

Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung

PIPOX-PEP

Kontrollierte Synthese und Aggregationsverhalten von
Blockcopolymeren mit schaltbarer Hydrophilie

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

Matthias Meyer

aus Hildesheim

Potsdam, im August 2006

| Inhaltsverzeichnis | Seite |
|---|--------------|
| 1. Einleitung | I-II |
| 2. Grundlagen | 1 |
| 2.1. Copolymere | 1 |
| 2.2. Radikalische Polymerisation | 2 |
| 2.3. Anionische Polymerisation | 3 |
| 2.4. Kationische Polymerisation..... | 3 |
| 2.5. Ringöffnende Polymerisation von N-Carboxyanhydriden..... | 4 |
| 2.6. Ringöffnende Polymerisation von 2-Alkyl-2-oxazolinen | 6 |
| 2.7. Kritische Lösungstemperaturen..... | 8 |
| 2.8. Bedeutung des pH-Werts für die Sekundärstruktur | 9 |
| 2.9. Phasenverhalten..... | 10 |
| 2.10. Blockcopolymere als Wirkstoffträger | 14 |
| 3. Charakterisierungsmethoden..... | 16 |
| 3.1. Gelpermeationschromatographie (GPC) | 16 |
| 3.2. MALDI-TOF-Massenspektrometrie | 18 |
| 3.3. Analytische Ultrazentrifuge (AUZ) | 18 |
| 3.4. Rasterkraftmikroskopie (SFM) | 21 |
| 3.5. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)..... | 21 |
| 3.6. Circular dichroismus (CD) | 22 |
| 3.7. Infrarotspektroskopie (IR)..... | 25 |
| 3.8. Streumethoden..... | 26 |
| 3.8.1. Statische Lichtstreuung | 26 |
| 3.8.2. Dynamische Lichtstreuung..... | 28 |
| 4. Synthese von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-block- | |
| poly(L-glutaminsäure) | 31 |
| 4.1. Synthese von 2-Isopropyl-2-oxazolin | 32 |
| 4.2. Synthese und Charakterisierung von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) | |
| Makroinitiatoren..... | 34 |
| 4.3. Synthese und Charakterisierung von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-block- | |
| poly(L-glutaminsäure)..... | 38 |

| | |
|---|------------|
| 4.3.1. Sekundärstruktur | 42 |
| 4.3.2. Titration der Polypeptide..... | 42 |
| 4.3.3. Temperaturverhalten | 44 |
| 5. Strukturbildung von Poly(2-Isopropyl-2-oxazolin)-block- | |
| poly(L-glutaminsäure) | 45 |
| 5.1. LCST-Messungen an Poly(2-alkyl-2-oxazolin) | 48 |
| 5.1.1. Effekt des Molekulargewichts..... | 51 |
| 5.1.2. Effekt der Copolymerzusammensetzung | 52 |
| 5.1.3. Effekt der Endgruppe | 53 |
| 5.1.4. Effekt des pH-Werts..... | 54 |
| 5.2. Strukturbildung mit Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) oberhalb der LCST ... | 56 |
| 5.3. Untersuchungen an Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-block- | |
| poly(L-glutaminsäure)..... | 62 |
| 5.3.1. Untersuchungen ohne Zusatz von Natriumchlorid..... | 62 |
| 5.3.2. Untersuchungen mit Zusatz von Natriumchlorid | 71 |
| 5.4. Strukturbildung bei saurem pH-Wert und Raumtemperatur | 87 |
| 6. Initiierung der NCA-Polymerisation mit Ammoniuminitiatoren..... | 89 |
| 6.1. Entwicklung eines Reaktors für die NCA-Polymerisation | 90 |
| 6.2. Bestimmung des Reaktionsverlaufs mittels GPC..... | 91 |
| 6.3. Initiierung der Z-L-Lysin-NCA-Polymerisation mit..... | |
| Ammoniuminitiatoren | 93 |
| 7. Zusammenfassung | 100 |
| 8. Anhang | 103 |
| 8.1. Analytische Methoden..... | 103 |
| 8.2. Experimentelle Vorschriften | 104 |
| 8.3. Abkürzungsverzeichnis | 110 |
| 9. Literaturverzeichnis | 112 |
| Danksagung..... | 120 |

1. Einleitung

Biologische Polypeptide sind meistens komplexe Copolymere, deren charakteristische Eigenschaften durch die genau definierten Sequenzen der Aminosäuremonomere entstehen. Es besteht ein großes Interesse an der Synthese natürlicher Polymere, um Produkte für Implantate, künstliches Gewebe, Biomineralisation, Biosensoren oder medizinische Diagnostik zu erhalten.^[1] Gegenüber konventionellen synthetischen Polymeren bieten Polypeptide einige Besonderheiten, weil sie sich zu komplexen Strukturen anordnen können. Je nach Substituenten der Aminosäuren können Polypeptide Sekundärstrukturen, Tertiärstrukturen und quartäre Zusammenlagerungen ausbilden. Bei den biologischen Synthesen können Polypeptide mit exakten Kettenlängen und identischen Monomersequenzen produziert werden. Die chemischen Synthesen von hochmolekularen Polypeptiden führen zu einer statistischen Kettenlängenverteilung und zu einer geringeren Sequenzkontrolle.^[2] Mittels der chemischen Synthese können jedoch amphiphile Blockcopolymere mit Polypeptidblöcken konstruiert werden, die beispielsweise Mizellen oder Vesikel bilden können.^[3] Solche Mizellsysteme haben auch eine potenzielle Anwendung im Bereich der gezielten Medikamentenfreisetzung sowie der Gentherapie, wo sie als Transportsysteme dienen können.^[4]

Derzeit ist die Polymerisation von Aminosäure-N-Carboxyanhydriden (NCA-Polymerisation) die weitverbreitetste Methode für die Synthese von größeren Mengen an hochmolekularen Polypeptiden. Bei diesen Materialien handelt es sich meistens um Homopolymere, statistische Copolymere oder Pfropfcopolymere, die nicht über die Monodispersität und Sequenzspezifität natürlicher Polypeptide verfügen. Derzeit gibt es in der Literatur im Wesentlichen drei Ansätze, um eine enge Molekulargewichtsverteilung bei der NCA-Polymerisation zu erhalten. Eine bessere Kontrolle über die Polydispersität konnte von Deming durch Verwendung von Übergangsmetall-Aminkomplexen erreicht werden.^[5, 6] Der Nachteil bei diesem Verfahren ist jedoch die Anwesenheit von Übergangsmetallspuren in den fertigen Polymeren, die ihre Verwendbarkeit für biomedizinische Anwendungen einschränken. Bei dem Ansatz von Hadjichristidis wurden sehr nukleophile Initiatoren mit Hochvakuumreinigungsmethoden kombiniert, so dass Nebenreaktionen aufgrund von Verunreinigungen minimiert werden konnten.^[7] Dimitrov und Schlaad synthetisierten Polystyrol-*block*-poly(*Z*-L-lysin) Copolymere mit sehr niedrigem Polydispersitätsindex unter Verwendung der Hydrochloride von aminfunktionalisierten Polystyrolmakroinitiatoren.^[8] Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Ammoniuminitiator-Methode für die Synthese von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-

block-poly(L-glutaminsäure) Copolymeren mit enger Molekulargewichtsverteilung verwendet. Hierbei ist jedoch ein genaueres Verständnis über die gezielte Steuerung der Reaktionsgeschwindigkeit erstrebenswert, um die Polymerisation in einer möglichst kurzen Zeit durchführen zu können. Für diese Polymerisationen wurden eine Reihe von niedermolekularen Ammoniuminitiatoren systematisch eingesetzt, und die Einflüsse auf das Polymerisationsverhalten untersucht.

pH- und temperatursensitive Polymere sind vielversprechende Materialien.^[9-22] Die in der vorliegenden Arbeit synthetisierten Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block-poly(L-glutaminsäure)* Copolymere verfügen neben dem Polypeptidblock über einen zusätzlichen thermoresponsiven Block. Thermoresponsive Materialien wie das durch radikalische Polymerisation synthetisierte Poly(N-isopropylacrylamid) (PNIPAM) und seine Copolymere werden bereits in mehreren Bereichen erfolgreich verwendet. Hierzu gehören beispielsweise Hydrogele.^[23-26] Neben dem vielfach eingesetzten PNIPAM bieten die durch lebende kationische Polymerisation zugänglichen Poly(2-alkyl-2-oxazolin)e aussichtsreiche Anwendungsmöglichkeiten im Bereich der Oberflächenchemie und der Biomaterialien, wo sie beispielsweise als nichtionische Tenside, Hydrogele oder Wirkstofftransportsysteme fungieren können.^[27] Zu den Vorteilen der Polyalkyloxazoline gehören die vielfältigen Variationsmöglichkeiten an den Alkylsubstituenten, die ein gezieltes Einstellen der LCST ermöglichen. Das hier verwendete Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) besitzt einen LCST-Übergang im Bereich der Körpertemperatur, der jedoch durch zielgerichtete Copolymerisation mit anderen Oxazolinmonomeren auf den gewünschten Temperaturbereich eingestellt werden kann. Die vielfältigen Funktionalisierungsmöglichkeiten dieser Polyamide sowie die Synthese mittels kontrollierter kationischer Polymerisation eröffnen vielversprechende Einsatzmöglichkeiten.

Die in der vorliegenden Arbeit synthetisierten stimuliresponsiven Materialien wurden hinsichtlich ihres Strukturbildungsverhaltens bei Zusatz von Elektrolyten, Änderungen des pH-Werts sowie der Temperatur untersucht.

2. Grundlagen

2.1. Copolymere

Der Begriff Copolymerisation als Oberbegriff schließt die Polymerisation von zwei, drei, vier und mehr Monomeren ein. Copolymere aus zwei Monomeren heißen eigentlich Bipolymere, aber dieser Name ist nicht gebräuchlich, man nennt sie Copolymere. Polymere aus drei Monomeren heißen Terpolymere, aus vier Monomeren Quarterpolymere. In der Abb.2.1 sind verschiedene Anordnungsmöglichkeiten der Monomere in den Copolymeren dargestellt.

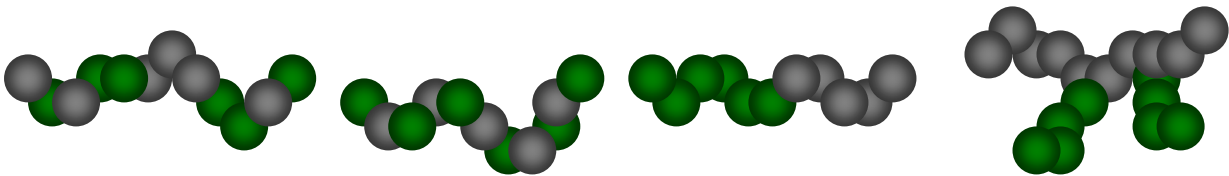


Abb.2.1: Ausgewählte Arten von Copolymeren von links nach rechts: Statistisches Copolymer, alternierendes Copolymer, Blockcopolymer und Pfropfcopolymer.

Im Fall einer ideal „lebenden“ Polymerisation ist der Polymerisationsgrad P_n durch den folgenden Zusammenhang gegeben:

$$P_n = \frac{[M_0]}{[I_0]} \cdot \text{Umsatz} \quad (\text{Gl.1})$$

mit: $[M_0]$: eingesetzte Monomerkonzentration

$[I_0]$: eingesetzte Initiatorkonzentration

Durch die Wahl der Initiatorkonzentration kann sowohl der Polymerisationsgrad, als auch die Polymerisationsgeschwindigkeit verändert werden. Wird davon ausgegangen, dass alle Ketten gleichzeitig gestartet werden und ohne Abbruch wachsen, resultiert als Molekulargewichtsverteilung eine Poisson-Verteilung, während bei anderen Polyreaktionen die wahrscheinlichste Verteilung in Form der Schulz-Flory-Verteilung gefunden wird.^[28]

Die Uneinheitlichkeit U der Polymere steht mit dem Polydispersitätsindex D und dem Polymerisationsgrad in folgendem Zusammenhang:

$$D = 1 + U = 1 + \frac{1}{P_n} \quad (\text{Gl.2})$$

Aufgrund dieses Zusammenhangs nimmt die Uneinheitlichkeit der Polymere mit steigendem Polymerisationsgrad ab.

2.2. Radikalische Polymerisation

Die konventionelle radikalische Polymerisation hat gegenüber anderen Polymerisationsprozessen viele Vorteile. Sie benötigt nicht strenge Prozessbedingungen und kann für Polymerisationen von zahlreichen Vinylmonomeren eingesetzt werden. Nahezu 50 % aller kommerziellen synthetischen Polymere wird mittels radikalischer Polymerisation hergestellt.^[29, 30] Dennoch ist die geringe Kontrolle über einer Reihe von Reaktionsmerkmalen die größte Einschränkung der freien radikalischen Polymerisation. Die Synthese von definierten Polymeren mittels freier radikalischer Polymerisation wird erschwert durch die Kontrolle von Molekulargewichten, Polydispersitäten, Kettenarchitektur und Funktionalisierung. Um eine bessere Kontrolle über die Reaktionsmöglichkeiten zu erhalten wurden mehrere kontrollierte radikalische Polymerisationen eingeführt. Hierzu gehören im Wesentlichen die stabile freie radikalische Polymerisation (SFRP), die üblicherweise die Nitroxid vermittelte Polymerisation^[31, 32] aber auch die Verwendung von Organometallspezies einschließt.^[33] Desweiteren wird häufig die ATRP^[34, 35] sowie RAFT^[36, 37] verwendet. Um die Lebensdauer der anlagernden Kettenenden zu erhöhen, verwendet jede dieser Methoden ein dynamisches Gleichgewicht zwischen einer geringen Konzentration an aktiven Kettenenden und einem hohen Anteil an „schlafenden“ Kettenenden, die nicht terminieren und kein weiteres Monomer anlagern. Ein Nachteil bei der Verwendung von Übergangsmetallen sind jedoch Restspuren von Übergangsmetallen, und es wird daran gearbeitet diese zu entfernen^[38] bzw. zu minimieren. Die kontrollierte radikalische Polymerisation kann in der Gegenwart von Wasser^[39] und auch ionischen Flüssigkeiten^[40] durchgeführt werden. Ein großer Vorteil ist, dass auch saure, basische, ionische oder weitere funktionalisierte Monomere für die Synthese von Polymeren verwendet werden können.

2.3. Anionische Polymerisation

Anionische Polymerisationen laufen in den überwiegenden Fällen nur unter Luftausschluss und im Gegensatz zur radikalischen Polymerisation auch unter absolutem Wasserausschluss ab. Es sind nur Monomere mit elektronenziehenden Substituenten an der Doppelbindung oder Ringe anionisch polymerisierbar. Dazu gehören Styrole, Vinylpyridine, Vinylketone, Acrylverbindungen sowie einige Diene. Als Beispiele für Heterozyklen seien Ethylenoxid, Propylenoxid, Ethylencarbonat, fünf- bis 12-gliedrige ringförmige Lactame und Lactone sowie N-Carboxyanhydride genannt. Es werden Initiatorclassen wie Alkalimetallorganyle (z.B. Butyllithium), Alkalimetalle (Natrium, Kalium), Alkaliamide (z.B. LDA), Grignard-Verbindungen, Alkalialkoholate, Alkalienolate, Amine, und Phosphine verwendet. Bei der Wahl des Initiators sollte die Nukleophilie der Initiatoranionen reziprok zur Elektrophilie der Monomere sein, damit die Startreaktion ablaufen kann. Zu Kettenabbrüchen kann es kommen, wenn die Kettenenden beispielsweise mit Kohlenstoffdioxid, Wasser und weiteren geeigneten Substanzen reagieren. Wasser kann jedoch auch bei einigen Polymerisationen als Initiator fungieren. Aufgrund der engen Molekulargewichtsverteilung eignen sich durch anionische Polymerisation synthetisierte Polymere als Standards für die Gelpermeationschromatographie. In der Literatur finden sich mehrere anionische Polymerisationen, die Polymere mit enger Molekulargewichtsverteilung ergeben.^[41]

2.4. Kationische Polymerisation

Unter einer kationischen Polymerisation versteht man die Reaktion eines kationischen Initiators mit Monomeren zu Makromolekülen. Industriell haben sich beispielsweise die kationischen Polymerisationen von Vinylethern, Isobutylen, Formaldehyd, Tetrahydrofuran, Ethylenimin sowie Inden durchgesetzt.^[28]

Es lassen sich drei Gruppen von Monomeren kationisch polymerisieren:

1. Elektronenreiche Olefinderivate mit elektronenreichen Substituenten
2. Heteronukleare Mehrfachbindungen mit Heteroatomen oder Heterogruppierungen
3. Ringe mit Heteroatomen

Kationisch polymerisierbare Monomere müssen stark elektronendonierende Gruppen aufweisen. Zu dieser Gruppe gehören daher π -Donatoren wie Olefine, Diene und Vinylaromaten sowie (π -n)-Donatoren wie N-substituierte Vinylamine und Vinylether. Zu den Monomeren mit heteronuklearen Mehrfachbindungen gehören z.B Aldehyde, gewisse Ketone, Thioketone und Diazoalkane. Die kationisch polymerisierbaren Ringverbindungen sind sämtlich n-Donatoren. Zu ihnen gehören cyclische Ether, Acetale, Sulfide, Imine, Lactone und Lactame.^[42] Zu den häufig verwendeten Initiatoren zählen Protonensäuren, Lewis-Säuren, Carbeniumsalze oder eine Mischung aus Alkylhalogenid und Lewis-Säure.

2.5. Ringöffnende Polymerisation von N-Carboxyanhydriden

Mit der ringöffnenden Polymerisation von Aminosäure-N-Carboxyanhydriden können Polypeptide oder Polypeptidblockcopolymeren mit hohem Molekulargewicht synthetisiert werden. Unter Verwendung dieser Methode sind Polypeptide zugänglich, die durch Festphasensynthese oder biotechnische Verfahren nicht hergestellt werden können. Die Synthese der N-Carboxyanhydride (NCA) kann auf zwei Wegen geschehen. Durch Zyklisierung eines N-Alkoxy-carbonylaminosäurehalogenids wird bei der Leuchs-Methode^[43-45] das Produkt erhalten. Bei der Fuchs-Farthing-Methode^[46-50] erfolgt eine Phosgenierung der Aminosäure oder deren Derivate. Eine praktische Möglichkeit ist die Verwendung von Triphosgen, das sich als Feststoff wesentlich einfacher handhaben lässt als das Phosgen. Als Nebenprodukte entstehen Chlorwasserstoff, Chloroformyl-Aminosäure und α -Isocyanato-Säurechloride. Damit diese Verbindungen die Polymerisation nicht stören, wird das NCA-Derivat durch Umkristallisation aufgereinigt. Es gibt auch mehrere abgewandelte Synthesen.^[51]

Für die Initiierung der ringöffnenden Polymerisation können eine Vielzahl von Initiatoren verwendet werden. Eine detaillierte Beschreibung für verschiedene Initiatoren findet sich bei Kricheldorf.^[52] Die N-Carboxyanhydride der Aminosäuren verfügen über zwei elektrophile Reaktionszentren (C-2 und C-5) sowie zwei azide Zentren NH und CH. Die amininitiierte Polymerisation verläuft im Idealfall durch nukleophilen Angriff am C-5 Kohlenstoff wobei unter Ringöffnung eine Carbamat-Verbindung (Abb.2.2) gebildet wird.

Der Wachstumsschritt der Kette kann nun auf zwei Wegen erfolgen. Beim Aminmechanismus wird Kohlenstoffdioxid direkt abgespalten und die entstehende aktive Spezies greift ein weiteres NCA-Molekül nukleophil an. Als weitere Möglichkeit kann der Carbamat-Mechanismus auftreten, wobei ein gebildetes Carbamat ein weiteres NCA-Molekül

anlagert. Bei der betrachteten Bildung des Carbamations und der Decarboxylierung handelt es sich um Gleichgewichtsreaktionen, und die Kettenfortpflanzung ist sehr stark von den Reaktionsbedingungen wie Druck, Temperatur und Lösungsmittel abhängig.^[53, 54]

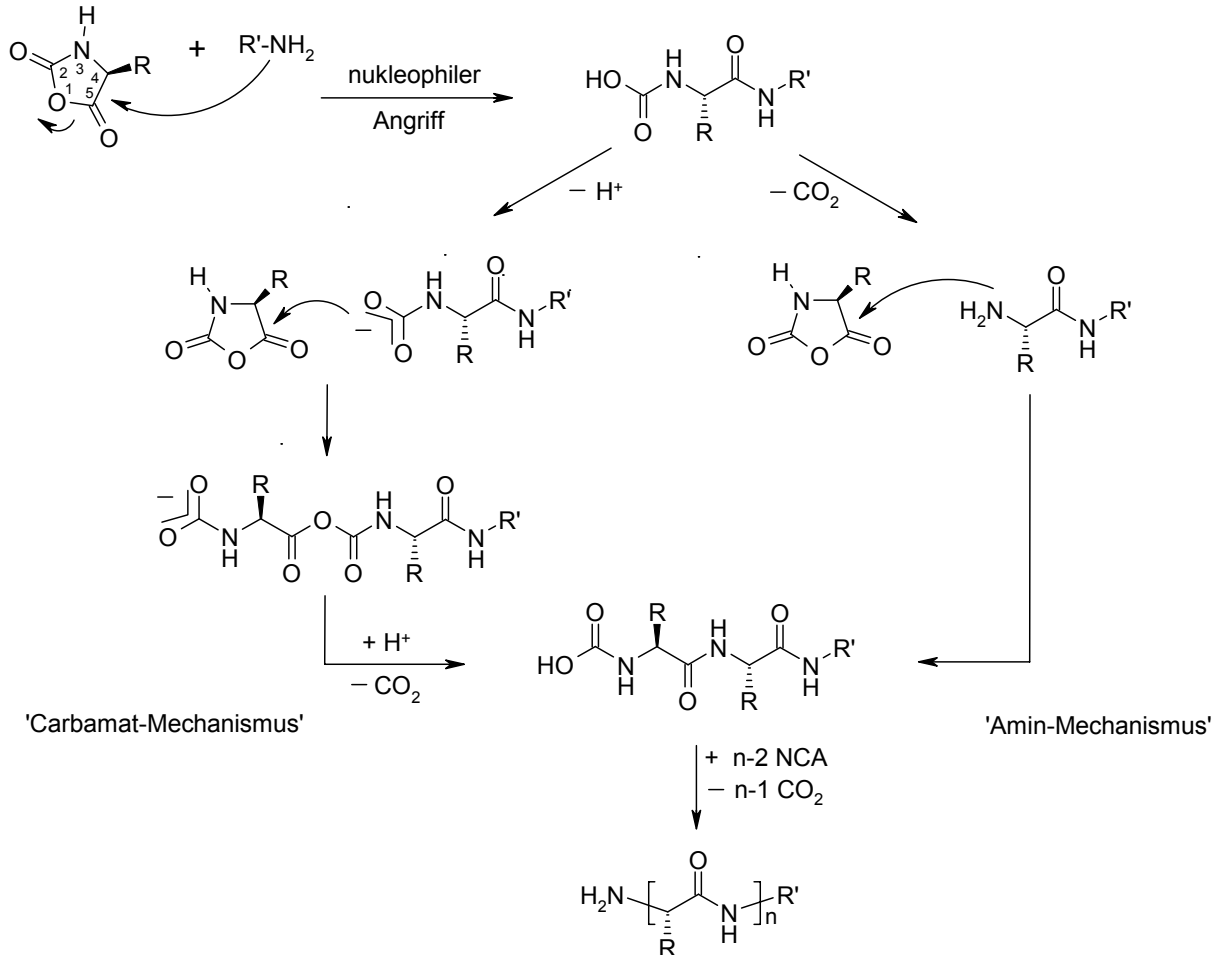


Abb.2.2: Carbamat- bzw. Amin-Mechanismus der Polymerisation von N-Carboxyanhydriden bei Verwendung eines primären Amins als Initiator.

Werden tertiäre Amine für die Initiierung der Polymerisation verwendet, so wird der „Aktivierte Monomer“-Mechanismus (AM-Mechanismus) beobachtet (Abb.2.3). Durch das tertiäre Amin erfolgt eine Deprotonierung der NH-Gruppe im Ringgerüst des NCA-Moleküls, und das Amin reagiert hier somit als Base und nicht als Nukleophil. Dieses entstandene Anion greift ein weiteres NCA-Molekül nukleophil an C-5 an, wobei ein Dimer gebildet wird. Das Kettenende dieses Dimers kann ein Amin bzw. ein Carbamat sein. In der Folge kann das Dimer durch ein weiteres deprotoniertes N-Carboxyanhydrid nukleophil angegriffen werden und die Reaktion wird auf diese Weise fortgesetzt. Die entstandenen Oligopeptide können in der Folge zu einem hochmolekularen Polymer kondensieren.

Der Initiator wird nicht in die Polymerkette eingebaut und befindet sich als Katalysator in einem Gleichgewicht aus Protonierung und Deprotonierung. Dadurch wird eine Kontrolle des Molekulargewichts erschwert.

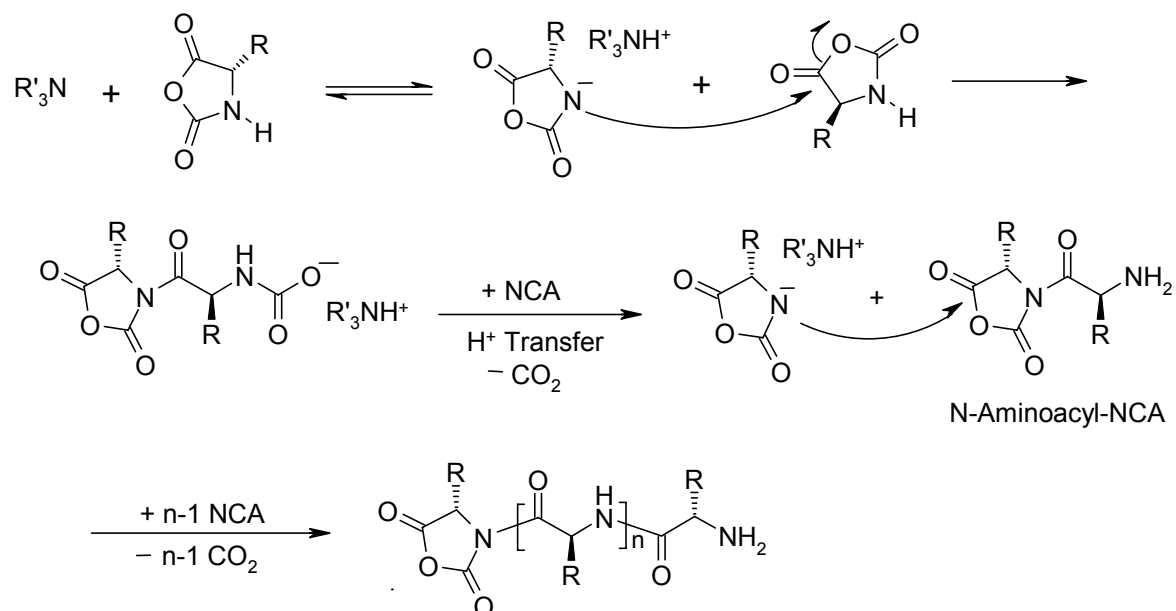
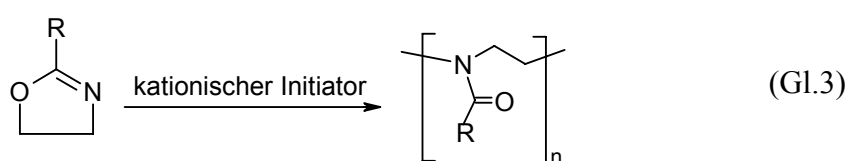


Abb.2.3: „Aktivierte Monomer“-Mechanismus für die Polymerisation von N-Carboxyanhydriden mit tertiären Aminen.

Die Polymerisationsmechanismen aus den Abb.2.2 und Abb.2.3 können während einer Polymerisation auftreten, weil auch ein Wechsel zwischen Amin- und AM-Mechanismus erfolgen kann.

2.6. Ringöffnende Polymerisation von 2-Alkyl-2-oxazolinen

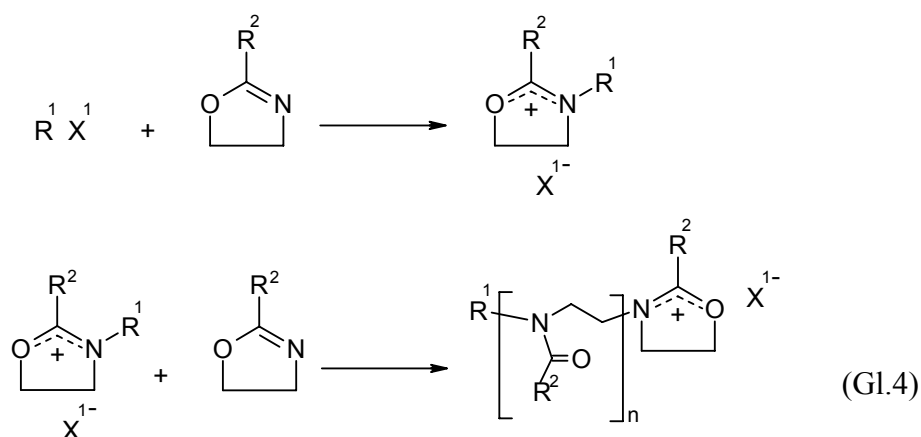
2-Oxazoline sind fünfgliedrige heterocyclische Iminoether. Die kationische Ringöffnungspolymerisation ist in Polymerchemie und Materialwissenschaft von Interesse. Über die Ringöffnungspolymerisation der 2-Oxazoline wurde zuerst von Kagiya et al. im Jahr 1966 berichtet.^[55] Hierbei verläuft die Polymerisation unter Bildung von Poly(N-acylethylenimininen) nach Gl.3 ab.



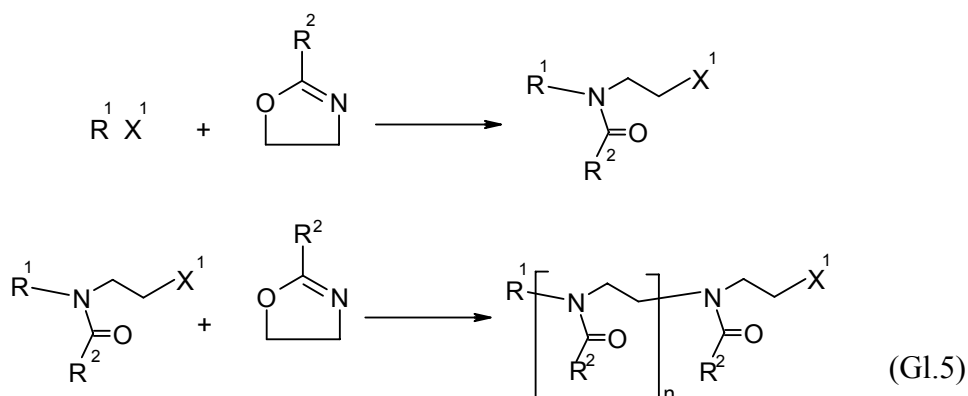
Die Polymerisation von 2-Oxazolinen wurde in zahlreichen Übersichtsartikeln beschrieben, und sie wird im Allgemeinen als lebend bezeichnet.^[56-62] Für die Synthese von 2-Oxazolinen können mehrere Methoden verwendet werden,^[63] und als kationische Initiatoren für die Polymerisation von 2-Oxazolinen wird eine Vielzahl von Verbindungen genutzt. Hierzu gehören beispielsweise Lewis-Säuren, starke Protonensäuren und deren Ester (Triflate, Tosylate) oder Alkylhalogenide. Geeignete Lösemittel zur Polymerisation von 2-Oxazolinen sind aprotische dipolare Substanzen wie z.B: Acetonitril oder Benzonitril.^[64]

Mechanismus:

Je nach Initiator kann die Polymerisation nach zwei Arten von Mechanismen ablaufen, dem kovalenten und dem ionischen Mechanismus. Der Angriff des freien Elektronenpaares vom Stickstoff am Initiator erfolgt im Initiierungsschritt. Bei dem ionischen Mechanismus erfolgt das Wachstum nach dem in Gl.4 gezeigten Mechanismus:^[63]



Bei dem kovalenten Mechanismus erfolgt das Wachstum nach dem in Gl.5 gezeigten Mechanismus:^[63]



Ob der ionische oder kovalente Mechanismus vorliegt, wird zum einen durch das Gegenion und zum anderen durch den Substituenten R^2 bestimmt. Wird die Polymerisation von 2-Alkyl-2-oxazolinen mit Tosylaten und Triflaten gestartet, so liegt ein ionischer Mechanismus vor. Informationen über den Mechanismus finden sich bei verschiedenen Autoren.^[65-72] Für den Terminierungsschritt wird im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit ein Piperidinderivat verwendet.

2.7. Kritische Lösungstemperaturen

Es gibt Polymere in Lösung deren Löslichkeit sich mit steigender Temperatur erhöht, weil die zusätzliche thermische Bewegung die Anziehungskräfte zwischen ähnlichen Molekülen herabsetzt und energetisch weniger bevorzugte Kontakte begünstigt werden.^[73] Das Phasendiagramm für solche Systeme mit schlechten Lösungsmitteln wird durch den Bereich A in Abb.2.4 veranschaulicht. Hierbei befindet sich die kritische Temperatur T_c nahe beim Maximum der Trübungspunktkurve und wird als obere kritische Lösungstemperatur (UCST, upper critical solution temperature) bezeichnet. Für unpolare Systeme ist die Entropieänderung ΔS^M beim Mischen normalerweise positiv und wird allerdings stark von der Temperatur T beeinflusst. Die Löslichkeit hängt somit hauptsächlich von der Mischungsenthalpie ΔH^M ab, die üblicherweise positiv ist. Daraus folgt, dass die freie Mischungsenthalpie ΔG^M mit fallender Temperatur schließlich positiv wird und dann eine Phasentrennung stattfindet. Ein Beispiel für ein Polymersystem mit UCST findet sich bei Laschewsky et al..^[74]

Im Gegensatz hierzu gibt es Polymere in Lösung, bei denen eine deutliche Abnahme der Löslichkeit mit steigender Temperatur beobachtet wird. Hierbei besitzt die Trübungspunktkurve in Abb.2.4 die umgekehrte Form. Die entsprechende kritische Temperatur liegt in diesem Fall beim Minimum der Kurve und wird als untere kritische Lösungstemperatur (LCST, lower critical solution temperature) bezeichnet.

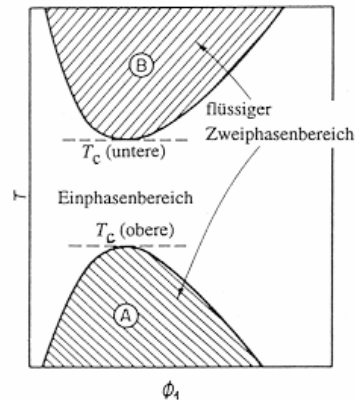


Abb.2.4: Schematische Darstellung der zwei Phasendiagrammtypen, die üblicherweise bei Polymerlösungen anzutreffen sind; A) Zweiphasengebiet, das zur oberen kritischen Lösungstemperatur, und B) Zweiphasengebiet, das zur unteren kritischen Lösungstemperatur führt; zwischen diesen beiden Regionen befindet sich ein Einphasengebiet.^[73]

Die Löslichkeit kann durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Polymer und beispielsweise Wasser bewirkt werden. Weil Wasserstoffbrückenbindungen aber thermisch instabil sind, verringert sich ihre Stärke mit steigender Temperatur, und es kommt unter Umständen zu einer Phasentrennung.

2.8. Bedeutung des pH-Werts für die Sekundärstruktur

Das in dieser Arbeit synthetisierte Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure) Copolymer verfügt mit dem Poly(L-glutaminsäure) Block über ein pH-schaltbares Segment. Die Poly(L-glutaminsäure) verfügt neben den pH- und Salz-responsiven Eigenschaften der klassischen Polyelektrolyte wie beispielsweise Polyacrylsäure noch zusätzlich über die Möglichkeit zur Ausbildung einer Sekundärstruktur und kann durch die Änderung des pH-Werts einen Übergang von der Zufallsknäuelstruktur zu einer α -helikalen-Struktur vollziehen. Bei sauren pH-Werten liegen die Säuregruppen in der protonierten Form vor und es kann sich eine α -Helix ausbilden. Bei basischen pH-Werten ist dieser Polyelektrolyt geladen und geht in die Zufallsknäuelstruktur über. Die Verwendung von Poly(L-

glutaminsäure) wurde bereits in mehreren anderen Copolymersystemen erfolgreich für die Ausbildung von pH-sensitiven Strukturen eingesetzt.^[75, 76]

2.9. Phasenverhalten

Bulk

Die in diesem Unterpunkt beschriebenen Phasenmorphologien sind auf den festen Zustand bezogen, wobei Lösungsmiteleinflüsse nicht berücksichtigt werden. Bates und Fredrickson untersuchten den Zusammenhang zwischen molekularen Parametern und dem Phasenverhalten eines Diblockcopolymers A_mB_n .^[77] Für die Beschreibung des Phasenverhaltens können der Polymerisationsgrad $N = N_A + N_B$ sowie die Zusammensetzung des Diblockcopolymers $f = N_A/N$ verwendet werden. Durch die Wahl der Zusammensetzung bei der Polymersynthese lassen sich somit gezielt diese Parameter variieren, die im Wesentlichen einen Einfluss auf die Entropie des Systems besitzen.

Unter Verwendung des Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameters χ zwischen den Monomeren A und B, läßt sich ebenfalls das Phasenverhalten beschreiben. Hierbei handelt es sich um einen hauptsächlich enthalpischen Parameter, den man beispielsweise durch geeignete Wahl der Monomere beeinflussen kann.

Die Flory-Huggins-Gleichung leitet sich aus theoretischen Betrachtungen eines Polymers in Lösung her.^[27] Wird der Spezialfall der Lösung eines Polymers in einem anderen betrachtet, so gilt der folgende Zusammenhang:

$$\chi = \frac{Z}{k_B T} \left[\varepsilon_{AB} - \frac{1}{2}(\varepsilon_{AA} + \varepsilon_{BB}) \right] \quad (\text{Gl.6})$$

Mit:

Z: Anzahl der nächstliegenden Monomere in einer Copolymer-Anordnung.

ε : Wechselwirkungsenergie pro Monomer zwischen den indizierten Monomeren.

Eine Abstoßung zwischen A und B wird durch einen positiven Wert für χ_{AB} erkennbar und eine Anziehung durch einen negativen Wert für χ_{AB} , wodurch ein Mischungsbestreben der beiden Einheiten A und B deutlich wird. Aus obiger Gleichung geht hervor, dass der Wechselwirkungsparameter χ mit sinkender Temperatur größer wird, was eine Entmischung der beiden Einheiten A und B begünstigt.^[77]

Das in Abb.2.5 dargestellte Phasendiagramm wurde auf der Grundlage von theoretischen Ansätzen für konformativ isotrope Diblockcopolymere berechnet. Es wird der Segregationsparameter (Produkt aus Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameter χ und der Blocklänge N) in Abhängigkeit der Blockcopolymer Zusammensetzung f aufgetragen.^[78]

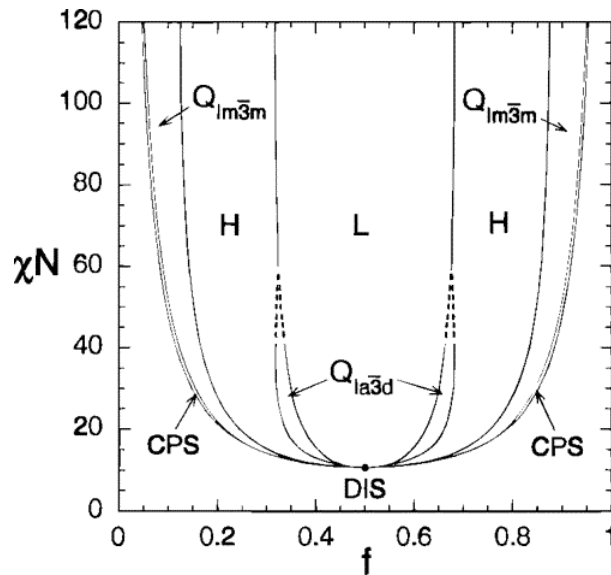


Abb.2.5: Phasendiagramm für konformativ isotrope Diblockcopolymere.^[79, 80]

- L: Lamellen (engl. lamellar)
- H: hexagonal gepackte Zylinder (engl. hexagonal cylinders)
- $Q_{Im\bar{3}m}$: kubisch innenzentriert gepackte Kugeln (engl. bicontinuous cubic spheres)
- $Q_{Ia\bar{3}d}$: Gyroid
- CPS: kubisch dicht gepackte Kugeln (engl. close-packed spheres)
- DIS: ungeordnete Phase (engl. disorderd)

Das System liegt homogen verteilt in einer ungeordneten Phase vor, wenn der Segregationsparameter χN zu klein ist ($\chi N < 10$), wobei dieser Bereich in Abb.2.5 mit DIS markiert wird.

Im System tritt mit steigendem χN eine schwache Phasensegregation auf und das System geht in den als „weak segregation limit“ (WSL) bezeichneten Bereich über. Die Entmischung des Systems wird verstärkt, wenn der Wert für χN steigt. Dieser Bereich hat die Bezeichnung „strong segregation limit“ (SSL).

Eine Temperaturabhängigkeit wird im Bereich des „weak segregation limit“ (WSL) beobachtet und nicht in demjenigen des „strong segregation limit“. Drei unterschiedliche Phasenmorphologien treten im Bereich des SSL auf (Lamellen, hexagonal gepackte Zylinder

sowie kubisch innenzentriert gepackte Kugeln). Im Bereich des WSL tritt zusätzlich die Gyroid-Phase auf (Abb.2.5).

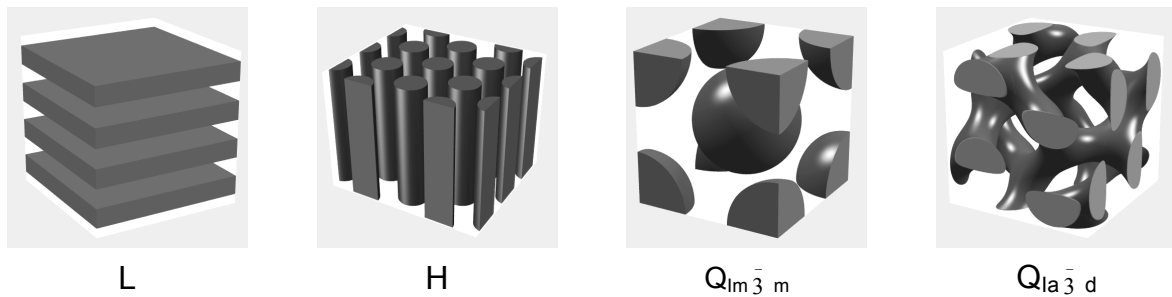


Abb.2.6: Dreidimensionale Darstellung ausgewählter Phasenmorphologien.

Das Wachstum der Domänen unterliegt zwei geometrischen Grenzen. Die Polymerketten können nicht über ihre Konturlänge hinaus gestreckt werden und desweiteren ermöglicht die Grenzfläche nicht beliebig vielen A-B Verknüpfungspunkten Platz. Beim Erreichen von einen dieser beiden Grenzen, liegt der Bereich der „super strong segregation limit“ (SSSL) vor.^[81] Die vorgestellten Phasenmorphologien verfügen über eine charakteristische Größe R ihrer Mikrostruktur (z.B. Dicke der Lamellen oder Zylinder). In der Tabelle 1 wird die Abhängigkeit der Mikrostrukturgröße R und der Aggregationszahl Z vom Polymerisationsgrad N für die verschiedenen Segregationsbereiche zusammengestellt.^[82]

Tabelle 1: Abhängigkeit der Mikrostrukturgröße R und der Aggregationszahl Z vom Polymerisationsgrad N für die verschiedenen Segregationsbereiche.

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

Lösung

Neben der Selbstorganisation in fester Phase tritt die Ausbildung von Strukturen auch in Lösung auf. Durch Verwendung eines selektiven Lösungsmittels treten in Lösung bei niedermolekularen Tensiden^[83] oder Blockcopolymeren^[84] die Ausbildung von beispielsweise Mizellen^[85] auf. Hierbei kann das Lösungsmittel einen der beiden Blöcke selektiv lösen und für den anderen Block ein sehr schlechtes Lösungsmittel oder sogar Fällungsmittel darstellen

(unlösliche Molekülsegment A). Hierbei ist der unlösliche Block bestrebt, die Anzahl der Kontaktstellen mit dem Lösungsmittel zu minimieren und wird deswegen den Kern der Mizellen bilden. Der lösliche Block B bildet die Hülle der Mizelle.

Wenn die Korona viel größer als der Kern ist, liegen „haarige Mizellen“ (hairy micelles) vor. Für den entgegengesetzten Fall mit deutlich größerem Kern im Vergleich zur Korona werden „kurzgeschorene Mizellen“ (crew cut micelles) erhalten. Der Begriff amphiphile Mizelle (amphiphilic micelles) bezieht sich auf ein System starker Segregation (SSL) und ist nicht abhängig vom strukturellen Aufbau („hairy“ oder „crew cut“) der Mizelle. Förster et al.^[82] hat für stark segregierende Systeme einen allgemeingültigen Zusammenhang zwischen den Polymerisationsgraden des unlöslichen (N_A) und des löslichen (N_B) Blocksegmentes und der Aggregationszahl Z der Polymermoleküle pro Mizelle nachgewiesen. Die Mizellbildung für Diblock-, Triblock- und Pfropfcopolymere sowie von niedermolekularen Tensiden kann mit der folgenden Gleichung beschrieben werden:

$$Z = Z_0 N_A^\alpha N_B^{-\beta} \quad (\text{Gl.7})$$

Die Exponenten $\alpha = 2$ und $\beta = 0,8$ wurden empirisch bestimmt und durch Modelle plausibilisiert. Der vorangestellte Faktor Z_0 ist im Wesentlichen von der Mischungsenthalpie zwischen dem unlöslichen Blocksegment A und dem Lösungsmittel abhängig. In der Tabelle 2 ist ein Zusammenhang zwischen der Mikrostruktur R und der Aggregationszahl Z vom Polymerisationsgrad N gegeben.^[82]

Tabelle 2: Abhängigkeit der Mizellgröße R und der Aggregationszahl Z vom Polymerisationsgrad N für unterschiedliche Mizelltypen.

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

Niedermolekulare Tenside haben in vielen Merkmalen ein vergleichbares Verhalten wie amphiphile Blockcopolymere. Die Tenside können in verdünnter Lösung eine große Vielfalt an Aggregationsformen bilden, was im Wesentlichen durch molekulare Parameter bestimmt wird. Israelachvili hat zur Vorhersage der Aggregatstruktur von niedermolekularen Tensiden ein Modell entwickelt und stellt einen Zusammenhang zwischen dem Volumen V eines

Tensidmoleküls, dem mittleren Flächenbedarf der Kopfgruppe a sowie der Konturlänge l_{kont} der hydrophoben Kette her. Es gilt der folgende Zusammenhang zwischen diesen Parametern und dem Packungsparameter P , der für die Vorhersage der Aggregatstruktur verwendet werden kann.

$$P = \frac{V}{a \cdot l_{kont}} \quad (\text{Gl.8})$$

Tabelle 3: Erwartete Aggregatstruktur in Abhängigkeit des Packungsparameters.

| P | Molekülgeometrie | Aggregatstruktur |
|-------------|------------------|------------------------------------|
| $<1/3$ | Kegel | sphärische Mizellen |
| $1/3 - 1/2$ | stumpfer Kegel | zylindrische Mizellen |
| $1/2 - 1$ | stumpfer Kegel | gekrümmte Doppelschichten, Vesikel |
| 1 | Zylinder | planare Doppelschichten |

Für unterschiedliche Blockcopolymersysteme können wie bei den Tensiden ebenfalls zylindrische, wurmartige sowie vesikuläre Strukturen entstehen.^[86-91] Bei der Synthese von Blockcopolymeren können je nach den Eigenschaften der einzelnen Blöcke vollkommen unpolare, doppelt hydrophile oder amphiphile Blockcopolymere aufgebaut werden.

Liegt ein enantiomerenreines Polymersegment vor, so besteht die Möglichkeit eine Sekundärstruktur (α -Helix oder β -Faltblatt) auszubilden, wodurch ein weiteres Strukturelement für Blockcopolymere erhalten werden kann. Polypeptide wie z.B Poly(L-glutaminsäure) oder Poly(L-lysin) können mit ihrer Sekundärstruktur in Blockcopolymeren zu interessanten Strukturen führen.

2.10. Blockcopolymere als Wirkstoffträger

Blockcopolymer-Mizellen werden in einer Vielzahl von Arbeitskreisen als Träger für Wirkstoffe und Gene untersucht. Hierbei wird die Wirkstoffbindung und -freisetzung vom Polymerblock im Mizellkern bestimmt. Die Verwendung von Blockcopolymer-Mizellen als Wirkstoffträger geht auf Arbeiten von Ringsdorf et al. im Jahre 1984 zurück, die die Mizellen aus Poly(L-lysin)-*block*-poly(ethylenoxid) untersuchten.^[92, 93] Durch labile Peptidbindungen kann ein Wirkstoff angebunden werden. Protease, die in vielen Tumortypen vorhanden ist, kann diese Bindungen spalten. Ein weiteres Beispiel für Polypeptide in diesem Themengebiet

ist ein von Kataoka et al. vorgestelltes System von Poly(asparaginsäure)-*block*-poly(ethylenoxid),^[94] wobei Antitumorwirkstoffe eingelagert werden konnten. PEO ist ein wasserlösliches Polymer, das unter physiologischen Bedingungen chemisch stabil ist und eine Antigenwirkung des Blockcopolymer/Wirkstoff-Konjugats verringert.

Aufgrund der niedrigen kritischen Mizellbildungskonzentration (cmc) bilden viele Blockcopolymere auch bei hoher Verdünnung im Blut Mizellen. Unimere, die in geringer Konzentration vorhanden sind, werden im passenden Molekulargewichtsbereich von der Niere ausgeschieden. Ein gezielter Transport zu den Tumorzellen gelingt bei einer Vielzahl von Tumorarten, weil diese im Vergleich zu gesundem Gewebe eine erhöhte Gefäßpermeabilität aufweisen.^[41]

3. Charakterisierungsmethoden

3.1. Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie, GPC (engl.: size exclusion chromatography, SEC) wird sehr häufig für die Bestimmung von Molekulargewichten und Molekulargewichtsverteilungen von Polymeren verwendet. Die Auftrennung erfolgt durch Größenausschluss in den Poren des Säulenmaterials, das meist ein vernetztes Polymergel ist. Die Trennung erfolgt aufgrund des hydrodynamischen Volumens des Polymers in dem jeweiligen Lösungsmittel. Als erstes werden am sogenannten oberen Ausschlussvolumen V_0 Makromoleküle eluiert, deren hydrodynamisches Volumen das der Poren übersteigt. Moleküle mit einem kleineren hydrodynamischen Volumen können in die Poren heineindiffundieren und verweilen somit länger auf der Säule. Aufgrund dieses Trennprinzips eluieren große Moleküle vor kleinen Molekülen. Das dazugehörige Elutionsvolumen ist $V_E = V_0 + k_{GPC} V_i$ (k_{GPC} Verteilungskoeffizient; V_i Volumen innerhalb der Poren).

Für die Detektion der Polymere als Funktion der Zeit bzw. des Elutionsvolumens werden üblicherweise ein Differentialrefraktometer (RI) oder ein UV-Detektor im Fall von UV-aktiven Verbindungen verwendet. Der RI-Detektor liefert ein Signal, welches proportional zur Konzentration des Monomers in der jeweiligen Fraktion ist. Mit dem UV-Detektor (z.B. $\lambda = 260$ nm für PS) bekommt man ebenfalls ein Signal, das proportional zur Konzentration des Polymers ist. Die UV-Detektion kann beispielsweise auch dazu verwendet werden, um eine UV-aktive Endgruppe quantitativ zu bestimmen.

Um den gemessenen Elutionsvolumina ein entsprechendes Molekulargewicht zuzuordnen, wird eine Eichung durchgeführt; Gelpermeationschromatographie (GPC) ist daher eine Relativmethode. Für die Eichung werden engverteilte Polymerstandards verwendet, deren Molekulargewichtsmittelwerte mit Absolutmethoden wie Osmometrie oder Lichtstreuung bestimmt wurden. Das bestimmte Elutionsvolumen wird als Funktion des Molekulargewichtes M dargestellt. Nach Interpolation mit Polynomen höherer Ordnung wird die Eichkurve $\log M = f(V_E)$ erhalten. Durch Verwendung der Eichkurve kann nun die Bestimmung der Mittelwerte der Molekulargewichte sowie der Polydispersitäten erfolgen.

Im Idealfall benötigt man für jedes Polymer eine Eichkurve mit dem selben Monomereinheiten und der selben Struktur in Lösung. Weil für viele Polymere keine entsprechenden Eichstandards existieren, werden insbesondere für Blockcopolymere lediglich

apparente Werte für das Molekulargewicht und der dazugehörigen Polydispersitäten bestimmt.

Bei vielen Polymeren tritt die Bildung von Aggregaten ein, wenn das verwendete Lösungsmittel nicht beide Blöcke gleich gut löst. In vielen Fällen treten auch unerwünschte Absorptionsphänomene zwischen Polymer und Säulenmaterial ein, die das Ergebnis verfälschen. Der Wahl der geeigneten experimentellen Parameter wie Lösungsmittel und Säulenmaterial kommt somit eine große Bedeutung zu.

Weil die Trennung der Polymere aufgrund des hydrodynamischen Volumens V_h erfolgt, können Eichkurven mit einer universellen Kalibrierung erstellt werden.^[95] Wenn zwei Polymere unter identischen apparativen Bedingungen das gleiche Elutionsvolumen besitzen, so sind ebenfalls ihre hydrodynamischen Volumina gleich. Nach der Fox-Flory-Beziehung ist das hydrodynamische Volumen mit der intrinsischen Viskosität $[\eta]$ und dem Molekulargewicht M verknüpft:

$$V_h = \Phi' \cdot [\eta] \cdot M \qquad \text{Mit: } [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} \qquad \text{(Gl.9)}$$

Φ' : Fox-Flory-Konstante
 η_{sp} : Spezifische Viskosität
 c : Konzentration

Die universelle Eichgerade ergibt sich aus der Auftragung von $\log([\eta] \cdot [M])$ als Funktion des Elutionsvolumens. Wird mit einem differentiellen Viskosimeter die spezifische Viskosität η_{sp} jeder Fraktion gemessen, so kann mit der dazugehörigen Konzentration das Molekulargewicht jeder Fraktion nach Gl.9 berechnet und die Molekulargewichtsverteilung der gesamten Probe bestimmt werden. Bei Verwendung der Mark-Houwink-Beziehung (Gl.10),

$$[\eta] = KM^\alpha \qquad \text{(Gl.10)}$$

kann für Homopolymere bei bekannten Mark-Houwink-Koeffizienten die Eichkurve von zwei Polymeren ineinander umgerechnet werden, sofern sie über die gleiche Konformation und Topologie verfügen.

3.2. MALDI-TOF-Massenspektrometrie

Die MALDI-TOF-Massenspektrometrie (engl.: matrix assisted laser desorption/ionization time of flight) wurde von Hillenkamp und Karas^[96, 97] entwickelt und ermöglicht die massenspektrometrische Analyse von Makromolekülen. Polymere sind für die Untersuchung mit dem üblichen Methoden zur Ionisation und Desorption nicht bzw. nur bedingt geeignet, weil diese nicht flüchtig und häufig thermisch instabil sind, was zu Fragmentierung und Umlagerungen führen kann.

Die zu analysierende Substanz wird bei der MALDI-TOF-Methode in großer Verdünnung in eine Matrix eingebettet. Hierbei sollte diese Matrix im Wellenlängenbereich der Laserwellenlänge ($\lambda = 337 \text{ nm}$) stark absorbieren und die Energie des Laserpulses möglichst effektiv auf den Analyten übertragen. Als Matrixmaterial werden häufig substituierte aromatische Verbindungen wie beispielweise 1,8,9-Trihydroxyanthracen oder 2,5-Dihydroxybenzoesäure verwendet. Die Ionisierung der Polymere erfolgt durch Protonentransfer bzw. durch Adduktbildung mit zugegebenen Alkali- oder Übergangsmetallionen und die Makromoleküle werden in die Gasphase überführt.

Mit einem elektrischen Feld werden die desorbierten Ionen beschleunigt und unter Verwendung eines Time-of-Flight (TOF)-Detektors analysiert. Durch die unterschiedlichen Verhältnisse von Masse zu Ladung (m/z) verfügen die Ionen nach dem Verlassen der Beschleunigungsstrecke über unterschiedliche Geschwindigkeiten und erreichen den Detektor somit nach unterschiedlichen Flugzeiten. Die Zuordnung von Flugzeiten zu Molekulargewichten wird nach einer geeigneten Kalibrierung möglich. Hierfür werden häufig monodisperse Biomoleküle oder engverteilte Polymerstandards verwendet. Vertrauenswürdige Werte für die Molekulargewichtsverteilung werden aber nur für Polymere mit enger Molekulargewichtsverteilung ($PD < 1.1$) erhalten.^[98] Weil die Desorptionswahrscheinlichkeit mit zunehmender Molmasse abnimmt, kann es zu einer zu niedrigen Berechnung von M_w kommen.^[99] Ein Nachweis von Endgruppen kann in Polymeren ebenfalls mit Hilfe der MALDI-TOF-Massenspektrometrie erreicht werden.

3.3. Analytische Ultrazentrifuge (AUZ)

In den 20 er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde die analytische Ultrazentrifuge (AUZ) von Svedberg entwickelt.^[100] Bei dieser Methode handelt es sich um eine Absolutmethode, die in der Polymer- und Kolloidanalytik zur Bestimmung von Molekulargewichten und

Molekulargewichtsverteilungen verwendet werden kann. Mit Umdrehungszahlen von bis zu 60000 Umdrehungen pro Minute werden von modernen Ultrazentrifugen Zentrifugalfelder erzeugt, die 270000 mal größer sind als die Erdbeschleunigung. Damit gewährleistet wird, dass die Sedimentation einer Probe die Rückdiffusion übersteigt, wird bei hohen Drehzahlen gearbeitet.

Drei unterschiedliche Kräfte wirken in einer AUZ auf ein Teilchen mit der Masse m und der radialen Entfernung r bei der Rotation mit einer Winkelgeschwindigkeit ω , die in der Abb.3.1 veranschaulicht sind.

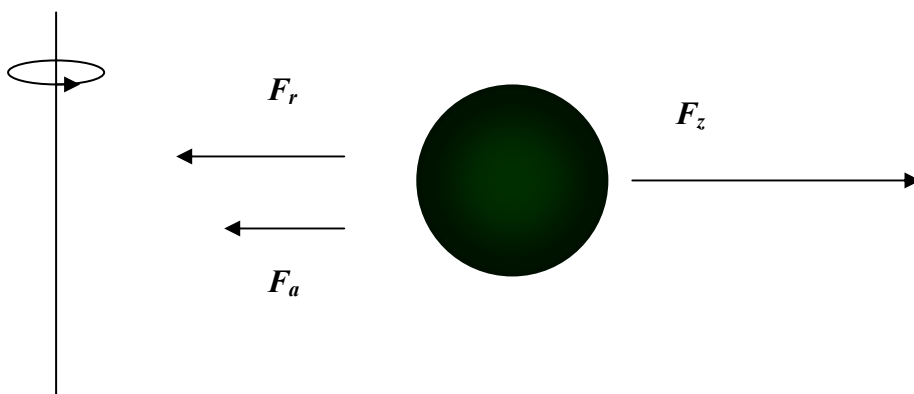


Abb.3.1: Schematische Darstellung der Kräfte, die auf ein Teilchen bei der Rotation in einer analytischen Ultrazentrifuge wirken (F_r : Reibungskraft; F_a : Auftriebskraft; F_z : Zentrifugalkraft).

Für die Zentrifugalkraft F_z gilt:

$$F_z = m\omega^2 r \quad (\text{Gl.11})$$

Die Auftriebskraft F_a ist der Zentrifugalkraft entgegengerichtet:

$$F_a = -m_0\omega^2 r \quad \text{mit: } m_0 = \bar{V}\rho_L m \quad (\text{Gl.12})$$

Hierbei entspricht m_0 derjenigen Masse des Lösungsmittels, die vom Körper verdrängt wird. Sie ist nach obiger Beziehung mit der Dichte des Lösungsmittels ρ_L sowie dem partiellen spezifischen Volumen des Teilchens \bar{V} (Volumenänderung, die eintritt wenn 1g der Probe in einem unendlich großen Volumen gelöst wird) verknüpft.

Die sedimentierenden Teilchen erfahren eine Reibungskraft F_r an den umgebenden Lösungsmittelmolekülen, die ebenfalls der Zentrifugalkraft entgegengerichtet ist. Diese Größe ergibt sich aus dem Produkt von Reibungskoeffizient f und der Wanderungsgeschwindigkeit der Teilchen v :

$$F_r = -f \cdot v \quad (\text{Gl.13})$$

Zwischen den drei genannten Kräften stellt sich ein stationäres Gleichgewicht ein, so dass gilt:

$$F_z + F_a + F_r = 0 \quad (\text{Gl.14})$$

Durch Umformung der Gleichungen kann die zeitlich konstante Bewegung der Teilchen im Zentrifugalfeld durch den folgenden Zusammenhang beschrieben werden:

$$v = \frac{m\omega^2 r(1 - \bar{V}\rho_L)}{f} \Leftrightarrow \frac{v}{\omega^2 r} = \frac{m(1 - \bar{V}\rho_L)}{f} = S \quad (\text{Gl.15})$$

Es wird deutlich, dass die Sedimentationsgeschwindigkeit v direkt proportional zur Stärke des Zentrifugalfeldes und der Masse des Teilchens ist. Desweiteren sedimentieren die Teilchen umso schneller, je größer ihre Dichte ist. Die Geschwindigkeit der Sedimentation hängt von der Dichte des Lösungsmittels ab. Dabei schwimmen die Teilchen auf, für $\bar{V}\rho_L > 1$; sedimentieren, für $\bar{V}\rho_L < 1$ und sie schweben, für $\bar{V}\rho_L = 1$.

Der Sedimentationskoeffizient S wurde von Svedberg eingeführt und ist der Quotient aus Sedimentationsgeschwindigkeit v und Zentrifugalbeschleunigung $\omega^2 r$. Dieser Koeffizient ist ein Maß für die Sedimentation in Abhängigkeit von Teilcheneigenschaften normiert auf die Erdbeschleunigung g , wobei die Einheit $1S = 10^{-13}$ s ist.

3.4. Rasterkraftmikroskopie (SFM)

Die Rasterkraftmikroskopie (engl.: *Scanning force microscope* SFM) wurde 1986 entwickelt und ist eine Methode, mit der die Oberfläche von Proben charakterisiert werden kann. Hierbei wird die Oberfläche mit einer Spitze abgetastet, wobei der Abstand der Spitze von der Oberfläche unter Verwendung eines Piezosteuererelements auf bis zu ca. 0,001 nm eingestellt werden kann. Durch zwei zusätzliche piezoelektrische Stellelemente kann die x - und y -Richtung der Probe mit einer Genauigkeit von bis zu ca. 0,01 nm eingestellt werden. Mit einem Programm ist eine rasterartige Abtastung der Oberfläche möglich.

Beim SFM ist eine Spitze angebracht, die je nach den Eigenschaften der Oberfläche der Topographie folgt und sich auf und ab bewegt. Auf der Rückseite der Feder wird ein Laserstrahl reflektiert. Durch die Detektion des reflektierten Laserstrahls kann die Bewegung der Feder in eine Information über die Oberflächenstruktur umgewandelt werden.

Im sogenannten Kontaktmodus wird die Auslenkung der Feder über einen Regler relativ zur Probe konstant gehalten. Bei dieser Methode wird die topographische Abbildung durch die z -Position des Piezos bestimmt. Die Spitzenradien betragen 6 bis 20 nm. Ein Nachteil bei dieser Methode ist, dass bei der Bewegung der großen Spitzen die Details der Oberfläche nicht unverzerrt abgebildet werden können. Dabei kommt es tendenziell zu einer Überschätzung von Erhebungen und Unterschätzung der Vertiefungen. Die Auflösung hängt sehr stark von den Eigenschaften der Probe ab.^[101]

Bei einer weiteren Variante erfolgt die Messung nahezu kontaktfrei. Die Spitze bewegt sich in einem Abstand von 2 bis 20 nm von der Probenoberfläche. In diesem Abstandsbereich kann zwischen der Spitze und der Oberfläche die Van-der-Waals-Kraft auftreten. Wird die Spitze der Feder zum Schwingen gebracht, ändert sich die Amplitude der Schwingung aufgrund der Wechselwirkung mit der Van-der-Waals-Kraft, die vom Abstand abhängig ist. Die Änderung der Amplitude ist somit ein Maß für den Abstand der Spitze zur Oberfläche. Diese Methode eignet sich besonders zur Messung von weichen oder empfindlichen Proben.

3.5. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Elektronenmikroskopie nutzt die Welleneigenschaften von Elektronen aus. Nach de Broglie gilt der folgende Zusammenhang zwischen der Wellenlänge λ und dem Impuls P :

$$\lambda = \frac{h}{mv} \quad (\text{Gl.16})$$

$$P = mv \quad (\text{Gl.17})$$

Bei Verwendung einer Beschleunigungsspannung von 50 kV können Wellenlängen von bis zu 0,005 nm erzielt werden. Dadurch kann das Auflösungsvermögen im Vergleich zum Lichtmikroskop erhöht werden. Die Elektronen werden mit Hilfe von einem Kondensorlinsensystem geeignet abgeleitet. Als Elektronenquelle kann beispielsweise eine Glühkathode aus Wolframdraht dienen. Im Hochvakuum werden die emittierten Elektronen beschleunigt, wobei die verwendete Spannung zwischen 50 und 200 kV liegt. Formal entsprechen die Komponenten eines TEM denen eines Lichtmikroskops, wobei jedoch Elektronenlinsen beim TEM verwendet werden. Das vom Objektiv-Linsensystem kommende Bild wird durch ein Projektiv-Linsensystem hinter der Probe vergrößert und auf einen Detektor geworfen.

Elektronen können durch Probenbereiche mit hoher Dichte oder schweren Elementen abgelenkt werden und dadurch den Detektor nicht erreichen. Diese Bereiche erscheinen dunkel. Im Gegensatz hierzu erscheinen Bereiche mit geringer Elektronendichte heller. Für eine Erhöhung des Kontrastes werden häufig Kontrastierungsmittel wie Uranylacetat oder Phosphorwolframsäure verwendet und dadurch die Elektronenstreuung erhöht.^[102]

3.6. Circulardichroismus (CD)

Circulardichroismus (CD) gehört mit der optischen Rotationsdispersion (ORD) zu den chirooptischen Methoden. Die CD-Spektroskopie ist eine wichtige Methode zur Untersuchung der Sekundärstruktur von Biopolymeren wie Polypeptiden, DNA oder Proteinen.

Linear polarisiertes Licht kann als Überlagerung zweier zirkular polarisierter Strahlen aufgefasst werden, wobei die \vec{E} -Feld-Vektoren \vec{E}_R und \vec{E}_L den gleichen Betrag besitzen, sowie mit der selben Drehfrequenz gegenläufig zirkular um die Ausbreitungsrichtung rotieren.^[103, 104]

Wenn ein Lichtstrahl in ein neues Medium eintritt, ändert sich seine Ausbreitungsgeschwindigkeit. Man spricht von Lichtbrechung. Der Brechungsindex n wird definiert als:

$$n = \frac{c_0}{c} \quad (\text{Gl.18})$$

Mit: c_0 : Geschwindigkeit im Vakuum
 c : Geschwindigkeit im Medium

Die optische Aktivität einer Substanz führt zu einer unterschiedlichen Brechung von rechts und links polarisiertem Licht. Es gilt daher: $n_R \neq n_L$. Weil sich die Beträge der Vektoren \vec{E}_R und \vec{E}_L nicht ändern, ergibt sich eine Drehung der Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes um den Winkel α nach Austritt des Lichtstrahls aus dem Medium (normale ORD). Hierbei wirken sich die Konzentration, die durchlaufene Weglänge sowie die verwendete Wellenlänge auf die Größe des Drehwinkels aus.

Circulardichroismus beruht hingegen auf dem Unterschied in der Lichtabsorption von rechts- und links-polarisiertem Licht: $\varepsilon_R \neq \varepsilon_L$.

Mit: ε : molarer Extinktionskoeffizient
 $E = \varepsilon \cdot c \cdot d$ Lambert-Beer'sche Gesetz (Gl.19)

Die Differenz $\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$ ist ein Maß für die Stärke des Circulardichroismus und kann negative sowie positive Werte annehmen.

Das Auftreten von Circulardichroismus bewirkt, dass sich der normalen ORD-Kurve eine Kurve mit Minima und Maxima überlagert (anormale ORD). Die beiden Effekte werden als positiver bzw. negativer Cotton-Effekt bezeichnet. Weist ein Medium im zu untersuchenden Bereich einen Cotton-Effekt auf, verlässt es ein ursprünglich linear polarisierter Lichtstrahl elliptisch polarisiert, weil sich die Beträge \vec{E}_R und \vec{E}_L durch die unterschiedlichen Absorptionen verändert haben. Dabei beschreibt der Summenvektor eine Ellipse, deren Hauptachse um den Drehwinkel α gedreht wurde. (Abb.3.2).

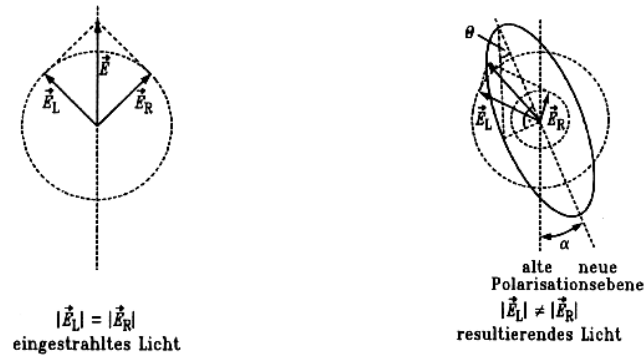


Abb.3.2: Vektordarstellung zur Entstehung von elliptisch polarisiertem Licht (rechts) beim Durchgang von linear polarisiertem Licht (links) durch ein optisch aktives Medium ($n_R \neq n_L$; $\epsilon_R \neq \epsilon_L$). Die Hauptschwingungsachse ist gegenüber dem einfallenden Licht um den Winkel α gedreht. Das Verhältnis der kurzen zur langen Ellipsenachse definiert die Elliptizität.

Hierbei lässt sich die Form der Ellipse durch das Verhältnis der Neben- und Hauptachse beschreiben, das als Elliptizität Θ bezeichnet wird.

$$\Theta \approx \tan \Theta = \frac{\left| \vec{E}_L \right| - \left| \vec{E}_R \right|}{\left| \vec{E}_L \right| + \left| \vec{E}_R \right|} \quad (\text{Gl.20})$$

Der Winkel Θ ist meistens sehr klein, so dass $\tan\Theta$ näherungsweise durch den Winkel ersetzt werden kann. Die sogenannte molare Elliptizität $[\Theta]$ erhält man durch Normierung auf die molare Konzentration c_M und die Schichtdicke d .

$$[\Theta] = 100 \cdot \frac{\Theta}{c_M \cdot d} \quad (\text{Gl.21})$$

Die Einheit der molaren Elliptizität ist $\text{Grad} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$.

Die Sekundärstruktur entsteht durch H-Brücken- und Van der Waals-Wechselwirkungen, die über kurze Distanzen wirken und definierte Anordnungsmuster der Kette bewirken. Beispiele für Sekundärstrukturelemente sind α -Helix, β -Faltblatt und Zufallsknäuel (engl.: random coil). Für jede Sekundärstruktur erhält man spezifische CD-Spektren (Abb.3.3).

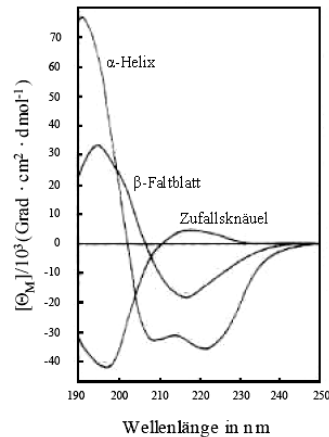


Abb.3.3: CD-Spektren von drei unterschiedlichen Sekundärstrukturen von Poly(L-lysin). Eine Vielzahl von Polypeptiden weist diese Charakteristika auf.^[105]

In Proteinen liegen jedoch häufig mehrere Sekundärstrukturen gleichzeitig vor, so dass das erhaltene CD-Spektrum sich aus einer Überlagerung der einzelnen Strukturen ergibt. In diesen Fällen lässt sich die beobachtete molare Elliptizität bei einer Wellenlänge wie folgt darstellen:

$$[\Theta] = f_{\alpha} \cdot [\Theta_{\alpha}] + f_{\beta} \cdot [\Theta_{\beta}] + f_{rc} \cdot [\Theta_{rc}] \quad (\text{Gl.22})$$

$$\text{Mit: } f_{\alpha} + f_{\beta} + f_{rc} = 1$$

3.7. Infrarotspektroskopie (IR)

Für die Charakterisierung von langkettigen Polymeren kann auch die IR-Spektroskopie verwendet werden, weil IR-aktive Gruppen in der Polymerkette wie niedermolekulare Verbindungen Absorptionsverhalten gegenüber IR-Strahlung zeigen. Hierbei erfolgt die Charakterisierung häufig anhand des sogenannten „finger-print“-Bereichs, weil sich hier viele charakteristische Merkmale erkennen lassen. IR-Spektroskopie wird auch zur Aufklärung verschiedener Aspekte der Polymermikrostruktur, wie Verzweigungen, Kristallinität, Taktizität und cis-trans-Isomerie eingesetzt.^[73] Bei Polypeptiden liefert beispielsweise das Vorhandensein der charakteristischen Amid(II)-Bande (bei 1544 cm $^{-1}$) Informationen über das Vorliegen einer α -Helix.^[106]

3.8. Streumethoden

Unter Verwendung von Streumethoden können wichtige Aussagen zur Struktur und Dynamik von Biomolekülen sowie synthetischen Polymeren gemacht werden.^[107-109] Werden statische Methoden wie statische Lichtstreuung, Röntgen- und Neutronenstreuung verwendet, so wird die Intensität der Streustrahlung als zeitlicher Mittelwert in Abhängigkeit vom Winkel gemessen. Hierbei basieren die Methoden auf elastischer Streuung und die verwendete Wellenlänge bestimmt die Auflösung.

Bei den dynamischen Methoden, wie der dynamischen (quasielastischen) Lichtstreuung geht es um die Dynamik von Systemen in Bezug auf Diffusion, Rotation sowie Schwingung, wobei zeitabhängig die gestreute Intensität bei einem festen Winkel gemessen wird.

3.8.1. Statische Lichtstreuung

Bei der statischen Lichtstreuung handelt es sich um eine Absolutmethode zur Bestimmung der Molmasse von Makromolekülen. Informationen über Form und Größe von Molekülen in Lösung sowie der zweite Virialkoeffizient können mit dieser Methode erhalten werden. Mit dem zweiten Virialkoeffizienten sind Aussagen über intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Teilchen möglich.

Lord Rayleigh entwickelte im Jahr 1871 eine Theorie zur Lichtstreuung isotroper Teilchen im Vakuum (Durchmesser $a \ll \lambda$).^[110] Licht besteht als elektromagnetische Welle aus oszillierenden elektrischen und magnetischen Feldern.

Das zeitlich variierende elektrische Feld \vec{E} am Ort des Streuzentrums induziert in dem Teilchen ein elektrisches Dipolmoment μ . Das Probenteilchen kann als kleiner Hertz'scher Dipol aufgefasst werden, der oszilliert und richtungsabhängig elektromagnetische Strahlung mit derselben Frequenz emittiert. Die Intensität des gestreuten Lichtes I_S wird relativ zur Intensität des einfallenden Lichtes I_0 angegeben.

Der Streukontrast und damit die Stärke des Streusignals I_S wird durch die Polarisierbarkeit α des Streuvolumens bestimmt, die proportional dem Brechungsindexinkrement $\left(\frac{dn}{dc}\right)$ des gelösten Stoffes ist. Nach der Kontinuumstheorie^[111] erhält man für die reduzierte Streuintensität R_θ einer ideal verdünnten Lösung:

$$R_{\Theta} \equiv \frac{I_S - I_L}{I_0} = K \cdot c \cdot M \quad \text{wobei gilt: } K = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_L^2}{N_A \cdot \lambda^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (\text{Gl.23})$$

(N_A : Avogadrozahl, K : Kontrastparameter, n_L : Brechungsindex des Lösungsmittels, M : Molmasse der streuenden Teilchen, I_L : Intensität der Streuung an reinem Lösungsmittel).

An Dichte- und Konzentrationsfluktuationen in der Lösung erfolgt die Lichtstreuung. Nach Einstein und Smoluchowski^[112, 113] können Dichteschwankungen als Betrag von der Streuintensität abgezogen werden, weil diese auf das kontinuierliche Medium des reinen Lösungsmittels zurückführbar sind, wohingegen die Konzentrationsgradienten auf die gelösten Bestandteile zurückgehen.

Für den Streuvektor q gilt in der Lichtstreuung:

$$q = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_L}{\lambda} \sin \frac{\Theta}{2} \quad (\text{Gl.24})$$

Die Molmassen von Teilchen berechnen sich durch Bestimmung des Wertes von R_{θ} . Für den Fall, dass konzentriertere Lösungen verwendet werden, müssen konzentrationsabhängige Korrekturterme verwendet werden.

$$\frac{K_C}{R(\vec{q})} = \frac{1}{M} + 2A \cdot c + 3B \cdot c^2 + \dots \quad (\text{Gl.25})$$

Durch Auftragung von $\frac{K_C}{R(\vec{q})}$ in Abhängigkeit von der Konzentration c , erhält man die

Molmasse M und den zweiten Virialkoeffizienten, der ein Maß für die Wechselwirkungen zwischen den Molekülen ist. Für den Fall von polydispersen Proben erhält man das gewichtsgemittelte Molekulargewicht M_w .

Wenn die zu untersuchende Probe aus Makromolekülen oder Molekülaggregaten besteht, deren Größe im Bereich der Wellenlänge des Lichtes liegen, kann das Molekül nicht mehr als Punktdipol angesehen werden. Es kommt zur Interferenz der gestreuten Wellen weil nun mehrere Streuzentren vorhanden sind. Durch Einführung eines Formfaktors kann die Winkelabhängigkeit des Streulichtes beschrieben werden:

$$P(q) = \frac{1}{N_S^2} \sum_{i=1}^{N_S} \sum_{j=1}^{N_S} \frac{\sin(q \cdot r_{ij})}{q \cdot r_{ij}} \quad (\text{Gl.26})$$

Für die Streufunktion erhält man den folgenden Ausdruck bei kleinen Streuvektoren q :

$$\frac{1}{P(q)} \approx 1 + \frac{q^2 \cdot R_g^2}{3} \quad (\text{Gl.27})$$

$$\frac{K_C}{R(q)} \approx \left(1 + \frac{q^2 \cdot R_g^2}{3} \right) \cdot \left(\frac{1}{M} + 2A_2 \cdot c \right) \quad (\text{Gl.28})$$

Durch Auftragung des reziproken Formfaktors als Funktion des mit dem Gyrationradius R_g normierten Streuvektors erhält man die Informationen über das Vorliegen von Kugeln, Knäuel und Stäbchen (Abb.3.4).

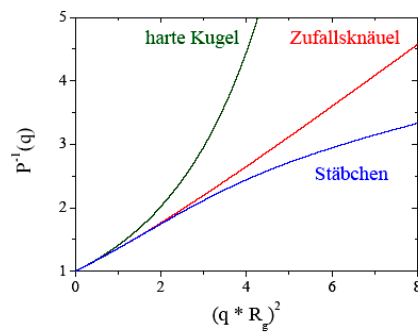


Abb.3.4: Inverser Formfaktor als Funktion der relativen Teilchengröße.

3.8.2. Dynamische Lichtstreuung

Diffusions-, Rotations- und intermolekulare Bewegungen von Makromolekülen in Lösung können mittels dynamischer Lichtstreuung untersucht werden. Diese Eigenschaften hängen eng mit der Größe und der Form der Teilchen zusammen und deswegen können auch Informationen über strukturelle Eigenschaften erhalten werden. Durch die Interferenz der an den Streuzentren emittierten Sekundärwellen, entsteht das Streulicht. Durch die Brown'sche Molekularbewegung bewegen sich die Streuzentren und deswegen fluktuiert die Zahl der gestreuten Photonen bei einem Winkel θ .

Die Teilchengröße kann aus der mittleren Relaxationszeit der Intensitätsfluktuationen bestimmt werden, weil sich kleine Teilchen schneller bewegen als die großen Teilchen. Für die Intensitätskorrelationsfunktion $C(t)$ des Streulichtsignals gilt:

$$C(t) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n I_S(t_i) \cdot I_S(t_i + t) \quad (\text{Gl.29})$$

Aus der Siegert-Relation ergibt sich die normierte Feldkorrelationsfunktion $g_I(t)$:

$$C \frac{(t)}{\langle I \rangle^2} = 1 + |g_1(t)|^2 \quad (\text{Gl.30})$$

Im Fall unendlicher Verdünnung und monodisperser Teilchen gilt:^[114]

$$g_1(t) = \exp(-\Gamma_1 t) \quad \text{mit: } \Gamma_1 = D_{app} q^2 \quad (\text{Gl.31})$$

Γ_i : Relaxationszeit des Diffusionsprozesses des Makromoleküls

D_{app} : Apparente Translationsdiffusionskoeffizient

Extrapoliert man D_{app} auf unendliche Verdünnung und bei $q = 0$ kann der Diffusionskoeffizient des freien Teilchens bestimmt werden. Ein Zusammenhang zwischen D und dem hydrodynamischen Radius R_h einer reibungsäquivalenten Kugel ergibt sich aus dem folgenden Zusammenhang:

$$R_h = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta_0 \cdot D} \quad (\text{Gl.32})$$

Es ergibt sich folgende Exponentialfunktion, wenn mehrere Populationen i betrachtet werden:

$$g_1(t) = a_1 \exp(-\Gamma_1 t) + a_2 \exp(-\Gamma_2 t) + \dots \quad (\text{Gl.33})$$

Der Koeffizient a_i gibt den Anteil der Gesamtintensität an, der durch die Population i gestreut wird. Der hydrodynamische Radius R_{hi} für die Population i kann aus Γ_i bestimmt werden. Bei dem Vorliegen von nicht monodispersen Proben resultiert die Funktion $g_I(t)$ aus einer Überlagerung mehrerer Diffusionsprozesse.

$$g_1(t) = \langle e^{\Gamma t} \rangle = \int_0^\infty e^{\Gamma t} G(\Gamma) d\Gamma \quad (\text{Gl.34})$$

Informationen über die Form der streuenden Spezies in der Lösung werden aus dem Verhältnis ρ zwischen dem Trägheitsradius R_g (aus der statischen Lichtstreuung) und dem hydrodynamischen Radius R_h (aus der dynamischen Lichtstreuung) erhalten.

Tabelle 4: Zusammenhang zwischen dem Verhältnis ρ und der Struktur.

| Struktur | ρ |
|-----------------|--------------------------|
| Stäbchen | 3 |
| Gauß-Knäuel | 1,5 |
| Vesikel | 1 |
| Kugel | 0,775 |

4. **Synthese von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure)**

Stimuli-responsive Polymere und ihre Biokonjugate sind interessante Materialien, weil sie ein vielversprechendes Potenzial für biomedizinische Anwendungen haben. Die meisten untersuchten Systeme reagieren in wässriger Lösung auf eine Änderung der Temperatur und/oder des pH-Werts. Es wurde aber auch über responsive Materialien berichtet, die sich durch Einwirkung von Feldern oder spezifischen Molekülen schalten lassen. Einen guten Überblick zu dieser Thematik findet sich bei Gil und Hudson.^[115]

Wichtige thermoresponsive Polymere sind Poly(N-substituierte acrylamide), die zu der Klasse von Polymeren mit einer unteren kritischen Lösungstemperatur (LCST) in wässriger Lösung gehören. Diese Polymere sind unterhalb der LCST in Wasser löslich und fallen aus, wenn die Temperatur über die LCST erhöht wird. In Hinblick auf biomedizinische Anwendungen sollte die LCST in der Nähe der menschlichen Körpertemperatur liegen. Polymere, die auf eine Änderung des pH-Werts reagieren sind schwache Polyelektrolyte. Für Polyelektrolyte findet der Phasenübergang bei dem pH-Wert statt, der sich pK_s -Wert nennt und bei dem der Ioinisierungsgrad 50 % beträgt. Häufig untersuchte Systeme sind Poly(acrylsäure) oder Poly(methacrylsäure). Ihr pK_s -Wert liegt im Bereich von 5-6. Im Fall der Polypeptid basierten Polysäuren, wie Poly(L-glutaminsäure), ist der Phasenübergang von einer Änderung der Konformation oder der Sekundärstruktur der Ketten begleitet. Die Ketten nehmen eine unlösliche α -helikale Konformation bei $pH < pK_s$ an und eine lösliche Knäuelstruktur bei höheren pH-Werten. Dieses Merkmal macht Polypeptide nicht nur für biomedizinische Anwendungen interessant, sondern auch für den Aufbau von komplexen Superstrukturen.^[75, 116]

Naka et al. haben Polyoxazolin-Polypeptid Blockcopolymere mit unter 10 Peptidrepetiereinheiten synthetisiert.^[117, 118] Tsutsumiuchi et al. synthetisierten Glycopeptid-Polyoxazolin Blockcopolymere durch direkte Kopplung der lebenden anionischen und kationischen Polymerkettenenden. Hierbei war jedoch der Umsatz nicht vollständig und deswegen eine Aufreinigung durch folgende Fraktionierung erforderlich.^[119] Ein vergleichbarer Ansatz wurde von Velandar et al. verwendet.^[120] Im Rahmen dieser Arbeit wird eine Methode für die Synthese von Diblock-Copolymeren auf der Grundlage des thermoresponsiven Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)s (LCST ~ 37 °C, Kataoka *et al.*)^[27] und der pH-sensitiven Poly(L-glutaminsäure) beschrieben. Die kationische Polymerisation wurde

gegenüber der kontrollierten radikalischen oder anionischen Polymerisation von Acrylamiden^[74, 121] bevorzugt, weil die Produkte in Hinblick auf Molekulargewichtsverteilung und Kettenendenfunktionalität^[122] eine größere Qualität besitzen. Ein primär aminofunktionalisiertes Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) wurde anschließend als Makroinitiator für die Ringöffnungspolymerisation von γ -Benzyl-L-glutamat N-Carboxyanhydrid verwendet. Die Zwischen- und Endprodukte wurden mit ¹H-NMR-Spektroskopie, Gelpermeationschromatographie (GPC) und analytischer Ultrazentrifugation (AUZ) untersucht.

4.1. Synthese von 2-Isopropyl-2-oxazolin

2-Alkyl-2-oxazoline können nach mehreren Methoden synthetisiert werden. Einen guten Überblick gibt der Reviewartikel von Aoi et al.^[63] Die Synthese von 2-Isopropyl-2-oxazolin wurde hier nach der Methode von Witte et al. aus 2-Aminoethanol und Isobutyronitril synthetisiert.^[123] Die Reaktion erfolgt bei 130 °C unter Verwendung von Cadmiumacetat Dihydrat als Katalysator. Nach fraktionierter Destillation erhält man das gewünschte Produkt auf einem sehr direkten Weg in guter Ausbeute (74 %). Der Reaktionsverlauf in Abhängigkeit von der Zeit ist in Abb.4.2 veranschaulicht.

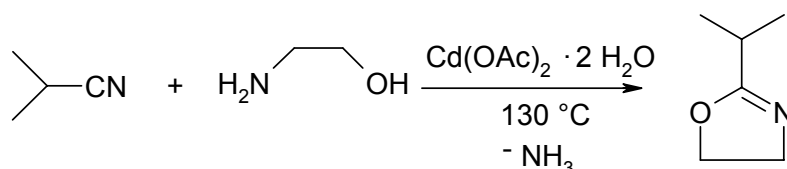


Abb.4.1: Synthese von 2-Isopropyl-2-oxazolin.

Diese Methode bietet sich für die Synthese von 2-Alkyl-2-oxazolin an. Die Reaktionsdauer konnte mit dieser Methode erheblich verkürzt werden, wenn die Mikrowelle eingesetzt wurde. Für die Reaktionen wurden Reagenzgläser mit Druckverschluss verwendet. Hierbei wurde bei einer Temperatur von 165 °C bereits nach 10 Minuten eine Ausbeute von ca. 60 % erzielt (Abb.4.2). Die Synthese mit der Mikrowelle ergab jedoch ohne Katalysator bei einer Temperatur von 200 °C innerhalb von 10 Minuten kein 2-Isopropyl-2-oxazolin.

Die eigenen Untersuchungen haben desweiteren gezeigt, dass die thermische Synthese von 2-Isopropyl-2-oxazolin mit dem Isobutyronitril besser verläuft, als eine Umsetzung von Isobuttersäure mit 2-Aminoethanol bei 190 °C.

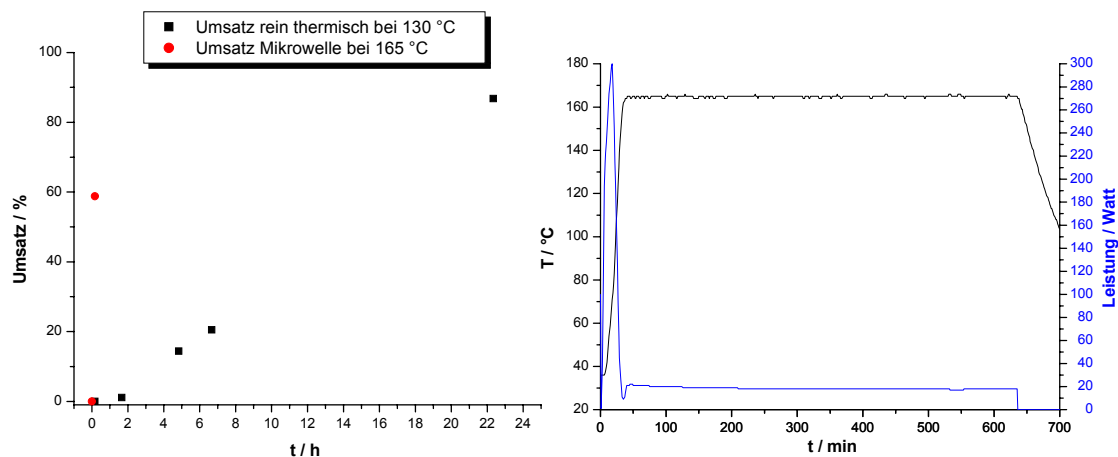


Abb.4.2: (links) Vergleich der Synthese von 2-Isopropyl-2-oxazolin auf rein thermischem Weg bzw. innerhalb von 10 Minuten bei 165 °C mit der Mikrowelle. Die Umsatzberechnung erfolgte auf der Grundlage der Integrale im $^1\text{H-NMR}$. (rechts) Auftragung von Leistung und Temperatur T als Funktion der Zeit für die durchgeführte Reaktion mit der Mikrowelle.

Über die lebende Polymerisationen von 2-Alkyl-2-oxazolin mittels Mikrowelle wurde von Wiesbrock et al. sowie Hoogenboom et al. berichtet.^[124, 125] Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden jedoch die Polyoxazoline auf rein thermischem Weg synthetisiert. Bei der Diskussion über die Vorteile der Mikrowellensynthese wird häufig gefragt, ob es sich um einen thermischen Effekt oder um einen Mikrowelleneffekt handelt. Diese Thematik wurde auch bei den oben erwähnten Publikationen für die Polymerisation von 2-Alkyl-2-oxazolin näher betrachtet und Kuhnert behandelt in seinem Artikel die Frage, ob es einen nichtthermischen Mikrowelleneffekt gibt.^[126] Eine Diskussion über die Bedeutung sowie die Vorteile der Mikrowelle in der Zukunft wurde von Adams durchgeführt.^[127] Die Resultate der Abb.4.2 zeigen auf jeden Fall bestätigend, dass die Mikrowelle innerhalb sehr kurzer Zeiten zu guten Umsätzen führen kann.

4.2. Synthese und Charakterisierung von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) Makroinitiatoren

Die Polymerisation von N-Carboxyanhydriden erfolgt klassisch durch die Initiierung mit Amininitiatoren. Bei Verwendung von Aminen kann es jedoch zu Nebenreaktionen kommen (Abb.4.3), weil der Amininitiator gleichzeitig auch als Base fungieren und die NH-Gruppe im Ringgerüst des NCA-Moleküls deprotonieren kann. Das auf diese Weise entstandene Anion kann anschließend ein weiteres NCA-Molekül nukleophil an C-5 angreifen. Bei diesem Reaktionsweg handelt es sich um den „Aktiviertes Monomer“-Mechanismus (AM-Mechanismus), der zu einer unerwünschten Verbreiterung der Molekulargewichtsverteilung führt.

Die Initiierung der Polymerisation kann aber auch mit Ammoniuminitiatoren erfolgen. Schlaad et al. haben zuerst Polystyrol mit Ammoniumendgruppe als Makroinitiator für die Copolymerisation verwendet.^[8] Hierbei handelte es sich bei dem Gegenion um ein Chloridanion. Durch den Einsatz dieses Makroinitiators konnte eine sehr enge Molekulargewichtsverteilung erzielt werden. Hierbei entsteht durch Dissoziation der Ammoniumgruppe das primäre Amin, das als Initiator für die NCA-Polymerisation fungiert. In der Reaktionslösung befinden sich hierbei Protonen, die eventuell gebildete NCA-Anionen reprotonieren können und dadurch den AM-Mechanismus unterdrücken (Abb.4.3).

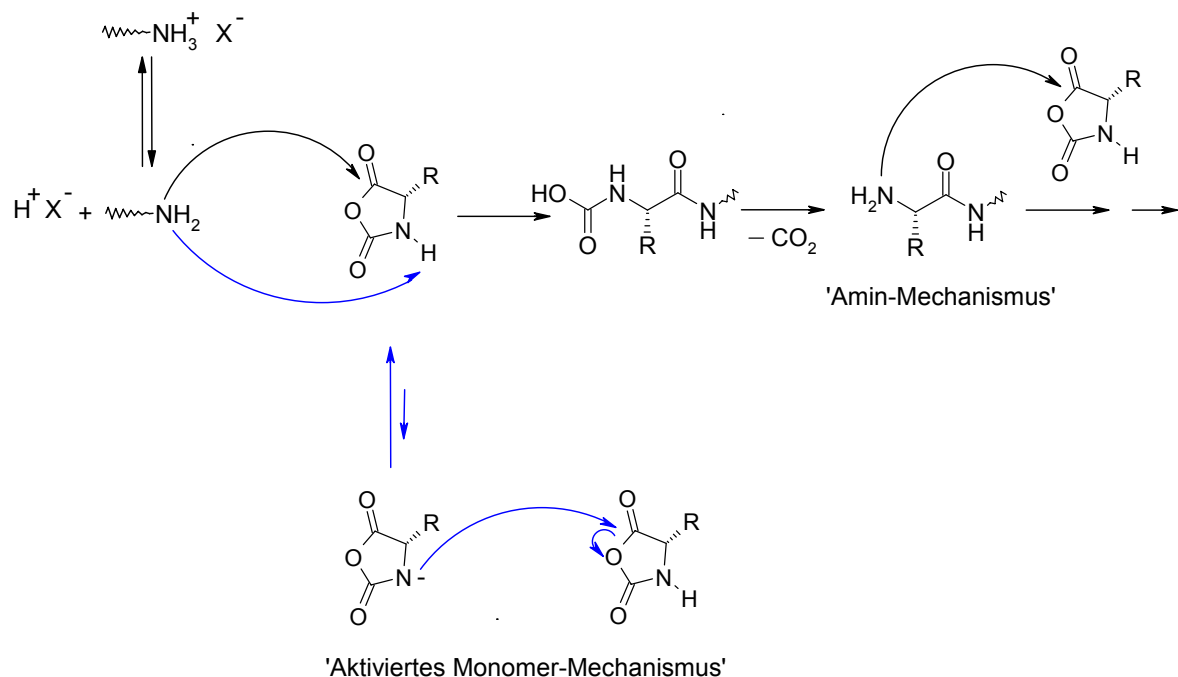


Abb.4.3: Verwendung von Ammoniuminitiatoren für die NCA-Polymerisation.

Dieser Ansatz wurde von Lutz et al. für die Synthese von Poly(ethylenoxid)-*block*-poly(γ -benzyl-L-glutamat) sowie Poly(ethylenoxid)-*block*-poly(β -benzyl-L-aspartat) genutzt.^[128] Nach Entfernung der Peptidschutzgruppen sind diese Polymere interessante Materialien für biomedizinische Anwendungen.^[129, 130] Damit wohl definierte Strukturen für Anwendungen im Bereich des „Life Science“ entstehen können, sind jedoch Polymere mit enger Molekulargewichtsverteilung erforderlich. Lutz et al. haben aminfunktionalisiertes Poly(ethylenoxid) (PEO) mit Salzsäure behandelt und die erhaltenen Ammoniumchlorid-funktionalisierten PEO-Makroinitiatoren für die NCA-Copolymerisation in DMF verwendet. Hierbei lagen die Polymerisationsgrade des PEO-Blocks bei ca. 110 und diejenigen der Peptidblöcke im Bereich von 2 bis 12. Es konnte gezeigt werden, dass die Polydispersität der Polypeptidblöcke mit dem freien Amin-Makroinitiator bei 2,25 lag und unter Verwendung des Ammoniumchlorid-Makroinitiators im Bereich von 1,28. Die Reaktionsgeschwindigkeit war jedoch bei Verwendung des Makroinitiators mit freier Aminendgruppe größer als bei Verwendung des Ammoniumchlorid-Makroinitiators. Es wurden beispielsweise 7 Tage benötigt, um einen Polymerisationsgrad von 8 im Poly(ethylenoxid)-*block*-poly(β -benzyl-L-aspartat) zu erzielen. Lutz et al. konnten bei Verwendung einer 1:1 Mischung aus freiem Amin-Makroinitiator und Ammoniumchlorid-Makroinitiator die Reaktionszeit für die Anlagerung von ca. 8 Peptideinheiten im Poly(ethylenoxid)-*block*-poly(β -benzyl-L-aspartat) auf 5 Tage senken. Auch bei Verwendung der 1:1 Mischung konnte eine enge Molekulargewichtsverteilung erhalten werden. Die Reaktionsgeschwindigkeit bei Verwendung der reinen Ammoniumchlorid-Makroinitiatoren war hier jedoch sehr niedrig.

In der vorliegenden Arbeit wird ein Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-Makroinitiator mit Ammoniumendgruppe synthetisiert, der anschließend Ausgangsbasis für die Synthese des Peptidblocks mittels NCA-Polymerisation ist. Hierbei ist es erwünscht, dass die Reaktionsdauer für das Erreichen von hohen Polymerisationsgraden auf einen kurzen Zeitraum gesenkt wird.

2-Isopropyl-2-oxazolin wurde hierzu bei 80 °C in Acetonitril unter Verwendung von Methyltosylat (MeOTos) als Initiator polymerisiert. Das molare Verhältnis von Monomer zu Initiator war 100:1. Unter diesen Bedingungen sollte die Polymerisation nach 48 Stunden vollständig sein (Schubert et al.^[131]). Die Polymerisation wurde mit 4-N-Boc-Aminopiperidin (dreifacher Überschuss in Bezug auf das MeOTos) abgebrochen, und das Produkt PIPOX-Boc wurde durch Gefriertrocknung nach ausgiebiger Dialyse isoliert. In der Literatur finden sich Beispiele für die Aminofunktionalisierung von Polyoxazolinen mittels Mitsunobu Reaktion

oder Abbruch mit Ammoniak, die zu einem Funktionalisierungsgrad von über 70 % führen^[27, 132] In der vorliegenden Arbeit wurde 4-N-Boc-Aminopiperidin (Boc = tert.-butyloxycarbonyl) als Funktionalisierungsreagenz verwendet, weil Piperidin als effizientes Abbruchreagenz für die Polymerisation von Oxazolinen bekannt ist.^[133] Dadurch werden zwei Aminogruppen am Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) Kettenende eingeführt, eine primäre und eine tertiäre. Beide können die NCA-Polymerisation initiieren, entweder durch einen nukleophilen Angriff des NCA an der C-5 Position (primäres Amin) oder durch die Generierung eines deprotonierten NCA Nucleophils (tertiäres Amin).^[5, 52] Das Problem der dualen Initiierung kann jedoch durch die Anwendung des kürzlich von Dimitrov und Schlaad eingeführten Konzepts der „Ammonium-vermittelten“ NCA Polymerisation vermieden werden.^[8]

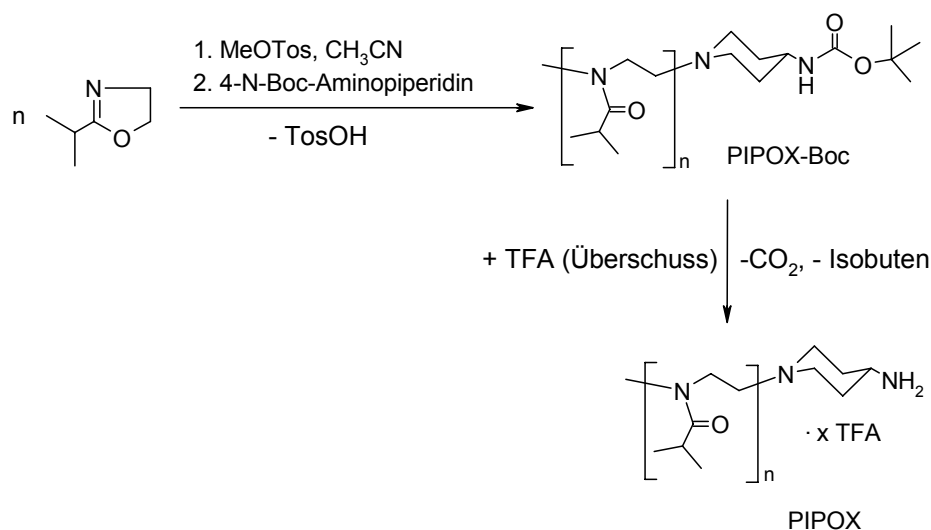


Abb.4.4: Synthese des primär amino-endfunktionalisierten Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)s.

Die erwartete chemische Struktur von PIPOX-Boc konnte mit ¹H-NMR-Spektroskopie bestätigt werden (Abb.4.5). Hierbei befinden sich die drei Methylgruppen der Boc-Schutzgruppe bei $\delta = 1.43$ ppm als Singulett. Aufgrund von MALDI-TOF MS beträgt das absolute Zahlenmittel des Molekulargewichts (\bar{M}_n) von PIPOX-Boc 16,8 kDa, was einem Durchschnitt von $\bar{n} = 147$ Wiederholungseinheiten entspricht. Die Abweichung zwischen \bar{n} und dem theoretischen Polymerisationsgrad sollte mit ungenauer Messung der Initiatormenge erklärbar sein. Die Bestimmung der ¹H-NMR-Signale *4* und *1* (Verhältnis = 0,0104) zeigt, dass die ω-(N-Boc Amino)-Funktionalisierung der Polymerkette quantitativ war (berechnetes Verhältnis, $1/4 = 9H/(147 \times 6H) = 0,0102$).

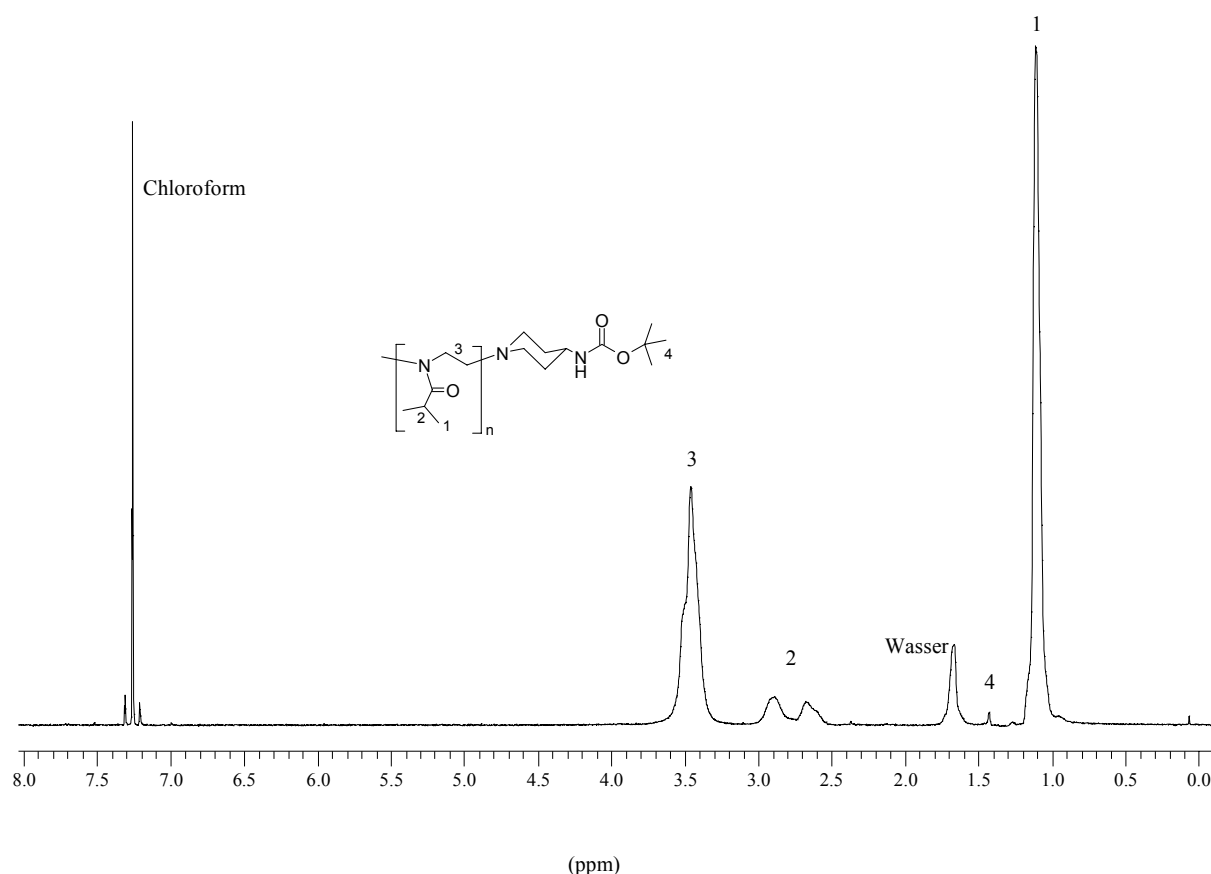


Abb.4.5: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400.1 MHz) von PIPOX₁₄₇Boc in CDCl_3 .

Die GPC-Analyse von PIPOX-Boc mit THF als Eluent zeigt eine monomodale Molekulargewichtsverteilung (Abb.4.7). Auf der Grundlage einer Polystyrol Kalibrierungskurve ist der apparente Polydispersitätsindex $\bar{M}_w^{app} / \bar{M}_n^{app} = 1,05$. Die mit GPC bestimmten durchschnittlichen Molekulargewichte ($\bar{M}_n^{app} = 17,5 \text{ kg/mol}$, $\bar{M}_w^{app} = 18,3 \text{ kg/mol}$) sind in guter Übereinstimmung mit dem absoluten Wert, der mit MALDI-TOF MS ($\bar{M}_n = 16,8 \text{ kg/mol}$) sowie LS ($\bar{M}_w = 22 \text{ kg/mol}$; PIPOX-Boc in 0,15 M NaCl-Lösung, $dn/dc = 0,1867 \text{ mL/g}$) bestimmt wurde.

Die Schutzgruppe am ω -Kettenende von PIPOX-Boc wurde durch Behandlung mit TFA bei Raumtemperatur entfernt. Die Reaktion ist nach 50 Minuten vollständig, was durch $^1\text{H-NMR}$ -Analyse des dialysierten Produkts PIPOX in D_2O nachgewiesen werden konnte. Mit $^{19}\text{F-NMR}$ -Spektroskopie konnte gezeigt werden, dass nach der Dialyse Ammoniumendgruppen mit Trifluoracetatgegenionen vorliegen (siehe experimenteller Teil).

In der Tabelle 5 sind ausgewählte Boc-geschützte Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)e zusammengestellt.

Tabelle 5: Molekulargewichte ausgewählter Boc-geschützter Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)e; PS-Kalibrierung.

| Polymer | M_n (GPC, THF) / 10^3 | M_w/M_n | Code |
|--------------------------|---------------------------|-----------|-------|
| PIPOX ₁₄₇ Boc | 17,44 | 1,05 | mm258 |
| PIPOX ₁₁₇ Boc | 13,25 | 1,04 | mm352 |
| PIPOX ₉₇ Boc | 11,03 | 1,05 | mm351 |
| PIPOX ₇₆ Boc | 8,57 | 1,08 | mm350 |
| PIPOX ₄₇ Boc | 5,34 | 1,08 | mm344 |

4.3. Synthese und Charakterisierung von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure)

Das Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure) wurde durch eine Kombination von kationischer Ringöffnungspolymerisation von 2-Isopropyl-2-oxazolin und der anionischen Ringöffnungspolymerisation von γ -Benzyl-L-glutamat NCA synthetisiert. Der Schlüsselschritt für diesen Reaktionsweg ist die Synthese des primär aminofunktionalisierten Poly(2-isopropyl-2-oxazolins), welches als Makroinitiator für die folgende Polypeptidpolymerisation verwendet wird.

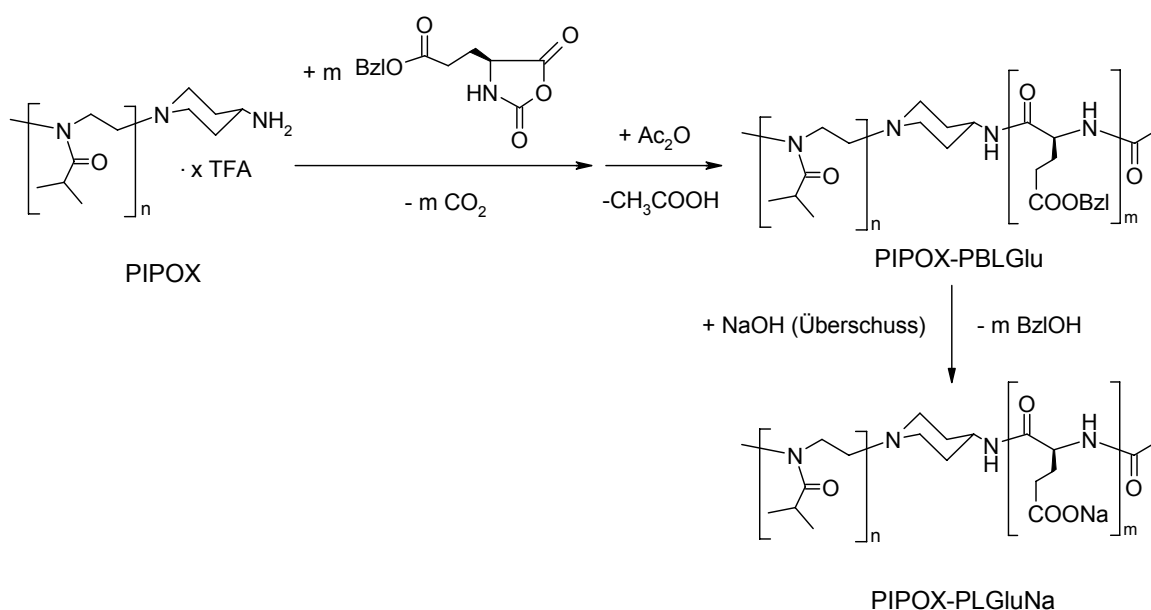


Abb.4.6: Synthese von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure).

Das Polymer PIPOX wurde als Makroinitiator für die Polymerisation von γ -Benzyl-L-glutamat-NCA ([NCA]/[PIPOX] \sim 250 :1) in N-methylpyrrolidon bei 50 °C verwendet. Die Polymerisation wurde über einen Zeitraum von 4 Tagen durchgeführt, um eine quantitative Umsetzung des NCA-Monomers zu gewährleisten. Die Ergebnisse der AUZ (Abb.4.7 B) zeigen für das erhaltene Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(γ -benzyl-L-glutamat) (PIPOX-PBLGlu) eine monomodale Sedimentationskoeffizientenverteilung $g^*(s)$ (s = Sedimentationskoeffizient; Maximum bei $s_{max} = 2,9$ Sv) und folglich auch Molekulargewichtsverteilung. Die Molekulargewichtsverteilung ist frei von Homopolymer. Der apparente Polydispersitätsindex wurde zu $\bar{s}_w^{app} / \bar{s}_n^{app} \sim 1,5$ berechnet, wobei der Wert etwas hoch liegt, weil $g^*(s)$ in Hinblick auf Diffusionseffekte nicht korrigiert wurde. Auch der Sedimentationsprozess kann vermutlich durch die kombinierte Zufallsknäuel- α -Helix Konformation von PIPOX-PBLGlu beeinflusst werden.^[134] Im Gegensatz zur AUZ schlug die GPC-Analyse von PIPOX-PBLGlu unabhängig vom verwendeten Eluenten (Tetrahydrofuran oder N-methylpyrrolidon) sowie Säulenmaterial (PSS SDV oder PSS GRAM) fehl.

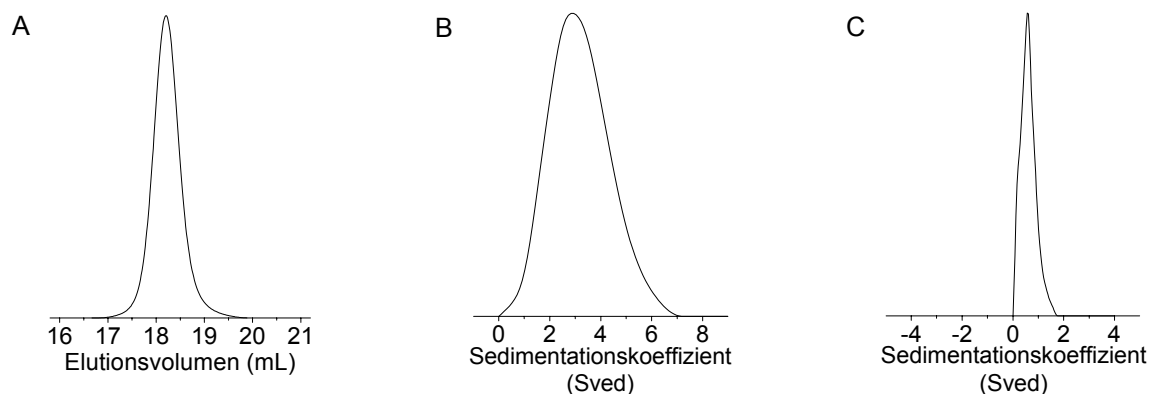


Abb.4.7: GPC/AUZ Daten der Proben PIPOX-Boc (A: GPC, THF), PIPOX-PBLGlu (B: AUZ, THF), und PIPOX-PLGluNa (C: AUZ: 0.1N NaNO₃).

Auf der Grundlage der ¹H-NMR Resonanzen I (147 x 6H) und δ ($\bar{m} \times 2H$) (Abb.4.8), beträgt die durchschnittliche Anzahl an γ -Benzyl-L-glutamat im Copolymer $\bar{m} = 268$ (PIPOX-PBLGlu: ($\bar{M}_n = 75,6$ kg/mol). Folglich ist die Effektivität von PIPOX größer als 90 %. Jegliche Restspuren von Makroinitiator wurden durch die Ausfällung des Blockcopolymer in Diethylether abgetrennt.

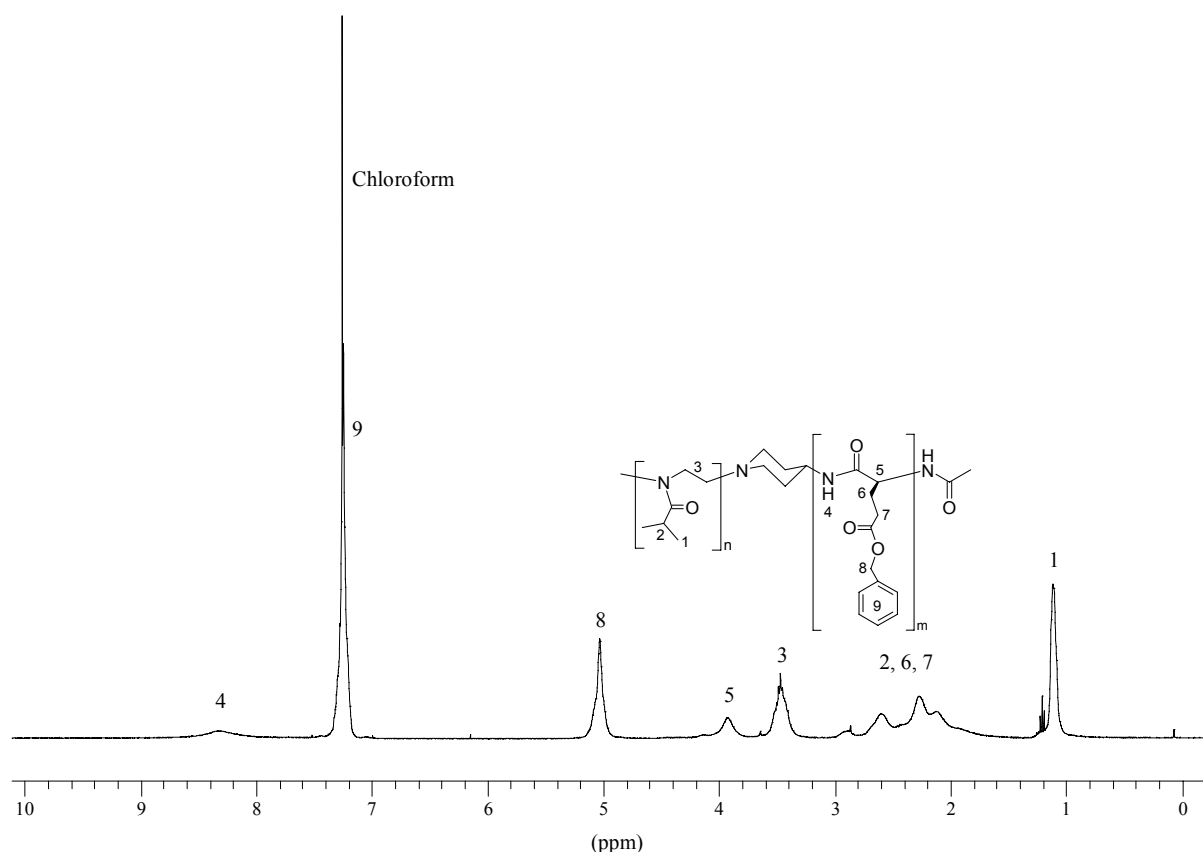


Abb.4.8: ^1H -NMR-Spektrum (400.1 MHz) von PIPOX₁₄₇PBLGlu₂₆₈ in CDCl_3 .

Die Benzyl-Schutzgruppe von PIPOX-PBLGlu wurde durch alkalische Hydrolyse mit NaOH bei Raumtemperatur entfernt. Die komplette Entfernung der Benzylschutzgruppe nach 20 Stunden wurde mit ^1H -NMR-Spektroskopie (Abb.4.9) und FT-IR-Spektroskopie bestätigt.^[135] Eine quantitative Auswertung der NMR-Integrale zeigt, dass ein Abbau des Polymerrückgrats während der Hydrolyse nicht stattgefunden hat; Verhältnis der Integrale $I/2 = 1,49$ (2-Isopropyl-2-oxazolin: 1,50) und $I/7 = 0,59$ (PIPOX-PBLGlu: 0,55).

Auch eine Razemisierung der L-Glutaminsäureeinheiten wurde verhindert, was nach FT-IR-Analyse der mit HCl angesäuerten Probe PIPOX-PLGluNa an der erscheinenden Amid II-Bande einer Polypeptid α -Helix bei $\tilde{\nu} = 1543 \text{ cm}^{-1}$ deutlich wurde.^[136] Die Ergebnisse der AUZ ergaben in 0,1 N wässriger NaNO_3 -Lösung (Abb.4.7 C) mit $s_{\text{max}} = 0,6$ Sved und $\bar{s}_w^{\text{app}} / \bar{s}_n^{\text{app}} \sim 1,2$ (oberes Limit) eine monomodale Verteilung. Unter neutralen pH-Bedingungen liegen beide Segmente von PIPOX-PLGluNa in einer Zufallsknäuel Konformation vor, was möglicherweise die Unterschiede in den Sedimentationskoeffizienten Verteilungen von PIPOX-PLGluNa und PIPOX-PBLGlu erklärt.

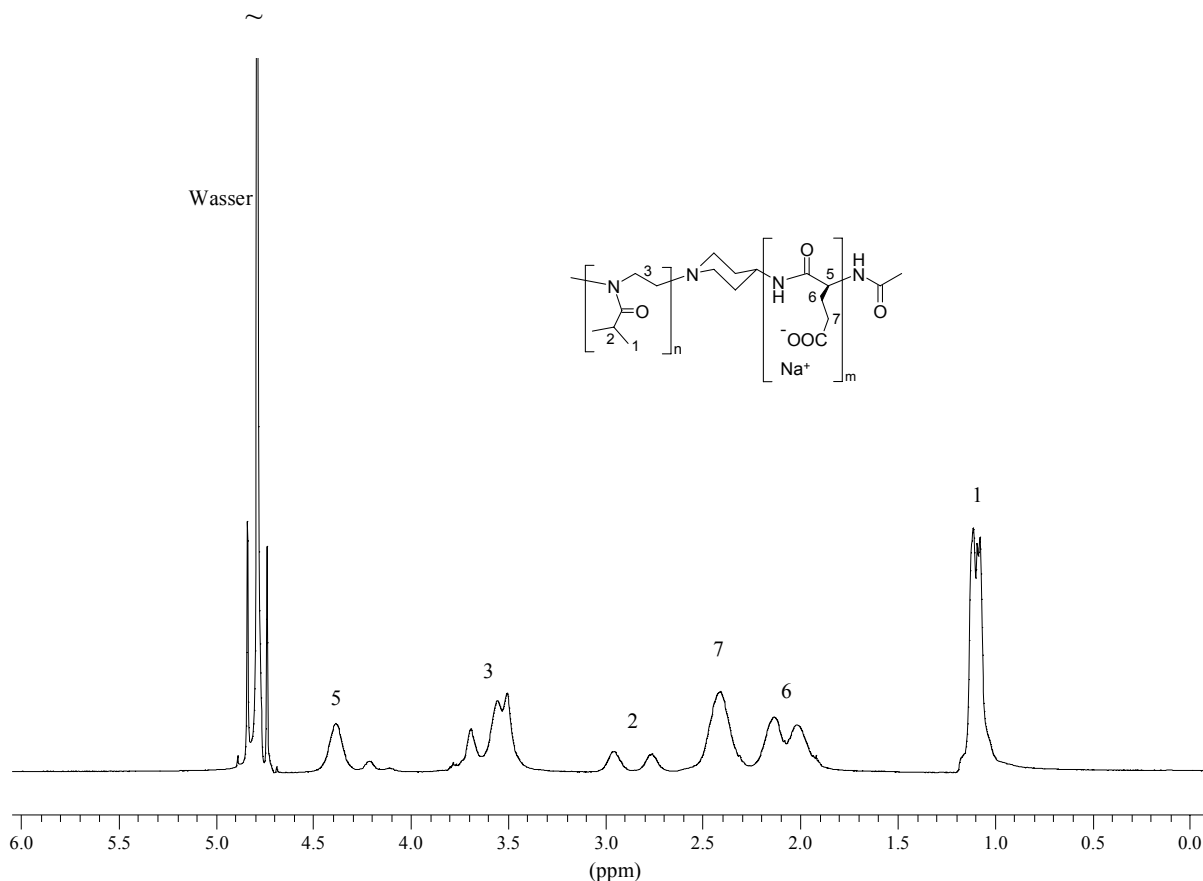


Abb.4.9: ^1H -NMR-Spektrum (400.1 MHz) von $\text{PIPOX}_{147}\text{PLGluNa}_{268}$ in D_2O .

In der Tabelle 6 ist eine Auswahl von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-(L-glutaminsäure) Copolymeren aufgelistet, die nach dieser Methode synthetisiert wurden.

Tabelle 6: Ausgewählte Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-(γ -benzyl-L-glutamat) Copolymere.

| Polymer | $M_n / 10^3$ | PD | Code |
|---|--------------------|-------------------|-------|
| $\text{PIPOX}_{100}\text{PBLGlu}_{119}$ | 17,9 ¹⁾ | 1,2 ¹⁾ | mm310 |
| $\text{PIPOX}_{131}\text{PBLGlu}_{87}$ | 18,8 ¹⁾ | 1,2 ¹⁾ | mm311 |
| $\text{PIPOX}_{147}\text{PBLGlu}_{268}$ ²⁾ | 75,6 ³⁾ | 1,2 ⁴⁾ | mm294 |

¹⁾ Bestimmung der Werte mit GPC (Eluent: NMP); PS-Standard. ²⁾ Das Polymer wurde im obigen Text eingehend beschrieben. ³⁾ Das Molekulargewicht des Oxazolinblocks wurde mit MALDI-TOF-MS bestimmt und die Gesamtmasse nach Bestimmung der Peptideinheitenanzahl mittels ^1H -NMR. ⁴⁾ Messung des apparenten Polydispersitätsindex $\bar{s}_w^{app} / \bar{s}_n^{app}$ mit AUZ.

4.3.1. Sekundärstruktur

Mit der CD-Spektroskopie kann ein Übergang von einer α -Helix in eine Zufallsknäuelstruktur bei einer pH-Wertänderung verfolgt werden. In Abb.4.10 wird das CD-Spektrum von PIPOX₁₀₀-PLGluNa₁₁₉ wiedergegeben. Reine PGS verfügt über Carbonsäuregruppen, die bei sauren pH-Werten in der protonierten Form vorliegen. Im sauren pH-Bereich kann folglich eine α -Helix ausgebildet werden. Durch eine Zunahme des pH-Werts nimmt der Anteil der α -Helix wieder ab.

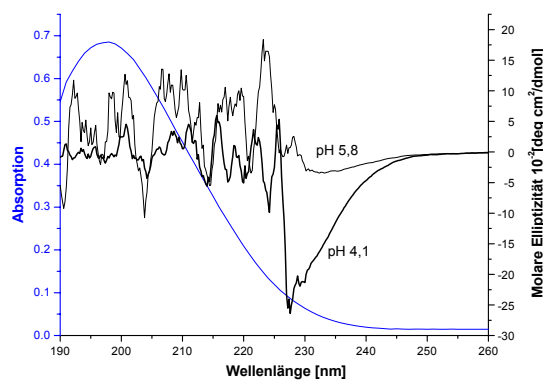


Abb.4.10 : PIPOX₁₀₀-PLGluNa₁₁₉: UV-vis-Spektrum (-) in Wasser mit $c = 1,40 \cdot 10^{-2}$ g/L; CD-Spektrum (-) in Wasser $c = 2,35 \cdot 10^{-2}$ mol/L Peptideinheiten.

Aus Abb.4.10 ist bei einem pH-Wert von 4,1 lediglich ein Hinweis auf eine α -Helix erkennbar. Ab einer Wellenlänge von ca. 230 nm absorbiert die Probe jedoch sehr stark und das vollständige Signal für eine α -Helix konnte mit CD-Spektroskopie nicht bestimmt werden. Das Absorptionsverhalten des Copolymers ist zusätzlich im dazugehörigen UV-vis-Spektrum veranschaulicht. Es wird jedoch eine Änderung der molaren Elliptizität bei einer Änderung des pH-Werts von pH = 5,8 auf pH = 4,1 erkennbar.

4.3.2. Titration der Polypeptide

Für die Strukturbildungsuntersuchungen werden Informationen über den Anteil an ionisierten Gruppen benötigt, damit Aussagen über die Löslichkeit des Polypeptidsegments bei einem gegebenen pH-Wert möglich sind. In der Abb.4.11 ist links die Titration von PLGluNa und rechts die Titration von PIPOX₁₀₀-PLGluNa₁₁₉ ohne Zusatz von Natriumchlorid veranschaulicht. Hierbei wurde zunächst ein alkalischer pH-Wert eingestellt, damit eine

vollständige Deprotonierung der Säuregruppen gewährleistet ist und anschließend wurde das jeweilige Polymer durch Zugabe von HCl titriert.

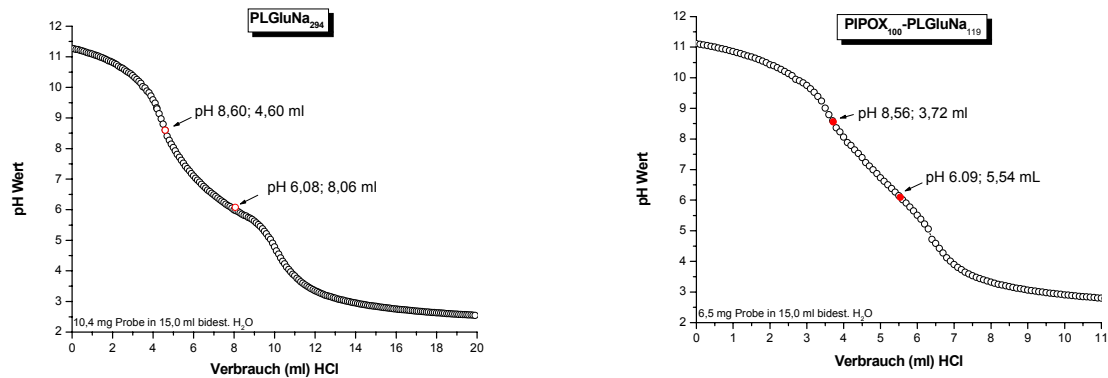


Abb.4.11: Titration von PLGluNa₂₉₄ (links) bzw. PIPOX₁₀₀-PLGluNa₁₁₉ (rechts) mit 0,01 M HCl (mm240406).

In der Abb.4.11 sind für beide Polymere jeweils zwei charakteristische Wendepunkte vorhanden. Der Äquivalenzpunkt liegt bei der titrierten PLGluNa (links) bei einem pH-Wert von 8,6 und bei PIPOX₁₀₀-PLGluNa₁₁₉ (rechts) liegt der Äquivalenzpunkt bei pH 8,56. Bei diesen pH-Werten sind alle Säuregruppen exakt neutralisiert und liegen ionisiert vor. Der zweite charakteristische Punkt in den Titrationskurven ist der pH-Wert, der gleich dem pK_s-Wert ist. Für PLGluNa (links) gilt pH = pK_s ≈ 6,08 und bei PIPOX₁₀₀-PLGluNa₁₁₉ (rechts) gilt pH = pK_s ≈ 6,09. Bei dem pH-Wert, der gleich dem pK_s-Wert ist, liegen 50 % der Säuregruppen deprotoniert vor. Der durch Titration bestimmte pK_s-Wert liegt etwas über dem pK_s-Wert von 4,45, der von Kristof et al. für Polyglutaminsäure angegeben wurde.^[137] Die Abweichungen lassen sich möglicherweise auf Kohlenstoffdioxid zurückführen, das in den Titrationslösungen gelöst war. Von Eghbali et al. wurde bei der Titration von Poly(n-butylacrylat)-*block*-poly(acrylsäure) ein pK_s-Wert von ca. 6,5 gefunden,^[138] der in der selben Größenordnung liegt, wie der pK_s-Wert von ca. pK_s ≈ 6,09.

4.3.3. Temperaturverhalten

Neben dem eben erwähnten pH-sensitiven Verhalten weisen die synthetisierten Polymere aber auch ein temperaturabhängiges Verhalten auf.

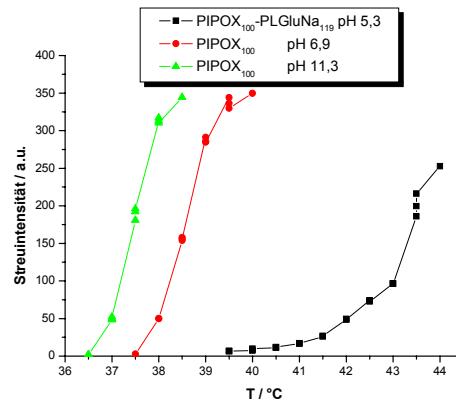


Abb.4.12: Charakterisierung des Temperaturverhaltens mittels Lichtstreuung. 1 wt% Polymer; 0,9 wt% NaCl.; Heizrate 2,5 °C/h.

In der Abb.4.12 wird das temperaturresponsive Verhalten von PIPOX verdeutlicht. Die charakteristischen Temperaturübergänge wurden durch Messung der Lichtstreuintensität bestimmt. Bei den Untersuchungen wurde deutlich, dass bei der Lage der Übergangstemperatur viele Effekte von Bedeutung sind. Hierzu gehören Endgruppeneffekte, Hydrophilie eines zweiten Blocks im Copolymer und auch der pH-Wert. Die Abb.4.12 zeigt, dass die Trübungstemperatur des entschützten PIPOX₁₀₀ unter der Übergangstemperatur des dazugehörigen Blockcopolymers mit einem PLGluNa₁₁₉-Block liegt. Ursache ist die hohe Hydrophilie des Peptidblocks. Auf den Zusammenhang zwischen Hydrophilie und Trübungstemperatur wird in den folgenden Kapiteln noch detaillierter eingegangen. Aus der Abb.4.12 wird außerdem deutlich, dass die LCST des entschützten PIPOX₁₀₀ bei einem alkalischen pH-Wert unter derjenigen bei neutralem pH-Wert liegt.

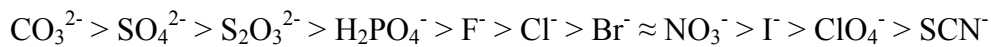
Auch die Heizrate für das jeweils verwendete Temperaturprogramm ist von Bedeutung. Es hat sich beispielsweise gezeigt, dass bei einem schnellen Aufheiz- und folgenden Abkühlvorgang ein Boc-geschütztes PIPOX₆₄ bei Raumtemperatur nach kurzer Zeit wieder in Lösung geht. Wird das selbe Polymer beispielsweise bei einer Konzentration von 0,05 wt % und 0,94 wt % NaCl 20 Stunden in Lösung bei 65 °C erhitzt, so bildet sich ein stabiler Niederschlag, der im selben Zeitraum nicht wieder in Lösung geht.

5. Strukturbiidung von Poly(2-alkyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure)

Aggregate von Blockcopolymeren können in Lösung durch elektrostatische Abstoßung oder sterische Wechselwirkung stabilisiert werden. Bei den in dieser Arbeit synthetisierten PIPOX-PLGluNa Copolymeren kann es zur elektrostatischen Stabilisierung des unlöslichen temperaturschaltbaren Blocks durch den löslichen PLGluNa-Block kommen. Aus diesem Grund wird im Folgenden die elektrostatische Stabilisierung näher betrachtet.

Blockcopolymer mit einem hydrophoben Block und einem Polyelektrolytblock können in wässriger Lösung Strukturen bilden, bei denen der hydrophobe Block des Moleküls den Kern bildet, der von einer Korona der Polyelektrolytblöcke umgeben ist. Die Polyelektrolytketten ragen hervor und versuchen aufgrund ihrer elektrostatischen Abstoßung innerhalb der Korona einen größtmöglichen Abstand voneinander anzunehmen. Die Gegenionen des Polyelektrolyten verbleiben nicht alle innerhalb der Korona. Einige Gegenionen dissoziieren in das Wasser um die Mizelle, bis die wachsende negative Ladung der Mizelle diesen Prozess aus enthalpischen Gründen stoppt. Eghbali et al. haben Untersuchungen am Phasenverhalten von Poly(n-butylacrylat)-*block*-poly(acrylsäure) durchgeführt.^[138] Es wurde beobachtet, dass wässrige Lösungen des protonierten Blockcopolymeres trübe sind. Die Trübung ist auch sehr stark vom Salzgehalt der Lösung abhängig. Es wurde beobachtet, dass die Proben in der Gegenwart von Salz trüber waren, als diejenigen ohne Salz. Hierbei stieg die Trübung mit zunehmender Salzkonzentration. Bei den Strukturuntersuchungen mittels Cryo-TEM wurden wurmartige Mizellen innerhalb der trüben Lösung beobachtet, wenn das Blockcopolymer in der protonierten Form vorliegt. Dabei gab es Hinweise für anziehende Wechselwirkungen zwischen den Mizellstrukturen. Bei einem Neutralisationsgrad von 0,5 und in der Abwesenheit von Salz haben die Cryo-TEM Aufnahmen gezeigt, dass Mizellen hochgeordnet vorliegen, weil die elektrostatische Abstoßung für einen großen Abstand zwischen den Mizellen sorgt. Im Gegensatz dazu wurde in einer Lösung mit überschüssigem Natriumchlorid beobachtet, dass die Ordnung der Mizellen untereinander abnimmt und die Mizellen nicht mehr gleichmäßig verteilt sind. Das kann damit erklärt werden, dass die Gesamtladungen der Mizellen durch das überschüssige Natriumchlorid abgeschirmt werden und außerdem die Dicke der Acrylatschicht abnimmt.

Nach der Hofmeister-Serie verfügen Salze auch über die Möglichkeit einige Proteine aus wässriger Lösung auszufällen. Eine typische Reihenfolge für Anionen ist:



Die Spezies auf der linken Seite werden als Kosmotrope bezeichnet und diejenigen auf der rechten Seite als Chaotrope. Die Untersuchungen von Zhang et al. haben gezeigt, dass die gesamten Effekte der Hofmeister-Anionen auf die Löslichkeit von PNIPAM durch drei Wechselwirkungen der Ionen mit dem Polymer und seinem Hydrationswassers erklärt werden können.^[139] Die Wechselwirkungsmöglichkeiten nach Zhang et al. sind für PNIPAM schematisch in der Abb.5.1 veranschaulicht.

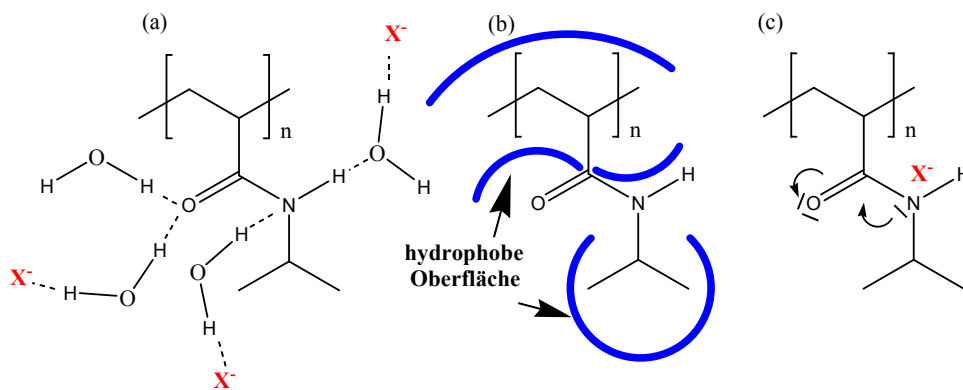


Abb.5.1: Wechselwirkungsmöglichkeiten von Anionen mit PNIPAM nach Zhang et al.:
 (a) Destabilisierung von Wasserstoffbrückenbindungen zum Amid durch Anionen X^- (b) Veränderung der Oberflächenspannung der hydrophoben Bereiche durch Zusatz von Salz (c) Direkte Bindung des Anions an die Amidgruppe.

Hierbei können die Ionen angrenzende Wassermoleküle polarisieren, die in Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Amid involviert sind (Abb.5.1 (a)). Desweiteren können diese Spezies die hydrophobe Hydratisierung des Makromoleküls beeinträchtigen, indem sie die Oberflächenspannung des Hohlraums um das Kettenrückrad und die Isopropylgruppe erhöhen (Abb.5.1 (b)). Bei der dritten Wechselwirkungsmöglichkeit können die Anionen direkt an das Polyamid binden (Abb.5.1 (c)). Hierbei sollten der erste und zweite Effekt ein „Aussalzen“ bewirken, was zu einer Absenkung der LCST führt. Der dritte Effekt sollte im Gegensatz hierzu ein „Einsalzen“ des Polymers bewirken. Es wurde die Lichtstreuintensität als Funktion der Temperatur untersucht und für die kosmotropen Anionen CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, H_2PO_4^- und F^- wird ein zweistufiger Übergang beobachtet- eine Änderung der Lichtstreuintensität bei niedriger und eine bei hoher Temperatur. Im Gegensatz

hierzu wurde diese Beobachtung nicht bei den untersuchten chaotropen Anionen gemacht. Die Untersuchungen von Zhang et al. haben gezeigt, dass der Phasenübergang bei niedriger Temperatur mit der Dehydratisierung der Amidgruppen durch Polarisierungseffekte zusammenhängt. In diesem Fall sind die stark hydratisierten Ionen in der Lage, die Wassermoleküle ausreichend zu polarisieren, so dass deren Wechselwirkung mit den freien Elektronenpaaren des Carbonylsauerstoffs und Amidstickstoffs geschwächt wird. Die Abkopplung der Amid Dehydratisierung vom restlichen Phasenübergang manifestiert sich nach Zhang et al. in der Ausbildung von teilweise kollabierten Strukturen, die das Licht weniger streuen als voll kollabiertes PNIPAM. Es wurde gefunden, dass bei dem zweistufigen Phasenübergang derjenige bei höherer Temperatur auf die Entfernung des hydrophoben Hydratisierungswassers von dem Polymerrückrad und den Isopropylseitengruppen zurückgeführt werden kann. Es wurde desweiteren beobachtet, dass chaotrope Anionen über die Oberflächenspannung und direkte Ionenbindung auf PNIPAM wirken.

PNIPAM nimmt eine kugelförmige Struktur ein, wenn die charakteristische Temperatur überschritten wird; die Hydrophobizität der PNIPAM-Oberfläche nimmt dabei zu. Takei et al. haben bei einer Temperaturerhöhung einen Anstieg des Kontaktwinkels von Wasser auf der PNIPAM Oberfläche gefunden.^[140] Zhu et al. untersuchten die Auswirkungen von Elektrolyten auf Polystyrol-Latizes, die mit PNIPAM oder PEO sterisch stabilisiert wurden. PNIPAM und PEO sind Polymere mit hydrophoben und hydrophilen Bereichen entlang der Polymerkette, die mit Wassermolekülen wechselwirken können. PNIPAM ist ein relativ hydrophiles Polymer in Wasser, wenn die Temperatur ausreichend niedrig ist. Unter diesen Bedingungen findet keine Aggregation statt, weil die PNIPAM-Ketten sterisch stabilisieren. Wenn jedoch die Löslichkeit von PEO oder PNIPAM gesenkt wird, so dass Aggregation einsetzt, wird das Verhalten komplex. Die hydrophobe Wechselwirkung kann sowohl inter- als auch intramolekular erfolgen. Bei längeren Zeiten sind auch topologische Verwicklungen der PNIPAM-Ketten möglich, so dass die Restrukturierung irreversibel werden kann.^[140]

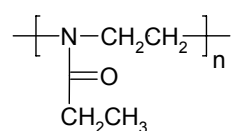
Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten PIPOX-PLGluNa Copolymere besitzen einen Polyelektrolytblock und einen temperaturschaltbaren Block. Hierbei kann sich ein Zusatz von Salzen auf die Eigenschaften der beiden Blöcke auswirken und deren Verhalten sehr stark beeinflussen. Im Folgenden Kapitel wird zunächst auf die LCST von POX-Polymeren sowie die Bildung von Strukturen der reinen PIPOX-Boc Polymere eingegangen, die durch eine Reihe von Parametern beeinflusst werden können. Anschließend erfolgt eine Darstellung der Strukturbildung für die synthetisierten PIPOX-PLGluNa Copolymere mit und ohne Salzzusatz.

5.1. LCST-Messungen an Poly(2-alkyl-2-oxazolinen)

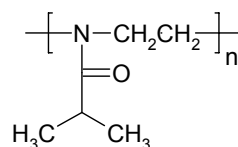
Uyama et al. haben gezeigt, dass der Trübungspunkt von PIPOX in Wasser mit steigender Konzentration abnimmt.^[141] Dieser Trend wurde von Park et al. bestätigt.^[27] Desweiteren wurde von Uyama et al. nachgewiesen, dass durch einen Zusatz von Natriumchlorid der Trübungspunkt gesenkt werden kann. Im Gegensatz hierzu wurde beobachtet, dass eine Zugabe von Natriumdodecylsulfat oder von Dodecyltrimethylammoniumchlorid zu einer Erhöhung der Trübungstemperatur führt.

Diab et al. zeigten für PIPOX mit Hydroxylendgruppen, dass der Trübungspunkt mit steigendem Molekulargewicht abnimmt.^[142] Hierbei wurden Polymere mit Kettenlängen zwischen 17 und 50 Einheiten untersucht. Es wurde desweiteren beobachtet, dass in D₂O die Trübungstemperatur etwas niedriger liegt als in H₂O. Im Rahmen von High-Sensitivity Differential Calorimetry wurde eine Abhängigkeit der Übergangsenthalpie ΔH vom Molekulargewicht beobachtet. Sie stieg von $0,36 \pm 0,01$ kcal pro Mol der Monomereinheit für das kürzeste Oligomer (mit 17 Einheiten) auf $1,4 \pm 0,01$ kcal pro Mol für das längste Polymer (mit 50 Einheiten). Der letzte Wert entspricht ungefähr der Energie, die benötigt wird, um eine Wasserstoffbindung pro Repetiereinheit zu brechen. Aufgrund dessen scheint die Verfügbarkeit der Carbonylgruppen innerhalb der PIPOX-Kette für die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu Wasser, mit steigendem Molekulargewicht zu steigen. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass auch ein Zusatz von Natriumchlorid die Übergangsenthalpie erhöht. Diese Beobachtung stimmt mit dem bekannten „salting out“-Effekt von Natriumchlorid überein. Diab et al konnte mit PPC (Pressure Perturbation Calorimetry) zeigen, dass die Änderung des Solvationsvolumens während des Phasenübergangs für das höhermolekulare Polymer (mit 50 Einheiten) etwa doppelt so groß ist, wie für das niedermolekulare (mit 17 Einheiten). Diese Beobachtung scheint ein weiterer Hinweis dafür zu sein, dass die Anzahl der Wasserstoffbindungen zur Polymerkette mit steigendem Molekulargewicht zunimmt. Desweiteren war die Änderung des Solvationsvolumens in D₂O größer als in H₂O. Das ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass die PIPOX-Ketten in D₂O eine gestrecktere Konformation einnehmen können als in H₂O. Die Änderung des Solvationsvolumens nimmt auch mit steigender Natriumchloridkonzentration zu.

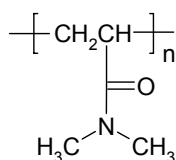
Die Repetiereinheit von Poly(2-ethyl-2-oxazolin) ist isomer zu der von Poly(N,N-dimethylacrylamid) und diejenige von PIPOX zu der von PNIPAM (Abb.5.2).



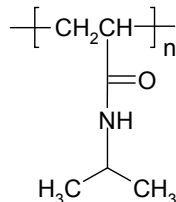
Poly(2-ethyl-2-oxazolin)



Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)



Poly(N,N-dimethylacrylamid)



Poly(N-isopropylacrylamid)

Abb.5.2: Chemische Strukturen der Reptiereinheiten von Poly(2-ethyl-2-oxazolin), Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) (PIPOX), Poly(N,N-dimethylacrylamid) und Poly(N-isopropylacrylamid) (PNIPAM).

Poly(2-ethyl-2-oxazolin) und Poly(N,N-dimethylacrylamid) sind beide in Wasser löslich, wobei aber nur für das erste dieser beiden Polymere eine LCST in Wasser gefunden wurde.^[143] Für das Poly(2-ethyl-2-oxazolin) wurde untersucht, wie sich Konzentrationsänderungen, das Molekulargewicht, Salz- oder Lösungsmittelzusätze auf die LCST auswirken.^[143, 144] PNIPAM ist genauso wie PIPOX ein wasserlösliches Polymer unterhalb der LCST. Die LCST von PNIPAM^[145] liegt bei etwa 31 °C und der Trübungspunkt von einem PIPOX mit M_n 16700 g/mol im Bereich von 36 bis 39 °C.

Xia et al. haben PNIPAM mit einer sehr engen Molekulargewichtsverteilung mit ATRP in 2-Propanol synthetisiert.^[146] Bei dieser Synthese wurden definierte Endgruppen eingeführt und die Polymere hinsichtlich ihrer Trübungstemperatur sowie mit HS-DSC untersucht. Hierbei wurde deutlich, dass die niedermolekularen PNIPAM-Proben mit enger Molekulargewichtsverteilung schneller sedimentieren und weniger kolloidal stabil sind, als polydisperse PNIPAM-Proben. Es konnte bei den synthetisierten Polymeren außerdem gezeigt werden, dass hydrophile Endgruppen die thermische Phasenübergangstemperatur erhöhen, wohingegen hydrophobe Endgruppen zu einer Absenkung des Trübungspunkts führen. Einen guten Überblick über Untersuchungen an PNIPAM gibt ein Übersichtsartikel von Schild.^[147] In diesem Artikel finden sich auch viele Methoden für die Charakterisierung des LCST-Verhaltens, wie z.B. UV-Spektroskopie, Lichtstreuung, DSC oder NMR-Spektroskopie.

Für die Untersuchung der in dieser Arbeit synthetisierten PIPOX-PLGluNa Polymere ist eine Charakterisierung der PIPOX Polymere für ein genaueres Verständnis erforderlich. Im Folgenden wird die Bestimmung der Trübungspunkte mit Hilfe einer Lichtstreuapparatur durchgeführt. Hierfür wird eine Küvette in einem Thermostaten auf die gewünschte Temperatur temperiert und die Intensität des gestreuten Lichts (Wellenlänge 633 nm) im 90 °C Winkel mit einem Detektor gemessen. Für die Durchführung der Untersuchungen wurde ein Temperaturprogramm verwendet, bei dem zunächst drei Minuten gewartet wurde bis die Temperatur konstant ist. Anschließend wurden in 0,5 °C Schritten jeweils drei Messungen mit je 3 Minuten Messdauer aufgezeichnet. Dadurch ergibt sich eine Heizrate von 2,5 °C pro Stunde. In den Abb.4.12 und Abb.5.3-5.7 wurde die gemessene Streuintensität für die Polyoxazolin-Homopolymere mit einem Faktor multipliziert, damit die Höhe des Messsignals einheitlich aussieht. Die Lage des LCST-Punkts bleibt dadurch aber unverändert.

Bei den Trübungspunktmessungen des hier synthetisierten PIPOX wurden insbesondere Molekulargewichtseffekte, Bedeutung der Hydrophilie bzw. Hydrophobie der Endgruppe, der Einfluss der Copolymerzusammensetzung und der Einfluss des pH-Werts näher betrachtet.

5.1.1. Effekt des Molekulargewichts

Die hier untersuchten PIPOX wurden durch Abbruch der kationischen Polymerisation mit einem Piperidinderivat abgebrochen, so dass eine terminale Boc-Guppe vorliegt. Bei den Messungen wurden Polymere mit 47 bis 147 Repetiereinheiten betrachtet (Abb.5.3). Die dazugehörigen Daten sind in der Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5: Daten zu den Polymeren aus Abb.5.3 (PS-Standard).

| Polymer | Code | M_n (GPC, THF) / 10^3 | M_w/M_n | Polymer |
|--------------------------|-------|---------------------------|-----------|---------|
| PIPOX ₄₇ Boc | mm377 | 5,34 | 1,08 | mm344 |
| PIPOX ₆₄ Boc | mm237 | 7,22 | 1,29 | mm225 |
| PIPOX ₇₆ Boc | mm364 | 8,57 | 1,08 | mm350 |
| PIPOX ₉₇ Boc | mm376 | 11,03 | 1,05 | mm351 |
| PIPOX ₁₁₇ Boc | mm372 | 13,25 | 1,04 | mm352 |
| PIPOX ₁₄₇ Boc | mm280 | 17,44 | 1,05 | mm258 |

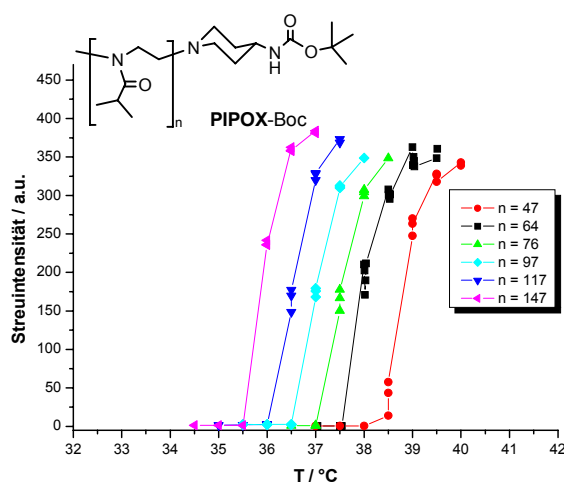


Abb.5.3: Abhängigkeit des LCST-Punkts vom Molekulargewicht des PIPOX-Boc ($c = 1$ wt% Polymer, $c_{\text{NaCl}} = 0,9$ wt%).

Der LCST-Punkt wird mit steigendem Molekulargewicht zu niedrigeren Temperaturen verschoben. In Abb.5.3 liegt der Wert für $n = 147$ Einheiten bei ca. $T_c = 35,5$ °C und für $n = 47$ liegt der Trübungspunkt bei ca. $T_c = 38,5$ °C. Dieser Trend ist eine Bestätigung der Ergebnisse von Diab et al. für PIPOX mit Kettenlängen zwischen 17 und 50 Repetiereinheiten und Hydroxyendgruppen.^[142]

5.1.2. Effekt der Copolymerzusammensetzung

Die LCST kann außer durch das Molekulargewicht auch durch den Substituenten der 2-Alkyl-2-oxazoline gesteuert werden. Bei Raumtemperatur sind Poly(2-alkyl-2-oxazolin)e mit Methyl-, Ethyl- und Isopropylsubstituenten wasserlöslich. Hierbei steigt die Trübungstemperatur von ca. 38 °C beim isopropylsubstituierten auf ca. 60 °C beim ethylsubstituierten Poly(2-alkyl-2-oxazolin). Das Methylderivat zeigt in Wasser keinen Trübungspunkt.^[141]

Das Poly(2-n-propyl-2-oxazolin) ist bei Raumtemperatur nicht gut in Wasser löslich. Durch statistische Copolymerisation von 2-n-Propyl-2-oxazolin bzw. 2-Ethyl-2-oxazolin mit 2-Isopropyl-2-oxazolin läßt sich der LCST-Punkt nach den gewünschten Anforderungen einstellen. Die Ergebnisse sind in der Abb.5.4 sowie in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 6: Daten zu den Polymeren aus Abb.5.4 (PS-Standard).

| Polymer | Code | M _n (GPC,THF) / 10 ³ | M _w /M _n | Polymer |
|--|-------|--|--------------------------------|---------|
| PNPOX ₃₈ -co-PIPOX ₉₁ Boc | mm360 | 14,63 | 1,13 | mm316 |
| PNPOX ₁₅ -co-PIPOX ₁₁₉ Boc | mm362 | 15,16 | 1,07 | mm315 |
| PIPOX ₁₁₇ Boc | mm372 | 13,25 | 1,04 | mm352 |
| PIPOX ₆₄ Boc | mm237 | 7,22 | 1,29 | mm225 |
| PEOX ₃₉ -co-PIPOX ₃₀ Boc | mm354 | 7,22 | 1,10 | mm283 |

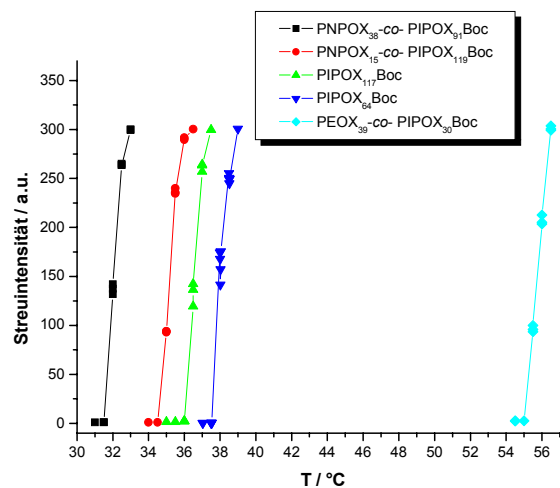


Abb.5.4: Abhängigkeit des LCST-Punkts von der Zusammensetzung des Polymers (c = 1 wt% Polymer, c_{NaCl} = 0,9 wt%).

Der Trübungspunkt kann mit dem statistischen Copolymer Poly(2-n-propyl-2-oxazolin)₃₈-co-poly(2-isopropyl-2-oxazolin)₉₁ (PNPOX₃₈-co-PIPOX₉₁Boc) auf beispielsweise 32 °C gesenkt werden. Wird das statistische Copolymer Poly(2-ethyl-2-oxazolin)₃₉-co-poly(2-isopropyl-2-oxazolin)₃₀ (PEOX₃₉-co-PIPOX₃₀Boc) eingesetzt, so liegt der LCST-Punkt bei ca. T_c = 55 °C. Somit kann die Trübungstemperatur des PIPOX mit hydrophoberen Comonomeren gesenkt und hydrophileren Comonomeren erhöht werden. Dies ist beispielsweise von Interesse, wenn man für biomedizinische Anwendungen eine LCST im Bereich der Körpertemperatur haben möchte.

5.1.3. Effekt der Endgruppe

Die Untersuchungen an PIPOX Polymeren haben gezeigt, dass durch die Erhöhung der Hydrophilie eines Comonomers der LCST-Punkt zu höheren Temperaturen verschoben wird. Durch die Verwendung der Boc-Schutzgruppe verfügen die synthetisierten Polymere über eine unpolare Endgruppe, als die entschützten Polymere. Durch den Entschützungsprozess mit TFA liegen protonierte Amingruppen vor. Das Molekulargewicht sowie die dazugehörige Molekulargewichtsverteilung sind vor und nach dem Entschützen und der durchgeführten Aufarbeitung nahezu identisch, was eine direkte Vergleichbarkeit ermöglicht. Abb.5.5 verdeutlicht, dass durch die Erhöhung der Hydrophilie der Endgruppe der LCST-Punkt erhöht wird.

Tabelle 7: Daten zu den Polymeren aus Abb.5.5 (PS-Standard).

| Polymer | Code | M _n (GPC, THF) / 10 ³ | M _w /M _n | Polymer |
|-------------------------------|-------|---|--------------------------------|---------|
| PIPOX₁₄₇Boc | mm280 | 17,44 | 1,05 | mm258 |
| PIPOX₁₄₇ | mm340 | 13,46 | 1,08 | mm279 |
| PIPOX₄₇Boc | mm377 | 5,34 | 1,08 | mm344 |
| PIPOX₄₇ | mm399 | 4,30 | 1,19 | mm375 |

Aus den Messungen ist hervorgegangen, dass sich bei dem PIPOX₁₄₇ der Trübungspunkt um ca. 1 °C zu höheren Temperaturen verlagert, wenn die Endgruppe entschützt ist. Die Untersuchungen an dem niedermolekularen PIPOX₄₇ zeigten nach der Entschützung eine Verschiebung des LCST-Punkts um ca. 4 °C zu höheren Temperaturen. Bei dem Polymer mit dem kleineren Molekulargewicht hat sich somit die Änderung der Endgruppenpolarität stärker

auf den Trübungspunkt ausgewirkt. Diese Beobachtung ist mit den oben erwähnten Untersuchungen von Xia et al. an PNIPAM in Übereinstimmung.

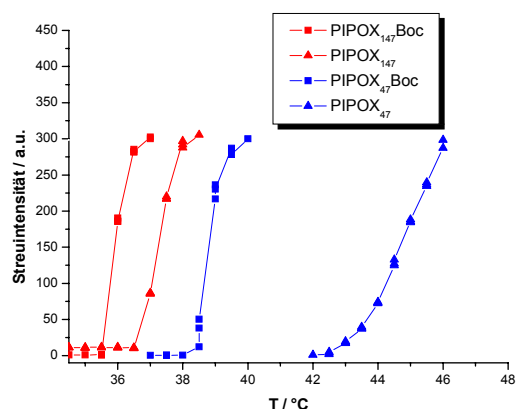


Abb.5.5: Abhängigkeit des LCST-Punkts von der Endgruppe des Polymers ($c = 1$ wt% Polymer, $c_{\text{NaCl}} = 0,9$ wt%).

5.1.4. Effekt des pH-Werts

Die Lage des LCST-Punkts kann ebenso durch den pH-Wert gesteuert werden. In der Abb.5.6 ist der Trübungspunkt des Boc-entschützten PIPOX₁₀₀ in Abhängigkeit des pH-Werts gezeigt. Es wird deutlich, dass der LCST-Punkt von pH = 2,6 in Richtung pH = 11,3 zu niedrigeren Temperaturen verschoben werden kann.

Tabelle 8: Daten zu dem Polymer PIPOX₁₀₀ aus Abb.5.6 (PS-Standard).

| Code | M_n (GPC, THF) / 10^3 | M_w/M_n | Polymer |
|-------|---------------------------|-----------|---------|
| mm321 | 11,35 | 1,1 | mm303 |

Das kann möglicherweise damit erklärt werden, dass Wasserstoffbrückenbindungen zur Löslichkeit des Polymers beitragen und durch die Erhöhung des pH-Werts werden die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Polymer und Wasser bei niedrigeren Temperaturen aufgelöst und die Trübung tritt eher ein.

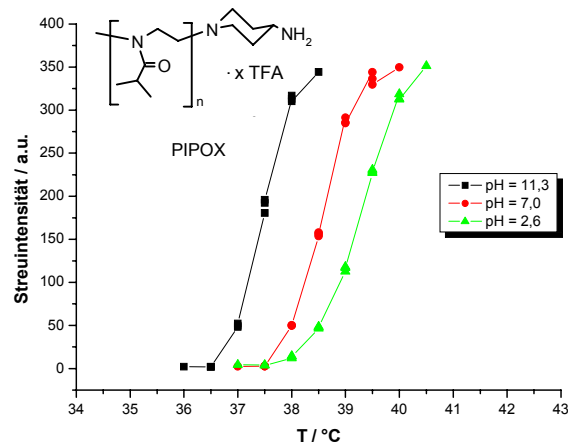


Abb.5.6: pH-Abhängigkeit des LCST-Punkts des Boc-entschützten PIPOX₁₀₀ (c = 1 wt% Polymer, c_{NaCl} = 0,9 wt%).

In Abb.5.6 ist die Messung des LCST-Punkts des Boc-geschützten PIPOX₉₇Boc bei drei verschiedenen pH-Werten veranschaulicht. Im Alkalischen (pH = 11,6) liegt der Ansatz des LCST-Punkts bei ca. 36 °C, im Neutralen (pH = 7,0) bei ca. 36,5 °C und im Sauren (pH = 1,9) bei ca. 37 °C. Im Vergleich zu dem mit Trifluoressigsäure Boc-entschützten PIPOX₁₀₀ ist die LCST zu niedrigeren Temperaturen verschoben. Beim entschützten PIPOX ist der Effekt erwartungsgemäß größer.

Tabelle 9: Daten zu dem Polymer PIPOX₉₇Boc aus Abb.5.7 (PS-Standard).

| Code | M _n (GPC, THF) / 10 ³ | M _w /M _n | Polymer |
|-------|---|--------------------------------|---------|
| mm425 | 11,03 | 1,05 | mm351 |

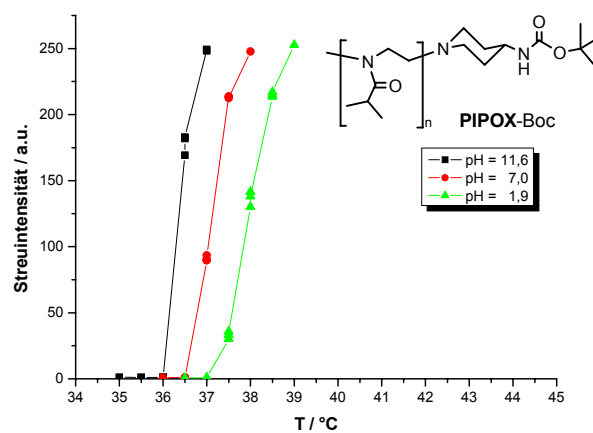


Abb.5.7: pH-Abhängigkeit des LCST-Punkts des Boc-geschützten PIPOX₉₇Boc (c = 1 wt% Polymer, c_{NaCl} = 0,9 wt%).

5.2. Strukturbildung von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) oberhalb der LCST

Chan et al. haben die Stabilität von PNIPAM Lösungen oberhalb der LCST untersucht,^[148] wobei PNIPAM-Polymere mit Sulfatendgruppen verwendet wurden. Sehr verdünnte PNIPAM Lösungen aggregieren nicht innerhalb kurzer Messzeiträume, weil die Wahrscheinlichkeit für die Brownschen Zusammenstöße gering ist. Es konnte gezeigt werden, dass der Durchmesser der entstehenden Partikel bei 40 °C mit der PNIPAM Konzentration zunimmt. Desweiteren wurde beobachtet, dass der durchschnittliche Durchmesser der PNIPAM Partikel mit steigender Ionenstärke steigt. Chan et al. führen die Bildung der PNIPAM Partikel auf homogene koagulative Nukleation zurück. Weil die einzelnen Precursorpartikel nicht kolloidal stabil sind, kommt es zur Koagulation und es entstehen größere Partikel.

Im Vorfeld der Strukturuntersuchungen der PIPOX-PLGluNa Copolymere wird zunächst die Strukturbildung der synthetisierten PIPOX Polymere näher betrachtet. In der Abb.5.8 wird die Auswirkung des pH-Werts auf die Strukturbildung des gebildeten PIPOX₁₁₇Boc Niederschlags veranschaulicht.

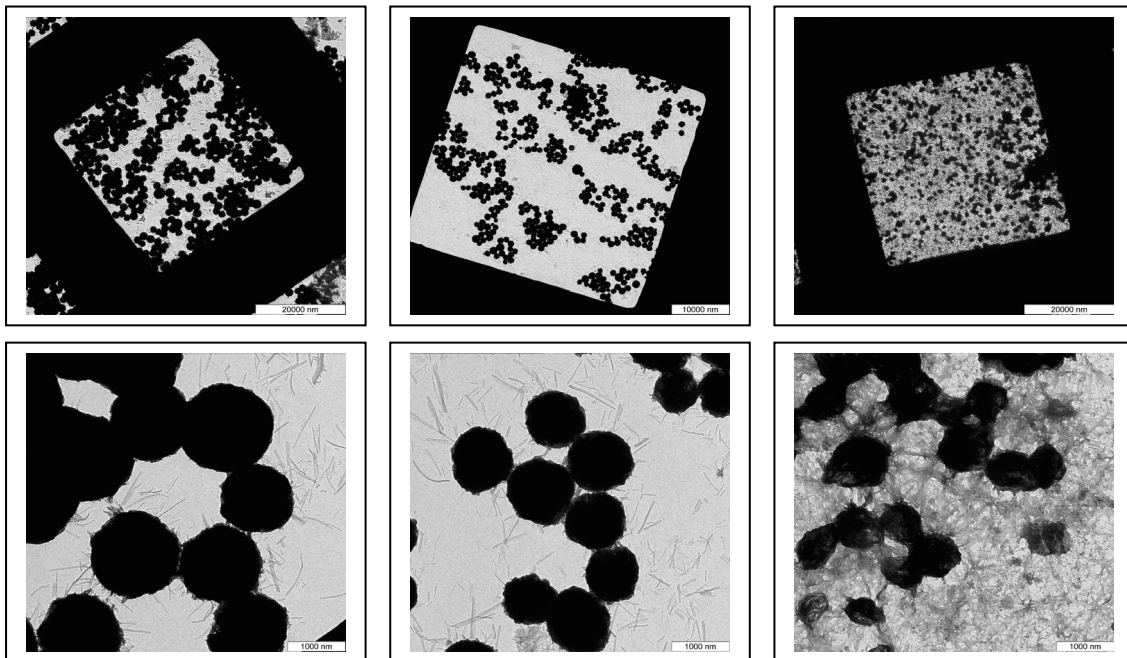


Abb.5.8: PIPOX₁₁₇Boc 0,05 wt% in Wasser ohne Salz nach 24 h bei 65 °C, TEM. pH-Werte vor dem Erhitzen von links nach rechts: pH 10,6 (mm463); 6,9 (mm453) und 2,8 (mm464): Obere Reihe Übersichtsaufnahmen untere Reihe Vergrößerung.

Die gebildeten Aggregate haben bei pH 10,6 und 6,9 nahezu die gleiche Struktur, wobei der Durchmesser bei dem pH-Wert von 10,6 etwas größer ist. Es ist hervorzuheben, dass die

Partikel sehr monodispers sind. In diesen beiden Fällen haben sich kugelförmige Strukturen in der Größenordnung von 1 μm gebildet, wobei die Grenzflächen sehr klar definiert sind. Die Partikel sind teilweise miteinander in Kontakt. Außerdem sind noch einzelne stäbchenförmige Strukturen im Umfeld der Partikel erkennbar, die eine Länge von mehreren hundert Nanometern erreichen können.

Die Monodispersität wurde bei den oben erwähnten Untersuchungen von Chan et al. an PNIPAM-Polymeren mit Sulfatendgruppen auf ein Wechselspiel zwischen anziehenden und abstoßenden elektrostatischen Kräften zurückgeführt.^[148] Die Van der Waals-Kräfte für die Anziehung zwischen zwei Partikeln steigen mit der Partikelgröße, und nach der Hamaker Theorie nimmt das Anziehungspotenzial zwischen zwei Sphären mit dem Partikeldurchmesser zu. Folglich müssen die Abstoßungskräfte mit dem Partikeldurchmesser stärker ansteigen, damit stabile Partikelgrößen erhalten werden. Für Polystyrol-Latizes wurde in Abwesenheit von grenzflächenaktiven Substanzen gezeigt, dass die meisten der elektrisch geladenen Polymerkettenenden während des koagulativen Wachstums an der Partikel/Wasser-Grenzfläche bleiben, weil sie wahrscheinlich mit dem hydrophoben Styrolkern inkompatibel sind. Wenn alle geladenen Kettenenden auf der Oberfläche der sphärischen Partikel verbleiben, nimmt die Oberflächenladungsdichte mit dem Partikeldurchmesser zu. Nach der Doppelschichten-Theorie steigt auch das entsprechende Oberflächenpotenzial mit dem Partikeldurchmesser an. Goodwin konnte mit seinen Berechnungen zeigen, dass Kolloide einen Übergang von Instabilität zu Stabilität innerhalb eines sehr engen Bereichs der Partikelgröße vollziehen.^[149] Auf der einen Seite aggregieren große Partikel nicht miteinander, wenn sie größer als der kritische Durchmesser sind, weil die elektrostatische Abstoßung zu groß wird. Andererseits können Partikel, die kleiner als der kritische Durchmesser sind, eine Heterokoagulation durchführen und auf diese Weise wachsen.

Die hier verwendeten PIPOX-Boc Polymere verfügen anstelle der Sulfatendgruppen über eine geladene Ammoniumendgruppe, welche wahrscheinlich hauptsächlich auf der Oberfläche verbleibt. Bei den in dieser Arbeit beobachteten stäbchenförmigen Strukturen handelt es sich sehr wahrscheinlich um zylindrische Mizellen, wobei oberhalb der LCST ein Kern aus PIPOX entsteht und die Oberfläche aus den positiv geladenen Endgruppen besteht. Hartgerink et al. berichtete über die Ausbildung von Nanofasern, bei denen es sich um zylindrische Mizellen handelt. Dort befanden sich Alkylsegmente im Innern der zylindrischen Mizellen und kurze Peptidsegmente mit aziden Einheiten auf der Oberfläche.^[150]

Der pK_s -Wert von protonierten tertiären Aminen liegt bei 10-11.^[151] In wässriger Lösung liegt das tertiäre Amin der Endgruppe im PIPOX-Boc somit zu einem Großteil in der protonierten

Form vor. Auf der Oberfläche der großen kugelförmigen Strukturen in Abb.5.8 sind vereinzelt die kleineren stäbchenförmigen Aggregate zu erkennen. Ein möglicher Erklärungsansatz für die Bildung dieser großen Kugelstrukturen ist die Zusammenlagerung der zylindrischen Mizellen zu großen sphärischen Aggregaten. In diesem Fall handelt es sich somit möglicherweise bei den großen Kugelstrukturen um sogenannte „large compound micelles“ (LCM).^[152] In der Abb.5.9 wird ein Erklärungsmodell für die Bildung dieser großen Aggregate veranschaulicht.

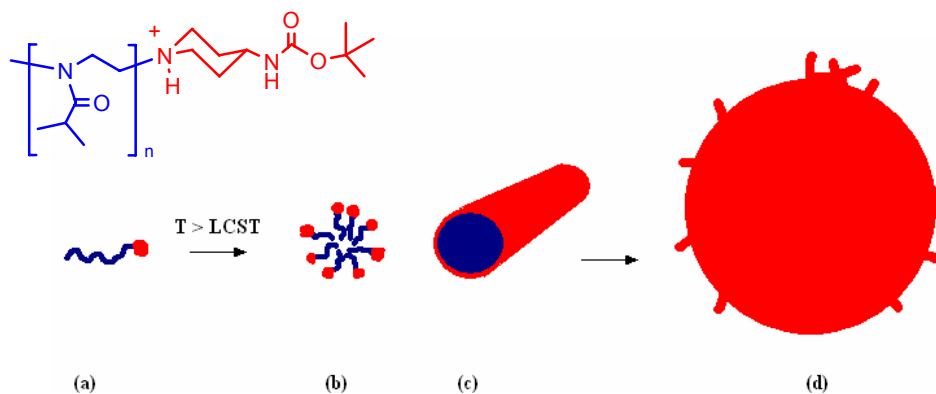


Abb.5.9: Strukturmodell für die Bildung der großen Aggregate. (a) gelöste PIPOX-Boc Unimere unterhalb der LCST, (b) Querschnitt durch die gebildeten zylindrischen Mizellen, (c) entstandene zylindrische Mizellen, (d) zusammengelagerte zylindrische Mizellen bilden große kugelförmige Aggregate.

In der Lösung liegen vor dem Erhitzen gelöste Unimere vor. Wird die Temperatur über die LCST erhöht, wird der PIPOX-Block unlöslich und es bilden sich zylindrische Mizellen aus. In der Abb.5.9 (b) ist der Querschnitt durch eine zylindrische Mizelle (Abb.5.9 (c)) veranschaulicht. Diese zylindrischen Mizellen lagern sich anschließend zu großen kugelförmigen Strukturen zusammen, die auch nach erfolgter Abkühlung erhalten bleiben. Die Monodispersität dieser zusammengelagerten Kugelstrukturen lässt sich wahrscheinlich mit dem oben erläuterten Wechselspiel zwischen anziehenden Kräften und den abstoßenden elektrostatischen Kräften verstehen.

Bei einem pH-Wert von 10,6 liegt ein größerer Teil der Endgruppen in der deprotonierten Form vor und dadurch kommt es zu einer Reduzierung der elektrostatischen Abstoßung zwischen den zylindrischen Mizellen sowie der gebildeten großen sphärischen Aggregate. Die Reduzierung der elektrostatischen Abstoßung ist ein Erklärungsansatz warum die Größe der großen Kugelstrukturen bei alkalischem pH-Wert etwas größer ist, als bei einem pH-Wert von 6,9. Im Gegensatz zu den basischen bis neutralen pH-Werten besitzen die entstandenen Strukturen bei pH 2,8 keine klar voneinander abzugrenzenden Kugelstrukturen. Es liegen sehr viele Verknüpfungspunkte vor. Diese Unterschiede in den gebildeten Strukturen sind möglicherweise auf die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen Amidgruppen bei saurem pH-Wert zurückzuführen, so dass mehr Verknüpfungspunkte entstehen können.

Wird eine 0,05 wt%-ige wässrige Lösung von PIPOX₄₇Boc ohne Zusatz von Natriumchlorid für 24 h bei 65 °C erhitzt, so kommt es ebenfalls zur Ausbildung dieser stäbchenförmigen Aggregate, die sich zu größeren sphärischen Strukturen zusammenlagern, und in der Größenordnung von 1-2 µm liegen (Abb.5.10).

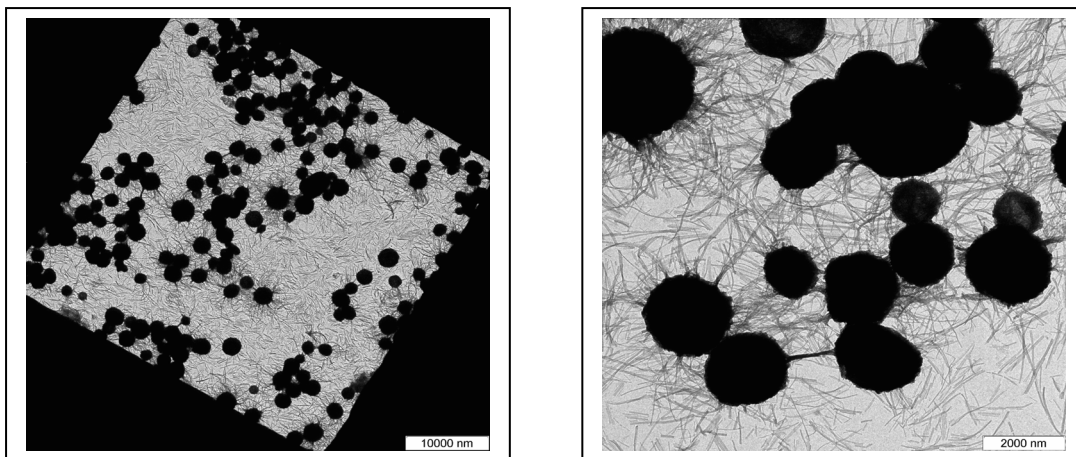


Abb.5.10: PIPOX₄₇Boc 0,05 wt% in Wasser ohne Salz nach 24 h bei 65 °C, TEM. pH-Wert vor dem Erhitzen 6,8 (mm454).

Die Zugabe von Natriumchlorid zu einer wässrigen Lösung von PIPOX₁₁₇Boc führt beim Erhitzen zur Ausbildung von großen Partikeln, die auch Größen von deutlich über 1 µm besitzen (Abb.5.11).

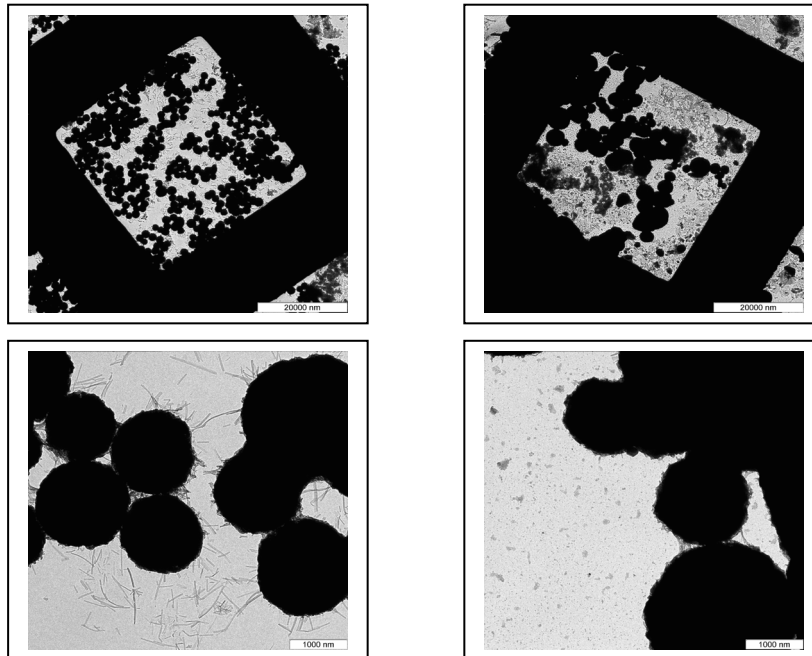


Abb.5.11: PIPOX₁₁₇Boc 0,05 wt% in Wasser; pH 10,6 vor dem Erhitzen ohne NaCl (links, mm463) und mit 0,94 wt% NaCl (rechts, mm465), nach 24 h bei 65 °C, TEM. Obere Reihe Übersichtsaufnahmen untere Reihe Vergrößerung.

Die Größenverteilung ist bei der salzhaltigen Probe viel polydispenser, und es kommt zu Zusammenlagerungen zwischen kleineren PIPOX-Partikeln. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Chan et al., der eine Zunahme des durchschnittlichen Durchmessers für PNIPAM Partikel mit steigender Ionenstärke nachgewiesen hat.^[148] Betrachtet man das Erklärungsmodell aus Abb.5.9, so wird die Zusammenlagerung der großen Aggregate verständlich, weil durch den Zusatz von NaCl die elektrostatische Abstoßung durch die Maskierung der Ladungen verringert wird. In der Folge kommt es zur Ausbildung von größeren Überstrukturen.

Es wurde desweiteren untersucht wie die Strukturen einer Mischung des PIPOX- sowie des PLGluNa im Vergleich zu denjenigen des PIPOX-Polymers aussehen, wenn die Lösung über die LCST erhitzt wird. Hierzu wurden gleiche Gewichtsmengen eines PIPOX₆₄Boc und eines kommerziell erhältlichen Natriumsalzes der Polyglutaminsäure eingewogen, so dass der Gesamtpolymergehalt bei 0,05 wt% lag. Die NaCl-Konzentration lag bei 0,94 wt% und die

Lösung wurde für 22 h bei 65 °C erhitzt. In der Abb.5.12 (links) ist erkennbar, dass sich große runde Strukturen gebildet haben, die eine Größe von mehreren Mikrometern besitzen. Auch die Strukturen des PIPOX₆₄Boc bestehen nach dem Erhitzen aus runden Zusammenlagerungen im Mikrometerbereich.

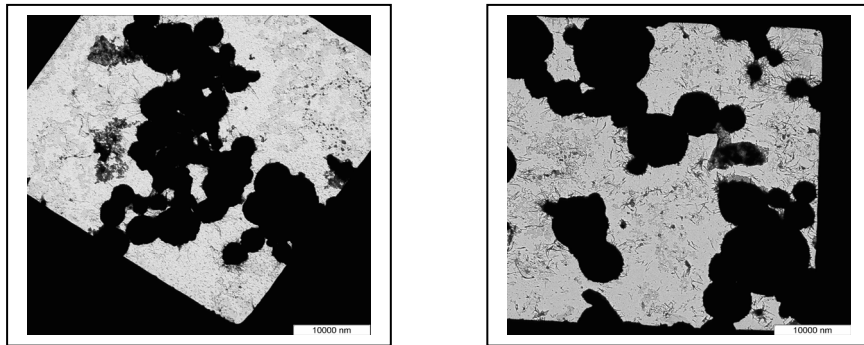


Abb.5.12: 0,94 wt% NaCl; 0,05 wt% Polymer, 22 h bei 65 °C, (links, mm443): PIPOX₆₄ und PLGluNa₂₉₄ Mischung, (rechts, mm444): PIPOX₆₄Boc.

Aufgrund dieser Beobachtungen wird gefolgert, dass eine Mischung der PIPOX- und PLGluNa-Homopolymere beim Erhitzen zu Strukturen führt, die denen der PIPOX-Boc Polymere sehr stark ähneln.

5.3. Untersuchungen an Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure)

5.3.1. Untersuchungen ohne Zusatz von Natriumchlorid

Die LCST-Untersuchungen an PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ wurden ohne Zusatz von Natriumchlorid mit einer Konzentration von 0,05 wt% Copolymer durchgeführt. Für die Messungen wurde ein Temperaturprogramm verwendet, bei dem zunächst 180 Sekunden temperiert wird und anschließend dreimal je 180 Sekunden bei dieser Temperatur die Streuintensität von Licht der Wellenlänge 633 nm in einem Winkel von 90° detektiert wird. Die Abb.5.13 zeigt die Streuintensität in Abhängigkeit von der Temperatur für einen pH-Wert von 6,6 und pH = 11,2. Die Lage der Temperatur bei der die Streuintensität ansteigt, unterscheidet sich bei den beiden pH-Werten nicht voneinander. Bei pH 11,2 liegt jedoch bei einer Temperatur von ca. 56 °C eine Art Zwischenminimum der Streuintensität. Im Gegensatz hierzu verläuft der Anstieg bei einem pH-Wert von 6,6 nahezu kontinuierlich. Das Maximum der Streuintensität wird in beiden Messungen bei einer Temperatur von ca. 58 °C erreicht. Die beobachtete Zunahme der Streuintensität ist ein Hinweis darauf, dass sich in Lösung Aggregate bilden.

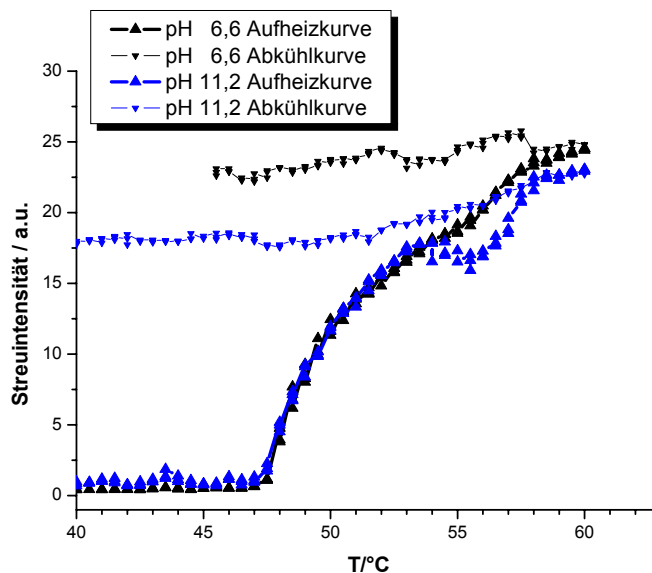


Abb.5.13: Streuintensität in Abhängigkeit von der Temperatur für einen pH-Wert von 6,2 und pH = 11,2 für PIPOX₁₀₀ PLGluNa₁₁₉ in Wasser mit $c = 0,05$ wt%.

Während des Abkühlvorgangs bleibt die Streulichtintensität nahezu konstant, und die Lösung sieht leicht trübe aus, wobei jedoch keine Bildung eines erkennbaren Niederschlags eintritt. Die Lösungen der oben durchgeführten Aufheizuntersuchungen wurden anschließend mit dem TEM untersucht, nachdem die Lösungen auf Raumtemperatur abgekühlt waren (Abb.5.14 und 5.15).

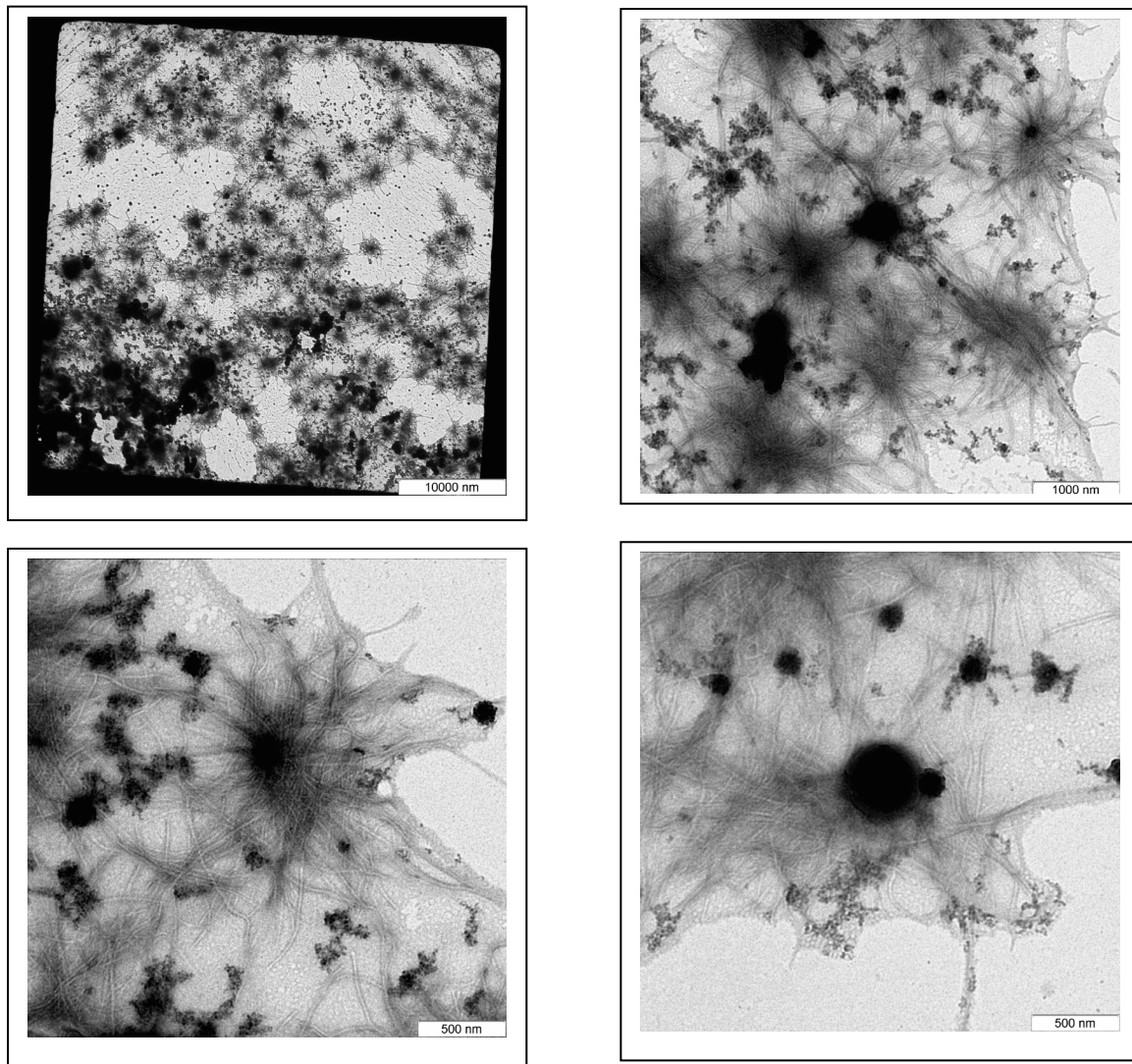


Abb.5.14: TEM Messung an PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ nach Erhitzen einer Lösung mit pH = 11,2 (ohne NaCl; 0,0065 wt% Natriumazid und 0,05 wt% Copolymer), (mm416 basisch).

In den Aufnahmen bei pH = 11,2 sind im Überblick sehr viele kleinere kugelförmige Strukturen (Größenordnung ca. 100 nm) neben einer Vielzahl von röhrenartigen Strukturen erkennbar, die sich zu kleineren Ansammlungen zusammengelagert haben. Hierbei handelt es sich vermutlich um wurmartige Mizellen, bei denen die löslichen PLGluNa-Blöcke auf der Außenseite liegen und die unlöslichen PIPOX-Blöcke im Inneren der Strukturen. Neben den kleineren Kugelstrukturen sind desweiteren einige größere Kugelstrukturen in der Größenordnung von 450 nm erkennbar. Bei diesen Kugelstrukturen handelt es sich möglicherweise um sogenannte LCM,^[152] wobei jedoch der genaue Entstehungsmechanismus im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden konnte.

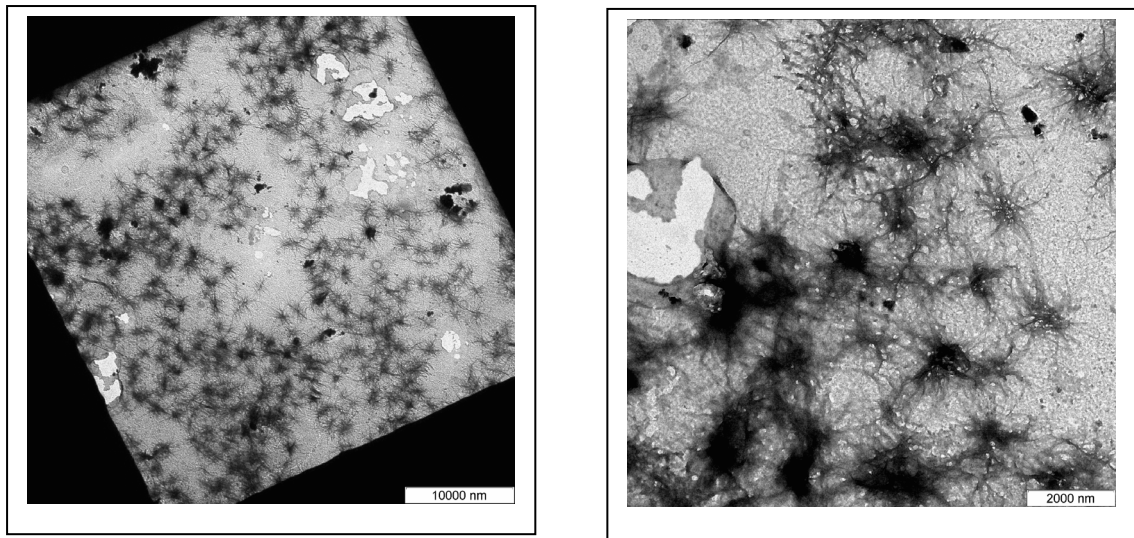
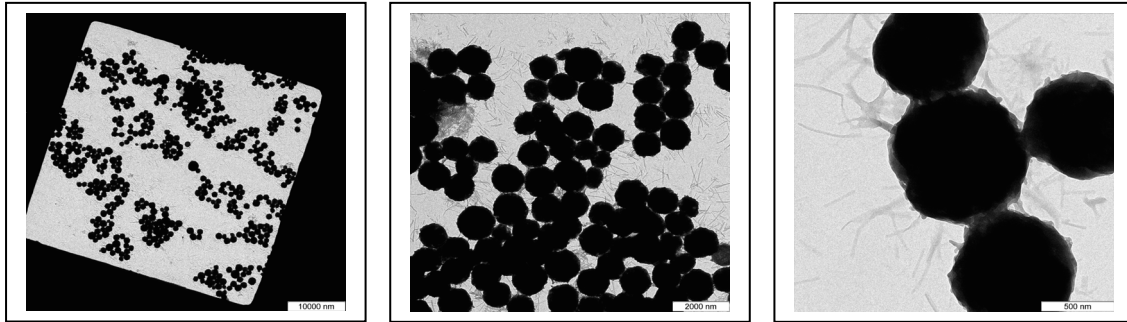


Abb.5.15: TEM Messung an PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ nach Erhitzen einer Lösung mit pH = 6,6 (ohne NaCl; 0,0065 wt% Natriumazid und 0,05 wt% Copolymer), (mm416 c).

Im Gegensatz hierzu sind in der Übersichtsaufnahme bei pH 6,6 nahezu keine Kugelstrukturen erkennbar. Die röhrenartige Struktur ist außerdem nicht so deutlich ausgeprägt wie bei einem pH-Wert von 11,2. Es liegen jedoch auch mehrere zusammengelagerte Strukturen vor, die jedoch nicht so klar voneinander abzugrenzen sind, wie bei hohem pH-Wert. Die zusammengelagerten Aggregate haben eine Größe von $\sim 1 \mu\text{m}$.

Vergleicht man die unter salzfreien Bedingungen entstandenen Aggregate des PIPOX₁₁₇Boc mit denjenigen des PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇, so wird deutlich, dass die Partikel des reinen PIPOX₁₁₇Boc Abb.5.16 (a) eine sehr kompakte Struktur aufweisen. Es haben sich runde Partikel mit klaren Umrissen ausgebildet. Im Gegensatz hierzu sind die entstandenen Strukturen des PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ weniger kompakt und weisen wesentlich mehr Verzweigungen auf. Es liegt eine Vielzahl von feineren Strukturen vor. In der Abb.5.16 (b) sind rechts röhrenartige Strukturen vorhanden, bei denen die Ränder einen stärkeren Kontrast aufweisen, als das Zentrum der Röhren. Auch in Abb.5.14 sind diese Strukturen bei pH 11,2 vorhanden, die dort jedoch noch klarer ausgebildet sind. Das ist ein Hinweis auf wurmartige Mizellstrukturen. Bei einem pH-Wert von 6,9 und ohne Salzzusatz liegen die Carboxylatgruppen zu einem Großteil in der deprotonierten Form vor. Die elektrostatische Stabilisierung ist jedoch bei pH 11,2 stärker, weil die Deprotonierung der PLGluNa-Blöcke bei alkalischem pH-Wert quantitativ ist.

(a)



(b)

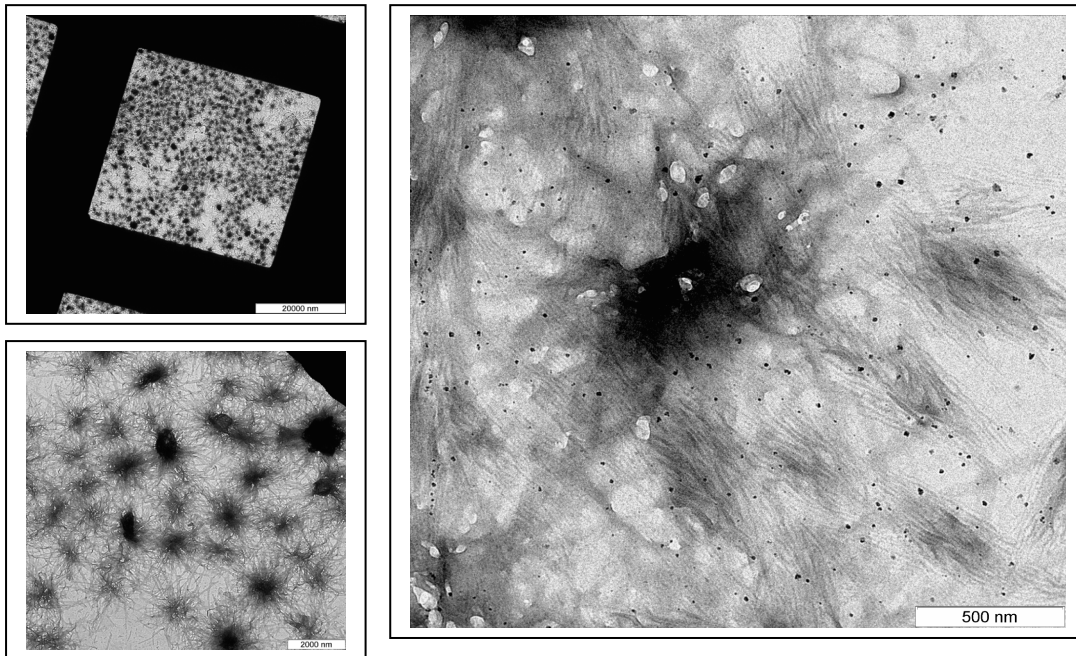


Abb.5.16: 0,05 wt% Polymer in Wasser ohne Salz nach 24 h bei 65 °C, (a) PIPOX₁₁₇Boc bei pH 6,9 (mm453) und (b) PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ bei pH 6,3 (mm459) TEM.

In der Abb.5.16 (b) liegen in der rechten Abbildung in mehreren Bereichen parallel angeordnete Strukturen vor, wobei es sich wahrscheinlich um parallel angeordnete wurmartige Mizellen handelt, die eine lyotrope Struktur bilden. Lyotrope Phasen von Blockcopolymeren wurden beispielsweise von Förster et al. beobachtet.^[153]

Das Aggregationsverhalten von PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ wurde bei einer Konzentration von 0,05 wt% Copolymer in wässriger Lösung ohne Zusatz von Salz mittels dynamischer Lichtstreuung untersucht. Hierbei erfolgte die Charakterisierung bei pH 6,6 und pH 11,2 jeweils bei Temperaturen von 25 °C sowie 48,5 °C (Abb.5.17).

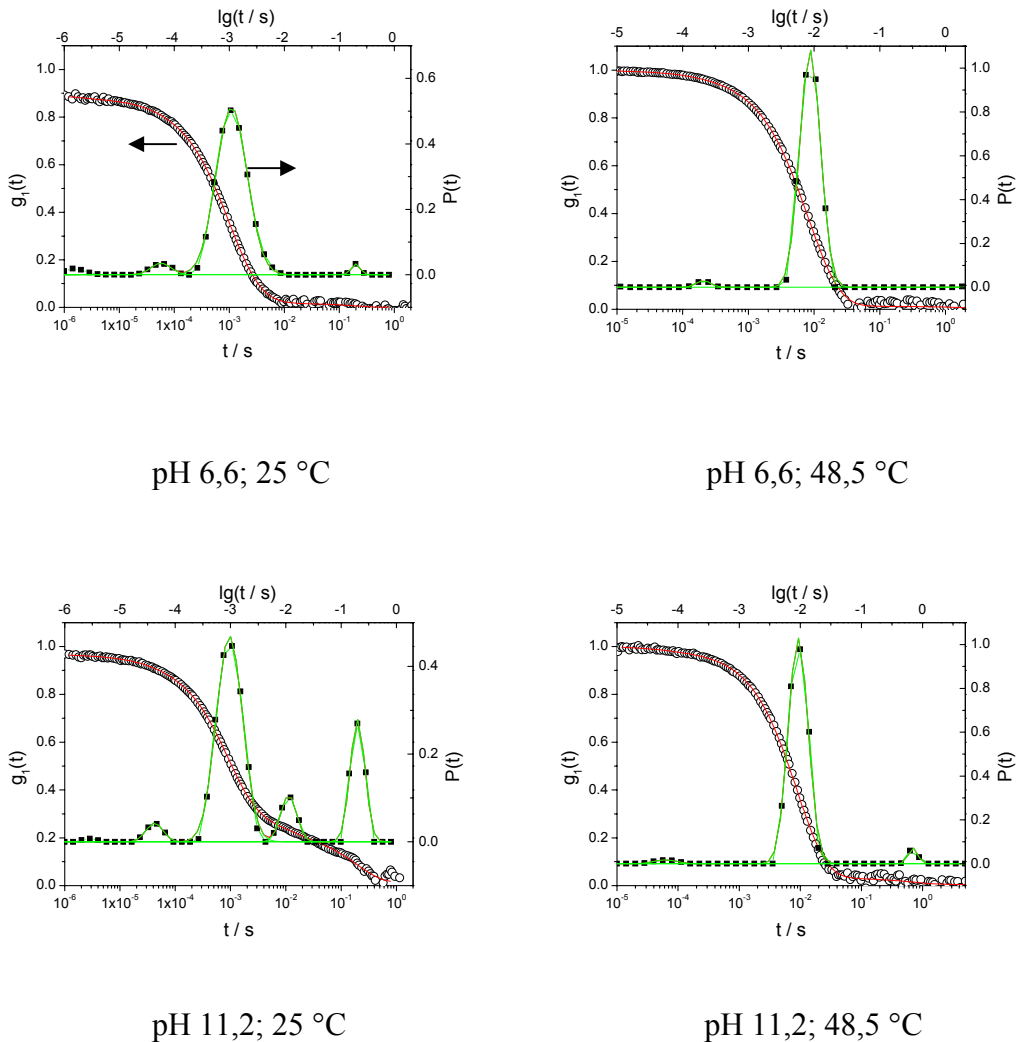


Abb.5.17: Feldkorrelationsfunktion (Kreise) für PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ bei unterschiedlichen Temperaturen und pH-Werten; $c = 0,5$ g/L bei 90 °; Auswertung (Quadrate) mit *Contin* (mm416).

Bei pH 6,6 liegt ein Großteil der Säuregruppen in der deprotonierten Form vor und bei pH 11,2 ist die Deprotonierung vollständig. Erhitzt man das Polymer von 25 °C auf 48,5 °C, so erfolgt ein LCST Übergang und die Löslichkeit des temperaturschaltbaren Blocks wird dadurch gesenkt. Mit der dynamischen Lichtstreuung kann die Gesamtstreuintensität in die einzelnen Beiträge der Populationen aufgeteilt werden. Der Wert für den Gyrationradius R_g wurde analog zur statischen Lichtstreuung als Zimm- bzw. Guinier-Plot ausgewertet, so dass

aus der dynamischen Lichtstreuung neben dem hydrodynamischen Radius auch der Gyrationradius ermittelt werden konnte. Aus der Abb.5.17 geht hervor, dass zwei Spezies bei einem pH-Wert von 6,6 und 25 °C vorliegen, deren hydrodynamische Radien R_h gleich 17 nm bzw. 245 nm betragen und nach Erhöhung der Temperatur auf 48,5 °C überwiegt eine große Spezies mit einem apparenten hydrodynamischen Radius R_h von 1150 nm. Bei diesem hohen Wert besteht die Möglichkeit, dass sich Teilchen in Lösung überlappen und eine Bestimmung des Gyrationradius R_g scheint hier nicht sinnvoll. Bei einem pH-Wert von 11,2 liegen mehrere Spezies vor, wobei jedoch berücksichtigt werden sollte, dass die großen Teilchen das Licht stärker streuen als kleine Teilchen und deswegen sind auch hier in Wesentlichen zwei Spezies vorhanden, deren hydrodynamische Radien R_h gleich 8 nm bzw. 293 nm betragen. Bei diesem pH-Wert vergrößert sich der hydrodynamische Radius R_h beim Erhitzen auf 1280 nm und es kann nur noch eine große Spezies nachgewiesen werden. Die Tabelle 10 gibt einen Überblick über die erhaltenen Werte.

Tabelle 10: Daten der Lichtstreuuntersuchungen.

| | 25 °C | | | | | | 48,5 °C | |
|------------------|------------|------------|--------------------------|------------|------------|--------------------------|------------|------------|
| | pH 6,6 | | | pH 11,2 | | | pH 6,6 | pH 11,2 |
| | R_h [nm] | R_g [nm] | $\rho = \frac{R_g}{R_h}$ | R_h [nm] | R_g [nm] | $\rho = \frac{R_g}{R_h}$ | R_h [nm] | R_h [nm] |
| Spezies 1 | 17 ± 5 | 134 ± 5 | 7,7 | 8 ± 2 | 87 ± 11 | 10,4 | 1150 ± 33 | 1280 ± 28 |
| Spezies 2 | 245 ± 25 | 248 ± 13 | 1,0 | 293 ± 10 | 392 ± 62 | 1,34 | - | - |

Einen Hinweis zur Form der streuenden Spezies in Lösung liefert das Verhältnis ρ aus Trägheitsradius R_g und dem hydrodynamischen Radius R_h . Aufgrund der fehlenden Werte für den Gyrationradius bei hohen Temperaturen, werden nur Aussagen zu den möglichen Strukturen bei 25 °C gemacht. Bei einem pH-Wert von 6,6 liefern die Verhältnisse für die beiden Spezies Werte von $\rho = 7,7$ bzw. 1,0. Ein Wert von $\rho = 7,7$ ist ein Hinweis für das Vorliegen von stäbchenartigen Strukturen. Das Verhältnis von $\rho = 1,0$ wird für Vesikel gefunden. Bei dem pH-Wert von 11,2 können ebenfalls aus den Verhältnissen $\rho = 10,4$ sowie $\rho = 1,34$ Hinweise für das Vorliegen von Stäbchen bzw. von möglicherweise polydispersen Vesikeln erhalten werden.

Die Lösungen mit pH 6,6 und pH 11,2 für die dynamische Lichtstreuung wurden zusätzlich mittels TEM untersucht, ohne dass sie vorher erhitzt wurden. In den Abb.5.18 und 5.19 sind die TEM-Aufnahmen gezeigt.

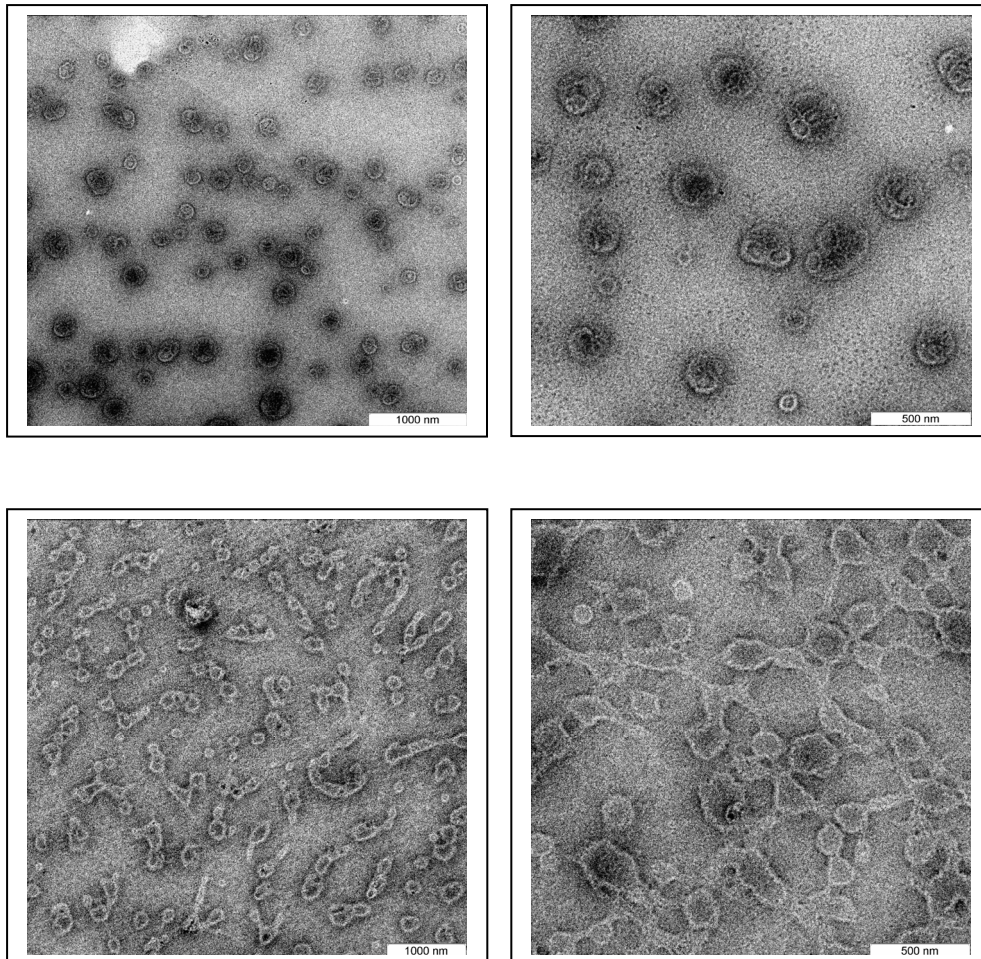


Abb.5.18: TEM Messung an PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ ohne vorheriges Erhitzen der Lösung mit pH = 6,6 (ohne NaCl; 0,0065 wt% Natriumazid und 0,05 wt% Copolymer). Es wurden zweimal Proben auf den TEM-Gittern präpariert: (obere Reihe) Messung 1, (untere Reihe) Messung 2 (mm416).

Hierbei wurden mit der selben Lösung zwei Proben für die TEM-Messungen präpariert. Bei den TEM-Messungen ist zu beachten, dass aufgrund der Probenpräparation leichte Unterschiede zwischen den einzelnen Aufnahmen vorliegen können, weil es zu Eintrocknungseffekten kommen kann. Bei Verwendung der Lösung mit pH = 6,6 wurden runde Strukturen in der Größenordnung von 250 nm beobachtet. In der oberen Reihe von Abb.5.18 sind runde Aggregate erkennbar, die ein Hinweis für das Vorliegen von Vesikeln sind.

In der rechten Aufnahme in der oberen Reihe sind vesikelförmige Strukturen in der Größenordnung von ca. 100 nm erkennbar, die sich zu größeren vesikelförmigen Strukturen in der Größenordnung von ca. 200 nm zusammenlagern. Die untere Reihe von Abb.5.18 zeigt große Gebilde mit scharfen Grenzflächen. Außerdem sind längliche Strukturen vorhanden, die häufig die runden Strukturen miteinander verbinden. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um Vesikelstrukturen, die sich zu größeren Strukturen zusammenlagern. Die Unterschiede zwischen den Aufnahmen der oberen und unteren Reihe sind vermutlich auf leichte Konzentrationsunterschiede zurückzuführen, die während der TEM-Probenpräparation entstanden sind. Für beide Probenpräparationen wurde jedoch die selbe Ausgangslösung verwendet.

Im Basischen bei pH = 11,2 und RT wird erwartet, dass sowohl der temperaturschaltbare PIPOX-Block als auch der pH-schaltbare PLGluNa-Block in Wasser löslich sind. Auch diese Lösung wurde für die Untersuchungen mittels TEM verwendet und es zeigen sich mehrere kleine Partikel, die sich teilweise zu größeren Strukturen in der Größenordnung von ~ 200 nm zusammenlagern.

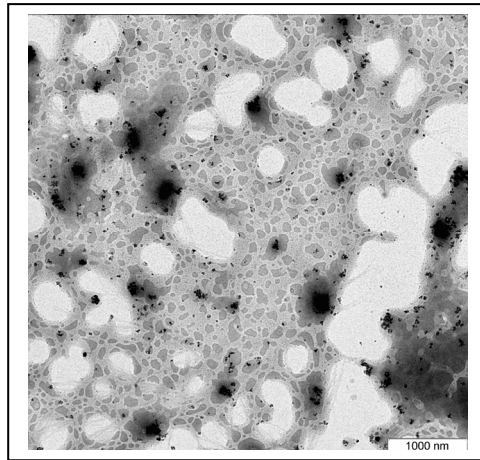


Abb.5.19: TEM Messung an PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ ohne vorheriges Erhitzen der Lösung mit pH = 11,2 (ohne NaCl; 0,0065 wt% Natriumazid und 0,05 wt% Copolymer), (mm 416).

Müller et al. haben Untersuchungen an Poly(acrylsäure)₄₅-*block*-Poly(N,N-diethylacrylamid)₃₆₀ durchgeführt. Bei einem pH-Wert von 12,8 und einer Temperatur von 21 °C wurde erwartet, dass beide Blöcke löslich sind. Unter diesen Bedingungen wurden Unimere mit ($\langle R_h \rangle_z = 4,7 \text{ nm}$) und größere Aggregate ($\langle R_h \rangle_z = 101 \text{ nm}$) beobachtet. Hierbei war jedoch der Anteil der großen Aggregate sehr niedrig (0,05 wt%). Als mögliche Erklärung für die unter diesen Bedingungen unerwartete Aggregatbildung wurden die leichten

Unterschiede in der Hydrophilie der Poly(N,N-diethylacrylamid)- und Poly(natrium acrylat)-Blöcke herangezogen. Wasserstoffbrückenbindungen sollten sich bei einem pH-Wert von 12,8 nicht ausbilden. Diese Aggregate sind dann jedoch oberhalb der LCST ($T = 45 \text{ }^\circ\text{C}$) verschwunden und ein unimodaler Peak mit $(\langle R_h \rangle_z = 21,5 \text{ nm})$ lag vor.^[121]

Bei den eigenen Untersuchungen sind die Strukturen mit dem hydrodynamischen Radius in der Größenordnung von 8 nm vermutlich die gelösten Unimere und die Strukturen mit einem hydrodynamischen Radius in der Größenordnung von 293 nm entstehen möglicherweise ebenfalls aufgrund der geringen Unterschiede in der Hydrophilie der beiden Blöcke. Demnach würden diese Strukturen durch zwei unterschiedlich hydrophile Blöcke des Blockcopolymers entstehen. Die runden Aggregate sind in den TEM-Aufnahmen bei pH 6,6 besser erkennbar, als bei pH 11,2. Diese Strukturen liegen in der selben Größenordnung wie die Aggregate mit $R_h = 245 \text{ nm}$ aus der Lichtstreuung. Nach der Temperaturerhöhung auf $48,5 \text{ }^\circ\text{C}$ liegen in der leicht trüben Lösung Aggregate mit einem apparenten hydrodynamischen Radius von ca. 1300 nm vor. Diese Aggregate besitzen die selbe Größenordnung wie diejenigen in den TEM-Aufnahmen von Abb.5.14 und es handelt es sich hierbei wahrscheinlich um zusammengelagerte wurmartige Mizellen.

5.3.2. Untersuchungen mit Zusatz von Natriumchlorid

Die Bestimmung des Trübungspunkts erfolgt, wie bereits erwähnt, mit einer Lichtstreuapparatur. Es soll untersucht werden inwieweit sich das Lichtstreuverhalten der reinen PIPOX-Boc Polymere von dem der PIPOX-PLGluNa Copolymere unterscheidet. Hierzu wurden wässrige Lösungen mit je 1 wt% Polymer und 0,9 wt% NaCl mit einer Heizrate von 2,5 °C/h untersucht (Abb.5.20). Es konnte gezeigt werden, dass bei beiden Copolymeren PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ sowie PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ die Lichtstreuintensität ab einer bestimmten Temperatur ansteigt und anschließend wieder abfällt. Bei dem folgenden Abkühlvorgang steigt die Streuintensität bei nahezu der selben Temperatur wieder an und fällt erneut beim Unterschreiten einer bestimmten Temperatur wieder ab. Bei den Aufheizkurven wird deutlich, dass das Copolymer PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ gegenüber PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ einen um ca. 2 °C zu niedrigeren Temperaturen verschobenen Anstieg der Lichtstreuintensität besitzt.

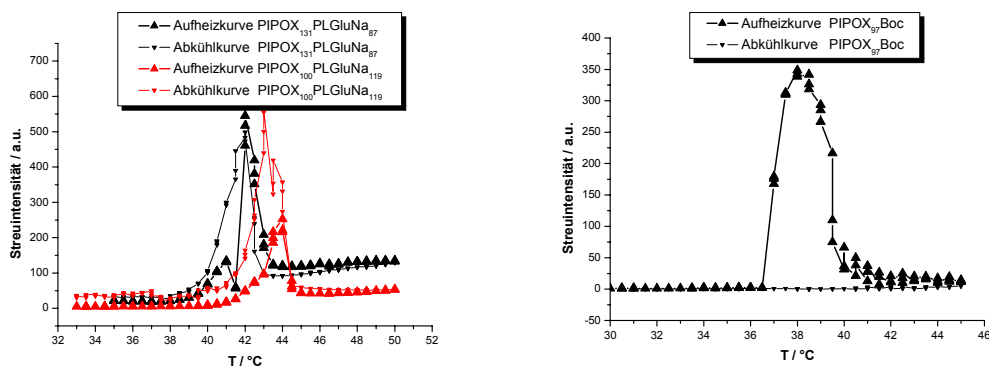


Abb.5.20: Lichtstreuuntersuchungen mit je 1 wt% Polymer; 0,9 wt% NaCl; Heizrate 2,5 °C/h; (links): PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇; pH 5,1 (mm345) bzw. PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉; pH 5,3 (mm335); (rechts): PIPOX₉₇Boc; pH 6,9 (mm376).

Das lässt sich auf zwei Effekte zurückführen, die beide den gleichen Einfluss auf die charakteristische Übergangstemperatur besitzen. In dem PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ führt die geringere Anzahl an PIPOX-Repetiereinheiten und die größere Anzahl an PLGluNa-Repetiereinheiten zu einem Anstieg der Übergangstemperatur. Wie bereits aus den LCST-Untersuchungen an PIPOX-Polymeren deutlich geworden ist, führt eine Senkung des PIPOX-Molekulargewichts sowie die Erhöhung der Hydrophilie zu einem Anstieg der

Trübungstemperatur. Dieser Trend konnte somit noch einmal anhand der synthetisierten Copolymere bestätigt werden.

Vergleicht man die Lichtstreukurven der PIPOX-PLGluNa Copolymere mit der des PIPOX-Boc Polymers, so wird deutlich, dass die Streuintensität bei dem PIPOX-Boc Polymer ab einer charakteristischen Temperatur ansteigt und anschließend abfällt. Bei dem folgenden Abkühlvorgang steigt die Streuintensität aber nicht mehr an. Das ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die PLGluNa-Blöcke während des Überschreitens der charakteristischen Übergangstemperatur löslich bleiben und die sich bildenden Aggregate stabilisieren. Diese Stabilisierung ist bei den reinen PIPOX-Boc-Polymeren weniger ausgeprägt.

Vergleicht man den Verlauf der Streuintensität als Funktion der Zeit für PIPOX₁₀₀ PLGluNa₁₁₉ in natriumchloridhaltiger Lösung mit der Messung ohne Zusatz von Natriumchlorid, so ergibt sich der in Abb.5.21 verdeutlichte Zusammenhang für alkalische pH-Werte.

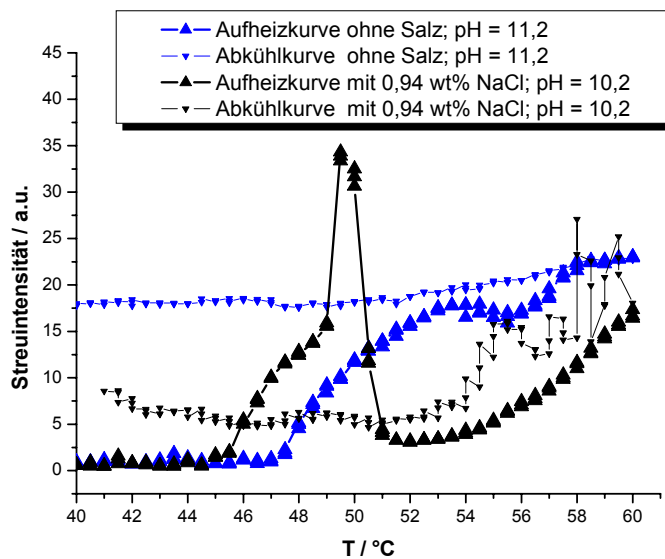


Abb.5.21: Streuintensität als Funktion der Zeit für PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ mit einer Heizrate von 2,5 °C/min bei alkalischen pH-Werten. Die Polymerkonzentration in Wasser beträgt 0,05 wt%.

Es wird deutlich, dass durch Zusatz von 0,94 wt% Natriumchlorid eine Absenkung des Trübungspunkts um ca. 2 °C gegenüber der salzfreien Lösung eintritt. Die Kurvenform unterscheidet sich ebenfalls, weil in NaCl-Lösung ein ausgeprägtes Maximum vorhanden ist und die Streuintensität anschließend sehr stark abfällt. Ohne Zusatz von Natriumchlorid bleibt die Streuintensität während des Abkühlvorgangs nahezu konstant. Gegen Ende des Temperaturprogramms liegt in salzhaltiger Lösung ein flockiger Niederschlag vor

wohingegen in salzfreier Lösung lediglich eine leichte Trübung ohne erkennbaren Niederschlag vorhanden ist.

Es wird erwartet, dass sich die Form der Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ändert, wenn die Temperatur über den Wert der LCST erhöht wird. Vergleichbare Untersuchungen an PNIPAM-Systemen wurden von Larsson et al. sowie Tokuhiko et al. gemacht.^[154, 155] Unterhalb der LCST liegen die PIPOX-Ketten als gelöste Knäuel vor, oberhalb der LCST beginnen die Ketten einen Abstand zueinander einzunehmen, bei dem eine sehr geringe Kettensegmentbeweglichkeit gegeben ist. Das bedeutet, dass im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eine Verbreiterung der Signale erwartet wird, sobald die für das Polymer charakteristische LCST überschritten wird.

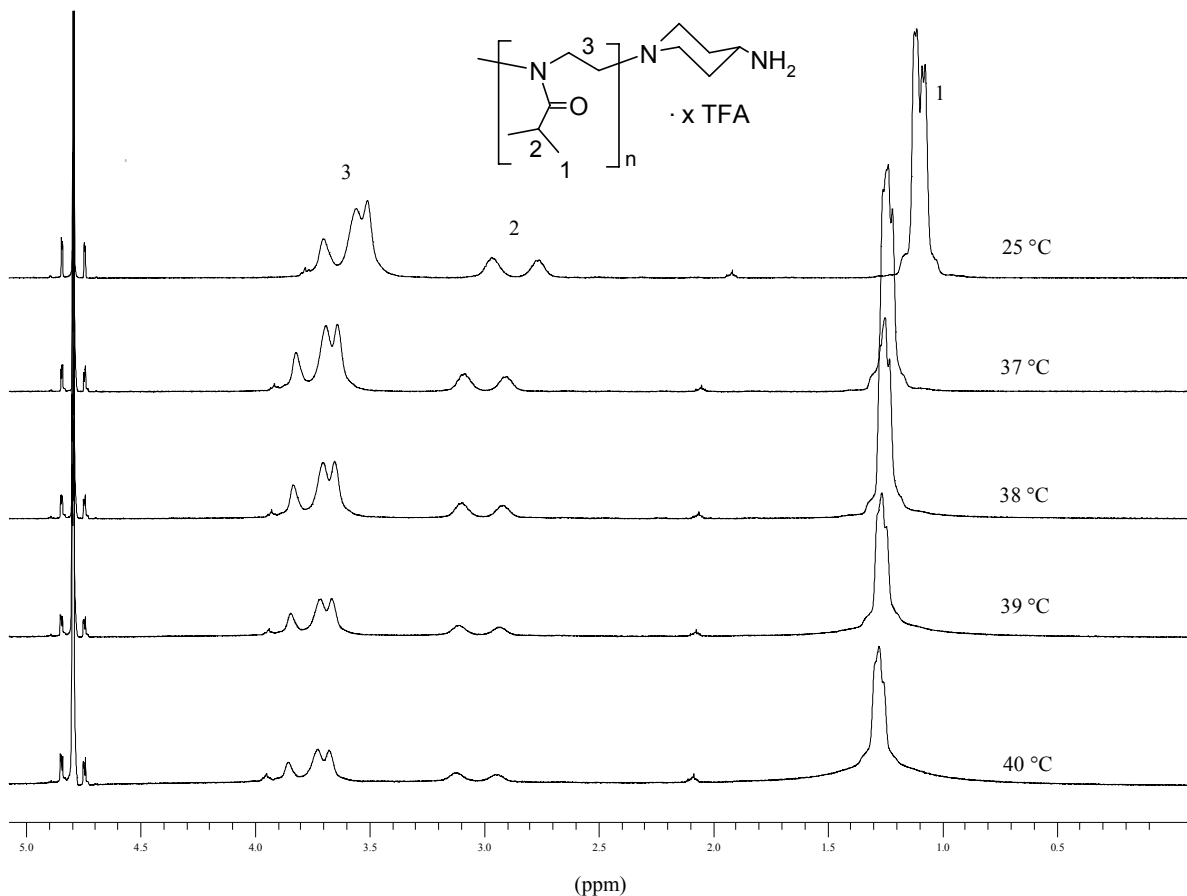


Abb.5.22: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400.1 MHz) vom PIPOX₆₄ (1 wt% Polymer in D₂O; 0,9 wt% NaCl), (mm276).

In der Abb.5.22 wird die Lage des Trübungspunkts eines Boc-entschützten PIPOX₆₄ daran erkennbar, dass die Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zwischen 38 °C und 39 °C breiter werden. Im Vergleich zu den Signalen bei 40 °C sind die Signale bei RT wesentlich

schmäler. Dieser Übergang ist besonders gut an der Form des Peaks für die Methylgruppen erkennbar. Im Gegensatz hierzu ist die Verbreiterung der Signale der Methylenprotonen (3) im Rückrad des Polymers nur sehr gering. Die Kalibrierung erfolgte auf den Lösungsmittelpeak (bei $\delta = 4,79$ ppm). Bei der Temperaturerhöhung kommt es zu einer Verlagerung der Polymersignale in Richtung höherer chemischer Verschiebungen. Eine Verlagerung der Peaks mit steigender Temperatur wurde auch von Tokuhiko et al. beobachtet. Im Anschluss an die Charakterisierung eines PIPOX Polymers wurde das Copolymer PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ mit ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht (Abb.5.23). Es wird erwartet, dass beim Überschreiten des LCST-Punkts die PIPOX-Blöcke unlöslich werden und es zur Ausbildung von Strukturen kommt, bei denen sich die löslichen PLGluNa-Blöcke auf der dem D₂O zugewandten Seite befinden und die unlöslichen Blöcke im Inneren der Struktur liegen.

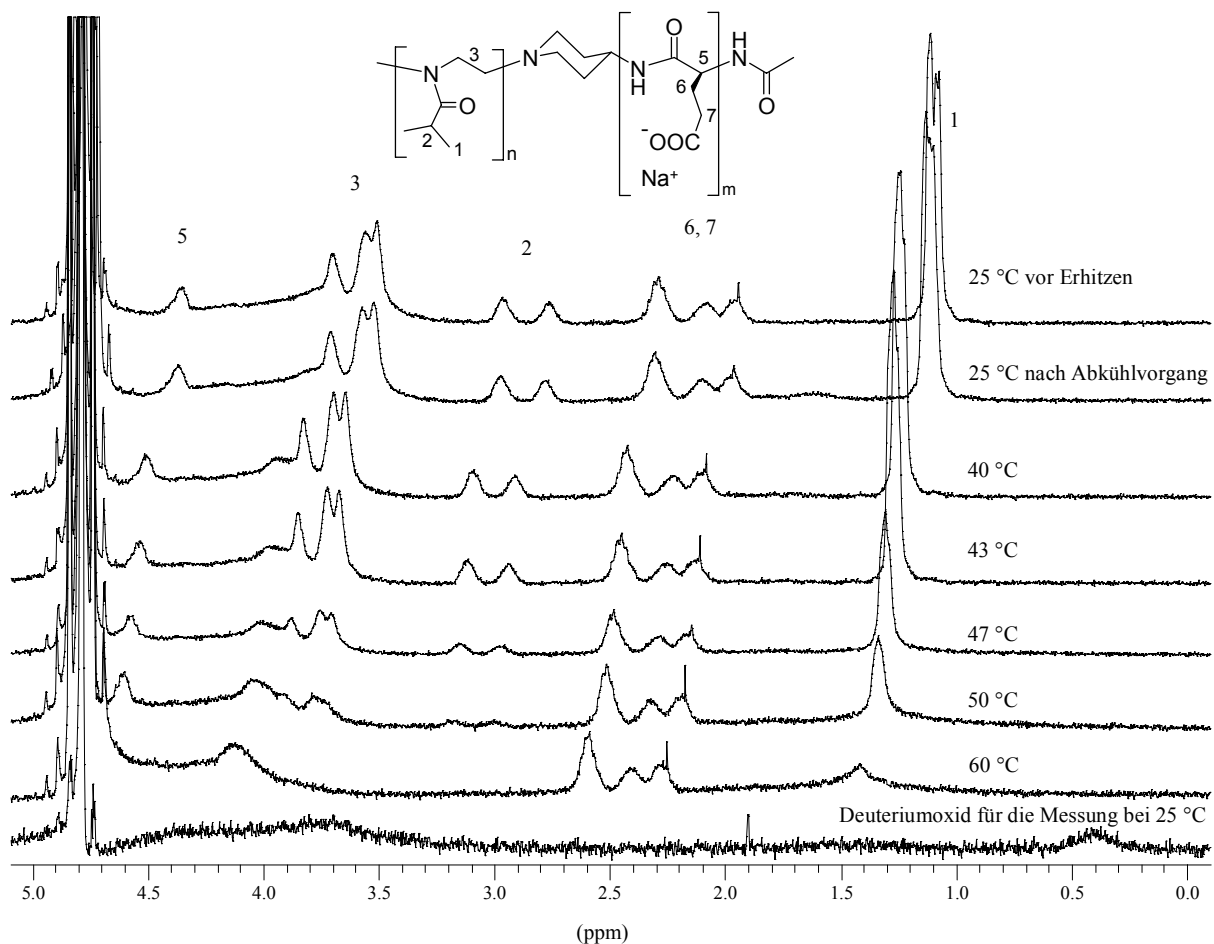


Abb.5.23: ¹H-NMR-Spektrum (400.1 MHz) in D₂O. PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ (0,05 wt% Polymer; 0,94 wt% NaCl, in D₂O, pH = 11), (mm 427).

Bei der Messung wurde für jede Temperatur 20 Minuten gewartet, bis sich die Temperatur eingestellt hat und anschließend erfolgte jeweils eine 6 minütige Messung. Es konnte gezeigt werden, dass die Signale 1 bis 3 (PIPOX-Block) mit Erhöhung der Temperatur kleiner werden. Eine Abnahme der Signale beginnt im Bereich zwischen ca. 43 °C und 47 °C. Bei einer Temperatur von 60 °C sind die Signale des Protons 2 vollständig verschwunden, und es sind nur noch geringe Signalintensitäten für die Protonen 1 und 3 erkennbar. Hierbei befindet sich jedoch im Bereich von der Signalgruppe 3 eine Verunreinigung im verwendeten Deuteriumoxid, so dass auch das Signal der Protonen 3 bei 60 °C nahezu vollständig verschwunden ist. Auch hier wird beobachtet, dass sich die Signale bei Temperaturerhöhung zur einer höheren chemischen Verschiebung verlagern. Wie erwartet bleibt die Signalintensität der Protonen 6 und 7 (PLGluNa-Block) bei einer Temperaturerhöhung erhalten und nimmt nicht ab. Das ist ein Hinweis darauf, dass das PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ zwischen einer Temperatur von 43 °C und 47 °C beginnt Strukturen zu bilden, bei denen sich die PIPOX-Blöcke im Inneren befinden und die löslichen PLGluNa-Blöcke auf der Außenseite dieser Strukturen sind. Im Rahmen dieser Messung kam es lediglich zu einer sehr geringen Trübung, und es hat sich kein Feststoff gebildet. Das Copolymer blieb somit nach erfolgter Temperaturerhöhung in Lösung. Nach Abkühlung auf RT waren die Signalintensitäten des PIPOX-Blocks wieder erkennbar und die Lösung war klar.

Auch bei Verwendung von PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ wurde die Abnahme der Signalintensitäten bei einer Temperaturerhöhung mit ¹H-NMR-Spektroskopie nachgewiesen, die beim Abkühlvorgang reversibel ist.

Zunächst wurden PIPOX-PLGluNa Copolymere bei alkalischem pH-Wert und Zusatz von Natriumchlorid in Abhängigkeit von der Temperatur mit ^1H -NMR-Spektroskopie untersucht. Es hatte sich gezeigt, dass bei der verwendeten Heizrate (siehe oben) das Polymer gelöst ist, und nach dem Abkühlen die Lösung klar ist. Die Signale des PIPOX-Blocks waren nach dem Abkühlen wieder erkennbar. Im Gegensatz hierzu war gegen Ende des Messprogramms aus Abb.5.21 für die natriumchloridhaltige Lösung die Bildung eines flockigen Niederschlags beobachtet worden.

Ausgehend von diesen Beobachtungen wurde die Auswirkung der Heizrate auf die Strukturbiildung des PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ Copolymers näher untersucht. Die Abb.5.24 veranschaulicht die Streuintensität als Funktion der Temperatur bei drei unterschiedlichen Heizraten.

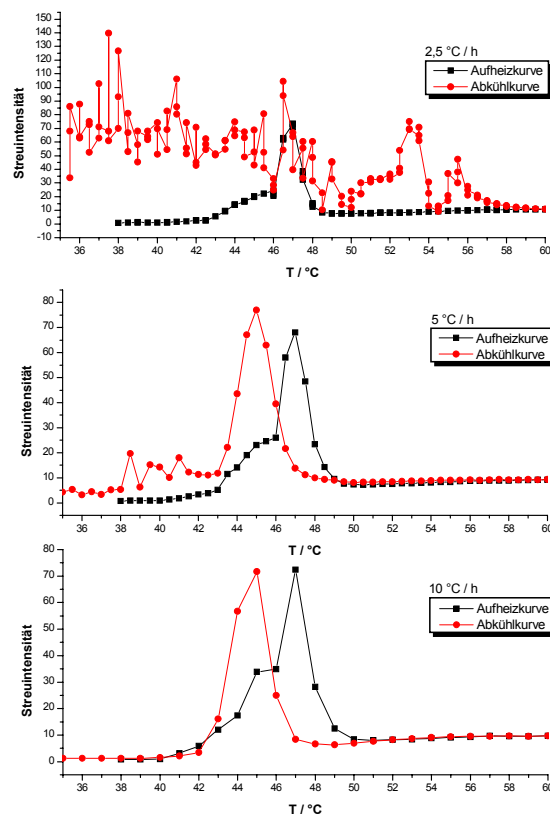


Abb.5.24: Streuintensität in a.u. als Funktion der Temperatur für PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ in Wasser (c = 0,05 wt% Polymer; 0,94 wt% NaCl; pH = 10,9), (mm426).

Es wird deutlich, dass der Anstieg der Streuintensität bei allen drei Heizraten (2,5 °C/h; 5 °C/h; 10 °C/h) nahezu die selbe Form hat. Auch der Temperaturbereich stimmt überein. Unterschiede in der Kurvenform ergeben sich im Wesentlichen in der Form der Abkühlkurve. Die für die Untersuchungen verwendeten Küvetten wurden während der Messung nicht

gerührt. Nach Beendigung des jeweiligen Messprogramms und Abkühlung auf Raumtemperatur war zu beobachten, dass sich bei den Heizraten von 2,5 °C/h und 5 °C/h ein flockiger Niederschlag am Boden der Messküvette abgesetzt hat; bei der langsameren Heizrate hatte sich mehr Niederschlag gebildet. Bei einer Heizrate von 10 °C/h war gegen Ende der Messung kein Niederschlag erkennbar und es lag eine klare Lösung vor.

Betrachtet man nun noch einmal die Abkühlkurven, so sind sehr starke Schwankungen der Streuintensität bei der langsamsten Heizrate zu beobachten. Bei einer Heizrate von 5 °C/h ist diese Beobachtung wesentlich geringer ausgeprägt. Die Schwankungen der Streuintensitäten bei den Heizraten von 2,5 °C/h sowie 5 °C/h sind wahrscheinlich auf die thermische Bewegung des flockigen Feststoffs in der Messküvette zurückzuführen. Es ist jedoch hervorzuheben, dass die charakteristische Form der Aufheiz- und Abkühlkurven bei allen drei Heizraten nahezu identisch ist. Auch die Temperaturen, bei denen der Anstieg der Streuintensität erfolgt, stimmen überein. Weil gegen Ende des Temperaturprogramms mit der schnellsten Heizrate kein Niederschlag vorlag, ist die charakteristische Form der Aufheiz- und Abkühlkurven wahrscheinlich auf die entstehenden löslichen Aggregate zurückzuführen. Der Anstieg der Streuintensität ist ein Hinweis für eine beginnende Phasenbildung, die beim Überschreiten der LCST einsetzt. Die Streuintensität erreicht beim Aufheizvorgang ein Maximum und fällt anschließend wieder ab. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass sich zunächst während der Phasenbildung große Übergangsstrukturen bilden, die beim Überschreiten einer charakteristischen Temperatur in kleinere Aggregate übergehen. Beim Abkühlvorgang erfolgt wahrscheinlich beim Unterschreiten einer charakteristischen Temperatur die Auflösung dieser Aggregate und die Streuintensität fällt nach dem Erreichen des Maximums wieder ab.

Um die Auswirkungen dieser drei Heizraten auf die Strukturbildung näher beurteilen zu können, wurden die erhaltenen Messlösungen nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur mit TEM untersucht (Abb.5.25). Die TEM-Aufnahmen aus Abb.5.25 zeigen, dass sich bei den Heizraten von 2,5 °C/h und 5 °C/h runde Strukturen gebildet haben, die sich in der Form gleichen aber eine unterschiedliche Größe besitzen. Bei der langsamsten Heizrate haben sich die größten Aggregate gebildet, wobei der innere Kern der Strukturen gegenüber der Heizrate von 5 °C/h deutlich vergrößert ist. Bei der schnellsten Heizrate (10 °C/h) lag gegen Ende des Messprogramms eine klare Lösung vor. Die Ergebnisse der TEM-Untersuchungen zeigen für diese Probe keine Aggregate in der Größenordnung der anderen beiden Proben. Hier gibt es lediglich kleinere sehr kontrastreiche Zentren mit unterschiedlicher Größe, die jedoch wesentlich kleiner als die der anderen beiden Heizraten sind.

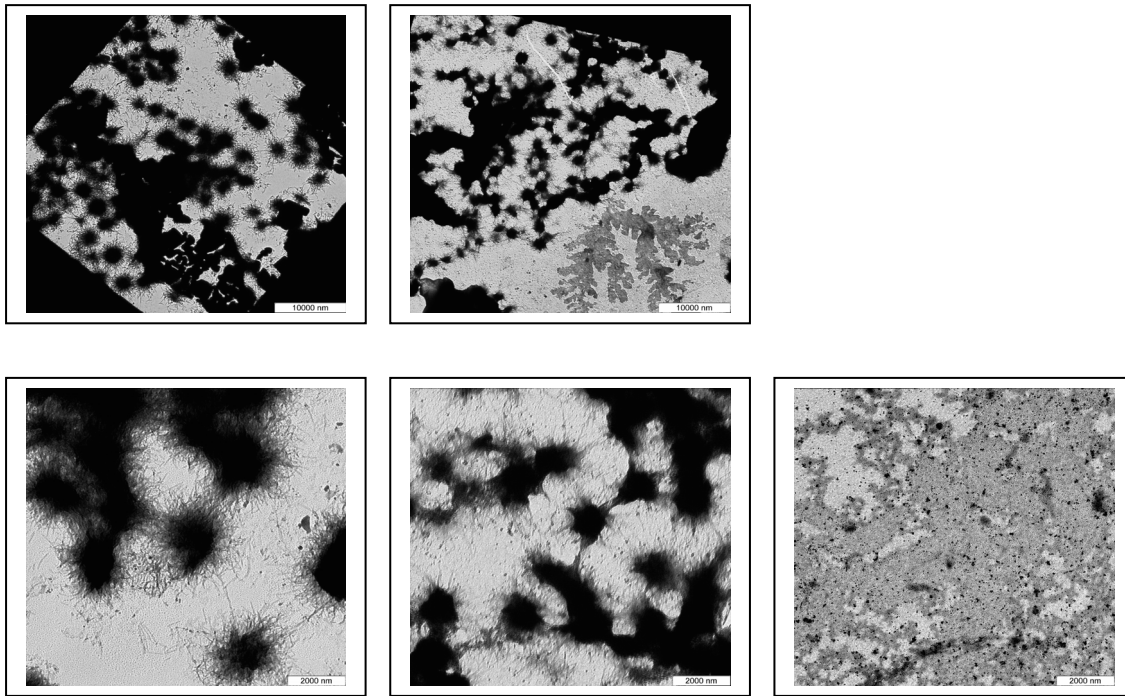


Abb.5.25: TEM-Aufnahmen an den Proben der Heizratenuntersuchungen an PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ aus Abb.5.24. Obere Reihe Übersichtsaufnahmen, untere Reihe Vergrößerungen, Heizraten von links nach rechts: 2,5 °C/h; 5 °C/h und 10 °C/h. (c = 0,05 wt% Polymer; 0,94 wt% NaCl; pH 10,9), (mm426).

Aus den Lichtstreuuntersuchungen ist hervorgegangen, dass sich bei einer zu langsamen Heizrate Aggregate bilden, die sich beim Abkühlen nicht mehr auflösen. Die ¹H-NMR-Spektroskopie hat gezeigt, dass sich die Bildung von Strukturen reversibel schalten lässt, wenn die Messzeit oberhalb der LCST nicht zu lang ist. Bei diesen kurzen Messzeiten lag oberhalb der LCST eine klare Lösung vor und es war keine Bildung von Flocken erkennbar. Ausgehend von den Beobachtungen der Lichtstreuuntersuchungen aus Abb.5.24 wird mit ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht, wie sich die Signalintensitäten der beiden Blöcke in PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ verhalten, wenn die Probe über einen längeren Zeitraum erhitzt wird, so dass es zur Ausbildung eines flockigen Niederschlags kommt. Aus der Abb.5.26 wird erkennbar, dass zu Beginn der Untersuchungen bei 25 °C beide Blöcke löslich sind. Es kommt wie zuvor zu einer Verlagerung der Polymersignale in Richtung höherer chemischer Verschiebung, wenn die Temperatur erhöht wird. Wird die Lösung für kurze Zeit auf 60 °C erhitzt, dann verschwindet das Signal für den PIPOX-Block und nur die Signalintensitäten der PLGluNa-Blöcke sind noch vorhanden. Bei dieser Temperatur liegt zunächst kein Niederschlag vor, und die Lösung ist eher klar. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen aus Abb.5.23 überein. Dort konnte beim darauf folgenden Abkühlen auf

Raumtemperatur gezeigt werden, dass die Signalintensitäten des PIPOX-Blocks wieder erscheinen.

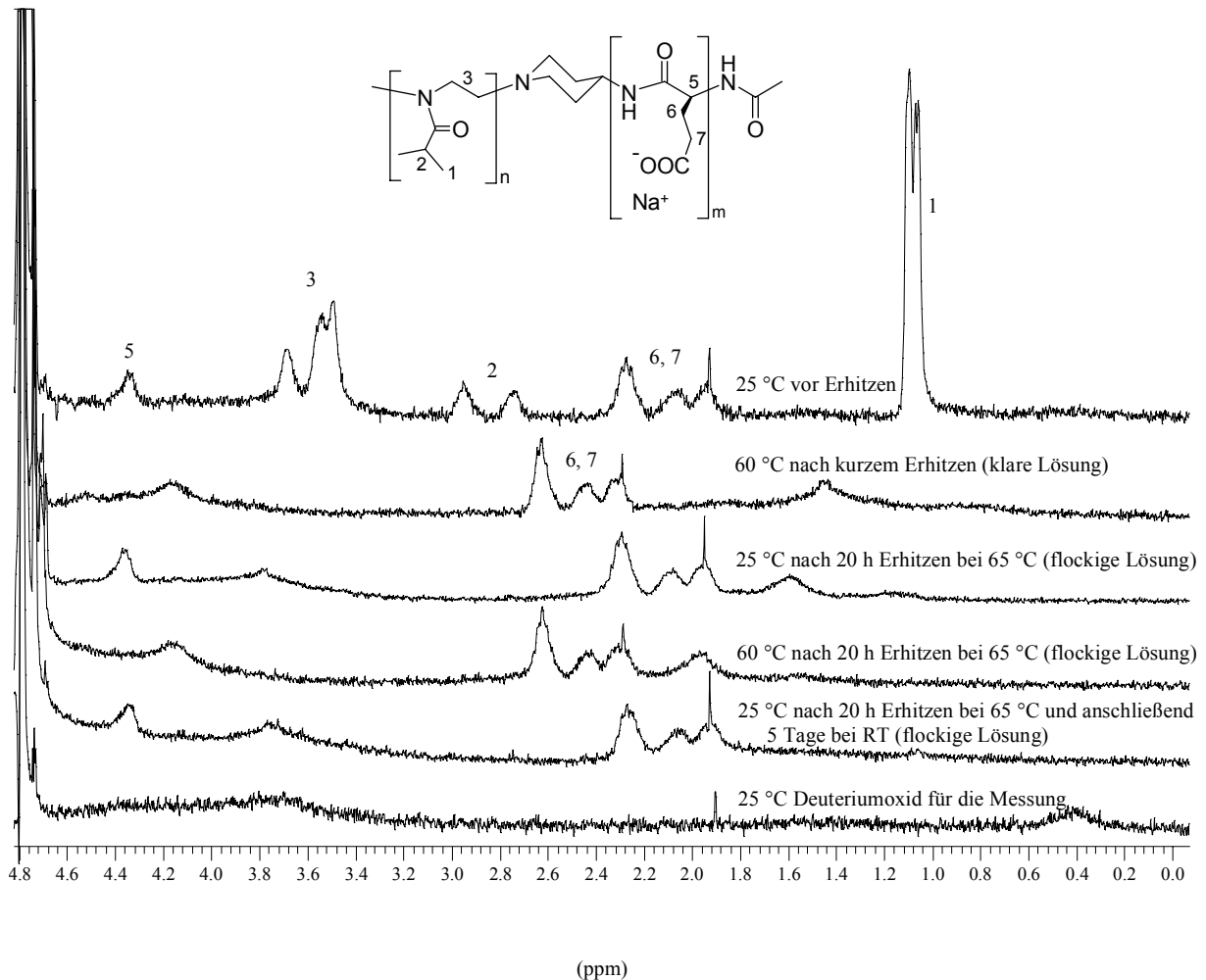


Abb.5.26: ^1H -NMR-Spektrum (400.1 MHz) in D_2O . PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇: 0,05 wt% Copolymer; 0,94 wt% NaCl; pH 11,4; (mm438).

Nun wurde untersucht, wie das ^1H -NMR-Spektrum aussieht, wenn die Lösung 20 h bei 65 °C erhitzt wird. In dieser Zeit kam es zur Ausbildung eines flockigen Niederschlags, der auch beim Abkühlen auf Raumtemperatur erhalten geblieben ist. Das nun angefertigte ^1H -NMR-Spektrum ergab bei 25 °C, dass die Signale des PIPOX-Blocks nicht mehr vorhanden sind und lediglich die Signale des PLGluNa-Blocks auftreten. Wird die Probe nun kurz auf 60 °C erhitzt, so unterscheidet sich das ^1H -NMR-Spektrum nicht von demjenigen bei 25 °C. Auch nach 5 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur hat sich der gebildete Niederschlag nicht merklich aufgelöst, und das ^1H -NMR-Spektrum zeigt erneut bei 25 °C keine Signale des PIPOX-Blocks. Rechts neben den Signalen der Protonen 6 und 7 ist jedoch nach dem 20 stündigen Erhitzen bei 65 °C ein zusätzlicher Peak erkennbar, der nach 5 Tagen nicht mehr vorhanden ist. Möglicherweise ist dieser zusätzliche Peak auf die Bildung von festen

Strukturen innerhalb der Aggregate zurückzuführen, die sich nach 5 Tagen wieder aufgelöst haben. Eine vergleichbare Beobachtung wurde von Tokuhiro et al. bei der Charakterisierung von PNIPAM-Gelen gemacht.

Es hat sich somit während einer längeren Erhitzungsdauer oberhalb der LCST eine Struktur gebildet, die sich nicht mehr in dem betrachteten Zeitraum auflöst und die Signalintensitäten des PIPOX-Blocks sind im Gegensatz zu denjenigen des PLGluNa-Blocks nicht mehr vorhanden. Diese Beobachtung liefert einen deutlichen Hinweis darauf, dass die PLGluNa-Blöcke auf der Außenseite dieser Strukturen in Lösung sind, weil es zu keiner Verbreiterung dieser Signale gekommen ist. Auch ein Verschwinden der PLGluNa-Signalintensitäten wurde nicht merklich beobachtet. Der irreversible Rückgang der PIPOX-Block Signalintensitäten ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass sich die PIPOX-Blöcke im Innern der gebildeten Strukturen befinden und deren Kettensegmentbeweglichkeit sehr stark eingeschränkt ist. Diese Strukturen sind ziemlich stabil und auch nach 5 Tagen gehen die PIPOX-Blöcke nicht mehr in Lösung.

Eine 0,05 wt%-ige Lösung von PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ und 0,94 wt% NaCl wurde bei 70 °C für 18 h erhitzt und die gefundenen Aggregate haben die selbe Größenordnung wie diejenigen in Abb.5.25. Die Lösung wurde durch Abzentrifugieren vom Niederschlag abgetrennt. Der Feststoff wurde sechs Mal gewaschen und abzentrifugiert, bis die Leitfähigkeit nahezu konstant war. Damit sollte gewährleistet sein, dass keine natriumchloridhaltige Lösung am Feststoff anhaftet, so dass eine EDX-Analyse Auskunft über die Zusammensetzung der Aggregate liefern kann. Hierbei war jedoch zu beobachten, dass sich die Niederschlagsmenge bereits nach dem zweiten Waschvorgang sehr stark verringert hat. Der Niederschlag hat sich parallel zur abnehmenden Leitfähigkeit der überstehenden Lösung sehr stark aufgelöst. Die Aggregate gehen somit wieder in Lösung, wenn sie mit einem Überschuss an Wasser gewaschen werden.

Desweiteren wurde eine 0,3 wt%-ige wässrige Lösung von PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ und einem NaCl-Gehalt von 0,94 wt% mit einer Heizrate von 2,5 °C/h auf 60 °C erhitzt und anschließend mit der selben Geschwindigkeit auf 35 °C abgekühlt. Der pH-Wert lag vor dem Erhitzen bei 8,2, so dass der PLGluNa-Block in der löslichen Form vorliegt. Gegen Ende des Temperaturprogramms lag ein flockiger Niederschlag vor, der sich innerhalb von 12 h in eine Trübung umgewandelt hat. Diese Lösung wurde anschließend mittels SFM auf Mica untersucht (Abb.5.27).

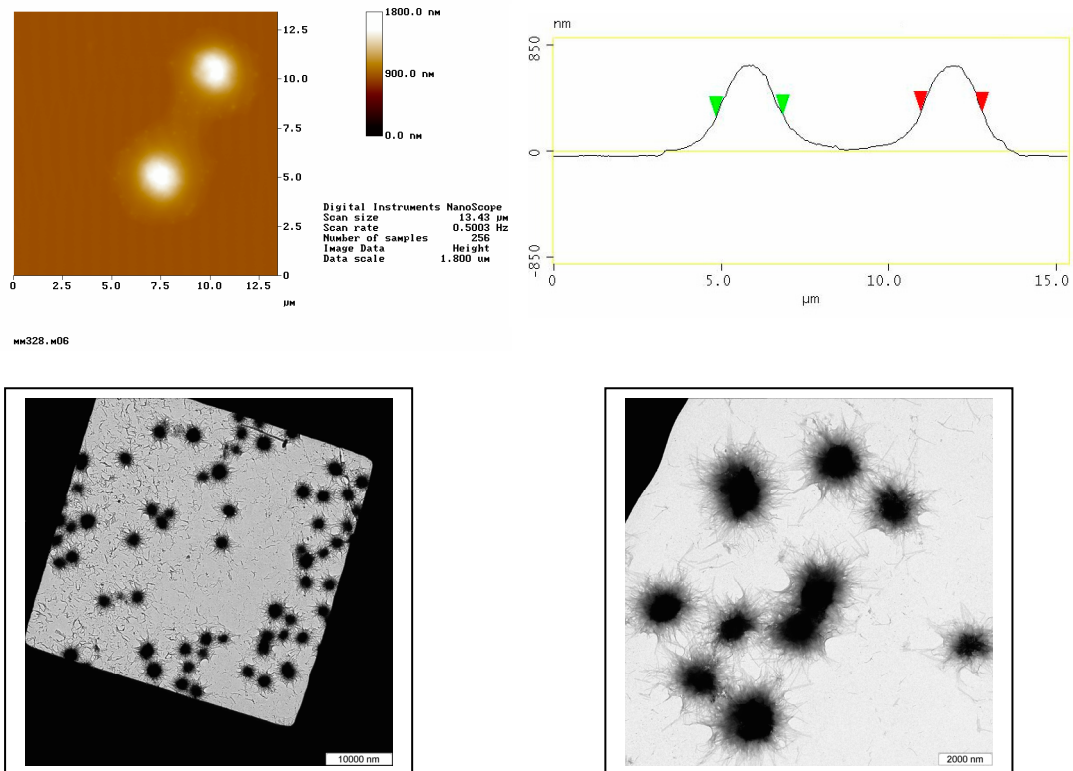


Abb.5.27: Untersuchungen der Messlösung von PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ gegen Ende des Temperaturprogramms mittels SFM auf Mica (tapping mode) rechts Querschnitt durch die SFM-Aufnahme, der Abstand zwischen den Marken beträgt 2,0 bzw. 1,8 μm (oben), TEM (unten).

In der Abb.5.27 (oben) sind runde Aggregate mit einem Durchmesser von ca. 2 μm erkennbar. Hierbei liegt ein kompakter Kern vor, der von einem runden Bereich mit geringerem Kontrast umgeben ist. Der Querschnitt durch diese Aggregate zeigt einen fließenden Übergang zur Substratoberfläche, was für kompakte aber weiche Aggregate erwartet wird. Zusätzlich wurde die Lösung mittels TEM charakterisiert. Auch hier sind runde Aggregate in der Größenordnung von 2 μm vorhanden. In den TEM-Aufnahmen ist ein kompakter Kern erkennbar, der von feinen Ausläufern mit geringerem Kontrast umgeben ist.

Der Vergleich dieser Strukturen mit den SFM-Aufnahmen zeigt somit eine gute Übereinstimmung.

Die Untersuchungen an den PIPOX-PLGluNa Copolymeren in NaCl-haltiger Lösung mittels ^1H -NMR-Spektroskopie und den Temperaturprogrammen haben gezeigt, dass sich Aggregate reversibel schalten lassen, wenn die Verweilzeit oberhalb der LCST nicht zu lang ist. Im Gegensatz hierzu bilden sich bei langen Verweilzeiten oberhalb der LCST Aggregate, die auch nach längerer Zeit bei RT nicht wieder vollständig in Lösung gehen. Die TEM- und AFM-Bilder haben große Aggregate im μm -Bereich gezeigt, deren Größe mit sinkender Heizrate zunimmt.

In den TEM-Aufnahmen für die Heizrate von $2,5\text{ }^\circ\text{C/h}$ sind kompakte Kerne und feine längliche Strukturen erkennbar (Abb.5.28). Hierbei sind in dem kompakten Kern der Aggregate kristallähnliche Strukturen vorhanden.

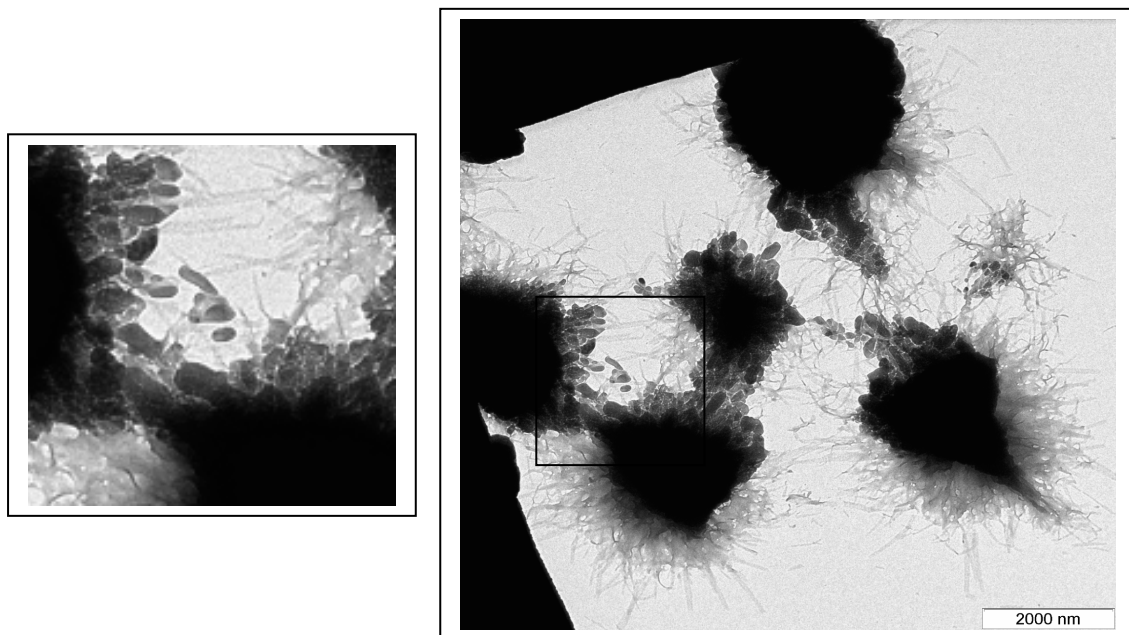


Abb.5.28: TEM-Aufnahme an einer Probe der Heizratenuntersuchung des PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ Copolymeren aus Abb.5.24. Heizrate von $2,5\text{ }^\circ\text{C/h}$; $c = 0,05\text{ wt\%}$ Polymer; $0,94\text{ wt\%}$ NaCl; pH 10,9; (links): Vergrößerung des markierten Bereichs, (rechts): Übersichtsaufnahme mit Markierung; (mm426aMI).

In der Abb.5.29 wird in der Übersichtsaufnahme erkennbar, dass sich in den Bereichen zwischen den großen kompakten Strukturen stäbchenförmige Aggregate befinden, die Längen im Mikrometerbereich erreichen können. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um zylindrische Mizellen, bei denen sich die PIPOX-Blöcke auf der Innenseite der Strukturen befinden und die PLGluNa-Blöcke auf der dem Wasser zugewandten Seite.

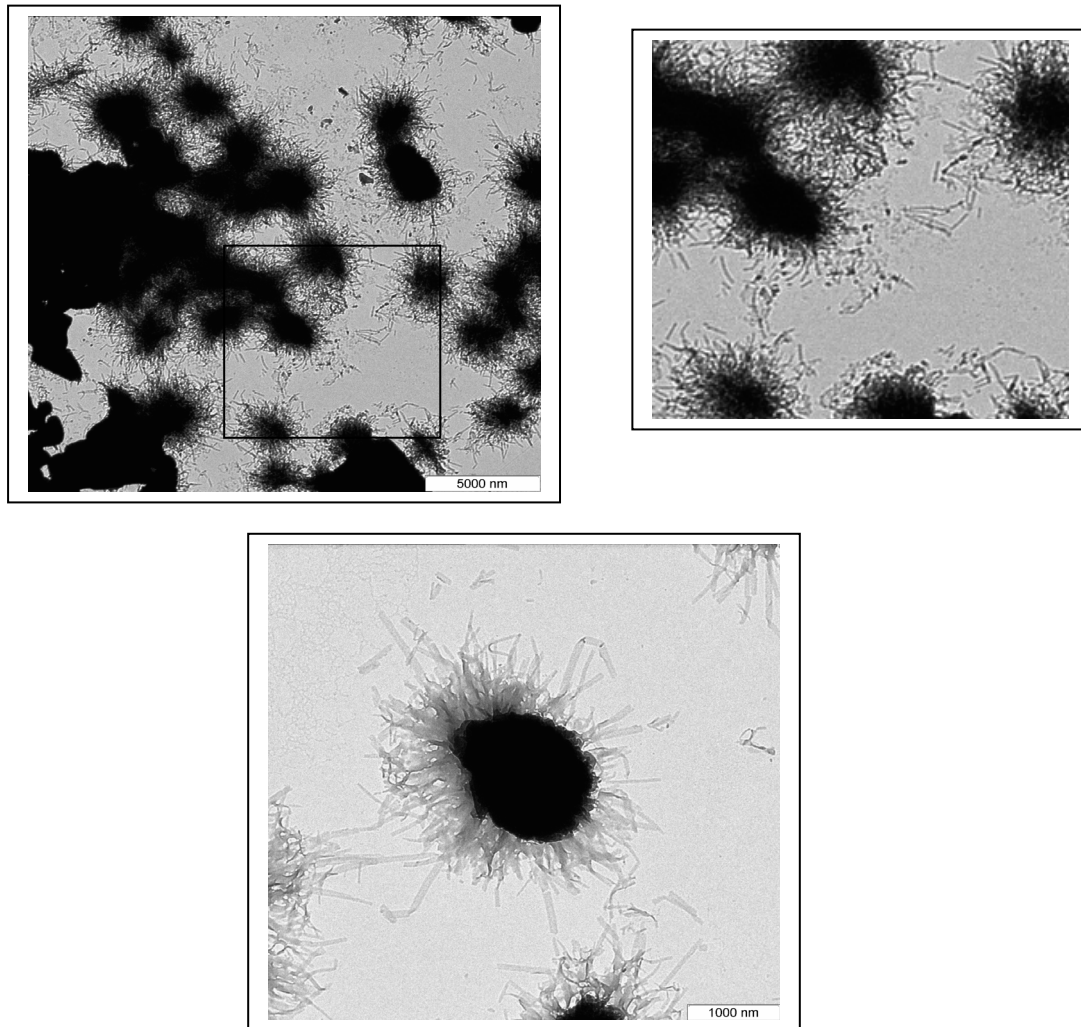


Abb.5.29: TEM-Aufnahme an einer Probe der Heizratenuntersuchung des PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ Copolymers aus Abb.5.24. Heizrate von 2,5 °C/h; c = 0,05 wt% Polymer; 0,94 wt% NaCl; pH = 10,9; (oben) Übersichtsaufnahme sowie die Vergrößerung des markierten Bereichs (rechts); (unten) Detailansicht (mm426aMI).

In der unteren TEM-Aufnahme wird erkennbar, dass sich diese zylindrischen Strukturen auf der Außenseite dieser kompakten Aggregate befinden.

Auf der Grundlage dieser Beobachtungen wird ein Strukturbildungsmodell vorgeschlagen, dass in der Abb.5.30 veranschaulicht ist. Unterhalb der LCST liegen die PIPOX-PLGluNa Polymere als Unimere vor und es kommt oberhalb der LCST bei basischem pH-Wert zur Ausbildung von zylindrischen Mizellen, bei denen die löslichen PLGluNa-Blöcke auf der Außenseite sind.

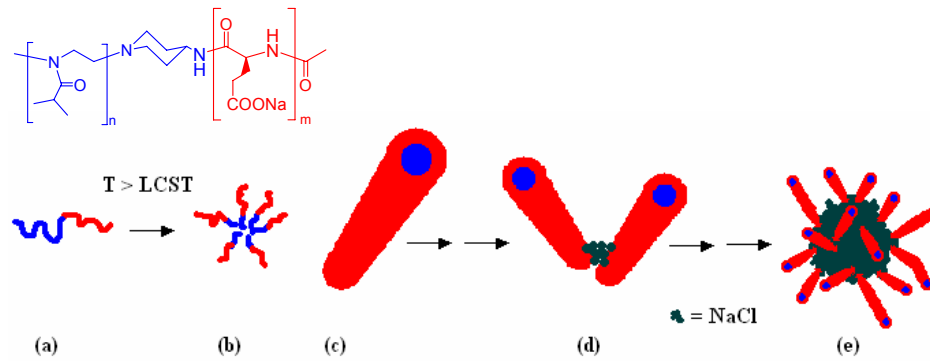


Abb.5.30: Strukturbildungsmodell für die Entstehung der großen Aggregatstrukturen in natriumchloridhaltiger Lösung. (a) gelöste PIPOX-PLGluNa Unimere, (b) Querschnitt durch die zylindrischen Mizellen, die sich oberhalb der LCST bilden, (c) zylindrische Mizelle, (d) Nukleierung von Natriumchlorid auf der Oberfläche der zylindrischen Mizellen an den PLGluNa-Blöcken und Zusammenlagerung von einzelnen zylindrischen Mizellen, (e) entstandene Aggregate mit Natriumchloridpartikeln und zusammengelagerten zylindrischen Mizellen.

Hinweise für das Vorliegen dieser Mizellstrukturen wurden mittels TEM und $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie erhalten. Bei der Temperaturerhöhung sind die Integrale des PIPOX-Blocks oberhalb der LCST verschwunden, während diejenigen der PLGluNa-Blöcke deutlich erkennbar waren. Nach nicht zu langen Verweilzeiten oberhalb der LCST, konnten die PIPOX-Integrale nach erfolgter Abkühlung auf Raumtemperatur wieder in der ursprünglichen Intensität beobachtet werden. Bei längeren Verweilzeiten oberhalb der LCST kam es zur Ausbildung eines flockigen Niederschlags; im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum waren dann lediglich die Integrale des PLGluNa-Blocks erkennbar. In diesem Fall waren auch nach mehreren Tagen bei Raumtemperatur die Integrale der PIPOX-Blöcke nicht mehr vorhanden. Diese Beobachtung weist darauf hin, dass sich große unlösliche Aggregate gebildet haben, bei denen sich die PLGluNa-Blöcke auf der Außenseite befinden und die PIPOX-Segmente im Inneren vorliegen. Es konnte mittels TEM gezeigt werden, dass der kompakte Kern der Aggregate mit abnehmender Heizrate zunimmt. Die abnehmende Heizrate bei dem Temperaturprogramm bedeutet auch, dass die Verweilzeit bei hohen Temperaturen zunimmt. In dem Strukturbildungsmodell in Abb.5.30 bilden sich zunächst zylindrische Mizellen mit PIPOX-Kern und PLGluNa-Korona. Es wird angenommen, dass die deprotonierten Carbonsäuregruppen des PLGluNa-Blocks als lokale Kristallisationszentren fungieren und sich vereinzelt Natriumchloridpartikel bilden, die eine Verbindung zwischen mehreren zylindrischen Mizellen herstellen können. In der Literatur^[150] wurde bereits häufiger darüber berichtet, dass anionische Gruppen aufgrund der elektrostatischen Anziehung anorganische Kationen in ihrer Umgebung konzentrieren können, und dadurch eine lokale Übersättigung

hervorrufen. Dabei kann es in der Folge zu einer Ausbildung von Nukleationszentren kommen, so dass sich Kristalle bilden können.

Unter den salzhaltigen Bedingungen kommt es bei den eigenen Untersuchungen zu einer Reduzierung der elektrostatischen Abstoßung der PLGluNa-Segmente und aufgrund dessen lagern sich wahrscheinlich die mizellartigen Strukturen zu größeren Aggregaten zusammen, so dass größere Natriumchloridpartikel entstehen. Die Untersuchungen von Zhang et al. haben gezeigt, dass chaotrope Anionen eine leicht anziehende Wechselwirkung mit dem PNIPAM eingehen können.^[139] Aus diesem Grund hat möglicherweise auch eine Wechselwirkung der strukturverwandten PIPOX-Blöcke mit den Chloridionen einen Einfluss auf die Bildung der Kristallisationskeime. Die gebildeten Aggregate liegen je nach Aufheizrate und Verweilzeit oberhalb der LCST in der Größenordnung von 1 bis 2 μm . Auf der Oberfläche dieser kompakten Aggregate befinden sich zylindrische Mizellen, die in die umgebende wässrige Lösung hineinragen. Beim Erhitzen einer Lösung mit 0,05 wt% PIPOX₆₄Boc und 0,94 wt% NaCl über 22 h bei 65 °C wurde ein Anstieg des pH-Werts von 7,1 auf 7,3 beobachtet. Wird eine Lösung mit 0,05 wt% PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ ohne NaCl über 24 h bei 65 °C erhitzt, so erfolgt ein Anstieg des pH-Werts von 6,3 auf 7,0. Ein noch deutlicherer Anstieg des pH-Werts von 6,2 auf 7,3 wurde gemessen, als eine Lösung mit 0,05 wt% PIPOX₁₃₁PLGluNa₈₇ und 0,94 wt% NaCl über 22 h bei 65 °C erhitzt wurde. Eine ähnliche Beobachtung wurde von Kratz et al. gemacht, als Poly(N-isopropylacrylamid-co-acrylsäure)-Mikrogele über die LCST erhitzt wurden.^[156] Der Anstieg des pH-Werts in der umgebenden Lösung wurde dort damit erklärt, dass Protonen aus der Lösung in das Hydrogel diffundieren, um der elektrostatischen Abstoßung der Carboxylatgruppen entgegen zu wirken. Demnach kommt es bei der Bildung der großen Aggregate in Abb.5.29 zu einem Anstieg des pH-Werts in der umgebenden Lösung, weil Protonen in die Korona diffundieren, um die elektrostatische Abstoßung zu senken.

Die Reversibilität bei der Analyse mittels ¹H-NMR-Spektroskopie war wie bereits erwähnt vorhanden, wenn die Verweilzeit oberhalb der LCST nicht zu lange war. Bei längeren Verweilzeiten und folgender Abkühlung auf Raumtemperatur waren die PIPOX-Integrale nicht mehr vorhanden. Nach dem oben vorgeschlagenen Strukturbildungsmodell kommt es oberhalb der LCST zur Ausbildung von zylindrischen Mizellen auf deren Oberfläche mit zunehmender Zeit größere NaCl-Partikel entstehen. Bei kurzen Verweilzeiten sind die Partikel noch sehr klein und die Mizellstrukturen können sich beim Abkühlen unterhalb der LCST wieder auflösen. Bei langen Verweilzeiten oberhalb der LCST kommt es zur Ausbildung eines Niederschlags, weil die großen NaCl-Partikel nicht mehr ausreichend in der

Lösung stabilisiert werden können. Diese großen Strukturen sind jedoch relativ stabil und auch unterhalb der LCST bleiben die Aggregate bestehen. Werden die Aggregate jedoch ausgiebig mit Wasser gewaschen, so lösen sie sich auf.

Die beobachteten Strukturen weisen viele Gemeinsamkeiten zu der Biomineralisation von Calciumphosphat auf, die in der Literatur beschrieben wurde.^[157] Dort wurden Aggregate von PEO-*block*-PMAA-C₁₂ Blockcopolymeren für die Steuerung des Wachstums und der Form von Calciumphosphat verwendet. Bei den dort verwendeten Copolymeren befinden sich direkt neben den PMAA-Säuregruppen Amideinheiten mit einem langen Alkylsubstituenten. Durch die drei hydrophoben Seitengruppen wird eine Aggregatbildung in Wasser induziert, bei der sich die hydrophilen PEO-Segmente auf der Außenseite befinden und die kurzen hydrophoben Segmente mit den angrenzenden PMAA-Bausteinen den Kern der Aggregate bilden. Es wird davon ausgegangen, dass diese Aggregate Ca²⁺-Ionen maskieren und als lokale Mineralisationszentren fungieren. Hierbei sind sternartige Strukturen entstanden, bei denen sich mit zunehmender Zeit ein kompakter Kern ausgebildet hat. Im Gegensatz dazu hatten sich mit unmodifizierten PEO-*block*-PMAA Blockcopolymeren bei pH 6,3 lediglich runde Partikel ausgebildet, die keine sternförmige Struktur hatten.

Die „Spagetti“-Aggregate aus Abb.5.29 besitzen auch Ähnlichkeit mit den „cottonball“-Strukturen, die von Xu et al. beschrieben wurden.^[158] Diese Arbeitsgruppe hat sternförmige PB-PEO Amphiphile verwendet und in Hexan die Ausbildung von ca. 2 µm großen sphärischen Strukturen beobachtet. Dort haben sich zunächst zylindrische Mizellen gebildet, bei denen sich die PB-Blöcke auf der dem Hexan zugewandten Seite befinden. Diese zylindrischen Mizellen konnten sich anschließend zu sphärischen Mikrostrukturen zusammenlagern, die dort als „cottonballs“ bezeichnet wurden. Diese großen Strukturen haben sich hierbei erst nach dem Abkühlen des auf 60 °C erhitzten Hexans auf Raumtemperatur gebildet. Es wurde vermutet, dass für die Assoziation der zylindrischen Mizellen zu den definierten sphärischen Strukturen während des Abkühlens auf Raumtemperatur eine partielle Kristallisation der PEO-Blöcke oder die Verringerung der Löslichkeit der PB-Segmente von Bedeutung ist.

Bei den eigenen Untersuchungen lag der Beginn der Glasübergangstemperatur für ein BOC entschütztes PIPOX₁₁₇ bei ca. 55 °C. Das verwendete Temperaturprogramm aus Abb.5.24 erreicht eine maximale Temperatur von 60 °C. Möglicherweise ist die Glasktemperatur der PIPOX-Blöcke bei der Entstehung der Strukturen in Abb.5.29 von Bedeutung.

5.4. Strukturbildung bei saurem pH-Wert und Raumtemperatur

Bei Raumtemperatur ist der PIPOX-Block wasserlöslich, und die Löslichkeit des PLGlu-Blocks wird durch den pH-Wert beeinflusst. Im Basischen liegen die Carbonsäuregruppen in ihrer deprotonierten Form vor und das Polypeptid befindet sich in der löslichen Knäuelform. Durch eine Absenkung des pH-Werts werden die Säuregruppen protoniert und das PLGlu-Segment wird unlöslich. Es wird erwartet, dass das PLGlu-Segment hierbei eine α -Helix ausbildet. Für die Untersuchungen im sauren pH-Bereich wurde PIPOX₁₀₀PLGlu₁₁₉ ausgewählt. Bei einer Polymerkonzentration von 0,3 wt% und Zusatz von 0,94 wt% Natriumchlorid wurde mit Salzsäure sehr schnell ein pH-Wert von 2,5 eingestellt. Hierbei kam es umgehend zur Ausbildung einer weißen Trübung, und es bildet sich ein feinkörniger Niederschlag aus. Die Probe wurde anschließend mittels TEM charakterisiert; Abb.5.31 zeigt die gefundenen Strukturen.

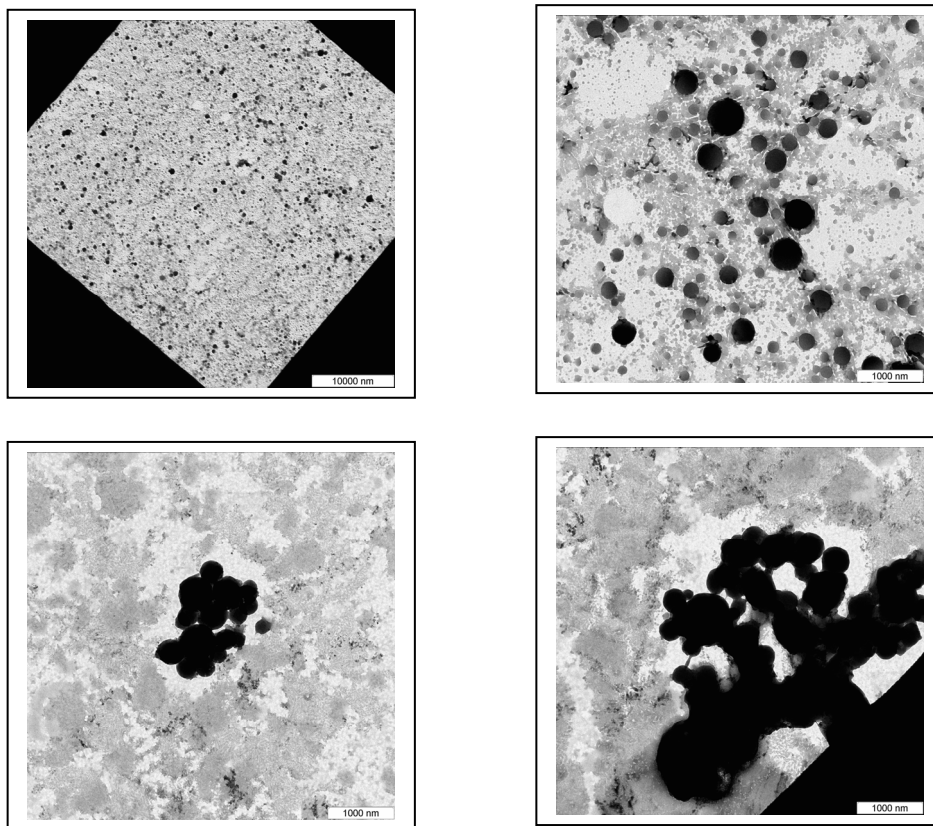


Abb.5.31: TEM-Messung; für die Probenpräparation wurde eine wässrige Lösung bei pH 2,5 mit 0,3 wt% PIPOX₁₀₀PLGluNa₁₁₉ und 0,94 wt% NaCl verwendet. (oben) verdünnte Lösungen; (unten) Originallösungen (mm328).

Die TEM-Aufnahmen zeigen polydisperse Kugelstrukturen, die teilweise zu Gruppen zusammengelagert sind. Eine mögliche Erklärung für die beobachteten Strukturen ist die Ausbildung von Polymerkomplexen in Folge von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen

den protonierten Säuregruppen und den freien Elektronenpaaren der Stickstoff- und Sauerstoffatome in den Amidgruppen der PIPOX-Segmente. In der Abb.5.32 wird dies modellartig veranschaulicht.

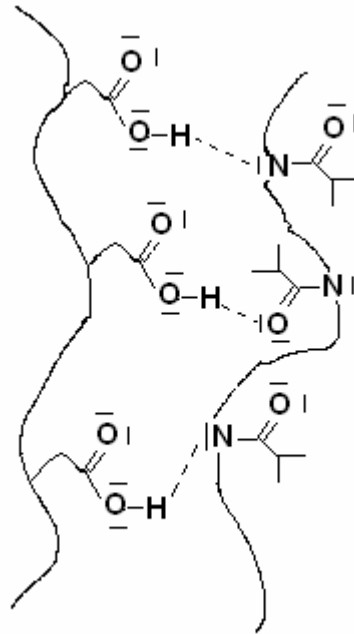


Abb.5.32: Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Amidgruppen und Carbonsäuregruppen bei saurem pH-Wert.

Infolge der möglichen Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen bildet sich unter den gegebenen Bedingungen ein polydisperser Feststoff. In der Literatur wurde die Ausbildung vom Polymerkomplexen an mehreren Beispielen diskutiert.^[159-164]

6. Initiierung der NCA-Polymerisation mit Ammoniuminitiatoren

Die Synthese von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(γ -benzyl-L-glutamat) mit dem entwickelten Makroinitiator hat gezeigt, dass die Reaktion beispielsweise nach 4 Tagen zu einem Polymerisationsgrad von ca. 268 geführt hat, der mit dem theoretischen Wert von 250 gut übereinstimmt. Die Verwendung des Trifluoracetat-Gegenions hat somit zu einem guten Umsatz innerhalb von 4 Tagen bei 50 °C geführt. Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen war die Reaktionszeit bei Lutz et al. bei der Verwendung von PEO-Ammoniuminitiatoren mit Chlorid-Gegenion sehr lang.^[128]

Es ist aus diesem Grund erstrebenswert, ein besseres Verständnis über den Einfluss des negativ geladenen Gegenions auf die Reaktionsgeschwindigkeit zu bekommen. Ziel ist es die Reaktionsgeschwindigkeit der Ammonium vermittelten Polymerisation nach Bedarf zu variieren, so dass eine vollständige Reaktion in einer kürzeren Zeit möglich wird.

Für eine systematische Untersuchung des Gegenioneinflusses wurde 2-Phenylethylamin ausgewählt, das durch Reaktion mit Säuren zu den entsprechenden Ammoniuminitiatoren umgesetzt werden kann (Abb.6.1).

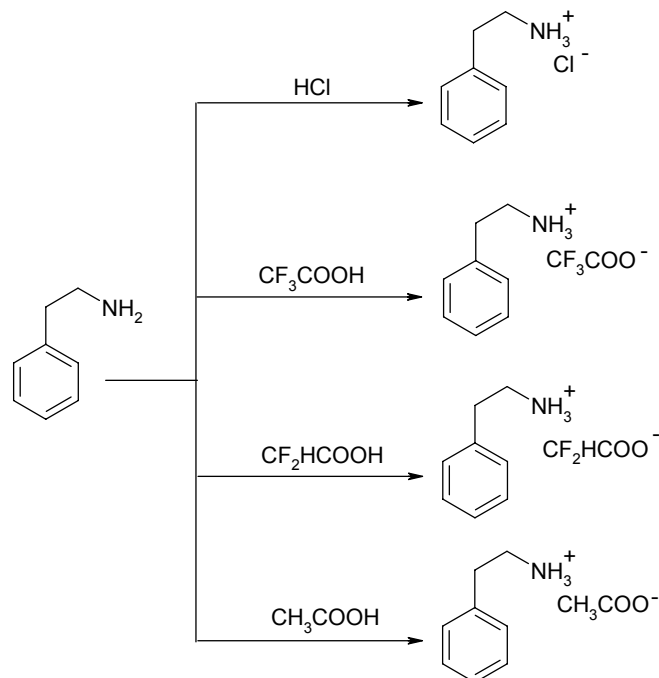


Abb.6.1: Synthese von Ammoniuminitiatoren ausgehend von 2-Phenylethylamin.

Das 2-Phenylethylamin bietet den Vorteil, dass die erhaltenen Ammoniuminitiatoren durch Umkristallisation aufgereinigt werden können. Versuche mit n-Hexylamin führten hingegen zu Ammoniumverbindungen, die nicht in kristalliner Form erhalten werden konnten. In der Abb.6.1 sind die synthetisierten Ammoniuminitiatoren zusammengestellt.

6.1. Entwicklung eines Reaktors für die NCA Polymerisation

Für die zeitliche Bestimmung des Umsatzes wird zunächst ein geeigneter Reaktor benötigt, der eine Probenentnahme während der Reaktion unter Argonatmosphäre ermöglicht. In der Abb.6.2 ist der Reaktor für die Durchführung der kinetischen Untersuchungen abgebildet. Oben befindet sich ein Anschluss zu einer herkömmlichen Hochvakuumlinie und Argonzufluss.



Abb.6.2: Entwickelter Reaktor für die NCA-Polymerisation. In der linken Abbildung ist der Probenauslass sowie der Anschluss zur Hochvakuumlinie erkennbar. Im rechten Teil der Abbildung ist der Reaktionsraum vergrößert dargestellt. Das Rohr für die Probenentnahme geht bis in den unteren Teil des Reaktors.

Im unteren Teil des Reaktors befindet sich ein Glasrohr, in dem die Reaktionslösung durch Anlegen eines Überdrucks zum Ausgang gelangen kann (Abb.6.2 rechts). Der Reaktor wird lediglich bis zur unteren Hälfte des schmalen Reaktorteils mit der Reaktionslösung gefüllt. Das Gesamtvolumen des Reaktors wurde sehr groß gewählt, weil bei der Reaktion Kohlenstoffdioxid entsteht. Der Reaktor wurde so konstruiert, dass die Proben mit Argonüberdruck entnommen werden können, so dass keine Luftfeuchtigkeit in den Reaktor gelangen kann. Bei den verwendeten Hähnen handelt es sich um handelsübliche Rotaflo-Hähne aus Teflon. Vor jeder Polymerisation wird der Reaktor im Hochvakuum bei einer Temperatur von 600 °C ausgeheizt.

6.2. Bestimmung des Reaktionsverlaufs mittels GPC

Bei den Untersuchungen wurde Z-L-Lysin-NCA anstelle von Bzl-L-Glutamat-NCA gewählt, weil die Tendenz für Abbruchreaktionen mit der terminalen Aminogruppe bei Verwendung der Benzylschutzgruppe höher ist, als bei Verwendung einer Z-Schutzgruppe.

Für die Bestimmung des Umsatzes bei der Polymerisation von Z-L-Lysin-NCA kann der Verbrauch des Monomers oder die Bildung des Polymers herangezogen werden. Mit $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie kann jedoch keine quantitative Beurteilung des Reaktionsverlaufs erfolgen, weil sich die Signale der Protonen von Monomer und Polymer nicht signifikant unterscheiden. Mit IR-Spektroskopie ist ebenfalls eine Umsatzbestimmung sehr ungenau. In der Literatur sind auch Beispiele für die Messung des entstehenden Kohlenstoffdioxids genannt.^[52]

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt jedoch die Umsatzbestimmung mittels Gelpermeationschromatographie (GPC), wobei eine Auftrennung zwischen Monomer- und Polymerpeak erfolgt. Die Elutionszeit konnte durch Verwendung von kurzen Säulen, die eine gute Auftrennung im niedermolekularen Bereich haben, auf 10 Minuten gesenkt werden. Als Säulenmaterial wurden zwei GRAM-Vorsäulen direkt hintereinander geschaltet und als Eluent wurde NMP mit einem Gehalt an 0,05 mol/L LiBr verwendet. Es hat sich gezeigt, dass die Auftrennung durch den Zusatz des Lithiumbromids besser erfolgt, als mit reinem NMP. Bei der Auswertung der Rohmessdaten wird mit dem Programm Origin 6.0 eine Ausgleichsfunktion gelegt, die eine getrennte Integration von Monomerpeak und Polymerpeak ermöglicht. In der Abb.6.3 ist diese Vorgehensweise für zwei unterschiedliche Zeitpunkte veranschaulicht. In Abb.6.3 (links) ist bereits nach 0,2 h ein

kleiner Peak für das gebildete Poly(Z-L-lysin) erkennbar, wohingegen der Monomerpeak zu diesem Zeitpunkt überwiegt. Nach einer Reaktionszeit von 2,4 h (rechts) hat die Monomermenge deutlich abgenommen und gleichzeitig die Menge an gebildetem Poly(Z-L-lysin) zugenommen. Der Messfehler bei der Auswertung liegt in der Größenordnung von ca. 5 %.

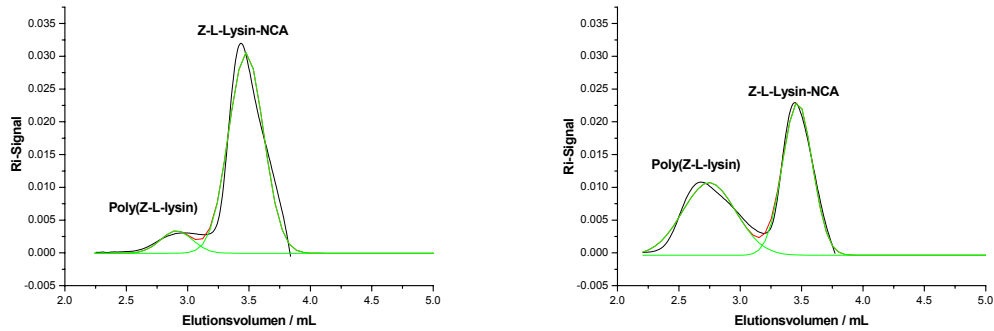


Abb.6.3: Vorgehensweise bei der Auswertung der GPC-Rohmessdaten für die Polymerisation von Z-L-Lysin-NCA am Beispiel der Initiierung mit 2-Phenylethylammoniumacetat. $c(\text{Monomer}) = 0,32 \text{ mol/L}$ in NMP; $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{NCA}]_0/[\text{Init.}] = 100$. Nach 0,2 h (links) bzw. 2,4 h (rechts). (-) = Original-GPC-Kurve; (-) = Origin-Ausgleichsfunktion.

In dem GPC-Elugramm wird das Ri-Signal als Funktion des Elutionsvolumens dargestellt. Für die Berechnung des Polymerisationsumsatzes wird die Zunahme des Poly(Z-L-lysin)-Peaks betrachtet. Hierfür wird die Peakfläche mit Hilfe einer Kalibrierung in eine Konzentration umgerechnet. Bei der Kalibrierung wurde Poly(Z-L-lysin) verwendet und aus den Messdaten die Konzentration an Repetiereinheiten berechnet. In der Abb.6.4 ist eine Eichgerade für die Auswertung der GPC-Elugramme dargestellt.

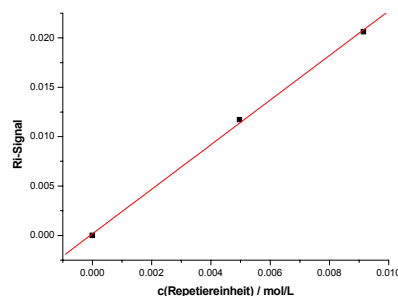


Abb.6.4: Eichgerade mit Poly(Z-L-lysin) für die Berechnung einer Konzentration an Z-L-Lysin-Repetiereinheiten aus den Rohdaten der GPC-Elugramme.

6.3. Initiierung der Z-L-Lysin-NCA-Polymerisation mit Ammoniuminitiatoren

Zunächst wurde untersucht wie die Reaktionsgeschwindigkeit für die Ammonium vermittelte Polymerisation von Z-L-Lysin-NCA durch das Gegenion beeinflusst wird. Als Initiatoren wurden die in Abb.6.1 abgebildeten Ammoniuminitiatoren verwendet. In der Abb.6.5 wird der Umsatz als Funktion der Zeit veranschaulicht. Es wird deutlich, dass die Reaktionsgeschwindigkeit in der Reihenfolge der folgenden Gegenionen abnimmt:

Acetat > Difluoracetat > Trifluoracetat > Chlorid

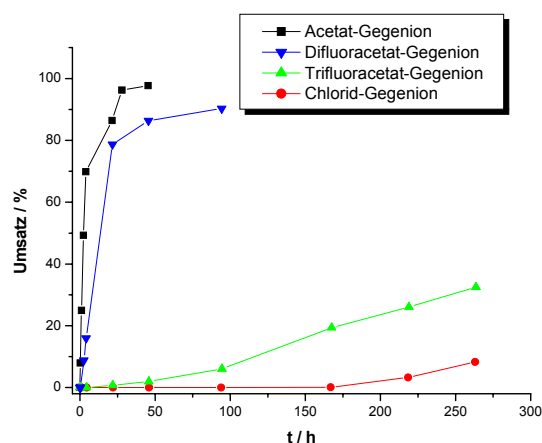
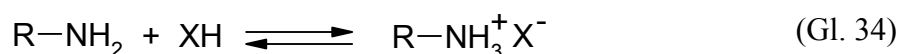


Abb.6.5: Der Umsatz als Funktion der Zeit für die Z-L-Lysin-NCA-Polymerisation mit unterschiedlichen 2-Phenylethylammonium-Initiatoren: $c(\text{Monomer}) = 0,32$ mol/L in NMP; $T = 50$ °C; $[\text{NCA}]_0/[\text{Init.}] = 100$, (mm 385-388).

Es wird somit folgende Tendenz deutlich: Je stärker die korrespondierende Säure für ein gegebenes Anion ist, desto langsamer verläuft die Polymerisation. Die pK_s -Werte in Wasser sind 4,76 (Essigsäure), 1,34 (Difluoressigsäure), 0,23 (Trifluoressigsäure) und -7 (Salzsäure).^[151, 165, 166] Der Effekt des Lösungsmittels auf den pK_s -Wert wurde in der Literatur dargestellt.^[151] Mit abnehmender Säurestärke der korrespondierenden Säure liegt das Gleichgewicht zwischen Ammoniumion und freiem Amin weiter auf der Seite desamins (siehe Gl.34).



Die Polymerisation verläuft schneller, wenn mehr freies Amin vorliegt. Plasson et al. hat gezeigt, dass der pK_s -Wert von Valinoligomeren von der Kettenlänge beeinflusst wird, und das einen Effekt auf die Reaktionsgeschwindigkeit haben kann.^[167]

Aus der Abb.6.5 wird deutlich, dass bei Verwendung des 2-Phenylethylammoniumacetat-Initiators die Reaktion nach ca. 50 Stunden einen Umsatz von ca. 100 % erreicht hat. Bei Verwendung des Difluoracetat-Gegenions wird nach ca. 100 Stunden ein maximaler Umsatz von ca. 90 % erreicht. Die Reaktionsgeschwindigkeit mit Trifluoracetat-Gegenion ist größer als diejenige mit Chlorid-Gegenion. In diesen beiden Fällen liegt jedoch nach 250 Stunden der Umsatz deutlich unter 100 % (ca. 35 % bzw. ca. 10 %).

Als Nächstes wurde die Temperaturabhängigkeit der NCA-Polymerisation mit einem Ammoniuminitiator untersucht. Hierfür wurde die Initiierung der Z-L-Lysin-NCA Polymerisation mit 2-Phenylethylammoniumdifluoracetat bei vier Temperaturen durchgeführt (Abb.6.6). Es wird deutlich, dass die Reaktion bei 70 °C und 100 °C bereits nach ca. 24 h ihren maximalen Umsatz von über 90 % erreicht hat. Bei 50 °C wird der maximale Umsatz von ca. 83 % nach 24 h erreicht, wobei die Reaktionsgeschwindigkeit in der Anfangsphase niedriger ist als bei den beiden höheren Temperaturen.

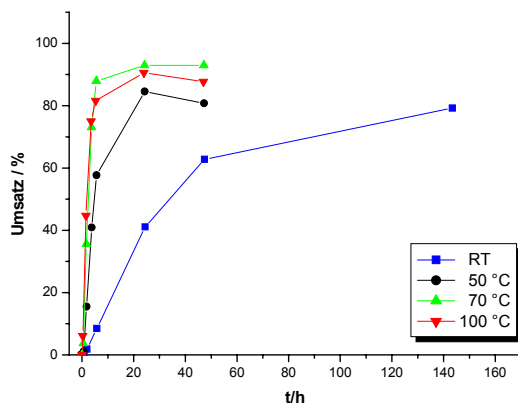


Abb.6.6: Der Umsatz als Funktion der Zeit für die Z-L-Lysin-NCA-Polymerisation: Als Initiator wurde 2-Phenylethylammoniumdifluoracetat verwendet. $c(\text{Monomer}) = 0,40 \text{ mol/L}$ in NMP; $T = 50 \text{ °C}$; $[\text{NCA}]_0/[\text{Init.}] = 130$, (mm403-406).

Bei Raumtemperatur wird der maximale Umsatz von ca. 79 % erst nach ca. 142 h erreicht. Die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt demnach mit steigender Temperatur zu. Der maximale Umsatz der Reaktion ist bis zu einer Temperatur von 70 °C angestiegen und nahm bei 100 °C wieder etwas ab. Diese leichte Abnahme ist möglicherweise auf Nebenreaktionen bei der Temperatur von 100 °C zurückzuführen.

Die Untersuchungen an den Ammoniuminitiatoren auf der Grundlage von 2-Phenylethylamin haben gezeigt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei Verwendung eines 2-Phenylethylammonium-Initiators mit Trifluoracetat-Gegenion über derjenigen mit Chlorid-Gegenion liegt. Die Verwendung eines PIPOX-Makroinitiators mit Ammoniumtrifluoracetat Endgruppe und Bzl-L-Glutamat-NCA lieferte bereits nach 4 Tagen einen guten Umsatz und einen Polymerisationsgrad, der nahezu dem theoretischen Wert entspricht (Kapitel 4).

Die Geschwindigkeit der Z-L-Lysin-NCA Polymerisation eines hochmolekularen PNPOX_{13-co}-PIPOX₃₂-Makroinitiators mit Ammoniumtrifluoracetat Endgruppe wird im nächsten Schritt mit der Reaktionsgeschwindigkeit des 2-Phenylethylammoniumdifluoracetat- sowie des 2-Phenylethylammoniumtrifluoracetat-Initiators verglichen.

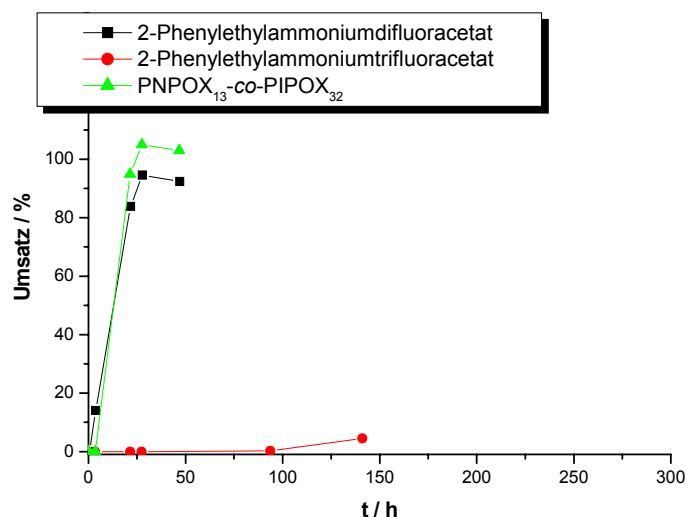


Abb.6.7: Der Umsatz als Funktion der Zeit für die Z-L-Lysin-NCA-Polymerisation: $c(\text{Monomer}) = 0,32 \text{ mol/L}$ in NMP; $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{NCA}]_0/[\text{Init.}] = 90$, (mm421,422,424).

Die Ergebnisse aus Abb.6.7 haben gezeigt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit des Makroinitiators mit Trifluoracetat-Gegenion bereits nach ca. 50 Stunden einen maximalen Umsatz von ca. 100 % erreicht, wohingegen die Reaktionsgeschwindigkeit des niedermolekularen 2-Phenylethylammoniumtrifluoracetat-Initiators geringer ist. Der niedermolekulare Initiator erreicht nach 150 Stunden einen Umsatz von ca. 10 %.

Im Gegensatz hierzu stimmt die Reaktionsgeschwindigkeit des niedermolekularen 2-Phenylethylammoniumdifluoracetat-Initiators mit derjenigen des Trifluoracetat-Makroinitiators nahezu überein, und es wird bereits nach ca. 50 Stunden der maximale

Umsatz von ca. 90 % erreicht. Die Untersuchung hat somit gezeigt, dass ein $\text{PNPOX}_{13}\text{-co-PIPOX}_{32}$ Makroinitiator zu einer schnelleren Polymerisation führt, als ein niedermolekularer 2-Phenylethylammonium-Initiator mit dem selben Gegenion. Wird jedoch wie im Fall des 2-Phenylethylammoniumdifluoracetat-Initiators die Stärke der korrespondierenden Säure gesenkt, so ist die dazugehörige Reaktionsgeschwindigkeit mit derjenigen des verwendeten Makroinitiators mit Trifluoracetat-Gegenion nahezu identisch.

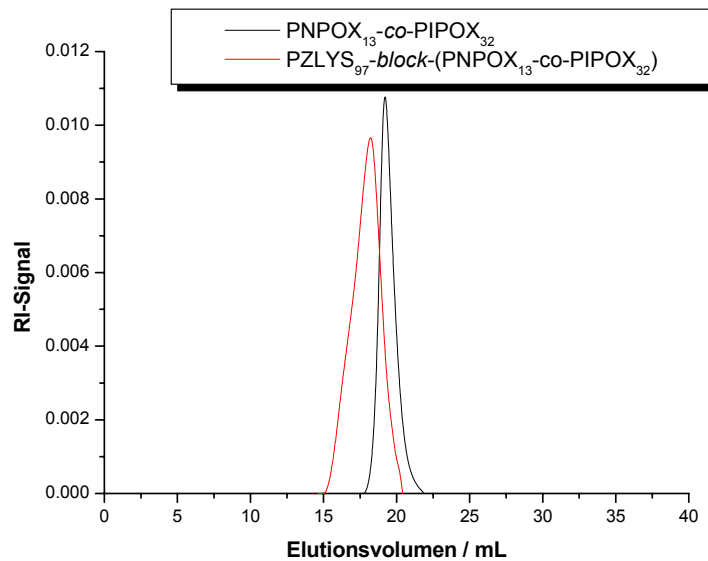


Abb.6.8: GPC(THF):Vergleich von Makroinitiator und Copolymer nach Ende der kinetischen Untersuchungen.

Aus dem GPC-Eluogramm in Abb.6.8 geht hervor, dass der Peak des Blockcopolymers bei niedrigerem Elutionsvolumen liegt, als der des Makroinitiators. Das ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass der Makroinitiator vollständig initiiert hat und ein Blockcopolymer mit höherer Molmasse entstanden ist. Für die Berechnung der Repetiereinheitenanzahl des Poly(Z-L-lysin) Blocks wurden zunächst die Anzahl der beiden Polyoxazolin Repetiereinheiten bestimmt. Hierbei wurde das Verhältnis der jeweiligen Repetiereinheiten mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie auf der Grundlage der beiden Methylgruppensignale berechnet. Anhand der Molmassenbestimmung mittels GPC (THF) konnten anschließend deren Anteile zu 32 bzw. 13 Repetiereinheiten bestimmt werden. Die Untersuchungen haben im Vorfeld ergeben, dass die Ergebnisse der GPC (THF) zuverlässige Werte für die tatsächliche Anzahl der Polyoxazolin Repetiereinheiten liefert. Die Berechnung der Poly(Z-L-lysin)-Blocklängen erfolgte anhand der OCH_2 -Gruppe des Polypeptids sowie der beiden Methylgruppen der Polyoxazoline. Mit dieser Methode liegt die Anzahl der Poly(Z-L-lysin)

Repetiereinheiten bei ca. 97, was eine gute Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert von 90 Repetiereinheiten liefert.

Ballard et al. hat den sogenannten „Ketteneffekt“ bei der Polymerisation von NCA's mit unsubstituierten NH-Gruppen nachgewiesen, wenn Polysarkosin als Makroinitiator verwendet wird.^[168, 169] Es wurde beobachtet, dass die Polymerisationsrate mit diesen Makroinitiatoren bis zu 30 fach schneller ist, als mit niedermolekularen sekundären Basen als Initiatoren. Auch bei Poly-N-ethyl- und Poly-N-benzyl-glycin wurde dieser Ketteneffekt gefunden. Vergleicht man die Strukturen des in dieser Arbeit verwendeten PNPOX-*co*-PIPOX-Makroinitiators mit der von Polysarkosin, so wird deutlich, dass es sich bei beiden Polymeren um Polyamide handelt, bei denen ein tertiär gebundener Stickstoff vorliegt.

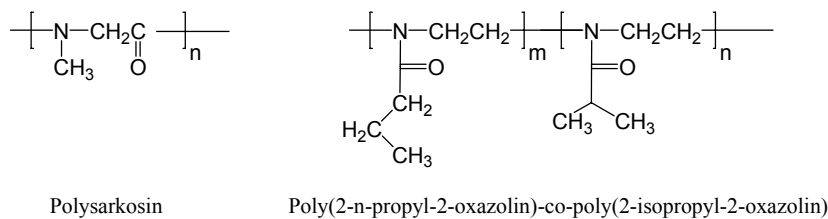


Abb.6.9: Vergleich der Struktur von Polysarkosin mit derjenigen von PNPOX-*co*-PIPOX

Von Ballard et al. wurde auch gezeigt, dass die Polymerisationsgeschwindigkeit sehr stark vom Polymerisationsgrad abhängt, wenn Poly(γ -benzyl-L-glutamat) in DMF als Makroinitiator verwendet wird.^[169] Dieser Effekt wurde dort auf eine mögliche Adsorption des NCA-Monomers an die wachsenden Kettenenden zurückgeführt, so dass es in der Folge schneller polymerisieren kann. Die Autoren vermuteten, dass das NCA-Monomer möglicherweise durch Wasserstoffbrückenbindungen an das wachsende Kettenende gebunden wird. Betrachtet man nun noch einmal die höhere Reaktionsgeschwindigkeit des Makroinitiators aus den eigenen Untersuchungen gegenüber der mit dem niedermolekularen 2-Phenylethylammoniumtrifluoressigsäure-Initiator, so lässt sich dieser Unterschied sehr wahrscheinlich auf den eben erwähnten Ketteneffekt des verwendeten Makroinitiators zurückführen. Die Reaktionsgeschwindigkeit des niedermolekularen 2-Phenylethylammoniumdifluoressigsäure-Initiators war jedoch nahezu identisch mit derjenigen des Makroinitiators mit der Trifluoressigsäuregruppe. Das ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die korrespondierende Difluoressigsäure eine schwächere Säure ist als die Trifluoressigsäure und dadurch wird der Ketteneffekt möglicherweise durch den Gegeneffekt ausgeglichen.

Ballard et al. haben desweiteren die Reaktionen von N-carboxy-DL-phenylalanin und γ -Benzyl-N-carboxy-L-glutamat Anhydriden in der Gegenwart von Natrium β -Phenylpropionat sowie Natrium 3-Hydantoinylacetat untersucht.^[170] Als Lösungsmittel wurde dort eine Mischung aus Nitrobenzol und N-Methylformamid verwendet. Hierbei liegt die Acidität der korrespondierenden 3-Hydantoinyllessigsäure über derjenigen der β -Phenylpropionsäure. Es wurde gefunden, dass die Polymerisation der oben genannten N-Carboxyanhydride durch den Zusatz dieser beiden Salze initiiert werden kann. Die mit Natrium β -Phenylpropionat initiierte Polymerisation war wesentlich schneller, als diejenige mit Natrium 3-Hydantoinylacetat. Ein Zusatz von β -Phenylpropionsäure zu der mit Natrium β -Phenylpropionat initiierten Polymerisation führte zu einer deutlichen Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit, je nach zugesetzter Säuremenge. Die eben beschriebenen Initiierungen wurden beobachtet, wenn die Carboxyanhydride über eine NH-Gruppe verfügen, und ohne NH-Gruppe wurde im Fall des N-Carboxyanhydrids von Sarkosin nahezu keine Reaktion beobachtet. Ballard et al. erwägen, dass diese Salz induzierten Reaktionen auf die Deprotonierung der NH-Gruppe im NCA-Derivat zurückzuführen sind und dadurch ein aktiviertes NCA-Anion gebildet wird, das ein zweites Monomer nukleophil angreifen kann und es in der Folge zu einer Polymerisation kommt (vgl. AM-Mechanismus Abb.6.9).

Dieser Mechanismus würde nach Ballard et al. auch erklären, warum die Polymerisation durch Zusatz von schwachen Säuren eine sehr langsame Initiierung besitzt, bei der häufig Induktionsperioden von mehreren Tagen beobachtet werden. Die Polymerisationsgrade waren außerdem höher, als nach dem eingesetzten Verhältnis von Monomer zu Initiator erwartet wurde. Demnach unterscheiden sich diese Salz katalysierten Reaktionen von den mit primären oder sekundären Aminen initiierten Polymerisationen.

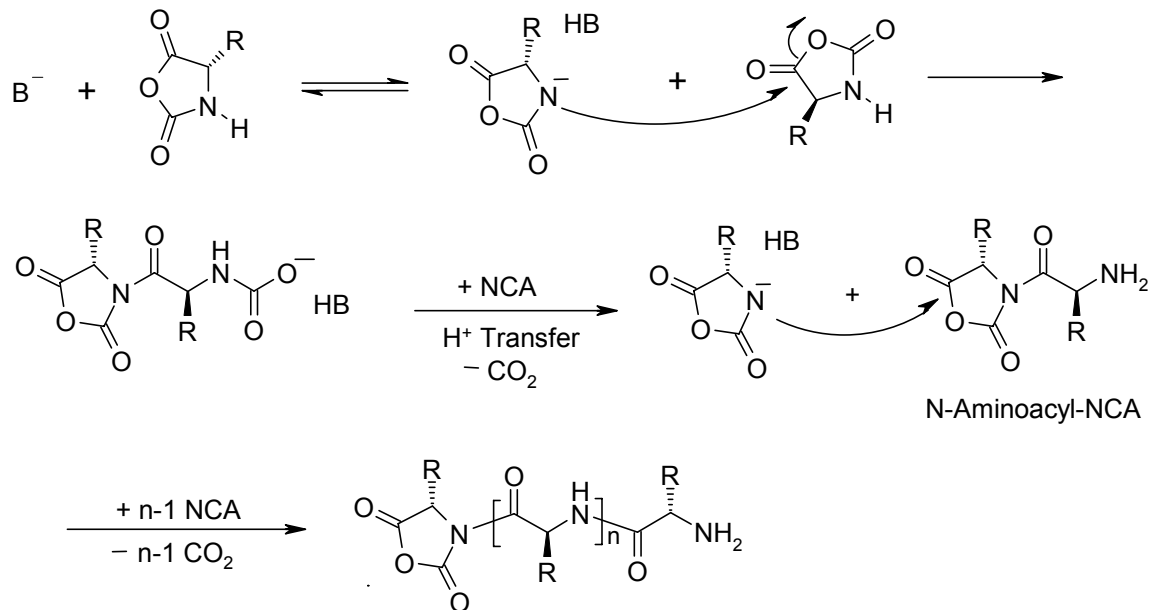


Abb.6.10: „Aktivierte Monomer“-Mechanismus für die Polymerisation von N-Carboxyanhydriden mit basischen Anionen.

Bei den eigenen Untersuchungen wurde bestätigend festgestellt, dass Natriumacetat ebenfalls die Polymerisation von Z-L-NCA initiieren kann und die Polymerisation sehr schnell zu einem hohen Monomerumsatz führt. Die Initiierung der Polymerisation ist gemäß Ballard et al. auf die Deprotonierung des Monomers durch das Acetat-Anion zurückzuführen. Betrachtet man nun die Polymerisationsgeschwindigkeiten bei Verwendung der in der vorliegenden Arbeit untersuchten 2-Phenylethylammonium-Initiatoren, so wird erkennbar, dass die Reaktion mit dem Acetat-Gegenion am schnellsten und diejenige mit dem Chlorid-Gegenion merklich langsamer verläuft. Der Ammonium-initiator mit der schwächsten korrespondierenden Säure führt somit zu dem schnellsten Umsatz. Der Unterschied zu den Untersuchungen von Ballard et al. besteht darin, dass bei den hier verwendeten Initiatoren ein Ammoniumion-Gegenion vorhanden ist, was auch Protonen an basische Verbindungen abgeben kann. Bei der Synthese des PIPOX₁₅₀PLGluNa₂₆₈ aus Kapitel 4 wurde ein PIPOX-Makroinitiator mit Trifluoracetat-Gegenion verwendet und der mittels ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmte Polymerisationsgrad stimmte nahezu mit dem theoretischen Wert überein. In der UZ-Sedimentationskoeffizientenverteilung lag kein Makroinitiator mehr vor. Diese Beobachtungen sind ein deutlicher Hinweis darauf, dass das verwendete PIPOX-Makroinitiatorsystem mit Trifluoracetatendgruppe zu keiner Deprotonierung des NCA-Monomers führt.

7. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode entwickelt^[171] mit der Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure) Copolymere mit einer engen Molekulargewichtsverteilung synthetisiert werden können. Bei dieser Synthese wurde zunächst die Polymerisation von 2-Isopropyl-2-oxazolin mittels 4-N-Boc-Aminopiperidin terminiert und nach Entschützung mit Trifluoressigsäure sowie folgender Aufarbeitung konnte ein Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-Makroinitiator mit terminaler Ammoniumtrifluoracetat-Gruppe erhalten werden. Dieser Makroinitiator wurde für die folgende Ammonium vermittelte NCA Polymerisation bei 50 °C und einer Reaktionsdauer von 4 Tagen verwendet. Die Entschützung der Benzylgruppen wurde mit 1N Natronlauge in THF durchgeführt. Mit dieser Methode konnten Polymerisationsgrade in der Größenordnung von bis zu 270 Peptidrepetiereinheiten synthetisiert werden. Mittels Ultrazentrifugation wurde eine Polydispersität von 1,2 bestimmt.

Desweiteren wurde das LCST Verhalten von Poly(2-alkyl-2-oxazolin) Polymeren in Abhängigkeit von mehreren Bedingungen untersucht. Es konnte bestätigend gezeigt werden, dass die LCST mit steigendem Molekulargewicht zu niedrigeren Temperaturen verschoben wird. Die LCST wurde außerdem durch die Hydrophilie der Endgruppe beeinflusst und es wurde nachgewiesen, dass die LCST der hydrophileren BOC-entschützten Polyoxazoline über denen der geschützten Polymere liegt. Bei sauren pH-Werten lag die LCST über den Werten bei alkalischem pH-Wert. Durch statistische Copolymerisation von 2-Isopropyl-2-oxazolin mit 2-n-Propyl-2-oxazolin bzw. 2-Ethyl-2-oxazolin wurde der Trübungspunkt im Bereich von 32 °C bis 58 °C eingestellt. Dies ermöglicht eine Variation des Phasenübergangsbereichs nach den jeweiligen Anforderungen und ist ein interessanter Ausgangspunkt für Polyoxazolinpolymere, die eine potenzielle Anwendungsmöglichkeit in der Biomedizin haben.

Werden die Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)e längere Zeit oberhalb der LCST erhitzt, so kommt es zur Ausbildung eines Feststoffs. Mit den anschließenden TEM-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es sich bei dem Niederschlag um monodisperse sphärische Strukturen handelt, die einen Durchmesser von ca. 1 µm besitzen. Zwischen diesen großen sphärischen Aggregaten befinden sich außerdem dünne stäbchenförmige Strukturen, die eine Länge im Mikrometerbereich erreichen können. Auf der Grundlage dieser Beobachtungen wurde ein Strukturbildungsmodell aufgestellt, bei dem es oberhalb der LCST zur Ausbildung von zylindrischen Mizellen kommt. Hierbei befindet sich das Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) auf der

Innenseite dieser zylindrischen Mizellen und die protonierten tertiären Amine bilden die Oberfläche. Durch Zusammenlagerung der zylindrischen Mizellen entstehen monodisperse sphärische Aggregate.

Bei den Strukturuntersuchungen wurden die doppelt hydrophilen Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure) Copolymere zunächst in Abhängigkeit von der Temperatur charakterisiert. Hierbei wurde deutlich, dass sich das Verhalten ohne Elektrolytzusatz von demjenigen mit Zusatz von Natriumchlorid unterscheidet. Bei Raumtemperatur wurden mittels Lichtstreuung und TEM Hinweise für das Vorliegen von Vesikelstrukturen gefunden, die eine Größe von ca. 200 nm erreichen. Diese Strukturen können sich wahrscheinlich deswegen unterhalb der LCST ausbilden, weil die beiden Blöcke über eine unterschiedliche Hydrophilie verfügen. Die Lichtstreuuntersuchungen ohne Zusatz von Natriumchlorid haben gezeigt, dass sich große Aggregate bilden, wenn die LCST überschritten wird. Während des beobachteten Aufheizvorgangs kam es hierbei zur Ausbildung einer Trübung, wobei jedoch kein erkennbarer Niederschlag entstanden ist. Die TEM-Aufnahmen an den dazugehörigen Proben haben Hinweise für das Vorliegen von wurmartigen Mizellen geliefert. Die Ausbildung dieser Strukturen war bei alkalischem pH-Wert deutlicher, als bei einem pH-Wert von pH = 6,6.

Bei der Untersuchung der Copolymere in 0,94 wt%-iger Natriumchloridlösung konnte bei basischem pH-Wert mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie gezeigt werden, dass sich oberhalb der LCST Aggregate bilden, bei denen sich die Poly(L-glutaminsäure)-Blöcke auf der Außenseite befinden und die unlöslichen Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-Blöcke auf der Innenseite. Wird die klare Lösung nach kurzer Zeit wieder abgekühlt, so sind die Signale des temperaturschaltbaren Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-Blocks wieder in der ursprünglichen Intensität vorhanden. Es konnte somit erfolgreich gezeigt werden, dass diese Aggregate innerhalb des betrachteten Zeitraums reversibel schaltbar sind. Bei längeren Zeiten oberhalb der LCST kam es zur Ausbildung eines Niederschlags. Dabei konnte mittels TEM gezeigt werden, dass sich sternförmige Strukturen mit einem kompakten Kern gebildet haben, wobei der Kern kristallähnliche Strukturen aufweist. Die Größe dieser Strukturen liegt im Mikrometerbereich und hängt von der Verweilzeit oberhalb der LCST ab. Bei den verwendeten Temperaturprogrammen nahm die Größe der Aggregate mit abnehmender Heizrate zu. Auf der Grundlage der gemachten Beobachtungen wurde ein Strukturbildungsmodell entwickelt, das Ähnlichkeiten zu der Biomineralisation von Calciumphosphat aufweist.^[157] Mittels Biomineralisation ist der Aufbau von komplexen Strukturen möglich, was in der Literatur an mehreren Beispielen eindrucksvoll gezeigt

wurde.^[172-178] Bei dem in der vorliegenden Arbeit entwickelten Modell kommt es oberhalb der LCST zur Ausbildung von zylindrischen Mizellen mit Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-Kern und Poly(L-glutaminsäure)-Korona. Mittels ¹H-NMR-Spektroskopie wurde gezeigt, dass sich bei den gebildeten Aggregaten die löslichen Poly(L-glutaminsäure)-Blöcke auf der Außenseite der Strukturen befinden und die Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-Blöcke auf der dem Lösungsmittel abgewandten Seite. In natriumchloridhaltiger Lösung kommt es im Rahmen des vorgeschlagenen Strukturbildungsmodells durch die anionischen Säuregruppen auf der Oberfläche der Aggregate zur lokalen Übersättigung, und es bilden sich Nukleationskeime. Dabei kommt es wahrscheinlich zu einer Zusammenlagerung der zylindrischen Mizellen und die Kristallisationskeime wachsen zu größeren Natriumchloridpartikeln. Bei diesem Wachstumsprozess entstehen 1-2 µm große Strukturen mit einem kompakten Kern und zusammengelagerten zylindrischen Mizellen auf der Kernoberfläche.

Das pH-responsive Verhalten von Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutaminsäure) wurde bei einem pH-Wert von 2,5 und Raumtemperatur in natriumchloridhaltiger Lösung untersucht. Hierbei kam es zur Ausbildung eines polydispersen Feststoffs, der sich aus sphärischen Aggregaten zusammensetzt. Unter den sauren pH-Bedingungen können Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Amid- und Säuregruppen ausgebildet werden.

Für die Untersuchungen zur Ammonium vermittelten NCA-Polymerisation wurde ein geeigneter Reaktor entwickelt, und der Reaktionsumsatz mittels Gelpermeationschromatographie bestimmt. Als Initiatoren für die Polymerisationen von Z-L-Lysin-NCA wurden 2-Phenylethylammoniumacetat, 2-Phenylethylammoniumdifluoracetat, 2-Phenylethylammoniumtrifluoracetat und 2-Phenylethylammoniumchlorid verwendet. Hierbei stieg die Reaktionsgeschwindigkeit mit abnehmender Säurestärke der korrespondierenden Säure an. Die Reaktionsgeschwindigkeit eines Polyoxazolin-Makroinitiators mit Ammoniumtrifluoracetat-Endgruppe lag bei den Untersuchungen über der des entsprechenden niedermolekularen 2-Phenylethylammoniumtrifluoracetat-Initiators. Die höhere Reaktionsgeschwindigkeit wird auf den sogenannten „Ketteneffekt“ zurückgeführt, der auch schon von Ballard et al. bei der Verwendung von Polysarkosinmakroinitiatoren mit terminaler Aminendgruppe beobachtet wurde.

8. Anhang

8.1. Analytische Methoden

¹H-NMR Messungen wurden mit einem Bruker DPX-400-Spektrometer (400.1 MHz) bei Raumtemperatur gemessen. ¹⁹F-NMR wurde auf einem AV-300 (282.4 MHz) gemessen. Bei der ¹H-NMR-Spektroskopie erfolgte eine Kalibrierung auf die Lösungsmittelpeaks (CDCl₃: $\delta = 7.26$ ppm; D₂O: $\delta = 4.79$ ppm). FT-IR Spektroskopie wurde auf einem BioRad 6000 FT-IR Spektrometer mit Single Reflection Diamond ATR angefertigt. C/H/N-spezifische Elementaranalysen wurden mit dem Gerät Vario EL durchgeführt. Größenausschlusschromatographie (GPC) mit Tetrahydrofuran als Eluent wurde bei Raumtemperatur bei einer Flussrate von 1,0 mL/min durchgeführt. Das Säulenmaterial bestand aus zwei 300 x 8 mm PSS SDV, 5 μ m, 10³ und 10⁵ Å (PSS GmbH, Mainz, Deutschland) Säulen; die Kalibrierung erfolgte mit Polystyrolstandards. Für die Bestimmung des Umsatzes der Ammonium vermittelten NCA-Polymerisationen wurde Größenausschlusschromatographie mit NMP als Eluent (mit 0,05 mol/L LiBr) verwendet. Das Säulenmaterial bestand aus zwei GRAM Vorsäulen mit je 50 mm Länge sowie einem Durchmesser von 0,8 cm (PSS GmbH, Mainz, Deutschland). Die Messungen wurden mit einer Flussrate von 0,5 mL/min und 60 °C durchgeführt. Bei der verwendeten Mikrowelle handelt es sich um das Modell *Discover* der Firma CEM. Analytische Ultrazentrifugation (AUC) wurde auf einer Optima XL-I Ultrazentrifuge (Beckman-Coulter, Palo Alto, CA) durchgeführt, die mit Rayleigh Interferenz und UV/sichtbar Absorptions Optik ausgestattet war. Sedimentations-Geschwindigkeits Messungen von ~0,15 wt % Polymerlösungen wurden mit 60000 rpm bei 25 °C durchgeführt. Die Daten wurden mit SEDFIT software (Peter Schuck, <http://www.analyticalultracentrifugation.com>) ausgewertet. Die Dialyse wurde mit den Dialysemembranen Spectra-Por 7, Breite: 45 mm, Durchmesser: 29 mm, MWCO: 3500 durchgeführt. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass Spectrometrie (MALDI-TOF MS) wurde auf einem Bruker Reflex III durchgeführt, wobei eine Stickstoff Laserquelle ($\lambda = 337$ nm) im linearen Modus eingesetzt wurde; 2-[(2E)-3-(4-*tert.*-butylphenyl)-2-methylprop-2-enyliden]malonsäurenitril wurde als Matrix und Natriumtrifluoracetat als Kationenquelle (Analyt/Matrix/Salz = 1:250:1 w/w/w) verwendet. Die Kalibrierung erfolgte mit Poly(ethylenoxid). Statische Lichtstreuung (SLS) wurde bei 25 °C mit ALV Goniometer (ALV GmbH, Langen, Deutschland) und einer He-Ne Laser Lichtquelle ($\lambda = 633$ nm) durchgeführt; die Daten wurden mit Standard Zimm Analyse ausgewertet. Ein

NFT-Scanref *differential* Refractometer wurde für die Messung des Brechungsindex Inkrements verwendet. Bei den TEM-Messungen wurde das Gerät Omega 912 der Firma Zeiss verwendet und eine Beschleunigungsspannung von 120 kV gewählt. Für die Präparation der TEM-Proben wurden wässrige Lösungen auf ein mit Kohlenstoff bedampftes Kupfernetz (Grid) getropft. Nach dem Ablüften des Lösungsmittels wurden die Untersuchungen an den entstandenen Strukturen durchgeführt. Bei dieser Methode können Eintrocknungseffekte auf die TEM-Bilder einen Einfluss haben, so dass die Untersuchung mit Streumethoden in Lösung unter Umständen andere Ergebnisse liefern kann. Die Messung der LCST wurde mit einem Goniometer bei einem festen Streuwinkel von $\theta = 90^\circ$ durchgeführt. Dabei wurde die Heizrate mit einem Messprogramm programmiert. Es wurden desweiteren ein Photon-Detektor (ALV/SO-SIPD), ein digital Korrelator (ALV 5000) und als Lichtquelle (Polytec, 34 mW) ein HeNe Laser mit einer Wellenlänge von 633 nm verwendet.

8.2. Experimentelle Vorschriften

Chemikalien und Lösungsmittel wurden von mehreren Herstellern bezogen und wie erhalten eingesetzt, wenn sie nicht anderweitig vorbehandelt wurden. Sigma–Aldrich: Isobutyronitril (99,6%), 2-Aminoethanol (99+%), Cadmiumacetatdihydrat (98%), Methyl *p*-tosylat (98%) destilliert von CaH_2 , Essigsäureanhydrid (99+%) destilliert von CaH_2 , 2-Phenylethylamin (99+%) destilliert von CaH_2 , Natriumacetat (99,995%), Poly(L-glutaminsäure)-Natriumsalz Polymerisationsgrad durch Viskosimetrie 294, (1S)-(-)-alpha-Pinen (98 %) destilliert von CaH_2 , Acros Organics: 4-N-Boc-Aminopiperidin (Boc = *tert*-butyloxycarbonyl) (98%), Trifluoressigsäure (99%), Bachem: γ -Benzyl-L-glutamat (>99%), Iris Biotech: Triphosgen (98,3%), Merck: Ethylacetat (>99,5%) destilliert von CaH_2 , Hexan ($\geq 99\%$), Acetonitril (99,9%) destilliert von CaH_2 , Fluka–Riedel-deHaën: n-Hexylamin ($\geq 98\%$) destilliert von CaH_2 , 2-Phenylethylaminhydrochlorid ($\geq 99\%$), Dichlormethan (>99,9%), Diethylether ($\geq 99,5\%$), Tetrahydrofuran (>99,5%), Butyronitril ($\geq 99\%$), Roth: *N*-Methylpyrrolidon (99,8%) destilliert von CaH_2 , 2-Isopropyl-2-oxazolin bzw. γ -Benzyl-L-glutamat und Z-L-Lysin NCA wurden nach etablierten Literaturmethoden synthetisiert.^[123, 179, 53]

Monomersynthese.2-Isopropyl-2-oxazolin:^[123]

204 g (3,34 mol) 2-Aminoethanol wurden tropfenweise zu einer Suspension von 218 g (3,16 mol) Isobutyronitril und 42,6 g (0,16 mol) Cadmiumacetatdihydrat bei 130 °C gegeben. Die Lösung wurde für 24 h bei dieser Temperatur gerührt und dann durch Destillation fraktioniert. Ausbeute: 264 g (2,34 mol; 74%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ /ppm = 0.93 (d, 6H, ³J = 7.1 Hz, CH₃), 2.30 (m, 1H, ³J = 7.1 Hz, CH), 3.55 (t, 2H, ³J = 9.6 Hz, CH₂), 3.96 (t, 2H, ³J = 9.6 Hz, CH₂).

2-n-Propyl-2-oxazolin:^[123]

Die Synthese wurde nach der obigen Methode durchgeführt. 67 % Ausbeute.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ /ppm = 0.90 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃), 1.59 (m, 2H, ³J = 7.4 Hz, CH₂), 2.18 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, CH₂), 3.75 (t, 2H, ³J = 9.5 Hz, CH₂), 4.15 (t, 2H, ³J = 9.5 Hz, CH₂).

 γ -Benzyl-L-Glutamat NCA:^[179, 53]

Eine Mischung von 10,0 g (42 mmol) γ -Benzyl-L-glutamat und 300 mL trockenem Ethylacetat (frisch destilliert von CaH₂) wurde unter einer trockenen Argonatmosphäre unter Rückfluss erhitzt. Dann wurden 4,2 g (14 mmol) Triphosgen hinzugegeben und die Mischung für 7 h unter Rückfluss und 17 h bei RT erhitzt. Dann wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt, filtriert, und mit kaltem Wasser und wässriger NaHCO₃ Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der Lösung mit wasserfreiem NaSO₄ und Einengen auf 1/3 des ursprünglichen Volumens, wird das Produkt mit Hexan ausgefällt, filtriert, zweimal umkristallisiert aus Ethylacetat und im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 6,0 g (23 mmol; 54%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ /ppm = 2.05-2.30 (m, 2H, CH₂), 2.58 (t, 2H, ³J = 7.25 Hz, CH₂), 4.38 (t, 1H, ³J = 5.98 Hz, CH), 5.13 (s, 2H, OCH₂), 6.86 (s, 1H, NH), 7.29-7.42 (m, 5H, H_{arom.}).

Z-L-Lysin-NCA:^[179, 53]

Die Synthese von Z-L-Lysin-NCA erfolgte analog zu der Synthese von γ -Benzyl-L-glutamat NCA. Es wurde jedoch noch die doppelte Stoffmenge an abs. α -Pinen (bezogen auf die Stoffmenge des Z-L-Lysins) zu Beginn der Reaktion hinzugefügt. Die Ausbeute liegt bei ca. 61 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ /ppm = 1.36-1.91 (m, 6H, CH₂), 3.18 (br, 2H, NCH₂), 4.24 (br, 1H, CH), 5.09 (m, 3H, NH, OCH₂), 7.18 (br, 1H, NH, Ring), 7.29-7.39 (m, 5H, H_{arom.}).

Polymersynthese.

ω -Amino-poly(2-isopropyl-2-oxazolin), PIPOX:

Eine Lösung von 0,06 mL (0,4 mmol) abs. Methyl *p*-tosylat und 4,7 g (41 mmol) 2-Isopropyl-2-oxazolin (zweifach destilliert und getrocknet über CaH₂) in 10 mL trockenem Acetonitril (frisch destilliert von CaH₂) wurde 2 Tage bei 80 °C unter Argonatmosphäre gerührt. 0,25 g (1,2 mmol) 4-N-Boc-Aminopiperidin wurden dann bei Raumtemperatur hinzugegeben und die Mischung für weitere 3 Tage bei 80 °C gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum, wurde der Feststoff in Wasser gelöst und gegen destilliertes Wasser dialysiert (Molekulargewichtsbegrenzung: 3,5 kDa), und gefriergetrocknet. Isolierte Ausbeute: 3,1 g (63 %), Molekulargewicht: 16,8 kg/mol (MALDI-TOF MS). 2,8 g Polymer wurden dann in 22 mL Dichlormethan gelöst und mit 5,4 mL Trifluoressigsäure 50 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde teilweise mit wässriger NaOH neutralisiert und das Polymer mit Dichlormethan extrahiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Polymer in Wasser gelöst und gegen destilliertes Wasser dialysiert und gefriergetrocknet. Isolierte Ausbeute 1,3 g (45 %).

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ /ppm = 1.11 (br, 6H, CH₃), 2.61-2.95 (br, 1H, CH), 3.50-3.69 (br, 4H, NCH₂).

¹⁹F-NMR (282 MHz, CDCl₃): δ /ppm = -76 (s, 3F, CF₃).

Poly(2-isopropyl-2-oxazolin)-*block*-poly(L-glutamat), PIPOX-PLGluNa:

Lösungen von 0,34 g PIPOX in 8 mL *N*-Methylpyrrolidon (frisch destilliert von CaH₂) und von 1,38 g NCA (5,24 mmol) in 8 mL *N*-Methylpyrrolidon wurden bei Raumtemperatur vereinigt, und die Mischung wurde 4 Tage bei 50 °C unter Argonatmosphäre gerührt. Essigsäureanhydrid wurde dann hinzugegeben und das Copolymer dreimal aus Diethylether ausgefällt, filtriert und im Vakuum getrocknet. Isolierte Ausbeute: 0,4 g (23%), Molekulargewicht: 75,6 kg/mol (NMR).

0,28 g Copolymer wurden in 14 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 2,9 mL 1 N wässriger NaOH-Lösung für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde dann gegen destilliertes Wasser dialysiert und gefriergetrocknet. Isolierte Ausbeute: 0,12 g (42%).

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ /ppm = 1.02-1.06 (br, 6H, CH₃), 1.94-2.32 (br, 4H, CH₂), 2.61-2.95 (br, 1H, CH), 3.46-3.65 (m, 4H, NCH₂), 4.33 (br, 1H, NCH).

ω -Amino-Poly(2-*n*-propyl-2-oxazolin)-*co*-poly(2-isopropyl-2-oxazolin), PNPOX-*co*-PIPOX:

Die Synthese der statistischen Copolymere erfolgte nach obiger Methode. Hierbei wurden die beiden Monomere vor Beginn der Polymerisation in den entsprechenden Verhältnissen vorgelegt.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ /ppm = 0.93 (br, 3H, CH₃), 1.11 (br, 6H, CH₃), 1.62 (br, 2H, CH₂CH₃), 2.12-2.36 (br, 2H, CH₂CO), 2.61-2.95 (br, 1H, CH), 3.44 (br, 8H, NCH₂).

Poly(Z-L-lysin):

Zu einer Lösung von 3,53 g (11,5 mmol) Z-L-Lysin-NCA in 20 mL abs. *N*-Methylpyrrolidon wurden 12 mg (0,115 mmol) abs. *n*-Hexylamin bei Raumtemperatur unter Rühren hinzugegeben. Anschließend erfolgte die Polymerisation für 42 h unter Argonatmosphäre bei 60 °C, und dann wurde die Polymerisation durch Zugabe von abs. Essigsäureanhydrid abgebrochen. Das Polymer wurde dreimal aus Diethylether umgefällt und nach dem Trocknen im Hochvakuum beträgt die Ausbeute 1,0 g (34 % Ausbeute); $M_n = 1,1 \cdot 10^4$ g/mol (GPC, Eluent: NMP, PS-Kalibrierung).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta/\text{ppm} = 1.10\text{-}2.10$ (m, 6H, CH_2), 3.04 (br, 2H, NCH_2), 3.80 (br, 1H, CH), 4.95 (br, 2H, OCH_2), 5.39 (br, 1H, NH), 7.18 (br, 5H, $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 8.16 (br, 1H, NH).

Synthese der Ammoniuminitiatoren.

Die Synthese der Ammoniuminitiatoren wird nach der folgenden Methode durchgeführt:

2-Phenylethylammoniumtrifluoracetat:

4,8 g (0,0398 mol) 2-Phenylethylamin werden mit einem Eisbad gekühlt und 4,54 g (0,0398 mol) Trifluoressigsäure unter Rühren hinzugegeben. Nach der Durchmischung wird das Rohprodukt im Vakuum getrocknet und anschließend mehrmals in Hexan suspendiert und die überstehende Lösung verworfen. Nach der Trocknung des Feststoffs erhält man 7,0 g (0,0297 mol) 2-Phenylethylammoniumtrifluoracetat in 74 % Ausbeute.

CHN-Analyse: berechnet: C 51,07 % H 5,14 % N 5,96 %.
gefunden: C 51,17 % H 5,14 % N 6,07 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta/\text{ppm} = 3.02$ (t, 2H, $^3J = 7.16$ Hz, CH_2), 3.30 (t, 2H, $^3J = 7.16$ Hz, CH_2), 7.36-7.42 (m, 5H, $\text{CH}_{\text{arom.}}$).

2-Phenylethylammoniumacetat:

4,8 g (0,0398 mol) 2-Phenylethylamin werden mit einem Eisbad gekühlt und 2,39 g (0,0398 mol) Essigsäure wie beschrieben umgesetzt. Ausbeute 80,4 % (5,8 g; 0,032 mol).

CHN-Analyse: berechnet: C 66,27 % H 8,34 % N 7,73 %.

gefunden: C 66,17 % H 8,81 % N 7,61 %.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ /ppm = 1.92 (s, 3H, CH₃), 3.02 (m, 2H, CH₂), 3.29 (m, 2H, CH₂), 7.36-7.44 (m, 5H, CH_{arom}).

2-Phenylethylammoniumdifluoroacetat:

2,90 g (0,0239 mol) 2-Phenylethylamin werden mit einem Eisbad gekühlt und 2,29 g (0,0239 mol) Difluoressigsäure wie beschrieben umgesetzt. Ausbeute 87,4 % (4,54 g; 0,021 mol).

CHN-Analyse: berechnet: C 55,29 % H 6,03 % N 6,45 %.

gefunden: C 55,22 % H 6,06 % N 6,59 %.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ /ppm = 3.01 (t, 2H, ³J = 7.36 Hz, CH₂), 3.29 (t, 2H, ³J = 7.36 Hz, CH₂), 5.87 (t, 1H, ²J = 54,78 Hz, CHF₂), 7.29-7.49 (m, 5H, CH_{arom}).

8.3. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------|--|
| A_2 | zweiter osmotischer Virialkoeffizient |
| Abb. | Abbildung |
| abs. | getrocknet |
| a.u. | arbitrary units |
| <i>block</i> | Blockcopolymer |
| Boc | Boc-Schutzgruppe |
| Bzl | Benzyl-Schutzgruppe |
| bzw. | beziehungsweise |
| CD | Circulardichroismus |
| <i>co</i> | statistisches Copolymer |
| °C | Temperatur in Celsius |
| DLS | Dynamische Lichtstreuung |
| DMF | N,N-Dimethylformamid |
| FT-IR | Fourier transform infrared |
| Glu | Glutaminsäure |
| GPC | Gelpermeationschromatographie |
| ° | Winkel in Grad |
| LCST | lower critical solution temperature, untere kritische Entmischungstemperatur |
| Lit. | Literatur |
| Lys | Lysin |
| NCA | N-Carboxyanhydrid |
| NMR | Nuclear magnetic resonance |
| PDI | Polydispersitätsindex |
| PEOX | Poly(2-ethyl-2-oxazolin) |
| PEO | Polyethylenoxid |
| PEP | Peptid |
| PBLGlu | Poly(L-glutaminsäure) mit Benzylschutzgruppe |
| PLGluNa | Poly(L-glutaminsäure)-Natriumsalz |
| PLGlu | Poly(L-glutaminsäure) |
| PZLys | Poly(Z-L-Lysin) |

| | |
|---------------|---|
| PIPOX | Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) bzw. aminofunktionalisiertes Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) |
| PIPOX-Boc | Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) mit Boc-Gruppe |
| PIPOX-PLGluNa | Blockcopolymer aus Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) und dem Poly(L-glutaminsäure)-Natriumsalz |
| PNPOX | Poly(2-n-propyl-2-oxazolin) |
| ppm | parts per million |
| Ri | refractive index, Brechungsindex |
| RT | Raumtemperatur |
| SFM | Rasterkraftmikroskopie |
| SSL | strong segregation limit |
| SSSL | super strong segregation limit |
| T | Temperatur |
| TEM | Transmissionselektronenmikroskopie |
| TFA | Trifluoressigsäure |
| THF | Tetrahydrofuran |
| UCST | upper critical solution temperature, obere kritische Entmischungstemperatur |
| WSL | weak segregation limit |
| wt% | Gewichtsprozent |
| Z | Aggregationszahl, bzw. Z-Schutzgruppe |

9. Literaturverzeichnis

- [1] Capello J., Ferrari F. *Plastics from Microbes*, Hanser/Gardner, Cincinnati **1994**, S. 35.
- [2] Odian G. *Principles of Polymerization*, 3rd ed., Wiley, New York **1991**.
- [3] Noshay A., McGrath J. E., *Block Copolymers*, Academic Press, New York **1977**.
- [4] Sidman K. R., Schwoppe A. D., Steber W. D., Rudolph S. E., Poulin S. B. *J. Membr. Sci.* **1980**, 7, 277.
- [5] Deming, T. J. *Adv. Mater.* **1997**, 9, 299.
- [6] Deming, T. J. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2000**, 38, 3011.
- [7] Aliferis T., Iatrou H., Hadjichristidis N. *Biomacromolecules* **2004**, 5, 1653.
- [8] Dimitrov I., Schlaad H. *Chem. Commun.* **2003**, 2944.
- [9] Poe G. D., McCormick C. L. *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.* **2004**, 42, 2520.
- [10] Schilli C. M., Zhang M., Rizzardo E., Thang S. H., Chong Y. K., Edwards K., Karlsson G., Müller A. H. E. *Macromolecules* **2004**, 37, 7861.
- [11] Bernaerts K. V., Willet N., Van Camp W., Jérôme R., Du Prez F. E. *Macromolecules* **2006**, 39, 3760.
- [12] Dobrynin A. V., Rubinstein M. *Macromolecules* **2000**, 33, 8097.
- [13] Shibanuma T., Aoki T., Sanui K., Ogata N., Kikuchi A., Sakurai Y., Okano T. *Macromolecules* **2000**, 33, 444.
- [14] Chiu H. C., Chern C. S., Lee C. K., Chang H. F. *Polymer* **1998**, 39, 1609.
- [15] Zhu P. W., Napper D. H. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **1995**, 98, 93.
- [16] Feil H., Bae Y. H., Feijen J., Kim S. W. *Macromolecules* **1993**, 26, 2496.
- [17] Yoo M. K., Seok W. K., Sung Y. K. *Macromol. Symp.* **2004**, 207, 173.
- [18] Tiera M. J., dos Santos G. R., de Oliveira Tiera V. A., Vieira N. A. B., Frolini E., da Silva R. C., Loh W. *Colloid Polym. Sci.* **2005**, 283, 662.
- [19] Chen G., Hoffman A. S. *Nature* **1995**, 373, 49.
- [20] Hua F., Jiang X., Zhao B. *Macromolecules* **2006**, 39, 3476.
- [21] Miyazaki H., Kataoka K. *Polymer* **1996**, 37, 681.
- [22] Liu S. Billingham N. C., Armes S. P. *Angew. Chem.* **2001**, 113, 2390.
- [23] Schild H. G. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, 17, 163.
- [24] Zhang G. Q., Zha L. S., Zhou M. H., Ma J. H., Liang B. R. *J. Applied Polym. Sci.* **2005**, 97, 1931.

- [25] Kaneko Y., Sakai K., Kikuchi A., Yoshida R., Sakurai Y., Okano T. *Macromolecules* **1995**, *28*, 7717.
- [26] Yoshida R., Uchida K., Kaneko Y., Sakai K., Kikuchi A., Sakurai Y., Okano T. *Nature* **1995**, *374*, 240.
- [27] Park J. S., Akiyama Y., Winnik F. M., Kataoka K. *Macromolecules* **2004**, *37*, 6786.
- [28] Lechner M. D., Gehrke K., Nordmeier E. *Makromolekulare Chemie*, 2. Auflage, Birkhäuser Verlag Basel **1996**.
- [29] Matyjaszewski K., Davis T. *Handbook of Radical Polymerization*, John Wiley and Sons, New Jersey **2002**.
- [30] Matyjaszewski K., Spanswick J. *Materials today*, März **2005**.
- [31] Georges M. K., et al., *Macromolecules* **1993**, *26*, 2987.
- [32] Hawker C. J., et al., *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3661.
- [33] Wayland B. B., et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7943.
- [34] Kato M., et al. *Macromolecules* **1995**, *28*, 1721.
- [35] Wang J. S., Matyjaszewski K. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5614.
- [36] Destarac M., et al. *Macromol. Rapid Comm.* **2000**, *21*, 1035.
- [37] Chiefari J., et al. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559.
- [38] Matyjaszewski K., et al. *Macromolecules* **2000**, *33*, 1476.
- [39] Qiu J., et al., *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 2083.
- [40] Carmichael A. J., et al., *Chem. Commun.* **2000**, *14*, 1237.
- [41] Förster S. Plantenberg T. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 712 und dortige Referenzen.
- [42] Elias H. G., *Makromoleküle*, Band 1 Grundlagen: Struktur-Synthese-Eigenschaften, 5. Auflage, Hüthig und Wepf Verlag Basel **1990**.
- [43] Leuchs H. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1906**, *39*, 857.
- [44] Leuchs H., Geiger W. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1908**, *41*, 1721.
- [45] Leuchs H., Mannasse W. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1907**, *40*, 3235.
- [46] Fuchs F. *Chem. Ber.* **1922**, *55*, 2943.
- [47] Brown C. J., Coleman D., Farthing A. C. *Nature* **1949**, *163*, 834.
- [48] Farthing A. C., Reynolds R. J. W. *Nature* **1950**, *165*, 647.
- [49] Farthing A. C. *J. Chem. Soc.* **1950**, 3213.
- [50] Coleman D., Farthing A. C. *J. Chem. Soc.* **1950**, 3218.
- [51] v. Lossow C., *Dissertation* **2005**, Fachbereich Chemie der Universität Hamburg.
- [52] Kricheldorf H. R. *α -Aminoacid-N-Carboxy-Anhydrides and Related Heterocycles*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York **1987**.

- [53] Losik M., *Dissertation* **2004**, Universität Potsdam.
- [54] Kukula H., *Dissertation* **2001**, Universität Potsdam.
- [55] Kagiya T., Narisawa S., Maeda T., Fukui K. *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.* **1966**, B4, 441.
- [56] Saegusa T., Kobayashi S. *Macromolecular Science, International Review of Science, Physical Chemistry Series 2* **1975**, 8, ch. 4.
- [57] Saegusa T., Kobayashi S. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, John Wiley and Sons, New York **1976**, 1, 220.
- [58] Kobayashi S., Saegusa T., *Ring-Opening Polymerization*, Elsevier Applied Science, Essex, U. K. **1984**, 8, ch. 11.
- [59] Kobayashi S., Saegusa T. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, John Wiley and Sons, New York **1986**, 4, 525.
- [60] Saegusa T., Chujo Y. *Frontiers of Macromolecular Science*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, U. K. **1989**, 119.
- [61] Kobayashi S. *Prog. Polym. Sci.* **1990**, 15, 751.
- [62] Chujo Y., Saegusa T. *Ring-Opening Polymerization*, Hanser, München **1993**, 239.
- [63] Aoi K., Okada M. *Prog. Polym. Sci.* **1996**, 21, 151.
- [64] West N., *Dissertation* **2000**, Technische Universität München.
- [65] Miyamoto M., Aoi K., Saegusa T. *Macromolecules* **1988**, 21, 1880.
- [66] Miyamoto M., Aoi K., Saegusa T. *Macromolecules* **1991**, 24, 11.
- [67] Miyamoto M., Aoi K., Yamaga S., Saegusa T. *Macromolecules* **1992**, 25, 5111.
- [68] Miyamoto M., Shimakura M., Tsutsui K., Hasegawa K., Aoi K., Yamaga S., Saegusa T. *Macromolecules* **1993**, 26, 7116.
- [69] Saegusa T., Ikeda H., Fujii H. *Macromolecules* **1972**, 5, 359.
- [70] Saegusa T., Ikeda H., Fujii H. *Polym. J.* **1973**, 4, 87.
- [71] Saegusa T., Ikeda H., Fujii H. *Macromolecules* **1973**, 6, 315.
- [72] Kobayashi S., Tokuzawa T., Saegusa T. *Macromolecules* **1982**, 15, 707.
- [73] Cowie J. M. G. *Chemie und Physik der Polymeren*, **1997**, Friedr. Vieweg und Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/Wiesbaden.
- [74] Arotçaréna M., Heise B., Ishaya S., Laschewsky A., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 3787.
- [75] Schlaad H., Antonietti M. *Eur. Phys. J. E* **2003**, 10, 17.
- [76] Kukula H., Schlaad H., Antonietti M., Förster S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1658.
- [77] Bates F. S., Fredrickson G. H. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1990**, 41, 525.

- [78] Leibler L. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1602.
- [79] Matsen M. W., Bates F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1091.
- [80] Matsen M. W., Bates F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 7641.
- [81] Nyrkova I., Khokhlov A. R., Doi M. *Macromolecules*, **1993**, *26*, 3601.
- [82] Förster S., Zisenis M., Wenz E., Antonietti M. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 9956.
- [83] Tuzar Z., Kratochvil P. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1976**, *6*, 201.
- [84] Selb J., Gallot Y. *Developments in Block Copolymers* **1985**, Elsevier Applied Science Publishers, London.
- [85] Tuzar Z., Kratochvil P. *Surface and Colloid Science*, Plenum Press, New York, **1993**, *15*, 1.
- [86] Krämer E., *Dissertation* **1999**, Universität Potsdam.
- [87] Hermsdorf N., *Dissertation* **1999**, Universität Potsdam.
- [88] Won Y.-Y., Davis H. T., Bates F. S. *Science* **1999**, *283*, 960.
- [89] Discher B. M., Won Y. Y., Ege D. S. *Science* **1999**, *284*, 1143.
- [90] Zhang L., Eisenberg A. *Science* **1995**, *268*, 1728.
- [91] Discher B. M., Hammer D. A., Bates F. S., Disher D. E. *Curr. Opinion Coll. Interf. Sci.* **2000**, *5*, 125.
- [92] Bader J. H., Ringsdorf H., Schmidt B. *Angew. Makromol. Chem.* **1984**, *123*, 457.
- [93] Pratten M. K., Lloyd J. B., Hurlpel G., Ringsdorf H. *Makromol. Chem.* **1985**, *186*, 725.
- [94] Yokoyama M., Inoue S, Kataoka K., Yui N., Sakurai Y. *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1987**, *8*, 431.
- [95] Benoit H., Grubisic Z., Rempp P., Decker D., Zilliox J. G. *J. Chem. Phys.* **1966**, *63*, 1507.
- [96] Hillenkamp F., Karas M., Beavis R. C., Chait B. T. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1193.
- [97] Karas M., Bachmann D., Bahr U., Hillenkamp F. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1987**, *78*, 53.
- [98] Räder H. J., Schrepp W. *Acta Polymer* **1998**, *49*, 272.
- [99] Spickermann J., Martin K., Räder H. J., Müllen K., Schlaad H., Müller A. H. E., Krüger R.-P. *Eur. Mass Spectrom.* **1996**, *2*, 161.
- [100] Svedberg T., Nichols J. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1923**, *45*, 2910.
- [101] Binnig G., Quate C. F., Gerber C. *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930.
- [102] Flegler S. L., Heckman J. W., Klomparens K. L., *Elektronenmikroskopie* **1995**, Spektrum Verlag Heidelberg.

- [103] Fresnel A. *Memoirs* N0 XXVIII **1822**, N0 XXX **1823**.
- [104] Drude P. *Lehrbuch der Optik* **1900**, Hirzel, Leipzig, 379.
- [105] Winter R., Noll F. *Methoden der Biophysikalischen Chemie* **1998**, Teubner Studienbücher, Stuttgart.
- [106] Klok H. A., Langenwalter J. F., Lecommandoux S. *Macromolecules*, **2000**, *33*, 7819.
- [107] Justynska J., *Dissertation* **2005**, Universität Potsdam.
- [108] Schrage S., *Dissertation* **2002**, Universität Potsdam.
- [109] Eckhardt D., *Dissertation* **2005**, Universität Potsdam.
- [110] Rayleigh S. J. W. *Philos. Mag.* **1899**, *47*, 375.
- [111] Leibler L. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1602.
- [112] Matsen M. W., Bates F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 7641.
- [113] Matsen M. W., Bates F. S. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1091.
- [114] Wiener N. *Acta Math.* **1930**, *55*, 118.
- [115] Gil E. S., Hudson S. M. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29*, 1173.
- [116] Gallot B. *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 1035.
- [117] Naka K., Yamashita R., Nakamura T., Ohki A., Maeda S. *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, *17*, 269.
- [118] Naka K., Yamashita R., Nakamura T., Ohki A., Maeda S., Aoi K., Tsutsumiuchi K., Okada M. *Macromol. Chem. Phys.* **1997**, *198*, 89.
- [119] Tsutsumiuchi K., Aoi K., Okada M. *Macromol. Rapid Commun.* **1995**, *16*, 749.
- [120] Velandar W. H., Madurawe R. D., Subramanian A., Kumar G., Sinai-Zingde G., Riffle J. S. *Biotechnology and Bioengineering* **1992**, *39*, 1024.
- [121] André X., Zhang M., Müller A. H. E. *Macromol. Rapid. Commun.* **2005**, *26*, 558.
- [122] Weberskirch R., Preuschen J., Spiess H. W., Nuyken O. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 995.
- [123] Witte H., Seeliger W. *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 996.
- [124] Wiesbrock F., Hoogenboom R., Abeln C. H., Schubert U. S. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 1895.
- [125] Hoogenboom R., Leenen M. A. M., Wiesbrock F., Schubert U. S. *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 1773.
- [126] Kuhnert N. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1943.
- [127] Adam D. *Nature* **2003**, *421*, 571.
- [128] Lutz J. F., Schütt D., Kubowicz S. *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 23.
- [129] Lavasanifar A., Samuel J., Kwon G. S. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 169.

- [130] Li C. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 695.
- [131] Wiesbrock F., Hoogenboom R., Leenen M. A. M., Meier M. A. R., Schubert U. S. *Macromolecules* **2005**, *38*, 5025.
- [132] Kobayashi S., Masuda E., Shoda S., Shimano Y. *Macromolecules* **1989**, *22*, 2878.
- [133] Nuyken O., Groß A., Maier G. *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 83.
- [134] Dimitrov I., Kukula H., Cölfen H., Schlaad H. *Macromol. Symp.* **2004**, *215*, 383.
- [135] Kukula H., Schlaad H., Antonietti M., Förster S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1658.
- [136] Klok H.-A., Langenwalter J. F., Lecommandoux S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819.
- [137] Kristof W., Zundel G. *Biophys. Struct. Mech.* **1980**, *6*, 209.
- [138] Eghbali E., Colombani O., Drechsler M., Müller A. H. E., Hoffman H. *Langmuir* **2006**, *22*, 4766.
- [139] Zhang Y., Furyk S., Bergbreiter D. E., Cremer P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14505.
- [140] Zhu P. W., Napper D. H. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **1995**, *98*, 93 und Referenzen darin.
- [141] Uyama H., Kobayashi S. *Chem. Let.* **1992**, 1643.
- [142] Diab C., Akiyama Y., Kataoka K., Winnik F. M. *Macromolecules* **2004**, *37*, 2556.
- [143] Lin P., Clash C., Pearce E. M., Kwei T. K. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **1988**, *26*, 603.
- [144] Christova D., Velichkova R., Loos W., Goethals E. J., Du Prez F. *Polymer* **2003**, *44*, 2255.
- [145] Heskins M., Guillet J. E. *Macromol. Sci. Chem. A2* **1968**, 1441.
- [146] Xia Y., Burke N. A. D., Stöver H. D. H. *Macromolecules* **2006**, *39*, 2275.
- [147] Schild H. G., *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17*, 163.
- [148] Chan K., Pelton R., Zhang J. *Langmuir* **1999**, *15*, 4018.
- [149] Goodwin J. W., Ottewill R. H., Pelton R., Vianello G., Yates D. E. *Brit. Polym. J.* **1978**, *10*, 173.
- [150] Hartgerink J. D., Beniash E., Stupp S. I. *Science* **2001**, *294*, 1684.
- [151] Smith M. B., March J., *March's Advanced Organic Chemistry*, 5th ed. **2001**, John Wiley and Sons.
- [152] Cameron N. S., Eisenberg A., Brown G. R. *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 124.
- [153] Förster S., Berton B., Hentze H. P., Krämer E., Antonietti M., Lindner P. *Macromolecules* **2001**, *34*, 4610.

- [154] Larsson A., Kuckling D., Schönhoff M. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2001**, *190*, 185.
- [155] Tokuhiko T., Amiya T., Mamada A., Tanaka T. *Macromolecules* **1991**, *24*, 2936.
- [156] Kratz K., Hellweg T., Eimer W. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2000**, *170*, 137.
- [157] Antonietti M., Breulmann M., Göltner C. G., Cölfen H., Wong K. K. W., Walsh D., Mann S. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2493.
- [158] Xu J., Zubarev E. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5491.
- [159] Wang Y., Morawetz H. *Macromolecules* **1989**, *22*, 164.
- [160] Aoki T., Kawashima M., Katono H., Sanui K., Ogata N., Okano T., Sakurai Y. *Macromolecules* **1994**, *27*, 947.
- [161] Lichkus A. M., Painter P. C., Coleman M. M. *Macromolecules* **1988**, *21*, 2636.
- [162] Chen F. L., Pearce E. M., Kwei T. K. *Polymer* **1988**, *29*, 2285.
- [163] Kim E. J., Cho S. H., Yuk S. H. *Biomaterials* **2001**, *22*, 2495.
- [164] Kwon I. C., Bae Y. H., Kim S. W. *Nature* **1991**, *354*, 291.
- [165] Beyer H., *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 23. überarbeitete und aktualisierte Auflage, **1998**, Hirzel Verlag Stuttgart.
- [166] Internetadresse für den pK_s-Wert von Difluoressigsäure:
http://www.chem007.com/specification_d/chemicals/supplier/cas/Difluoroacetic%20acid.asp
- [167] Plasson R., Biron J. P., Cottet H., Commeyras A., Taillades J. *J. Chromatogr. A* **2002**, *952*, 239.
- [168] Ballard D. G. H., Bamford C. H. *Proc. Roy. Soc.* **1956**, *A 236*, 384.
- [169] Ballard D. G. H., Bamford C. H., Elliott A. *Makromol. Chem.* **1960**, XXXV, Suppl.2, 222.
- [170] Ballard D. G. H., Bamford C. H. *Chem. Soc., Spec. Publ.* **1955**, *2*, 25.
- [171] Meyer M., Schlaad H. *Macromolecules* **2006**, *39*, 3967.
- [172] Hopwood J. D., Mann S. *Chem. Mater.* **1997**, *9*, 1819.
- [173] Estroff L. A., Hamilton A. D. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3227.
- [174] Chen H., Clarkson B. H., Sun K., Mansfield J. F. *Journal of Colloid and Interface Science* **2005**, *288*, 97.
- [175] Zhu H. Y., Riches J. D., Barry J. C. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 2086.
- [176] Li M., Schnablegger H., Mann S. *Nature* **1999**, *402*, 393.
- [177] Park C., McAlvin J. E., Fraser C. L., Thomas E. L. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 1225.

[178] Yu S. H., Cölfen H. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 2124.

[179] Poché D. S., Moore M. J., Bowles J. L. *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 843.

Danksagung

Ich möchte mich bei allen Bedanken, die zum erfolgreichen Abschluss dieser Arbeit beigetragen haben.

Prof. Dr. Markus Antonietti danke ich für die Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten und die Diskussionen, welche meine Arbeit voran getrieben haben.

Meinem Gruppenleiter Dr. Helmut Schlaad danke ich für die vielen interessanten Diskussionen und die vielen Gestaltungsmöglichkeiten, die mir während der Anfertigung dieser Arbeit ermöglicht wurden.

Für die Zusammenarbeit bei den Lichtstreuuntersuchungen gilt mein Dank Dr. Reinhard Sigel, Birgit Schonert, Antonio Stocco und Arne Stark.

Marlies Gräwert möchte ich herzlich für die Einführung in die GPC-Anlage und die Zusammenarbeit danken.

Für die weiterführende Einführung in die Bedienung des NMR-Gerätes danke ich besonders Olaf Niemeyer.

Desweiteren bin ich folgenden Mitarbeitern für die Durchführung von Analysen und Zusammenarbeit dankbar. Katharina Zesch und Frau Pape (Büro), Irina Shekova (DSC, TGA, Titrationen), Margit Barth (Analysen), Antje Völkel (Analytische Ultrazentrifuge), Dr. Matthias Heydenreich (^{19}F -NMR), Dr. Steffen Weidner (Massenspektrometrie), den Mitarbeitern des Lagers (Laborbedarf), Cliff Janiszewski (Anfertigung der Reaktoren und Reperatur von Glasgeräten), Sylvia Pirok (Elementaranalysen), Anneliese Heilig (SFM), Ursula Lubahn und Dr. habil. Klaus Tauer (für kurze Diskussionen und Einweisung in Arbeitsgeräte) und meinen Laborkollegen Dr. Magdalena Losik, Dr. Doreen Eckhardt, Dr. Justyna Justynska, Katharina Otte, Jessica Brandt, Ines Below, Yufei Luo, Liangchen You, Zofia Hordyjewicz, Anja Greß, Dr. Cecile Huin für die Zusammenarbeit. Allen Kollegen die hier nicht aufgeführt sind und mir im täglichen Laboralltag behilflich waren gilt ebenfalls mein Dank.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Rona Pitschke und Heike Runge für die Messung von vielen TEM-Aufnahmen. Dr. Jürgen Hartmann gilt ebenfalls mein Dank für die Fragestellungen im Zusammenhang mit EDX und TEM.

Meinen Eltern möchte ich ganz herzlich für die finanzielle Unterstützung während des Studiums und alles was sie für mich getan haben danken.

Meinem Freundeskreis danke ich für die vielen interessanten und abwechslungsreichen Unternehmungen.

Meiner Freundin Regine danke ich besonders für die Geduld während der Zeit des Zusammenschreibens sowie für die vielen schönen Momente.