

Institut für Chemie
Arbeitskreis Angewandte Polymerchemie

**Entwicklung neuer farbstoffmarkierter Polymere
zur Visualisierung des LCST-Phasenübergangs
in wässriger Lösung**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

in der Wissenschaftsdisziplin Kolloid- und Polymerchemie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Potsdam

von

Jonas D. Kölsch

Potsdam, im März 2014

Online veröffentlicht auf dem
Publikationsserver der Universität Potsdam:
URN urn:nbn:de:kobv:517-opus-72531
<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:517-opus-72531>

Alle Menschen streben von Natur nach Wissen.

Aristoteles

Danksagung

Beim Anfertigen meiner Dissertation konnte ich auf die Hilfe und Unterstützung vieler Menschen bauen, denen ich im Folgenden meinen Dank aussprechen möchte:

Als erstes möchte ich meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. André Laschewsky für die Überlassung dieses interessanten Themas, der intensiven Betreuung sowie der Freiheit, meinen eigenen Ideen freien Lauf lassen zu können, danken. In vielen fruchtbaren Gesprächen zeigte er mir die Kniffe und Fallstricke der Polymerchemie auf und trug somit maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Weiterhin möchte ich Herrn PD Dr. Dietmar Janietz danken, der mir als direkter Ansprechpartner stets bei Fragen zur Verfügung stand, viele Ideen jenseits der Polymerchemie einbrachte und mich somit immer wieder ermutigte nach weiteren Erklärungsmöglichkeiten bei verschiedenen beobachteten Phänomenen zu suchen. Weiterhin möchte ich mich bei ihm für die Benutzung seiner Laborräume am Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerchemie (IAP) bedanken. Herrn Dr. Jens Buchs möchte ich für viele Ratschläge bei der praktischen Laborarbeit danken.

Die Kooperation des Fraunhofer Instituts für Angewandte Polymerforschung (IAP) mit der Universität Potsdam ermöglichte es mir, meine Arbeiten am Fraunhofer IAP durchzuführen. Ich möchte mich daher stellvertretend bei Herrn Prof. Dr. Hans-Peter Fink dafür bedanken, dass ich die Labore, Büros und Einrichtungen des IAP für meine Arbeit nutzen konnte. Weiterhin möchte ich allen Mitgliedern der Fachbereiche 2 und 4 für die sehr nette Arbeitsatmosphäre danken und dass man immer auf offene Ohren bei Fragen gestoßen ist.

Bei meinen „Büromitbewohnern“ Jens, Martin, Anna und Anne möchte ich mich für die vielen geistreichen Diskussionen rund um die Wissenschaft und vieler weiterer Themenbereiche bedanken. Meinen anderen Mitdoktoranden Sandor, Frank, Laura, Robert, Viet, Sahika, Jean-Philippe und Christoph möchte ich für die schöne Zeit danken. Aus Kollegen wurde Freunde - danke dafür.

Meine Dissertation war im interdisziplinären Verbundprojekt Taschentuchlabor eingebettet. Durch die vielen Kooperationen in diesem bekam ich einen Blick über den Tellerrand hinaus. Daher möchte ich mich bei Prof. Dieter Neher und seiner Doktorandin Sahika Inal von der

Universität Potsdam für die sehr fruchtbare Kooperation, die vielen Messungen und die Diskussionen rund um das Thema Fluoreszenz bedanken. Meinen Kooperationspartner Prof. Dr. Michael Gradzielski und seinem Doktoranden Leonardo Chiappisi von der Technischen Universität Berlin möchte ich mich für die Diskussionen und Messungen rund um das Thema Lichtstreuung und Strukturaufklärung des Aggregations- und Assoziationsverhaltens von Polymeren in Wasser bedanken. Bei Dr. Jörg Schenk und Dr. Frank Sellerie von der UP-Transfer GmbH möchte ich mich für den gegenseitigen Wissensaustausch, die Einführung in Generierung monoklonaler Antikörper und in ELISA-Tests, das Auffrischen meines Biochemiewissens und für die sehr angenehme Atmosphäre bedanken.

Dem Arbeitskreis Analytische Chemie der Universität Potsdam (Prof. Dr. E. Kleinpeter) danke ich für NMR-Messungen (Dr. M. Heydenreich, A. Krtitschka) und MS-Messungen (Dr. I. Starke). B. Hannemann (AK Organische Chemie, Prof. Dr. T. Linker) danke ich für die Elementaranalysen und IR-Spektren. Vom IAP möchte ich Dr. C. Wieland für die GPC-Messungen und deren Auswertung danken. Weiterhin danke ich ihm für die einführenden Erklärungen in die Polymeranalytik.

Meiner Familie möchte ich für die immerwährende Unterstützung und der Förderung meiner wissenschaftlichen Neugier bedanken. Mein besonderer Dank gilt meiner Oma Dr. Bianka Schorr, die mir als Lektorin meiner Dissertation zur Verfügung stand.

Publikationsliste

Einige Ergebnisse dieser Arbeit wurden in internationalen Fachzeitschriften publiziert und auf nationalen und internationalen Konferenzen und Tagungen in Form von Postern und Vorträgen präsentiert.

Publikationen:

“Temperature-Regulated Fluorescence Characteristics of Supramolecular Assemblies Formed By a Smart Polymer and a Conjugated Polyelectrolyte”, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Leonardo Chiappisi, Mario Kraft, Andrea Gutacker, Dietmar Janietz, Ullrich Scherf, Michael Gradzielski, André Laschewsky, Dieter Neher, *Macromol. Chem. Phys.*, 2013, 241, 435-445 (doi: 10.1002/macp.201200493)

“Temperature-Regulated Fluorescence and Association of an Oligo(ethyleneglycol)-methacrylate-based Copolymer with a Conjugated Polyelectrolyte - The Effect of Solution Ionic Strength”, Sahika Inal, Leonardo Chiappisi, Jonas D. Kölsch, Mario Kraft, Marie-Sousai Appavou, Ullrich Scherf, Manfred Wagner, Michael Ryan Hansen, Michael Gradzielski, André Laschewsky, Dieter Neher, *J. Phys. Chem. B*, 2013, 117, 14576–14587 (doi: 10.1021/jp408864s)

“Structure-Related Differences in the Temperature-Regulated Fluorescence Response of LCST type Polymers” - Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Leonardo Chiappisi, Dietmar Janietz, Michael Gradzielski, André Laschewsky, Dieter Neher, *J. Mater. Chem. C*, 2013, 1, 6603-6612 (doi: 10.1039/c3tc31304b)

“A water soluble fluorescent polymer as a dual colour sensor for temperature and a specific protein”, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Frank Sellrie, Jörg A. Schenk, Erik Wischerhoff, André Laschewsky, Dieter Neher, *J. Mater. Chem. B*, 2013, 1, 6373-6381 (doi: 10.1039/C3TB21245A)

Poster:

„Energy Transfer and Polymer-Dye Interactions as a Probe for Studying Phase Transitions in Aqueous Solutions of an Oligo(ethyleneglycol) based Thermoresponsive Polymer“, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Dietmar Janietz, André Laschewsky, Dieter Neher, **Polydays 2010**

„Optical Visualization of the Coil-Globule Transition of a Thermoresponsive Polymer: Probing Interpolymer Interactions“, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Dietmar Janietz, André Laschewsky, Ullrich Scherf, Dieter Neher, **Potsdam Days on Bioanalysis 2011**

„Energy Transfer as a Probe for Studying the Phase Transition in Oligo(ethyleneglycol) based Thermoresponsive Polymers“, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Dietmar Janietz, André Laschewsky, Dieter Neher, **DPG Frühjahrstagung 2011**

“Visualization of the Coil-Globule Transition of a Thermoresponsive Polymer: Probing Interactions with a Conjugated Polyelectrolyte”, S. Inal, J. D. Kölsch, D. Janietz, A. Laschewsky, D. Neher, **DPG Frühjahrstagung 2012**

„Fluorophore- Functionalized Thermoresponsive Copolymers for Sensor Applications“, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Leonardo Chiappisi, Dietmar Janietz, Michael Gradzielski, André Laschewsky, Dieter Neher, **GDCh - Smart Polymers 2012**

„Supramolecular Complexes of a Thermoresponsive Polymer and a Conjugated Polyelectrolyte for Sensing Applications“, Sahika Inal, Jonas D. Kölsch, Leonardo Chiappisi, Dietmar Janietz, Ullrich Scherf, Michael Gradzielski, André Laschewsky, Dieter Neher, **Polydays 2012**

„Dye Labelled Polymers for Sensing Applications“, Jonas D. Kölsch, Sahika Inal, Dietmar Janietz, André Laschewsky, Dieter Neher, **Polydays 2012**

Wissenschaftliche Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die Entwicklung von farbstoffmarkierten Polymeren, die einen temperaturgetriebenen Knäuel-Kollaps-Phasenübergang in wässriger Lösung ("thermo-responsive Polymere") zeigen und diesen in ein optisches Signal übersetzen können. Solche Polymere unterliegen innerhalb eines kleinen Temperaturintervalls einer massiven Änderung ihres Verhaltens, z. B. ihrer Konformation und ihres Quellungsgrads. Diese Änderungen sind mit einem Wechsel der Löseeigenschaften von hydrophil zu hydrophob verbunden.

Als Matrixpolymere wurden Poly-*N*-isopropylacrylamid (polyNIPAm), Poly(oligoethylenglykolacrylat) (polyOEGA) und Poly(oligoethylenglykolmethacrylat) (polyOEGMA) eingesetzt, in die geeignete Farbstoffe durch Copolymerisation eingebaut wurden. Als besonders geeignet, um den Phasenübergang in ein optisches Signal zu übersetzen, erwiesen sich hierfür kompakte, solvatochrome Cumarin- und Naphthalimidderivate. Diese beeinträchtigten weder das Polymerisationsverhalten noch den Phasenübergang, reagierten aber sowohl bezüglich Farbe als auch Fluoreszenz stark auf die Polarität des Lösemittels. Weiterhin wurden Systeme entwickelt, die mittels Energietransfer (FRET) ein an den Phasenübergang gekoppeltes optisches Signal erzeugen. Hierbei wurde ein Cumarin als Donor- und ein Polythiophen als Akzeptorfarbstoff eingesetzt.

Es zeigte sich, dass trotz scheinbarer Ähnlichkeit bestimmte Polymere ausgeprägt auf einen Temperaturstimulus mit Änderung ihrer spektralen Eigenschaften reagieren, andere aber nicht. Hierfür wurden die molekularen Ursachen untersucht. Als wahrscheinliche Gründe für das Ausbleiben einer spektralen Änderung in Oligo(ethylenglykol)-basierten Polymeren sind zum einen die fehlende Dehydratationseffektivität infolge des Fehlens eines selbstgenügenden Wasserstoffbrückenbindungsmotivs zu nennen und zum anderen die sterische Abschirmung der Farbstoffe durch die Oligo(ethylenglykol)-Seitenketten.

Als Prinzipbeweis für die Nützlichkeit solcher Systeme für die Bioanalytik wurde ein System entwickelt, das die Löslichkeitseigenschaft eines thermoresponsiven Polymers durch Antikörper-Antigen-Reaktion änderte. Die Bindung selbst kleiner Mengen eines Antikörpers ließ sich so direkt optisch auslesen und war bereits mit dem bloßen Auge zu erkennen.

Symbole und Abkürzungsverzeichnis

δ	chemische Verschiebung
δ_d	dispersiver Term von δ_t
δ_h	Wasserstoffbrückenbindungsterm von δ_t
δ_p	Polaritätsterm von δ_t
δ_t	Hansen-Löslichkeitsparameter entsprechender Lösungsmittel bei 25 °C
ε	molarer Extinktionskoeffizient
λ_{max}^{PL}	Wellenlänge des Emissionsmaximums
λ_{max}^{abs}	Wellenlänge des Absorptionsmaximums
ρ	Polymerkettendichte
τ	Fluoreszenzlebenszeit
Φ	Fluoreszenzquantenausbeute
AC	durchschnittliche Anzahl von Chromophoren pro Kette
AiBN	2,2'-Azobis(2-methylpropionitril)
a.u.	wikürliche Einheiten (engl. arbitrary unit)
Da	Dalton
DEAC	7-Diethylamino-3-carboxycumarin
DLS	dynamische Lichtstreuung (engl.: dynamic light scattering)
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
\overline{DP}_n^{app}	zahlenmittlerer Polymerisationsgrad, Anzahl monomerer Wiederholungseinheiten
DSC	dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry)
EA	Elementaranalyse
EG	Ethylenglykol
EtOx	2-Ethyl-2-oxazolin
ELISA	enzymgekoppelten Immunadsorptionstest (engl.: enzyme linked immunosorbent assay)
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer
FRP	freiradikalische Polymerisation
GPC	Gelpermeationschromatographie
HRMS	hoch aufgelöste Massenspektrometrie
I_A	Intensität der Absorption
ICT	intramolekularer Ladungstransfer (engl.: internal charge transfer)
IgG	Immunglobulin G
I_F	Intensität der Fluoreszenz
IR	Infrarot
kD	Kilodalton
k_{ET}	Geschwindigkeitskonstante des Energietransfers
k_{IC}	Geschwindigkeitskonstante der inneren Umwandlung (engl.: internal conversion)

k_{ISC}	Geschwindigkeitskonstante des Intersystem Crossing
LCST	untere kritische Entmischungstemperatur (engl.: lower critical solution temperature)
$M_{n, GPC}^{app}$	zahlenmittlere, scheinbare molare Masse bestimmt aus GPC-Messungen
MEO ₂ A	2-(Methoxyethoxy)ethylacrylat
MEO ₂ MA	2-(2-Methoxyethoxy)ethylmethacrylat
M_n	zahlenmittlere molare Masse
$M_{r, \emptyset}$	durchschnittliches, fiktives M_r berechnet aus der molekularen Zusammensetzung (¹ H-NMR)
M_r	molare Masse
MVE	Methylvinylether
$M_{w, app}$	gewichtsmittlere molare Masse (aus statischer Lichtstreuung)
N_{agg}	Aggregationszahl
NBD	7-Nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-amin
NIPAm	<i>N</i> -Isopropylacrylamid
NIPMAm	<i>N</i> -Isopropylmethacrylamid
NMR	Kernspinresonanz (engl.: nuclear magnetic resonance)
NNPAm	<i>N-n</i> -Propylacrylamid
NRET	strahlungsloser resonanter Energietransfer (engl.: nonradiative energy transfer)
OEG	Oligoethylenglykol
OEGMA	Oligo(ethylenglykol)methacrylat
OEGMA ₄₇₅	Oligo(ethylenglykol)methacrylat mit $M_r = 475 \text{ g mol}^{-1}$
P3TMAHT	Poly-[3-(6-trimethylammoniumhexyl)thiophenbromid]
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PDI	Polydispersitätsindex
PEG	Polyethylenglykol
PL	Photolumineszenz
PMMA	Polymethylmethacrylat
ppm	Teile pro Million (engl.: parts per million)
PS	Polystyrol
r	Radius
R_g	Trägheitsradius oder Streumassenradius
RT	Raumtemperatur
S_0	elektronischer Grundzustand
S_1 - S_n	energetisch höhere, elektronische Zustände
TP	Trübungspunkt
UCST	obere kritische Entmischungstemperatur (engl.: upper critical solution temperature)
UV-vis	ultraviolett-sichtbar (engl.: visible)
VCL	<i>N</i> -Vinyl- ϵ -caprolaktam

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Farbstoffmarkierte Polymere und deren Anwendungen.....	1
1.2 Zielstellung	4
1.3 Inhaltsübersicht.....	4
2. Stand der Forschung	7
2.1 Thermoresponsive Polymere	7
2.2 Farbstoffe und Farbstoffsynthese	10
2.2.1 Cumarine.....	10
2.2.2 1,8-Naphthalimide	13
2.3 Synthese farbstoffmarkierter Polymere	15
2.3.1 Einsatz von polymergebundenen Cumarinen und Naphthalimiden für die Sensorik und Bioanalytik	16
2.4 Übersetzung des Phasenübergangs in fluoreszenzfarbstoffmarkierten, thermoresponsiven Polymeren des LCST-Typs in ein optisches Signal	18
2.4.1 Übersetzung des Phasenübergangs mittels eines (solvatochromen) Fluoreszenzfarbstoffs in ein optisches Signal.....	18
2.4.2 Übersetzung des Phasenübergangs mithilfe von zwei Fluoreszenzfarbstoffen in ein optisches Signal: FRET Systeme	22
2.5 Optische Spektroskopie	23
2.5.1 Fluoreszenzquantenausbeute	23
2.5.2 Fluoreszenzlöschung.....	24
2.5.3 Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer: FRET	25
2.5.4 Solvatochromie	26
3. Ergebnisse und Diskussion	29
3.1 Übersetzung des Phasenübergangs in ein optisches Signal: Untersuchungen strukturbasierter Unterschiede in naphthalimidfunktionalisierten LCST-Polymeren	29
3.1.1 Synthese und optische Charakterisierung des Naphthalimid- monomers 3	30
3.1.2 Synthese und Charakterisierung naphthalimidfunktionalisierter LCST-Copolymere P1, P2 und P3	33
3.1.3 Strukturelle Unterschiede zwischen den NIPAm(P1)- und OEG(P2 und P3)-basierten Copolymeren	37
3.1.4 Photophysikalische Charakterisierung der naphthalimid- funktionalisierten LCST-Copolymere P1, P2 und P3	38

3.1.5	Temperaturabhängige Fluoreszenzcharakteristika der Copolymere P1, P2 und P3 unterhalb und oberhalb der Phasenübergangstemperatur	40
3.1.6	Lichtstreuungsexperimente: Aggregations- und Assoziationsverhalten der Copolymere P1, P2 und P3 in PBS.....	45
3.1.7	Zusammenfassende Ergebnisdiskussion von Fluoreszenzspektroskopie und Lichtstreuung.....	47
3.2	Untersuchungen zum thermischen Verhalten cumarinfunktionalisierter LCST-Polymere (polyNIPAm und polyOEGMA).....	51
3.2.1	Synthese und optische Charakterisierung des Cumarinmonomers 7	51
3.2.2	Synthese und Charakterisierung cumarinfunktionalisierter LCST-Copolymere P4 und P5	53
3.2.3	Photophysikalische Charakterisierung der cumarinfunktionalisierten LCST-Copolymere P4 und P5	55
3.3	Visualisierung des Phasenübergangs in OEGMA-basierten Copolymeren	57
3.3.1	Einfluss des Polythiophens PT auf die Phasenübergangstemperatur des OEGMA-Copolymers P5 in PBS.....	59
3.3.2	Temperaturabhängige Fluoreszenzcharakteristika von Lösungen des OEGMA-Copolymers P5 und verschiedenen Konzentrationen des Polythiophens PT unterhalb und oberhalb der Phasenübergangstemperatur in PBS	59
3.3.3	Lichtstreuungsexperimente: Aggregations- und Assoziationsverhalten in PBS	63
3.3.4	Zusammenfassende Ergebnisdiskussion von Fluoreszenzspektroskopie und Lichtstreuung.....	64
3.4	Steigerung der FRET-Effizienz in einem doppeltmarkierten LCST-Polymersystems: am Beispiel von polyNIPAm	65
3.4.1	Wahl des FRET-Fluorophorenpaars	66
3.4.2	Synthese und Charakterisierung des doppeltmarkierten Copolymersystems (P6)	67
3.4.3	Photophysikalische Charakterisierung des Copolymersystems P6 .	69
3.4.4	Idealisierter, temperaturabhängiger Emissionsmechanismus des Copolymers P6	71
3.5	Dualresponsive Polymere mit LCST-Verhalten.....	72
3.5.1	Synthese und optische Charakterisierung des Cumarinmonomers 9	72
3.5.2	Synthese und Charakterisierung der cumarinfunktionalisierten LCST-Copolymere P7 und P8	76
3.5.3	Temperaturabhängige Fluoreszenzcharakteristika der Copolymere P7 und P8 unterhalb und oberhalb der Phasenübergangstemperatur	79
3.5.4	Änderung der Polymereigenschaften in Anwesenheit und Abwesenheit von monoklonalem Antikörper	81
3.5.5	OEGMA-basiertes Copolymer P8	88

3.5.6	Idealisierter Mechanismus des Copolymers P7	89
4.	Zusammenfassung, Fazit und Ausblick.....	91
5.	Experimenteller Teil.....	94
5.1	Chemikalienliste	94
5.2	Generierung des monoklonalen DEAC-Antikörpers.....	96
5.3	Kompetitiver Verdrängungs-ELISA	96
5.4	Probenvorbereitung für spektroskopische Messungen	96
5.5	Analytik	97
5.5.1	Dünnschichtchromatographie	97
5.5.2	Säulenchromatographie	97
5.5.3	Kernmagnetische-Resonanz-Spektroskopie	97
5.5.4	Hochaufgelöste Massenspektrometrie	98
5.5.5	Infrarot Spektroskopie	98
5.5.6	Elementaranalyse	98
5.5.7	Schmelzpunktbestimmung.....	98
5.5.8	Trübungsmessungen	98
5.5.9	Größenausschlusschromatographie	99
5.5.10	Absorptions- und Fluoreszenzmessungen	99
5.5.11	Lichtstreuung	99
5.6	Polymeranalytik.....	100
5.6.1	Bestimmung der Zusammensetzung aus ¹ H-NMR Daten	100
5.6.2	Bestimmung der Farbstoffmenge aus UV-vis Daten.....	100
5.6.3	Bestimmung der durchschnittlichen molaren Masse $M_{r,0}$ pro Wiederholungseinheit in Copolymeren	101
5.6.4	Bestimmung des Polymerisationsgrades	101
5.6.5	Bestimmung der durchschnittlichen Anzahl von Chromophoren pro Kette (AC).....	101
5.7	Synthesen.....	102
5.7.1	4-Dimethylamino-1,8-naphthalsäureanhydrid (1)	102
5.7.2	4-Dimethylamino-N-2-hydroxyethyl-1,8-naphthalsäureimid (2)....	103
5.7.3	4-Dimethylamino-N-2-methacryloyloxyethyl-1,8-Naphthalsäureimid (3)	104
5.7.4	2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl-acetat (4) (3-Phenyl-7-acetyl-cumarin)	105
5.7.5	7-Hydroxy-3-phenyl-2H-chromen-2-on (5) (7-Hydroxy-3-phenyl-cumarin).....	106
5.7.6	7-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenyl-2H-chromen-2-on (6) (7-(2-Hydroxyethoxy-3-phenyl-cumarin)	107
5.7.7	2-((2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl)oxy)ethyl-methacrylat (7) (2-((-3-phenyl-cumarin-7-yl)oxy)ethyl-methacrylat).....	108

5.7.8	7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-3-carbonsäure (8) (7-(Diethylamino)-3-carboxy-cumarin).....	109
5.7.9	2-(7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromene-3-carbonsäureamido)ethyl- methacrylat (9).....	110
5.7.10	Generelles Syntheseprotokoll für die Synthese von NIPAm-Copolymeren.....	111
5.7.11	Generelles Syntheseprotokoll für die Synthese von MEO ₂ A- und OEGMA-Copolymeren.....	111
5.7.12	poly[NIPAm-co-(3)] P1.....	112
5.7.13	poly[MEO ₂ A-co-(3)] P2.....	113
5.7.14	poly[OEGMA-co-(3)] P3.....	114
5.7.15	poly[NIPAm-co-(7)] P4.....	115
5.7.16	poly[OEGMA-co-(7)] P5.....	116
5.7.17	poly[NIPAm-co-(3)-co-(7)] P6.....	117
5.7.18	poly[NIPAm-co-(9)] P7.....	118
5.7.19	poly[OEGMA-co-(9)] P8.....	119
6.	Anhang.....	120
6.1	Literaturverzeichnis.....	120
6.2	NMR-Spektren.....	130
6.3	Eidesstattliche Erklärung.....	147

1. Einleitung

1.1 Farbstoffmarkierte Polymere und deren Anwendungen

Farbstoffe finden in Polymermaterialien vielerlei Verwendung, beispielweise um diese zu färben^[1] oder aber um funktionelle Materialien wie OLEDs (engl.: organic light emitting diodes)^[2-4], weiße Polymer-LEDs (WPLEDs, engl.: white emitting polymer diodes)^[2,6-8] oder organische Solarzellen^[2,8-13] herzustellen. Bei all diesen Anwendungen werden statische Polymere eingesetzt, deren Hauptaufgabe der Schutz vor Photooxidation ist oder der Schutz vor anderen Prozessen, die die Chromophore zerstören.

Im Gegensatz zu den oben genannten Anwendungen werden in der Bioanalytik insbesondere dynamische Polymere verwendet, d.h. sie reagieren auf Reize (Stimuli) mit einer Änderung ihre Form. Polymere, die dieses Verhalten aufweisen, werden als schaltbare (responsive) Polymere bezeichnet. Ein interessantes Anwendungsfeld für farbstoffgebundene Polymere dieses Typs stellen Bioanalytik, Diagnostik und Sensorik dar^[14-16].

Der Schaltvorgang in responsiven Polymeren kann durch äußere Stimuli wie Licht^[17,18], elektrische Felder, Temperatur^[19-21], Druck, Ionenstärke^[22,23], pH^[24-26] oder Analytbindung^[27] induziert werden. Eine besonders interessante Art responsiver Polymere sind thermo-responsive Polymere. Es existieren zwei Arten von thermoresponsiven Polymeren, solche mit einer unteren kritischen Entmischungstemperatur (LCST: engl.: lower critical solution temperature) und solche mit einer oberen kritischen Entmischungstemperatur (UCST: engl.: upper critical solution temperature). Das Phänomen der UCST ist bei niedermolekularen Verbindungen in Wasser weit verbreitet, d.h. häufig lösen sich diese Verbindungen in warmem Wasser besser als in kaltem. Intuitiv würde man dieses Verhalten auch für Makromoleküle erwarten. Im Gegensatz dazu tritt das Phänomen der LCST bei nicht-ionischen Polymeren in Wasser besonders häufig auf. Dies bedeutet: Wenn man eine Polymerlösung mit LCST-Verhalten über die Phasenübergangstemperatur erwärmt, so kollabieren die Polymerketten. Es bilden sich Aggregate und es kommt zur Phasenseparation. Eine makroskopische Konsequenz ist, dass sich die Lösung aufgrund der Bildung von Aggregaten, die das Licht streuen, trübt. Eine mikroskopische Konsequenz ist der Wechsel von einem gequollenen polaren, viel Wasser enthaltenden Zustand zu einem kollabierten weniger

polaren, weniger Wasser enthaltenden Zustand. Der Schaltvorgang zwischen diesen beiden Zuständen ist meistens reversibel.

Diese Möglichkeit des reversiblen Schaltens von LCST-Polymeren verspricht ein besonders großes Anwendungspotential für die Bioanalytik. Hierfür werden LCST-Polymere benötigt, die möglichst keine unspezifischen Wechselwirkungen mit der Probenmatrix aufweisen. Einige solcher thermoresponsiver Polymere mit LCST-Verhalten sind z.B. Poly-*N*-isopropylacrylamid (polyNIPAm), Poly-oligoethylenglykolacrylate (polyOEGA) und Poly-oligoethylenglykol-methacrylate (polyOEGMA). Besonders polyOEGMA ist hierbei ein geeigneter Kandidat für den Aufbau bioinertter Sensoren^[28].

Durch den Einsatz geeigneter Farbstoffe oder Farbstoffpaare in diesen Sensoren kann der Zustandswechsel des thermoresponsiven Polymers, ausgelöst durch einen Stimulus wie z.B. Analytbindung, in ein optisches Signal übersetzt werden. Dies kann durch verschiedene fluoreszenzbasierte Methoden wie Exciplex-/Excimerbildung, Ladungstransfer, Solvatochromie oder FRET (Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer) erfolgen. Besonders erfolgversprechend sind hierbei Solvatochromie und FRET (siehe Abb. 1).

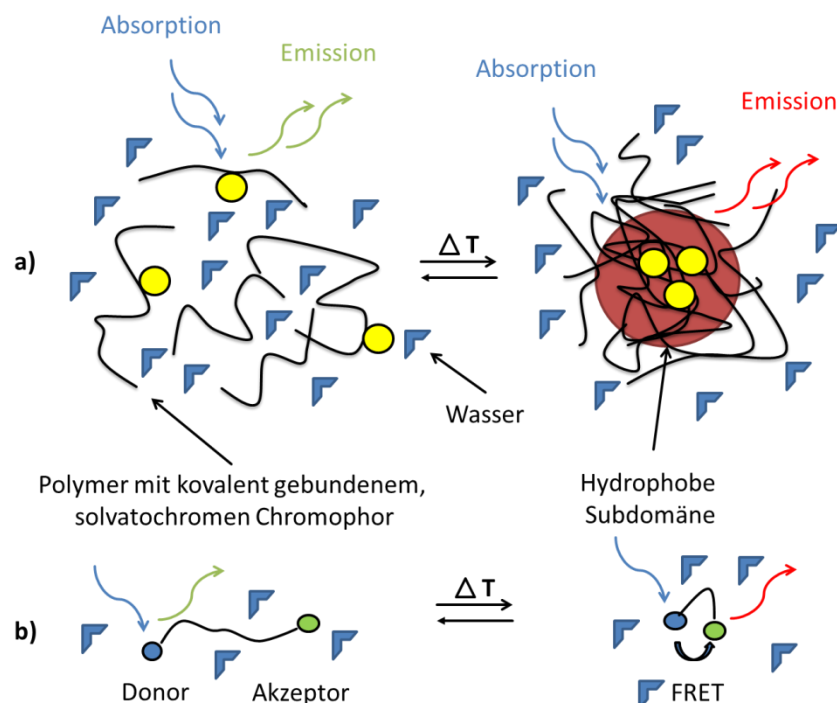


Abbildung 1 Schematische Darstellung des Visualisierungskonzepts a) mittels eines solvatochromen Farbstoffs und b) mittels eines Donor-Akzeptor-Farbstoffpaars (FRET)

An die Farbstoffe in diesen polymerbasierten Sensoren für die Bioanalytik werden, außer der Möglichkeit der Visualisierung des Phasenübergangs, weitere besondere Anforderungen gestellt. Sie sollten möglichst keine unspezifischen Wechselwirkungen in polymerbasierten Sensoren wegen der Wechselwirkung des Farbstoffs mit biologischen Proben eingehen. Daher sollten die Farbstoffe relativ klein und hydrophil sein, da diese dann weniger zu unspezifischen hydrophoben Wechselwirkungen in wässrigen Medien neigen. Das Verwenden von nichtionischen Farbstoffen minimiert unspezifische elektrostatische Wechselwirkungen in biologischen Proben. Die Farbstoffe sollten weiterhin über exzellente optische Eigenschaften verfügen wie hohe molare Extinktionskoeffizienten und/oder hohe Quantenausbeuten in Wasser oder wässrigen Puffersystemen. Weiterhin sind eine hohe Stabilität gegenüber Sauerstoff, keine pH-Sensitivität und keine Anfälligkeit für Photooxidation erstrebenswert.

Bisher wurden in thermoresponsiven Polymeren mit LCST-Verhalten (häufig polyNIPAm) zur Visualisierung des Phasenübergangs verschiedene Farbstoffe eingebaut^[29-95], die jedoch kaum die oben genannten Kriterien für Anwendungen in der Bioanalytik erfüllen. Häufig wurden geladene ionische Farbstoffe, wie beispielsweise Hemicyanine^[45], oder aber sehr große hydrophobe Molekülstrukturen^[36,40,55-58,64,68-85,87-89] verwendet. Zusätzlich zu diesen potentiell ungünstigen Eigenschaften der literaturbekannten Farbstoffe für die Bioanalytik bzw. Sensorik reagieren manche dieser farbstoffmarkierten, thermoresponsiven Polymere auf einen Temperaturstimulus mit Änderung der spektralen Eigenschaften, andere jedoch nicht. Die molekularen Ursachen hierfür sind zum derzeitigen Forschungsstand nicht klar.

Daher wäre es erstrebenswert, neue, kleine und hydrophile Farbstoffe zu synthetisieren, die für bioanalytische Fragestellungen potentiell geeignet sind und mit denen man den Phasenübergang in thermoresponsiven Polymeren visualisieren kann.

1.2 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit war es, polymerisierbare fluoreszierende Farbstoffe und Farbstoffsysteme zu entwickeln, die den Phasenübergang in LCST-Polymeren in ein optisch auslesbares Signal umwandeln. Solche farbstoffmarkierten LCST-Polymere ermöglichen die Untersuchung des Phasenübergangs in thermoresponsiven Polymeren und verfügen über ein hohes Anwendungspotential für die Sensorik und für die Bioanalytik.

In einem ersten Schritt sollten polymerisierbare Farbstoffmonomere synthetisiert und bezüglich ihrer spektralen Eigenschaften untersucht werden. Anschließend sollten sie freiradikalisch copolymerisiert und die resultierenden Polymere bezüglich ihres thermischen Verhaltens untersucht werden.

1.3 Inhaltsübersicht

Schwerpunkt dieser Arbeit war es, farbstoffmarkierte LCST-Polymere zu entwickeln, die den Phasenübergang in ein signifikantes optisches Signal umwandeln. Diese Polymere sollten als signalgebende Gruppe für die Bioanalytik fungieren.

Um den Phasenübergang in thermoresponsiven Polymeren zu visualisieren, wurden in dieser Arbeit zwei Ansätze verfolgt: Der erste war die Verwendung eines stark solvatochromen Naphthalimidfarbstoffs (Kapitel 3.1) und der zweite nutzte FRET (Kapitel 3.3 und 3.4) zur Visualisierung.

In Kapitel 3.1 werden die Synthese und das thermische Phasenverhalten naphthalimidfunktionalisierter NIPAm- und OEG-basierter (OEGA und OEGMA) Copolymere vorgestellt und verglichen. Die entsprechenden Copolymere wurden durch klassische freiradikalische Copolymerisation synthetisiert. Das naphthalimidfunktionalisierte polyNIPAm-Copolymer ist unterhalb seiner Phasenübergangstemperatur in wässrigem Medium kaum fluoreszierend; erhöht man die Temperatur, so erhöht sich die Fluoreszenzquantenausbeute des polymergebundenen Naphthalimids und es fluoresziert. Der Faktor der temperaturstimulierten Fluoreszenzintensitätserhöhung beträgt 30 und ist der höchsten, der in thermoresponsiven Copolymeren beobachtet wurde. Interessanterweise tritt die Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute in den OEG-basierten Copolymeren nicht auf.

Anhand der Ergebnisse von photophysikalischen Untersuchungen und Lichtstreuungsexperimenten wurden die molekularen Ursachen für dieses Verhalten diskutiert. Als Ursachen für das unterschiedliche temperaturabhängige Emissionsverhalten scheint eine fehlende Dehydratisierungseffektivität, resultierend aus dem Fehlen eines internen Wasserstoffbrückenbindungsmotivs in den OEG-basierten Copolymeren, zu sein. Weiterhin schirmen die OEG-Seitenketten Farbstoffe, die sich nahe am Polymerrückgrat befinden, vor Wassermolekülen ab. Durch diese beiden Effekte ändert sich die lokale Umgebung des polymergebundenen Chromophors in OEG-basierten Copolymeren kaum und es kommt zu keiner Änderung des Emissionsverhaltens. Für polymerbasierte Systeme in der Bioanalytik, die auf der Übersetzung des Phasenübergangs in ein optisches Signal beruhen, erscheint die Wahl des richtigen Polymersystems daher noch wichtiger als die Wahl des Chromophors.

Resultierend aus den Ergebnissen der Kapitel 3.1 und 3.2 wurde ein FRET-basiertes System entwickelt, das den Phasenübergang über einen Assoziationsmechanismus zweier Makromoleküle in OEGMA-Copolymeren in ein optisches Signal übersetzen kann. Hierbei wurde ein monofunktionalisiertes, cumarinmarkiertes OEGMA-Copolymer als Donor und ein Polythiophen als Akzeptor eingesetzt. Das cumarinmarkierte OEGMA-Copolymer wurde durch klassische freiradikalische Copolymerisation synthetisiert, das Polythiophen wurde freundlicherweise von A. Gutacker zur Verfügung gestellt. Unterhalb der Phasenübergangstemperatur assoziieren die beiden Makromoleküle, es kommt zum Energietransfer und die Akzeptoremission wird detektiert. Erwärmt man die Lösung über die Phasenübergangstemperatur, so kollabiert das thermoresponsive OEGMA-Copolymer und die beiden Makromoleküle dissoziieren, der Abstand von Donor und Akzeptor wird größer, der Energietransfer wird minimiert und die Donoremission wird detektiert. Die Ergebnisse des Kapitels 3.3 zeigen, auf welche Art und Weise der Phasenübergang in OEGMA-basierten Copolymeren in ein optisches Signal übersetzt werden kann.

In Kapitel 3.4 wird eine weitere Möglichkeit beschrieben, den Phasenübergang mittels FRET in freiradikalisch polymerisierten, donor-akzeptor-markierten Copolymersystemen zu studieren. Ausgehend von den Erfahrungen der Kapitel 3.1 und 3.2 wurde ein polyNIPAM-basiertes Copolymersystem synthetisiert. Das Cumarin aus Kapitel 3.2 fungiert als Donor- und das Naphthalimid aus Kapitel 3.1 als Akzeptorchromophor. Unterhalb der Phasenübergangstemperatur wird ausschließlich die Donoremission detektiert. Erhöht man die

Temperatur über die Phasenübergangstemperatur, kommt es zum Energietransfer: Die Donoremission wird partiell gelöscht und die Akzeptoremission wird detektiert. Der hier an einem polyNIPAm-basierten System geführte konzeptionelle Beweis für die Machbarkeit solcher FRET-basierter Systeme ignoriert den Abstand von Donor und Akzeptor in und zwischen den Polymerketten, der normalerweise zu einer niedrigen FRET-Effizienz führt. Diese Ergebnisse zeigen instruktiv, wie sich in donor-akzeptor-markierten Copolymer-systemen die FRET- Effizienz steigern lässt.

Als konzeptioneller Beweis für den Nutzen von Farbstoffen in thermoresponsiven Polymeren für bioanalytische Fragestellungen wurde ein cumarinmarkiertes NIPAm-Copolymer entwickelt, das sowohl auf Temperaturstimulus als auch auf eine Antikörper-Antigen-Bindung als Stimulus mit einer starken Änderung des Emissionsprofils des Cumarinfarbstoffs (Diethylaminocumarin –DEAC) reagiert (Kapitel 3.5). Der solvatochrome Cumarinfarbstoff dient in diesem Fall als Sensor für das Phasenverhalten des Copolymers und zugleich als Antigen für die Antikörperbindungsreaktion. Die Bindung eines DEAC-Antikörpers kann hierbei sowohl über das Emissionsprofil des Farbstoffs als auch über das Trübungsprofil des Copolymers ausgelesen werden. Weiterhin kann mithilfe des solvatochromen Cumarins in Abwesenheit des Antikörpers der Phasenübergang in ein optisches Signal übersetzt werden. Das Kapitel 3.5 zeigt eindrucksvoll, auf welche Art und Weise man sich das thermische Verhalten von Copolymeren mit LCST-Verhalten für die Kontrolle von molekularer Erkennung und für das Beobachten kompetitiver Bindungsevents zunutze machen kann.

2. Stand der Forschung

2.1 Thermoresponsive Polymere

Wie in Kapitel 1 angesprochen, reagieren responsive Polymere auf diverse Stimuli. Besonders interessant für viele Anwendungen sind thermoresponsive Polymere. Diese zeigen eine temperaturabhängige, diskontinuierliche Zustandsänderung, wobei die Zustandsänderung zwischen einem Ein- und einem Zweiphasensystem bei einer gegebenen Temperatur zu beobachten ist^[96] (siehe Abb. 2). Der Wechsel dieser Zustände ist meist reversibel, jedoch wird unter Umständen eine Differenz bezüglich der Schalttemperatur beobachtet. Diese Differenz tritt zwischen Heizen und Kühlen auf und wird als Hysterese bezeichnet. Es existieren zwei Arten von thermoresponsiven Polymeren, solche mit einer oberen kritischen Entmischungstemperatur (UCST) und solche mit einer unteren kritischen Entmischungstemperatur (LCST). Vor allem thermoresponsive Polymere mit LCST-Verhalten in wässriger Umgebung sind in den letzten Jahren intensiv untersucht worden, da ihr Verhalten hinsichtlich der Anwendungsmöglichkeiten in der Aktorik, in der Mikroelektronik, in der Katalyse und in der Medizintechnik ein hohes Potential aufweist.

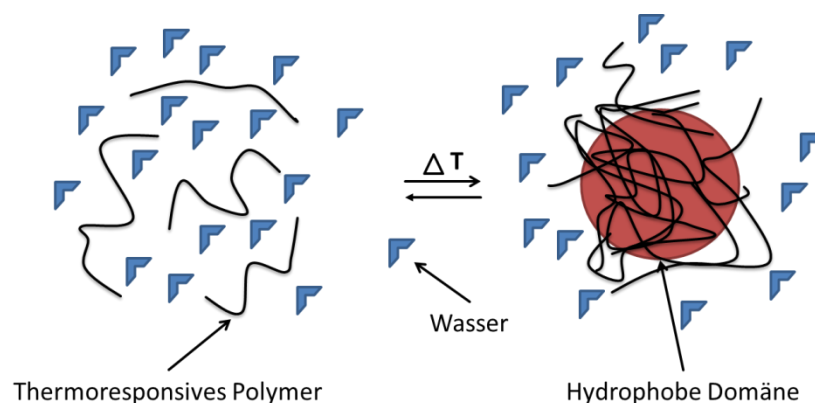


Abbildung 2 Schematische Darstellung des reversiblen Zustandswechsels in thermoresponsiven Polymeren mit LCST-Verhalten in wässrigem Medium

Speziell der erhoffte Nutzen für die Medizintechnik hat ausführliche Untersuchungen im Bereich der thermoresponsiven Polymere des LCST-Typs beflügelt^[97-100]. Einige besonders eingehend beforschte Gebiete sind hierbei die Gewebekonstruktion (engl.: tissue engineering), kontrollierter Wirkstofftransport und -freisetzung (engl.: drug delivery) und die kontrollierte Zelladsorption und -desorption.

Für biologische und medizinische Anwendungen stellen Wasser bzw. wässrige Puffersysteme die relevanten Lösungsmittel dar. Hierbei treten bei nichtionischen, aus hydrophilen und hydrophoben Domänen bestehenden Polymeren häufig temperaturinduzierte Phasenseparationen auf^[20]. Typische thermoresponsive Polymerklassen mit LCST-Verhalten dieses Strukturmotivs sind: Polyvinylalkohol, Polyethylenglykol, Poly(meth)acrylamide, Polyvinylphosphonate^[101], Polypeptide^[102,103], Poly(*N*-vinylamide), Polyoxazoline^[104] und Polymere mit Oligoethylenglykoseitenketten (siehe Abb. 3).

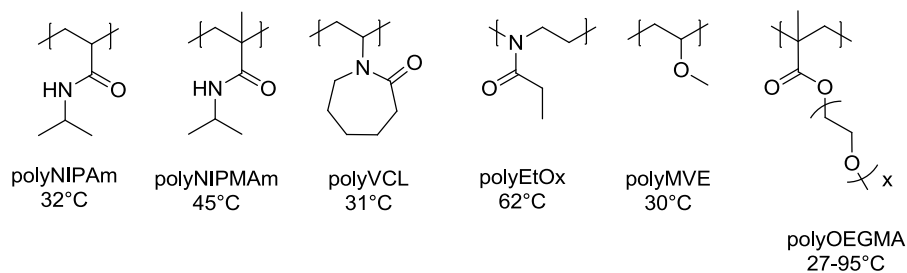


Abbildung 3 Beispiele für thermoresponsive Polymere und ihre Phasenübergangstemperaturen: Poly-*N*-isopropylacrylamid (polyNIPAm), Poly-*N*-isopropylmethacrylamid (polyNIPMAm), Poly-*N*-vinyl-ε-caprolaktam (polyVCL), Poly-2-ethyl-2-oxazolin (polyEtOx), Polymethylvinylether (polyMVE), Poly-[oligoethylenglykol]methylethermethacrylat (polyOEGMA)

Von all diesen thermoresponsiven Polymeren mit LCST-Verhalten ist Poly-*N*-isopropylacrylamid (polyNIPAm) das derzeit am meisten untersuchte LCST-Polymer^[68,105-110]. Es wird daher gelegentlich als Goldstandard der LCST-Polymere bezeichnet. PolyNIPAm zeichnet sich u.a. dadurch aus, dass seine LCST über einen großen Konzentrationsbereich nahezu konstant bei 32 °C liegt. Ein weiterer Vorteil von polyNIPAm ist seine gute Hydrolysebeständigkeit bei verschiedenen pH-Werten. Ein Nachteil für biologische Anwendungen besteht darin, dass polyNIPAm teilweise zu unspezifischen Wechselwirkungen mit Proteinen neigt.

Eine andere Klasse von thermoresponsiven Polymeren des LCST-Typs, die in den letzten Jahren in den Fokus rückten, sind Poly-(oligoethylenglykol)methacrylate (polyOEGMAs) und Poly-(oligoethylenglykol)acrylate (polyOEGAs)^[111-117]. PolyOEGMAs bestehen strukturell aus Polymethacrylsäureestern im Polymerrückgrat und Oligoethylenglykoleinheiten (OEG) in den Polymerseitenketten. In polyOEGAs sind die Seitenketten mit denen der polyOEGMAs identisch, während das Polymerrückgrat aus Polyacrylsäureestern besteht. Der große Vorteil der polyOEGMAs ist, dass sich durch Copolymerisation von Monomeren, die nur unterschiedlich lange OEG-Seitenketten besitzen, die Übergangstemperatur einfach über einen weiten Temperaturbereich (27-95°C) einstellen lässt^[118-121]. Die Polymerstruktur ändert sich dabei kaum. Das Homopolymer mit einer Seitenkettenlänge von 2 EG-Einheiten besitzt beispielsweise eine LCST von ca. 27°C, wohingegen das Homopolymer mit einer EG-Seitenkettenlänge von 8-9 eine LCST von ca. 95°C besitzt. Ein weiterer Vorteil, den polyOEGMAs und polyOEGAs bieten, ist ihre geringe Tendenz zu unspezifischen Wechselwirkungen mit Proteinen. Dies ist auch von Polyethylenglykol (PEG) bekannt^[122-127].

Allgemein kann bei allen LCST-Polymeren die Phasenübergangstemperatur über einen weiten Bereich verschoben werden, indem zusätzlich hydrophile oder hydrophobe Gruppen eingeführt werden. Das Einführen von hydrophoben Gruppen erniedrigt normalerweise die Phasenübergangstemperatur, während das Einführen einer hydrophilen Gruppe das Gegenteil bewirkt. Das Einführen zusätzlicher Gruppen kann durch Copolymerisation^[105] oder mittels einer polymeranalogen Reaktion^[128] erfolgen.

Um den Phasenübergang von thermoresponsiven Polymeren in Lösung zu untersuchen, stehen verschiedene experimentelle Techniken zur Verfügung. Häufig genutzt werden:

- die Kalorimetrie^[129-131] (zur Bestimmung der Thermodynamik des Phasenübergangs)
- die Viskosimetrie^[129] (zur Bestimmung der hydrodynamischen Konsequenzen)
- die Lichtstreuungsmessungen^[132-135] (zur Bestimmung der Knäuel- oder Partikelgrößen)
- die Turbidimetrie (zur Bestimmung der Trübungspunkte)
- die IR-Spektroskopie^[136]
- die NMR-Spektroskopie und
- die UV-vis- oder die Fluoreszenzspektroskopie^[68,69,137,138].

Die Methoden der Kalorimetrie, der Viskosimetrie, der Lichtstreuung, der Turbidimetrie, der IR- und der NMR-Spektroskopie sind markierungsfreie Verfahren zur Untersuchung des Phasenübergangs. Allein die UV-vis- bzw. Fluoreszenzspektroskopie benötigen einen umgebungssensitiven Farbstoff, um den Phasenübergang detektieren zu können.

2.2 Farbstoffe und Farbstoffsynthese

Da die thermoresponsiven Polymere polyNIPAm, polyOEGA und polyOEGMA ein hohes Potential für Biosensoren aufweisen, wurden sie in dieser Arbeit als thermoresponsive Matrixpolymere eingesetzt. Als Chromophore sind Cumarin- und Naphthalimidfarbstoffe geeignete Kandidaten, um den Phasenübergang in diesen thermoresponsiven Polymeren in ein optisches Signal zu übersetzen. Die Vorteile dieser Farbstoffklassen sind relativ kleine Molekülstrukturen und exzellente optische Eigenschaften. Durch die Wahl kleiner hydrophiler und nichtionischer Farbstoffe können die unspezifischen Wechselwirkungen in Biosensoren vermieden/minimiert werden.

Im nachfolgenden Kapitel werden sowohl optische Eigenschaften als auch Anwendungsmöglichkeiten von Cumarinen und Naphthalimiden näher erörtert. Insbesondere Cumarine besitzen ein weites Anwendungspotential in vielen Forschungsrichtungen^[139-142].

2.2.1 Cumarine

Cumarine sind eine weitverbreitete Klasse von Naturstoffen und besitzen ein breites Spektrum an Anwendungen, wie z.B. als Aromastoffe, als Duftstoffe in der Parfümerie^[139], als Enzyminhibitoren^[140,141], als Giftstoffe (Insektizide^[142] und Rodentizide), als Arzneistoffe (Antikoagulantien) und als Farbstoffe, um nur einige zu erwähnen.

1820 gelang A. Vogel die Isolierung der Stammverbindung (Cumarin) (siehe Abb. 4) aus Klee und der Tonkabohne (bis zu 10% Cumarin)^[143]. Er erhielt farblose Kristalle, die an den Geruch von frisch gemähtem Gras erinnern. Der Name „Cumarin“ leitet sich von der karibischen Bezeichnung für den Tonkabaum „Coumarou“ ab.

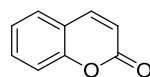


Abbildung 4 Cumarinstammverbindung

Traditionell wurden Cumarin und dessen Derivate als Naturstoffe durch Isolierung aus verschiedenen Schmetterlingsblütlern gewonnen. Seit 1868 ist Cumarin synthetisch zugänglich. Dabei stehen verschiedene Reaktionsmöglichkeiten zur Verfügung. Am verbreitetsten zum Aufbau von Cumarinstrukturen sind die Perkin-Reaktion und die Pechmann-Reaktion (siehe Abb. 5). Bei der Perkin-Reaktion wird ein Salicylaldehyd mit einer β -Ketoester Verbindung zum entsprechenden Cumarin umgesetzt. Bei der Pechmann-Reaktion erfolgt die Umsetzung eines Phenols mit einem β -Ketoester unter sauren Bedingungen (Verwendung von z.B. Lewis-Säuren wie AlCl_3) zum Cumarin. In dieser Arbeit wurde die Perkin-Synthese zum Aufbau funktioneller Cumarine gewählt, da sie einen breiteren, variableren und synthetisch einfacheren Zugang zu einer Vielzahl von Cumarinen bietet.

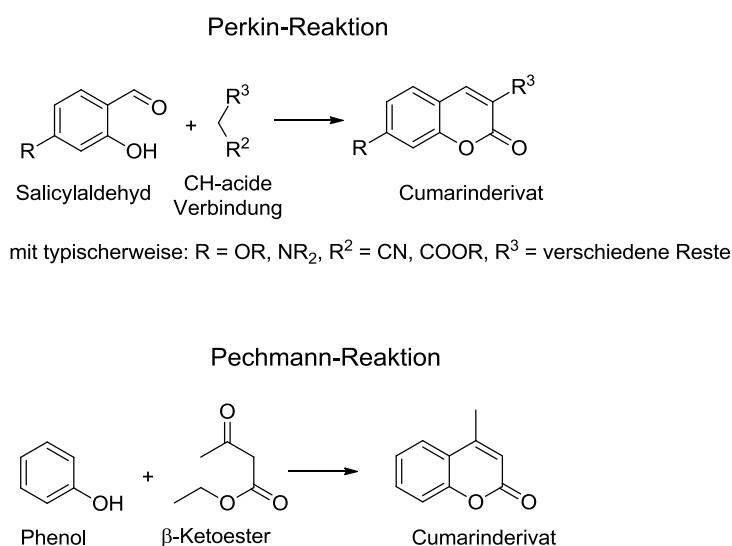


Abbildung 5 Reaktionsschema zum Aufbau von Cumarinen mithilfe der Perkin- und der Pechmann-Reaktion

Am weitesten verbreitet ist die Verwendung von Cumarinen als Laserfarbstoff. Cumarine zeichnen sich z.B. durch moderate Extinktionskoeffizienten, sehr hohe Quantenausbeuten und hohe Stabilität gegenüber Sauerstoff aus. Sie decken das gesamte Spektrum des sichtbaren Lichts einschließlich des UV-Bereichs ab. Typische Substitutionsmuster sind dabei: Donor-substitution in 7-Position und Donor- oder Akzeptorsubstitution in 3- und/oder 4-Position. Eine Alkoxy-substitution in 7-Position führt zu einer Absorption im UV-Bereich und zu einer Emission im blauen Spektralbereich. Verschiedene in 7-Position aminosubstituierte Cumarine führen zu einer Absorption, die sich typischerweise vom blauen bis zum gelben Spektralbereich, und einer Emission, die sich vom blauen/grünen bis zum roten Spektralbereich erstreckt.

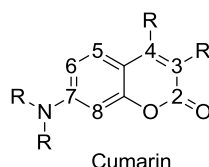


Abbildung 6 Nummerierung der Ringatome in einem 7-Aminocumarin

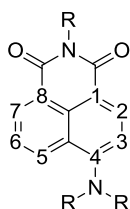
In 3- und 4-Position sterisch ungehinderte 7-Alkoxyumarine werden infolge ihrer Fähigkeit, 2+2 Cycloaddition einzugehen, in der Polymerchemie als Vernetzer (Crosslinker) eingesetzt^[144].

Die am häufigsten verwendeten Cumarine sind 7-Aminocumarine, die sich durch interessante spektroskopische Eigenschaften auszeichnen. Sie gehören zur Klasse der ICT-Farbstoffe (ICT-dyes: engl.: internal charge transfer dyes), wobei die Aminogruppe als Elektronendonator und die Carbonylgruppe des Laktons als Elektronenakzeptor wirkt. Diese lassen sich durch einen unpolaren Grundzustand beschreiben, der ein geringes elektrisches Dipolmoment besitzt, und einen polaren Zustand, bei dem sich eine positive Ladung am Stickstoffatom und eine negative Ladung am Sauerstoffatom befinden (siehe. Abb. 15). Dies führt zu einem höheren elektrischen Dipolmoment. Im elektronischen Grundzustand überwiegt der unpolare Grundzustand, der bei photoinduzierter Anregung in den polaren angeregten Zustand übergeht. Wird an der 3- oder 4-Position eine zusätzliche Elektronenakzeptorgruppe eingeführt, so verstärkt sich der solvatochrome Charakter der 7-Amino-cumarine, da das Lakton per se nur ein schwacher Elektronenakzeptor ist. Typischerweise nimmt die Quantenausbeute mit der Starrheit der Aminogruppe zu, weil dadurch konkurrierende nichtstrahlende Prozesse unterdrückt werden^[145]. Außerdem ist die Wahrscheinlichkeit eines Spinflips gering, so dass sich angeregte Cumarine hauptsächlich im Singulettzustand befinden, aus dem sie fluoreszieren.

Diverse Cumarine werden in der Analytik als Chemodosimeter eingesetzt, um verschiedene Ionen, wie Cu(II)^[146,147], Fe(II)^[148], Ni(II)^[149], Hg(II)^[150], Fluorid^[151], Cyanid^[152,153], Pyrophosphat^[154,155], und viele weitere biologisch interessante Spezies wie Thiole^[156,157] qualitativ nachzuweisen und zu quantifizieren.

2.2.2 1,8-Naphthalimide

1,8-Naphthalimide besitzen ein weites Spektrum an Anwendungsmöglichkeiten. Im Bereich der Biologie gehören dazu u.a. der Einsatz in der Krebsforschung^[158-160], als DNA-Binder^[158-160], als fluoreszierende bildgebende Farbstoffe für Zellmarkierungen^[158-160], als molekulare Sonden^[161] und als Biosensoren^[162,163] sowie die Nutzung solvatochromer Eigenschaften, z.B. zum Studieren von Protein-Protein-Wechselwirkungen^[164]. Typisch im materialwissenschaftlichen Anwendungsgebiet ist der Einsatz als optische Aufheller in Textilfasern, zum Färben von Polymermaterialien^[165,166], in der polymerbasierten Solartechnologie^[165,166] und als fluoreszierende Additive in flüssigkristallinen Mischungen^[167-169]. Teilweise werden 1,8-Naphthalimide auch als Laserfarbstoffe verwendet^[170,171], besonders interessant sind hierbei die 4-Amino-1,8-naphthalimide.

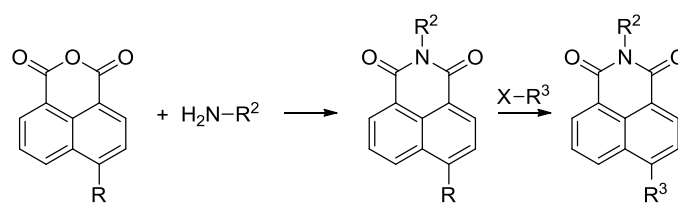


4-Amino-1,8-naphthalimid

Abbildung 7 Nummerierung der Ringatome in einem 4-Amino-1,8-naphthalimid

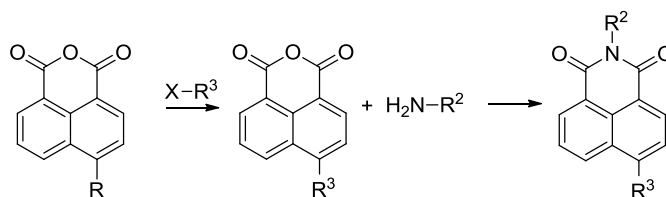
Synthetisch werden 4-Amino-1,8-naphthalimide häufig durch eine Umsetzung von den entsprechenden Anhydriden mit primären Aminen gewonnen. In einem zweiten Schritt wird anschließend eine Aminogruppe in 4-Position eingeführt. Hierfür existieren verschiedene Methoden wie z.B. kupferkatalysierte Kupplungsreaktionen. In dieser Arbeit wurde ein anderer Weg beschrrieben. Es wurde zuerst der Elektronendonator in 4-Position eingeführt und anschließend der Imidringschluss durch Umsetzung mit einem primären Amin durchgeführt (donorgesteuerter Reaktionsweg) (siehe Abb. 8). Dieses eröffnet den Zugang zu einer Vielzahl von möglichen 4-Amino-1,8-naphthalimiden.

Reaktionsweg über kupferkatalysierte Kupplungsreaktionen



mit typischerweise: R = Cl, Br, I, OTf, OMs, R² = verschiedene Reste,
R³ = verschiedene Reste, häufig NR₂, OR, SR

Donorgesteuerter Reaktionsweg



mit typischerweise: R = Cl, Br, I, OTf, OMs, R² = verschiedene Reste,
R³ = verschiedene Reste, häufig NR₂, OR, SR

Abbildung 8 Reaktionsschema zur Darstellung von 4-substituierten Naphthalimiden auf zwei unterschiedlichen Wegen

1,8-Naphthalimide, im Besonderen 4-Amino-1,8-naphthalimid-Derivate, stellen eine Klasse von intensiv untersuchten solvatochromen Farbstoffen^[171-177] dar. Diese nichtionischen, polaren Farbstoffe zeigen eine intensive Absorption und Emission im sichtbaren Bereich des Lichts, wobei sich die spektralen Eigenschaften durch das Substitutionsmuster steuern lassen. 4-Amino-1,8-naphthalimid-Derivate fluoreszieren typischerweise gelblich oder grün. Diese Farbstoffe sind sehr stabil gegen Photooxidation und unempfindlich gegen das Löschen des Fluoreszenzlichts durch Sauerstoff. Durch ihre geringe Größe, ihren polaren und ihren nichtionischen Charakter neigen sie in Wasser weniger zu unspezifischen hydrophoben oder elektrostatischen Wechselwirkungen als viele andere bekannte Fluoreszenzfarbstoffe wie z.B. Rhodamine, Fluoresceine oder Pyrene. Der stark solvatochrome Charakter von 4-Amino-1,8-naphthalimiden resultiert aus einem internen Elektronentransfer von der als starker Elektronendonator wirkenden Aminogruppe in 4-Position zu dem als starker Elektronenakzeptor wirkenden Imidring^[174,178,179] (siehe Abb. 15). Genauso wie die 7-Aminocumarine gehören auch die 4-Aminonaphthalimide zu den ICT-Farbstoffen.

2.3 Synthese farbstoffmarkierter Polymere

Um farbstoffmarkierte Polymere aufzubauen, gibt es verschiedene Wege. Z.B. lassen sich durch Copolymerisation von polymerisierbaren Farbstoffen mit anderen Monomeren, farbstoffmarkierte Copolymere synthetisieren. Zweitens können bei kontrolliert radikalischen Polymerisationen farbstoffmarkierte Initiatoren oder Kettenüberträger verwendet werden, um farbstoffmarkierte Polymere aufzubauen, wobei sich die Farbstoffe am Kettenanfang und/oder am Kettenende in den resultierenden farbstoffmarkierten Polymeren befinden. Eine dritte Möglichkeit ist die Synthese eines Polymers, das über reaktive Gruppen verfügt, so dass es im Anschluss via polymeranaloge Reaktion mit einem Farbstoff funktionalisiert werden kann. Dabei kommen günstigerweise Methoden der sogenannten „Klickchemie“^[180] oder der Aktivesterchemie in wässrigen Medien zum Einsatz.

Der Vorteil der Copolymerisation ist, dass sich der Funktionalisierungsgrad des Polymers durch Variation des Comonomerenverhältnisses relativ leicht einstellen lässt. Limitierend ist allerdings, dass der funktionelle Farbstoff kompatibel mit der entsprechenden Polymerisationsmethode sein muss. Weiterhin ist die kommerzielle Verfügbarkeit von polymerisierbaren Farbstoffen häufig nicht gegeben. Es existieren z.B. derzeit keine kommerziellen, polymerisierbaren Naphthalimidfarbstoffe und lediglich zwei polymerisierbare Cumarinfarbstoffe (Derivate des Cumarins 151, siehe Abb. 9).

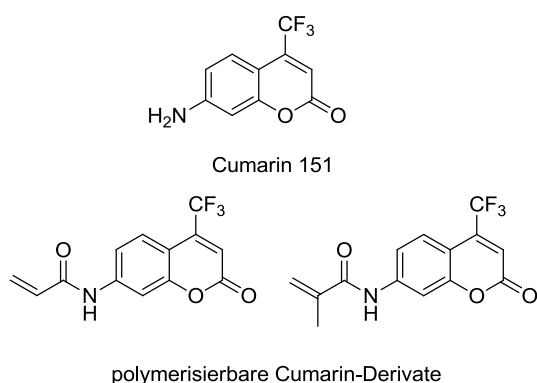


Abbildung 9 Cumarin 151 und seine kommerziellen, polymerisierbaren Derivate

Die polymeranaloge Reaktion hat den Vorteil, dass ein universelles Polymer mit einer oder mehreren reaktiven Gruppen synthetisiert wird, mit dem anschließend eine Vielzahl von Reaktionen zur Funktionalisierung durchgeführt werden kann; z.B. lassen sich so komplexe polymere Architekturen aufbauen, indem verschiedene reaktive Gruppen orthogonal adressiert

werden. Einer der Nachteile ist, dass die Reaktivität der funktionellen Gruppen in den Polymeren oft herabgesetzt ist, so dass oft keine vollständigen Produktumsätze erreicht werden. Diese verbleibenden, nichtumgesetzten reaktiven Gruppen können in den resultierenden Polymeren zu störenden bzw. unerwünschten Nebenwirkungen führen.

Beide Strategien werden laut der Literatur gleichermaßen genutzt. In dieser Arbeit wurde der erste Weg verfolgt, d.h. polymerisierbare Farbstoffe wurden synthetisiert und diese anschließend durch Copolymerisation zu farbstoffmarkierten Copolymeren umgesetzt. Der Einsatz von polymerisierbaren Farbstoffen bietet den Vorteil eines breiteren und synthetisch einfacheren Zugangs zu etlichen unterschiedlichen farbstoffmarkierten Polymersystemen.

2.3.1 Einsatz von polymergebundenen Cumarinen und Naphthalimiden für die Sensorik und Bioanalytik

Der folgende Abschnitt gibt einen Einblick in die Anwendungsmöglichkeiten cumarin- und naphthalimidhaltiger Polymere im Bereich der Sensorik und der Bioanalytik. Im Bereich der thermoresponsiven Polymere gibt es bisher keine Forschungsergebnisse von cumarinmarkierten, thermoresponsiven Polymeren und es existiert nur eine Publikation die ein 1,8-Naphthalimidderivat in thermoresponsiven Polymeren beschreibt.

2.3.1.1 Cumarine

Su et al. berichten von cumarinmarkierten, wasserlöslichen, acrylamid- und *N*-vinyl-2-pyrrolidonbasierten Copolymeren, die als Chemosensoren für Ni(II)-Ionen oder Protonen wirken^[181-183]. In diesem speziellen Fall werden Cumarine mit Piperazineinheiten funktionalisiert, die als Chelatbildner für Metallionen wirken oder durch Protonierung quaternisiert werden können.

Im Bereich der medizinischen Anwendungen berichten Grinstaff et al. von Nanopartikeln, deren Oberfläche mit cumarinmarkierten Copolymeren funktionalisiert wird, die in ein lebendes Schwein injiziert werden^[184]. Durch die Cumarinfunktionalisierung ist es möglich, die Bewegung dieser Nanopartikel durch Wächterlymphknoten zu beobachten.

Patel et al. testen die antimikrobiellen Eigenschaften von cumarinmarkierten Homopolymeren und vinylacetatbasierten Copolymeren gegen verschiedene Mikroorganismen^[185] wie Bakterien, Pilze und Hefe.

2.3.1.2 1,8-Naphthalimide

Erste vergleichende Untersuchungen von 4-Amino-1,8-naphthalimidderivaten in verschiedenen Polymermatrices (Polymethylmethacrylat und Polystyrol) werden von Filipova, Grabchev und Petkov berichtet. Sie vergleichen die optischen Eigenschaften in diesen nicht schaltbaren Polymermaterialien^[186]. Weiterhin beschreiben Filipova, Grabchev und Petkov naphthalimidmarkierte, styrolbasierte Copolymere, die als Sensor für eine Vielzahl von Ionen wirken können^[187]. Die Versuche werden jedoch in Acetonitril durchgeführt, da Polystyrol wasserunlöslich ist.

Bai et al. berichten von einem naphthalimidfunktionalisierten Lichtwellenleiter, mit dem es möglich ist den innerarteriellen pH-Wert in Hasen zu messen. Dieser könnte potentiell auch Anwendung im Menschen finden, um Azidosen bzw. Alkalosen im Blut nachzuweisen^[188].

Für viele Anwendungen ist die Photostabilität der resultierenden Polymermaterialien wichtig. Bojinov et al. synthetisieren naphthalimidfunktionalisierte Polyacrylnitrile und vergleichen anschließend die resultierenden Polymere hinsichtlich ihrer Photostabilität^[189,190]. Farbstoffe in einer Polymermatrix besitzen eine höhere Photostabilität als Farbstoffe ohne schützende Polymermatrix.

Li und Liu berichten von einem responsiven, naphthalimidhaltigen NIPAm-Nanogel, das auf Temperatur und Quecksilber-Ionen als Stimulus reagiert. So erhöht sich die Fluoreszenzintensität um einen Faktor von 3,4, wenn eine Lösung des Nanogels von 25 °C auf 40 °C erwärmt wird. In der Anwesenheit von Quecksilber-Ionen ist der Effekt deutlich drastischer ausgeprägt: die Fluoreszenzintensität steigt um den Faktor 10 bis 57 je nach Quecksilber-Ionen-Konzentration^[191]. Der deutlich stärkere Effekt der Quecksilber-Ionen beruht im Wesentlichen auf einer gewollten Umlagerung am Naphthalimid. Dieses Nanogel ist für den spezifischen Nachweis von Quecksilber-Ionen und nicht für die Detektion des Phasenübergangs im Nanogel konzipiert.

2.4 Übersetzung des Phasenübergangs in fluoreszenzfarbstoffmarkierten, thermoresponsiven Polymeren des LCST-Typs in ein optisches Signal

Polymerbasierte Systeme, die Temperaturänderungen in ein optisches Signal übersetzen können, werden in der englischsprachigen Literatur oft mit dem Begriff des „fluorescent thermometer“ verknüpft. Dieser Begriff wurde von Herrn Prof. Dr. Seiichi Uchiyama (Universität Tokio) geprägt. Dabei wurden verschiedene fluoreszenzbasierte Methoden wie beispielsweise Exciplex-/Excimerbildung, photoinduzierter Ladungstransfer (PET, engl.: photo electron transfer), Erhöhung und Verringerung der Fluoreszenzintensität, Photoisomerisation, Solvatochromie (Verschiebung von Emission oder Absorptionsmaxima) und FRET genutzt.

Die Triebkraft für die Erforschung polymerbasierter Temperatursensoren waren: einerseits die Entwicklung neuer funktionaler temperaturabhängiger Systeme unter Nutzung responsiver Polymere und andererseits das Polymerkettenverhalten und den Phasenübergang in Lösung besser zu verstehen. Polymere Sensoren haben einen entscheidenden Vorteil gegenüber den nichtpolymeren Varianten. Typische Probleme von Sensoren sind die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse über lange Zeit, die Signalstabilität und das Ausbleichen der Chromophore. Es ist bekannt, dass die Polymerumgebung die Farbstoffe schützt und somit zu einer längeren zeitlichen Reproduzierbarkeit der Ergebnisse führt, da die Chromophore nicht so schnell zerstört werden.

2.4.1 Übersetzung des Phasenübergangs mittels eines (solvatochromen) Fluoreszenzfarbstoffs in ein optisches Signal

In thermoresponsive Polymere, häufig polyNIPAm, wurden bisher verschiedene Farbstoffe wie u.a. Benzofurazane^[29-38], Chinoline^[39], Azofarbstoffe^[26], Pyrane^[40], BODIPYs^[41-44], Benzoxadiazole^[35], Hemicyanine^[45], Flavone^[46], Porphirine^[47-51], Rhodamine^[52-54], Tetraphenylethylene^[55], Naphthalimide^[56], Fluorene^[57,58], Polymethine^[59,60], Carbazole^[61-63], Anthracene^[64], Phenatrolin^[65,66], Dansyl-Farbstoffe^[67], Pyrene^[68-85], Cyanine (Cy5.5)^[86], Phenanthrene^[36,87-89], Chinoxaline^[90], Alizarin Rot S^[91,92], Benzoxazole^[16], Fluoresceine^[66,93,94] oder Acridine^[95] eingebaut und anschließend bezüglich ihres thermischen Verhaltens, ihrer pH-Abhängigkeit oder ihrer Ionen-Sensitivität untersucht.

Aufgrund der Vielzahl von Publikationen muss sich das folgende Resümee auf die kurze Beschreibung der wesentlichsten Arbeiten in diesem Forschungsgebiet beschränken (Farbstoffe in polyNIPAm und polyOEGMAs).

Seit 2003 untersuchen Uchiyama und Iwai et al. das thermische Verhalten von verschiedenen benzofurazanfunktionalisierten, thermoresponsiven, linearen Acrylamid-Copolymeren wie polyNIPAm, Poly-*N-n*-propylacrylamid (polyNNPAm) und polyNIPMAm^[29-33]. Benzofurazane sind umgebungssensitive solvatochrome Fluoreszenzfarbstoffe, die schwach in polaren und stark in unpolaren Lösungsmitteln fluoreszieren. Erwärmt man die Lösung der entsprechenden Copolymere über die Phasenübergangstemperatur, so steigt die Fluoreszenzintensität an. Als Grund für dieses Verhalten führen die Autoren an, dass sich der Fluoreszenzfarbstoff unterhalb der Phasenübergangstemperatur in einer polarerer Umgebung befindet als oberhalb der Phasenübergangstemperatur. Dieses thermisch stimulierte Fluoreszenzansprechverhalten wird in verschiedenen Copolymeren (polyNIPAm, polyNNPAm und polyNIPMAm) untersucht^[29]. In diesen Systemen wird eine maximale Erhöhung der Fluoreszenzintensität um den Faktor 15 beobachtet. Iwai et al. zeigen, dass sich das Verhalten der linearen Copolymere auch in die entsprechenden Nanogele übertragen lässt^[30]. Der beobachtete Effekt ist in diesen jedoch ein wenig schwächer ausgeprägt. Die Fluoreszenzintensität steigt in den Nanogelen nur um einen Faktor von 10. Uchiyama und Iwai et al. zeigen weiterhin, dass in der Gegenwart von Kaliumchlorid ein sensitiveres Fluoreszenzansprechverhalten (Erhöhung der Fluoreszenzintensität) in einem benzofurazanfunktionalisierten NIPAm-Nanogel zu beobachten ist^[33]. Sie postulieren, dass sich solche Systeme für intrazelluläre Temperaturmessungen eignen können. Ein solches System ist für ein benzoxadiazolfunktionalisiertes NIPAm-Nanogel realisiert worden^[43]. Sie zeigen, dass sich in diesem Nanogel intrazelluläre Temperaturänderungen (Temperaturintervall: 27-33 °C, Auflösung: 0,29-0,50 °C) messen lassen. Auch in diesem Fall wird durch die Zugabe von Kaliumchlorid ein deutlich sensitiveres Fluoreszenz-ansprechverhalten gefunden.

Hirai et al. synthetisieren ein rhodaminfunktionalisiertes NIPAm-Copolymer, das eine reversible und selektive Fluoreszenzintensitätserhöhung in einem spezifischen Temperaturintervall zeigt^[52,53]. Dieses An/Aus-Emissionsverhalten wird jedoch nur unter sauren Bedingungen (pH 2) gefunden; es beruht im Wesentlichen auf der Protonierung der Amine und der Umwandlung der offenen in die geschlossene Spiro-Struktur des Rhodamins. Weitere Untersuchungen mit rhodaminfunktionalisierten, acrylamidbasierten Copolymeren

(polyNIPAm-co-polyNNPAm und polyNIPAm-co-polyNIPMAm) zeigen ein ähnliches Fluoreszenzverhalten in wässriger Lösung bei pH 2^[53]. Durch die Copolymerisation wird die Phasenübergangstemperatur variiert, was jedoch keine wesentlichen Auswirkungen auf das Fluoreszenzansprechverhalten zur Folge hat. Daher ziehen die Autoren den Schluss, dass in diesem Fall die beobachtete Fluoreszenzerhöhung direkt mit dem Phasenverhalten der entsprechenden Copolymere korreliert.

Hirai et al. untersuchen des Weiteren NIPAm-Copolymere, die mit einem Hemicyaninfarbstoff markiert sind^[45]. Hemicyanine sind eine bekannte Klasse ionischer solvatochromer Farbstoffe, bei denen die Solvatochromie auf der Umwandlung der chinoiden in die benzoide Struktur beruht. Je nach Lösungsmittel wird entweder die eine oder die andere Form begünstigt, was sich in einem Wechsel der Emissionsfarbe widerspiegelt. Erwärmt man eine Lösung des entsprechenden Copolymers so steigt die Fluoreszenzintensität um den Faktor 20. Interessanterweise wird dieses Fluoreszenzverhalten für unmarkiertes polyNIPAm und den freien Farbstoff nicht gefunden. Zu erwarten wäre gewesen, dass sich der Farbstoff in die hydrophoben Domänen des kollabierten polyNIPAm (oberhalb der LCST) einlagert und es somit zu einer Fluoreszenzintensitätsverstärkung kommt. Eine Erklärung für dieses interessante Verhalten, d.h. das Ausbleiben einer Fluoreszenzintensitätserhöhung, gaben die Autoren nicht.

Im Gegensatz zu farbstoffmarkierten polyNIPAm-Copolymeren existieren für polyOEGMA nur wenige Publikationen. Einige Forschungsergebnisse auf diesem Gebiet werden nachfolgend kurz erläutert.

Liras et al. untersuchen verschiedene BODIPY-funktionalisierte OEGMA-Copolymere und vergleichen das unterschiedliche thermische Fluoreszenzverhalten von statistischen Copolymeren und Blockcopolymeren^[43]. In statistischen OEGMA-Copolymeren (MEO₂MA-co-OEGMA₄₇₅) steigt die Fluoreszenzintensität leicht an, wenn diese über die Phasenübergangstemperatur erwärmt wird. Im Gegensatz dazu zeigen die Blockcopolymere ein anderes Verhalten. Hier sinkt die Fluoreszenzintensität, wenn die Lösung über die Phasenübergangstemperatur erwärmt wird, und steigt nach dem Passieren des Trübungspunktes wieder an. Für das Absinken der Fluoreszenzintensität geben die Autoren die Bildung von H-Aggregaten an, die zu einer Reduktion der Quantenausbeute durch einen geringen Chromophorabstand führen. Eine Erklärung für den erneuten Anstieg nach dem Passieren des Trübungspunktes (ein eher ungewöhnliches Verhalten) wird in der Publikation nicht gegeben.

Pyren ist vor allem in protischen/polaren Lösungsmitteln für die Bildung von Excimeren bekannt. Schubert et al. synthetisieren ein pyrenfunktionalisiertes OEGMA-Copolymer (MEO₂MA), das seine Fluoreszenzfarbe temperaturabhängig ändert^[82]. Unterhalb der Phasenübergangstemperatur bilden die polymergebundenen Pyrene Excimere (meistens Dimere) und die entsprechende Excimer-Emission wird detektiert. Erwärmt man die Polymerlösung über die Phasenübergangstemperatur, so kollabieren die Polymerketten und die Pyren-(Monomer)-Emission wird detektiert.

Vergleicht man die publizierten Untersuchungen von farbstoffmarkierten thermoresponsiven NIPAm-Copolymeren, so fällt auf, dass die meisten Farbstoffe auf den Phasenübergang mit einer Erhöhung der Fluoreszenzintensität reagieren. Der Effekt ist jedoch je nach Farbstoff unterschiedlich stark ausgeprägt. Vergleichende Untersuchungen von anderen acrylamidhaltigen Copolymeren zeigen keinen klaren Trend. In einigen Copolymeren findet man den gleichen Effekt wie in polyNIPAm, in anderen nicht. Teilweise fanden die Messungen bei drastischen pH-Werten (pH 2)^[39,52,53] statt, bei denen ein ähnliches Emissionsverhalten festgestellt wurde. Einige Messungen wurden auch in Methanol/Wasser-Mischungen^[192] oder anderen Lösungsmittelmischungen durchgeführt. Messungen in solchen Lösungsmittelgemischen oder bei extrem niedrigen oder hohen pH-Werten sind für bioanalytische Fragestellungen ungeeignet.

Ein weiterer interessanter Aspekt der bisherigen Forschungsergebnisse ist, dass die gezeigten Fluoreszenzspektren in den Publikationen oft ein temperaturabhängiger, solvatochromer Shift der Maxima zu beobachten ist, dieser jedoch in fast keiner Publikation Erwähnung findet oder gar diskutiert wird. Häufig wird nur die temperaturabhängige Änderung der Fluoreszenzintensität diskutiert.

Vergleicht man die Farbstoffe, die der drastischsten temperaturabhängigen Änderungen ihrer spektralen Eigenschaften unterliegen^[45,82], fällt auf, dass es oft sehr große Moleküle sind, die entweder sehr hydrophob sind (viele kondensierte Aromaten)^[82] oder aber eine ionische Struktur^[45] aufweisen. Beide Struktur motive (hydrophob und ionisch) sind für die Bioanalytik eher ungeeignet.

2.4.2 Übersetzung des Phasenübergangs mithilfe von zwei Fluoreszenzfarbstoffen in ein optisches Signal: FRET Systeme

Winnik et al.^[68,70] wie auch Schild und Tirrell^[61] nutzen FRET (siehe Kapitel 2.5.3), zum Studieren des Phasenübergangs in thermoresponsiven Polymeren. Sie untersuchen Systeme, in denen sich Donor und Akzeptor in einer Polymerkette befinden, Mischungen von monofunktionalisierten donor- und akzeptormarkierten Polymeren und Mischungen monofunktionalisierter Copolymere mit ungebundenem Donor oder Akzeptor. Winnik et al. nutzen das FRET-Paar Naphthalin (Donor) und Pyren (Akzeptor), wohingegen Schild und Tirrell Carbazole (Donor) und Pyren (Akzeptor) verwenden. Hierbei wird FRET genutzt, um die Wechselwirkungen zwischen Polymerketten und die Änderung der Kettenkonformation während des Phasenübergangs zu studieren. Es wird weiterhin der hydrodynamische Radius näher untersucht, um ein besseres Bild von dem Knäuel-Kugel-Übergang (engl.: coil globule transition) zu gewinnen.

Liu et al. berichten von einem NIPAm-Mikrogel, in das Kronenetherstrukturen als Erkennungsmotiv für Kalium-Ionen eingebaut wurden^[193]. Als FRET-Paar wird NBD (7-Nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-amin, Donor) und Rhodamin (Akzeptor) genutzt. Die FRET-Effizienz steigt, wenn die Lösung über die Phasenübergangstemperatur erwärmt wird. Gibt man zu dem kollabierten Gel nun Kalium-Ionen, kehrt es in seinen Ausgangszustand zurück, es gleicht dem unterhalb der Phasenübergangstemperatur und die FRET-Effizienz sinkt auf den Ausgangswert.

Bei doppeltmarkierten thermoresponsiven Polymeren wird die FRET-Effizienz über den mittleren Abstand der beiden Farbstoffe variiert. Normalerweise ist die FRET-Effizienz unterhalb der Phasenübergangstemperatur gering. Oberhalb der Phasenübergangstemperatur kollabieren und aggregieren die Polymerketten, so dass sich Donor- und Akzeptorfarbstoff näher kommen. Es gibt bei diesem Ansatz gewöhnlich das Problem, dass die Änderung der FRET-Effizienz in den Polymerketten mit statistisch verteilten Donor- und Akzeptorfarbstoffen häufig gering ist, da sich der mittlere Abstand der beiden Farbstoffe zueinander oft nicht ausreichend ändert.

Um die FRET-Effizienz zu steigern, wird typischerweise die Polymerarchitektur verändert. Häufig werden Blockcopolymere verwendet, in denen die Blöcke unterschiedliche Farbstoffe tragen. Eine andere Möglichkeit ist die sogenannte Endfunktionalisierung von Polymeren, bei

der sich die beiden Farbstoffe jeweils an den verschiedenen Enden der Polymerketten befinden, so dass ein größtmöglicher intramolekularer Abstand gewährleistet ist.

2.5 Optische Spektroskopie^[194]

Als zerstörungsfreie Charakterisierungsmethode von farbstoffmarkierten Polymeren und Farbstoffen eignet sich in erster Linie die optische Spektroskopie. Das folgende Kapitel gibt eine kurze Einführung in die Phänomene der Fluoreszenzlöschung, in den Energietransfer (am Beispiel von FRET) und in die Solvatochromie.

Durch die Aufnahme von elektromagnetischen Wellen in Form von Licht werden Elektronen vom elektronischen Grundzustand (S_0) in einen energetisch höheren Zustand (S_1 bis S_n) angeregt. Diesem angeregten Zustand stehen verschiedene Wege der Deaktivierung offen. Bei den nichtstrahlenden Prozessen wird die Energie oft in die Anregung von Freiheitsgraden von Schwingung, Rotation und Translation (engl.: internal conversion) umgewandelt. Beispiele strahlender Deaktivierungsprozesse sind die Fluoreszenz und die Phosphoreszenz. Bei der Fluoreszenz erfolgt ein spinerlaubter Übergang, üblicherweise aus einem Singulettzustand. Befindet sich das Elektron in einem Triplettzustand, so ist die Rückkehr in den Grundzustand mit einem Spinflip (engl.: intersystem crossing) verbunden. Dieser zeitlich verzögerte, strahlende Prozess wird als Phosphoreszenz bezeichnet.

2.5.1 Fluoreszenzquantenausbeute

Die Fluoreszenzquantenausbeute Φ stellt den Quotienten aus emittierten zu absorbierten Photonen dar; u.a. lassen sich aus ihr verschiedene kinetische Größen bestimmen:

Gleichung 1:

$$\Phi = \frac{k_F}{k_F + k_{IC} + k_{ISC} + k_{ET}} = k_F \cdot \tau = \frac{I_F}{I_A}$$

Gleichung 1: Berechnung der Fluoreszenzquantenausbeute mit Geschwindigkeitskonstante der Internal Conversion (k_{IC}), Geschwindigkeitskonstante des Intersystem Crossing (k_{ISC}), Geschwindigkeitskonstante des Energietransfers (k_{ET}), Fluoreszenzlebensdauer (τ), Intensität der Fluoreszenz (I_F) und Intensität der Absorption (I_A)

2.5.2 Fluoreszenzlöschung

Durch Fluoreszenzlöschung (bzw. Fluoreszenzquenching) wird die Fluoreszenzintensität verringert, ohne den Fluorophor zu zerstören. Es handelt sich um strahlungslose Deaktivierung der angeregten Zustände oder aber um das Verhindern der Anregung per se. Mögliche Ursachen sind z.B. Komplexierung des Fluorophors, Energieübertrag auf andere Moleküle oder interne Konversion. Beispielsweise wird bei einer Komplexierung von einem statischen Löschen der Fluoreszenz gesprochen. Eine andere Möglichkeit ist der resonante Energietransfer, bei dem Energie von einem Donor- auf ein Akzeptormolekül übertragen und somit die Fluoreszenz des Donors gelöscht wird. Der Akzeptor kann ein Quenchemolekül sein, welches seine Energie strahlungslos abgibt, oder ein anderer Fluorophor, der die erhaltene Energie in Form von Fluoreszenzlicht emittiert. Der spezielle Fall des resonanten Energietransfers (FRET) wird im nächsten Kapitel erörtert. Beim dynamischen Löschen des Fluoreszenzlichts oder der Stoßlöschung wird die Energie vom angeregten Fluorophor auf andere Moleküle durch Stöße übertragen. Die Energie wird hierbei in Wärme umgewandelt. Häufig treten gemischte Effekte auf, so dass es schwierig ist, mit nur einem Prozess das Löschen der Fluoreszenz zu beschreiben.

So nimmt bei ICT-Farbstoffen die Fluoreszenzquantenausbeute mit zunehmender Lösungsmittelpolarität ab, da die Lösungsmittelmoleküle den angeregten Zustand zunehmend stabilisieren. Dies äußert sich in längeren Fluoreszenzlebenszeiten. Je länger ein Fluorophor im angeregten Zustand verweilt, desto mehr Deaktivierungskanäle stehen ihm zur Verfügung. Umgekehrt führt ein Mehr an möglichen Deaktivierungskanälen in der Regel zu kürzeren Fluoreszenzlebenszeiten. Die Fluoreszenzquantenausbeute nimmt daher mit steigender Temperatur normalerweise ab, weil mehr Deaktivierungskanäle zugänglich sind.

Fluoreszenzlöschung wird in vielen Bereichen der Sensorik genutzt; z.B. beruhen viele photometrische Sauerstoffsensoren auf diesem Prinzip. Es stellt ein wertvolles Werkzeug in der Bioanalytik dar, um in lebenden Zellen Sauerstoffkonzentrationen in Echtzeit zu messen und so Rückschlüsse auf Vorgänge in der Zelle zu ziehen. Weiterhin wird das Prinzip der Fluoreszenzlöschung im Bereich der DNA/RNA-Hybridisierung (z.B. bei molecular beacons) genutzt.

2.5.3 Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer: FRET

Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer oder auch Förster-Resonanz-Energietransfer (FRET) ist ein nach Theodor Förster benannter strahlungsloser Energietransferprozess (engl.: nonradiative energy transfer (NRET)), der auf einer langreichweiten Dipol-Dipol-Wechselwirkung beruht. Es wird von einem angeregten Donormolekül Energie strahlungsfrei auf ein Akzeptormolekül übertragen^[195,196] (siehe Abb. 10).

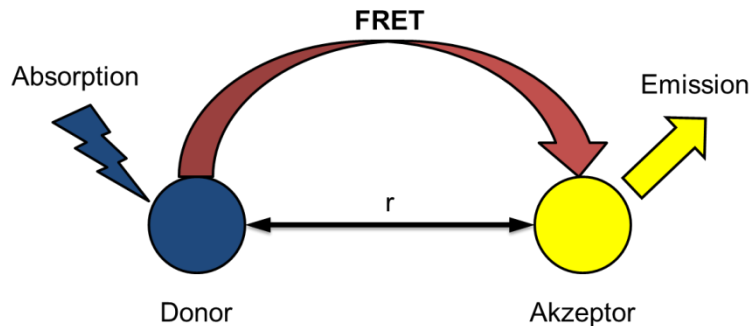


Abbildung 10 Schematische Darstellung des FRET-Prinzips

Die Energieübertragungsrate ist von vielen Faktoren abhängig, wie der spektralen Überlappung von Donoremission und Akzeptorabsorption (siehe Abb. 11), der relativen Orientierung der Übergangsdipole und dem Abstand zwischen Donor und Akzeptor.

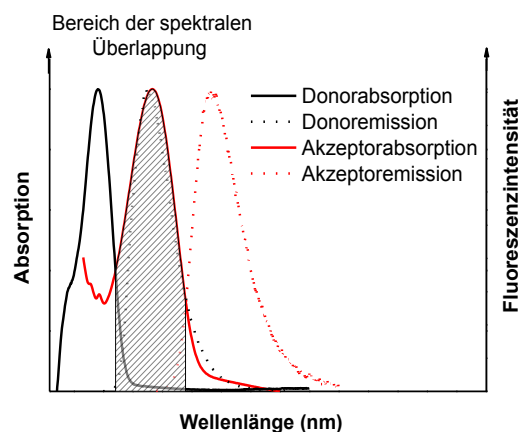


Abbildung 11 Beispiel eines idealen FRET-Paares, bei dem Donoremission und Akzeptorabsorption ideal überlappen

Die Intensität (I) des Energietransfers nimmt mit dem Abstand (r) zwischen Donor und Akzeptor ab ($I \sim r^{-6}$). FRET wird z.B. in der Biologie als wichtiges Verfahren genutzt, um Abstände bis ca. 10 nm zu messen^[197]. FRET spielt auch in verschiedenen Bereichen der Medizin eine große Rolle, z.B. bei der bildgebenden medizinischen Diagnostik^[198].

2.5.4 Solvatochromie

Unter Solvatochromie versteht man die Beeinflussung der Farbe eines Farbstoffs durch ein Lösungsmittel (Solvent). Die unterschiedliche Farbigeit beruht auf der spezifischen Wechselwirkung des Farbstoffes mit den Lösungsmittelmolekülen. Allgemein wird die Polarität des Lösungsmittels oft als Grund für den farbverändernden Effekt angeführt. Häufig werden zur Beschreibung des Lösungsmittels die Hansen-Parameter verwendet, da diese für eine Vielzahl von Lösungsmitteln zur Verfügung stehen^[199,200] und somit einen einfacheren Vergleich von experimentellen Daten ermöglichen.

Zu beobachten ist eine farbvertiefende (bathochrome oder Rotverschiebung) oder eine farbaufhellende (hypsochrome oder Blauverschiebung) Verschiebung. Die Verschiebungen beruhen auf der Stabilisierung bzw. Destabilisierung des elektronischen Grundzustands und/oder des elektronisch angeregten Zustands eines Farbstoffs. Dieser Effekt bezog sich ursprünglich auf absorptive Farbstoffe, wird neuerdings jedoch auch für Fluoreszenzfarbstoffe verwendet und beschreibt hier die Veränderung der Farbe des Fluoreszenzlichts.

Typische stark absorptive solvatochrome Farbstoffe sind z.B. Donor-Akzeptor-substituierte Azofarbstoffe, wie Dispersions Rot 1 oder Reichardt's Dye (siehe Abb. 12).

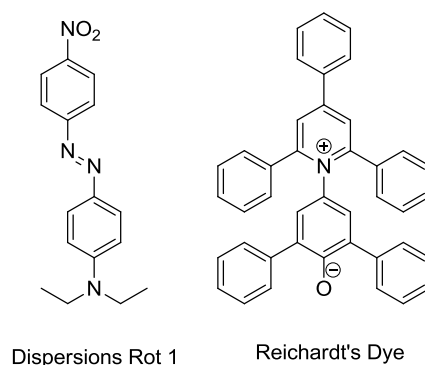


Abbildung 12 Beispiele für absorptive solvatochrome Farbstoffe

Es gibt eine Reihe von fluoreszierenden solvatochromen Farbstoffgruppen, u.a. Prodan, Cumarine, Flavone, Nitrobenzoxadiazole (NBD), Naphthalimide oder Benzophenoxazine (z.B. Nilrot) (siehe Abb. 13). Strukturell sind fast alle stark solvatochromen, organischen Fluoreszenzfarbstoffe durch eine Donor-Akzeptor-Substitution gekennzeichnet.

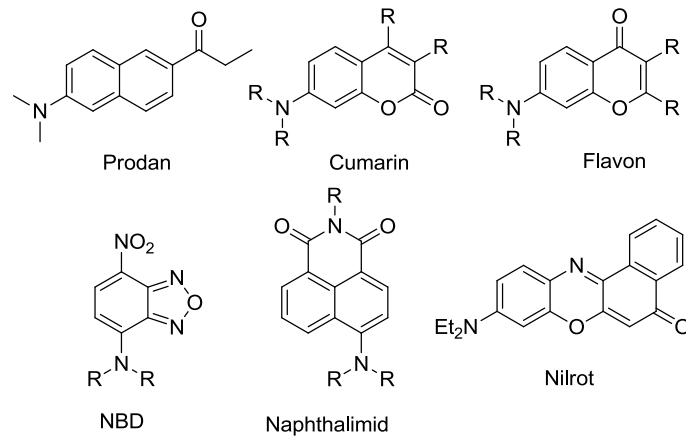


Abbildung 13 Beispiele für fluoreszierende solvatochrome Farbstoffe

Typisch für nichtionische, donor-akzeptor-substituierte Farbstoffe ist das Auftreten einer Blau-verschiebung in zunehmend unpolarer Umgebung bzw. einer Rotverschiebung, wenn die lokale Umgebung polarer wird. Dieser Effekt betrifft sowohl Absorption als auch Emission und beruht auf einem relativ unpolaren Grundzustand, welcher in unpolaren Lösungsmitteln stabilisiert wird. Der angeregte Zustand ist dagegen stark polar, wodurch es in einem unpolaren Lösungsmittel zu einer Destabilisierung kommt. In polaren Lösungsmitteln wird umgekehrt der Grundzustand destabilisiert und der angeregte Zustand stabilisiert (siehe Abb. 14).

Einher geht meist auch eine Erniedrigung der Fluoreszenzlebenszeiten, wenn die Chromophorumgebung polarer wird. Der photoinduzierte Übergang bei Cumarinen und Naphthalimiden wird durch die folgenden mesomeren Grenzstrukturen beschrieben, die eine drastische Änderung des Dipols zeigen (siehe Abb. 15). Im elektronischen Grundzustand überwiegen die linke Struktur und im angeregten Zustand die rechte Struktur. Diese Farbstoffe werden ICT-Farbstoffe genannt.

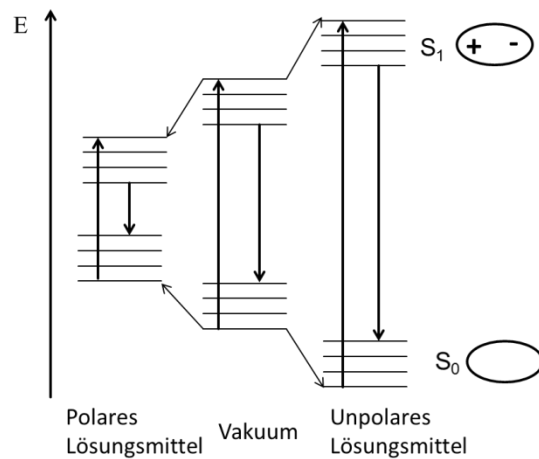


Abbildung 14 Schematische Darstellung der Energieniveaus typischer nichtionischer, donor-akzeptor-substituierter Farbstoffe in unterschiedlichen Lösungsumgebungen

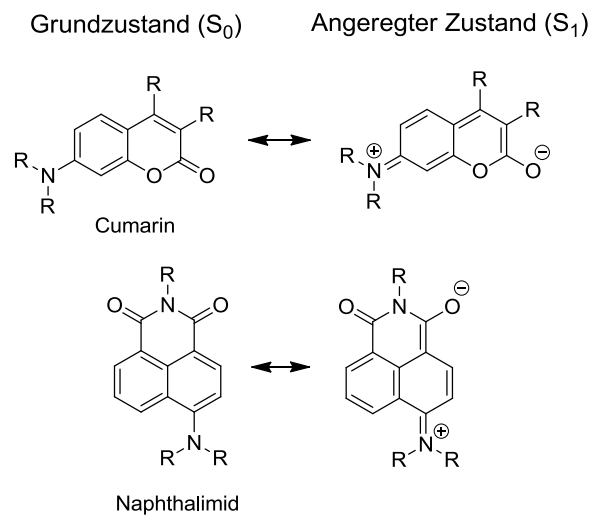


Abbildung 15 Schematische Darstellung der mesomeren Grenzstrukturen in 7-Aminocumarinen und 4-Amino-1,8-naphthalimiden

Solvatochrome Farbstoffe finden in der Polymerchemie Anwendung, um Polyeigenschaften wie Mikropolaritäten oder Phasenübergänge zu studieren. An dieser Stelle knüpft diese Arbeit an.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Übersetzung des Phasenübergangs in ein optisches Signal: Untersuchungen strukturbasierter Unterschiede in naphthalimidfunktionalisierten LCST-Polymeren*

Wie einzelne Untersuchungen gezeigt haben, ist es prinzipiell möglich, mittels eines solvatochromen Farbstoffs, der kovalent in thermoresponsive Polymere mit LCST-Verhalten eingebaut wurde, den Phasenübergang in wässriger Lösung zu detektieren (siehe Kapitel 2.4.1). A priori sollte die Art des LCST-Polymeren keine Rolle spielen, da LCST-Polymere oberhalb der Phasenübergangstemperatur hydrophobe Subdomänen bilden, in denen sich der Chromophor bevorzugt befinden sollte. Auf diesen Wechsel der lokalen Umgebung, von polar-hydrophil, gequollen unterhalb der Phasenübergangstemperatur zu weniger polar/unpolar-hydrophob, kollabiert oberhalb der Phasenübergangstemperatur, sollte der Farbstoff mit einer Änderung seiner optischen Eigenschaften reagieren.

Für potentielle Anwendungen ist es wichtig, das Phasenverhalten von thermoresponsiven Polymeren detailliert zu verstehen. Aufgrund ihres hohen Anwendungspotentials für LCST-basierte Sensoren in der Bioanalytik wurden polyNIPAm, polyOEGA und polyOEGMA als thermoresponsive Polymere verwendet (siehe Kapitel 2.1). Um den Phasenübergang zu detektieren, wurde ein donor-akzeptor-substituiertes 4-Amino-1,8-naphthalimid (siehe Kapitel 2.2.2) als stark solvatochromer Farbstoff (siehe Kapitel 2.5.4) in die oben genannten Polymere eingebaut. Diese neuen funktionellen Makromoleküle wurden durch freiradikalische Copolymerisation (FRP) synthetisiert und anschließend bezüglich ihres thermischen Verhaltens analysiert.

* Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht: S. Inal, Jonas D. Kölsch et al. "Structure-Related Differences in the Temperature-Regulated Fluorescence Response of LCST type Polymers", J. Mater. Chem. C (2013) 1, 6603-6612 (doi: 10.1039/c3tc31304b)

3.1.1 Synthese und optische Charakterisierung des Naphthalimidmonomers **3**

Es existieren verschiedene Möglichkeiten, 4-Amino-1,8-naphthalimide aufzubauen (siehe Kapitel 2.2.2). Insbesondere lässt sich eine polymerisierbare Gruppe an verschiedenen Positionen einführen. Besonders günstig erscheinen hierbei die 4-Aminogruppe oder die Imidgruppe (siehe Abb. 16).

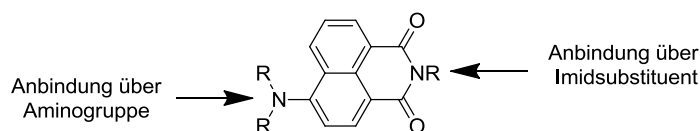


Abbildung 16 Mögliche Positionen für die Einführung einer polymerisierbaren Gruppe

Imidierungsreaktionen an Dicarbonsäuren, die zyklische Reaktionsprodukte (Fünf- oder Sechsringe) bilden, ergeben meistens quantitative Reaktionsumsätze, liefern kaum Nebenprodukte und laufen unter schonenden Reaktionsbedingungen ab. Das macht diese Gruppe besonders günstig, um schrittweise einen polymerisierbaren Rest einzuführen.

Abbildung 17 gibt den Reaktionsweg zum Aufbau des polymerisierbaren 4-Dimethylamino-1,8-naphthalimids **3** wieder. Im ersten Reaktionsschritt analog Qian et al.^[201] erfolgte eine Substitution von Chlor oder Brom gegen eine Dimethylaminogruppe mittels nukleophiler aromatischer Substitution. Bei dieser wurde ein tertiäres, cyanoethylgeschütztes Dimethylamin eingesetzt, da sonst, wenn ein sekundäres Amin eingesetzt würde, eine Amidierung der Anhydridgruppe in Konkurrenz stattfände. So wurde jedoch das gewünschte 4-Dimethylamino-1,8-naphthalsäureanhydrid **1** in guter Ausbeute (71 %) erhalten. Daher muss diese Reaktion über einen konzertierten Mechanismus verlaufen. Interessanterweise funktionierte diese Reaktion nur in iso-Amylalkohol, während Versuche in 1-Butanol, 1- und 2-Pentanol erfolglos blieben. Die Reaktion wurde in der Siedehitze der Lösungsmittel am Rückfluss durchgeführt. Die Siedepunkte von iso-Amylalkohol (131 °C) und 1-Pentanol (138 °C) liegen nah beieinander, wohingegen die Siedepunkte von 1-Butanol (118 °C) und 2-Butanol (119 °C) weiter von dem von iso-Amylalkohol entfernt sind. Warum die Reaktion nicht in 1-Pentanol zum Erfolg geführt hat, ist nicht nachvollziehbar. Der folgende Schritt war eine Imidierung nach Standardreaktionsbedingungen mit Aminoethanol, die in sehr guter Ausbeute (84 %) gelang. Die anschließende Veresterung mit Methacrylsäurechlorid lieferte das gewünschte Produkt **3** in exzellenter (99 %) Ausbeute.

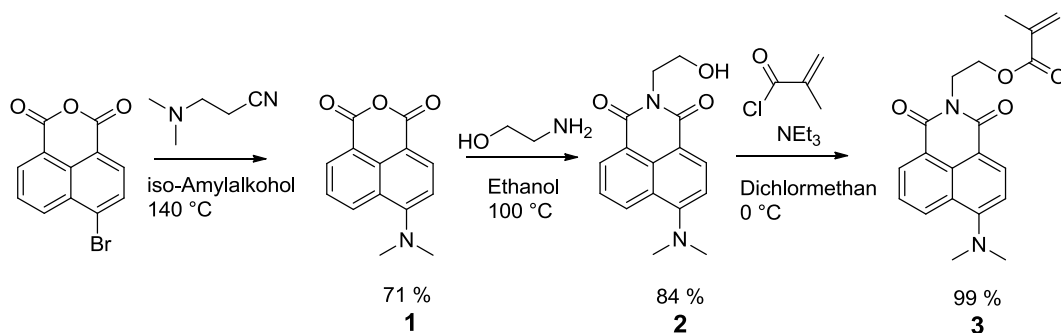


Abbildung 17 Reaktionsschema zum Aufbau des polymerisierbaren 4-Dimethylamino-1,8-naphthalimids **3**

Charakteristisch für das Nah-UV-vis-Absorptionsspektrum des 4-Dimethylamino-1,8-naphthalimids **3** ist eine breite und intensive Bande. Die Absorptionsmaxima liegen je nach Lösungsmittel zwischen 390 und 440 nm. Die Emissionsmaxima liegen zwischen 460 und 560 nm (siehe Abb. 18). Im Emissionsspektrum sind in allen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Hexan ähnliche Bandenformen zu beobachten. In Hexan wird eine zusätzliche Schulter bei ca. 490 nm beobachtet.

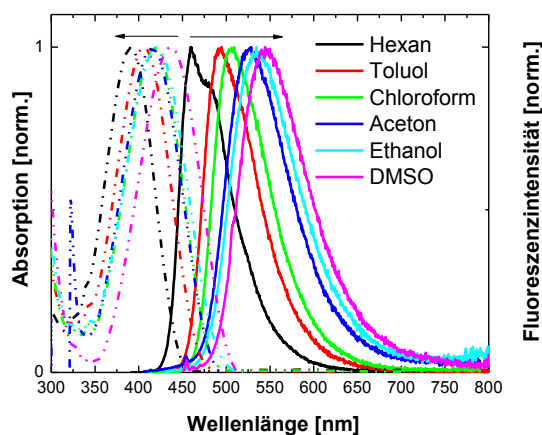


Abbildung 18 Absorptions- (gestrichelte Linie) und Emissionsspektrum (durchgezogene Linie) des polymerisierbaren 4-Dimethylamino-1,8-naphthalimids **3** in ausgewählten Lösungsmitteln (Zunahme der Lösungsmittelpolarität von links nach rechts)

Tabelle 1 führt die Absorptions- und die Emissionsmaxima, die Fluoreszenzquantenausbeute und die Fluoreszenzlebenszeiten auf. Die entsprechenden Hansen-Parameter geben dabei die Fähigkeit der Lösungsmittel, Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden (δ_h), dispersive Wechselwirkungen einzugehen (δ_d) und deren Polarität wieder (δ_p). Der dispersive Term (δ_d) gibt im Wesentlichen die Möglichkeit für van-der-Waals-Bindungen wieder. Der Wechsel des

Lösungsmittels von DMSO zu Hexan führt zu einem hypsochromen Shift ($\Delta\lambda_{\max}^{\text{abs}} = 46$ nm, $\Delta\lambda_{\max}^{\text{PL}} = 86$ nm), wobei parallel die Fluoreszenzquantenausbeute von 1,9 auf 61 % steigt. Vergleicht man Hexan mit DMSO, so stellt man fest, dass beide Lösungsmittel über einen merklich hohen dispersiven Term (Hexan: $\delta_d = 14,9$ und DMSO: $\delta_d = 18,4$) verfügen. Hexan besitzt jedoch weder einen Dipol ($\delta_p = 0$) noch kann es Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden ($\delta_h = 0$). Im Gegensatz dazu besitzt DMSO einen Dipol ($\delta_p = 16,4$) und die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen ($\delta_h = 10,2$). Vor allem der Polaritätsterm scheint den größten Einfluss auf die Lage des Spektrums zu haben. Je polarer ein Lösungsmittel ist, desto weiter rotverschoben ist das Spektrum (vergl. Tabelle 1).

Tabelle 1: Photophysikalische Charakterisierung des 4-Amino-1,8-naphthalimids **3** in verschiedenen Lösungsmitteln (δ_t : Hansen Löslichkeitsparameter von Lösungsmitteln bei 25 °C, δ_d , δ_p , und δ_h : dispersiver, polarer und wasserstoffbrückenbindungs-Term von δ_t , $\lambda_{\max}^{\text{abs}}$: Absorptionsmaximum, $\lambda_{\max}^{\text{PL}}$: Emissionsmaximum, Φ : Fluoreszenzquantenausbeute, τ : Fluoreszenzlebenszeit) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Lösungsmittel	δ_t ^{a)}	δ_d	δ_p	δ_h	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$ [nm]	$\lambda_{\max}^{\text{PL}}$ [nm]	Φ [%]	τ [ns]
Hexan	14,9	14,9	0,0	0,0	391	459	61	6,9
Tetrachlorkohlenstoff	17,8	17,8	0,0	0,6	400	476	70	7,0
Diethylenglykoldimethylether	18,0 ^{b)}	15,7 ^{b)}	6,1 ^{b)}	6,5 ^{b)}	415	522	12	2,4
Toluol	18,2	18,0	1,4	2,0	406	492	65	7,7
Chloroform	19,0	17,8	3,1	5,7	418	506	70	9,0
Aceton	20,1	15,5	10,4	7,0	415	526	3,6	3,0
Essigsäure	21,3	14,5	8,0	13,5	424	539	2,6	3,2
Acetonitril	24,6	15,3	18,0	6,1	419	532	4,0	2,8
Dimethylformamid	25,0	14,3	11,9	16,6	423	532	1,5	7,8
Dimethylsulfoxid	26,6	18,4	16,4	10,2	437	546	1,9	7,4
Ethanol	26,6	15,8	8,8	19,4	420	536	1,9	4,2
N-Methylformamid	30,1 ^{b)}	17,4 ^{b)}	18,8 ^{b)}	15,9 ^{b)}	423	538	1,7	5,9
Wasser	47,9	15,5	16,0	42,4	440	560	0,2	2,8

a) Einheiten in [mPa^{0,5}] entnommen: J. E. Mark, ed., Physical Properties of Polymers Handbook, American Institute of Physics, Woodbury, N.Y., 1996

b) Entnommen: C. M. Hansen, Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook, Second Edition, CRC Press, Boca Raton, FL, 2007

Die ausgeprägte Solvatochromie ist charakteristisch für ICT-Farbstoffe (siehe Kapitel 2.5.4) und bestätigt den stark solvatochromen Charakter des Naphthalimidderivats **3**.

Zusätzlich werden eine Rotverschiebung der Emission und ein Absinken der Fluoreszenzquantenausbeute in protischen Lösungsmitteln, wie Ethanol (536 nm) oder Wasser (560 nm), beobachtet. Diese spektralen Änderungen in protischen Lösungsmitteln sind ein Hinweis auf

die Sensibilität des optischen Spektrums bezüglich spezifischer Lösungsmittelleffekte wie beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen die nichtstrahlende Prozesse begünstigen^[177] und sich u.a. in niedrigeren Quantenausbeuten ($\Phi_{\text{Ethanol}} = 1,9 \%$, $\Phi_{\text{Wasser}} = 0,2 \%$) äußern.

Laut Literatur sind Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Lösungsmittelmolekülen und 4-Dimethylamino-1,8-naphthalimiden bekannt^[202,203], wobei das Lösungsmittel typischerweise H-Donor und die Sauerstoffatome der Carbonylgruppe H-Akzeptoren sind.

Dank dieser extremen Sensitivität des optischen Spektrums (Lage der Fluoreszenzbanden und Quantenausbeuten) auf Änderungen der lokalen Umgebung wurden 4-Amino-1,8-naphthalimide z.B. als Chemosensoren für Metallionen^[204-206] und zur Untersuchung von Protein-Protein-Wechselwirkungen^[207] eingesetzt.

3.1.2 Synthese und Charakterisierung naphthalimidfunktionalisierter LCST-Copolymere P1, P2 und P3

Abbildung 19 gibt den Syntheseweg der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** wieder.

Die Copolymere **P1**, **P2** und **P3** wurden mittels klassischer FRP synthetisiert. Der Initiator AiBN, das naphthalimidfunktionalisierte Monomer **3** und die jeweils hydrophilen Monomere *N*-Isopropylacrylamid für **P1**, MEO₂A für **P2** und MEO₂MA und OEGMA₄₇₅ für **P3** wurden in Ethanol gelöst, die Lösung von Sauerstoff befreit und die Polymerisation durch Temperaturerhöhung auf 65 °C gestartet. Nach beendeter Reaktion wurde das erhaltene NIPAm-Copolymer **P1** mehrfach in Aceton gelöst und in Diethylether gefällt sowie das gereinigte polyNIPAm-Pulver im Anschluss im Hochvakuum getrocknet. Die OEG-Copolymere **P2** und **P3** wurden eine Woche gegen deionisiertes Wasser dialysiert. Anschließend wurden die in Wasser gelösten Copolymere eingefroren und durch Gefriertrocknung weitestgehend vom Wasser befreit. Es wurden für **P2** und **P3** klebstoffartige Gele erhalten.

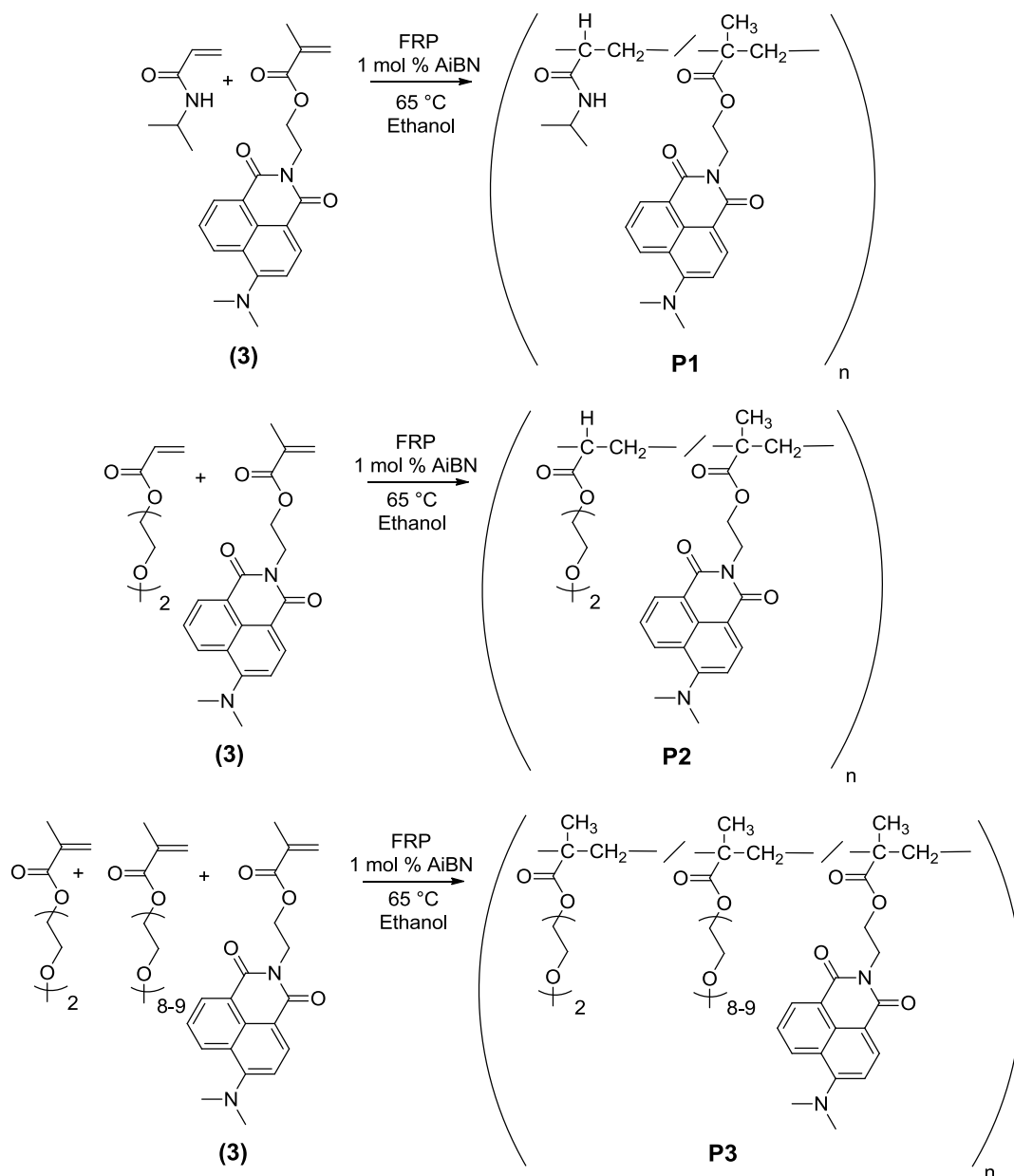


Abbildung 19 Reaktionsschema zum Aufbau der naphthalimidfunktionalisierten LCST-Copolymere **P1**, **P2** und **P3**

Die chemische Zusammensetzung der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie untersucht. Dabei wurden für das Copolymer **P1** die für ein NIPAm-Copolymer typischen $^1\text{H-NMR}$ -Signale bei ~ 4 ppm [$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$] und $\sim 1,1$ ppm [$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$] und für die OEG-basierten Copolymere **P2** und **P3**, die für die OEG-Seitenketten typischen $^1\text{H-NMR}$ -Signale $\sim 4,30 - 3,95$ ppm [$\text{COO}-\text{CH}_2$], $\sim 3,95 - 3,50$ ppm [$\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$] und $\sim 3,4$ ppm [$\text{O}-\text{CH}_3$] gefunden.

Aus dem Verhältnis der (COO-CH₂)-Gruppe und der (O-CH₂-CH₂-O)-Gruppe wurde für das Copolymer **P3** ein Verhältnis von MEO₂MA zu OEGMA₄₇₅ von 80:20 bestimmt (Berechnungen siehe experimentellen Teil).

In allen Copolymeren (**P1**, **P2** und **P3**) waren im Bereich von ~7-9 ppm im ¹H-NMR-Spektrum kleine Signale sichtbar, die sich dem Monomer **3** zuordnen ließen.

Der Chromophorgehalt in mol %, wurde soweit möglich, mittels ¹H-NMR-Spektroskopie sowie mit UV-vis-Spektroskopie bestimmt. Im Fall von **P1** war der Chromophorgehalt so gering, dass keine Bestimmung aus dem ¹H-NMR-Spektrum möglich war. Die UV-vis-Werte liefern hierbei Angaben in Gew.-% und können anschließend über die molaren Massen der Copolymere und der Copolymerzusammensetzung in die molare Konzentration in mol % umgerechnet werden (Berechnungen siehe experimentellen Teil). Vergleicht man die Werte aus ¹H-NMR und UV-vis*, so stellt man fest, dass diese gut übereinstimmen (siehe Tabelle 2).

Die Molmassen ($M_{n,GPC}^{app}$) der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** wurden in DMF mittels GPC (kalibriert mit Polystyrolstandards) bestimmt. Mithilfe der Molmassen der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** und deren struktureller Zusammensetzung wurden die mittleren Kettenlängen (\overline{DP}_n^{app}) berechnet. Aus der mittleren Kettenlänge (\overline{DP}_n^{app}) und der molaren Farbstoffkonzentration ließ sich der mittlere Chromophorgehalt pro Kette (AC) berechnen (Berechnungen siehe experimentellen Teil).

Alle Copolymere (**P1**, **P2** und **P3**) besitzen ungefähr einen Chromophor pro Kette. Wegen der niedrigen Chromophoranzahl pro Kette kann man davon ausgehen, dass die Chromophore isoliert in den Polymerketten vorliegen. Dadurch werden störende optische Effekte wie die Eigenfluoreszenzlöschung minimiert. Außerdem werden mögliche Effekte seitens des Chromophors auf die Löslichkeit und Phasenübergangstemperatur minimiert.

* Berechnet via Lambert-Beer'sches Gesetz aus der Absorption der Copolymere in Chloroform ($\lambda_{max}^{abs} = 418 \text{ nm}$, $\epsilon = 13000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

Die Trübungspunkte wurden bei zwei Konzentrationen (0,1 g L⁻¹ und 2,0 g L⁻¹) bestimmt. 2,0 g L⁻¹ ist eine laut Literatur häufig verwendete Konzentration für die Bestimmung von Trübungspunkten thermoresponsiver Polymere. Sie dient der Vergleichbarkeit der hier bestimmten Trübungspunkte mit den laut Literatur bekannten Trübungspunkten ähnlicher Copolymere, da vor allem bei OEGMA-Copolymeren die Phasenübergangstemperatur stark von der Polymerkonzentration abhängt.

Für den Vergleich mit den optischen Messungen wurden die Trübungspunkte bei einer Konzentration von 0,1 g L⁻¹ bestimmt. Der Trübungspunkt (onset) steigt in der Reihenfolge von **P1**>**P2**>**P3** an. Die Trübungspunkte der Copolymere **P1** (29 °C) und **P2** (34 °C) liegen nahe bei denen der Homopolymere (polyNIPAm: 30 °C, polyOEGA: 34 °C). Daher kann man davon ausgehen, dass der Einbau des Chromophors in den relevanten Mengen keinen signifikanten Einfluss auf die Phasenübergangstemperatur besitzt. Für das Copolymer **P3** wird ein Trübungspunkt von 43,9 °C bestimmt. Es besteht aus einer hydrophoben Hauptkette und einer hydrophilen Seitenkette. Der Einfluss der Seitenketten überkompensiert den der Hauptkette, was zu einer erhöhten Phasenübergangstemperatur führt. Alle Phasenübergangstemperaturen liegen in einem biologisch interessanten Bereich von 25 bis 50 °C.

Eine Zusammenfassung der strukturellen Charakterisierung und der thermoresponsiven Eigenschaften gibt Tabelle 2 wieder.

Tabelle 2: Analytische Daten der naphthalimidfunktionalisierten Copolymere **P1**, **P2** und **P3** ($M_{n,GPC}^{app}$: scheinbare, zahlenmittlere molare Masse; bestimmt über GPC in DMF, kalibriert mit Polystyrolstandards, PDI: Polydispersitätsindex, \overline{DP}_n^{app} : Scheinbare Anzahl an Monomerwiederholungseinheiten pro Polymerkette, berechnet aus der ¹H-NMR Polymerzusammensetzung, AC: Durchschnittliche Anzahl von Chromophoren pro Polymerkette, berechnet aus dem molaren UV-vis-Wert, TP: onset-Trübungspunkt bei gegebener Konzentration, TP (50 %): Trübungspunkt bei 50 % Trübungsreduktion bei gegebener Konzentration)

Polymer	$M_{n,GPC}^{app}$ [Kg mol ⁻¹]	PDI	\overline{DP}_n^{app}	Farbstoffgehalt (3)		AC	TP ^{a)} [° C]	TP ^{a)} (50 %) [° C]	TP ^{b)} [° C]	TP ^{b)} (50 %) [° C]
				[mol %]						
				UV-vis	NMR					
P1	30	2,4	265	0,15	-	0,4	29,0	30,3	30,0	34,0
P2	21	1,9	160	0,4	0,7	0,6	33,6	36,4	38,0	52,0
P3	59	4,3	260	0,5	0,8	1,3	43,9	45,0	44,0	51,0

a) Trübungspunkt (TP) bei einer Konzentration von 2,0 g L⁻¹ in PBS

b) Trübungspunkt (TP) bei einer Konzentration von 0,1 g L⁻¹ in PBS

Die Unterschiede in den Molekulargewichten ($M_{n,GPC}^{app}$) von **P1** (30.000 g mol⁻¹), **P2** (21.000 g mol⁻¹) und **P3** (59.000 g mol⁻¹) resultieren aus den Unterschieden in den molaren Monomermassen (zu molekularen Monomermassen, siehe experimentellen Teil). Das Molekulargewicht, der PDI (**P1**: 2,4, **P2**: 1,9 und **P3**: 4,3) oder der Polymerisierungsgrad (\overline{DP}_n^{app}) (**P1**: 265, **P2**: 160 und **P3**: 260) der Copolymere beeinflussen einige thermodynamische Größen wie beispielsweise die Phasenübergangstemperatur. Die Emissionseigenschaften sind hingegen mehr eine mikroskopische Größe und somit kann angenommen werden, dass diese Unterschiede die optischen Eigenschaften nicht signifikant beeinflussen.

3.1.3 Strukturelle Unterschiede zwischen den NIPAm(P1)- und OEG(P2 und P3)-basierten Copolymeren

Die drei Copolymere **P1**, **P2** und **P3** unterscheiden sich bezüglich ihrer Polymerhaupt- und Seitenketten. Das Copolymer **P1**, ein Polyacrylamid, besitzt eine hydrophobe Hauptkette. Die Seitenkette ist durch eine hydrophile Amidgruppe gekennzeichnet, die sich direkt an der Polymerhauptkette befindet, und einen hydrophoben iso-Propylrest, der an die Amidgruppe angebunden ist. Hierdurch ergibt sich für das Copolymer eine Reihenfolge, von der Hauptkette beginnend, von hydrophob/hydrophil/hydrophob.

Die Copolymere **P2**, ein Acrylester, und **P3**, ein Methacrylester, besitzen ebenfalls eine hydrophobe Hauptkette und unterscheiden sich durch das Vorhandensein einer zusätzlichen Methylgruppe im Copolymer **P3**, die die Hauptkette noch hydrophober macht. In beiden Copolymeren befindet sich direkt an der unpolaren Polymerhauptkette eine hydrophobe Estergruppe. An der Estergruppe sind Oligoethylenglykolmonomethylether-Seitenketten (OEG-Seitenketten) angebunden, die den hydrophilen Teil der OEG-basierten Copolymere darstellen. Hierdurch ergibt sich für die Copolymere **P2** und **P3** eine Reihenfolge, von der Hauptkette beginnend, von hydrophob/hydrophob/hydrophil, im Gegensatz zum Copolymer **P1**, das hydrophob/hydrophil/hydrophob als Reihenfolge aufweist.

3.1.4 Photophysikalische Charakterisierung der naphthalimidfunktionalisierten LCST-Copolymere **P1**, **P2** und **P3**

Die Copolymere **P1**, **P2** und **P3** besitzen etwas unterschiedliche Trübungspunkte (TP). Daher wurden alle optischen Spektren nicht bei identischen Temperaturen, sondern oberhalb und unterhalb der jeweiligen Phasenübergangstemperaturen aufgenommen.

Tabelle 3 fasst die optischen Eigenschaften der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** zusammen, die annähernd den gleichen Chromophorgehalt pro Kette (**P1**: 0,4, **P2**: 0,6 und **P3**: 1,3) besitzen.

Tabelle 3: Photophysikalische Charakterisierung der naphthalimidmarkierten Polymere **P1**, **P2** und **P3** ($\lambda_{\max}^{\text{abs}}$: Absorptionsmaximum, $\lambda_{\max}^{\text{PL}}$: Emissionsmaximum, Φ : Fluoreszenzquantenausbeute) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Polymer	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$ a) [nm]	$\lambda_{\max}^{\text{PL}}$ a) [nm]	Φ a) [%]	$\lambda_{\max}^{\text{PL}}$ b) [nm]	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$ c) [nm]	$\lambda_{\max}^{\text{PL}}$ c) [nm]	Φ c) [%]
P1	448	544	1.6	530	422	513	63
P2	439	542	1.5	537	418	514	62
P3	434	535	24	535	418	512	62

a) Konzentration von 0,5 g L⁻¹ in PBS bei 20 °C

b) Konzentration von 0,5 g/L⁻¹ in PBS bei 50 °C

c) In Chloroform

Unterhalb der Phasenübergangstemperatur (20 °C) wird für alle drei Copolymere in PBS eine Blauverschiebung der Emission (**P1**: 544 nm, **P2**: 542 nm und **P3**: 535 nm), bezogen auf das Naphthalimidderivat **3** in Wasser (560 nm, siehe Tabelle 1), beobachtet. Das legt nahe, dass sich die polymergebundenen Chromophore in einer unpolaren lokalen Umgebung befinden als das Naphthalimidderivat **3** in wässrigem Medium^[208]. Die Blauverschiebung wird möglicherweise durch die Polymerumgebung des Chromophors in den Copolymeren **P1**, **P2** und **P3** hervorgerufen. Um diese These zu stützen, wurde das Naphthalimidderivat **3** in Diethylglykoldimethylether (Strukturanalogon für die OEG-Seitenketten in polyOEGA und polyOEGMA) und *N*-Methylformamid (Strukturanalogon für polyNIPAm) untersucht.

Das Copolymer **P1** besitzt in PBS eine sehr niedrige Fluoreszenzquantenausbeute ($\Phi = 1,6$ %, siehe Tabelle 3), die vergleichbar mit der des Monomers **3** in *N*-Methylformamid ($\Phi = 1,7$ %, siehe Tabelle 1) ist. Die Fluoreszenzmaxima liegen in *N*-Methylformamid für **3** bei 538 nm (siehe Tabelle 1) und **P1** in PBS bei 544 nm (siehe Tabelle 3). Bezogen auf die Fluoreszenzquantenausbeute scheinen die polymergebundenen Chromophore eine ähnliche lokale

Umgebung zu besitzen wie das Naphthalimidderivat **3** in *N*-Methylformamid. Allerdings zeigt die Lage des Fluoreszenzmaximums, dass sich die Chromophore in einer deutlich polarerer Umgebung befinden. Dies impliziert, dass die polymergebundenen Chromophore viele Wassermoleküle in ihrer lokalen Umgebung besitzen, die zu einer Rotverschiebung bezüglich des Fluoreszenzmaximums führen. Die relativ hohe Fluoreszenzquantenausbeute von 1,6 % gegenüber der Fluoreszenzquantenausbeute des Monomers **3** in Wasser von 0,2 % dürfte das Resultat der Polymereinbettung des Chromophors sein. Durch die hohe lokale Konzentration des Polymers werden partiell die Rotations- und Schwingungsfreiheitsgrade des Chromophors eingeschränkt, was zu einer höheren Fluoreszenzquantenausbeute führt.

Das Copolymer **P3** zeigt in PBS erstaunlicherweise eine relativ hohe Fluoreszenzquantenausbeute ($\Phi = 24 \%$, siehe Tabelle 3) bezogen auf die anderen Copolymere **P1** und **P2**. Das gilt auch im Vergleich mit dem Wert der Fluoreszenzquantenausbeute des Naphthalimidderivats **3** in Diethylenglykoldimethylether ($\Phi = 12 \%$, siehe Tabelle 1). Die Unterschiede in der Fluoreszenzquantenausbeute deuten darauf hin, dass sich die Dipole der organischen Mikroumgebung (Polymerhauptkette und OEG-Seitenketten und deren Hydrathülle) nicht um das Chromophordipolmoment nach Photoanregung umorientieren oder relaxieren können. Somit kann angenommen werden, dass die lokale Umgebung des Chromophors relativ starr und nicht die gleiche wie die in dem strukturanalogen Lösungsmittel Diethylenglykoldimethylether ist.

Die Fluoreszenzmaxima liegen in Diethylenglykoldimethylether für **3** bei 522 nm (siehe Tabelle 1) und für das Copolymer **P3** in PBS bei 535 nm (siehe Tabelle 3). Die geringe Rotverschiebung der Emissionsmaxima von 13 nm deutet darauf hin, dass sich nur wenige Wassermoleküle in der lokalen Umgebung der polymergebundenen Chromophore befinden.

Entsprechende Untersuchungen der drei Copolymere **P1**, **P2** und **P3** in Chloroform zeigen, dass alle eine hohe Fluoreszenzquantenausbeute ($\Phi = \sim 63 \%$, siehe Tabelle 3) besitzen, die nahe der des ungebundenen Naphthalimidderivats **3** ($\Phi = 70 \%$, siehe Tabelle 1) in Chloroform ist. Die Fluoreszenzmaxima der Copolymere liegen für **P1** bei 513 nm, für **P2** bei 514 nm und für **P3** bei 512 nm (siehe Tabelle 3). Für das Naphthalimidderivat **3** liegt das Emissionsmaximum bei 506 nm (siehe Tabelle 1). Bezogen auf die Verschiebung des Fluoreszenzmaximums zwischen den drei Copolymeren **P1**, **P2** und **P3** und dem Naphthalimidderivat **3** befinden sich die polymergebundenen Chromophore in einer leicht unpolarerer Umgebung (vermutlich durch die Nähe zur Polymerhauptkette). Da die optischen

Eigenschaften der drei strukturell unterschiedlichen Copolymere **P1**, **P2** und **P3** nahezu identisch sind, kann man davon ausgehen, dass die Polymerhaupt- und Seitenketten in einem unpolaren Lösungsmittel wie Chloroform expandiert vorliegen. In Chloroform scheinen die Polymerhaupt- und Seitenketten kaum die Emissionseigenschaften der kovalent gebundenen Chromophore zu beeinflussen.

Im Vergleich der beiden OEG-basierten Copolymere **P2** und **P3** in PBS zeigt das Copolymer **P2** eine deutlich niedrige Fluoreszenzquantenausbeute ($\Phi = 1,5 \%$, siehe Tabelle 3). Diese ist deutlich niedriger als die des Naphthalimidderivats **3** in Diethylenglykoldimethylether ($\Phi = 12 \%$, siehe Tabelle 1). Die Fluoreszenzmaxima von **3** liegen in Diethylenglykoldimethylether bei 522 nm und für das Copolymer **P2** in PBS bei 542 nm, sind also stärker rotverschoben als im Copolymer **P3**. Diese beiden experimentellen Befunde resultieren aus Wechselwirkungen des polymergebundenen Chromophors mit Wassermolekülen im Copolymer **P2**.

3.1.5 Temperaturabhängige Fluoreszenzcharakteristika der Copolymere P1, P2 und P3 unterhalb und oberhalb der Phasenübergangstemperatur

Für die temperaturabhängigen Messungen der Fluoreszenz der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** in PBS wurden jeweils Temperaturen (10 bis 20 °C) oberhalb und unterhalb der Trübungspunkte gewählt. Üblicherweise werden Polymerlösungen des LCST-Typs oberhalb der Phasenübergangstemperatur wegen der einsetzenden mikro- und makroskopischen Phasenseparation trübe. Bei der verwendeten niedrigen Konzentration (0,1 g L⁻¹) wurde keine makroskopische Phasenseparation beobachtet.

3.1.5.1 NIPAm-basiertes Copolymer P1

Abbildung 20 a gibt die temperaturabhängige Messung des Copolymers **P1** in PBS wieder. Bei 20 °C fluoresziert die Lösung des Copolymers **P1** in PBS kaum. Erwärmt man die Lösung auf über 25 °C, ist eine drastische Erhöhung der Fluoreszenzintensität zu beobachten. Durch weiteres Erwärmen, bis ca. 40 °C, steigt die Fluoreszenzintensität auf einen Wert, der 25-mal so hoch ist wie der Wert der Fluoreszenzintensität bei 20 °C. Die Erhöhung der Fluoreszenzintensität resultiert aus einem Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute. Zusätzlich ist eine Blauverschiebung der Emission von 544 nm zu 530 nm zu beobachten (siehe Abb. 20 b). Im gleichen Temperaturintervall (20-40 °C) zeigt das Monomer **3** in wässrigem Medium eine

normale, zu erwartende temperaturabhängige Änderung der Fluoreszenzintensität (siehe Abb. 21): Sie sinkt mit steigender Temperatur.

Bei weiterem Heizen ($T > 40$ °C) einer Lösung des Copolymers **P1** in PBS sinkt die Fluoreszenzintensität, da mehr strahlungslose Deaktivierungskanäle zur Verfügung stehen (siehe Kapitel 2.5.2).

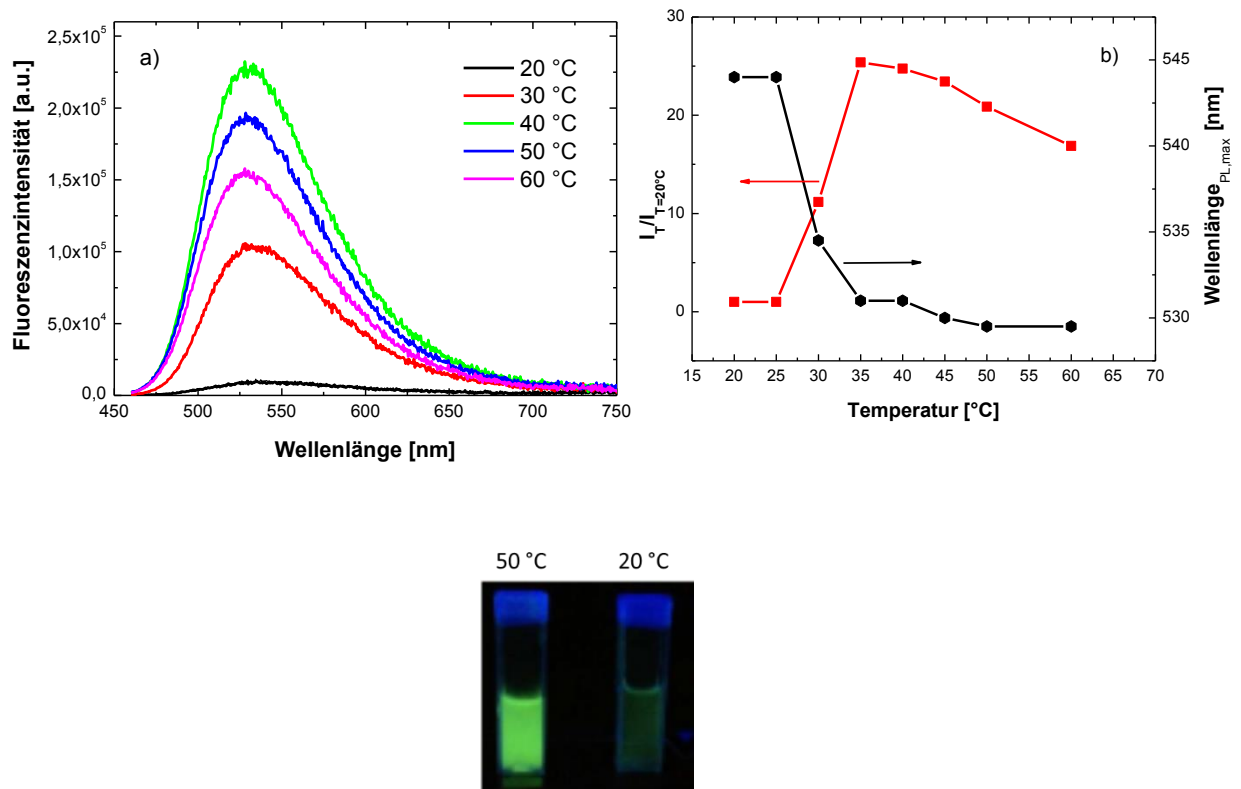


Abb. 20 a) Temperaturabhängiges Fluoreszenzspektrum von P1 in PBS ($0,1 \text{ g L}^{-1}$): Anregungswellenlänge 450 nm b) Beziehung zwischen Emissionsmaximum ($\lambda_{\text{PL,max}}$, schwarze Linie), der relativen Fluoreszenzintensität ($I_T/I_{T=20^\circ\text{C}}$, rote Linie) und der Temperatur der PBS-Lösung, entnommen aus Abb. 20 a. Die Anregungswellenlänge bei den Photographien betrug 365 nm. [Die experimentellen Daten und die Photographien stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

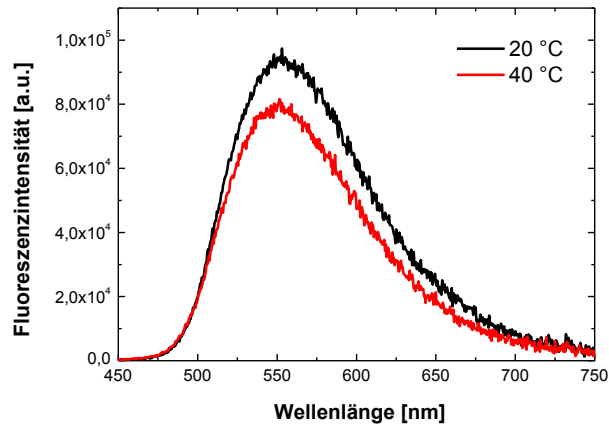


Abbildung 21 Emissionsspektrum des Naphthalimids 3 in PBS bei 20 und 40 °C: Anregungswellenlänge 450 nm [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Gemäß dieser spektralen Änderungen der Emission scheint sich die Mikroumgebung des Chromophors drastisch zu ändern. Besonders markant ist hierbei der lineare Anstieg im Temperaturbereich zwischen 25 und 35 °C, in dem der Phasenübergang stattfindet (siehe Abb. 20 b).

Die Fluoreszenzlebenszeiten steigen mit Temperaturerhöhung an (siehe Abb. 22). Dies ist typisch für nichtionische ICT-Farbstoffe wie das Naphthalimidderivat 3 bei einem Wechsel der lokalen Umgebung von polar zu unpolar (siehe Tabelle 1).

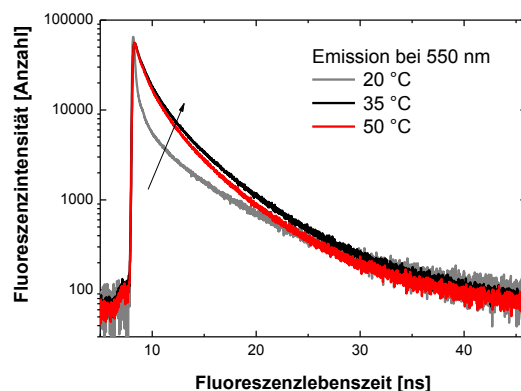


Abb. 22 Zeitaufgelöste Fluoreszenzabklingzeiten des Copolymers P1 in PBS bei 20, 35 und 50 °C: Anregungswellenlänge 470 nm. Die Emission wurde bei 550 nm detektiert. (Der Pfeil zeigt die Richtung der Temperaturänderung). [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Die experimentellen Ergebnisse bestätigen, dass die temperaturabhängigen Emissionseigenschaftsänderungen wie die Lage der Banden und die Änderung Fluoreszenzquantenausbeuten des Copolymers **P1** durch den Phasenübergang des LCST-Polymers hervorgerufen werden.

3.1.5.2 OEG-basierte Copolymere P2 und P3

Die temperaturabhängigen Fluoreszenzeigenschaften des Copolymers **P2**, das nur über kurze OEG-Seitenketten verfügt, sind in Abb. 23 wiedergegeben. Im Gegensatz zu **P1** in PBS, das oberhalb der Phasenübergangstemperatur einen starken Anstieg der Fluoreszenzintensität verbunden mit einer Blauverschiebung zeigt, sind die Änderungen beim Copolymer **P2** in PBS deutlich schwächer ausgeprägt. Die Fluoreszenzintensität erhöht sich nur um den Faktor 2 und die Blauverschiebung beträgt nur 5 nm (Abb. 23 b)).

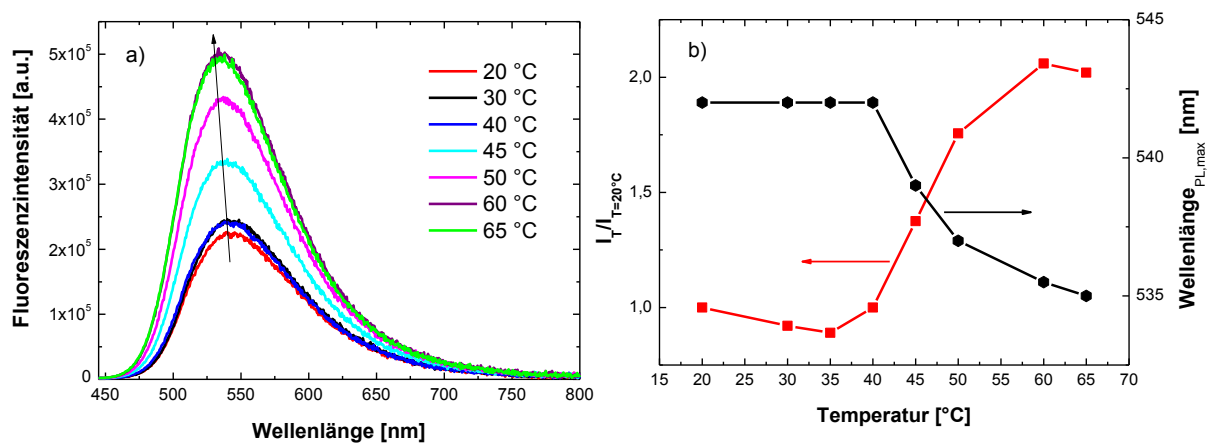


Abb. 23 a) Temperaturabhängiges Fluoreszenzspektrum von P5 in PBS (0,1 g L⁻¹): Anregungswellenlänge 435 nm. b) Beziehung zwischen Emissionsmaximum ($\lambda_{\text{PL,max}}$, schwarze Linie), der relativen Fluoreszenzintensität ($I_T/I_{T=20^\circ\text{C}}$, rote Linie) und der Temperatur der PBS-Lösung. [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Bei den temperaturabhängigen Messungen des Copolymers **P3**, bestehend aus einem Methacrylatrückgrat und verschiedenen langen (2 und 8-9) OEG-Seitenketten, ist keine signifikante Änderung der Emission zu beobachten. Die Fluoreszenzintensität sinkt mit steigender Temperatur und das Fluoreszenzmaximum verschiebt sich praktisch nicht (Abb. 24 a und b)).

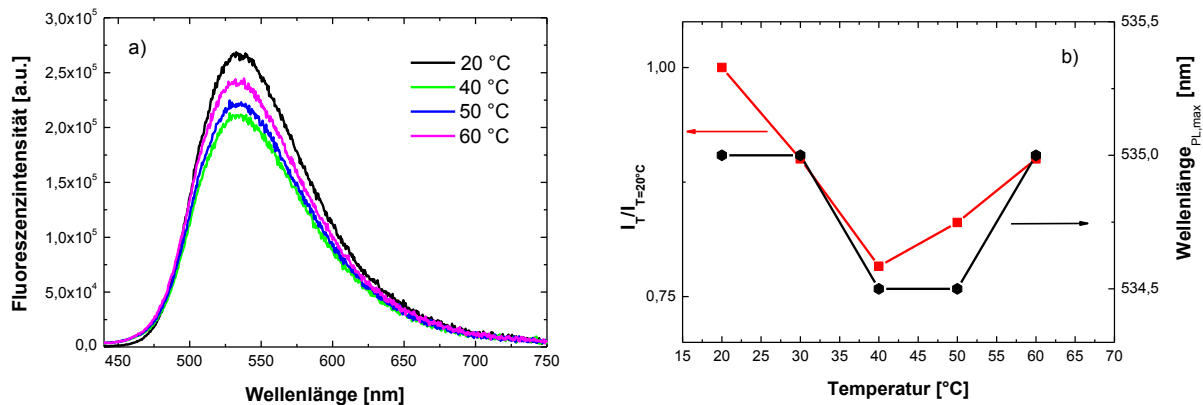


Abb. 24 a) Temperaturabhängiges Fluoreszenzspektrum von P3 in PBS (0,1 g L⁻¹): Anregungswellenlänge 430 nm. b) Beziehung zwischen Emissionsmaximum ($\lambda_{\text{PL,max}}$, schwarze Linie), der relativen Fluoreszenzintensität ($I_T/I_{T=20^\circ\text{C}}$, rote Linie) und der Temperatur der PBS-Lösung. [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Das Copolymer **P3** reagiert also im Gegensatz zu den Copolymeren **P1** und **P2** auf Temperaturerhöhung weder mit einer Verschiebung der Fluoreszenzmaxima noch einem Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute.

Wegen der besseren Zugänglichkeit strahlungsloser Deaktivierungskanäle sinkt die Fluoreszenzlebenszeit bei allen Konzentrationen bei erhöhter Temperatur^[209] (Abb. 25).

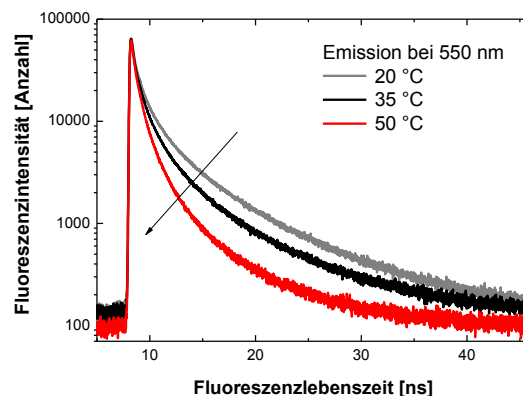


Abb. 25 Zeitaufgelöste Fluoreszenzabklingzeiten von P3 in PBS bei 20, 35 und 50 °C: Anregungswellenlänge 470 nm. Die Emission wurde bei 550 nm detektiert. [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Diese Ergebnisse des Copolymers **P3** in PBS sind höchst überraschend, da normalerweise zu erwarten gewesen wäre, dass sich die Fluoreszenzquantenausbeute erhöht und die Lage der Emissionsbande zu kürzeren Wellenlängen verschiebt, da sich oberhalb der Phasenübergangs-

temperatur eine hydrophobere Mikroumgebung um den Chromophor bildet, die sich in einer Änderung der Emissionseigenschaften widerspiegeln sollte.

3.1.6 Lichtstreuungsexperimente: Aggregations- und Assoziationsverhalten der Copolymere P1, P2 und P3 in PBS

Um die zugrunde liegenden Unterschiede und Mechanismen besser zu verstehen, wurden Lichtstreuungsexperimente mit den drei Copolymeren **P1**, **P2** und **P3** durchgeführt. Diese geben einen Einblick in das Aggregations- und Assoziationsverhalten dieser Copolymere oberhalb und unterhalb der Phasenübergangstemperatur.

Tabelle 4 gibt die wichtigsten experimentellen Ergebnisse der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** in PBS bei verschiedenen Temperaturen wieder. Alle Copolymere besitzen eine höhere Phasenübergangstemperatur als 15 °C: Für das NIPAm-basierte Copolymer **P1** ist sie 30 °C und für die OEG-basierten Copolymere **P2** und **P3** ist sie über 30 °C, d.h. für **P2** und **P3** ist 30 °C unterhalb und 50 °C oberhalb der Phasenübergangstemperatur. Die Heizraten wurden denen für die Fluoreszenzmessungen angepasst, um vergleichbare Werte zu erzielen.

Tabelle 4: Charakterisierung der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** mittels statischer Lichtstreuung (R_g : Trägheitsradius oder Streumassenradius, $M_{w,app}$: scheinbare, gewichtsmittlere molare Masse, ρ : Polymerketten-dichte, N_{agg} : Anzahl der Aggregate) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit L. Chiappisi.]

Polymer	T [°C]	R_g [nm]	$M_{w,app}$ [10^6 g mol^{-1}]	ρ [$10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$] ^{a)}	N_{agg}
P1	15	<25	0,18	2,1 ^{a)}	2
P1	30	120	1040	110	14500
P1	50	127	2920	262	40600
P2	15	<25	0.04	0,5 ^{a)}	1
P2	30	<25	0.06	0,7 ^{a)}	2
P2	50	130	1040	86	26000
P3	15	54	2.9	3,4	11
P3	30	54	3.2	3,7	13
P3	50	134	668	51	2600

a) Berechnet aus dem Wert von ρ für $R_g = 25 \text{ nm}$

Die Copolymere **P1** und **P2** bilden in Lösung bei 15 °C gut gelöste Aggregate, die nur aus wenigen Ketten bestehen (**P1**: $N_{agg} = 2$ und **P2**: $N_{agg} = 1$). Für diese Lösungen war die Streuungsintensität unabhängig vom Streuwinkel, was auf die Anwesenheit von kurzen, flexiblen Ketten ($R_g > 25 \text{ nm}$), die keine größeren Aggregatstrukturen bilden, hindeutet. Im

Gegensatz dazu bildet das Copolymer **P3** in Lösung schon bei 15 °C Aggregate, die sich aus ca. 11 Polymerketten zusammensetzen.

Das Copolymer **P1** zeigt eine drastische Änderung seiner Löslichkeitseigenschaften, sobald dieses über die Phasenübergangstemperatur (30 °C) erwärmt wird. Es bilden sich globuläre Strukturen mit einem Durchmesser (R_g) von 120 nm. Diese Aggregate bestehen aus vielen Ketten ($N_{agg} = 14500$) und weisen eine hohe Dichte ($\rho_{30\text{ °C}} = 110\text{ g cm}^{-3}$) auf. Weiteres Heizen auf 50 °C führt zu größeren ($N_{agg} = 40600$) und kompakteren Aggregaten ($\rho_{15\text{ °C}} = 2,1\text{ g cm}^{-3}$; $\rho_{50\text{ °C}} = 262\text{ g cm}^{-3}$). Für die Lösungen der OEG-basierten Copolymere **P2** und **P3** nimmt bereits ab 30 °C die Kettenaggregation leicht zu (**P2**: $N_{agg} = 2$ und **P3**: $N_{agg} = 13$), wobei 30 °C für diese Copolymere (**P2** und **P3**) jedoch noch unterhalb der Phasenübergangstemperatur ist. Eine Erhöhung der Temperatur auf 50 °C (oberhalb der Phasenübergangstemperatur für beide Copolymere **P2** und **P3**) führt zur Erhöhung der Intensität des gestreuten Lichts und einer Zunahme von R_g , $M_{w,app}$ und N_{agg} (siehe Tabelle 4).

Die Aggregation der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** in PBS folgt einem Trend: Das NIPAM-Copolymer **P1** formt oberhalb der Phasenübergangstemperatur deutlich dichtere Aggregate als die entsprechenden OEG-basierten Copolymere **P2** und **P3**. Das NIPAM-Copolymer **P1** scheint deutlich stärker einem Dehydratisationsprozess während des Phasenübergangs zu unterliegen als die entsprechenden OEG-basierten Copolymere **P2** und **P3**. Weiterhin ändert sich die Packungsdichte für das NIPAM-Copolymer **P1** ebenfalls deutlich stärker als in den OEG-basierten Copolymeren **P2** und **P3**. Die OEG-basierten Copolymere unterscheiden sich beispielsweise in der Anzahl der aggregierten Ketten oberhalb der Phasenübergangstemperatur; für **P2** ist sie 10-fach so hoch wie für **P3**.

3.1.7 Zusammenfassende Ergebnisdiskussion von Fluoreszenzspektroskopie und Lichtstreuung

Aus den experimentellen Ergebnissen leiten sich folgende Strukturmodelle für die Copolymere **P1**, **P2** und **P3** ab (Abb. 26-28).

Unterhalb der Phasenübergangstemperatur emittiert das naphthalimidfunktionalisierte NIPAm-Copolymer **P1** in PBS kaum. Der Grund hierfür ist die gute Hydratisierung des polymergebundenen Chromophors. Die Polymerketten liegen isoliert, expandiert und gequollen im wässrigen Medium vor. Es werden keine Aggregate unterhalb der Phasenübergangstemperatur gebildet. Wird die Lösung über die Phasenübergangstemperatur erwärmt, steigt die Fluoreszenzintensität stark an (Erhöhung um den Faktor 30). Der Chromophor wird von den kollabierten Polymerketten abgeschirmt und somit die Wechselwirkung mit Wassermolekülen minimiert. Das Resultat ist ein Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute oberhalb der Phasenübergangstemperatur. Weiterhin verschiebt sich das Emissionsmaximum zu kürzeren Wellenlängen (Blauverschiebung) aufgrund der Minimierung der Wechselwirkung mit Wassermolekülen.

Die lokale Chromophorumgebung ändert sich durch den Phasenübergang von einer polaren, gut hydratisierten zu einer unpolaren, weniger stark hydratisierten lokalen Umgebung.

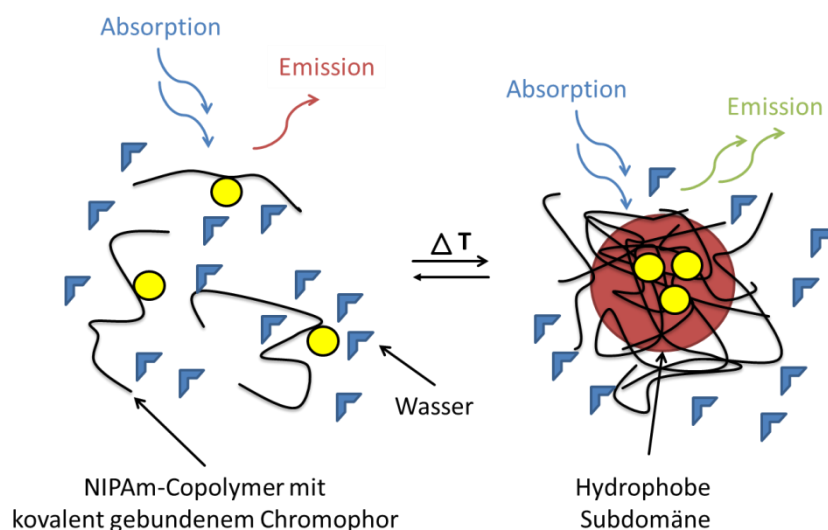


Abbildung 26 Idealisierter, temperaturabhängiger Aggregations- und Assoziationsmechanismus für das farbstoffmarkierte NIPAm-Copolymer **P1** in wässriger Lösung

Die Ausgangssituation für das naphthalimidfunktionalisierte MEO₂A-Copolymer **P2** in PBS ist nahezu identisch mit der des Copolymers **P1**: Unterhalb der Phasenübergangstemperatur liegen die Polymerketten isoliert, expandiert und gequollen im wässrigen Medium vor. Das Emissionsmaximum von **P2** liegt nahe dem des Copolymers **P1** (2 nm blauverschoben) und die Fluoreszenzquantenausbeute ist ähnlich niedrig (1,5 %). Der polymergebundene Chromophor ist demnach von Wassermolekülen und OEG-Seitenketten umgeben. Interessanterweise sind die Endzustände oberhalb der Phasenübergangstemperatur für das NIPAm-Copolymer **P1** und das MEO₂A-Copolymer **P2** deutlich unterschiedlich: Beim Passieren des Trübungspunkts kommt es zu einer kleinen Änderungen der Emissionseigenschaften, aber diese Änderungen sind bei Weitem nicht so stark wie im entsprechenden NIPAm-Copolymer **P1**. Es wird eine Blauverschiebung des Emissionsmaximums beobachtet, die im Gegensatz zu **P1** (14 nm) jedoch nur 5 nm beträgt. Die Fluoreszenzintensität steigt nur um einen Faktor 2. Die lokale Umgebung des polymergebundenen Chromophors in **P2** ändert sich kaum.

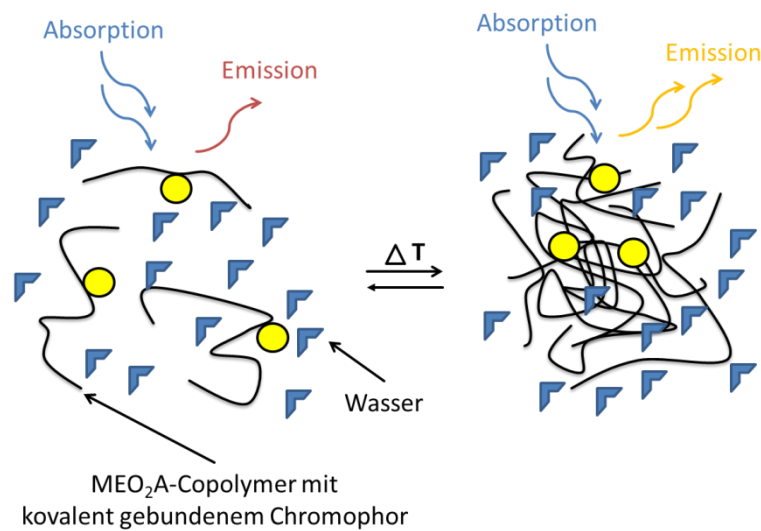


Abbildung 27 Idealisierter, temperaturabhängiger Aggregations- und Assoziationsmechanismus für das farbstoffmarkierte OEGA-Copolymer **P2** in wässriger Lösung (Vergl. Abb. 26)

Im OEGMA-Copolymer **P3** ist die Ausgangssituation ähnlich der Endsituation im MEO₂A-Copolymer **P2**: Bereits unterhalb der Phasenübergangstemperatur bilden die Polymerketten lockere und weitmaschige Aggregate. Außerdem ist die Fluoreszenzquantenausbeute von vornherein hoch und das Emissionsmaximum des Copolymers **P3** (435 nm) liegt ähnlich dem des Copolymers **P2** oberhalb der Phasenübergangstemperatur (437 nm). Die hohe Fluoreszenzquantenausbeute und die deutliche Blauverschiebung der Ausgangssituation für das Copolymer **P3** sprechen für eine Abschirmung des Chromophors vor den Wassermolekülen durch die Polymermatrix. Erwärmt man nun die Polymerlösung des Copolymers **P3** über die Phasenübergangstemperatur, so ändern sich seine Emissionseigenschaften nicht. Die lokale Umgebung des polymergebundenen Chromophors bleibt gleich. Die einzige Änderung des OEGMA-Copolymers **P3** (genauso wie die der Copolymere **P1** und **P2**) ist die Erhöhung seiner Packungsdichte oberhalb der Phasenübergangstemperatur. Der Grad der Änderung ist jedoch nicht so stark ausgeprägt wie bei den Copolymeren **P1** und **P2**.

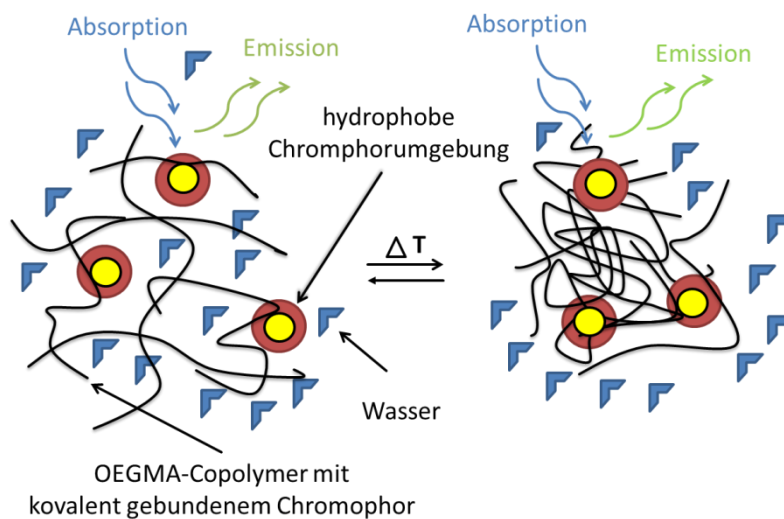


Abbildung 28 Idealisierter, temperaturabhängiger Aggregations- und Assoziationsmechanismus für das farbstoffmarkierte OEGMA-Copolymer **P3** in wässriger Lösung (Vergl. Abb. 26 und 27)

Die unterschiedlichen Anfangs- und Endsituationen der Copolymere **P1**, **P2** und **P3** in wässriger Lösung müssen aus den unterschiedlichen Matrixpolymerstrukturen resultieren. Einer der Unterschiede zwischen NIPAm(**P1**)- und OEG(**P2** und **P3**)-basierten Polymeren ist, dass die polyNIPAm-Aggregate oberhalb der Phasenübergangstemperatur durch starke Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert werden können. Die Amidbindung in polyNIPAm ist durch einen H-Akzeptor (die Carbonylgruppe, C=O) und einen H-Donor (die Amidgruppe, CONH) gekennzeichnet, durch die starke intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden können. Unterhalb der Phasenübergangstemperatur werden Wasserstoffbrückenbindungen hauptsächlich mit Wassermolekülen (Amid-H₂O) gebildet, wohingegen oberhalb der Phasenübergangstemperatur die intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen (Amid-Amid) bevorzugt gebildet werden (siehe Abb. 29). In den OEG-basierten Copolymeren, die nur einen H-Akzeptor besitzen^[112,116], fehlt diese Art der Stabilisierung oberhalb der Phasenübergangstemperatur.

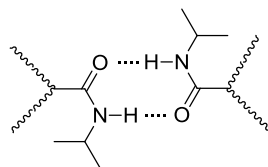


Abbildung 29 Wasserstoffbrückenbindungsmotiv in polyNIPAm

Zhou et al. zeigten, dass die durch intermolekulare Wechselwirkung gebildeten Kugeln von poly-*N,N*-Diethylacrylamid durch das Fehlen von Wasserstoffdonor und -akzeptor deutlich weniger kompakt und dicht waren als die von polyNIPAm^[210]. Untersuchungen an unmarkiertem polyOEGMA mittels temperaturabhängiger ¹H-NMR- und IR-Spektroskopie zeigten, dass die Polymerketten auch oberhalb der Phasenübergangstemperatur beweglich waren. Eine mögliche Erklärung ist, dass polyOEGMA nur einem schwachen Dehydratisationsprozess unterliegt und somit seine physikalischen Eigenschaften nicht drastisch ändert^[116]. Das deckt sich mit Beobachtungen, dass längere OEG-Seitenketten ihre Beweglichkeit auch oberhalb der Phasenübergangstemperatur behalten^[118,211]. Hoogenboom et al. zeigten durch den Einbau eines solvatochromen Azofarbstoffs (Dispersionsrot 1) in ein MEO₂MA-Copolymer, dass eine Änderung der Absorptionseigenschaften unterdrückt wurde, wenn das entsprechende Copolymer längere OEG-Seitenketten enthielt^[26]. Hoogenboom et al. postulierten, dass das Polymer durch den Einbau längerer OEG-Seitenketten deutlich hydrophiler wird und selbst im kollabierten Zustand noch partiell gequollen vorliegt.

Die Übersetzung des Phasenübergangs in OEG-basierten Copolymeren, wie polyMEO₂A, polyMEO₂MA und polyOEGMA, in ein optisches Signal wird im Wesentlichen durch zwei Effekte minimiert. Zum einen fehlt ein effektiver Dehydratisierungsprozess, hervorgerufen durch das Fehlen eines intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungsmotivs. Zum anderen werden die Chromophore durch die OEG-Seitenketten abgeschirmt. Hierbei ist folgender Trend zu beobachten: Je länger die OEG-Seitenketten sind, desto geringer sind die spektralen Eigenschaftsänderung des Chromophors.

3.2 Untersuchungen zum thermischen Verhalten cumarinfunktionalisierter LCST-Polymere (polyNIPAm und polyOEGMA)

3.2.1 Synthese und optische Charakterisierung des Cumarinmonomers 7

In Kapitel 2.2.1 wurde gezeigt, dass verschiedene Wege, um Cumarine aufzubauen, zur Verfügung stehen. Besonders etabliert ist die Perkin-Reaktion. Da bei dieser jedoch sehr hohe Temperaturen (~160 °C) erforderlich sind, kann eine polymerisierbare Gruppe durch diesen Reaktionstyp nicht in einem Schritt, sondern muss schrittweise eingeführt werden. Besonders günstig für die schrittweise Einführung einer polymerisierbaren Gruppe sind hierbei die 3- und 7-Position des Cumarins.

Abbildung 30 gibt den Reaktionsweg zum Aufbau des polymerisierbaren 3-Phenylcumarinderivats **7** wieder. In einem ersten Reaktionsschritt wird durch eine Perkin-Reaktion des 4-Hydroxysalicylaldehyds mit Phenylelessigsäure das acetylgeschützte 3-Phenylcumarinderivat **4** in moderater Ausbeute (60 %) erhalten. In einem folgenden Reaktionsschritt wird durch saure Esterhydrolyse die Acetylgruppe abgespalten und der phenolische 3-Phenylcumarinalkohol **5** in ausgezeichneter Ausbeute (99 %) gewonnen. Die phenolische Hydroxylgruppe wird nun unter milden Alkylierungsbedingungen in DMF und mit Kaliumcarbonat als Base mit Bromethanol alkyliert. Es wird das 3-Phenylcumarinderivat **6** in moderater Ausbeute (61 %) erhalten, das über einen Ethylenglykospacer verfügt. Die durch die Alkylierung eingeführte aliphatische Hydroxylgruppe des Spacers wird in einem letzten Schritt mit Methacrylsäure verestert und das gewünschte polymerisierbare 3-Phenylcumarinderivat **7** in ausgezeichneter Ausbeute (98 %) erhalten.

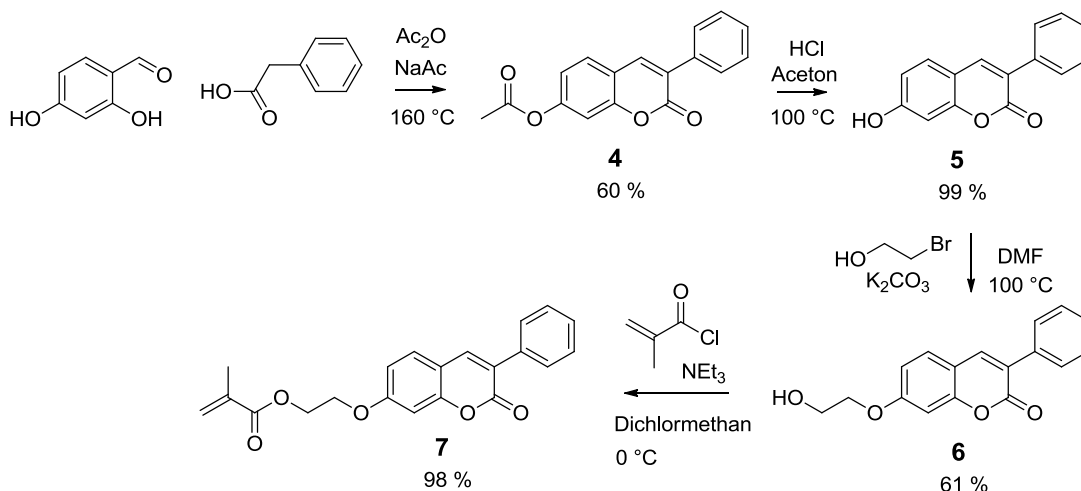


Abbildung 30 Reaktionsschema zum Aufbau des polymerisierbaren 3-Phenylcumarinderivats **7**

Charakteristisch für die meisten organischen Farbstoffe ist eine breite und intensive Bande im Nah-UV-vis-Spektrum. Dies wird auch für das Cumarinderivat **7** gefunden. In Chloroform liegt das Absorptionsmaximum bei 341 nm und das Emissionsmaximum bei 421 nm. Bemerkenswert ist, dass die Fluoreszenzquantenausbeute in Chloroform ~100% beträgt. Dies könnte aus der Kombination zweier bekannter Fluoreszenzfarbstoffe in der Struktur des 3-Phenylcumarinderivats **7** herrühren. Zum einen sind Cumarine per se für hohe Fluoreszenzquantenausbeuten in organischen Lösungsmitteln bekannt (siehe Kapitel 2.2.1). Allerdings findet man diese sehr hohen Fluoreszenzquantenausbeuten fast ausschließlich in 7-Aminocumarinen während sie für 7-Alkoxy-cumarine eher ungewöhnlich sind. Zum anderen ist das Strukturmotiv des Stilbens in dem 3-Phenylcumarinderivat **7** vorhanden. Stilbene sind Fluoreszenzfarbstoffe, wohingegen die strukturell ähnlichen Azofarbstoffe in Lösung so gut wie nie fluoreszieren. Schränkt man jedoch in Azofarbstoffen die cis-trans-Isomerisierung der Doppelbindung bei Azofarbstoffen ein, z.B. durch sehr niedrige Temperaturen oder durch sperrige Substituenten in ortho-Position, fluoreszieren diese. In der Struktur des Cumarinderivats **7** ist die Isomerisierung (cis-trans) durch die Laktonstruktur, eingeschränkt. Vergleicht man die Fluoreszenzeigenschaften von Zimtsäuren (mögliche cis-trans-Isomerisierung) und Cumarinen (durch das Lakton eingeschränkte cis-trans-Isomerisierung), so stellt man fest, dass strukturgleiche Cumarine die höheren Fluoreszenzquantenausbeuten besitzen. Die Kombination von Stilben- und Cumarinstrukturmotiv könnte die außergewöhnlich hohe Quantenausbeute dieses 3-Phenylcumarinderivats **4** erklären.

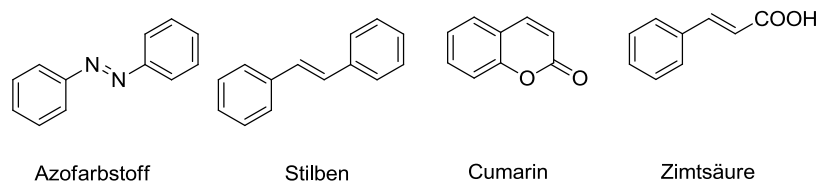


Abbildung 31 Chemische Strukturen verschiedener Farbstoffe

3.2.2 Synthese und Charakterisierung cumarinfunktionalisierter LCST-Copolymere P4 und P5

Die Abbildung 32 gibt den Reaktionsweg wieder, mit dem die Copolymere **P4** und **P5** synthetisiert wurden.

Das Copolymer **P4** wurde analog zu dem im Kapitel 3.1 beschriebenen Syntheseprotokoll mittels klassischer FRP synthetisiert. Jedoch wurde das cumarinfunktionalisierte Monomer **7** anstatt des Naphthalimidderivats **3** eingesetzt. Aufgrund der Erfahrungen der Polymerisation des Copolymers **P4** wurde bei der Synthese des Copolymers **P5** DMF als Lösungsmittel verwendet, da sich Monomer **7** deutlich besser in DMF als in Ethanol löst. Die Aufreinigungen waren die gleichen wie die im Kapitel 3.1 für NIPAm- und OEGMA-Copolymere beschrieben.

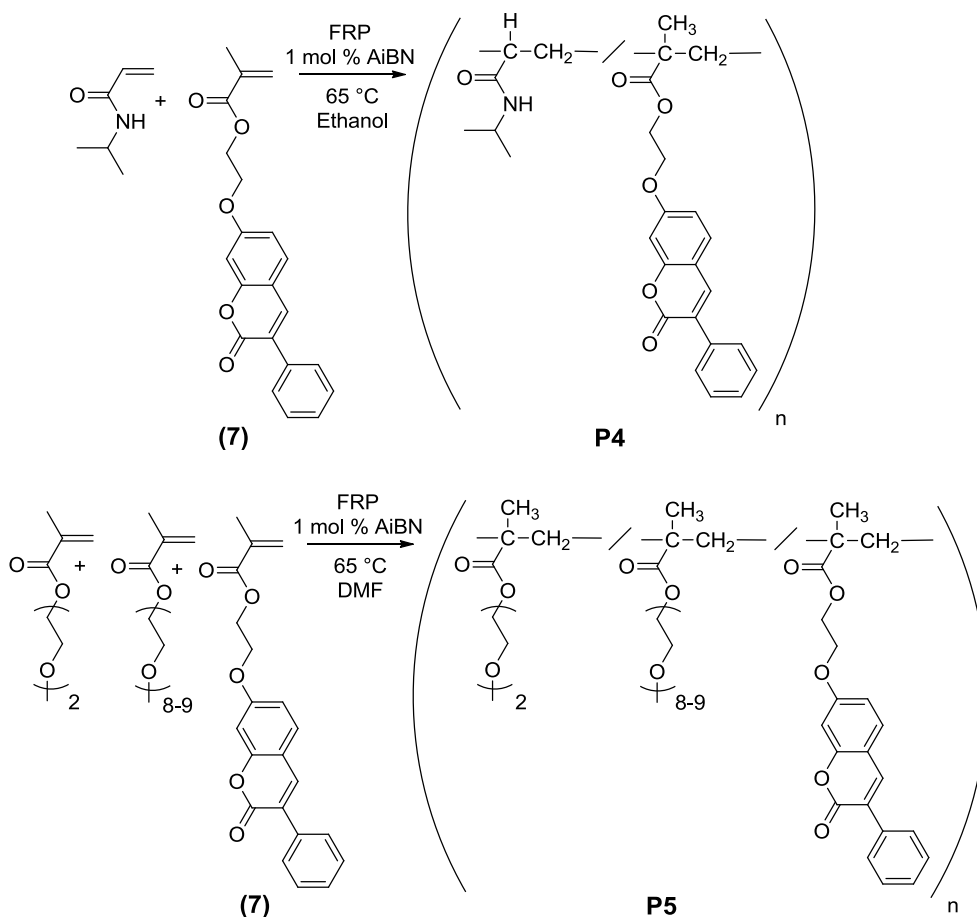


Abbildung 32 Reaktionsschema zum Aufbau der cumarinfunktionalisierten Copolymere **P4** und **P5**

Es wurden die gleichen typischen Signale bei gleichen chemischen Verschiebungen im ¹H-NMR-Spektrum gefunden, wie sie für NIPAm - und OEGMA-Copolymere zu erwarten waren (analog zu Kapitel 3.1.2). Im Copolymer **P5** wurde ein Verhältnis von MEO₂MA zu OEGMA₄₇₅ von 92:8 bestimmt. Der Chromophorgehalt der Copolymere **P4** und **P5** wurde in mol % mittels ¹H-NMR-Spektroskopie (**P4**: 0,8 und **P5**: 0,3) und UV-vis Spektroskopie* (**P4**: 0,76 und **P5**: 0,34) bestimmt. Die Molmassen ($M_{n, GPC}^{app}$) der Copolymere **P4** (24.000 g mol⁻¹) und **P5** (21.000 g mol⁻¹) wurden in DMF mittels GPC (kalibriert mit Polystyrolstandards) bestimmt. Mithilfe der Molmasse des entsprechenden Copolymers wurden die mittleren Kettenlängen (\overline{DP}_n^{app}) (**P4**: 209 und **P5**: 111) und der mittlere Chromophorgehalt pro Kette (AC) (**P4**: 1,6 und **P5**: 0,4) berechnet (Berechnungen siehe experimentellen Teil). Eine Zusammenfassung der strukturellen Charakterisierung und der thermoresponsiven Eigenschaften der Copolymere **P4** und **P5** gibt die Tabelle 5.

* Berechnet via Lambert-Beer'sches Gesetz aus der Absorption der Copolymere in Chloroform ($\lambda_{max}^{abs} = 341 \text{ nm}$, $\epsilon = 20000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

Tabelle 5: Analytische Daten der cumarinfunktionalisierten Copolymere **P4** und **P5** ($M_{n,GPC}^{app}$: scheinbare zahlenmittlere molare Masse; bestimmt über GPC in DMF, kalibriert mit Polystyrolstandards, PDI: Polydispersitätsindex, \overline{DF}_n^{app} : Scheinbare Anzahl an Monomerwiederholungseinheiten pro Kette, berechnet aus der 1H -NMR Polymerzusammensetzung, AC: Durchschnittliche Anzahl an Chromophoren pro Kette, berechnet aus dem molaren UV-vis-Wert, TP: onset-Trübungspunkt bei gegebener Konzentration, TP (50 %): Trübungspunkt bei 50 % Trübungsreduktion bei gegebener Konzentration)

Polymer	$M_{n,GPC}^{app}$ [Kg mol ⁻¹]	PDI	\overline{DF}_n^{app}	Farbstoffgehalt (7) [mol %]		AC	TP ^{a)} [° C]	TP ^{a)} (50 %) [° C]
				UV-vis				
				NMR				
P4	24	2,7	209	0,76	0,8	1,6	27,9	29,5
P5	21	3	111	0,34	0,3	0,4	29,0	30,6

a) Trübungspunkt (TP) bei einer Konzentration von 2,0 g L⁻¹ in PBS

3.2.3 Photophysikalische Charakterisierung der cumarinfunktionalisierten LCST-Copolymere P4 und P5

Das Copolymer **P4** in PBS zeigt die gleiche Änderung seiner Emissionseigenschaften bei Temperaturerhöhung (siehe Abb. 33), die auch im Copolymer **P1** beobachtet wird (siehe Abb. 20 a)). Der Grad der Änderung ist bei **P4** jedoch nicht so stark ausgeprägt wie bei **P1**. Mit Erhöhung der Temperatur über die Phasenübergangstemperatur steigt die Fluoreszenzintensität an, jedoch verschiebt sich im Gegensatz zum Copolymer **P1** das Emissionsmaximum (429 nm) nicht. Das ist nicht verwunderlich, da das gewählte Cumarinderivat **7** wegen des Fehlens einer starken Donor-Akzeptor-Substitution keine ausgeprägte Solvatochromie zeigt.

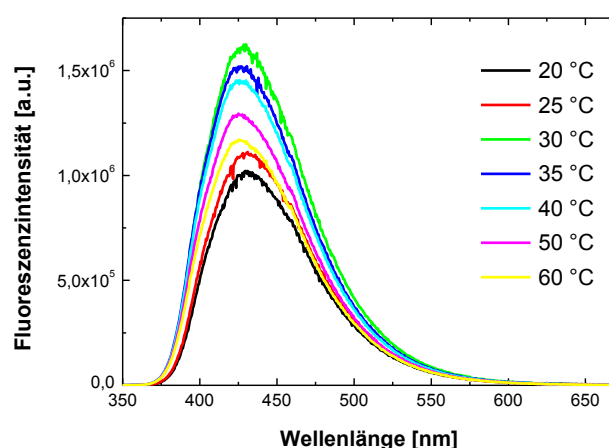


Abb. 33 Temperaturabhängiges Emissionsspektrum des Copolymers **P4** in PBS [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Interessanterweise wird für das OEGMA-Copolymer **P5** in PBS ein anderes thermisches Verhalten gefunden (siehe Abb. 34) als beim OEGMA-Copolymer **P3** in PBS (siehe Abb. 24 a). Erwärmt man eine Lösung des cumarinfunktionalisierten OEGMA-Copolymers **P5** über die Phasenübergangstemperatur, so erhöht sich die Fluoreszenzquantenausbeute leicht. Die Fluoreszenzquantenausbeute des Chromophors scheint unterhalb der Phasenübergangstemperatur durch Wassermoleküle leicht reduziert zu werden. Oberhalb der Phasenübergangstemperatur wird die Erniedrigung der Fluoreszenzquantenausbeute, durch die leichte Dehydratisierung der OEGMA-Copolymere unterliegen^[26] (vergl. Kapitel 3.1.7), aufgehoben und die Fluoreszenzquantenausbeute steigt. Das Copolymer **P5** zeigt ein analoges Verhalten wie das Copolymer **P4**, es wird keine Verschiebung des Emissionsmaximums beobachtet.

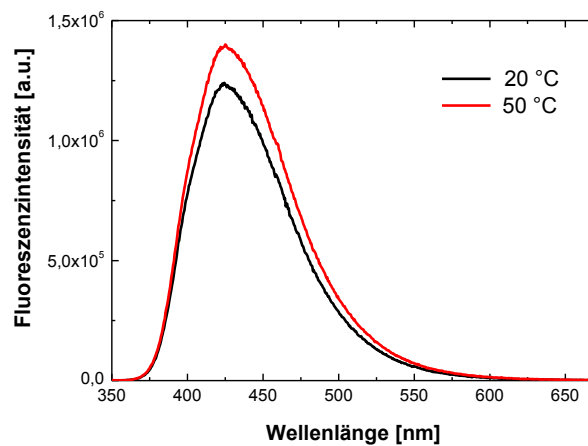


Abb. 34 Temperaturabhängige Emissionsspektren des Copolymers **P5** in PBS [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Eine mögliche Erklärung für das unterschiedliche Emissionsverhalten von **P5** und **P3** ist die unterschiedliche Zusammensetzung der beiden Copolymere. Das Copolymer **P5** besitzt ein Verhältnis von 92:8 (MEO₂MA:OEGMA₄₇₅), wohingegen das Copolymer **P3** ein Verhältnis von 80:20 (MEO₂MA:OEGMA₄₇₅) aufweist. D.h. im Copolymer **P3** ist jede fünfte Wiederholungseinheit eine langkettige OEG-Seitenkette (8-9 EG-Wiederholungseinheiten), wohingegen im Copolymer **P5** nur ca. jede zehnte Wiederholungseinheit eine lange OEG-Seitenkette aufweist. Das Copolymer **P5** ist bezogen auf die Länge der EG-Seitenketten strukturell dem Copolymer **P2** ähnlicher als dem Copolymer **P3** und zeigt auch ein ähnliches Emissionsverhalten (leichter Anstieg der Fluoreszenzintensität oberhalb der Phasenübergangstemperatur). Das Emissionsverhalten des Copolymers **P5** folgt dem von Hoogenboom et al. berichteten Trend: Je länger die OEG-Seitenketten sind, desto geringer sind die zu

erwartenden spektralen Änderungen des Chromophors^[26]. Dieser Trend scheint nicht nur auf die entsprechenden OEGMA-Homopolymere zuzutreffen, sondern auch auf OEGMA-Copolymere, die einen hohen Anteil langkettiger OEG-Seitenketten besitzen.

3.3 Visualisierung des Phasenübergangs in OEGMA-basierten Copolymeren*

Aufgrund der Erfahrungen der vorangegangenen Kapitel und des Fehlens von Literatur über fluoreszenzbasierte Methoden zur Detektion des Phasenübergangs in OEGMA-basierten Copolymeren, die lange OEG-Seitenketten besitzen, wurde ein FRET-basiertes System entwickelt, das auf einem temperaturabhängigen Aggregations-Dissoziations-Mechanismus zweier Makromoleküle beruht. Als Makromoleküle wurden, das aus dem vorherigen Kapitel bekannte, nichtionische, cumarinfunktionalisierte OEGMA-Copolymer **P5** (Donor) und das ionische Polythiophen **PT**^[212] (Akzeptor) eingesetzt (siehe Abb. 35).

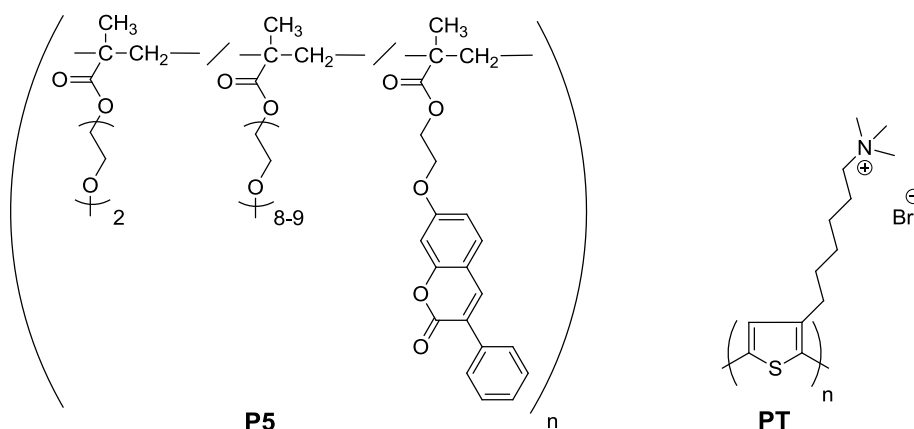


Abbildung 35 Chemische Strukturen des nichtionischen, cumarinfunktionalisierten OEGMA-Copolymer **P5** und des ionischen Polythiophens **PT**

Tabelle 6 fasst die strukturelle Charakterisierung beider Makromoleküle (**PT** und **P5**) und der thermoresponsiven Eigenschaften des Copolymeren **P5** (aus Kapitel 3.2.1) zusammen.

* Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht: S. Inal, Jonas D. Kölsch et al. "Temperature-Regulated Fluorescence Characteristics of Supramolecular Assemblies Formed By a Smart Polymer and a Conjugated Polyelectrolyte", Chem. Phys., 2013, 241, 435-445 (doi: 10.1002/macp.201200493)

Tabelle 6: Analytische Daten des nichtionischen, cumarinfunktionalisierten OEGMA-Copolymer **P5** und des ionischen Polythiophens **PT** ($M_{n,GPC}^{app}$: scheinbare, zahlenmittlere molare Masse; für **P5**: bestimmt über GPC in DMF, kalibriert mit Polystyrolstandards für **PT** siehe [212], PDI: Polydispersitätsindex, \overline{DP}_n^{app} : Scheinbare Anzahl an Monomerwiederholungseinheiten pro Kette, berechnet aus der 1H -NMR Polymerzusammensetzung, AC: Durchschnittliche Anzahl an Chromophoren pro Kette, berechnet aus dem molaren UV-vis-Wert, TP: onset-Trübungspunkt bei gegebener Konzentration, TP (50 %): Trübungspunkt bei 50 % Trübungsreduktion bei gegebener Konzentration)

Polymer	$M_{n,GPC}^{app}$ [Kg mol ⁻¹]	PDI	\overline{DP}_n^{app}	Farbstoffgehalt		AC	TP ^{a)} [° C]	TP ^{a)} (50 %) [° C]
				[mol %]				
				UV-vis	NMR			
P5	21	3	111	0,34	0,3	0,4	29,0	30,6
PT ^[237]	5	-	15	-	-	-	-	-

a) Trübungspunkt (TP) bei einer Konzentration von 2,0 g L⁻¹ in PBS

Abbildung 36 gibt die normierten Absorptions- und Emissionsspektren des nichtionischen, cumarinfunktionalisierten OEGMA-Copolymer **P5** und des ionischen Polythiophens **PT** in PBS bei 20 °C wieder. 20 °C ist für das Copolymer **P5** unterhalb der Phasenübergangstemperatur (siehe Tabelle 6). Polymer **PT** zeigt eine breite Absorptionsbande mit einem Absorptionsmaximum bei 415 nm. Das Emissionsmaximum liegt bei 605 nm und ist bezogen auf Literaturdaten leicht rotverschoben^[212].

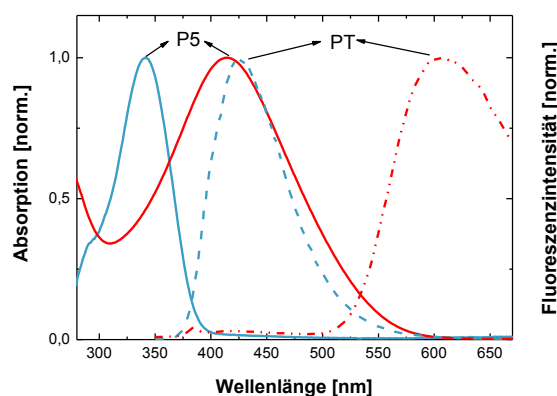


Abbildung 36 Normierte Absorptions (durchgezogene Linie)- und Emissionsspektren (gestrichelte Linie) des nichtionischen, cumarinfunktionalisierten OEGMA-Copolymers **P5** (blau) und des ionischen Polythiophens **PT** (rot) in PBS bei 20 °C [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Die große spektrale Überlappung der Emission des Cumarins **7** in **P5** und der Absorption von **PT** machen diese Farbstoffe zu einem geeigneten FRET-Paar.

3.3.1 Einfluss des Polythiophens PT auf die Phasenübergangstemperatur des OEGMA-Copolymers P5 in PBS

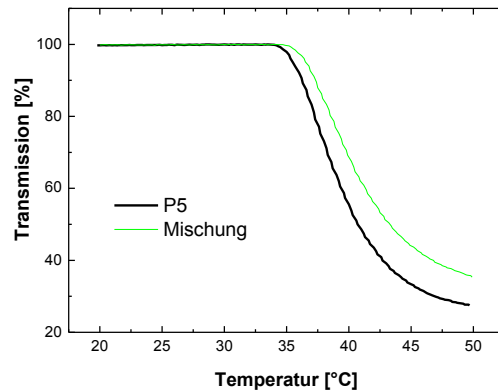


Abb. 37 Einfluss des PTs auf die Phasenübergangstemperatur des Copolymers P5 in PBS

Abb. 37 zeigt die Trübungskurven des Copolymers **P2** und einer Mischung aus Copolymer **P2** und Polythiophen **PT**. Der Phasenübergang wird durch die Zugabe von **PT** zu einer Lösung des Copolymers **P2** nicht unterdrückt, jedoch verschiebt sich die Phasenübergangstemperatur zu höheren Werten. Der Grund für die Verschiebung sind möglicherweise nichtionische Polymer-Polymer-Wechselwirkungen, die u.a. für andere Polymersysteme bekannt sind^[108,213].

3.3.2 Temperaturabhängige Fluoreszenzcharakteristika von Lösungen des OEGMA-Copolymers P5 und verschiedenen Konzentrationen des Polythiophens PT unterhalb und oberhalb der Phasenübergangstemperatur in PBS

Die Energietransferrate vom Donor (Cumarin 7 in **P5**) auf den Akzeptor (Polythiophen: **PT**) wurde bei konstanter Donorkonzentration (0,6 mM) und schrittweiser Erhöhung der Akzeptorkonzentration (0,04 bis 0,30 mM) untersucht. Abbildung 38 zeigt die Fluoreszenzspektren bei 20 °C (unterhalb der Phasenübergangstemperatur) dieser Mischungen und des reinen **PT** unter gleichen Bedingungen.

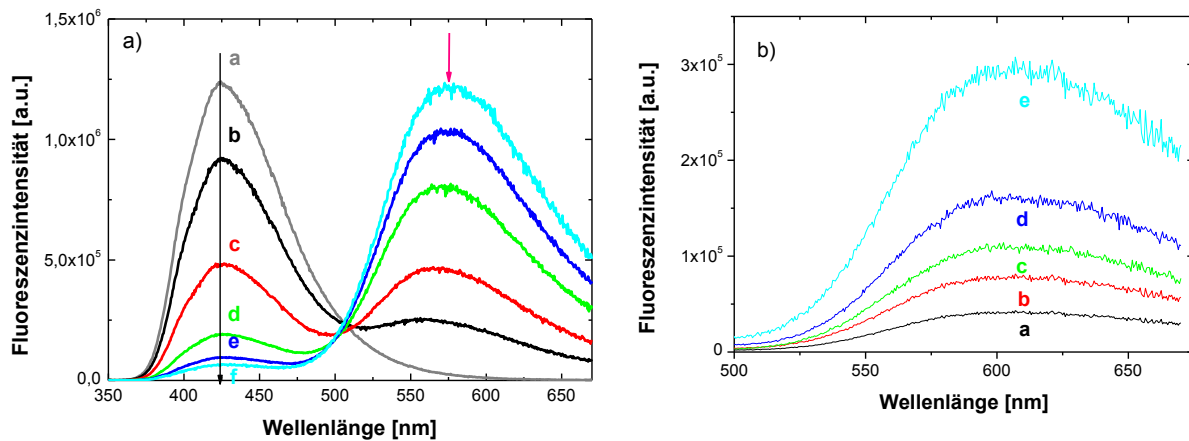


Abb. 38 Fluoreszenzspektren bei a) 20 °C (unterhalb der Phasenübergangstemperatur) der Mischung aus 0,60 mM P5 und verschiedenen Konzentrationen PT [a) 0,00 mM, b) 0,04 mM, c) 0,08 mM, d) 0,18 mM, e) 0,26 mM, f) 0,30 mM] und b) des PTs allein in PBS. (Die Anregungswellenlänge betrug 340 nm.) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Die Emissionsbandenform von Donor und Akzeptor ändern sich im untersuchten Konzentrationsbereich nicht. Die Fluoreszenzintensität der Cumarinemission sinkt, wenn die Konzentration von **PT** steigt. Gleichzeitig erhöht sich die Fluoreszenzintensität des Akzeptors. Dieses Verhalten ist das Resultat des Energietransfers vom Donor auf den Akzeptor. **PT** selbst absorbiert bei 340 nm (der Anregungswellenlänge) (siehe Abb. 34); dies führt zu einer schwachen Akzeptoremission. Jedoch beobachtet man eine Erhöhung der Fluoreszenzintensität um den Faktor 4, wenn das Copolymer **P5** zugegen ist. Die Akzeptorintensität steigt in dem hier studierten Konzentrationsbereich kontinuierlich an.

Vergleicht man die Emissionsspektren des reinen Akzeptors in PBS und das Emissionsspektrum der Mischung, stellt man fest, dass die Akzeptoremission der Mischung blauverschoben ist. Dies ist das Resultat der Wechselwirkung beider Makromoleküle miteinander.

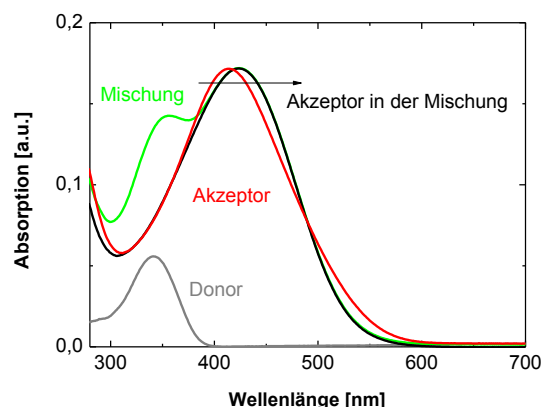


Abb. 39 Absorptionsspektrum der Einzelkomponenten (0,8 mM P5 bzw. 0,09 mM PT) und der Mischung (0,8 mM P2 und 0,09 mM PT) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Die Absorptionen der Mischungen folgen dem Lambert-Beer'schen Gesetz. Daher muss die Art und Weise der Assoziation der beiden Makromoleküle unabhängig von der Konzentration sein. Das Absorptionsspektrum der Mischung zeigt eine leichte Rotverschiebung der Akzeptorabsorption bezogen auf den reinen Akzeptor in Lösung. Diese leichte Rotverschiebung könnte das Resultat einer planarerer Konfiguration von **PT** sein, die die Konjugationslänge des aromatischen Systems verlängert^[214,215].

Da das Copolymer **P5** keine ionischen Gruppen enthält, ist es eher verwunderlich, dass unterhalb der Phasenübergangstemperatur Aggregate/Assoziate aus dem Copolymer **P5** und dem Polythiophen **PT** gebildet werden. Durch die Anwesenheit der Pufferionen in PBS würden elektrostatische Wechselwirkungen von vornherein minimiert. Daher sind hydrophobe Wechselwirkungen, die zu einer Stabilisierung der Aggregate/Assoziate führen, zwischen dem Copolymer **P5** und dem Polythiophen **PT** am wahrscheinlichsten. Möglicherweise treten diese Wechselwirkungen zwischen den hydrophoben Seitenketten von **PT** und der hydrophoben Polymerhauptkette von Copolymer **P5** auf. Untersuchungen an Komplexen aus konjugierten Polyelektrolyten mit nichtionischen Tensiden haben zumindest gezeigt, dass diese durch hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert werden können^[216-220]. Viele nicht-ionische, thermoresponsive Polymere des LCST-Typs bestehen aus hydrophoben und hydrophilen Strukturbereichen und sind somit strukturell polymere Analoga von nichtionischen Tensiden (siehe Kapitel 2.1).

Erwärmt man die Mischungen auf 50 °C, ändern sich die Emissionsspektren deutlich (siehe Abb. 40). Die Fluoreszenzintensität des Donors steigt, wohingegen sich die Fluoreszenzintensität des Akzeptors verringert.

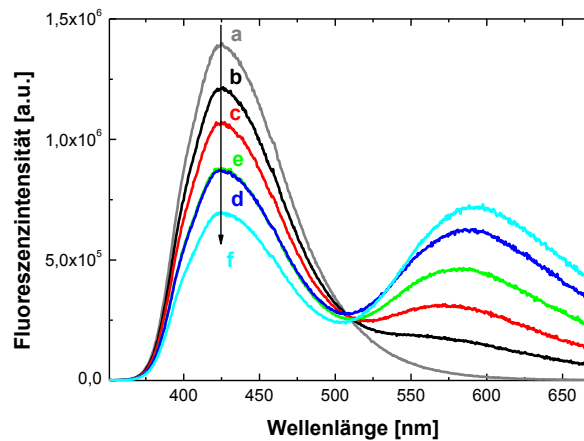


Abb. 40 Fluoreszenzspektren bei 50 °C (oberhalb der Phasenübergangstemperatur) der Mischung aus 0,60 mM P5 und verschiedenen Konzentrationen PT [a) 0,00 mM, b) 0,04 mM, c) 0,08 mM, d) 0,18 mM, e) 0,26 mM, f) 0,30 mM] (Die Anregungswellenlänge betrug 340 nm.) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Das Heizen auf 50 °C der Einzelkomponentenlösungen aus **P5** oder **PT** hat keinen merklichen Einfluss auf die Emissionsbandenform oder die Fluoreszenzintensität. D. h. die temperaturabhängige Änderung des Emissionsspektrums der Mischungen resultiert aus einer temperaturabhängigen Änderung der Wechselwirkung der beiden Makromoleküle miteinander. Die schwächeren Polymer-Polymer-Wechselwirkungen bei 50 °C äußern sich ebenfalls in einer geringeren Blauverschiebung der Akzeptoremission. Der hier beschriebene temperaturabhängige Effekt ist vollständig reversibel und ist mit dem bloßen Auge zu beobachten (siehe Abb. 41).

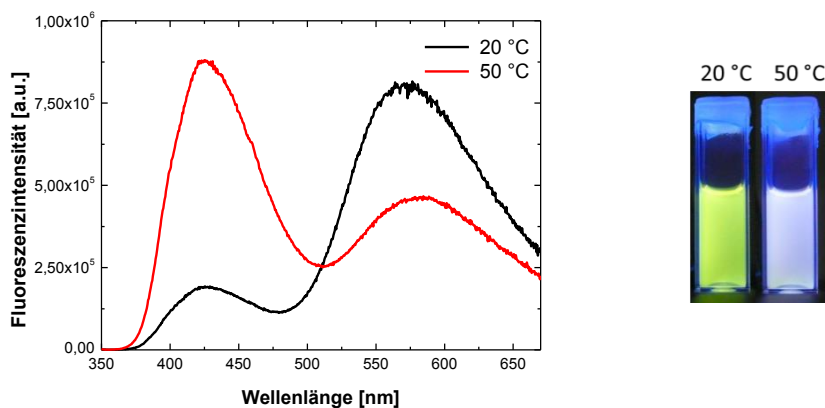


Abb. 41 Photographien der Mischungen des Copolymers **P5** mit dem **PT** bei 20 °C und 50 °C und Emissionsspektrum der Mischungen des Copolymers **P5** mit dem **PT** bei 20 °C und 50 °C (Anregungswellenlänge: 340 nm für die Emissionsspektren und 365 nm [UV-Lampe] für die Photographien) [Die experimentellen Daten und Photographien stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

3.3.3 Lichtstreuungsexperimente: Aggregations- und Assoziationsverhalten in PBS

Die folgende Tabelle 7 gibt die Werte für das Aggregations- und Assoziationsverhalten des Copolymers **P5**, des Polythiophens **PT** und deren Mischung in PBS wieder.

Das cumarinfunktionalisierte Copolymer **P5** zeigt das gleiche Assoziations- und Aggregationsverhalten wie das naphthalimidfunktionalisierte Copolymer **P3** (Kapitel 3.1.6, Tabelle 4). Unterhalb der Phasenübergangstemperatur liegen die Polymerketten gequollen vor, jedoch bilden sie globuläre Preaggregate ($R_g = 55$ nm) niedriger Dichte ($\rho = 2,3$ g cm⁻³). Für das Polythiophen **PT** werden sehr große Aggregate ($R_g = 115$ nm) beobachtet, die aus einer Vielzahl von Ketten ($N_{agg} = 3800$) bestehen. Dieses hier beobachtete Verhalten stimmt mit dem in der Literatur bekannten Verhalten dieses Polythiophens überein: Bei Raumtemperatur werden geladene, sphärische Polymerpartikel gebildet^[212,221]. Interessanterweise liegen die Werte der Mischung zwischen denen der Einzelkomponenten **P5** und **PT**. Die Korrelationsfunktion ist monomodal, was für die Anwesenheit von ausschließlich einer Art von Aggregaten spricht^[222]. Die beiden Makromoleküle aggregieren bei Raumtemperatur ohne auszufallen. Diese Aggregate werden durch hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den beiden Makromolekülen stabilisiert.

Oberhalb der Phasenübergangstemperatur bei 50 °C liegt das Copolymer **P5** in einem kollabierten Zustand vor. Dieser zeichnet sich vor allem durch eine höhere Polymerdichte

($\rho_{20^\circ\text{C}} = 2,3 \text{ g cm}^{-3}$, $\rho_{50^\circ\text{C}} = 46,4 \text{ g cm}^{-3}$), durch eine Zunahme des Radius der globulären Polymerpartikel ($R_{g,20^\circ\text{C}} = 55 \text{ nm}$, $R_{g,50^\circ\text{C}} = 140 \text{ nm}$) und durch eine deutlich höheren Anzahl der an diesen Strukturen beteiligten Polymerketten ($N_{\text{agg},20^\circ\text{C}} = 33$, $N_{\text{agg},50^\circ\text{C}} = 10950$) aus. Auf das Polythiophen **PT** hat die Temperaturerhöhung jedoch fast keinen Einfluss.

Tabelle 7: Charakterisierung des Copolymers **P5**, des Polythiophens **PT** und deren Mischung in PBS mittels statischer Lichtstreuung (R_g : Trägheitsradius oder Streumassenradius, $M_{w,\text{app}}$: Scheinbare, gewichtsmittlere molare Masse, ρ : Polymerkettendichte, N_{agg} : Anzahl der Aggregate) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit L. Chiappisi.]

Polymer	T [°C]	R_g [nm]	$M_{w,\text{app}}$ [10^6 g mol^{-1}]	ρ [$10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$] ^{a)}	N_{agg}
P5	20	55	2,1	2,3	33
PT	20	115	30,7	3,7	3800
Mischung	20	90	9,9	2,5	
P5	50	140	690,0	46,4	10950
PT	50	125	33,1	3,1	4100
Mischung	50	135	481,0	36	

Während die **PT**-Moleküle unterhalb der Phasenübergangstemperatur durch die globulären Strukturen des **P5s** diffundieren können, ist dies oberhalb der Phasenübergangstemperatur nicht mehr möglich. Der Kollaps des Copolymers **P5** führt zu einer Abnahme der Wechselwirkungsmöglichkeiten des **PTs** mit dem Copolymer **P5**.

3.3.4 Zusammenfassende Ergebnisdiskussion von Fluoreszenzspektroskopie und Lichtstreuung

Abbildung 42 gibt eine modellhafte Vorstellung des Aggregations- und Assoziationsmechanismus der beiden Makromoleküle (**P2** und **PT**) und die jeweiligen Emissionseigenschaften wieder.

Unterhalb der Phasenübergangstemperatur liegt das cumarinfunktionalisierte OEGMA-Copolymer **P5** (Donor) gequollen vor, bildet jedoch Preaggregate. Diese Preaggregate sind weitmaschige Partikel, die aus wenigen Polymerketten bestehen und viele Hohlräume besitzen, die mit Wasser gefüllt sind und durch bzw. in die das Polythiophen **PT** (Akzeptor) einfach hineindiffundieren kann. Diese aus dem Copolymer **P5** und dem Polythiophen **PT** bestehenden Aggregate werden durch hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den beiden Makromolekülen stabilisiert. Durch den geringen mittleren Abstand der beiden Makromoleküle kommt es bei Anregung des Donors zum Energietransfer auf den Akzeptor, so dass

die Akzeptoremission detektiert wird. Oberhalb der Phasenübergangstemperatur kollabieren die Polymerketten des Copolymers **P5** und es kommt zur Separation der beiden Makromoleküle, da scheinbar die **P5-P5**-Wechselwirkungen deutlich günstiger sind als **P5-PT**-Wechselwirkungen. Durch den größeren mittleren Abstand des Cumarins **7** zum Polythiophen **PT** kommt es bei Anregung des Donors zu keinem Energietransfer und die Donoremission wird detektiert.

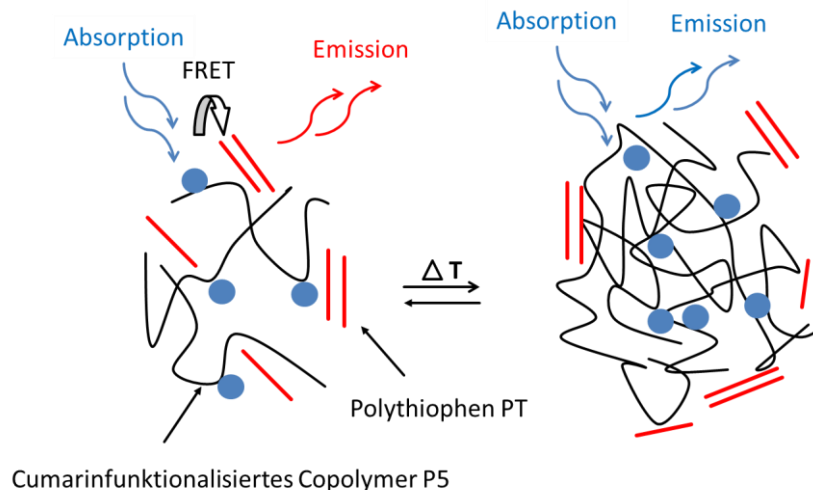


Abbildung 42 Idealisierter, temperaturabhängiger Aggregations- und Assoziationsmechanismus für das cumarinfunktionalisierte OEGMA-Copolymer **P5** und das Polythiophen **PT** in wässriger Lösung

3.4 Steigerung der FRET-Effizienz in einem doppeltmarkierten LCST-Polymersystems: am Beispiel von polyNIPAm

Wie in den beiden vorherigen Kapiteln beschrieben, hängen die optischen Eigenschaften fluoreszenzmarkierter LCST-Copolymere stark von der Struktur der Polymermatrix und damit u.a. von der Flexibilität der Haupt- bzw. Seitenketten und dem Assoziations-, Aggregations- und Dehydratisierungsverhalten der Polymere ab. Kapitel 3.3 hat gezeigt, wie sich mithilfe des Assoziationsverhaltens von zwei Makromolekülen, einem Donor- und einem Akzeptorpolymer, der Phasenübergang via Energietransfer vom Donor auf den Akzeptor in ein optisches Signal umwandeln lässt. Die Ergebnisse aus den Kapiteln 3.1, 3.2 und 3.3 wurden genutzt, um ein doppeltmarkiertes Copolymersystem zu entwickeln, das einen temperaturinduzierten Phasenübergang in ein signifikantes optisches Signal via Energietransfer umwandelt.

Statistisch doppeltmarkierte Copolymere des LCST-Typs reagieren auf Temperaturänderung mit der Änderung des Abstandes (dem Försterradius) von Donor und Akzeptor durch Polymerkollaps. Über die Temperatur lässt sich die Energietransferrate, die FRET-Effizienz, steuern. Im Idealfall wird im gequollen Zustand nur die Donoremission und im kollabierten Zustand nur die Akzeptoremission detektiert. Häufig minimieren intra- und intermolekulare Nähe zwischen Donor und Akzeptor in freiradikalisch polymerisierten Polymeren die Änderung der FRET-Effizienz. Die intramolekulare Nähe lässt sich durch hohe Polymerisationsgrade (Anzahl der Monomereinheiten) minimieren, da hierbei der mittlere Abstand zwischen Donor und Akzeptor größer wird. Intermolekulare Nähe resultiert aus dem Aggregationsverhalten von Polymeren in Lösung. Dies ist eine für die entsprechenden Polymere spezifische Eigenschaft.

3.4.1 Wahl des FRET-Fluorophorenpaares

Interessanterweise bilden die in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Farbstoffe (Naphthalimid **3** und Cumarin **7**) ein ideales FRET-Paar (siehe Abb. 44). Die Synthese und die optischen Eigenschaften des Naphthalimidderivats **3** und des Cumarinderivats **7** wurden in den Kapiteln 3.1 und 3.2 beschrieben.

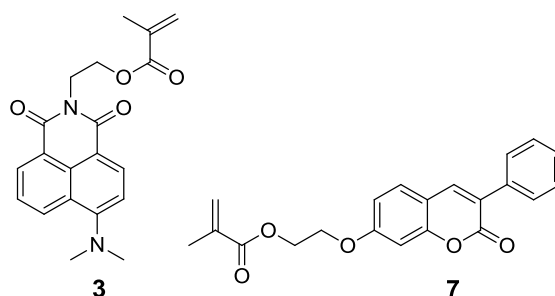


Abbildung 43 Chemische Struktur des Naphthalimids **3** und des Cumarins **7**

Die Absorption des Cumarins liegt bei 341 nm und dessen Emission bei 421 nm, wohingegen das Naphthalimid bei 418 nm absorbiert und bei 506 nm emittiert. Die Chromophore sind durch eine große spektrale Überlappung der Cumarinmission und der Naphthalimidabsorption charakterisiert. Dies macht die beiden Farbstoffe zu einem aussichtsreichen FRET-Paar, wobei das Cumarin der Donor und das Naphthalimid der Akzeptor ist (siehe Abb. 44).

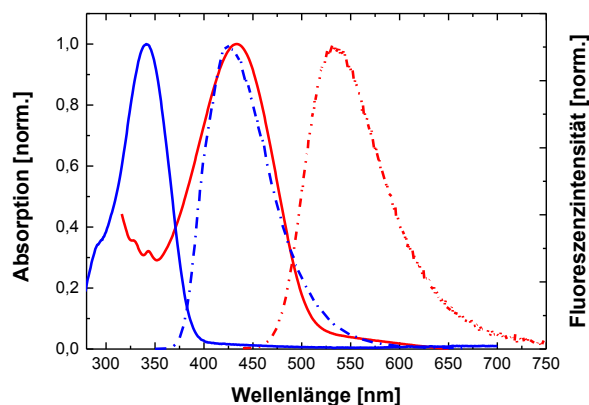


Abb. 44 Spektrale Eigenschaften Absorption (durchgezogene Linie) und Emission (gestrichelte Linie) des Cumarins 7 (blau) und des Naphthalimids 3 (rot) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

3.4.2 Synthese und Charakterisierung des doppeltmarkierten Copolymersystems (P6)

Durch klassische FRP wurde das Copolymersystem **P6** synthetisiert. Es wurden *N*-Isopropylacrylamid, Cumarinmonomer **7** und Naphthalimidmonomer **3** in DMF gelöst, Initiator (AiBN) hinzugegeben, die Lösung von Sauerstoff befreit und die Polymerisation durch Temperaturerhöhung auf 65 °C gestartet. Nach beendeter Reaktion wurde das erhaltene NIPAm-Copolymer **P6** mehrfach in Aceton gelöst und in Diethylether gefällt und im Anschluss im Hochvakuum getrocknet. Abbildung 44 gibt den Reaktionsweg wieder.

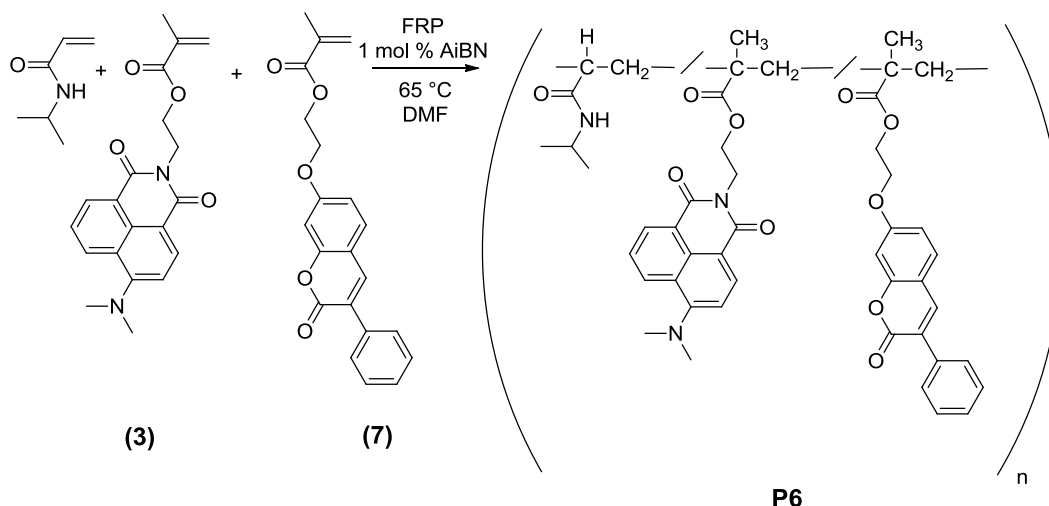


Abbildung 44 Reaktionsschema zum Aufbau des LCST-Copolymersystems P6

Die Struktur wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie qualitativ bestätigt, jedoch ließ sich der Chromophorgehalt aufgrund der niedrigen Chromophorkonzentration mit dieser Methode nicht quantitativ bestimmen. Daher wurde er, analog zu der in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Weise, durch UV-vis Spektroskopie bestimmt*.

Für das Copolymer **P6** wurde eine Molmasse ($M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$) von $24.000 \text{ g mol}^{-1}$ in DMF mittels GPC (Polystyrolstandard) bestimmt. Mithilfe der Molmasse des Copolymers **P6** wurden eine mittlere Kettenlänge ($\overline{DP}_n^{\text{app}}$) von 212 Wiederholungseinheiten und der mittlere Chromophorgehalt pro Kette (AC) mit 0,1 für beide Farbstoffe (**3** und **7**) bestimmt (Berechnungen siehe experimentellen Teil). Ca. jede zehnte Kette trägt somit ein Chromophor und ca. jede hundertste Kette beide Chromophore. Jedoch wird durch die niedrige Farbstoffkonzentration die Eigenfluoreszenzlöschung durch die Nähe von Farbstoffen minimiert. Weiterhin wird ein System erhalten, das nur eine Phasenübergangstemperatur besitzt, im Gegensatz zu Systemen, die aus Mischungen von mehreren farbstoffmarkierten Polymeren bestehen. Eine Zusammenfassung der strukturellen Charakterisierung und der thermoresponsiven Eigenschaften gibt Tabelle 8 wieder.

Tabelle 8: Analytische Daten des doppeltmarkierten Copolymerensystems **P6** ($M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$: scheinbare, zahlenmittlere molare Masse; bestimmt über GPC in DMF, kalibriert mit Polystyrolstandards, PDI: Polydispersitätsindex, $\overline{DP}_n^{\text{app}}$: Scheinbare Anzahl an Monomerwiederholungseinheiten pro Kette, berechnet aus der $^1\text{H-NMR}$ Polymerzusammensetzung, AC: Durchschnittliche Anzahl an Chromophoren pro Kette, berechnet aus dem molaren UV-vis-Wert, TP: onset-Trübungspunkt bei gegebener Konzentration, TP (50 %): Trübungspunkt bei 50 % Trübungsreduktion bei gegebener Konzentration)

Polymer	$M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$ [Kg mol ⁻¹]	PDI	$\overline{DP}_n^{\text{app}}$	Farbstoffgehalt (3)		Farbstoffgehalt (7)		AC für jeweils 3 und 7	TP ^{a)} [° C]	TP ^{a)} (50 %) [° C]
				[mol %]		[mol %]				
				UV-vis	NMR	UV-vis	NMR			
P6	24	2,2	212	0,06	-	0,07	-	0,1	28,3	29,1

a) Trübungspunkt (TP) bei einer Konzentration von $2,0 \text{ g L}^{-1}$ in PBS

*Berechnet via Lambert-Beer'sches Gesetz aus der Absorption des Copolymers in Chloroform (Cumarinderivat

4: $\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}} = 341 \text{ nm}$, $\epsilon = 20000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, Naphthalimidderivat **9**: $\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}} = 418 \text{ nm}$, $\epsilon = 13000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

3.4.3 Photophysikalische Charakterisierung des Copolymersystems P6

Abbildung 45 gibt das temperaturabhängige Emissionsspektrum des Copolymersystems **P6** in PBS wieder. Oberhalb der Phasenübergangstemperatur, 20 bis 25 °C, wird nur die Donoremission bei 429 nm detektiert. Erwärmt man die Polymerlösung auf 30 °C, so wird die Donoremission partiell durch Energietransfer gelöscht und die Akzeptoremission bei 520 nm detektiert. Es wird eine leichte Rotverschiebung der Donoremission auf 431 nm beobachtet. Weiteres Heizen auf 35 °C führt zu einem weiteren Löschen der Donoremission und zu einer Intensitätserhöhung der Akzeptoremission. Unerwarteterweise wird eine Blauverschiebung des Emissionsmaximums des Donors auf 427 nm beobachtet, das Emissionsmaximum des Akzeptors bleibt jedoch konstant. Bemerkenswerterweise ist die Lage des Emissionsmaximums des Cumarinderivats **7** im doppeltmarkierten Copolymersystem **P6** temperaturabhängig. Dieses Verhalten wird weder bei dem Cumarinderivat **7** noch bei dem temperaturabhängigen Emissionsverhalten des einfachcumarinfunktionalisierten Copolymers **P4** beobachtet. Eine Erklärung für dieses Verhalten gibt es derzeit nicht. Temperaturen über 35 °C führen zu keiner Änderung des optischen Emissionsspektrums, weder zu Intensitätsänderungen noch zu Verschiebungen der Emissionsmaxima von Donor und Akzeptor.

Oberhalb der Phasenübergangstemperatur kommt es nur zu einer partiellen Löschung der Donoremission. Ein Grund hierfür könnte die geringe Chromophorenkonzentration (ca. 0,1 Chromophore pro Kette) sein. Nur ca. jede zehnte Kette trägt ein Chromophor und nur jede hundertste Kette beide Chromophore, d.h. die durch Temperaturstimulus gebildeten Polymerpartikel bestehen hauptsächlich aus unmarkierten Polymerketten. FRET dürfte demnach eher intermolekular auftreten als intramolekular. So ist es nicht verwunderlich, dass nicht alle Donormoleküle Energie aufgrund des hohen Abstands auf einen Akzeptor übertragen können und somit partiell emittieren.

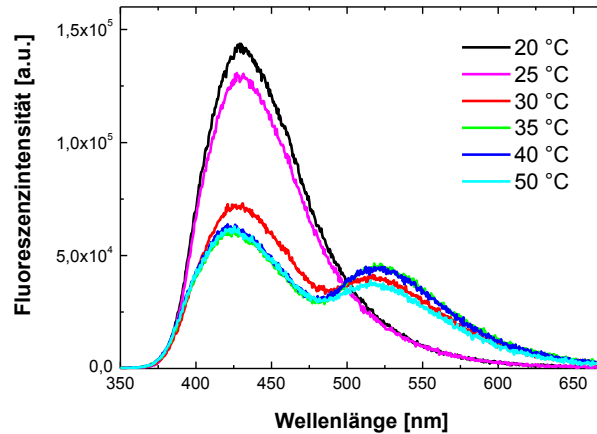


Abb. 45 Temperaturabhängiges Fluoreszenzspektrum von P6 in PBS ($0,5 \text{ g L}^{-1}$): Anregungswellenlänge 340 nm [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Oberhalb von 30 °C finden eine Löschung der Fluoreszenz und eine Verschiebung zu kürzeren Fluoreszenzlebenszeiten statt (siehe Abb. 45). Vergleicht man die Fluoreszenzabklingkurven des einfachcumarinfunktionalisierten Copolymers **P4** und des Copolymers **P6**, so fällt die drastische kürzere Fluoreszenzlebenszeit des Copolymers **P6** auf. Diese wird durch das Löschen der Donoremission durch Energieübertrag hervorgerufen und ist typisch für FRET.

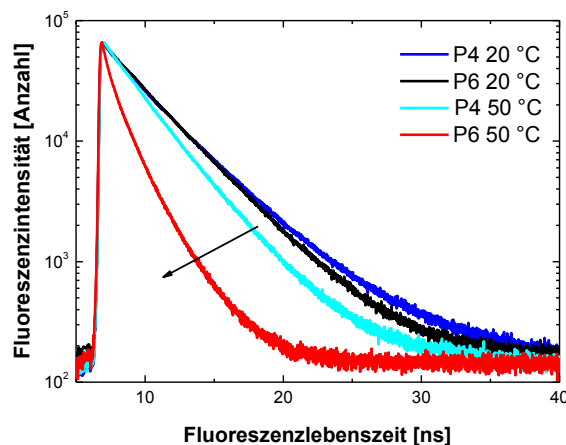
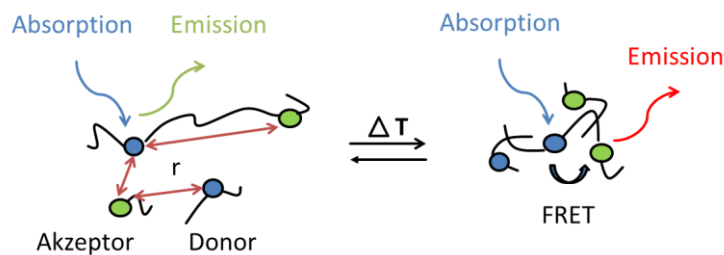


Abb. 45 Zeitaufgelöste Fluoreszenzabklingzeiten von P4 und P6 in PBS bei 20 °C und 50 °C : Anregungswellenlänge 340 nm. Die Emission wurde bei 430 nm detektiert. [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

3.4.4 Idealisierter, temperaturabhängiger Emissionsmechanismus des Copolymers P6

Unterhalb der Phasenübergangstemperatur emittiert bei Donoranregung (Cumarin 7) ausschließlich der Donor. Grund hierfür ist, dass der Akzeptor (Naphthalimid 3) im gequollenen Zustand des thermoresponsiven Polymers nicht emittiert (siehe Kapitel 3.1), die Donoremission wird detektiert. Es ist jedoch möglich, dass ein Teil der Energie via Energietransfer auf den Akzeptor übertragen wird, wenn der mittlere Abstand der Chromophore zueinander zu gering ist. Selbst wenn dieses passieren sollte, wird die übertragene Energie strahlungslos abgegeben. Das Resultat wäre eine verringerte Donorintensität.

Oberhalb der Phasenübergangstemperatur emittiert der Akzeptor, da sich die lokale Umgebung um den Chromophor ändert (siehe Kapitel 3.1). Gleichzeitig werden durch den temperaturinduzierten Polymerkollaps die mittleren Chromophorabstände von Donor und Akzeptor geringer, so dass ein Energietransfer vom Donor auf den Akzeptor möglich wird. Es wird bei Anregung des Donors Energie auf den Akzeptor transferiert, der diese strahlend in Form von Licht emittiert. Die Akzeptoremission wird detektiert.



Der Abstand (r) der beiden Chromophore spielt keine Rolle

Abbildung 46 Idealisierter, temperaturabhängiger Emissionsmechanismus des doppelmarkierten Copolymersystems P6

3.5 Dualresponsive Polymere mit LCST-Verhalten*

Im folgenden Kapitel werden thermoresponsive Polymere vorgestellt, die mit einem Cumarin-farbstoff funktionalisiert wurden. Hier dient das Cumarin als interne Sonde für den thermisch induzierten Phasenübergang eines thermoresponsiven Polymers sowie als Antigen. Das Antigen ist der Bindungspartner für einen für das Antigen spezifischen Antikörper. So lassen sich elegant die Emissionseigenschaften des Systems durch Temperaturstimulus und/oder Antikörperbindung modulieren, bzw. die Emissionseigenschaften ändern sich u.a. auch isotherm je nach Löslichkeitsgrad der thermoresponsiven Polymere in Abwesenheit oder Anwesenheit des spezifischen Antikörpers.

3.5.1 Synthese und optische Charakterisierung des Cumarinmonomers **9**

Wie im Kapitel 2.2.1 beschrieben, existieren verschiedene Wege, Cumarine aufzubauen. Aufgrund der besseren Zugänglichkeit der Edukte wurde die Perkin-Reaktion (Siehe Kapitel 2.2.1) zum Aufbau des Cumarins **9** eingesetzt.

Abbildung 47 gibt den Reaktionsweg wieder: Durch Kondensation von 7-Diethylamino-salicylaldehyd mit Diethylmalonat wurde im ersten Schritt das noch als ethylestergeschützte 3-Carboxy-7-diethylamino-cumarin synthetisiert. Als Katalysator für die Kondensation wurde Piperidin eingesetzt. In einem zweiten Schritt wurde der Ethylester unter basischen Bedingungen abgespalten, die erhaltene Lösung angesäuert und das Carboxycumarin **8** in akzeptabler Ausbeute (55 %) erhalten. Ausgehend von dem Carboxycumarin **8** wurden verschiedene Versuche unternommen, dieses schrittweise in die Zielverbindung **9** zu überführen: Die Reaktion des Cumarins **8** mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in Dichlormethan (einstündiges Rühren bei RT) und anschließender Zugabe von Ethanolamin führte zu keiner Reaktion. Selbst nach mehrstündigem Rühren ließ sich keine Reaktion zwischen dem Cumarin **8** und dem Ethanolamin durch Dünnschichtchromatographie nachweisen. Weder die Zugabe von Dimethylaminopyridin (DMAP) zur Reaktionsmischung führte zum Erfolg noch das Erwärmen der Reaktionslösung auf 40 °C (Siedehitze). Grund hierfür könnte die relativ unreaktive Carbonsäuregruppe des Cumarins **8** sein. Möglicherweise

* Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht: S. Inal, Jonas D. Kölsch et al. "A water soluble fluorescent polymer as a dual colour sensor for temperature and a specific protein", J. Mater. Chem. B, 2013, 1, 6373-6381 (doi: 10.1039/C3TB21245A)

ist sie so unreaktiv, weil sie mesomeriestabilisiert ist. Versuche, die Carboxygruppe in das entsprechende Säurechlorid mit Thionylchlorid in Toluol zu überführen, blieben ebenfalls erfolglos. Der Test auf das Säurechlorid des Cumarins **5** erfolgte, in dem eine Probe der Reaktionslösung vorsichtig mit Methanol versetzt wurde. Im Falle des Vorhandenseins des Säurechlorids in der Reaktionslösung würde sich der entsprechende Methylester bilden. Alle Versuche in Toluol, selbst unter erhöhter Temperatur, blieben durchweg erfolglos. Wenn die Reaktionszeiten auf 24-48 Stunden erhöht wurden, waren Spuren des Säurechlorids per Dünnschichtchromatographie nachweisbar. Versuche, das Cumarin **8** in reinem Thionylchlorid umzusetzen, führten schließlich zum gewünschten Produkt (dem Säurechlorid), das aus der Lösung als beiger, nadelartiger Niederschlag ausfiel. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und getrocknet. Das Säurechlorid war sehr reaktiv und reagierte an Luft (mit der Luftfeuchtigkeit) selbst nach kurzer Zeit wieder zum Cumarin **8**. Diese Zersetzung konnte mit dem bloßen Auge verfolgt werden, da das Edukt **8** ein oranger Feststoff und das Produkt (Säurechlorid) beige waren. Das so gewonnene Säurechlorid wurde in DCM mit Ethanolamin umgesetzt, es bildete sich das gewünschte Amid (gelber Feststoff, siehe Abb. 48), das aus der Reaktionslösung ausfiel. Alle Versuche, dieses Amid zu verestern, schlugen fehl, da das Amid in allen getesteten, organischen Lösungsmitteln (DMF, DCM, Chloroform, Toluol) in den erforderlichen Konzentrationen praktisch unlöslich war.

Eine elegante Möglichkeit stelle die Erzeugung des Säurechlorids in situ in Pyridin mit Thionylchlorid dar, wobei sich ein dunkel gefärbter Pyridinium-Carboxykomplex (siehe Abb. 48) bildet. Diese Reaktion kann visuell verfolgt werden. Sobald sich die Lösung von klar und durchsichtig über grün nach rot und anschließend tiefschwarz verfärbt (~15 min bei RT), kann 2-Aminoethylmethacrylat Hydrochlorid hinzugegeben werden. Das gewünschte Produkt **9** bildete sich in sehr guter Ausbeute (86 %).

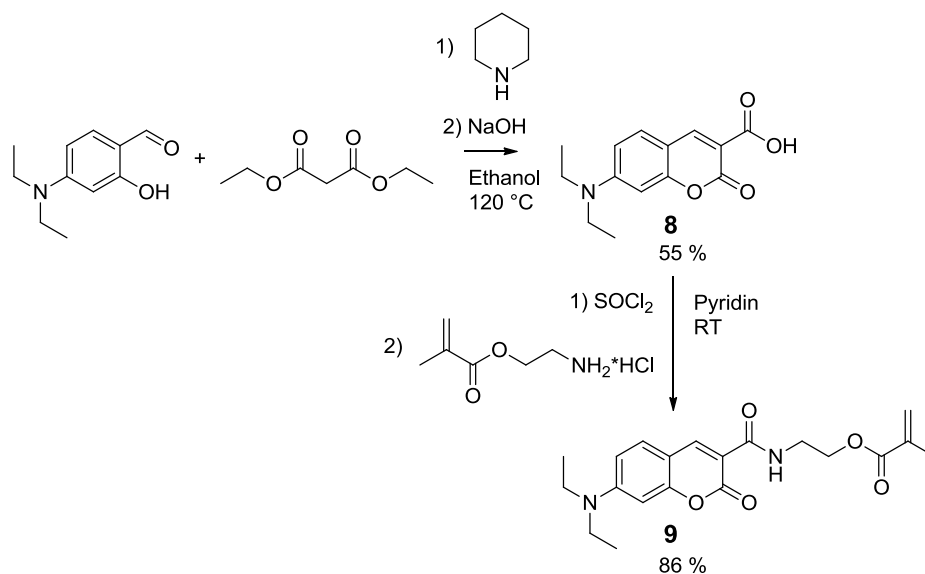


Abbildung 47 Reaktionsschema zum Aufbau des polymerisierbaren 3-Carboxycumarinderivats **9**

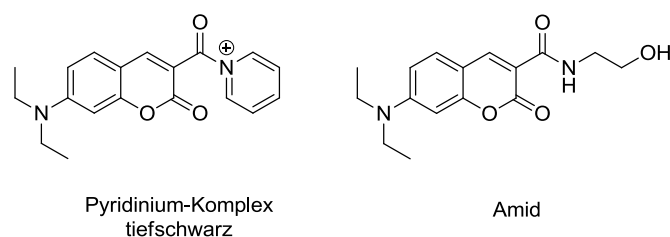


Abbildung 48 Chemische Strukturformeln des Pyridinium-Komplexes und des durch schrittweise Umsetzung des Cumarins **8** mit Ethanolamin gewonnen Amids

Wie für viele organische Farbstoffe (z.B. das Naphthalimid **3**, siehe Kapitel 4.1) wird auch für das Cumarin **9** eine breite und intensive Bande im Nah-UV-vis-Absorptions- sowie im Emissionsspektrum gefunden. Aufgrund des solvatochromen Charakters des Cumarins **9** liegen die Absorptionsbanden je nach Lösungsmittel zwischen 413 und 423 nm und die Emissionsbanden zwischen 455 und 473 nm. Die Solvatochromie ist beim Cumarin **9** nicht so stark ausgeprägt wie bei dem Naphthalimid **3** (siehe Kapitel 4.1).

Die Absorptions- und die Emissionsmaxima sowie die Fluoreszenzquantenausbeuten und die Fluoreszenzlebenszeiten gibt Tabelle 9 wieder. Hierbei fällt auf, dass im Gegensatz zum solvatochromen Naphthalimid **3** (siehe Kapitel 3.1.1) bei dem Cumarin **9** die Absorptions- und Emissionsmaxima nicht generell mit steigender Polarität der Lösungsmittel rotverschoben werden. Vergleicht man Chloroform ($\delta_t = 19,0$) mit dem polareren Acetonitril ($\delta_t = 24,6$), so liegt das Absorptionsmaximum in Chloroform bei 420 nm und in Acetonitril bei 415 nm. Es

wird eine Blauverschiebung des Absorptionsmaximums beobachtet, zu erwarten wäre bei solvatochromen Farbstoffen eine Rotverschiebung gewesen. Die Emissionsmaxima in den entsprechenden Lösungsmitteln (Chloroform: 449 nm, Acetonitril: 463 nm) weisen den zu erwartenden Trend einer Rotverschiebung der Emissionsmaxima mit zunehmender Polarität der Lösungsmittel auf.

Betrachtet man die Fluoreszenzquantenausbeuten in unterschiedlichen Lösungsmitteln, so folgen sie nicht dem zu erwartenden Trend solvatochromer Farbstoffe. Normalerweise sollten die Fluoreszenzquantenausbeuten in unpolaren Lösungsmitteln deutlich höher sein als in polaren. Vergleicht man jedoch die Fluoreszenzquantenausbeuten des polaren Triethylenglykols ($\delta_t = 27,5$, $\Phi = 27$ %) mit der von Ethanol ($\delta_t = 26,6$, $\Phi = 6,6$ %), so fällt auf, dass die Fluoreszenzquantenausbeute in dem polaren Lösungsmittel deutlich höher ist.

Tabelle 9: Photophysikalische Charakterisierung des Cumarins **9** in verschiedenen Lösungsmitteln (δ_t : Hansen Löslichkeitsparameter von Lösungsmitteln bei 25 °C, δ_d , δ_p , and δ_h : dispersiver, polarer und wasserstoffbrückenbindungs-Term von δ_t , $\lambda_{\max}^{\text{abs}}$: Absorptionsmaximum, $\lambda_{\max}^{\text{PL}}$: Emissionsmaximum, Φ : Fluoreszenzquantenausbeute, τ : Fluoreszenzlebenszeit) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal].

Lösungsmittel	δ_t ^{a)}	δ_d	δ_p	δ_h	$\lambda_{\max}^{\text{abs}}$ [nm]	$\lambda_{\max}^{\text{PL}}$ [nm]	Φ [%]	τ [ns]
Diethylenglykoldimethylether	18,0 ^{b)}	15,7 ^{b)}	6,1 ^{b)}	6,5 ^{b)}	413	455	75	2,4
Toluol	18,2	18,0	1,4	2,0	413	436	71	2,5
Chloroform	19,0	17,8	3,1	5,7	420	449	76	2,8
Cyclohexanon	19,6	17,8	6,3	5,1	417	458	62	1,8
Aceton	20,1	15,5	10,4	7,0	414	460	18	0,6
Acetonitril	24,6	15,3	18,0	6,1	415	463	8,1	0,3
Dimethylformamid	25,0	14,3	11,9	16,6	419	466	8,8	0,3
Dimethylsulfoxid	26,6	18,4	16,4	10,2	422	471	9,4	0,3
Ethanol	26,6	15,8	8,8	19,4	419	465	6,6	0,3
Triethylenglykol	27,5 ^{b)}	16,0	12,5	18,6	424	470	27	1,0
N-Methylformamid	30,1 ^{b)}	17,4 ^{b)}	18,8 ^{b)}	15,9 ^{b)}	420	468	9,0	0,4
Wasser	47,9	15,5	16,0	42,4	423	473	4,5	1,0

a) Einheiten in [mPa^{0,5}] entnommen: J. E. Mark, ed., Physical Properties of Polymers Handbook, American Institute of Physics, Woodbury, N.Y., 1996

b) Entnommen: C. M. Hansen, Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook, Second Edition, CRC Press, Boca Raton, FL, 2007

Die Aminogruppe bei einigen 7-Aminocumarinen unterliegt einer internen Rotation nach Photoanregung. Durch diesen Prozess kommt es zu einem photoangeregten Zustand, der verdrillt ist, was als TICT (engl.: twisted internal charge transfer)-Zustand bezeichnet wird^[223] und von der Donor- und Akzeptorstärke^[224] abhängig ist. Die experimentellen Befunde der beobachteten lösungsmittelabhängigen Änderungen der Fluoreszenzeigenschaften deuten auf einen TICT-Zustand des 7-Aminocumarins **9** hin.

3.5.2 Synthese und Charakterisierung der cumarinfunktionalisierten LCST-Copolymere P7 und P8

Die Synthese der Copolymere **P7** und **P8** erfolgte durch klassische freiradikalische Copolymerisation. Es wurden der Initiator AIBN, das Cumarinmonomer **6** und das hydrophile Monomer *N*-Isopropylacrylamid (für **P7**) in Ethanol bzw. der Initiator AIBN, das Cumarinmonomer **9** und die hydrophilen Monomere MEO₂MA, und OEGMA₄₇₅ (für **P8**) in DMF gelöst, die Reaktionslösungen von Sauerstoff befreit und die Reaktionen durch Temperaturerhöhung auf 65 °C gestartet. Abbildung 49 illustriert den oben beschriebenen Reaktionsweg.

Das Copolymer **P7** wurde mehrfach in Aceton gelöst, anschließend in Diethylether gefällt und schließlich im Hochvakuum getrocknet, wohingegen das Copolymer **P8** eine Woche gegen deionisiertes Wasser dialysiert wurde. Im Anschluss wurde das Copolymer **P8** durch Gefriertrocknung weitestgehend von Wasser befreit.

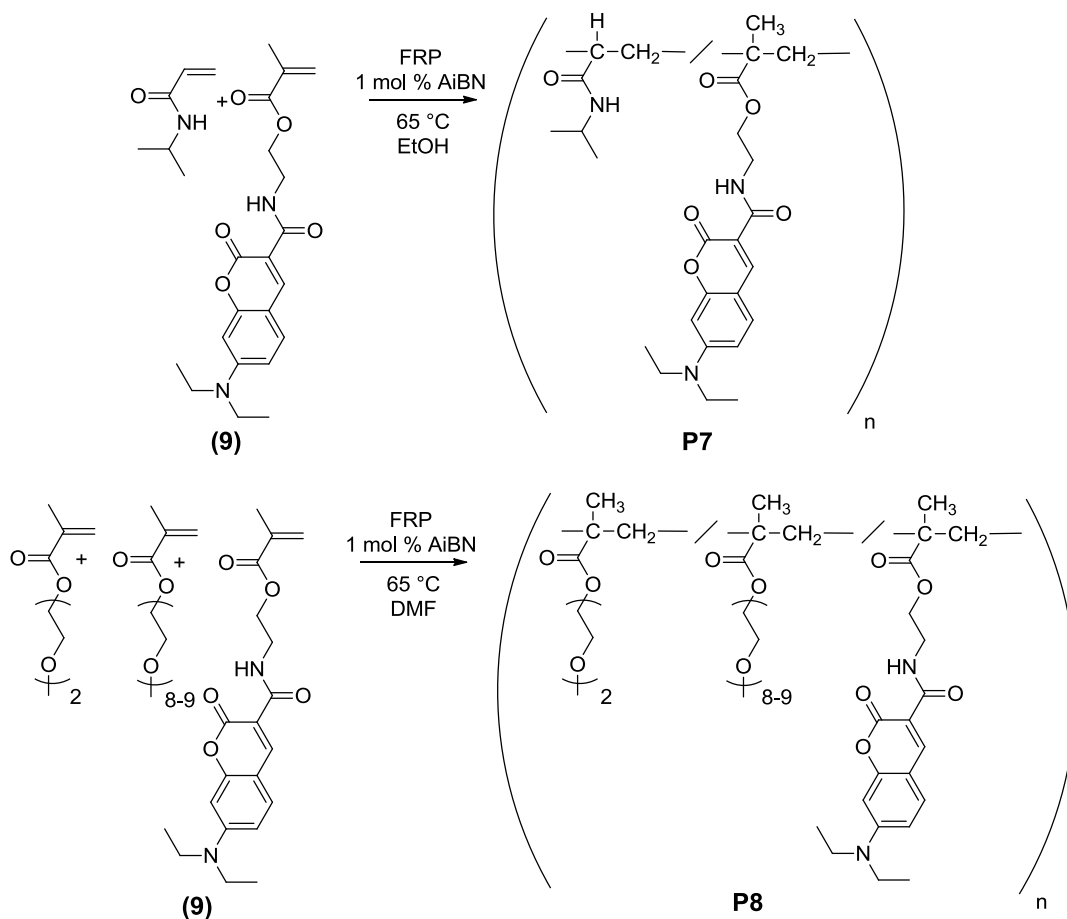


Abbildung 49 Reaktionsschema zum Aufbau der cumarin-funktionalisierten Copolymere **P7** und **P8**

Die chemische Zusammensetzung der Copolymere **P7** und **P8** wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht. Es wurden die zu erwartenden Signale für polyNIPAAm (siehe Kapitel 3.1.2) im Copolymer **P7** und Signale im Aromatenbereich (~7-9 ppm), die dem Cumarin **9** entsprechen, gefunden (¹H-NMR-Spektren siehe Anhang). Für das Copolymer **P8** wurden die typischen Signale für die OEG-basierten Copolymere (siehe Kapitel 3.1.2) und die zu erwartenden Signale des Cumarins **9** im Aromatenbereich gefunden. Das Copolymer **P8** weist ein Verhältnis von MEO₂MA zu OEGMA₄₇₅ von 80:20 auf. Der Chromophorgehalt der Copolymere **P7** und **P8** in mol % wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie (**P7**: 0,9 und **P8**: 0,7) und UV-vis-Spektroskopie* (**P7**: 1,1 und **P8**: 0,9) bestimmt. Die Werte von NMR- und UV-vis Spektroskopie stimmen gut überein.

* Berechnet via Lambert-Beer'sches Gesetz aus der Absorption der Copolymere in Chloroform ($\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}} = 420 \text{ nm}$, $\epsilon = 35000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

Die Molmassen ($M_{n,GPC}^{app}$) der Copolymere **P7** (23.000 g mol⁻¹) und **P8** (44.000 g mol⁻¹) wurden in DMF mittels GPC (kalibriert mit Polystyrolstandards) bestimmt. Auf Basis der Molmasse des entsprechenden Copolymers wurden die mittleren Kettenlängen (\overline{DP}_n^{app}) (**P7**: 196 und **P8**: 177) und der mittlere Chromophorgehalt pro Kette (AC) (**P7**: 2,2 und **P8**: 1,7) berechnet (Berechnungen siehe experimentellen Teil). Da die Copolymere **P7** und **P8** mehr als einen Chromophor pro Kette tragen, können die optischen Eigenschaften dieser Copolymere anders sein als die von Polymeren mit isolierten Chromophoren in den Polymerketten.

Weiterhin führt der Einbau von hydrophoben Chromophoren zu niedrigeren Phasenübergangstemperaturen als die der entsprechenden Homopolymere ohne Farbstoff (NIPAm-Copolymer **P7**: 20,3 °C, polyNIPAm ~ 30 °C).

Die strukturelle Charakterisierung und die thermoresponsiven Eigenschaften der Copolymere **P3** und **P4** fasst die Tabelle 10 zusammen.

Tabelle 10: Analytische Daten der cumarinfunktionalisierten Copolymere **P7** und **P8** ($M_{n,GPC}^{app}$: scheinbare, zahlenmittlere molare Masse; bestimmt über GPC in DMF, kalibriert mit Polystyrolstandards, PDI: Polydispersitätsindex, \overline{DP}_n^{app} : Scheinbare Anzahl an Monomerwiederholungseinheiten pro Kette, berechnet aus der ¹H-NMR Polymerzusammensetzung, AC: Durchschnittliche Anzahl an Chromophoren pro Kette, berechnet aus dem molaren UV-vis-Wert, TP: onset-Trübungspunkt bei gegebener Konzentration, TP (50 %): Trübungspunkt bei 50 % Trübungsreduktion bei gegebener Konzentration)

Polymer	$M_{n,GPC}^{app}$ [Kg mol ⁻¹]	PDI	\overline{DP}_n^{app}	Farbstoffgehalt (9) [mol %]		AC	TP ^{a)} [° C]	TP ^{a)} (50 %) [° C]
				UV-vis	NMR			
P7	23	2,7	196	1,1	0,9	2,2	20,3	23,4
P8	44	3	177	0,9	0,7	1,7	40,8	43,9

a) Trübungspunkt (TP) bei einer Konzentration von 2,0 g L⁻¹ in PBS

3.5.3 Temperaturabhängige Fluoreszenzcharakteristika der Copolymere P7 und P8 unterhalb und oberhalb der Phasenübergangstemperatur

Für die temperaturabhängigen Messungen wurden jeweils Temperaturen gewählt, die oberhalb bzw. unterhalb der entsprechenden Phasenübergangstemperaturen der Copolymere lagen. Es wurde bei den niedrigen Konzentrationen ($\sim 0,1 \text{ g L}^{-1}$) keine makroskopische Phasenseparation beobachtet.

3.5.3.1 NIPAm-basiertes Copolymer P7

Betrachtet man das temperaturabhängige Fluoreszenzspektrum (Abb. 50), fällt auf, dass sich die Form des Spektrums mit der Temperatur deutlich ändert. Bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ existieren zwei Emissionsbanden und zwar mit Maxima bei $\sim 475 \text{ nm}$ und $\sim 585 \text{ nm}$. Vergleicht man die Emissionsspektren einer Lösung des Cumarins **9** mit denen der Niedrigtemperatur-Emissionsspektren des Copolymers **P7**, sieht man einen deutlichen Unterschied. Während Cumarin **9** lediglich eine Emissionsbande bei $\sim 475 \text{ nm}$ besitzt, zeigt das Copolymer **P7** zwei Banden (475 nm und 585 nm). Die Bande bei $\sim 475 \text{ nm}$ lässt sich dem Monomer zuordnen, wohingegen sich die Bande bei $\sim 585 \text{ nm}$ einem Grundzustandsaggregat zuordnen lässt. Diese zweite Bande verschwindet nicht nur bei Temperaturen deutlich über der Phasenübergangstemperatur, sondern auch bei sehr niedrigen Konzentrationen ($< 10^{-4} \text{ g L}^{-1}$). Aufgrund der Anzahl an Cumarinen pro Kette werden die Aggregate wahrscheinlich hauptsächlich zwischen zwei verschiedenen Polymerketten gebildet. Erhöht man die Temperatur $> 20 \text{ }^\circ\text{C}$, so verschwindet die Bande bei $\sim 585 \text{ nm}$ und die Bande bei $\sim 475 \text{ nm}$ gewinnt an Intensität. Die Intensität bei $50 \text{ }^\circ\text{C}$ ist sechsfach so hoch wie bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Zusätzlich ist eine Blauverschiebung dieses Emissionsmaximums (bei $\sim 475 \text{ nm}$) zu beobachten. Die Tatsache, dass das Monomer **9** in PBS im gleichen Temperaturintervall ($20\text{-}50 \text{ }^\circ\text{C}$) keine Blauverschiebung und Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute zeigt, legt nahe, dass die Blauverschiebung und Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute bei Temperaturen oberhalb der Phasenübergangstemperatur des Copolymers **P7** in PBS direkt mit dem Polymerkollaps zusammenhängen.

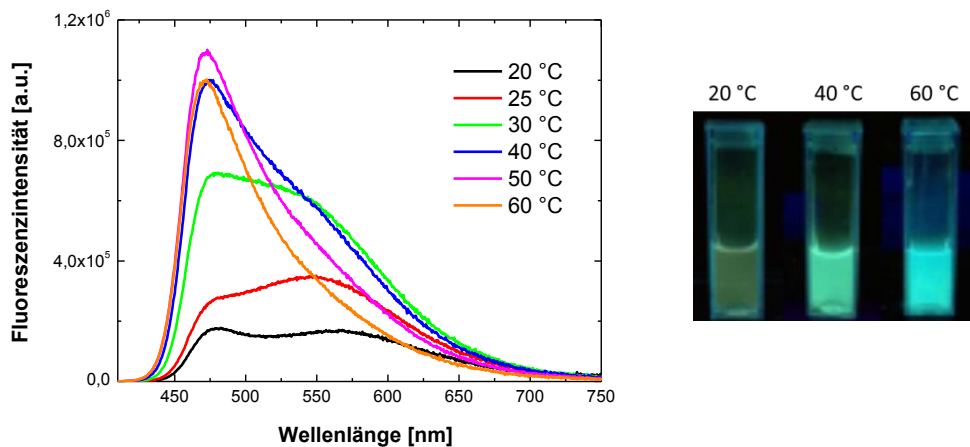


Abb. 50 Temperaturabhängiges Fluoreszenzspektrum von P7 in PBS (0,15 g L⁻¹): Anregungswellenlänge 400 nm, Anregungswellenlänge 365 nm für die Photographien [Die experimentellen Daten und Photographien stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Die bei 50 °C höhere Fluoreszenzquantenausbeute des Copolymers **P7**, als die in dem strukturanalogen Lösungsmittel *N*-Methylformamid ($\Phi = 9\%$, siehe Tabelle 9) resultiert aus der hydrophoberen und unflexiblen Chromophorumgebung des kollabierten Copolymers.

3.5.3.2 OEGMA-basiertes Copolymer **P8**

Für das Copolymer **P8** wird das gleiche temperaturabhängige Emissionsverhalten wie bei dem naphthalimidfunktionalisierten Copolymer **P3** (siehe Kapitel 3.1.5.2) beobachtet. Die Fluoreszenzintensität sinkt mit steigender Temperatur aufgrund der besseren Zugänglichkeit strahlungsloser Deaktivierungskanäle (siehe Kapitel 2.5.2). Diese temperaturabhängige Fluoreszenzintensitätsänderung hängt nicht mit der Phasenübergangstemperatur zusammen. Andererseits ist die Fluoreszenzquantenausbeute von Anfang an hoch ($\Phi = 25\%$), wie auch im Fall des Copolymers **P3**.

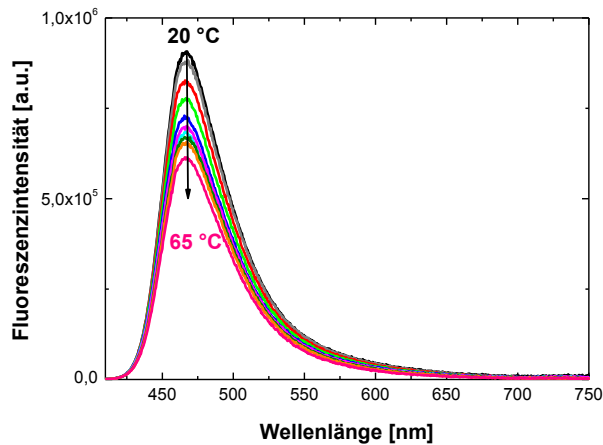


Abb. 51 Temperaturabhängiges Fluoreszenzspektrum von P8 in PBS ($0,15 \text{ g L}^{-1}$): Anregungswellenlänge 400 nm [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

3.5.4 Änderung der Polymereigenschaften in Anwesenheit und Abwesenheit von monoklonalem Antikörper

3.5.4.1 NIPAm-Copolymer P7 unterhalb der Phasenübergangstemperatur

Nicht nur durch Änderung der Temperatur lässt sich das Emissionsprofil des Copolymers **P7** in PBS modulieren, sondern auch durch die Anwesenheit eines monoklonalen Antikörpers, der das Cumarin **9** im Copolymer **P7** binden kann (siehe Abb. 52). Es zeigt sich der gleiche Trend wie bei der temperaturgesteuerten Änderung des Emissionsprofils: Die zweite Bande verschwindet und die Bande bei 475 nm gewinnt an Intensität. Weiterhin verschieben sich die Fluoreszenzlebenszeiten zu größeren Werten, wenn der spezifische monoklonale Antikörper in der Lösung vorhanden ist. Für eine Polymerkonzentration von $0,005 \text{ g L}^{-1}$ und eine Antikörperkonzentration von 6 bis 300 nM steigt die Fluoreszenz linear an (siehe Abb. 53).

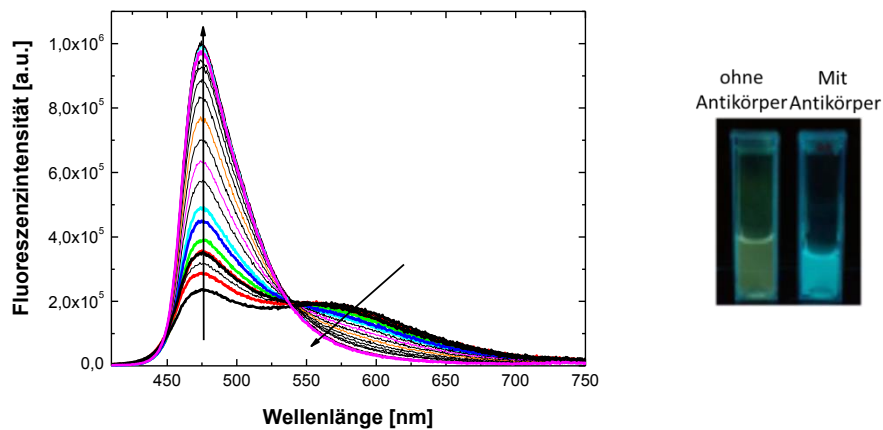


Abb. 52 Fluoreszenzspektrum von P7 in PBS (0,005 g L⁻¹) bei 15 °C mit verschiedenen Konzentrationen des Cumarin 9-Antikörpers (6,7 nM bis 660 nM): Anregungswellenlänge 400 nm Anregungswellenlänge 365 nm für die Photographien [Die experimentellen Daten und Photographien stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

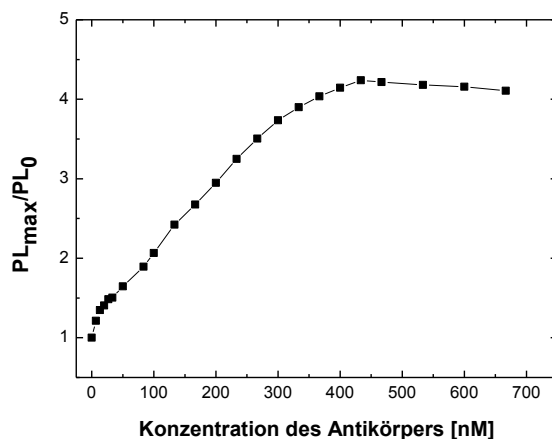


Abb. 53 Relative Änderung des Fluoreszenzmaximums von P7 in PBS (0,005 g L⁻¹) bei 15 °C mit verschiedenen Konzentrationen des Cumarin 9-Antikörpers (6,7 nM bis 660 nM): Anregungswellenlänge 400 nm [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Wie auch im Emissionsspektrum zeigt das Absorptionsspektrum unter den gleichen Bedingungen die gleichen durch Antikörperbindung bedingten Änderungen des optischen Spektrums (siehe Abb. 54).

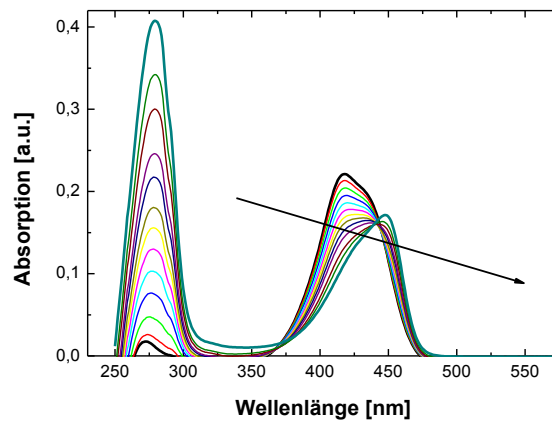


Abb. 54 Absorptionsspektrum von **P7** in PBS ($0,005 \text{ g L}^{-1}$) bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ mit verschiedenen Konzentrationen des Cumarin **9**-Antikörpers (6,7 nM bis 660 nM) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Sowohl das Absorptionsspektrum als auch das Emissionsspektrum zeigen deutlich, dass durch die Bindung des monoklonalen Antikörpers die Cumarin **9**-Aggregate im Copolymer **P7** zerstört werden, Cumarin **9** als Antikörperkomplex vorliegt und das optische Spektrum bei hohen Antikörperkonzentrationen ($>400 \text{ nM}$ bei $0,005 \text{ g L}^{-1}$ **P7** Konzentration) weitestgehend dem des Monomers **9** entspricht.

Durch die Bindung des monoklonalen Antikörpers an das Copolymer **P7** mittels Antikörper-Antigen-Reaktion werden auch die Löslichkeitseigenschaften des Copolymers **P7** beeinflusst. Die Phasenübergangstemperatur verschiebt sich zu höheren Werten, während gleichzeitig die Trübung abnimmt (siehe Abb. 55).

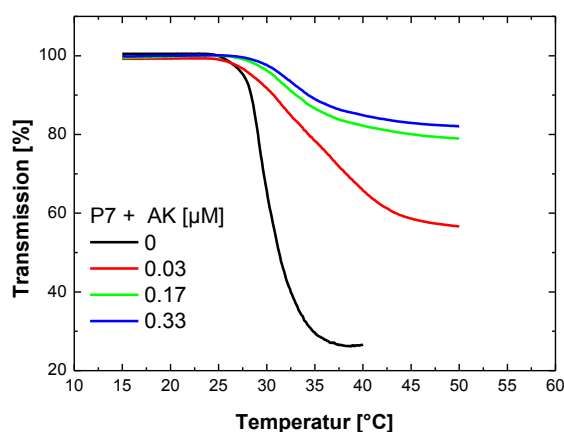


Abb. 55 Trübungskurven von P7 in PBS ($0,005 \text{ g L}^{-1}$) bei verschiedenen Konzentrationen des Cumarin 9-Antikörpers [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Dippel.]

Die Hydrophilie der Polymerketten steigt durch die Bindung des monoklonalen Antikörpers an das Copolymer **P7**, so dass der temperaturinduzierte Kollaps, dem thermoresponsive Polymere normalerweise unterliegen, teilweise unterdrückt wird. Als weiterer möglicher Grund für die partielle Unterdrückung des Kollapses ist die sterische Hinderung zu diskutieren, da die Antikörper sehr große Makromoleküle (IgG, $\sim 10 \text{ nm}$ und $\sim 150 \text{ kD}$) sind, die die intermolekulare Kettenaggregation/-assoziation stören können.

Allgemein hängt die Änderung des Trübungsprofils von Polymeren stark von der Art der Wechselwirkung zwischen dem Polymer und dem Analyten ab. Beispielsweise berichteten Rimmer et al. von einem hochverzweigten polyNIPAM, das eine Bindungseinheit für grampositive Bakterien besitzt. Durch die Bindung dieser sank die Phasenübergangstemperatur um mehr als $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ^[225,226]. Dagegen zeigten Buller et al., dass sich durch die Bindung von Avidin an ein biotinyliertes OEGMA-Copolymer die Phasenübergangstemperatur zu höheren Werten verschiebt^[27].

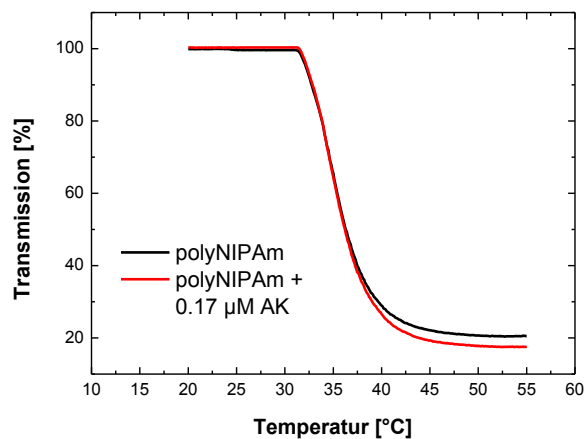


Abb. 56 Trübungskurven von polyNIPAm in PBS ($0,005 \text{ g L}^{-1}$) mit dem Cumarin 9-Antikörper ($0,17 \text{ }\mu\text{M}$) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Dippel.]

Das Trübungsprofil einer Lösung unfunktionalisierten polyNIPAm wird durch die Zugabe des Cumarin 9-Antikörpers nicht beeinflusst. Das zeigt, dass die Änderungen sowohl des Emissionsprofils als auch des Trübungsprofils auf einer spezifischen Wechselwirkung des Antikörpers mit dem Antigen beruhen.

3.5.4.2 Temperaturkontrolle der polymergebundenen Antikörper-Antigen-Reaktion

Die vorhergehenden Experimente wurden bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt, einer Temperatur unterhalb der Phasenübergangstemperatur. Gibt man Antikörper zu einer Lösung des Copolymers **P7** bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$, also oberhalb der Phasenübergangstemperatur, verändert sich die Form des optischen Spektrums nicht. Kühlt man diese Lösung auf $15 \text{ }^\circ\text{C}$, ändert sich die Form des optischen Spektrums aufgrund der Bindung des Antikörpers an das Antigen. Die Form des Spektrums weist eine scharfe Bande auf. Diese entspricht dem unaggregierten, gebundenen Antigen (Cumarin 9). Wird die Lösung nun wieder auf $40 \text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt, tritt keine erneute Änderung des optischen Spektrums auf, da die Cumarine durch die Antikörper weiterhin gebunden sind und der Phasenübergang (teilweise) unterdrückt wird.

Die Zugänglichkeit der Cumarine 9 und somit die molekulare Erkennung (Antikörper-Antigen-Reaktion) kann durch die Temperatur moduliert werden.

3.5.4.3 Kompetitiver Bindungsassay

Aus den vorangegangenen Experimenten bleibt die Frage offen, ob sich das temperaturabhängige, biologische Bindungsereignis für einen kompetitiven Assay eignet, d.h. ob eine kompetitive Antikörper-Antigen-Bindung (Konkurrenz von freiem Antigen und polymergebundenem Antigen) nur bei 15 °C stattfindet oder ob höhere Temperaturen notwendig sind. In diesem Fall wäre das System nicht nur dualresponsiv (temperatur- und antikörpersensitiv), sondern ebenfalls antigensensitiv. Um diese Frage zu klären, wurden Mischungen aus Copolymer **P7** und monoklonalem Antikörper bei unterschiedlichen Temperaturen ein hoher Überschuss an Monomer **9** zugesetzt und diese untersucht.

Wie Abb. 55 zeigt, beeinflusst die Anwesenheit bzw. Abwesenheit des Antikörpers die Löslichkeitseigenschaften des Copolymers. So ändert sich das Trübungsprofil des Copolymers **P7**, wenn Antikörper hinzugegeben werden. Die Streuung führt in den Absorptionsspektren zu einer Anhebung der Grundabsorption (Basislinie). Somit können direkt aus temperaturabhängigen Absorptionsspektren Rückschlüsse auf den Löslichkeitszustand des Polymers gezogen werden.

Die Zugabe von einem zwanzigfachen Überschuss an Cumarin **9** zu einem polymergebundenen Antikörper-Cumarin-Komplex bei 15 °C mit anschließendem Heizen auf 40 °C führt zum Polymerkollaps oder die Zugabe bei 40 °C zum kollabierten Copolymer **P7** unterdrückt den Polymerkollaps nicht (gegeben durch die hohe Basislinie der Kurven c und d im Gegensatz zu Kurve a). Die Zugabe von Monomer **9** bei beiden Temperaturen führt zu einer Monomer **9**-Antikörper-Bindung und ein Teil der gebundenen Antikörper wird vom Copolymer **P7** freigesetzt. Dadurch wird das thermoresponsive Copolymer hydrophober gegenüber dem Ausgangszustand und kollabiert bei 40 °C.

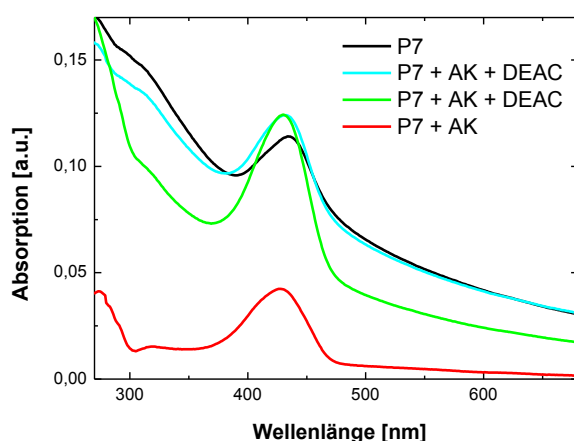


Abb. 57 Absorptionsspektren des Copolymers **P7** in PBS ($0,01 \text{ g L}^{-1}$) bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$: **P7** Lösung (schwarze Kurve), **P7** und Cumarin 9- Antikörper ($0,17 \text{ } \mu\text{M}$, rote Kurve), **P7**, Cumarin 9- Antikörper ($0,17 \text{ } \mu\text{M}$) und Zugabe von Cumarin 9 ($4 \text{ } \mu\text{M}$) bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ und anschließendem Heizen (türkise Kurve), **P7**, Cumarin 9- Antikörper ($0,17 \text{ } \mu\text{M}$) und Zugabe von Cumarin 9 ($4 \text{ } \mu\text{M}$) bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (grüne Kurve) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Der Antikörper scheint das freie Cumarin **9** bevorzugt zu binden im Gegensatz zu dem cumarin-**9**-markierte Polymer. Allerdings bleibt die Frage offen, ob das Verhalten bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ das gleiche wie bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ist, bzw. ob die Temperatur einen Einfluss auf das kompetitive Binden des Antikörpers mit dem Cumarin **9** besitzt. Fluoreszenzspektren bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ und $40 \text{ }^\circ\text{C}$ zeigen eindeutig, dass selbst bei einem großen Überschuss an Cumarin **9** bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ sich der Antikörper nicht vom Copolymer **P7** löst. Gibt man jedoch das Cumarin **9** bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$ zu, so löst sich der Antikörper vom Copolymer **P7**. Der Antikörper bindet an das freie Cumarin **9** und kann die Bindungsstellen im Copolymer **P7** nicht mehr binden, da diese durch den temperaturinduzierten Kollaps blockiert sind. Die Ursache für dieses Verhalten (das unterschiedliche temperaturabhängige Bindungsverhaltens des Antikörpers) ist bisher nicht klar. Sie könnte jedoch in den thermoresponsiven Eigenschaften des Copolymers **P7** begründet sein. Trübungsexperimente zeigen, dass bei einer Sättigung der polymeren Bindungsstellen mit Antikörpern, der Phasenübergang vollständig unterdrückt wird (siehe Abb. 58). Ist jedoch Monomer **9** in der Lösung vorhanden, wird der Phasenübergang nur partiell unterdrückt, da nicht alle Antikörper an das Copolymer **P7** binden können.

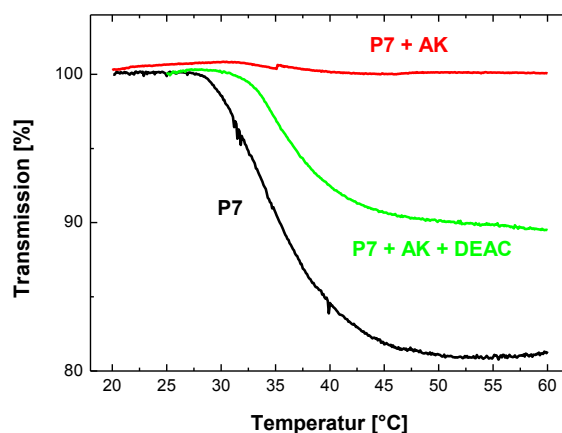


Abb. 58 Trübungskurven des Copolymers **P7** in PBS ($0,01 \text{ g L}^{-1}$, schwarze Kurve), **P7** ($0,01 \text{ g L}^{-1}$) und Cumarin 9-Antikörper ($0,17 \mu\text{M}$, rote Kurve) und **P7** ($0,01 \text{ g L}^{-1}$), Cumarin 9-Antikörper ($0,17 \mu\text{M}$) und Zugabe von Cumarin 9 ($4 \mu\text{M}$, grüne Kurve)

Gibt man zu einer Lösung aus monoklonalem Antikörper und Copolymer **P7** (unterhalb der Phasenübergangstemperatur) zusätzliches freies Antigen, so bleibt der Antikörper-Polymer-Komplex bestehen. Erwärmt man diese Lösung über die Phasenübergangstemperatur, so lösen sich Teile des Antikörpers vom Copolymer **P7**, binden das freie Antigen **9** und das Copolymer kollabiert. D.h. die unterschiedliche Affinität des Antikörpers zu freiem oder polymergebundenem Antigen ist temperaturabhängig.

3.5.5 OEGMA-basiertes Copolymer **P8**

Aufgrund der vorherigen Ergebnisse aus den Kapiteln 3.1 und 3.2 und der Ergebnisse der Emissionsspektren (siehe Kapitel 3.5.3.2) ist davon auszugehen, dass das Cumarin **9** im Copolymer **P8** von den OEG-Seitenketten abgeschirmt wird.

Interessanterweise bindet der Antikörper an die Bindungsstellen im Copolymer **P8**. Dies wurde durch einen ELISA-Test bestätigt. Die Änderungen der Polymereigenschaften sind jedoch bei Weitem nicht so stark ausgeprägt wie im Copolymer **P7**.

Durch die Bindung des Antikörpers an das Copolymer **P8** verschiebt sich, ebenfalls wie schon beim Copolymer **P7** beobachtet, die Phasenübergangstemperatur zu höheren Werten. Die Form der Absorptions- und Emissionsbande bleibt gleich. Es ist lediglich eine leichte Rotverschiebung (8 nm) des Emissionsmaximums durch die Zugabe des Antikörpers zu beobachten (siehe Abb. 59).

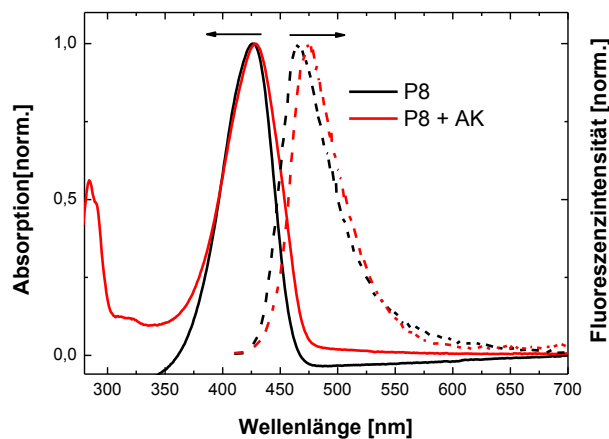


Abb. 59 Normierte Absorptions- und Emissionsspektren des Copolymers **P8** in PBS ($0,05 \text{ g L}^{-1}$) bei 20 °C : **P8** Lösung (schwarze Kurve), **P8** und Cumarin 9- Antikörper ($0,17 \text{ }\mu\text{M}$, rote Kurve) [Die experimentellen Daten stammen aus der Zusammenarbeit mit S. Inal.]

Die experimentellen Ergebnisse legen nahe, dass sich nach der Bindung der Antikörper an die polymergebundenen Cumarine im Copolymer **P8** die hydrophobe lokale Umgebung der Chromophore hin zu einer hydrophileren lokalen Umgebung ändert. Gleichzeitig ändert sich durch die Bindung des hydrophilen Antikörpers an das Copolymer **P8** die gesamte Hydrophilie-Hydrophobie-Balance des Copolymers **P8** und die Phasenübergangstemperatur wird zu höheren Werten verschoben.

3.5.6 Idealisierter Mechanismus des Copolymers **P7**

Unterhalb der Phasenübergangstemperatur liegen Aggregate der Cumarine sowie auch isolierte Cumarine vor. Die Aggregate werden höchstwahrscheinlich von zwei Cumarinen aus mehreren unterschiedlichen Polymerketten gebildet. Erhöht man die Temperatur, so kollabieren die Polymerketten des polyNIPAm und die Emission der isolierten Cumarine wird detektiert. Die gleiche Emission tritt auf, wenn spezifische Anticumarin-Antikörper zur Lösung hinzugegeben werden. Die Antikörper brechen die Cumarinaggregate auf, indem sie diese Cumarine binden. Es liegen einzelne Cumarin-Antikörper-Komplexe vor, so dass die Emission isolierter Cumarine detektiert wird. Eine Erhöhung der Temperatur und anschließende Zugabe von freiem Cumarin zur Lösung führen dazu, dass die Antikörper bevorzugt das freie Cumarin binden. Dadurch wird das Polymer hydrophober und kollabiert bei dieser Temperatur. Es findet keine Rückbindung des Antikörpers bei dieser Temperatur an

die potentiellen Bindungsstellen (die Cumarine im kollabierten Polymer) statt, da durch den temperaturinduzierten Kollaps die Bindungsstellen blockiert werden.

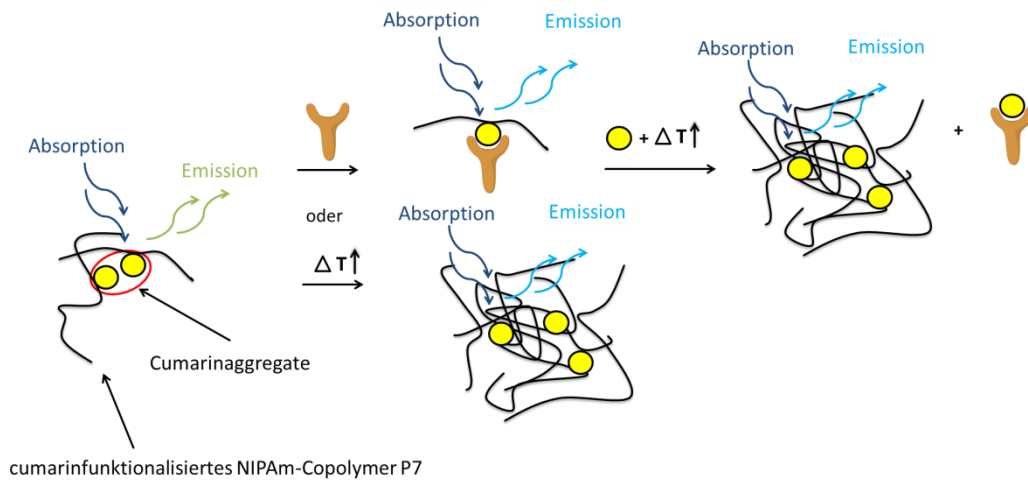


Abbildung 60 Idealisierter Mechanismus des dualresponsiven Copolymers P7 bei Temperatur- und/oder Antikörperstimulus in wässriger Lösung

4. Zusammenfassung, Fazit und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war die Synthese und Entwicklung von farbstoffmarkierten Systemen, die den Phasenübergang thermoresponsiver Polymere mit LCST-(lower critical solution temperature)-Verhalten in ein optisches Signal übersetzen können. Einerseits wurden für diesen Zweck solvatochrome Farbstoffe (Cumarin- und Naphthalimidderivate) in verschiedene LCST-Polymere wie Poly-*N*-isopropylacrylamid (polyNIPAm), Poly(oligoethylenglykolacrylat) (polyOEGA) und Poly(oligoethylenglykolmethacrylat) (polyOEGMA) eingebaut und deren thermoresponsives Verhalten in wässrigen Medien untersucht. Andererseits wurden verschiedene FRET (Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer)-Systeme entwickelt und charakterisiert. Bei FRET wird Energie vom Donor- auf den Akzeptorfarbstoff strahlungslos übertragen. Die Energieübertragungsrate ist hierbei u.a. abstandsabhängig. Es wurden daher donorfunktionalisierte, thermoresponsive Polymere mit freiem Akzeptor (einem Polythiophen) und doppeltfunktionalisierte thermoresponsive Polymersysteme des LCST-Typs untersucht.

Auf einen Temperaturstimulus reagieren thermoresponsive Polymere in einem kleinen Temperaturintervall mit einer massiven Änderung ihres Verhaltens z.B. ihres Quellgrades oder ihrer Konformation. Diese Änderungen sind mit einem Wechsel von einem gut hydratisierten Zustand zu einem weniger stark hydratisierten Zustand verbunden. Diesen Wechsel der Zustände kann mittels umgebungsensitiver (solvatochromer) Fluoreszenzfarbstoffe visualisiert werden. Gleichzeitig können durch die optischen Eigenschaftsänderungen dieser Fluoreszenzfarbstoffe Rückschlüsse auf die Mikroumgebung dieser Polymere gezogen werden.

Die untersuchten, farbstoffmarkierten NIPAm-Copolymere reagieren auf Temperaturstimulus mit der Erhöhung der Fluoreszenzintensität und einer Blauverschiebung des Absorptions- und des Emissionmaximums. Ein naphthalimidfunktionalisierte NIPAm-Copolymer zeigt eine Erhöhung der Fluoreszenzintensität um den Faktor 30. Diese Fluoreszenzerhöhung in polyNIPAm ist die stärkste bisher laut Literatur berichtete (nicht nur für polyNIPAm, sondern auch allgemein für thermoresponsive Polymere). Bei einem cumarinfunktionalisierten NIPAm-Copolymer wird nur eine Erhöhung der Fluoreszenzintensität um den Faktor 5 beobachtet. Jedoch zeigte das Cumarin-NIPAm-Copolymer einen anderen interessanten Effekt: Unterhalb der Phasenübergangstemperatur lagen die Cumarine als Aggregate vor,

wohingegen sie durch Temperaturstimulus aufgebrochen wurden. So wechselte dieses System die Emissionsfarbe von türkis (Aggregate, Dimere) zu blau (Monomeremission) unter gleichzeitigem Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute. Das Aufbrechen der Aggregate ließ sich ebenfalls durch die Zugabe eines für das Cumarin spezifischen, monoklonalen Antikörpers beobachten. Diese Effekte waren mit dem bloßen Auge sichtbar und sind somit für den Einsatz von polymerbasierten Biosensoren besonders relevant.

Interessanterweise zeigten die mit solvatochromen Farbstoffen markierten OEGMA-Copolymere keinen temperaturabhängigen Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute. Die hier untersuchten OEGMA-Copolymere, bestanden aus kurzen und langen OEG-Seitenketten, wobei ca. jede fünfte Wiederholungseinheit eine lange OEG-Seitenkette war. Der Vergleich mit einem naphthalimidfunktionalisierten polyOEGA zeigte, dass in diesem Fall die Fluoreszenzquantenausbeute temperaturabhängig um den Faktor 2 stieg (vergl. polyNIPAM Faktor 30, polyOEGMA Faktor 0).

Der wesentliche Unterschied in den hier untersuchten LCST-Polymeren ist das Fehlen der Wasserstoffbrückenbindungsmotive in den OEG-basierten Polymeren, im Gegensatz zu polyNIPAM. Das führt dazu, dass sich der Hydratisierungsgrad in den OEG-basierten Polymeren bei Temperaturerhöhung kaum ändert und somit die lokale Umgebung für ein Chromophor gleich bleibt. Ein weiterer Effekt ist die Starrheit des Polymethacrylrückgrats und das Abschirmen durch lange OEG-Seitenketten von Chromophoren, die sich nahe am Polymerrückgrat befinden.

Da es nicht möglich ist, mithilfe solvatochromer Farbstoffe den Phasenübergang in OEGMA-Copolymeren zu visualisieren, wurde ein System entwickelt, das die Preaggregation in OEGMA-Copolymeren nutzt. Für diesen Ansatz wurde ein nichtionisches cumarinmarkiertes OEGMA-Copolymer als Donor entwickelt und ein ionisches Polythiophen als Akzeptor eingesetzt. Unterhalb der Phasenübergangstemperatur kann das Polythiophen in die mit Wasser gefüllten Hohlräume der OEGMA-Preaggregate hineindiffundieren. Regt man nun den Donor an, kommt es aufgrund des geringen Abstands zwischen Donor und Akzeptor zum Energietransfer und die Akzeptoremission wird detektiert. Erhöht man nun die Temperatur, so dissoziieren die beiden Makromoleküle, das OEGMA-Copolymer kollabiert und die Donoremission wird detektiert. Dieser Effekt ist mit dem bloßen Auge sichtbar.

Für Anwendungen, die auf einer drastischen Änderung der physikalischen Eigenschaften wie Aggregationsverhalten, Packungsdichte, Hydratisierungsgrad etc. beruhen, wäre polyNIPAm ein geeignetes Polymer. Für Anwendungen, wo keine Änderung der Emissionseigenschaften erwünscht ist, wäre polyOEGMA ein geeignetes Polymer. Solche Anwendungen können z.B. das Beobachten von Polymeren in Lösungen sein oder für medizinische Anwendung im Bereich von drug delivery, wenn Fragestellungen bearbeitet werden sollen, an welchem Ort sich die entsprechenden Polymere bei Wirkstofffreisetzung befinden.

Möchte man in polyOEGMA den Phasenübergang mittels solvatochromer Farbstoffe sichtbar machen, wäre eine Option längere OEG-Spacer zwischen dem Polymerrückgrat und dem Farbstoff einzubauen. Möglicherweise führen die kurzen EG-Spacer zwischen dem Chromophor und dem Polymerrückgrat zum Ausbleiben eines optischen Signals, da sich die lokale Umgebung in polyOEGMA nahe dem Polymerrückgrat kaum ändert. Vergleicht man dies mit literaturbekannten Experimenten, so zeigt sich, dass in polyOEGMA ausschließlich kurze Spacer von einer EG-Wiederholungseinheit eingesetzt wurden.

Experimente mit dem Polythiophen zeigen, dass OEGMA-Copolymere durchaus hydrophobe Wechselwirkungen eingehen, wenn ein geeigneter Bindungspartner zur Verfügung steht. Somit wird die Eingangshypothese, dass polyOEGMA das geeignetste Polymer für bioanalytische Fragestellungen ist aufgrund der Vermeidung hydrophober Wechselwirkungen per se, relativiert.

Für den Aufbau polymerbasierter, bioinertter Sensoren, die ohne vorherigen Aufreinigungsschritt auskommen, sollte man detailliert Wissen, mit welchen Kontaminationen des Sensors man zu rechnen hat, und anschließend eine entsprechende Polymermatrix wählen. Soll dieser Sensor den Phasenübergang in thermoresponsiven Polymeren in ein optisches Signal übersetzen, ist die Wahl der richtigen Polymermatrix wichtiger als die Wahl des Farbstoffs. Häufig wird man Kompromisse zwischen starker optischer Signalgenerierung und Biokompatibilität treffen müssen.

5. Experimenteller Teil

5.1 Chemikalienliste

Tabelle 11: Chemikalienliste

Substanz	Reinheit	Anbieter
2-(2-Methoxyethoxy)ethylmethacrylat (MEO ₂ MA)	95 % (100 ppm 4-Methoxyphenol, 300 ppm 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol)	Aldrich
Oligo(ethylenglycolmethylether)-methacrylat ($M_n = 475 \text{ g mol}^{-1}$, OEGMA)	- (100 ppm 4-Methoxyphenol, 200 ppm 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol)	Aldrich
<i>N</i> -Isopropylacrylamid (NIPAm)	99 %, pure (500 ppm 4-Methoxyphenol)	Acros
2-(2-Methoxyethoxy)ethylacrylat (MEO ₂ A)	-	bereitgestellt von Anna Miasnikova ^[227]
2,2'-Azobisisobutyronitril (AIBN)	98 %	Acros
2,4-Dihydroxybenzaldehyd	98 %	Acros
Phenyllessigsäure	98,5 %	Acros
2-Bromethanol	97 %	Acros
Essigsäureanhydrid	99+ %	Acros
Triethylamin	99 %, pure	Acros
Methacrylsäurechlorid	>97 % (~0.02 % 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol)	Fluka
Kaliumcarbonat	99 %-	Riedel-de Haën
4-Dimethylaminopyridin	>99 %	Merck
Salzsäure	35-38 % z.A.	Chemsolute
Dimethylformamid (DMF)	99 %+, extra pure	Acros
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	-	Fluka
2-Aminoethylmethacrylat Hydrochlorid	90 % (500 ppm Phenothiazin)	Acros

Ethanolamin	99 %	Acros
Pyridin	>99 %	Merck
Piperidin	99 %, extra pure	Acros
D-Biotin	-	Iris Biotech
4-Brom-1,8-naphthalsäureanhydrid	99 %	Acros
3-Dimethylaminopropionitril	98 %	Aldrich
iso-Amylalkohol	99 %	Acros
Diethylmalonat	>98 %	Merck
4-(Diethylamino)-2-hydroxybenzaldehyd	99 %	Synthon
Natriumhydroxid	99 %	Chemsolute
Natriumacetat	99 %	Acros
<i>N,N'</i> -Methylenbisacrylsäureamid	99+ %	Acros
Rinder Serum Albumin, Fraktion V (BSA) Lot Nr.: 2373148	>98 %	Roth
Thionylchlorid	99,7 %	Acros
poly[3-(6-trimethylammoniumhexyl)thiophen bromid] (P3TMAHT)	-	bereitgestellt von Andrea Gutacker ^[212]

2-(2-Methoxyethoxy)ethylmethacrylat und Oligo(ethyleneglycol)methylethermethacrylat wurden über basisches Aluminiumoxid filtriert, um die Inhibitoren zu entfernen. 2-2'-Azobisisobutyronitril wurde aus Methanol umkristallisiert. Für spektroskopische Messungen wurde hochreines (Uvasol[®], engl.: spectroscopic grade) Lösungsmittel verwendet. Phosphatgepufferte Salzlösung wurde mit deionisiertem Wasser hergestellt und hatte einen pH von 7,4. Alle anderen Lösungsmittel und Chemikalien wurden eingesetzt wie geliefert.

5.2 Generierung des monoklonalen DEAC-Antikörpers

Der monoklonale Antikörper (G100-HB9) wurde von der Firma Hybrotech bereitgestellt und wurde durch Elektrofusion (Hybridomtechnologie) gewonnen^[228]. Die Fusion von Myelomzellen der Zelllinie P3 x 63AG8.653 (ATCC CRL-1580) und Milzzellen einer Balb/c Maus, die mit einem DEAC-KHL-Konjugat (7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-3-carbonsäure – keyhole limpet hemocyanine – Konjugat) immunisiert wurden, lieferte Hybridomzellen. Die im Zuge der Zellfusion gewonnenen Zellklone wurden unter Verwendung eines indirekten ELISAs auf die Produktion des gewünschten Antikörpers getestet. Ein DEAC-Ovalbumin-Konjugat wurde für diesen Assay verwendet. Nachfolgend wurde ein kompetitiver ELISA mit freiem DEAC verwendet, um sicherzustellen, dass die Antikörper sich gegen das Antigen DEAC richten und nicht gegen die Protein-Konjugatstruktur. Die Klone (G100-HB9, DEAC-Antikörper produzierenden Klone) wurden in serumfreier Umgebung produziert und über Proteinsäulenchromatographie aufgereinigt, um eine Kontamination mit SLPI zu vermeiden^[229].

5.3 Kompetitiver Verdrängungs-ELISA

Das Bindungsverhalten von verschiedenen Cumarinen und den cumarinmarkierten Polymeren wurde mithilfe eines Verdrängungs-ELISAs bestimmt.

Eine Lösung von dem monoklonalen Antikörper G100-HB9, verschiedenen Cumarinen oder cumarinmarkierten Polymeren wurde in eine DEAC-Ovalbumin-beschichtete und geblockte Mikrotiterplatte gegeben und einstündig inkubiert. Die Mikrotiterplatte wurde gewaschen und mit einem Konjugat aus dem sekundären Antikörper und dem Enzym (Ziege-Antimaus-Antikörper–Meerrettichperoxidase) inkubiert. Es wurden die Platte nach einer weiteren Stunde erneut gewaschen, gebundene Enzym-Moleküle mittels Substratreaktion (TMB, Tetramethylbenzidin) nachgewiesen und der Assay nach Standardprotokoll ausgewertet^[230].

5.4 Probenvorbereitung für spektroskopische Messungen

Es wurden Stammlösungen mit einer Konzentration von 2 g L^{-1} hergestellt. Diese Lösungen wurden gegebenenfalls weiter verdünnt, bis sie die gewünschte Konzentration hatten. Wässrige Polymerlösungen wurden in einem Kühlschrank über Nacht bei $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt,

um sicherzugehen, dass die Polymere komplett gelöst wurden und als molekulare Lösungen vorlagen. Polymerlösungen und monomere Farbstoffe in organischen Lösungsmitteln wurden in den entsprechenden Lösungsmitteln gelöst und blieben bei Raumtemperatur über Nacht stehen.

5.5 Analytik

5.5.1 Dünnschichtchromatographie

Der Reaktionsfortschritt wurde mit Dünnschichtchromatographie-Platten (Kieselgel 60 F254) von Merck (Darmstadt, Deutschland) kontrolliert. Zur Detektion der Substanzen dienen: UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$), Seebach-Reagenz (Molybdätophosphorsäure (25.0 g), Cer-(IV)-sulfattetrahydrat (10.0 g), konz. Schwefelsäure (60 mL, 19.2 M), dest. Wasser (905 mL)) und Iod.

5.5.2 Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie wurde mit geringem Überdruck (N_2) als Flash-Chromatographie durchgeführt. Für die Trennungen wurde Kieselgel 60 der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) mit einer Korngröße von 0.020 - 0.063 mm eingesetzt.

5.5.3 Kernmagnetische-Resonanz-Spektroskopie

Die Messungen der ^1H -, ^{13}C -Spektren erfolgten an einem Bruker Avance 300 Spektrometer (300 MHz). Die chemischen Verschiebungen δ sind in parts per million (ppm) angegeben und auf das TMS-Signal kalibriert. Die Messungen wurden im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Erich Kleinpeter am Institut für Chemie der Universität Potsdam durchgeführt.

5.5.3.1 ^1H -Spektren

Für die ^1H -NMR Spektren sind die Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz) angegeben und die Signalmultiplizitäten wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quadruplett, m = Multiplett, dd = Dublett von Dublett. Außerdem ist für jedes Signal die durch Integration bestimmte relative Protonenzahl vermerkt.

5.5.3.2 ^{13}C -NMR Spektren

Alle ^{13}C -NMR Spektren wurden breitbandenkoppelt gemessen.

5.5.4 Hochaufgelöste Massenspektrometrie

Die Massenspektren wurden im o.g. Arbeitskreis von Prof. Kleinpeter an einem ESI-Q-TOF micro (Quadrupol Time of Flight) mit einer Einheitsmassenauflösung (bis $m/z = 20000$ Da) mittels Elektrosprayionisation (ESI) gemessen. Die Proben wurden in festem Zustand abgegeben und für die Messung in hochreinen Lösungsmitteln gelöst.

5.5.5 Infrarot Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Torsten Linker am Institut für Chemie der Universität Potsdam mit einem Nicolet 6700 von Thermo Fisher aufgenommen. Die IR Spektren wurden im ATR-Modus auf einem ZnSe-Kristall als Film gemessen.

5.5.6 Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden im o.g. Arbeitskreis von Prof. Linker mit einem Vario El III der Firma Elementar gemessen.

5.5.7 Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einer DSC der Firma Mettler Toledo (DSC 822^e) mit automatischem Probenwechsler (Mettler Toledo TS0801R0 sample robot) bestimmt. Die Heiz- und Kühlraten betragen dabei jeweils $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Der onset der Schmelzkurve gibt den Schmelzpunkt wieder.

5.5.8 Trübungsmessungen

Die Trübungspunkte wurden in PBS-Lösung mit einem Varian Cary 50 Scan bestimmt. Die Konzentration betrug dabei 2 g L^{-1} , wenn nicht anders explizit erwähnt. Es wurde eine Heizrate von $0.1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ gewählt. Alle $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde ein Messpunkt (bei 700 nm) aufgezeichnet, nachdem die Probe 30 s lang diese Temperatur erreicht hatte. Die Messungen erfolgten in Rotilabo[®]-Einmal-Küvetten aus PMMA mit einem Innenvolumen von $4,5\text{ ml}$. Der Beginn der Trübung (onset) wurde hierbei als 1% Verlust der Maximaltransmission festgelegt. Wenn die Gesamttransmission von 100% auf 0% absank, wurde der Beginn der

Trübung bei 99 % bestimmt, sank die Transmission von 100 % nur auf 50 % ab, wurde der Beginn der Trübung bei 99,5 % bestimmt. Der T(50 %)-Wert wurde nach der folgenden Formel bestimmt:

Gleichung 2:

$$T(50\%) = \frac{T_{\max} - T_{\min}}{2}$$

5.5.9 Größenausschlusschromatographie

Die Größenausschlusschromatographie (GPC) wurde am Fraunhofer Institut für angewandte Polymerchemie bei 50 °C in DMF (Flussrate 1 mL min⁻¹) mit einem Spectra Physics Instruments, ausgerüstet mit einem UV-Detektor (SEC-3010), und einem Brechungsindex (SEC 3010 von WGE Dr. Bures) (Säulen: Guard (7.5 x 75 mm), PolarGel-M (7.5 x300 mm) oder GRAM von PSS) gemessen. Die Kalibrierung erfolgte mit linearen Polystyrolstandards (PSS, Germany).

5.5.10 Absorptions- und Fluoreszenzmessungen

Die Absorptionsspektren wurden mit einem Varian Cary 5000 Spektrometer und die Fluoreszenzspektren mit einem HORIBA Jobin Yvon Fluorolog 3 Spektrometer im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Dieter Neher am Institut für Physik der Universität Potsdam aufgenommen. Die Proben wurden in Quarzküvetten mit 1 mm Weglänge bei der entsprechenden Wellenlänge angeregt und die Emission im front face-Modus bestimmt. Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektren nutzten einen single photon counting setup (TCSPC) mit einem Titan:Saphir Laser mit einer Wiederholungsrate von 2.5 MHz. Der Detektor war ein Becker&Hickl PML-16-C-1 (modifiziertes Hamamatsu) Multialkaliner Photomultiplier. Der Küvettenhalter war mit einem Peltierelement zur Temperatureinstellung verbunden. Die Fluoreszenzquantenausbeuten wurden mit einem Spektrometer vom Typ Hamamatsu C9920 bestimmt.

5.5.11 Lichtstreuung

Die statischen Lichtstreuungsexperimente wurden an einem ALV/CGS-3 Instrument im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Michael Gradzielski am Institut für Chemie der Technischen Universität Berlin durchgeführt. Dieses verfügt über einen He-Ne Laser mit einer

Wellenlänge von 632,8 nm. Die Streuwinkel wurden von 30 ° bis 130 ° in 15 ° Schritten mit einem ALV-SP 125 Goniometer variiert. Die Streuintensität wurde gegen Toluol bei 25 °C als Referenz gemessen. Alle Messungen wurden in einem Toluolbad durchgeführt.

5.6 Polymeranalytik

5.6.1 Bestimmung der Zusammensetzung aus ¹H-NMR Daten

5.6.1.1 Bestimmung des Verhältnisses OEGMA₄₇₅ zu MEO₂MA

Die Zusammensetzung der OEGMA-Copolymere wird über das Verhältnis der ¹H-Signale MEO₂MA zu OEGMA₄₇₅ bestimmt. Dabei werden die Integrale der COO-CH₂ Gruppen (4,30 – 3,95 ppm, **A**) und der O-CH₂-CH₂-O Gruppen (3,95 – 3,50 ppm, **B**) ins Verhältnis gesetzt. MEO₂MA besitzt 2 H-Atome A und 6 H-Atome B, OEGMA₄₇₅ besitzt 2 H-Atome A und 32 H-Atome B. Es wird im ¹H-NMR Spektrum das Integral von Signal A auf 2 festgesetzt und so das Signal von B normiert. Dann gilt die folgende Formel:

Gleichung 3:

$$Y = \frac{32 - (\text{Integral B})}{26}$$

Dabei stellt Y den molaren Anteil an MEO₂MA im Copolymer dar. Der Anteil von OEGMA₄₇₅ ergibt sich entsprechend aus der Differenz zu 1.

5.6.1.2 Farbstoffgehalt im Polymer

Die Zusammensetzung der farbstoffmarkierten OEGMA-, NIPAm- und MEO₂A-Copolymere wird über das Verhältnis der ¹H-Signale OEGMA (2 H, COO-CH₂ Gruppen, 4,30 – 3,95 ppm), NIPAm (1 H, CONH-CH(CH₃)₂, ~4,0 ppm) und MEO₂A (2 H, COO-CH₂ Gruppen, 4,30 – 3,95 ppm) und den Cumarinen (1 H, s, C=CH, 7.70-8.70 ppm, je nach Cumarin (4-Position)) bzw. Naphthalimid (1 H, d, CH_{aromatisch}, ~8,6 ppm) bestimmt.

5.6.2 Bestimmung der Farbstoffmenge aus UV-vis Daten

Es wird eine Lösung des entsprechenden Farbstoffs in Chloroform mit einer Konzentration von 1 mg L⁻¹ mit einer Lösung des entsprechenden Polymers in Chloroform mit einer

Konzentration von 100 mg L^{-1} verglichen und die Menge an Farbstoff in Gew.-% bestimmt. Anschließend lässt sich aus der Menge des Farbstoffs in Gew.-% über die entsprechenden molaren Massen und der Polymerzusammensetzung, die molare Konzentration in mol % bestimmen.

5.6.3 Bestimmung der durchschnittlichen molaren Masse $M_{r,\emptyset}$ pro Wiederholungseinheit in Copolymeren

Die durchschnittliche molare Masse $M_{r,\emptyset}$ ergibt sich aus der Summe der einzelnen molaren Massen der Monomere multipliziert mit ihrer Stoffmenge, dividiert durch die Summe der Stoffmengen.

Gleichung 4:

$$M_{r,\emptyset} = \frac{\sum_i M_{r,i} \cdot n_i}{\sum_i n_i}$$

5.6.4 Bestimmung des Polymerisationsgrades \overline{DP}_n

Der scheinbare, zahlenmittlere Polymerisationsgrad ist der Quotient aus molarer Masse $M_{n, \text{GPC}}^{\text{app}}$ und durchschnittlicher, molarer Masse $M_{r,\emptyset}$ pro Wiederholungseinheit in Copolymeren. Unter ihm versteht man die mittlere Anzahl an Wiederholungseinheiten pro Polymerkette.

Gleichung 5:

$$\overline{DP}_n^{\text{app}} = \frac{M_{n, \text{GPC}}^{\text{app}}}{M_{r,\emptyset}}$$

5.6.5 Bestimmung der durchschnittlichen Anzahl von Chromophoren pro Kette AC

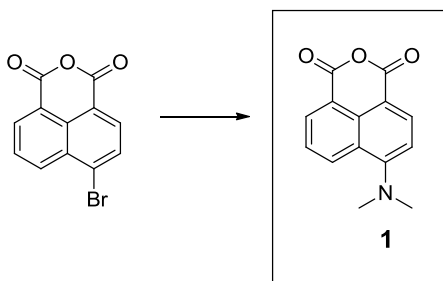
Die durchschnittliche Anzahl von Chromophoren pro Kette ergibt sich aus dem Produkt von molarem Verhältnis von Chromophor (mol%) und dem Polymerisationsgrad dividiert durch 100.

Gleichung 6:

$$AC = \frac{\text{Farbstoffgehalt in mol \%} \cdot \overline{DP}_n}{100}$$

5.7 Synthesen

5.7.1 4-Dimethylamino-1,8-naphthalsäureanhydrid (1)



4-Brom-1,8-naphthalsäureanhydrid (1,10 g, 4 mmol) und Dimethylaminopropionitril (1,82 ml, $\rho = 0,87 \text{ g mL}^{-1}$, 16 mmol) wurden in iso-Amylalkohol (28 ml) gelöst und bei 140 °C über Nacht gerührt. Der aus der abgekühlten Lösung ausfallende Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Der Niederschlag wurde getrocknet und anschließend aus iso-Amylalkohol umkristallisiert. Es wurden gelbe Nadeln erhalten.

Ausbeute: 690 mg (2,86 mmol, 71 %)

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_3$

Schmelzpunkt: 130°C

HRMS(ESI): berechnet: 242,0817 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 242,0832 $[\text{M}+\text{H}]^+$

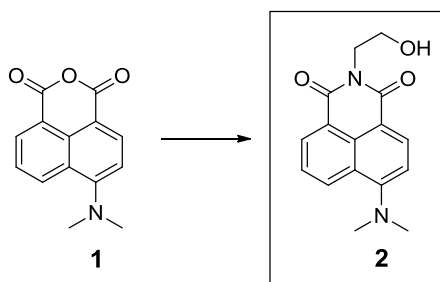
EA: berechnet: C = 69,70 %, H = 4,60 %, N = 5,81 % gefunden: C = 69,68 %, H = 4,51 %, N = 6,76 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 1750 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1718 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1583 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatisch}}$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm) $\delta = 8,57 - 8,43$ (m, 3H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,70 – 7,65 (m, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,10 (d, $J=8,3 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 3,18 (s, 6H, -N- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 ppm) $\delta = 161,7$ (CO_{Imid}), 160,8 (CO_{Imid}), 158,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 135,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 133,2 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 132,9 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,1 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 119,4 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 113,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 44,7 (CH_3)

5.7.2 4-Dimethylamino-*N*-2-hydroxyethyl-1,8-naphthalsäureimid (2)



4-Dimethylamino-1,8-naphthalsäureanhydrid **1** (1,50 g, 6,21 mmol) und Aminoethanol (0,5 ml, $\rho = 1,02 \text{ g mL}^{-1}$, 8,2 mmol) wurden in Ethanol gelöst und über Nacht bei 100 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand per Flash-Säulenchromatographie (Eluent: Dichlormethan) aufgereinigt. Es wurde ein oranger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1,5 g (5,27 mmol, 84 %)

Summenformel: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$

Schmelzpunkt: >300 °C

HRMS(ESI): berechnet: 285,1239 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 285,1211 $[\text{M}+\text{H}]^+$

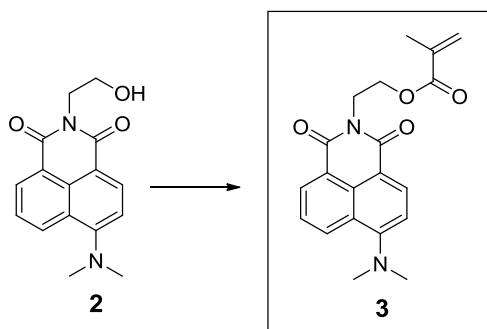
EA: berechnet: C = 67,59 %, H = 5,67 %, N = 9,85 %, gefunden: C = 67,17 %, H = 5,52 %, N = 9,56 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 3459 $\nu(\text{OH})$, 2953 $\nu(\text{CH}_2)$, 2877 $\nu(\text{CH}_2)$, 1688 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1645 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1580 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatisch}}$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm) $\delta = 8,57$ (dd, $J^1=7,3 \text{ Hz}$, $J^2 = 1,1 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 8,49 – 8,43 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,66 (dd, $J^1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J^2 = 7,3 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,11 (d, $J = 8,3 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 4,47 – 4,42 (m, 2H, $-\text{N}-\text{CH}_2-$), 3,99 – 3,97 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,12 (s, 6H, $-\text{N}-\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm) $\delta = 165,6$ (CO_{Imid}), 165,1 (CO_{Imid}), 157,4 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 133,1 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 131,7 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 131,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 130,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 122,9 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 114,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 113,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 62,4 ($\text{HOCH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$), 44,9 (CH_3), 42,9 ($\text{HOCH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$)

5.7.3 4-Dimethylamino-N-2-methacryloyloxyethyl-1,8-Naphthalsäureimid (3)



4-Dimethylamino-N-2-hydroxyethyl-1,8-Naphthalsäureimid **8** (500 mg, 1,76 mmol) und Triethylamin (1 ml, $\rho = 0,73 \text{ g mL}^{-1}$, 7,04 mmol) wurden in Dichlormethan vorgelegt und bei $0 \text{ }^\circ\text{C}$ wurde vorsichtig Methacrylsäurechlorid (0,34 ml, $\rho = 1,08 \text{ g mL}^{-1}$, 3,52 mmol) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in wenig Aceton gelöst. Diese Lösung wurde auf Wasser gegossen und der entstehende gelbe Feststoff abfiltriert.

Ausbeute: 620 mg (1,76 mmol, 99 %)

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$

Schmelzpunkt: $108 \text{ }^\circ\text{C}$

HRMS(ESI): berechnet: 353,1501 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 353,1471 $[\text{M}+\text{H}]^+$

EA: berechnet: C = 68,17 %, H = 5,72 %, N = 7,95 %, gefunden: C = 67,04 %, H = 5,73 %, N = 8,08 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 2956 $\nu(\text{CH}_2)$, 2796 $\nu(\text{CH}_2)$, 1719 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{Imid}}$, 1693 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{Imid}}$, 1654 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{methacryl}}$, 1582 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatisch}}$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm) $\delta = 8,57$ (dd, $J^1=7,3 \text{ Hz}$, $J^2 = 1,1 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 8,50 – 8,43 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,69 – 7,64 (m, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,12 (d, $J=8,2 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,06 (s, 1H, $\text{C}=\text{CH}_2$, Methacrylgruppe), 5,50 (s, 1H, $\text{C}=\text{CH}_2$, Methacrylgruppe), 4,57 – 4,46 (m, 4H, N- CH_2 - CH_2 -O-), 3,11 (s, 6H, -N- CH_3), 1,87 (s, 3H, $=\text{C}-\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm) $\delta = 167,4$ ($\text{CO}_{\text{Methacrylgruppe}}$), 164,7 (CO_{Imid}), 164,1 (CO_{Imid}), 157,2 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 136,3 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{CH}_2$), 132,8 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 131,4 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 131,2 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 130,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,7 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 123,1 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{CH}_2$), 115,1 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 113,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 62,2 ($\text{COO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$), 44,9 (N- CH_3), 38,8 ($\text{COO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$), 18,3 (CH_3 , Methacrylgruppe)

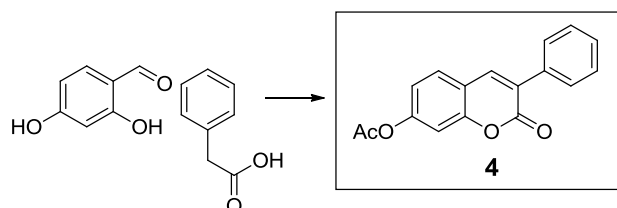
5.7.3.1 Optische spektroskopische Daten zu (3) in Chloroform

$$\lambda_{\text{abs}} = 418 \text{ nm } (\epsilon = 1,3 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$$

$$\lambda_{\text{em}} = 506 \text{ nm}$$

$$\Phi_f = 70 \% (\lambda_{\text{ex}} = 418 \text{ nm})$$

5.7.4 2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl-acetat (4) (3-Phenyl-7-acetyl-cumarin)



2,4-Dihydroxybenzaldehyd (10,00 g, 72,4 mmol), Phenyllessigsäure (9,86 g, 72,4 mmol) und Natriumacetat (11,86 g, 144,8 mmol) wurden in 100 ml Essigsäureanhydrid bei 160 °C über Nacht gerührt. Der aus der abgekühlten Reaktionslösung ausfallende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet. Es wurden nadelartige, beige Kristalle erhalten.

Ausbeute: 12,22 g (43,9 mmol, 60 %)

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_4$

Schmelzpunkt: 189 °C (Lit.: 187-188 °C)^[231]

HRMS (ESI): berechnet: 281,0814 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 281,0839 $[\text{M}+\text{H}]^+$

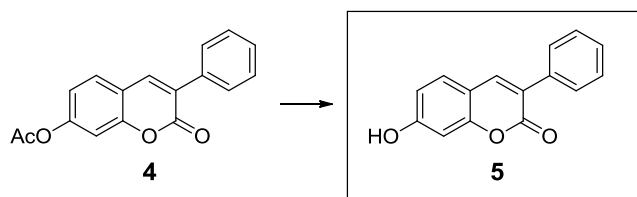
EA: berechnet: C = 72,85 %, H = 4,32 %, gefunden: C = 72,67 %, H = 4,17 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 1760 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{Acetylgruppe}}$, 1717 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{Lakton}}$, 1616 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatisch}}$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 7,80$ (s, 1H, C=CH), 7,69 (dd, $J^1=8,0$ Hz, $J^2=1,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,55 (d, $J=8,5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,49-7,41 (m, 3H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,16 (d, $J=2,2$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,08 (dd, $J^1=8,4$ Hz, $J^2=2,2$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 2,35 (s, 3H, CH_3CO)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 168,8$ ($\text{CO}_{\text{Acetylgruppe}}$), 160,3 ($\text{CO}_{\text{Lakton}}$), 154,2 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 152,9 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 139,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 134,6 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 129,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 128,7 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 128,6 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 127,9 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 118,6 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 117,6 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 110,1 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 21,2 (CH_3 , Acetylgruppe)

5.7.5 7-Hydroxy-3-phenyl-2H-chromen-2-on (5) (7-Hydroxy-3-phenyl-cumarin)



2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl-acetat **4** (4,00 g, 14,38 mmol) wurde in 68 ml Aceton und 6,8 ml 3M Salzsäure gelöst und für 6 h auf 100 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der weiße Feststoff aus Ethanol umkristallisiert. Weiße, plättchenartige Kristalle wurden erhalten.

Ausbeute: 3,41 g (14,3 mmol, 99 %)

Summenformel: C₁₅H₁₀O₃

Schmelzpunkt: 214 °C (Lit.: 212-213 °C)^[232]

HRMS (ESI): berechnet: 239,0708 [M+H]⁺, gefunden: 239,0730[M+H]⁺

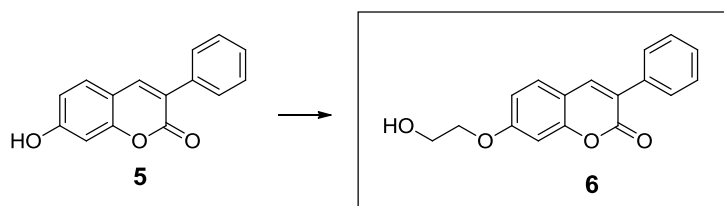
EA: berechnet: C = 75,62 %, H = 4,23 %, gefunden: C = 75,51 %, H = 4,06 %

IR (cm⁻¹) ausgewählte Banden: 3212 ν(OH)_{Carboxyl}, 1674 ν(C=O)_{Lakton}, 1595 ν(C=C)_{aromatisch}

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆, ppm): δ = 10,64 (s, 1H, OH), 8,13 (s, 1H, C=CH), 7,74 – 7,64 (m, 2H, CH_{aromatisch}), 7,60 (d, J=8,5 Hz, 1H, CH_{aromatisch}), 7,46 – 7,34 (m, 3H, CH_{aromatisch}), 6,82 (dd, J¹=8.5 Hz, J²=2,3 Hz, 1H, CH_{aromatisch}), 6,76 (d, J=2,2 Hz, 1H, CH_{aromatisch})

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆, ppm): δ = 161,2 (C_{Lakton}), 160,1 (C_{Phenol}), 154,9 (C_{aromatisch}), 141,1 (C_{aromatisch}), 135,1 (C_{aromatisch}), 130,0 (C_{aromatisch}), 128,3 (C_{aromatisch}), 128,2 (C_{aromatisch}), 128,0 (C_{aromatisch}), 122,2 (C_{aromatisch}), 113,4 (C_{aromatisch}), 112,0 (C_{aromatisch}), 101,7 (C_{aromatisch})

5.7.6 7-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenyl-2H-chromen-2-on (6) (7-(2-Hydroxyethoxy-3-phenyl-cumarin))



7-Hydroxy-3-phenyl-2H-chromen-2-on **5** (710 mg, 2,98 mmol), Bromethanol (0,44 ml, $\rho = 1,76 \text{ g mL}^{-1}$, 4,47 mmol) und Kaliumcarbonat (1,64 g, 11,92 mmol) wurden in 50 ml DMF gelöst und über Nacht auf 100°C erhitzt. Die abgekühlte Reaktionslösung wurde auf 0 °C, 3 M Salzsäure gegossen. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Rohprodukt per Flash-Säulenchromatographie (Eluent: Ethylacetat:Petrolether, 1:2) aufgereinigt. Es wurden weiße, plättchenartige Kristalle erhalten.

Ausbeute: 520 mg (1,84 mmol, 61 %)

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4$

Schmelzpunkt: 207 °C

MS (ESI): berechnet: 283,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 283,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 305,07 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

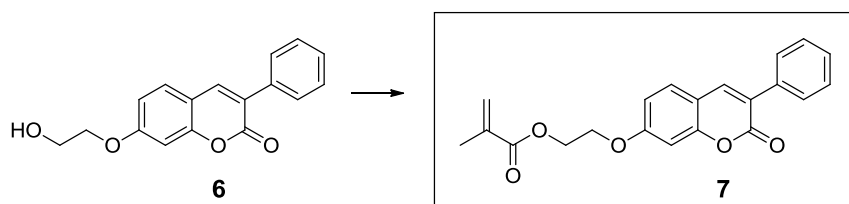
EA: berechnet: C = 72,33 %, H = 5,00 %, gefunden: C = 72,05 %, H = 4,97 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 3318 $\nu(\text{OH})_{\text{Carboxyl}}$, 2918 $\nu(\text{CH}_2)$, 1715,2 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{Lakton}}$, 1608 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatisch}}$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 7,77$ (s, 1H, C=CH), 7,73 – 7,67 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,50 – 7,34 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,94 – 6,86 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 4,19 – 4,14 (m, 2H, CH_2), 4,05 – 4,00 (m, 2H, CH_2)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 161,1$ ($\text{CO}_{\text{Lakton}}$), 160,9 ($\text{C-OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 155,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 140,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 135,1 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 129,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 128,6 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 128,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 128,5 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 125,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 113,8 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 113,1 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 101,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 69,9 ($\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 61,3 ($\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$)

5.7.7 2-((2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl)oxy)ethyl-methacrylat (7) (2-((-3-phenyl-cumarin-7-yl)oxy)ethyl-methacrylat)



7-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenyl-2H-chromen-2-on **6** (500 mg, 1,77 mmol), Triethylamin (1,5 ml, $\rho = 0,73 \text{ g mL}^{-1}$, 10,62 mmol) und 4-Dimethylaminopyridin wurden in 100 ml Dichlormethan gelöst. Zu dieser Reaktionslösung wurde Methacryloylchlorid (0,51 ml, $\rho = 1.08 \text{ g mL}^{-1}$, 5,31 mmol) bei 0°C zugetropft. Die Reaktion wurde per Dünnschichtchromatographie überwacht. Nach beendeter Reaktion (ca. 2 h) wurden 10 ml Wasser zur Reaktionslösung gegeben, die organische Phase dreimal mit Wasser (jeweils 20 ml) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde per Flash-Säulenchromatographie (Eluent: Ethylacetat:Petrolether, 1:2) aufgereinigt und ein weißes Pulver erhalten.

Ausbeute: 610 mg (1,74 mmol, 98 %)

Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5$

Schmelzpunkt: 106°C

HRMS (ESI): berechnet: 251,1232 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 251,1202 $[\text{M}+\text{H}]^+$

EA: berechnet: C = 71,99 %, H = 5,18 %, gefunden: C = 72,33 % (71,99 %, H = 5,18 %)

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 1717 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1610 $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatisch}}$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 7,77$ (s, 1H, C=CH), 7,73 – 7,67 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 7,47 – 7,36 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,92 – 6,85 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,17 – 6,15 (m, 1H, C=CH₂, Methacrylgruppe), 5,63 – 5,61 (m, 1H, C=CH₂, Methacrylgruppe), 4,56 – 4,53 (m, 2H, CH₂), 4,32 – 4,29 (m, 2H, CH₂), 1,97 (m, 3H, CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 167,4$ (CO_{Methacrylgruppe}), 161,7 (CO_{Lakton}), 160,9 (C-OCH₂CH₂OOC), 155,4 (C_{aromatisch}), 140,0 (C_{aromatisch}), 135,2 (CH₃-C=CH₂), 129,1 (C_{aromatisch}), 128,6 (C_{aromatisch}), 126,4 (CH₃-C=CH₂), 125,4 (C_{aromatisch}), 113,9 (C_{aromatisch}), 113,2 (C_{aromatisch}), 101,5 (C_{aromatisch}), 66,7 (C-OCH₂-CH₂OOC), 62,8 (C-OCH₂-CH₂OOC), 18,4 (CH₃)

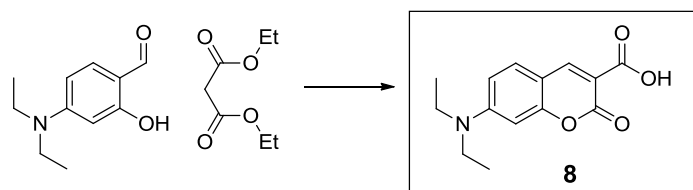
5.7.7.1 Optische spektroskopische Daten zu (7) in Chloroform

$$\lambda_{\text{abs}} = 341 \text{ nm } (\epsilon = 2,0 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$$

$$\lambda_{\text{em}} = 421 \text{ nm}$$

$$\Phi_f = 100 \% (\lambda_{\text{ex}} = 341 \text{ nm})$$

5.7.8 7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-3-carbonsäure (8) (7-(Diethylamino)-3-carboxy-cumarin)



4-Diethylaminosalicylaldehyd (3,86 g, 0,02 mmol), Diethylmalonat (6,4 g, $\rho = 1,06 \text{ g mL}^{-1}$, 0,04 mmol) und Piperidin (82 ml) wurden in 60 ml Ethanol 10 h bei 120°C gerührt. Der auf RT abgekühlten Reaktionslösung wurden 60 ml 2 M Natriumhydroxydlösung zugesetzt und anschließend 30 min bei 120 °C gerührt. Unter Eisbadkühlung wurde die Reaktionslösung mit Salzsäure auf ca. pH 2 angesäuert. Der orange Niederschlag wurde abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Es wurden orange Kristalle erhalten.

Ausbeute: 2,89 g (11,06 mmol, 55 %)

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_4$

Schmelzpunkt: 230 °C

HRMS (ESI): berechnet: 262,1079 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 284,0899, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ gefunden: 262,1092 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 284,0924 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

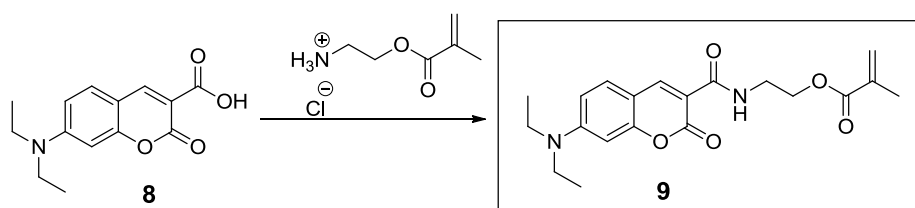
EA: berechnet: C = 64,36 %, H = 5,79 %, N = 5,36 %, gefunden: C = 64,03 %, H = 5,60 %, N = 5,79 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 2982 $\nu(\text{CH}_2)$, 2935 $\nu(\text{CH}_2)$, 1737 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1669 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1611 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1582 $\nu(\text{C}=\text{C})$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 12,35$ (s, 1H, OH), 8,65 (s, 1H, C=CH), 7,45 (d, J = 9,0 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,71 (dd, $J^1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J^2 = 2,4 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,53 (d, J = 2,2 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 3,50 (q, J = 7,1 Hz, 4H, CH_2), 1,27 (t, J = 7,1 Hz, 6H, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 165,6$ (COOH), 164,5 (CO_{Lakton}), 158,2 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 153,9 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 150,4 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 132,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 111,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 108,7 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 105,8 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 97,0 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 45,4 (CH_2), 12,5 (CH_3)

**5.7.9 2-(7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromene-3-carbonsäureamido)ethyl-methacrylat
(9)**



7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-3-carbonsäure **8** (1.00 g, 3,83 mmol) wurde in Pyridin vorgelegt und zu dieser Reaktionslösung vorsichtig Thionylchlorid (0,33 ml, $\rho = 1,64 \text{ g mL}^{-1}$, 4,59 mmol) getropft. Die Reaktionslösung färbte sich dabei von grün über rot nach tief-schwarz. Nach einstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde 2-Aminoethylmethacrylat Hydrochlorid (755 mg, 4,67 mmol) in einer Portion zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in Aceton gelöst und auf Wasser gegossen. Es bildete sich ein gelber Feststoff, welcher abfiltriert wurde.

Ausbeute: 1,28 g (3,31 mmol, 86 %)

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$

Schmelzpunkt: 103 °C

HRMS(ESI): berechnet: 373,1763 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 373,1735 $[\text{M}+\text{H}]^+$

EA: berechnet: C = 64,5 %, H = 6,5 %, N = 7,52 %, gefunden: C = 62,9 %, H = 6,25 %, N = 7,55 %

IR (cm^{-1}) ausgewählte Banden: 3334 $\nu(\text{NH})$, 2975 $\nu(\text{CH}_2)$, 2926 $\nu(\text{CH}_2)$, 1698 $\nu(\text{C}=\text{O})$, 1650 $\delta(\text{NH})$, 1616 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1583 $\nu(\text{C}=\text{C})$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 9,08$ (s, 1H, CONH), 8,70 (s, 1H, C=CH), 7,43 (d, J = 9,0 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,65 (d, J = 9,0 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,50 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{aromatisch}}$), 6,20 (s, 1H, C=CH₂, Methacrylgruppe), 5,60 (s, 1H, C=CH₂, Methacrylgruppe), 4,32 (t, J = 5,5 Hz, 2H, CH₂), 3,76 (q, J = 5,6 Hz, 2H, CH₂), 3,46 (q, J = 7,1, 4H, CH₂), 1,98 (s, 3H, CH₃, Methacrylgruppe), 1,24 (t, J = 7,1, 6H, CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm) $\delta = 167,4$ ($\text{CO}_{\text{Methacrylgruppe}}$), 163,5 (CO_{Amid}), 162,9 ($\text{CO}_{\text{Lakton}}$), 157,9 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 152,8 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 148,4 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 136,3 (CH₃-C=CH₂), 131,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 126,2 (CH₃-C=CH₂), 110,3 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 110,2 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 108,6 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 96,8 ($\text{C}_{\text{aromatisch}}$), 63,6 (CONH-CH₂-CH₂-COO), 45,3 (CH₂, Ethylgruppe), 38,6 (CONH-CH₂-CH₂-COO), 18,5 (CH₃, Methacrylgruppe), 12,6 (CH₃, Ethylgruppe)

5.7.9.1 Optische spektroskopische Daten zu (9) in Chloroform

$$\lambda_{\text{abs}} = 420 \text{ nm } (\varepsilon = 3,5 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$$

$$\lambda_{\text{em}} = 449 \text{ nm}$$

$$\Phi_f = 75 \% (\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm})$$

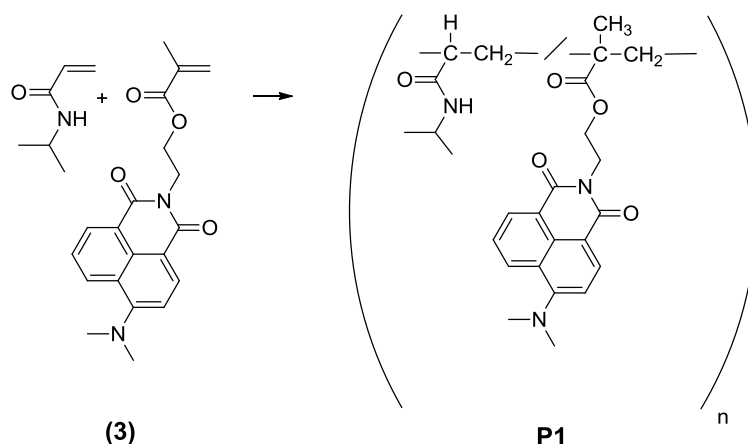
5.7.10 Generelles Syntheseprotokoll für die Synthese von NIPAm-Copolymeren

Das Farbstoffmonomer oder die Farbstoffmonomere und NIPAm wurden in DMF oder Ethanol (10 - 15 Gew.-%) gelöst. Der Kolben wurde mit einem Septum verschlossen und diese Lösung 30 min mit trockenem Stickstoff von Sauerstoff befreit, auf 65 °C erwärmt und 16-22 h bei dieser Temperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in Aceton gelöst und anschließend in Diethylether gefällt. Der entstehende Feststoff wurde abfiltriert und wieder in Aceton gelöst. Das entstehende pNIPAm wurde so oft wieder gelöst und gefällt, bis die Diethyletherlösung farblos blieb, jedoch mindestens 3x. Anschließend wurde das pNIPAm getrocknet und ein pulveriger Feststoff erhalten.

5.7.11 Generelles Syntheseprotokoll für die Synthese von MEO₂A- und OEGMA-Copolymeren

Das Farbstoffmonomer oder die Farbstoffmonomere, OEGMA₄₇₅ und MEO₂MA oder MEO₂A wurden in DMF (10 – 15 Gew.-%) gelöst. Der Kolben wurde mit einem Septum verschlossen und diese Lösung 30 min mit trockenem Stickstoff durchspült, auf 65 °C erwärmt und 16-22 h bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit deionisiertem Wasser versetzt und gegen deionisiertes Wasser eine Woche dialysiert (Roth, ZelluTrans Membran, MWCO 4000-6000). Das gereinigte Polymer wurde durch Gefriertrocknung vom Lösungsmittel befreit und es wurde ein klebstoffartiges Gel erhalten.

5.7.12 poly[NIPAm-co-(3)] P1



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
NIPAm ($M_r = 113 \text{ g mol}^{-1}$)	100	1,50 g
(3) ($M_r = 352 \text{ g mol}^{-1}$)	0,25	11 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	0,4	6,5 mg
Ethanol		10 ml

5.7.12.1 Polymeranalytik zu P1

Ausbeute: 451 mg, 30 %

Molekulare Zusammensetzung ($^1\text{H-NMR}$): NIPAm : (3) = 100 : x (im NMR keine Signale sichtbar)

Farbstoffgehalt (UV-vis): 0,45 Gew.-% \cong 0,15 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$): 30000 g mol^{-1}

PDI: 2,4

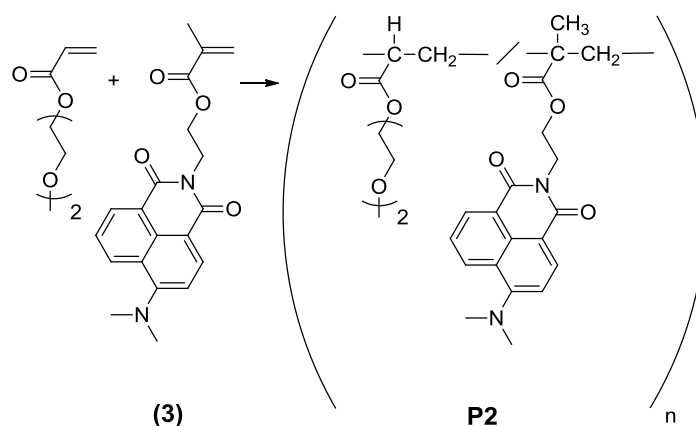
Trübungspunkt: On-Set: $29,0 \text{ }^\circ\text{C}$, T(50 %): $30,3 \text{ }^\circ\text{C}$

$M_{r,0}$: $113,16 \text{ g mol}^{-1}$

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 265

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 0,4

5.7.13 poly[MEO₂A-co-(3)] P2



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
MEO ₂ A ($M_r = 130 \text{ g mol}^{-1}$)	100	1,00 g
(3) ($M_r = 352 \text{ g mol}^{-1}$)	1	20 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	1	9 mg
Ethanol		10 ml

5.7.13.1 Polymeranalytik zu P2

Ausbeute: 820 mg, 82 %

Molekulare Zusammensetzung (¹H-NMR): MEO₂A : (3) = 100 : 0,7

Farbstoffgehalt (UV-vis): 1,06 Gew.-% \cong 0,4 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n, \text{GPC}}^{\text{app}}$): 21000 g mol⁻¹

PDI: 1,9

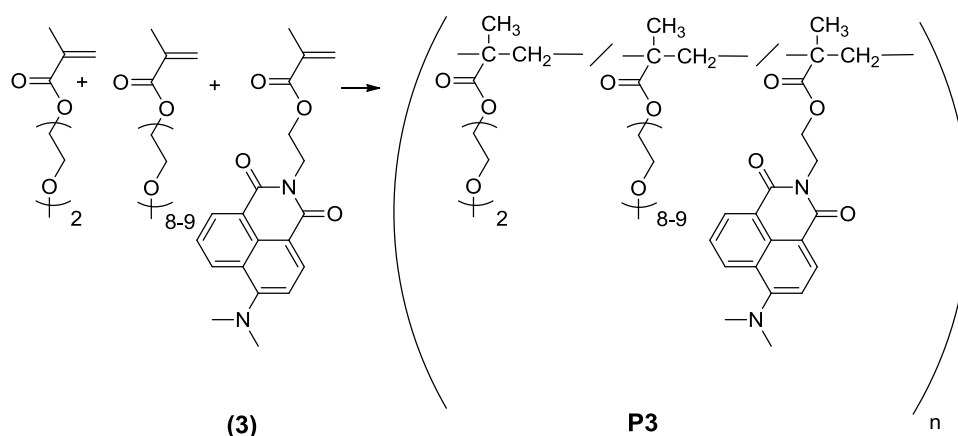
Trübungspunkt: On-Set: 33,6 °C, T(50 %): 36,4 °C

$M_{r, \emptyset}$: 131,54 g mol⁻¹

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 160

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 0,6

5.7.14 poly[OEGMA-co-(3)] P3



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
MEO ₂ MA ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	81	875 mg
OEGMA ($M_r = 475 \text{ g mol}^{-1}$)	19	555 mg
(3) ($M_r = 352 \text{ g mol}^{-1}$)	1	22 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	0,6	6,5 mg
Ethanol		8 ml

5.7.14.1 Polymeranalytik zu P3

Ausbeute: 1,26 g, 86 %

Molekulare Zusammensetzung (¹H-NMR): OEGMA : MEO₂MA : (3) = 20 : 80 : 0,8

Farbstoffgehalt (UV-vis): 0,79 Gew.-% \cong 0,5 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n, \text{GPC}}^{\text{app}}$): 59000 g mol⁻¹

PDI: 4,3

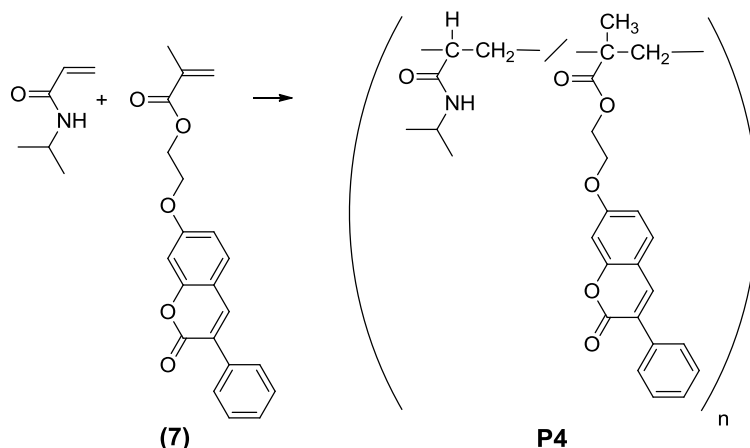
Trübungspunkt: On-Set: 43,9 °C, T(50 %): 45,0 °C

$M_{r, \emptyset}$: 227,19 g mol⁻¹

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 260

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 1,3

5.7.15 poly[NIPAm-co-(7)] P4



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
NIPAm ($M_r = 113 \text{ g mol}^{-1}$)	100	1,50 g
(7) ($M_r = 350 \text{ g mol}^{-1}$)	1	46 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	1,2	21 mg
Ethanol		10 ml

5.7.15.1 Polymeranalytik zu P4

Ausbeute: 1,01 g, 66 %

Molekulare Zusammensetzung ($^1\text{H-NMR}$): NIPAm : **(7)** = 100 : 0,8

Farbstoffgehalt (UV-vis): 2,3 Gew.-% \cong 0,76 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$): 24000 g mol^{-1}

PDI: 2,7

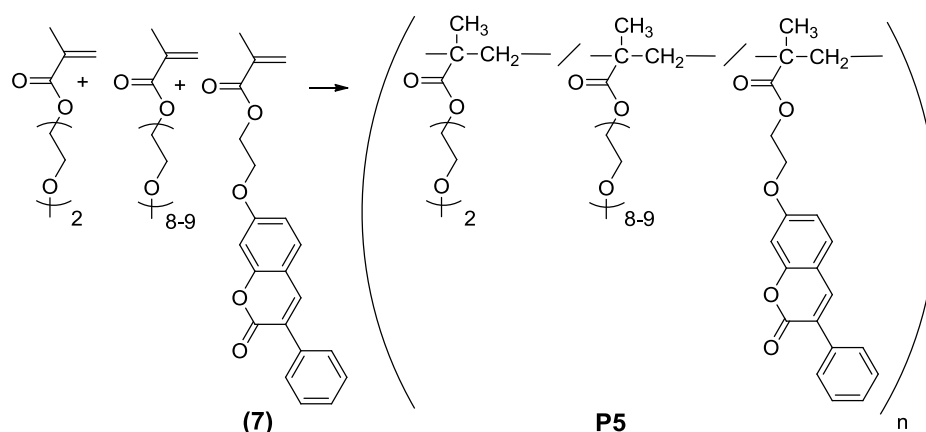
Trübungspunkt: On-Set: $27,9 \text{ }^\circ\text{C}$, T(50 %): $29,5 \text{ }^\circ\text{C}$

$M_{r,\emptyset}$: $114,66 \text{ g mol}^{-1}$

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 209

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 1,6

5.7.16 poly[OEGMA-co-(7)] P5



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
MEO ₂ MA ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	92	1,00 g
OEGMA ($M_r = 475 \text{ g mol}^{-1}$)	8	247 mg
(7) ($M_r = 350 \text{ g mol}^{-1}$)	1	23 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	1	13 mg
DMF		12 ml

5.7.16.1 Polymeranalytik zu P5

Ausbeute: 1,10 g, 85 %

Molekulare Zusammensetzung (¹H-NMR): OEGMA : MEO₂MA : (7) = 8 : 92 : 0,3

Farbstoffgehalt (UV-vis): 1 Gew.-% \cong 0,34 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n, \text{GPC}}^{\text{app}}$): 21000 g mol⁻¹

PDI: 3,0

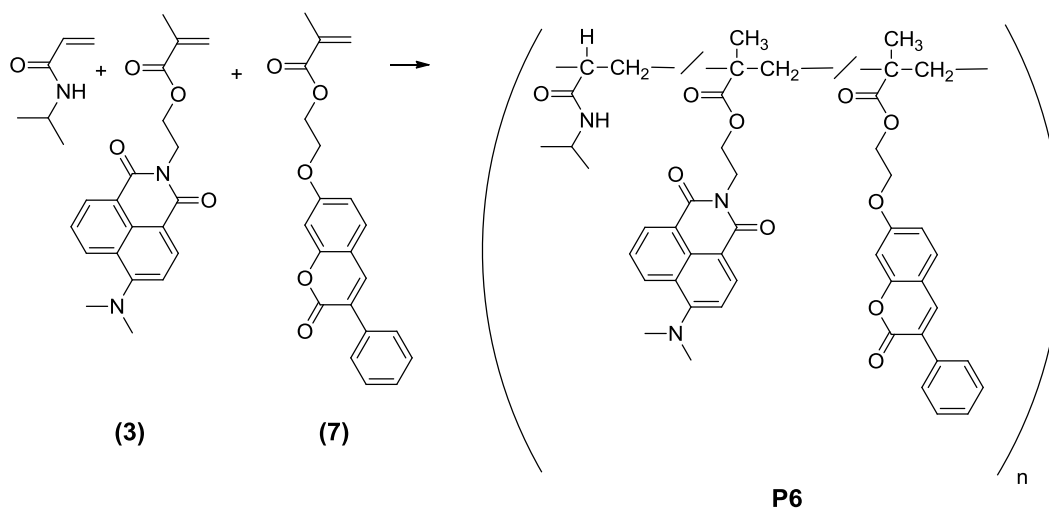
Trübungspunkt: On-Set: 29,0 °C, T(50 %): 30,6 °C

$M_{r, \emptyset}$: 189,36 g mol⁻¹

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 111

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 0,4

5.7.17 poly[NIPAm-co-(3)-co-(7)] P6



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
NIPAm ($M_r = 113 \text{ g mol}^{-1}$)	100	1,00 g
(7) ($M_r = 350 \text{ g mol}^{-1}$)	0,1	3,0 mg
(3) ($M_r = 352 \text{ g mol}^{-1}$)	0,1	3,1 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	1	14 mg
DMF		10 ml

5.7.17.1 Polymeranalytik zu P6

Ausbeute: 810 mg, 81 %

Molekulare Zusammensetzung ($^1\text{H-NMR}$): NIPAm : **(7)** : **(3)** = 100 : x : x (im NMR keine integrierbaren Signale sichtbar)

Farbstoffgehalt (UV-vis): 0,22 Gew.-% **(4)** \cong 0,07 mol %, 0,18 Gew.-% **(9)** \cong 0,06 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$): 24000 g mol^{-1}

PDI: 2,2

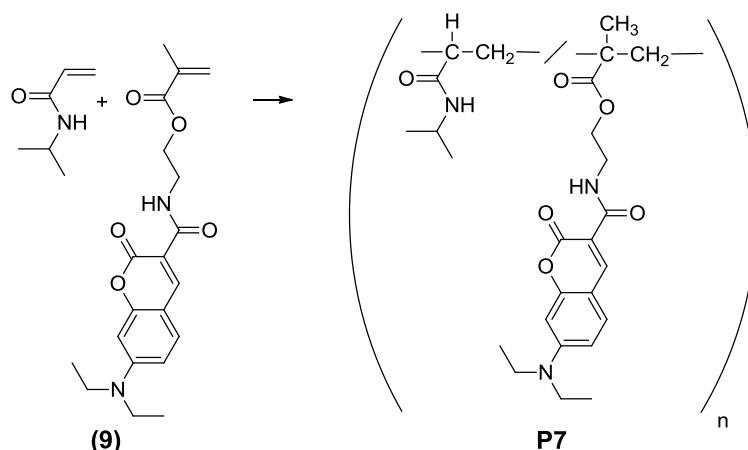
Trübungspunkt: On-Set: $28,3 \text{ }^\circ\text{C}$, T(50 %): $29,1 \text{ }^\circ\text{C}$

$M_{r,\emptyset}$: $113,16 \text{ g mol}^{-1}$

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 212

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 0,1 **(4)**, 0,1 **(9)**

5.7.18 poly[NIPAm-co-(9)] P7



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
NIPAm ($M_r = 113 \text{ g mol}^{-1}$)	100	1,00 g
(9) ($M_r = 372 \text{ g mol}^{-1}$)	1	34 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	1	14 mg
Ethanol		10 ml

5.7.18.1 Polymeranalytik zu P7

Ausbeute: 860 mg, 81 %

Molekulare Zusammensetzung ($^1\text{H-NMR}$): NIPAm : (9) = 100 : 0,9

Farbstoffgehalt (UV-vis): 3,4 Gew.-% \cong 1,1 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n,\text{GPC}}^{\text{app}}$): 23000 g mol^{-1}

PDI: 1,9

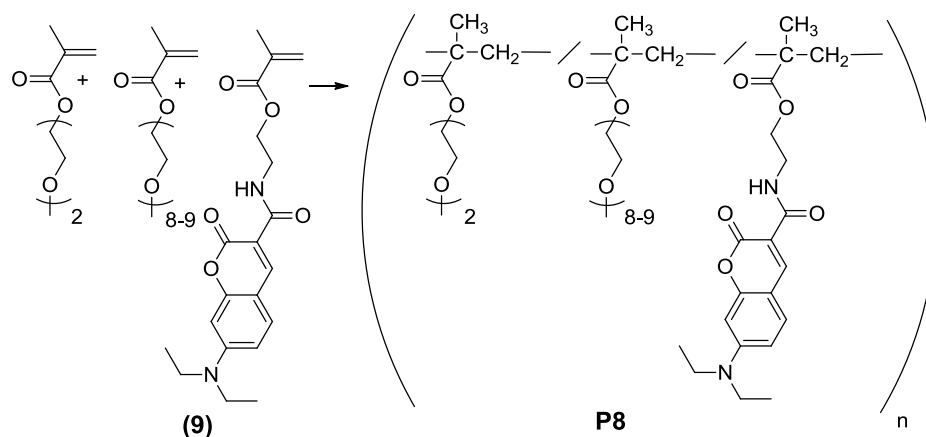
Trübungspunkt: On-Set: $20,3 \text{ }^\circ\text{C}$, T(50 %): $23,4 \text{ }^\circ\text{C}$

$M_{r,\emptyset}$: $116,34 \text{ g mol}^{-1}$

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 197

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 2,2

5.7.19 poly[OEGMA-co-(9)] P8



Substanz	Äquivalente	Masse/Volumen
MEO ₂ MA ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	81	875 mg
OEGMA ($M_r = 475 \text{ g mol}^{-1}$)	19	555 mg
(9) ($M_r = 372 \text{ g mol}^{-1}$)	1	24 mg
AiBN ($M_r = 164 \text{ g mol}^{-1}$)	1,2	13 mg
DMF		10 ml

5.7.19.1 Polymeranalytik zu P8

Ausbeute: 1,33 g, 90 %

Molekulare Zusammensetzung (¹H-NMR): OEGMA : MEO₂MA : (9) = 20 : 80 : 0,7

Farbstoffgehalt (UV-vis): 1,4 Gew.-% \cong 0,9 mol %

Scheinbare, zahlenmittlere molare Masse ($M_{n, \text{GPC}}^{\text{app}}$): 44000 g mol⁻¹

PDI: 2,5

Trübungspunkt: On-Set: 40,8 °C, T(50 %): 43,9 °C

$M_{r, \emptyset}$: 227,21 g mol⁻¹

$\overline{DP}_n^{\text{app}}$: 193

Durchschnittliche Chromophoranzahl pro Kette (UV-vis) (AC): 1,7

6. Anhang

6.1 Literaturverzeichnis

- [1] M. Beija, M. T. Charreyre, J. M. G. Martinho, *Prog. Polym. Sci.*, 2011, 36, 568–602
- [2] G. Moad, M. Chen, M. Haeussler, A. Postma, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polym. Chem.*, 2011, 2, 492–519
- [3] A. C. Grimsdale, K. L. Chan, R. E. Martin, P. G. Jokisz, A. B. Holmes, *Chem. Rev.*, 2009, 109, 897–1091
- [4] O. Nuyken, S. Jungermann, V. Wiederhirn, E. Bacher, K. Meerholz, *Monatsh. Chem.*, 2006, 137, 811–824
- [5] P. I. Shih, C. F. Shu, Y. L. Tung, Y. Chi, *Appl. Phys. Lett.*, 2006, 88, 251110
- [6] J. J. Lu, H. Li, B. Yao, B. Zhao, C. Weng, G. T. Lei, P. Shen, Z. Y. Xie, S. T. Tan, *J. Phys. Chem. B*, 2009, 113, 4203–420
- [7] Z. H. Lin, Y. D. Lin, C. Y. Wu, P. T. Chow, C. H. Sun, T. J. Chow, *Macromolecules*, 2010, 43, 5925–5931
- [8] M. Graetzel, *J. Photochem. Photobiol., C*, 2003, 4, 145–153
- [9] M. Graetzel, *Nature*, 2003, 421, 586–587
- [10] M. K. Nazeeruddin, E. Baranoff, M. Graetzel, *Sol. Energy*, 2011, 85, 1172–1178
- [11] X. Z. Liu, R. Zhu, Y. Zhang, B. Liu, S. Ramakrishna, *Chem. Commun.*, 2008, 3789–3791
- [12] W. Zhang, Z. Fang, M. J. Su, M. Saey, B. Liu, *Macromol. Rapid Commun.*, 2009, 30, 1533–1537
- [13] G. D. Sharma, P. Suresh, J. A. Mikroyannidis, *Synth. Met.*, 2010, 160, 1427–1432
- [14] K. Lee, L. K. Povlich, J. Kim, *Analyst*, 2010, 135, 2179–2189
- [15] D. T. McQuade, A. E. Pullen, T. M. Swager, *Chem. Rev.*, 2000, 100, 2537–2574
- [16] C. C. Yang, Y. Tian, C. Y. Chen, A. K. Y. Jen, W. C. Chen, *Macromol. Rapid Commun.*, 2007, 28, 894–899
- [17] D. Kungwatchakun, M. Irie, *Makromol. Chem. Rapid Comm.*, 1988, 9, 243–246
- [18] R. Kröger, H. Menzel, M. L. Hallensleben, *Macromol. Chem. Phys.*, 1994, 195, 2291–2298
- [19] A. S. Hoffman, A. Afrassiabi, L. C. Dong, *J. Contr. Release*, 1986, 4, 213–222
- [20] V. Aseyev, H. Tenhu, F. Winnik, *Adv. Polym. Sci.*, 2011, 242, 29–89
- [21] Y. Zhao, L. Tremblay, Y. Zhao, *Macromolecules*, 2011, 44, 4007–4011

- [22] Y. Jia, X. X. Zhu, L. Liu, J. Li, *Langmuir*, 2012, 28, 4500-4506
- [23] P. Mi, L.-Y. Chu, X.-J. Ju, C. H. Niu, *Macromol. Rapid Comm.*, 2008, 29, 27-32
- [24] D. Schmaljohann, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2006, 58, 1655-1670
- [25] D. Li, Q. He, Y. Yang, H. Möhwald, J. Li, *Macromolecules*, 2008, 41, 7254-7256
- [26] C. Pietsch, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, 48, 5653-5656
- [27] J. Buller, A. Laschewsky, J. Lutz, E. Wischerhoff, *Polym. Chem.*, 2011, 2, 1486-1489
- [28] J.-F. Lutz, *J. Polym. Sci; Part A: Polym. Chem.*, 2008, 46, 3459-3470
- [29] S. Uchiyama, Y. Matsumura, A. P. de Silva, K. Iwai, *Anal. Chem.*, 2003, 75, 5926-5935
- [30] C. Gota, S. Uchiyama, T. Yoshihara, S. Tobita, T. Ohwada, *J. Phys. Chem. B*, 2008, 112, 2829-2836
- [31] S. Uchiyama, Y. Matsumura, A. P. de Silva, K. Iwai, *Anal. Chem.*, 2004, 76, 1793-1798
- [32] K. Iwai, Y. Matsumura, S. Uchiyama, A. P. de Silva, *J. Mater. Chem.*, 2005, 15, 2796-2800
- [33] S. Uchiyama, N. Kawai, A. P. de Silva, K. Iwai, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 3032-3033
- [34] C. Gota, S. Uchiyama, T. Ohwada, *Analyst*, 2007, 132, 121-126.
- [35] C. Gota, K. Okabe, T. Funatsu, Y. Harada, S. Uchiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 2766-2767
- [36] Y. Matsumura, K. Iwai, *J. Colloid Interface Sci.*, 2006, 296, 102-109
- [37] S. Uchiyama, Y. Makino, *Chem. Commun.*, 2009, 2646-2648
- [38] M. Onoda, S. Uchiyama, T. Ohwada, *Macromolecules*, 2007, 40, 9651-9657
- [39] I. Thivaios, I. Diamantis, G. Bokias, J. K. Kallitsis, *Eur. Polym. J.*, 2012, 48, 1856-1265
- [40] Z. Guo, W. Zhu, Y. Xiong, H. Tien, *Macromolecules*, 2009, 42, 1448-1453
- [41] D. Wang, R. Miyamoto, Y. Shiraishi, T. Hirai, *Langmuir*, 2009, 25, 13176-13182
- [42] A. Nagai, K. Kokado, J. Miyake, Y. Chujo, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2010, 48, 627-634
- [43] R. Paris, I. Quijada-Garrido, O. Garcia, M. Liras, *Macromolecules*, 2011, 44, 80-86
- [44] A. Nagai, R. Yoshii, T. Otsuka, K. Kokado, Y. Chujo, *Langmuir*, 2010, 26, 15644-15649
- [45] Y. Shiraishi, R. Miyamoto, T. Hirai, *Langmuir*, 2008, 24, 4273-4279
- [46] C.-Y. Chen, C.-T. Chen, *Chem. Commun.*, 2011, 47, 994-996
- [47] V. N. Knyukshto, Y. S. Avlasevich, O. G. Kulinkovich, K. N. Solovyov, *J. Fluoresc.*, 1999, 9, 371-378

- [48] Y. S. Avlasevich, T. A. Chevtchouk, V. N. Knyukshto, O. G. Kulinkovich, K. N. Solovyov, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2000, 4, 579–587
- [49] Y. S. Avlasevich, V. N. Knyukshto, O. G. Kulinkovich, K. N. Solovyov, *J. Appl. Spectrosc.*, 2000, 67, 663–669
- [50] Y. S. Avlasevich, O. G. Kulinkovich, V. N. Knyukshto, A. P. Losev, K. N. Solovyov, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 1997, 39, 1155–1162, übersetzt aus: *Vysokomol. Soedin. A*, 1997, 1139, 1740–1748
- [51] S.-I. Yusa, T. Endo, M. Ito, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2009, 47, 6827–6838
- [52] Y. Shiraishi, R. Miyamoto, X. Zhang, T. Hirai, *Org. Lett.*, 2007, 9, 3921–3924
- [53] Y. Shiraishi, R. Miyamoto, T. Hirai, *J. Photochem. Photobiol., A*, 2008, 200, 432–437
- [54] J. Hu, C. Li, S. Liu, *Langmuir*, 2010, 26, 724–729
- [55] L. Tang, J. K. Jin, A. J. Qin, W. Z. Yuan, Y. Mao, J. Mei, J. Z. Sun, B. Z. Tang, *Chem. Commun.*, 2009, 4974–4976
- [56] S. Y. Li, C. H. Li, *J. Mater. Chem.*, 2010, 20, 10716–10723
- [57] C. C. Yang, Y. Tian, A. K. Y. Jen, W. C. Chen, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2006, 44, 5495–5504
- [58] W. Z. Wang, R. Wang, C. Zhang, S. Lu, T. X. Liu, *Polymer*, 2009, 50, 1236–1245
- [59] S.-H. Kim, I.-J. Hwang, S.-Y. Gwon, Y.-A. Son, *Dyes Pigm.*, 2010, 87, 84–88
- [60] Z. Q. Guo, W. H. Zhu, Y. Y. Xiong, H. Tian, *Macromolecules*, 2009, 42, 1448–1453
- [61] H. G. Schild, D. A. Tirrell, *Macromolecules*, 1992, 25, 4553–4558
- [62] W. Zhang, Z. Zhang, Z. Cheng, Y. Tu, Y. Qiu, X. Zhu, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2010, 48, 4268–4278
- [63] Q. Yan, J. Y. Yuan, W. Z. Yuan, M. Zhou, Y. W. Yin, C. Y. Pan, *Chem. Commun.*, 2008, 6188–6190
- [64] Y. Shiraishi, R. Miyamoto, T. Hirai, *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, 6660–6664.
- [65] T. Liu, J. Hu, J. Yin, Y. Zhang, C. Li, S. Liu, *Chem. Mater.*, 2009, 21, 3439–3446
- [66] Y. Y. Li, H. Cheng, J. L. Zhu, L. Yuan, Y. Dai, S. X. Cheng, X. Z. Zhang, R. X. Zhuo, *Adv. Mater.*, 2009, 21, 2402–2406
- [67] J. Yin, X. F. Guan, D. Wang, S. Y. Liu, *Langmuir*, 2009, 25, 11367–11374
- [68] F. M. Winnik, *Polymer*, 1990, 31, 2125–2134
- [69] H. Ringsdorf, J. Simon, F. M. Winnik, *Macromolecules*, 1992, 25, 7306–7312
- [70] F. M. Winnik, *Macromolecules*, 1990, 23, 233–242
- [71] H. Ringsdorf, J. Venzmer, F. M. Winnik, *Macromolecules*, 1991, 24, 1678–1686
- [72] F. M. Winnik, H. Ringsdorf, J. Venzmer, *Langmuir*, 1991, 7, 912–917

- [73] F. M. Winnik, M. F. Ottaviani, S. H. Bossman, W. S. Pan, M. Garciagaribay, N. J. Turro, *J. Phys. Chem.*, 1993, 97, 12998–13005.
- [74] M. F. Ottaviani, F. M. Winnik, S. H. Bossmann, N. J. Turro, *Helv. Chim. Acta*, 2001, 84, 2476–2492
- [75] P. Kujawa, V. Aseyev, H. Tenhu, F. M. Winnik, *Macromolecules*, 2006, 39, 7686–7693
- [76] F. M. Winnik, N. Tamai, J. Yonezawa, Y. Nishimura, I. Yamazaki, *J. Phys. Chem.*, 1992, 96, 1967–1972
- [77] F. M. Winnik, *Macromolecules*, 1989, 22, 734–742
- [78] S. W. Hong, D. Y. Kim, J. U. Lee, W. H. Jo, *Macromolecules*, 2009, 42, 2756–2761
- [79] A. Laukkanen, F. M. Winnik, H. Tenhu, *Macromolecules*, 2005, 38, 2439–2448
- [80] A. Laukkanen, L. Valtola, F. M. Winnik, H. Tenhu, *Polymer*, 2005, 46, 7055–7065
- [81] C. Pietsch, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Polym. Chem.*, 2010, 1, 1005–1008
- [82] C. Pietsch, A. Vollrath, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Sensors*, 2010, 10, 7979–7990
- [83] Q. Duan, Y. Miura, A. Narumi, X. Shen, S.-I. Sato, T. Satoh, T. Kakuchi, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2006, 44, 1117–1124.
- [84] J. Rao, J. Xu, S. Luo, S. Liu, *Langmuir*, 2007, 23, 11857–11865.
- [85] X. W. Zhang, X. M. Lian, L. Liu, J. Zhang, H. Y. Zhao, *Macromolecules*, 2008, 41, 7863–7869
- [86] S. Y. Lee, S. Lee, I. C. Youn, D. K. Yi, Y. T. Lim, B. H. Chung, J. F. Leary, I. C. Kwon, K. Kim, K. Choi, *Chem.–Eur. J.*, 2009, 15, 6103–6106
- [87] K. Iwai, N. Matsumoto, M. Niki, M. Yamamoto, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 1998, 315, 53–58
- [88] K. Iwai, K. Hanasaki, M. Yamamoto, *J. Lumin.*, 2000, 87–89, 1289–1291.
- [89] Y. Matsumura, K. Iwai, *Polymer*, 2005, 46, 10027–10034.
- [90] Y. Matsumura, A. Katoh, *J. Lumin.*, 2008, 128, 625–630
- [91] B. Elmas, S. Senel, A. Tuncel, *React. Funct. Polym.*, 2007, 67, 87–96
- [92] G. Pasparakis, M. Vamvakaki, N. Krasnogor, C. Alexander, *Soft Matter*, 2009, 5, 3839–3841
- [93] H. Kobayashi, M. Nishikawa, C. Sakamoto, T. Nishio, H. Kanazawa, T. Okano, *Anal. Sci.*, 2009, 25, 1043–1047
- [94] X. J. Lu, L. F. Zhang, L. Z. Meng, Y. H. Liu, *Polym. Bull.*, 2007, 59, 195–206.
- [95] X. Guan, X. Liu, Z. Su, *Eur. Polym. J.*, 2007, 43, 3094–3105
- [96] M. Vert, Y. Doi, K.-H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, K. Przemyslaw, M. Rinaudo, F. Schué, *Pure Appl. Chem.*, 2012, 84, 377–410

- [97] A. Lendlein, S. Kelch, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, 41, 2034-2057
- [98] E. Smela, *Adv. Mater.*, 2003, 15, 481-494
- [99] W. T. S. Huck, *Mater. Today*, 2008, 11, 24-32
- [100] Y. Lu, S. Proch, M. Schrunner, M. Drechsler, R. Kempe, M. Ballauff, *J. Mater. Chem.*, 2009, 19, 3955-3961
- [101] N. Zhang, S. Salzinger, B. Rieger, *Macromolecules*, 2012, 45, 9751-9758
- [102] W. Gao, D. Xu, D. W. Lim, S. L. Craig, A. Chilkoti, *Polymer Chemistry*, 2011, 2, 1561-1566
- [103] J. W. Robinson, C. Secker, S. Weidner und H. Schlaad, *Macromolecules*, 2013, 46, 580-587
- [104] D. Zhang, S. H. Lahasky, L. Guo, C.-U. Lee, M. Lavan, *Macromolecules*, 2012, 45, 5833-5841
- [105] E. Djokpé, W. Vogt, *Macromol. Chem. Phys.*, 2001, 202, 750-757
- [106] A. Suzuki, S. Kojima, *J. Chem. Phys.*, 1994, 101, 10003 - 10008
- [107] Y. Zhang, S. Furyk, D. E. Bergbreiter, P. S. Cremer, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 14505-14510
- [108] C. Hofmann, M. Schönhoff, *Colloid Polymer Sci.*, 2009, 287, 1369-1376
- [109] F. A. Plamper, A. A. Steinschulte, C. H. Hofmann, N. Drude, O. Mergel, C. Herbert, M. Erberich, B. Schulte, R. Winter, W. Richtering, *Macromolecules*, 2012, 45, 8021-8026
- [110] A. K. Tucker, M. J. Stevens, *Macromolecules*, 2012, 45, 6697-6703
- [111] H. Kitano, T. Hirabayashi, M. Gemmei-Die, M. Kyogoku, *Macromol. Chem. Phys.*, 2004, 205, 1651-1659
- [112] J.-F. Lutz, K. Weichenhan, Ö. Akdemir, A. Hoth, *Macromolecules*, 2007, 40, 2503-2508
- [113] S.-I. Yamamoto, J. Pietrasik, K. Matyjaszewski, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, 2008, 46, 194-202
- [114] C. Pietsch, M. W. M. Fijten, H. M. L. Lambermont-Thijs, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, 2009, 47, 2811-2820
- [115] B. H. Lessard, E. J. Y. Ling, M. Marić, *Macromolecules*, 2012, 45, 1879-1891
- [116] S. Sun, P. Wu, *Macromolecules*, 2012, 46, 236-246
- [117] B. Trzebicka, D. Szweda, S. Rangelov, A. Kowalczyk, B. Mendrek, A. Utrata-Wesołek, A. Dworak, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, 2013, 51, 614-623
- [118] S. Han, M. Hagiwara, T. Ishizone, *Macromolecules*, 2003, 36, 8312-8319
- [119] J. F. Lutz, Ö. Akdemir, A. Hoth, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 13046-13047
- [120] C. Weber, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Prog. Polym. Sci.*, 2012, 37, 686-714

- [121] A. Miasnikova, A. Laschewsky, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, 2012, 50, 3313-3323
- [122] W. R. Gombotz, W. Guanghui, T. A. Horbett, A. S. Hoffman, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1991, 25, 1547-1562
- [123] J. M. Harris, *Poly(ethylene Glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*, Plenum Press, New York, USA, 1992
- [124] K. L. Prim, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 10714-10721
- [125] I. Szleifer, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, 1997, 2, 337-344
- [126] A. Hucknall, S. Rangarajan, A. Chilkoti, *Adv. Mater.*, 2009, 21, 2441-2446
- [127] G. Gunkel, M. Weinhart, T. Becherer, R. Haag, W. T. S. Huck, *Biomacromolecules*, 2011, 12, 4169-4172
- [128] A. Laschewsky, E. D. Rekaï, E. Wischerhoff, *Macromol. Chem. Phys.*, 2001, 202, 276-286
- [129] M. Heskins, J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci., Part A: Pure Appl. Chem.*, 1968, 2, 1441-1455
- [130] H. G. Schild, D. A. Tirrell, *J. Phys. Chem.*, 1990, 94, 4352-4356
- [131] J. Zhao, R. Hoogenboom, G. Van Assche, B. Van Mele, *Macromolecules*, 2010, 43, 6853-6860
- [132] S. Fujishige, K. Kubota, I. Ando, *J. Phys. Chem.*, 1989, 93, 3311-3313
- [133] K. Kubota, S. Fujishige, I. Ando, *J. Phys. Chem.*, 1990, 94, 5154-5158
- [134] V. Aseyev, S. Hietala, A. Laukkanen, M. Nuopponen, O. Confortini, F. E. Du Prez, H. Tenhu, *Polymer*, 2005, 46, 7118-7131
- [135] P. Kujawa, F. Tanaka, F. M. Winnik, *Macromolecules*, 2006, 39, 3048-3055
- [136] Y. Maeda, T. Higuchi, I. Ikeda, *Langmuir*, 2000, 16, 7503-7509
- [137] P. Vyskocil, J. Ricka, T. Binkert, *Helv. Phys. Acta*, 1989, 62, 243-245
- [138] J. Duhamel, *Acc. Chem. Res.*, 2006, 39, 953-960
- [139] J. Daphi-Weber, H. Raddatz, R. Müller, *Untersuchung von Riechstoffen – Kontrollierte Düfte*, Band V der Reihe HighChem hautnah – Aktuelles aus der Lebensmittelchemie, S. 94-95, Frankfurt am Main
- [140] M. J. Matos, C. Terán, Y. Pérez-Castillo, E. Uriarte, L. Santana, D. Viña, *J. Med. Chem.*, 2011, 54, 7127-7137
- [141] H. Sakai, T. Hirano, S. Mori, S. Fujii, H. Masuno, M. Kinoshita, H. Kagechika, A. Tanatani, *J. Med. Chem.*, 2011, 54, 7055-7065
- [142] D. Cox, R. O'Kennedy, R. Thornes, *Human Toxicology*, 1989, 8, 501-506.

- [143] A. Vogel, *Gilbert's Ann. Phys.*, 1820, 64, 161
- [144] L. Li, S. Shuaijun, X. Pang, H. Chen, D. Hu, L. Ke, Y. Xiong, W. Xu, *Soft Matter*, 2012, 8, 3357-3360
- [145] G. A. Reynolds, K. H. Drexhage, *Opt. Commun.*, 1975, 13, 222-225
- [146] Y. Zhou, J. Li, Y. Fang, T. Zhao, C. Yao, *Org. Lett.*, 2011, 13, 1290–1293
- [147] H. S. Jung, J. H. Han, Z. H. Kim, C. Kang, J. S. Kim, *Org. Lett.*, 2011, 13, 5056-5059
- [148] M. Kumar, N. Kumar, V. Bhalla, *Tetrahedron Lett.*, 2011, 52, 4333–4336
- [149] H. Li, L. Cai, J. Li, Y. Hu, P. Zhou, J. Zhang, *Dyes Pigments*, 2011, 91, 309-316
- [150] H. Lee, H. Kim, *Tetrahedron Lett.*, 2011, 52, 4775–4778
- [151] X. Cao, W. Lin, Q. Yu, J. Wang, *Org. Lett.*, 2011, 13, 6098–6101
- [152] L. Yuan, W. Lin, Y. Yang, J. Song, J. Wang, *Org. Lett.*, 2011, 13, 3730–3733
- [153] H. Li, B. Li, L. Jin, Y. Kan, B. Yin, *Tetrahedron*, 2011, 67, 7348–7353
- [154] T. Cheng, T. Wang, W. Zhu, X. Chen, Y. Yang, Y. Xu, X. Qian, *Org. Lett.*, 2011, 13, 3656–3659
- [155] H. J. Kim, J. H. Lee, J. Hong, *Tetrahedron Lett.*, 2011, 52, 4944–4946
- [156] H. Ha, D. Yoon, S. Park, H. Kim, *Tetrahedron*, 2011, 67, 7759–7762
- [157] H. S. Jung, K. C. Ko, G. Kim, A. Lee, Y. Na, C. Kang, J. Y. Lee, J. S. Kim, *Org. Lett.*, 2011, 13, 1498–1501
- [158] M. F. Braña, A. Ramos, *Curr. Med. Chem.: Anti-Cancer Agents*, 2001, 1, 237-255
- [159] C. Bailly, C. Carrasco, A. Joubert, C. Bal, N. Wattez, M.-P. Hildebrand, A. Lansiaux, P. Colson, C. Houssier, M. Cacho, A. Ramos, M. F. Braña, *Biochemistry*, 2003, 42, 4136-4150
- [160] S. Banerjee, E. B. Veale, C. M. Phelan, S. A. Murphy, G. M. Tocci, L. J. Gillespie, D. O. Frimannsson, J. M. Kelly, T. Gunnlaugsson, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, 42, 1601-1618
- [161] F. Cosnard, V. Wintgens, *Tetrahedron Lett.*, 1998, 39, 2751-2754
- [162] C.-G. Niu, Z.-Z. Li, X.-B. Zhang, W.-Q. Lin, G.-L. Shen, R.-Q. Yu, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, 372, 519-524
- [163] K. D. Krishna, K. S. Ramendra, K. Misre, *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.*, 1995, 34, 876
- [164] M. E. Vázquez, J. B. Blanco, B. Imperiali, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 1300-1306
- [165] X. Qian, Z. Zhu, K. Chen, *Dyes Pigments*, 1989, 11, 13-20
- [166] X. Qian, A. Zhu, K. Chen, Q. Yin, G. Zhu, *Mater. Chem. Phys.*, 1989, 23, 335-339
- [167] T. Martynski, E. Mykowska, D. Bauman, *J. Molec. Struct.*, 1994, 325, 161-169
- [168] E. Wolart, H. Moryson, D. Bauman, *Displays*, 1992, 13, 171-178
- [169] K. Fiskinski, D. Bauman, A. Skibinski, *Dyes Pigments*, 1991, 15, 203-214

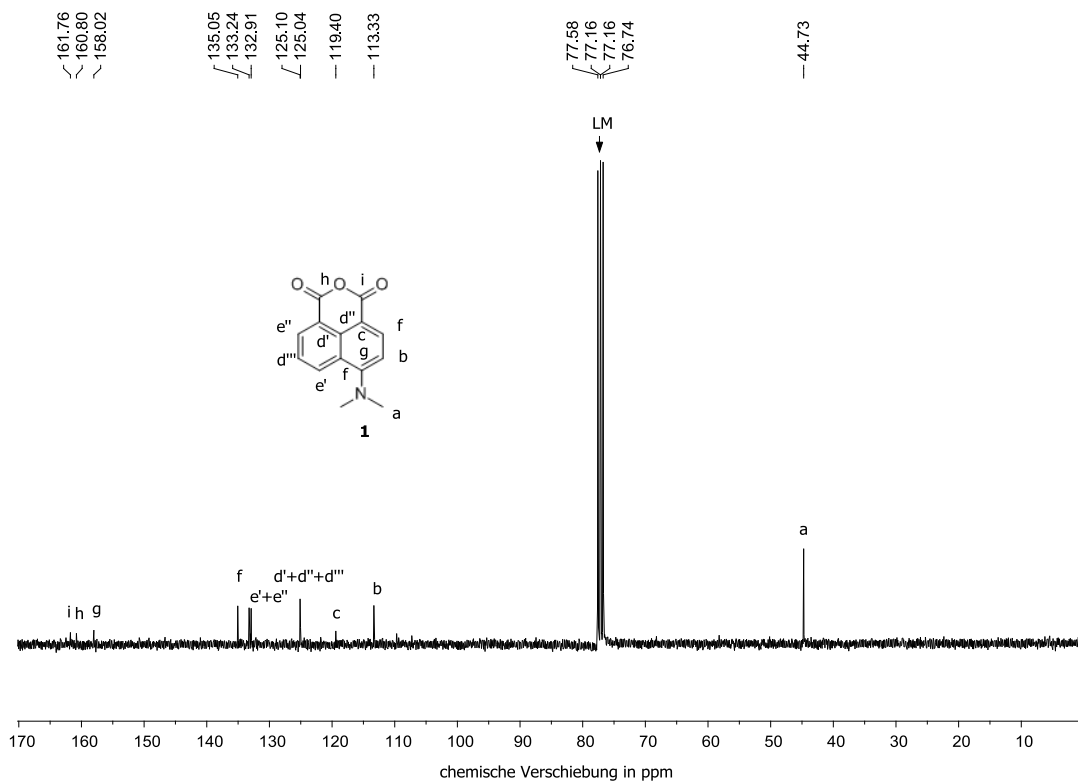
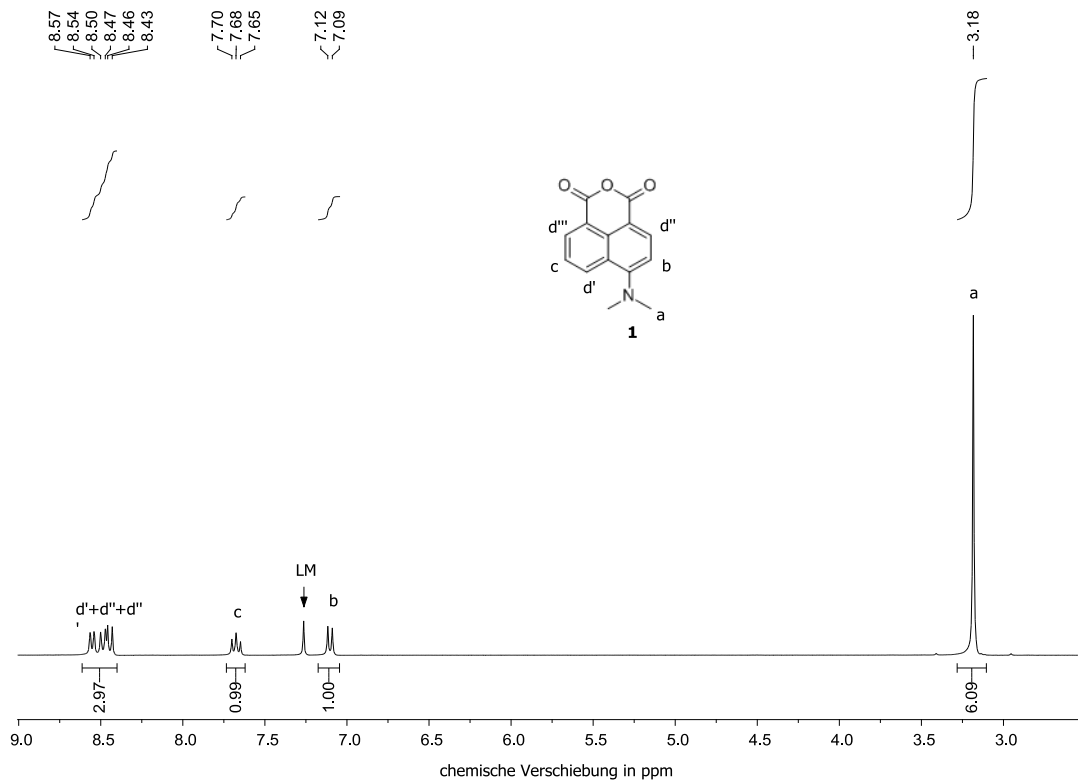
- [170] A. Pardo, J. M. L. Poyato, J. J. Camacho, M. F. Braña, J. M. Castellano, *J. Photochem.*, 1986, 36, 323-329
- [171] A. Pardo, E. Martin, J. M. L. Poyato, J. J. Camacho, M. F. Braña, J. M. Castellano, *J. Photochem. Photobiol., A*, 1987, 41, 69-78
- [172] S. Dhar, S. Singha Roy, D. K. Rana, S. Bhattacharya, S. Bhattacharya, S. C. Bhattacharya, *J. Phys. Chem. A.*, 2011, 115, 2216-2224
- [173] S. L. Dmitruk, S. I. Druzhinin, R. A. Minakova, A. I. Bedrik, B. M. Uzhinov, *Russ. Chem. Bull.*, 1997, 46, 2027-2029
- [174] S. Saha, A. Samanta, *J. Phys. Chem. A*, 2002, 106, 4763-4771
- [175] G. S. Loving, B. Imperiali, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130, 13630-13638
- [176] B. Ramachandram, G. Saroja, B. Sankaran, A. Samanta, *J. Phys. Chem. B*, 2000, 104, 11824-11832
- [177] D. Yuan, R. G. Brown, *J. Phys. Chem. A*, 1997, 101, 3461-3466
- [178] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; 3rd ed.; Springer, 2009, New York.
- [179] H. Wang, H. Wu, L. Xue, Y. Shi, X. Li, *Org. Biomol. Chem.*, 2011, 9, 5436-5444
- [180] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40, 2004-2021
- [181] B. Y. Wang, X. Y. Liu, S. L. Ding, Z. X. Su, *J. Polym. Res.*, 2011, 18, 1315-1322
- [182] B. Y. Wang, X. Y. Liu, Y. L. Hu, Z. X. Su, *Polym. Int.*, 2009, 58, 703-709
- [183] B. Y. Wang, Y. L. Hu, Z. X. Su, *React. Funct. Polym.*, 2008, 68, 1137-1143
- [184] K. A. V. Zubris, O. V. Khullar, A. P. Griset, S. Gibbs-Strauss, J. V. Frangioni, Y. L. Colson, M. W. Grinstaff, *Chem-MedChem*, 2010, 5, 1435-1438
- [185] H. J. Patel, M. G. Patel, A. K. Patel, K. H. Patel, R. M. Patel, *eXPRESS Polym. Lett.*, 2008, 2, 727-734
- [186] T. Filipova, I. Grabchev, I. Petkov, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, 1997, 35, 1069-1076
- [187] I. Grabchev, S. Dumas, J. M. Chovelon, *Polym. Adv. Technol.*, 2008, 19, 316-321
- [188] C. X. Bai, W. Z. Jin, L. X. Wu, Y. L. Song, J. J. Jiang, X. D. Zhu, D. W. Yang, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 2011, 58, 1232-1238
- [189] V. B. Bojinov, I. P. Panova, D. B. Simeonov, *Dyes Pigm.*, 2008, 78, 101-110
- [190] V. B. Bojinov, I. P. Panova, *Polym. Degrad. Stab.*, 2008, 93, 1142-1150
- [191] S. Liu, C. Li, *J. Mater. Chem.*, 2010, 20, 10716-10723
- [192] G. Liu, W. Zhou, J. Zhang, P. Zhao, *J. Polym. Sci Part A: Poly. Chem.*, 2012, 50, 2219-2226

- [193] J. Yin, C. Li, D. Wang, S. Liu, *J. Phys. Chem. B*, 2010, 114, 12213–12220
- [194] W. Schmidt, *Optische Spektroskopie: Eine Einführung*, Wiley-VCH Verlag, 2. Auflage, 2000, Seiten 197-209, Weinheim
- [195] Th. Förster, *Analen der Physik*, 1948, 6. Folge, Band 2, 55-75
- [196] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2nd ed., Kluwer/Plenum 1999, New York
- [197] L. Stryer, *Annu. Rev. Biochem.*, 1978, 47, 819–46
- [198] H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke, Y. Urano, *Chem. Rev.*, 2010, 110, 2620-2640
- [199] C. Hansen, Doktorarbeit, Titel: The Three Dimensional Solubility Parameter and Solvent Diffusion Coefficient and Their Importance in Surface Coating Formulation, 1967, Copenhagen: Danish Technical Press.
- [200] C. Hansen, *Hansen Solubility Parameters: A user's handbook*, Second Edition., CRC Press 2007, Boca Raton
- [201] W. Zhang, Y. Wang, Y. Xu, X. Qian, *Monatsh. Chem.*, 2003, 134, 393-402
- [202] Ch. Niu, L. Li, P. Qin, G. Zeng, Y. Zhang, *Analytical Sciences*, 2010, 26, 671-674
- [203] A. Demeter, *Reaction Kinetics and Catalysis Letters*, 2005, 85, 331-339
- [204] R. M. Duke, E. B. Veale, F. M. Pfeffer, P. E. Kruger, T. Gunnlaugsson, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, 39, 3936-3953
- [205] I. Grabchev, J. M. Chovelon, X. Qian, *J. Photochem. Photobiol. A*, 2003, 158, 37-43
- [206] H Wang, H. Wu, L. Xue, Y. Shi, X. Li, *Org. Biomol. Chem.*, 2011, 9, 5436-5444
- [207] G. S. Loving, M. Sainlos, B. Imperiali, *Trends in Biotechnology*, 2010, 28, 73-83
- [208] E. B. Veale, T. Gunnlaugsson, *J. Org. Chem.*, 2010, 75, 5513–5525
- [209] C. K. Chee, S. Rimmer, I. Soutar, L. Swanson, *React. Funct. Polym.*, 2006, 66, 1-11
- [210] K. Zhou, Y. Lu, J. Li, L. Shen, G. Zhang, Z. Xie, C. Wu, *Macromolecules*, 2008, 41, 8927-8931
- [211] T. Ishizone, A. Seki, M. Hagiwara, ; S. Han, H. Yokoyama, A. Oyane, A. Deffieux, S. Carlotti, *Macromolecules*, 2008, 41, 2963-2967
- [212] M. Knaapila, R. C. Evans, V. M. Garamus, L. Almasy, N. K. Szekely, A. Gutacker, U. Scherf, H. D. Burrows, *Langmuir* 2010, 26, 15634-15643
- [213] K. Van Durme, H. Rahier, B. Van Mele, *Macromolecules*, 2005, 38, 10155-10163
- [214] H.-A. Ho , A. Najari, M. Leclerc, *Acc. Chem. Res.*, 2008, 41, 168–178
- [215] M. Leclerc, *Adv. Mater.*, 1999, 11, 1491-1498
- [216] H. A. Al Attar, A. P. Monkman, *J. Phys. Chem. B*, 2007, 111, 12418-12426

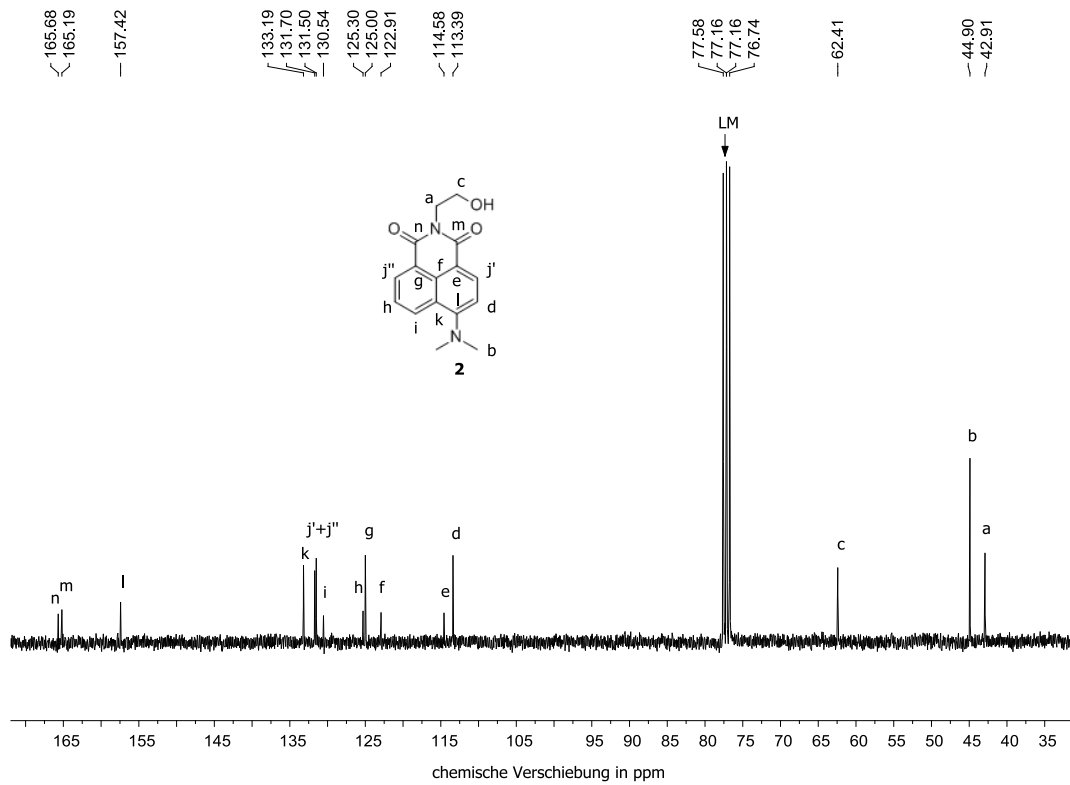
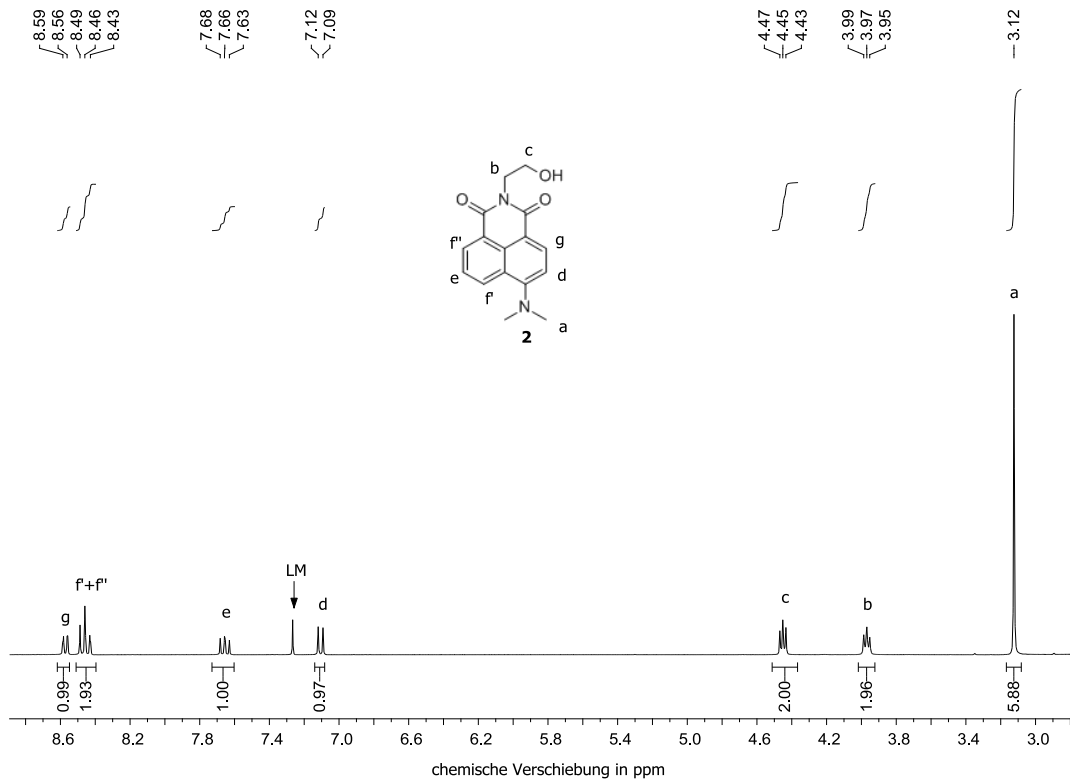
- [217] M. Monteserin, H. D. Burrows, R. Mallavia, R. E. Di Paolo, A. L. Macanita, M. J. Tapia, *Langmuir*, 2010, 26, 11705-11714
- [218] H. D. Burrows, M. J. Tapia, S. M. Fonseca, S. Pradhan, U. Scherf, C. L. Silva, A. A. C. C. Pais, A. J. M. Valente, K. Schillen, V. Alfredsson, A. M. Carnerup, M. Tomsic, A. Jamnik, *Langmuir*, 2009, 25, 5545-5556
- [219] H. D. Burrows, V. M. M. Lobo, J. Pina, M. L. Ramos, J. Seixas de Melo, A. J. M. Valente, M. J. Tapia, S. Pradhan, U. Scherf, S. I. Hintschich, C. Rothe, A. P. Monkman, *Colloids Surf. A*, 2005, 270/271, 61-66
- [220] H. D. Burrows, V. M. M. Lobo, J. Pina, M. L. Ramos, J. Seixas de Melo, A. J. M. Valente, M. J. Tapia, S. Pradhan, U. Scherf, *Macromolecules*, 2004, 37, 7425-7427
- [221] R. C. Evans, M. Knaapila, N. Willis-Fox, M. Kraft, A. Terry, H. D. Burrows, U. Scherf, *Langmuir*, 2012, 28, 12348-12356
- [222] S. Inal, J. D. Kölsch, L. Chiappisi, M. Kraft, A. Gutacker, D. Janietz, U. Scherf, M. Gradzielski, A. Laschewsky, D. Neher, *Chem. Phys.*, 2013, 241, 435-445
- [223] B. Valeur, In *Molecular Fluorescence*; WileyVCHVerlag GmbH: 2001, S 34
- [224] B. B. Raju, T. S. Varadarajan, *J. Phys. Chem. A*, 1994, 98, 8903-8905
- [225] P. Sarker, J. Shepherd, K. Swindells, I. Douglas, S. MacNeil, L. Swanson, S. Rimmer, *Biomacromolecules*, 2010, 12, 1-5
- [226] J. Shepherd, P. Sarker, K. Swindells, I. Douglas, S. MacNeil, L. Swanson, S. Rimmer, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 1736-1737
- [227] K. Skrabania, A. Miasnikova, A. M. Bivigou-Koumba, D. Zehm, A. Laschewsky, *Polym. Chem.*, 2011, 2, 2074-2083
- [228] J. A. Schenk, F. Matyssek, B. Micheel, *In Vivo*, 2004, 18, 649-652
- [229] J. A. Schenk, J. Fettke, C. Lenz, K. Albers, F. Mallwitz, N. Gajovic-Eichelmann, E. Ehrentreich-Förster, E. Kusch, F. Sellrie, *J. Biotechnol.*, 2012, 158, 34-35
- [230] K. Daskalow, P. Boisguerin, B. Jandrig, R. Volkmer, B. Micheel, J. Schenk, ouml and A. rg, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2008, 72, 346-351
- [231] M. M. Garazd, Y. L. Garazd, A. S. Ogorodniichuk, V. P. Khilya, *Chemistry of Natural Compounds*, 2009, 2, 158-163
- [232] S. Neelakantan, P. V. Raman, A. Tinabaye, *Indian J. Chem., Sect. B*, 1982, 21, 256-257

6.2 NMR-Spektren

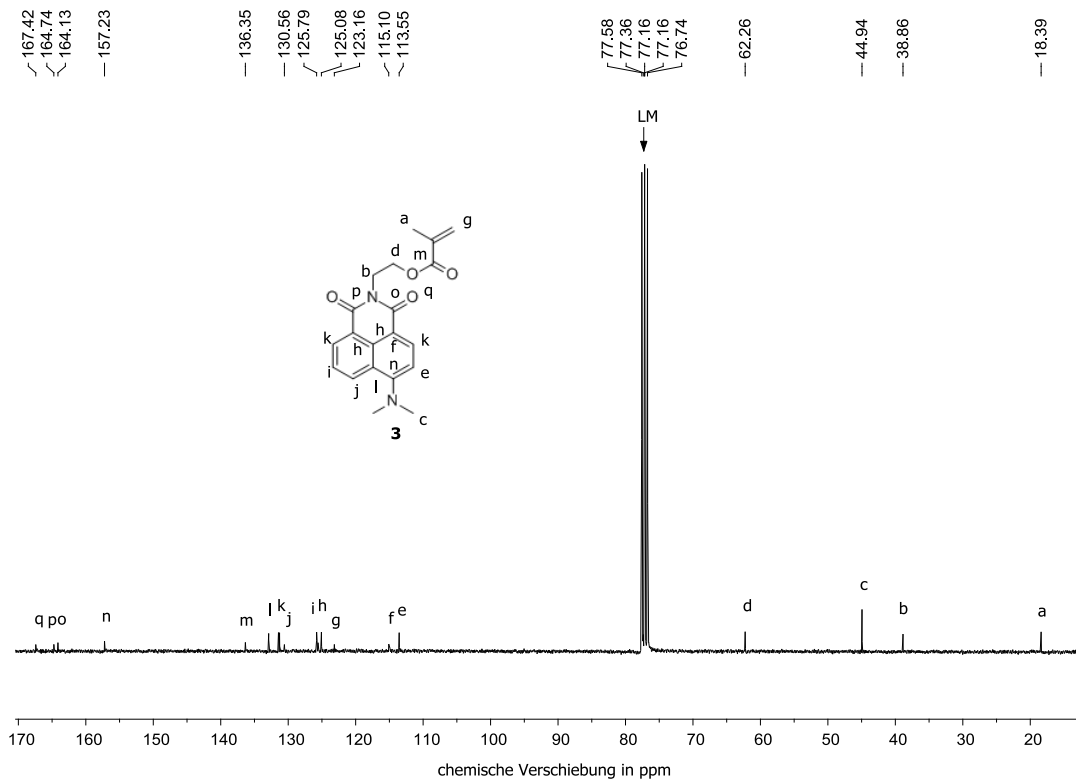
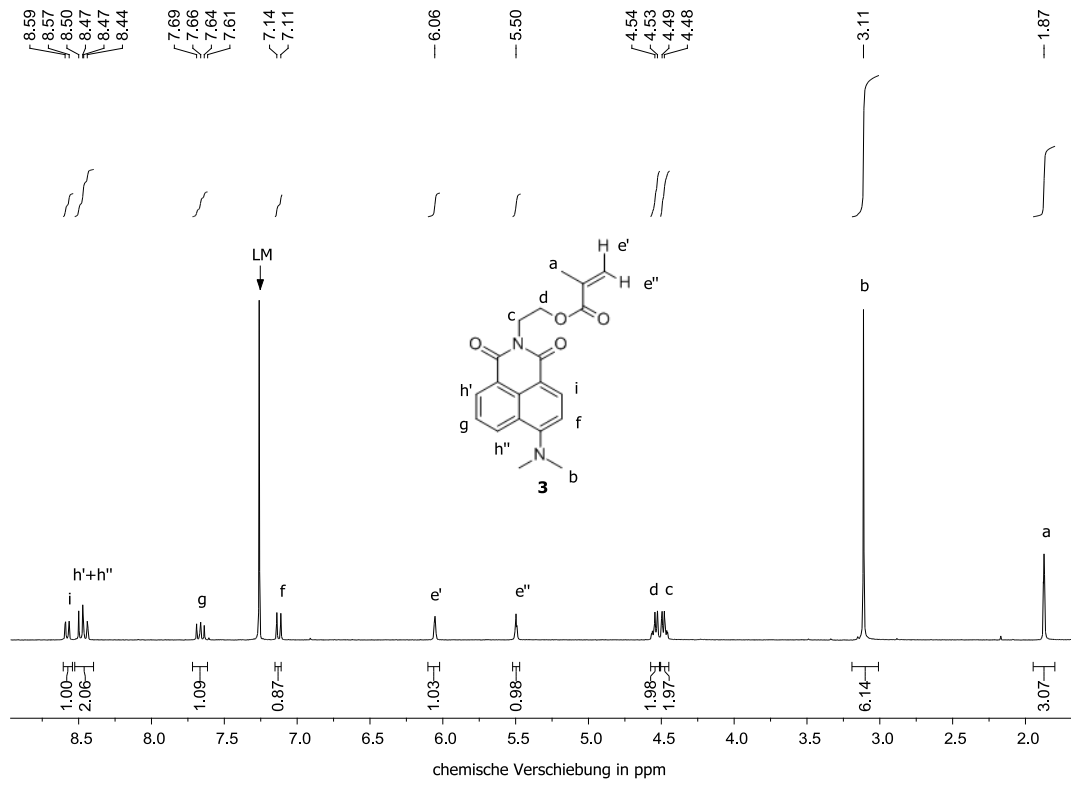
4-Dimethylamino-1,8-naphthalsäureanhydrid (1) in CDCl_3



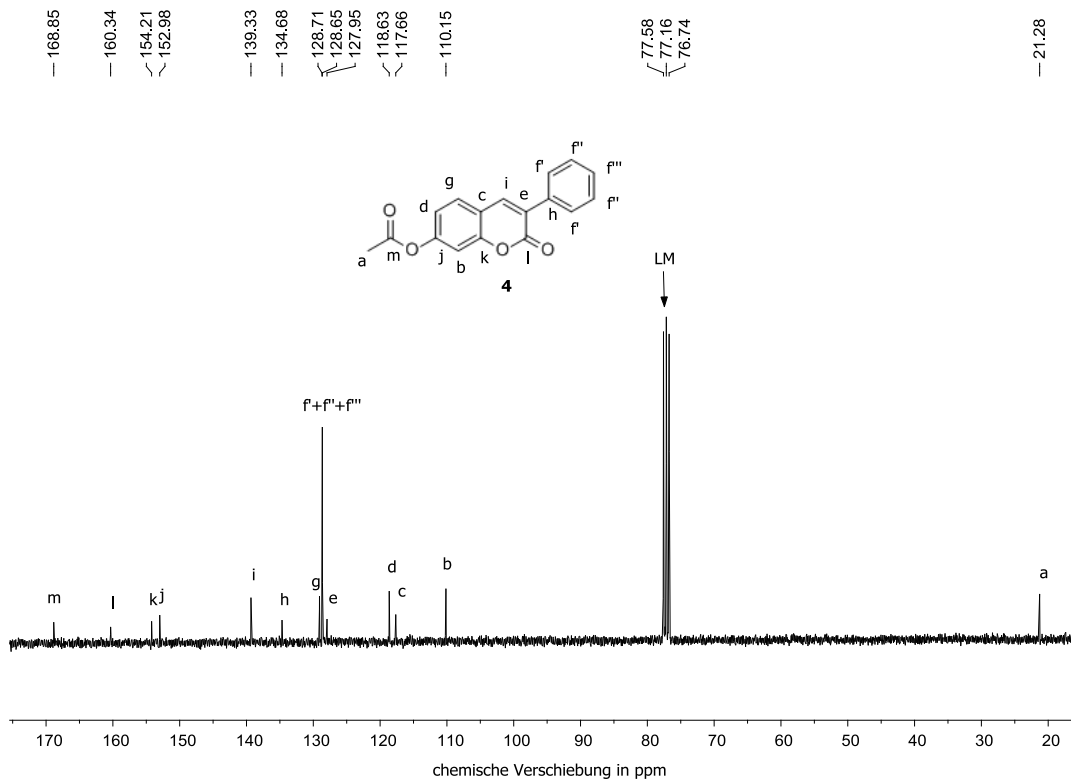
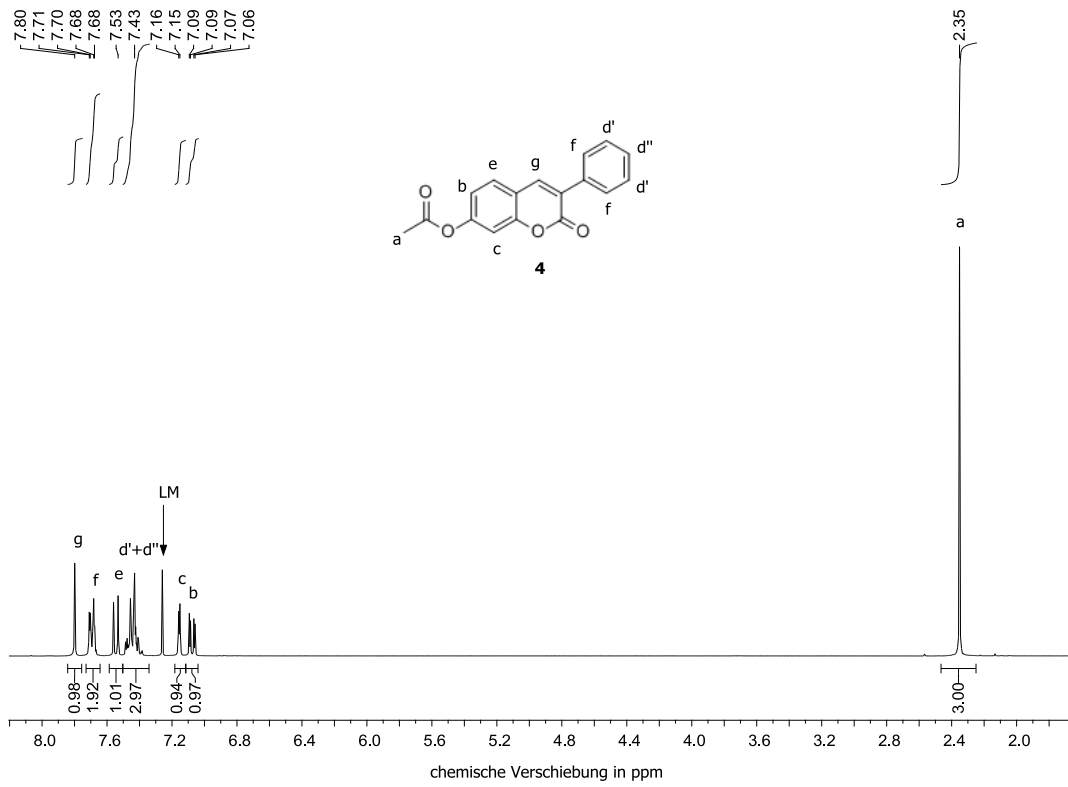
4-Dimethylamino-N-2-hydroxyethyl-1,8-naphthalsäureimid (2) in CDCl₃



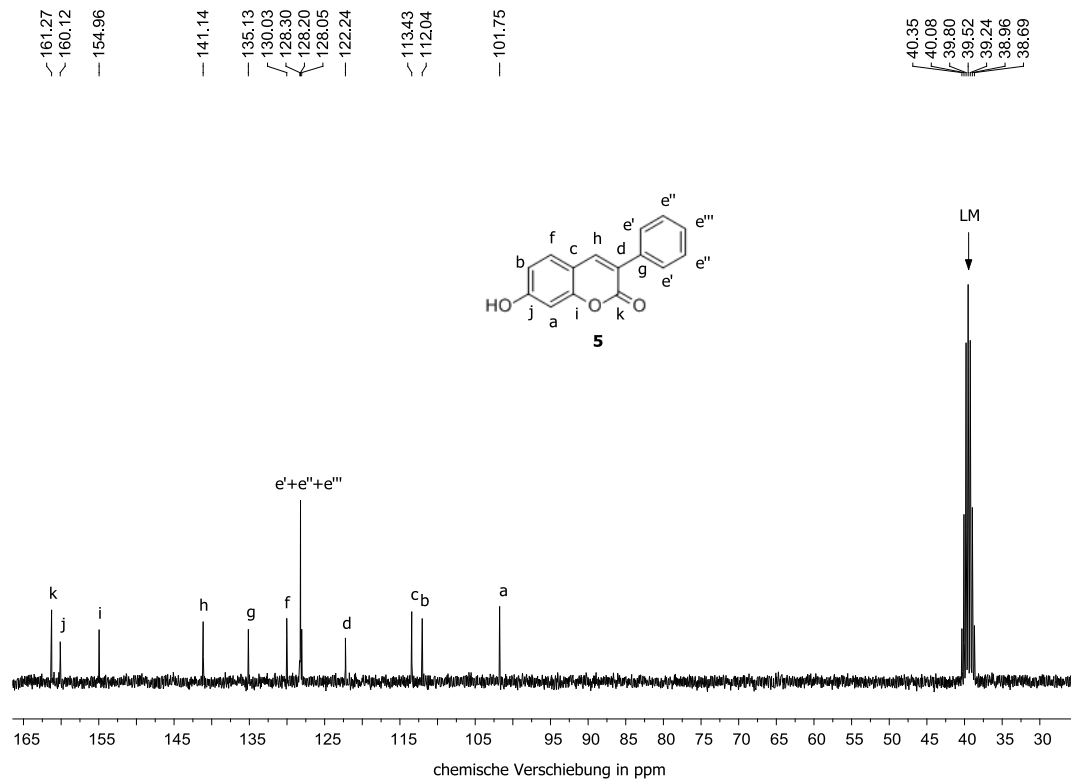
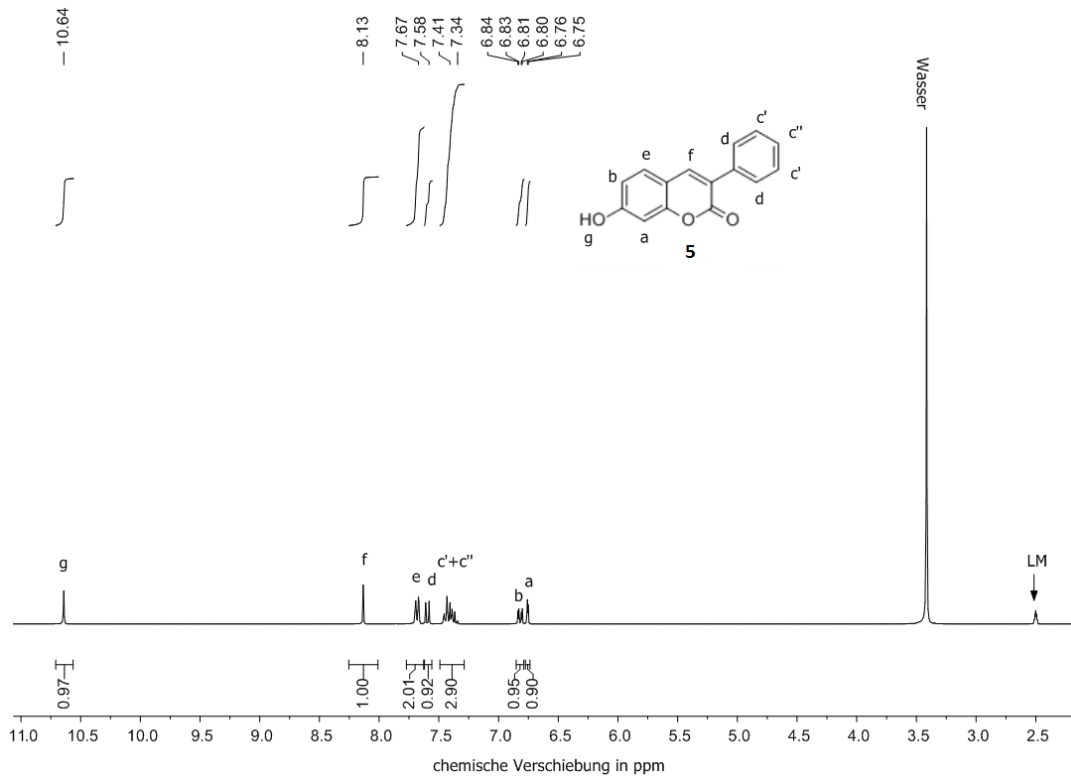
4-Dimethylamino-N-2-ethyl-methacrylat-1,8-naphthalsäureimid (3) in CDCl₃



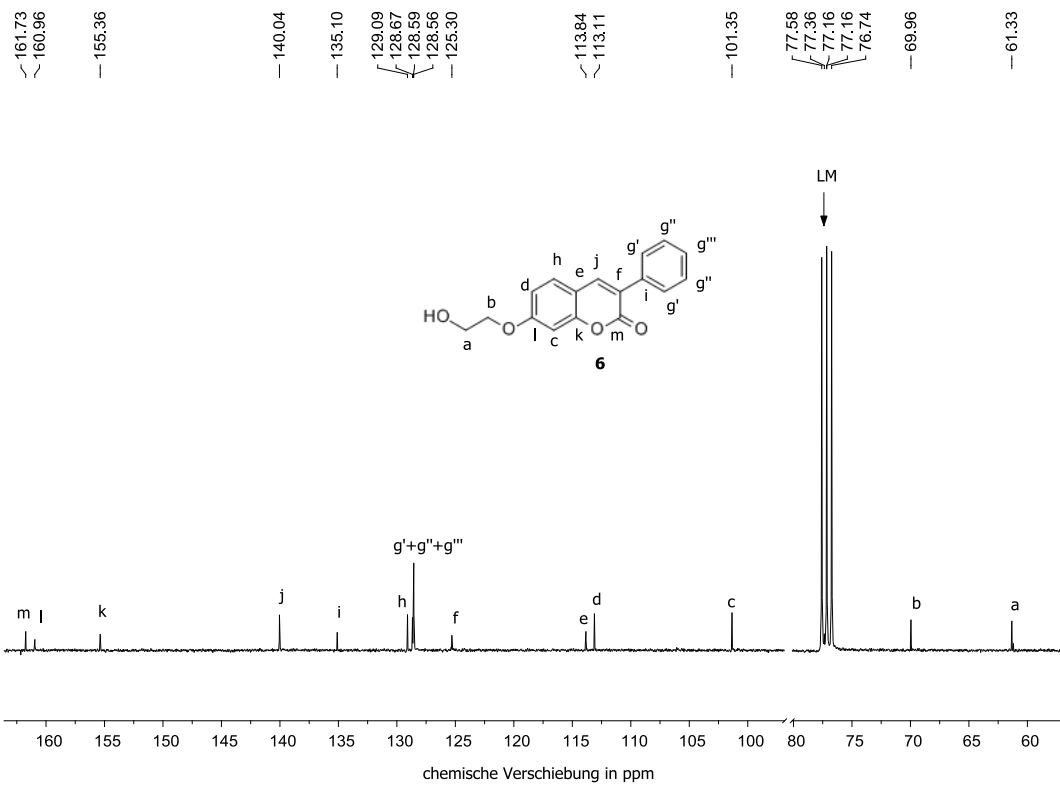
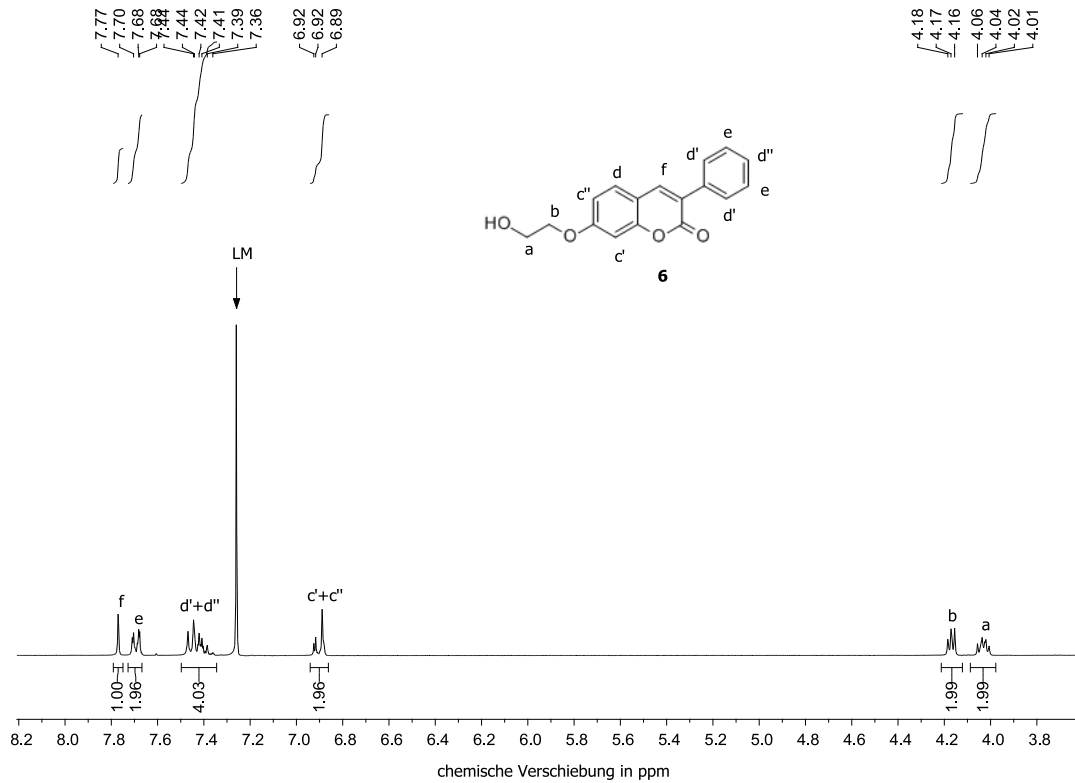
2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl-acetat (4) (3-Phenyl-7-acetyl-cumarin) in CDCl₃



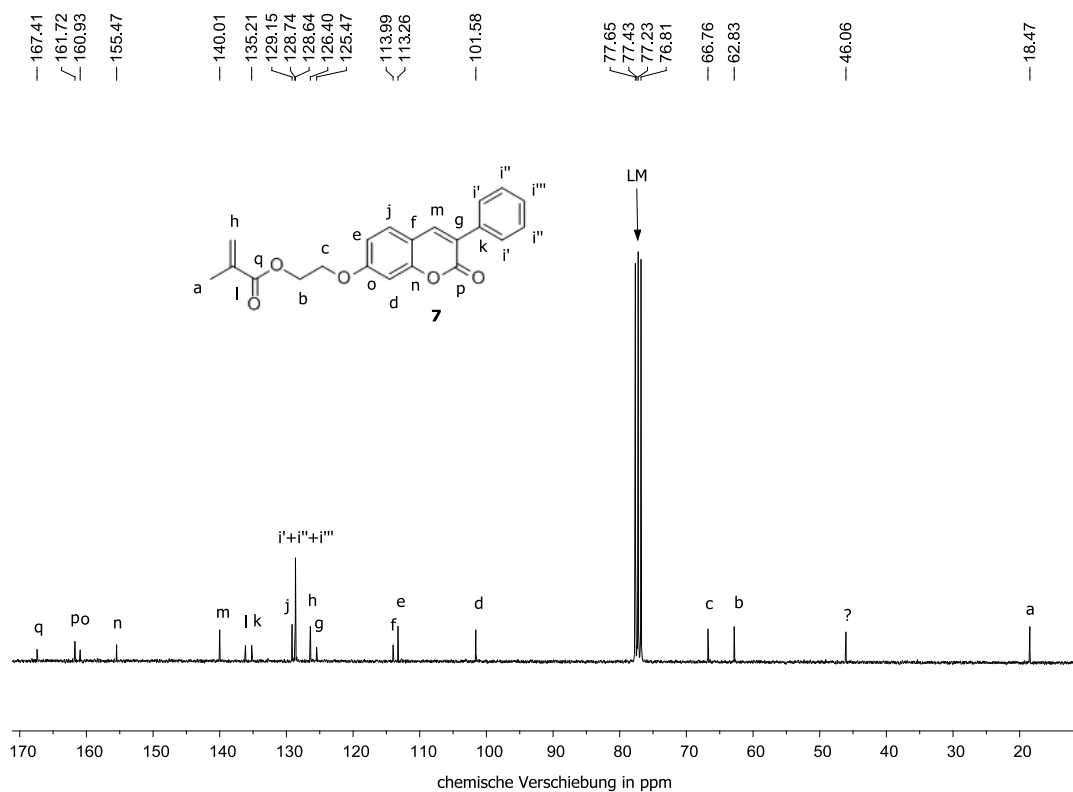
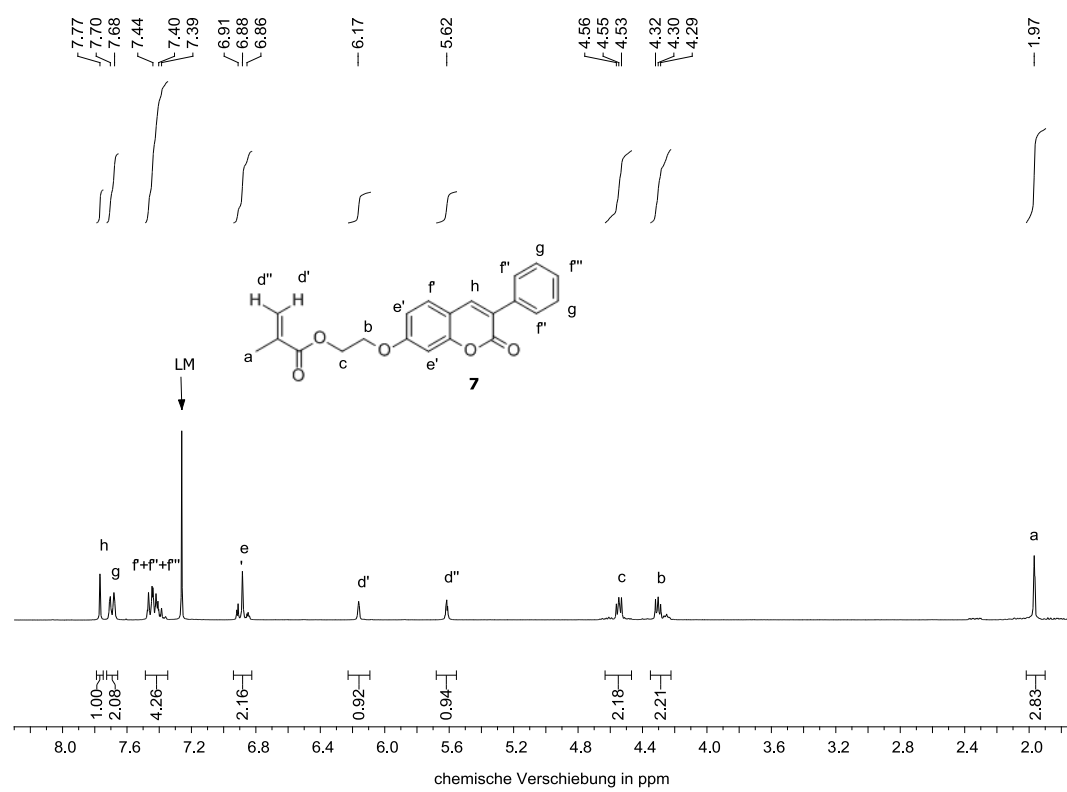
7-Hydroxy-3-phenyl-2H-chromen-2-on (5) (*7-Hydroxy-3-phenyl-cumarin*) in DMSO-d₆



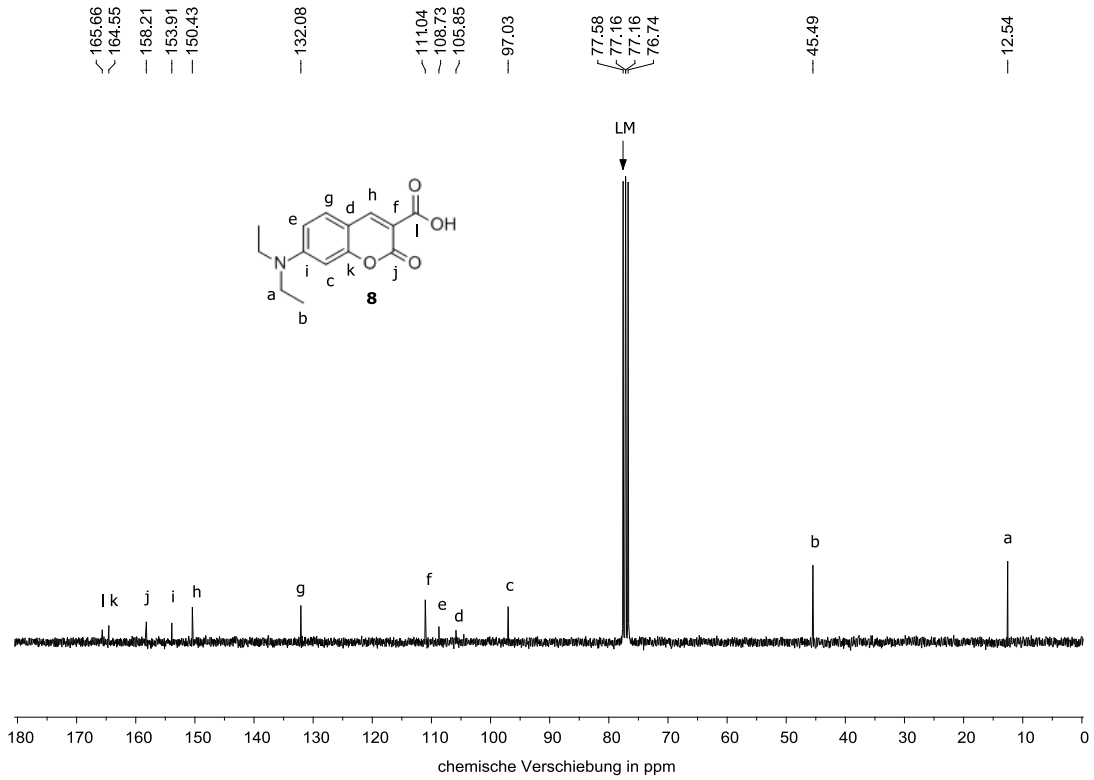
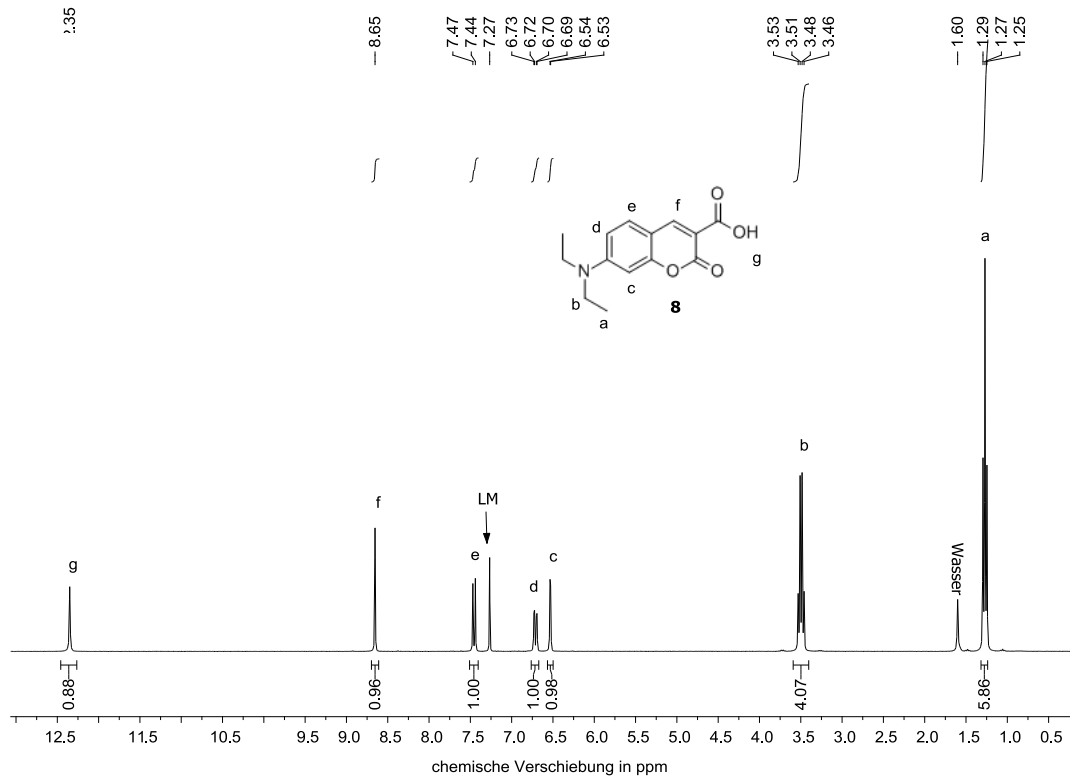
7-(2-Hydroxyethoxy)-3-phenyl-2H-chromen-2-on (6) (*7-(2-Hydroxyethoxy-3-phenyl-cumarin)*) in CDCl₃



2-((2-Oxo-3-phenyl-2H-chromen-7-yl)oxy)ethyl-methacrylat (**7**) (2-((-3-phenyl-cumarin-7-yl)oxy)ethyl-methacrylat) in CDCl₃

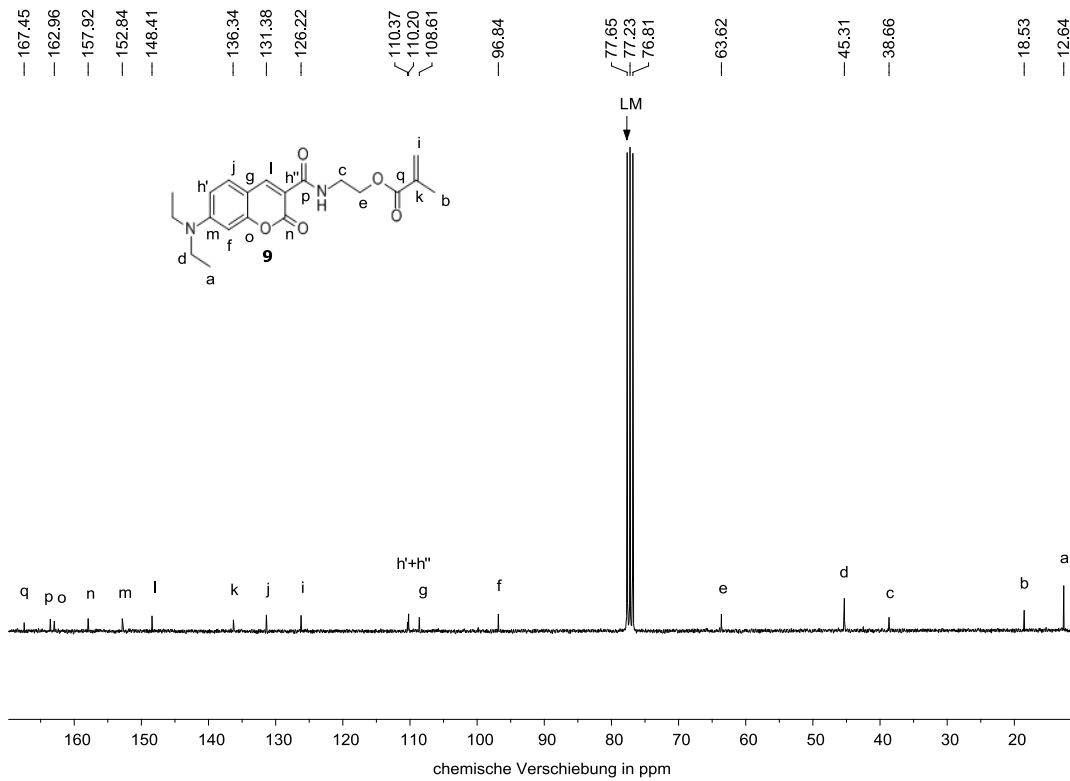
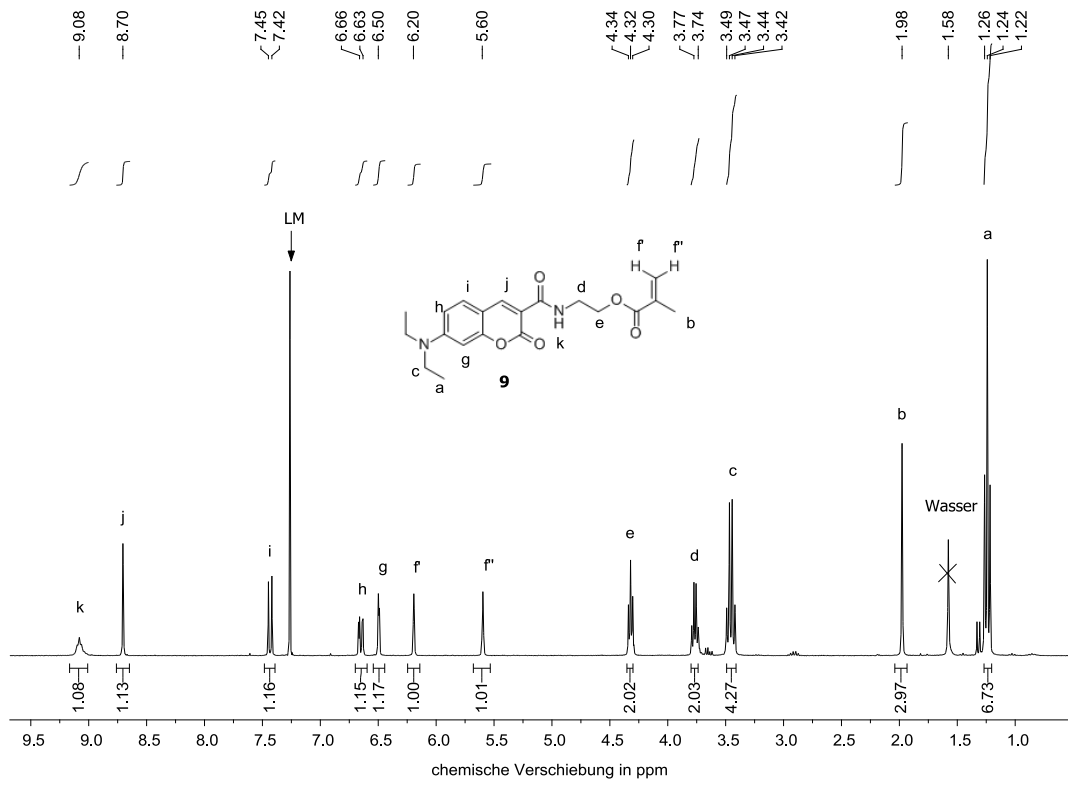


7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromene-3-carbonsäure (8) (*7-(Diethylamino)-3-carboxycumarin*) in CDCl₃

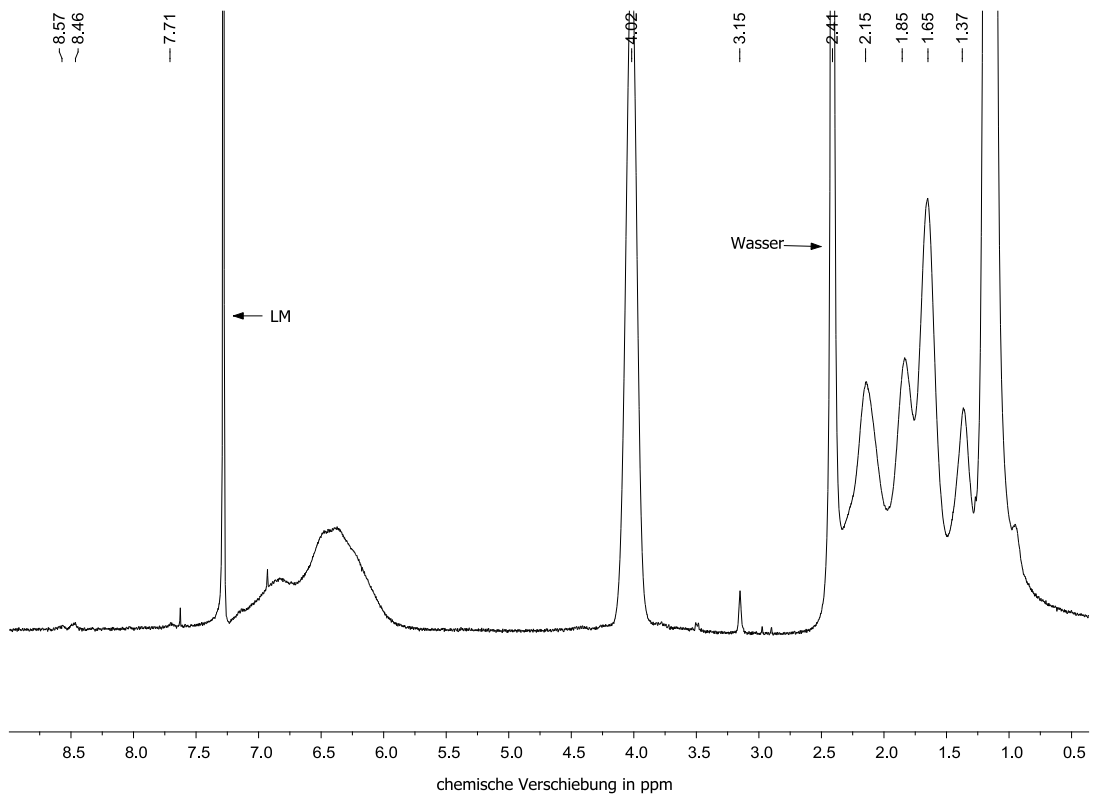
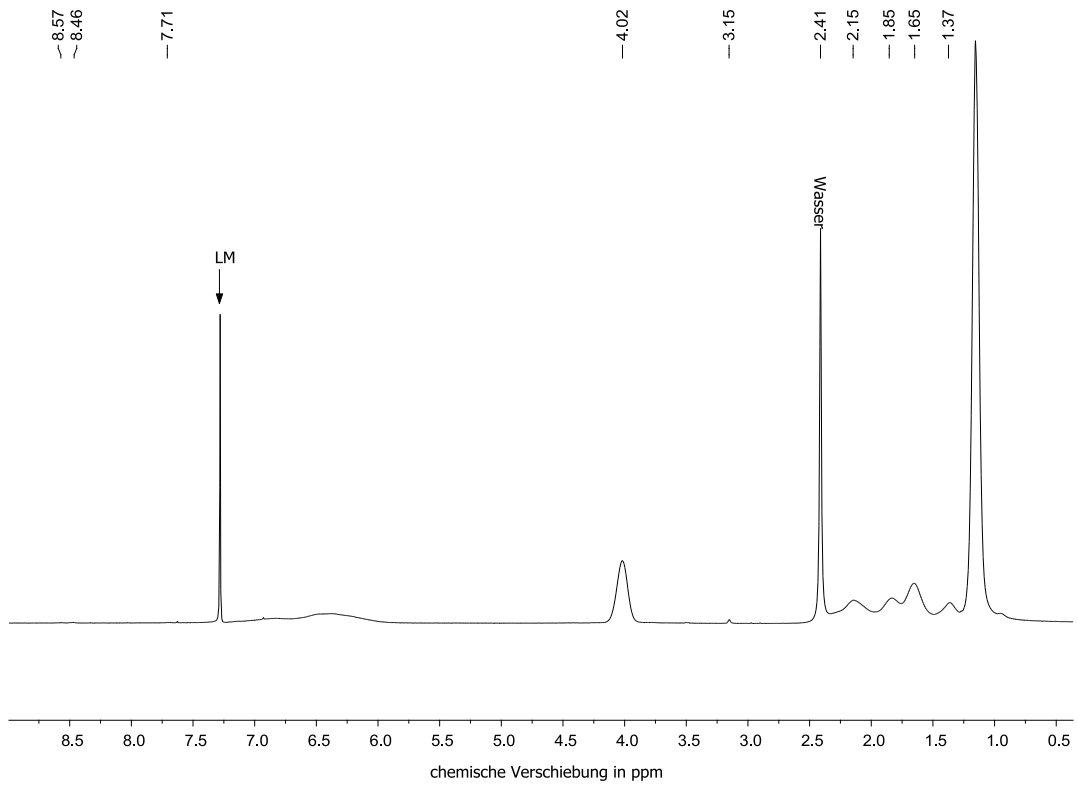


2-(7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromene-3-carbonsäureamido)ethyl-methacrylat (**9**) in

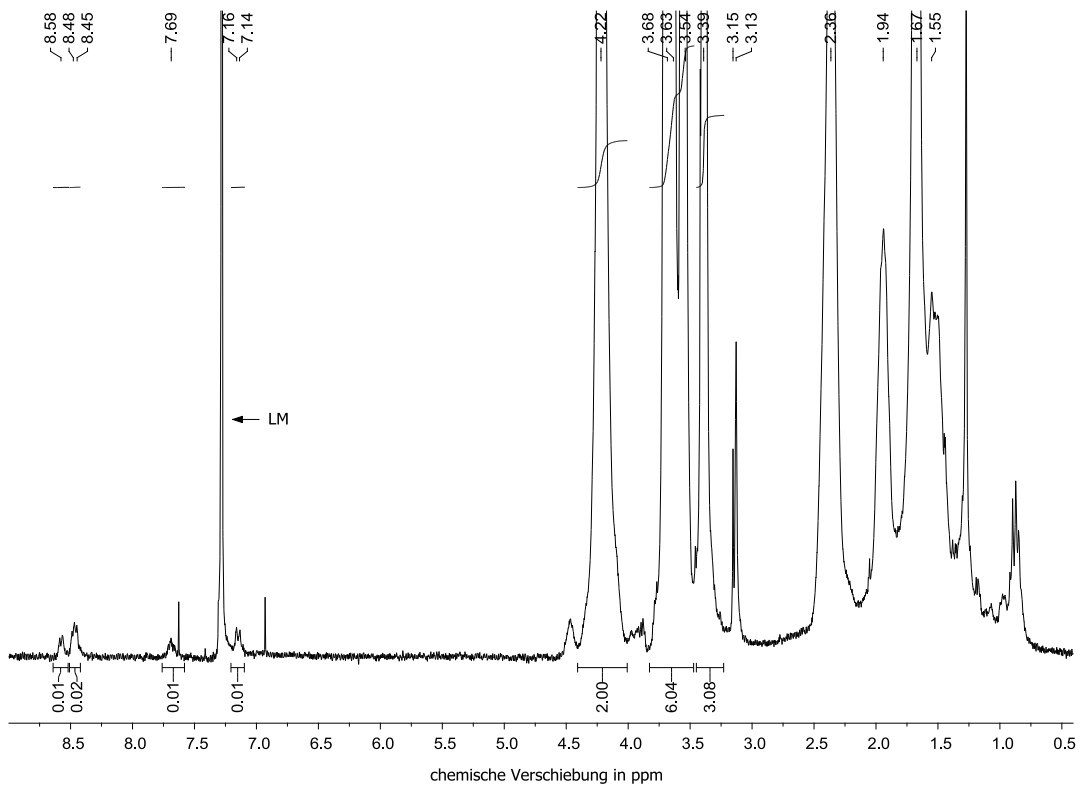
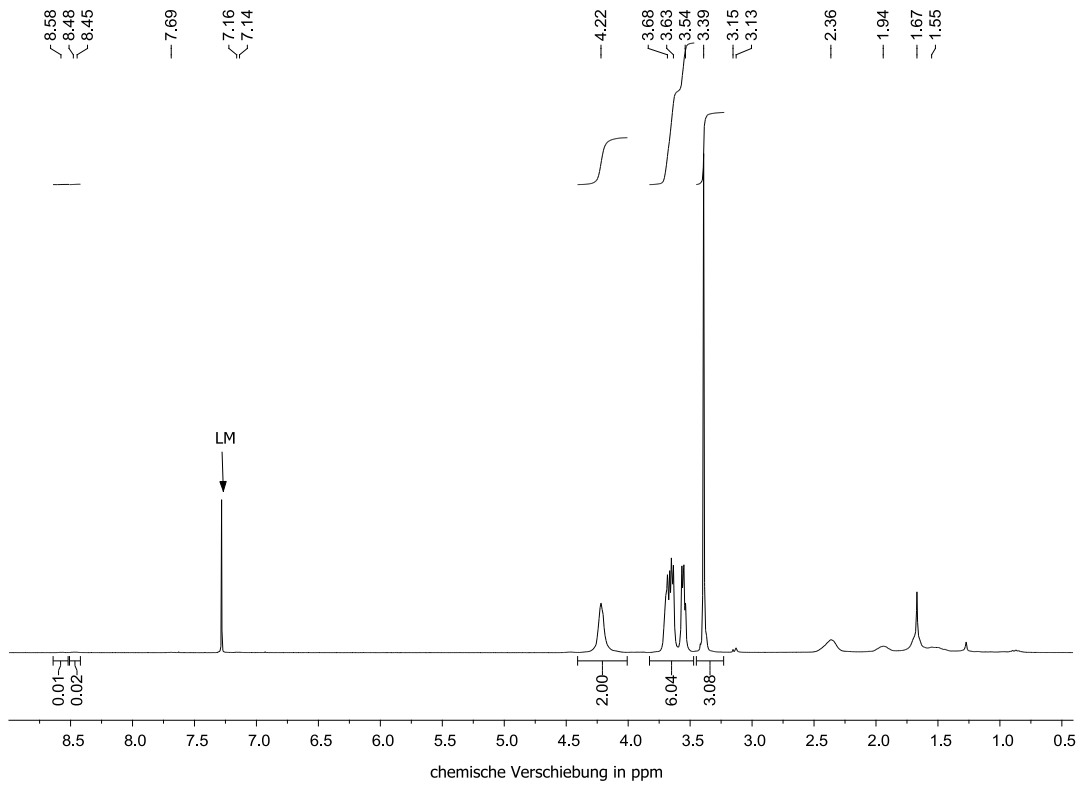
CDCl₃



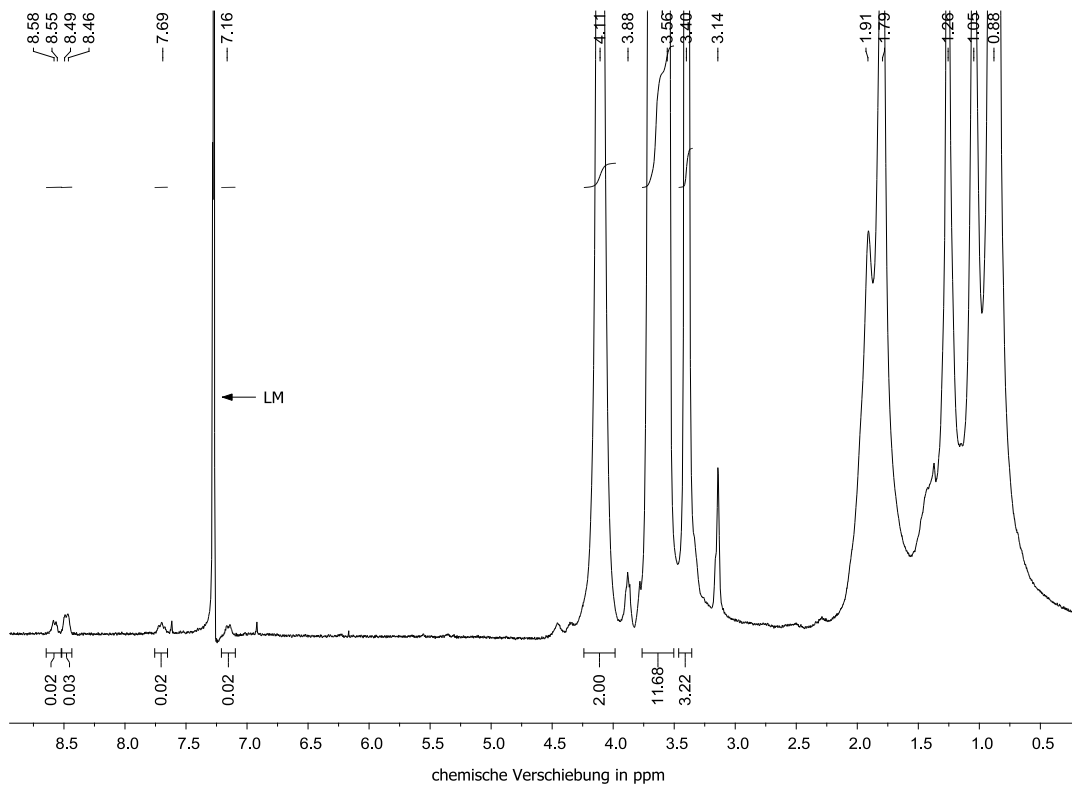
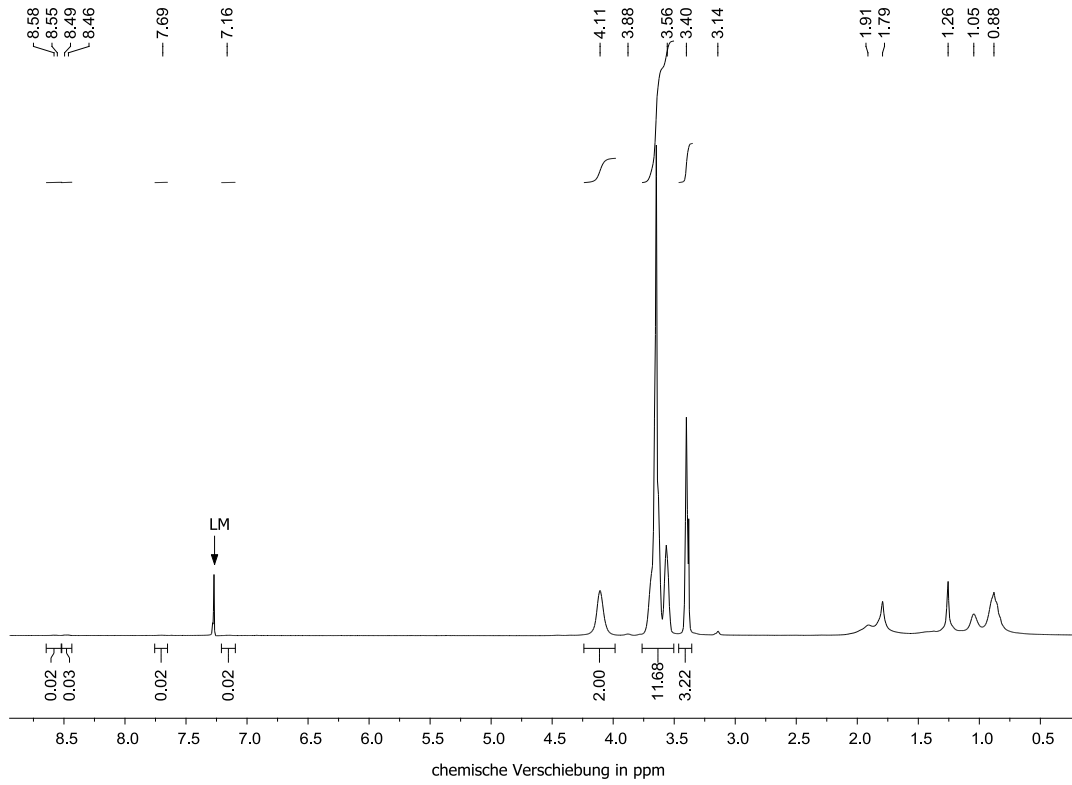
poly[NIPAm-co-(3)] P1 in CDCl₃



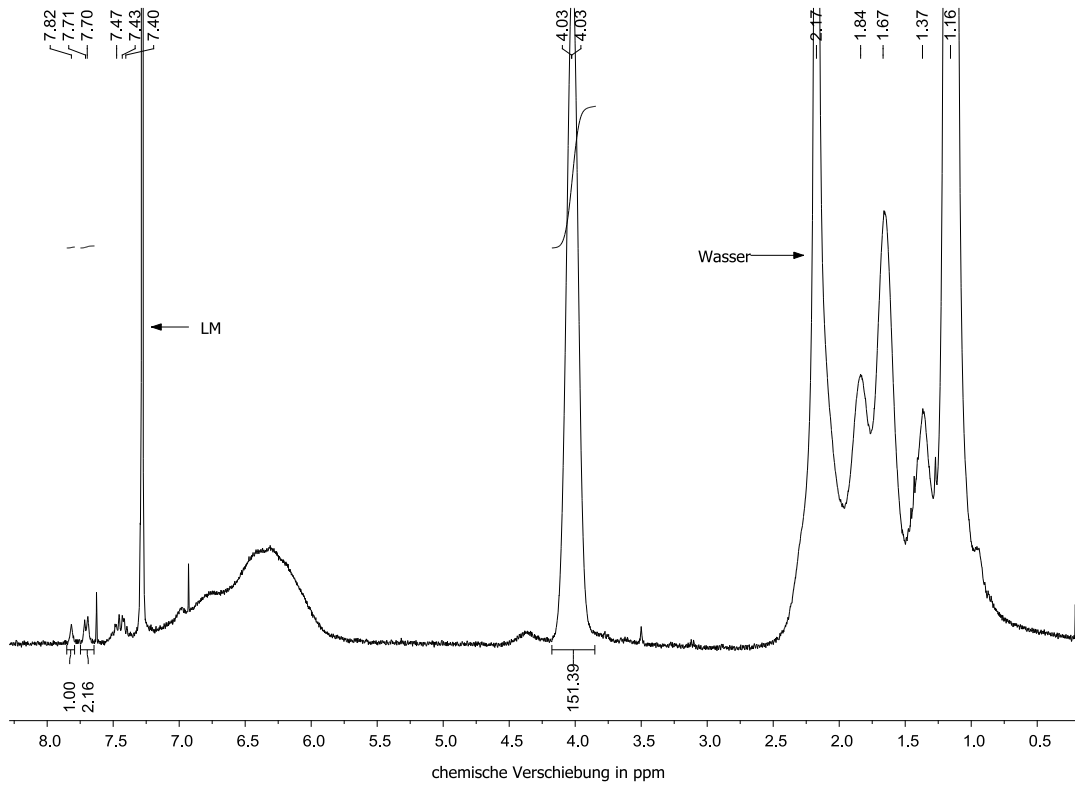
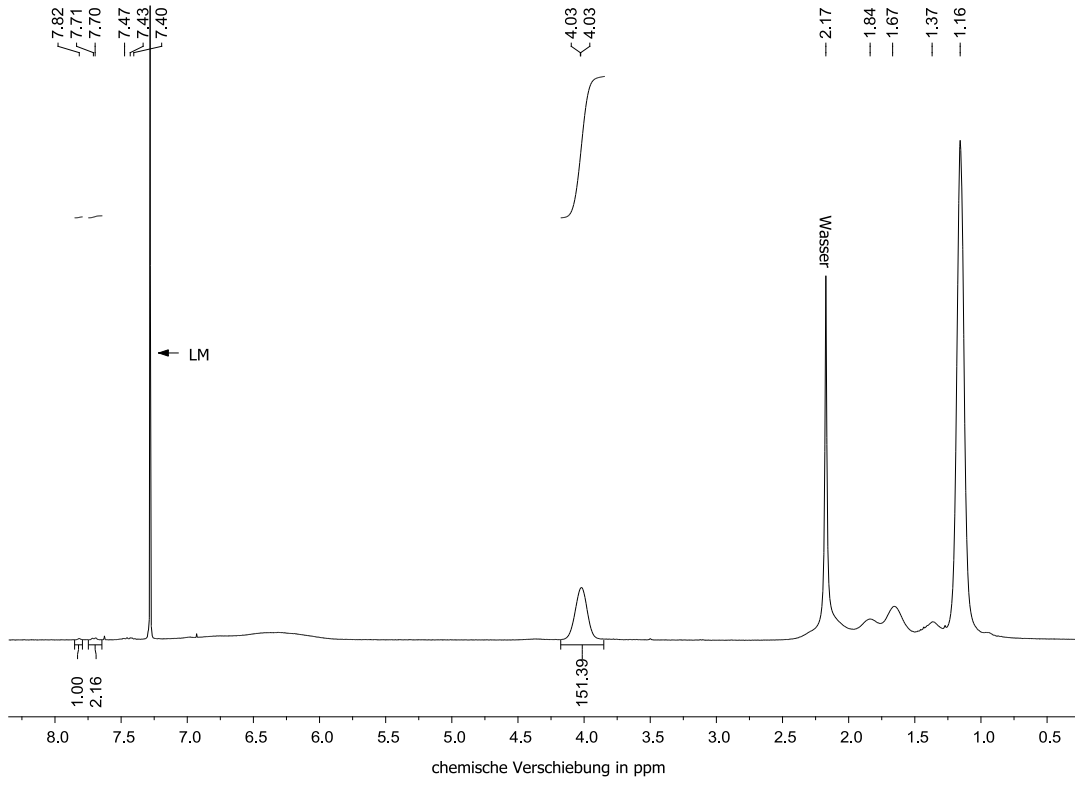
poly[MEO₂A-co-(3)] P2 in CDCl₃



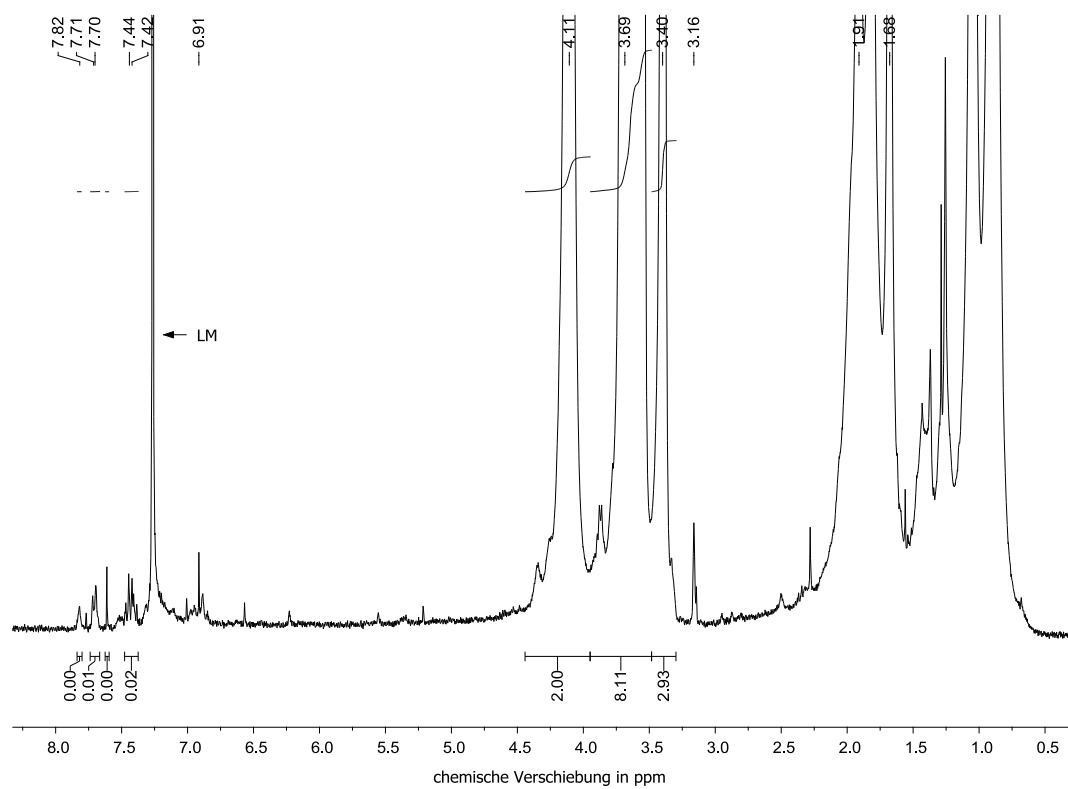
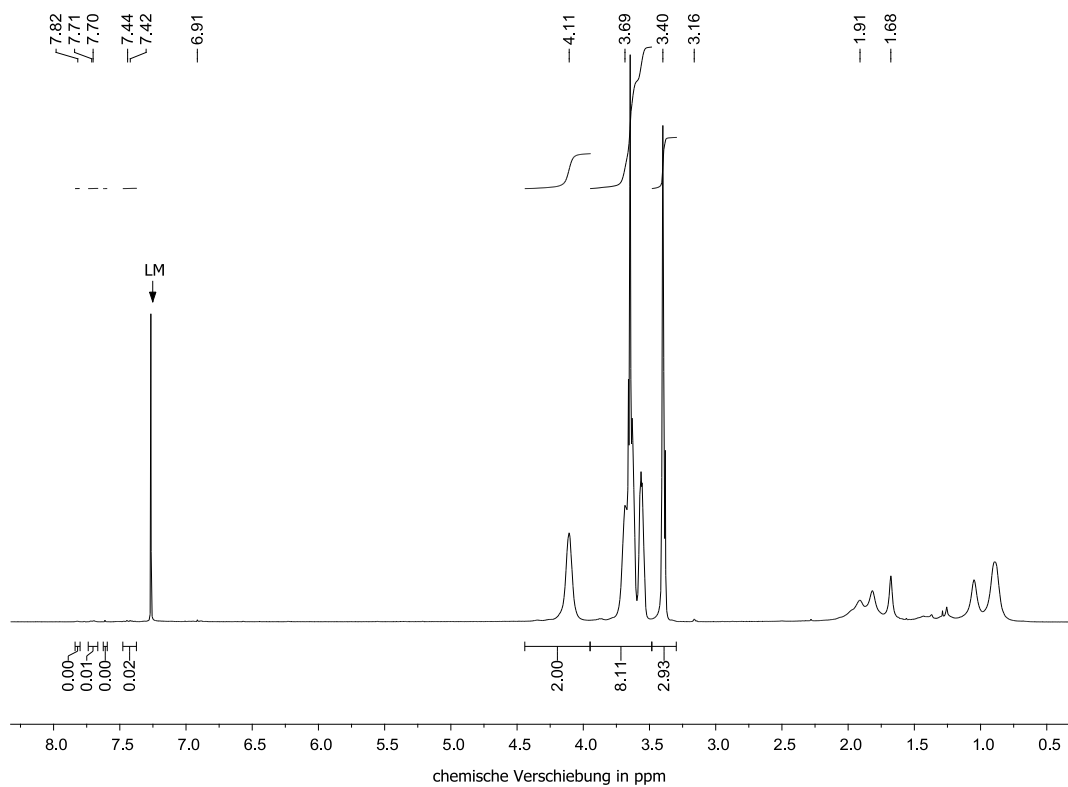
poly[OEGMA-co-(3)] P3 in CDCl₃



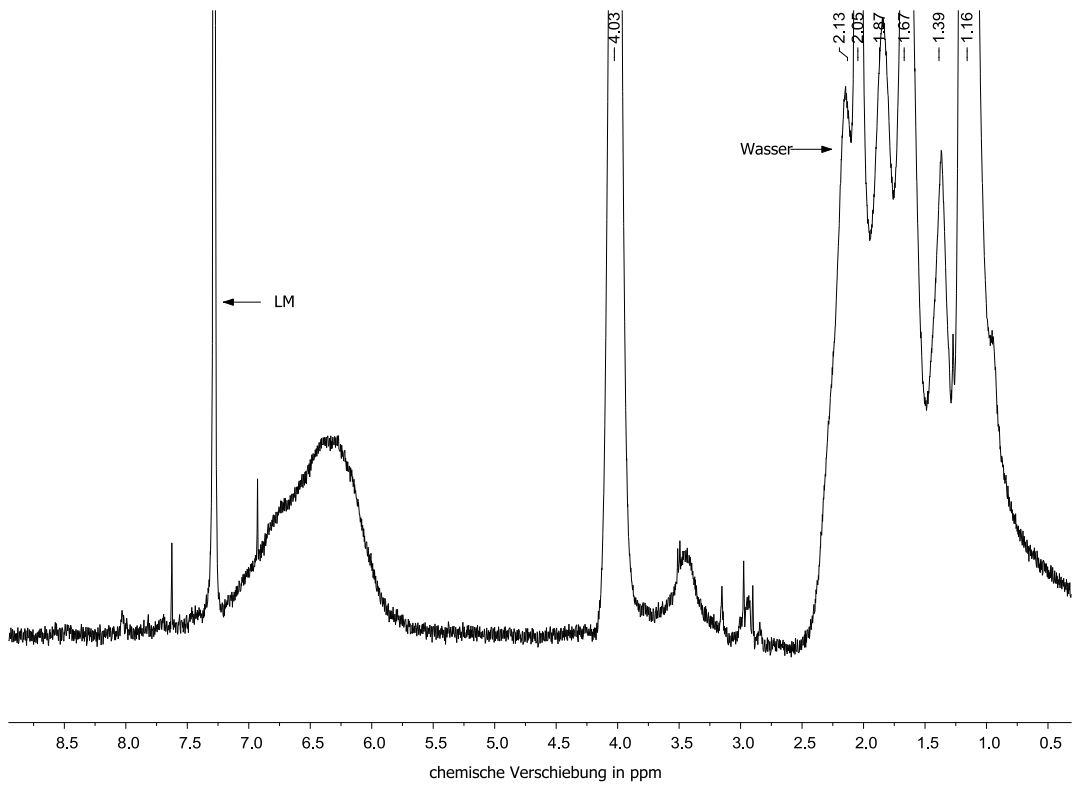
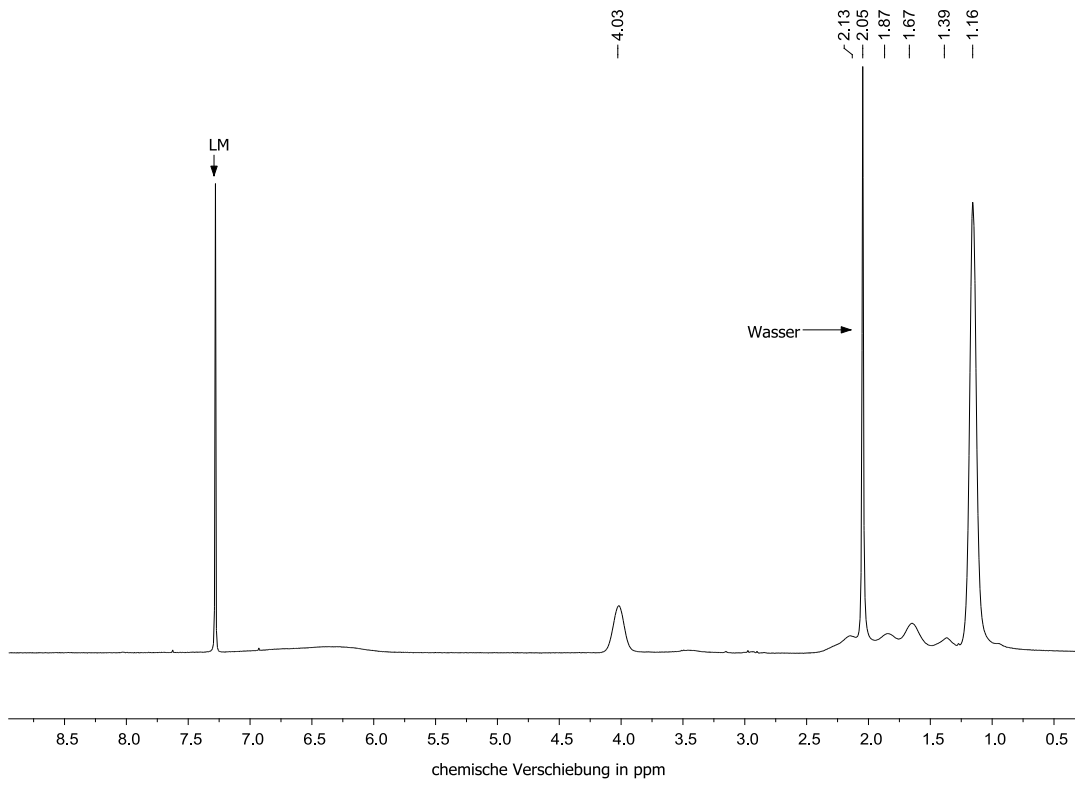
poly[NIPAm-co-(7)] P4 in CDCl₃



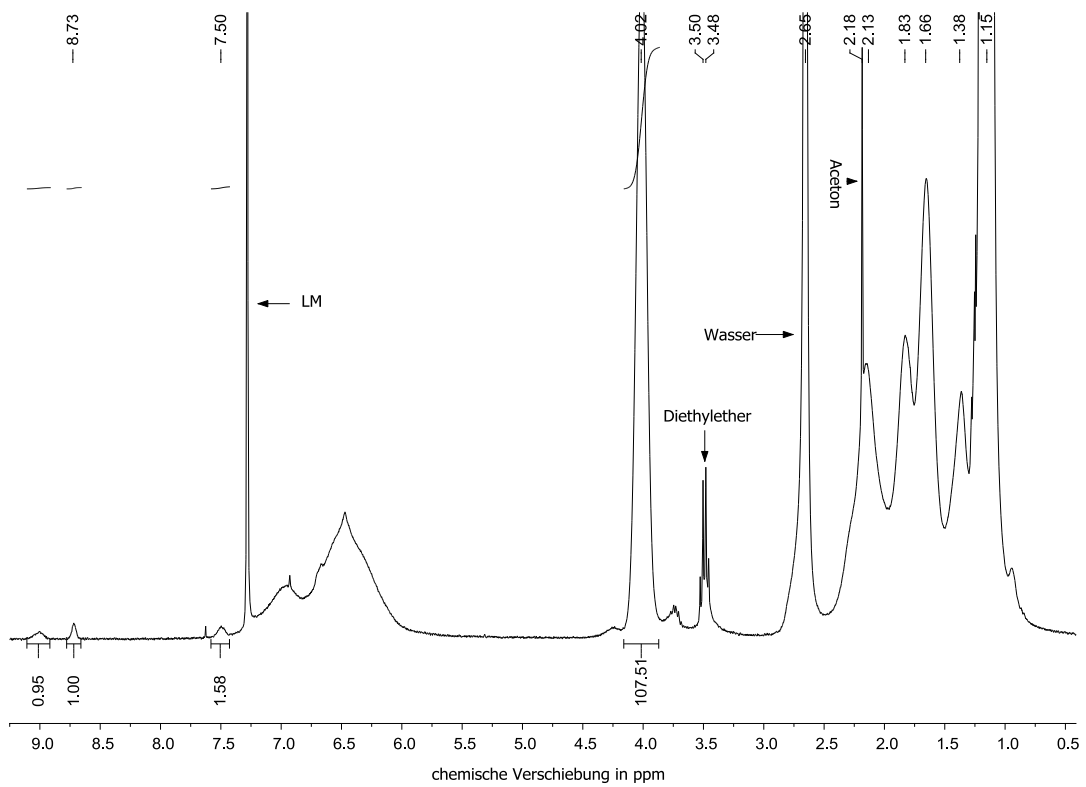
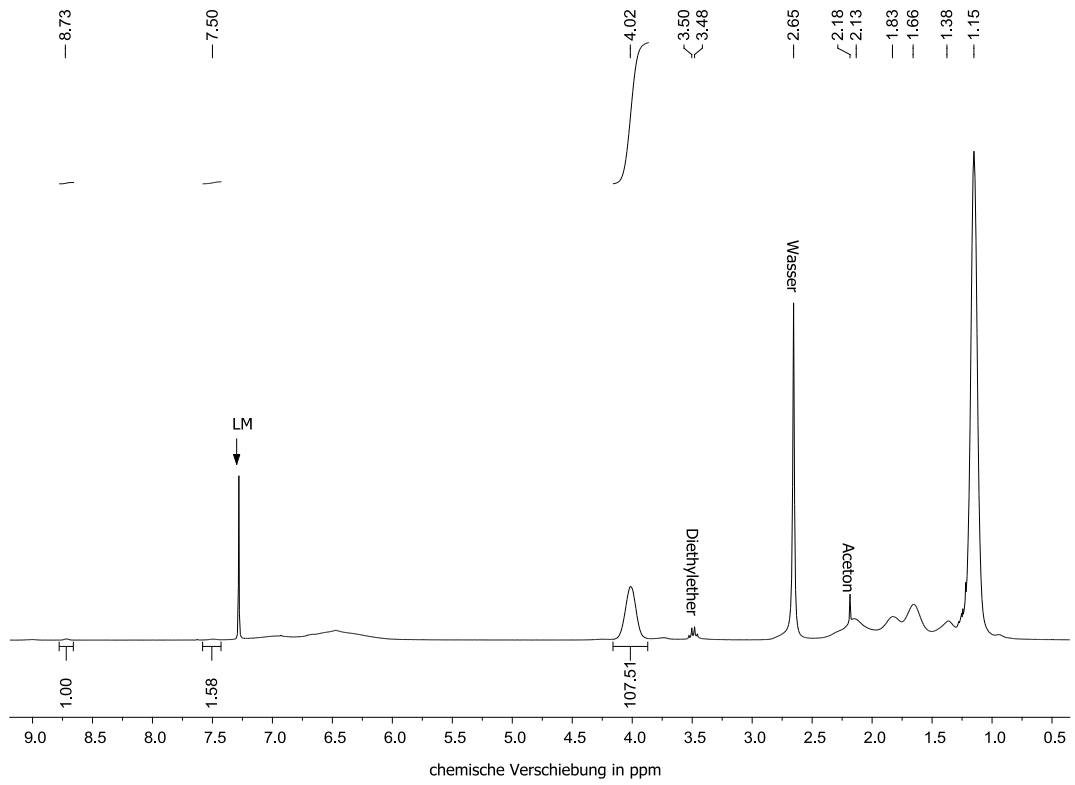
poly[OEGMA-co-(7)] P5 in CDCl₃



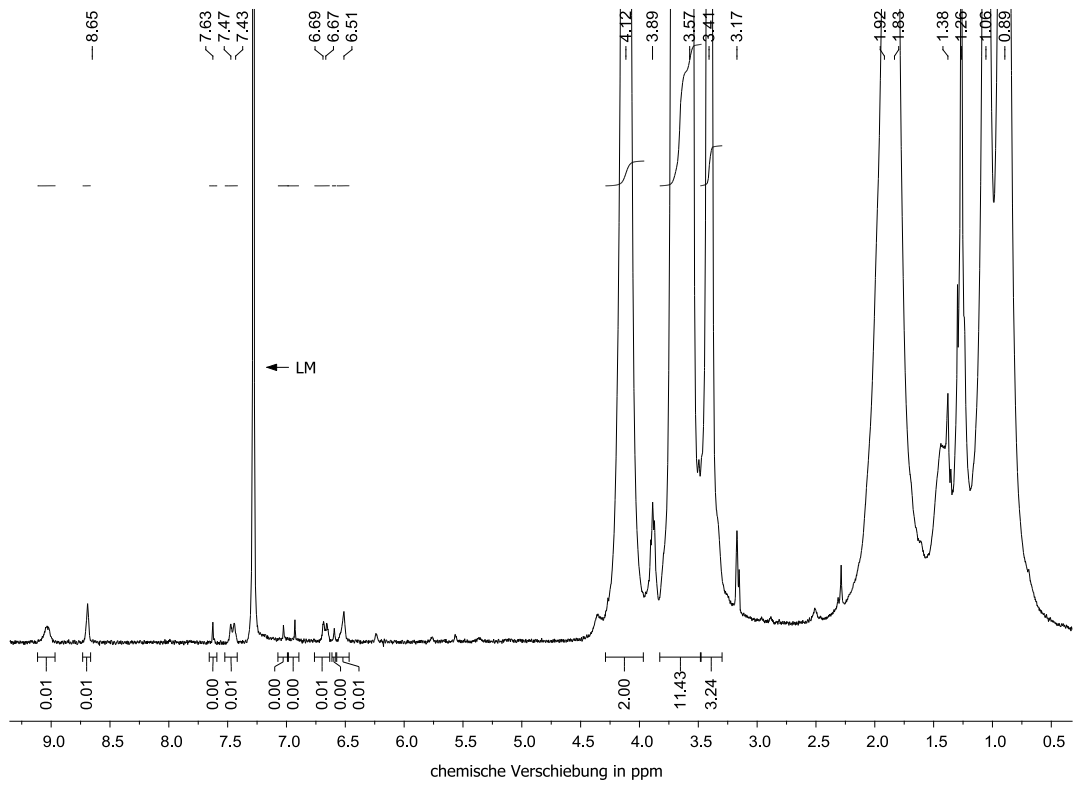
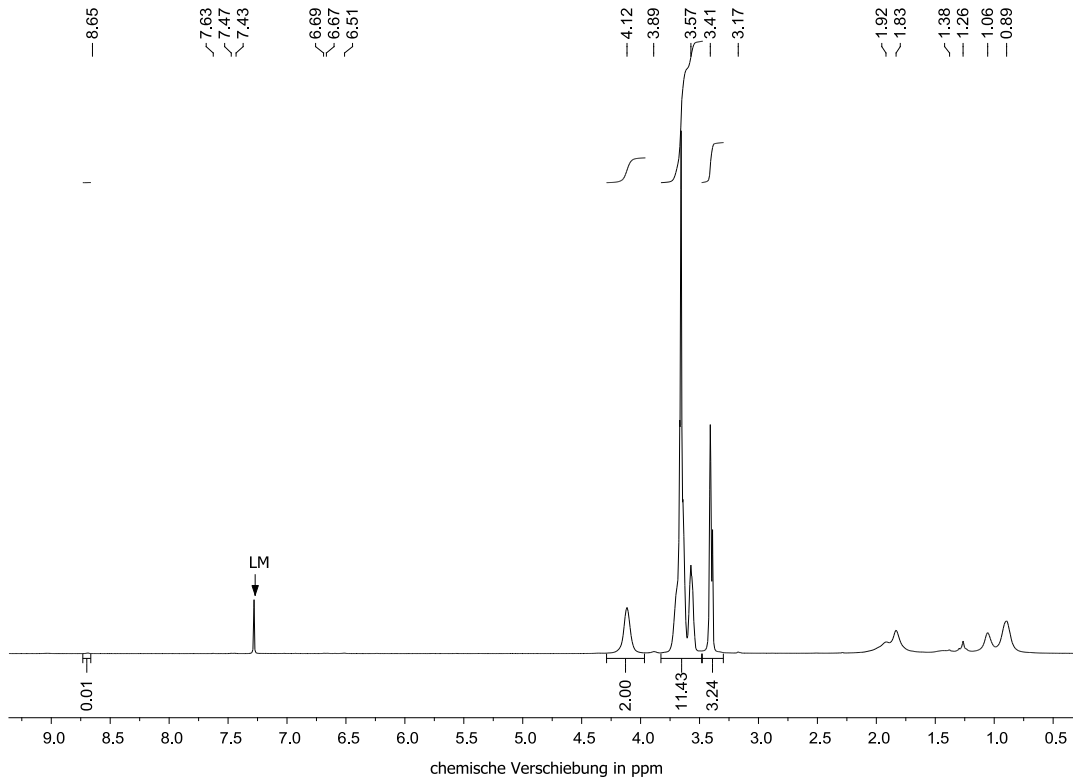
poly[NIPAm-co-(3)-co-(7)] P6 in CDCl₃



poly[NIPAm-co-(9)] P7 in CDCl₃



poly[OEGMA-co-(9)] P8 in CDCl₃



6.3 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende wissenschaftliche Arbeit selbstständig und ohne Hilfe Dritter verfasst habe. Andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel wurden nicht verwendet. Die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Abschnitte sind als solche kenntlich gemacht. Diese wissenschaftliche Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegen und wurde auch nicht veröffentlicht.

Potsdam, den

Jonas D. Kölsch