Obwohl die GPC-Analytik dieser Substanzklasse mit zahlreichen Schwierigkeiten behaftet ist, konnten für die linearen Blockcopolymeren jedoch mit online-Viskositätsmessungen zahlenmittlere Molekulargewichte bestimmt werden; Molekulargewichtsverteilungen waren bisher nicht zugänglich. Die tatsächlichen Verzweigungsgrade der verzweigten Polypeptid-Blockcopolymeren konnten ebenfalls bisher nicht ermittelt werden.

Nach Entfernung der Schutzgruppen an den funktionellen Gruppen der Aminosäureeinheiten wurden amphiphile, teils direkt in Wasser lösliche Polyelektrolyt-blockcopolymeren erhalten.

Die Untersuchung der Festphasenmorphologie wurde an dicken Filmen mit Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) durchgeführt. Hinsichtlich der linearen Polypeptid-Blockcopolymeren konnte die in der Literatur bereits beschriebene hierarchische Struktur, bestehend aus einer lamellaren Überstruktur ( $d = 10\text{-}40\text{ nm}$ ) mit einer hexagonalen Packung aus  $\alpha$ -Helices ( $d=1.5\text{ nm}$ ) innerhalb der Polypeptidschichten, bestätigt werden. Im Falle der verzweigten Blockcopolymeren wurde unabhängig vom Volumenbruch der Polypeptidphase ebenfalls eine lamellare Morphologie gefunden. Für eines dieser Blockcopolymeren, das in Bezug auf seine Molekülarchitektur als Sonderfall eines linearen Blockcopolymeren angesehen werden kann,  $b(12)\text{-S}_{188}\text{-ZL}_{54}$ , ist aufgrund der erhaltenen Röntgendaten eine Morphologie aus peristaltisch undulierten Lamellen anzunehmen. Die lamellare Struktur wurde hier durch Transmissionselektronenmikroskopie bestätigt. Um die verzweigte Molekülgestalt mit einer lamellaren Struktur in Einklang zu bringen, wurde ein Strukturmodell angenommen, in welchem das Polymerrückgrat parallel zur Lamellennormalen angeordnet ist und somit die Polypeptidketten parallel zur Lamellenebene vorliegen.

Zur Untersuchung des Aggregationsverhaltens in wässriger Lösung wurden Polybutadien-*block*-poly(natriumglutamat)-Copolymeren gewählt, da die niedrige Glasübergangstemperatur des Polybutadiens die Ausbildung von Gleichgewichtsaggregaten gewährleistet. Die Blockcopolymeren zeigten in Abhängigkeit des pH-Wertes den erwarteten Knäuel-Helix-Übergang des Polypeptidsegmentes. Eine gleichzeitige Veränderung des hydrodynamischen Radius, die auf eine Änderung der Aggregatstruktur hindeuten würde, wurde nur für eines der untersuchten Blockcopolymeren,  $l\text{-B}_{27}\text{-NaG}_{64}$ , festgestellt. Aufgrund der hydrodynamischen Größe der Aggregate wurde das Vorliegen von Vesikeln angenommen. Diese Annahme konnte durch TEM-Aufnahmen mittels Gefrierbruchpräparation gestützt werden.

Lineare und verzweigte Polystyrol-*block*-poly(natriumglutamat)-Copolymere wurden als polymere Stabilisatoren in der Emulsionspolymerisation von Styrol eingesetzt. Signifikante Unterschiede in den Stabilisatoreigenschaften konnten dabei auf die Topologie der Polymere zurückgeführt werden: Aufgrund eines größeren Platzbedarfes der hydrophilen Polypeptidsegmente zeichneten sich die verzweigten Blockcopolymere durch höhere Stabilisatoreffizienz im Vergleich zu linearen Blockcopolymeren aus. Gleichzeitig begünstigen die verzweigten Stabilisatoren jedoch eine Sekundärnukleation, so dass nur im Falle der linearen Stabilisatoren monodisperse Latizes erhalten wurden. Die hydrophilen, geladenen Polymerblöcke bilden eine Korona um das Latexteilchen, wodurch sich eine elektrosterische Stabilisierung derselben ergibt. Die für elektrosterisch stabilisierte Latizes zu erwartende erhöhte Koagulationsstabilität gegenüber Fremdsalzeinfluss wurde bestätigt.

Als Beispiel für eine potentielle Anwendung der untersuchten Substanzklasse wurden bioverträgliche Polyethylenglycol-*block*-polypeptid-Blockcopolymere als Trägersysteme für die Zytostatika Taxol<sup>®</sup> und cis-Platin eingesetzt. In Zusammenarbeit mit der medizinischen Fakultät der Universität Marburg wurden diese Trägersysteme im Rahmen einer neuartigen Behandlung von Lymphknoten-Metastasen im Kopf-Hals-Bereich an Neuseelandkaninchen getestet. Für alle eingesetzten Trägersysteme wurden nach der Behandlung keine Metastasen im Lymphknotengewebe gefunden, so dass die getestete Behandlungsmethode als sehr Erfolg versprechend eingestuft werden kann.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten erste Hinweise auf den Einfluss des Polypeptidsegmentes als zusätzliches Strukturelement sowie zusätzlich der Topologie auf die Eigenschaften der untersuchten Blockcopolymere liefern. Da Strukturbildung sehr stark von molekularen Parametern abhängt, ist eine weitergehende Charakterisierung der Blockcopolymere unerlässlich, um genauere Modellvorstellungen hinsichtlich der molekularen Anordnung innerhalb der Strukturen entwickeln zu können. Zur Weiterentwicklung der bisherigen Modellvorstellung zur Festphasenmorphologie der verzweigten Blockcopolymere könnten weitere detaillierte Röntgenuntersuchungen an Polymerfilmen bei gezielter Variation eines Parameters beitragen. Ein Wechsel des Blockcopolymerensystems zu einem hydrophoben Segment, welches eine selektive Kontrastierung erlaubt, würde eine Abbildung der Morphologien mittels TEM erleichtern. Aufgrund der verschiedenen Stabilisatoreigenschaften der Polymere in der Emulsionspolymerisation kann ebenfalls auf ein unterschiedliches Aggregationsverhalten dieser ‚Makrotenside‘ in wässriger Lösung geschlossen werden. Um dieses Bild zu vervollständigen, wäre es wünschenswert, auch das

Aggregationsverhalten von verzweigten Polypeptid-Blockcopolymeren zu untersuchen. Da aufgrund synthetischer Probleme diese Polymere mit einem ‚weichen‘ hydrophoben Segment nicht zugänglich waren, muss die Entwicklung eines vollkommen neuen Synthesekonzeptes zur Problemlösung beitragen.

# 10 Anhang

## 10.1 Experimentelle Vorschriften

### Allgemeines:

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

THF (BASF AG) wurde durch zweifache Destillation von KOH sowie Na/K-Legierung, Cyclohexan (BASF AG) durch Destillation von Natrium jeweils unter Argon gereinigt. Für anionische Polymerisationen wurden die Lösungsmittel nochmals durch Cryo-Destillation von LiAlH<sub>4</sub> an der Vakuum-Linie unter Hochvakuum getrocknet. DMF (99 %, Aldrich) und CHCl<sub>3</sub> (p.a.) wurden über Nacht auf CaH<sub>2</sub> gerührt und anschließend unter Vakuum destilliert. Niedrigsiedender Petrolether (p.a., Fluka) wurde eingesetzt wie erhalten.

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 [89]

8.5 g (70 mmol) Allylbromid (99 %, Aldrich) in 10 ml Hexamethyldisilazan (HMDS, 97 %, Aldrich) wurden in einer trockenen 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<sup>®</sup> 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.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ [ppm] = 5.9 -5.7 (m, 1H, =CH), 5.2 -5.0 (m, 2H, =CH<sub>2</sub>), 3.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 0.10 (s, 18H, NSi(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**1-(Chlorodimethylsilyl)-3-[N,N-bis(trimethylsilyl)amino]-propan [87]**

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 grün-braune Reaktionsmischung für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die anschließende fraktionierte Destillation im Vakuum ergab 9.9 g (31 mmol, 69 %) des Produktes als klare, farblose, stechend riechende Flüssigkeit.

Siedepkt.: 104 °C, 1mbar.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm] = 2.75 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 1.45 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 0.72 (t, 2H,  $\text{ClSi-CH}_2$ ), 0.43 (s, 6H,  $\text{ClSi-CH}_3$ ), 0.10 (s, 18H,  $\text{NSi}(\text{CH}_3)_3$ ).

**4-[N,N-Bis(trimethylsilyl)aminomethyl]-styrol [89]**

Zu einer Suspension von 21.9 g (0.11 mol) Kalium-N,N-bis(trimethylsilyl)amid in 60 ml Hexamethyldisilazan (HMDS) wurden unter Eiskühlung 15.3 g (0.1 mol) 4-Vinylbenzylchlorid (stabilisiert mit BHT, Aldrich) gelöst in 10 ml HMDS zugetropft, wobei sich an der Eintropfstelle die Lösung orange verfärbte. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Entfernung der entstandenen Salze wurde unter Argon filtriert und das klare, gelbe Filtrat im Vakuum fraktioniert destilliert. Es wurden 12.0 g (0.043 mol, 43 %) des Produktes als klare, leicht gelbliche Flüssigkeit erhalten.

Siedepkt.: 72 °C, 0.05 mbar (Lit. [88]: 90-95 °C, 1.3 mbar).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm] = 7.33, 7.20 (dd (AA'-BB'-Spektrum) 4H, Aryl-H), 6.69 (dd, 1H, =CH), 5.70, 5.18 (2d, 2H, = $\text{CH}_2$ , J = 18 Hz, 11 Hz), 4.08 (s, 2H, Aryl- $\text{CH}_2$ ), 0.07 (s, 18H,  $\text{NSi}(\text{CH}_3)_3$ ).

**Synthese der linearen Makroinitiatoren***Reinigung der Monomere:*

Die Aufreinigung der eingesetzten Monomere erfolgte direkt an der Vakuum-Linie durch Cryo-Destillation von 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 über Nacht auf  $\text{CaH}_2$  gerührt, anschließend auf Dibutylmagnesium kondensiert und mindestens nochmals 1 h gerührt.

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

### Polystyrol-NH<sub>2</sub> [87]

Cyclohexan wurde über Nacht auf  $\text{LiAlH}_4$  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  $50\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Zur Molekulargewichtsbestimmung wurde vor der Zugabe des Funktionalisierungsreagenzes mittels einer zweiseitigen 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 (bezogen auf das Amin) 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.

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 wurde das Zweiphasengemisch mehrere Stunden bzw. über Nacht heftig gerührt. Durch Zugabe von NaOH-Plätzchen wurde das Gemisch alkalisch gestellt und die Phasen im Scheidetrichter getrennt. Die organische Phase wurde mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über  $\text{NaSO}_4$  getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Polymer wurde nach Gefriertrocknung aus der benzolischen Lösung erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm] = 7.35-6.4 (2m, 5H, Ar-H), 2.35-0.9 (m, -CH-, -CH<sub>2</sub>, Polymerrückgrat), 0.0-(-0.3) (m, 8H,  $\text{CHSi}(\text{CH}_3)_2$ ).

### Polybutadien-NH<sub>2</sub>

Destilliertes THF wurde nochmals über Nacht auf LiAlH<sub>4</sub> 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 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.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ [ppm] = 5.6-5.2 (m, =CH-, 1,2-Addukt; -CH=CH-, 1,4-Addukt), 4.95-4.75 (m, 2H, =CH<sub>2</sub>, 1,2-Addukt), 2.2-0.9 (m, -CH-, -CH<sub>2</sub>-, Polymerückgrat), 0.1-(-0.1) (m, 8H, CHSi(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

### Synthese der verzweigten Makroinitiatoren

Das Monomer 4-[*N,N*-Bis(trimethylsilyl)aminomethyl]-styrol wurde ohne weitere Reinigung im Reaktionskolben vorgelegt und entgast. THF, über Nacht auf LiAlH<sub>4</sub> gerührt, wurde eindestilliert. Die Initiierung erfolgte bei -78 °C (Ethanol/Trockeneis-Kühlung) durch Zugabe der zweifachen berechneten Menge an *sec*-Butyllithium. Die dunkelgrüne Reaktionslösung wurde 1 h bei tiefer Temperatur gerührt, bevor zur Bestimmung des späteren Funktionalisierungsgrades ein Precursor entnommen (siehe oben) und mit entgastem Methanol abgebrochen wurde. Anschließend wurde als zweites Monomer vorbereitetes Styrol in den Reaktionskolben eindestilliert, wonach sich die Farbe der Lösung langsam zu braungrün veränderte. Nach weiteren 2 h Reaktionsdauer wurde die Polymerisation durch Zugabe von entgastem Methanol abgebrochen. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert, bevor die Entfernung der Schutzgruppen in gleicher Weise, wie im Falle von PS-NH<sub>2</sub> beschrieben, erfolgte. Die polyfunktionellen Makroinitiatoren wurden nach Gefriertrocknung aus benzolischer Lösung erhalten.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ [ppm] = 7.3-6.4 (2m, Ar-H), 3.9-3.7 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Ar), 2.35-0.9 (m, -CH-, -CH<sub>2</sub>-, Polymerrückgrat).

### Synthese der *N*-Carboxyanhydride [72]

10 g der jeweiligen Aminosäure (*N*<sub>ε</sub>-Z-L-lysin (35.7 mmol; 99 %, Fluka) bzw. L-Glutaminsäure-5-benzylester (42.1 mmol; 99 %, Fluka)) wurden in 250 ml absolutem THF suspendiert und in einer trockenen Argonatmosphäre unter Rühren auf 40 °C erwärmt. 0.36 Äquivalente (bezogen auf Mol eingesetzter Aminosäure) Bis(trichlormethyl)carbonat (Triphosgen, 99 %, Fluka), gelöst in 40 ml THF, wurden langsam zugetropft. Im Falle von *N*<sub>ε</sub>-Z-L-Lys bildete sich schnell eine gelartige Masse, die das Rühren stark erschwerte. Nach beendeter Zugabe des Phosgenierungsreagenzes wurde solange unter Erwärmen weitergerührt (1-2 h), bis sich eine klare Reaktionslösung bildete. In seltenen Fällen war eine weitere Zugabe von wenig Triphosgen zur Vervollständigung der Reaktion erforderlich. Anschließend wurde trockenes Argon in die Reaktionslösung eingeleitet, um gelöstes HCl und überschüssiges Triphosgen zu entfernen. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer vollständig entfernt, und der erhaltene ölige Rückstand kristallisierte beim Abkühlen. Dieses Rohprodukt wurde unter Argon im Gefrierschrank gelagert und erst kurz vor der Polymerisation umkristallisiert. Die Ausbeuten der aufgereinigten *N*-Carboxyanhydride lagen zwischen etwa 75 und 90 %.

#### *Lys-NCA*:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ [ppm] = 7.35 (m, 5H, Ar-H), 6.85 (s, br, 1H, NHC(O), Ring), 5.10 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 4.90 (s, br, 1H, NHC(O), Z-), 4.25 (t, 1H, α-CH), 3.20 (t, 2H, ε-CH<sub>2</sub>), 1.95, 1.75, 1.50 (m, 6H, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>).

Schmp.: 99 °C (Lit.: 101 °C).

#### *Glu-NCA*:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ [ppm] = 7.35 (m, 5H, Ar-H), 6.80 (s, br, 1H, NHC(O), Ring), 5.10 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 4.35 (t, 1H, α-CH), 2.60 (t, 2H, CH<sub>2</sub>C(O)), 2.25, 2.10 (m, je 1H, β-CH<sub>2</sub>).

Schmp.: 94-95 °C (Lit.: 97 °C).

### NCA-Polymerisationen

Zur Aufreinigung des *N*-Carboxyanhydrids wurde das erhaltene Rohprodukt mindestens dreimal aus THF/Petrolether (1:2) umkristallisiert. Anschließend wurde das umkristallisierte Produkt 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 Schlenkcolben eingewogen, evakuiert und in entgastem DMF (Polybutadien-Makroinitiatoren in CHCl<sub>3</sub>) gelöst. Beide Lösungen wurden mittels einer Transfernadel vereinigt und der Reaktionskolben anschließend mit einem Argonballon versehen. Die Reaktionslösung wurde für mindestens 48 h bei

40 °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<sub>2</sub> gekühlt) verwendet. Das Polymer wurde über eine Fritte abgesaugt und im Vakuumtrockenschrank bei 40 °C (Polybutadien-Blockcopolymeren bei 35 °C) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Zuordnung der Signale der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren erfolgte mittels Cosy- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren:

*PS-b-(Z-Lys)-Blockcopolymeren:*

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMF-d<sub>7</sub>) 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<sub>2</sub>-Ar, Z-Lys), 4.15-3.9 (m, 1H, α-CH, Z-Lys), 3.25-3.0 (m, 2H, ε-CH<sub>2</sub>, Z-Lys), 2.3-1.2 (m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, Z-Lys; -CH-, -CH<sub>2</sub>-, PS-Polymerrückgrat); lineare Blockcopolymeren: 0.1-(-0.1) (m, 8H, CHSi(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

*PS-b-(Bzl-Glu)-Blockcopolymeren:*

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMF-d<sub>7</sub>) 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<sub>2</sub>-Ar, Bzl-Glu), 4.20-3.80 (m, 1H, α-CH, Bzl-Glu), 2.8-1.2 (m, CH<sub>2</sub>C(O), β-CH<sub>2</sub>, Bzl-Glu; -CH-, -CH<sub>2</sub>-, Polymerrückgrat, PS); lineare Blockcopolymeren: 0.1-(-0.1) (m, 8H, CHSi(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

*PB-b-(Bzl-Glu)-Blockcopolymeren (linear):*

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 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, =CH<sub>2</sub>, 1,2-Addukt, PB; -CH<sub>2</sub>-Ar, Bzl-Glu), 4.20-3.75 (m, 1H, α-CH, Bzl-Glu), 2.8-0.8 (m, CH<sub>2</sub>C(O), β-CH<sub>2</sub>, Bzl-Glu; -CH-, -CH<sub>2</sub>-, Polymerrückgrat, PB), 0.2-0.0 (m, 8H, CHSi(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

## Entschützung der Polymere

### a) Entfernung der Z-Schutzgruppe mit HBr in Eisessig

1.5-2 g des möglichst fein gepulverten PS-P(Z-L-Lys)-Blockcopolymeren wurden mit 20-30 ml einer 30 Gew.-% Lösung von HBr in Eisessig (Fluka) versetzt und maximal 1.5 h unter Argon gerührt. Die Reaktionslösung wurde anschließend langsam in Wasser oder Natronlauge eingerührt. 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<sup>®</sup>, MWCO: 1000 g/mol). Zur Isolierung der Hydrochloride wurde die Polymerlösung dann mit konz. HCl angesäuert und danach erschöpfend dialysiert. Das Polymer wurde nach Gefriertrocknung der wässrigen Lösung erhalten.

**b) Verseifung des Benzylesters**

Die P(Bzl-Glu)-Blockcopolymere wurden in THF gelöst und mit verdünnter wässriger NaOH versetzt. Es bildete sich meist ein Zweiphasengemisch, das über Nacht heftig gerührt wurde. Der Großteil des organischen Lösungsmittels wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand gegen Wasser dialysiert (MWCO: 1000 g/mol) und die wässrige Lösung anschließend gefriergetrocknet.

**c) Hydrierung zur Entfernung der beiden Schutzgruppen Z und Bzl**

Das Blockcopolymer wurde in einem Lösungsmittelgemisch bestehend aus DMF/Eisessig/H<sub>2</sub>O (etwa 7/5/1, v/v) gelöst, wodurch sich eine trübe Lösung bildete. Zur Verbesserung der Lösungseigenschaften, insbesondere im Falle der Polybutadien-Blockcopolymere, wurde nachträglich noch etwas THF zugegeben. Anschließend wurden mindestens 5 Äquivalente Ammoniumformiat NH<sub>4</sub>CHO<sub>2</sub> (p.a., Fluka) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde entgast und mit Argon belüftet bzw. der Reaktionskolben mit Argon gespült, bevor 250-500 mg Pd/C (10 %, Fluka) als Katalysator zugegeben wurden. In den meisten Fällen konnte nach wenigen Minuten bereits eine heftige Gasentwicklung beobachtet werden. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt; teils wurde nochmals Ammoniumformiat und Katalysator zugegeben und das Reaktionsgemisch einen weiteren Tag gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Lösung über Celite<sup>®</sup> 500 (neutral, Fluka) filtriert, mit Wasser verdünnt und einen Tag dialysiert, um zunächst die eingesetzten Lösungsmittel zu entfernen. Die Lösungen wurden dann entweder mit NaOH (Glu-Polymere) oder HCL (Lys-Polymere) versetzt, um die jeweiligen Salze zu bilden und damit die Löslichkeit der Polymere zu gewährleisten. Die Polymerlösungen wurden dann entweder weiter dialysiert oder ultrafiltriert (MWCO: 1000 g/mol). Die Polymere wurden nach Gefrier Trocknung der wässrigen Lösung erhalten.

**Emulsionspolymerisationen**

Es wurden 10-50 mg (1-5 Gew.-% bezogen auf das eingesetzte Monomer) des jeweiligen Blockcopolymers eingewogen und in 2 g 0.1 N NaOH sowie 2 g Wasser gelöst. Nach Zugabe von 1 g destilliertem Styrol wurden kurz vor Beginn der Emulsionspolymerisation 32 mg des Azoinitiators VA-086 (2,2'-Azobis[2-methyl-N-(2-hydroxyethyl)propionamid], Wako) zugegeben und durch Umschütteln durchmischt. Es wurde anschließend bei einer Innentemperatur von 80 °C in einem drehbaren Thermostaten 15 h (meist über Nacht) polymerisiert. Die abgekühlten Proben wurden anschließend filtriert (entweder G2-Glassinterfritte oder Büchnertrichter mit doppeltem Filterpapier), um entstandenes Koagulat abzutrennen.

**Herstellung von Polymerlösungen für DLS, CD-Spektroskopie und TEM**

Zur Herstellung und Verdünnung von wässrigen Polymerlösungen wurde ausschließlich doppelt-deionisiertes Wasser (Leitfähigkeit maximal  $15 \mu\text{Scm}^{-1}$ ) verwendet. Die Polymere wurden direkt in Salzlösungen (NaCl) der jeweiligen Konzentration gelöst. Lösungen für TEM-Untersuchungen wurden ohne Salzzusatz hergestellt. In sehr wenigen Ausnahmefällen wurden die Lösungen kurz ultrabeschallt. Anschließend wurden die Polymerlösungen durch Spritzenfilter (400-800 nm, Schleicher und Schuell) filtriert; im Falle der Lichtstreuungsmessungen direkt in vorbereitete Quarzküvetten.

**Präparation von Polymerfilmen zur Strukturuntersuchung**

Die Polymerfilme wurden auf einer mit Teflon beschichteten Aluminiumfolie (BYTAC<sup>®</sup>) präpariert. Dazu wurden 5-10 % Lösungen der Polymere in DMF über Nacht bei 40 °C getrocknet. Diese Filme wurden ohne weitere Behandlung für Röntgen- und TEM-Untersuchungen verwendet.

## 10.2 Methoden

### NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte an einem Bruker DPX-Spektrometer (400 MHz) in den deuterierten Lösungsmitteln  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMF-d}_7$  oder  $\text{D}_2\text{O}$  bei Raumtemperatur. Signale von Spuren nicht-deuterierten Lösungsmittels dienten als interne Standards bezogen auf Tetramethylsilan. Zur Bearbeitung der Spektren wurde das Programm Win-NMR (Bruker) verwendet.

### MALDI-TOF-Massenspektrometrie

MALDI-TOF-Massenspektren wurden mit einem Kratos Kompact MALDI 3 der Firma Shimadzu aufgenommen. Zur Kalibrierung wurde Insulin verwendet. Die Proben wurden mit Dihydroxybenzoesäure (DHB) als Matrix und Silbertrifluoracetat ( $\text{AgTFA}$ ) als Adduktbildner vermessen. Die Probenpräparation erfolgte in THF in einem Molverhältnis von Probe : Matrix : Adduktbildner von etwa 1 : 700 : 70. Etwa 2  $\mu\text{l}$  der Probenlösung wurden auf dem Probenträger eingedampft.

### 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 3 x 30 cm Säulen vom Typ MZ-SDV (5  $\mu\text{m}$  Korngröße) mit den Porengrößen  $10^3$ ,  $10^5$  und  $10^6$  Å bei 30 °C durchgeführt.

GPC-Analytik der Polypeptid-Blockcopolymere wurde in 0.5 Gew.-% Lösung von LiBr in Dimethylacetamid (DMA) bei 70 °C durchgeführt. Hierzu wurden 4 x 30 cm 10  $\mu\text{m}$  PSS-Gram<sup>®</sup>-Säulen (PSS, Mainz) mit den Porengrößen 30, 30, 100 und 3000 Å verwendet. Neben einem RI- sowie UV-Detektor war zusätzlich ein differentielles Viskosimeter (Viscotek H502B) angeschlossen.

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 eluiert. Standard-Eichkurven wurden unter Verwendung von Polystyrol- bzw. Polybutadien-Standards (PSS, Mainz) erstellt. Zur Erstellung der universellen Kalibrierung ( $\log([\eta] \cdot M)$  vs.  $V_e$ ) wurden Polystyrol-Standards verwendet. Molekulargewichte sowie Molekulargewichtsverteilungen wurde mit dem Programm-Paket NTEqGPC V5.1.5 (hs GmbH) berechnet.

### Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LACCC)

Kritische Chromatographie wurde an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Berlin, von DR. JANA FALKENHAGEN durchgeführt. Es wurde ein Hewlett Packard HPLC-System (HP 1090) mit Verdampfungs-Lichtstredetektor (SEDEX 45, ERC) verwendet. Als Trennsäule wurde eine 25 x 0.4 cm SGX NH<sub>2</sub> (mit Aminopropyltriethoxysilan modifiziertes Silicagel, Separon) mit einer mittleren Korngröße von 7 µm und einer Porengröße von 120 Å eingesetzt. Es wurden jeweils 10 µl einer 1.5 Gew.-% Polymerlösung injiziert und bei 45 °C mit einer Flussrate von 0.5 ml/min vermessen. Als Eluent wurde eine Mischung von THF/n-Hexan (60/40, w/w) eingesetzt, welche der kritischen Lösungsmittelzusammensetzung für Polystyrol bei 45 °C entspricht.

### Röntgenstreuung

#### SAXS:

SAXS-Messungen wurden am MPI für Polymerforschung (MPI-P, Mainz) in der Gruppe von PROF. DR. T. PAKULA durchgeführt. Die Proben wurden unter Verwendung einer Drehanode (Rigaku, 18 kW) in Punktfokus-Geometrie vermessen. Zur Detektion wurde ein zweidimensionaler Detektor der Firma Siemens mit 512x512 Pixel eingesetzt. Als Monochromator für die Cu-K $\alpha$ -Strahlung ( $\lambda = 0.154$  nm) wurde ein doppelter Graphit Monochromator verwendet. Der Strahl hatte eine Dicke von etwa 0.5 mm und der Abstand zwischen Probe und Detektor betrug 1.3 m. Die Filme mit einer Dicke von etwa 1 mm wurden einmal senkrecht zur Filmoberfläche durchstrahlt (*through view*) sowie parallel zur Filmoberfläche (*side view*). Die Messanordnungen sind in Kapitel 5 abgebildet.

Einige der 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  $\lambda = 0.154$  nm (Cu-K $\alpha$ ) 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, 80 und 160 cm einstellbar.

#### WAXS:

Die Röntgen-Pulverdiffraktogramme wurden in  $\theta$ - $\theta$ -Geometrie mit Hilfe eines Diffraktometers D8000 der Firma Bruker unter Einsatz von Cu-K $\alpha$ -Strahlung aufgenommen. Als Detektor wurde ein Szintillations-Zähler verwendet.



### **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.

Zur Abbildung von Latex-Proben wurde eine stark verdünnte Lösung direkt auf das Grid getropft und bei Raumtemperatur unter Normaldruck getrocknet.

Ultradünnschnitte von Polymerfilmen (30-50 nm) wurden mit einem Ultramikrotom der Firma Leica (Modell Ultracut UCT) hergestellt. Die Schnitte wurden in Wasser aufgefangen, auf Grids transferiert und mindestens einen Tag getrocknet. Anschließend wurden die Proben in der Gasphase einer wässrigen  $\text{RuO}_4$ -Lösung (0.4 g  $\text{NaIO}_4$  in 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$  lösen, unter Eiskühlung 60 mg  $\text{RuO}_2$  zugeben, 3 h rühren) kontrastiert (1-3 min).

Die Gefrierbruchpräparation der wässrigen Polymerlösungen (40 g/l) wurde mit einem BAF 400 der Firma Balzers durchgeführt: Nach Cryo-Fixierung in flüssigem Propan und Cryo-Bruch mit Mikrotom wurde im Vakuum 60 s bei  $-100\text{ }^\circ\text{C}$  sublimiert. Die Oberfläche wurde mit Pt/Ir unter einem Winkel von 45 Grad schräg und anschließend zur Stabilisierung mit Kohlenstoff senkrecht bedampft.

### **Dynamische Lichtstreuung (DLS)**

Zur Bestimmung der Teilchengrößen der Latexproben wurde ein *Particle Sizer* Nicomp 370 (Santa Barbara, CA 93117, USA) verwendet, der als Lichtquelle einen He-Ne-Laser ( $\lambda = 632.8\text{ nm}$ ) besitzt. Das Streulicht wird unter einem festen Messwinkel von  $90^\circ$  in 64 Kanälen parallel aufgenommen und korreliert. Die Proben wurden soweit verdünnt, dass bei voller Leistung eine Zählrate von weniger als 300 kHz erreicht wurde. Alle genannten Teilchengrößen sind intensitätsgemittelte Werte.

Dynamische Lichtstreuung zur Untersuchung von wässrigen Lösungen amphiphiler Blockcopolymere wurde mit einem im Institut gebauten Goniometer mit Temperaturkontrolle ( $\pm 0.05\text{K}$ ) und angeschlossenen 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 [67] 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.

### **Reaktionskalorimetrie**

Kalorimetrische Messungen wurden in einem kombinierten isothermen Wärmefluss- / Wärmebilanzkalorimeter ChemiSens RM2-S (Lund, Schweden) durchgeführt, das mit einem 200 ml Glasreaktor und einem Propellerrührer ausgestattet ist. Der Verlauf der Polymerisation wurde mit dem Programm *InTouch 6.0b* (Wonderware® Corporation, Irvine, USA) online verfolgt.

Die Versuche wurden isotherm durchgeführt, wobei die Temperatur des Reaktors durch aktives Anpassen der Umgebungstemperatur konstant gehalten wird. Es wurde folgende Rezeptur verwendet (1 % Stabilisator bezogen auf das Monomer): 215 mg polymerer Stabilisator in 43 ml 0.1N NaOH und 33 ml Wasser, 666 mg VA-086 Initiator in 10 ml Wasser, 22 g Styrol.

### **Bestimmung des Feststoffgehaltes**

Feststoffgehalte der Polymerdispersionen wurden mit einem HR 73 Halogen Moisture Analyzer, Mettler-Toledo, Schweiz, bestimmt. Es wurden etwa 0.5 g Dispersion eingesetzt und bei einer Trocknungstemperatur von 150 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

### **Oberflächenladungstitration**

Oberflächenladungsdichten wurden mit einem Particle Charge Detektor PCD 02, Müttek mit angeschlossenen Titriergerät Titrino (702 SM Titrino, Metrohm) bestimmt. Als Titrierlösung diente eine 0.1 mM kationische Poly(DADMAC)-Lösung. Aus der Ausgleichsgeraden der Einzelmessungen bei verschiedenen Feststoffgehalten einer Probe (etwa 0.1 bis 5 %) wurde die Oberflächenladungsdichte berechnet.

### **Oberflächenspannungsmessung**

Oberflächenspannungsmessungen wurden mit einem K12 Prozessor-Tensiometer der Firma Krüss (Hamburg) mittels der DuNöuy-Ringmethode durchgeführt. Der verwendete Pt-Ir-Ring RI12 hat einen Durchmesser von 9.545 mm und eine Dicke von 0.185 mm. Zur Messung in Abhängigkeit der Konzentration wurde die Polymerlösung (zwischen 1 und 10 g/l) mit einem Dosimaten der Firma Metrohm zutitriert.

### **IR-Spektroskopie**

Die Aufnahme von IR-Spektren erfolgte mit einem BioRad 6000 FT-IR. Die Substanzen wurden als Feststoffe in Reflexion unter Verwendung einer Golden Gate-Anordnung, Single Reflection Diamond ATR, vermessen.

### **Circulardichroismus**

Messungen des Circulardichroismus wurden an einem Spektrometer J 715 der Firma Jasco durchgeführt. Dazu wurden wässrige Polymerlösungen bei einer Konzentration von etwa 0.5 g/l in einer Quarzküvette mit der Dicke 0.5 mm bei Raumtemperatur vermessen (Messparameter: Auflösung: 0.2 nm; Scangeschwindigkeit: 50 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.

Dünne Filme der geschützten Blockcopolymere wurden aus 20 %-Lösungen in DMF durch spin-coating auf Quarzplättchen hergestellt.

### **Elektrophoretische Mobilität**

Die Messungen wurden an einem Zeta-Sizer 4 der Firma Malvern mit einem 5 mV He-Ne-Laser als optische Detektionseinheit bei einer Temperatur von 25 °C durchgeführt. Dazu wurden etwa 10 µl der Latexprobe in 5 ml Salzlösung (KCl) oder mit HCl vortitriertem Wasser verdünnt. Im Falle der pH-abhängigen Messungen wurde der pH-Wert jeder Lösung unmittelbar vor der Messung nochmals mit einer pH-Elektrode bestimmt. Es wurden jeweils mindestens fünf Einzelmessungen durchgeführt und gemittelt.

### 10.3 Abkürzungsverzeichnis

AUZ	analytische Ultrazentrifugation
Bzl	Benzyl-
CD	Circulardichroismus
cmc	<i>critical micelle concentration</i> , kritische Mizellbildungskonzentration
DLS	dynamische Lichtstreuung
DMA	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
Glu	Glutaminsäure
GPC	Gelpermeationschromatographie
LACCC	<i>liquid adsorption chromatography at critical conditions</i>
Lit.	Literatur
Lys	Lysin
MALDI	<i>matrix assisted laser desorption/ionization</i>
NCA	<i>N</i> -Carboxyanhydrid
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i> , kernmagnetische Resonanz
PB	Polybutadien
PD	Polydispersität
PEG	Polyethylenglycol
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	Trifluoracetat
THF	Tetrahydrofuran
TOF	<i>time of flight</i>
WAXS	<i>wide angle X-ray scattering</i> , Röntgenweitwinkelstreuung
WSL	<i>weak segregation limit</i>

## 11 Literaturverzeichnis

- [1] Deming, T. J. *Nature* **1997**, 390, 386.
- [2] Fasman, G. *Poly- $\alpha$ -Amino Acids*, Dekker, New York, **1967**.
- [3] Milner, S. T. *Macromolecules* **1994**, 27, 2333.
- [4] Förster, S.; Antonietti, M. *Adv. Mater.* **1998**, 10 (3), 195.
- [5] Faust, R.; Schlaad, H. *Applied Polymer Science-21<sup>st</sup> Century*, Craver, C. D.; Carraher Jr., Ch. E. (Eds); Elsevier, Oxford, **2000**.
- [6] Hawker, C. J. *Trends in Polym. Sci.* **1996**, 4, 183.
- [7] (a) Bates, F. S.; Frederickson, G. H. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1990**, 41, 525.  
(b) Bates, F. S.; Frederickson, G. H. *Physics Today* **1999**, 32.
- [8] Matsen, M. W.; Schick, M. *Phys. Rev. Lett.* **1994**, 72, 2660.
- [9] Leibler, L. *Macromolecules* **1980**, 13, 1602.
- [10] Matsen, M. W.; Bates, F. S. *Macromolecules*, **1996**, 29, 1091.
- [11] Matsen, M. W.; Bates, F. S. *Macromolecules*, **1996**, 29, 7641.
- [12] Nyrkova, I. A.; Khoklov, A. R.; Doi, M. *Macromolecules*, **1993**, 26, 26.
- [13] Förster, S.; Zisenis, M.; Wenz, E.; Antonietti, M. *J. Chem. Phys.* **1996**, 104 (24), 9956.
- [14] Förster, S.; Khandpur, A. K.; Zhao, J.; Bates, F. S. *Macromolecules* **1994**, 27, 6922.
- [15] Khandpur, A. K.; Förster, S.; Bates, F. S.; Ryan, A. J.; Bras, W.; Bras, I.; Hamley, I. W. *Macromolecules* **1995**, 28, 8796.
- [16] Hajduk, D. A.; Takenouchi, H.; Hillmyer, M. A.; Bates, F. S.; Vilgid, M. E.; Almdal, K. *Macromolecules* **1997**, 30, 3788.
- [17] Bates, F. S.; Schulz, M. F.; Khandpur, A. K.; Förster, S.; Rosedale, J. H.; Almdal, K.; Mortensen, K. *Faraday Discussions* **1994**, 98, 7.
- [18] Burger, C.; Micha, M.; Oestreich, S.; Förster, S.; Antonietti, M. *Europhys Lett.* **1998**, 42 (4) , 425.
- [19] Tuzar, Z.; Kratochvil, P. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1976**, 6, 201.
- [20] Riess, G.; Hurtez, G.; Bahadur, P. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Mark, H. F.; Bikales, N. M.; Overberger, C. G.; Menges, G. (Eds.), Wiley, New York, **1985**.
- [21] Selb, J.; Gallot, Y. *Developments in Block Copolymers*, Goodman, I. (Ed.) Elsevier Applied Science Publishers, London, **1985**.
- [22] Tuzar, Z.; Kratochvil, P. *Surface and Colloid Science*, Matijevic, E. (Ed.), Plenum Press, New York, **1993**.
- [23] Antonietti, M.; Heinz, S.; Schmidt, M.; Rosenauer, C. *Macromolecules* **1994**, 27, 3276.
- [24] Israelachvili, J. N. *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press, London, **1991**.

- [25] Hermsdorf, N. *Dissertation*, Universität Potsdam **1999**, Cuvillier Verlag, Göttingen.
- [26] Krämer, E. *Dissertation*, Universität Potsdam **1999**, Shaker Verlag, Aachen.
- [27] Won, Y.-Y.; Davis, H. T.; Bates, F. S. *Science* **1999**, *283*, 960.
- [28] Zhang, L.; Eisenberg, A. *Science* **1995**, *268*, 1728.
- [29] Discher, B. M.; Hammer, D. A.; Bates, F. S.; Discher, D. E. *Curr. Opinion Coll. Interf. Sci.* **2000**, *5*, 125.
- [30] Szwarc, M. *Nature* **1956**, *178*, 778.
- [31] Szwarc, M.; Levy, M.; Milkovick, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2656.
- [32] Szwarc, M.; van Beylen, M. *Ionic Polymerization and Living Polymers*, Chapman and Hall, New York, **1993**.
- [33] Matyjaszewski, K.; Müller, A. H. E. *Polym. Prepr.* **1997**, *38*, 6.
- [34] Flory, P. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 1561.
- [35] Morton, M.; Fetters, L. J. *Rubber Chem. Tech.* **1975**, *48*, 359.
- [36] Wakefield, B. J. *The Chemistry of Organolithium Compounds*, Pergamon Press, New York, **1974**.
- [37] Hsieh, H. L.; Quirk, R. P. *Anionic Polymerization: Principles and Applications*, Dekker, New York, **1996**.
- [38] Müller, A. H. E. in : *Comprehensive Polymer Science*, Vol 3, Eastmond, G. C.; Ledwith, A.; Russo, S.; Sigwalt, P. (Eds.), Pergamon Press, New York, **1989**, S. 387.
- [39] Schulz, D. N.; Sanda, J. C.; Willoughby, B. G. in: *Anionic Polymerization: Kinetics, Mechanisms, and Synthesis*, Mc Grath, J. E. (Ed.) ACS Symposium Series 166, Am. Chem. Soc., Washington D.C., **1981**.
- [40] Cram, D. J. *Fundamentals of Carbanion Chemistry*, Academic Press, New York, **1965**.
- [41] Kricheldorf, H. R.  *$\alpha$ -Aminoacid-N-Carboxyanhydrides and Related Materials*, Springer, New York, **1987**.
- [42] Kricheldorf, H. R. in: *Models of Biopolymers by Ring-Opening Polymerization*, Penczek, S. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL 1990.
- [43] (a) Leuchs, H. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1906**, *39*, 857. (b) Leuchs, H.; Mannasse, W. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1907**, *40*, 3235. (c) Leuchs, H.; Geiger, W. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1908**, *41*, 1721.
- [44] (a) Fuchs, F. *Chem. Ber.* **1922**, *55*, 2943. (b) Brown, C. J.; Coleman, D.; Farthing, A. C. *Nature* **1949**, *163*, 834. (c) Farthing, A. C.; Reynolds, R. J. W. *Nature* **1950**, *165*, 647. (d) Farthing, A. C. *J. Chem. Soc.* **1950**, 3213. (e) Coleman, D.; Farthing, A. C. *J. Chem. Soc.* **1950**, 3218.
- [45] Deming, T. J. *Nature* **1997**, *390*, 386.
- [46] (a) Billot, J.-P.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 1889. (b) Perly, B.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 2569. (c) Billot, J.-P.; Douy, A.; Gallot, B. *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 1641. (d) Douy, A.; Gallot, B. *Polymer*, **1982**, *23*, 1039.
- [47] Janssen, K.; van Beylen, M.; Samyn, C.; Scherrenberg, R.; Reynaers, H. *Makromol. Chem.* **1990**, *191*, 2777.

- [48] (a) Yoda, R.; Hirokawa, Y.; Hayashi, T. *Eur. Polym. J.* **1994**, *30* (12), 1397.  
(b) Yoda, R.; Komatsuzaki, S.; Nakanishi, E.; Hayashi, T. *Eur. Polym. J.* **1995**, *31* (4), 335. (c) Yoda, R.; Komatsuzaki, S.; Hayashi, T. *Eur. Polym. J.* **1996**, *32* (2), 233.
- [49] Klok, H. A.; Langenwalter, J. F.; Lecommandoux, S. *Macromolecules* **2000**, *33* (21), 7819.
- [50] Harada, A.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1995**, *28*, 5294.
- [51] Harada, A.; Kataoka, K. *Science* **1999**, *283*, 65.
- [52] Harada, A.; Cammas, S.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1996**, *29* (19), 6183.
- [53] Falkenhagen, J.; Much, H.; Stauf, W.; Müller, A. H. E. *Macromolecules* **2000**, *33*, 3687.
- [54] Benoît, H.; Grubisic, Z.; Rempp, P.; Decker, D.; Zilliox, J. G. *J. Chem. Phys.* **1966**, *63*, 1507.
- [55] Goldwasser, J. M. *ACS Symp. Ser.* **1993**, *521*, 243.
- [56] Hillenkamp, F.; Karas, M.; Beavis, R. C.; Chait, B. T. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1193.
- [57] Karas, M.; Bachmann, D.; Bahr, U.; Hillenkamp, F. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1987**, *78*, 53.
- [58] Räder, H. J.; Schrepp, W. *Acta Polymer.* **1998**, *49*, 272.
- [59] Spickermann, J.; Martin, K.; Räder, H. J.; Müllen, K.; Schlaad, H.; Müller, A. H. E.; Krüger, R.-P. *Eur. Mass Spectrom.* **1996**, *2*, 161.
- [60] Hecht, E.; *Optics*, Addison Wesley, New York, **1974**.
- [61] (a) Porod, G. *Kolloid Z. Z. Polym.* **1951**, *124*, 83. (b) Porod, G. *Kolloid Z. Z. Polym.* **1952**, *125*, 51. (c) Porod, G. *Kolloid Z. Z. Polym.* **1952**, *125*, 108.
- [62] (a) Micha, M. A.; Burger, C.; Antonietti, M. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5930.  
(b) Micha, M. A. *Dissertation*, Universität Potsdam, **1998**.
- [63] (a) Stribeck, N.; Ruland, W. *J. Appl. Cryst.* **1978**, *11*, 535. (b) Ruland, W. *Colloid Polym. Sci.* **1977**, *255*, 29.
- [64] Wiener, N. *Acta Math.* **1930**, *55*, 118.
- [65] Khintchine, A. J. *Math. Ann.* **1934**, *109*, 604.
- [66] Siegert, A. J. F. *MIT Rad. Lab.* No 465, **1943**.
- [67] Schnablegger, H.; Glatter, O. *Appl. Opt.* **1991**, *30*, 4889.
- [68] Fresnel, A. *Memoirs NO XXVIII* **1822**; *NO XXX* **1823**.
- [69] Drude, P. *Lehrbuch der Optik*, Hirzel, Leipzig **1900**, S.379.
- [70] Winter, R.; Noll, F. *Methoden der Biophysikalischen Chemie*, Teubner Studienbücher, Stuttgart, **1998**.
- [71] Greenfield, N.; Fasman, G. D. *Biochemistry* **1969**, *6*, 4108.
- [72] Daly, W. H.; Poché, D. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29* (46), 5859.
- [73] Chou, P. Y.; Fasman, G. D. *Biochemistry* **1974**, *13* (2), 222.
- [74] Bodanszky, M.; Klausmer, Y. S.; Ondetti, M. A. *Peptide Synthesis*, 2nd Edition, Wiley & Sons, **1966**.
- [75] Schröder, E. Lüble, K. *The Peptides*, Vol. 1, Academic Press, **1965**.
- [76] Schultz, D. N.; Halasa, A. F. *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1977**, *15*, 2401.

- [77] Schultz, D. N.; Halasa, A. F.; Oberster, A. E. *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed* **1974**, *12*, 153.
- [78] Broze, G.; Jerome, R.; Teyssie, P. *Makromol. Chem.* **1978**, *179*, 1383.
- [79] Hirao, A.; Hayashi, M. *Acta Polym.* **1999**, *50*, 219.
- [80] (a) Wakefield, B. J. *The Chemistry of Organolithium Compounds*, Pergamon, Oxford **1974**. (b) Seebach, D.; Geiss, K. H. *New Applications of Organometallic Reagents in Organic Synthesis*, Elsevier, Amsterdam **1976**. (c) Wakefield, B. J. *Comprehensive Organic Chemistry, Organic Compounds of Group II Metals*, Vol 3, Pergamon Press, Oxford **1979**, 969 ff. (d) Schlosse, M. *Organometallics in Synthesis*, John Wiley & Sons, Chichester **1994**, 1 ff.
- [81] Quirk, R. P.; Cheng, P. *Macromolecules* **1986**, *19* (5), 1291.
- [82] Ueda, K.; Hirao, A.; Nakahama, S. *Macromolecules* **1990**, *23*, 939.
- [83] Hirao, A.; Hattori, I.; Sasagawa, T.; Yamaguchi, K.; Nakahama, S. *Makromol. Chem., Rapid Commun.* **1982**, *3*, 59.
- [84] Krüger, C.; Rochow, E. G.; Wannagat, U. *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 2132.
- [85] Quirk, R. P.; Lynch, T. *Macromolecules* **1993**, *26*, 1206.
- [86] Tohyama, M.; Hirao, A.; Nakahama, S. *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 3135.
- [87] Peters, M. A.; Belu, A. M.; Linton, R. W.; Dupray, L.; Meyer, T. J.; DeSimone, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3380.
- [88] Suzuki, K.; Hirao, A.; Nakahama, S. *Makromol. Chem.* **1989**, *199*, 2893.
- [89] Bestmann, H. J.; Wölfel, G. *Chem. Ber.* **1984**, *117*, 1250.
- [90] Paulini, K.; Reißig, H.-U. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 455.
- [91] Tanaka, Y.; Takeuchi, Y.; Kobayashi, M.; Tadokoro, H. *J. Polym. Sci. Part A-* **1971**, *9*, 43.
- [92] Poché, D. S.; Moore, M. J.; Bowles, J. L. *Synthetic Commun.* **1999**, *29* (5), 834.
- [93] Bestmann, H. J.; Wölfel, G. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 53.
- [94] Morimoto, T.; Takahashi, T.; Sekiya, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 794.
- [95] Maeda, M.; Nakano, K.; Takagi, M. *ACS Symp. Ser.* **1994**, *556*, 238.
- [96] Yokoyama, M.; Inoue, S.; Kataoka, K.; Yui, N.; Sakurai, Y. *Makromol. Chem., Rapid Commun.* **1987**, *8*, 431.
- [97] Harada, A.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1995**, *28*, 5294.
- [98] Constancis, A.; Meyrueix, R.; Bryson, N.; Huille, S.; Grosselin, J.-M.; Gulik-Krzywicki, T.; Soula, G. *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, *217*, 357.
- [99] Hayashi, T.; Iwatsuki, M.; Oya, M. *J. Appl. Polym. Sci.* **1990**, *39*, 1803.
- [100] Fasman, D.; Idelson, M.; Bloor, E. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *85*, 709.
- [101] Tsuchida, E.; Nishide, H.; Ishimaru, N.; Montgomery, D. D.; Anson, F. C. *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 2898.
- [102] Hrkach, J. S.; Ou, J.; Lotan, N.; Langer, R. *Macromolecules* **1995**, *28*, 4736.
- [103] Johnstone, R. A. W.; Wilby, A. H.; Entwistle, I. D. *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 129.
- [104] Yang, J.-Z.; Antoun, S.; Ottenbrite, R. M.; Milstein, S. *J. Bioactive and Compatible Polym.* **1996**, *11*, 219.



- [105] Anantharamaiah, G. M.; Sivanandaiah, K. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1977**, 490.
- [106] ElAmin, B.; Anantharamaiah, G. M.; Royer, G. P.; Means, G. E. *J. Org. Chem.* **1979**, *44* (19), 3442.
- [107] Anwer, M. K.; Spatola, A. F. *Synthesis* **1980**, 929.
- [108] Chen, J. T.; Thomas, E. L.; Ober, C. K.; Hwang, S. S. *Macromolecules* **1995**, *28*, 1688.
- [109] (a) Radzilowski, L. H.; Stupp, S. I. *Macromolecules* **1994**, *27*, 7747. (b) Stupp, S. I. *Macromol. Symp.* **1997**, *117*, 1. (c) Stupp, S. I.; LeBonheur, V.; Walker, K.; Li, L. S.; Huggins, K. E.; Keser, M.; Amstutz, A. *Science* **1997**, *276*, 384. (d) Stupp, S. I.; Son, S.; Lin, H. C.; Li, L. S. *Science* **1993**, *259*, 59. (e) Radzilowski, L. H.; Wu, J. L.; Stupp, S. I. *Macromolecules* **1993**, *26*, 879. (f) Radzilowski, L. H.; Carragher, B. O.; Stupp, S. I. *Macromolecules* **1997**, *30*, 2110.
- [110] (a) Lee, M.; Oh, N.-K.; Lee, H.-K.; Zin, W.-C. *Macromolecules* **1996**, *29*, 5567. (b) Lee, M.; Oh, N.-K.; Choi, M.-G. *Polym. Bull.* **1996**, *37*, 511.
- [111] Elias, H.-G. *Makromoleküle*, Band 1, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [112] (a) Astafieva, I.; Zhong, X. F.; Eisenberg, A. *Macromolecules* **1993**, *26*, 7339. (b) Astafieva, I.; Khougaz, K.; Zhong, X. F.; Eisenberg, A. *Macromolecules* **1995**, *28*, 7127.
- [113] (a) Cornelissen, J. J. L. M.; Fischer, M.; Sommerdijk, N. A. J. M.; Nolte, R. J. M. *Science* **1998**, *289*, 1427. (b) Sommerdijk, N. A. J. M.; Holder, S. J.; Hiorns, R. C.; Jones, R. G. J.; Nolte, R. J. M. *Macromolecules* **2000**, *33*, 8289.
- [114] (a) Zhang, L.; Eisenberg, A. *Science* **1995**, *268*, 1728. (b) Zhang, L.; Yu, K.; Eisenberg, A. *Science* **1996**, *272*, 1777.
- [115] (a) Selb, J.; Gallot, Y. *Makromol. Chem.* **1980**, *181*, 2605. (b) Selb, J.; Gallot, Y. *Makromol. Chem.* **1981**, *182*, 1491. (c) Selb, J.; Gallot, Y. *Makromol. Chem.* **1981**, *182*, 1775.
- [116] Leube, W. Dissertation, Universität Potsdam **1997**, Cuvillier Verlag, Göttingen.
- [117] Karnoup, A. S.; Uversky, V. N. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7427.
- [118] Kamatari, Y. O.; Konno, T.; Kataoka, M.; Akasaka, K. *J. Mol. Biol.* **1996**, *259*, 512.
- [119] DuNoüy, P. L. *J. Gen. Physiol.* **1919**, *1*, 521.
- [120] Moad, G.; Solomon, D. H. *The Chemistry of free Radical Polymerization*, Pergamon Elsevier Science Ltd., Oxford **1995**.
- [121] Harkins, W. D. *J. Chem. Phys.* **1945**, *13* (9), 381.
- [122] (a) Priest, W. J. *J. Chem. Phys.* **1952**, *56*, 1077. (b) Fitch, R. M.; Tsai, C. H. *Polymer Colloids*, Plenum Press, New York, **1971**, S.73. (c) Ugelstad, J.; Hansen, F. K. *Rubber Chem. Technology* **1976**, *49*, 536. (d) Feeny, P. J.; Napper, D. H.; Gilbert, R. G. *Macromolecules* **1984**, *17*, 2520. (e) Tauer, K.; Kühn, I. *Macromolecules* **1995**, *28*, 2236. (f) Tauer, K.; Kühn, I. in *Polymeric Dispersions: Principles and Applications*, Nato ASI Series, Series E: Applied Sciences Vol. 335, Asua, J. N. (Ed.) Kluwer academic Publishers, Dordrecht **1997**, 49. (g) Deckwer, R. *Dissertation*, Universität Potsdam **1999**, Shaker Verlag, Aachen

- [123] Smith, W. V.; Ewart, R. H. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16* (6), 592.
- [124] (a) Gilbert, R. G. *Emulsion Polymerization: A Mechanistic Approach* **1995**, Academic Press, London. (b) Tauer, K.; Reinisch, G.; Gajewski, H.; Müller, I. *J. Macromol. Sci.-Chem.* **1991**, *A 28* (3&4), 431. (c) Ugelstad, J.; Mørk, P. C.; Hansen, F. K. *Pure Appl. Chem.* **1981**, *53*, 323.
- [125] Piirma, I. *Polymeric Surfactants, Surfactant Science Series Vol. 42, Ch.1*, Marcel Dekker, Inc., New York, **1992**.
- [126] (a) Berger, M.; Richtering, W.; Mülhaupt, R. *Polymer Bulletin* **1994**, *33*, 521. (b) Riess, G.; Nervo, J.; Rogez, D. *ACS Polym. Prepr.* **1977**, *18*, 329. (c) Rogez, D.; Marti, S.; Nervo, J.; Riess, G. *Makromol. Chem.* **1975**, *176*, 1393. (d) Dewalt, L. E.; Ou-Yang, H. D.; Dimonie, V. L. *J. Appl. Polym. Sci.* **1995**, *58*, 265.
- [127] Jialanella, G. L.; Firer, E. M.; Piirma, I. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **1992**, *30*, 1925.
- [128] a) Napper, D. H.; Netschey, A. *J. Coll. Interf. Sci.* **1971**, *37* (3), 528. (b) Tadros, Th. F.; Vincent, B. *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 1575.
- [129] z. B.: (a) Selb, J.; Gallot, Y. *Makromol. Chem.* **1980**, *181*, 809. (b) Selb, J.; Gallot, Y.; *Makromol. Chem.* **1981**, *182*, 1513. (c) Valint, P. L.; Bock, J. *Macromolecules* **1988**, *21*, 175. (d) Khougaz, K.; Gao, Z.; Eisenberg, A. *Macromolecules*, **1993**, *27*, 6341. (e) Moffitt, M.; Khougaz, K.; Eisenberg, A. *Acc. Chem. Research.* **1996**, *29*, 95. (f) Tuzar, Z.; Kratochvil, P. *Surf. Colloid Sci.* **1993**, *15*, 1. (g) Procházka, K.; Martin, T. J.; Munk, P.; Webber, S. E. *Macromolecules* **1996**, *29*, 6518.
- [130] Leemans, L.; Fayt, R.; Teyssié, Ph.; de Jaeger, N. C. *Macromolecules* **1991**, *24*, 5922.
- [131] (a) Müller, H.; Leube, W.; Tauer, K.; Förster, S.; Antonietti, M. *Macromolecules* **1997**, *30*, 2288. (b) Tauer, K.; Müller, H.; Rosengarten, L.; Riedelsberger, K. *Colloids Surf. A* **1999**, *153*, 75. (c) Müller, H. *Dissertation*, Universität Potsdam **1997**, Cuvillier Verlag, Göttingen.
- [132] Bouix, M.; Gouzi, J.; Charleux, B.; Vairon, J.-P.; Guinot, P. *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, *19*, 209.
- [133] Burguière, C.; Pascual, S.; Coutin, B.; Polton, A.; Tardi, M.; Charleux, B.; Matyjaszewski, K.; Vairon, J.-P. *Macromol Symp.* **2000**, *150*, 39.
- [134] Jäger, W.; Wendler, U.; Lieske, A.; Bohrisch, J.; Wandrey, C. *Macromol. Symp.* **2000**, *161*, 87.
- [135] Tauer, K.; Deckwer, R.; Kühn, I.; Schellenberg, C. *Colloid Polym. Sci.* **1999**, *277*, 607.
- [136] (a) Nilsson, H.; Silvegren, C.; Törnell, B. *Chem. Scr.* **1982**, *19*, 164. b) Nilsson, H.; Silvegren, C.; Törnell, B. *Angew. Makrom. Chem.* **1983**, *112*, 125.
- [137] Vorwerg, L.; Antonietti, M.; Tauer, K. *Colloids Surf. A* **1999**, *150*, 129.
- [138] Werner, J. A. *Persönliche Mitteilung*.
- [139] Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325.
- [140] z B. (a) Greenwald, R. B.; Pendri, A.; Bolikal, D. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 331. (b) Zhang, X.; Jackson, J.K.; Burt, H.M. *Int. J. Pharm.* **1996**, *132*, 195. (c) Wang, Y. M.; Sato, H.; Horikoshi, I. *J. Control. Rel.* **1997**, *49*, 157. (d) Li, C.; Yu, D.-F.;

- Newman, R. A.; Cabral, F.; Stephens, L. C.; Hunter, N.; Milas, L.; Wallace, S. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 2404. (e) Burt, H. M.; Zhang, X.; Toleikis, P.; Embree, L.; Hunter, W. L. *Colloids Surf. B: Biointerf.* **1999**, *16*, 161. (f) Kim, J.-H.; Emoto, K.; Iijima, M.; Nagasaki, Y.; Aoyagi, T.; Okano, T. Sakurai, Y.; Kataoka, K. *Polym. Adv. Technol.* **1999**, *10*, 647. (g) Poujol, S.; Pinguet, F.; Bressole, F.; Boustta, M.; Vert, M. *J. Bioact. Compat. Polym.* **2000**, *15*, 99. (h) Perkins, W. R.; Ahmad, I.; Li, X.; Hirsh, D. J.; Masters, G. R.; Fecko, C. J.; Lee, J.; Ali, S.; Nguyen, J.; Schupsky, J.; Herbert, C.; Janoff, A. S.; Mayhew, E. *Int. J. Pharm.* **2000**, *200*, 27.
- [141] (a) Allen, C.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. *Colloids Surf. B: Biointerf.* **1999**, *16*, 3. (b) La, S. B.; Nagasaki, Y.; Kataoka, K. *Poly(ethylene glycol) ACS Symp. Ser.* **1997**, *680*, 99.
- [142] (a) Zaplinsky, S. *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 150. (b) Greenwald, R. B.; Concover, C. D.; Choe, Y.H. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* **2000**, *17* (2), 101.
- [143] (a) Yokoyama, M.; Inoue, S.; Kataoka, K.; Yui, N.; Okano, T.; Sakurai, Y. *Makromol. Chem.* **1989**, *190*, 2041. (b) Aoyagi, T.; Sugi, K.; Sakurai, Y.; Okano, T.; Kataoka, K. *Colloids Surf. B: Biointerf.* **1999**, *16*, 237. (c) Yokoyama, M.; Satoh, A.; Sakurai, Y.; Okano, T.; Marsumura, Y.; Kakizoe, T.; Kataoka, K. *J. Control. Rel.* **1998**, *55*, 219.
- [144] (a) Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Suwa, S.; Kataoka, K. *J. Control. Rel.* **1996**, *39*, 351. (b) Nishiyama, N.; Yokoyama, M.; Aoyagi, T.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. *Langmuir* **1999**, *15*, 377.
- [145] Vanderkerken, S.; Vanheede, T.; Toncheva, V.; Schacht, E.; Wolfert, M. A.; Seymour, L.; Urtti, A. *J. Bioact. Compat. Polym.* **2000**, *15* (2), 115.

## Danksagung

Abschließend möchte ich allen herzlich danken, die zum Gelingen der Arbeit auf unterschiedlichste Weise beigetragen und mich persönlich unterstützt haben:

Prof. Dr. Markus Antonietti danke ich für die vielseitige Aufgabenstellung, die ständige Diskussionsbereitschaft und die bedenkenlose Unterstützung, die er mir gewährte.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Helmut Schlaad für die Betreuung der Arbeit und die intensive Zusammenarbeit während der gesamten Zeit. Die stete Hilfsbereitschaft und die zahlreichen Diskussionen hatten großen Anteil am Fortgang der Arbeit.

Bei Dr. sc. Klaus Tauer möchte ich mich für die fachliche Unterstützung und Gesprächsbereitschaft in allen Fragen der Emulsionspolymerisation bedanken.

Prof. Dr. Stephan Förster danke ich für hilfreiche Anregungen und die Übernahme des Drittgutachtens.

Herzlich danken möchte ich Ines Below für die Synthese einiger Polymere sowie Irina Shekova für zahlreiche Titrations und Messungen der Oberflächenspannung. Ihre hilfreiche Zusammenarbeit war eine große Erleichterung im Laboralltag.

Prof. Dr. Tadeusz Pakula (MPI-P, Mainz) danke ich für die Durchführung zahlreicher SAXS-Messungen, die einen großen Beitrag zur Untersuchung der Festkörperstrukturen lieferten. Dr. Christian Burger sei an dieser Stelle für die Unterstützung zur Entwicklung des Strukturmodells gedankt. Ingrid Zenke danke ich für die Hilfe bei Messungen in unserer eigenen Röntgenabteilung. Ein besonderer Dank gebührt hier meinem Bürokollegen Bernd Smarsly, der nicht nur jederzeit ein offenes Ohr für alle meine Belange und Fragen hatte, sondern auch durch theoretische Berechnungen die Auswertung der Röntgendaten unterstützte.

Marlies Gräwert sei für die Durchführung unzähliger GPC-Messungen gedankt. Herzlich danke ich ebenfalls Dr. Jana Falkenhagen (BAM, Berlin), die die Charakterisierung einiger Polymere durch kritische Chromatographie ermöglichte.

Ein herzliches Dankeschön geht an Dr. Jürgen Hartmann und Rona Pitschke für die unermüdliche Suche nach den Lamellen und die kurzfristige Erfüllung von Sonderwünschen.

Dr. Anna Peytcheva und Dr. Reinhard Sigel danke ich für die Einführung in die Geheimnisse der Lichtstreuung.

Olaf Niemeyer danke ich für schnelle Messungen unzähliger NMR-Spektren.

Bei Viktor Khrenov möchte ich mich für die Durchführung der Reaktionskalorimetrie bedanken.

Ein weiterer Dank gilt Dr. Anja Dünne für die gute Zusammenarbeit, die Bereitstellung der ‚Kaninchen-Dias‘ sowie die Versuche, mir die medizinische Sichtweise näher zu bringen.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises, besonders meinen Büro- und Laborkollegen danke ich herzlich für die angenehme Arbeitsatmosphäre, anregende Diskussionen und die stete Hilfsbereitschaft.

Meinem Freund Helmut danke ich von ganzem Herzen für seinen Beistand und seine Geduld in allen Lebenslagen.

An dieser Stelle soll auch die ‚Pariser Kommune‘ – Astrid, Dieter und Mathias – erwähnt werden, die ein abwechslungsreiches und harmonisches Zusammenleben garantierte.

Der letzte Dank gilt meiner Familie, die jederzeit für mich da war.

## **Lebenslauf**

Hildegard Kukula

geboren am 06. Juni 1973 in Marburg/Lahn

### **Schulbildung**

1979–1983      Grundschule Homberg/Ohm  
1983–1989      Gymnasialzweig der Gesamtschule Homberg/Ohm  
1989–1992      Gymnasiale Oberstufe der Gesamtschule Kirchhain,  
Allgemeine Hochschulreife

### **Studium**

10/1992–03/1998    Chemiestudium an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
10/1994            Diplom-Vorprüfung  
09/1995–03/1996    Auslandssemester an der University of Toronto (Kanada);  
Forschungsarbeit: '*Synthesis, characterization and reactivity of  
Oxo- and Thiobisphosphonates*'.  
05/1997            Diplom-Hauptprüfung  
06/1997–03/1998    Diplomarbeit am Max-Planck-Institut für Polymerforschung  
(Mainz), Prof. Dr. Wegner  
Thema: '*Darstellung monodisperser Oligo(p-phenylenethinylene  
und deren Verwendung zum Aufbau von Knäuel-Stäbchen-  
Blockcopolymeren*'

### **Wissenschaftliche Tätigkeit**

03/1998–06/1998    Praktikum bei der Hoffmann-LaRoche AG (Basel); Mitarbeit am  
Forschungsprojekt '*Endothelin Converting Enzyme Inhibitoren*'  
09/1998–07/2001    Promotion am Max-Planck-Institut für Kolloid- und  
Grenzflächenforschung (Golm), Prof. Dr. M. Antonietti  
Thema: '*Lineare und verzweigte Blockcopolymeren aus  
Polypeptiden und synthetischen Polymeren*'

## **Publikationen**

Kukula, H.; Ziener, U.; Schöps, M.; Godt, A.

Rod-coil and coil-rod-coil block copolymers with oligo(p-phenyleneethynylene) as the rod block.

*Macromolecules* **1998**, *31* (15), 5160.

Kukula, H.; Veit, S.; Godt, A.

Synthesis of monodisperse oligo(para-phenyleneethynylene)s using orthogonal protecting groups with different polarity for terminal acetylene units.

*Eur. J. Org. Chem.* **1999**, (1), 277.

Thünemann, A. F.; Beyermann, J.; Kukula, H.

Poly(ethyleneoxid)-*b*-poly(L-lysine) complexes with retinoic acid.

*Macromolecules* **2000**, *33* (16), 5906.

Schlaad, H.; Kukula, H.; Rudloff, J.; Below, I.

Synthesis of  $\alpha,\omega$ -heterobifunctional poly(ethylene glycol)s by metal-free anionic ring-opening polymerization.

*Macromolecules* **2001**, *34* (13), 4302.

## **Poster**

Kukula, H.; Schlaad, H.; Antonietti, M.

Synthesis and Characterization of novel Polypeptide Hybrid Materials.

*Discussion Meeting on Multi-Level Ordering*, Juni **2000**, Weingarten.

Kukula, H.; Schlaad, H. Antonietti, M.

Synthesis and Characterization of linear and star-shaped Polypeptide Hybrid Block Copolymers.

*Makromolekulares Kolloquium Freiburg*, Februar **2001**, Freiburg.

## **Vorträge**

Kukula, H.; Schlaad, H.; Antonietti, M.

Synthesis and Characterization of linear and branched Polypeptide Hybrid Block Copolymers.

*IUPAC World Polymer Congress Macro 2000*, Juli **2000**, Warschau.

Kukula, H.

Synthese und Eigenschaften linearer und verzweigter Polypeptid-Hybrid-Blockcopolymerer.

*Förderkreistreffen der Bayer AG*, September **2000**, Leverkusen.