

**Synthese und Untersuchung von neuen  
 $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymeren  
zum Aufbau von polymerunterstützten  
Lipiddoppelschichten**

Dissertation  
zur Erlangung des Grades  
„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie und Pharmazie  
der Johannes Gutenberg-Universität  
in Mainz

**Patrick Théato**  
geboren in Wiesbaden

Mainz 2001

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Betreuung von Prof. Dr. R. Zentel in der Zeit vom September 1998 bis August 2001 am Institut für Materialwissenschaften der Bergischen Universität Gesamthochschule Wuppertal und am Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz angefertigt.

**Für Elena**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Biomaterialien . . . . .	1
1.2	Biologische Membranen . . . . .	1
1.3	Modellmembranen . . . . .	3
1.4	Oberflächenmodifizierungen . . . . .	6
1.5	Oberflächenfixierte Biomembranen . . . . .	9
1.5.1	Membranstabilisierung . . . . .	9
1.5.2	Oberflächenfixierung . . . . .	9
<b>2</b>	<b>Methoden</b>	<b>13</b>
2.1	Untersuchungsmethoden . . . . .	13
2.1.1	Kontaktwinkelmessungen . . . . .	13
2.1.2	Oberflächenplasmonen Spektroskopie . . . . .	14
	Theoretische Grundlagen . . . . .	15
	Kinetikmodus . . . . .	17
2.1.3	Schub-Flächen-Diagramme . . . . .	17
2.1.4	Quarzkristallmikrowaage . . . . .	20
2.1.5	Fluoreszenzmethoden . . . . .	23
2.2	Strukturierungsmethoden . . . . .	23
2.2.1	Micro Contact Printing . . . . .	24
	Stempeln hydrophober Strukturen. . . . .	24
	Stempeln hydrophiler Strukturen. . . . .	24
2.2.2	Entnetzungsphänomene . . . . .	25
<b>3</b>	<b>Aufgabenstellung</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>Synthese</b>	<b>29</b>
4.1	Konzepte . . . . .	29
4.2	Monomersynthesen . . . . .	32
4.3	Initiatorsynthesen . . . . .	36
4.4	Endfunktionalisierte Lipopolymere . . . . .	42
4.4.1	Polymerisationsbedingungen . . . . .	43
4.4.2	ATRP von Acrylamiden . . . . .	45
4.4.3	Synthese der Lipopolymere in Lösung . . . . .	48
4.4.4	Synthese der Polymere an Oberflächen . . . . .	61
4.5	Statistische Lipopolymere . . . . .	65
4.5.1	Polyacrylamid Derivate . . . . .	65
4.5.2	Polyvinylalkohol Derivate . . . . .	71

<b>5</b>	<b>Polymercharakterisierung</b>	<b>73</b>
5.1	Lipoinitiatoren . . . . .	73
5.1.1	Spreitverhalten an der Wasser/Luft-Grenzfläche . . . . .	73
5.1.2	Kalorimetrische Untersuchungen . . . . .	76
5.2	Charakterisation der Polymere in Lösung . . . . .	83
5.2.1	PCD-Messungen . . . . .	83
5.2.2	LCST Untersuchungen der Poly(N-isopropylacrylamide) . . . . .	85
5.2.3	Amphiphiler Charakter der Lipopolymere . . . . .	89
5.3	Charakterisierung der Polymere in ultradünnen Filmen . . . . .	91
5.3.1	Adsorption der Polymere zu ultradünnen Filmen . . . . .	91
5.3.2	Hydrophilie der ultradünnen Filme . . . . .	95
5.3.3	Phasenverhalten der PNIPAM in ultradünnen Filmen . . . . .	97
<b>6</b>	<b>Wechselwirkungen mit Vesikeln</b>	<b>99</b>
6.1	Polymer-Vesikel Wechselwirkung in Lösung . . . . .	99
6.2	Polymer-Vesikel Wechselwirkung an Oberflächen . . . . .	105
<b>7</b>	<b>Substratstrukturierung</b>	<b>119</b>
7.1	Motivation . . . . .	119
7.2	Hydrophob gestempelte Oberflächen . . . . .	119
7.3	Hydrophil gestempelte Oberflächen . . . . .	121
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>129</b>
<b>9</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>133</b>
9.1	Synthesen . . . . .	133
9.1.1	Allgemeines . . . . .	133
	Cysteaminmethyldisulfid <b>1</b> . . . . .	133
	Goldkolloide . . . . .	134
	Kupfer(I)bromid . . . . .	134
9.1.2	Monomere . . . . .	134
	N-Acryloxysuccinimid <b>M1</b> . . . . .	134
	N-Acrylbenzotriazolamid <b>M2</b> . . . . .	135
	Acrylamid <b>M3</b> . . . . .	136
	N-Isopropylacrylamid <b>M4</b> . . . . .	136
	N-(Amino-2-(dimethylamino)-propan)-acrylamid <b>M5</b> . . . . .	137
	N,N-Diethylacrylamid <b>M6</b> . . . . .	137
	N,N-Dimethylacrylamid <b>M7</b> . . . . .	138
	N-(2-Methyldisulfanyl-ethyl)-acrylamid <b>M8</b> . . . . .	138
	(3-Acryloylamino-propyl)-trimethyl-ammonium-iodid <b>M9</b> . . . . .	139
9.1.3	Initiatoren . . . . .	139
	N-Alkylalkanamide <b>2,3,4</b> . . . . .	139
	N-Tetradecyl-4-pyrenyl-butanamid <b>5</b> . . . . .	140

	N,N-Dialkylamine <b>6,7,8</b> . . . . .	141
	N-Tetradecyl-4-pyrenylbutanamin <b>9</b> . . . . .	142
	N-Isopropyl-2-brom-propionamid <b>I1</b> . . . . .	143
	N-Alkyl-2-brom-propionamide <b>I2,I3,I4</b> . . . . .	144
	N,N-Dialkyl-2-brom-propionamide <b>I5,I6,I7</b> . . . . .	145
	N-(2-Brompropionat)-oxysuccinimid <b>I8</b> . . . . .	146
	N-(Pyrenylmethyl)-2-brom-propionamid <b>I9</b> . . . . .	147
	N-Tetradecyl-N-(4-pyrenylbutyl)-2-brom-propionamid <b>I10</b> . . . . .	148
	N-DMPE-2-brom-propionamid <b>I11</b> . . . . .	149
	2-Bromo-N-(2-methyldisulfanyl-ethyl)-propionamid <b>I12</b> . . . . .	149
	Poly(2-Brom-propionatoxystyrol) <b>P57</b> . . . . .	150
9.1.4	Statistische Polyacrylamide . . . . .	150
	Poly(N-acryloxysuccinimid) <b>P59</b> . . . . .	150
	Poly(N-acrylbenzotriazolamid) <b>P60</b> . . . . .	151
	Polymeranaloge Umsetzungen . . . . .	151
	Radikalische Polymerisation . . . . .	151
	Hydrophobierung der Polyacrylamide und Polyisopropylacrylamide . . . . .	153
9.1.5	Endfunktionalisierte Polyacrylamide . . . . .	153
	Kontrollierte Polymerisation . . . . .	153
	Poly(Hydroxystyrol- <i>graft</i> -acrylamid) . . . . .	153
9.1.6	Polyvinylalkoholderivate <b>P73, P74</b> . . . . .	154
	Hydrophobierung zu <b>P73</b> . . . . .	154
	Ionisches Polymer <b>P74</b> . . . . .	154
9.2	Geräte und Methoden . . . . .	154
9.2.1	Kontaktwinkelmessungen . . . . .	154
9.2.2	Oberflächenplasmonen Spektroskopie . . . . .	155
	Substratbereitstellung . . . . .	155
	Oberflächenplasmon-Meßungen . . . . .	156
	Vesikelbereitung . . . . .	157
	Selbstorganisation der Polymere auf Gold . . . . .	158
	Vesikeladsorption bzw. -fusion . . . . .	158
9.2.3	Schub/Flächen-Diagramme . . . . .	158
9.2.4	Quarzkristalmikrowägungen . . . . .	159
9.2.5	Fluoreszenz-Messungen . . . . .	159
9.2.6	Photonenkorrelationsspektroskopie . . . . .	159
9.2.7	PCD-Titrationsen . . . . .	159
9.2.8	Turbidimetrie-Messungen . . . . .	160
9.2.9	DSC-Messungen . . . . .	160
9.2.10	Strukturierungen . . . . .	160
	Mikro-Kontakt-Stempeln . . . . .	160
	Polystyrol Entnetzung . . . . .	161

<b>10 Literaturverzeichnis</b>	<b>163</b>
<b>11 Danksagung</b>	<b>173</b>

## Abbildungsverzeichnis

1	Schematische Darstellung einer Zellmembran nach SINGER und NICOLSON . . . . .	3
2	Klassische Membranmodelle. . . . .	4
3	Schematische Darstellung eines physisorbierten Polymeren auf einem Substrat. . . . .	7
4	Unterschiedliche Wege der Oberflächenfixierung von Lipidmembranen.	10
5	Kontaktwinkel $\Theta_0$ mit den drei Grenzflächenenergien. . . . .	13
6	Kretschmannaufbau der Oberflächenplasmonen Spektroskopie. . . . .	15
7	Oberflächenplasmonen-Reflexionskurve $R(\Theta)$ . . . . .	17
8	Prinzip der kinetischen Messungen der SPS. . . . .	18
9	Schematische Isotherme eines Amphiphils bei konstanter Temperatur.	19
10	Schematische Darstellung des piezoelektrischen Effektes. . . . .	21
11	Prozedur des Mikro-Kontakt-Stempelns. . . . .	24
12	Mikro-Kontakt-Stempeln von wäßrigen Lösungen. . . . .	25
13	Kontrolliertes Entnetzen auf hydrophil/hydrophob strukturierten Trägern.	26
14	Schematische Darstellung einer polymerunterstützten Lipidmembranen auf einer Oberfläche. . . . .	29
15	Synthetische Konzepte zur Darstellung von Lipopolymeren. . . . .	31
16	Synthese von N-Acryloxysuccinimid <b>M1</b> . . . . .	33
17	Synthese von N-Benzotriazolacrylamid <b>M2</b> . . . . .	34
18	Zusammenstellung der synthetisierten Monomere. . . . .	34
19	Synthese von N-Isopropylacrylamid <b>M4</b> . . . . .	35
20	Synthese von Cysteaminmethyldisulfid <b>1</b> . . . . .	36
21	Synthese des Disulfidmonomers <b>M8</b> . . . . .	36
22	2-Brompropionsäureamid: Grundstruktur der Initiatoren für die ATRP.	37
23	Synthese der Dialkylamide <b>2-4</b> [143]. . . . .	37
24	Synthese des Pyrenamids <b>5</b> . . . . .	38
25	Synthese der sekundären Dialkylamine <b>6-9</b> . . . . .	39
26	Direkte Synthese der Initiatoren <b>I1-I8</b> durch Umsetzung der Amine mit 2-Brompropionsäurebromid. . . . .	40
27	Indirekte Synthese der Initiatoren <b>I9-I12</b> . . . . .	41
28	Synthese von $\alpha$ - $\omega$ -endfunktionalisierte Lipopolymeren: a) beginnend vom Lipidanker, b) beginnend von der Oberfläche. . . . .	42
29	Mechanismus der Atomtransfer Radikal Polymerisation (ATRP). . . . .	44
30	ATRP von Acrylamid <b>M3</b> mit dem Modellinitiator <b>I1</b> . . . . .	45
31	NMR der ATRP von Acrylamid <b>M3</b> mit dem Modellinitiator <b>I1</b> in D <sub>2</sub> O.	46
32	Copolymerisation von Acrylamid <b>M3</b> mit N-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid <b>M5</b> mit dem Modellinitiator <b>I1</b> . . . . .	47
33	Polymerisation von Acrylamid <b>M3</b> mit dem lipophilen Initiator <b>I2</b> . . . . .	48
34	NMR des Polymeren aus Acrylamid <b>M3</b> mit dem lipophilen Initiator <b>I2</b> in einem THF/Wasser-Gemisch. . . . .	49

35	Polymerisation von $\alpha$ -funktionalisierten Lipocopolymeren. . . . .	50
36	NMR-Spektrum des $\alpha$ -funktionalisierten Polymeren <b>P4</b> . . . . .	51
37	Schema zu $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymeren. . . . .	54
38	Versuch der Polymerisation des Oberflächenanker Monomeren <b>M8</b> als Endblock. . . . .	55
39	Versuch der Polymerisation des Aktivmonomeren <b>M1</b> als Endblock. Anschließend erfolgt die polymeranaloge Umsetzung zum Oberflächenanker. . . . .	57
40	NMR-Spektrum des gereinigten Polymeren <b>P23</b> . . . . .	58
41	Polymerisation der $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Poly(N-isopropylacrylamide). . . . .	59
42	NMR-Spektrum des gereinigten Polymeren <b>P41</b> . . . . .	61
43	Polymeranaloge Veresterung von Poly(hydroxystyrol) mit 2-Brompropionsäurebromid zum polymeren Initiator <b>P57</b> . . . . .	61
44	Graft-Polymerisation von Acrylamid <b>M3</b> zu Poly(styrol-graft-acrylamid). . . . .	62
45	NMR-Spektren: a) des polymeren Initiators <b>P57</b> , b) des Graftpolymeren <b>P58</b> . . . . .	63
46	Versuch zur Oberflächeninitiation der Polymerisation von Acrylamid mit dem Oberflächeninitiator <b>I12</b> . . . . .	64
47	Zweiter Versuch zur Oberflächeninitiation der Polymerisation von Acrylamid mit in situ präpariertem Oberflächeninitiator. . . . .	64
48	Lösungspolymerisation von <b>M1</b> zu dem reaktiven Präpolymeren <b>P59</b> . . . . .	66
49	Lösungspolymerisation von <b>M2</b> zu dem reaktiven Präpolymeren <b>P60</b> . . . . .	66
50	Polymeranaloge Umsetzungen zu den statistischen Lipopolymeren <b>P61-64</b> . . . . .	67
51	NMR-Spektren des $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymeren <b>P45</b> (rote Kurve) und des statistisch funktionalisierten Polymeren <b>P64</b> (blaue Kurve). . . . .	68
52	Polymeranaloge Umsetzungen zu statistischen Lipopolymeren nach HAUSCH. . . . .	70
53	Reaktionsschema zu den hydrophobierten Polyisopropylacrylamiden <b>P71,P72</b> . . . . .	71
54	Synthese der modifizierten Polyvinylalkohole <b>P73,P74</b> . . . . .	72
55	Isothermen der Initiatoren <b>I2</b> (rote Kurve) und <b>I5</b> (grüne Kurve) bei 25°C auf einer Wassersubphase. . . . .	74
56	Kalottenmodell des Initiators <b>I2</b> in der a) Seiten- und b) Frontansicht. . . . .	75
57	Kalottenmodell des Initiators <b>I5</b> in der a) Seiten- und b) Frontansicht. . . . .	75
58	DSC Messung von <b>I2</b> , 1. Heizkurve (rote Kurve) und 2. Heizkurve (grüne Kurve). . . . .	76
59	DSC Messung von <b>I5</b> , 1. Heizkurve (rote Kurve) und 2. Heizkurve (grüne Kurve). . . . .	77
60	DSC Messung (1. Heizkurve) von polydispersen DMPC-Vesikeln. . . . .	79
61	DSC Messung von polydispersen DMPC-Vesikeln mit dem Initiator <b>I3</b> . 1. Heizkurve (rot) und 2. Heizkurve (grün). . . . .	80

62	DSC Messung von polydispersen DMPC-Vesikeln mit dem Initiator <b>I5</b> . 1. Heizkurve (rot) und 2. Heizkurve (grün). . . . .	81
63	DSC Messung von polydispersen DMPC-Vesikeln mit dem Initiator <b>I6</b> . 1. Heizkurve (rot) und 2. Heizkurve (grün). . . . .	82
64	PCD-Messungen der Polymere <b>P8</b> (×), <b>P22</b> (□), <b>P66</b> (+) und <b>P71</b> (■). . . . .	83
65	PCD-Messungen der Polymere <b>P20</b> (*), <b>P21</b> (+), <b>P22</b> (□) und <b>P23</b> (×). . . . .	85
66	Trübungsmessungen der Polymere <b>P39-P41</b> in wäßriger Lösung. . . . .	86
67	DSC-Messungen der Polymere <b>P39</b> (rote Kurve), <b>P40</b> (grüne Kurve) und <b>P41</b> (blaue Kurve) in wäßriger Lösung. . . . .	88
68	a) Phasenseparation von Chloroform/Wasser mit <b>P3</b> (links) und mit <b>P1</b> (rechts). b) Vergrößerung der unterbundenen makroskopischen Phasenseparation bei Polymer <b>P3</b> (Balken = 100µm). . . . .	89
69	Adsorptionen der 3 unterschiedlichen Lipopolymerarten: a) Chemisorption von $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymeren auf Gold, b) Physisorption von $\alpha$ -funktionalisierten Lipopolymeren auf einer negativen Oberfläche und c) Chemisorption von statistischen Lipopolymeren auf Gold. . . . .	91
70	Mit Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmte Adsorptionskurve des Lipopolymeren <b>P4</b> auf einer negativen Goldoberflächen. . . . .	92
71	Mit Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmte Adsorptionskurve des Lipopolymeren <b>P22</b> auf einer Goldoberfläche. . . . .	93
72	Mit Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmte Adsorptionskurve des Polyvinylalkohols <b>P73</b> auf einer negativen Goldoberfläche. . . . .	94
73	DSC-Messungen von <b>P39</b> frei in Lösung (rote Kurve) und auf Goldkolloiden adsorbiert (grüne Kurve). . . . .	97
74	Durch Photonenkorrelationsspektroskopie bestimmte Größenverteilung von Vesikeln, die in Abhängigkeit des Membranfilterdurchmessers präpariert wurden. Rote Kurve: 50nm, grüne Kurve 100nm und blaue Kurve 1000nm Filterporendurchmesser. . . . .	100
75	PCD-Potential als Funktion der Zugabe von Polymer <b>P22</b> bei der Titration von DMPC-Vesikeln. . . . .	101
76	a) Durch PCS bestimmte Größenverteilung von DMPC-Vesikeln bei der Titration mit Polymer <b>P22</b> . b) Vergrößerung der Verteilungsmaxima. . . . .	102
77	Fluoreszenzspektren des Polymeren <b>P36</b> in Wasser vor (rote Kurve) und nach (grüne Kurve) Vesikelzugabe. . . . .	103
78	Schema der polymeren Micellen des Polymeren <b>P36</b> in wäßriger Lösung und der Adsorption auf eine Vesikeloberfläche. . . . .	104
79	Fluoreszenz-Intensitätsabnahme des Eximerpeaks des Polymeren <b>P36</b> bei Vesikelzugabe. . . . .	105
80	Vorgeschlagerener Mechanismus der Membranbildung auf hydrophilen Lipopolymeren durch Vesikelfusion. . . . .	106
81	Vesikelwechselwirkung mit a) einer Goldoberfläche und b) einer negativen Oberfläche. . . . .	107

82	SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer <b>P4</b> Oberfläche. . . .	108
83	SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer <b>P22</b> Oberfläche. . .	109
84	SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer <b>P66</b> Oberfläche. . .	111
85	SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer <b>P40</b> Oberfläche in Abhängigkeit der Vesikellösungstemperatur. . . . .	112
86	SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer <b>P73</b> Oberfläche. . .	114
87	QCM-Messung der Vesikelfusion auf dem Polymer <b>P73</b> . . . . .	115
88	Induzierte Vesikelfusion durch osmotischen Stress auf einer <b>P66</b> Ober- fläche. . . . .	116
89	QCM Messung der mit Elektrolytlösung induzierten Vesikelfusion auf <b>P73</b> . . . . .	117
90	Wasserdampfkondensation auf einer unstrukturierten, reinen Goldober- fläche (1 cm = 10 $\mu\text{m}$ ). . . . .	120
91	Wasserdampfkondensation auf einer mit hydrophoben Linien struktu- rierten SAM Polymeroberfläche auf Gold (1 cm = 10 $\mu\text{m}$ ). . . . .	121
92	Wasserdampfkondensation auf einer mit hydrophoben Hexagons struk- turierten SAM Polymeroberfläche auf Gold (1 cm = 10 $\mu\text{m}$ ). . . . .	122
93	a) Beginnende Wasserdampfkondensation auf einer mit hydrophilen Quadraten strukturierten Polymeroberfläche auf Gold. b) Fortgeschrit- tende Kondensation unter Ausbildung runder Tröpfchen (1 cm = 10 $\mu\text{m}$ ).123	
94	Entnetzer Polystyrolfilm auf der in Abbildung 93 gezeigten Struktur. Die vormals mit Wasser benetzten Flächen sind jetzt als Löcher im Polystyrolfilm zu erkennen (1 cm = 10 $\mu\text{m}$ ). . . . .	124
95	AFM-Bild eines entnetzten Lochs im Polystyrolfilm. . . . .	125
96	Fluoreszenzbild eines entnetzten Lochs im Polystyrolfilm. . . . .	126
97	Fluoreszenzbild eines entnetzten Lochs im Polystyrolfilm mit angefärb- ten Vesikeln. . . . .	127
98	Messung des a) fort- und b) rückschreitenden Kontaktwinkels. . . . .	155
99	Schematischer Aufbau der Oberflächenplasmon Spektroskopie Appa- ratur. . . . .	156
100	Modifizierte KRETSCHMANN-Anordnung mit Küvette. . . . .	157

## Tabellenverzeichnis

1	Substrate und Liganden die zur SAM fähig sind. . . . .	8
2	Zusammensetzung unterschiedlicher $\alpha$ -funktionalisierter Lipopolymere auf Polyacrylamidbasis (siehe Abbildung 35). Initiator:Monomerverhältnis 1:100 für alle Polymere. . . . .	52
3	Zusammensetzung unterschiedlicher $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Lipopolymere auf Polyacrylamidbasis (siehe Abbildung 39). Initiator:Monomerverhältnis 1:100 für alle Polymere. . . . .	56
4	Zusammensetzung unterschiedlicher $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Lipopolymere auf Poly(N-isopropylacrylamid)-basis (siehe Abbildung 41). Initiator:Monomerverhältnis 1:100 für alle Polymere. . . . .	60
5	Zusammenstellung der statistischen Lipopolymere, die durch polymeranaloge Umsetzung dargestellt worden sind (siehe Abbildung 50). . .	68
6	Polyacrylamide und Polyisopropylacrylamide durch klassische radikalische Polymerisation (siehe Abbildung 53). . . . .	71
7	Tabelle der Phasenübergangstemperaturen der Initiatoren <b>I2-I7</b> . . . . .	78
8	Vergleich der Kollapspunkte der Polymere <b>P39-P41</b> gemessen durch DSC und Trübungsmessung. . . . .	87
9	Schichtdicken einiger Lipopolymere auf Gold nach Adsorption aus Lösung ( $c=1$ mg/mL). . . . .	93
10	Fortschreitender Kontaktwinkel einiger $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Lipopolymere (Struktur siehe Abbildungen 39 und 41). . . . .	95
11	Zusammenstellung der Schichtdickenzunahmen auf einigen Polymeren bei Vesikelzugabe. . . . .	110
12	Statistische Polyacrylamide durch polymeranaloge Umsetzungen. . .	152
13	Polyacrylamide und Isopropylacrylamide durch klassische radikalische Polymerisation. . . . .	152

## Liste der verwendeten Abkürzungen

AIBN	Azodiisobutyronitril
AFM	atomic force microscopy
ATR	attenuated total reflexion
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
CDI	N,N'-Carbonyldiimidazol
DCC	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMPC	Dimyristoyl-L- $\alpha$ -phosphatidylcholin
DMPE	Dimyristoyl-L- $\alpha$ -phosphatidylethanolamin
DSC	Differential Scanning Calorimetry
EE	Ethylacetat
FT-IR	Fourier-Transform Infrarotspektroskopie
GA	grazing angle
GPC	Gelpermeationschromatographie
IPA	Isopropylamin
Jeff-Amin	4,9-Dioxa-1,12-dodecandiamin
KOtBu	Kalium-tert.-butanolat
LB	Langmuir-Blodgett
LCST	lower critical solution temperatur
Me <sub>4</sub> Cyclam	1,4,8,11-Tetramethyl-1,4,8,11-tetraaza-cyclotetradecan
MESNA	Mercaptoenthansulfonsäure Natriumsalz
MWCO	Molecular Weight Cut Off
$\mu$ CP	micro contact printing
NHS	N-Hydroxysuccinimid
NMP	N-Methylpyrrolidon
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
PCD	partical charge detection
PCS	Photonenkorrelationsspektroskopie
PDMS	Poly(diemthylsiloxan)
PE	Petrolether
P <sub>n</sub>	Polymerisationsgrad
PNIPAM	Poly(N-isopropylacrylamid)
PVA	Poly(vinylalkohol)
QCM	quartz crystal microbalance (Quarzkristallmikrowaage)
SAM	self-assembled monolayer
Sdp.	Siedepunkt
Smp.	Schmelzpunkt
SPS	surface plasmon spectroscopy (Oberflächenplasmonen Spektroskopie)
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran

# 1 Einleitung

In die Tiefe mußt du steigen,  
soll sich dir das Wesen zeigen.  
SCHILLER

## 1.1 Biomaterialien

Seit jeher ist die Natur Vorbild für Wissenschaftler. Die über jahrmillionen gebildete Perfektion natürlicher Prozesse fasziniert auch heute noch die Menschen. Besonderes Interesse hat die Idee von Biomaterialien gefunden. Unter Biomaterialien versteht man die Kombination von biologischen (natürlichen) Systemen mit technischen Materialien. Diese Kombination stellt eine ganz besondere Herausforderung an die Wissenschaft, sollen hier doch sehr verschiedenen Systeme zu einem neuen Material vereint werden. Erschwerend ist die Komplexität sowohl von biologischen Systemen, als auch die von synthetischen Systemen.

Besonders Zellen spielen die wesentliche Rolle für das Leben. So ist es nicht verwunderlich, daß Zellen Vorbild für viele verschiedene Forschungsrichtungen sind [1, 2].

Es ist also nicht verwunderlich, daß Zellen auch besonderes Interesse zur Herstellung von Biomaterialien finden. Die Kombination von Zellen oder Zellmembranen mit synthetischen Oberflächen stellt ein ideales Beispiel für Biomaterialien dar. Anwendungen solcher Biomaterialien sind zum Beispiel künstliche Gewebe oder Biosensoren. Um eine solche Kombination zu realisieren sind neben dem Verständnis der biologischen Struktur von Zellmembranen auch die Kenntniss der synthetischen Oberflächenmodifizierung von Nöten.

In den folgenden Kapiteln soll daher eine Einführung in biologische Membranen und in die Oberflächenmodifizierung gegeben werden. Anschließend sollen verschiedene Kombinationsmöglichkeiten besprochen werden.

## 1.2 Biologische Membranen

Jede Zelle ist von einer Zellmembran umgeben. Sie stellt eine der elementaren Voraussetzungen des Lebens dar. Die Individualität einer jeden Zelle wird durch das Umschließen mit einer Membran erreicht. Durch diese Kompartimierung werden verschiedene Reaktionsräume für unterschiedliche biochemische Aufgaben geschaffen. Membranen sind jedoch nicht nur Barrieren zwischen den verschiedenen wäßrigen Kompartimenten mit unterschiedlichem Inhalt, sondern sie ermöglichen auch einen geregelten Transport über diese Barriere hinweg. Dies wird durch den Einbau von bestimmten Enzymen und Transportsystemen bewerkstelligt. Beides sind wichtige Elemente für den Nährstoff- und Energietransport, die Zellteilung und die Zell-Zell-Erkennung [3, 4]. Darüberhinaus ist die Zellmembran an den Bewegungsvorgängen von Zellen beteiligt.

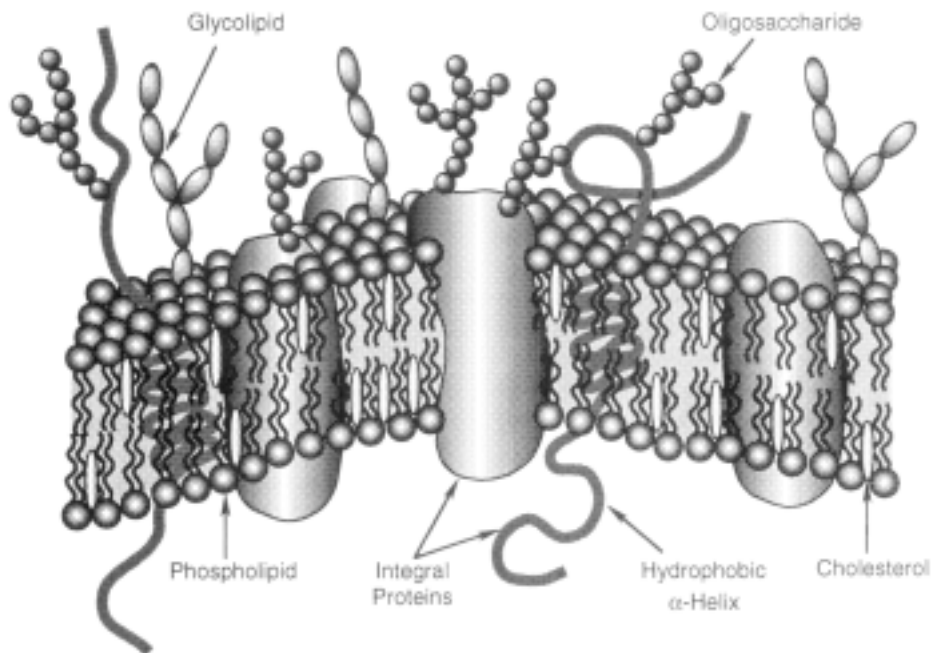
Das prinzipielle Konzept der Zellmembranstruktur ist die Lipiddoppelschicht. Dieses Vielteilchensystem besteht im wesentlichen aus Lipiden, Steroiden und Proteinen [1]. Gemeinsam ist ihnen der amphiphile Charakter, d.h. sie bestehen aus einem hydrophilen und hydrophoben Bereich. Hierdurch können, anhängig von Konzentration und hydrophil-hydrophob Verhältnis, unterschiedlichste Überstrukturen gebildet werden [5]. Typische Beispiele sind Kugelmicellen, Stäbchenmicellen, Scheibchenmicellen, Doppellamellen und Vesikel.

Bemerkenswert ist also die spontane Selbstorganisation dieser Amphiphile in wäßrigen Systemen. Schon früh wurde von der Möglichkeit berichtet, daß sich Doppelschichten ausbilden können [6]. Hier weisen die hydrophilen Köpfe beiderseits nach außen und bilden so die Grenzfläche zum umgebenden Wasser. Die hydrophoben Teile zeigen ins Membran innere und schaffen so einen hydrophoben Bereich. Eine solche Doppelschicht ist der energetisch günstigste Zustand für Lipide, da er die von SINGER und NICOLSON beschriebenen hydrophoben und hydrophilen Wechselwirkungen jeweils maximiert [7]. Es waren eben auch SINGER und NICOLSON, die ein brauchbares Modell zur Beschreibung von Zellmembranen aufstellten [7]. Sie beschreiben in ihrem *fluid mosaic model* die Zellmembran als eine *flüssigkristalline* Matrix. In dieser Lipidmatrix herrscht eine freie Diffusion und Mischbarkeit, analog den Phasen von klassischen Flüssigkristallen [8, 9], in der die integralen Proteine wie Eisberge in einem zweidimensionalen Lipidenmeer schwimmen [8]. Die peripheren Proteine schwimmen nur wie Eisschollen oben auf.

Die in natürlichen Zellmembranen vorkommenden Lipide erstreckt sich auf unterschiedliche Substanzklassen. Man kennt vier Hauptbestandteile: Phosphoglyceride und Sphingolipide als verseifbare Lipide, sowie Terpene und Steroide als nicht-verseifbaren Lipide [1].

Lipiddoppelschichten die nur aus Lipiden gebildet wären, würden eine zu große Fluidität aufweisen, d.h. sie würden bei leichtestem mechanischen Stress zerstört werden. Natürliche Zellmembranen sind daher stabilisiert. Die integralen und peripheren Proteine sind untereinander verbunden, sowohl extrazellulär (Glycocalix), als auch intrazellulär (Zytoskelett). Durch diese Stabilisierung ist die Aufrechterhaltung der Zellform gewährleistet. Darüber hinaus ergibt sich hierdurch die Möglichkeit zur lokalen Kontraktion, bzw. Expansion bei Bewegungsvorgängen (Fortbewegung, Zellteilung) und Membranprozessen (Austülpungen, Einstülpungen). An der intrazellulären Membranoberfläche geschieht dies durch ein Spektrin-Aktin-Ankyrin-Netzwerk [10]. Die Glycocalix entsteht durch an Membranlipide und Membranproteine gebundene Oligosaccharid Ketten [11], welche dann hauptverantwortlich für Zell-Zell-Erkennungen sind [3].

Die Zellmembran besitzt also einen sehr komplexen Aufbau. Deshalb ist in Abbildung 1 eine schematische Darstellung einer natürlichen Zellmembran wiedergegeben. Diese faßt die genannten Ausführungen bildlich zusammen.



*Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Zellmembran nach dem Modell von SINGER und NICOLSON [7].*

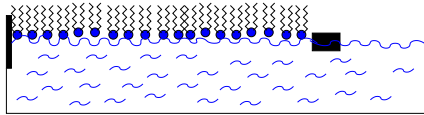
### 1.3 Modellmembranen

Der beschriebene komplexe Aufbau von natürlichen Zellmembranen macht es schwierig detaillierte Untersuchungen an diesen durchzuführen. Lediglich die Patch-Clamp-Methode lässt sich zur Untersuchung von integralen Transportproteinen heranziehen [12]. Daher besteht die Notwendigkeit von Modellsystemen mit einem eindeutigen Aufbau, um tiefgehende Studien zum Verständnis der natürlichen Zellmembran durchführen zu können.

Die spontane Selbstorganisationstendenz amphiphiler Moleküle aufgrund des hydrophoben Effektes ist Grundlage aller untersuchten Modellmembranen [13, 21]. Ziel aller Modellmembranen ist es verschiedene Untersuchungen an diesen durchzuführen. Die hierdurch erhaltenen Ergebnisse lassen dann Rückschlüsse auf Struktur-Eigenschafts-Beziehungen zu. Modellmembranen lassen es aber auch auf einfachem Wege zu neben natürlichen Lipiden, auch synthetische Lipide [14, 15, 16] zu verwenden. Synthetisch dargestellte Lipide haben den Vorteil der möglichen späteren Stabilisierung der erhaltenen Membranen.

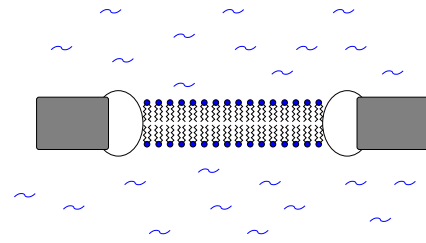
Abbildung 2 gibt eine Übersicht der zurzeit üblichen Modellmembranen. Dies sind LANGMUIR-BLODGETT-Filme [17], schwarze Lipidmembranen [18], Liposomen [19] – oder auch Vesikel genannt – und substratunterstützte Lipiddoppelschichten [20]. Jedes dieser Modellsysteme spiegelt mindestens eine oder mehrere Charakteristika

LANGMUIR Filme



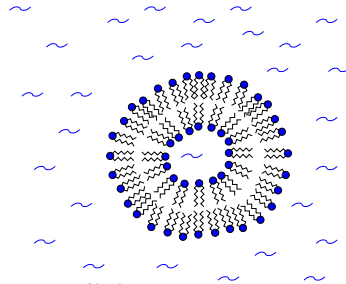
Monoschicht

Planare Lipidmembranen

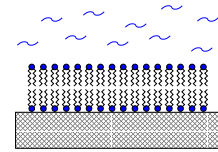


Freistehende Doppelschicht (BLM)

Liposome



Vesikel



Substratunterstützte Lipiddoppelschichten

*Abbildung 2: Klassische Membranmodelle.*

von Membranen wieder. Gleichzeitig bieten sie einen großen Bereich von variierbaren Parametern, die das Zusammenspiel zwischen bekannten und unbekanntem Phänomenen in solchen Modellsystemen ermöglichen.

Das einfachste und zugleich älteste Biomembranmodell stellt die Langmuir-Blodgett-Schicht dar [17]. Sie wird durch Spreiten lipophiler Moleküle auf einer Wasseroberfläche gebildet. Schon die alten Babylonier fanden Verwendung für diese Phänomene, jedoch nicht aus wissenschaftlicher Sicht, sondern zur Wahrsagung von Gesundheit, Krieg oder Wohlstand [22]. In den durch Spreiten eines Lipids gebildeten Monoschichten ragen die hydrophilen Köpfe ins Wasser und die hydrophoben Kohlenwasserstoffketten sind in die Gasphase gerichtet. Anfang des Jahrhunderts hat LANGMUIR diese intensiv untersucht [23]. Auch wenn diese Monoschichten nur der Hälfte einer Lipiddoppelschicht entsprechen, lassen sich wichtige Erkenntnisse über die Stabilität, das Phasenverhalten und die Orientierung von Lipiden erhalten. Diese sind über andere Modellmembrane nicht oder nur schwer zugänglich. Desweiteren lassen sich Aussagen über die Wechselwirkung von Lipiden mit anderen Molekülen treffen. So ist das Mischungsverhalten von Lipiden in der Monoschicht mit anderen Molekülen [24] und das Verhalten des LANGMUIR-BLODGETT-Filmes in Anwesenheit von Molekülen in

der Subphase [25, 26] experimentell zugänglich. Mittels einer Filmwaage lassen sich diese monomolekularen Filme durch Schub-Flächen-Diagramme (Isothermen) charakterisieren. Durch Kombination mit fluoreszenzmikroskopischen Methoden lassen sich so Entmischungs- und Kristallisationsphänomene in der Monoschicht direkt sichtbar machen [27].

Die schwarze Lipidmembran oder auch als planare Doppelschicht bezeichnet stellt eine wesentlich bessere Annäherung an die natürliche Zellmembran dar [18, 28]. Schwarze Lipidmembranen werden durch das Streichen einer geeigneten Lipidlösung über ein Loch in einer Teflonfolie, welche zwei wäßrige Kompartimente voneinander trennt, hergestellt. Es bildet sich zuerst eine dicke Lamelle aus, an der Interferenzfarben beobachtet werden können. Nach einigen Sekunden bilden sich schwarze Punkte aus, die langsam zusammenwachsen, bis die ganze Membran aufgrund destruktiver Interferenz schwarz erscheint. In diesem Zustand besteht die Membran aus einer orientierten Lipiddoppelschicht, die die beiden Kompartimente räumlich voneinander trennt. Daher lassen sich an dieser Modellmembran sehr gut Leitfähigkeits-, Kapazitäts- oder Transportstudien von inkorporierten Proteinen durchführen [29, 30]. Schwarze Lipidmembranen können jedoch nur oberhalb der Phasenumwandlungstemperatur der verwendeten Lipide existieren. Kühlt man die fluide Membran unterhalb dieser Temperatur ab, so bricht die Membran sofort zusammen. Der große Nachteil der schwarzen Lipidmembranen ist ihre kurze Lebenszeit von nicht mehr als einigen Stunden.

Liposome (Vesikel) sind sphärisch geschlossene Strukturen einer Lipidmembran, die ein wäßriges Kompartiment in Analogie zu Zellen einschließen und stellen daher die beste Beschreibung des biologischen Vorbildes, der Zellmembran, dar [31, 32]. Abhängig von der Präparationsmethode können vollkommen verschiedene Systeme entstehen, die sich sowohl in ihrem Durchmesser von 20nm bis 100 $\mu$ m, als auch in der Anzahl ihrer Lamellen unterscheiden. Man unterscheidet:

- **kleine unilamellare Vesikel (SUV)** mit einem Durchmesser bis zu 50nm. Sie bestehen nur aus einer Doppelschicht, welche zudem noch einen sehr hohen Krümmungsradius aufweist. Dies wird durch eine größere Anzahl an Lipidmolekülen im äußeren Monolayer als im inneren Monolayer erreicht.
- **große unilamellare Vesikel (LUV)** mit ebenfalls nur einer Doppelschicht, jedoch Größen von über 50nm. Der so verringerte Krümmungsradius der Membran führt zu praktisch spannungsfreien Vesikeln.
- **multilamellare große Vesikel (MLV)** mit einem Durchmesser größer 100nm. Sie weisen zusätzlich mehrere Doppelschichten auf und sind damit mehrschalig. Bei größeren Systemen ergibt sich ein fließender Übergang zu **multivesikularen Vesikeln (MVV)**, in denen ein Vesikel andere komplette Vesikel einschließt.

Vesikel eignen sich prinzipiell für die Durchführung von Permeabilitätsmessungen [33], Membranerkennungsversuchen [31], Stabilitäts- und Fluiditätsuntersuchungen [34, 35, 36] sowie Membranrekonstitutionsexperimenten [37, 38]. Weiterhin ist die

Verwendung von Vesikel als Arzneistoffträger ein wachsender Forschungsbereich [39, 40].

Substratunterstützte Lipiddoppelschichten stellen Membranen mit erhöhter Stabilität im Vergleich zu schwarzen Lipidmembranen dar. Da dies ein Schwerpunkt der Arbeit ist, soll in Kapitel 1.5 ausführlicher darauf eingegangen werden.

## 1.4 Oberflächenmodifizierungen

Bevor jedoch Lipidmembranen auf Oberflächen fixiert werden können, um substratunterstützte Lipiddoppelschichten zu erhalten, ist eine geeignete Oberflächenmodifizierung durchzuführen. Denn für viele Eigenschaften eines Materials ist seine Oberflächenbeschaffenheit verantwortlich. Daher ist die definierte Oberflächenmodifizierung mit dünnen und insbesondere ultradünnen (Filme molekularer Dicke) Schichten von großem Interesse. In der Grenzflächenforschung spielt daher die Modifizierung von klassischen anorganischen Festkörpern mit organischen Materialien eine wesentliche Rolle. Als Beispiel sei hier nur das Gebiet der Sensorik als eines von vielen erwähnt [41].

Gegenüber niedermolekularen Verbindungen besitzen Polymere hier eine deutliche Überlegenheit. Denn durch die geeignete Wahl von Monomeren bzw. durch polymeranaloge Umwandlungen läßt sich fast jede beliebige physikalische oder chemische Eigenschaft einstellen. Durch die gezielte Eigenschaftskombination innerhalb eines Moleküls, die sich bei Copolymeren leicht realisieren läßt, wird für den Beschichtungsprozeß nur eine einzige Molekülsorte gebraucht. Ein letztlich preiswerter Prozeß ist die Konsequenz.

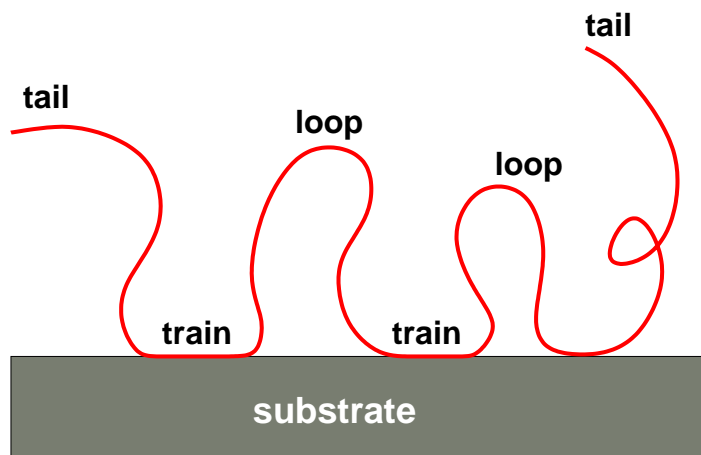
Polymere können durch verschiedene Methoden auf Oberflächen angebracht werden. Man unterscheidet hier zwischen der Chemisorption, d.h. der kovalenten Anbindung an das Substrat, und der Physisorption, d.h. der nicht-kovalenten Bindung an das Substrat durch z.B. elektrostatische Kräfte. Die wohl technisch bedeutendste Methode der Physisorption ist das Aufschleudern (engl. spin-coating) einer Polymerlösung auf ein rotierendes Substrat. Verwandte Prozesse dieser Art ist das Aufsprühen (Lackieren) und das Tauchen in eine Polymerlösung oder -schmelze. Die Schichtdicken all dieser Methoden liegt im Bereich von 10nm und 1 mm. Es können jedoch lediglich planare Träger verwendet werden und die Dicke ist schwer einstellbar. Um die Stabilität dieser Filme zu erhöhen werden die Polymere nachträglich vernetzt (z.B. Fotolacke).

Die in Kapitel 2.1.3 angesprochenen LANGMUIR-BLODGETT-Filme lassen sich als hochorientierte ultradünne Filme auf planare Träger übertragen [42]. Diese Methode gestattet es hochgeordnete Multischichten durch mehrfaches Übertragen herzustellen, ist jedoch von großem technischen Aufwand und nur auf amphiphile Moleküle anwendbar.

Wesentlich flexibler ist hier das von DECHER entwickelte Verfahren zum Aufbau von Polymermultischichten [43]. Hierbei wird durch alternierendes Eintauchen eines geladenen Trägers in zwei entgegengesetzt geladene Polyelektrolytlösungen möglich Schichten immer gleicher Dicke zu übertragen [44]. Es herrscht zwar eine gewisse

Durchdringung der Schichten, doch die Grundordnung bleibt erhalten. Mittlerweile konnte gezeigt werden, daß es auf diese Weise möglich ist Polyelektrolyte mit funktionellen Gruppen als dünne Filme mit vielfältigen Eigenschaften herzustellen. So gelang zum Beispiel auch der Einbau von Proteinen in Multischichten [45].

Die letzte Methode einfach dünne Polymerfilme zu erhalten, besteht in dem direkten Kontakt von Oberflächen mit Polymerlösungen. Polymere können an der Oberfläche adsorbieren, sofern die Oberflächen-Polymer Wechselwirkung die Wechselwirkung zwischen Lösungsmittel und Polymer übertrifft. Bei den adsorbierten Ketten unterscheidet man zwischen adsorbierten Segmenten (train), Schleifen zwischen zwei adsorbierten Segmenten (loop) und Kettenenden, die nicht an der Oberfläche adsorbiert sind (tail). Dies ist nochmal schematisch in Abbildung 3 gezeigt. Die Adsorption von Blockcopolymeren stellt ein Sonderfall dar. Hier kann man je nachdem, welcher Block die größere Wechselwirkung mit dem Substrat zeigt, definierte Filme fertigen.



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung eines physisorbierten Polymeren auf einem Substrat.

Da die physisorbierten Filme nur auf schwachen Wechselwirkungen mit dem Substrat beruhen, besitzen diese Filme gewisse Stabilitätsprobleme. Für viele Anwendungen besteht daher die Notwendigkeit der festen (kovalenten) Anbindung an das Substrat. Es wurde daher für eine Reihe von Trägermaterialien entsprechende Haftgruppen entwickelt, die eine kovalente Bindung mit dem Substrat eingehen können. Sofern die oberflächenaktiven Moleküle zusätzlich noch eine lange Alkylkette tragen, so bewirkt der hydrophobe Effekt [13] auch bei der Chemisorption eine spontane Selbstorganisation auf der Oberfläche. Dieser Vorgang wird auch *self-assembly* (SA) genannt. Die erhaltenen Schichten werden dann auch als *self-assembled monolayers* (SAM) bezeichnet. Die Tabelle 1 zeigt welche Substrate mit welchen Liganden SAMs bilden [46].

Für die kovalente Anbindung eines Polymeren gibt es nun zwei Vorgehensweisen. Bei der einen wird das Substrat zuvor mit einem SAM beschichtet, dessen einzelne Moleküle am Ende der Alkylkette jeweils eine weitere reaktive Gruppe tragen. Diese

*Tabelle 1: Substrate und Liganden die zur SAM fähig sind.*

Substrat	Ligand	Bindung
Au	RSH, ArSH (Thiole)	RS-Au
Au	RSSR (Disulfide)	RS-Au
Au	RSR (Sulfide)	RS-Au
Au	RSO <sub>2</sub> H	RSO <sub>2</sub> -Au
Au	R <sub>3</sub> P	R <sub>3</sub> P-Au
Ag	RSH, ArSH	RS-Ag
Cu	RSH, ArSH	RS-Cu
Pd	RSH, ArSH	RS-Pd
Pt	RNC	RNC-Pt
GaAs	RSH	RS-GaAs
InP	RSH	RS-InP
SiO <sub>2</sub>	RSiCl <sub>3</sub> , RSi(OR) <sub>3</sub>	Siloxan
Si/SiH	(RCOO) <sub>2</sub> (rein)	R-Si
Si/SiH	RCH=CH <sub>2</sub>	RCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Si
Si/SiCl	RLi, RMgX	R-Si
Metalloxide	RCOOH	RCOO <sup>-</sup> ...MO <sub>n</sub>
Metalloxide	RCONHOH	RCONHOH...MO <sub>n</sub>
ZrO <sub>2</sub>	RPO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	RPO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> ...Zr <sup>IV</sup>
In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /SnO <sub>2</sub> (ITO)	RPO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	RPO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> ...M <sup>n+</sup>

können nun mit entsprechenden reaktiven Gruppen eines Polymeren reagieren und es so kovalent anbinden.

Die andere Möglichkeit ist die direkte Ausstattung der Polymere mit reaktiven Gruppen. Diese können dann mit der Oberfläche reagieren. Es bieten sich prinzipiell die gleichen Gruppen wie im vorher besprochenen Fall an, jedoch muss sichergestellt werden, daß diese nicht miteinander reagieren können. Andernfalls können Vernetzungsreaktionen auftreten.

Für die Chemisorption auf Goldoberflächen haben sich Disulfidgruppen als geeignet erwiesen. So wurden verschiedene schwefelhaltige Polymer synthetisiert. Zu finden sind unter anderem Polymere auf Styrol- [47], Acrylat- [48], Methacrylat- [49, 50] und Siloxanbasis [51].

Mit diesen beiden Methoden ist es möglich stabile Polymerfilme mit mehreren Nanometer Dicke zu erhalten. Die Dicke der Filme ist abhängig von der Anzahl der Ankergruppen, der Konzentration der Lösung, der Lösungsmittelgüte und des Molekulargewichtes des Polymeren.

Alternativ zu den aufgeführten Methoden, bei denen die Polymerketten an die Oberfläche gepfropft werden, besteht die Möglichkeit die Polymerketten von der Oberfläche wachsen zu lassen. Eine Methode die dies im technischen Einsatz ermöglicht

stellt die Plasmapolymersation dar [54]. Bei dieser undefiniert ablaufenden Polymerisationsart werden durch elektrische Entladungen Radikale im Monomer und auf der Oberfläche erzeugt, die dann die Polymerisation starten. Einen definierteren Ansatz konnte RÜHE zeigen, in dem er Azoinitiatoren an einer Oberfläche chemisorbierte und dadurch im Stande war Polymere von der Oberfläche wegwachsen zu lassen. Hierdurch ist es möglich eine wesentlich höhere Belegungsdichte an Polymeren zu erhalten. Mittels photochemischer Initiierung gelang es so auch strukturierte Träger herzustellen [52, 53].

## 1.5 Oberflächenfixierte Biomembranen

### 1.5.1 Membranstabilisierung

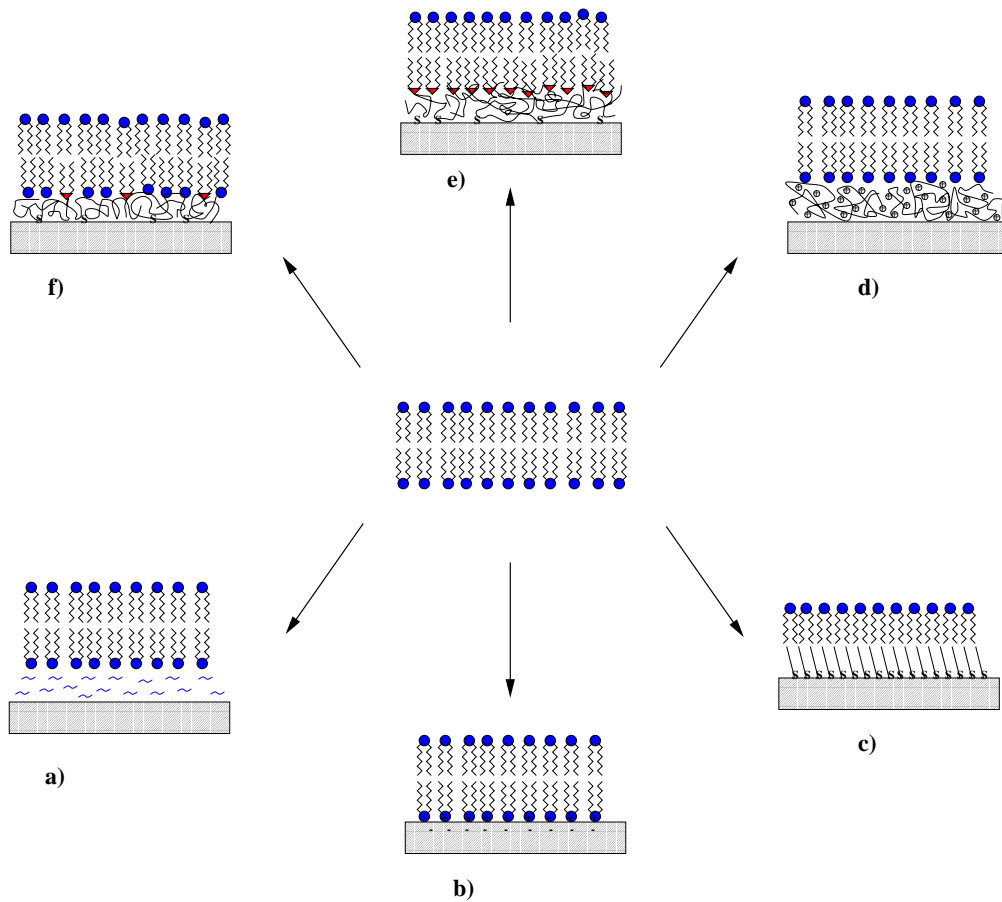
Um Modellmembranen zu stabilisieren wurden viele Versuche unternommen. Die ersten wurden 1936 unternommen, um Monoschichten durch Polymersysteme zu stabilisieren [55, 56]. Mittlerweile sind verschiedenste Möglichkeiten zur Stabilisierung von Vesikeln verwirklicht worden. Eine ausführliche Darstellung dieser findet man bei RINGSDORF et al. [57]. Man kann hier drei Hauptgruppen unterscheiden:

- Einbau einer polymerisierbaren bzw. polykondensierbaren Gruppe in Lipide. Nach erfolgreicher Orientierung der Membran kann dann polymerisiert [58, 59, 60] oder polykondensiert [61, 62] werden.
- Aufbau eines Zytoskeletts mit einem Polymersystem durch Wechselwirkung der Modellmembran mit einem „polymeren Gegenion“ (Polyelektrolyt) [63, 64, 65, 147] oder durch Insertion hydrophobisierter wasserlöslicher Polymere [67].
- Verwendung präpolymerisierter Amphiphile mit einem hydrophilen Spacer [68, 69, 70, 71, 72, 73].

### 1.5.2 Oberflächenfixierung

Die erfolgreiche Stabilisierung von Vesikeln führte zur Frage nach detaillierteren Untersuchungen der dargestellten Systeme. Aus diesem Problem heraus hat sich dann die Idee der oberflächenfixierten Lipidmembranen entwickelt. Dadurch könnten die bekannten Möglichkeiten der Untersuchungsmethoden (siehe Kapitel 2) genutzt werden, um ein weiteres Verständnis von Modellmembranen zu erlangen. Es haben sich daher verschiedene Modelle von oberflächenfixierten Membranen entwickelt, welche ihrerseits wieder auf die bereits beschriebenen drei Hauptgruppen der Stabilisierungsmöglichkeiten von Membranen mehr oder weniger zurückgreifen, siehe Abbildung 4.

Gemeinsam ist allen Methoden, daß eine Trennung der Membran von der festen Oberflächen durch ein nanometer dickes, irgendwie geartetes Kissen, erfolgt [74]. Hierdurch sollen die thermodynamischen und strukturellen Eigenschaften der freien Doppelschicht beibehalten werden. Die unterschiedlichen Modelle sind:



**Abbildung 4:** *Unterschiedliche Wege der Oberflächenfixierung von Lipidmembranen.*

- a) Im einfachsten Fall ist die Lipiddoppelschicht direkt auf einer hydrophilen Oberfläche (z.B.  $\text{SiO}_2$ ) durch eine wenige Nanometer dicke Wasserschicht von der Oberfläche getrennt [75, 76]. Die so erhaltene Membran weist die gleiche laterale Mobilität vor, die in gewöhnlichen fluiden Doppelschichten gefunden wird. Solche Systeme sind einfach herzustellen, ihre Langzeitstabilität ist aber nicht zufriedenstellend.
- b) Lipiddoppelschichten können auch durch Bindung der inneren Monoschicht an die Oberfläche erhalten werden [36, 77]. Dies kann z.B. durch thiolterminierte Phospholipide [78] erreicht werden. Die Stabilität der Membran ist hier zwar erhöht, jedoch auf Kosten der Fluidität der unteren Monoschicht. Die Inkorporation von integralen Proteinen scheidet daher bei diesem Modell aus.
- c) Ebenso lassen sich Monoschichten auf hydrophoben Oberflächen, aus z.B. Octadecanthal auf Gold, bilden [79]. Sie stellen zwar im strengen Sinne keine Doppelschicht dar, bieten jedoch Möglichkeiten um z.B. Zell-Zell-Erkennungen

zu studieren.

- d) Membranen aus ionischen Lipiden lassen sich auch auf Polyelektrolytschichten [80, 81], z.B. Poly(ethylenimin) oder Poly(acrylamidisopropylsulfonsäure), fixieren. Nicht immer weisen die so gebildeten Membranen die natürliche Fluidität auf. Das gebildete Polymerkissen weist durch die Ladung ein definiertes Ionenreservoir vor, welches besonders für die Untersuchung von Ionen-Transportproteinen von Nöten ist [82].
- e) Copolymere aus präpolymerisierten Amphiphilen und Ankergruppen lassen sich auch als Fixierungseinheit verwenden [78]. Es ist wieder ein Polymerkissen zwischen Substrat und Membran vorhanden, jedoch ist die eingeschränkte Mobilität der Lipide zu beachten, da diese praktisch am Polymer „angekettet“ sind.
- f) Verwendet man ein Copolymer mit nur wenigen amphiphilen Gruppen, so können diese durch Insertion in die Doppelschicht die Membran auf der Oberfläche verankern [83, 84, 85, 86]. Es stellt sich hierdurch auch nicht mehr das Problem der eingeschränkten Fluidität der Membran, da nur wenige Lipide „angekettet“ sind.

Aus der Aufzählung wird sehr deutlich, daß die Modellmembranen zunehmend komplexer werden. Viele Parameter beeinflussen ein jeweiliges System und diese komplexen Systeme sind für Spezialanwendungen konzipiert.

Es ist auch ersichtlich, daß die Verwendung solcher komplexer Biosysteme als funktionale Materialien ebensowenig komplexe Polymere fordert.



## 2 Methoden

Ein Mann, der recht zu wirken denkt, muß auf das beste Werkzeug halten.  
GOETHE

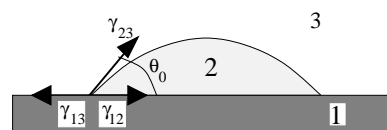
### 2.1 Untersuchungsmethoden

Beschäftigt man sich mit der Untersuchung an dünnen Filmen, ist es notwendig, daß einem die richtigen Methoden zu deren Charakterisierung zur Verfügung stehen. Diese sind in der Regel Meßmethoden die es erlauben nanometer dicke Filme auf Oberflächen zu charakterisieren. Daher sollen diese in einem zweiten einleitenden Kapitel kurz beschrieben werden. Im besonderen handelt es sich bei den in dieser Arbeit verwendeten Methoden um Kontaktwinkelmessungen, die Oberflächenplasmonen Spektroskopie, Schub-Flächen-Diagramme, Quarzkristallmikrowägungen und verschiedene Fluoreszenzmethoden.

#### 2.1.1 Kontaktwinkelmessungen

Die Benetzbarkeit einer Oberfläche mit Flüssigkeiten hat in allen praktischen Bereichen eine fundamentale Bedeutung, denn sie stellt ein äußerst sensitives Maß für deren Struktur und Beschaffenheit dar [87]. Insbesondere die Benetzung einer Oberfläche mit einem Wassertropfen liefert wertvolle Informationen über deren Hydrophilie bzw. Hydrophobie [88].

Die Form eines Flüssigkeitstropfens wird unter Vernachlässigung seiner rheologischen Eigenschaften nur durch die Schwerkraft und seiner Oberflächenspannung bestimmt. Steht nun der Tropfen in Wechselwirkung mit einer Oberfläche, so bestimmt deren Oberflächenenergie den Benetzungswinkel des Tropfens, d.h. seine makroskopische Verformung [89].



**Abbildung 5:** Kontaktwinkel  $\Theta_0$  mit  $\gamma_{13}$  der Grenzflächenenergie zwischen fest und gasförmig,  $\gamma_{12}$  der Grenzflächenenergie zwischen flüssig und fest sowie  $\gamma_{23}$  der Grenzflächenenergie zwischen flüssig und gasförmig.

Gemessen wird der Kontaktwinkel eines liegenden Tropfens auf einer Oberfläche. Wird die Oberfläche nicht vollständig benetzt, so bildet sich ein Flüssigkeitstropfen, dessen tangentialer Kontaktwinkel zur Grenzfläche bestimmt werden kann. Der Kontaktwinkel  $\Theta_0$  ist in Abbildung 5 mit den dazugehörigen Oberflächenspannungen dar-

gestellt. Mit den eingezeichneten Vektoren der Oberflächenspannungen lassen sich nun die Gleichungen von YOUNG und DUPRÉ für Flüssigkeitstropfen auf Oberflächen, die einem Gas ausgesetzt sind, ableiten.

$$\gamma_{23}(1 + \cos \Theta_0) = W_{123} \quad \text{YOUNG-DUPRÉ Gleichung} \quad (1)$$

oder

$$\gamma_{12} + \gamma_{23} \cos \Theta = \gamma_{13} \quad \text{YOUNG Gleichung.} \quad (2)$$

$W_{123}$  steht hier für die Adhäsionsenergie pro Flächeneinheit der Oberfläche 1, auf der der Tropfen 2 im Medium 3 haftet.

Der Kontaktwinkel  $\Theta_0$  stellt eine thermodynamische und damit rein makroskopische Größe dar, unabhängig von der Natur der Kräfte zwischen den Molekülen, solange diese von geringerer Reichweite sind als die Dimension des Tropfens. Der makroskopische Kontaktwinkel sagt also nichts über den „molekularen Kontaktwinkel“, sprich die Form des Flüssigkeitsprofils an der Grenzfläche, aus [87].

Der Kontaktwinkel einer gegebenen Flüssigkeit ist also umgekehrt proportional zur Benetzbarkeit einer Oberfläche. Wird eine Oberfläche nicht benetzt, bestehen also keine attraktiven Wechselwirkungen zwischen der Flüssigkeit und der Oberfläche, so ergibt sich ein Kontaktwinkel von  $180^\circ$ . Bei zunehmender Wechselwirkung zwischen der Flüssigkeit und der Oberfläche geht der Kontaktwinkel gegen  $0^\circ$ , es bildet sich ein Film. Generell gelten Kontaktwinkel kleiner  $10^\circ$  als nicht meßbar. Typische Kontaktwinkel für Wasser auf einer reinen Kohlenwasserstoffoberfläche sind z.B. für Polyethylen oder SAMs aus Alkanthiolen  $110 - 118^\circ$ . Es gilt allgemein, daß Kontaktwinkel kleiner  $80^\circ$  typisch für hydrophile Oberflächen und Kontaktwinkel größer  $100^\circ$  typisch für hydrophobe Oberflächen sind.

In der Praxis mißt man die Winkel des fortschreitenden  $\Theta_a$  (advancing) und des rückziehenden  $\Theta_r$  (receding) Tropfens, die sich im Idealfall nicht voneinander unterscheiden sollten. Im Experiment weichen die beiden Werte jedoch häufig voneinander ab; man mißt Hysteresen. Zu den Faktoren, die diese Hysterese bestimmen, zählen, unter anderem, die Oberflächenrauigkeit, die Löslichkeit einer Festkörperkomponente oder die Reorientierung von Molekülen auf der Oberfläche. Jedoch ist eine quantitative Auswertung der Hysterese aufgrund der Vielzahl der einfließenden Parameter in der Regel nicht möglich.

### 2.1.2 Oberflächenplasmonen Spektroskopie

Die Oberflächenplasmonen Spektroskopie (SPS) stellt eine optische Untersuchungsmethode dar, mit der man Änderungen der molekularen Architektur an fest/flüssigen oder fest/gasförmigen Grenzflächen detektieren kann. Insbesondere lassen sich kinetische Messungen mit guter Zeit- und Schichtdicken-Auflösung durchführen. Sie hat sich daher in dem Bereich der Biomaterialcharakterisierung als ein äußerst nützliches Hilfsmittel erwiesen.

### Theoretische Grundlagen

Oberflächenplasmonen sind Ladungsdichtewellen eines fast freien Elektronengases eines Metalls, die sich entlang der Grenzfläche zwischen dem Metall und einem dielektrischen Medium ausbreiten. Die Wahl des Metalls ist kritisch, da es dem Modell des Elektronengases genügen muss. Passende Metalle sind Silber, Gold, Kupfer und Aluminium, von denen Silber und Gold die breiteste Verwendung finden. Silber ergibt sehr scharfe Oberflächenplasmonen Resonanz Peaks, Gold liefert eine sehr gute Stabilität. In der Praxis finden zwei experimentelle Aufbauten Anwendung: der Otto-[90] und der Kretschmannaufbau [91], wobei letzterer größere Verwendung findet und daher hier detailliert beschrieben werden soll.

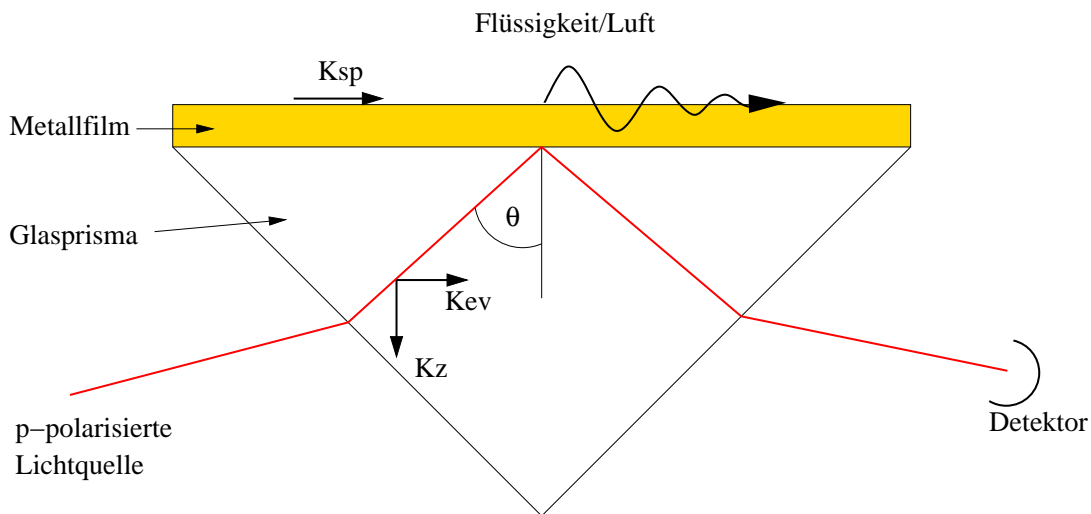


Abbildung 6: Kretschmannaufbau der Oberflächenplasmonen Spektroskopie.

Der Kretschmannaufbau, siehe Abbildung 6, basiert auf dem Phänomen der totalen internen Reflexion. Dies tritt auf, wenn sich Licht durch ein optisch dichtes Medium ausbreitet und auf eine Grenzfläche zwischen diesem Medium und einem optisch dünneren Medium trifft. Dann wird das Licht in das optisch dichtere Medium zurück reflektiert. Jedoch penetriert ein Teil des Lichtes, die evaneszente Welle oder Feld, in das optische dünnere Medium bis zu einer Tiefe von einer Wellenlänge.

In der Oberflächenplasmonen Spektroskopie wird eine monochromatische, p-polarisierte Lichtquelle verwendet und die Grenzfläche zwischen beiden optischen Medien ist mit einem dünnen Metallfilm der Schichtdicke kleiner der Wellenlänge des verwendeten Lichtes beschichtet. Der Wellenvektor des evaneszenten Feldes  $K_{ev}$  ist dann gegeben als

$$K_{ev} = \frac{\omega_0}{c} \eta_g \sin \Theta \quad (3)$$

wobei  $\omega_0$  die Frequenz des einfallenden Lichtes,  $\eta_g$  der Brechungsindex des optisch dichten Mediums (Glas),  $\Theta$  der Winkel des einfallenden Lichtes und  $c$  die Licht-

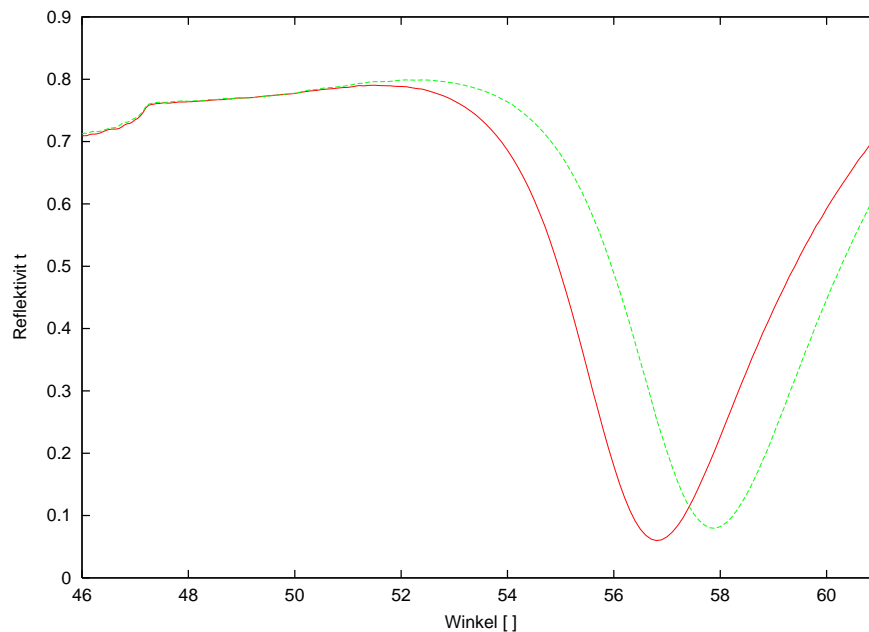
geschwindigkeit im Vakuum darstellen. Der Wellenvektor eines Oberflächenplasmons läßt sich näherungsweise als

$$K_{sp} = \frac{\omega_0}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_m \eta_s^2}{\varepsilon_m + \eta_s^2}} \quad (4)$$

mit  $\varepsilon_m$  der dielektrischen Konstante des Metalls und  $\eta_s$  des Brechungsindex des dielektrischen Mediums beschreiben.

Die evaneszente Welle des einfallenden Lichtes ist nun in der Lage mit den freien oszillierenden Elektronen (Plasmonen) im Metallfilm zu wechselwirken, wenn bei einem speziellen Einstrahlungswinkel  $K_{sp} = K_{ev}$  gilt und dann die Oberflächenplasmonen in Resonanz angeregt werden. Es wird daher Energie vom einfallenden Lichtstrahl entzogen und die Intensität des reflektierten Lichtes reduziert, was schließlich detektiert werden kann.

Gleichung 4 zeigt, daß  $K_{sp}$  vom Brechungsindex des dielektrischen Mediums über dem Metallfilm abhängt. Wenn sich der Brechungsindex direkt über dem Metallfilm ändert, z.B. durch Adsorption von dünnen Filmen, so führt das zu einer Verschiebung des Winkels  $\Theta_0$ , bei dem Plasmonenresonanz stattfindet. Dies ist in Abbildung 7 aufgezeigt.



**Abbildung 7:** Oberflächenplasmonen-Reflexionskurve  $R(\Theta)$ .

Gemessen wird nun die Reflektivität  $R$  in einer KRETSCHMANN-Anordnung in Abhängigkeit des externen Winkels  $\Theta$ . Bei Anregung der Oberflächenplasmonen tritt

ein Minimum in der Reflektivitätskurve  $R(\Theta)$  auf. Die Halbwertsbreite dieses Minimums ist ein Maß für die innere Dämpfung im Metall und steigt mit zunehmender Dämpfung an. Berechnen läßt sich der theoretische Verlauf von  $R(\Theta)$  unter der Verwendung der FRESNEL-Gleichungen [92].

Eine zunehmende Dicke  $d_s$  der Adsorbatschicht direkt über dem Metallfilm oder ein zunehmender Brechungsindex  $\eta_s$  dieser Deckschicht erhöht den Resonanzwinkel  $\Theta_0$  des Oberflächenplasmons wie folgt [78]:

$$\Delta\Theta \sim d(\eta_s - \eta_{Luft}) \quad (5)$$

Kennt man den Brechungsindex  $\eta_s$  aus einer anderen Messung, so kann die Schichtdicke  $d$  mit großer Präzision bestimmt werden. Aber auch eine Messung der dielektrischen Schicht in zwei unterschiedlichen Medien mit unterschiedlichen Brechungsindices kann die gesuchte Schichtdicke  $d$  liefern.

### Kinetikmodus

Erfolgt die Messung der Resonanzkurve zu verschiedenen Zeiten, so lassen sich zeitliche Veränderungen der Plasmonenresonanz verfolgen. Da eine Messung der kompletten Winkelabhängigkeit aber lange dauert wird meistens das reflektierte Licht  $R$  zeitabhängig bei einem konstanten Winkel  $\Theta$  registriert. Man wählt hierfür den Bereich der Flanke der Resonanzkurve (vgl. Abbildung 8), denn in diesem Winkelbereich bewirkt die Verschiebung der Plasmonenresonanzkurve eine annäherungsweise lineare Intensitätssteigerung des reflektierten Lichtes von  $R_1$  nach  $R_2$ . Die verwendete Elektronik bestimmt die Zeitauflösung solcher Messungen. In neuesten Arbeiten wurden zeitliche Auflösungen von 1 ns realisiert [93].

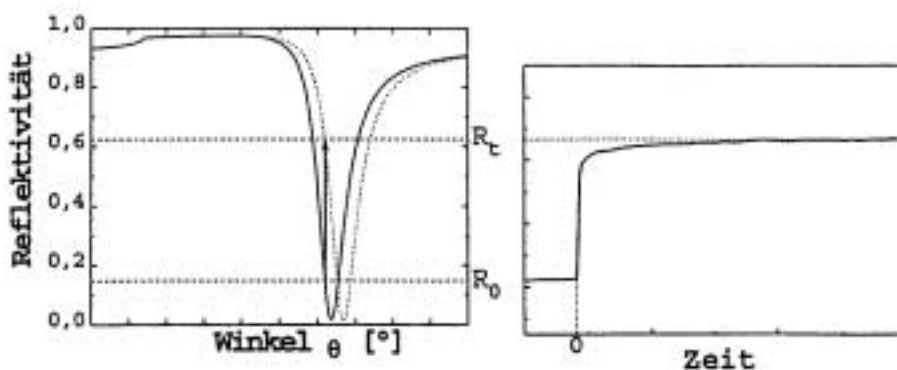


Abbildung 8: Prinzip der kinetischen Messungen der SPS.

### 2.1.3 Schub-Flächen-Diagramme

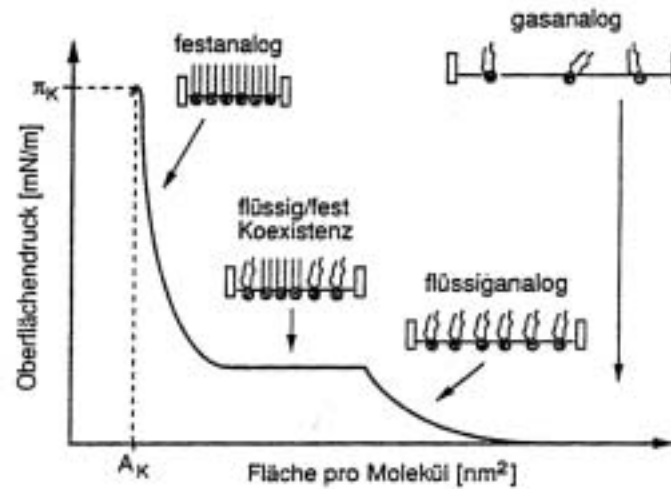
Schon lange bekannt ist die Besonderheit von amphiphilen Substanzen sich an der Gas/Wasser-Grenzfläche in monomolekularen Schichten selbstzuorganisieren. Solche monomolekularen Schichten bilden sich durch Spreiten der Lipide, d.h. man tropft eine Lösung von wasserunlöslichen Lipiden in einem mit Wasser nicht mischbaren, flüchtigen Lösungsmittel auf eine Wasseroberfläche auf. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittel orientieren sich die Lipide zu einer Monoschicht. Dabei tauchen die hydrophilen Kopfgruppen in die wässrige Subphase ein, während die hydrophoben Kohlenwasserstoffketten in die Gasphase herausragen.

Untersucht werden solche Monoschichten durch die Aufnahme von Schub-Flächen-Diagrammen ( $\pi$ -A-Diagramme) [23, 17]. Durch das Aufbringen von amphiphilen Substanzen, auch oberflächenaktiven Substanzen genannt, auf eine Wasseroberfläche wird die Oberflächenspannung der Wasseroberfläche herabgesetzt. Mißt man nun die Erniedrigung der Oberflächenspannung in Abhängigkeit der inversen Oberflächenkonzentration, bzw. der den Lipiden zur Verfügung stehenden Fläche, so erhält man die genannten Schub-Flächen-Diagramme. Praktisch spreitet man dazu bei großem Platzangebot eine definierte Menge Lipid, verkleinert sukzessive die verfügbare Oberfläche und registriert stetig den Schub bei konstanter Temperatur.

Zur Druckaufnahme sind zwei unterschiedliche Methoden entwickelt worden. Bei der WILHELM-Methode [94] taucht ein hydrophiles Plättchen in die wässrige Subphase ein. Gemessen wird dann die Kraft, die auf dieses Plättchen wirkt. Durch eine Eichung kann man die gemessene Kraft direkt in die Oberflächenspannung umrechnen. Die LANGMUIR-Methode [23, 95] ist ein Differenzverfahren, bei dem eine schwimmende Barriere eine saubere von einer mit dem Lipid besetzten Oberfläche abtrennt. Sie entspricht der Versuchsanordnung, die von AGNES POCKELS in bewundernswerter Heimarbeit entwickelt wurde und nur geringfügig durch IRVING LANGMUIR verändert wurde. AGNES POCKELS entwickelte die notwendige Apparatur, mit der es gelang reine Wasseroberflächen herzustellen, die Oberflächen mit einem Schieber beliebig zu verkleinern oder zu vergrößern und die rasche Änderung der Oberflächenspannung durch eine einfache Waagenkonstruktion schnell und präzise zu messen [96, 97]. Die Trennbarriere bewegt sich entsprechend dem Unterschied der Oberflächenspannung in beiden Kompartimenten. Auch hier kann nach einer Eichung der Schub aufgezeichnet werden.

Zeichnet man nun ein solches Schub-Flächen-Diagramm (auch Isotherme genannt) auf, so erhält man eine wie in Abbildung 9 dargestellte Kurve, in der der Schub (in mN/m) gegen die Fläche (in nm<sup>2</sup>/Molekül) bei konstanter Temperatur aufgetragen wurde. Ganz analog zu den Isothermen bei Gasen, einem dreidimensionalen System, können die Amphiphile in den Monoschichten, einem zweidimensionalen System, verschiedene Aggregatzustände, als Funktion von Druck und Temperatur, durchlaufen.

Begonnen wird das Experiment bei großer Fläche. Die Lipide haben also große Abstände zueinander und wechselwirken kaum miteinander, d.h. es liegt weder eine Fern- noch eine Nahordnung vor. In diesem Bereich der gasanalogen Phase ist der



**Abbildung 9:** Schematische Isotherme eines Amphiphils bei konstanter Temperatur.

laterale Druck klein, die Kompressibilität jedoch hoch und es genügt daher eine kleine Druckerhöhung um die Oberfläche pro Molekül zu verkleinern. Durch Verringerung der den Lipiden zur Verfügung stehenden Fläche mit einer Barriere treten die Moleküle in Wechselwirkung und der laterale Druck nimmt mit einem meßbaren hyperbolischen Anstieg zu. Man erreicht so den flüssiganalogen Zustand. Die Moleküle beginnen miteinander zu wechselwirken und es liegt analog einer Flüssigkeit eine Nahordnung vor. Die Alkylketten besitzen aber immernoch eine große Beweglichkeit. Weitere Flächenverkleinerung führt zum weiteren Kondensieren der Lipide und man gelangt über ein inhomogenes Zweiphasengebiet zur festanalogen Phase, welche dem festen Aggregatzustand entspricht. Die Kompressibilität der Lipide ist schließlich so stark eingeschränkt, daß der Oberflächendruck in der festanalogen Phase sehr steil ansteigt. Im festanalogen Zustand besitzen die Lipide, bei gestreckter Konformation der hydrophoben Alkylketten, in der Monoschicht eine maximale Packungsdichte, entsprechend der Packungsdichte im Kristall [98].

Überschreitet man die maximale Packungsdichte der Lipide, so bricht die Monoschicht am sogenannten Kollapspunkt, gekennzeichnet durch den Kollapsdruck  $\pi_K$  und die Kollapsfläche  $A_K$ , zusammen. Die Kollapsfläche entspricht also der größtmöglichen Packungsdichte der Lipide. Sie beträgt bei unverzweigten Kohlenwasserstoffketten etwa  $20\text{\AA}^2/\text{Molekül}$ . Er wird auch POCKELS-Punkt genannt, zu Ehren AGNES POCKELS [99].

Das unterschiedliche Spreitverhalten von Lipiden wird hauptsächlich durch die Struktur der einzelnen Lipide bestimmt. Zudem ist es stark temperaturabhängig. Nicht immer werden fluide und feste Phasen beobachtet. So begünstigen kurze oder verzweigte Alkylketten, sowie geladene Strukturen das Auftreten von fluiden Phasen. Bei Erhöhung der Temperatur neigen die Monoschichten dazu ebenso nur fluide Phasen auszubilden. Allgemein gilt: Je hydrophober die Alkylketten sind (d.h. je länger sie sind), desto eher werden feste Phasen gebildet. Das Spreitverhalten läßt sich auch durch Zusätze zur Subphase bei bestimmten Lipiden beeinflussen. Isothermen von Lipiden mit basischen oder sauren Gruppen sind folglich stark pH-Wert abhängig [25, 26].

Jedoch ist eine amphiphile Struktur keine Garantie für das Ausbilden einer geordneten monomolekularen Schicht. Amphiphile können auch undefinierte dreidimensionale Öle oder Kristallite an der Gas/Wasser-Grenzfläche ausbilden, die trotzdem Grenzflächenaktivität zeigen und die Oberflächenspannung erniedrigen. Dies zeigt sich in nicht reproduzierbaren Kurven, bei denen ein definierter Kollapspunkt fehlt, sowie in einem Schubanstieg zur festen Phase bei kleineren Flächen, als es der dichtesten Packung von Monoschichten entsprechen würde [100].

#### 2.1.4 Quarzkristallmikrowaage [101, 102]

Übt man auf eine dünne Quarzscheibe einen mechanischen Druck aus, so findet im Material eine Ladungsverschiebung statt. Bei angelegten Elektroden auf dessen Oberflächen kann ein elektrisches Signal gemessen werden. Dieses Phänomen wurde 1880 von JACQUES und PIERRE CURIE entdeckt. Diese Eigenschaft wird als der piezoelektrische Effekt bezeichnet, abgeleitet vom griechischen Wort *piezein* (drücken).

Der piezoelektrische Effekt tritt nur in Materialien auf, die in nicht zentrosymmetrischen Raumgruppen kristallisieren. Auch der umgekehrte Effekt existiert. Er wurde kurze Zeit später von den CURIES verifiziert. Anlegen eines elektrischen Feldes an den Kristall resultiert in einer mechanischen Deformierung (siehe Abbildung 10).

Piezoelektrische Kristalle können in Schwingkreise eingebaut werden, in denen der Kristall die Rolle der frequenzbestimmenden Komponente einnimmt. Dies ist durch die fundamentale Eigenschaft der konstanten Resonanzfrequenz eines Objektes möglich; vergleichbar mit dem Klirren eines Weinglases, wenn man über seinen Rand mit einem feuchten Finger streicht.

Eine Oszillation in einer Quarzkristallscheibe erhält man einfach durch Anlegen eines elektrischen Feldes an die Elektroden auf den Oberflächen. Abhängig von der Form des Quarzes und der Platzierung der Elektroden können verschiedene Schwin-

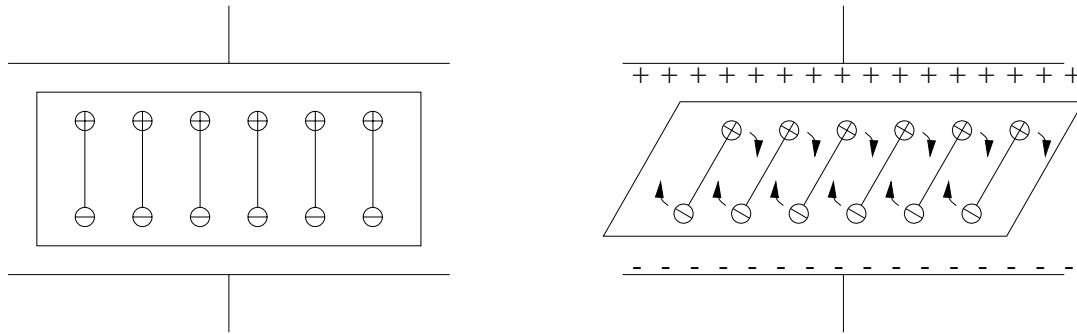


Abbildung 10: Schematische Darstellung des piezoelektrischen Effektes.

gungsmoden erhalten werden. Die Resonanzfrequenz des Quarzes wird von dessen Dichte, dessen Dicke und dessen Schermodul bestimmt. Sie ist daher an sich sehr stabil. Wird jedoch eine dieser physikalischen Parameter verändert, ändert sich die Resonanzfrequenz. Dies ist die Grundlage der QCM (Quartzcrystalmicrobalance), denn wird eine Masse auf die Quarzoberfläche aufgebracht, so nimmt die Resonanzfrequenz ab.

Diese Beziehung wurde erstmals von SAUERBREY [103] quantitativ untersucht. Er stelle die berühmte nach ihm benannte SAUERBREY-Gleichung auf,

$$\Delta F = -\frac{f_o^2}{N\rho}\Delta m \quad (6)$$

in der  $\Delta F$  die Frequenzänderung,  $f_o^2$  die fundamentale Resonanzfrequenz des Quarzes,  $N$  die Frequenzkonstante (1670 kHzmm) und  $\rho$  die Dichte des Quarzes (2.648 g/cm<sup>3</sup>) sind.  $\Delta m$  entspricht der Massenänderung pro Flächeneinheit. Da die Konstanten physikalisch determiniert sind, ist die Beziehung absolut. Eine gemessene Frequenzverschiebung kann daher direkt in eine Masse umgerechnet werden, wenn die fundamentale Resonanzfrequenz bekannt ist. Vereinfacht kann daher die Sauerbrey-Gleichung daher auch als

$$\Delta m = -C_f \Delta F \quad (7)$$

geschrieben werden.  $C_f$  sollte jedoch getrennt bestimmt werden, da die fundamentale Resonanzfrequenz sich geringfügig von Kristall zu Kristall unterscheidet.

In den frühen Achtziger konnten KONASH und BASTIAANS [104] sowie NOMURA [105] zeigen, daß die QCM auch in Lösung verwendet werden kann, vorausgesetzt daß die beiden Seiten des Kristalls elektrisch isoliert voneinander sind. Dies konnte einfach realisiert werden indem man nur eine Seite des Kristalls in Kontakt mit der Lösung brachte. Verschiedene Effekte beeinflussen eine Frequenzänderung der QCM, wenn diese in eine Flüssigkeit eingetaucht wird. Erstens erfährt die Flüssigkeitsschicht nahe der Quarzoberfläche eine Scherverschiebung aufgrund der inneren Reibung. Die so produzierte Scherwelle breitet sich in die Lösung aus. Infolge der Viskosität der

Lösung wird Energie verbraucht und die Welle nimmt exponentiell ab. Unter diesen Umständen muß die SAUERBREY Beziehung zwischen Masse und Frequenzänderung modifiziert werden, um die Dichte und die Viskosität der Flüssigkeit miteinzubinden. Hierzu wird ein zusätzlicher Term hinzuaddiert [106]:

$$\Delta F = -\frac{f_0^2}{N\rho}\Delta m + \frac{f_0^{\frac{3}{2}}}{N\rho}(\Delta\eta_L\Delta\rho_L)^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

mit  $\Delta\eta_L$  und  $\Delta\rho_L$  der Änderung in der Viskosität und der Dichte des Mediums.

Zweitens kann eine akustoelektrische Kopplung zwischen dem elektrischen Feld und Ionen oder polarisierbaren Molekülen in der Lösung auftreten. Wenn die Ionenstärke oder die Polarität der Lösung verändert wird, so kann, in Abwesenheit einer Massenänderung auf dem Kristall, eine Frequenzänderung auftreten. Jedoch schirmt bei genügend großen Ionenstärken ( $>10$  mM) die Doppelschicht an der Elektrode-Lösung Grenze das elektrische Feld ab und verringert so die akustoelektrische Kopplung, folglich wird der Effekt minimiert.

Wie beschrieben beeinflussen viele Eigenschaften von Lösungen das Signal der QCM. Zwar sind einige theoretische Methoden die sich mit diesen Effekten befassen verfügbar, jedoch ist eine genaue Kenntniss der dominierenden Terme selten.

Die Anwendung der SAUERBREY Beziehung zur Massenbestimmung in Flüssigkeiten setzt einige Bedingungen voraus. Erstens sollte der auf der Oberfläche niedergeschlagene Film keine größere Frequenzänderung als 2 % von der fundamentalen Resonanzfrequenz hervorrufen. Für größere Massenbelegungen ist die Beziehung nicht länger linear und alternative Modelle müssen herangezogen werden.

Da die QCM eine mittlere Masse des Niederschlages mißt, ist eine uniforme Verteilung über die Elektrode Voraussetzung für eine akkurate Abschätzung der Filmdicke. Ebenso ist eine glatte Oberfläche essentiell für die Verwendung in Flüssigkeiten. Bei der Verwendung einer rauen Oberfläche würden Lösungsmittelmoleküle, die in den *Tälern* gefangen wären, zur gemessenen Masse beitragen.

Wenn das niedergeschlagene Material viskoelastisch, sprich, weich ist, kann eine zusätzliche Dämpfung der Scherwelle auftreten. Dies beeinflusst die Massenbestimmung in der Weise, daß wenn zwei Filme mit identischen Massen, der eine jedoch viskoelastisch und der andere starr, auf einer QCM Oberfläche niedergeschlagen werden, so wird die Frequenzänderung, die durch den viskoelastischen Film erfolgt, geringer sein, als die des starren Films. Für absolute Massenbestimmungen von dickeren Filmen, bei denen diese Effekte signifikant sein können, darf man sie nicht vernachlässigen. Für sehr dünne Filme hingegen (viel dünner als die Abfalllänge der gedämpften Scherwelle in Lösung) ist gezeigt worden, daß die Dämpfung der Scherwelle im Film vernachlässigt werden kann. Dies wurde für die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen angenommen.

### 2.1.5 Fluoreszenzmethoden

Es soll hier auf eine spezielle Anwendung der Fluoreszenzspektroskopie eingegangen werden. Zur Einführung in die Fluoreszenzspektroskopie und insbesondere der Verwendung in biologischen Fragestellungen sei an dieser Stelle auf die vielfältige Literatur verwiesen [108, 109, 110].

Eine immermehr aufkommende Technik ist die Verwendung von Fluoreszenzmikroskopen. Mit diesen ist sogar eine Kombination mit einem Langmuir-Trog möglich. Dadurch ist es möglich Vorgänge in oder an der Monoschicht über Fluoreszenzfarbstoffsonden zu beobachten. Hierzu wird das zu untersuchende Lipid mit einem sehr geringen Anteil (0.2 - 1 mol%) eines fluoreszenzmarkierten Lipids dotiert. Das Phasenverhalten wird hierdurch nicht beeinflusst, sodaß im Fluoreszenzmikroskop direkt das Phasenverhalten des eigentlichen Lipids beobachtet werden kann.

Die verschiedenen Phasenzustände eines Lipids können so während der Aufnahme einer Isotherme beobachtet werden. In der flüssiganalogen Phase ist das fluoreszenzmarkierte Lipid homogen *gelöst*. Weitere Kompression führt im Koexistenzbereich der fest- und flüssiganalogen Phase zu dunklen „Inseln“ (festanaloge Bereiche) in einem fluoreszierenden homogenen flüssiganalogen Bereich. Der Fluoreszenzfarbstoff wird nicht in die kristallinen Bereiche der festanalogen Phase eingebaut und diese erscheinen dadurch dunkel. Je näher man nun an den vollständig kristallisierten Bereich tritt, desto kleiner werden die fluoreszierenden Bereiche in einer dunklen Matrix aus festanalogem Lipid. Besonders interessant und schon fast von künstlerischen Wert sind die dabei auftretenden Bilder der Entmischung [27].

## 2.2 Strukturierungsmethoden

Die Fähigkeit mikroskopisch kleine Strukturen erzeugen zu können ist für viele moderne Anwendungen von zentraler Bedeutung. Viele neue Systeme konnten durch die Realisierung von Mikrosystemen bzw. die Verkleinerung bestehender Strukturen entwickelt werden. Es seien an dieser Stelle die Mikroreaktoren, die Mikroanalyse, die Mikrooptik und die Mikrosensoren exemplarisch genannt.

Die technisch bedeutendste Strukturierungsmethode stellt die Photolithographie sowie deren Abkömmlinge dar [46]. In den letzten Jahren hat WHITESIDES die Methode der Softlithographie wesentlich vorangebracht [111]. Grundlage dieses Prozesses stellt das Mikro-Kontakt-Stempeln (micro contact printing,  $\mu$ CP) dar, welches im folgenden Kapitel mit seinen Varianten beschrieben werden soll.

### 2.2.1 Micro Contact Printing

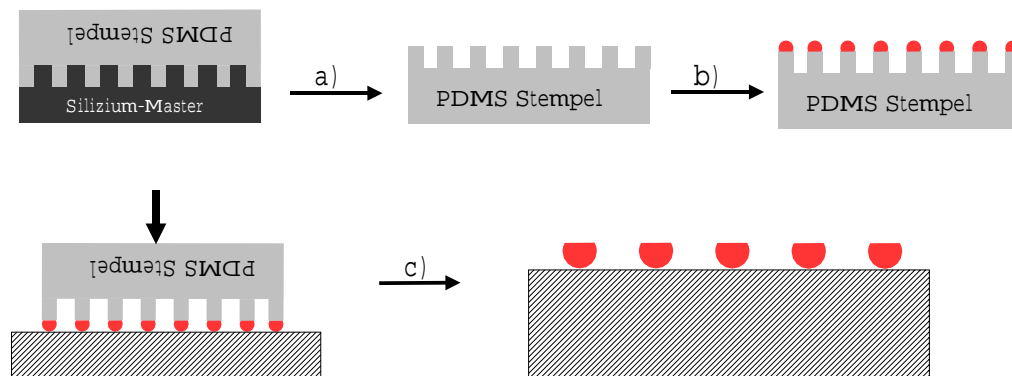
Im Rahmen dieser Arbeit sind zwei wesentliche Methoden des  $\mu$ CP verwendet worden. Zum einen das Stempeln einer hydrophoben Maske und zum andern das Stempeln einer hydrophilen Maske mit anschließender Generierung von Kavitäten durch

Entnetzungsphänomene. Beide sollen hier, trotz gewisser Gemeinsamkeiten, getrennt dargestellt werden.

### Stempeln hydrophober Strukturen.

Wie bereits angesprochen hat WHITESIDES eine elegante Route zur lateralen Heterogenisierung von Oberflächen durch  $\mu$ CP beschrieben [46, 111]. Hierzu werden flexible Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) Stempel als Replika von einer Silicium Maske gegossen [112]. Diese Methode gestattet strukturelle Züge von einigen Mikrometer bis zu einigen Nanometern von einem Master auf den PDMS-Stempel zu transferieren [113].

Die gefertigten Stempel werden nun mit einer chemischen Substanz, die zur Oberflächenmodifizierung geeignet ist, als „Farbe“ bestrichen. Geeignete Substanzen wurden bereits in Kapitel 1.4 vorgestellt. Der beschichtete Stempel wird nun auf das Substrat gesetzt bzw. gedrückt. Dabei wird an den Kontaktstellen die „Farbe“ übertragen und der Träger entsprechend modifiziert. Die gesamte Prozedur ist in Abbildung 11 dargestellt.

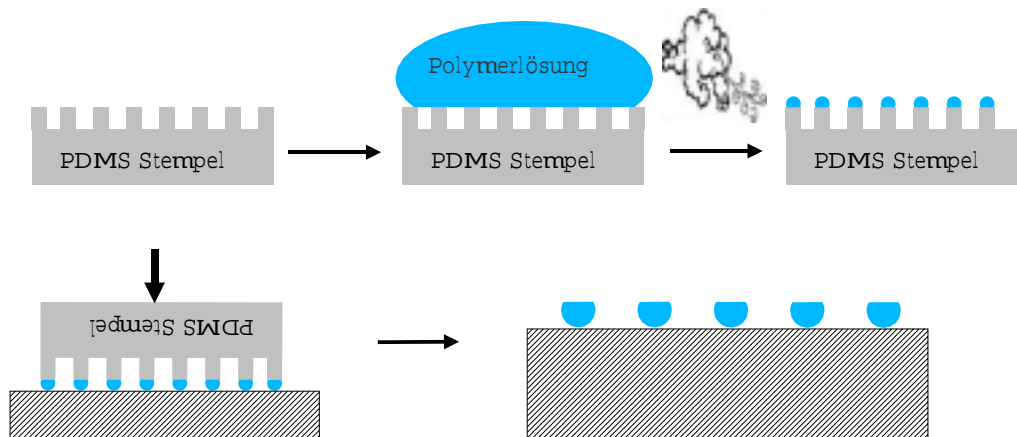


**Abbildung 11:** Prozedur des Mikro-Kontakt-Stempelns: a) PDMS Stempel Replika b) bestreichen c) übertragen.

### Stempeln hydrophiler Strukturen.

Zur Erzeugung hydrophiler Strukturen ergeben sich zwei prinzipielle Möglichkeiten. Erstens lassen sich, entsprechend der im obigen Abschnitt beschriebenen Methode des hydrophoben Stempels, hydrophobe Moleküle mit einer hydrophilen Kopfgruppe stempeln [114]. Zweitens läßt sich der PDMS Stempel im Plasma hydrophilisieren und es steht dann die Möglichkeit des Stempelns hydrophiler Substanzen frei.

Eine Zwischenlösung der beiden oben beschriebenen Varianten ist das Übertragen von Wasser-Lösungstropfen auf einem hydrophoben PDMS-Stempel. Hierbei wird eine in Wasser gelöste Substanz als makroskopischer Tropfen auf die Stempelfläche gesetzt. Ein leichtes Wegblasen des Tropfens resultiert in mikroskopischen Tropfen auf den Strukturen des PDMS-Stempels. Diese können dann wieder auf ein Substrat gestempelt werden. Zusammenfassend ist dies in Abbildung 12 dargestellt.



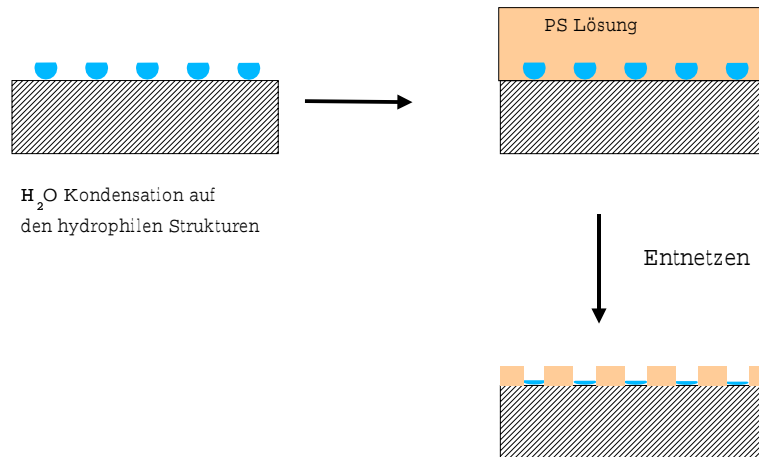
*Abbildung 12: Mikro-Kontakt-Stempeln von wässrigen Lösungen.*

### 2.2.2 Entnetzungsphänomene

Die Perfektion von dünnen und ultradünnen Filmen, die durch Aufschleudern oder Dippen hergestellt werden, hängt stark von dem Be- und Entnetzungsverhalten der Lösung auf dem Substrat ab. Insbesondere, die Präparation von ultradünnen Filmen ist sehr sensitiv auf das Entnetzungsverhalten [115].

Nutzt man jedoch die durch das beschriebene Verfahren des Mikro-Kontakt-Stempels hydrophil/hydrophob strukturierten Träger zur Entnetzung von dünnen Polymerfilmen, so läßt sich das Entnetzungsverhalten kontrollieren [116].

Hierzu wird ein entsprechend hydrophil/hydrophob gestempelter Träger kurz in eine Polymerlösung getaucht und durch das Verdampfen des Lösungsmittels die Polymerfilmbildung initiiert. Ein hydrophobes Polymer, z.B. Polystyrol, benetzt die hydrophilen Stellen des Trägers ungern und ein Ennetzen wird bevorzugt auf diesen Stellen beobachtet. Entsprechend werden die hydrophoben Stellen benetzt [117, 118]. Schematisch ist dies in Abbildung 13 zusammenfassend dargestellt. Somit läßt sich in einer einfachen Methode eine dreidimensionale Strukturierung erzielen. Mikroskopisch kleine Kavitäten sind das Ergebnis.



*Abbildung 13: Kontrolliertes Entnetzen auf hydrophil/hydrophob strukturierten Trägern.*

### 3 Aufgabenstellung

Wo man am meisten drauf erpicht,  
grad das bekommt man meistens  
nicht.

WILHELM BUSCH

Im Hinblick auf die zukünftige Herstellung von Biosensoren mittels inkorporierter Enzyme in oberflächenfixierten Lipiddoppelschichten sollen in dieser Arbeit Grundlagen zum Aufbau von polymerunterstützten Lipidmembranen auf Oberflächen erarbeitet werden. Dazu sind zum einen hydrophile Polymere zu synthetisieren und zum anderen diese auf ihre Eignung zum Aufbau von polymerunterstützten Lipidmembranen auf Oberflächen zu untersuchen.

Ziel der synthetischen Arbeit ist die Entwicklung von Methoden zur Darstellung hydrophiler Polymere deren notwendige Funktionalitäten in einer definierten Struktur eingebaut sind. Idealerweise sollen  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte Polymere dargestellt werden. In einer solchen Struktur sollte die  $\alpha$ -Funktionalität eine lipophile Gruppe darstellen. Diese sollte durch eine hydrophile Polymerkette von der  $\omega$ -Funktionalität getrennt sein. Die  $\omega$ -Funktionalität sollte ein Oberflächenanker sein, der eine Adsorption auf einer Oberfläche ermöglicht. Zu diesem Zweck sind geeignete lebende Polymerisationsmethoden zu testen, die es ermöglichen solche hochfunktionalisierten Polymere aufzubauen. Zum Vergleich sollen Polymersysteme undefinierterer Struktur, d.h. statistische Polymere synthetisiert werden.

Die dargestellten Polymere gilt es zu untersuchen. Sowohl ihr Verhalten in Lösung, als auch an Oberflächen, spielt eine elementare Rolle. Im speziellen soll das amphiphile Verhalten der synthetisierten Polymere charakterisiert werden. Aber auch die Hydrophilie der Polymere in Lösung und an der Oberfläche soll studiert werden. Letztlich ist auch deren Adsorption auf Oberflächen und die damit verbundene Filmbildung von besonderem Interesse.

Letzendlich soll untersucht werden, in wie weit diese Polymerfilme zum Aufbau von polymerunterstützten Lipidmembranen verwendet werden können. Hierzu sollen Versuche mit Vesikeln durchgeführt werden. Ziel ist es durch Vesikelfusion auf mit dünnen Polymerfilmen versehenen Oberflächen, substratgestützte Lipidmembranen zu erhalten.



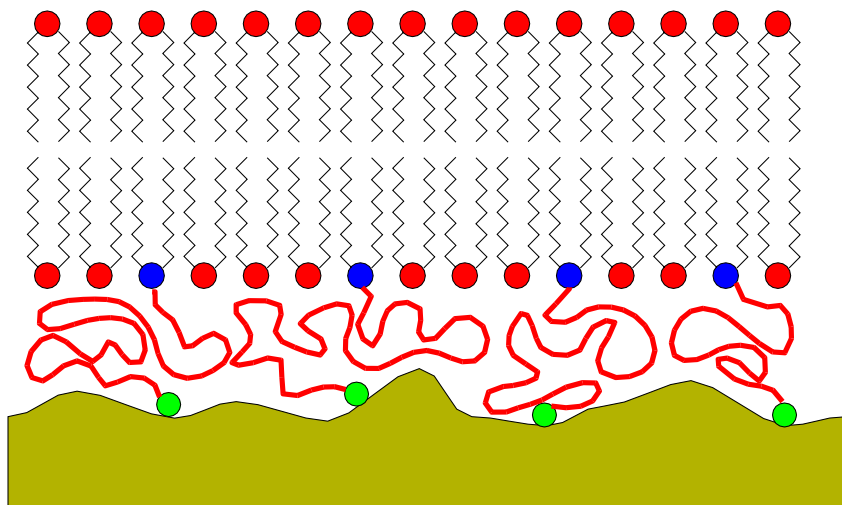
## 4 Synthese

Man muß etwas Neues machen, um etwas Neues zu sehen.

LICHTENBERG

### 4.1 Konzepte

Im Rahmen dieser Arbeit sollen verschiedene Wege beschrieben werden, um polymerunterstützte Lipidmembranen auf Oberflächen, insbesondere Goldoberflächen, realisieren zu können. Für diese Aufgabe sind einige Grundbedingungen an die zu verwendenden Polymere zu stellen. Zum einen sollen sie dazu dienen die Lipiddoppelschicht von der rigiden Substratoberfläche zu entkoppeln, damit potentiell inkorporierte Transmembranenzyme nicht der Denaturierung erliegen, sobald sie in Kontakt mit der Oberfläche kommen. Zum weiteren sollen sie auch die *rauhe* Oberfläche etwas abpuffern und so eine ideale, flache Grenzfläche für die Lipidmembran bieten, siehe Abbildung 14.



**Abbildung 14:** Schematische Darstellung einer polymerunterstützten Lipidmembranen auf einer Oberfläche.

Neben diesen allgemeinen Bedingungen müssen die verwendeten Polymere noch weitere Eigenschaften besitzen. Hier ist erst einmal die prinzipielle Möglichkeit das Polymer auf dem entsprechenden Substrat zu fixieren, entweder per Chemisorption oder Physisorption, zu nennen. Zusätzlich sollte das Polymer lipophile Gruppen enthalten, die als Anker für die Lipiddoppelschicht fungieren und diese aufgrund des hydrophoben Effektes versuchen an der Oberfläche zu halten. Trotzdem sollte der Groß-

teil des Polymeren aus einem hydrophilen, in Wasser quellbarem Polymerteil bestehen, welches idealerweise auch basische Gruppen enthält. Denn es hat sich analog den Lipoproteinen gezeigt, daß sowohl lipophile Gruppen als auch basische Gruppen eine Attraktivität auf eine Lipiddoppelschicht ausüben [119]. Es sollen daher die hier verwendeten Polymersysteme analog Lipopolymere genannt werden. Die hydrophobe Gruppe soll also dazu dienen hydrophobe Wechselwirkungen mit der Lipidmembran einzugehen und direkt in die Lipiddoppelschicht zu penetrieren [57]. Die Anbindung der basischen Gruppen an die Membran ist dahingegen rein elektrostatischer Natur, und erfolgt durch Bindung an die Kopfgruppen negativ geladener Phospholipide.

Zur Fixierung der Polymere auf Substratoberflächen sollen zwei prinzipielle Wege besprochen werden: die Chemisorption und die Physisorption. Jedoch soll die Synthese so ausgerichtet sein, daß mit einem passenden Anker jede Oberfläche beschichtet werden kann. Um die in Kapitel 2 beschriebene Analytik zur Untersuchung der Systeme heranziehen zu können, wird in dieser Arbeit ausschließlich Gold als Substratoberfläche verwendet.

Nach ULMAN binden Sulfide und Disulfide fest auf Goldoberflächen [88]. Beide Gruppen chemisorbieren in einer eindeutigen Reaktion schnell auf Goldoberflächen. Diese Eigenschaft wird seit einigen Jahren intensiv zur Bildung von self-assembled monolayers (SAMs) ausgenutzt [120]. Hierdurch lassen sich Goldoberflächen mit den unterschiedlichsten funktionellen Gruppen belegen und so führte z.B. der Einsatz von thiolmodifizierten Kronenether sogar zu Metall-Ionen Sensoren [121].

Eine alternative Methode Polymere an Oberflächen zu binden beruht auf der Physisorption von Polyelektrolyten, zu der DECHER viele grundlegende Untersuchungen durchführte [43]. Notwendige Voraussetzung ist hier eine geladene Oberfläche. Um auch hier die angesprochene Analytik durchführen zu können, werden Goldoberflächen entweder mit Mercaptoethansulfonsäure belegt um eine negativ geladene Oberfläche zu erhalten oder zur Präparation einer positiv geladenen Oberfläche mit Cysteamin Hydrochlorid belegt. Auf diesen können dann Polyelektrolyte aus Lösung abgetrennt werden.

Als Lipidanker finden, je nach Polymersystem entweder natürliche Lipide oder Mono- oder Dialkylgruppen Verwendung. Von allen Gruppen ist bekannt, daß sie in Lipidmembranen penetrieren [122, 123, 126, 85].

Als letztes liegt nun die chemische Wahl des hydrophilen Polymerrückgrats an. Häufig Verwendung finden in der Literatur funktionalisierte Polyacrylate (siehe Ref. [85]). Ähnliche Verbindungen stellen funktionalisierte Polyacrylamide dar. Der Amidstickstoff bietet sogar eine größere Vielfalt zur Funktionalisierung. Daher sollen diese Verbindungen intensiver in dieser Arbeit untersucht werden. In der Literatur finden auch häufig Polyethylenimin und Derivate von diesem als Polymersubstrat Verwendung [123, 124, 125]. Diese Verbindungsklasse ist relativ gut untersucht. Jedoch wird die Suche nach neuen hydrophilen Polymeren eher wenig vorangetrieben. Daher soll in dieser Arbeit auch der Einsatz von Polyvinylalkoholderivaten als eine neue Klasse von Lipopolymeren untersucht werden, denn Polyvinylalkohol ist ein sehr hydrophiles Polymer.



Für den Aufbau von polymerunterstützten Lipiddoppelschichten auf Oberflächen sollen die Polymere unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Es soll daher versucht werden die Eigenschaften der Polymere durch den Einbau bestimmter chemischer Gruppen erzielen zu können, aber auch gleichzeitig variieren zu können. Um hydrophile Polymere zu erhalten, sollen Poly(acrylamide) synthetisiert werden. Eine Variation der Hydrophilie soll durch zwei unterschiedliche Wege erreicht werden. Zum einen sollen Poly(N-isopropylacrylamide) synthetisiert werden, da diese einen Knäuelkollaps bei erhöhter Temperatur aufweisen. Der Knäuelkollaps beruht auf dem Übergang einer hydrophilen Phase in eine hydrophobere Phase und gestattet es somit die Hydrophilie der Polymere temperaturabhängig zu ändern. Zum anderen sollen Copolymere mit ionischen oder protonierbaren Gruppen, z.B. tertiären Aminen, dargestellt werden. Diese weisen mehrere Vorteile auf: Sie verändern die Hydrophilie der Polymere, sie gehen eine Wechselwirkung mit Lipidmembranen ein und sie bieten die Möglichkeit der Physisorption auf entgegengesetzt geladenen Oberflächen. Schließlich sollen auch verschiedene Lipidanaloga in die Polymere eingebaut werden. Sie bieten nicht nur eine Wechselwirkung mit Lipidmembranen, sondern dienen auch als Ankergruppen für die Lipidmembran. Durch den Einbau von Fluoreszenzgruppen in die Lipidanaloga, sind diese sogar zur Detektion verwendbar.

## 4.2 Monomersynthesen

Da viele der Polymersynthesen, egal ob statistisch oder endfunktionalisiert, auf den selben Monomeren basieren, sollen hier zuerst die Synthesen dieser Monomere beschrieben werden. Hinzu kommt die Synthese des Oberflächenankers.

Für die polymeranalogen Umsetzungen und insbesondere für den Einbau des Oberflächenankers werden Reaktivesterpolymere bzw. deren Monomere verwendet. Zwei verschiedene Reaktivmonomere sind hierzu synthetisiert worden. Eines auf N-Hydroxysuccinimidestern (**M1**) und eines auf Benzotriazolamiden (**M2**) basierend.

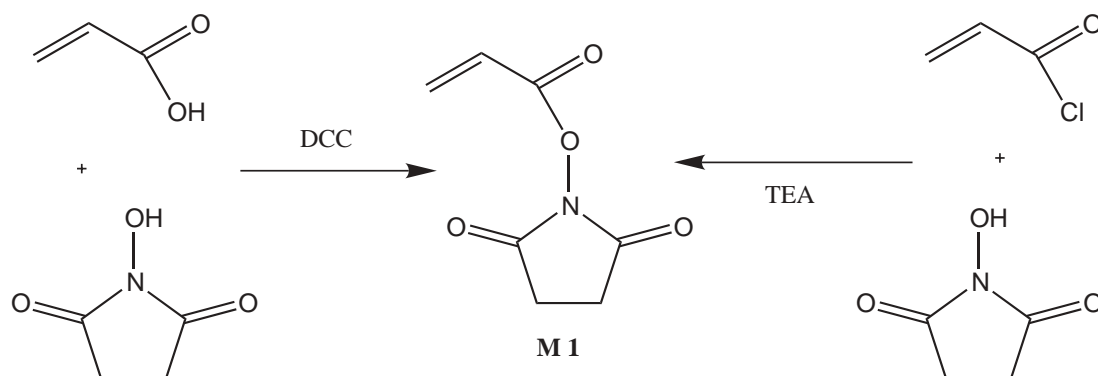


Abbildung 16: Synthese von N-Acryloxysuccinimid **M1**.

N-Acryloxysuccinimid **M1** wurde dafür in einer einfachen Veresterung aus N-Hydroxysuccinimid (NHS) und Acrylsäure, wie in Abbildung 16 gezeigt, dargestellt. Es wurde die Veresterung unter Verwendung von N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) durchgeführt [128, 129, 130]. Als problematisch stellte sich die vollständige Abtrennung des entstehenden Harnstoffes (1,4-Dioxan-Lösung) heraus. Deshalb wurde ebenfalls eine Veresterung mit Acrylsäurechlorid versucht [131]. Entstehender Chlorwasserstoff wurde durch die Hilfsbase Triethylamin (TEA) abgefangen. Der so gebundene Chlorwasserstoff, sowie nicht umgesetztes Acrylsäurechlorid wurden durch Ausschütteln gegen Wasser entfernt. In beiden Fällen der Veresterung wurde das entstandene N-Acryloxysuccinimid **M1** durch Umkristallisation aus n-Heptan gereinigt. Dieser Schritt erwies sich ebenfalls als problematisch, da das Monomer schon sehr schnell in heißem

n-Heptan polymerisiert. Schnelles Arbeiten brachte hier einigermaßen Erfolg, mit 35% Ausbeute. Eine Reinigung durch Chromatographie brachte keinen Erfolg, da das Monomer nicht eluierte. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß das Monomer auf der Kieselgelsäule hydrolysiert. Ebenso wurde nach der von WHITESIDES [132] beschriebene Methode des langsamen Auskristallisieren aus einer n-Hexan/Ethylacetat/Chloroform Mischung kein reines Produkt erhalten.

Um das Problem der bescheidenen Ausbeute zu beheben wurde ein weiteres Aktivestermonomer synthetisiert. Die Benzotriazolamidgruppe bietet ebenso wie der NHS-Ester eine gute Reaktivität gegenüber Aminen. Die Reaktivität der Benzotriazolamidgruppe ist vergleichbar mit der des NHS-Esters [133]. Es wurde daher N-Acrylbenzotriazolamid **M2** aus Acrylsäurechlorid und 1-H-Benzotriazol in einer zwei Phasenreaktion aus wäßriger NaOH und Chloroform dargestellt; siehe Abbildung 17. Das Monomer **M2** wurde anschließend durch Säulenchromatographie gereinigt. Hierdurch konnte das Monomer in reiner Form erhalten werden, jedoch nur in bescheidenen 15% Ausbeute.

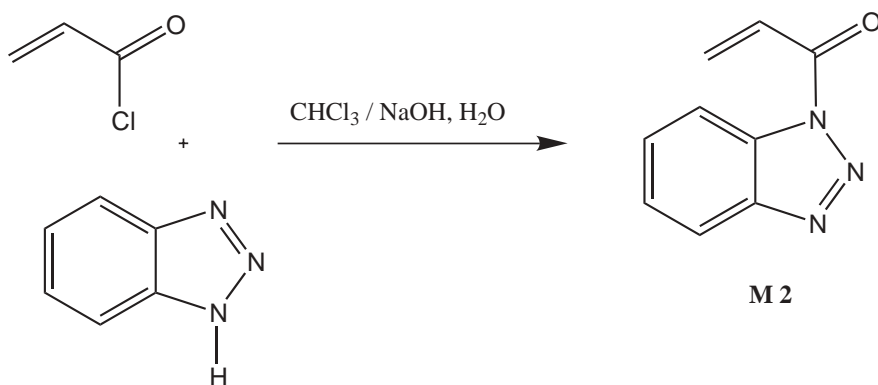


Abbildung 17: Synthese von N-Benzotriazolacrylamid **M2**.

Einige Acrylamidderivate [134] **M3-M7** wurden synthetisiert, um später die Hydrophilie des Polymerrückgrates variieren zu können. Diese sind in Abbildung 18 zusammengestellt.

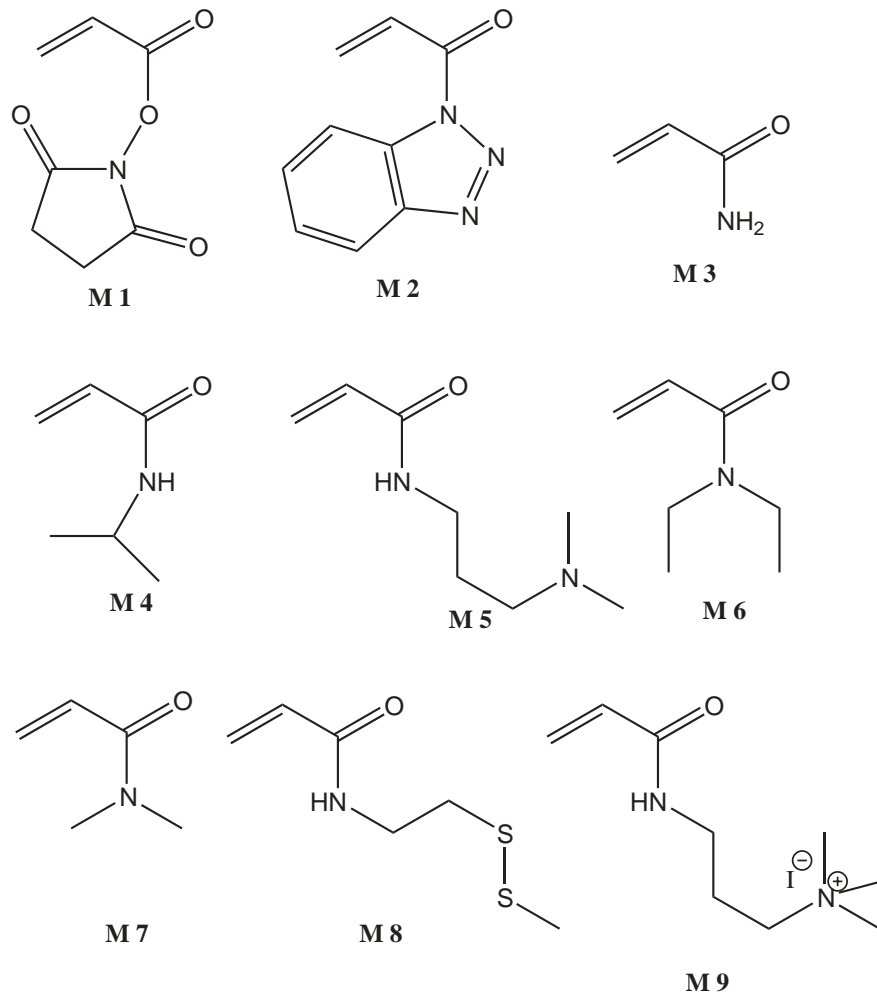


Abbildung 18: Zusammenstellung der synthetisierten Monomere.

Acrylamid **M3** selbst wurde kommerziell erworben und wurde zur Reinigung aus Chloroform umkristallisiert [135]. Man erhält dabei reines Acrylamid in großen farbloses Schuppen. Die wohl fälschlicherweise beschriebene Methode des Umkristallisieren aus Aceton konnte nicht nachvollzogen werden [136], da die Löslichkeit von Acrylamid in Aceton bei 63.1 g/100 mL ( $T=30^{\circ}\text{C}$ ) liegt [134].

N-Isopropylacrylamid **M4** wurde aus N-Isopropylamin und Acrylsäurechlorid, wie in Abbildung 19 dargestellt, synthetisiert und anschließend chromatographisch gereinigt, wodurch das Monomer **M4** in 79 % Ausbeute erhalten wird. Alternativ lässt sich älteres N-Isopropylacrylamid **M4** aus einem n-Hexan/Benzol Gemisch umkristallisieren.

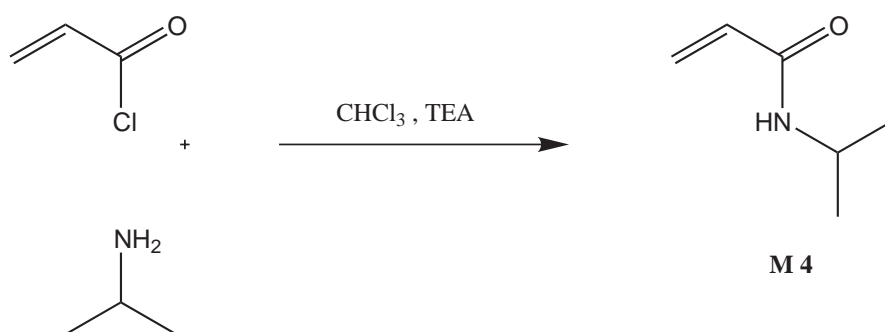


Abbildung 19: Synthese von N-Isopropylacrylamid **M4**.

N-(3-(Dimethylamino)-propyl)-acrylamid **M5** wurde kommerziell erworben und lediglich durch eine Vakuumdestillation über einen Kolonne gereinigt.

N,N-Diethylacrylamid **M6** wurde in einer Aminolyse von Acrylsäurechlorid mit N,N-Diethylamin dargestellt. Eine anschließende Vakuumdestillation zur Reinigung führte in 72 % Ausbeute zum Produkt.

N,N-Dimethylacrylamid **M7** wurde ebenso kommerziell erworben und durch Vakuumdestillation über eine Kolonne gereinigt.

Als Oberflächenanker wird das Disulfid Cysteaminmethyldisulfid **1** verwendet. Da dieses über eine polymeranaloge Reaktion eines der Aktivester-Gruppen eingeführt werden soll, bietet sich Cysteamin an. Jedoch ist, um eine eindeutige Umsetzung zu gewährleisten, das Thiol als Disulfid, wie in Abbildung 20 dargestellt, zu schützen. Dazu wird ausgehend von Cysteamin mit Methylmethanthiosulfonat in Methanol umgesetzt [137], analog zu der Reaktion von Bunte Salzen mit Sulfiden [138]. Zur Aufarbeitung reicht ein Ausschütteln der eingeeengten und in Chloroform aufgenommen organischen Phase gegen wässrige NaOH aus. Hochreines Produkt **1** kann in 60 % Ausbeute durch eine chromatographische Reinigung erhalten werden, jedoch ist das Produkt **1** nach dem Ausschütteln NMR rein.

Ausgehend von Cysteaminmethyldisulfid **1** wurde das entsprechende Acrylamid **M8**, wie in Abbildung 21 gezeigt, in einer Stufe aus Acrylsäure dargestellt. Dazu wurde eine Lösung aus Acrylsäure in Chloroform mit Stickstoff gespült und dann mit einer

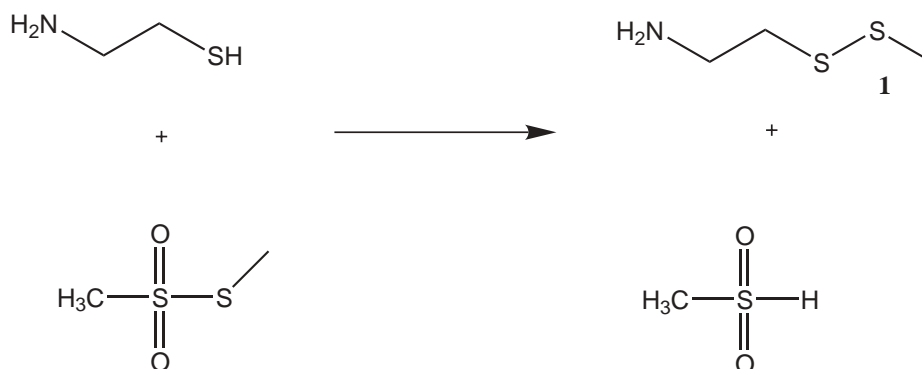


Abbildung 20: Synthese von Cysteaminmethyldisulfid **1**.

äquimolaren Menge Carbonyldiimidazol versetzt. Nach beendeter  $\text{CO}_2$ -Entwicklung wurde das Amin **1**, in Chloroform gelöst, unter Eiskühlung zugetropft. Aufgereinigt wurde durch Ausschütteln gegen Wasser.

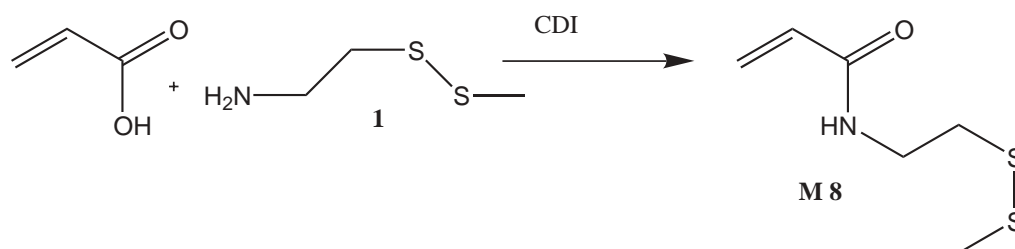


Abbildung 21: Synthese des Disulfidmonomers **M8**.

Abschießend wurde noch ein ionisches Monomer ausgehend von N-(3-(dimethylamino)-propyl)-acrylamid **M5** synthetisiert. Dieses wurde in kaltem THF gelöst und langsam mit Methyljodid versetzt. Der sich abscheidende Niederschlag wurde abgesaugt und mit kaltem THF nachgewaschen. Es wurden in 92 % Ausbeute das Monomer **M9** in reiner Form erhalten.

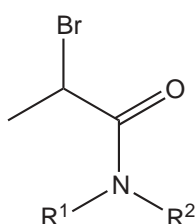
### 4.3 Initiatorsynthesen

Die Idee endfunktionalisierte Lipopolymere darzustellen wurde bereits von WINNIK und KITANO verfolgt [139, 140]. Jedoch beruhen deren Arbeiten auf der Polymerisation von Monomeren mit amphiphilen Initiatoren auf der Basis von AIBN-Derivaten. Dies führt zwar zu  $\alpha$ -funktionalisierten Polymeren, jedoch schließt diese Syntheseroute die Einführung eines weiteren Blocks zur Oberflächenfixierung aus. Gleiches gilt für die von WINNIK gezeigte Methode mit einem funktionalem Kettentransferreagenz [141]. Auch hier ist nur ein Ende der Polymerkette mit einer funktionellen

Gruppe modifizierbar.

Für eine wesentlich erfolgreichere Synthese bietet sich die Atomtransfer Radikal Polymerisation (ATRP) an. Diese neue Polymerisationsart wird in Kapitel 4.4.1 detailliert besprochen. Es soll lediglich darauf hingewiesen werden, daß bei dieser Polymerisation ein  $\alpha$ -Brompropionsäurederivat als Initiator zum Einsatz kommt. Daher wurden einige neue Initiatoren synthetisiert, welche später die Polymerisation initiieren sollen. Diese Polymerisationsmethode bietet auch die Möglichkeit Blöcke darzustellen, so daß eine  $\alpha$ - $\omega$  Funktionalisierung eines Polymeren möglich sein sollte.

Alle synthetisierten Initiatoren basieren auf der gleichen Grundstruktur des 2-Brompropionamides, wie in Abbildung 22 dargestellt.



**Abbildung 22:** 2-Brompropionsäureamid: Grundstruktur der Initiatoren für die ATRP.

Zur Darstellung der Initiatoren wurden verschiedene primäre oder sekundäre Amine eingesetzt. Die primären Alkylamine sind alle kommerziell erhältlich, daher wurden lediglich die sekundären Amine synthetisiert. Dazu wurde im ersten Schritt eine Alkylcarbonsäure mit N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI) in das entsprechende Imidazolid umgesetzt. Diese Zwischenstufe wird direkt im Anschluß – nach beendeter CO<sub>2</sub> Entwicklung – mit einem primären Alkylamin zur Reaktion gebracht [142, 143], wodurch die entsprechenden Amide **2,3,4** entstehen. So wurden die entsprechenden Amide mit 14, 16 und 18 Kohlenstoffatomen in guten Ausbeuten synthetisiert, wie in Abbildung 23 gezeigt. Die Produkte fielen teilweise direkt rein bei der Reaktion an, oder sie wurden aus Ethanol umkristallisiert. Die Ausbeuten nahmen mit zunehmender Kettenlänge von 79 % auf 55 % ab.

Ganz analog wurde das Amid **5** aus Pyrenbuttersäure und Tetradecylamin über die Imidazolid-Route hergestellt. Dargestellt ist dies in Abbildung 24. Es wurde dabei ähnlich der Syntheseroute von RINGS DORF vorgegangen [144]. Das Rohprodukte wurde hier jedoch chromatographisch aufgereinigt, mit einer Ausbeute von 42 %, bevor es in der nächsten Stufe reduziert wurde.

Die so dargestellten Amide wurden alle in einer Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert [145, 146], wie der Abbildung 25 entnommen werden kann. Die entstehende sekundären Amine **6,7,8** wurden wiederum aus Ethanol umkristallisiert. Das Amin **6** konnte hierbei in 98 % Ausbeute erhalten werden, die beiden anderen Amine **7,8** nur in 37 % bzw. 38 % Ausbeute. Das N-Tetradecyl-4-pyrenylbutanamin **9** wurde erneut chromatographisch aufgereinigt und in 56 % Ausbeute erhalten.

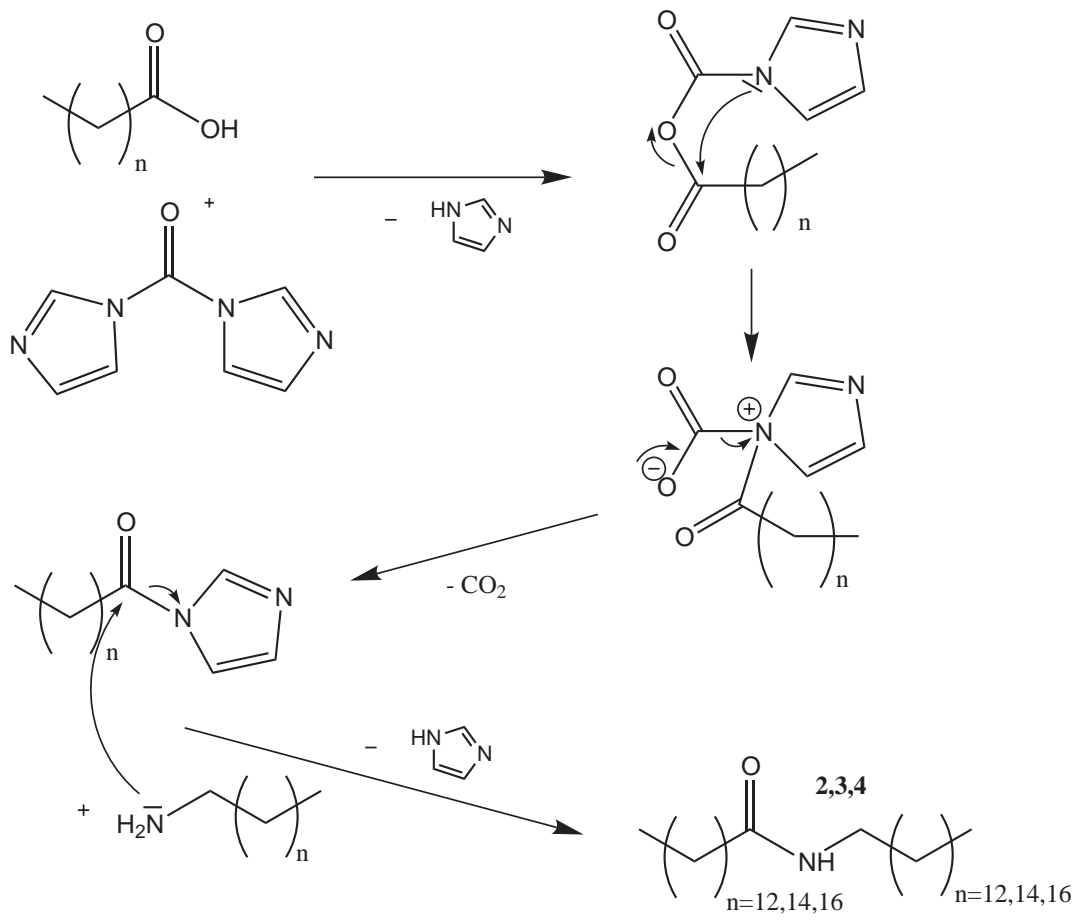


Abbildung 23: Synthese der Dialkylamide 2-4 [143].

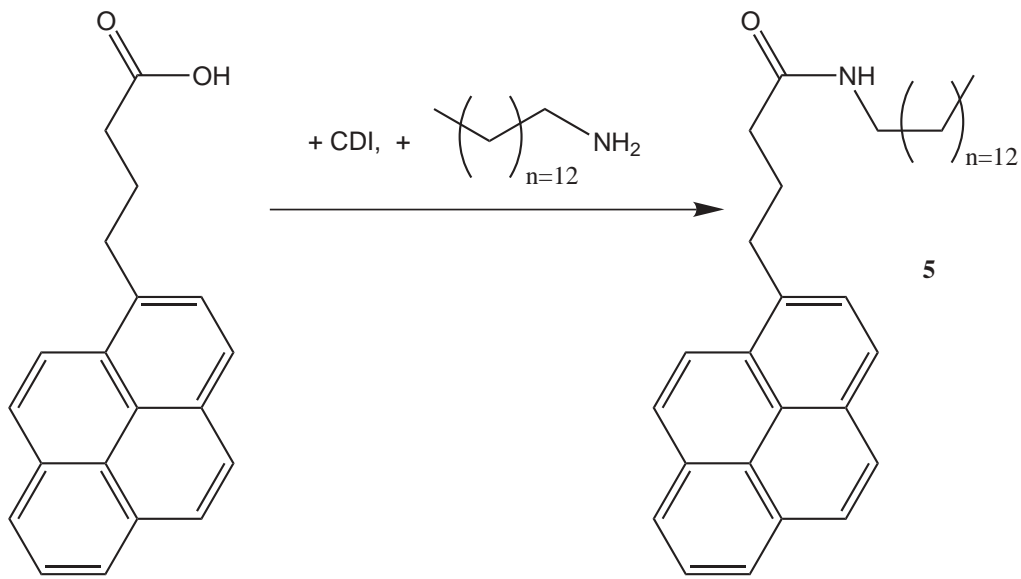


Abbildung 24: Synthese des Pyrenamids 5.

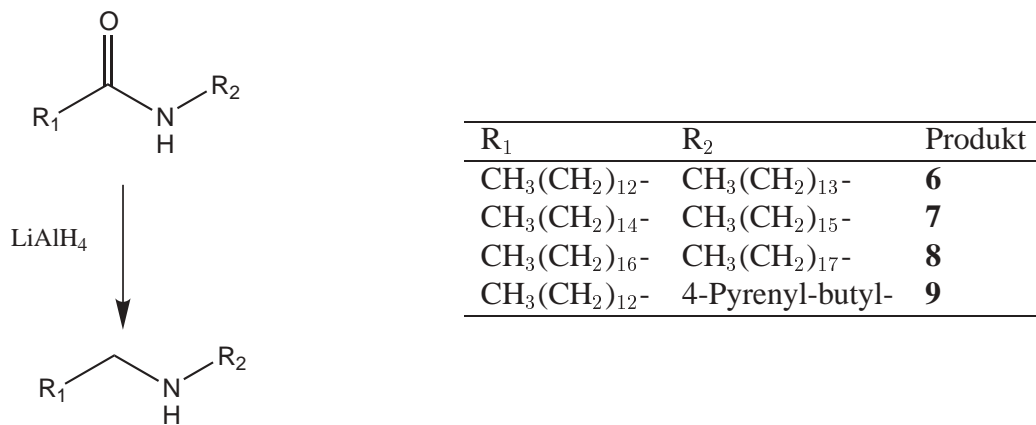
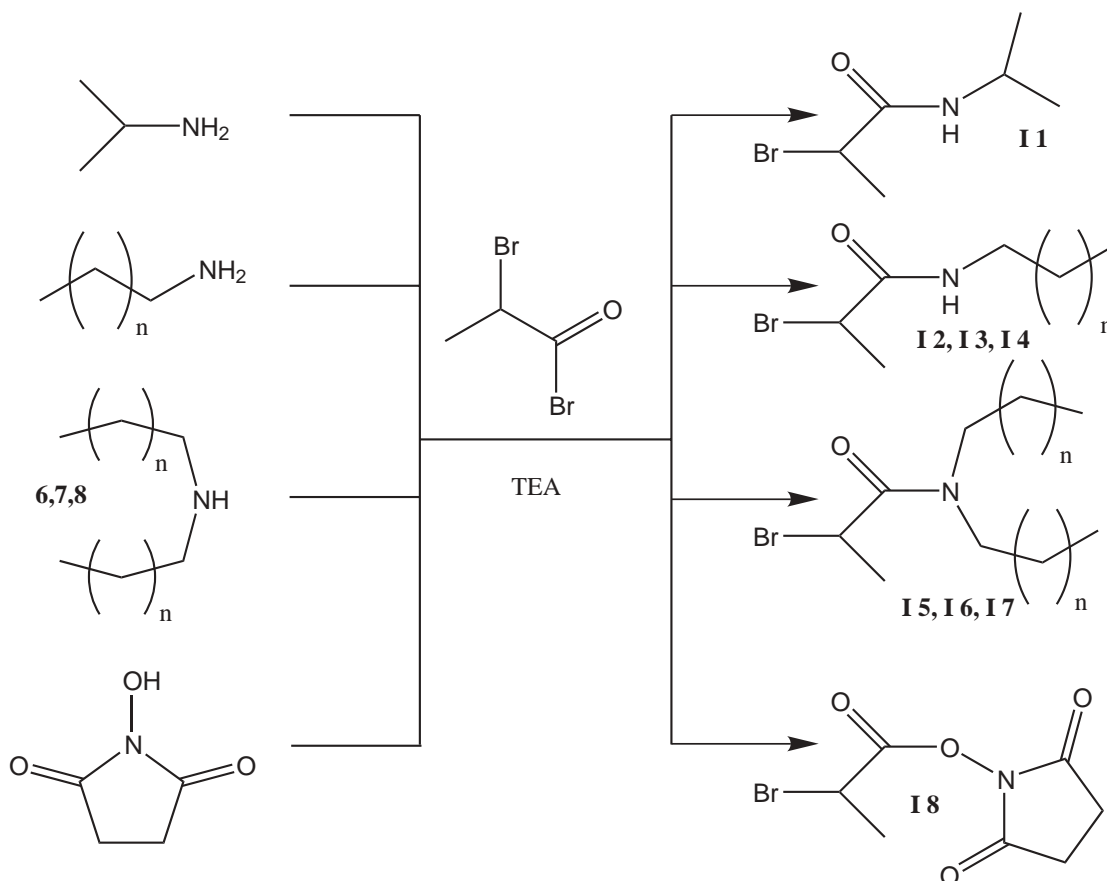


Abbildung 25: Synthese der sekundären Dialkylamine 6-9.

Alle so zugänglichen Amine wurden entweder direkt oder indirekt zum 2-Brompropionamid umgesetzt. In der direkten Synthese werden die entsprechenden Amine direkt mit 2-Brompropionsäurebromid in Lösung unter Verwendung der Hilfsbase Triethylamin umgesetzt. Man kann auf diesem Wege die Initiatoren **I1-I8**, wie in Abbildung 26 zusammengefaßt, erhalten.



**Abbildung 26:** Direkte Synthese der Initiatoren **I1-I8** durch Umsetzung der Amine mit 2-Brompropionsäurebromid.

Zur Aufreinigung wurde N-Isopropyl-2-brom-propionamid **I1** aus n-Heptan umkristallisiert. Man erhielt in guten Ausbeuten (53%) weiße lange Nadeln.

Die N-Alkyl-2-brom-propionamide **I2,I3,I4** wurden mit einem kleinen Überschuß an Säurebromid umgesetzt, wodurch die anschließend Reinigung durch Umkristallisation aus Ethanol erleichtert wurde. Die Ausbeute lag bei allen um 50 %.

Entsprechend wurden die N,N-Dialkyl-2-brom-propionamide **I5,I6,I7** synthetisiert. Es wurde jedoch ein Chloroform/Dioxan Gemisch als Lösungsmittel verwendet, welches gelinde erwärmt wurde. Durch Abkühlen der Lösung fielen die Produkte rein an.

Um die empfindlicheren Amine 1-Aminomethylpyren, N-Tetradecyl-4-pyrenylbutanamin **9** und DMPE in die entsprechenden Initiatorsysteme zu überführen, wurde ein

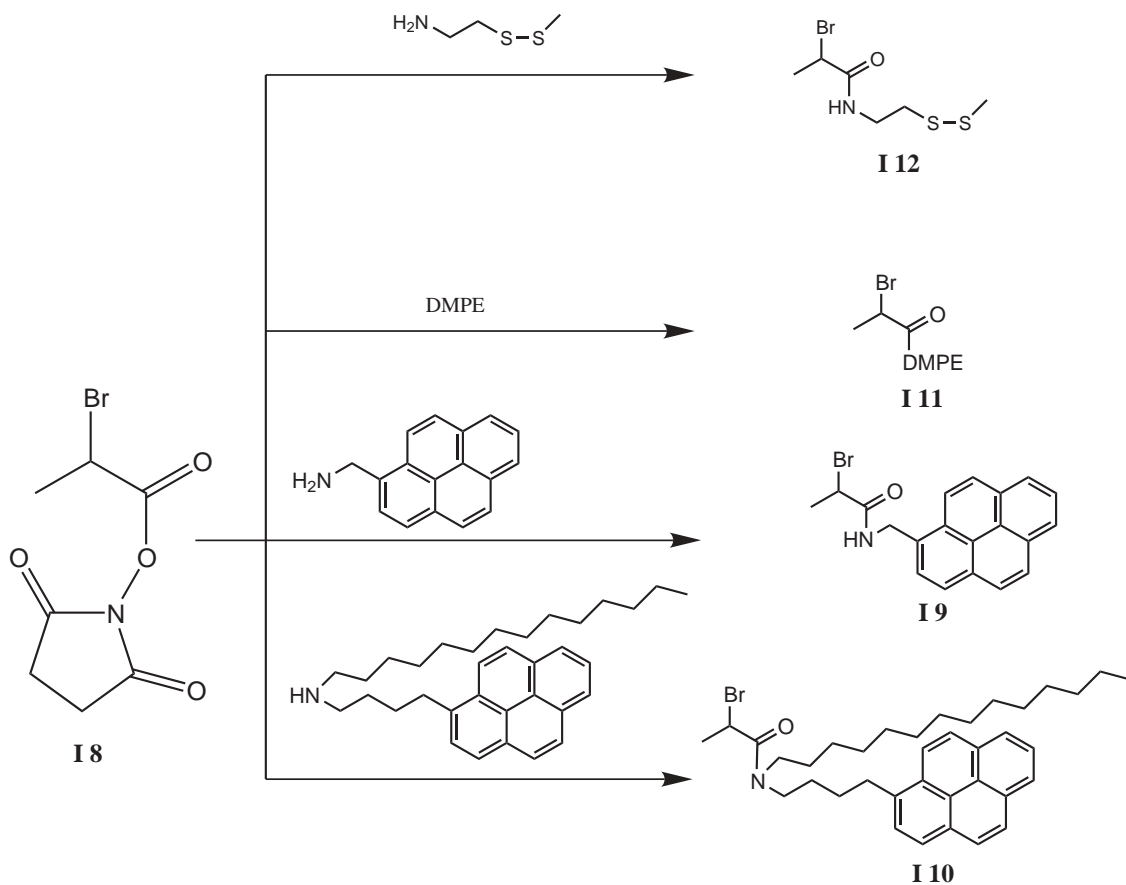


Abbildung 27: Indirekte Synthese der Initiatoren **I 9-I12**.

NHS-Reaktivester der 2-Brom-Propionsäure als handhabbare Zwischenstufe synthetisiert, siehe Abbildung 26. Hierzu wurde NHS direkt mit 2-Brompropionsäurebromid umgesetzt. Das Produkt **I 8** konnte anschließend durch einfaches Umkristallisieren aus n-Hexan in 28 % erhalten werden.

Wie in Abbildung 27 dargestellt, wird der Aktivesterinitiator **I 8** mit den entsprechenden Aminen umgesetzt.

Für die Darstellung des N-(Pyrenylmethyl)-2-brom-propionamides **I 9**, wurde das 1-Aminomethylpyren als Hydrochlorid eingesetzt. Deshalb wurde als Coreagenz Triethylamin der Reaktion zugesetzt, um das Amin in seine freie Form zu überführen, welche dann mit dem Aktivester zum Produkt **I 9** abreagieren kann. Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie und ergab eine gute Ausbeute von 75 %.

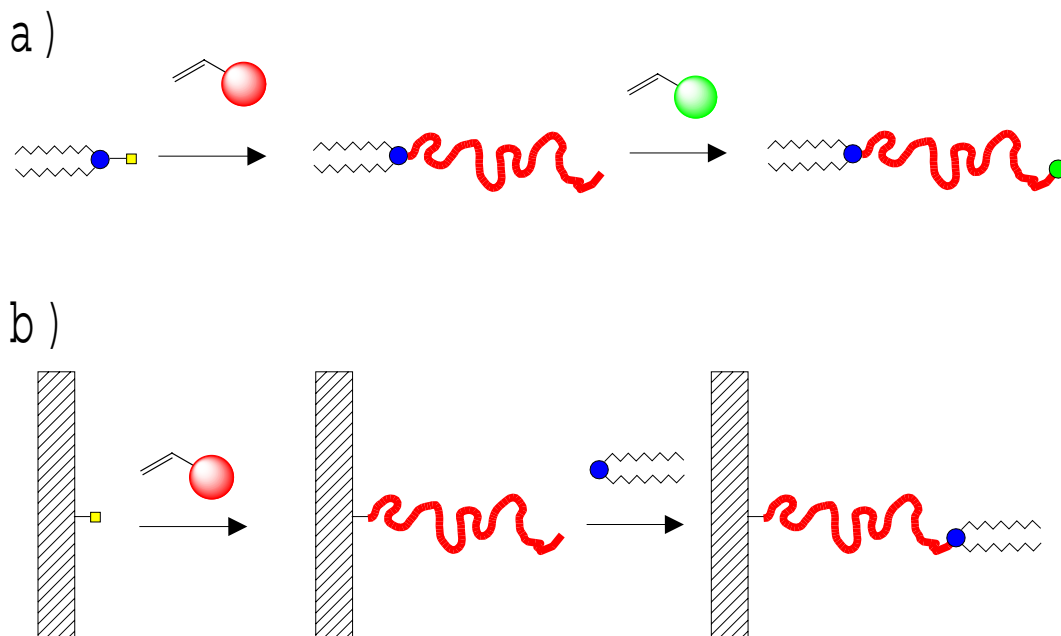
Da das N-Tetradecyl-4-pyrenylbutanamin **9** bereits in der unprotonierten Form vorlag, wurde entsprechend ohne Zusatz an Triethylamin umgesetzt. Auch hier wurde das Produkt **I10** durch Chromatographie gereinigt und in quantitativer Ausbeute erhalten.

Als vorletzten Initiator wurde der Versuch unternommen das natürliche Lipid DM-PE umzusetzen. Es wurden analog den beiden oben beschriebenen Aminen verfahren. Die Reinigung erfolgte auch hier durch Säulenchromatographie. Man erhält in 34 % Ausbeute den Initiator **I11**.

Letzlich wurde noch ein Oberflächeninitiator **I12** synthetisiert. Hierzu wurde Cysteaminmethylidisulfid **1** mit dem Aktivesterinitiator **I8** in Chloroform umgesetzt. Der entstehende Initiator **I12** wurde anschließend durch Chromatographie gereinigt und wurde so in einer Ausbeute von 90 % erhalten.

#### 4.4 Endfunktionalisierte Lipopolymere

Um nun  $\alpha$ - $\omega$ -endfunktionalisierte Lipopolymere zu synthetisieren bestehen zwei prinzipielle Möglichkeiten. Einmal lässt sich das Polymer vom Lipidanker her aufbauen und am Ende der Polymerisation kann dann der Oberflächenanker angebracht werden. Es bietet sich aber auch an, das Polymer vom Oberflächenanker beginnend aufzubauen und am Ende der Polymerisation den Lipidanker anzubringen. Beide Möglichkeiten sind einmal in Abbildung 28 schematisiert.



**Abbildung 28:** Synthese von  $\alpha$ - $\omega$ -endfunktionalisierte Lipopolymeren: a) beginnend vom Lipidanker, b) beginnend von der Oberfläche.

Da als Oberflächenanker auf Gold eine Disulfidgruppe Verwendung findet, läßt sich eine Polymerisation in Lösung nicht mehr durchführen, da hier eine Kettenübertragung im Laufe der Polymerisation eintreten könnte. Daher muss in dieser Route zuerst der Oberflächenanker an der Oberfläche fixiert werden. Erst dann kann eine Polymerisation von der Oberfläche weg initiiert werden.

Beide Möglichkeiten haben ihre Vor- und Nachteile. So ist es möglich bei der Polymerisation von der Oberfläche weg, eine hohe Oberflächenbelegung mit Polymer zu erreichen. Es besteht hier auch die prinzipielle Möglichkeit die Filmdicke über den Polymerisationsgrad zu kontrollieren. Und mit den Möglichkeiten der Strukturierung hat man sogar die Chance auf einfachem Wege zu strukturierten Oberflächen zu gelangen. Jedoch erweist es sich als Nachteil dieser Methode, daß die Synthese lediglich im Nanogramm-Bereich durchgeführt werden kann. Somit ist eine vernünftige Polymercharakterisierung mit den üblichen Standarduntersuchungen sehr schwierig, wenn nicht gar unmöglich.

Im Gegenteil dazu bietet die Polymerisation vom Lipidanker weg die Möglichkeit Polymere im Milligramm- bis Gramm-Bereich zu synthetisieren. Dadurch ist eine gute Polymercharakterisierung möglich. Da jedoch später die Polymere durch einen Selbst-Organisations-Prozess auf der Oberfläche abgeschieden werden, ist damit auch die Oberflächenbelegung nur sehr eingeschränkt kontrollierbar und wesentlich weniger dicht belegt.

Es soll hier jedoch erst einmal der Schwerpunkt der Synthese auf die Polymerisation vom Lipidanker beginnend (Abbildung 28a) gesetzt werden, um die Polymerisationsbedingungen mit Acrylamiden zu untersuchen und zu optimieren. Erst danach kann die Polymerisation von der Oberfläche weg vernünftig angegangen werden.

#### 4.4.1 Polymerisationsbedingungen

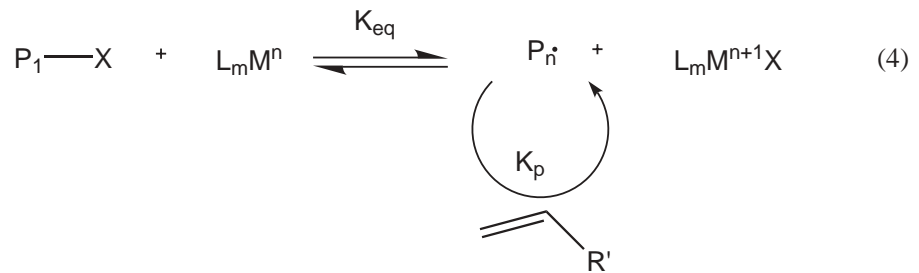
Um endfunktionalisierte Polymere bzw. Blockcopolymere darstellen zu können bedarf es einer lebenden oder kontrollierten Polymerisation. D.h. es soll eine schnelle Initiierung erfolgen, die eine konstante Konzentration an wachsenden Polymerketten bereit stellt. Bedient man sich der kontrollierten radikalischen Polymerisation, so ist auch Sorge dafür zu tragen, daß eine gleichbleibende Radikalkonzentration besteht. Dies wird am besten durch ein Gleichgewicht zwischen einer *schlafenden* und aktiven Spezies erreicht. Hält man nun die Konzentration an aktiven Spezies bzw. wachsenden Radikalen während der Polymerisation genügend klein, so werden der Terminierungsschritt und die Übertragungsreaktionen der Polymerisation weitgehend unterdrückt [148].

Die Atom Transfer Radikal Polymerisation (ATRP) [149, 150] ist ein radikalischer Prozess, der die oben genannten Bedingungen erfüllt. Ein ATRP System besteht aus einem Initiator, einem Metallhalogenid, welches mit einem geeigneten Ligandensystem komplexiert ist und natürlich einem Monomer. Voraussetzung ist, daß das Metallion zwei stabile Oxidationsstufen einnehmen kann. Die größte Bedeutung fanden bis dahin Kupfer-basierende ATRP Systeme. Aber auch Ruthenium-, Nickel- und Eisen-

Initiierung:



Wachstum:



**Abbildung 29:** Mechanismus der Atomtransfer Radikal Polymerisation (ATRP).

Systeme wurden beschrieben. Als komplexierendes Ligandensystem für Kupfer(I) finden überwiegend 2,2'-Bipyridine, 2-Iminopyridine, aliphatische Polyamine und cyclische Oligoamine, wie 1,4,8,11-Tetramethyl-1,4,8,11-tetraaza-cyclotetradekan ( $\text{Me}_4\text{Cyclam}$ ) Verwendung. Initiatoren für die ATRP sind meistens homogene Strukturen der korrespondierenden Polymerendgruppen, welche zusätzlich eine aktiviertes Halogenatom tragen. Jedoch sollten das Halogenatom des Initiators und des Metallkomplexes gleich sein. In der ATRP wurden mittlerweile eine ganze Reihe an Monomeren verwendet. Zu nennen sind hier Styrole, (Meth)-Acrylate, (Meth)-Acrylamide und Acrylnitril. Jedoch *wächst* die Liste der Monomere ständig weiter.

Der Mechanismus der ATRP [151], dargestellt in Abbildung 29, besteht also aus einem Initiierungsschritt und einem Wachstumsschritt, welche phenomenologisch zusammenhängen. Im ersten Schritt, der Initiierung, wird ein Halogenatom zum Metallion transferiert. Durch die homologe Spaltung der Kohlenstoff-Halogen Bindung (C–X) entsteht ein Radikal am Kohlenstoffatom ( $R\cdot$ ). Gleichzeitig wird das Metallion oxidiert ( $M^{n+1}$ ) und es bindet das hierdurch entstehende Halogenidion (Schritt 1). Hier ist auch ersichtlich, warum nur wenige Metallionen für die Reaktion in Frage kommen. Das Metallion muss in zwei Oxidationsstufen stabil vorliegen können, um das Gleichgewicht zu ermöglichen. Es ist auch ersichtlich, daß das Redoxpotential günstig liegen muss.

Es handelt sich bei dem Initiierungsschritt (Schritt 1) um eine reversible Reaktion, welche sehr weit auf der linken Seite liegt. D.h. es liegt eine Kohlenstoff-Halogen Bindung vor. Man spricht auch von der *schlafenden* Spezies. Ist jedoch einmal das Radikal (die aktive Spezies) gebildet, hat es alternativ zur Rückreaktion zur *schlafenden* Spezies die Möglichkeit ein Monomeres zu addieren (Schritt 2). Das entstehende Radikalende der sich bildenden Polymerkette hat nun wieder die Möglichkeit durch die Ausbildung der Kohlenstoff-Halogen Bindung in die *schlafende* Spezies überzugehen (Schritt 3).

Der Wachstumsschritt besteht nun in einer kontinuierlichen Abfolge dieser Prozesse. Sobald eine aktive Spezies gebildet wird, besteht die Möglichkeit der weiteren Monomeraddition (Schritt 4).

#### 4.4.2 ATRP von Acrylamiden

Zu Beginn dieser Arbeit war noch recht wenig über die ATRP von Acrylamiden bekannt und erst im Laufe der Arbeit wurde einiges darüber bekannt [152, 153]. Daher waren zuerst die geeigneten Bedingungen der Polymerisation zu untersuchen. Hierzu wurde der Modellinitiator **II** herangezogen. Als Monomer wurde zuerst reines Acrylamid **M3** eingesetzt. Zur Komplexierung von Cu(I)Br wurde 1,4,8,11-Tetramethyl-1,4,8,11-tetraaza-cyclotetradecan ( $Me_4$ Cyclam) ausgewählt. Andere Ligandensysteme, wie N,N,N',N'',N'''-Pentamethyldiethylentriamin (PMDETA), die ebenfalls eine Löslichkeit in Wasser aufweisen, wurden ebenfalls versucht, jedoch wies  $Me_4$ Cyclam die beste Verwendbarkeit auf.

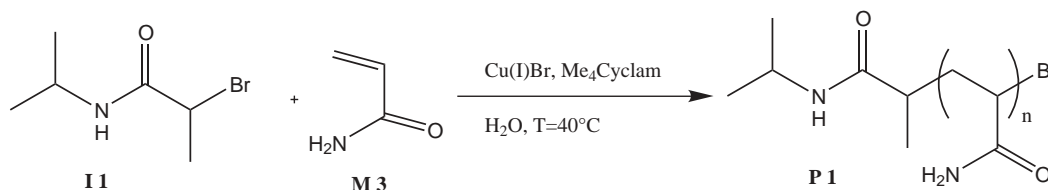


Abbildung 30: ATRP von Acrylamid **M3** mit dem Modellinitiator **II**.

Zur Polymerisation (siehe Abbildung 30) wurde der Initiator **II** in Wasser vorgelegt. Die Lösung wurde durch Einleiten von Stickstoff entgast. Zu dieser Lösung

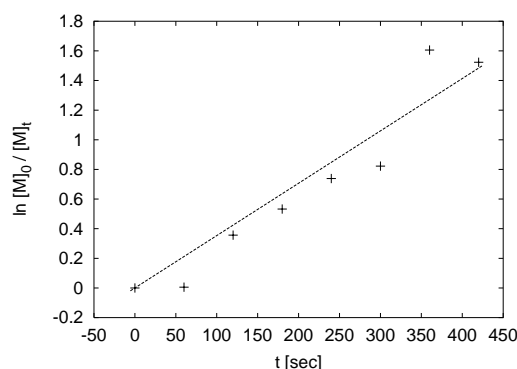
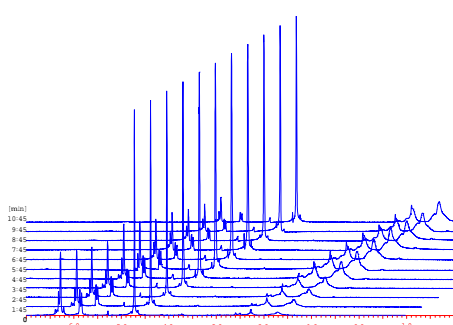
wurden dann bei  $T=40^{\circ}\text{C}$  eine ebenfalls entgaste Lösung aus Acrylamid in Wasser und eine entgaste Lösung aus  $\text{Cu(I)Br}$  mit  $\text{Me}_4\text{Cylam}$  in Wasser gegeben. Die vereinigten Lösungen wurden dann unter Stickstoff gerührt. Nach 15 Minuten konnte das entstandene Polymere in Aceton gefällt werden.

Um einen Eindruck der Polymerisationskinetik zu bekommen, wurde die Polymerisation erneut durchgeführt – diesmal in  $\text{D}_2\text{O}$  – und jede Minute ein NMR-Spektrum während der Reaktion aufgenommen.

a)

b)

Polymerisation bei  $T=40^{\circ}\text{C}$  im NMR beobachtet :



**Abbildung 31:** ATRP von Acrylamid **M3** mit dem Modellinitiator **II** in  $\text{D}_2\text{O}$ . a) Die NMR-Spektren während der Reaktion. b) die kinetische Auswertung der Reaktion.

Die in Abbildung 31a) dargestellten NMR-Spektren sind alle gegen den  $\text{H}_2\text{O}$ -Peak bei  $\delta = 4.6$  normiert. Man erkennt wie die Intensität der Peaks der Vinylprotonen bei  $\delta = 6.2-5.6$  im Lauf der Reaktion abnimmt. D.h. es wird Monomeres bei der Reaktion verbraucht. Daß es auch tatsächlich in ein Polymer eingebaut wird, erkennt man an dem stetigen Zuwachs der Peaks bei  $\delta = 2.4 - 2.1$  und  $\delta = 1.8 - 1.4$ , welche den Methin- und Methylenprotonen des Polymerrückgrates zugewiesen werden können.

Man erkennt bereits an den NMR-Spektren, daß die Polymerisation sehr schnell von statten geht. Zumindest wesentlich schneller im Vergleich zu den üblich beschriebenen Polymerisationen (z.B. Polystyrol, ATRP  $>4$  Stunden [147], [154]). Genau Gründe hierfür sind nicht bekannt, jedoch wird vermutet, daß das Wasser einen erheblichen Beschleunigungseffekt auf die Polymerisation hat [155]. Erklären läßt sich dies entweder in einer Stabilisierung des oxidierten Metallions oder durch die bessere Solubilisierung der einzelnen aktiven Zentren, so daß das Gleichgewicht dadurch gestört, bzw. auf die Seite der aktiven Spezies verschoben wird.

Wertet man die Spektren aus und trägt den Logarithmus von  $[M]_0/[M]_t$  gegen die Zeit  $t$  auf, erhält man die Kurve aus Abbildung 31b). Hierbei sind  $[M]_0$  die Monomerkonzentration zur Zeit  $t = 0$  und  $[M]_t$  die Monomerkonzentration zur Zeit  $t$ . Die Kurve zeigt ein mehr oder weniger lineares Verhalten. Dieses ist typisch für eine kon-

trollierte Reaktion. D.h. trotz der vermeindlich schnellen Reaktion liegt trotzdem noch eine gute Kontrolle der Reaktion vor.

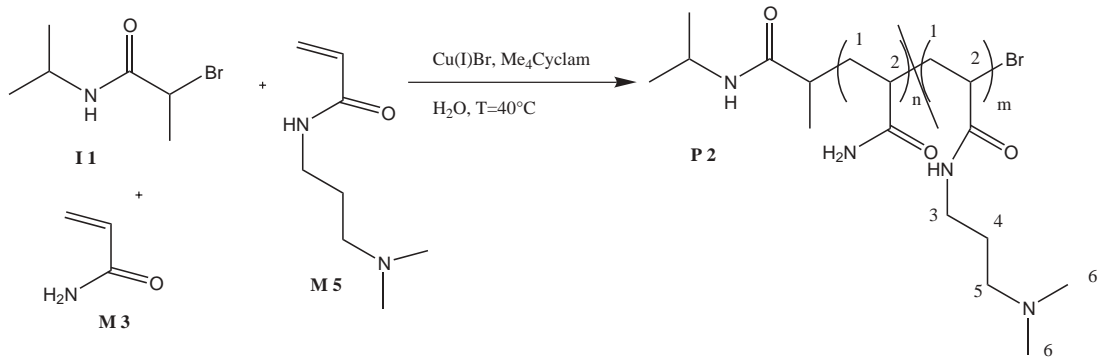
Die so erarbeiteten Bedingungen wurden nun auf die Möglichkeit Copolymere zu synthetisieren getestet. Hierzu wurde N-(3-dimethylaminopropyl)-acrylamid **M5** als Comonomeres gewählt, da es eine basische, tertiäre Amingruppe enthält. Es wurde wieder der Modellinitiator **I1** in Wasser verwendet, wie in Abbildung 32a zu sehen ist. Unter den gleichen Bedingungen konnte ein statistisches Copolymeres erhalten werden. Das entsprechende NMR-Spektrum ist in Abbildung 32b gezeigt. Man erkennt direkt den zusätzlichen Peak bei  $\delta = 3.1$ , der den Protonen in Nachbarschaft zum Amidstickstoff zugeordnet werden kann. Wertet man das Spektrum quantitativ aus, so erhält man ein Einbauverhältnis der Monomere (Acrylamid:N-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid) von 55:45. Dies kommt dem eingesetzten Monomerverhältnis von 50:50 sehr nahe, so daß im Rahmen der Mess- und Einwägegenauigkeit auf eine Übereinstimmung geschlossen werden kann. Evtl. liegt eine geringe Bevorzugung von Acrylamid **M3** vor, die wahrscheinlich in der geringeren Raumbeanspruchung des Monomeren begründet liegt.

#### 4.4.3 Synthese der Lipopolymere in Lösung

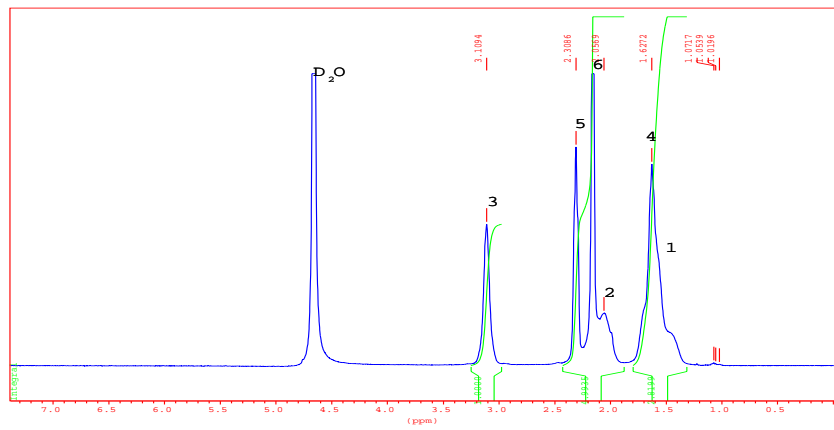
Nach erfolgreicher Polymerisation von Acrylamid **M3** mit dem Modelinitiator **I1**, stellt sich nun die Frage ob eine Initiierung der Polymerisation von Acrylamid **M3** mit den lipophilen Initiatoren **I2-I11** möglich ist. Ist also ein Reaktion, wie in Abbildung 33 gezeigt, möglich? Das größte Problem, welches sich direkt stellt ist die Unverträglichkeit der Reaktionspartner. Der Initiator ist ein sehr hydrophobes Molekül, welches in Wasser praktisch unlöslich ist. Das Monomer Acrylamid ist zwar auch in einigen organischen Lösungsmitteln löslich, jedoch ist das während der Polymerisation entstehende Polyacrylamid in den meisten organischen Lösungsmitteln unlöslich. Da eine Fällungspolymerisation nicht als kontrollierte Polymerisation zu führen ist, mußte ein geeignetes Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch gesucht werden.

Erste Versuche wurden in einem THF-Wasser Gemisch gemacht. Hierzu wurde der Initiator in THF vorgelegt und dann das Monomere und Cu(I)Br mit dem Ligand Me<sub>4</sub>Cyclam in einem THF-Wasser Gemisch zugegeben, so daß am Ende der Zugabe, der Wasseranteil überwiegt. Wichtig war die Kontrolle der Zugabe der Lösungen. Die Monomerlösung durfte nicht zu schnell zugegeben werden, denn ansonsten fiel der Initiator aus. Eine zu langsame Zugabe störte den Ablauf der kontrollierten Polymerisation. In Abbildung 34 ist ein NMR des in Aceton gefällten Produktes einer solchen Reaktion gezeigt. Man erkennt, daß sich tatsächlich Polymer während der Polymerisation gebildet hat. Die Methin- und Methylenprotonensignale sind bei  $\delta = 2.4 - 2.1$  ppm und bei  $\delta = 1.8 - 1.4$  ppm zu erkennen. Deutlich erkennt man auch im Methinsignal einen scharfen überlagerten Peak bei  $\delta = 2.18$  ppm. Dieser stammt von Aceton, da die Probe nicht ausreichend genug getrocknet wurde. Zusätzlich erkennt man einen Peak bei  $\delta = 1.25$  ppm. Dieser ist der Alkylendgruppe des Initiators zuzuordnen. D.h. es ist auch tatsächlich Initiator in das Polymere eingebaut worden. Integriert man jedoch die

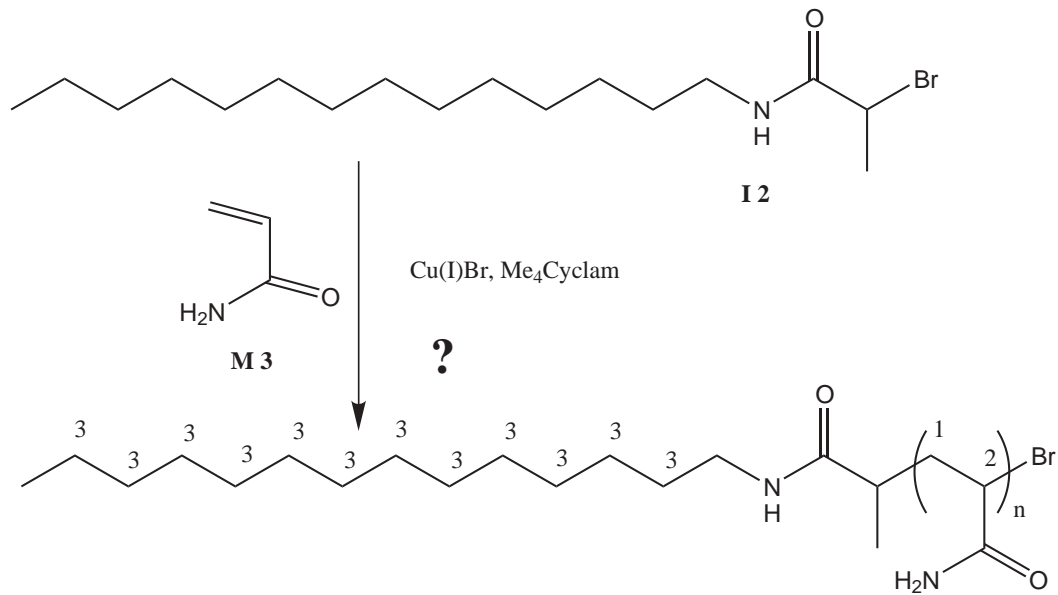
a)



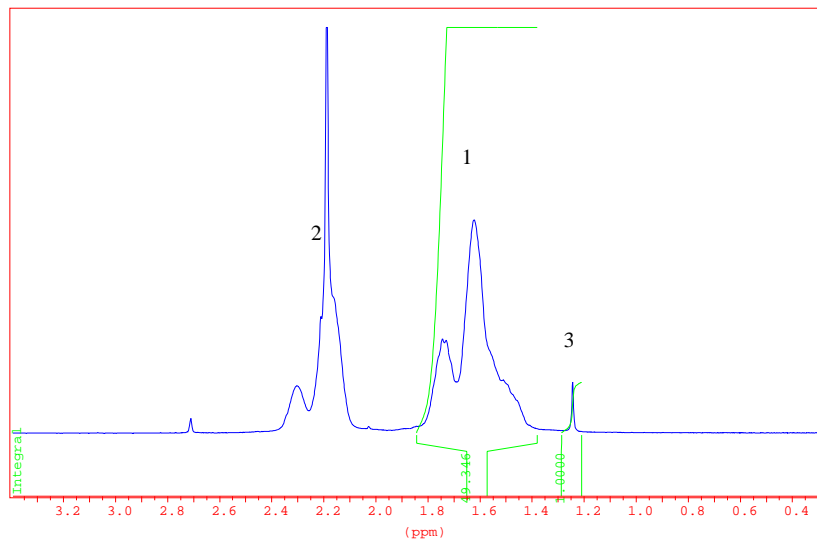
b)



**Abbildung 32:** a) Copolymerisation von Acrylamid **M3** mit *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid **M5** mit dem Modellinitiator **I1**. b) Das NMR-Spektrum des erhaltenen Polymeren.



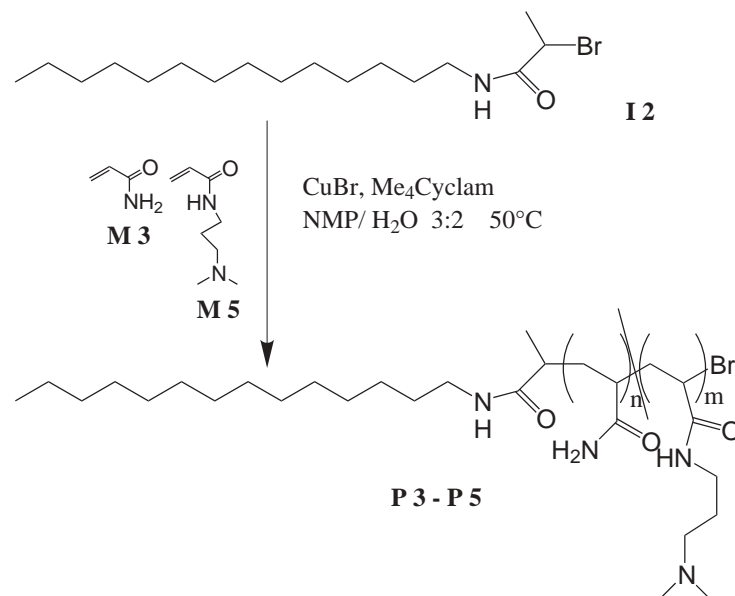
**Abbildung 33:** Polymerisation von Acrylamid **M3** mit dem lipophilen Initiator **I2**.



**Abbildung 34:** NMR des Polymeren aus Acrylamid **M3** mit dem lipophilen Initiator **I2** in einem THF/Wasser-Gemisch.

Signale, so erhält man einen Polymerisationsgrad von  $P_n \approx 600$ . Dieser ist wesentlich größer als das eingesetzte Initiator:Monomer Verhältnis von 1:100, d.h. dem anvisierten Polymerisationsgrad von  $P_n=100$ . Somit wird angenommen, dass eine kontrollierte Polymerisation unter diesen Bedingungen leider nicht erfolgt. Fraglich ist, ob es daran liegt, daß während der Monomerzugabe ein Teil des Initiators, bzw. einige Oligomere wieder ausfallen und somit der Polymerisation entzogen werden oder ob die kontinuierliche Monomerzugabe eine kontrollierte Polymerisation nicht ermöglicht.

Daraufhin wurde nach einer anderen Polymerisationsmöglichkeit gesucht. Nach RITTER lassen sich viele Polymerisationen hydrophober Monomere in Wasser vollziehen, wenn man Cyclodextrine als Lösungsauxiliare der Reaktion beimischt [156, 157]. Cyclodextrine liegen in einer torusartigen Struktur vor, deren innere Kavität ein hydrophober Bereich ist, wohingegen der äußere Teil aufgrund der Hydroxylgruppen hydrophil gestaltet ist. So kann sich der Cyclodextrinring über hydrophobe Moleküle stülpen und diese dadurch in Wasser lösen. Es lag also nahe, diese Lösungseigenschaft der Cyclodextrine zu nutzen, um die hydrophoben Initiatoren in einen in Wasser löslichen Komplex zu überführen. Jedoch bildeten Cyclodextrin in den Varianten  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cyclodextrin keinen löslichen Komplex. Vielmehr entstand ein unlöslicher Komplex. Daher konnte eine Polymerisation in reinem Wasser unter Zuhilfenahme von Cyclodextrinen nicht durchgeführt werden.



**Abbildung 35:** Polymerisation von  $\alpha$ -funktionalisierten Lipocopolymeren.

Somit bestand nur noch die Möglichkeit ein geeignetes Lösungsmittelgemisch zu finden in dem eine kontrollierte Polymerisation möglich ist. Es wurden eine ganze Reihe an unterschiedlichen, mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln versucht. Jedoch traten bei den meisten Gemischen ähnliche Probleme wie bei dem beschrie-

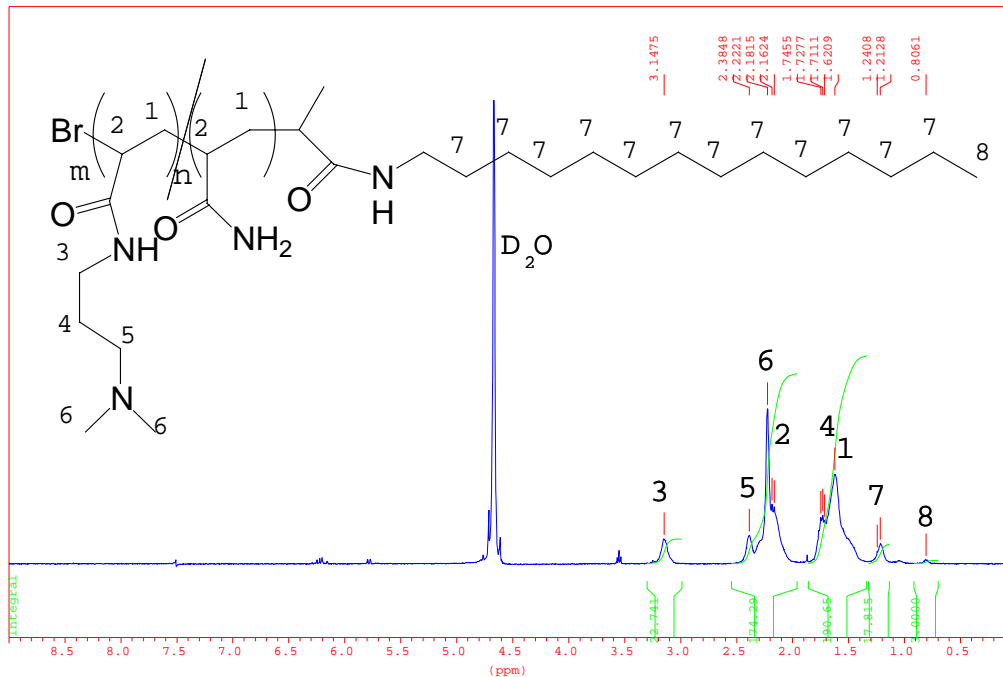


Abbildung 36: NMR-Spektrum des  $\alpha$ -funktionalisierten Polymeren **P4**.

ben Versuch der THF-Wasser Mischung auf. Letzlich erfolgreich war eine Wasser/N-Methylpyrrolidon (H<sub>2</sub>O-NMP) Mischung im Verhältnis (2:3). Es mußte nun noch untersucht werden, ob auch eine Copolymerisation in diesem Gemisch möglich ist. Dazu wurden ein Verhältnis von Acrylamid **M3** und N-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid **M5** von 80:20 eingesetzt und mit dem Initiator **I2** die Polymerisation initiiert, wie in Abbildung 35 zusehen ist. In Abbildung 36 ist das NMR-Spektrum des in Aceton gefällten Produktes zu sehen. Deutlich sind wieder die Methylen- und Methinprotonensignale des Polymerrückgrates bei  $\delta = 1.8 - 1.4$  ppm und bei  $\delta = 2.4 - 2.1$  ppm zu erkennen. Desweiteren ist ebenfalls die Endgruppe des Initiators zu erkennen bei  $\delta = 1.25$  ppm. Aus der Integration läßt sich der Polymerisationsgrad berechnen und liegt in der erwarteten Größenordnung von  $P_n \approx 100$ . Zusätzlich sind die Signale des Comonomeren zu erkennen. Bei  $\delta = 1.65$  ppm finden sich das Signal der inneren Methylenprotonen der Propylkette (H<sub>4</sub>). Etwas weiter bei  $\delta = 2.34$  ppm tauchen das Signale der beiden Methylgruppen am Aminstickstoff auf (H<sub>6</sub>). Mit diesem Peak überlappend finden sich das Signal der Methylenprotonen am Aminstickstoff (H<sub>5</sub>) bei  $\delta = 2.52$  ppm. Und schließlich bei  $\delta = 3.01$  ppm liegt das Signal für die Methylenprotonen am Amidstickstoff (H<sub>3</sub>).

Da dies bereits die eigentliche Grundstruktur der anvisierten Polymere darstellt, wurde eine Reihe unterschiedlicher Polymer synthetisiert. Es wurden hierzu die verschiedenen Initiatoren verwendet und das Verhältnis der Comonomere **M3** und **M5**

variiert. Die ganze Reihe ist in der Tabelle 2 zusammengefasst. Die gesamte Reihe der Polymer **P3-P10** wurde mit einem Monomer:Initiator Verhältnis von 100:1 angesetzt. Nachdem alle Reaktanden zusammengegeben worden sind, wurde die Polymerisation für 20 Minuten bei 70°C unter Stickstoff gerührt. Alle Polymere wurden in kaltem Aceton gefällt. Die Ausbeuten der Polymerisation lagen zwischen 20 und 50 %. Da hier nur sehr kleine Ansätze (im Millimol-Bereich) synthetisiert wurden, ist der Verlust durch das Ausfällen in Aceton nicht zu vernachlässigen und wird als Hauptgrund für die geringen Ausbeuten verantwortlich gemacht.

Zusätzlich wurden Gradientenpolymere synthetisiert. Dazu wurde das Monomer **M5** erst nach einer Reaktionszeit von 10 Minuten zugegeben. Ansonsten wurde analog den oben beschriebenen Polymeren verfahren. So sind die Polymere **P11-P19** dargestellt worden.

**Tabelle 2:** Zusammensetzung unterschiedlicher  $\alpha$ -funktionalisierter Lipopolymere auf Polyacrylamidbasis (siehe Abbildung 35). Initiator:Monomerverhältnis 1:100 für alle Polymere.

Polymer	Initiator	Einwage		Einbau		$P_n^a$
		M3 (mol%)	M5 (mol%)	M3 (mol%)	M5 (mol%)	
<b>P1</b>	<b>I1</b>	100	0	100	0	-
<b>P2</b>	<b>I1</b>	50	50	55	45	-
<b>P3</b>	<b>I2</b>	100	0	100	0	-
<b>P4</b>	<b>I2</b>	80	20	82	18	90 <sup>b</sup>
<b>P5</b>	<b>I2</b>	80	20	80	20	87
<b>P6</b>	<b>I2</b>	70	30	71	29	69 <sup>b</sup>
<b>P7</b>	<b>I3</b>	80	20	80	20	116 <sup>b</sup>
<b>P8</b>	<b>I3</b>	70	30	72	28	62 <sup>b</sup>
<b>P9</b>	<b>I4</b>	80	20	80	20	105 <sup>b</sup>
<b>P10</b>	<b>I4</b>	70	30	73	27	100 <sup>b</sup>
<b>P11</b>	<b>I2</b>	80	20	87	13	95
<b>P12</b>	<b>I2</b>	70	30	77	23	103
<b>P13</b>	<b>I2</b>	50	50	62	38	50 <sup>b</sup>
<b>P14</b>	<b>I3</b>	80	20	92	8	188
<b>P15</b>	<b>I3</b>	70	30	84	16	92
<b>P16</b>	<b>I4</b>	80	20	88	12	74 <sup>b</sup>
<b>P17</b>	<b>I4</b>	70	30	84	16	63
<b>P18</b>	<b>I9</b>	80	20	90	10	210
<b>P19</b>	<b>I9</b>	70	30	80	20	119

<sup>a</sup>Berechnet über Flächenintegrale.

<sup>b</sup>Berechnet über Peakhöhen.

Zusätzlich galt es noch ein weiteres Problem zu lösen. Die ausgefällten Polymere enthalten alle noch Reste an komplexierten Kupferionen. Da die Polymere in Verbindung mit biologischen Materialien verwendet werden sollen, ist es elementar, daß die Kupferionen entfernt werden müssen. Hierzu wurden unterschiedlichste Versuche unternommen.

Wiederholtes Umfällen der Polymere führte nicht zur Abtrennung des Kupfers. Gleichzeitig minimiert sich hierdurch die Ausbeute, so daß dieser Weg als nicht erfolgreich bezeichnet werden kann. In der Literatur ist zu finden, daß die Kupferionen durch filtrieren über Aluminiumoxid abgetrennt werden können ([149] und Referenzen darin). Dies führte jedoch bei den hier vorliegenden Polyacrylamiden nicht zu Erfolg, da das Polymer ebenfalls auf dem Aluminiumoxid adsorbierten. Ähnlich verlief der Versuch die Kupferionen mit einem sauren kationischen Ionenaustauscher zu entfernen. Hier konnte zwar farbloses Polymer eluiert werden, jedoch in sehr bescheidener Ausbeute. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich in der Freisetzung von Protonen, beim Kupferaustausch. Hierdurch werden die tertiären Amingruppen des Polymeren zum Teil protoniert. Die Folge ist, daß diese nicht mehr eluieren.

Letzendlich zum Erfolg führte die Dialyse der Polymere. Diese konnte bei den Polyacrylamiden angewendet werden, da diese wasserlöslich sind. Dazu wurden die Polymere in wenig Wasser gelöst und diese Lösung in eine Dialyseschlauch mit einem MWCO (Molecular Weight Cut Off) von 3500 gefüllt. Dialysiert wurde nun zuerst gegen ein 2% ige Ammoniaklösung. Anschließend gegen Wasser. Die Dialyse gegen Ammoniak schiebt das Komplexierungsgleichgewicht von Kupfer mit dem Polymer weit auf die Seite des Ammoniak-Komplexes. Dadurch konnten farblose Polymerlösungen erhalten werden. Reines Polymer wurde durch Gefriertrocken gewonnen.

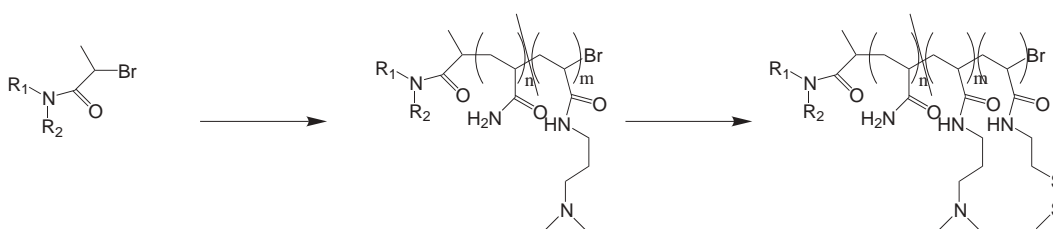
Zur Bestimmung des Polymerisationsgrades der endfunktionalisierten Polymere wurden verschiedene Methoden versucht. Der eigentlich routinemäßige Einsatz der GPC wies viele Probleme auf, die alle nicht zum Erfolg führten. Folgende Probleme traten auf. Erstens sind die entstehenden Polyacrylamide überwiegend nur in wäßrigen Lösungen untersuchbar. D.h. das macht die Verwendung einer wäßrigen GPC notwendig. Da die synthetisierten Polymere zusätzlich noch basische Gruppen enthalten und damit eher in die Klasse von Polyelektrolyten einzuordnen sind, ist der Einsatz von Elektrolyt-Lösung notwendig. Eine Elution der Polymere gelang nur in einer wäßrigen Formiat-Lösung. Die Eichung dieser wäßrigen GPC erfolgte gegen Polyethylenoxid Standards. So konnte ein Peakmolekulargewicht für das Polymer **P23** von ca. 1800 g/mol bestimmt werden, was in etwa ein  $P_n$  von 19 entspricht. Zwei Gründe sprechen dagegen, daß dieses Molekulargewicht nicht realistisch sein kann. Erstens wurden die Polymere mit einem Dialyseschlauch mit einem MWCO von 3500 gereinigt. D.h. Moleküle mit einem kleineren Molekulargewicht sollten durch die Poren des Schlauchs diffundieren können. Zweitens spricht dagegen die Berechnung des Molekulargewichtes aus der Endgruppenanalyse des NMR-Spektrums. Hier ergibt sich ein  $P_n$  von 91. Dieser Wert erscheint doch wesentlich realistischer. Gründe warum die GPC-Ergebnisse so falsche Werte liefert sind vielfältig. Zum einen ist sicher der Standard des Polyethylenoxids nicht als ideal zu betrachten. Denn die GPC trennt nach dem hydrodynamischen Radius der Polymere und Polyacrylamide und Polyethylenoxide weisen sicher eine unterschiedliche Knäuelgestalt in Lösung auf. Nach RIMMER sind Molekulargewichte von Polyacrylamiden mit der GPC sowieso sehr schwer zu bestimmen [158].

Damit sind in dieser Arbeit die Molekulargewichte, bzw. die Polymerisationsgrade, über die Endgruppenanalyse aus dem NMR-Spektren gemacht worden. Damit konnten durchweg die besten und verlässlichsten Ergebnisse erzielt werden.

Die  $\alpha$ -funktionalisierten Copolymere **P1-P10** der Tabelle 2 zeigen alle eine sehr gute Übereinstimmung zwischen dem anvisierten Comonomerverhältnis und dem tatsächlich erzielten. D.h. die statistische Copolymerisation der Monomere **M3** und **M5** verläuft sehr gut und ideal. Ähnlich verhält es sich mit den Polymerisationsgraden. Auch hier weisen alle Polymere **P1-P10** den anvisierten Polymerisationsgrad von  $P_n = 100$ , der sich aus dem Monomer/Initiator-Verhältnis ergibt, auf. Lediglich die Polymere **P5, P8** haben einen kleineren Polymerisationsgrad.

Betrachtet man sich nun die Gradientenpolymere **P11-P19** aus der Tabelle 2, so sind einige Dinge zu bemerken. Erstens werden die anvisierten Einbauverhältnisse der

Monomeren **M3** zu **M5** nicht erreicht. Der Einbau des Monomeren **M5** ist bei allen Polymeren kleiner. Dies bedeutet, daß keine perfekten Gradienten Polymere gebildet werden, d.h. nicht das gesamte Monomer **M5** in das Polymere eingebaut werden. Dies kann verschiedene Gründe haben. Erstens kann die Reaktion nicht perfekt kontrolliert verlaufen, d.h. einige Radikale werden über die Zeit abgebrochen. Zweitens kann die Gesamtreaktionszeit von 30 Minuten zu kurz gewesen sein, damit das gesamte Monomere **M5** verbraucht werden konnte. Beides würde zu den gefunden Einbauverhältnissen passen.

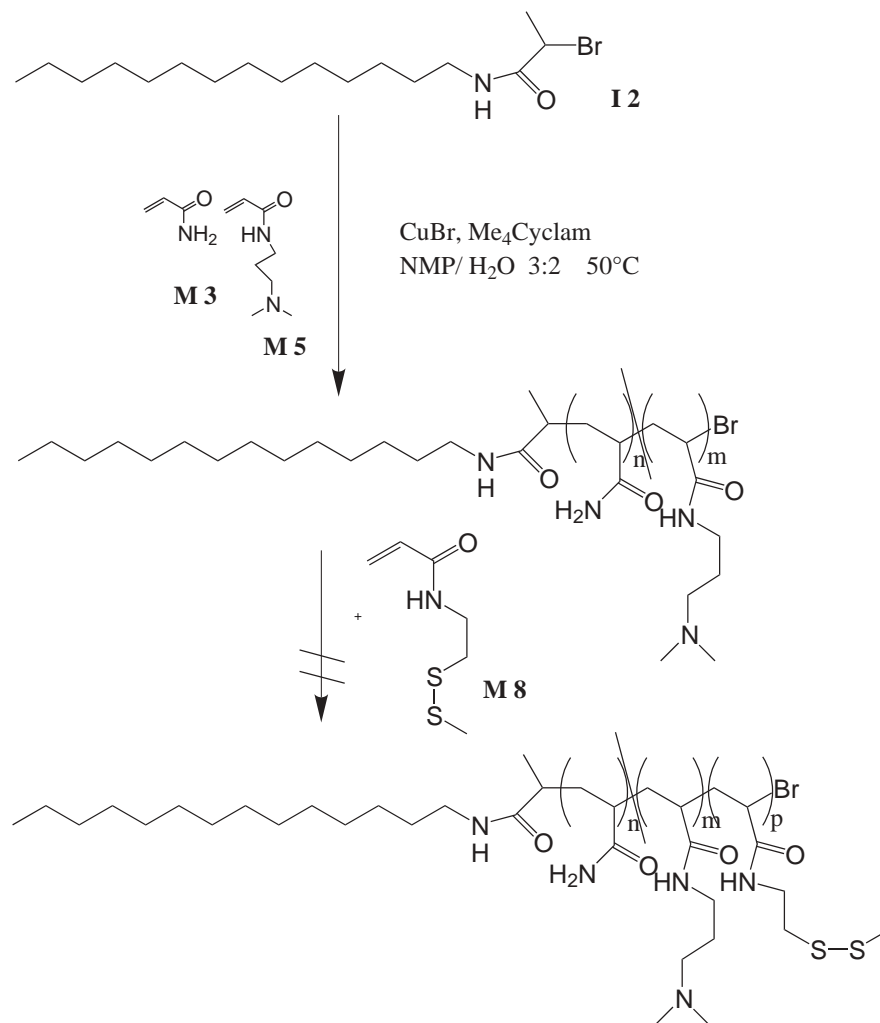


*Abbildung 37: Schema zu  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymeren.*

Es konnte also auch gezeigt werden, daß sich Gradienten- bzw. Blockcopolymer dargestellt werden können. Damit ist die Grundlage gelegt, um  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte Polymere zu synthetisieren.

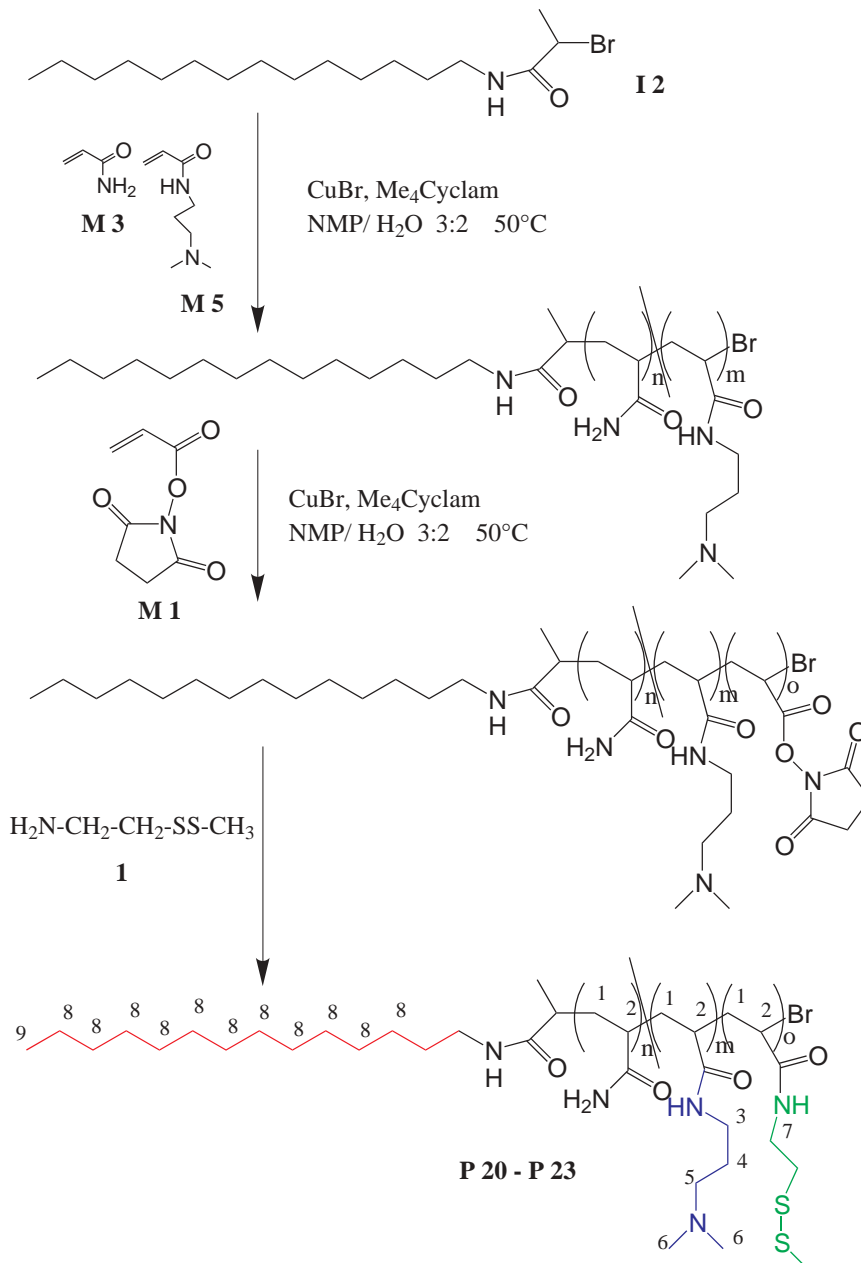
Um nun  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte Polymere zu erhalten, gilt es den Oberflächenanker als Endgruppe bzw. Endblock aufzupolymerisieren, wie in Abbildung 37 dargestellt. Da jedoch der gewählte Oberflächenanker eine Disulfidgruppe enthält, sollte eine Polymerisation ohne Übertragungsreaktionen nicht unbedingt möglich sein. Das jedoch größere Problem stellt die Unverträglichkeit des Disulfides mit dem Cu(I)Br dar. Der Versuch das Monomer **M8** aufzupolymerisieren, wie in Abbildung 38 gezeigt, schlug fehl. Sofort nach der Monomerzugabe färbte sich die Lösung schwarz. Das Ausfällen des Polymeren in Aceton war zwar möglich, jedoch konnte der Endblock der Disulfidgruppe, wie erwartet, nicht nachgewiesen werden. Somit ist die direkte Polymerisation des Oberflächenanker Monomeren **M8** nicht möglich.

Da also eine direkte Polymerisation nicht funktioniert, wurde der indirekte Weg zur Einführung des Oberflächenanker als Endblock versucht. Hierzu wurde versucht zuerst einen kurzen Endblock des Aktivmonomeren **M1** aufzupolymerisieren, um diesen dann polymeranalog zum Oberflächenanker umzusetzen. D.h. es wurde unter ähnlichen wie den oben beschriebenen Bedingungen das Polymere synthetisiert. Hierzu wurde eine Polymerisationszeit von 7 Minuten bei 50°C als optimal gefunden. Danach wurde direkt in die Lösung eine entgaste Lösung von **M1** in NMP zugegeben und die Polymerisation für weitere 20 Minuten rühren gelassen. Anschließend wurde die Reaktion durch Einrühren von Sauerstoff abgebrochen und Cysteaminmethyldisulfid **1** zugegeben, um in einer polymeranalogen Reaktion den eigentliche Oberflächenanker einzubauen, wie dies in Abbildung 39 zusammengefasst dargestellt ist. Daran folgend



**Abbildung 38:** Versuch der Polymerisation des Oberflächenanker Monomeren **M8** als Endblock.

wurde das Polymer gefällt, dialysiert und gefriergetrocknet. Nach dieser Methode sind eine ganze Reihe von  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polyacrylamiden synthetisiert worden. Variiert wurden wieder die Initiatoren, sowie die Monomerverhältnisse. Zusammengefaßt sind diese in Tabelle 3.



**Abbildung 39:** Versuch der Polymerisation des Aktivmonomeren **M 1** als Endblock. Anschließend erfolgt die polymeranaloge Umsetzung zum Oberflächenanker.

**Tabelle 3:** Zusammensetzung unterschiedlicher  $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Lipopolymere auf Polyacrylamidbasis (siehe Abbildung 39). Initiator: Monomerverhältnis 1:100 für alle Polymere.

Polymer	Initiator	Einwage		Einbau		$P_n^a$
		M3 (mol%)	M5 (mol%)	M3 (mol%)	M5 (mol%)	
<b>P20</b>	<b>I2</b>	100	0	100	0	150
<b>P21</b>	<b>I2</b>	95	5	80	20	106
<b>P22</b>	<b>I2</b>	80	20	73	27	95
<b>P23</b>	<b>I2</b>	70	30	70	30	91
<b>P24</b>	<b>I3</b>	80	20	79	21	36
<b>P25</b>	<b>I3</b>	70	30	69	31	65 <sup>b</sup>
<b>P26</b>	<b>I4</b>	80	20	79	21	64
<b>P27</b>	<b>I4</b>	70	30	63	27	48
<b>P28</b>	<b>I5</b>	80	20	77	23	88 <sup>b</sup>
<b>P29</b>	<b>I5</b>	70	30	67	33	104
<b>P30</b>	<b>I6</b>	80	20	76	24	162 <sup>b</sup>
<b>P31</b>	<b>I6</b>	70	30	73	27	127
<b>P32</b>	<b>I7</b>	80	20	75	25	2510
<b>P33</b>	<b>I7</b>	70	30	78	22	1703
<b>P34</b>	<b>I9</b>	80	20	81	19	142
<b>P35</b>	<b>I9</b>	70	30	71	29	168
<b>P36</b>	<b>I10</b>	80	20	77	23	35
<b>P37</b>	<b>I10</b>	70	30	71	29	50
<b>P38</b>	<b>I11</b>	80	20	79	21	73

<sup>a</sup>Berechnet über Flächenintegrale.

<sup>b</sup>Berechnet über Peakhöhen.

In Abbildung 40 ist das zugehörige NMR-Spektrum des Polymeren **P23** dargestellt. Man erkennt zusätzlich zu den  $\alpha$ -funktionalisierten Polymeren zwei weitere Peaks. Ein kleiner Peak bei  $\delta = 3.35$  ppm. Dieses Signal stammt von den Methylenprotonen am Amidstickstoff des eingebauten Oberflächenankers. Die weiteren Signale, die dem Oberflächenanker zugeordnet werden können, sind leider überlagert und lassen sich daher nicht auflösen. Jedoch ist zusätzlich ein kleiner scharfer Peak bei  $\delta = 2.95$  ppm zu erkennen. Dies stellt das Signal von abgespaltetem N-Hydroxysuccinimid dar. Ein vollständige Abtrennung gelingt lediglich durch mehrfaches Umfällen des Polymeren, worunter jedoch die Ausbeute sehr stark leidet.

Betrachtet man sich die Polymere der Tabelle 3 so stellt man fest, daß der Einbau der Monomere sehr genau mit dem theoretischen Verhältnis übereinstimmt. Größere Abweichungen weist nur das Polymer **P21** auf. Der Polymerisationsgrad hingegen scheint gewisse Tendenzen aufzuweisen. So nimmt  $P_n$  deutlich in der Reihe der Initiatoren von **I5** bis **I7** zu. Die Versuche Polymere mit dem Initiator **I7** zu synthetisieren

führt zu sehr hohen Polymerisationsgraden, die wesentlich größer als das anvisierte  $P_n$  von 100 sind. Die Gründe liegen wahrscheinlich in der zunehmend schlechteren Löslichkeit der Initiatoren mit längeren Alkylketten.

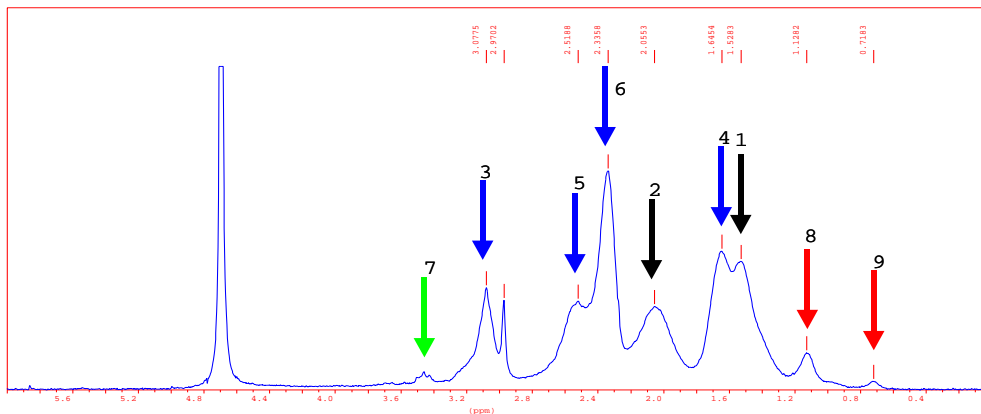


Abbildung 40: NMR-Spektrum des gereinigten Polymeren P23.

Um nun die Möglichkeit zu haben, die Polymereigenschaften zu variieren, wurden mit der oben beschriebenen Methoden entsprechende Poly(N-isopropylacrylamide) synthetisiert, wie in Abbildung 41 zusammengestellt. Dies konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die entsprechende Polymerreihe ist in Tabelle 4 zusammengestellt. Ein repräsentatives NMR-Spektrum (Polymer P41) ist in Abbildung 42 gezeigt. Man erkennt zu den Poly(acrylamiden) P20-P38 zwei deutliche Unterschiede. Erstens ist bei  $\delta = 3.75$  ppm das Signal des Methinprotons der N-Isopropylgruppe zu erkennen. Die entsprechenden Methylprotonen der N-Isopropylgruppe sind bei  $\delta \approx 1.1$  ppm zu finden. Diese überlagern sich mit den Methylenprotonen der hydrophoben Endgruppe der Polymere, deren Methylgruppe aber immernoch dem Signal bei  $\delta = 0.7$  ppm zugeordnet werden können. Deutlich sind auch die Signale des Disulfidankers bei  $\delta = 3.43$  ppm sowie diesmal auch das Signal bei  $\delta = 2.53$  ppm.

Auch bei den Poly(N-isopropylacrylamiden) konnten die theoretischen Verhältnisse der Monomere M4 und M5 sehr gut verifiziert werden. So stimmen die Einbauverhältnisse in den Polymeren fast immer überein. Etwas anders verhält es sich mit dem Polymerisationsgrad. Generell ist dieser bei den meisten Polymeren kleiner dem theoretischen  $P_n$  von 100. Als Grund hierfür könnte die schlechtere Kontrolle der Polymerisation von N-Isopropylacrylamid in Frage kommen.

Es konnte somit erfolgreich gezeigt werden, daß es mit der Atom Transfer Radikal Polymerisation möglich ist  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte Polymere in Lösung darzustellen.

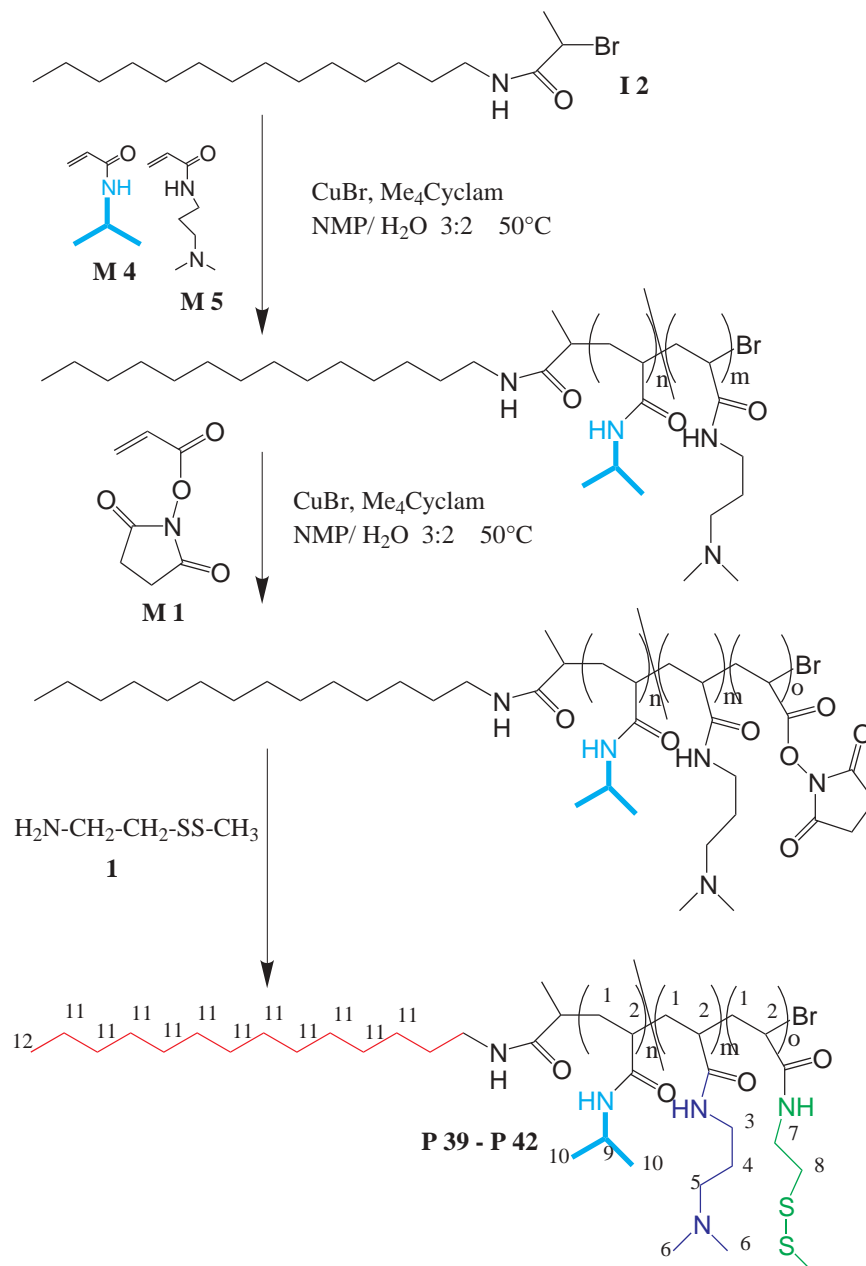


Abbildung 41: Polymerisation der  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Poly(*N*-isopropylacrylamide).

**Tabelle 4:** Zusammensetzung unterschiedlicher  $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Lipopolymere auf Poly(*N*-isopropylacrylamid)-basis (siehe Abbildung 41). Initiator:Monomerverhältnis 1:100 für alle Polymere.

Polymer	Initiator	Einwage		Einbau		$P_n^a$
		M4 (mol%)	M5 (mol%)	M4 (mol%)	M5 (mol%)	
P39	I2	100	0	100	0	35 <sup>b</sup>
P40	I2	95	5	96	4	35
P41	I2	80	20	81	19	72 <sup>b</sup>
P42	I2	70	30	75	25	43 <sup>b</sup>
P43	I3	80	20	81	19	142
P44	I3	70	30	72	28	41 <sup>b</sup>
P45	I4	80	20	80	20	40
P46	I4	70	30	78	22	101
P47	I5	80	20	80	20	86
P48	I5	70	30	73	27	62
P49	I6	80	20	80	20	80 <sup>b</sup>
P50	I6	70	30	74	26	222 <sup>b</sup>
P51	I7	80	20	80	20	129
P52	I7	70	30	73	27	63
P53	I9	80	20	79	21	217
P54	I9	70	30	70	30	173
P55	I10	80	20	80	20	37 <sup>b</sup>
P56	I10	70	30	69	31	90 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Berechnet über Flächenintegrale.

<sup>b</sup>Berechnet über Peakhöhen.

#### 4.4.4 Synthese der Polymere an Oberflächen

Jetzt stellt sich noch die Frage, ob es mit den ausgearbeiteten synthetischen Wegen auch möglich ist eine entsprechende Polymerstruktur direkt von der Oberfläche weg zu synthetisieren. Da ja bereits in der Einführung erläutert wurde, daß die Analytik von Oberflächen eine gänzlich andere ist. Daher wurde zuerst ein kleiner Umweg gegangen, um die Polymerisation besser in den Griff zu bekommen.

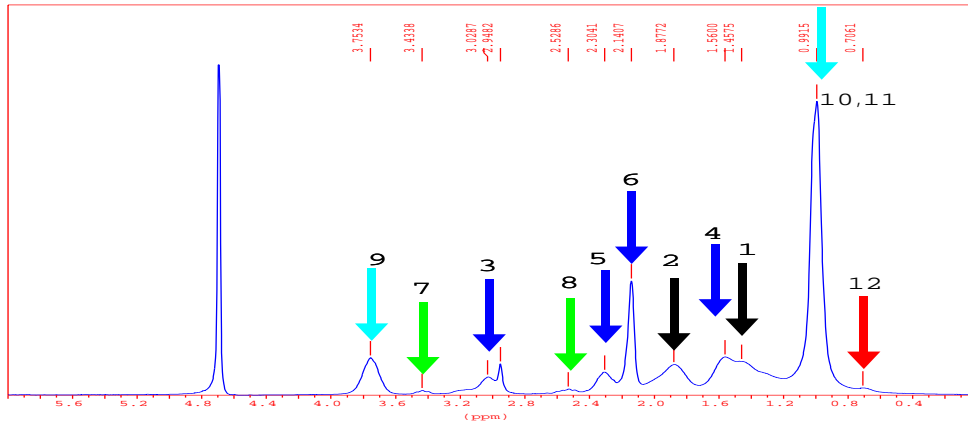


Abbildung 42: NMR-Spektrum des gereinigten Polymeren P41.

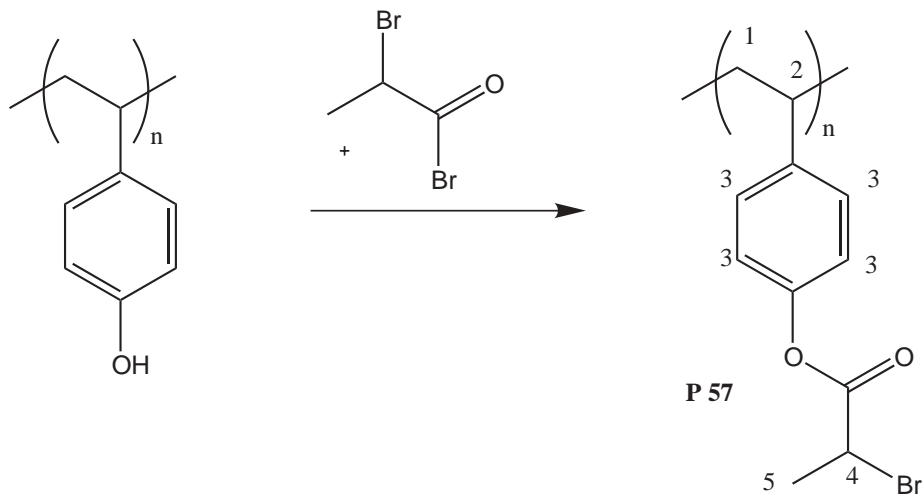


Abbildung 43: Polymeranaloge Veresterung von Poly(hydroxystyrol) mit 2-Brompropionsäurebromid zum polymeren Initiator P57.

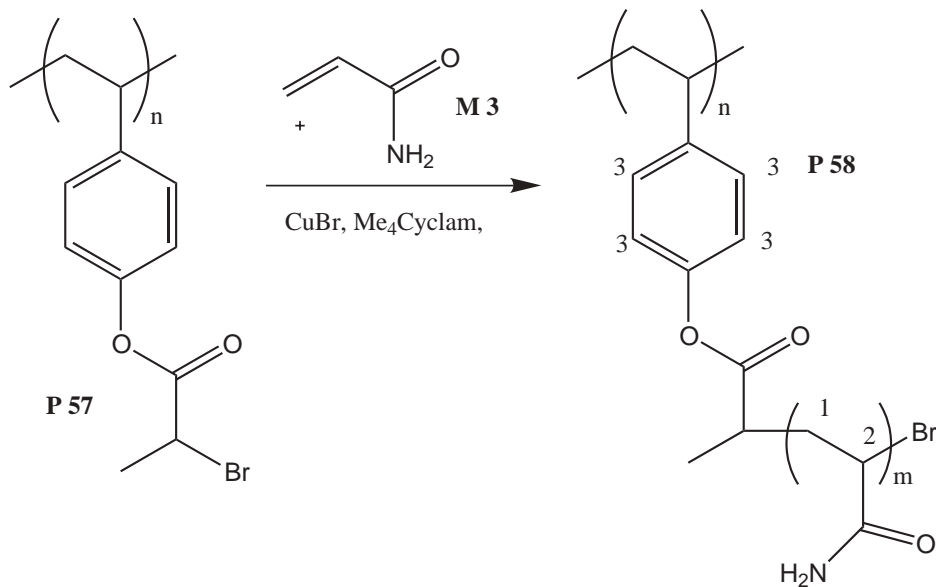
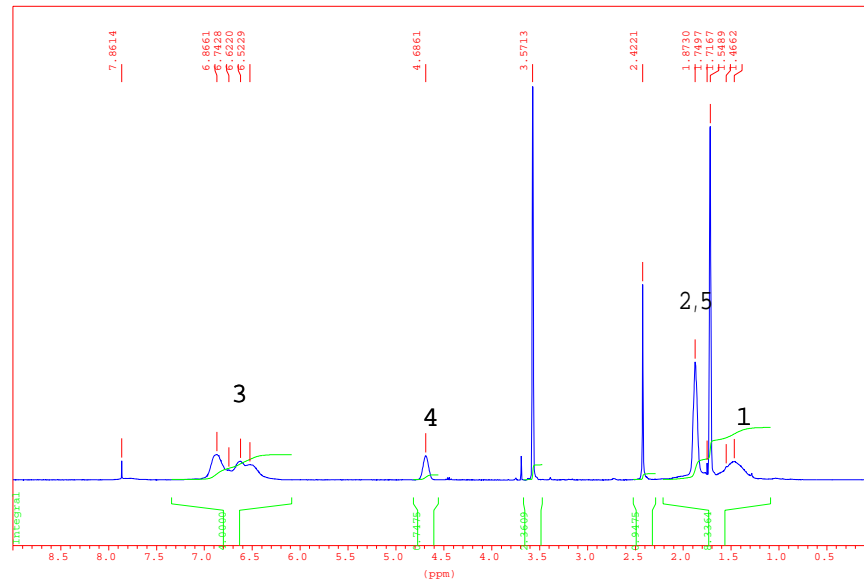


Abbildung 44: Graft-Polymerisation von Acrylamid **M3** zu Poly(styrol-graft-acrylamid).

Dazu wurde vorab versucht Polyacrylamid von einem Polymerrückgrat weg zupolymerisieren. Da dies prinzipiell der Polymerisation von der Oberfläche ähnelt, denn hier liegt eine ähnlich hohe lokale Dichte an Initiatoren vor, wird diese Methode zuerst beschrieben. Es wurde hierbei ausgegangen von einem engverteilten Poly(4-hydroxystyrol) ( $M_n=6560$ ,  $M_w/M_n=1.07$ ), welches freundlicher Weise von DR. M. BREHMER zur Verfügung gestellt wurde. Dieses wurde, wie in Abbildung 43 dargestellt, in einer polymeranalogen Reaktion mit 2-Brompropionsäurebromid verestert. Das Polymere wurde in kaltem Methanol gefällt. Dieses Initiator Polymer **P57** wurde dann in der beschriebenen Methode zur Polymerisation von Poly(acrylamid) eingesetzt, siehe Abbildung 44. Das entstehende Produkt wurde in Aceton gefällt. Wie man deutlich den in Abbildung 45 dargestellten NMR-Spektren entnehmen kann, handelt es sich bei dem Initiator Polymer **P57** (Abbildung 45a) um ein Polystyrolderivat, wohingegen nach der Umsetzung nur noch Polyacrylamid vorzuliegen scheint. In der Vergrößerung sind aber deutlich noch die Signale der aromatischen Protonen zu erkennen. Es handelt sich bei dem entstandenen Polymer **P58** also um Poly(styrol-graft-acrylamid).

Die in Lösung also erfolgreiche Polymerisation wurde nun auf die Oberfläche umgesetzt. Die ersten Versuche dazu fanden mit dem synthetisierten Initiator **I12**, wie in Abbildung 46 dargestellt, statt. Dazu wurde der Initiator **I12** in THF gelöst und auf einer Goldoberfläche adsorbiert. Der so erhaltene dünne Film wurde mit THF und Wasser abgespült und anschließend einer Lösung aus Acrylamid **M3**, CuBr und Me<sub>4</sub>Cyclam zugeführt. Nach einer halben Stunde wurde der Träger aus der Lösung genommen, mit Wasser gespült und erneut in der Oberflächenplasmonenspektroskopie vermessen. Es konnte keine Schichtdickenzunahme registriert werden. Daher wird ver-

a)



b)

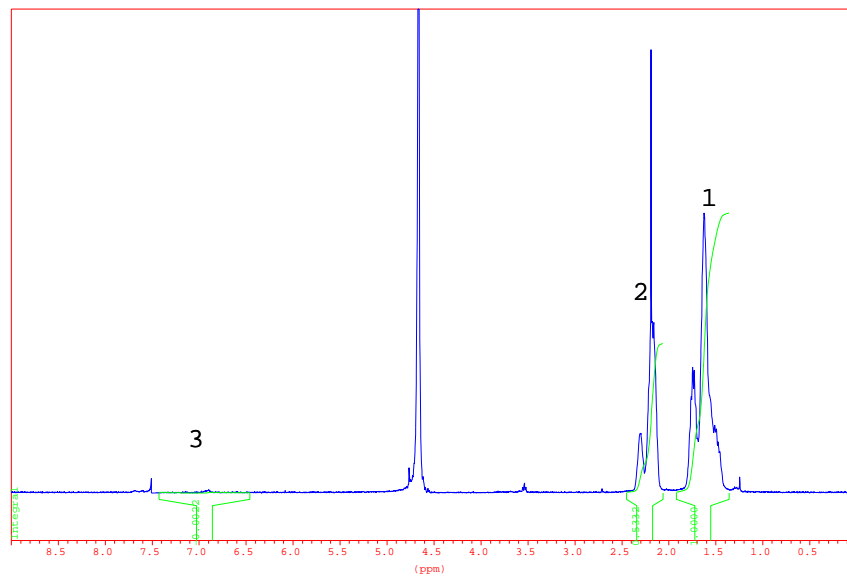
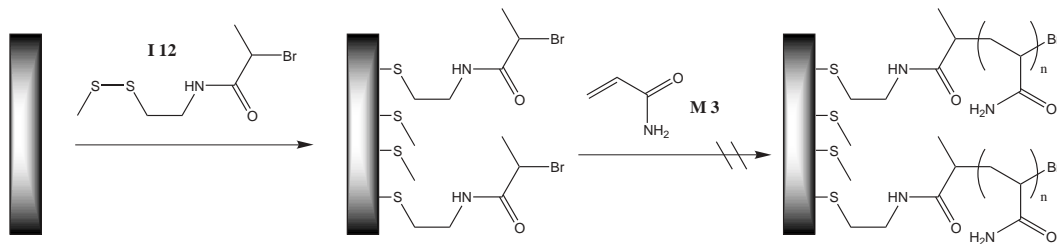
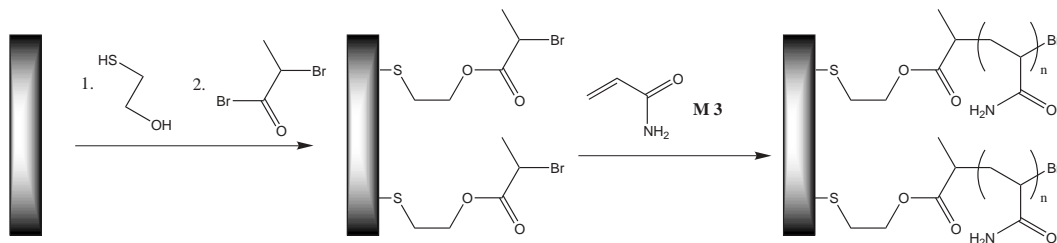


Abbildung 45: NMR-Spektren: a) des polymeren Initiators P57, b) des Graftpolymeren P58.

mutet, daß keine Initiierung von der Oberfläche statt fand.



**Abbildung 46:** Versuch zur Oberflächeninitiierung der Polymerisation von Acrylamid mit dem Oberflächeninitiator **I12**.



**Abbildung 47:** Zweiter Versuch zur Oberflächeninitiierung der Polymerisation von Acrylamid mit in situ präpariertem Oberflächeninitiator.

Nun wurde eine andere Herangehensweise gewählt, die in Abbildung 47 aufgezeigt ist. Es wurde zuerst Mercaptoethanol auf der Goldoberfläche adsorbiert. Die entstandene Monolage wurde dann an der Oberfläche zum Initiatorsystem verestert. Dieser Träger wurde nun wieder einer Lösung aus Acrylamid **M3**, CuBr und Me<sub>4</sub>Cyclam zugeführt. Nach einer halben Stunde Reaktionszeit und anschließendem Spülen mit Wasser wurde der Träger wieder vermessen. Diesmal konnte eine Schichtdickenzunahme um 13 nm registriert werden. Es fand also eine Initiierung von der Oberfläche statt.

Jetzt stellte sich die Frage, warum in dem ersten System keine Polymerisation stattfindet, in zweitem jedoch schon. Es gibt zwei prinzipielle Unterschiede in den beiden Systemen. Im ersten System besteht der Initiator aus einer Amidbindung, im zweiten aus einer Esterbindung. Da jedoch die Initiierung in Lösung ebenfalls mit Initiatoren, die eine Amidbindung aufwiesen funktionierte, kann angenommen werden, daß dies hier ebenfalls keine Bedeutung hat. Der zweite Unterschied besteht in der Ankergruppe. Im ersten System wird eine relativ sterisch anspruchsvolle Verbindung adsorbiert, wohingegen im zweiten System der Adsorptionsprozess eines kleineren Moleküls präsent ist. Dies sollte Auswirkungen auf die Packungsdichte des jeweils entstehenden SAMs haben. Ersterer sollte wesentlich weniger dicht und kompakt sein. Es

könnte also sein, daß hierdurch das auf der Oberfläche adsorbierte Sulfid – sofern es Kontakt zur Lösung hat – als Transferreagenz in der Polymerisation eingreifen könnte. Es würde also Polyacrylamid in Lösung entstehen, welches aufgrund seiner Hydrophilie sich nicht auf der hydrophoben Oberfläche abscheidet. Ein Beweis hierfür konnte jedoch nicht gefunden werden. Polymer in Lösung konnte nicht nachgewiesen werden.

In Zusammenarbeit mit BREHMER ET AL. wurde ein amphiphiles Blockcopolymer zur Oberflächenbeschichtung herangezogen. Es handelte sich dabei um Poly(octylstyrol-*block*-hydroxystyrol). Dieses Polymer wurde auf einer Goldoberfläche aufgeschleudert. Es wurde ein 30 nm dicker Film erhalten. Die besondere Eigenschaft dieses Polymeren ist seine Fähigkeit, den einen oder den anderen Block an der Oberfläche zu exponieren, entsprechend dem umgebenden Medium. Ist die Grenzfläche Luft, ein hydrophobes Medium, so kommt der hydrophobe Octylstyrolblock an die Oberfläche. Setzt man den Film Wasser aus, so kommt entsprechend der hydrophilere Hydroxystyrolblock an die Oberfläche [159]. Dieser läßt sich nun chemisch modifizieren. Dazu wurden die Hydroxygruppen entsprechend mit 2-Brompropionsäurebromid verestert. Dieser so erhaltene Film wurde dann in die oben beschriebene Polymerisationsmischung getaucht. Nach 30 Minuten wurde der Träger wieder mit Wasser gespült. Es wurde eine Schichtdickenzunahme von 10 nm registriert. D.h. auch hier konnte eine Oberflächenpolymerisation initiiert werden.

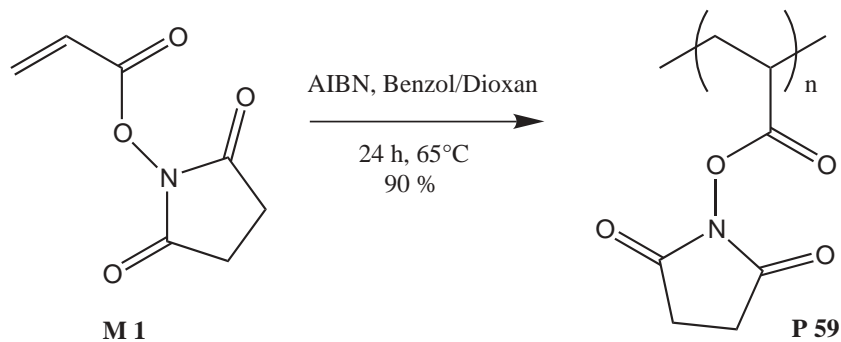
In den aufgeführten Versuchen konnte gezeigt werden, daß eine Oberflächeninitiation als Alternative zu endfunktionalisierten Polymeren möglich ist. Jedoch ist der Aufwand um ein vielfaches größer, weshalb der Versuch  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte Polymere darzustellen nicht unternommen wurde.

## 4.5 Statistische Lipopolymere

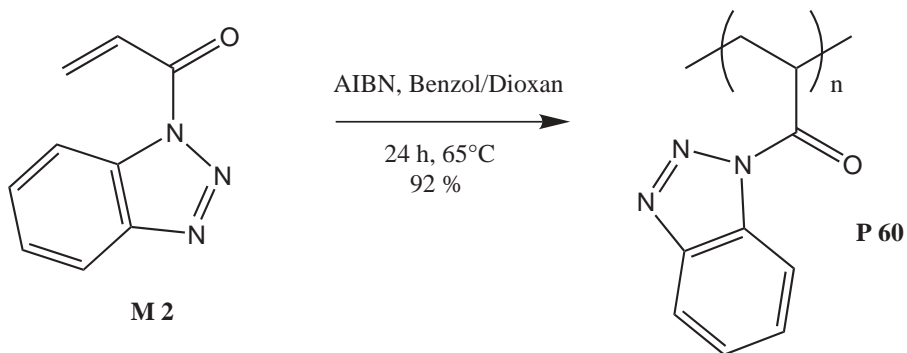
Die Oberflächeneigenschaften der  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymere sollen mit denen statistischer Polymere verglichen werden. Dazu wurden eine Reihe statistischer Lipopolymere synthetisiert. Hierzu wurden die unterschiedlichen funktionelle Gruppen (Lipidanker, Oberflächenanker) statistisch in ein Polymer eingebaut. D.h. es liegen die gleichen Funktionalitäten vor, jedoch ist keine definierte Struktur des Polymeren vorgegeben.

### 4.5.1 Polyacrylamid Derivate

Für eine erste Reihe von Polymeren sollten die in den  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymeren verwendeten Funktionalitäten in einem statistischen System eingebaut werden. Sehr erfolgversprechend und schon länger etabliert ist die Route über ein Reaktivesterpolymer. Die dazu verwendeten Monomere sind ja bereits in Kapitel 4.2 beschrieben. Es gilt also diese zu einem Präpolymeren zu polymerisieren. Dies in in Abbildung 48 und Abbildung 49 dargestellt. In einer 1,4-Dioxan/Benzol Mischung wird das NHS-Monomer **M1** mit AIBN polymerisiert. Ausfällen in Diethylether und erneutes Umfällen aus DMF in Diethylether ergab das reine Polymer **59** in 90 % Ausbeute.



*Abbildung 48: Lösungspolymerisation von M1 zu dem reaktiven Präpolymeren P59.*

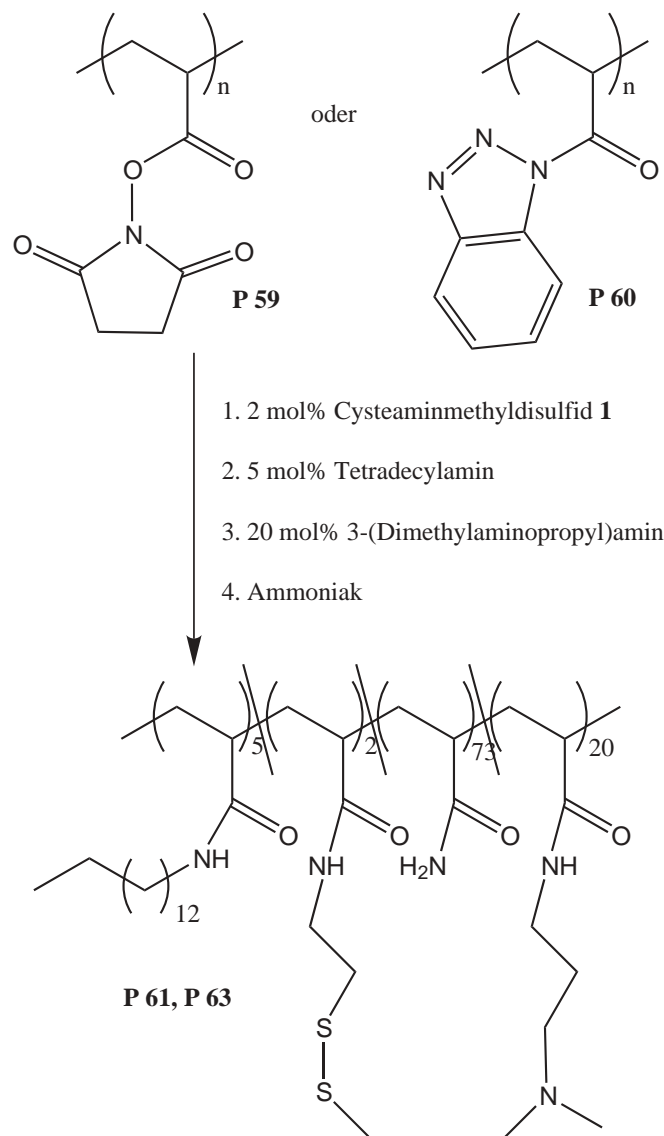


*Abbildung 49: Lösungspolymerisation von M2 zu dem reaktiven Präpolymeren P60.*

Alternativ kann auch das reaktive Präpolymere des Monomeren **M2** verwendet werden. Dieses kann in einer analogen Polymerisation in einem 1,4-Dioxan/Benzol Gemisch erhalten werden, wie in Abbildung 49 dargestellt. Aus- und Umfällen in Diethylether ergibt das Polymer **P60** in 92 % Ausbeute.

Diese reaktiven Präpolymere **P59**, **P60** können nun in einer polymeranalogen Reaktion zu statistischen Lipopolymeren umgesetzt werden. In Abbildung 50 ist hierzu die Reaktionsfolge gezeigt. Das in DMF gelöste Präpolymere wird zuerst mit 2 mol% Oberflächenanker **1** umgesetzt, anschließend werden 5 mol% Tetradecylamin oder Octadecylamin zugegeben. Nach beendeter Reaktion, welche durch DC-Kontrolle ermittelt wurde (Verschwinden des freienamins und des Oberflächenankers **1**), werden 20 mol% 3-(Dimethylaminopropyl)amin zugegeben. Danach wurden die Reaktionsansätze geteilt und jeweils mit Ammoniak oder Isopropylamin im Überschuß versetzt. Die Polymere werden dann nach 24 Stunden in kaltem Diethylether gefällt und getrocknet. In Tabelle 5 sind die so erhaltenen Polymere zusammengefaßt.

Trotz der formalen gleichen chemischen Zusammensetzung der endfunktionalisierten und der statistisch funktionalisierten Polymeren, zeigen sich doch schon im NMR-Spektrum erste Unterschiede. Exemplarisch sind in Abbildung 51 die NMR-



**Abbildung 50:** Polymeranaloge Umsetzungen zu den statistischen Lipopolymeren **P61-64**.

**Tabelle 5:** Zusammenstellung der statistischen Lipopolymere, die durch polymeranaloge Umsetzung dargestellt worden sind (siehe Abbildung 50).

Polymer	Alkylamin (5 mol%)	NH <sub>3</sub> (mol%)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub> (mol%)	Ausbeute
<b>P61</b>	Tetradecylamin	73	0	30 %
<b>P62</b>	Tetradecylamin	0	73	27 %
<b>P63</b>	Octadecylamin	73	0	32 %
<b>P64</b>	Octadecylamin	0	73	23 %

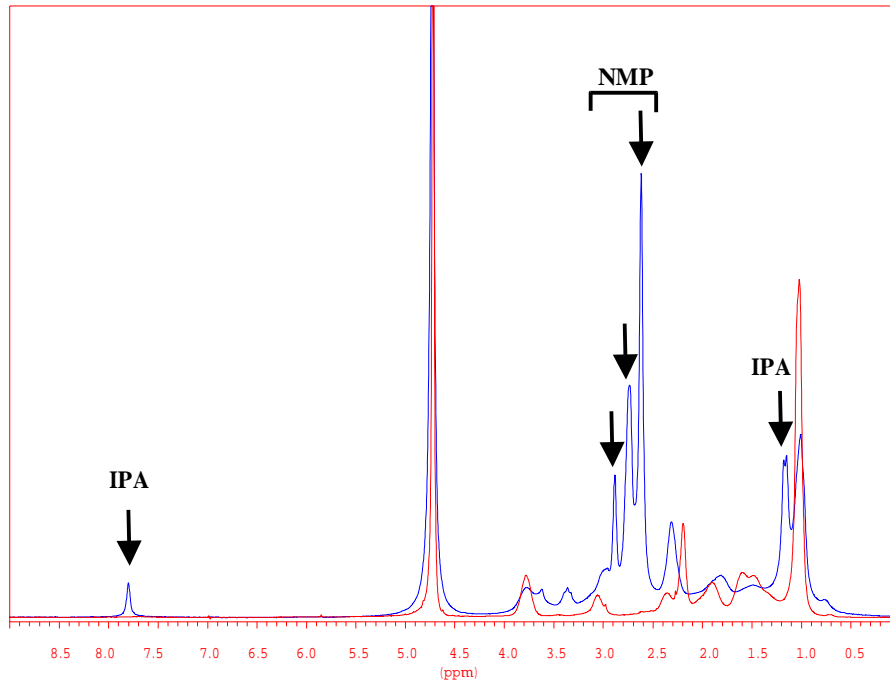
Spektren der Polymere **P45** (rote Kurve) und **P64** (blaue Kurve) zusammen dargestellt. Im Spektrum des Polymeren **P64** sind noch die Peaks von nicht umgesetzten Isopropylamin (IPA) sowie Lösungsmittelreste (NMP) zu erkennen. Diese sollten jedoch den Vergleich nicht zu sehr beeinflussen. In beiden Spektren ist deutlich die Methylgruppe der Octadecylgruppe bei  $\delta = 0.75$  ppm zu erkennen. Es zeigt sich jedoch, daß das im statistischen Polymeren etwas mehr des hydrophoben Octadecylamins eingebaut worden sind. Dies wurde beabsichtigt, da der statistische Einbau zur Folge hat, daß nicht alle eingebauten lipophilen Gruppen auch tatsächlich in einem dünnen Film an der Oberfläche vorliegen werden. Der Grund dafür ist, daß es die statistische Wahrscheinlichkeit gibt, daß eine lipophile Gruppe in direkter Nachbarschaft zu einem Oberflächenanker angebunden sein kann. Damit wird diese lipophile Gruppe bei der Anbindung des Polymeren an die Oberfläche ebenfalls direkt an der Oberfläche zu liegen kommen.

Gleiches gilt auch für das Einbauverhältnis des Oberflächenankers. Dieser liegt im statistischen Polymeren zu einem größeren Anteil vor. Auch die Peaks der Isopropylamidgruppen bei  $\delta = 3.8$  ppm und  $\delta = 1.1$  ppm liegen exakt übereinander.

Deutliche Unterschiede zeigen sich jedoch bei den restlichen Peaks. Die geringsten Differenzen weisen noch die Methylen- und Methin-Protonen bei  $\delta = 1.5$  ppm und  $\delta = 1.9$  ppm des Polymerrückgrates auf. Hier zeigen die Methin-Protonen eine etwas größere Verschiebung auf. Diese kann aber auch an den generell breiteren Peaks des statistischen Polymeren liegen.

Die größte Verschiebung weisen die Protonen der Methyl- und Methylengruppen am Aminstickstoff auf. Während im endfunktionalisierten Polymeren **P45** diese noch als zwei getrennte Peaks bei  $\delta = 2.34$  ppm und  $\delta = 2.5$  ppm zu erkennen sind, liegt bei dem statistischen Polymeren **P64** nur ein Peak bei  $\delta = 2.4$  ppm für beide Gruppen vor.

Um einen Vergleich mit bekannten, untersuchten Polymersystemen ziehen zu können wurden noch die von HAUSCH entwickelten Lipopolymere auf Jeff-amin-Basis synthetisiert [160]. Dazu wurde ebenfalls ausgehend vom Präpolymeren **P59** eine polymeranaloge Umsetzung durchgeführt, wie in Abbildung 52 dargestellt. Es wurden dazu analog der oben beschriebenen Umsetzung in der ersten Stufe der Oberflächenanker **1** in 2 mol% eingesetzt. Danach wurden 5 bzw. 10 mol% DMPE in warmem Pyridin gelöst zugegeben. Abschließend wurde mit einem Überschuß an Jeff-Amin (4,9-



**Abbildung 51:** NMR-Spektren des  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymeren **P45** (rote Kurve) und des statistisch funktionalisierten Polymeren **P64** (blaue Kurve).

Dioxa-1,12-dodecandiamin) umgesetzt. Die Polymere **P65** und **P66** wurden in Diethylether gefällt und dann getrocknet.

Neben der direkten Einführung der lipophilen Gruppen in die Polymere wurde noch der Versuch unternommen die lipophilen Gruppen polymeranalog in Polyacrylamide und Polyisopropylacrylamide einzuführen. Dazu wurden statistische Copolymere aus den Monomeren **M3** und **M5**, sowie **M4** und **M5** durch klassische radikalische Polymerisation mit AIBN dargestellt. Diese sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Zur Hydrophobierung wurden die Polymere **P69** und **P70** mit Tetrabromdecan umgesetzt. Die hydrophobierten Polymere **P71** und **P72** konnten quantitativ in Diethylether gefällt werden. Die Reaktionsfolge ist in Abbildung 53 zusammengefasst.

#### 4.5.2 Polyvinylalkohol Derivate

Um neue polymere Materialien zur Oberflächenfixierung von Lipidmembranen zu entwickeln, wurden auch erste Versuche unternommen Lipopolymere auf Polyvinylalkoholbasis zu synthetisieren. Polyvinylalkohol, bekannt für seine hohe Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen, ist ein sehr polares und hydrophiles Polymer. Dies sollten gute Voraussetzungen für die Darstellung von polymerunterstützten Lipiddoppel-

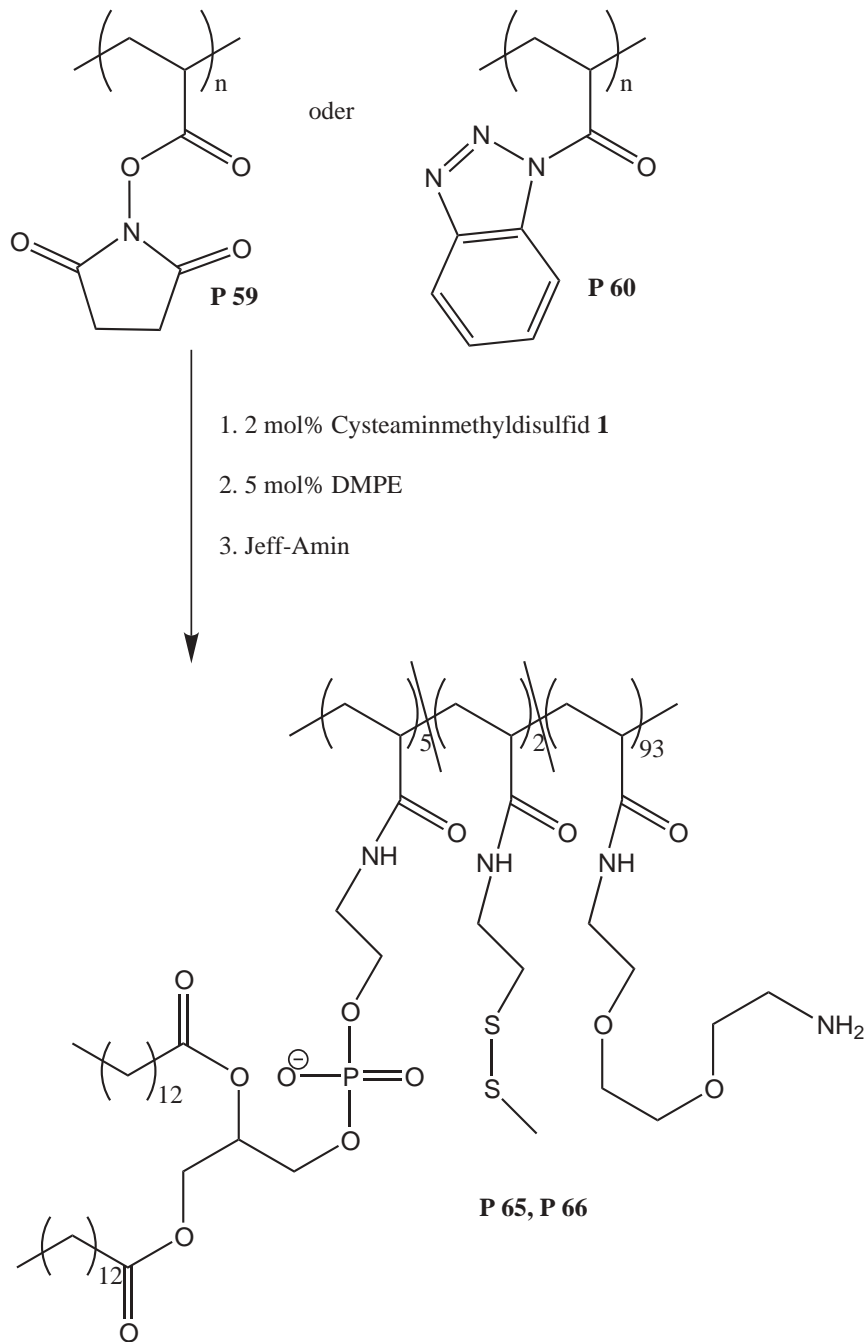
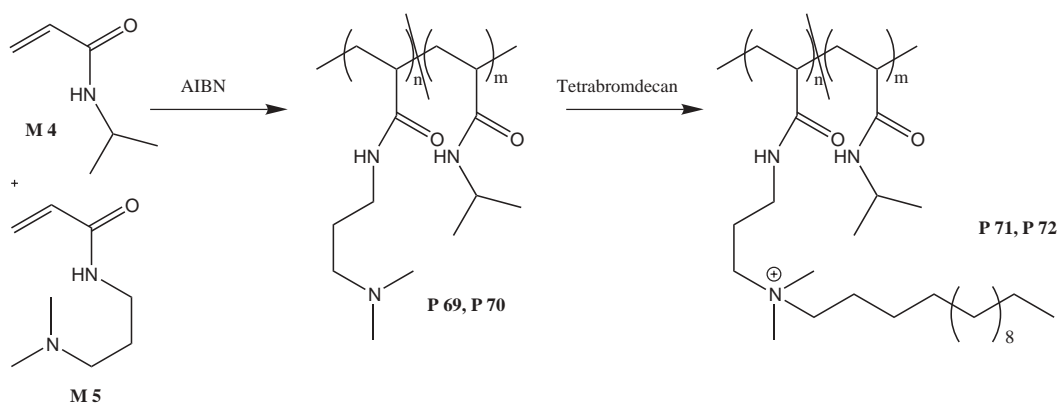


Abbildung 52: Polymeranaloge Umsetzungen zu statistischen Lipopolymeren nach HAUSCH.

**Table 6:** Polyacrylamide und Polyisopropylacrylamide durch klassische radikalische Polymerisation (siehe Abbildung 53).

Polymer	Monomere	Verhältnis	Ausbeute
<b>P67</b>	<b>M3,M5</b>	95:5	80 %
<b>P68</b>	<b>M3,M5</b>	80:20	70 %
<b>P69</b>	<b>M4,M5</b>	95:5	85 %
<b>P70</b>	<b>M4,M5</b>	80:20	87 %



**Abbildung 53:** Reaktionsschema zu den hydrophobierten Polyisopropylacrylamiden **P71,P72**.

schichten sein.

Basierend auf den synthetischen Modifizierungen von Polyvinylalkohol [161], wurden analoge Hydrophobierungen [162] an kommerziellem Polyvinylalkohol ( $M_n=50.000$ ) vorgenommen. Diese sind in Abbildung 54 dargestellt. Dazu wurde der in NMP gelöste Polyvinylalkohol mit Bromtetradekan versetzt und durch Deprotonieren mit KOtBu wurde eine Veretherung eingeleitet. Wichtig ist die besonders langsame Zugabe der KOtBu-NMP Lösung, um farblose Produkte zu erhalten. Nach beendeter Umsetzung wurde das Polymere **P73** in Aceton:Hexan (1:1) gefällt und getrocknet. In einem zweiten Schritt wurde durch Umsetzung mit Butansulton in NMP der hydrophobierte Polyvinylalkohol mit einer negativen Ladung versehen. Das Polymere **P74** wurde wieder in Aceton:Hexan (1:1) gefällt und getrocknet.

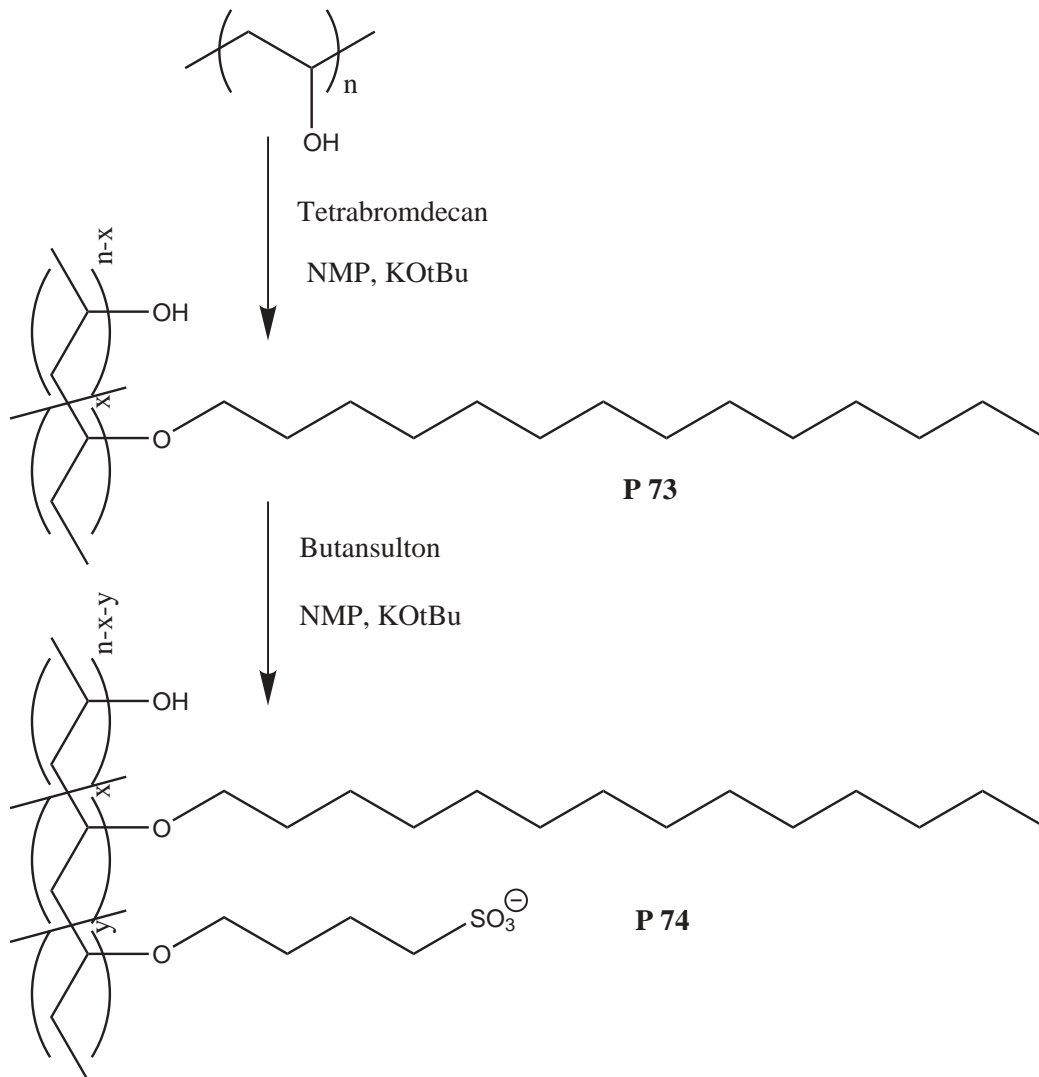


Abbildung 54: Synthese der modifizierten Polyvinylalkohole P73, P74.

## 5 Polymercharakterisierung

Wer nichts weiß, muß alles glauben.  
M. VON EBNER-ESCHENBACH

Um polymerunterstützte Lipidmembranen auf Oberflächen realisieren zu können bedarf es, wie im synthetischen Kapitel 4.1 beschrieben, funktioneller Polymere. Die hier behandelten Polymere tragen unterschiedlichste Funktionalitäten: eine lipidanaloge Gruppe, eine hydrophile, basische Polymerhauptkette und einen Oberflächenanker.

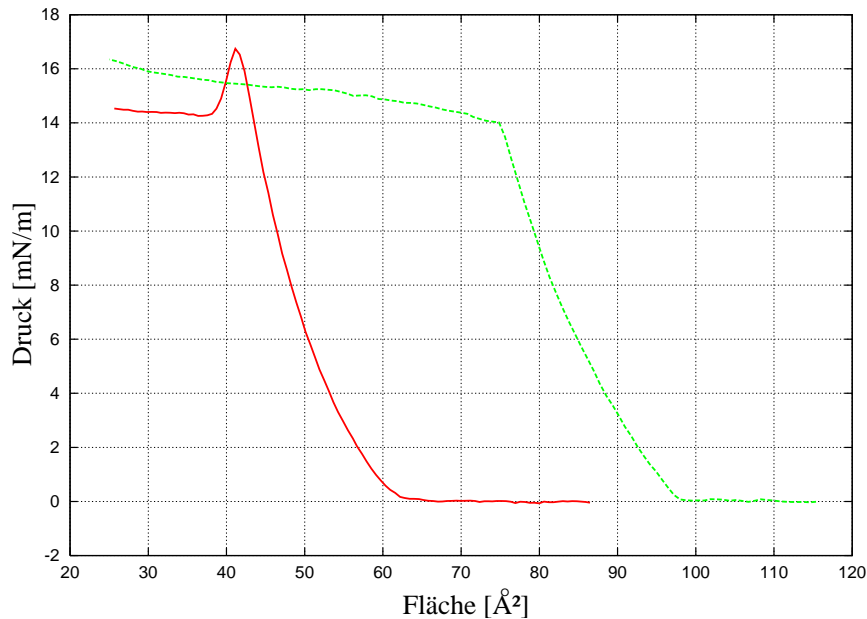
All diese Funktionalitäten bedürfen unterschiedlicher Untersuchungen, die in diesem Kapitel besprochen werden soll. Hierzu sollen zum einen die lipophilen Eigenschaften sowohl der Initiatoren, als auch der Polymere untersucht werden. Hierzu wurden LB-Isothermen und Phasenseparationsstudien herangezogen. Zum anderen sollen die hydrophilen, basischen Eigenschaften der Polymere untersucht werden. Dazu wurden die Oberflächenladungen mit Hilfe von Partikel-Ladungsmessungen (PCD-Messungen) bestimmt und für die Poly(N-isopropylacrylamid)-Systeme (PNIPAM-Systeme) wurden der untere kritische Mischungspunkt (*lower critical solution temperature* LCST) mittels Turbidimetrie und DSC untersucht. Die Funktion des Oberflächenankers wurde durch die Adsorption der Polymere auf Goldoberflächen untersucht und mit der durch Polyelektrolytadsorption verglichen.

Die so erhaltenen dünnen Polymerfilme wurden ebenso auf ihre Hydrophilie untersucht. Hierzu wurden Kontakwinkelmessungen durchgeführt.

### 5.1 Lipoinitiatoren

#### 5.1.1 Spreitverhalten an der Wasser/Luft-Grenzfläche

Um ein erstes Maß für das amphiphile Verhalten der synthetisierten Lipopolymere zu bekommen, wurden die Isothermen der einzelnen Lipoinitiatoren **I2-I7** an der Wasser-Luft Grenzfläche gemessen. Alle Isothermen wurden bei 25°C gemessen. In Abbildung 55 sind einmal die Isothermen des Initiators **I2** (rote Kurve) und des Initiators **I5** (grüne Kurve), durch Auftragen der Fläche pro Molekül gegen den Oberflächendruck, dargestellt. Da die Initiatoren **I2-I4** und **I5-I7** sich jeweils nur in der Kettenlänge der Alkylkette unterscheiden, wurde, wie erwartet, kein Einfluß der Veränderung der Kettenlänge von 14 auf 18 Kohlenstoffatome gefunden. Deshalb ist in Abbildung 55 jeweils nur eine Isotherme für jede Initiatorreihe (**I2-I4** und **I5-I7**) aufgezeigt. Es ist direkt ersichtlich, daß ein großer Unterschied zwischen den N-Monoalkyl Initiatoren und den N,N-Dialkyl Initiatoren besteht. So zeigen die Isothermen der Initiatoren **I2-I4** einen Kollapsunkt bei einer Fläche von 41 Å<sup>2</sup>. Diese Fläche ist größer wie es für eine dichteste Packung einer Alkylkette ( $A \approx 20 \text{ Å}^2$ ) erwartet wird. Jedoch ist diese Größe sehr gut korrelierbar mit der Größe der Kopfgruppe. Diese wurde in einem Molecular Modeling Programm durch Anlegen einer Ellipse als 40 Å<sup>2</sup> abgeschätzt. Man erkennt dies auch deutlich in Abbildung 56b. Die Frontansicht auf die Kopfgruppe läßt erkennen, daß diese in etwa die doppelte Größe wie die Alkylkette einnimmt.



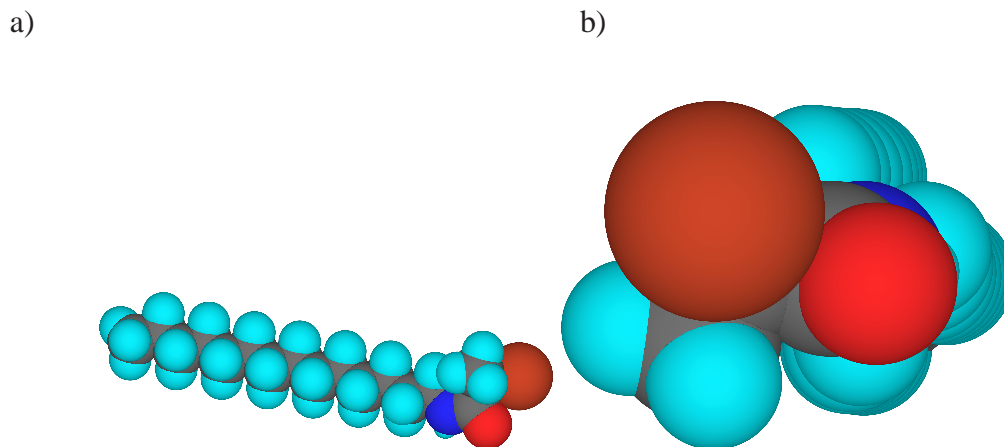
**Abbildung 55:** Isothermen der Initiatoren **I2** (rote Kurve) und **I5** (grüne Kurve) bei 25°C auf einer Wassersubphase.

Die Isothermen der Initiatoren **I5-I7** hingegen zeigen einen Kollapsunkt bei einer Fläche von 75 Å<sup>2</sup> (Abbildung 55, grüne Kurve). Die Größe der Kopfgruppe der N,N-Dialkyl-Initiatoren wurde mit 45 Å<sup>2</sup> abgeschätzt. Vergleicht man diese Werte miteinander, so wird klar, daß es bei dieser Fläche nicht um eine dichteste Packung der Kopfgruppen handeln kann. Auch eine dichteste Packung von zwei Alkylketten, wie sie bei Phospholipiden gemessen wird, würde nur eine Fläche von 40 Å<sup>2</sup> belegen. Beide Werte sind kleiner, es läßt sich also festhalten, daß die Initiatoren **I5-I7** keine dichtest gepackte Monoschicht ausbilden.

Weierhin ist zu bemerken, daß beide Isothermen ihren Kollapsunkt bei einem geringen Oberflächendruck von ungefähr 16 mN/m aufweisen. Dies paßt zur Tatsache, daß die Lipoinitiatoren eine relative polare Kopfgruppe vermissen lassen und somit keine perfekten Amphiphile darstellen. Dadurch bricht die Monoschicht sehr schnell, d.h. bei geringem Druck, zusammen.

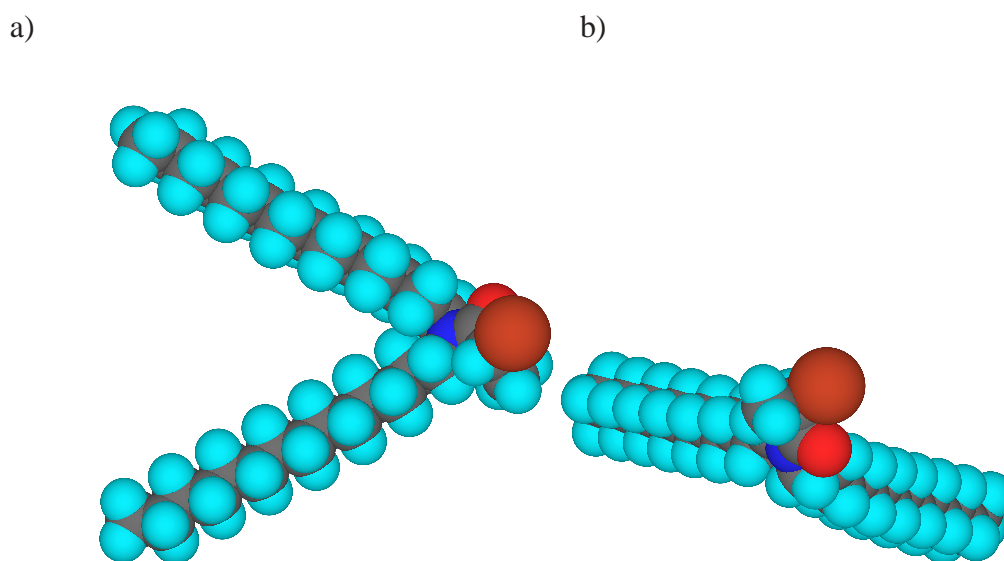
Trotzdem stellen beide Initiatorreihen sehr interessante Systeme dar. Um die nachfolgenden Untersuchungen zu verstehen, sollen zuerst einmal Kalottenmodelle der Initiatoren **I2** und **I5** aufgezeigt werden. Wie schon bei den Isothermen, läßt sich so ein genaueres Verständnis der Ergebnisse erzielen. Dazu wurden Energieminimierungen der einzelnen Moleküle durchgeführt und anschließend als Kalottenmodell visualisiert.

In Abbildung 56 ist das Kalottenmodell des N-Monoalkyl-Initiators **I2** sowohl in der Seiten- als auch in der Frontansicht zu sehen. Wie bereits bemerkt, läßt sich bei diesem Molekül aus der Frontansicht sehr gut der Flächenbedarf der Kopfgruppe er-



*Abbildung 56: Kalottenmodell des Initiators **I2** in der a) Seiten- und b) Frontansicht.*

mitteln. In der Seitenansicht läßt sich die gestreckte Natur des Initiators erkennen. Deutlich sind Kopfgruppe und Alkylkette voneinander getrennt.



*Abbildung 57: Kalottenmodell des Initiators **I5** in der a) Seiten- und b) Frontansicht.*

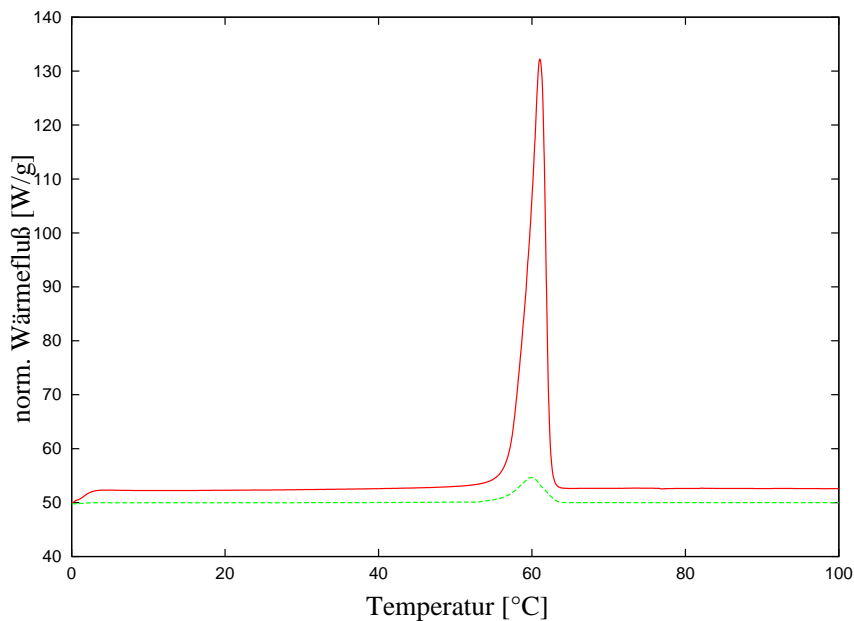
Vergleicht man diese Struktur nun mit der des N,N-Dialkyl-Initiators **I5**, so fällt einem sofort die V-förmige Struktur in der Seitenansicht auf (Abbildung 57). Diese scheint evtl. auch ein Grund dafür zu sein, daß sich bei den Isothermen keine dichteste Packung erzielen läßt. Auch wenn die V-Form nicht strikt rigide ist, so stellt doch der Tetraederwinkel am Amidstickstoff sicher, daß die Alkylketten immer etwas auseinander klaffen. Besonders deutlich wird dies in der Frontansicht (Abbildung 57b). Es läßt sich keine eindeutige Grundfläche des Moleküls bestimmen, so wie dies bei **I2**

möglich ist.

### 5.1.2 Kalorimetrische Untersuchungen

Als ein mittlerweile übliches Messverfahren zur Bestimmung von thermotropen Phasenübergängen bei Substanzen hat sich die Differential-Scanning-Calorimetry (DSC) in den letzten Jahrzehnten etabliert. So lassen sich im einfachsten Falle das Schmelzverhalten von Substanzen und damit deren Schmelzpunkt bestimmen. Zusätzlich läßt sich sehr gut auch das Mischungsverhalten von Substanzen untersuchen.

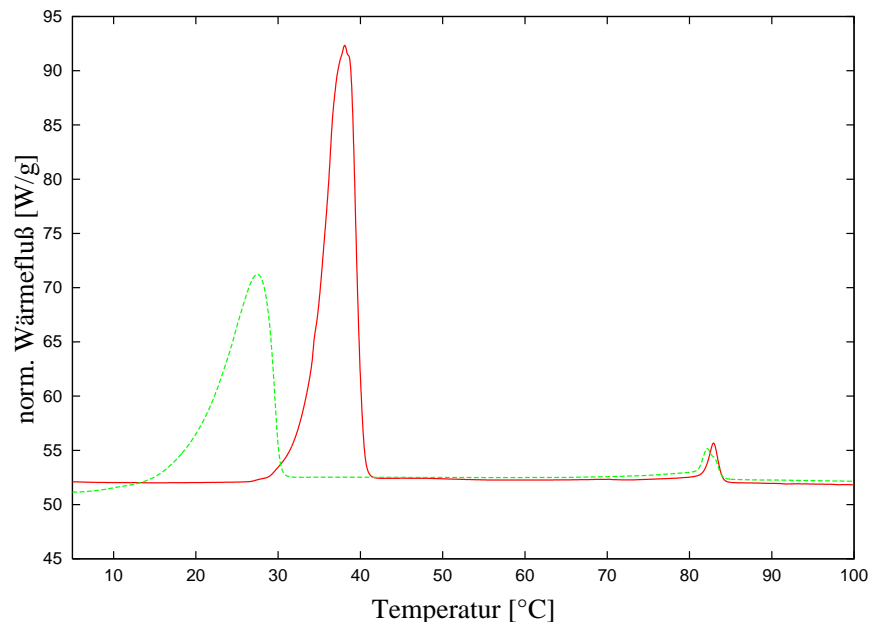
Die Möglichkeit der Mischbarkeit mit Vesikeln sollte nun bei den synthetisierten Initiatoren **I2-I7** untersucht werden. Stellt doch die Mischbarkeit, bzw. die Ausbildung einer homogenen Phase mit Dimyristoyl-L- $\alpha$ -phosphatidylcholin (DMPC) als Lipid eine Bedingung dar, daß diese Moleküle in eine Lipidmembran inkorporieren können. Um eine Aussage über die Mischbarkeit machen zu können, wurden zuerst die Schmelzpunkte der reinen Substanzen gemessen.



**Abbildung 58:** DSC Messung von **I2**, 1. Heizkurve (rote Kurve) und 2. Heizkurve (grüne Kurve).

In Abbildung 58 ist einmal die erste (rote Kurve) und zweite Heizkurve (grüne Kurve) des Initiators **I2** dargestellt. Man erkennt im ersten Heizdurchlauf nur einen endothermen Peak bei 61.0°C. Dieser stellt den Schmelzpunkt der Substanz dar. Vergleicht man diese Kurve mit der zweiten Heizkurve, so lassen sich keine Unterschiede identifizieren. Das Maximum des Schmelzpeaks liegt bei 59.9°C und ist damit im Rahmen der Meßgenauigkeit als konstant anzusehen.

Die Heizkurven der Initiatoren **I3,I4** weisen ein ähnliches Verhalten auf. Lediglich sind die endothermen Peaks zu höheren Temperaturen verschoben. Diese sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.



**Abbildung 59:** DSC Messung von **I5**, 1. Heizkurve (rote Kurve) und 2. Heizkurve (grüne Kurve).

Vergleicht man nun die Heizkurve des N-Tetradecyl-2-brompropionamid **I2** mit der Heizkurve von N,N-Ditetradecyl-2-brompropionamid **I5** (Abbildung 59), so sieht man ein ganz anderes Phasenverhalten. In der ersten Heizkurve lassen sich zwei endotherme Peaks identifizieren, einer bei 38,1°C und einer bei 82,9°C. D.h. es scheinen hier zwei Phasenübergänge stattzufinden. Polarisationsmikroskopische Untersuchungen zeigen das Vorliegen einer Kristallsuspension im Temperaturzwischenbereich.

Betrachtet man nun die zweite Heizkurve (Abbildung 59 grüne Kurve) des Initiators **I5**, so registriert man einen deutlichen Unterschied zur ersten Heizkurve. Der erste endotherme Peak ist zu niedriger Temperatur von 38,1°C auf 27,5°C verschoben. Der zweite Peak hingegen, zeigt keine Verschiebung. Er liegt bei 82,2°C und ist im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant geblieben.

Dieses Verhalten erscheint sehr seltsam. Es bleibt jedoch zu bemerken, daß dieses Verhalten nur bei den Initiatoren **I5-I7** gefunden wurde. Die Initiatoren **I2-I4** weisen keinen Versatz des Schmelzpunktes in Abhängigkeit der Heizkurvem auf.

Die Initiatoren **I6,I7** weisen ein ähnliches Phasenverhalten, wie für **I5** dargestellt, auf. Die entsprechenden Phasenübergangstemperaturen sind ebenfalls in Tabelle 7 zusammengefaßt. Auch die beobachtete Verschiebung des ersten endothermen Peaks in der ersten Heizkurve, konnte analog beobachtet werden. In beiden Systemen ist der

Versatz sogar noch größer.

Besonders bemerkenswert ist der Initiator **I6**. Dieser weist sogar drei Peaks in der ersten und zweiten Heizkurve auf. Wie in Tabelle 7 zusammengestellt, weisen der erste und der zweite Peak eine Verschiebung der Temperatur zwischen der ersten und der zweiten Heizkurve auf. Der dritte Peak bleibt konstant.

*Tabelle 7: Tabelle der Phasenübergangstemperaturen der Initiatoren I2-I7.*

Initiator	Heizkurve	Phasenübergangstemperaturen		
<b>I2</b>	1.	61.0°C		
	2.	59.9°C		
<b>I3</b>	1.	67.7°C		
	2.	67.0°C		
<b>I4</b>	1.	75.9°C		
	2.	–		
<b>I5</b>	1.	38.1°C	82.9°C	
	2.	27.5°C	82.2°C	
<b>I6</b>	1.	37.0°C	54.9°C	91.8°C
	2.	16.9°C	40.9°C	91.2°C
<b>I7</b>	1.	45.9°C		96.0°C
	2.	30.2°C		95.2°C

Nachdem nun das Phasenverhalten der einzelnen reinen Initiatoren untersucht worden ist, interessiert besonders das Mischungsverhalten dieser Substanzen mit Lipidmembranen. Um diese Untersuchungen mittels DSC durchführen zu können, wurde zuerst eine wäßrige, bei 30°C beschallte Dispersion von DMPC hergestellt und vermessen. In dieser Lösung liegen polydisperse Vesikel vor, die einen Phasenübergang bei 24°C aufweisen. Es handelt sich um die thermisch induzierte Phasenumwandlung aus dem geordneten, quasikristallinen Gel-Zustand ( $L_{\beta}$ -Phase) in den weniger geordneten fluiden Zustand ( $L_{\alpha}$ -Phase). Dieser geht mit einer Zunahme der Beweglichkeit der Acylketten und einer Verringerung der Packungsdichte einher.

In Abbildung 60 ist die entsprechende DSC-Messung aufgezeigt. Man erkennt eine sehr verrauschte Kurve, die jedoch einen endothermen Peak bei 24.4°C aufweist. Dieser stimmt sehr gut mit dem publizierten Wert von 24°C überein [32]. Da also der Peak in der DSC meßbar ist, erscheint es möglich Mischungsuntersuchungen der Initiatoren mit solchen DMPC-Vesikeln anzugehen.

Um nun die Mischbarkeit der Initiatoren mit den Vesikeln zu untersuchen, wurden dünne Filme des Initiator, DMPC Gemisches in Chloroform präpariert (Verhältnis Initiator:DMPC  $\approx$  1:2). Diese wurden nun in Wasser dispergiert und beschallt. Eine solche Lösung wurde dann in der DSC vermessen.

Die Abbildung 61 zeigt die erste und zweite Heizkurve einer DMPC, **I3** Dispersion in Wasser. Es lassen sich verschiedene Dinge aus dieser Kurve erkennen. Man erkennt

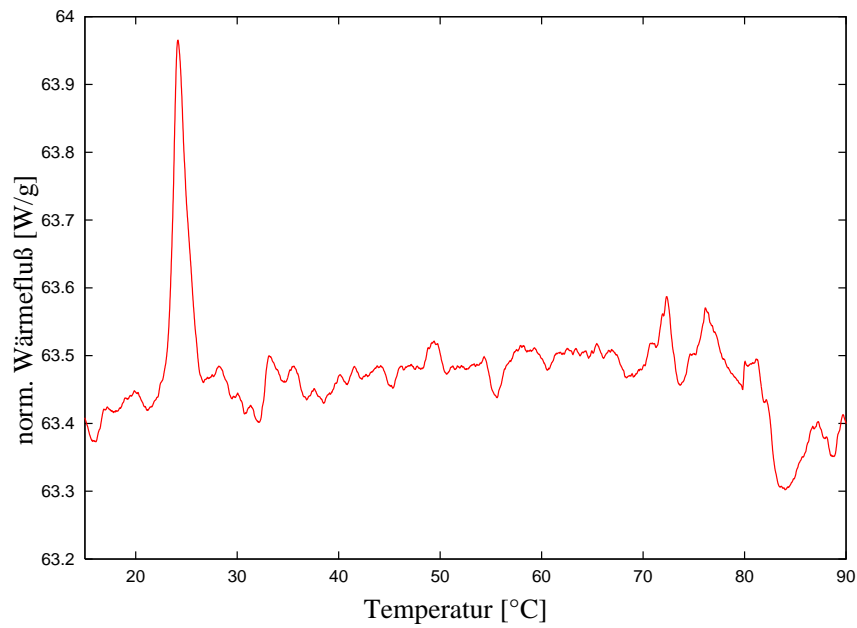


Abbildung 60: DSC Messung (1. Heizkurve) von polydispersen DMPC-Vesikeln.

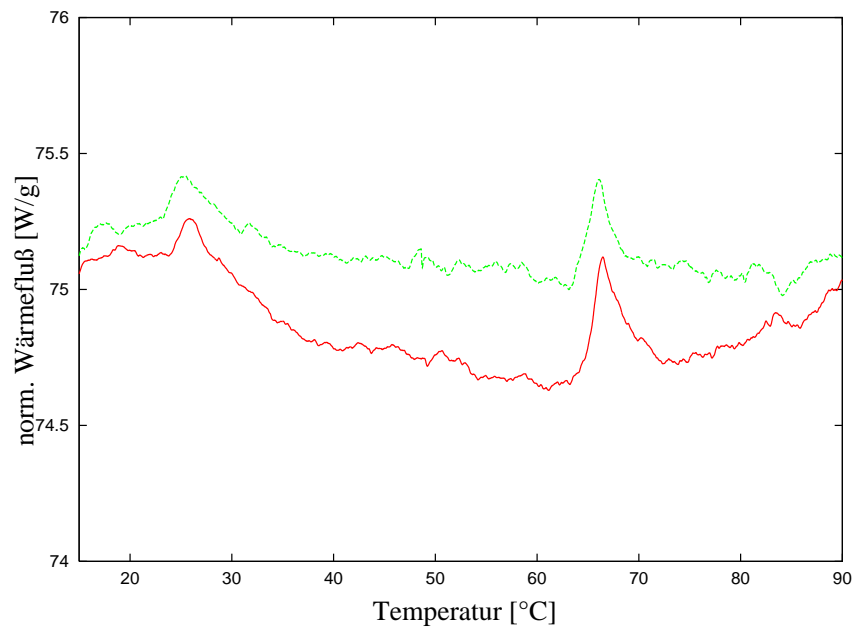


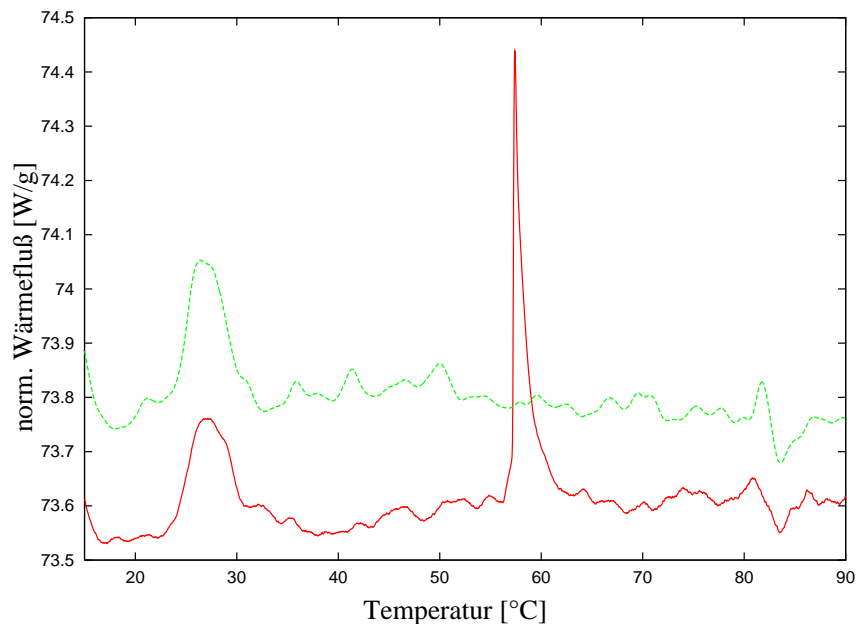
Abbildung 61: DSC Messung von polydispersen DMPC-Vesikeln mit dem Initiator I3. 1. Heizkurve (rot) und 2. Heizkurve (grün).

zwei endotherme Peaks, einer bei 26.0°C und einer bei 66.6°C. Der zweite Peak bei 66.6°C stimmt gut mit dem Schmelzpunkt des reinen Initiators von 67.0°C überein. Das bedeutet, daß ein großer Teil des Initiators in einer von DMPC getrennten Phase vorliegt und dieser die normale fest/flüssig Phasenumwandlung durchläuft. Besondere Aufmerksamkeit gilt jedoch dem ersten Peak bei 26.0°C. Dieser liegt doch nahe dem Peak von 24.4°C, der für eine reine wäßrige DMPC Dispersion gemessen wurde. Zwei Gründe können für die Verschiebung herangezogen werden. Erstens, der Peak ist lediglich im Rahmen der Meßgenauigkeit verschoben. Dagegen spricht, daß eine solche große Verschiebung in Vergleichsmessung von reinem DMPC nie gefunden wurde. Zweitens, ein kleiner Anteil des Initiators **I3** ist in die DMPC Membran eingebaut. Dies würde zu einer Verschiebung der Temperatur des Phasenübergangs führen, damit die gesamte Phase in einen fluiden Zustand überführt werden kann. Ähnliche Ergebnisse sind für Mischung von Lipiden bekannt [32]. Hier führt das Mischen von Lipiden zu einer Mischphasenübergangstemperatur, die zwischen beiden Phasenübergangstemperaturen liegt. Die zweite Heizkurve (grüne Kurve in Abbildung 61) zeigt keine gravierende Änderungen gegenüber der ersten Heizkurve. Es wird daher von einem stabilen Zustand ausgegangen.

Interessant ist die gleiche Messung mit dem Initiator **I2**. Hier findet man ebenso zwei endotherme Peaks in der Heizkurve. Der erste Peak liegt in der zweiten Heizkurve bei 21.1°C. Der zweite Peak bei 56.3°C liegt dem Schmelzpunkt von **I2** von 59.9°C nahe. D.h. auch hier liegt eine von der DMPC Phase getrennte reine Phase des Initiators vor. Interessanterweise scheint der Peak für DMPC von 24.4°C auf 21.1°C gesunken zu sein. Die Vermutung liegt nahe, daß dies durch Einmischung des Initiators **I2** begründet liegt. Warum beim Initiator **I3** der DMPC-Peak zu höherer Temperatur verschoben wird, wohingegen bei **I2** der DMPC-Peak zu niedrigerer Temperatur verschoben wird, bleibt ungeklärt.

Versuche den Initiator **I4** in DMPC Membranen einzumischen waren nicht erfolgreich. Hier konnte in der DSC-Messung kein Signal aus dem Rauschen zur Auswertung herangezogen werden.

Vollzieht man nun die gleichen Messungen mit den Initiatoren **I5-I7**, so ergeben sich andere Ergebnisse. So sind in Abbildung 62 die beiden Heizkurven des Initiators **I5** in einer DMPC Dispersion dargestellt. In der ersten Heizkurve (rote Kurve) erkennt man zwei endotherme Peaks. Der erste Peak liegt bei 26.7°C und kann wieder der Phasenübergangstemperatur des DMPC zugeordnet werden. Es ist wieder zu bemerken, daß dieser etwas zu höherer Temperatur verschoben scheint. Der zweite Peak findet sich bei 57.4°C. Dies ist sehr verwunderlich, denn in der Heizkurve des reinen Initiators **I5** findet sich in diesem Bereich kein Peak (siehe Tabelle 7). Es könnte jedoch sein, daß sich ein Mischschmelzpunkt gebildet hat. Jedoch wird aus der zweiten Heizkurve deutlich, die in Abbildung 62 als grüne Kurve dargestellt ist, daß nur noch ein endothermer Peak zu erkennen ist. Dieser liegt bei etwa 26.3°C. D.h. der Phasenübergang des DMPC bleibt erhalten. Interessanterweise ist der Peak bei 57.4°C nicht mehr zu finden. Es könnte also sein, daß der im ersten Heizzyklus aufgeschmolzene Initiator **I5** beim Abkühlen nicht mehr kristallisieren kann, sprich seine Kristallisation wird



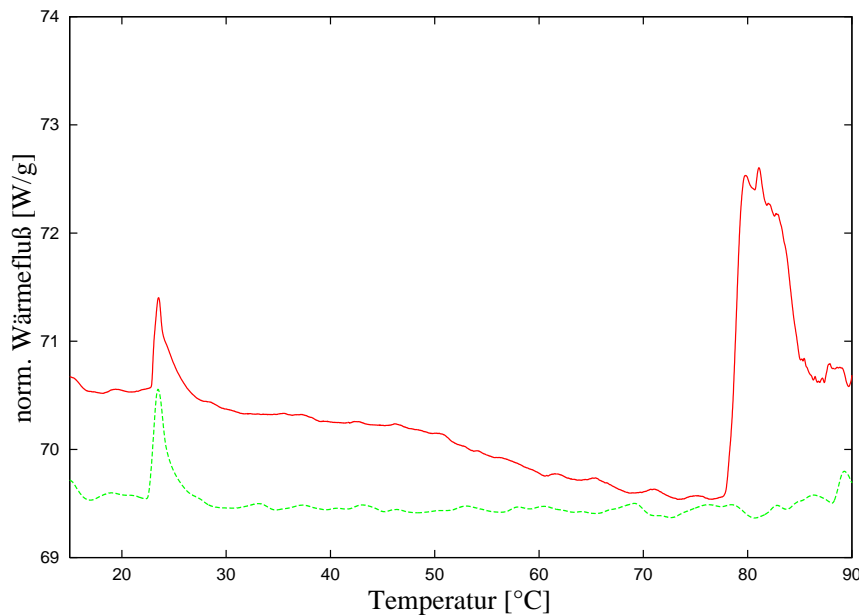
**Abbildung 62:** DSC Messung von polydispersen DMPC-Vesikeln mit dem Initiator **I5**. 1. Heizkurve (rot) und 2. Heizkurve (grün).

inhibiert. Dieses Argument wird durch die 1. Kühlkurve (nicht gezeigt) bestärkt. Es findet sich kein eindeutiger Kristallisationspeak.

Ein ähnliches Verhalten findet sich beim Initiator **I6**. Die entsprechenden Heizkurven der wässrigen Mischung mit DMPC finden sich in Abbildung 63. In der ersten Heizkurve (rote Kurve) sind wieder zwei endotherme Peaks zu erkennen. Der erste bei 23,6°C, der zweite bei etwa 80°C. Der erste Peak wird wieder dem Phasenübergang von DMPC zugewiesen. Der zweite Peak liegt doch im Bereich des zweiten Peaks, der in der Heizkurve des reinen **I6** bei etwa 90°C gefunden wurde (siehe Tabelle 7). Die 10°C Differenz könnten auf eine Art Schmelzpunkterniedrigung zurück zu führen sein. Interessant ist wieder die zweite Heizkurve, wie in Abbildung 63 (grüne Kurve) zu sehen ist. Auch hier findet sich nur noch ein endothermer Peak bei 23,5°C. Der zweite Peak ist nicht mehr zu detektieren. Es scheint also auch hier eine Kristallisationsinhibition stattgefunden zu haben.

Für die Mischungen des Initiators **I7** mit DMPC konnte dieses Verhalten jedoch nicht bestätigt werden. In beiden Heizkurven konnte nur der Peak für die DMPC-Phasenumwandlung bei 24°C gefunden werden.

Zusammenfassend läßt sich festhalten. Aus den gemessenen Isothermen der Initiatoren läßt sich für die N-Monoalkyl-Initiatoren **I2-I4** die berechnete Größe der Kopfgruppe verifizieren. Für die N,N-Dialkyl-Initiatoren **I5-I7** läßt sich diese Größe nicht korrelieren, was wahrscheinlich durch deren V-förmige Struktur begründet wird. Die Initiatoren **I5-I7** weisen ein thermisches Phasenverhalten mit mehreren Übergängen



**Abbildung 63:** DSC Messung von polydispersen DMPC-Vesikeln mit dem Initiator **I6**. 1. Heizkurve (rot) und 2. Heizkurve (grün).

auf. Für die Initiatoren **I2-I4** lassen sich lediglich die Schmelzpunkte bestimmen. Diese prinzipielle Unterscheidung der beiden Reihen spiegelt sich auch in den Mischexperimenten mit wässrigen DMPC Dispersionen wieder. Für die Initiatoren **I5,I6** scheint eine Kristallisationsinhibierung stattzufinden. Wohingegen die Initiatoren **I2,I3,I4** sich nicht oder nicht so gut mit der DMPC Membran zu mischen scheinen.

## 5.2 Charakterisation der Polymere in Lösung

### 5.2.1 PCD-Messungen

Zur Untersuchung der verschiedenen Polymere wurden zuerst Oberflächenladungsmessungen (PCD-Messungen) durchgeführt. Dies soll es ermöglichen die Polymere nach ihrer basischen Gruppe, die durch den Einbau des Comonomeren **M5**, welches eine tertiäre Amingruppe enthält, erhalten wird, zu beurteilen. Dazu wurden die Polymere in Wasser gelöst und die Lösungen auf etwa pH=3 sauergestellt, mit 0.1 n KOH titriert und das PCD-Potential gemessen.

In Abbildung 64 sind die Ergebnisse einer Reihe von verschiedenen Polymeren zusammengestellt. Dort ist der pH-Wert der Lösung gegen das PCD-Potential aufgetragen. Die rote Kurve (+) ist die Messung des Polymeren **P66**. Dieses Polymer enthält zu großen Teilen die Jeff-Amin-Gruppe und damit werden die Eigenschaften überwiegend vom primären Amin bestimmt. Man erkennt, daß das Potential im sauren Bereich stark positiv ist. Wird der pH-Wert erhöht, so nimmt dieses ab und durchschreitet den

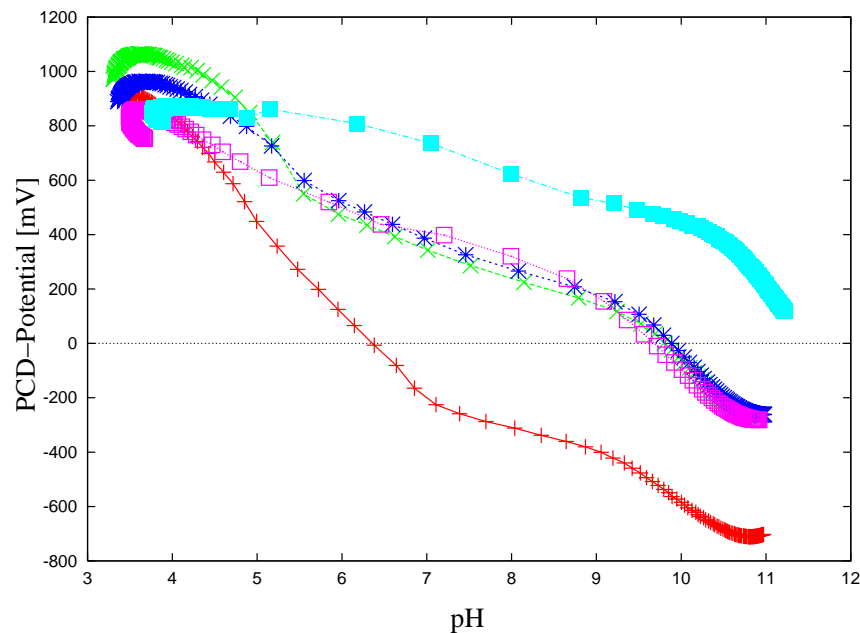


Abbildung 64: PCD-Messungen der Polymere **P8** ( $\times$ ), **P22** ( $\square$ ), **P66** ( $+$ ) und **P71** ( $\blacksquare$ ).

isoelektrischen Punkt bei  $\text{pH} \approx 6.4$ . Etwas später ab  $\text{pH} = 7$  flacht die Kurve ab und fällt ab  $\text{pH} = 9$  wieder stärker ab um dann bei  $\text{pH} = 11$  in ein Plateau bei einem PCD-Potential von etwa  $-700$  mV zu laufen. Für dieses Verhalten ist die primäre Amingruppe des Jeff-Amins verantwortlich, sie wird ab dem schwach sauren Bereich deprotoniert.

Ganz anders verhält sich das Polymer **P8**, ein  $\alpha$ -funktionalisiertes Lipopolymer, dessen Messung als grüne ( $\times$ ) und blaue ( $\ast$ ) Kurve in Abbildung 64 dargestellt sind. Dieses zeigt zwei Dinge deutlich. Erstens, die Messungen sind reproduzierbar, da beide Kurven sehr dicht beieinander verlaufen. Auch sind alle wichtigen Merkmale des Kurvenverlaufs an gleicher Stelle. Zweitens, ist der Verlauf gänzlich verschieden von dem des Polymeren **P66**. Zwar beginnt die Kurve im sauren Bereich auch mit einem stark positiven Potential, jedoch fällt dieses nur im Bereich bis  $\text{pH} = 5.5$  ähnlich steil ab. Danach zeigt die Kurve einen wesentlich flachen Abfall bis  $\text{pH} = 9.5$ . Erst danach scheint die Kurve abzuknicken und durchläuft dann auch bei  $\text{pH} = 9.8$  ihren isoelektrischen Punkt um dann in ein Plateau bei  $\text{pH} = 11$  zu laufen. Dieses liegt jedoch bei einem wesentlich höherem PCD-Potential von etwa  $-300$  mV. D.h. die tertiäre Amingruppe, die durch das Comonomeren **M5** eingebaut wurde, stellt eine basische Gruppe dar. Sie wird erst ab einem pH-Wert von 9.8 deprotoniert.

Die rosa Kurve ( $\square$ ) in Abbildung 64 des Polymeren **P22**, einem  $\alpha,\omega$ -funktionalisiertem Polymer, zeigt ebenso zwei wichtige Dinge wieder. Zum einen spielt die Länge der Alkylkette des Initiators, wie erwartet, keine Rolle für den Verlauf der Kurve und damit für das Verhalten des Polymeren. Zum anderen hat auch der Einbau eines Oberflächenankers in das Polymer keinen Einfluß auf das Verhalten des Polymeren in

Lösung. Die Kurve zeigt den gleichen Verlauf wie die beiden Kurven des Polymeren **P8**. Der isoelektrische Punkt liegt an gleicher Stelle. Lediglich der anfängliche Verlauf der Kurve im Bereich  $\text{pH}=3-5.5$  verläuft ohne Knick in den nachfolgenden Bereich über. Dies scheint aber keine Rolle für die späteren Untersuchungen zu haben, da die späteren Messungen in neutralen  $\text{pH}$ -Bereich durchgeführt werden.

Interessant ist auch die letzte, blau-grüne Kurve (■) der Abbildung 64. Das hier dargestellte Polymer **P71** zeigt einen Kurvenverlauf ganz ohne isoelektrischen Punkt. Dies ist auch verständlich. Handelt es sich doch um eine quaternäre Ammoniumgruppe, in die das Comonomere umgewandelt worden ist. Dieses läßt sich nicht durch wäßrige KOH in dem zugänglichen Bereich deprotonieren.

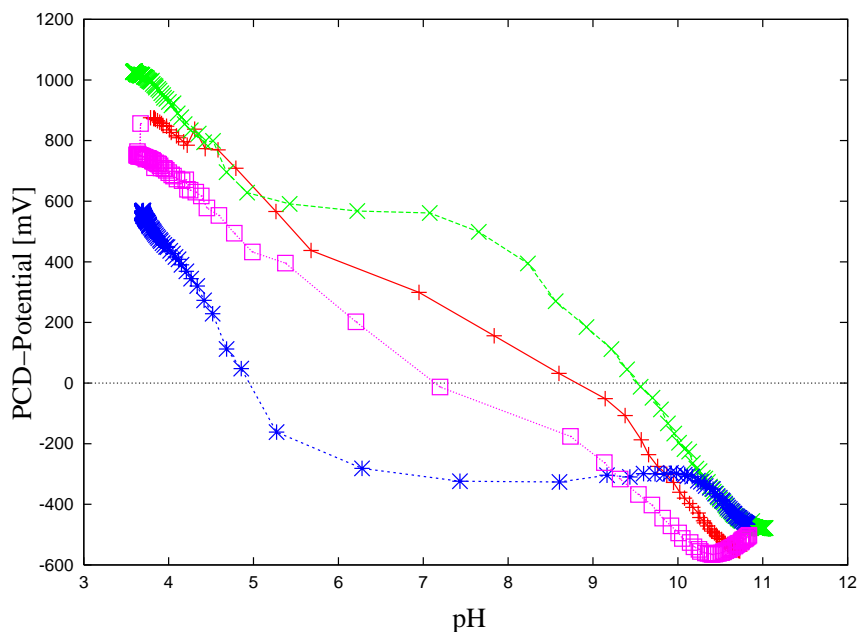


Abbildung 65: PCD-Messungen der Polymere **P20** (\*), **P21** (+), **P22** (□) und **P23** (x).

Es scheint also so, daß der Einbau des Comonomeren **M5** eine sehr gute Wahl ist. Die tertiäre Amingruppe zeigt ein deutliches basisches Verhalten. Sie liegt bis zu einem  $\text{pH}$ -Wert von 9.8 in der protonierten Form vor. Damit verhalten sich die Polymere bis zu diesem Punkt wie Polyelektrolyte. Es stellt sich jetzt die Frage, wie eine Variation des Anteils an eingebautem Comonomeren **M5** sich auf die PCD-Messungen auswirkt. Dazu wurden die Polymere **P20-P23** vermessen. Sie weisen eine Variation des Comonomeren von 0% (**P20**) über 20% (**P21**) bis zu 30% (**P23**) auf. Die entsprechenden Kurven sind in Abbildung 65 zusammengestellt. Die blaue Kurve (\*) zeigt den Verlauf des Polymeren **P20** ohne eingebautem Comonomeren **M5**. Im sauren Bereich weist das Polymer ein positives PCD-Potential auf. Dieses fällt jedoch sehr schnell bei Erhöhung des  $\text{pH}$ -Wertes ab und durchläuft schon bei  $\text{pH}=4.9$  seinen isoelektrischen Punkt. Danach läuft die Kurve langsam in ein Plateau, daß bei  $\text{pH}$ -Werten

größer 10 nochmal auf ein zweites Plateau absackt. D.h. dies Polymer weist, wie erwartet, überhaupt keine basischen Gruppen auf.

Vergleicht man dies mit der roten Kurve (+) des Polymeren **P21**, so erkennt man, daß der Einbau von 20 mol% des Comonomeren **M5** den isoelektrischen Punkt bereits weit in den basischen Bereich verschiebt. Dieser liegt nun bei einem pH-Wert von 8.8. Der Verlauf verläuft ähnlich dem des Polymeren **P22**, welches bereits in Abbildung 64 (rosa Kurve □) besprochen wurde. Der Einbau von 27 mol% verschiebt jedoch den isoelektrischen Punkt noch weiter in den alkalischen Bereich zum pH-Wert von 9.8.

Erhöht man nun noch weiter den Anteil des Comonomeren **M5** auf 30 mol%, wie es im Polymeren **P23** geschah, so erhält man die grüne Kurve (×) der Abbildung 65. Der isoelektrische Punkt verschiebt sich nicht weiter in den alkalischen Bereich, sondern bleibt bei dem pH-Wert von 9.8. Jedoch bildet sich ein deutliches Plateau des positiven PCD-Potentials im Bereich von pH=5 bis pH=7.5.

### 5.2.2 LCST Untersuchungen der Poly(N-isopropylacrylamide)

Eine ganz besondere Eigenschaft weisen die Polymere auf Poly(N-isopropylacrylamid)basis auf. Poly(N-isopropylacrylamide) weisen eine Mischungslücke zu höheren Temperaturen (*lower critical solution temperature*, LCST) in Wasser auf. D.h. oberhalb dieser Temperatur ist das Polymer nicht mehr im Lösungsmittel (hier Wasser) löslich. Ein Kollaps der Polymerknäuelstruktur ist die Folge dessen, daß die Polymer-Polymer Wechselwirkung oberhalb LCST größer der Polymer-Lösungsmittel Wechselwirkung wird. Es ist ersichtlich, daß diese charakteristische Eigenschaft sehr interessant in Hinblick auf Polymer-Lipidmembran Wechselwirkungen ist.

Bestimmt wird die LCST üblicherweise durch Turbidimetrie, d.h. Trübungsmessungen. Hierbei wird die Intensität eines Lichtstrahls in Transmission durch die Lösung in Abhängigkeit der Temperatur gemessen. Unterhalb LCST, liegt eine klare Lösung des gelösten Polymeren vor. Oberhalb LCST koaguliert das ausfallende Polymer und die Lösung wird trübe. Die Folge ist eine Abnahme der Transmission.

In Abbildung 66 sind die Trübungskurven von drei Polymeren dargestellt. Variiert wurde der Einbau an basischem Comonomeren **M5**. Für das Polymere **P39** ohne Comonomer (rote Kurve „+“) wird eine dem PNIPAM identische Kurve gefunden. Unterhalb 31°C ist 100 % Transmission zu messen. Oberhalb 33°C ist praktisch keine Transmission mehr zu messen. Im Bereich zwischen 31-33°C nimmt die Transmission rapide, kontinuierlich ab. Es konnte also für das  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte PNIPAM die gleich LCST wie für reines PNIPAM gefunden werden. D.h. die Endgruppen eines Polymeren, egal welcher Art, nehmen keinen Einfluß auf die LCST. Im Gegensatz dazu nehmen schon kleinste Mengen von Comonomeren in statistischen PNIPAM Einfluß auf die LCST [141].

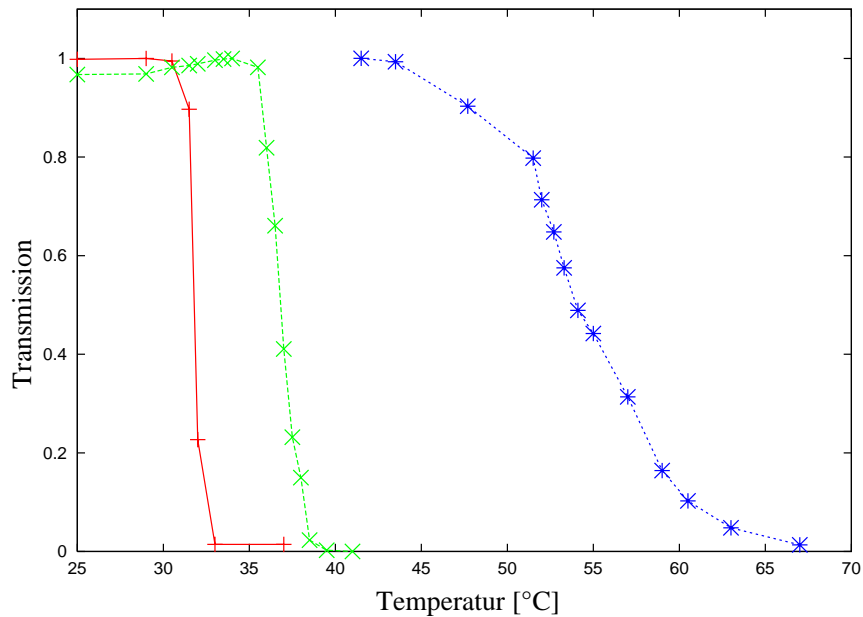


Abbildung 66: Trübungsmessungen der Polymere **P39-P41** in wässriger Lösung.

Vergleicht man nun diese Kurve mit der des Polymeren **P40**, in dem 4 mol% des Comonomeren **M5** eingebaut sind, so erkennt man, daß die Trübungskurve zu höherer Temperatur verschoben ist (Abbildung 66 grüne Kurve „x“). D.h. bis zu einer Temperatur von 36°C ist die Lösung zu 100 % optisch klar. Danach nimmt die Transmission wieder kontinuierlich ab bis zu einer Temperatur von etwa 39°C, ab der die Lösung wieder praktisch optisch undurchlässig ist. Somit wird deutlich, daß der Einbau des hydrophilen Comonomeren **M5** zu einer Erhöhung der LCST führt. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen aus der Literatur [163], in denen z.B. 2-Acrylamido-2-methylpropan sulfonsäure als hydrophiles Comonomere die LCST ebenfalls erhöhte [164].

Vermißt man das Polymer **P41**, in dem 19 mol% des Comonomeren **M5** eingebaut sind, so ist die erhaltene Trübungskurve zu noch höherer Temperatur verschoben, wie in Abbildung 66 (blaue Kurve „\*“) zu sehen ist. Es ist interessant zu erkennen, daß hier der Temperaturbereich in dem die Transmission von 100 % auf 0 % abnimmt sich über 20°C erstreckt. D.h. der bekannte schmale Bereich des LCST ist hier nicht vorhanden. Gründe für den breiten Bereich in dem der LCST auftritt, könnte in der nichthomogenen Verteilung der Comonomergruppen in allen einzelnen Polymerketten sein. Es liegt sicher eine statistische Verteilung vor. Und je größer der Anteil an eingebautem Comonomeren ist, desto höher liegt der LCST. Somit würde das Ergebnis auf eine relativ breite Verteilung des Einbauverhältnis des Comonomeren sprechen.

In Tabelle 8 sind alle LCST der Polymere zusammengetragen. Es sind jeweils die Temperaturen der Polymere bei 50 % Transmission ( $T_{50\%}$ ) und bei beginnender

Abnahme der Transmission ( $Turb_{onset}$ ) notiert. Es ist hier nochmal die große Differenz der Temperaturen des Polymeren **P41** von  $10^\circ\text{C}$  zu erkennen.

**Tabelle 8:** Vergleich der Kollaspunkte der Polymere **P39-P41** gemessen durch DSC und Trübungsmessung.

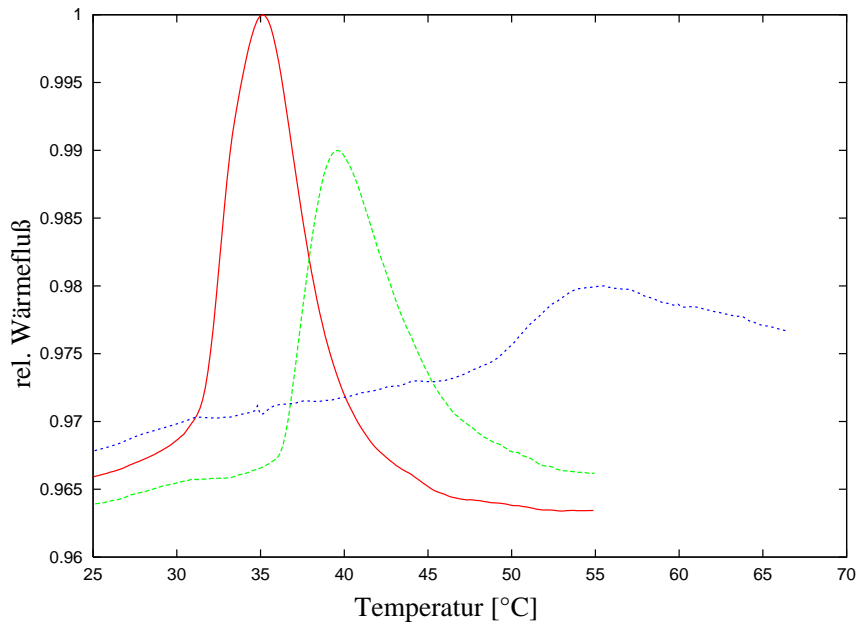
Polymer	$DSC_{max}$	$DSC_{onset}$	$Turb_{50\%}$	$Turb_{onset}$
<b>P39</b>	$35^\circ\text{C}$	$31.5^\circ\text{C}$	$32^\circ\text{C}$	$31.8^\circ\text{C}$
<b>P40</b>	$39^\circ\text{C}$	$36.4^\circ\text{C}$	$37^\circ\text{C}$	$36.5^\circ\text{C}$
<b>P41</b>	$54^\circ\text{C}$	$48.6^\circ\text{C}$	$54^\circ\text{C}$	$44^\circ\text{C}$

Eine weitere Möglichkeit die LCST von Poly(N-isopropylacrylamiden) zu bestimmen, ist die DSC-Messung. Da bei dem Prozeß des Knäuelkollaps Polymer-Wasser Bindungen gebrochen werden müssen, ist man in der Lage dies durch einen Endothermen Peak in der DSC zu detektieren [165, 166, 167].

In Abbildung 67 sind die Heizkurven der wäßrigen Polymer-Lösungen von **P39-P41** dargestellt. Der Übersichtlichkeit wegen, wurden die Kurven entsprechend verschoben, bzw. normiert, so daß sich ein Vergleich der Kurven möglich ist. Daher sind die Höhen der Peaks, sowie deren Flächen nicht im realen Verhältnis. Im Rahmen dieser Untersuchungen kam es lediglich auf die Lage der Peaks, sowie deren Breite an. Somit stellt die Normierung der Kurven keine Einschränkung dar. Vergleicht man die Kurve, fallen mehrere Dinge auf.

Erstens ist die bereits bei den Trübungsmessungen gemessene Abhängigkeit zwischen Comonomeranteil und der Temperatur des Knäuelkollaps wieder zu erkennen. In Tabelle 8 sind die Temperaturen zusammengestellt. Zum einen sind die Temperaturen des Peakmaximums ( $DSC_{max}$ ) und die Temperaturen des Peak-Onset ( $DSC_{onset}$ ) ermittelt. Beide unterscheiden sich von einander. Wie zu erwarten stimmen die  $DSC_{onset}$ -Temperaturen gut mit den  $Turb_{onset}$ -Temperaturen der Polymere überein. Lediglich das Polymere **P41** weicht hier etwas ab. Gründe hierfür sind sicherlich auch in dem relativ schwachen Signal des Überganges des Polymeren in der DSC zu suchen. Dadurch wird die Bestimmung der Onset-Temperatur erschwert und ungenau.

Zweitens erkennt man, daß alle drei Kurven sich im Vergleich zu den Trübungsmessungen über einen wesentlich größeren Temperaturbereich erstrecken. Zwei mögliche Gründe hierfür sollen angesprochen werden. Erstens kann der thermische Fluß nicht gleichmäßig durch die gesamte Probe verlaufen, wodurch es zu einer *verzögerten* Knäuelkollaps in der Probe kommen kann. D.h. die gesamte Probe durchläuft nicht gleichzeitig die Phasenseparation. Der zweite und wahrscheinlich bedeutendere Grund liegt darin, daß die Phasenseparation tatsächlich über einen breiteren Temperaturbereich verläuft. Obwohl die Lösung in den Trübungsmessungen sehr schnell trübe wird, läßt sich daraus aber nicht schließen, daß bei 0 % Transmission der gesamte Knäuelkollaps abgeschlossen ist. Zusätzlich kommt sicher noch der Copolymer einfluß hinzu, wie er schon bei den Trübungsmessungen diskutiert wurde.



**Abbildung 67:** DSC-Messungen der Polymere **P39** (rote Kurve), **P40** (grüne Kurve) und **P41** (blaue Kurve) in wässriger Lösung.

Drittens nimmt das Verhältnis von Peakhöhe zur Peakbreite mit zunehmendem Anteil an Comonomer **M5** ab. D.h. die Auflösung der Peaks nimmt ab. Dies geht mit der „Verschmierung“ bei den Trübungsmessung einher und hat sicher die dort angesprochene Ursache der statistischen Verteilung des Comonomeranteils.

### 5.2.3 Amphiphiler Charakter der Lipopolymere

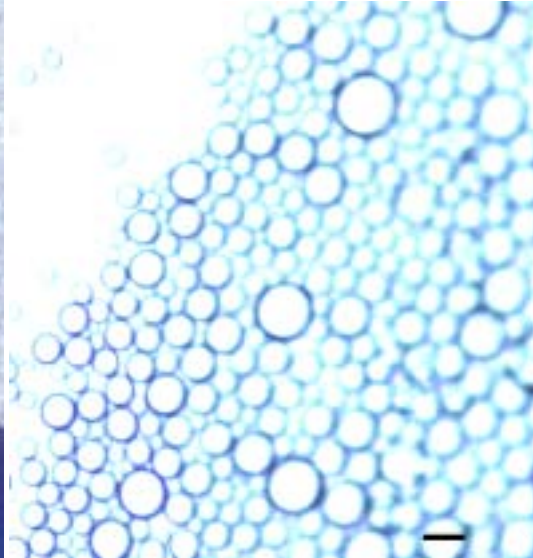
Nachdem den Polymeren ein basischer Charakter durch die PCD-Messungen nachgewiesen werden konnte und die Initiatoren ja bereits erste Andeutungen für ein Amphiphiles Verhalten zeigten, stellt sich die Frage, ob die Lipopolymere auch ein amphiphiles Verhalten aufweisen. D.h. hat der Einbau einer Alkylgruppe von 14-18 Kohlenstoffatomen überhaupt noch einen Einfluß auf das Verhalten eines Polyacrylamides mit einem Polymerisationsgrad von 100. Es stehen also 14-18 hydrophobe Kohlenstoffatome etwa 200 hydrophilen Kohlenstoffatomen gegenüber, wenn man die gesamte Wiederholungseinheit eines Polyacrylamides als eine hydrophile Einheit betrachtet.

Das dies trotzdem so ist, zeigt die Abbildung 68 sehr deutlich. Hier sind in Abbildung 68a die Phasentrennung von Chloroform und Wasser aufgezeigt. Zur besseren optischen Darstellung der Phasengrenzen, wurde die Chloroformphase mit wenig Azobenzol angefärbt. Das rechte Glas zeigt die Phasengrenze zwischen Chloroform und einer wässrigen Lösung des Polyacrylamides **P1** ohne hydrophobem Lipidanker. Es läßt sich nach dem Aufschütteln der Lösungen eine sofortige Phasenseparation beob-

a)



b)



**Abbildung 68:** a) Phasenseparation von Chloroform/Wasser mit **P3** (links) und mit **P1** (rechts). b) Vergrößerung der unterbundenen makroskopischen Phasenseparation bei Polymer **P3** (Balken =  $100\mu\text{m}$ ).

achten. D.h. die beiden Phasen trennen sich sofort wieder vollständig, wie dies im Bild zu sehen ist.

Vollzieht man den gleichen Versuch mit einer wäßrigen Lösung des Polyacrylamides **P3**, welches mit dem N-Monoalkyl-Initiator polymerisiert wurde, so erkennt man ein ganz anderes Bild. Dieses ist in Abbildung 68a linkes Glas zu sehen. Nach dem Aufschütteln der Lösungen, stellt sich keine Phasenseparation ein. Ein großer Teil der wäßrigen Phase setzt sich zwar oben ab, jedoch bildet sich keine getrennte Chloroformphase aus. Vielmehr erkennt man viele kleine gelbe Tröpfchen. Diese lassen die untere „Phase“ trüber erscheinen und sind auf dem Photo nicht zuerkennen. Betrachtet man sich diese untere „Phase“ unter dem Mikroskop, so erkennt man deutlich die einzelnen Tröpfchen, wie dies Abbildung 68b zeigt. Dieser Zustand ist über mehrere Wochen stabil, ohne daß sich Chloroformphase abscheidet.

Als eine Erklärung für dieses Phänomen könnte man den amphiphilen Charakter des Lipopolymeren heranziehen. Der hydrophobe Teil des Polymeren, der durch den Initiator eingebracht wurde, hat eine deutliche Tendenz zu organischen hydrophoben Lösungsmitteln. Die hydrophile Polymerkette hingegen zieht lieber das hydrophile wäßrige Milieu vor. Nun bilden sich beim Aufschütteln der Lösungen viele feine Chloroformtröpfchen aus. An deren Phasengrenze zum Wasser hin lagern sich nun die Lipopolymere an. Das hydrophobe Ende taucht in die hydrophobe Chloroformphase

ein. Der Rest des hydrophilen Polymeren liegt nun in der Wasserphase an der Grenzfläche zum Chloroformtröpfchen. So ist nun jedes Chloroformtröpfchen komplett mit Polymer umlagert bzw. beschichtet. Dadurch scheint es nun zu einem quasistabilen Zustand zu kommen. Denn die Vereinigung der Tröpfchen wird durch die Polymerschicht unterbunden und so eine makroskopische Phasenseparation inhibiert.

Bemerkenswerterweise ist dieses Phänomen unabhängig von der Konzentration des Polymeren. Zumindest in dem Konzentrationsbereich von 1-4 mg/mL konnte keine Abhängigkeit der Tröpfchengröße festgestellt werden. D.h. in diesem Konzentrationsbereich sind alle Chloroformtröpfchen mit der maximalen Beladungsdichte an Polymer umlagert. Eine kleinere Tröpfchengröße stellt sich trotz zunehmender Konzentration nicht ein. Gründe hierfür sind schwer zu finden. Einzig die mit abnehmendem Radius der Chloroformtröpfchen zunehmende Oberflächenkrümmung steht dem entgegen. Es scheint so, daß sich hier in der Tröpfchengröße von etwa 100  $\mu\text{m}$  ein Minimum der beiden entgegengerichteten Kräfte vorliegt.

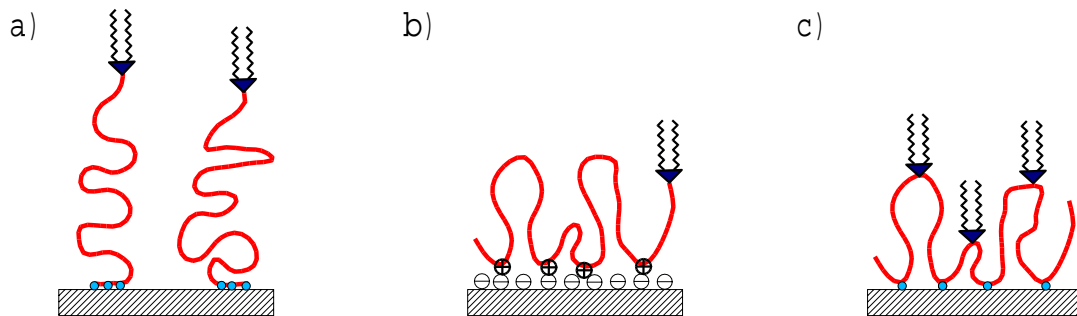
## 5.3 Charakterisierung der Polymere in ultradünnen Filmen

### 5.3.1 Adsorption der Polymere zu ultradünnen Filmen

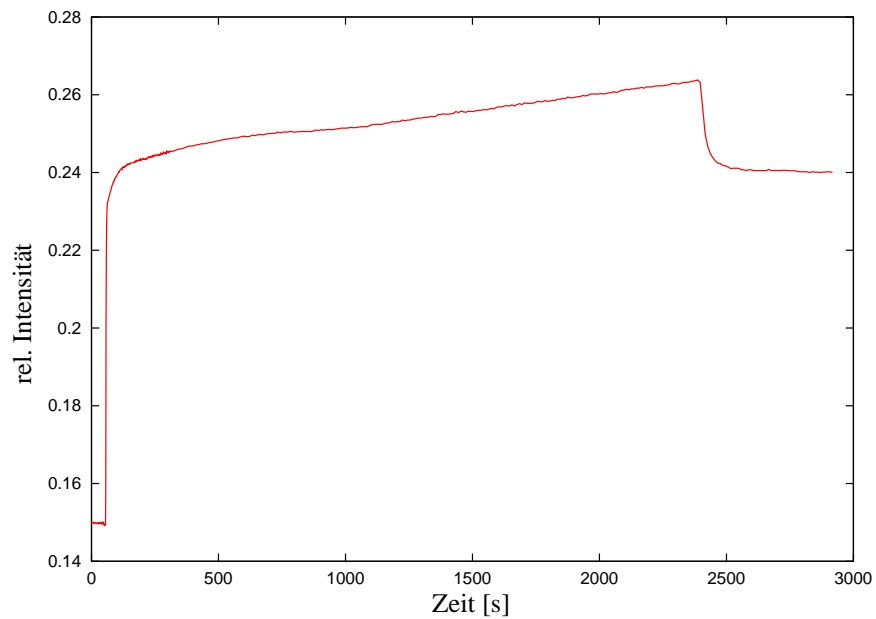
Um nun ultradünne Filme der Lipopolymere auf Oberflächen, insbesondere Goldoberflächen zu fertigen, stehen einem die beiden prinzipiellen Methoden der Physisorption und der Chemisorption zur Verfügung. Da die  $\alpha$ -funktionalisierten Lipopolymere eine tertiäre Amingruppe vorweisen und daher basischer Natur sind, siehe Kapitel 5.2.1 und Abbildung 35, lassen sich diese Polymere auf negativierten Oberflächen adsorbieren, wie dies in Abbildung 69b schematisch gezeigt ist. Die  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymere hingegen weisen selbst einen Oberflächenanker in Form einer Disulfidgruppe auf und können daher direkt auf der Goldoberfläche adsorbieren, wie dies schematisch in Abbildung 69a gezeigt ist. Die dritte Polymerklasse sind die statistisch funktionalisierten Polymere, die ebenfalls einen Oberflächenanker in Form einer Disulfidgruppe aufweisen. Sie adsorbieren direkt auf der Goldoberfläche, wie dies schematisch in Abbildung 69c gezeigt ist.

Es lassen sich so also ultradünne Polymerfilme darstellen. Die Dicken der entstehenden Filme können dann mit Hilfe der Oberflächenplasmonen Spektroskopie (SPS) bestimmt werden. Der eigentliche Vorteil der SPS ist jedoch die Möglichkeit das Adsorptionsverhalten der Polymere zeitaufgelöst zu studieren, d.h. kinetisch zu verfolgen.

Für die  $\alpha$ -funktionalisierten Lipopolymere muss vorher eine negativierte Oberfläche präpariert werden. Dazu wird auf die gereinigte Goldoberfläche eine wässrige Lösung des Natriumsalzes der Mercaptoethansulfonsäure einwirken gelassen. Nach erfolgreicher Adsorption, ca. 30 Minuten, wird diese Oberfläche mit Milli-Q Wasser abgespült. Auf der so modifizierten Oberfläche kann dann das entsprechende Lipopolymer aus wässriger Lösung adsorbieren. In Abbildung 70 ist zum Beispiel die Adsorptionskurve des Lipopolymeren **P4** auf einer mit Mercaptoethansulfonsäure beschichteten Goldoberfläche gezeigt. Man erkennt einen sehr schnellen Anstieg der

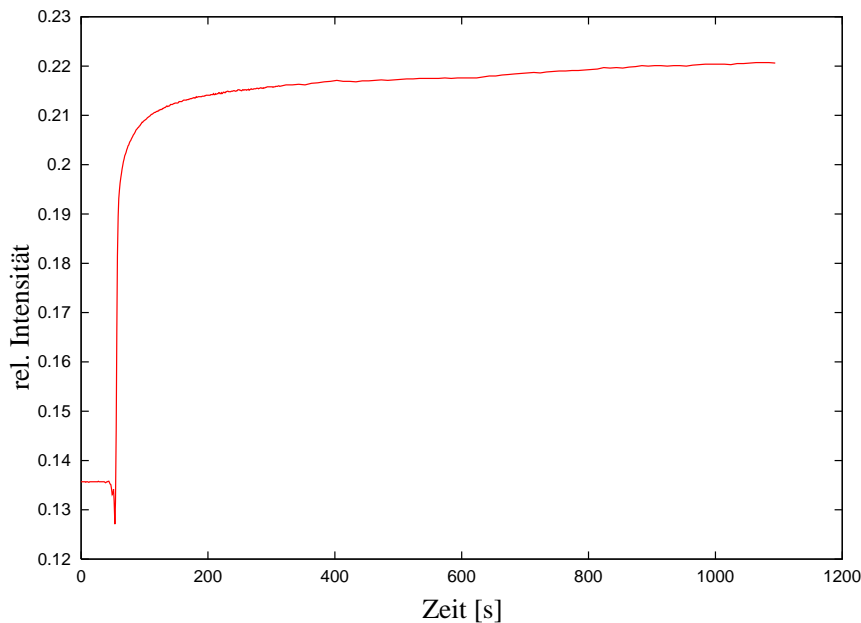


**Abbildung 69:** Adsorptionen der 3 unterschiedlichen Lipopolymerarten: a) Chemisorption von  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymeren auf Gold, b) Physisorption von  $\alpha$ -funktionalisierten Lipopolymeren auf einer negativierten Oberfläche und c) Chemisorption von statistischen Lipopolymeren auf Gold.



**Abbildung 70:** Mit Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmte Adsorptionskurve des Lipopolymeren **P4** auf einer negativierten Goldoberfläche.

Schichtdicke (die Reflektivität ist direkt proportional zur Schichtdicke). Nach etwa 200 Sekunden nimmt die Schichtdicke nur noch langsam linear zu. Erst das Spülen mit Wasser zum Zeitpunkt  $t \approx 2300$  sec beendete diese Zunahme und man erhält eine konstante Schichtdicke von 20 Å.



**Abbildung 71:** Mit Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmte Adsorptionskurve des Lipopolymers **P22** auf einer Goldoberfläche.

Ganz ähnlich verhalten sich die Polymere, die über Thiolgruppen chemisorbiert werden. In Abbildung 71 ist z.B. die Adsorptionskurve des  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymers **P22** gezeigt. Auch hier läßt sich nach Zugabe der Polymerlösung eine sofortige Zunahme der Schichtdicke registrieren. Später nimmt die Schichtdicke nur noch sehr langsam mit der Zeit zu und verbleibt nach dem Spülen bei dem konstanten Wert von 12 Å.

Alle anderen vermessenen  $\alpha,\omega$ -endfunktionalisierten Lipopolymere, sowie die statistisch funktionalisierten Lipopolymere, zeigen ebenso das entsprechende Verhalten. Lediglich ihre Schichtdicken variieren etwas. Diese sind in Tabelle 9 zusammengetragen.

Alle gemessenen Schichtdicken liegen im Bereich um 20 Å oder knapp darunter. Es handelt sich dabei also tatsächlich um ultradünne Filme. Es konnte bei solch dünnen Filmen keine Abhängigkeit der Schichtdicke vom Polymerisationsgrad der  $\alpha,\omega$ -endfunktionalisierten Lipopolymere gefunden werden, da die Schichtdicke des Filmes nur ein Bruchteil der Länge eines Polymeren beträgt.

Es muss an dieser Stelle jedoch bemerkt werden, daß es sich bei den vermessenen Polymeren um stark gequollene Systeme handelt. Da bei der Berechnung der Film-

**Table 9:** Schichtdicken einiger Lipopolymere auf Gold nach Adsorption aus Lösung ( $c=1$  mg/mL).

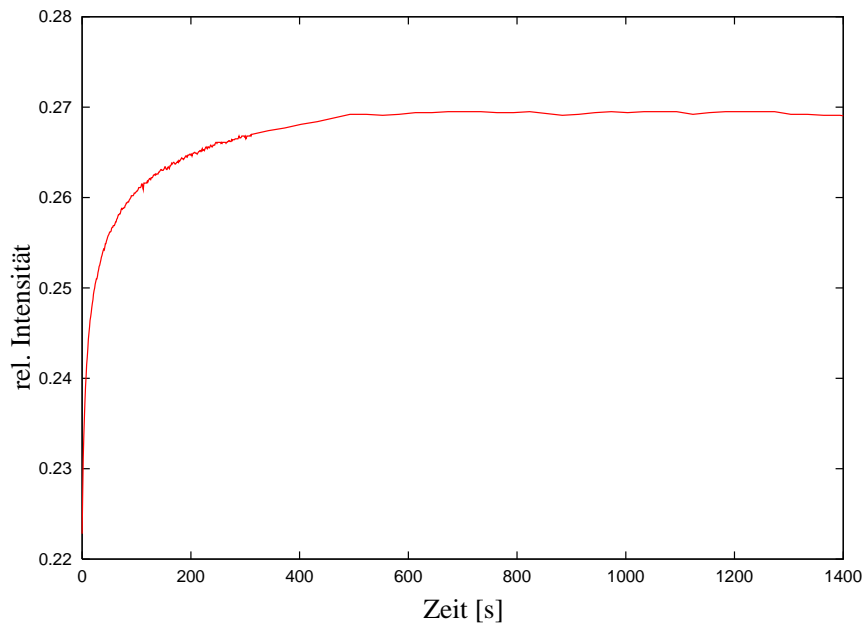
Polymer	Schichtdicke [Å]
<b>P4</b>	20 <sup>a</sup>
<b>P22</b>	12
<b>P29</b>	20
<b>P34</b>	20
<b>P38</b>	14
<b>P39</b>	10
<b>P40</b>	16
<b>P46</b>	19
<b>P51</b>	17
<b>P66</b>	20
<b>P73</b>	14 <sup>a</sup>
<b>P74</b>	15 <sup>a</sup>
<b>PVA</b>	10 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Adsorption auf einer geladenen Oberfläche.

dicken ein idealisiertes Schichtmodell verwendet wird, liegt hier ein Problem vor. In die Berechnung geht der Brechungsindex des Polymeren und des umgebenden Mediums ein. Da sich auch der Brechungsindex von Wasser in der direkten Umgebung des Polymeren unterscheidet, führt es dazu, daß eine zu geringe optische Dicke, das Produkt aus Schichtdicke und Brechungsindex, gemessen wird. Die berechneten Schichtdicken entsprechen eher der Dicke eines getrockneten Films. Die Dicken der gequollenen Polymerfilme sind sicher größer.

Unterschiedlich verhalten sich die Polyvinylalkoholderivate. Der hydrophobierte Polyvinylalkohol **P73** ohne ionische Gruppen und Sulfidanker läßt sich ebenfalls auf einer negativierten Goldoberfläche adsorbieren. Das Adsorptionsverhalten ist in Abbildung 72 gezeigt. Im Unterschied zu den Polyacrylamiden findet die Adsorption langsamer statt. Erst nach etwa 500 Sekunden wird eine konstante Schichtdicke von 14 Å erreicht. Interessant ist hierbei, daß überhaupt eine Adsorption zu registrieren ist. Der Grund hierfür ist die besonderes große Tendenz von Polyvinylalkoholen Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden. Dadurch läßt sich die Filmbildung auf der mit Sulfonsäuregruppen beladener Oberfläche erklären.

Die synthetisch einfache Einführung von negativen Sulfonsäuregruppen an den Polyvinylalkohol führt zu einem Polyanion, welches sich auf einer positivierten Oberfläche adsorbieren läßt. Wie oben beschrieben kann eine positivierte Oberfläche durch Adsorption von Cysteamin erhalten werden. Auf dieser läßt sich dann das Polymer **P74** adsorbieren. Jedoch bildet sich nur sehr langsam ein Polymerfilm. Die Adsorption ist erst nach mehr als 2000 Sekunden beendet. Nach beendeter Adsorption läßt sich eine Dicke von 15 Å berechnen.



**Abbildung 72:** Mit Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmte Adsorptionskurve des Polyvinylalkohols **P73** auf einer negativierten Goldoberfläche.

### 5.3.2 Hydrophilie der ultradünnen Filme

Nachdem nun die Adsorption der Polymer auf Goldoberflächen detailliert untersucht worden ist, stellt sich die Frage nach den Eigenschaften der Polymere, wenn sie als ultradünner Film, sprich Monolage vorliegen. Sind diese Filme an der Oberfläche hydrophil oder hydrophob? Dieser Frage soll im folgenden nachgegangen werden.

Eine sehr gute und etablierte Methode zur Charakterisierung von Oberflächen stellt die Messung des Kontaktwinkels dar. Sie läßt eine Quantifizierung der Oberflächenhydrophilie zu. Deshalb wurde der Kontaktwinkel von Wasser auf einigen ultradünnen Polymerfilmen vermessen, wie dies in Kapitel 2.1.1 theoretisch beschrieben wurde. Die erhaltenen Daten sind in Tabelle 10 zusammengefaßt.

Betrachtet man sich die Reihe der Polymere **P20** bis **P23**, so läßt sich ein deutlicher Trend feststellen. Mit zunehmendem Gehalt an eingebautem Comonomerem **M5** nimmt der fortschreitende Kontaktwinkel stetig ab. Für das Lipopolymere **P20**, welches kein Comonomeres **M5** enthält, konnte der höchste Kontaktwinkel von  $54^\circ$  gemessen werden. Vergleicht man diesen Wert mit dem Kontaktwinkel von reinem Poly(acrylamid) (synthetisiert von HAUSCH [160]) von  $28^\circ$ , so läßt sich ein deutlicher Einfluß der hydrophoben Lipid-Endgruppe im Polymer **P20** erkennen, der den Kontaktwinkel auf  $54^\circ$  erhöht.

Durch den Einbau von 20 mol% des Comonomeren **M5** ergibt sich für das Polymer **P21** ein Kontaktwinkel von  $41^\circ$ . Erhöht man den Einbau von **M5** weiter auf 27 bzw.

**Table 10:** Fortschreitender Kontaktwinkel einiger  $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Lipopolymere (Struktur siehe Abbildungen 39 und 41).

Polymer	Kontaktwinkel $\Theta_a$ [°]	Polymer	Kontaktwinkel $\Theta_a$ [°]
<b>P20</b>	54	<b>P34</b>	23
<b>P21</b>	41	<b>P38</b>	37
<b>P22</b>	39	<b>P40</b>	66
<b>P23</b>	37	<b>P46</b>	53
<b>P29</b>	23	<b>P51</b>	57

30 mol%, so erhält man für die Polymere **P22** und **P23** einen Kontaktwinkel von 39 bzw. 37°. D.h. durch den Einbau der tert. Amin Gruppe erhöht sich die Hydrophilie des Filmes drastisch.

Zu Bemerkungen gilt es, daß für die gesamte Polymerreihe **P20** bis **P23** keine rückziehenden Kontaktwinkel gemessen werden konnten. In allen Fällen fand keine Entnetzung der Filmoberfläche mehr statt. Damit wird nochmals die Hydrophilie dieser Lipopolymerfilme unterstrichen. Gleichzeitig zeigt dieses Ergebnis aber auch, daß durch die Benetzung mit Wasser eine Umorientierung der hydrophoben Lipid-Endgruppen von der Oberfläche weg stattgefunden haben muss. Die Umorientierung der Lipid-Endgruppen führt zu einer hydrophileren Oberfläche, wodurch der fortschreitender Kontaktwinkel nicht mehr bestimmt werden kann, bzw. gegen 0° läuft, da eine vollständige Benetzung vorliegt.

Einen ähnlich hydrophilen Polymerfilm konnte für das Polymer **P38** erhalten werden. Der fortschreitenden Kontaktwinkel betrug auch in diesem Fall 37°. Gegenüber dem Polymeren **P21** enthält dieses Polymer keine Tetradecylamin Endgruppe, sondern eine DMPE Einheit. Damit wird deutlich, daß die Art der hydrophoben Endgruppe keinen großen Einfluß auf den Kontaktwinkel hat. Dieser wird überwiegend vom Einbau des Comonomeren **M5** bestimmt.

Noch etwas hydrophilere Filme konnten bei den Polymeren **P29** und **P34** erhalten werden. Für diese Polymere konnte jeweils ein fortschreitender Kontaktwinkel von 23° gemessen werden. Für das Polymer **P29** besitzt den größten Anteil an eingebautem Comonomer **M5**, womit der niedrige Kontaktwinkel erklärt werden kann. Für das Polymer **P34** deutet der kleine Wert darauf hin, daß in diesem Polymeren die Endgruppe, eine Pyreneinheit, keinen großen Einfluß auf den Kontaktwinkel hat. Bei der Messung des rückziehenden Kontaktwinkels konnte auch hier eine Benetzung der Oberfläche festgestellt werden.

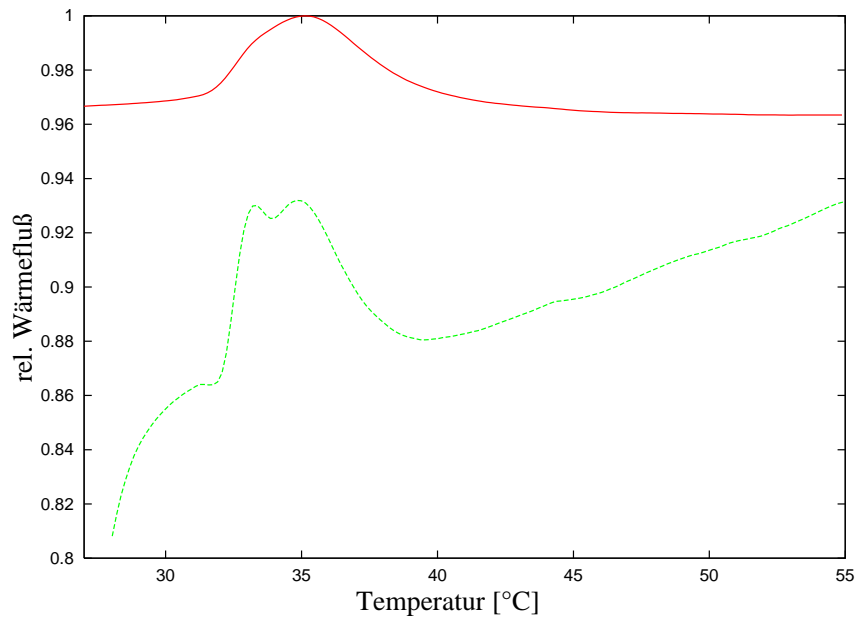
Vergleicht man die Poly(isopropylacrylamide) mit den Poly(acrylamiden), so lassen sich einige Unterschiede feststellen. So konnte für das Polymer **P46** ein fortschreitender Kontaktwinkel von 53° gemessen werden. Auch dieser liegt noch unterhalb dem Kontaktwinkel von 60°, den HAUSCH für reines Poly(N-isopropylacrylamid) messen

konnte [160]. Es wird also auch in diesen Polymeren der Einfluß des tert. Amines des Comonomeren **M5** deutlich.

Daß aber auch die hydrophobe Endgruppe einen Einfluß auf den Kontaktwinkel und damit auf die Hydrophilie der Oberfläche hat, zeigt die Messung des Polymeren **P51**. Dieses Polymere gleicht dem Polymer **P46** bis auf die Endgruppe. Während **P46** eine Octadecylamin Endgruppe trägt, besitzt **P51** eine Dioctadecylamin Endgruppe. Für das Polymer **P51** mißt man dann einen Kontaktwinkel von  $57^\circ$ , also eine Erhöhung um  $4^\circ$ .

### 5.3.3 Phasenverhalten der PNIPAM in ultradünnen Filmen

Die synthetisierten Poly(N-isopropylacrylamide) zeigten in Lösung einen Knäuelkollaps (LCST). Es bleibt daher noch zu klären, wie sich die Poly(N-isopropylacrylamide) an der Goldgrenzfläche verhalten. Ist also ein LCST auch in einem dünnen Film vorhanden?



**Abbildung 73:** DSC-Messungen von **P39** frei in Lösung (rote Kurve) und auf Goldkolloiden adsorbiert (grüne Kurve).

Problematisch ist hierbei die Untersuchungsmethodik, denn Trübungsmessungen lassen sich an einem dünnen Film auf einer Oberfläche nicht durchführen. LASCHEWSKY konnte an anderen Polymerfilmen zeigen, daß sich in genügend dicken Filmen ein LCST auch mit der Oberflächen Plasmonen Spektroskopie registrieren läßt [168]. Daher lag es nahe dies auch an den hier erhalten dünnen Filmen zu versuchen. Dazu wurde die Meßzelle der SPS an einen Thermostaten angeschlossen und die Innentemperatur der Meßzelle entsprechend geeicht. Danach wurde der dünne Film des Polymeren **P39** wie in Kapitel 5.3.1 beschrieben adsorbiert und die Meßzelle ausreichend mit Wasser gespült. Es wurde eine Filmdicke von 10 Å erhalten. Anschließend wurde ein Temperaturprofil von 20 bis 45°C durchlaufen und dabei die Schichtdicke registriert. Jedoch waren die Signaländerungen die durch die Temperaturänderungen hervorgerufen wurden größer als die eigentliche Signaländerung, die durch den Kollaps des Filmes an der Oberfläche hervorgerufen wurde. Es konnte also in diesem dünnen Film mit der SPS keine Dickenänderung nachgewiesen werden.

Da sich aber bereits in den Mischexperimenten der Initiatoren mit den DMPC Vesikeln die DSC als eine Untersuchungsmethode mit sehr guter Auflösung heraus-

gestellt hatte, lag es nahe diese auch zur Untersuchung des Knäuelkollaps des Polymeren im dünnen Film zu verwenden. Das einzige Problem welches sich stellte, war genügend Material in Form eines adsorbierten dünnen Filmes zu präparieren. Um also eine möglichst große Goldoberfläche zugänglich zu haben, wurde versucht Goldkolloide herzustellen und diese dann mit Polymer zu beladen. Entsprechend wurden Goldkolloide aus  $\text{AuCl}_3$ -Lösung durch Reduktion mit Kaliumcitrat gewonnen. Die so erhaltene brombeerrote Lösung zeigte ein Maximum der Adsorption bei 549 nm. Zu einer möglichst konzentrierten Goldkolloid-Lösung wurde nun das Polymer **P39** gegeben. Nach etwa 30 Minuten wurde die Lösung erhitzt, wodurch das Polymer koagulierte und ausfiel. Die überstehende Lösung wurde warm dekantiert und die mit dem Polymer ausgefallenen Goldkolloide in der DSC als wäßrige Lösung vermessen. Die Messung ist in Abbildung 73 (grüne Kurve) dargestellt. Zum Vergleich ist nochmal die DSC-Messung des reinen Polymeren in Lösung als rote Kurve aufgetragen. Man erkennt in der grünen Kurve deutlich zwei überlagerte endotherme Peaks. Einer bei  $T=33^\circ\text{C}$  und einer bei  $T=35^\circ\text{C}$ . Der zweite Peak bei  $T=35^\circ\text{C}$  stimmt sehr gut mit dem Peak des reinen Polymeren in Lösung überein. Jedoch zeigt der erste Peak bei  $T=33^\circ\text{C}$  an, daß hier noch eine zweite Phasen in Form von adsorbiertem Polymer vorliegen muß. Die Interpretation für dieses Phänomen ist, daß ein Polymer, welches an einer Goldoberfläche adsorbiert ist, einen von der Lösung verschiedenen LCST aufweist. Diese LCST liegt etwas unterhalb des LCST der Lösung. Verstehen läßt sich dies durch folgendes Bild. Durch die Anbindung des Polymeren an die Oberfläche ist das Polymer in seiner Konformationsfreiheit eingeschränkt. Dies wirkt sich daher analog dem Einbau von hydrophoben Gruppen in das Polymer aus, denn von denen ist bekannt, daß sie ebenfalls die LCST von Poly(N-isopropylacrylamid)-Derivaten herabsetzen [139].

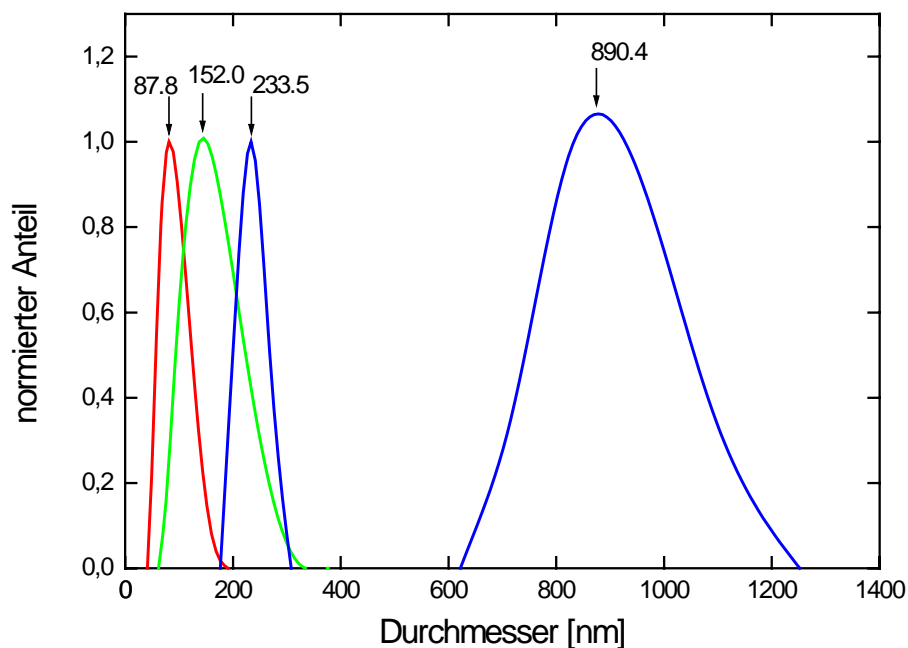
## 6 Wechselwirkungen mit Vesikeln

Das Große wird nicht durch ein impulsives Handeln, sondern durch das Zusammenwirken vieler kleiner Dinge hervorgebracht, die man sich zu einem Ganzen hat vereinigen lassen.

VINCENT VAN GOGH

### 6.1 Polymer-Vesikel Wechselwirkung in Lösung

Bevor der Aufbau von polymerunterstützten Lipidmembranen auf Oberflächen angegangen werden kann, soll zuerst die Attraktion der Polymere auf Vesikel in Lösung untersucht werden. Von besonderem Interesse sind hierbei die Größenänderung von Vesikeln in Lösung in Gegenwart von Lipopolymeren, sowie das Verhalten der fluoreszenzmarkierten Lipopolymere **P36** und **P37** in Gegenwart von Vesikeln.



**Abbildung 74:** Durch Photonenkorrelationsspektroskopie bestimmte Größenverteilung von Vesikeln, die in Abhängigkeit des Membranfilterdurchmessers präpariert wurden. Rote Kurve: 50nm, grüne Kurve 100nm und blaue Kurve 1000nm Filterporendurchmesser.

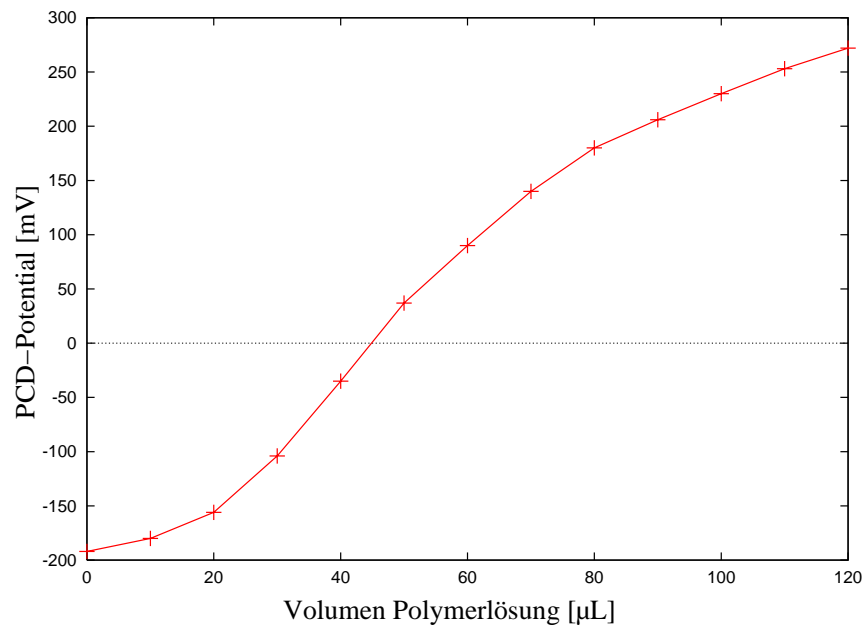
Wenn die synthetisierten, wasserlöslichen Lipopolymere eine Attraktion auf Vesikel ausüben, so sollten diese Polymere auf der Vesikeloberfläche adsorbieren. Dies müßte zu einer Zunahme des Durchmessers der Vesikel führen. Um solche Messungen durchführen zu können, bedarf es nicht nur einer geeigneten Meßmethode, sondern auch möglichst einer monodispersen Vesikellösung.

Eine gängige Meßmethode zur Bestimmung von Partikelgrößen stellt die Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) dar. Mit dieser wurden verschiedenen Vesikellösungen vermessen. Die unterschiedlichen Vesikellösungen wurden durch Extrusion von erwärmten ( $T=30^{\circ}\text{C}$ ) Lipidsuspensionen durch eine Filtermembran mit bestimmter Porengröße erhalten. Es wurden Filter mit den Porengrößen von 50, 100 und 1000 nm verwendet. Diese Lösungen wurden als 1 mg/mL konzentrierte Lösung mit der PCS vermessen und die Ergebnisse sind in Abbildung 74 zusammengestellt.

Die rote Kurve zeigt die Größenverteilung der Vesikel, die durch den 50 nm Filter extrudiert wurden. Man erkennt direkt, daß die Durchmesser der vermessenen Vesikel in etwa eine Normalverteilung aufweisen. Das Mittel dieser Verteilung liegt bei einem Durchmesser von 88.8 nm. Dieser Durchmesser ist deutlich größer als die 50 nm Poren des verwendeten Filters. Da sich bei der Extrusion die Vesikel durch die Poren durchdrängen, ist es einsichtlich, daß sich diese dabei entlangieren und erst nach dem Verlassen der Poren wieder ihre Kugelgestalt einnehmen. Diese ist dann etwas größer als der Porendurchmesser. Der Grund hierfür ist die fluide Gestalt der Vesikel, die solche Verformungen zuläßt.

Die grüne Kurve in Abbildung 74 zeigt die Größenverteilung der Vesikel, die durch einen 100 nm Filter extrudiert wurden. Auch hier ist der gemessene mittlere Vesikeldurchmesser mit 152 nm größer als der Porendurchmesser von 100 nm. Jedoch erhält man nicht die doppelte Größe der Vesikel im Vergleich zu denen, die durch einen mit 50 nm großen (halb so groß) Porenfilter extrudiert worden sind. D.h. der *Stress* der bei der Extrusion auf die Vesikel ausgeübt wird nimmt bei den 100 nm Poren ab, weshalb diese nicht so stark deformiert werden müssen, um durch die Poren zu gelangen.

Die größten Vesikel wurden durch Extrusion durch einen 1000 nm Porenfilter erhalten. Die zugehörige Größenverteilung der Vesikel ist in Abbildung 74 als blaue Kurve dargestellt. Es fällt direkt auf, daß es sich hier um eine bimodale Verteilung handelt. Man findet Vesikel mit einem mittleren Durchmesser von 233.5 nm und mit einem mittleren Durchmesser von 890.4 nm. Dies ist verwunderlich. Erstens, erwartet man keine bimodale Verteilung und zweitens, sind alle Vesikel kleiner als der Porendurchmesser des verwendeten Filters. Die Größe von 890.4 nm ist verständlich, da die Vesikel kaum durch die Poren geschert werden müssen, sondern als intakte Spezies durch die Poren passen. Dies wird ebenfalls durch die breite Verteilung bestätigt. Interessant sind vielmehr die kleineren Vesikel der Größe 233.5 nm. Diese können nicht durch eine Extrusion durch die Poren entstanden sein. Die einzige Erklärung kann durch die Prozedur der Vesikelbereitung erfolgen. Denn bevor die Vesikel extrudiert werden, wird ein Lipidfilm von einer Glaswand in Lösung dispergiert. Dies erfolgt unter der Einwirkung von Ultraschall. Es scheint also, daß diese kurzzeitige Ultraschallbehandlung bereits zu intakten Vesikeln der Größe um 230 nm führt.



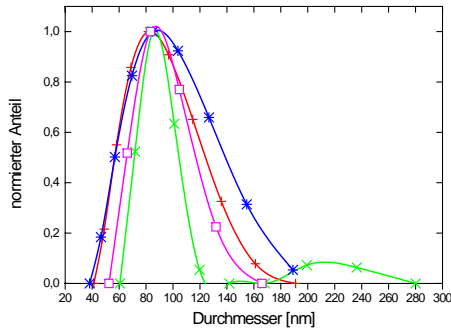
**Abbildung 75:** PCD-Potential als Funktion der Zugabe von Polymer **P22** bei der Titration von DMPC-Vesikeln.

Für eine Untersuchung zur Adsorption von Lipopolymeren an Vesikel kommen also lediglich die zwei monomodal verteilten Vesikellösungen in Frage, da hier eindeutig die Belegung auf den Vesikel registriert werden kann. Da die Vesikel die durch den 50 nm Porenfilter extrudiert worden sind eine engere Verteilung aufweisen, wurden diese zu Adsorptionsstudien herangezogen. Ebenso wirkt sich die Größenänderung bei den kleinen Vesikel deutlicher aus.

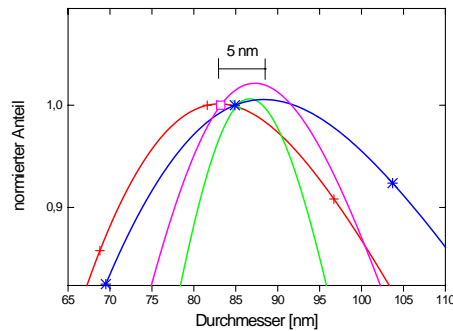
Um die Adsorption der Lipolymere auf Vesikeln quantifizieren zu können, wurden vorher die Vesikel mit Polymer titriert. Da sich durch die Adsorption von Polymer die Oberflächenladung der negativ geladenen Vesikel in eine positive umkehren sollte, wurde das PCD-Potentials verfolgt. In Abbildung 75 ist eine entsprechende Titrationskurve des Polymeren **P22** dargestellt. Durch die Titration läßt sich der Punkt der Neutralisation (Potential = 0 mV) bestimmen ( $\tau = 1$ ). Entsprechend läßt sich von diesem Punkt ausgehend eine halbe Belegung ( $\tau = 0.5$ ) der Vesikel festlegen.

Mit dieser Kenntnis läßt sich nun eine vernünftige Adsorption der Lipopolymere auf Vesikeln untersuchen. In Abbildung 76 ist die Größenverteilung der Vesikel in Abhängigkeit der Beladung mit Polymer dargestellt. Die rote Kurve (+) stellt die Normalverteilung von unbeladenen Vesikeln dar. Titriert man nun diese Lösung bis zu  $\tau=0.5$  und bestimmt erneut die Größenverteilung, so erhält man die in Abbildung 76 dargestellte grüne Kurve (x). Zwei Dinge sind bemerkenswert. Erstens, das Maximum des Verteilungspeaks verschiebt sich zu größeren Werten. Zweitens, es tritt eine bimodale Verteilung auf. Die Vergrößerung des Vesikeldurchmessers korreliert mit ei-

a)



b)



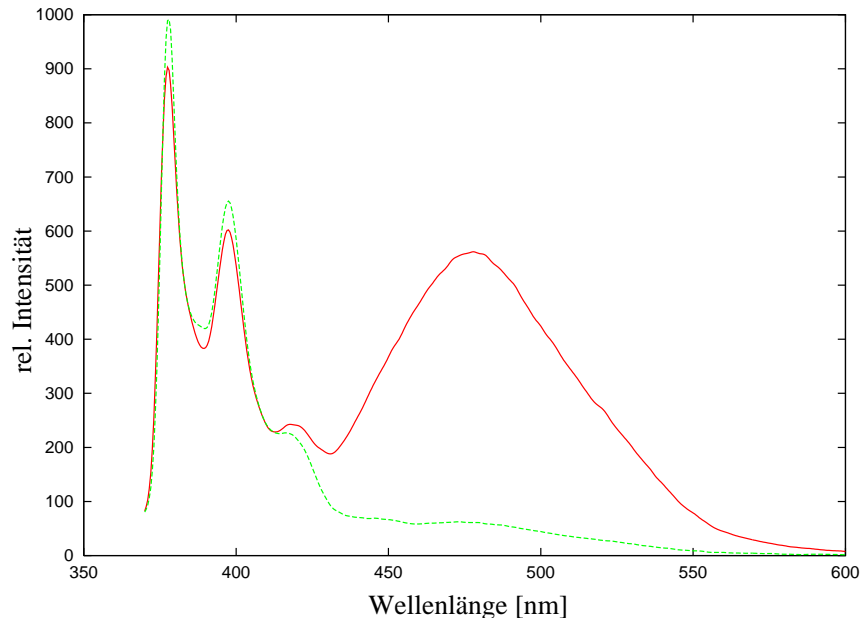
**Abbildung 76:** a) Durch PCS bestimmte Größenverteilung von DMPC-Vesikeln bei der Titration mit Polymer P22. b) Vergrößerung der Verteilungsmaxima.

ner Adsorption eines Polymerfilmes auf deren Oberfläche. Interessant ist jedoch das Auftreten von wesentlich größeren (180-260 nm) Teilchen. Dieses Ergebnis ist sehr unerwartet. Jedoch bestätigt es zusätzlich, daß die Lipopolymere auf den Vesikeln adsorbieren. Durch die halbe Beladung an Polymer pro Vesikel, entstehen zum Teil Vesikel die komplett beladen bzw. ein wenig überladen sind und solche die noch unbeladen bzw. unterbeladen sind. So ist es möglich, daß sich größere Vesikelaggregate aus über- und unterbeladenen Vesikeln bilden können. Diese führen zu der Registrierung von größeren Teilchen in der PCS.

Die bei  $\tau=0.5$  entstehenden Aggregate sind reversible Gebilde, wie die weitere Titration mit Lipopolymer bis zum Punkt  $\tau=1$  zeigt. Die Größenverteilung der Vesikel dieses Zustandes ist als blaue Kurve (\*) in Abbildung 76 gezeigt. Als erstes fällt auf, daß es sich wieder um eine monomodale Verteilung handelt. D.h. die zwischenzeitlich bei  $\tau=0.5$  gebildeten Aggregate sind wieder zu einzelnen Vesikeln zerfallen. Dies bestätigt den reversiblen Prozeß der Aggregation. Jedoch zeigt die Kurve eine gewisse nicht symmetrische Verteilung, die einen deutlichen Auslauf zu größeren Teilchen aufweist. Das Maximum der Kurve verschiebt sich nur unwesentlich. Titriert man nun weiter mit Polymer bis zu  $\tau=1.5$ , so erhält man die rosa Kurve (□) in Abbildung 76. Es stellt sich wieder die ursprüngliche Breite der Vesikelgrößenverteilung ein. Ihr Mittelwert liegt bei 93.8 nm, was einer Zunahme des Durchmessers von 5 nm entspricht. Somit ergibt sich ein Polymerfilmdicke von 2.5 nm. Dies ist ein sehr realistischer Wert, der in der Größe der Dicke von Polymerfilmen auf Oberflächen entspricht.

Es konnte also mit Hilfe der PCS eine Vergrößerung des Vesikeldurchmessers durch Polymeradsorption registriert werden. Ist dies jedoch die einzige Möglichkeit die Adsorption an Vesikeloberflächen festzustellen? Insbesondere das Verhalten des Lipidankers ist von besonderem Interesse. Liegt er auch nur auf der Oberfläche? Oder inkorporiert er in die Lipidmembran? Eine Möglichkeit die diesen Fragen nachgehen

soll, stellt die Untersuchung des Fluoreszenzspektrums der Lipopolymere **P36**, **P37** dar.

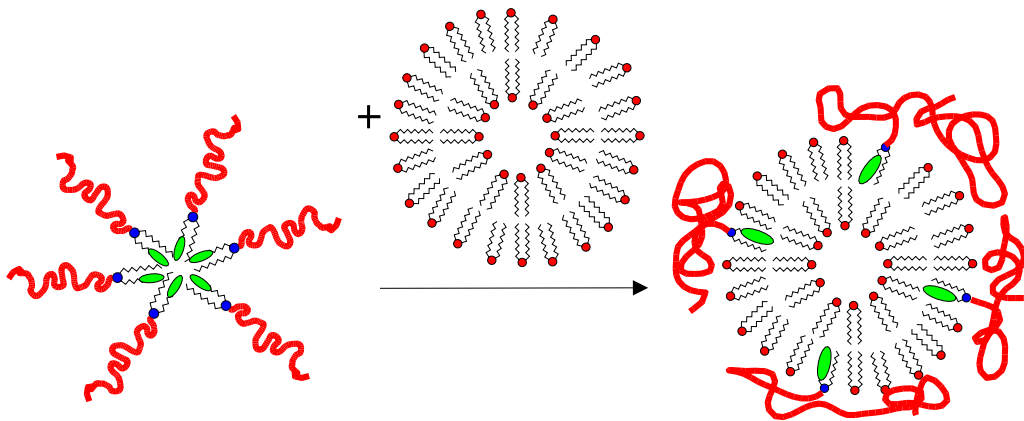


**Abbildung 77:** Fluoreszenzspektren des Polymeren **P36** in Wasser vor (rote Kurve) und nach (grüne Kurve) Vesikelzugabe.

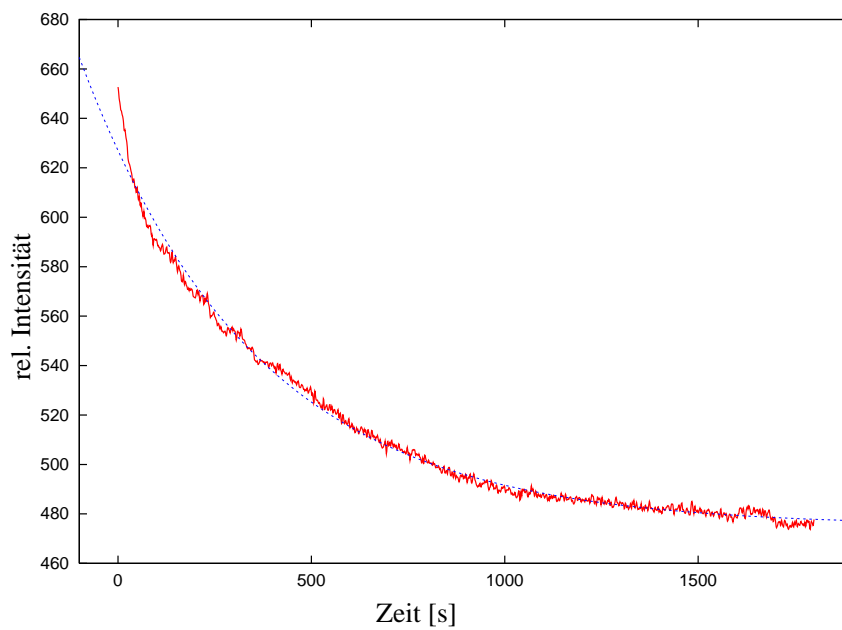
Exemplarisch soll das Fluoreszenzspektrum des Polymeren **P36** untersucht werden. Dieses ist einmal in Abbildung 77 als rote Kurve dargestellt. Deutlich erkennt man drei Fluoreszenzbanden bei 376 nm, 395 nm und 420 nm. Diese sind typisch für Pyren [141]. Besonders auffällig ist jedoch der breite Peak bei 475 nm. Hierbei handelt es sich um einen Eximerpeak des Pyren. Das Auftreten des Eximerpeaks läßt sich durch die Bildung von polymeren Mizellen erklären. In diesen ordnen sich die hydrophoben Lipidanker zu einer Mizelle zusammen, deren Schale sich aus den hydrophilen Polymerketten besteht. Dies ist in Abbildung 78 schematisch dargestellt.

Gibt man zu einer solchen Polymerlösung eine Vesikellösung hinzu, wartet ab und vermischt das Fluoreszenzspektrum erneut, so erhält man die grüne Kurve aus Abbildung 77. Zum Vergleich wurde das Spektrum auf eine dem ursprünglichen Spektrum angepaßte Größe verkleinert. Man erkennt wieder die drei Fluoreszenzbanden bei 376 nm, 395 nm und 420 nm. Es fehlt jedoch der Eximerpeak. D.h. die ursprüngliche mizellare Struktur der Polymere in Lösung wurde zerstört. Dies kann nur durch eine Adsorption der Polymerketten an die Vesikeloberfläche geschehen. Dadurch nehmen die einzelnen Pyrenmoleküle einen sehr viel größeren Abstand zueinander ein und die Bildung von Eximeren wird verhindert.

Da die Intensität des Eximerpeaks innerhalb von wenigen Minuten vollständig abnimmt, wurde versucht die Abnahme der Intensität kinetisch zu verfolgen. Dazu wurde



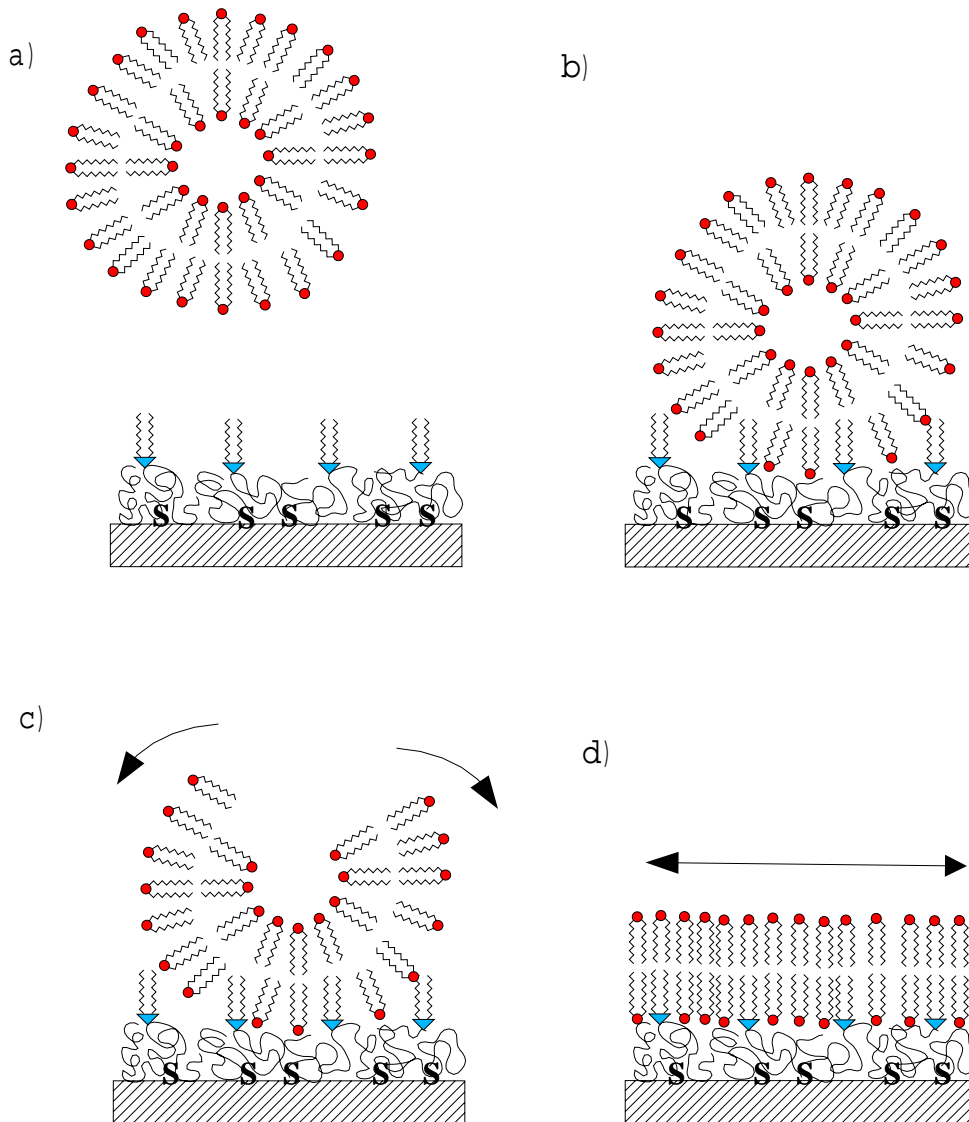
*Abbildung 78: Schema der polymeren Micellen des Polymeren P36 in wässriger Lösung und der Adsorption auf eine Vesikeloberfläche.*



*Abbildung 79: Fluoreszenz-Intensitätsabnahme des Eximerpeaks des Polymeren P36 bei Vesikelzugabe.*

analog das Fluoreszenzspektrum der reinen Lipopolymerlösung von **P36** vermessen und anschließend die Intensität des Peaks bei konstanter Wellenlänge von  $\lambda = 475$  nm verfolgt. Es wurde dann eine sehr verdünnte Lösung an DMPC Vesikeln zugegeben und die Intensität registriert. Das Ergebnis ist in Abbildung 79 als rote Kurve zu erkennen. Da sich die Messung nicht direkt nach der Zugabe der DMPC Lösung starten läßt, ist hier eine gewisse Totzeit einzurechnen. Trotzdem erkennt man, daß die Intensität im Verlauf der Zeit abnimmt. Als blaue Kurve ist ein exponentieller Abfall als Funktion angefitet. Lediglich in den ersten Sekunden paßt dieser nicht optimal an die gemessenen Daten. Wohlmöglich liegt dies in der nicht perfekten Durchmischung der Lösung in der Küvette. Aus dem Fit läßt sich eine Halbwertszeit von 313 Sekunden (ca. 5 Minuten) berechnen.

## 6.2 Polymer-Vesikel Wechselwirkung an Oberflächen



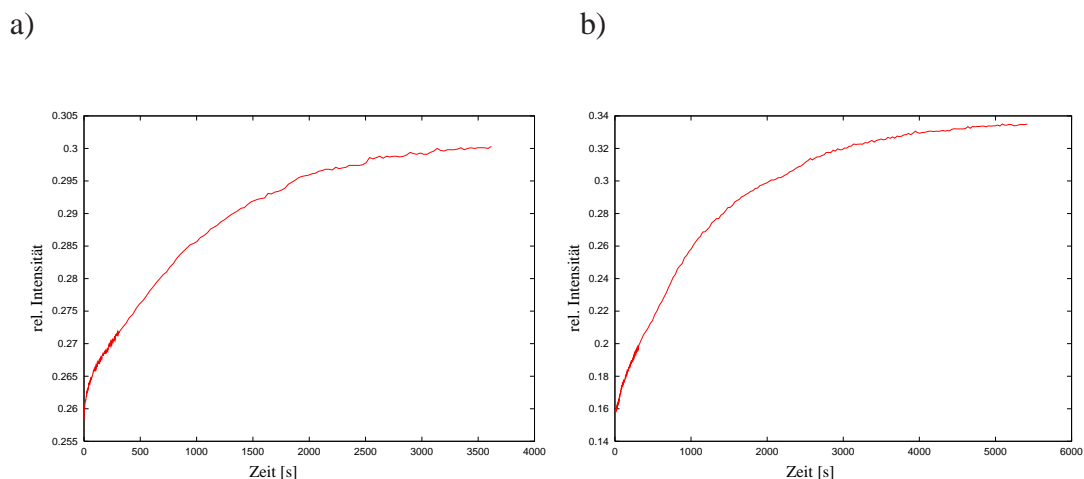
**Abbildung 80:** Vorgeschlagener Mechanismus der Membranbildung auf hydrophilen Lipopolymeren durch Vesikelfusion.

Nachdem die Lipopolymer-Vesikel Wechselwirkung in Lösung untersucht worden ist und eindeutig die Adsorption der Lipopolymere auf der Vesikeloberfläche bestätigt werden konnte, läßt sich nun der umgekehrte Schritt der Vesikeladsorption auf den in Kapitel 5.3 beschriebenen dünnen Polymerfilmen untersuchen. Dazu sollen die dünnen Polymerfilme, die auf einer Oberfläche adsorbiert worden sind, einer Lösung mit Vesikeln ausgesetzt werden. Es können dann verschiedene Prozesse ablaufen, wie dies in

Abbildung 80 skizziert ist.

Erstens kann keine Wechselwirkung des Polymerfilms mit den Vesikeln in Lösung eintreten. D.h. es findet keine Adsorption und damit auch keine Schichtdickenzunahme statt. Oder die Vesikel können auf dem dünnen Polymerfilm als ganze kolloidale Teilchen adsorbieren (Abbildung 80b). Diese können dann im folgenden Verlauf (Abbildung 80c-d) ausrollen und schließlich zu einer flachen Lipidmembran fusionieren. Ob und welche Schritte ablaufen hängt von vielen Bedingungen ab. Zum einen ist die Attraktivität der Lipopolymere zur Vesikelmembran zu nennen, zum anderen aber auch die Vesikellösung selbst: Hier spielen die Elektrolyte aber auch die Temperatur eine Rolle. Einsichtlich ist, daß das Ausrollen der Vesikel durch einen Stimulus ausgelöst werden muss, um von der stabilen, in sich geschlossenen Form der Vesikel zu der einer planaren Membran zu gelangen.

Diese unterschiedlichen Bedingungen sollen im folgenden untersucht und verglichen werden. Der Schwerpunkt wird in dieser Arbeit auf der Attraktivität unterschiedlicher Lipopolymere auf die Vesikel liegen. Aber auch der Einfluß des osmotischen Stresses durch Elektrolyte, insbesondere als externer Stimulus, wird verfolgt.



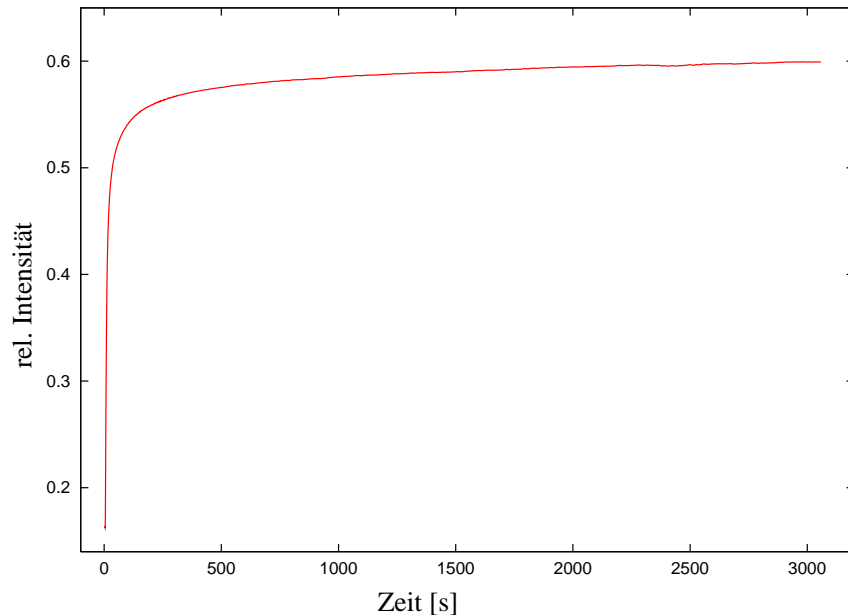
**Abbildung 81:** Vesikelwechselwirkung mit a) einer Goldoberfläche und b) einer negativierten Oberfläche.

Bevor jedoch die Polymer-Vesikel Wechselwirkung untersucht wird, soll zuerst einmal die Vesikellösung verschiedenen Oberflächen ausgesetzt werden, um einen Eindruck einer unspezifischen Wechselwirkung einer Oberfläche mit Vesikeln zu bekommen. Dazu sind eine Goldoberfläche und eine mit Mercaptosulfonsäure negativierte Goldoberfläche jeweils mit einer Vesikellösung in Kontakt gebracht worden. Die Adsorptionskurven sind in Abbildung 81 wiedergegeben.

In beiden Fällen findet eine Wechselwirkung der Oberfläche mit den Vesikeln in Lösung statt, die sich in einer Zunahme des Reflexionssignals und damit in einer Schichtdickenzunahme äußert. Jedoch findet die Adsorption nur sehr langsam statt.

Für die Goldoberfläche (Abbildung 81a) ist die Adsorption erst nach knapp 1 Stunde abgeschlossen und es läßt sich unter der Annahme eines homogenen Films eine Schichtdicke von  $10 \text{ \AA}$  berechnen. Ähnlich sieht es für die negativierte Oberfläche aus. Hier dauert die Adsorption sogar noch länger und ist erst nach 1.5 Stunden abgeschlossen (Abbildung 81b). Die berechnete Filmdicke ist aber auch mit  $27 \text{ \AA}$  etwas größer. Beide Schichtdicken lassen schon erkennen, daß es sich hier nicht um eine planare geschlossene Lipidmembran auf einer Oberfläche handeln kann. Hierfür sind die Schichtdicken zu klein.

Weiterhin ist aus anderen Untersuchungen bekannt, daß geladene Polymerfilme eine Attraktivität auf Vesikel in Lösung ausüben [122, 169]. Aber auch der Einbau einer lipophilen Gruppe ist notwendige Voraussetzung für die Adsorption von Vesikeln auf dünnen Polymerfilmen [160].



*Abbildung 82: SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer **P4** Oberfläche.*

Daß sich die Wechselwirkung einer Oberfläche drastisch ändert, sobald diese mit einem ultradünnen Polymerfilm beschichtet ist, zeigt sich im folgenden Experiment. Adsorbiert man zuerst auf einer negativierten Goldoberfläche ein  $\alpha$ -funktionalisiertes Polymer, z.B. **P4**, wie dies in Kapitel 5.3.1 gezeigt worden ist, und setzt diese präparierte Oberfläche einer Vesikellösung aus, so ergibt sich der in Abbildung 82 gezeigte Adsorptionsverlauf. Es findet eine rapide Zunahme der Schichtdicke innerhalb von Sekunden statt, welche nach wenigen Minuten in einen konstanten Wert von  $62 \text{ \AA}$  läuft. Dieser Prozeß ist wesentlich schneller im Vergleich zu der Adsorption auf einer reinen Goldoberfläche. Auch bildet sich hier eine konstante Schichtdicke aus, deren Wert jedoch etwas größer als der theoretisch erwartete Wert von  $50 \text{ \AA}$  für eine Lipiddoppelschicht ist. Es liegt also die Vermutung nahe, daß auf dieser Oberfläche nur eine Adsorption der Vesikel stattfindet.

Dieser Befund ist in zweierlei Hinsicht interessant. Erstens ist es ein wichtiges Ergebnis, daß die in Lösung gefundene Attraktivität zwischen Vesikeln und Polymer auch zwischen einem ultradünnen Film auf einer Oberfläche und Vesikeln in Lösung besteht. Zweitens ist es bemerkenswert, daß auch die ungeordnete Struktur in einer Polyelektrolytschicht trotzdem ihre Attraktivität auf die Vesikel in Lösung behält. Es ist daher anzunehmen, daß in diesem System analog dem Multischichtaufbau von Po-

lyelektrolyten eine Oberflächenüberschußladung zugrunde liegt. Denn durch die Adsorption von Polyelektrolyten auf einer entgegengesetzt geladenen Oberfläche, entsteht ebenfalls eine geladene Oberfläche, die jedoch entgegengesetzt der ursprünglichen Oberfläche geladen ist. Dies scheint auch in dem besprochenen Experiment der Fall zu sein, denn die Attraktivität des Polymeren beruht zu einem großen Teil auf der Möglichkeit Bindungen zwischen den basischen tertiären Amingruppen, bzw. deren protonierter Form, und den Phosphatgruppen der Vesikeloberfläche ausbilden zu können.

Da die Vesikelwechselwirkung mit der Oberfläche eines ultradünnen Filmes eines  $\alpha$ -funktionalisierten Lipopolymeren erfolgreich verlief, soll nun im weiteren Schritt die Vesikelwechselwirkung mit einer Oberfläche eines  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymeren untersucht werden. Dazu wurden unter den gleichen Bedingungen ultradünne Polymerfilme einer wäßrigen Vesikel Lösung ausgesetzt. Es fand ebenfalls eine Wechselwirkung der Polymerfilme mit den Vesikeln in Lösung statt, wie dies exemplarisch die in Abbildung 83 gezeigte SPS-Kurve für das Polymer **P22** zeigt.

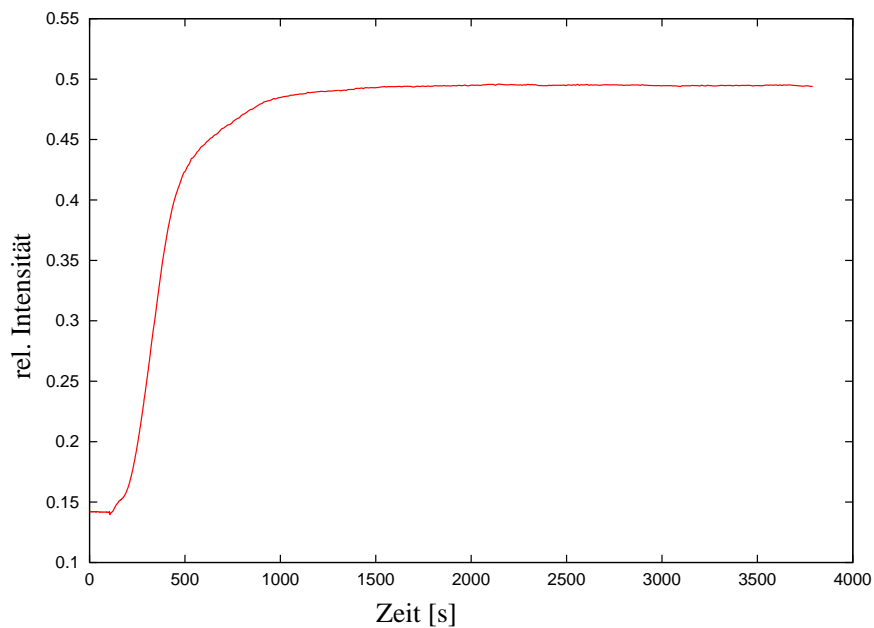


Abbildung 83: SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer **P22** Oberfläche.

Jedoch unterscheidet sich die Kurve etwas von der in Abbildung 82 für ein  $\alpha$ -funktionalisiertes Polymer gezeigten Kurve. Für die  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymere steigt die Kurve weniger steil nach der Vesikelzugabe an. Weiterhin wird erst nach 1500 Sekunden eine konstante Schichtdicke erzielt. Es scheint also, daß die  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymere eine unterschiedliche Attraktivität auf die Vesikel in Lösung ausüben. Dies liegt unter anderem sicher an der Tatsache, daß diese Polymere die Möglichkeit haben ihre lipophile Endgruppe an der Filmoberfläche zu exponieren.

Dadurch ergeben sich zwei Unterschiede zu den etwas ungeordneteren abgeschiedenen  $\alpha$ -funktionalisierten Polymeren. Durch die Positionierung der lipophilen Gruppen an der Oberfläche gestaltet sich diese etwas hydrophober, wie dies die Kontaktwinkelmessungen aus Kapitel 5.3.2 zeigten. Damit ergibt sich, daß die Attraktivität der basischen tertiären Amingruppen reduziert wird. D.h. diese langreichenden Wechselwirkungen nehmen etwas ab, was sich durch eine langsamere Vesikeladsorption im Experiment äußert.

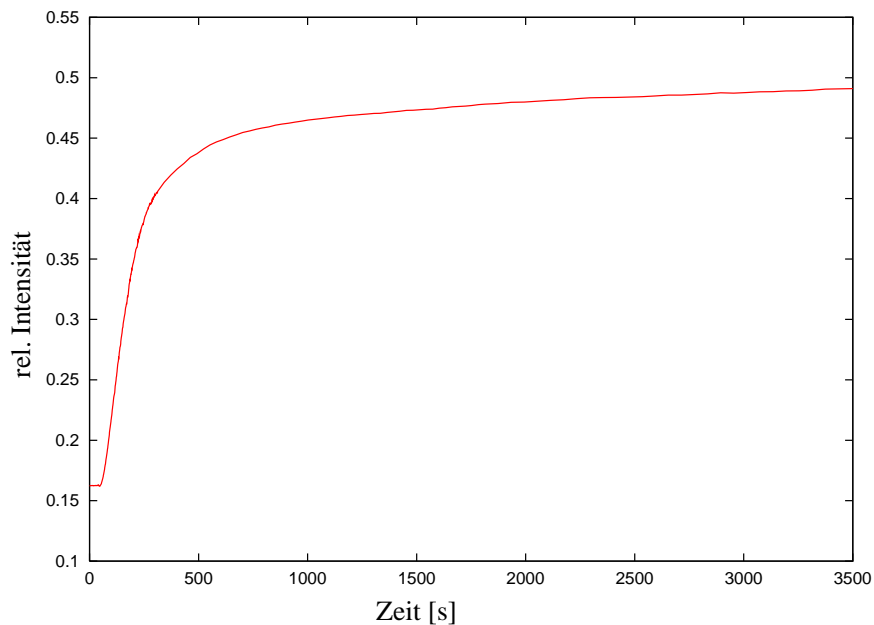
*Tabelle 11: Zusammenstellung der Schichtdickenzunahmen auf einigen Polymeren bei Vesikelzugabe.*

Polymer	Schichtdicke [Å]
<b>P4</b>	62
<b>P22</b>	46
<b>P29</b>	62
<b>P34</b>	46
<b>P38</b>	41
<b>P40</b>	50
<b>P46</b>	61
<b>P51</b>	54
<b>P73</b>	34
<b>P66</b>	50

Analog wurden verschiedene  $\alpha,\omega$ -funktionalisierte Lipopolymere vermessen, deren Schichtdickenzunahmen in Tabelle 11 zusammengefaßt sind. Es lassen sich folgende Punkte feststellen. In allen Fällen schwanken die erhaltenen Schichtdicken um 50 Å. Die Schichtdickenzunahmen für die  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Lipopolymere **P22-P51** zeigen keinen deutlichen Trend. Jedoch sind die Zunahmen auf den Filmen der Polymere **P34** und **P38** etwas geringer. Dies kann an der Endgruppe liegen. Für das Polymer **P34** steht nur eine Methylpyrengruppe als lipophile Gruppe zur Verfügung. Diese ist jedoch nur eine relativ kurze Gruppe, d.h. die Inkorporation in die DMPC-Membran wird nicht favorisiert. Anders verhält es sich im Fall des Polymeren **P38**. Hier ist die lipophile Gruppe eine dem DMPC sehr verwandte DMPE-Gruppe. Warum die Schichtdickenzunahme geringer ausfällt ist nicht eindeutig klar.

Besonders hervorgehoben werden muß, daß eine Schichtdickenzunahme auch auf den Poly(isopropylacrylamiden) **P40**, **P46** und **P51** festgestellt werden kann. Eine attraktive Wechselwirkung eines lipophilen Poly(isopropylacrylamids) ohne ionische Gruppen konnte bis dahin noch nicht beobachtet werden. D.h. der Einbau des Comonomeren **M5** scheint die Attraktivität auf DMPC Vesikel wesentlich zu erhöhen. Dies hat zur Folge, daß eine Vesikeladsorption auch auf diesen Filmen registriert werden kann.

Ein ähnliches Adsorptionsverhalten zeigen die statistisch funktionalisierten Polymere **P65** und **P66**. Ihre Adsorptionskurve ist in Abbildung 84 dargestellt und man erkennt auch hier den typischen Kurvenverlauf. Direkt nach der Vesikelzugabe ist eine sofortige Schichtdickenzunahme zu registrieren. Diese verläuft danach wieder in eine konstante Schichtdicke. Für das Polymere **P66** erhält man so eine Zunahme von  $50 \text{ \AA}$ .



*Abbildung 84: SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer **P66** Oberfläche.*

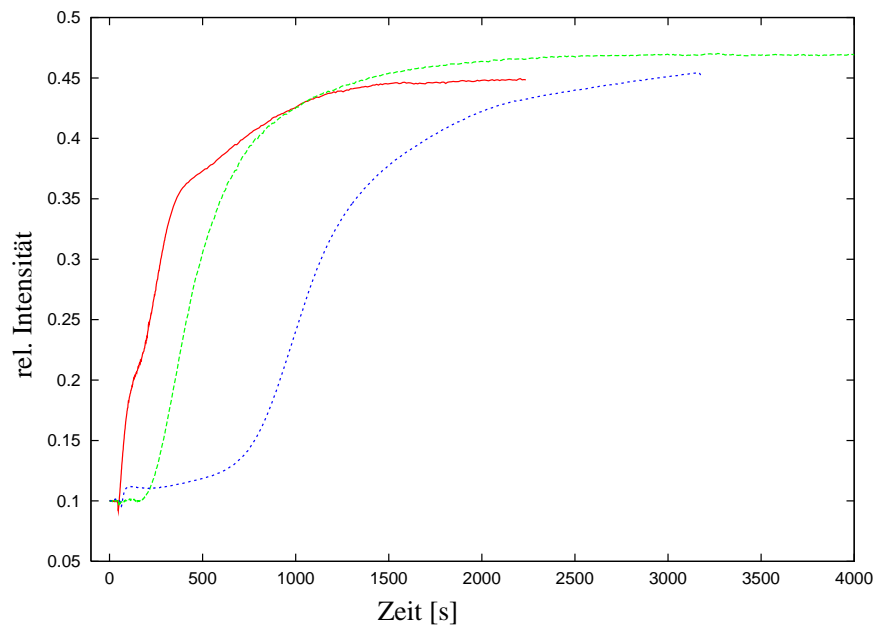
Betrachtet man die unterschiedlichen Kinetiken der Vesikelwechselwirkung mit den unterschiedlichen Substraten, so läßt sich feststellen, daß die Wechselwirkung am schnellsten auf den  $\alpha$ -funktionalisierten Polymerfilmen stattfindet. Etwas langsamer findet die Wechselwirkung auf den Polymerfilmen der statistischen Polymere statt, am längsten dauert der Prozeß auf den Filmen der  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymerfilmen. Es scheint, daß bei den Polymeren, die prinzipiell eine größere Anzahl an lipophilen Gruppen an der Oberfläche exponieren können, die Wechselwirkung langsamer verläuft.

Ruft man sich das oben beschriebene Modell der Vesikelfusion auf hydrophilen Substraten in Erinnerung, so stellt sich die Frage, warum verschiedene hydrophile Polymersubstrate unterschiedliche Schichtdicken ergeben. Denn die Dicke einer DMPC Doppelschicht beträgt theoretisch knapp  $50 \text{ \AA}$  und der gemessene Wert nach einer Vesikelfusion sollte ebenfalls in dieser Größenordnung liegen. Sicherlich sollte der registrierte Wert etwas kleiner ausfallen, da die lipophilen Gruppen des Polymerfilmes in die Membran inkorporieren und dadurch die Dickenzunahme reduzieren. Denn die lipophilen Gruppen sind ja bereits in der Schichtdicke des Polymerfilms mitgemessen worden.

Für die unterschiedlichen Schichtdicken lassen sich verschiedene Erklärungen heranziehen. Erstens könnte sich nicht in allen Fällen eine geschlossene Lipiddoppelschicht ausbilden. In diesem Fall würde man eine kleinere Schichtdicke messen, da über eine relativ große Fläche (ca.  $1 \text{ mm}^2$ ) bei der Schichtdickenbestimmung mit der SPS gemittelt wird. Zweitens könnten die im ersten Schritt adsorbierten Vesikel nicht fusionieren. Man würde eine mit intakten Vesikeln belegte Oberfläche erhalten. Die gemessene Schichtdicke sollte in diesem Fall größer ausfallen. Die genaue Schichtdickenzunahme hängt dann von der Belegungsdichte der Vesikel auf der Oberfläche ab.

Da in einigen Fällen die gemessene Schichtdickenzunahme bei Vesikelzugabe größer als die theoretischen  $50 \text{ \AA}$  [32] ausfällt, liegt es nahe davon auszugehen, daß in diesen Fällen auf den Polymerfilmen adsorbierte Vesikel vorliegen.

Damit kommt man zur Frage, ob man eine Fusion der Vesikel nachträglich induzieren kann, bzw. wie man direkt zu einer Vesikelfusion kommen kann. Beides soll folgend besprochen werden.



**Abbildung 85:** SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer **P40** Oberfläche in Abhängigkeit der Vesikellösungstemperatur. Rote Kurve:  $T < LCST$ , grüne Kurve  $T > LCST$  und blaue Kurve  $T \gg LCST$ .

Die synthetisierten Poly(isopropylacrylamide) zeigen die beschriebene Eigenschaft der LCST. Da diese auch in einem dünnen Film nachgewiesen werden konnte, lag es nahe den Knäuelkollaps zur Induzierung der Vesikelfusion auszunutzen. Die Idee sieht wie folgt aus. Nach der Adsorption der Vesikel auf dem Polymerfilm sind einige der lipophilen Gruppen des Polymeren in die Membran inkorporiert. Diese könnten durch den induzierten Knäuelkollaps die Vesikel zum Aufreißen bringen. Durch den Knäuelkollaps würden die lipophilen Endgruppen der Polymerketten zurückgezogen. Dem wirkt der hydrophobe Effekt der Inkorporation dieser Gruppen in die Membran entgegen. Einen Ausweg hätte das System lediglich durch die Mitbewegung der Membran, wodurch die entstehende Spannung die Vesikel zum Platzen bringen sollte.

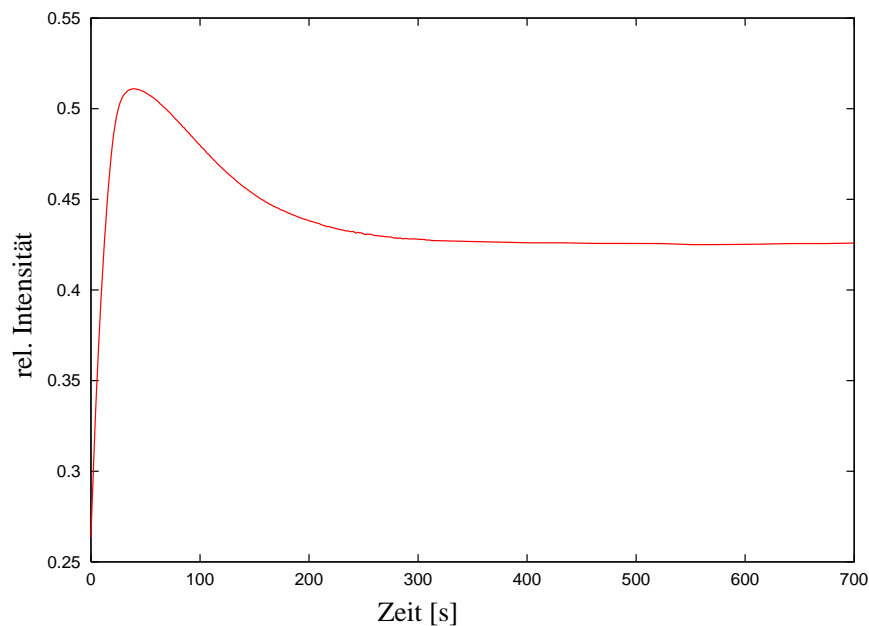
Für das Experiment wurde das Copolymer mit der niedrigsten LCST, nämlich Polymer **P40** ausgewählt. Im Experiment konnte jedoch bei kurzzeitiger Erhöhung der Temperatur oberhalb LCST keine Dickenänderung in der SPS beobachtet werden. Schon nach der Vesikelzugabe, konnte für das Polymer **P40** eine Schichtdickenzunahme von 50 Å registriert werden. Ob tatsächlich keine Dickenänderung erfolgte, da z.B. schon ein fusioniertes System vorlag oder ob die mittlere Schichtdicke während der Vesikelfusion die selbe blieb, konnte nicht geklärt werden.

Jedoch zeigte das Polymer **P40** eine interessante andere Eigenschaft. Führt man die Vesikeladsorption bereits bei einer Temperatur oberhalb LCST durch, so läßt sich die Adsorption unterbinden. Daß dieser Prozeß reversibel ist konnte durch folgendes Experiment nachgewiesen werden. Erwärmt man nur die zuzugebende Vesikellösung auf eine Temperatur oberhalb LCST, gibt diese dann in die Messzelle und läßt dann – durch die temperierte Messzelle – die Temperatur wieder auf  $T=30^{\circ}\text{C}$  kommen, so findet die Vesikeladsorption erst nach einer gewissen Zeit statt. Dies ist in Abbildung 85 gezeigt. Die rote Kurve zeigt das Adsorptionsverhalten unterhalb LCST. Direkt nach der Zugabe der Vesikel kann eine Dickenzunahme registriert werden. Die grüne Kurve zeigt das Verhalten für eine Vesikellösung temperiert auf  $T\approx 40^{\circ}\text{C}$ . Erst nach drei Minuten findet eine Adsorption der Vesikel auf dem Polymerfilm statt. Die blaue Kurve zeigt den gleichen Versuch für eine  $\approx 45^{\circ}\text{C}$  warme Vesikellösung. In diesem Fall findet eine Adsorption erst nach über 10 Minuten statt. Es ist jedoch zu bemerken, daß in beiden Fällen die Temperaturen der Lösung nur ungefähr eingestellt waren. Bis zum Zeitpunkt der Zugabe in die Meßzelle kann diese schon wieder etwas abgesunken sein. Deshalb soll hier prinzipiell von zwei Fällen gesprochen werden: Einem mit  $T$  knapp über LCST und einem mit  $T$  deutlich größer LCST.

Betrachtet man die blaue Kurve in Abbildung 85 genauer, so läßt sich nach etwa 500 Sekunden eine langsame aber stätige Zunahme der Schichtdicke erkennen. Dieses Verhalten rührt sicher daher, daß sich nicht der ganze Film homogen abkühlt und daß damit einzelne Bereiche zu unterschiedlichen Zeiten entknäuelen.

Das temperaturabhängige Adsorptionsverhalten der Vesikel auf den Poly(N-isopropylacrylamiden) zeigt also, daß eine Vesikeladsorption nur auf den hydrophilen Polymeren stattfinden kann. Die hydrophobe, kollabierte und damit entquollene Struktur zeigt keine Attraktion gegenüber Vesikeln in Lösung.

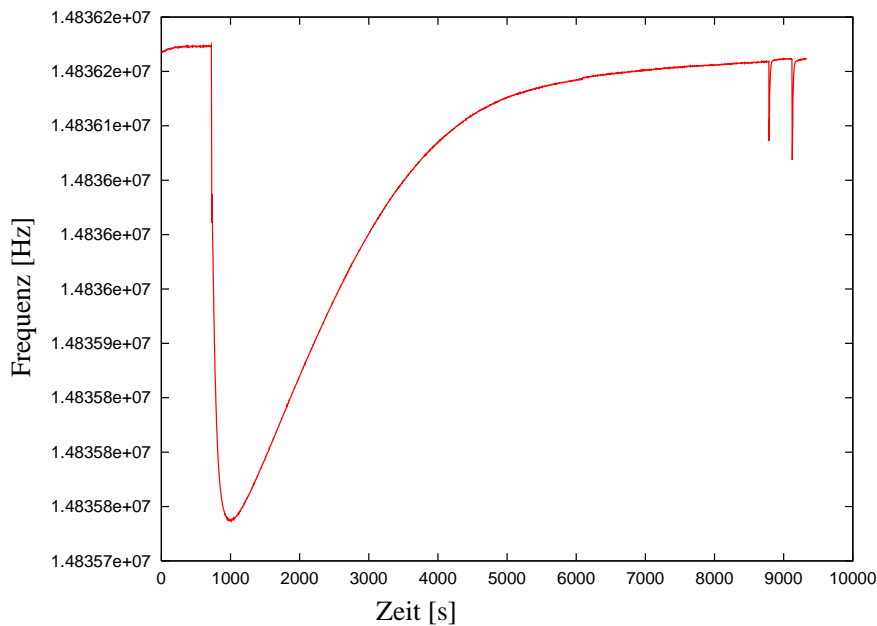
Ein besonderes Verhalten gegenüber der Vesikeladsorption konnte bei dem Poly(vinylalkohol) **P73** gefunden werden. Die entsprechende SPS-Kurve nach Vesikelzugabe ist in Abbildung 86 gezeigt.



*Abbildung 86: SPS-Kurve der Vesikelwechselwirkung mit einer P73 Oberfläche.*

Man erkennt auch hier direkt nach der Zugabe der Vesikellösung eine schnelle Zunahme der Schichtdicke. Jedoch wird nach knapp 50 Sekunden ein Maximum durchlaufen und die Schichtdicke nimmt dann langsam für etwa 200 Sekunden lang ab, bis sie einen konstanten Wert von 34 Å annimmt. Dieses Verhalten ist sehr überraschend.

Um genauer zu klären, was diesen Kurvenverlauf der SPS-Messung verursacht, wurden von der Vesikeladsorption auf diesem Polymerfilm Quarz-Kristall-Mikrowägungen (QCM) durchgeführt. Dazu wurde auf einem mit einer Goldschicht bedampften Kristall entsprechend ein ultradünner Polymerfilm von **P73** präpariert. Dieser wurde dann einer etwas verdünnten Vesikellösung ausgesetzt. Die erhaltene QCM Kurve ist in Abbildung 87 zu sehen. Dargestellt ist der Oberton bei 15 MHz der Resonanzfrequenz des 5 MHz Kristalles. Den gleichen Verlauf erhält man auch für die 5 MHz Frequenz, jedoch ist das Signal des Obertons stabiler.



*Abbildung 87: QCM-Messung der Vesikelfusion auf dem Polymer P73.*

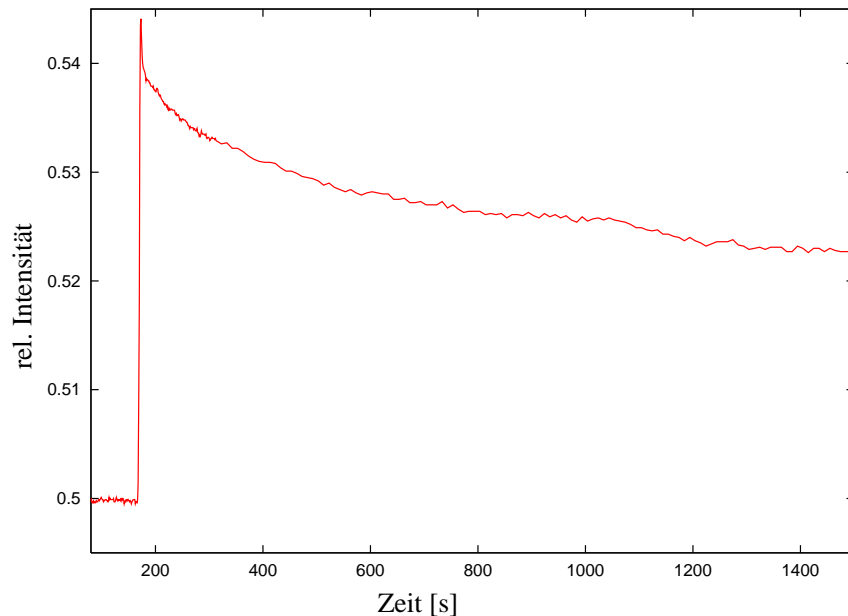
Auch hier sieht man einen ähnlichen Kurvenverlauf, wie man ihn schon in den SPS Experimenten erhalten hatte. Direkt nach der Zugabe der Vesikellösung nimmt die Frequenz stark ab, d.h. die Schichtdicke nimmt zu. Es wird dann wiederum ein Maximum der Schichtdicke (Minimum der Frequenz) durchlaufen, bevor ein konstanter Wert erhalten wird. Nach zweimaligen Spülen mit Wasser erhält man eine Frequenzerniedrigung von 26 Hz gegenüber der Ausgangsfrequenz, welche der Massenbelegung für eine Schichtdicke von etwa 50 Å für eine Lipiddoppelschicht entspricht [170].

Da die QCM eine massenempfindliche Methode ist, läßt sich durch die Adsorption von Vesikeln auf den Polymerfilm eine sehr große Abnahme der Frequenz registrieren. Diese fällt im Vergleich zur SPS Messung wesentlich deutlicher aus. Die damit gemessene große Massenzunahme resultiert aus den Vesikeln selbst und dem in ihnen eingeschlossenen Wasser. Dieses verhält sich nicht wie das die Vesikel umgebende Wasser. Da die Oberfläche ständig hin und her bewegt wird, wird sämtliches auf der Oberfläche adsorbierte Material ebenfalls in Bewegung versetzt. Dies schließt die mit Wasser gefüllten Vesikel ein. Erst nachdem diese geplatzt und zu einer Lipiddoppelschicht fusioniert sind, wird das eingeschlossene Wasser freigesetzt und nicht mehr „mitgewogen“. D.h. durch die Vesikelfusion nimmt die Frequenz wieder zu. Für die SPS ist das eingeschlossene Wasser (gleicher Brechungsindex wie Lösung) dagegen „unsichtbar“.

Es konnte also für das Polymer **P73** erstmalig eine Vesikelfusion auf einem ultradünnen hydrophilen Lipopolymerfilm direkt nachgewiesen werden. Der Vergleich der für **P73** mit eindeutiger Vesikelfusion gemessenen Dickenzunahme (nur 34 Å) mit den Dickenzunahmen auf anderen Polymerfilmen (siehe Tabelle 11) legt den Verdacht

nahe, daß in den meisten Fällen nur eine Vesikeladsorption vorliegt.

Daß in den meisten bisher untersuchten Fällen lediglich adsorbierte Vesikel auf den Polymerfilmen vorliegen, hatte schon HAUSCH zeigen können [160]. Auch hatte er vermutet, daß durch einen externen Stimulus, z.B. durch osmotischen Stress, eine Fusion der Vesikel zu einer Lipiddoppelschicht führen könnte [171]. Daß dies tatsächlich funktioniert soll im folgenden beschrieben werden.

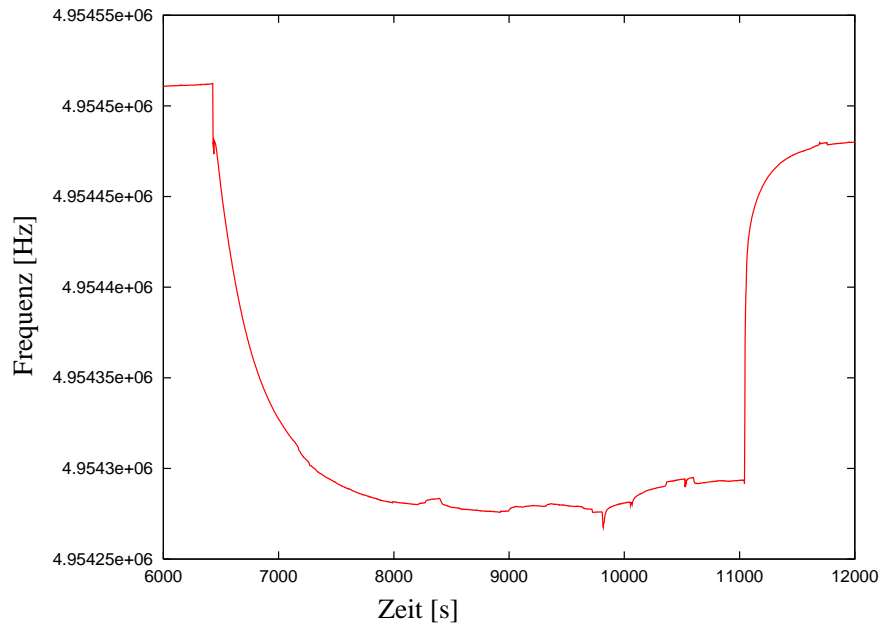


**Abbildung 88:** Induzierte Vesikelfusion durch osmotischen Stress auf einer **P66** Oberfläche.

Nachdem die Vesikel auf einem dünnen Polymerfilm des Polymeren **P66** adsorbiert wurden, ist die Meßzelle mit Wasser gespült worden. Anschließend wurde eine Elektrolytlösung in die Zelle zugegeben und die Schichtdicke mit der SPS verfolgt. Das Ergebnis ist in Abbildung 88 zu sehen. Direkt nach der Zugabe der Elektrolytlösung nimmt die Intensität zu, bedingt durch den Brechungsindexunterschied zwischen Wasser und der Elektrolytlösung. Man erkennt danach aber einen Abfall der Intensität und damit der Schichtdicke die nach 1400 Sekunden in einem konstanten Wert endet. Damit liegt die Vermutung nahe, daß durch die Zugabe von Elektrolytlösung eine Vesikelfusion herbeigeführt wurde. Durch die Fusion nimmt die Schichtdicke etwas ab, da Vesikel platzen und dabei nur noch eine Lipiddoppelschicht gemessen wird und nicht die aufliegenden Vesikel.

Daß die Vesikel tatsächlich platzen konnte in einem analogen Experiment in der QCM am Polymer **P73** gezeigt werden. Obwohl in mehreren Fällen die oben gezeigt Selbstfusion der Vesikel auf dem Polymerfilm des Polymeren **P73** verifiziert werden konnte, wurde ein Fall registriert, in dem die Vesikel nur adsorbierten. Dies ist in Abbildung 89 deutlich an der sehr großen Abnahme der Frequenz und damit der sehr

großen Zunahme der Masse in der Zeit zwischen 6500 und 9800 Sekunden zu sehen.



**Abbildung 89:** QCM Messung der mit Elektrolytlösung induzierten Vesikelfusion auf P73.

In den Zeiten zwischen 9800 und 11000 Sekunden wurde mehrmals mit Wasser gespült, bis eine konstante Frequenz erreicht wurde. Während des Spülens lagen immernoch intakte Vesikel auf dem Polymerfilm vor, was sich durch die sehr große Frequenzverschiebung zur Ausgangsfrequenz äußerte.

Erst nachdem zum Zeitpunkt von  $t=11000$  Sekunden eine Elektrolytlösung zugegeben wurde, nahm die Frequenz sofort zu, d.h. die Masse nahm ab. Nach weiteren 2000 Sekunden wurde eine konstante Frequenz erreicht. Aus der Differenz zur Ausgangsfrequenz läßt sich eine Frequenzverschiebung von 26 Hz berechnen. Dies stimmt wieder mit dem bekannten Wert für eine Lipiddoppelschicht überein.

Damit konnte gezeigt werden, daß durch den Einfluß des osmotischen Stresses durch eine Elektrolytlösung eine Vesikelfusion zu einer Lipiddoppelschicht ausgelöst werden kann.



## 7 Substratstrukturierung

Kleinigkeiten machen immer die größte Mühe.

OSCAR WILDE

### 7.1 Motivation

Nachdem die Präparation von polymerunterstützten Lipidmembranen auf Oberflächen erfolgreich verlief, stellte sich die Frage nach lateral strukturierten Membranen. Für eine potentielle Anwendung wäre es von großem Interesse die Lipidmembran in Mikrostrukturen auf Oberflächen zugänglich zu haben. Hierdurch wären verschiedene Systeme realisierbar. Als Beispiel sei an dieser Stelle ein Sensorarray genannt. Dieses würde ähnlich einem DNA-Chip anwendbar sein [172, 173].

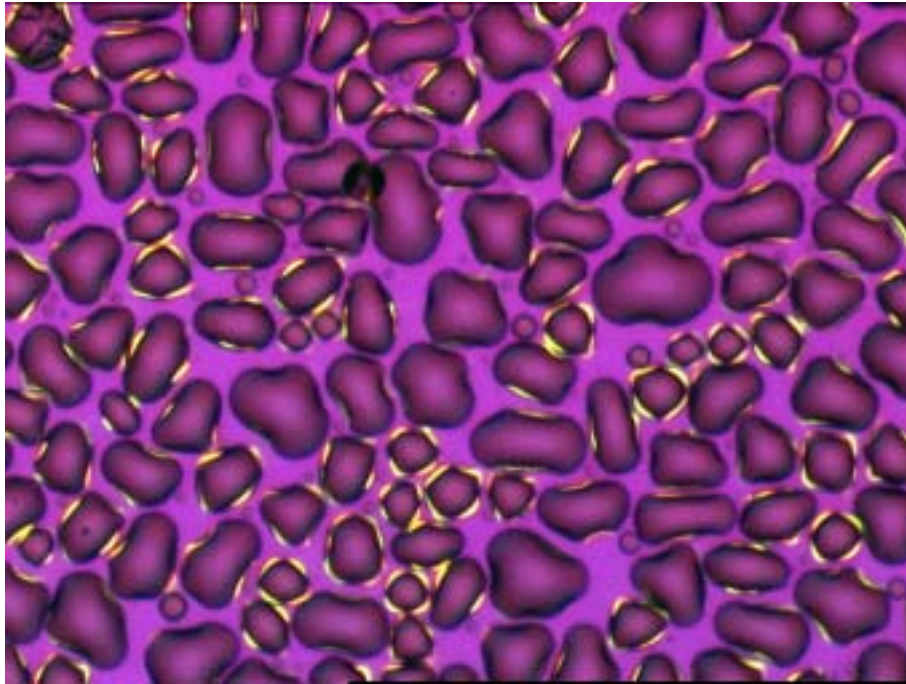
Bevor jedoch solche Systeme realisiert werden können, sind einige grundlegende Untersuchungen zu strukturierten polymerunterstützten Lipidmembranen auf Oberflächen notwendig. Erste Untersuchungen wurden hierzu in dieser Arbeit durchgeführt. Es geht primär darum die synthetisierten Lipopolymere in einer strukturierten Form auf einem Substrat zu adsorbieren. Ihre Attraktivität gegenüber Vesikeln sollte ausreichen, um dann in einem anschließenden Schritt zu den strukturierten polymerunterstützten Lipidmembranen zu gelangen.

### 7.2 Hydrophob gestempelte Oberflächen

Die erste Frage, die sich vor einer jeden Strukturierung stellt, ist der Nachweis, bzw. die Visualisierung dieser. Eine Möglichkeit dieses zu realisieren besteht in der Verwendung eines optischen Mikroskops. Da die reinen adsorbierten Polymerfilme auf Goldträgern jedoch keinen genügenden Kontrast zur Abbildung liefern, bedarf es eines Tricks. Da es sich bei den verwendeten Polymerfilmen um hydrophile Oberflächen handelt, ist man in der Lage eine gezielte Wasserdampfkondensation auf diesen durchzuführen zu können. Die Wasserdampfkondensation wird dann primär auf den hydrophilen Stellen initiiert.

Um zu testen ob dieses Verfahren funktioniert und um einen Eindruck einer unstrukturierten Goldoberfläche zu bekommen, wurde erstmal eine Wasserdampfkondensation auf einer reinen Goldoberfläche durchgeführt. Dies ist in Abbildung 90 dargestellt. Deutlich erkennt man die vielen kleinen Wassertropfen, die unregelmäßig angeordnet sind. D.h. auf einer reinen Goldoberfläche gibt es, wie erwartet, keine Struktur, die zu geordneten Mustern führt.

Eine Möglichkeit eine Oberfläche, insbesondere eine Goldoberfläche, zu strukturieren stellt die Methode des Mikro-Kontakt Stempelns dar. Diese Methode wurde intensiv von WHITESIDES studiert und entwickelt. Hierbei wird mit einem PDMS-Stempel Octadecanithiol auf eine Goldoberfläche übertragen, wie dies in Kapitel 2.2 beschrieben wurde. Nach dem Übertragen ist so ein Teil der Goldoberfläche mit dem

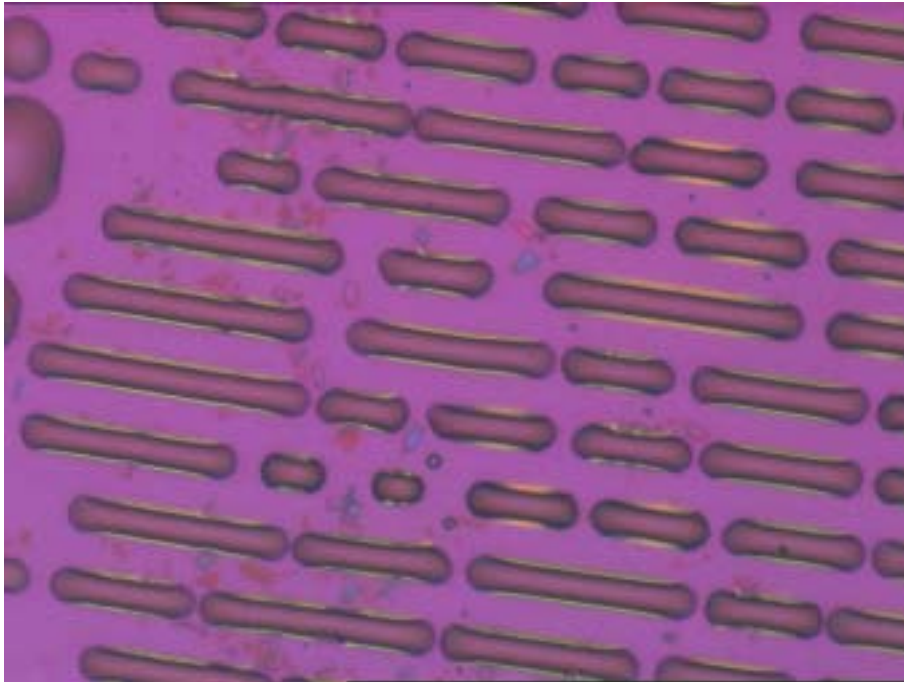


**Abbildung 90:** Wasserdampfkondensation auf einer unstrukturierten, reinen Goldoberfläche ( $1\text{ cm} = 10\ \mu\text{m}$ ).

Alkanthiol belegt und somit hydrophob passiviert. Dieser Schutz stellt nun sicher, daß in der folgenden Adsorption von Lipopolymer dieses nur auf den freien Goldflächen abgeschieden werden kann. Somit ist man in der Lage ein Lipopolymer nur an gezielten Stellen auf einem Goldträger zu adsorbieren. Die entstehenden Strukturen sind lediglich von der Stempelstruktur vorgegeben und damit sehr variabel.

In Abbildung 91 ist eine solche Strukturierung mit einem Linienstempel gezeigt. Es wurden hierbei hydrophobe Linien gestempelt. Die entstehenden Zwischenräume wurden dann im anschließenden Adsorptionsprozeß von Lipopolymer **P66** belegt. Dies zeigt die Wasserdampfkondensation sehr deutlich. Es lassen sich Linien aus Wassertröpfchen erkennen. Diese sind in einem regelmäßigen Abstand angeordnet und entsprechen dem Linienabstand des Stempels.

Um zu Verdeutlichen, daß die entstehenden Strukturen lediglich von der Stempelstruktur abhängen, wurde ebenfalls mit einem Hexagonstempel Octadecanthiol auf eine Goldoberfläche übertragen. Die Zwischenräume wurden dann wieder mit **P66** belegt. In Abbildung 92 ist das entsprechende Bild der Wasserdampfkondensation zu sehen. Man erkennt viele kleine Tropfen, die in regelmäßiger Folge angeordnet scheinen. Beim Stempeln wurden Hexagons mit Octadecanthiol belegt. Der kontinuierliche Zwischenraum ist dann mit Lipopolymer belegt worden. Auf diesem kondensieren nun die Wassertröpfchen. In den nicht mit Wasser benetzten Flächen liegen die hydrophoben Hexagons. Bei fortschreitender Wasserkondensation fangen die Tröpfchen an zu



*Abbildung 91: Wasserdampfkondensation auf einer mit hydrophoben Linien strukturierten SAM Polymeroberfläche auf Gold (1 cm = 10  $\mu$ m).*

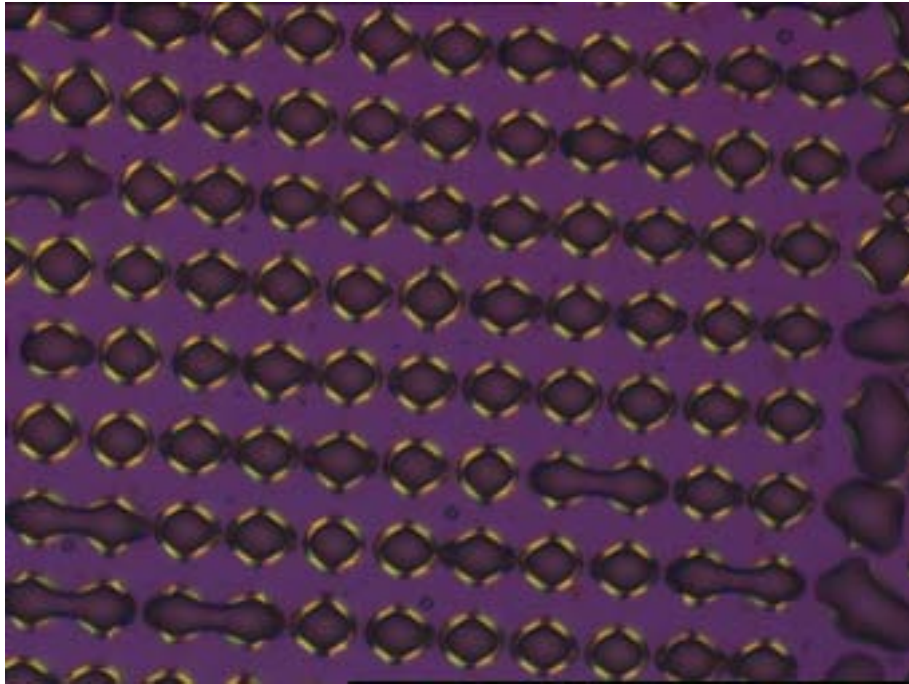
verbücker, wie dies bereits an einigen Stellen in Abbildung 92 zu sehen ist.

Es ist also eine Differenzierung zwischen hydrophoben und hydrophilen strukturierten Oberflächen möglich. Da aber im weiteren die Vesikelfusion nur auf den hydrophilen Stellen verlaufen soll, bringen die Alkanthiol belegten Schichten ein Problem mit sich. Denn es ist bekannt, daß auf diesen hydrophoben Schichten ebenfalls Vesikel zu einer Monolage fusionieren [79]. Damit würde also eine Strukturierung einer Lipidmembran auf einer Oberfläche unmöglich werden.

### 7.3 Hydrophil gestempelte Oberflächen

Um eine Strukturierung einer Lipidmembran auf einer Oberfläche zu erzielen, bedarf es einer inerten Fläche, welche die attraktiven Polymerflächen voneinander abtrennt. Der indirekte Weg des hydrophoben Stempels führte nicht zum Erfolg. Es wurde daher versucht die hydrophilen Lipopolymere direkt zu stempeln.

Dazu wurde das Polymer **P66** in wenig Wasser gelöst und anschließend solange mit THF verdünnt, um das Polymer gerade noch in Lösung zu halten. Die Mischung aus THF und Wasser erhöht die Benetzbarkeit auf der Stempelfläche. Diese Lösung wurde zum Stempeln verwendet. Es wurde dabei wie folgt vorgegangen. Zuerst wurde ein großer Tropfen der Lösung auf die Stempeloberfläche aufgesetzt. Dieser wurde dann mit einem kurzen Luftstrom abgeblasen. Es entstehen viele mikroskopisch klei-



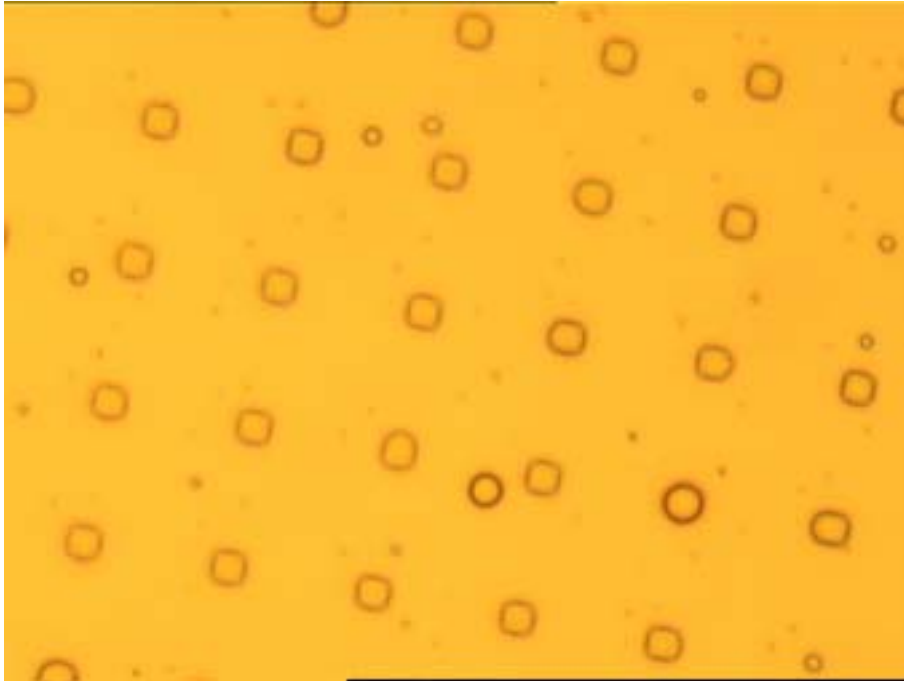
**Abbildung 92:** Wasserdampfkondensation auf einer mit hydrophoben Hexagons strukturierten SAM Polymeroberfläche auf Gold ( $1\text{ cm} = 10\ \mu\text{m}$ ).

ne Tropfen auf den Stempellamellen. Der so präparierte Stempel kann direkt auf die Goldoberfläche übertragen werden.

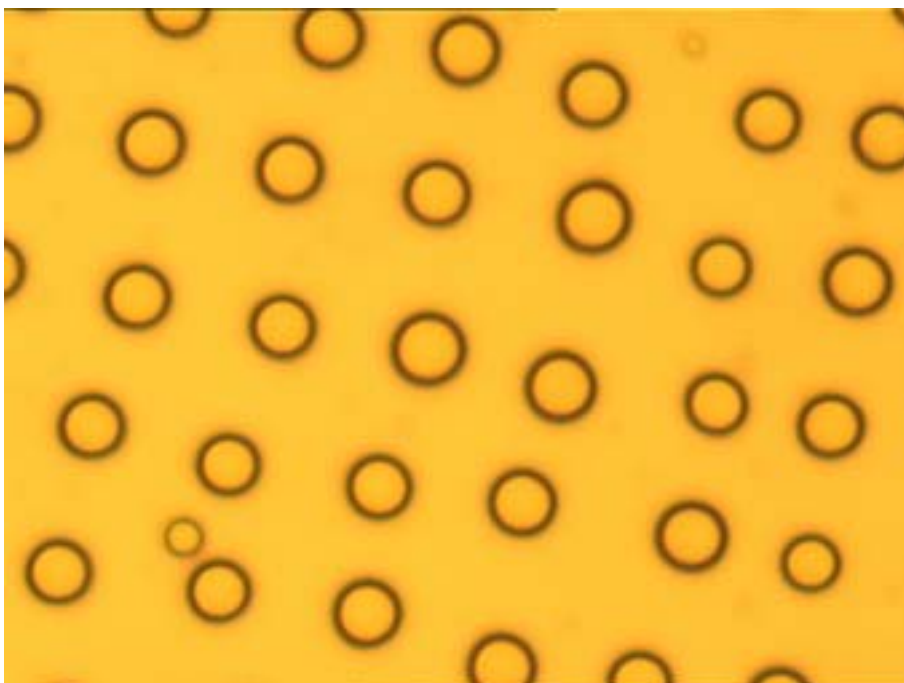
In Abbildung 93a) ist das Ergebnis dieser Technik zu sehen. In der beginnenden Wasserdampfkondensation lassen sich die quadratischen Strukturen des Stempels wiedererkennen. D.h. auch hier spiegelt sich das hydrophile Verhalten der Polymerfilme wieder. Bevor sich ein Tropfen ausbilden kann, wird die kleine hydrophile Polymerfläche vollständig benetzt. Damit steht diese visuelle Beobachtung in Einklang mit den Kontaktwinkelmessungen aus Kapitel 5.3.2. Die Wassertröpfchen sind in einer regelmäßigen Anordnung zu erkennen. Man erkennt aber auch noch viele kleinere Tröpfchen, die in keiner regelmäßigen Anordnung vorliegen. Wie jedoch später zu sehen sein wird, verschwinden diese bei fortschreitender Wasserdampfkondensation.

In Abbildung 93b) ist ein Bild der fortgeschrittenen Wasserdampfkondensation auf dem hydrophil gestempelten Träger zu sehen. Bei der fortschreitender Wasserdampfkondensation treten zwei Dinge ein. Erstens nehmen die Tröpfchen an Größe zu. Dabei überschreiten sie etwas den hydrophil gestempelten Bereich und nehmen dadurch wieder eine runde Form an. Zweitens verschwinden die kleineren unregelmäßig angeordneten Tröpfchen. Durch die zunehmende Kondensation bilden sich mehr und mehr größere Tröpfchen, da diese eine geringere Oberflächenspannung besitzen und somit die stabileren Spezies darstellen. Aufgrund der Attraktivität der hydrophil gestempelten Oberfläche findet dies vorwiegend auf diesen Stellen statt.

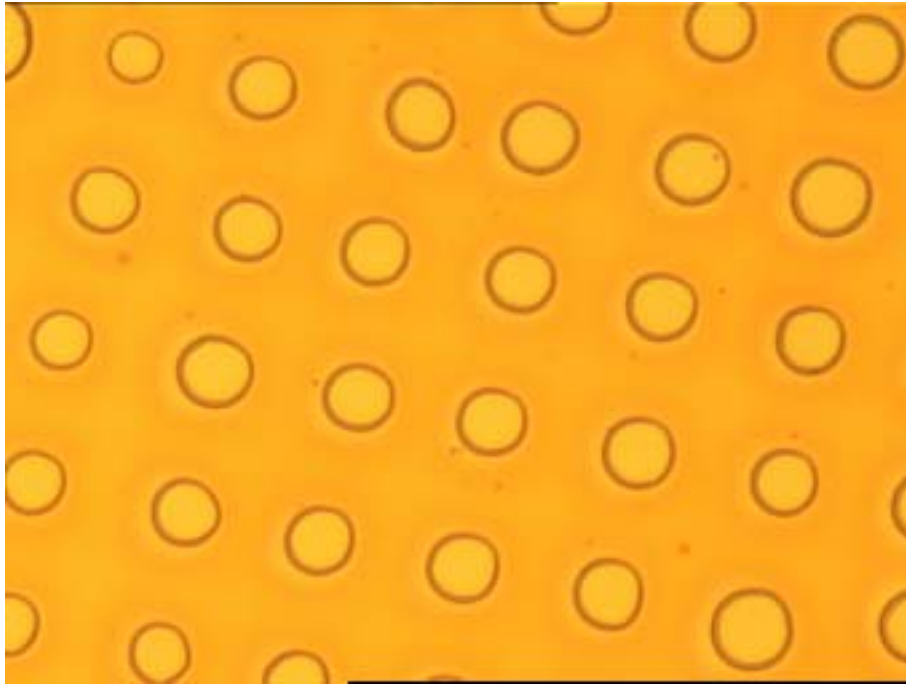
a)



b)



**Abbildung 93:** a) Beginnende Wasserdampfkondensation auf einer mit hydrophilen Quadraten strukturierten Polymeroberfläche auf Gold. b) Fortgeschrittene Kondensation unter Ausbildung runder Tröpfchen ( $1\text{ cm} = 10\text{ }\mu\text{m}$ ).

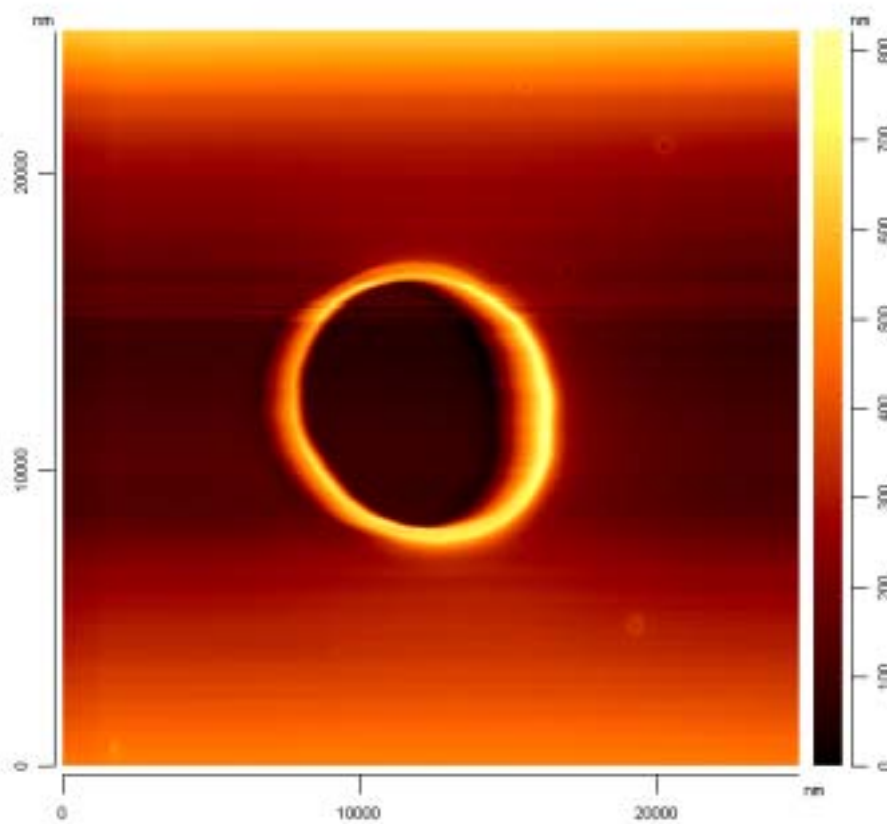


**Abbildung 94:** Entnetzter Polystyrolfilm auf der in Abbildung 93 gezeigten Struktur. Die vormals mit Wasser benetzten Flächen sind jetzt als Löcher im Polystyrolfilm zu erkennen ( $1\text{ cm} = 10\ \mu\text{m}$ ).

Daß die Wasserdampfkondensation eben nicht nur zur Visualisierung der hydrophil gestempelten Bereichen dient, wird im folgenden besprochen. Die Wassertröpfchen decken die hydrophil gestempelten Bereich ab. Somit liegt nur noch die reine Goldoberfläche frei, welche es mit einem inerten Substrat zu beschichten gilt. Eine Möglichkeit eine für Vesikel nicht attraktive Oberfläche zu schaffen, besteht darin, z.B. eine Polystyroloberfläche zu verwenden. Hierzu bietet sich die in Kapitel 2.2.2 beschriebene Methode der Polystyrol-Entnetzung an. Dazu wird der mit Wassertröpfchen bedeckte Träger kurz in eine Polystyrol-Lösung in Chloroform getaucht. Während das Chloroform verdampft, bildet sich ein Polystyrolfilm aus, der auf den Wassertröpfchen bevorzugt entnetzt.

Es entsteht damit quasi ein Negativ des vorher verwendeten Trägers, wie dies in Abbildung 94 zu sehen ist. Man erkennt, daß an den Stellen an den vorher die Wassertröpfchen vorhanden waren nun Löcher im Polystyrolfilm vorhanden sind. Die Löcher weisen die gleiche regelmäßige Anordnung auf. Um die Löcher herum deutet eine leichte Verdunklung an, daß an diesen Stellen der Polystyrolfilm etwas dicker ist.

Daß es sich bei den entnetzten Strukturen um einen löchrigen Polystyrolfilm handelt, konnte mit AFM Messungen bestätigt werden. Diese ist in Abbildung 95 zu sehen. Hier ist ein Loch vermessen worden. Der Lochdurchmesser beträgt  $6\ \mu\text{m}$ . Besonders deutlich zeigt sich um das Loch ein etwa  $600\ \text{nm}$  hoher Wall. Dieser entsteht während

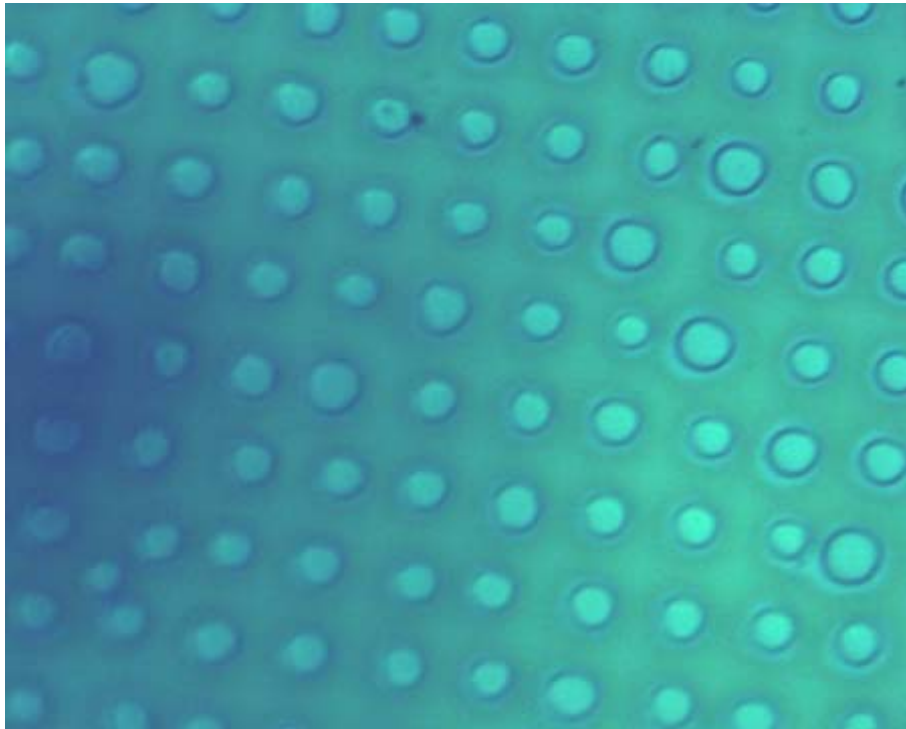


*Abbildung 95: AFM-Bild eines entnetzten Lochs im Polystyrolfilm.*

des Entnetzens, da sich hierbei ein Materialfluß vollzieht, der letztlich in einer Erhebung um das entnetzte Loch endet. Weiterhin erkennt man im AFM-Bild, daß sich ein homogener Polystyrolfilm um das Loch ausbildet. Es sind fast keine Unebenheiten zu erkennen.

Die so strukturierten Träger bieten nun die potentielle Möglichkeit strukturierte Lipidmembranen auf Oberflächen zu präparieren. Im anschließenden Schritt muß lediglich die Vesikelfusion auf den in den Löchern vorhandenen hydrophilen Lipopolymerfilmen durchgeführt werden.

Um die Vesikelfusion in den Kavitäten des Polystyrolfilmes beobachten zu können, stand im Rahmen dieser Arbeit nur ein Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung. In Abbildung 96 ist ein Bild des entnetzten Polystyrolfilmes zu sehen. Man erkennt die gleiche Struktur, die auch schon im normalen Lichtmikroskop zu erkennen war. Es ist jedoch auffällig, daß das Bild sehr hell ist, obwohl bis dahin kein Fluoreszenzfarbstoff verwendet wurde. Ein zweites Problem stellte die zusätzliche Erwärmung des Trägers dar. Dies führte bei längerer Beobachtung der selben Stelle zum Schmelzen des Polystyrolfilmes. Dabei verliefen die Löcher und die Struktur löste sich auf.

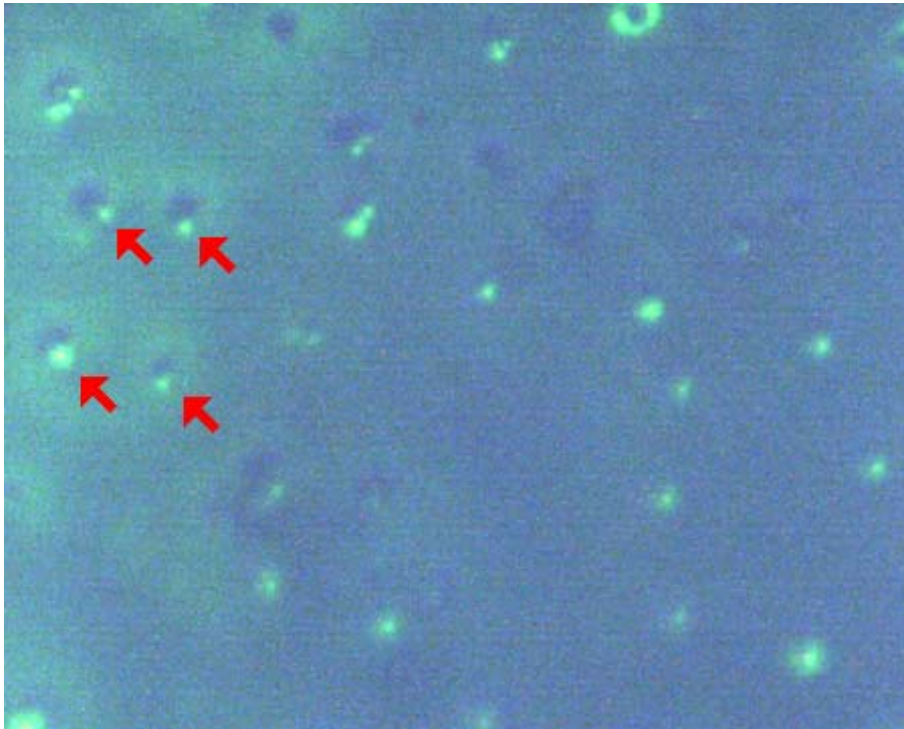


*Abbildung 96: Fluoreszenzbild eines entnetzten Lochs im Polystyrolfilm.*

Dieses Problem konnte durch Kühlung des Trägers unter Verwendung eines Peltier-Elementes behoben werden. Somit ist man in der Lage eine Stelle über einen längeren Zeitraum (1-2 Minuten) zu beobachten, ohne daß der strukturierte Polystyrolfilm zerstört wird.

Zur Untersuchung der Vesikeladsorption wurden fluoreszenzmarkierte Vesikel durch einen 1000 nm Porenfilter extrudiert. Bei der Zugabe von Vesikel stellte der grelle Hintergrund ein besonderes Problem dar. Konnten die Vesikel in Lösung noch beobachtet werden, so ließen sie sich nach Aufgabe auf den Träger nicht mehr erkennen. Der Hintergrund lieferte ein zu helles Signal.

Mit dem Fluoreszenzmikroskop läßt sich aufgrund des verwendeten Goldträgers keine Vesikeladsorption direkt beobachten. Läßt man den Träger jedoch ungekühlt unter dem Mikroskop für kurze Zeit verweilen, so verdunstet das Wasser der Vesikellösung. Zurück bleibt ein Film, wie er in Abbildung 97 zu sehen ist. Auch wenn hier nicht gerade die beste Struktur des Films wiedergegeben ist, läßt sich folgendes feststellen: Lediglich in den Löchern des Polystyrolfilmes bleibt ein Fluoreszenzsignal zurück, siehe rote Pfeile in Abbildung 97. D.h. in den Löchern lag kurz bevor das letzte Wasser verdunstet ist der größte Teil des Fluoreszenzfarbstoff vor. Entweder wurden alle Vesikel während dem Verdunsten durch die Kapilarkräfte in die Löcher gezogen oder der größte Teil befand sich schon vorher, aufgrund der Attraktivität des hydrophilen Lipopolymeren, in den Löchern. Dieses kann man dann als Hinweis für



*Abbildung 97: Fluoreszenzbild eines entnetzten Lochs im Polystyrolfilm mit angefärbten Vesikeln.*

die Vesikeladsorption in den Löchern deuten.



## 8 Zusammenfassung

Eigentlich weiß man nur, wenn man wenig weiß: mit dem Wissen wächst der Zweifel.

J. W. VON GOETHE

Ziel dieser Arbeit war es hydrophile Lipopolymere darzustellen, mit denen es möglich sein sollte polymerunterstützte Lipiddoppelschichten auf festen Substratoberflächen zu fixieren. Verschiedene Bedingungen sind an die Polymere gestellt worden: Die Polymere sollten einen Oberflächenanker beinhalten. Aufgrund der Notwendigkeit von Goldoberflächen für die Untersuchung mit der Oberflächenplasmonen Spektroskopie, sollte hierfür eine Disulfidgruppe verwendet werden. Weiterhin sollte eine lipophile Gruppe vorhanden sein, die die Fixierung der Lipiddoppelschicht ermöglicht. Diese sollte möglichst weit vom Oberflächenanker getrennt ins Polymer eingebaut werden. Das ganze Polymere sollte trotzdem einen hydrophilen Charakter aufweisen.

Eine Idee diese Anforderungen zu erfüllen, besteht in der Synthese  $\alpha,\omega$ -funktionalisierter Polymere. Die  $\alpha$ -Funktionalität besteht aus der lipophilen Gruppe und die  $\omega$ -Funktionalität aus dem Oberflächenanker. Synthetisch zugänglich sind solche Polymere durch kontrollierte Polymerisationen. Als besonders geeignet erwies sich die Atom-Transfer-Radikalpolymerisation (ATRP), denn sie gestattet es definierte Initiatoren einzusetzen und funktionalisierte Monomere zu verwenden.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, daß eine ganze Reihe unterschiedlicher ATRP Initiatoren auf 2-Brompropionsäureamid-Basis synthetisch zugänglich ist. Es wurden erfolgreich 12 verschiedene, hydrophobe Initiatoren synthetisiert. Variiert wurden die Kettenlänge der Alkylketten. Aber auch Mono- und Dialkylinitiatoren wurden synthetisiert. Besonders hervorzuheben sind die Synthesen der fluoreszenzmarkierten Initiatoren **I9** und **I10** auf Pyrenbasis. Zum Aufbau des hydrophilen Polymeren bot sich ein Polyacrylamid basiertes System an. Dazu wurden verschiedene N,N-substituierte Acrylamidmonomere synthetisiert und zusammengestellt.

Mit den synthetisierten Initiatoren und Monomeren konnte erfolgreich eine kontrollierte Polymerisation durchgeführt werden. Weiterhin konnte eine kontrollierte Copolymerisation von Acrylamid **M3** mit N-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid **M5**, sowie von N-Isopropylacrylamid **M4** mit N-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid **M5** durchgeführt werden. Der Einbau des Oberflächenankers als  $\omega$ -Funktionalität konnte über einen indirekten Weg erzielt werden. Dazu wurde das N-Acryloxysuccinimid Monomer **M1** als letzter Block einpolymerisiert. Dieser Block wurde dann mit dem Oberflächenanker Cysteaminmethyldisulfid **1** in einer polymeranalogen Reaktion umgesetzt.

Alternativ konnte gezeigt werden, daß auch eine kontrollierte Polymerisation von einer Substratoberfläche weg möglich ist. Auf dem Weg dahin wurden Polystyrol-Polyacrylamid Graftpolymere in Lösung synthetisiert. Ebenso konnte die Polymerisation von Poly(hydroxystyrol)-Oberflächen initiiert werden.

Zum Vergleich mit den  $\alpha,\omega$ -funktionalisierten Polymeren wurden die entsprechenden statistisch funktionalisierten Lipopolymere synthetisiert. Dies erfolgte über eine polymeranaloge Umsetzung der reaktiven Präpolymeren Poly(N-acryloxysuccinimid) oder Poly(N-Benzotriazolacrylamid) mit den funktionalisierten Aminen.

Die synthetisierten Polymere wurden intensiv charakterisiert. Zuerst wurden  $\pi$ -A-Isothermen der Initiatoren gemessen. Wie erwartet konnte keine Abhängigkeit des Spreitverhaltens von der Kohlenstoffkettenlänge gefunden werden. Alle Initiatoren zeigten ein frühes Zusammenbrechen des Films. Für die Reihe der Monoalkylinitiatoren **I2-I5** stand die Fläche des Kollaspunktes in Einklang mit der Fläche der Kopfgruppen des Moleküls. In kalorimetrischen Mischexperimenten mit wäßrigen DMPC-Dispersionen konnte zwar nicht direkt die Mischbarkeit der Initiatoren mit der DMPC-Phase bestätigt werden, jedoch wurde die Kristallisation der Initiatoren durch die wäßrigen DMPC-Dispersionen unterbunden. Dies deutet auf eine Verträglichkeit der Initiatoren mit der DMPC-Phase hin.

In Ladungsuntersuchungen (PCD) konnte das pH-abhängige Verhalten der Polymere untersucht werden. Dabei konnte ein großer Einfluß des Einbauverhältnisses des N-(3-Dimethylaminopropyl)-acrylamid **M5** auf das PCD-Potential in Abhängigkeit des pH-Wertes festgestellt werden. D.h. der Einbau der tertiären Amingruppe beeinflusst maßgebend den Charakter der Polymere in Lösung. Einen ähnlichen Einfluß des Comonomeren **M5** konnte in den Untersuchungen zur LCST der Poly(N-isopropylacrylamide) gefunden werden. Es konnte sowohl in Trübungsstudien, als auch in kalorimetrischen Messungen der Knäuelkollaps registriert werden. Die Temperatur des Kollapses hängt vom Einbauverhältnis des Comonomeren **M5** ab und nimmt mit zunehmendem Anteil an **M5** zu. Der amphiphile Charakter der Lipopolymere konnte durch das Unterbinden der makroskopischen Phasenseparation einer wäßrigen Polymerlösung und einer Chloroformlösung beobachtet werden. Es bildeten sich viele Chloroformtröpfchen mit einem mittleren Durchmesser von 100  $\mu\text{m}$  in einer wäßrigen Phase.

Mit Hilfe der Oberflächenplasmonen Spektroskopie (SPS) konnte erfolgreich die Adsorption der Lipopolymere auf einer Goldoberfläche aus wäßriger Lösung nachgewiesen werden. Der Adsorptionsprozeß verlief bei allen Polymeren sehr schnell und war nach wenigen Minuten beendet. Üblicherweise bildeten sich stabile, ultradünne Polymerfilme von 15-20 Å Dicke aus. Durch Kontaktwinkelmessungen konnte diesen adsorbierten Polymerfilmen ein sehr hydrophiles Verhalten nachgewiesen werden. Die Poly(acrylamide) ergaben die hydrophileren Filme mit einem Kontaktwinkel zwischen 23 und 41°. Die Poly(N-isopropylacrylamide) waren weniger hydrophil, wiesen aber trotzdem noch eine gute Benetzung auf. Besonders hervorgehoben werden muss, daß der LCST Phasenübergang der Poly(N-isopropylacrylamide) erfolgreich im ultradünnen Film auf Goldkolloiden in der DSC nachgewiesen werden konnte. Dabei fiel auf, daß der Phasenübergang im ultradünnen Film im Vergleich zur Lösung bei niedrigerer Temperatur stattfindet. Es konnte hier eine Reduktion der LCST um 2°C gemessen werden.

Daß die Lipopolymere eine große Attraktivität auf Vesikel ausüben, konnte in

Lösung durch Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) und Fluoreszenzuntersuchungen an den Lipopolymeren **P22** und **P36** gezeigt werden. So konnte die PCS nach der Adsorption der Polymere auf der Vesikeloberfläche eine Zunahme des Durchmessers registrieren.

Weiterhin konnte mit Hilfe der SPS eine Vesikeladsorption auf ultradünnen Polymerfilmen nachgewiesen werden. Die Filmdicke nahm dabei um 50 Å oder etwas mehr zu. Die ultradünnen Filme der Poly(N-isopropylacrylamide) wiesen eine temperaturabhängige Attraktivität gegenüber Vesikeln auf. Oberhalb LCST fand keine Adsorption statt. Erst nachdem die Temperatur unterhalb LCST sank, setzte die Vesikeladsorption ein. Der Poly(vinylalkohol) **P73** zeigte ein besonders interessantes Verhalten, denn für dieses Polymere konnte sowohl mit der SPS, als auch mit der Quarz-Kristall-Mikrowaage (QCM) eine Vesikelfusion zu einer planaren Lipiddoppelschicht nachgewiesen werden. Für die Systeme in denen lediglich eine Vesikeladsorption auf den ultradünnen Polymerfilmen stattfindet, läßt sich eine Vesikelfusion durch osmotischen Stress induzieren, wie dies durch SPS- und QCM-Messungen bestätigt werden konnte.

Zusätzlich wurden erste Versuche zu Strukturierung von polymerunterstützten Lipiddoppelschichten unternommen. Es konnte gezeigt werden, daß sich durch Mikro-Kontakt-Stempeln gezielt Bereiche auf einem Goldträger durch Alkanthiole schützen lassen. Eine nachfolgende Adsorption von Lipopolymeren fand dann lediglich in den ungeschützten Bereichen statt. Visualisiert werden konnten die so strukturierten Träger durch beginnende Wasserdampfkondensation. Alternativ lassen sich die Lipopolymere auch direkt auf Goldträger stempeln. Die zugänglichen Strukturen hängen lediglich vom verwendeten Stempel ab. Auf diesen Systemen konnte dann eine gezielte Polystyrol-Entnetzung durchgeführt werden. Dabei entnetzte der PS-Film lediglich an den mit hydrophilem Lipopolymer belegten Stellen. Eine Vesikeladsorption konnte indirekt durch Fluoreszenz nachgewiesen werden. Ein Fluoreszenzsignal der austrockneten Filme lies sich lediglich in den durch die Entnetzung entstandenen Löchern erkennen, was auf eine erhöhte Vesikelkonzentration in diesen Bereichen auf den Polymerfilmen hindeutet.



## 9 Experimenteller Teil

There is no substitute for hard work.  
THOMAS A. EDISON

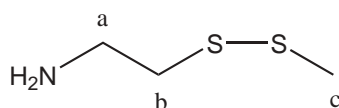
### 9.1 Synthesen

Die dargestellten Polymere entsprechen drei unterschiedlichen Ansätzen. Zuerst werden die Synthesen der Monomere und Initiatoren beschrieben. Danach folgen die Synthesen der eigentlichen Polymere.

Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel sind kommerziell erhältlich und wurden, soweit nicht anders beschrieben, direkt eingesetzt.

#### 9.1.1 Allgemeines

##### Cysteaminmethyldisulfid 1



In 5 mL Methanol werden 0.67 g (5.2 mmol) Methyl-methanthiosulfonat gelöst und mit einer Lösung aus 0.5 g (4.4 mmol) Cysteamin-hydrochlorid in 5 mL Methanol bei 0°C unter Rühren in einer Stickstoffatmosphäre vereinigt. Man rührt bei Raumtemperatur für 12 Stunden nach und konzentriert die Lösung anschließend im leichten Vakuum auf. Der in 15 mL Dichlormethan gelöste Rückstand wird zweimal mit 20 % iger NaOH Lösung und einmal mit 10 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im leichten Vakuum eingeeengt. Das Produkt kann entweder direkt weiterverwendet werden oder bei Bedarf durch eine anschließende Säulenchromatographie (Silica-Gel, Chloroform/Methanol = 10:1) gereinigt werden. Ausbeute: 60 % (0.29 g, 2.6 mmol)

$R_f = 0.21$  (Chloroform/Methanol = 10:1)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>3</sub>COD):

$\delta$ [ppm] = 2.99, 2.75 (4 H, 2 t, H<sub>a</sub>, H<sub>b</sub>), 2.39 (3 H, s, H<sub>c</sub>)

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, D<sub>3</sub>COD):

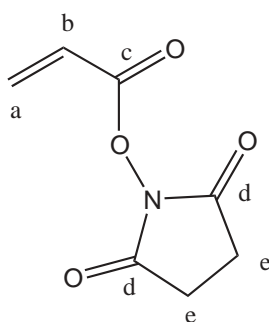
$\delta$ [ppm] = 79.4, 41.3, 23.3

**Goldkolloide** In einer leicht veränderten Methode nach Sutherland wurden Goldkolloide aus  $\text{AuCl}_3$  Lösung hergestellt. Dazu wurden 12mg  $\text{AuCl}_3$  wurden in 20mL leicht salzsauren Lösung gelöst. Zu der leicht orange-gelben Lösung wurden 50mg Trinatriumcitrat gegeben. Danach wurde die Lösung für 30 Minuten auf  $80^\circ\text{C}$  erhitzt. Man erhält eine himbeerrote Lösung mit einem Maximum bei  $\lambda=549$  nm.

**Kupfer(I)bromid** Kupfer(I)bromid wurde vor Verwendung wie folgt gereinigt. Einige Gramm graues  $\text{CuBr}$  wurden in Eisessig für 12 Stunden gerührt und dann über einen Büchnertrichter abgesaugt. Es wurde mit Methanol p.a. nachgewaschen. Man erhält schwach gelbgrünes  $\text{CuBr}$ . Je nach Reinheit des eingesetzten  $\text{CuBr}$ , wurde die Prozedur einige Male wiederholt.

### 9.1.2 Monomere

#### N-Acryloxysuccinimid M1



Zu einer in einem Eisbad auf  $5^\circ\text{C}$  gekühlten Lösung aus 3.67 g (0.051 mol) Acrylsäure in 65 mL trockenem 1,4-Dioxan wird unter Rühren 10.6 g (0.051 mol)  $\text{N,N}'$ -Dicyclohexylcarbodiimid zugegeben. Anschließend werden unter weiterem Rühren 5.88 g (0.051 mol) N-Hydroxysuccinimid zugegeben. Diese Lösung wird für zwei Stunden bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt. Dann werden 0.06 g (0.03 mmol) 2,6-Di-tert-butylphenol zugesetzt und das Kältebad entfernt und für zwei weitere Stunden gerührt, bis die Lösung Raumtemperatur erreicht hat. Der ausgefallene  $\text{N,N}'$ -Dicyclohexylharnstoff wird abgesaugt und das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Der erhaltene Niederschlag wird intensiv mit siedendem n-Heptan extrahiert und die vereinigten n-Heptan Extrakte werden auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt. Das auskristallisierende Produkt wird abgetrennt und aus siedendem n-Heptan umkristallisiert. Hierzu wird das in heißem n-Heptan gelöste Produkt schnell heiß filtriert und anschließend rasch abgekühlt um eine vorzeitige Polymersisation zu verhindern.  
Ausbeute: 35 % (3 g, 0.018 mol)

Alternativ können 11.36 g (0.1 mol) N-Hydroxysuccinimid und 14 mL (0.1 mmol) Triethylamin in 50 mL trockenem Chloroform unter Eiskühlung gelöst werden. Hierzu wird dann eine Lösung aus 8.2 mL (0.1 mol) Acrylsäurechlorid in 50 mL trockenem Chloroform langsam zugegeben. Nach beendeter Zugabe läßt man die Temperatur auf

Raumtemperatur kommen und rührt für fünf Stunden weiter. Anschließend wird die organische Phase mit Wasser extrahiert. Die Chloroform Lösung wird über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und bei  $30^\circ\text{C}$  unter Vakuum aufkonzentriert, bis das gesamte Chloroform entfernt ist. Der Niederschlag oder die Schmelze wird über Nacht im Kühlschrank vollständig auskristallisiert. Das Produkt wird dann wie oben beschrieben aus n-Heptan umkristallisiert.

Ausbeute: 30 % (5 g, 0.03 mol)

Smp.:  $66\text{-}67^\circ\text{C}$

$\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_4$  (169)

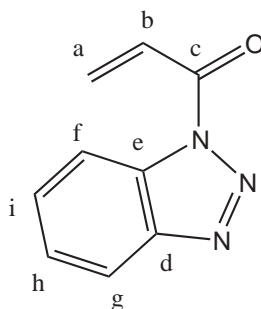
$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 6.73 (1 H, d,  $\text{H}_b$ ), 6.32, 6.17 (2 H, 2 t,  $\text{H}_a$ ), 2.85 (4 H, s,  $\text{H}_e$ )

100-MHz  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 169.0, 161.0, 136.1, 123.0, 25.6

### N-Acrylbenzotriazolamid M2



In 75 mL Wasser werden 2.1 g (0.053 mol) NaOH und 6.03 g (0.051 mol) Benzotriazol unter Eiskühlung gelöst. Dazu werden dann vorsichtig 4.5 mL Acrylsäurechlorid (0.055 mol) unter weiterer Eiskühlung zugetropft. Es wird für 5 Minuten bei  $0^\circ\text{C}$  und 55 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Lösung abdekantiert und der Niederschlag in 15 mL Ethanol umkristallisiert. Das reine Produkt wird dann durch anschließende chromatographische Reinigung über Silicagel mit Hexan/Chloroform (1:1) erhalten.

Ausbeute: 15 % (1.32 g, 7.6 mmol)

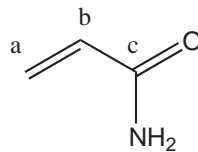
$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 8.35 (1 H, d, arom. H), 8.12 (1 H, d, arom. H), 7.78 (1 H, dd, vinyl. H), 7.63 (1 H, t, arom. H), 7.52 (1 H, t, arom. H), 6.89 (1 H, dd, vinyl. H), 6.23 (1H, dd, vinyl. H)

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 213.1 (\text{C}_c), 163.4 (\text{arom. C}), 146.3 (\text{vinyl. C}), 134.6, 130.4, 126.9, 126.4, 120.2, 114.7$

### Acrylamid M3

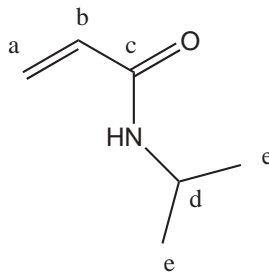


Acrylamid wurde direkt vor Verwendung aus Chloroform p.a. umkristallisiert. Das saubere Produkt fällt in großen Schuppen an, die abgesaugt werden.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 6.12 (2 \text{ H, m, H}_a), 5.68 (1 \text{ H, dd, H}_b)$

### N-Isopropylacrylamid M4



In 100 mL Dichlormethan werden 22.7 mL (0.265 mol) Isopropylamin unter Eiskühlung gelöst. Unter weiterer Kühlung werden 10.8 mL (0.133 mol) Acrylsäurechlorid vorsichtig zugetropft. Man rührt 3 Stunden bei Raumtemperatur und filtriert den Niederschlag ab. Die Lösung wird dann im Vakuum aufkonzentriert. Das Konzentrat wird anschließend mit Essigester über Silicagel chromatographisch gereinigt.

Ausbeute: 79 % (11.8 g, 0.104 mol)

$R_f = 0.45$  (Essigester)

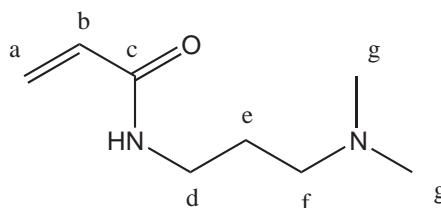
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_3\text{COD}$ ):

$\delta$ [ppm] = 6.12 (2 H, m,  $\text{H}_b$ ), 5.58 (1 H, dd,  $\text{H}_a$ ), 5.46 (1 H, bs, NH), 4.12 (1 H, m,  $\text{H}_d$ ), 1.16 (6 H, d,  $\text{H}_e$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{D}_3\text{COD}$ ):

$\delta$ [ppm] = 167.1, 132.4, 126.2, 42.5, 22.6

### N-(Amino-2-(dimethylamino)-propan)-acrylamid M5

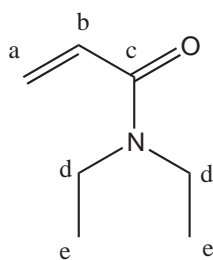


Das Monomer wurde kommerziell erworben und wurde vor der Verwendung unter Vakuum über eine Kolonne destilliert.

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 6.05 (2 H, m,  $\text{H}_b$ ), 5.60 (1 H, dd,  $\text{H}_a$ ), 3.13 (2 H, t,  $\text{H}_d$ ), 2.22 (2 H, m,  $\text{H}_f$ ), 2.04 (6 H, s,  $\text{H}_g$ ), 1.57 (2 H, m,  $\text{H}_e$ )

### N,N-Diethylacrylamid M6



In 25 mL trockenem Tetrahydrofuran werden 13.8 mL (0.13 mol) Diethylamin gelöst. Dazu werden unter Eiskühlung 5.4 mL (0.066 mol) Acrylsäurechlorid langsam zutropft. Es werden 3 Stunden nachgerührt und dann der Niederschlag abgesaugt. Die Lösung wird im Vakuum aufkonzentriert und anschließend das Produkt über Kupfer im Hochvakuum über eine Kolonne destilliert.

Ausbeute: 72 % (5.32 g, 47.5 mmol)

Sdp.: 135°C (10mbar)

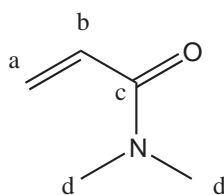
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_3\text{COD}$ ):

$\delta$ [ppm] = 6.71 (1 H, dd,  $\text{H}_b$ ), 6.22 (1 H, d,  $\text{H}'_a$ ), 5.65 (1 H, d,  $\text{H}_a$ ), 3.44 (4 H, m,  $\text{H}_d$ ), 1.13 (6 H, m,  $\text{H}_e$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{D}_3\text{COD}$ ):

$\delta$ [ppm] = 167.8 ( $\text{C}_c$ ), 129.4, 128.1 ( $\text{C}_a$ ,  $\text{C}_b$ ), 43.5, 42.1 ( $\text{C}_d$ ), 15.0, 13.3 ( $\text{C}_e$ )

### N,N-Dimethylacrylamid M7

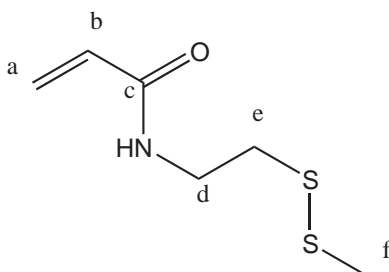


Das Monomer wurde kommerziell erworben und wurde vor der Verwendung unter Vakuum über eine Kolonne destilliert.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_3\text{COD}$ ):

$\delta$ [ppm] = 6.69 (1 H, dd,  $\text{H}_b$ ), 6.22 (1 H, d,  $\text{H}'_a$ ), 5.70 (1 H, d,  $\text{H}_a$ ), 3.54 (6 H, s,  $\text{H}_d$ )

### N-(2-Methyldisulfanyl-ethyl)-acrylamide M8

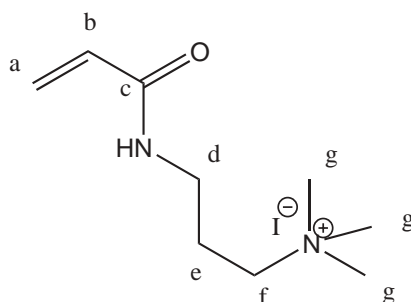


In 10 mL trockenem Dichlormethan wurden 400 mg (5.56 mmol) Acrylsäure gelöst. Unter Eiskühlung wurden langsam 900 mg (5.56 mmol) N,N'-Carbonyldiimidazol zugegeben. Nach beendeter  $\text{CO}_2$ -Entwicklung, etwa 30 Minuten, wurden 684 mg (5.56 mmol) Cysteaminmethyldisulfid **1**, in 5 mL Dichlormethan gelöst, zugegeben. Nach drei Stunden Reaktionszeit wurde gegen Wasser ausgeschüttelt und die mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknete organische Phase einrotiert.

Ausbeute: 90 % (887 mg, 5 mmol)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 7.01 (1 H, d,  $\text{H}_b$ ), 6.22 (1 H, d,  $\text{H}'_a$ ), 5.80 (1 H, d,  $\text{H}_a$ ), 3.58 (2 H, m,  $\text{H}_d$ ), 2.78 (2 H, m,  $\text{H}_e$ ), 2.38 (3 H, s,  $\text{H}_f$ )

**(3-Acryloylamino-propyl)-trimethyl-ammonium-iodid M9**

In 40 mL Ethanol wurden 4 g (25.6 mmol) **M5** gelöst und unter Eiskühlung 3.64 g (25.6 mmol) Methyljodid zugegeben. Es wurde für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann das Produkt in Diethylether gefällt, mit Dioxan und Diethylether gewaschen und getrocknet.

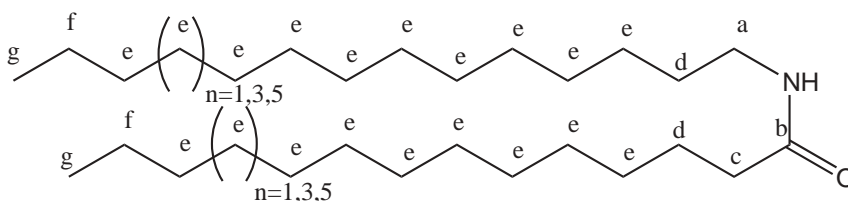
Ausbeute: 92 % (7 g, 23.5 mmol)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$ [ppm] = 6.26 (1 H, dd,  $\text{H}_b$ ), 6.17 (1 H, d,  $\text{H}'_a$ ), 5.75 (1 H, d,  $\text{H}_a$ ), 3.35 (4 H, m,  $\text{H}_d$ ,  $\text{H}_f$ ), 3.11 (9 H, s,  $\text{H}_g$ ), 2.05 (2 H, m,  $\text{H}_e$ )

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta$ [ppm] = 171.0 ( $\text{C}_c$ ), 132.1 ( $\text{C}_b$ ), 129.9 ( $\text{C}_a$ ), 66.6 ( $\text{C}_f$ ), 55.3 ( $\text{C}_g$ ), 38.4 ( $\text{C}_d$ ), 24.9 ( $\text{C}_e$ )

**9.1.3 Initiatoren****N-Alkylalkanamide 2,3,4**

Die Säure (0.02 mol) wird in 25 mL Chloroform p.a. gelöst und dann langsam 3.24 g (0.02 mol) 1,1'-Carbonyldiimidazol zugegeben. Man rührt 30 Minuten weiter und wartet die Kohlendioxidentwicklung ab. Anschließend werden (0.02 mol) des Amins zugegeben. Nach 3 weiteren Stunden wird der entstandene Niederschlag abgesaugt, die verbleibende Lösung eingeeengt, der dabei anfallende Niederschlag wird ebenfalls abgesaugt und mit ersterem vereinigt. Je nach Reinheit des Produktes kann aus Ethanol umkristallisiert werden.

Ausbeute:

2: 79 % (6.7 g, 15.8 mmol)

3: 61 % (5.86 g, 12.2 mmol)

4: 55 % (5.65 g, 11 mmol)

R<sub>f</sub>-Wert: 0.15 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

2: Smp: 88.7°C

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

δ[ppm] = 3.19 (2 H, q, H<sub>a</sub>), 2.10 (2 H, t, H<sub>c</sub>), 1.56 (4 H, bm, H<sub>d</sub>), 1.46 (2 H, m, H<sub>f</sub>), 1.27 (38,46,54 H, s, H<sub>e</sub>), 0.88 (6 H, t, H<sub>g</sub>)

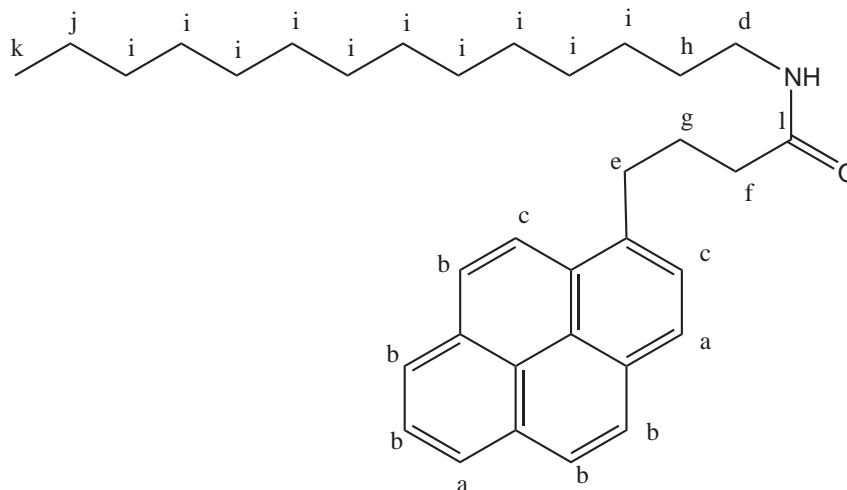
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):

δ[ppm] = 172.9 (C<sub>b</sub>), 39.7 (C<sub>a</sub>), 37.1 (C<sub>c</sub>), 32.3, 30.0, 27.3, 26.2 (C<sub>d</sub>), 23.0 (C<sub>f</sub>), 14.2 (C<sub>g</sub>)

FT-IR (ATR):

$\tilde{\nu}$ [cm<sup>-1</sup>] = 3309.4 (NH), 2954.9, 2913.9, 2872.8, 2849.1, 1634.7 (Amid I), 1544.0 (Amid II), 1471.3, 1423.5, 1372.8, 1326.4, 1279.1, 1257.0, 1233.2, 1211.2, 1188.9, 940.8, 715.2

### N-Tetradecyl-4-pyrenyl-butanamid 5



In 60 mL trockenem Tetrahydrofuran werden 5 g (0.0175 mol) 4-(1-Pyrenyl)-buttersäure gelöst. Es werden dann 2.835 g (0.0175 mol) 1,1'-Carbonyldiimidazol

langsam zugegeben und die Kohlendioxidentwicklung wird für 30 Minuten abgewartet. Unter Rühren werden dann 3.735 g (0.0175 mol) Tetradecylamin zugegeben und für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der gelbliche Niederschlag wird abgesaugt und die Lösung eingeeengt, in wenig Chloroform aufgenommen um dann gegen Wasser ausgeschüttelt zu werden. Die organische Phase wird dann eingeeengt und der anfallende Niederschlag mit ersterem gemeinsam über Silicagel mit  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (39:1) chromatographisch gereinigt.

Ausbeute: 42 % (3.55 g, 7.35 mmol)

$R_f$ -Wert: 0.66 (Chloroform:Methanol:Wasser = 65:25:1)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ):

$\delta$ [ppm] = 8.33 (2 H, d,  $\text{H}_a$ ), 8.30 - 7.98 (5 H, m,  $\text{H}_b$ ), 7.89 (2 H, d,  $\text{H}_c$ ), 3.38 (2 H, t,  $\text{H}_d$ ), 3.19 (2 H, q,  $\text{H}_e$ ), 2.26 (2 H, m,  $\text{H}_f$ ), 2.16 (2 H, m,  $\text{H}_g$ ), 1.54 (2 H, m,  $\text{H}_h$ ), 1.45 (2 H, m,  $\text{H}_j$ ), 1.25 (20 H, s,  $\text{H}_i$ ), 0.88 (3 H, t,  $\text{H}_k$ )

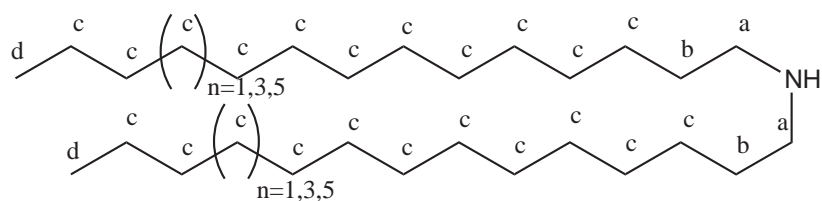
$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 172.5 ( $\text{C}_l$ ), 135.9, 131.4, 130.9, 129.9, 128.8, 127.4, 127.3, 126.7, 125.8, 125.1, 125.0, 124.9, 124.7, 123.4 (arom. C), 39.6, 36.1, 32.8, 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 27.5, 26.9, 22.6, 14.1 ( $\text{CH}_3$ )

FT-IR (ATR):

$\tilde{\nu}$ [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3317.1, 3278.9 (NH, assoziiert und unassoziiert), 3029.8 (arom.), 2957.2, 2919.5, 2882.6, 2849.5, 1634.6 (Amid I), 1536.1, 1528.6 (Amid II), 1467.7, 1417.1, 1276.2, 1207.4, 1025.5, 961.4, 945.8, 840.1, 718.8

### N,N-Dialkylamine 6,7,8



In 250 mL trockenem Tetrahydrofuran werden (0.0117 mol) des Amids 6,7 oder 8 suspendiert. Es wird dann portionsweise 0.353 g (0.0093 mol)  $\text{LiAlH}_4$  zugegeben. Nach erfolgter Gasentwicklung wird für 2 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Zu der abgekühlten Lösung wird langsam Wasser zugetropft, um nicht umgesetztes  $\text{LiAlH}_4$  zu vernichten. Der entstehende Niederschlag wird abgesaugt und mit heißem Tetrahydrofuran ausgewaschen. Die vereinigten organischen Lösungen werden einrotiert. Es kann anschließend aus Ethanol umkristallisiert werden.

Ausbeute:

**6**: 98 % (4.7 g, 11.5 mmol)

**7**: 37 % (2 g, 4.33 mmol)

**8**: 38 % (2.3 g, 4.44 mmol)

$R_f$ -Wert: 0.71 (Tetrahydrofuran)

**6**: Smp: 59°C

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 2.60 (4 H, t,  $\text{H}_a$ ), 1.50 (4 H, m,  $\text{H}_b$ ), 1.24 (44,52,60 H, s,  $\text{H}_c$ ), 0.87 (6 H, t,  $\text{H}_d$ )

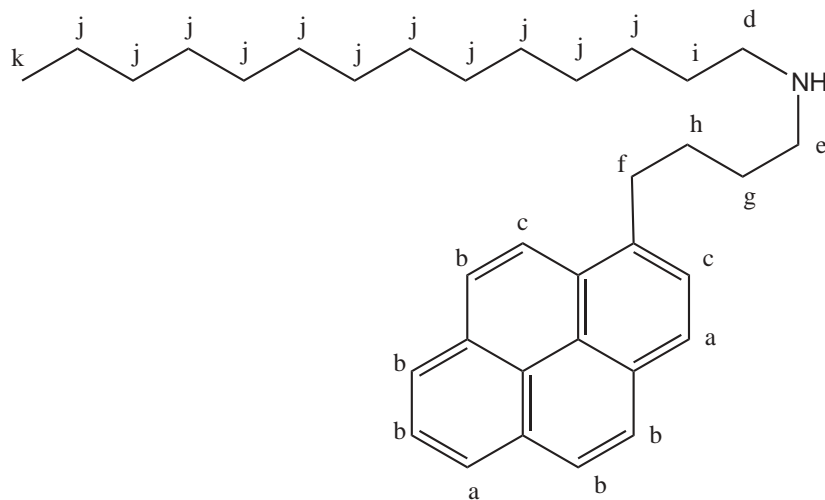
$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 49.9 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 32.0, 29.6, 29.5, 29.3, 27.4, 22.7, 14.1 ( $\text{CH}_3$ )

FT-IR (ATR)

$\tilde{\nu}$ [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2954.3, 2917.6, 2881.3, 2848.7, 1471.8, 1461.1, 1375.9, 1261.3, 1128.6, 802.1, 780.1, 730.6, 719.3

### N-Tetradecyl-4-pyrenylbutanamin **9**



In 200 mL trockenem Tetrahydrofuran werden 3.164 g (6.52 mmol) N-Tetradecyl-4-pyrenyl-butanamid **9** suspendiert. Langsam werden 0.197 g (6 mmol)  $\text{LiAlH}_4$  zugegeben und für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nicht abreagiertes  $\text{LiAlH}_4$  wird mit wenig Wasser vernichtet. Der Niederschlag wird abgesaugt und mit heißem Tetrahydrofuran nachgewaschen. Die vereinigten Lösungen werden aufkonzentriert.

Das Produkt wird dann chromatographisch über Silicagel mit Chloroform gereingt. Das saubere Produkt kann mit Methanol runtergewaschen werden.

Ausbeute: 56 % (1.71 g, 3.65 mmol)

R<sub>f</sub>-Wert: 0.82 (Chloroform:Methanol:Wasser = 65:25:1)

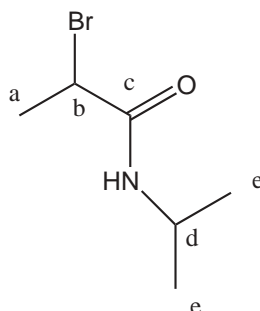
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ[ppm] = 8.27 (2 H, d, H<sub>a</sub>), 8.15 - 7.94 (5 H, m, H<sub>b</sub>), 7.84 (2 H, d, H<sub>c</sub>), 3.34 (2 H, t, H<sub>f</sub>), 2.67 (2 H, t, H<sub>d</sub>), 2.58 (2 H, t, H<sub>e</sub>), 1.88 (2 H, m, H<sub>g</sub>), 1.70 (2 H, m, H<sub>h</sub>), 1.47, (2 H, m, H<sub>i</sub>), 1.24 (22 H, s, H<sub>j</sub>), 0.87 (3 H, t, H<sub>k</sub>)

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ[ppm] = 136.8, 131.5, 130.9, 129.8, 128.6, 127.5, 127.2, 127.1, 126.5, 125.7, 125.1, 125.0, 124.8, 124.6, 123.4, 49.9, 49.8, 33.4, 31.9, 30.0, 29.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 27.4, 22.7, 14.1

### N-Isopropyl-2-brom-propionamid II



In 20 mL trockenem Chloroform werden 3.25 mL (37.8 mmol) Isopropylamin gelöst. Zu der homogenen Lösung werden unter Eiskühlung 2 mL (18.9 mmol) 2-Brompropionsäurebromid zugetropft. Es wird für 2 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und das Filtrat mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum aufkonzentriert. Das Produkt wird durch Umkristallisation aus n-Heptan gereingt und fällt in weißen langen Nadeln an.

Ausbeute: 53 % (1.93g, 10mmol)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ[ppm] = 6.13 (1 H, bs, NH), 4.35 (1 H, q, H<sub>b</sub>), 4.01 (1 H, m, H<sub>d</sub>), 1.84 (3 H, d, H<sub>a</sub>), 1.16 (6 H, d, H<sub>e</sub>)

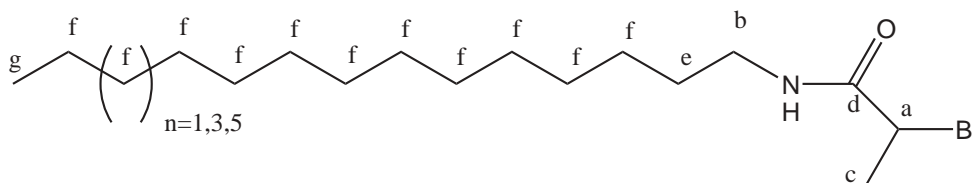
$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 168.4 (\text{C}_c), 45.6 (\text{C}_b), 42.2 (\text{C}_d), 23.2 (\text{C}_e), 22.4 (\text{C}_a)$

FT-IR (ATR):

$\tilde{\nu}[\text{cm}^{-1}] = 3268.9 (\text{NH}), 3085.5 (\text{vinyl. H}), 2972.4, 2927.9, 2870.1 (\text{C-H}), 1645.1 (\text{Amid I}), 1553.2 (\text{Amid II}), 1441.7, 1368.2, 1253.8, 1219.5, 1192.9, 1159.7, 1131.9, 1070.2, 987.6, 773.1$

### N-Alkyl-2-brom-propionamide **I2,I3,I4**



In 10 mL trockenem Chloroform werden  $\tilde{1}00$  mg (0.37 mmol) des Amins gelöst. Zu der Lösung werden 0.11 mL (0.41 mmol) Triethylamin gegeben und dann unter Eiskühlung 0.04 mL (0.41 mmol) 2-Brompropionsäurebromid zugetropft. Es wird für 2 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt und die Lösung dann gegen Wasser ausgeschüttelt. Die über  $\text{MgSO}_4$  getrocknete organische Phase wird im Vakuum aufkonzentriert. Das Produkt wird durch Umkristallisation aus Ethanol gereinigt.

Ausbeute:

**I2:** 50 % (64.4 mg, 0.185 mmol)

**I3:** 55 % (76.6 mg, 0.2 mmol)

**I4:** 50 % (75 mg, 0.185 mmol)

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 6.36 (1 \text{ H, bs, NH}), 4.39 (1 \text{ H, q, H}_a), 3.24 (2 \text{ H, q, H}_b), 1.86 (3 \text{ H, d, H}_c), 1.51 (2 \text{ H, m, H}_e), 1.23 (22,26,30 \text{ H, s, H}_f), 0.86 (3 \text{ H, t, H}_g)$

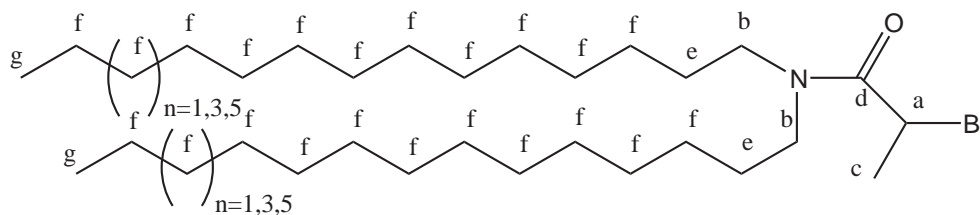
$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 169.1 (\text{C=O}), 45.7, 40.2, 31.9, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 26.8, 23.4, 22.7, 14.1 (\text{CH}_3)$

FT-IR (ATR):

$\tilde{\nu}[\text{cm}^{-1}] = 3280.1 (\text{NH}), 2954, 2916, 2848.5, 1642.7 (\text{Amid I}), 1544.8 (\text{Amid II}), 1469.3, 1442.7, 1252.5, 1191.2, 1062.6, 982.7, 717.7$

## N,N-Dialkyl-2-brom-propionamide I5,I6,I7



In einem Gemisch aus 5 mL trockenem Chloroform und 5 mL trockenem Dioxan werden 300mg (0.574 mmol) der N,N-Dialkylamine 10,11 oder 12 gelöst. Zusätzlich werden 0.18 mL (0.7 mmol) Triethylamin zugesetzt. Danach wird 0.06 mL (0.63 mmol) 2-Brompropionsäurebromid zugetropft. Die Lösung wird dann für 2 Stunden gelinde erwärmt. Durch Abkühlen der Lösung fällt das Produkt rein an.

Ausbeute:

**I5:** 51 % (160mg, 0.29 mmol)

**I6:** 35 % (210mg, 0.20 mmol)

**I7:** 24 % (160mg, 0.14 mmol)

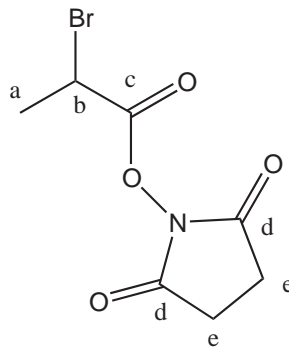
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 4.50 (1 H, q,  $\text{H}_a$ ), 3.52, 3.40 (2 H, m,  $\text{H}_b$ ), 3.08 (2 H, m), 1.79 (3 H, d,  $\text{H}_c$ ), 1.52 (2 H, m,  $\text{H}_e$ ), 1.24 (44.52,60 H, s,  $\text{H}_f$ ), 0.86 (3 H, t,  $\text{H}_g$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 168.8 (C=O), 48.2, 46.6, 38.6, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 27.2, 26.9, 22.7, 21.8, 14.1 ( $\text{CH}_3$ )

### N-(2-Brompropionat)-oxysuccinimid **18**



In 100 mL trockenem Chloroform werden 5.75 g (50 mmol) N-Hydroxysuccinimid und 7 mL (50 mmol) Triethylamin gelöst. Unter Eiskühlung werden 5.6 mL (50 mmol) 2-Brompropionsäurebromid langsam zutropft. Es wird 4 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt und die organische Phase mit kaltem Wasser gewaschen. Die getrocknete organische Phase wird aufkonzentriert und in Hexan ausgefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert und aus Hexan umkristallisiert. Man erhält weiße, leicht gelbe Kristalle.

Ausbeute: 28 % (3.45 g, 14 mmol)

$R_f$ -Wert: 0.48 (Chloroform:Methanol:Wasser = 65:25:1)

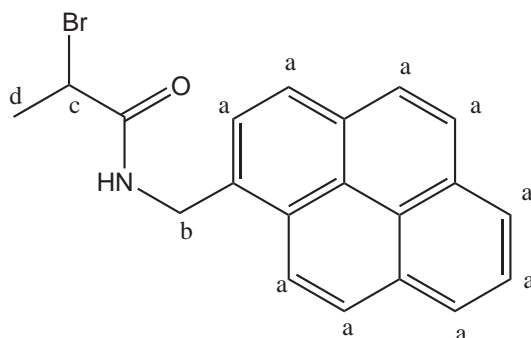
Smp.: 82.0°C

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 4.60 (1 H, q,  $\text{H}_b$ ), 2.84 (4 H, s,  $\text{H}_e$ ), 1.94 (3 H, d,  $\text{H}_a$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 168.4 ( $\text{C}_d$ ), 166.0 ( $\text{C}_c$ ), 34.8 ( $\text{C}_b$ ), 25.6 ( $\text{C}_e$ ), 21.5 ( $\text{C}_a$ )

**N-(Pyrenylmethyl)-2-brom-propionamid **I9****

In 10 mL trockenem THF werden 500 mg (2 mmol) **I8** gelöst und dann mit 535 mg (2 mmol) 1-Aminomethylpyrenhydrochlorid versetzt. Anschließend werden 0.2 mL Triethylamin zugegeben und die Lösung bei 40°C für eine Stunde gerührt. Die Lösung wurde dann aufkonzentriert und in Chloroform aufgenommen, gegen Wasser ausgeschüttelt und mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach dem Abziehen des Lösungsmittel enthält man einen beigen Feststoff, der Säulenchromatographie and Kieselgel mit PE:EE (3:2) gereinigt wird.

Ausbeute: 75 % (527 mg, 1.5 mmol)

R<sub>f</sub>-Wert: 0.90 (Chloroform:Methanol:Wasser = 65:25:1)

Smp.: 205.1°C (unter Zersetzung)

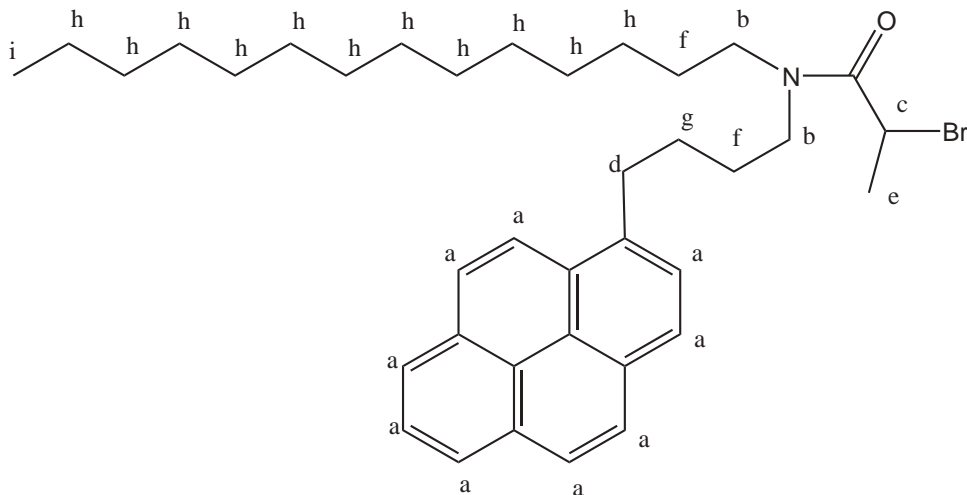
200-MHz-<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):

δ[ppm] = 8.20 - 7.91 (9 H, m, H<sub>a</sub>), 6.70 (1 H, bs, NH), 5.13 (2 H, m, H<sub>b</sub>), 4.45 (1 H, q, H<sub>c</sub>), 1.91 (3 H, d, H<sub>d</sub>)

50-MHz-<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>):

δ[ppm] = 169.7 (C=O), 131.2, 130.6, 130.2, 128.9, 128.2, 127.5, 127.2, 126.8, 126.0, 125.4, 125.3, 124.7, 122.5 (aromat. C), 44.0, 42.2, 22.5 (C<sub>d</sub>)

### N-Tetradecyl-N-(4-pyrenylbutyl)-2-brom-propionamid **I10**



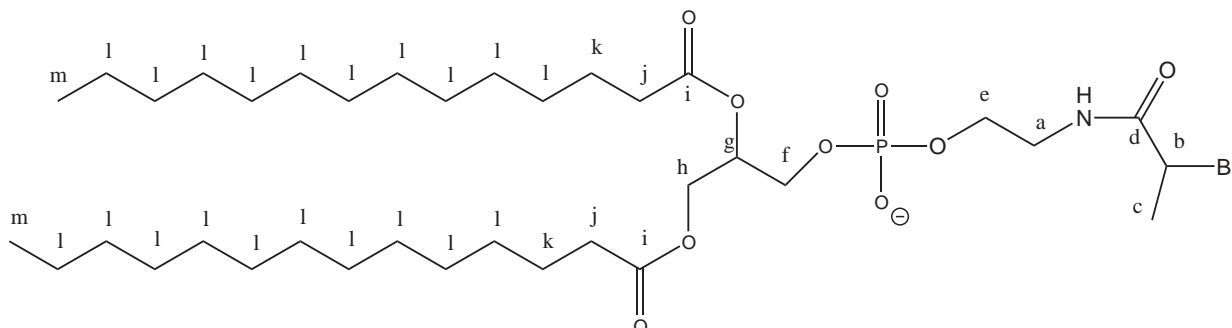
In 1 mL trockenem Chloroform werden 30.8 mg (0.0656 mmol) N-Tetradecyl-4-pyrenylbutanamin **18** gelöst. Dann werden 24.8 mg (0.0992 mmol) N-(2-Brompropionat)-oxysuccinimid **9** zugegeben. Die Lösung wird dann für 48 Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird mit 1 mL Wasser gewaschen. Die getrocknete Chloroformphase wird eingengt und das Produkt dann durch chromatographische Reinigung an Silicalgel mit Chloroform:Methanol (9:1) gereinigt.

Ausbeute: 100 % (40 mg, 0.066 mmol)

$R_f$ -Wert: 0.95 (Chloroform:Methanol:Wasser = 65:25:1)

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 8.02 (9 H, m,  $H_a$ ), 4.44 (1 H,  $H_b$ ), 3.39, 3.11 (4 H, m,  $H_b$ ), 3.05 (2 H, m,  $H_d$ ), 1.82 (3 H, d,  $H_e$ ), 1.76 (2 H, m,  $H_f$ ), 1.70 (2 H, m,  $H'_f$ ), 1.57 (2 H, m,  $H_g$ ), 1.22 (22 H, s,  $H_h$ ), (3 H, t,  $H_i$ ) 0.85

**N-DMPE-2-brom-propionamid I11**

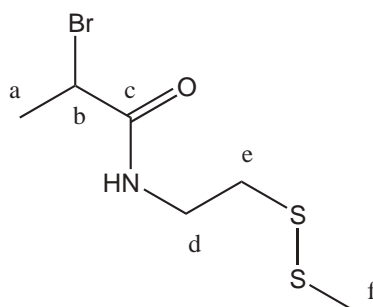
In 1 mL trockenem Chloroform werden 125 mg (0.5 mmol) N-(2-Brompropionat)-oxysuccinimid **I8** und 318 mg (0.5 mmol) DMPE gemeinsam gelöst. Die Lösung wird für 48 Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die organische Phase mit 1 mL Wasser gewaschen. Die getrocknete Chloroformphase wird eingeeengt und durch chromatographische Reinigung an Silicalgel mit Chloroform:Methanol (9:1) gereinigt.

Ausbeute: 34 % (250 mg, 0.17 mmol)

$R_f$ -Wert: 0.60 (Chloroform:Methanol:Wasser = 65:25:1)

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$ [ppm] = 4.48 (1 H, m,  $\text{H}_b$ ), 4.27 (3 H, m,  $\text{H}_g, \text{H}_h$ ), 3.90 (4 H, m,  $\text{H}_e, \text{H}_f$ ), 3.46 (2 H, m,  $\text{H}_a$ ), 2.23 (4 H, m,  $\text{H}_j$ ), 1.75 (3 H,  $\text{H}_c$ ), 1.51 (4 H,  $\text{H}_k$ ), 1.17 (40 H,  $\text{H}_l$ ), 0.79 (6 H,  $\text{H}_m$ )

**2-Bromo-N-(2-methyldisulfanyl-ethyl)-propionamid I12**

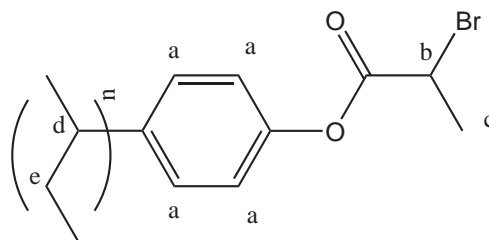
In 20 mL Chloroform wurden 250 mg (1 mmol) **I8** gelöst und mit 123 mg (1 mmol) **1** unter Stickstoff versetzt. Es wurde für 24 Stunden gerührt und dann die organische Phase eingeeengt und chromatographisch gereinigt (Kieselgel, Chloroform).

Ausbeute: 90 % (232 mg, 0.9 mmol)

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 4.46$  (1 H, m,  $\text{H}_b$ ),  $3.64$  (2 H, m,  $\text{H}_d$ ),  $2.87$  (2 H, m,  $\text{H}_e$ ),  $2.44$  (3 H, s,  $\text{H}_f$ ),  $1.91$  (3 H, d,  $\text{H}_a$ ),  $1.57$  (1 H, s, NH)

### Poly(2-Brom-propionatoxystyrol) P57



In 20 mL eines Chloroform-Tetrahydrofuran Gemischs (1:1) werden 200 mg Poly(4-Hydroxystyrol) gelöst. Die Lösung wird mit Stickstoff gespült und dann werden 0.46 mL (1.7 mmol) Triethylamin zugegeben. Anschließend werden 0.17 mL (1.7 mmol) 2-Brompropionsäurebromid in 5 mL Chloroform unter Eisbadkühlung zugetropft. Nach beendeter Zugabe, wird für 12 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt und dann das Polymer in kaltem Methanol ausgefällt und getrocknet.

Ausbeute: 65 % (318 mg)

$^1\text{H NMR}$  (Deutero-THF):

$\delta[\text{ppm}] = 6.87 - 6.52$  ( $\text{H}_a$ ),  $4.69$  (0.8,  $\text{H}_b$ ),  $2.10 - 1.28$  ( $\text{H}_c, \text{H}_d, \text{H}_e$ )

FT-IR (ATR):

$\tilde{\nu}[\text{cm}^{-1}] = 3034$  (aromat. CH-Valenz), 2982, 2924, 2851 (alkyl. CH-Valenz), 1753 (C=O-Valenz), 1603, 1503 (Ringschwingung), 1443, 1422, 1378, 1336, 1242, 1194, 1164, 1130, 1068, 1039, 1015, 978, 895, 830, 812, 677

#### 9.1.4 Statistische Polyacrylamide

##### Poly(N-acryloxysuccinimid) P59

Es werden 2 g (12 mmol) N-Acryloxysuccinimid **M1** in 20 mL frisch destillierten, trockenem 1,4-Dioxan und 10 mL frisch destilliertem Benzol bei  $65^\circ\text{C}$  gelöst. Nach dem Spülen mit Stickstoff werden 12 mg (0,074 mmol) AIBN zugegeben. Man rührt für 24 Stunden und engt dann die Lösung etwas im Vakuum ein. Das Produkt wird durch Ausfällen in Diethylether erhalten. Sukzessives Ausfällen aus 1,4-Dioxan in trockenen Diethylether ergibt das reine Produkt, welches nach Abzentrifugieren und Trocknen erhalten wird.

Ausbeute: 90 % (1.8 g)

200-MHz-<sup>1</sup>H NMR (DMSO):

$\delta$ [ppm] = 3.10 (1 H, s, CH<sub>2</sub>-CH-CO), 2.79 (4 H, s, OC-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO), 2.06 (2 H, bs, CH<sub>2</sub>-CH)

### Poly(N-acrylbenzotriazolamid) P60

In 13 mL frisch destilliertem, trockenem 1,4-Dioxan und 2.5 mL destilliertem Benzol werden 0.48 g (xx mol) N-Acrylbenzotriazolamid **M2** gelöst. Nach dem Entgasen durch Spülen mit Stickstoff werden 3 mg (0.02 mmol) AIBN zugegeben. Man rührt die Lösung dann für 24 Stunden bei 65°C. Das Produkt wird nach dem Abkühlen der Lösung durch Ausfällen in Diethylether gefällt. Sukzessives Ausfällen aus DMF in trockenen Diethylether ergibt das reine Produkt, welches nach Abzentrifugieren und Trocknen erhalten wird.

Ausbeute: 92 % (0.44 g )

200-MHz-<sup>1</sup>H NMR (DMSO):

$\delta$ [ppm] = 7.68-7.30 (4 H, 2 bs, arom. H), 3.96 (1 H, bs, CH<sub>2</sub>-CH-CO), 2.28 (2 H, bs, CH<sub>2</sub>-CH)

### Polymeranaloge Umsetzungen

#### Allgemeine Reaktionsvorschrift

Alle polymeranalogen Reaktionen wurden nach derselben Vorschrift synthetisiert. Dazu werden typischerweise 100 mg eines Reaktivesterpolymers in 5 mL DMF gelöst. Es werden dann die berechneten Mengen an Ankergruppen in DMF bzw. Pyridin gelöst sukzessive hinzugegeben, danach bei 40-70°C für 24-72 Stunden gerührt, bis entsprechend die nächste Gruppe zugegeben wird. Die Reihenfolge, sowie die Komposition der Polymere sind in der Tabelle 9.1.4 angegeben. Der Verlauf der Reaktion wird jeweils durch Dünnschichtchromatographie verfolgt. Die Polymere werden nach beendeter Reaktion in kaltem Diethylether ausgefällt. Durch erneutes Ausfällen aus DMF in kaltem Diethylether erhält man die reinen Polymere, welche entweder gefriergetrocknet oder in Hochvakuum getrocknet werden.

### Radikalische Polymerisation

Die Acrylamide werden in hochreinem Wasser polymerisiert, wohingegen die Isopropylacrylamide in trockenem Dioxan polymerisiert werden. Allgemein werden die Monomere 2.85 mmol, bzw. 2.4 mmol **M3** oder **M4** und 0.15 mmol, bzw. 0.6 mmol **M5** in 20 mL des entsprechenden Lösungsmittels vorgelegt und die Lösung für 15 Minuten durch Einleiten von Stickstoff entgast. Anschließend wird AIBN, bzw. Valerianazo für die wäßrige Lösung zugegeben und die Lösung bei 80°C für 24 h gerührt. Die Acrylamide werden nach beendeter Polymerisation in Aceton gefällt und die Isopropylacrylamide werden in Diethylether gefällt. Nach Umfällen werden die Polymere getrocknet.

*Tabelle 12: Statistische Polyacrylamide durch polymeranaloge Umsetzungen.*

Polymer	Aktivester Anker	Ausbeute
<b>P61</b>	<b>P59</b> 2 mol% <b>1</b> , 5 mol% H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> -CH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub>	30 %
<b>P62</b>	<b>P59</b> 2 mol% <b>1</b> , 5 mol% H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> -CH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , Isopropylamin	27 %
<b>P63</b>	<b>P59</b> 2 mol% <b>1</b> , 5 mol% H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -CH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub>	32 %
<b>P64</b>	<b>P59</b> 2 mol% <b>1</b> , 5 mol% H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -CH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , Isopropylamin	23 %
<b>P65</b>	<b>P59</b> 2 mol% <b>1</b> , 5 mol% DMPE, Jeff-Amin	80 %
<b>P66</b>	<b>P59</b> 2 mol% <b>1</b> , 10 mol% DMPE, Jeff-Amin	70 %

*Tabelle 13: Polyacrylamide und Isopropylacrylamide durch klassische radikalische Polymerisation.*

Polymer	Monomere	Verhältnis	Ausbeute
<b>P67</b>	<b>M3, M5</b>	95:5	80 %
<b>P68</b>	<b>M3, M5</b>	80:20	70 %
<b>P69</b>	<b>M4, M5</b>	95:5	85 %
<b>P70</b>	<b>M4, M5</b>	80:20	87 %

### Hydrophobierung der Polyacrylamide und Polyisopropylacrylamide

Zu Hydrophobierung wurden die Polymere 173 mg **P69** oder 182 mg **P70** in 10 mL Chloroform gelöst und mit 20.8 mg (0.075 mmol) bzw. 83.2 mg (0.3 mmol) Tetrabromdecan versetzt und für 24 h bei 60°C gerührt. Nach dem Abkühlen wurden die Polymere in Diethylether gefällt. Durch Umfällen erhält man die Polymere **P71** und **P72** in quantitativer Ausbeute.

#### 9.1.5 Endfunktionalisierte Polyacrylamide

##### Kontrollierte Polymerisation

###### Allgemeine Reaktionsvorschrift

Typischerweise werden 1 mmol des entsprechenden Initiators in frisch destilliertem NMP oder Wasser gelöst. Zu dieser Lösung wird bei 50°C eine Lösung der Monomere (100 mmol) in Wasser oder einem NMP/Wasser-Gemisch und eine Lösung von 1 mmol CuBr und 1 mmol Me<sub>4</sub>Cyclam in Wasser bzw. NMP/Wasser zugegeben. Das Verhältnis von Wasser zu NMP betrug in allen Fällen 2 zu 3. Alle Lösungen wurden vorher durch Einleiten von Stickstoff entgast. Typische Reaktionsdauern lagen je nach Zusammensetzung zwischen 10 und 30 Minuten. Danach wurden die Polymere entweder in kaltem Aceton gefällt und/oder durch Dialyse gereinigt. Es wurde zuerst gegen eine 2%ige Ammoniak-Lösung und dann gegen Wasser dialysiert. Die Polymere wurden dann durch Gefriertrocknung erhalten.

Die Polymere, die einen Endblock des Reaktivesters **M1** aufpolymerisiert haben, wurden direkt nach der Reaktion mit dem halben Volumen an NMP verdünnt und dann mit einem Überschuß des geschützten Disulfids **1** für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden die Polymere entweder in kaltem Aceton gefällt und/oder durch Dialyse gereinigt.

Die synthetisierten Polymere sind in Kapitel 4.4.3 in den Tabellen 2, 3 und 4 zusammengestellt.

##### Poly(Hydroxystyrol-graft-acrylamid)

In 0.3 mL trockenem THF wurden 2.57 mg des Polymeren **P57** gelöst und entgast. Hierzu wurde eine wäßrige, entgaste Lösung aus 71 mg (100 mmol) Acrylamid, 1.43 mg (1 mmol) CuBr und 2.56 mg (1 mmol) Me<sub>4</sub>Cyclam bei 40°C zugegeben. Die Lösung wurde eine Stunde gerührt und dann das Polymer in Aceton ausgefällt, welches anschließend getrocknet wurde.

Ausbeute: 90 % (66 mg)

400-MHz-<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O):

δ[ppm] = 6.90 (bs, arom. H), 2.30, 2.18 (2bs, H), 1.74, 1.62 (2bs, H)

FT-IR (ATR):

$\tilde{\nu}[\text{cm}^{-1}] = 3325, 3179, 2933$  (C-H-Valenz), 1644 (Amid I), 1600 (Amid II), 1445, 1409, 1314, 1230, 1191, 1117, 836

### 9.1.6 Polyvinylalkoholderivate P73, P74

#### Hydrophobierung zu P73

Es wurden in 30 mL NMP 0.5 g Polyvinylalkohol ( $M_n=50.000\text{g/mol}$ ) bei  $95^\circ\text{C}$  gelöst. Nach vollständigem Lösen des Polymeren wurde die Lösung auf  $45^\circ\text{C}$  abgekühlt und 0.155 ml Tetradecylbromid zugegeben. Langsam wurde dann eine Lösung von 0.065 g Kalium-tert.-butylat in 1 mL NMP zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde bei  $45^\circ\text{C}$  30 Minuten und 2 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Polymer wurde dann in kaltem Aceton gefällt.

Ausbeute: 80 % (0.4 g)

400-MHz- $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 4.61, 4.41$  (Poly-OH), 3.84 (Poly-CH-CO), 1.35 (Poly- $\text{CH}_2$ ), 1.20 (alkyl  $\text{CH}_2$ ), 0.82 (alkyl  $\text{CH}_3$ )

#### Ionisches Polymer P74

In 30 mL NMP wurden 0.1 g **P73** bei  $95^\circ\text{C}$  gelöst. Nach vollständigem Lösen des Polymeren wurde die Lösung auf  $45^\circ\text{C}$  abgekühlt und 0.1 mL Butansulton zugegeben. Langsam wurde dann eine Lösung von 0.065 g Kalium-tert.-butylat in 1 mL NMP zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde bei  $45^\circ\text{C}$  30 Minuten und 2 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Polymer wurde dann in kaltem Aceton gefällt.

Ausbeute: 70 % (0.075 g)

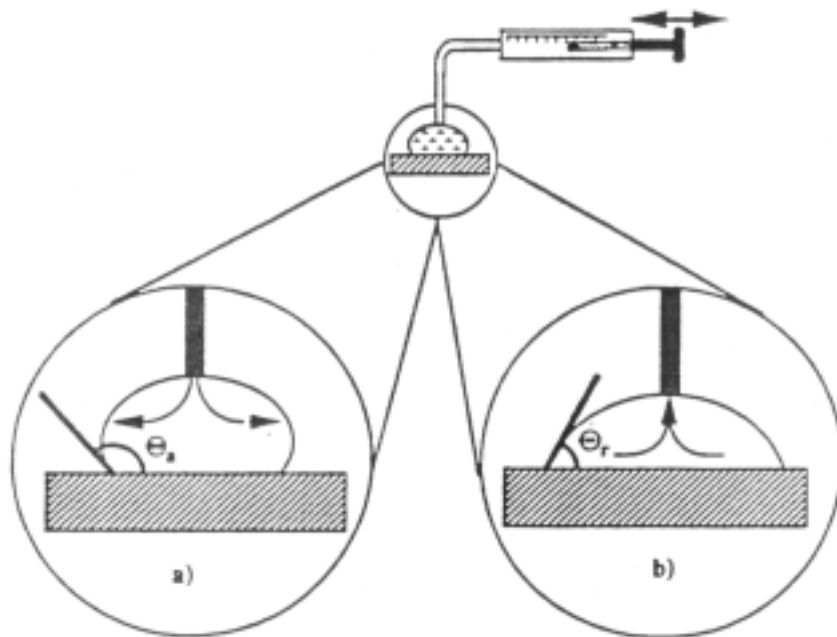
400-MHz- $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ):

$\delta[\text{ppm}] = 4.61, 4.41$  (Poly-OH), 3.84 (Poly-CH-CO), 3.26, 1.60 (butyl-sulfonsäure), 1.35 (Poly- $\text{CH}_2$ ), 1.20 (alkyl  $\text{CH}_2$ ), 0.82 (alkyl  $\text{CH}_3$ )

## 9.2 Geräte und Methoden

### 9.2.1 Kontaktwinkelmessungen

Die in dieser Arbeit durchgeführten Kontaktwinkelmessungen wurden alle mit hochreinem Wasser (Fa. Millipore, MilliQ1) auf verschiedenen präparierten Substratoberflächen gemessen. Die Messungen wurden an einem Kontaktwinkelmessgerät der Firma Data-Physics durchgeführt.



*Abbildung 98: Messung des a) fort- und b) rückschreitenden Kontaktwinkels.*

Hierzu wurde ein Wassertropfen mittels einer feinen Spritzennadel so auf dem Substrat aufgebracht, daß die Nadel weiterhin in Kontakt zu dem Tropfen bleibt. Das langsame Aufblähen des Tropfens mit weiterem Wasser bis zu einem Maximum wird verfolgt. Dieser Maximalwinkel, bevor der Tropfen ausläuft, wird als der fortschreitende Winkel  $\Theta_a$  gemessen. Zurückziehen des Wassers entbläht den Tropfen, bis dieser zurückläuft. Dieser Minimalwinkel wird als zurückziehender Winkel  $\Theta_r$  bezeichnet (siehe Abbildung 98).

### 9.2.2 Oberflächenplasmonen Spektroskopie

#### Substratbereitstellung

Bevor man die Glasträger mit Gold bedampfen kann, sind diese einer sehr gründlichen Reinigungsprozedur zu unterziehen. Dazu werden Glasstücke der Größe 38 x 26 x 1 mm aus Berliner Glas (Schott) in Methanol (p.a.) für 20 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Im zweiten Schritt werden diese Glasträger zweimal für jeweils 20 Minuten in wässriger 2%iger Hellmanex-Lösung (eine alkalische Tensid-Lösung der Firma Hellma) im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wird zehnmal mit Milli-Q-Wasser gespült. Jetzt werden die Träger einem fünffachen Zyklus aus Behandlung in Milli-Q-Wasser für je 20 Minuten im Ultraschallbad und anschließendem zehnmalem Spülen mit Milli-Q-Wasser unterworfen. Die Aufbewahrung der Träger erfolgt nun unter Methanol (p.a.).

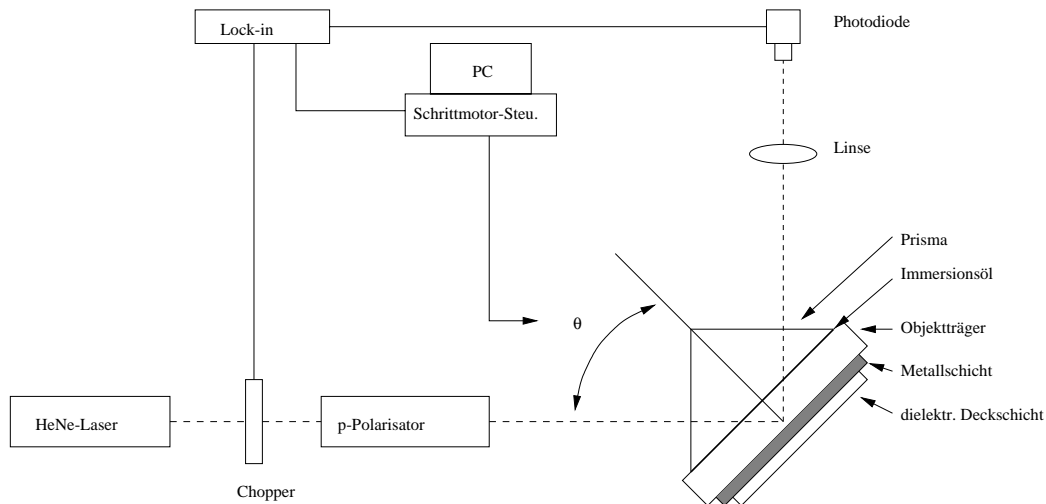
Die so gereinigten Glasträger werden dann in einer Blazer Aufdampfanlage BAE250 bei einem Druck  $5 \cdot 10^{-6}$  mbar mit einer 2 nm dicken Chrom-Schicht und dann mit einer 48 nm dicken Gold-Schicht (Goldreinheit mindestens 99.99 %) bedampft. Nach erfolgter Goldaufdampfung werden die Träger unter trockenem Argon aufbewahrt.

### Oberflächenplasmon-Messungen

Die in dieser Arbeit verwendete Apparatur zur Oberflächenplasmonen Spektroskopie ist in Abbildung 99 schematisch dargestellt.

Monochromatisches Licht eines HeNe-Lasers (Fa. Uniphase, Modell 1125-P, maximale Leistung 10 mW) der Wellenlänge  $\lambda = 632.8$  nm wird mit einem mechanischen Licht-Chopper (Fa. EG & G, Modell 197) moduliert. Mit zwei Glan-Thomson-Polarisationsfiltern (Fa. B. Halle, Modell 2.08, Auslöschungsvermögen  $10^{-6}$ ) wird das Licht p-polarisiert und fällt dann nach durchschreiten einer Irisblende auf ein Prisma (LaSFN9 Glas, Fa. Schott, Mainz), an dessen Rückseite mittels Immersionsöl (Fa. Cargille Lab.) ein Objektträger (Berliner Glas) optisch gekoppelt wurde. Prisma, Immersionsöl und Objektträger wurden so gewählt, daß sie die gleichen Brechungsseigenschaften für p-polarisiertes Laserlicht haben.

Auf der freien Seite des Objektträgers wurde wie oben beschrieben eine Goldschicht aufgedampft.



**Abbildung 99:** Schematischer Aufbau der Oberflächenplasmonen Spektroskopie Apparatur.

Eine Linse (Brennweite  $f = 50$  mm) fokussiert das von der Probe reflektierte Licht auf die aktive Fläche einer Photodiode (Fa. Siemens). Das registrierte Signal wird mit Hilfe eines Lock-in-Verstärkers (Fa. EG&G, 5208) gemessen. Die Probe und der Detektor sind auf einem Zweikreisgoniometer (Fa. Huber, 414a) montiert, welches mit zwei getrennten Schrittmotoren im  $\Theta/2\Theta$ -Modus, von einem Computer gesteuert, bewegt wird. Das über den Lock-in-Verstärker gemessene Signal wird so bei verschie-

denen Winkeln vom Computer gemessen. Die dazu verwendete Software wurde von BÜRGAM (EDV-Gruppe, MPI-P) geschrieben. Die erhaltenen Meßdaten werden mit den, auf den FRESNEL-Gleichungen basierenden, Theoriekurven verglichen. Das hierzu verwendete Programm SPALL wurde von PATZSCH et al. (MPI-P) erstellt und von ORENDI et al. (MPI-P) weiterentwickelt.

Das Studium der Vorgänge an der Gold/Dielektrikum-Grenzfläche *in situ* erfolgte mit einer modifizierten KRETSCHMANN-Anordnung, in der ein mit Gold bedampfter Objektträger, optisch an das Prisma gekoppelt, mit einer speziell gefertigten Küvette versehen wurde. Dies ist in Abbildung 100 schematisch dargestellt. Ein solcher Aufbau erlaubt die Untersuchung in verschiedenen Medien, z. B. in organischen Lösungsmitteln oder Elektrolytlösungen.

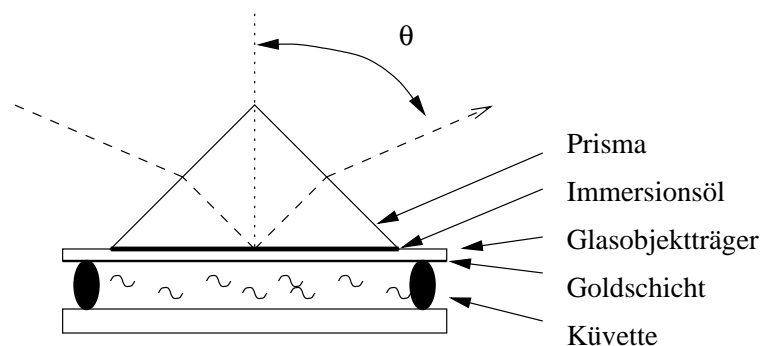


Abbildung 100: Modifizierte KRETSCHMANN-Anordnung mit Küvette.

### Vesikelbereitung

Die verwendeten unilamellaren Vesikel wurden durch Extrusion erzeugt. Dazu wurde eine benötigte Menge DMPC ( $\sim 3$  mg) in einem kleinen Schnapdeckelglas in Chloroform gelöst. Unter leichtem Schütteln wurde das Chloroform im Argonstrom verdampft, so daß ein dünner DMPC-Film an der Glaswand entstand. Anschließend wurde für etwa eine Stunde im Vakuum weiter getrocknet. Dieser DMPC-Film wurde mit  $30^\circ\text{C}$  warmem Milli-Q Wasser versetzt, wodurch man eine Lösung mit der Konzentration von  $1$  mg/mL erhält. Durch leichtes Schütteln wurde der DMPC-Film von der Glaswand abgelöst und dann für eine Stunde bei  $30^\circ\text{C}$  quellen gelassen. Die so erhaltene milchige Lösung multilamellarer Vesikel wurde bei  $30^\circ\text{C}$  30 mal durch einen Polycarbonat Filter mit der Porengröße  $50$  nm (Fa. Avestin, Ottawa, Kanada) extrudiert. Dies geschah mit einer Extruder Apparatur von Avestin (Ottawa, Kanada). Die so bereiteten Vesikel wurden bei  $30^\circ\text{C}$  aufbewahrt und innerhalb von 5 Tagen verbraucht.

### Selbstorganisation der Polymere auf Gold

Die selbstorganisierten Monoschichten der Polymere wurden durch Eintauchen der kurz zuvor mit Gold bedampften Träger in eine Lösung des Polymers in Ethanol (p.a.) oder hochreinem Wasser (Milli-Q) für 60 Minuten dargestellt. Die Substrate wurden anschließend sorgfältig mit Ethanol (p.a.) und/oder dann mit hochreinem Wasser gespült und für die Fälle der Kontaktwinkelmessungen in einem Argonstrom getrocknet. Die Dicken der so präparierten Polymerschichten wurden anschließend mittels Oberflächenplasmonen Spektroskopie bestimmt.

Durch Verwendung der modifizierten KRETSCHMANN-Apparatur konnte die beschriebene Selbstorganisation kinetisch mit der Oberflächenplasmon Spektroskopie verfolgt werden. Dazu wurde ein Spektrum der Goldschicht gegen Ethanol oder Wasser, je nach dem in welchem Lösungsmittel das Polymer gelöst ist, aufgenommen. Anschließend wurde bei einem festen Winkel  $\Theta$ , aus der Flanke der Kurve (siehe 2.1.2, die Dickenzunahme während der Selbstorganisation gemessen. Nach erfolgtem Aufzeichnen auf die Goldoberfläche wurde wiederum ein zweites Spektrum gegen Ethanol oder Wasser aufgenommen. Hieraus wurde dann die endgültige Dicke der Polymerschicht bestimmt.

### **Vesikeladsorption bzw. -fusion**

Die Kinetik der Vesikeladsorption wurde ebenfalls mit der Oberflächenplasmon Spektroskopie verfolgt. Dazu wurde zuerst ein Spektrum der nach 9.2.2 präparierten Polymermonoschicht gegen hochreinem Wasser bei 30°C gemessen. Anschließend wurde bei einem festen Winkel  $\Theta$ , aus der Flanke der Kurve wie in 2.1.2 beschreiben, die Dickenzunahme während der Adsorption bzw. Fusion ebenfalls bei 30°C registriert. Dies geschah durch einfaches Entfernen des Wassers aus der Küvette und dann Einfüllen der bereits bei 30°C warmen Vesikel-Lösung in die Küvette. Nach erfolgter Messung wurde ein zweites Spektrum aufgenommen und daraus die endgültige Dicke bestimmt.

### **9.2.3 Schub/Flächen-Diagramme**

Für alle Monoschichtexperimente wurde Chloroform (p.a.) als Spreitlösungsmittel verwendet. Die Konzentrationen der gelösten Polymere betragen 1 mg/mL. Die Initiatoren hatten eine Konzentration von 0.3 mg/mL. Diese wurden mit einer Mikroliterspritze (Fa. Kloehn) aufgetropft. Es wurde eine Rechner gesteuerte Filmwaage (Nima 611 D, Coventry, England) verwendet. Diese Filmwaage war mit einem Wilhelmi-Plättchen (Streifen Chromatographiepapier, Whatman's Chr 1, England) und einer elektronischen Mikrowaage zur Messung des Obeflächendruckes ausgestattet. Die Steuerung der Filmwaage und die Aufnahme der Druck/Flächen-Daten geschah mit einem IBM-PC kompatiblen Rechner. Das Steuerprogramm erlaubte die Kompression und die Expansion der Monoschichten bei variablen Barrierengeschwindigkeiten. Der gesammte Trog wurde mit einem Thermostaten (Lauda RM 6) temperiert. Wenn nicht weiter angegeben, wurden alle Isothermen bei 25°C aufgenommen. Als Subphase diente in allen Messungen hochreines Wasser (Milli-Q).

### 9.2.4 Quarzkristalmikrowägungen

Für die Durchführung der QCM-Messungen wurde eine Quarzkristallmikrowaage (QCMD) der Firma Q-Sense (Göteborg, Schweden) verwendet. Es fanden runde, AT geschnittene Quarzkristalle mit einem Durchmesser von 14 mm mit einer fundamentalen Resonanzfrequenz von 5 MHz Verwendung. Die Kristalle waren beidseitig mit Goldelektroden beschichtet.

Die Kristalle werden in einer temperierten Messzelle eingebaut. Die Temperaturkontrolle konnte auf  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  genau eingestellt werden. Das Austauschvolumen der Messzelle betrug ca. 3 mL. Vor jeder Messung wurde die Messzelle mit einer 2%igen Hellmanex II gereinigt. Diese Lösung wurde für eine Stunde in der Zelle gelassen und anschließend kontinuierlich mit hochreinem Wasser gespült, bis ein stabiles Signal erhalten wurde. Danach konnten die Adsorptionsmessungen beginnen. Sowohl die Selbstorganisation der Polymere, als auch die Vesikelfusion wurden aus wässriger Lösung vollzogen.

### 9.2.5 Fluoreszenz-Messungen

Die Fluoreszenzuntersuchungen in Lösung wurden an einem Fluoreszenzspektrometer LS45 der Firma Perkin Elmer durchgeführt. Damit ein optisch vergleichbares Signal erhalten werden konnte, wurde für alle Messungen die gleiche Küvette verwendet. Typische Polymerkonzentrationen für die Messungen waren  $10\mu\text{g}$  pro 3 mL.

Für die Untersuchungen an Pyrenderivaten wurde eine Anregungswellenlänge von 346 nm eingestellt. Die Anregungsspaltbreite betrug 3 nm und die Emissionsspaltbreite betrug 10 nm. Als Scanspeed wurden 500 nm/min verwendet. Der Emissionsscanbereich wurde auf 370 bis 600 nm eingestellt.

Die kinetischen Untersuchungen an den Pyrenderivaten wurden bei einer konstanten Emissionswellenlänge von 478 nm durchgeführt.

### 9.2.6 Photonenkorrelationsspektroskopie

Die mittlere Teilchengröße der Vesikeldispersionen wurde mit einem Zetasizer 3000 der Firma Malvern Instrument Inc. bestimmt. Hierzu wurden die zu vermessenden Proben in Polystyrolküvetten präpariert.

### 9.2.7 PCD-Titrationsen

Die Bestimmung der Oberflächenpotentiale der Polymere in Lösung wurden ein „Partial Charge Detector“ verwendet. Hier wird das Potential zwischen scherenden Schichten, welche durch kontinuierliches Bewegen eines Teflonstempels erzeugt werden, gemessen. Hierzu wurden  $100\mu\text{L}$  einer  $1\text{ mg/mL}$  konzentrierten Polymerstamlösung mit 10 mL hochreinem Wasser verdünnt und mit Salzsäure auf  $\text{pH}\approx 3$  eingestellt. Dann wurde mit 0.1 n KOH titriert und das Potential abgegriffen.

### 9.2.8 Turbidimetrie-Messungen

Zur Untersuchung der LCST der Poly(N-isopropylacrylamide) wurde die Herabsetzung der Lichtintensität des durch eine Lösung tretenden Lichtes gemessen. Hierzu wurde ein Laser der Wellenlänge  $\lambda=633$  nm verwendet. Die Lichtintensität wurde mit einer Photodiode registriert und das Signal am Rechner erfaßt. Die Konzentrationen der verwendeten Lösungen betragen 2 mg/mL. Die verwendete Küvette hatte eine Schichtdicke von 1 cm und wurde an einen Thermostat angeschlossen. Vor den Messungen wurde eine Temperatureichung der Küvette vollzogen.

### 9.2.9 DSC-Messungen

Differentialkalorimetrische Messungen wurden an einem Perkin-Elmer DSC 7 Kalorimeter bei einer Heizrate von  $\pm 10^\circ\text{C}/\text{min}$  durchgeführt. Die Temperatur- und Enthalpieeichung der Meßapparatur erfolgte mit Indium und Blei. Die Spektren wurden, wenn nicht gesondert erwähnt, auf 1 mg Substanzeinwaage normiert.

Für die Messungen in wäßriger Lösung, wurde große DSC-Pfännchen verwendet. Es wurden 2.5 mg Substanz pro 0.25 mL Wasser eingewogen. In die Pfännchen wurde dann ein Volumen von 50  $\mu\text{L}$  eingefüllt.

### 9.2.10 Strukturierungen

#### Mikro-Kontakt-Stempeln

Der PDMS-Stempel wurde jeweils mit einer Lösung der zu übertragenden Substanz bestrichen. Die Alkanthiole wurden als ethanolische Lösung eingesetzt. Danach wurde der Stempel unter konstanter Kraft (300 g auf einer Waage) auf den Goldträger gesetzt und nach 1 Minute abgehoben.

Das Stempeln der hydrophilen Polymere wurde wie folgt durchgeführt. Eine wäßrige Lösung des Polymeren (1 mg/mL) wurde mit THF verdünnt, so daß das Polymer gerade noch in Lösung blieb. Diese Lösung wurde als Tropfen auf die PDMS-Stempelfläche gesetzt. Mit einem kontrollierten Stickstoffstrom wurde der Tropfen weggeblasen, so daß mikroskopisch kleine Tröpfchen auf den Lamellen des Stempels zurückblieben. Eine Kontrolle unter einem Mikroskop wurde jeweils durchgeführt. Dieser Stempel wurde dann wie oben beschrieben unter konstanter Kraft auf einen Goldträger gesetzt.

Die Visualisierung wurde durch einsetzende Wasserdampfkondensation erreicht. Dazu wurde der entsprechende Goldträger auf einem Peltier-Element gekühlt, bis die Kondensation einsetzte. Die Temperatur wurde entsprechend angepaßt.

#### Polystyrol Entnetzung

Zur Polystyrol Entnetzung wurde die Wasserdampfkondensation bis größere Tropfen zu sehen waren getrieben. Der so präparierte Träger wurde dann senkrecht in eine Polystyrol-Lösung (0.5 %ig in Chloroform) für wenige Sekunden getaucht. Danach

wurde überschüssige Lösung abgetropfen und dann der Träger in horizontaler Lage gelagert, bis die Entnetzung beendet war. Eine Kontrolle fand wieder unter dem Mikroskop statt.



## 10 Literaturverzeichnis

Knowledge is of two kinds. We know a subject ourselves, or we know where we can find information upon it.  
SAMUEL JOHNSON, 1775

### Literatur

- [1] A.L. LEHNINGER, *Biochemistry*, 2. Aufl. (1977).
- [2] K. DOSE, *Biochemie*, (1980).
- [3] N. SHARON, *Spektrum Wiss.* **3**, (1996), 66.
- [4] H. BEYER, W. WALTER, *Lehrbuch der organischen Chemie*, 22. Aufl. (1996), 847.
- [5] H. HOFFMANN, W. ULBRICHT, *Chem. unserer Zeit* **29**, (1995), 76.
- [6] E. GORTER, F. GREDEL, *J. Exp. Med.* **41**, (1925), 439.
- [7] S.J. SINGER, G.L. NICOLSON, *Science* **175**, (1972), 720.
- [8] J.W. GOODBY, *Liquid Crystals* **24**, (1998), 25.
- [9] H.D. KOSWIG, *Flüssige Kristalle*, Aulis-Verlag Deubner, Köln (1985).
- [10] E. SACKMANN, P. EGGL, C. FAHN, H. BADER, H. RINGSDORF, M. SCHOLLMAYER, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem* **89**, (1985), 1198.
- [11] J.C. PAUSON, *Trends Biochem. Sci.* **14**, (1993), 272.
- [12] WILSON, GOULDING, *Methoden der Biochemie*, 3. Aufl., Thieme Verlag (1990).
- [13] C. TANFORD, *The Hydrophobic Effect*, 2. Aufl., J. Wiley Interscience, New York (1980).
- [14] T. KUNITAKE, Y. OKAHATA, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, (1977), 3860.
- [15] B. HUPFER, H. RINGSDORF, H. SCHUPP, *Chem. Phys. Lipids* **33**, (1983), 355.
- [16] T. KUNITAKE, N. KIMIZUKA, N. HIGASHI, N. NAKASHIMA, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, (1984), 1978.

- [17] G.L. GAINES, *Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces*, J. Wiley Interscience, New York (1966).
- [18] H. T. TIEN, *Bimolecular Lipid Membranes, Theory and Practice*, M. Dekker, New York (1974).
- [19] F. SZOKA, D. PAPAHAJDOPOULOS, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **9**, (1980), 467.
- [20] E. SACKMANN, *Science* **271**, (1996), 43.
- [21] C. TANFORD, *Science* **200**, (1978), 102.
- [22] D. TABOR, *J. Colloid Interface Sci.* **75**, (1980), 240.
- [23] I. LANGMUIR, *J. Am. Chem. Soc.* **39**, (1917), 1848.
- [24] O. ALBRECHT, H. GRULER, E. SACKMANN, *J. Colloid Interface Sci.* **79**, (1981), 319.
- [25] G.S. PATIL, N.J. DORMAN, D.G. CORNWELL, *J. Lipid Res.* **20**, (1979), 663.
- [26] E.D. GODDARD, G.H. MATTESON, G.E. TOTTEN, *J. Colloid Interface Sci.* **85**, (1982), 1848.
- [27] H. MÖHWALD, *Angew. Chem.* **100**, (1988), 750.
- [28] P. LÄUGER, *Angew. Chem.* **97**, (1985), 939.
- [29] J.N. ROBINSON, D.J. COLE-HAMILTON, *Che. Soc. Rev.* **20**, (1991), 49.
- [30] N. HIGASHI, T. KUNITAKE, J. MÖLLERFELD, H. RINGSDORF, *Chem. Lett.*, (1988), 13.
- [31] M.J. OSTRO, *Liposomes: From Biophysics to Therapeutics* Dekker, New York (1965).
- [32] R.R.C. NEW, *Liposomes a practical approach*, IRL Press, Oxford.
- [33] B.E. COHEN, A.D. BANGHAM, *Nature* **236**, (1972), 173.
- [34] E. SACKMANN, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem* **82**, (1978), 891.
- [35] D. CHAPMAN, J. URBINA, K.M. KEOUGH, *J. Biol. Chem.* **249**, (1974), 2512.
- [36] E. SACKMANN, H.-P. DUWE, H. ENGELHARDT, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **81**, (1986), 287.
- [37] T.D. HEATH, R.I. FRULEN, D. PAPAHAJDOPOULOS, *Science* **210**, (1980), 539.

- [38] M.K. JAIN, D. ZAKIM, *Biochim. Biophys. Acta* **906**, (1987), 33.
- [39] G. SESSA, G. WEISSMANN, *J. Biol. Chem.* **245**, (1970), 3295.
- [40] J. SUNAMOTO, T. SATO, M. GOTO, *Polymer Preprints* **27**, (1986), 46.
- [41] G. GAUGLITZ, *Spektrum Wiss.* **1**, (1994), 92.
- [42] F. EMBS ET AL., *Adv. Mat.* **3**, (1991), 8.
- [43] G. DECHER, *Science* **277**, (1997), 1232.
- [44] R. ADVINCULA, E. AUST, W. MEYER, W. KNOLL, *Langmuir* **12**, (1996), 3536.
- [45] Y. LVOV, K. ARIGA, I. ICHINOSE, T. KUNITAKE, *J. Am. Chem. Soc.* **117**, (1995), 6117.
- [46] Y. XIA, G.M. WHITESIDES, *Angew. Chem.* **110**, (1998), 569.
- [47] J.M. STOUFFER, T.J. MCCARTHY, *Macromol.* **21**, (1988), 1204.
- [48] F. SUN, D.W. GRAINGER, *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.* **31**, (1993), 1729.
- [49] C. ERDELEN ET AL., *Langmuir* **10**, (1994), 1246.
- [50] T.J. LENK, V.M. HALLMARK, J.F. RABOLT, L. HÄUSSLING, H. RINGS-DORF, *Macromol.* **26**, (1993), 1230.
- [51] F. SUN, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, (1996), 1856.
- [52] J. RÜHE, W. KNOLL, *Supramolecular Polymers* **13**, Marcel Dekker, New York 565-613.
- [53] O. PRUCKER, M. SCHIMMEL, G. TOVAR, W. KNOLL, J. RÜHE, *Adv. Mater.* **10**, (1998), 1073.
- [54] K. SUGIYAMA, K. KATO, M. KIDO, K. SHIRAIISHI, K. OHGA, K. OKADA, O. MATSUO, *Macromol. Chem. Phys.* **199**, (1998), 1201.
- [55] G. GEE, *Trans. Faraday Soc.* **32**, (1936), 187.
- [56] G. GEE, *Proc. Roy. Soc.* **A153**, (1936), 129.
- [57] H. RINGS-DORF, B. SCHLARB, J. VENZMER, *Angew. Chem.* **100**, (1988), 117.
- [58] H. BADER, K. DORN, B. HUPFER, H. RINGS-DORF, *Adv. Poly. Sci.* **64**, (1985), 1.

- [59] L.GROS, H. RINGSDORF, H. SCHUPP, *Angew. Chem.* **93**, (1981), 311.
- [60] J.H. FENDLER, *Science* **223**, (1984), 888.
- [61] R. NEUMANN, H. RINGSDORF, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, (1986), 487.
- [62] R. NEUMANN, H. RINGSDORF, E.V. PATTON, D.F. O'BRIEN, *Biophys. Acta* **898**, (1987), 338.
- [63] S.L. REGEN, J.S. SHIN, K. YAMAGUCHI, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, (1984), 2446.
- [64] K.V. ALIEV, H. RINGSDORF, B. SCHLARB, K.-H. LEISTER, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **5**, (1984), 345.
- [65] H. RINGSDORF, B. SCHLARB, *Polym. Prep. ACS Polym. Chem.* **27**(2), (1986), 195.
- [66] H. FUKUDA, T. DIEM, J. STEFELY, F.J. KEZDY, S.J. REGEN, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, (1986), 2321.
- [67] M. TAKADA, T. YUZURIKA, K. KATAYAMA, K. IWAMOTO, J. SUNAMOTO, *Biochim. Biophys. Acta* **802**, (1984), 237.
- [68] R. ELBERT, A. LASCHEWSKY, H. RINGSDORF, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, (1985), 4134.
- [69] A. LASCHEWSKY, H. RINGSDORF, J. SCHNEIDER, *Angew. Makromol. Chem.* **145/146**, (1986), 1.
- [70] A. LASCHEWSKY, H. RINGSDORF, G. SCHMIDT, J. SCHNEIDER, *J. Am. Chem. Soc.* **109**, (1987), 788.
- [71] W. FREY, J. SCHNEIDER, H. RINGSDORF, E. SACKMANN, *Macromolecules* **20**, (1987), 1312.
- [72] H. RINGSDORF, G. SCHMIDT, J. SCHNEIDER, *Thin Solid Films* **152**, (1987), 207.
- [73] T. KUNITAKE, M. NAGAI, H. YANAGI, K. TAKARABE, N. NAKASHIMA, *J. Macromol. Sci.-Chem.* **A21**, (1984), 1237.
- [74] E. SACKMANN, *Science* **271**, (1996), 43.
- [75] P. NOLLERT, H. KIEFER, F. JÄHNIG, *Biophys. J.* **96**, (1995), 1447.
- [76] H.T. TIEN, *Adv. Mater.* **2**, (1990), 316.

- [77] H. LANG, C. DUSCHL, M. GRÄTZEL, H. VOGEL, *Thin Solid Films* **210/211**, (1992), 818.
- [78] N. BUNJES, E.K. SCHMIDT, A. JONCZYK, F. RIPPMANN, D. BEYER, H. RINGSDORF, P. GRÄBER, W. KNOLL, R. NAUMANN, *Langmuir* **13**, (1997), 6188.
- [79] S. LINGLER, I. RUBINSTEIN, W. KNOLL, A. OFFENHÄUSSER, *Langmuir* **13**, (1997), 7085.
- [80] L.F. CHI, R.R. JOHNSTON, H. RINGSDORF, N. KIMIZUKA, T. KUNITAKE, *Langmuir* **8**, (1992), 1360.
- [81] U. SOHLING, A.J. SCHOUTEN, *Langmuir* **12**, (1996), 3912.
- [82] L.M. WILLIAMS, S.D. EVANS, T.M. FLYNN, A. MARSH, P.F. KNOWLES, R.J. BUSHBY, N. BODEN, *Langmuir* **13**, (1997), 751.
- [83] R. NAUMANN, A. JONCZYK, R. KOPP, J.V. ESCH, H. RINGSDORF, W. KNOLL, P. GRÄBER, *Angew. Chem.* **107**, (1995), 2168.
- [84] D. BEYER, G. ELENDER, W. KNOLL, M. KÜHNER, S. MAUS, H. RINGSDORF, E. SACKMANN, *Angew. Chem.* **108**, (1996), 1791.
- [85] J. SPINKE, J. YANG, H. WOLF, M. LILEY, H. RINGSDORF, W. KNOLL, *Biophys. J.* **63**, (1992), 1667.
- [86] B. RAGUSE, V. BRAACH-MAKSVYTIS, B.A. CORNELL, L.G. KING, P.D.J. OSMAN, R.J. PACE, L. WIECZOREK, *Langmuir* **14**, (1998), 648.
- [87] J. ISRAELACHVILI, *Intermolecular & Surface Forces*, 2nd Ed., Academic Press, (1981).
- [88] A. ULMAN, *An introduction to ultrathin organic films*, Academic Press, (1991).
- [89] E.L. DECKER, B. FRANK, Y. SUO, S. GAROFF, *Colloids and Surfaces A* **156**, (1999), 177.
- [90] A. OTTO, *Z. Phys.* **216**, (1968), 398.
- [91] E. KRETSCHMANN, *Z. Phys.* **241**, (1971), 313.
- [92] L.S. JUNG, C.T. CAMPBELL, T.M. CHINOWSKY, M.N. MAR, S.S. YEE, *Langmuir* **14**, (1998), 5636.
- [93] S. HERMINGHAUS, *Dissertation Mainz*, (1989).
- [94] L. WILHELMI, *Ann. Phys.* **117**, (1863).

- [95] I. LANGMUIR, *Trans. Faraday Soc.* **15**, (1920), 62.
- [96] M.E. DERRICK, *J. Chem. Educ.* **59**, (1982), 1030.
- [97] G. BEISSWANGER, *Chem. unserer Zeit* **25**, (1991), 96.
- [98] D. JACQUEMAIN, S.G. WOLF, F. LEVEILLER, M. DEUTSCH, K. KJAER, J. ALS-NIELSEN, M. LAHAV, L. LEISEROWITZ, *Angew. Chem.* **104**, (1992), 134.
- [99] A. POCKELS, *Nature* **43**, (1891), 437.
- [100] A.W. SNOW, N.L. JARVIS, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, (1984), 4706.
- [101] D.A. BUTTRY, M.D. WARD, *Chem. Rev.* **92**, (1992), 1355.
- [102] T. TJÄRNHAGE, *Dissertation*, Umeå, Schweden, (1996).
- [103] G. SAUERBREY, *Z. Phys. Chem.* **155**, (1959), 206.
- [104] P.L. KONASH, G.J. BASTIAANS, *Anal. Chem.* **52**, (1980), 1929.
- [105] T. NOMURA, *Anal. Chim. Acta* **124**, (1981), 81.
- [106] G. DUNHAM, N. BENSON, D. PETELENZ, J. JANATA, *Anal. Chem.* **67**, (1995), 267.
- [107] R. XU, H. DING, W. LI, D. WANG, S. XI, *Supramol. Sci.* **5**, (1998), 607.
- [108] H.-J. GALLA, *Spektroskopische Methoden in der Biochemie*, Thieme Verlag (1988).
- [109] G. KORTÜM, B. FINCKH, *Z. Phys. Chem. B* **52**, (1942), 263.
- [110] S. UDENFRIEND, *Fluorescence Assay in Biology and Medicine*, Academic Press, New York (1962).
- [111] A. KUMAR, H.A. BIEBUYCK, G.M. WHITESIDES, *Langmuir* **10**, (1994), 1498.
- [112] D.J. CAMPBELL, K.J. BECKMANN, C.E. CALDERON, P.W. DOOLAN, R.M. OTTOSEN, A.B. ELLIS, G.C. LISENSKY, *J. Chem. Educ.* **75**, (1999), 537.
- [113] B.A. GRZYBOWSKI, R. HAAG, N. BOWDEN, G.M. WHITESIDES, *Anal. Chem.* **70**, (1998), 4645.
- [114] G.P. LOPEZ, H.A. BIEBUYCK, R. HÄRTER, A. KUMAR, G.M. WHITESIDES, *J. Am. Chem. Soc.* **115**, (1993), 10774.
- [115] P. LENZ, *Adv. Mater.* **11**, (1999), 1531.

- [116] T.G. STANGE, D.F. EVANS, W.A. HENDRICKSON, *Langmuir* **13**, (1997), 4459.
- [117] H.-G. BRAUN, E. MEYER *Macromol. Mater. Eng.* **276/277**, (2000), 44.
- [118] H.-G. BRAUN, E. MEYER *Macromol. Rapid. Commun.* **20**, (1999), 325.
- [119] A. LOIDL-STÄHLHOFEN, J. NÖLLER *BIOforum* **4**, (2001), 204.
- [120] E. DELAMARCHE, B. MICHEL, H.A. BIEBUYCK, C. GERBER *Adv. Mater.* **8**, (1996), 719.
- [121] S. FLINK, F.C. VAN VEGGEL, D.N. REINHOUDT *Adv. Mater.* **12** (2000), 1315.
- [122] P. THEATO, R. ZENTEL *Langmuir*.
- [123] W.W. SHEN, S.G. BOXER, W. KNOLL, C.W. FRANK *Biomacromolecules* **2**, (2001), 70.
- [124] J. MAJEWSKI, J.Y. WONG, C.K. PARK, M. SEITZ, J.N. ISRAELACHVILI, G.S. SMITH *Biophys. J.* **75**, (1998), 2363.
- [125] J.Y. WONG, J. MAJEWSKI, M. SEITZ, C.K. PARK, J.N. ISRAELACHVILI, G.S. SMITH *Biophys. J.* **77**, (1999), 1445.
- [126] J. LAHIRI, P. KALAL, A.G. FRUTOS, S.J. JONAS, R. SCHAEFFLER *Langmuir* **16**, (2000), 7805.
- [127] L. SPERLING, *Polymeric Multicomponent Materials: An Introduction*, **Chap. 5**, Wiley, New York 1997.
- [128] P. FERRUTI, A. BETTELLI, A. FERÉ, *Polymer* **13**, (1972), 462.
- [129] K. HOLMBERG, B. HANSEN *Acta Chem. Scand.* **B 33**, (1979), 410.
- [130] M.K. DHAON, R.K. OLSEN, K. RAMASAMY *J. Org. Chem.* **47**, (1982), 1962.
- [131] F.M. WINNIK *Polymer* **31**, (1990), 2125.
- [132] A. POLLAK, H. BLUMENFELD, M. WAX, R.L. BAUGHN, G.M. WHITESIDES *J. Am. Chem. Soc.* **102**, (1980), 6324.
- [133] J. THIELE *Dissertation*, Mainz (1997).
- [134] W.M. THOMAS, D.W. WANG *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, 2nd Ed., **1**, Acrylamide Polymers, 169 Wiley (1985).
- [135] B.H. BROUWER WHITE, J.C.T. KWAK *Colloid & Polym. Sci.* **277**, (1999), 785.

- [136] C.L. MCCORMICK, K.P. BLACKMON *Polymer* **27**, (1986), 1971.
- [137] CONNER, *Langmuir* **9**, (1993), 2396.
- [138] D.L. KLAYMAN, J.D. WHITE, T.R. SWEENEY *J. Org. Chem.* **29**, (1964), 3737.
- [139] F.M. WINNIK, A.R. DAVIDSON, G.K. HAMER, H. KITANO *Macromolecules* **25**, (1992), 1876.
- [140] H. KITANO, Y. AKATSUKA, N. ISE *Macromolecules* **24**, (1991), 42.
- [141] A. YAMAZAKI, J.M. SONG, F.M. WINNIK, J.L. BRASH *Macromolecules* **31**, (1998), 109.
- [142] H.A. STAAB, M. LÜKING, F.H. DÜRR *Chem. Ber.* **95**, (1962), 1275.
- [143] H.A. STAAB *Angew. Chem.* **74**, (1962), 407.
- [144] H. RINGSDORF, J. VENZMER, F.M. WINNIK *Macromolecules* **24**, (1991), 1678.
- [145] H.C. BROWN, P.M. WEISSMAN, N.M. YOON *J. Am. Chem. Soc.* **88**, (1966), 1458.
- [146] H.C. BROWN, N.M. YOON *J. Am. Chem. Soc.* **88**, (1966), 1464.
- [147] K. OHNO, Y. TSUJII, T. FUKUDA *J. Polym. Sci. A* **36**, (1998), 2473.
- [148] E. RIZZARDO, G. MOAD *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, 2nd Ed., **1**, Living Radical Polymerization, 3834 Wiley (1985).
- [149] V. COESSENS, T. PINTAUER, K. MATYJASZEWSKI *Prog. Polym. Sci.* **26**, (2001), 337.
- [150] T.E. PATTEN, K. MATYJASZEWSKI *Adv. Mater.* **10**, (1998), 901.
- [151] K. MATYJASZEWSKI *Macromolecules* **31**, (1998), 4710.
- [152] M. SENOO, Y. KOTANI, M. KAMIGAITO, M. SAWAMOTO *Macromolecules* **32**, (1999), 8005.
- [153] M. TEODORESCU, K. MATYJASZEWSKI *Macromolecules* **32**, (1999), 4826.
- [154] G. KICKELBICK, H.-J. PAIK, K. MATYJASZEWSKI *Macromolecules* **32**, (1999), 2941.
- [155] D.M. JONES, W.T. HUCK *Adv. Mater.* **13**, (2001), 1256.

- [156] J. JEROMIN, H. RITTER *Macromolecules* **32**, (1999), 5236.
- [157] J. STORSBERG, H. RITTER *Macromol. Rap. Commun.* **21**, (2000), 236.
- [158] S. RIMMER *pers. Mitteilung*, University of Sheffield, UK.
- [159] L. FUNK *Diplomarbeit*, Mainz, (2001).
- [160] M. HAUSCH *Dissertation*, Mainz, (1999).
- [161] O. MARSTOKK, J. ROOTS *Polym. Bull.* **42**, (1999), 527.
- [162] S. DEGUCHI, B. LINDMAN *Polymer* **40**, (1999), 7163.
- [163] M. HAHN, E. GÖRNITZ, H. DAUTZENBERG *Macromolecules* **31**, (1998), 5616.
- [164] M. MATSUKATA, M. HIRATA, J.P. GONG, Y. OSADA, Y. SAKURAI, T. OKANO *Colloid Polym. Sci.* **276**, (1998), 11.
- [165] H.G. SCHILD *Prog. Polym. Sci.* **17**, (1992), 163.
- [166] H.G. SCHILD, M. MUTHUKUMAR, D.A. TIRELL *Macromolecules* **24**, (1991), 948.
- [167] H.G. SCHILD *J. Phys. Chem.* **94**, (1990), 4352.
- [168] E. WISCHERHOFF, T. ZACHER, A. LASCHEWSKY, E.D. REKAI *Angew. Chem.* **39**, (2000), 4602.
- [169] P. THEATO *Diplomarbeit*, Mainz, (1998).
- [170] C.A. KELLER, B. KASEMO *Biophysical J.* **75**, (1998), 1397.
- [171] M. SEITZ, E. TER-OVANESYAN, M. HAUSCH, C.K. PARK, J.A. ZASADZINSKI, R. ZENTEL, J.N. ISRAELACHVILI *Langmuir* **16**, (2000), 6067.
- [172] D.J. DUGGAN, M. BITTNER, Y. CHEN, P. MELTZER, J.M. TRENT *nature genetics sup.* **21**, (1999), 10.
- [173] K. ULRICH, A. HINNEN, H.-P. SALUZ *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **47**, (1999), 777.



## 11 Danksagung

Dankbarkeit gehört zu den Schulden, die jeder Mensch hat, aber nur die wenigsten tragen sie ab.

*Spruchwort*

Diese Arbeit wäre nicht ohne die Hilfe und Unterstützung vieler Menschen zustande gekommen. Ihnen bin ich zu großem Dank verpflichtet. Einigen wenigen möchte ich an dieser Stelle persönlich meinen Dank aussprechen:

Mein besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater **Prof. Dr. Rudolf Zentel** für die – immernoch – interessante Aufgabenstellung. Er unterstützte mich stets in meinem *ein-samen* Forschungsgebiet, insbesondere durch seine Diskussionsbereitschaft und seine vielen Äußerungen die nicht nur „Ja, da haben Sie recht.“ lauteten. Besonders bedanken möchte ich mich für die dreijährige Freiheit die ich in seinem Arbeitskreis genießen durfte.

**Marcus**, alias „Faul-Hausch“ möchte ich für die gelassene Einführung und die Motivation für dieses Forschungsthema danken.

**Matthias Passmann** (Mattes) danke ich für das ständig hohe Niveau im Arbeitskreis. Er wird eindeutig vermisst und ein Nachfolger ist nicht in Sicht.

**Erik** danke ich für die vielen intelligenten Feststellungen à la „Alupfannenrelaxation“, für Sport und die vielen Heimfahrten nach Mainz.

**Dr. Martin Brehmer** danke ich nicht nur für das Polyhydroxystyrol und seine Ruhe. Bei ihm fand man immer wissenschaftlichen Beistand. Unvergessen ist so manche Tagung/Fortbildung, die unter anderem in unserem  $\mu$ CP-Wissen endete.

**Eddi, Lydia** und **Sabine** danke ich für die endlose Unterstützung im praktischen Teil. Ohne sie wären große Teile dieser Arbeit nicht entstanden, daher sind sie die wahren Helden dieser Geschichte.

**Anke** und **Frau Grimm** danke ich für die DSC Unterstützung. Beide wiesen einen nimmer endenden Eifer bei der Arbeit auf.

**Dirk** danke ich für die Computerunterstützung. Bei ihm fand man immer chemiefreien Gesprächsstoff.

**Sybille** sei Dank, daß sie es auch in Wuppertal verstand mit mir im lauten Labor zu arbeiten.

**Manfred** sei Dank für so viele Laborfragen, die er stets „ohne Probleme“ zu beantworten wußte.

**Tolle**, der mit dem „Opl flieschen tut“, danke ich für die „dunkle“ Seite im Labor und die „grellen“ Witze.

**Sabine Mayer** sorgte für so manche schöne Zeit nicht nur in Wuppertal. Ihr sei Dank, daß ich nicht der einzige Teetrinker war.

**Matthias Niggemann** bin ich für so manchen chemischen Ansporn zu Dank verpflichtet. In ihm habe ich in der Wuppertaler Zeit einen echten Freund gewonnen.

**Christine**, ebenfalls aus der Wuppertaler Ritterburg danke ich für Freud und Leid.

Unseren „Wuppertaler Diplomanden“ **Marc, Marc** und Marc, äh **Ralf** danke ich nicht nur für die wissenschaftliche Aufwertung unserer Truppe, sondern ebenso für viele Dinge außerhalb des Labors.

**Bernd**, unserem nordischen Mann, danke ich für die nimmer endenden Sprüche. Wer von uns beiden das letzte Wort hat, ist noch nicht entschieden. Ob er unserer Gruppe treu bleibt, hat sich noch nicht herauskristallisiert.

Besonders danken möchte ich auch unseren Sekretärinnen **Bianca** und **Frau Lhotzky**. Ohne sie hätte ich heute noch mit dem ein oder anderen Papier zu kämpfen.

**Martin Röble** danke ich für die Unterstützung beim AK-Einzug in Mainz und der Schülerakademieorganisation.

**Lars** und **Lutz** sei nicht einfach so gedankt, sondern für die Belustigung unserer Gruppe in der finalen Zeit dieser Arbeit.

**Markus Bartz** danke für die lustigen Diskussionen, die Goldkolloid-Idee und die in dieser Arbeit nicht erwähnten Biomineralisationsversuche.

**Dr. H.-G. Braun** danke ich für die Unterstützung bei den Versuchen zur Strukturierung. Immerhin entstand so ein ganzes Kapitel meiner Arbeit.

**Dr. Simoma Schwarz** danke ich für die Möglichkeit die PCS und PCD Messungen in Dresden am IPF durchzuführen.

**Dr. Frederik Höök** und der gesamten QCM-D Mannschaft danke ich für die Einladung nach Göteborg um dort einige QCM Messungen durchzuführen. Haben diese Ergebnisse doch mein Wissen über die Vesikeladsorption und Vesikelfusion sehr erweitert.

**Dr. Heiner Detert** danke ich für die Einweisung in das Geschäft der Fluoreszenzmessungen.

Den Prodyco Kollegen, **Heiko, Peter** und **Uli** danke ich, daß sie mir ein Leben outside der Chemie zeigen. Eben kein Business as usual.

Danke möchte ich auch meinen Oberstufenlehrern sagen. Sie haben mir immerhin den richtigen Weg gewiesen, der bis dahin in dieser Arbeit mündete.

Besonders meinen Eltern **Regina** und **Jean-Paul** möchte ich für ihre lebenslange Unterstützung danken. Ebenso hat mein Bruder **Thierry** zu unserem netten Familienleben beigetragen. Ohne ihre Offenheit wäre ich heute nicht hier.

Aber mein größter Dank gehört der Frau, der ich diese Arbeit widme: **Elena**. Mußte sie doch soviel Zeit opfern, damit diese Arbeit zustande kam. Für Ihre unerschöpfliche Liebe werde ich ewig dankbar sein.

---

## Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit sind oder werden veröffentlicht.

1. *Stabilization of lipid bilayers on surfaces through charged polymers* P. Theato, R. Zentel\* J. Macromol. Sci, Pure Appl. Chem., A 36, 1001 - 1015 (1999).
2. *Formation of Lipid Bilayers on a New Amphiphilic Polymer Support* P. Theato, R. Zentel\* Langmuir 16, 1801 - 1805 (2000).
3. *New Lipopolymers for the Fixation of Lipid Bilayers* P. Theato, E. Preis, M. Brehmer, R. Zentel\* Macromol. Symp. 164, 257-267 (2001).
4. *Synthesis of endfunctionalized Lipopolymers and their Characterization with regard to polymer supported lipid membranes* P. Theato, R. Zentel\* Macrobio-molecules: in Vorbereitung
5. *Varying surface properties of Poly-N-isopropylacrylamide derivatives by temperature: Controlling the surface activity to vesicle adsorption by temperature* P. Theato, R. Zentel\* Langmuir: in Vorbereitung