

Neuartige Polyelektrolytstrukturen auf der Basis von L-Lysin

Dissertation zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie und Pharmazie der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Anke Lübbert

geb. in Königswinter

Mainz 2004

Dekan:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Dezember 2004

Die vorliegende Dissertation wurde in der Zeit von Januar 2001 bis Oktober 2004 am Max-Planck-Institut für Polymerforschung unter der Anleitung von Prof. Dr. Klaus Müllen und Prof. Dr. Harm-Anton Klok angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Motivation	1
2	Polyelektrolyte: Architektur und Lösungseigenschaften	5
2.1	Einleitung.....	5
2.2	Lineare Polyelektrolyte	6
2.2.1	Flexible PEL	8
2.2.2	Kettensteife Polyelektrolyte	17
2.2.3	Diblockpolyelektrolyte	23
2.3	Nicht-lineare Polyelektrolytstrukturen	30
2.3.1	Sternpolymere	30
2.3.2	Verzweigte Polyelektrolyte	34
2.3.3	Dendrimere	36
2.4	Zusammenfassung	39
2.5	Literaturverzeichnis	40
3	Selbstorganisation von Polystyrol-<i>b</i>-Poly(<i>L</i>-lysin)- Blockpolyelektrolyten in wässriger Lösung	51
3.1	Einleitung.....	51
3.2	Synthese und Charakterisierung der Polystyrol- <i>b</i> -Poly(<i>L</i> -lysin)- Blockpolyelektrolyte	54
3.2.1	Synthese der Polystyrol- <i>b</i> -Poly(<i>L</i> -lysin)-Blockcopolymere	54
3.2.2	Charakterisierung der Polystyrol- <i>b</i> -Poly(<i>L</i> -lysin)-Blockcopolymere	57
3.3	Selbstorganisation der Polystyrol- <i>b</i> -Poly(<i>L</i> -lysin)-Blockcopolymere	62
3.3.1	Sekundärstruktur des Poly(<i>L</i> -lysin)-Segments: Zirkulardichroismus	62
3.3.2	Kritische Mizellenkonzentration	68
3.3.3	Bestimmung der Mizellenform und -größe	72
3.4	Zusammenfassung	77
3.5	Experimenteller Teil.....	78

3.5.1	Allgemeine experimentelle Bedingungen.....	78
3.5.2	Physikalische und analytische Methoden	78
3.5.3	Synthesebeschreibungen	81
3.6	Literaturverzeichnis.....	83
3.7	Anhang.....	88
4	Rot fluoreszierende, sternförmige Perylendiimid-Poly(L-lysin)-Konjugate	91
4.1	Einleitung	91
4.2	Synthesestrategie	95
4.2.1	Initiatorsynthese	95
4.2.2	Synthese der PDI-(L-Lysin)-Sternkonjugate	100
4.3	Charakterisierung der PDI-(L-Lysin)-Konjugate	104
4.3.1	Sekundärstruktur der Poly(L-lysin)-Seitenarme	104
4.3.2	Optische Eigenschaften.....	109
4.4	Zusammenfassung.....	117
4.5	Experimenteller Teil	119
4.5.1	Allgemeine experimentelle Bedingungen.....	119
4.5.2	Physikalische und analytische Methoden	119
4.5.3	Synthesebeschreibungen	122
4.6	Literaturverzeichnis.....	124
5	L-Lysin-dendronisierte Polystyrole	127
5.1	Einleitung	127
5.2	Synthese der L-Lysin-dendronisierten Makromonomere.....	130
5.2.1	Synthese der N^{α},N^{ϵ} -geschützten L-Lysin-Dendrimere.....	130
5.2.2	Synthese der dendritischen Makromonomere.....	138
5.3	Polymerisation der Makromonomere	143
5.3.1	Umsatz der Polymerisation.....	143
5.3.2	Gelpermeationschromatographie (GPC).....	149
5.3.3	AFM-Aufnahmen	153
5.4	Zusammenfassung.....	154

5.5	Experimenteller Teil.....	155
5.5.1	Allgemeine experimentelle Bedingungen.....	155
5.5.2	Physikalische und analytische Methoden	155
5.5.3	Synthesebeschreibungen	156
5.6	Literaturverzeichnis	173
6	Zusammenfassung	177

Häufig verwendete Abkürzungen

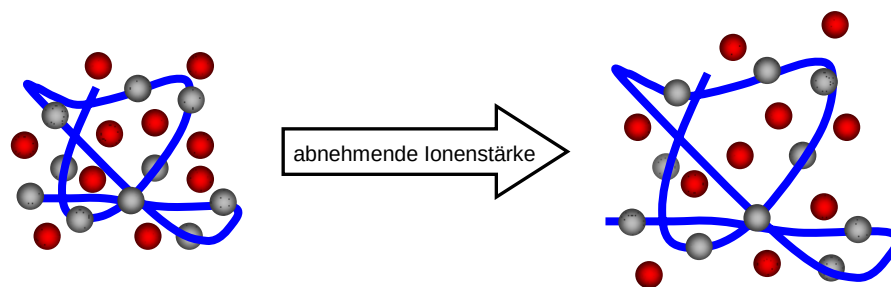
δ	Chemische Verschiebung
η	Viskosität
π	Osmotischer Druck
ϕ	Osmotischer Koeffizient
ξ	Ladungs-, Manning-Parameter
$[\theta]$	Molare Elliptizität pro Aminosäure
Ac	Acetyl
AFM	(engl.) atomic force microscopy
Ar	Argon
BOC	<i>N</i> -tert. Butoxycarbonyl-
c_c	Molare Gegenionenkonzentration
CD	Zirkulardichroismus (engl. circular dichroism)
<i>cmc</i>	kritische Mizellenkonzentration
c_s	Fremdsalzkonzentration
d	Dublett
DCM	Methylenchlorid
DIPEA	<i>N,N</i> -Di- <i>iso</i> -propylethylamin
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Et	Ethyl-
EtOH	Ethanol
FD	(engl.) field desorption
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl-
G0, G1, G2	nullte, erste und zweite Dendrimergeneration
GPC	Gelpermeationschromatographie
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HOBT	1-Hydroxy-1H-benzotriazol
k_B	Boltzmann-Konstante ($k_B = 1,280 \cdot 10^{23} \text{ J K}^{-1}$)
m	Multipllett
<i>M</i>	Masse
MALDI-TOF	(engl.) matrix-assisted laser desorption-ionisation time-of-flight
Me	Methyl-
M_n	Zahlengewichtete mittlere Molmasse (Zahlenmittel)
MS	Massenspektrometrie
M_w	Massengewichtete mittlere Molmasse (Massenmittel)
M_w / M_n	Polydispersität
N_A	Avogadro-Konstante ($N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$)

N_{Agg}	Aggregationszahl / -nummer
n. b.	nicht bestimmt/ nicht bestimmbar
NCA	<i>N</i> -Carboxyanhydrid
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
NMR	(engl.) nuclear magnetic resonance
PAA	Polyacrylsäure
PB	Poisson-Boltzmann
PBGlu	Poly(<i>O</i> ^γ -benzyl- <i>L</i> -glutamat)
PDI	Perylendiimid
PEL	Polyelektrolyt
Ph	Phenyl-
PLG	Poly(<i>L</i> -glutaminsäure)
PLL	Poly(<i>L</i> -lysin)
P_n	Polymerisationsgrad
ppm	(engl.) parts per million
PPP	Poly(<i>p</i> -phenylen)
PS	Polystyrol
PSS	Polystyrolsulfonat
PZLys	Poly(<i>N</i> ^ε -benzyloxycarbonyl- <i>L</i> -lysin)
q	Quartett
RI	Brechungsindex (engl. refractive index)
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SANS	Neutronenkleinwinkelstreuung (engl. small angle neutron scattering)
SLS	Statische Lichtstreuung
SPPS	Festphasensynthese (engl. solid phase peptide synthesis)
Std.	Stunden
<i>T</i>	Temperatur
t	Triplett
^t Bu	<i>tert.</i> -Butyl-
TFA	Trifluoressigsäure
TFAA ¹	Trifluoracetamid-Schutzgruppe
TFE	2,2,2-Trifluorethanol
TiPS	Tri- <i>iso</i> -propylsilyl-
UV/ Vis	Ultraviolett/ sichtbare Spektroskopie
Z	Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe
Z-Lys-NCA	<i>N</i> ^ε -Benzyloxycarbonyl- <i>L</i> -Lysin- <i>N</i> -Carboxyanhydrid

¹ Um Verwechslungen zu vermeiden, wird die Trifluoracetamidgruppe, welche in der Literatur mit TFA abgekürzt wird, hier mit TFAA beschrieben.

1 Einleitung und Motivation

Aminosäuren sind die Grundbausteine des Lebens. Sie sind die Monomereinheiten von Proteinen, die am Aufbau aller Lebewesen und an einer Vielzahl von Funktionen (Stoffwechsel, Immunabwehr u. a.) im Organismus beteiligt sind, ohne die kein Leben existieren könnte. Für Mensch und Tier sind Aminosäuren essentieller Bestandteil der Nahrung, da sie das Stickstoffgleichgewicht im Organismus gewährleisten. Um alle Prozesse, an denen Proteine beteiligt sind, erklären zu können, muss ihre Struktur vollständig verstanden werden. Die Schwierigkeiten, die damit verbunden sind, werden vom Aufbau der Proteine verursacht: In jedem Protein sind bis zu mehrere hundert Aminosäuren in genau festgelegter Reihenfolge (Sequenz) miteinander verknüpft. Gut die Hälfte der Sequenz bildenden Aminosäuren tragen einen Rest mit ionisierbarer Gruppe, so dass die Proteine zu der Substanzklasse der Polyelektrolyte (PEL) zu zählen sind. Das gleichzeitige Vorliegen von polymeren Eigenschaften und langreichweitigen Wechselwirkungen in PEL-Lösungen führt dazu, dass das Lösungsverhalten von Polyelektrolyten weitaus komplizierter ist als das ungeladener Polymere. So verursacht beispielsweise eine Variation der Ionenstärke in der Lösung eine Änderung der Konformation des Polymers. Eine abnehmende Ionenstärke und somit eine Zunahme der Debye-Länge hat auf Grund der langreichweitigen Natur der Coulomb-Kräfte eine stärkere intramolekulare Coulomb-Abstoßung der geladenen Gruppen zur Folge (Schema 1–1).



Schema 1–1 Knäuelaufweitung bei abnehmender Ionenstärke durch zunehmende intramolekulare Coulomb-Wechselwirkung.

Die Faszination, die diese Lösungseigenschaften auf Wissenschaftler ausüben, sowie die biologische Bedeutung von Polyelektrolyten haben in den letzten Jahrzehnten zu einer intensiven Erforschung der physikochemischen Eigenschaften dieser Substanzklasse geführt, ohne dass jedoch umfassende Erklärungen für das „außergewöhnliche“ Verhalten gefunden werden konnten. Die Eigenschaften von Proteinen werden aber nicht

ausschließlich vom PEL-Charakter bestimmt, sondern ferner von der Möglichkeit der Aminosäuren, unter anderem durch Wasserstoffbrückenbindungen, Strukturen höherer Ordnung auszubilden. Daher können neuartige Strukturen auf der Basis von *L*-Lysin eine interessante und wertvolle Hilfestellung zu einem besseren Verständnis von PEL in Lösung darstellen.

Mit dem komplexen Sachverhalt der Polyelektrolyteigenschaften in wässriger Lösung beschäftigt sich **Kapitel 2**. Dieses Kapitel gibt einen kurzen Überblick über den heutigen Stand der Forschung, wobei zunächst auf das für PEL charakteristische Phänomen der Gegenionenkondensation und seine Beschreibung durch das PB-Modell eingegangen wird. Im Anschluss wird anhand eines flexiblen PEL auf einige Charakterisierungsmethoden (z. B. Osmometrie, Streumethoden, Viskosimetrie) eingegangen. Da ferner Unterschiede in der Molekülarchitektur die physikochemischen Eigenschaften beeinflussen, werden im Verlauf des Kapitels Polyelektrolyte unterschiedlicher Topologie beschrieben.

In **Kapitel 3** werden ausgehend von aminfunktionalisiertem Oligostyrol über die ringöffnende Polymerisation von α -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden lineare Blockpolyelektrolyte aus einem hydrophoben Styrolsegment und einem hydrophilen Oligo(*L*-Lysin)-Block synthetisiert. Im Anschluss wird das Aggregationsverhalten dieser Knäuel-Knäuel-Diblockoligomere in wässriger Lösung anhand von einigen Streumethoden untersucht. Die treibende Kraft der Aggregation wird hierbei nicht wie in Stäbchen-Knäuel-Oligomeren von der unsymmetrischen Verteilung der Flexibilität induziert, sondern von unspezifischen hydrophoben Wechselwirkungen hervorgerufen, deren Einfluss anhand eines sehr kurzen Polystyrolsegmentes und eines in der Länge variierenden (*L*-Lysin)-Blocks ($N_{\text{Lys}} \approx 10 \dots 70$) untersucht wird.

Im darauf folgenden **Kapitel 4** werden sternförmige PEL-Strukturen charakterisiert. Als Kern wird ein von formpersistenten Polyphenylen-Dendronen umgebendes Perylendiimid verwendet. Dieser Farbstoff der Rylene-Klasse stellt auf Grund seiner chemischen und photochemischen Eigenschaften einen guten Ausgangspunkt für die Synthese von Fluoreszenzmarkern dar. Um biologische Vorgänge auf molekularer Ebene sichtbar machen zu können, sind allerdings zusätzlich eine gute Wasserlöslichkeit und die Möglichkeit der Komplexbildung, beispielsweise an Desoxyribonukleinsäuren (DNS), notwendig. Diese weiteren Eigenschaften werden durch das Anheften von *L*-Lysinketten mittels ringöffnender Polymerisation von α -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden eingebracht. Im Anschluss an die

Synthese wird anhand der optischen Eigenschaften (Fluoreszenz, UV/ VIS) überprüft, ob sich das System als Fluoreszenzmarker eignet.

Die mögliche Verwendung von *L*-Lysin-Dendrimeren u. a. als Trägermaterial für Multiple-Antigen-Peptide oder als nicht-chirale Vektoren in der Gentransfektion hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. In **Kapitel 5** wird ein Syntheseansatz beschrieben, der eine große Zahl neuartiger, verzweigter Poly(*L*-lysin)-Architekturen zugänglich macht, die für oben genannte Anwendungen von Interesse sein könnten. Das in **Kapitel 5** vorgestellte Synthesekonzept beruht auf der Polymerisation von dendritisch verzweigten Makromonomeren. Dieses Konzept ermöglicht einerseits durch radikalische Polymerisation den Zugang zu hochmolekularen PEL-Strukturen und eröffnet andererseits durch Variation von Dendrongröße und Molekulargewicht die Möglichkeit einer Manipulation der erhaltenen Strukturen. Aus diesem Grund werden zunächst drei Generationen an *L*-Lysin-Dendrimere aufgebaut, die in ihrem Fokus mit Vinylbenzylamin als polymerisierbarer Gruppe versehen werden. Anschließend werden die Polymerisationseigenschaften dieser Makromonomere unter variablen Bedingungen (Konzentration, Dendrimergeneration) getestet. Abschließend werden die entstandenen dendronisierten Polymere hinsichtlich Größe und Gestalt untersucht.

Abschließend wird in **Kapitel 6** eine kurze Zusammenfassung der in dieser Arbeit vorgestellten PEL-Architekturen gegeben.

2 Polyelektrolyte: Architektur und Lösungseigenschaften

2.1 Einleitung

Unter der Substanzklasse der Polyelektrolyte (PEL) werden Makromoleküle zusammengefasst, die eine große Zahl ionisierbarer Gruppen in der Polymerhaupt- oder -seitenkette tragen [1, 2]. Polyelektrolyte spielen sowohl in der Biochemie als auch in der Industrie eine bedeutende Rolle. Die bekanntesten natürlichen PEL sind Proteine und Nukleinsäuren wie DNS und RNS. In industriellen Anwendungsbereichen kommen synthetische Polyelektrolyte wie beispielsweise Polydiallyldimethylammoniumchlorid als Flockungsmittel in der Wasseraufbereitung, mit Alkylbisacrylamid kovalent vernetzte Acrylsäure/ Acrylsäureester-Copolymere als Superabsorber oder carboxylgruppenhaltige Copolymere auf der Basis von Methacrylester/ Methacrylsäure oder Vinylacetat/ Crotonsäure in der Pharmazie als Tablettenüberzug zum Einsatz [3, 4]. Trotz über fünfzigjähriger Forschungszeit ist es bisher nicht gelungen, die physikochemischen Lösungseigenschaften dieser Substanzklasse umfassend zu erklären [1, 3, 5-7]. Der Grund hierfür liegt in der spezifischen Kombination von polymeren Eigenschaften mit langreichweitigen elektrostatischen Wechselwirkungen, die nicht nur einer Superposition folgen (Abb. 2–1). Zusätzlich beeinflussen Unterschiede in der Flexibilität und der Molekülarchitektur die physikochemischen Eigenschaften, z. B. durch unterschiedliche Tendenzen zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen oder hydrophoben Wechselwirkungen.

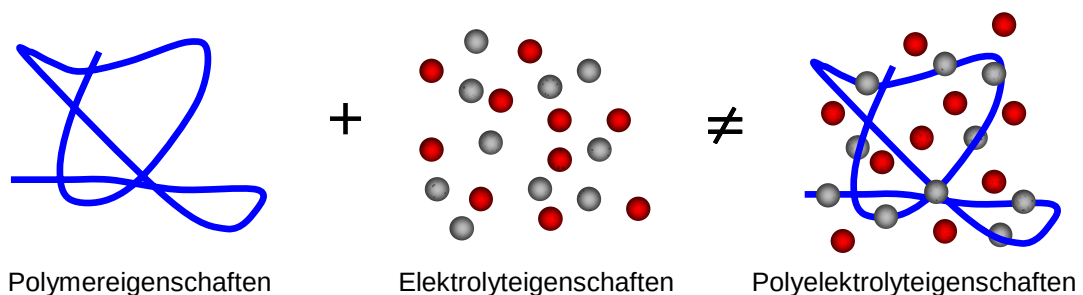


Abb. 2–1 Das PEL-Verhalten ist keine Superposition von polymeren und elektrolytischen Eigenschaften.

Die Klassifizierung von PEL kann nach verschiedenen Kriterien wie Herkunft (natürliche und synthetische), Zusammensetzung (Homo- und Copolymere), Molekülarchitektur (lineare, verzweigte oder vernetzte PEL) oder unter elektrochemischen Gesichtspunkten (Säure, Base, anionisch, kationisch usw.) erfolgen [1]. Mit Blickrichtung auf die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Strukturen ist dieses Kapitel nach dem Kriterium der Molekülarchitektur unterteilt.

2.2 Lineare Polyelektrolyte

Die architektonisch einfachsten Vertreter sind lineare PEL, in denen die Monomere zu einer langen Kette verknüpft sind. Der Polymerisationsgrad und die Zahl ionisierbarer Gruppen haben dabei in vielen Fällen die gleiche Größenordnung. In wässriger Lösung werden die physikalischen Eigenschaften stark von den niedermolekularen Gegenionen beeinflusst. Um eine Vielzahl dieser Eigenschaften erklären zu können, ist das Konzept der Gegenionenkondensation auf der Basis des Poisson-Boltzmann (PB)-Zellmodells entwickelt worden, welches nachfolgend kurz erläutert werden soll.

Poisson-Boltzmann (PB)-Zellmodell und Gegenionenkondensation

Um kolligative und thermodynamische Eigenschaften von Polyelektrolytlösungen quantitativ behandeln zu können, muss das elektrostatische Potenzial und damit die Verteilung der Gegenionen bekannt sein. Grundlage hierfür ist die PB-Gleichung (Gl.(2-1), eine nichtlineare Differentialgleichung 2. Ordnung, welche in Abhängigkeit von der Geometrie des betrachteten Körpers analytisch oder numerisch gelöst werden kann [8-12].

$$\left(\frac{d^2}{dr^2} + \frac{1}{r} \frac{d}{dr} \right) \left(\frac{e \varphi(r)}{k_B T} \right) = 4\pi\lambda_B n(r) \exp\left(\frac{e \varphi(r)}{k_B T} \right) \quad \text{Gl.(2-1)}$$

- $\varphi(r)$: elektrostatisches Potenzial
- e : Elementarladung
- k_B : Boltzmann-Konstante
- T : Temperatur
- λ_B : Bjerrum-Länge
- $n(r)$: lokale Gegenionenkonzentration

Dabei entspricht die Bjerrum-Länge λ_B dem Abstand zwischen zwei Punktladungen, bei dem die elektrostatische Wechselwirkungsenergie gleich der thermischen Energie ist.

$$\lambda_B = \frac{e^2}{4\pi \varepsilon_0 \varepsilon_r} \frac{1}{k_B T} \quad \text{Gl.(2-2)}$$

ε_0 : Permittivität des Vakuums
 ε_r : relative Permittivität

Das Zellmodell ist eine mögliche Näherung, mit der die theoretische Beschreibung der Wechselwirkungen einer PEL-Lösung von einem Vielteilchenproblem auf ein effektives Einteilchenproblem reduziert werden kann. Betrachtet wird also *eine* PEL-Kette in *einer* Zelle. Die Anwendung der PB-Theorie auf eine zylindrische Zellgeometrie führt zum PB-Zellmodell, in dem der PEL als ein unendlich langes Stäbchen angesehen wird, das sich in einem dreidimensionalen Feld parallel angeordneter zylindrischer Wigner-Seitz-Zellen befindet (Abb. 2–2) [8, 13].

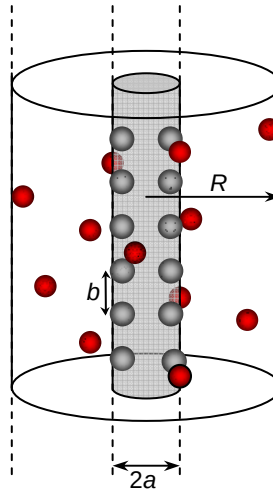


Abb. 2–2 Geometrie des Zellmodells, in dem das Makroion als unendlich langer Zylinder mit dem Radius a und dem Ladungsabstand b dargestellt ist. Das Makroion ist von einem zweiten Zylinder mit dem Radius R eingeschlossen.

Die analytische Lösung von Gl.(2-1) kann wie folgt beschrieben werden [8, 10, 14, 15].

$$\left(\frac{e \phi(r)}{k_B T} \right) = -2 \ln \left\{ \frac{r}{R} \sqrt{1 + \gamma^2} \cos \left(\gamma \ln \frac{r}{R_M} \right) \right\} \quad \text{Gl.(2-3)}$$

R : Zylinderradius
 γ, R_M : Integrationskonstanten

Im Rahmen der PB-Theorie wird der stäbchenförmige PEL durch den Ladungsparameter (Manning-Parameter) ξ

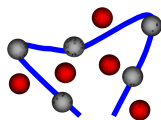
$$\xi = \frac{\lambda_B}{b}$$

Gl.(2-4)

b : Ladungsabstand auf der Polymerkette

charakterisiert, der auch zur Beschreibung des Phänomens der Gegenionenkondensation, auf das nachfolgend eingegangen wird, entscheidend ist. Energetisch betrachtet kann die unmittelbare Nähe einiger Gegenionen zum Makroion begünstigt sein, wodurch sich seine Ladung reduziert [3]. Experimentelle Untersuchungen unterstützen die Annahme, dass eine partielle Neutralisation von Ladungen das Überschreiten eines kritischen Ladungsparameters ξ_{krit} verhindert [16]. So wird für Gegenionen der Valenz ν oberhalb eines kritischen Schwellenwertes $\xi_{\text{krit.}} = 1/\nu$ eine Ladungsrenormalisierung beobachtet, womit gemeint ist, dass eine Erhöhung der Ladungsdichte über diesen Wert hinaus zu einer Bindung der Gegenionen führt, woraus eine konstante Nettoladungsdichte resultiert [2, 17, 18]. Physikalisch gesehen ist das Auftreten von Gegenionenkondensation auf die Konkurrenz zwischen dem Energiegewinn der Gegenionen durch elektrostatische Wechselwirkung und dem Entropieverlust in der freien Energie zurückzuführen. Anhand dieser Betrachtung wird deutlich, dass auch bei unendlicher Verdünnung ein Bruchteil der Gegenionen in der Nähe des Makroions zu finden ist, da der entropische Anteil am chemischen Potenzial immer geringer ist als der elektrostatische Anteil.

2.2.1 Flexible PEL



Flexible Makromoleküle sind in der Lage, eine Vielzahl von Konformationen einzunehmen, die ihre dreidimensionale Struktur bestimmen. Verantwortlich dafür sind verschiedene Parameter wie die chemische Zusammensetzung, die lokale Ordnung und die intra- und intermolekularen Wechselwirkungen. Die Faszination, die die PEL-Eigenschaften auf Wissenschaftler ausüben, ist für die intensive Forschung der letzten Dekade verantwortlich, so dass eine Vielzahl an Verfahren zur Herstellung von synthetischen PEL entwickelt worden sind. Gängige Syntheserouten stellen Eintopfmethoden wie die radikalische oder ionische Polymerisation, der schrittweise Aufbau (Polyaddition, -kondensation) sowie polymeranaloge Umsetzungen dar [3].

Da es auf Grund der Menge an flexiblen PEL schwierig ist, einen Überblick über alle bislang untersuchten Systeme zu geben, wird hier der Fokus auf die Problematik der physikalischen Eigenschaften in Lösung gelegt, welche anhand einiger Analysemethoden (Osmometrie,

Streuung, Viskosimetrie) an dem starken Polyelektrolyten ($\alpha = 1$) Polystyrolsulfonat (PSSNa) erläutert werden. Bei vollständiger Sulfonierung entspricht der Ladungsabstand der Länge einer Wiederholungseinheit und beträgt $b = 2,52 \text{ \AA}$ [19]. Daraus resultiert in Wasser bei Raumtemperatur ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) mit einer Bjerrum-Länge von $\lambda_B = 7,15 \text{ \AA}$ der Ladungsparameter $\xi = 2,84$.

Osmometrie

Für den osmotischen Druck als eine von der Teilchenzahl abhängige physikalische Eigenschaft ist eine direkte Abhängigkeit zur Gegenionenkonzentration ableitbar. In fremdsalzfreien Lösungen erfolgt auf Grund der Elektroneutralitätsbedingung keine Permeation der Gegenionen, so dass für verdünnte Lösungen ($c \rightarrow 0$) folgende Beziehung

$$\frac{\pi}{c} = \frac{RT}{M_n} (1 + Z) \quad \text{Gl.(2-5)}$$

π :	osmotischer Druck
c :	Polymerkonzentration
R :	universelle Gaskonstante
M_n :	zahlenmittlere Molmasse
Z :	Zahl an niedermolekularen Gegenionen

gültig ist [3]. In PEL ist $(1 + Z) \gg 1$, so dass eine osmotrische Bestimmung des Molekulargewichtes nicht möglich ist. Ist das Molekulargewicht hingegen bekannt, wird die Korrelation zwischen dem Makroion und seinen Gegenionen durch Messung des osmotischen Drucks π direkt ersichtlich. Seit den ersten Messungen an wässrigen Polyacrylsäure (PAA)-Lösungen ist bekannt, dass der experimentell bestimmte osmotische Druck deutlich geringer ausfällt als erwartet [20-22]. Die signifikante Reduktion der Aktivität der Gegenionen wird durch die Einführung des osmotischen Koeffizienten ϕ zum Ausdruck gebracht.

$$\phi = \frac{\pi}{\pi_{ideal}} \quad \text{Gl.(2-6)}$$

π :	osmotischer Druck
---------	-------------------

Hierbei entspricht der ideale osmotische Druck π_{ideal} dem berechneten Druck einer vollständig dissoziierten PEL-Lösung freier Gegenionen [1, 23].

Der experimentell ermittelte osmotische Koeffizient von fremdsalzfreien PSS-Lösungen ist Gegenstand einer Reihe von Veröffentlichungen. Unterhalb einer Gegenionenkonzentration von $c_c < 0,025 \text{ mol/L}$ ist der osmotische Koeffizient von NaPSS $\phi \approx 0,2$ [19, 24-28] und steigt darüber hinaus ($0,025 < c_c < 0,3 \text{ mol/L}$) leicht an [19, 24].

Eine systematische Studie über die Abhängigkeit des osmotischen Koeffizienten von der Art des Gegenions hat ergeben, dass dieser mit zunehmendem hydrodynamischen Radius der Alkalimetallionen abnimmt, während für quartäre Ammoniumsalze ein gegenläufiger Trend beobachtet wird [29]. Werden anstelle der einwertigen Alkaliionen zweiwertige Gegenionen untersucht, so bleibt der osmotische Koeffizient ϕ unterhalb von $c < 0,4 \text{ mol/L}$ konstant und nimmt je nach Ion Werte zwischen $0,10 < \phi < 0,18$ an. Bei höheren Konzentrationen folgt ein stärkerer Anstieg als im Fall der Alkalimetall-Gegenionen [26].

Bei Betrachtung aller veröffentlichten Messungen ist keine Übereinstimmung des osmotischen Koeffizienten von NaPSS zu verzeichnen. Die wahrscheinlichste Ursache sind die verschiedenen Bestimmungsmethoden wie Differential- [29], Membran- [27], oder Dampfdruckosmometrie [25] sowie die Gefrierpunktserniedrigung [19].

Das PB-Zellmodell ermöglicht einen Vergleich mit den experimentellen Daten, da aus der Berechnung der freien elektrostatischen Energie andere thermodynamische Größen wie der osmotische Koeffizient zugänglich werden [30]:

$$\phi = \frac{1 - \gamma^2}{2\xi} \quad \text{Gl.(2-7)}$$

Bei unendlicher Verdünnung geht die Integrationskonstante gegen Null ($\gamma \rightarrow 0$), so dass Gl.(2-7) für einwertige Gegenionen ($\nu = 1$) in das Grenzesetz von Manning übergeht [18].

$$\phi = \frac{1}{2\nu\xi} \quad \text{Gl.(2-8)}$$

Abb. 2–3 zeigt, dass die experimentell gefundenen Werte des osmotischen Koeffizienten von NaPSS im verdünnten Bereich ($c_c < 0,025 \text{ mol/L}$) zwischen denen des Manning-Limits ($\phi_{\text{Manning}} = 0,17$) und dem PB-Zellmodell ($\phi_{\text{PB-Zellmodell}} \approx 0,25$) liegen [28].

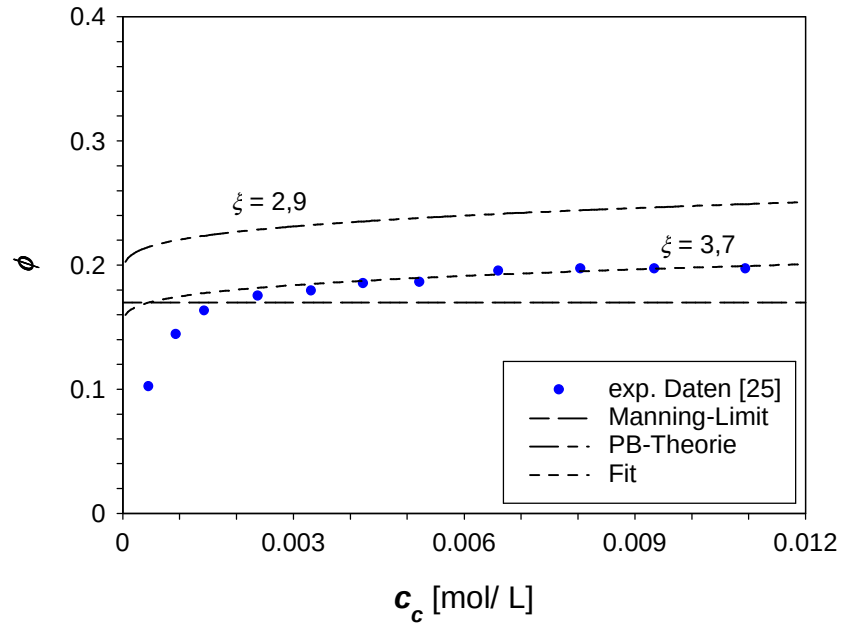


Abb. 2–3 Vergleich des gemessenen osmotischen Koeffizienten von NaPSS (bei 40 °C) mit den theoretisch erwarteten Werten [28].

Erklärt wird dieses Ergebnis mit der Einführung eines effektiven Ladungsparameters ξ_{eff} , welcher mit Hilfe von Abb. 2–4 veranschaulicht wird. Der Grund für den höheren effektiven Ladungsparameter ist in der lokalen Krümmung der flexiblen Hauptkette, durch die das Gegenion eine effektiv höher geladene Kette vor sich zu haben scheint, zu sehen. So führt eine Erhöhung des Ladungsparameters von $\xi = 2,9$ auf $\xi = 3,7$ zu einer halbquantitativen Beschreibung der Messergebnisse (Abb. 2–3).

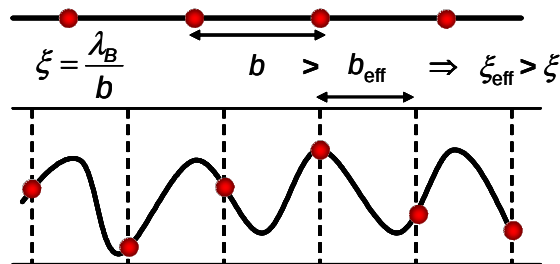


Abb. 2–4 Veranschaulichung des effektiven Ladungsparameter.

Streumethoden

Weitere Methoden, mit deren Hilfe wässrige Polyelektrolytlösungen charakterisiert werden können, sind die statischen Streumethoden (SLS [31, 32], SANS [33, 34], SAXS [35]) sowie die dynamische Lichtstreuung (DLS) [36].

Statische Streumethoden

Bei statischen Streuexperimenten wird die Winkelabhängigkeit der Streuintensität gemessen. Durch Normierung auf die Intensität des Primärstrahls und das Streuvolumen ergibt sich das Rayleigh-Verhältnis R_ϑ zu:

$$R_\vartheta = \frac{I_\vartheta}{I_0} = Kc P(q) S(c, q) \quad \text{Gl.(2-9)}$$

I_ϑ : Streuintensität in Abhängigkeit des Streuwinkels ϑ
 I_0 : Intensität des einfallenden Strahls
 K : Kontrastfaktor
 c : Massenkonzentration
 $P(q)$: Formfaktor
 $S(c, q)$: Strukturfaktor
 q : Streuvektor

Der Kontrastfaktor enthält die Zahl der streuenden Teilchen im Streuvolumen, deren Streukraft sowie apparative Konstanten. Der Formfaktor $P(q)$ wird durch den intrapartikulären Anteil an den Interferenzmustern verursacht und enthält deshalb Informationen über die Form der streuenden Teilchen. Der Strukturfaktor $S(c, q)$ wird hingegen von interpartikulären Interferenzen hervorgerufen und beschreibt die relative Anordnung der Streuteilchen zueinander. Demnach ist die Bestimmung des Formfaktors von wässrigen fremdsalzfreien PEL-Lösungen möglich, wenn nicht miteinander wechselwirkende einzelne Ketten untersucht werden ($S(c, q) = 1$). Dies wird durch Verwendung geringer Polymerkonzentrationen erreicht, die aber in den meisten Fällen sehr geringe Intensitäten zur Folge haben. Streuversuche an hochmolekularer Polystyrolsulfonsäure (HPSS) zeigen, dass die Ketten keine gestreckten Konformation annehmen [37], was für hochgeladene PEL auf Grund der starken elektrostatischen Abstoßung zwischen den Ladungen einer Kette angenommen wird. Eine qualitative Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie wird hingegen mit neueren Vorhersagen aus analytischen Berechnungen [38] und molekular-dynamischen Simulationen gefunden [39].

In Anwesenheit von intermolekularen Wechselwirkungen ist der Strukturfaktor ungleich Eins und die Streukurven weisen in Abhängigkeit des Streuvektors q ein oder mehrere Maxima auf (Abb. 2–5). Das Maximum verschiebt sich mit zunehmender NaPSS-Konzentration hin zu größeren q -Werten ($q_{\max} \sim c^{0,36}$) (Abb. 2–5) [37, 40–42], so dass für den Bereich von $10 < c_P < 100$ g/ mL die Röntgen- oder Neutronenkleinwinkelstreuung angewendet werden muss [42–46].

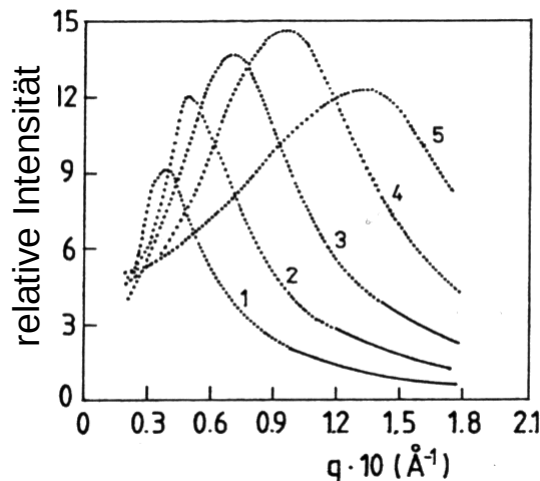


Abb. 2–5 SAXS-Kurven von NaPSS ($M_w = 7,4 \times 10^4$ g/ mol) bei verschiedenen Konzentrationen [g/ mL]: (1) $c = 0,01$, (2) $c = 0,02$, (3) $c = 0,04$, (4) $c = 0,08$ und (5) $c = 0,16$ [41].

Eine Erhöhung der Ionenstärke durch Zusatz von niedermolekularem Salz hat ein Abflachen der Kurven zur Folge. Im Extremfall kann dies zu einem Verschwinden des Maximums führen. Diese Abhängigkeit von der Ionenstärke bestätigt, dass die Existenz des Signals auf elektrostatische Wechselwirkungen zurückzuführen ist. Im Gegensatz zur Salzzugabe, die keinen Einfluss auf die Position des Maximums hat [41, 47], verursacht eine Variation der Ladungsdichte eine Positionsänderung. Für schwache PEL wird mit zunehmendem Ladungsparameter eine Verschiebung der Maximumposition zu höheren q -Werten beobachtet, die sich nach dem Überschreiten eines kritischen Wertes ξ_{krit} nicht weiter ändert [46]. Für NaPSS wird eine solche Analyse durch Variation des Sulfonierungsgrades möglich und weist das gleiche Verhalten auf [48].

Dynamische Lichtstreuung

Mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung ist eine systematische Untersuchung der Diffusion eines PEL in Abhängigkeit des Ladungsparameters ξ , der Ionenstärke und des mittleren Abstandes der Polyionen zueinander möglich. Die im Folgenden aufgeführten Experimente

finden in einem Konzentrationsbereich statt, in welchem der Strukturfaktor in statischen Lichtstreuemessungen kein Maximum besitzt ($c_P > 5 \text{ g/L}$).

Für schwache PEL ist der Ladungsparameter durch verschiedene Neutralisationsgrade variabel. Im Fall von Polymethacrylsäure wird bis zu einem Neutralisationsgrad von $\alpha \approx 0,6$ eine Zunahme des Diffusionskoeffizienten beobachtet, während darüber hinaus keine Veränderung mehr auftritt [49]. Dieser Übergang ist durch das Phänomen der Gegenionenkonensation (siehe Kapitel 2.2) begründet: Wird der kritischen Schwellenwert ξ_{krit} überschritten, bleiben die Ladungsdichte und somit der Diffusionskoeffizient konstant.

Die Abhängigkeit der Diffusion von der Ionenstärke ist für semi-verdünnte NaPSS-Lösungen über einen weiten Salzkonzentrationsbereich untersucht worden [50]. In Abb. 2–6 ist die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten einer wässrigen Lösung von der Salzkonzentration für drei Molekulargewichte aufgezeigt. Ist die Fremdionenkonzentration geringer als die der freien Gegenionen ($c_s \leq 10^{-4} \text{ mol/L}$), werden sehr hohe und konstante, vom Molekulargewicht ($10^4 < M < 10^6 \text{ g/mol}$) unabhängige Werte für den Diffusionskoeffizienten erhalten [51]. Sind alle Ladungen abgeschirmt ($c_s \geq 0,1 \text{ mol/L}$), streben die Diffusionskoeffizienten stabile Werte im Bereich neutraler Polymere vergleichbaren Molekulargewichts an, wobei kleinere Molekulargewichte größere Diffusionskoeffizienten besitzen. Dazwischen nimmt der Diffusionskoeffizient mit zunehmender Salzkonzentration umso stärker ab, je größer das Molekulargewicht ist.

In salzfreier Lösung ist der Diffusionskoeffizient von NaPSS ($M_w = 10^5 \text{ g/mol}$) oberhalb von $c_P > 0,5 \text{ g/L}$ unabhängig von der Polymerkonzentration, während darunter ein starker Abfall beobachtet wird ($0,1 < c_P < 0,5 \text{ g/L}$) [52]. Das deutet darauf hin, dass die (kollektive) Diffusion einzelner Kettensegmente der Diffusion der gesamten Kette entspricht. Im Gegensatz dazu wird bei hoher Salzkonzentration ein ähnliches Verhalten wie bei neutralen Polymeren gefunden [53–55]: In verdünnten Lösungen ist der Diffusionskoeffizient schwach von der Konzentration, aber stark vom Molekulargewicht abhängig. Oberhalb der Überlappungskonzentration c^* ($c > c^*$) wird eine deutlich größere Abhängigkeit von der Konzentration ($D \sim c^{0,75}$) sichtbar, während das Molekulargewicht keine Bedeutung mehr hat. Für kleine Konzentrationen durchläuft der Diffusionskoeffizient in Abhängigkeit des Winkels $D(q)$ ein Minimum [40, 56]. Die Lage des Minimums q_{min} ist dabei proportional zur Wurzel der Konzentration ($q_{\text{m}} \sim c^{0,5}$).

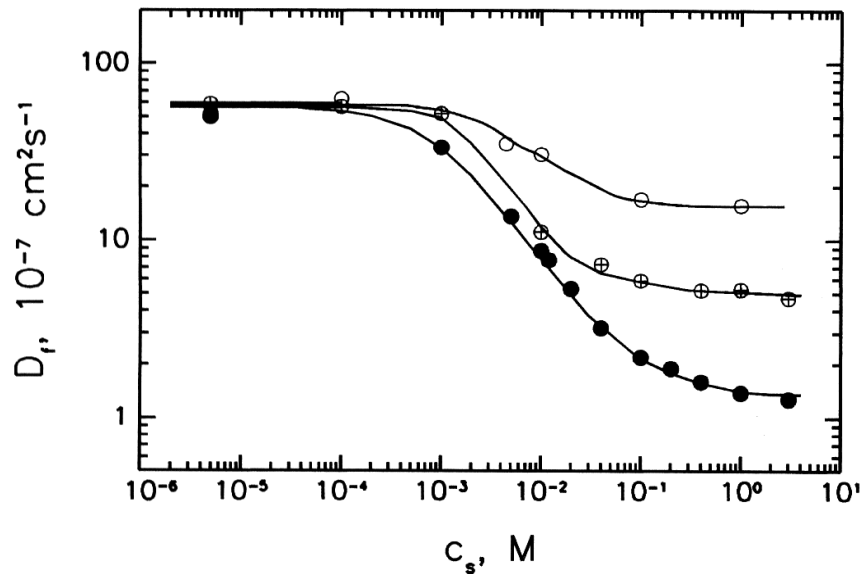


Abb. 2–6 Die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von der Fremdsalzkonzentration (NaCl) ist für drei verschiedene Molekulargewichte ($M_w = 5000$ (○), $M_w = 47000$ (⊕), $M_w = 1200000$ (●)) dargestellt [50].

Viskosimetrie

Durch Lösen eines Polymers in einem geeigneten Lösungsmittel steigt die Viskosität der Lösung η gegenüber der des reinen Solvents η_0 schon bei geringen Polymerkonzentrationen an. Im Gegensatz zu neutralen Polymeren, die eine lineare Abhängigkeit der reduzierten Viskosität $\eta_{\text{red}} = \eta_{\text{sp}}/c$ mit zunehmender Konzentration aufweisen, durchlaufen fremdsalzfreie NaPSS-Lösungen ($10^{-6} < c_p < 10^{-3}$ g/ mL) ein ausgeprägtes Maximum (Abb. 2–7) [57]. Der Anstieg der reduzierten Viskosität mit abnehmender Polymerkonzentration wird als Polyelektrolyteffekt bezeichnet. Die Erklärung dieses Phänomens führt in der Literatur zu kontroversen Diskussionen [7, 58-60]. Ein Erklärungsansatz sieht das ungewöhnliche Verhalten als Konsequenz von elektrostatischen Effekten [61-64], während ein anderer Ansatz über die Änderungen im hydrodynamischen Volumen der Ketten geht [65-67]. Dieser zweite Erklärungsversuch berücksichtigt genau wie ein quantitativer Lösungsansatz [68] nicht den Abfall der reduzierten Viskosität in stark verdünnten Lösung. Der theoretischen Beschreibung liegt das Einsteinsche Viskositätsgesetz zugrunde in das die Makroion-Gegenion-Assoziationen eingearbeitet wurden. Im Konzentrationsbereich oberhalb von $c_p > 10^{-3}$ mol/ L stimmen experimentelle Daten und berechnete Kurven gut überein.

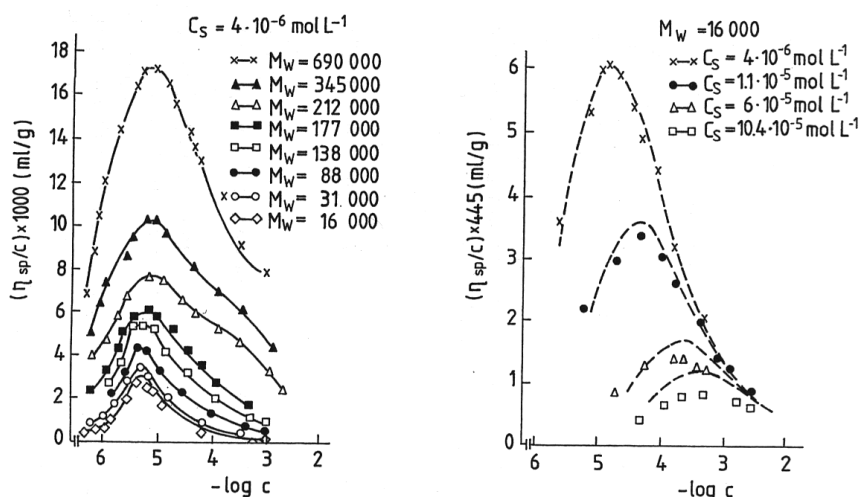


Abb. 2–7 Reduzierte Viskosität [$\times 1000 \text{ mL/g}$] gegen den negativen Logarithmus der Konzentration [g/mL]. **links:** für fremdsalzfreie PSSNa-Lösungen verschiedenen Molekulargewichts; **rechts:** für verschiedene Salzkonzentrationen einer NaPSS-Lösung ($M_w = 16000 \text{ g/mol}$) [61].

Die Position des Maximums erweist sich unterhalb einer Temperatur von $T < 27^\circ \text{C}$ als unabhängig vom Molekulargewicht (Abb. 2–7). Oberhalb dieser Temperatur verschiebt sich die Position des Maximums linear ansteigend mit dem Molekulargewicht, wobei dieser Effekt mit zunehmender Temperatur stärker ausgeprägt ist [64]. Unabhängig von der Temperatur nehmen die absoluten Werte mit steigendem Molekulargewicht zu (Abb. 2–7) [61].

Wird zu einer Lösung monovalentes Salz (z. B. NaCl) gegeben, verschiebt sich die Lage des Maximums mit zunehmender Salzkonzentration in dem Maß zu höheren Konzentrationen, dass das Verhältnis c_p/c_s im Maximum konstant bleibt [57, 61]. Insgesamt wird eine Abnahme der reduzierten Viskosität mit steigender Salzkonzentration festgestellt. Das Maximum der reduzierten Viskosität ändert sich unabhängig von der vorliegenden Salzkonzentration linear mit dem Molekulargewicht, was auf eine gut durchspülte, nicht kettensteife Struktur hindeutet.

Für stark verdünnte Lösungen ($c_p < 10^{-5} \text{ g/mL}$) nimmt die reduzierte Viskosität linear mit steigender Polymerkonzentration zu [62, 63] und erlaubt eine Bestimmung der Grenzviskosität $[\eta]$ durch Extrapolation von $c \rightarrow 0$. Die Grenzviskosität $[\eta]$ steigt linear mit dem Molekulargewicht an, während die Huggins-Konstante k_H nach Analyse der Huggins-Beziehung

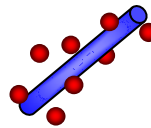
$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_H [\eta]^2 + \dots \quad \text{Gl.(2-10)}$$

$[\eta]$: intrinsische Viskosität
 k_H : Huggins-Konstante

einen gegenläufigen Trend besitzt. Für kleine Molekulargewichte ist die Grenzviskosität deutlich höher als für gestreckte, stäbchenähnliche Moleküle vorhergesagt und die Huggins-Konstante nimmt Werte oberhalb von Hundert an. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass in unendlich verdünnten Lösungen das Verhalten entweder von langreichweitigen Coulomb-Wechselwirkungen oder der Bildung von großen solvatisierten Clustern beherrscht wird.

Eine Erhöhung der Valenz des Gegenions ν verschiebt das Maximum der reduzierten Viskosität hin zu höheren PEL-Konzentrationen, während der Absolutwert abnimmt [62, 63].

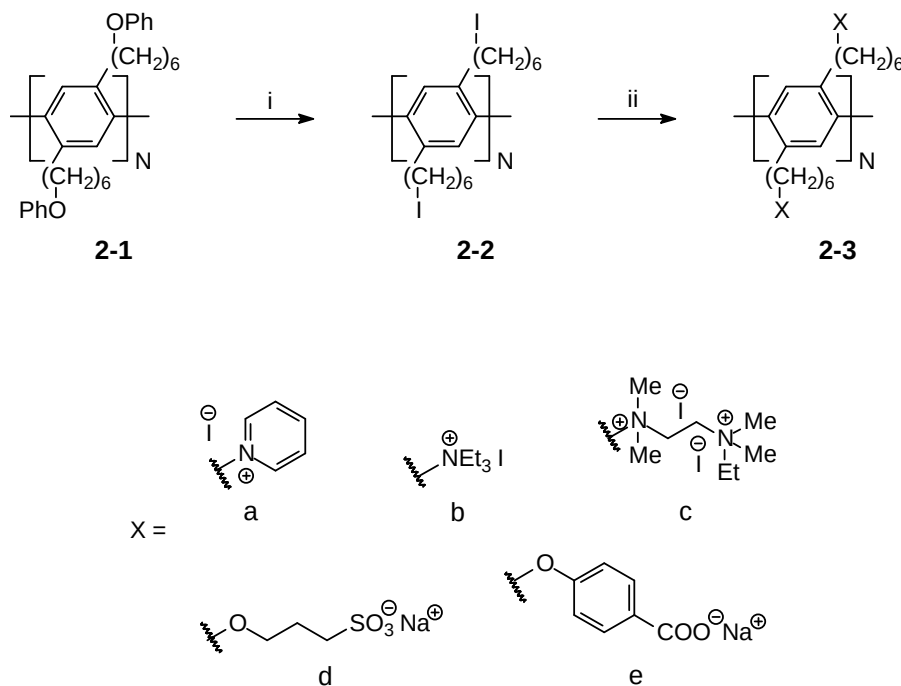
2.2.2 Kettensteife Polyelektrolyte



Trotz langjähriger Forschung konnte die Beziehung zwischen Struktur und Eigenschaften von Polyelektrolyten (PEL) bislang noch nicht vollständig aufgeklärt werden [1, 5, 7, 69]. Das gleichzeitige Auftreten von intra- und intermolekularen Wechselwirkungen macht die Untersuchung der Lösungseigenschaften von PEL schwierig. Die Verwendung von konformativ steifen, stäbchenförmigen PEL ermöglicht durch den Ausschluss konformativer Effekte (z.B. keine Abhängigkeit der Konformation von der Ionenstärke) die Untersuchung der intermolekularen Wechselwirkungen auf die Lösungseigenschaften. Diese Überlegungen treffen auch auf natürlich vorkommende nahezu kettensteife und somit stäbchenförmige PEL zu, so dass eine Vielzahl von Untersuchungen an DNS [44, 69-75], Xanthan [76-79] sowie Ferredoxin- [80, 81] und dem Tabak-Mosaik-Virus [47, 82-85] durchgeführt wurden. Synthetische Polymere erlauben umfassende Untersuchungen des Lösungs- und Phasenverhaltens, da sie im Gegensatz zu den nahezu kettensteifen, natürlichen PEL gegenüber äußeren Einflüsse (pH, T) und chemischen Abbaus stabil sind.

Synthesestrategie

Anfang der 80er Jahre wurden die ersten synthetischen kettensteifen PEL basierend auf Poly(*p*-phenylenbenzobisoxazol (PBO) und -benzobisthiazol (PBT) [86-89]) veröffentlicht, welche eine schlechte Löslichkeit in gängigen Solvenzien besitzen. Begründet ist dies im Fehlen der treibenden Kraft für Löse- und Schmelzvorgänge von Polymeren - dem Entropiegewinn durch Konformationsänderungen [90]. Um die Löslichkeit zu erhöhen, sind in der vergangenen Dekade verschiedene Precursor-Routen für die Synthese von Poly(*p*-phenylen) (PPP) entwickelt worden [91-97]. Dabei werden die Vorteile des Einbaus löslichkeitsvermittelnder Seitenketten [90, 98] und der Palladium-katalysierten Aryl-Aryl-Kupplung (Suzuki-Kupplung) [99-101] genutzt. Der Erfolg dieser Synthesestrategie



Im Gegensatz zu den anionischen PEL **2-3d** und **2-3e** sind die kationischen Polyelektrolyte **2-3a** bis **2-3c** sowohl in polaren organischen als auch in wässrigen Medien löslich [91, 97]. In Wasser wird das unpolare Innere der zylinderförmigen Stäbchen von einer Hülle hydrophiler, kationischer Gruppen umgeben, die die intermolekularen hydrophoben Wechselwirkungen verhindern. Im Fall der anionischen PEL ist die umgebende hydrophile Hülle auf Grund des größeren Abstandes zwischen Hauptkette und Elektrolytfunktionalität nicht ausreichend, so dass sie in Wasser unlöslich sind [94]. Ebenfalls in Wasser unlöslich sind analoge kationische PEL, in denen nur jede zweite Wiederholungseinheit eine ionische Gruppe trägt.

Werden die unpolaren Alkyl-Seitenketten gegen Oligoethylenoxid-Spacer ausgetauscht, wird eine Löslichkeit erreicht, die wasserlösliche Precursor zugänglich macht und das unpolare Rückgrat besser abschirmt [103]. Andererseits muss die Ether-Spaltung als Schlüsselschritt der Überführung des Precursors **2-1** in PEL umgangen werden. Daher werden *tert.* Amine

als Precursor-Funktionalitäten eingesetzt, welche anschließend einfach durch Behandeln mit niedermolekularen Alkylhalogeniden in PEL überführt werden. In Abb. 2–8 ist die allgemeine Struktur dieser kationisch geladenen PEL **2-4** dargestellt. Für $R = H$ kann der Protonierungsgrad des Polymers mit Hilfe von ^1H -NMR-Spektroskopie oder Potentiometrie ermittelt werden.

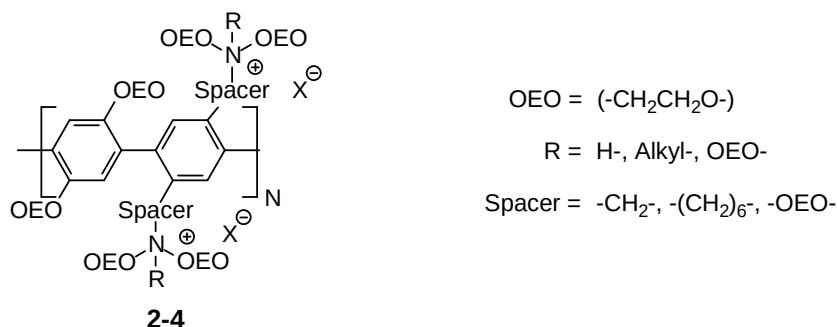


Abb. 2–8 Allgemeine Darstellung eines kationischen PEL mit Oligoethylenoxidketten [103].

In Abb. 2–9 sind noch einige weitere kettensteife PEL vorgestellt. Die wasserlöslichen PEL der Art **2-5** sind für mögliche Anwendungen auf dem Gebiet von lumineszierenden Materialien entwickelt worden [104, 105]. Für einen Einsatz als Chemosensoren werden die Poly(*p*-phenylen-ethynylene) **2-6** untersucht [106].

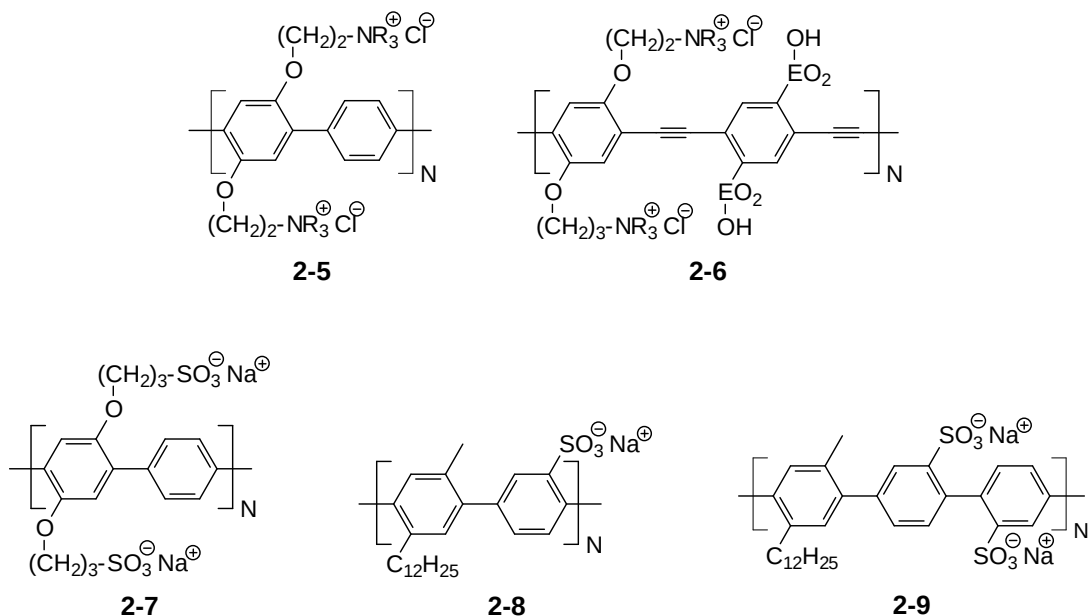


Abb. 2–9 Strukturformeln einiger kettensteifer, wasserlöslicher PEL.

Fortschritte auf dem Gebiet der Synthese anionischer PEL ermöglichen die Herstellung des in Abb. 2–9 gezeigten PPP **2-7** in wässriger Lösung [107, 108]. Ferner sind über die Precursor-Route einige anionische PEL der Strukturen **2-8** und **2-9** hergestellt worden [96, 109-112], die sich durch ihre langen aliphatischen Seitenketten zu wohl definierten zylinderförmigen Mizellen organisieren und Studien über das Assoziationsverhalten von amphiphilen stäbchenförmigen PEL ermöglichen [111, 113].

Lösungseigenschaften

Auf die Lösungseigenschaften von **2-3b** wird im Folgenden etwas näher eingegangen, da es sich hierbei um den wohl am gründlichsten untersuchten kettensteifen PPP-PEL handelt. Die Polyelektrolyte auf der Basis des unflexiblen Poly(*p*-phenylen)-Rückgrates besitzen eine Persistenzlänge von $l_p = 20$ nm [114] und ermöglichen auf diese Weise von der Konformation unabhängige Untersuchungen.

Elektrische Doppelbrechung

Die elektrisch induzierte Doppelbrechung der PEL-Lösungen von **2-3b** nimmt gemäß dem Kerr'schen Gesetz [115]

$$\Delta n = cKE^2 \quad \text{Gl.(2-11)}$$

Δn : Doppelbrechung
 K : Kerr-Konstante
 E : Feldstärke

mit dem Quadrat der Feldstärke zu [116]. Die Kerr-Konstante ist hierbei sowohl von der optischen Anisotropie des Moleküls, welche eine Funktion der Kettenlänge ist, als auch von der Anisotropie der elektrischen Polarisierbarkeit abhängig. Die Anisotropie der elektrischen Polarisierbarkeit ist für PEL sehr hoch, woraus ein hohes Maß an Ordnung in einem elektrischen Feld resultiert. Zurückgeführt werden kann diese Beobachtung auf die leichte Verschiebbarkeit der Gegenionen relativ zu der der Makroionen [117, 118]. Die elektrische Doppelbrechung von **2-3b** wächst bei zunehmender Kettenlängen ($P_n = 20, 40$ und 65) an, ohne dabei eine Abhängigkeit von der Polymerkonzentration aufzuweisen [116]. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass unter gegebenen Umständen weder Aggregation auftritt noch signifikante intermolekulare Wechselwirkungen vorliegen. Der Zusatz von Fremdsalz führt oberhalb einer bestimmten Salzkonzentration zu einer Abnahme der elektrischen Doppelbrechung. Dabei ist nur die Valenz des Fremdsalzes von Bedeutung. Das gleiche Verhalten wird für die elektrische Leitfähigkeit beobachtet und entweder mit

einer mit der Ionenstärke zunehmenden Gegenionenkonsolidation oder einer stärker an das Polyion gebundenen Ionenwolke begründet. In beiden Erklärungsansätzen wird der Anteil der Ionenwolke an der Konduktivität reduziert, so dass davon ausgegangen werden kann, dass auch die Anisotropie der elektrischen Polarisierbarkeit im großen Maße von den Ionen der Ionenwolke bestimmt wird.

Osmotischer Koeffizient

Der experimentell ermittelte osmotische Koeffizient ϕ von **2-3b** bleibt über einen Konzentrationsbereich von $10^{-3} \leq c_c \leq 10^{-2}$ mol/L nahezu konstant [119]. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den einzigen bekannten Untersuchungen des osmotischen Koeffizienten an kettensteifen PEL, den Experimenten an wässrigen DNS-Lösungen [70]. Die Art des Gegenions hat keinen Einfluss auf das Verhalten, wohl aber auf die Absolutwerte des osmotischen Koeffizienten ($\phi \approx 0,18$, $\phi_{Cl} \approx 0,16$). Diese Sensibilität bezüglich der Art des Gegenions weist auf eine spezifische Wechselwirkung zwischen dem Makroion und den Gegenionen hin, welche im Poisson-Boltzmann (PB)-Zellmodell für ein zylindrisches Makroion [23, 120] vernachlässigt werden [121]. Ansonsten liegen die gefundenen Werte unterhalb derer, die nach dem PB-Modell erwartet werden. Eine theoretische Erhöhung des Ladungsparameters von $\xi = 3,4$ auf $\xi = 3,8$ lässt, wie im Fall von DNS-Lösung, eine halbquantitative Beschreibung nach dem PB-Modell zu [119]. Die Unterschiede zwischen Theorie und Praxis können auf die Vereinfachungen im PB-Zellmodell, wie der Vernachlässigung der Ion-Ion Korrelation [14, 122, 123], den spezifischen Wechselwirkungen zwischen Makroion und Gegenionen [124-127] sowie auf eine lokal variierende Permittivität [128] zurückgeführt werden.

Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS)

Mit Hilfe von Röntgenkleinwinkelstreuung wird die Verteilung der Gegenionen um das Makroion bestimmt [129, 130]. Das Kohlenwasserstoff-Rückgrat weist in Wasser eine geringe Exzess-Elektronendichte auf. Durch Variation des Gegenions (Chlorid, Iodid) ändert sich der Kontrast deutlich. Im Fall von Iodid wird die Korrelation mit dem Makroion leicht sichtbar, da Iodidionen in Wasser einen starken Kontrast besitzen. Dahingegen liegt der Kontrast der Chloridionen im Bereich von Wasser, so dass der beobachtete Effekt vom Makroion herrührt. Mit Abb. 2–10 wird deutlich, dass die Gegenionenverteilung der Iodidionen von **2-3b** in unmittelbarer Nähe des Makroions nicht von der Konzentration und somit der Zellgröße beeinflusst wird. Weiterhin haben das Molekulargewicht und die Art des Gegenions keinen Einfluss auf deren Verteilung. Die experimentell bestimmte

Gegenionenverteilung weist eine gute Übereinstimmung mit den Vorhersagen des PB-Zellmodells auf. Untersuchungen an **2-3c** zeigen jedoch, dass die Kongruenz mit zunehmendem Ladungsparameter ($\xi = 6,8$) sinkt.

Aussagen über den intermolekularen Abstand der Makroionen zueinander werden durch konzentrationsabhängige Fremdsalzmessungen gewonnen und stimmen ebenfalls mit den Werten des PB-Modells überein.

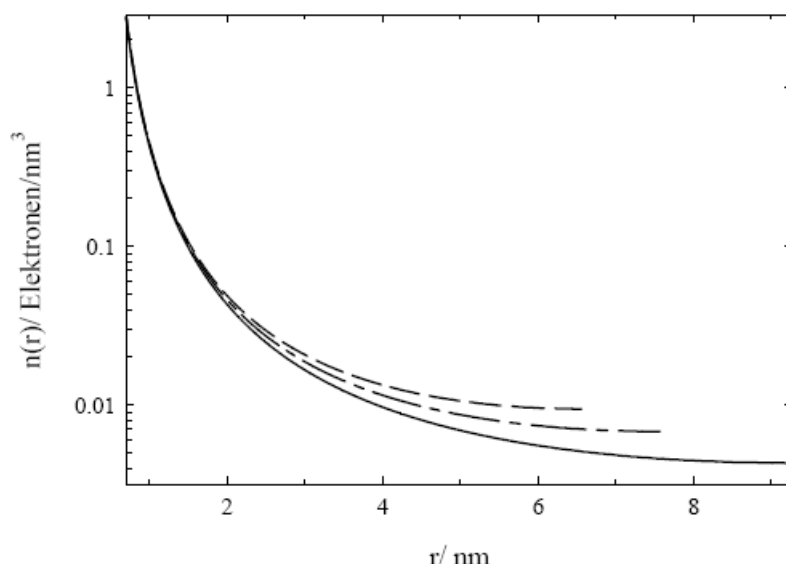


Abb. 2–10 Gegenionenverteilung $n(R)$ für **2-3b** mit Iodidionen bei verschiedenen Volumenbrüchen des PEL in Wasser: (—) $\phi = 0,008$, (— — —) $\phi = 0,012$, (— — —) $\phi = 0,015$ [131].

Anhand der Ergebnisse zeigt sich, dass die Röntgenkleinwinkelstreuung sensitiv auf die Ionen in unmittelbarer Nähe des Makroions ist. Somit ist für eine möglichst exakte Beschreibung der Gegenionenverteilung eine Kombination aus SAXS und Osmometrie geeignet, denn mit Hilfe von osmometrischen Messungen wird die Zahl der Ionen auf der Zellgrenze bestimmt.

Viskosimetrie

Der Huggins-Plot von **2-3b** zeigt in reinem Wasser ein ausgeprägtes Maximum bei einer Polymerkonzentration von $c_P = 5 \cdot 10^{-6}$ g/ mL, welches mit zunehmender Ionenstärke abflacht und sich zu größeren Polymerkonzentrationen hin verschiebt [132, 133]. Für hohe Fremdsalzkonzentrationen (z. B. $c_S(\text{NEt}_4^+ \text{I}^-) = 0,01$ g/ mL) wird eine lineare Abhängigkeit der reduzierten Viskosität η_{sp}/c_P von der Polymerkonzentration c_P gefunden. Auf diese Weise wird eine intrinsische Viskosität $[\eta]$ ermittelt, welche in guter Übereinstimmung zu der des

zugehörigen Precursors steht und so die Annahme untermauert, dass keine Änderungen des Polymerisationsgrades durch die Überführung des ungeladenen Precursors **2-1** in einen PEL auftreten. Im Vergleich zu flexiblen PEL vergleichbarer Kettenlänge und Ladungsdichte ist der beobachtete Polyelektrolyteffekt deutlich ausgeprägter.

2.2.3 Diblockpolyelektrolyte

Blockpolyelektrolyte vereinen strukturelle Eigenschaften von Polyelektrolyten, Blockcopolymeren und oberflächenaktiven Substanzen. Sie durchlaufen in selektiven Solvenzien, analog den niedermolekularen Tensiden [134, 135], oberhalb der kritischen Mizellenkonzentration (*cmc*) eine Mikrophasenseparation, in der die unlöslichen Blöcke einen Kern ausbilden und von einer Schale aus hydrophilen Segmenten umgeben sind. Dieses Verhalten wird durch das Bestreben des Systems, in den thermodynamisch stabilsten Zustand zu gehen, verursacht. Die Minimierung der Freien Energie A wird durch die Grenzflächenspannung und die Energie, die benötigt wird, die Polymerketten zu strecken, beeinflusst. Damit ergeben sich drei Parameter, mit denen auf die Größe einer Mizelle Einfluss genommen werden kann: der Polymerisationsgrad des löslichen Blocks N_A und des unlöslichen Blocks N_B , die relative Blocklänge und der Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameter χ . Im Minimum der Freien Energie liegt ein Gleichgewichts-Verzweigungsabstand b (engl. grafting-distance) vor, der den Abstand zweier benachbarter Blöcke an der Kern-Schale-Grenzfläche beschreibt (Abb. 2–11 links). Der Verzweigungsabstand hängt dabei sowohl von den Blocklängen als auch von der Salzkonzentration ab.

In Abhängigkeit der relativen Blocklängen werden zwei Arten von Mizellen unterschieden: In „Crew-Cut“-Mizellen ist der den Kern bildende unlösliche Block deutlich länger als das lösliche Segment, welches die umgebende Korona bildet ($N_B \gg N_A$). In Stern-Mizellen hingegen herrschen umgekehrte Verhältnissen ($N_B \ll N_A$).

Zur Beschreibung der Struktur einer Mizelle sind daher zusätzlich sowohl der Kernradius R_K , als auch der Mizellenradius R_M notwendig. In Abb. 2–11 (rechts) ist das Dichteprofil einer Mizelle dargestellt [136]. Der Kern entspricht einer homogenen Zusammensetzung des unlöslichen Blocks. Für hydrophobe Blöcke in wässriger Lösung ist der Volumenbruch des Kerns $\phi_K \approx 1$. Die Schale quillt durch das Eindringen von Solvent auf und nimmt bei Stern-Mizellen typischerweise radial ab ($\phi(R) \sim R^{-a}$). In Polyelektrolyt-Mizellen wird in Abhängigkeit der Dichte der Schale der äußeren Peripherie ein hydrodynamischer Radius R_H gefunden, der größer als der Mizellenradius ist ($R_H \geq R_M$).

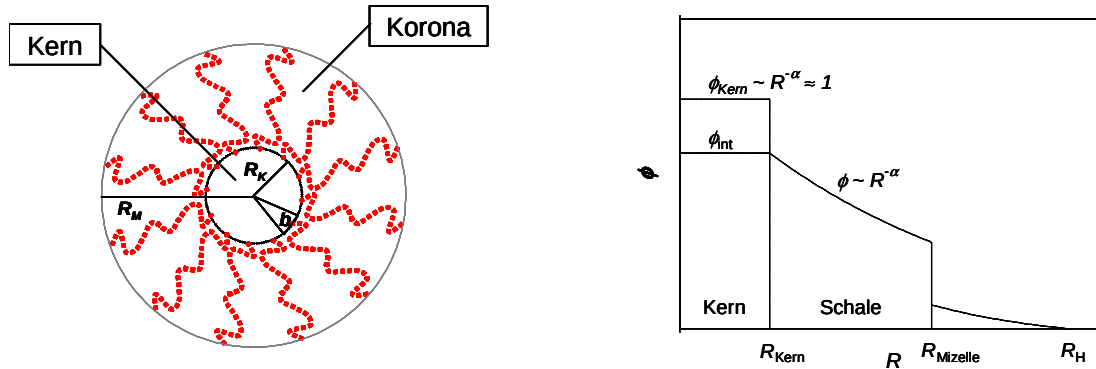


Abb. 2-11 Schematische Darstellung einer Mizelle mit ihren charakteristischen Größen: Kernradius R_K , Mizellenradius R_M und Verzweigungsabstand b . **rechts:** schematischer Verlauf des Dichteprofiles als Funktion des Radius R einer Mizelle (ϕ : Volumenbruch) [136].

Für kugelförmige Mizellen besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Kernradius R_K und der Aggregationsnummer N_{agg} , [137-141].

$$N_{agg} = \frac{4\pi R_K^2}{b^2} \quad \text{Gl.(2-12)}$$

Als typische Vertreter eines anionischen und eines kationischen Blockpolyelektrolyten sind Polystyrol-*b*-Polynatriumacrylat (PS-*b*-PANa) [142, 143] und Polystyrol-*b*-Poly(4-vinylpyridium-ethylbromid) (PS-*b*-P4VP.EtBr) [144] zu nennen. Die erste systematische Untersuchung an PEL-Blockcopolymeren mit einem Polystyrolsegment führte zu der Erkenntnis, dass die meisten Vertreter dieser Polymere mit langem hydrophoben Segment eine geringe Löslichkeit in Wasser aufweisen [140, 144]. Eine verbesserte Wasserlöslichkeit kann entweder durch die Verwendung von sehr kurzen hydrophoben Segmenten [145] oder durch längeres Erhitzen auf 100 °C [142, 143] induziert werden. Alternativ können die Blockcopolymere zunächst in einem nicht selektiven organischen Lösungsmittel (z. B. Dioxan, DMF, THF) gelöst und anschließend durch Dialyse in ein wässriges Medium überführt werden [146]. Bei Raumtemperatur liegen die Polystyrolkerne unterhalb ihrer Glasübergangstemperatur ($T_G(\text{Styrol}) = 100 \text{ °C}$) vor. Außerdem verursacht der große Unterschied des Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameters zwischen hydrophilen und hydrophoben Block eine hohe Grenzflächenspannung zwischen Kern und Hülle, so dass der Kern nicht mit Lösungsmittelmolekülen durchspült wird. Dadurch entsteht bei Raumtemperatur ein glasartiger Charakter, der den dynamischen Austausch zwischen Mizelle und einzelnen Ketten unterbindet. In diesen Fällen wird von „eingefrorenen“ oder „toten“ Mizellen gesprochen. Der Ausdruck Mizelle wird dennoch akzeptiert, da eine

Verdünnung der Lösung bis unter die *cmc* eine Dissoziation der eingefrorenen Aggregaten (z. B. von PS-*b*-PANa) in einzelne Ketten zur Folge hat (Abb. 2–12) [142, 143].

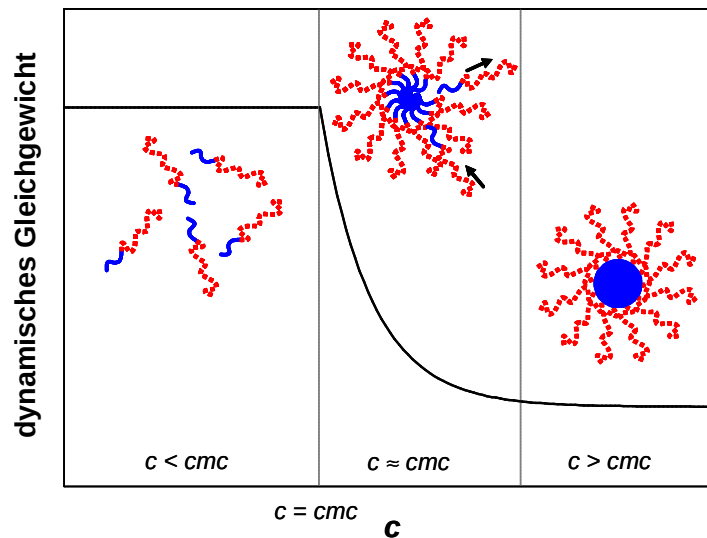
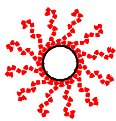


Abb. 2–12 Dynamisches Gleichgewicht zwischen Blockcopolymeren und Mizellen in Abhängigkeit der Polymerkonzentration.



Stern-Mizellen bildende Blockcopolymere

Die Lösungseigenschaften von eingefrorenen Stern-Mizellen (engl. frozen star-micelle) werden anhand des ausführlich untersuchten Polystyrol-*b*-Polynatriumacrylat (PS-*b*-PANa) erläutert [142, 143]. Mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen ist die *cmc* für verschiedene Zusammensetzungen bestimmt worden [147]. Für kurze Polystyrolsegmente (PS_{11/23}) besitzen die *cmc* mit zunehmender PANa-Kettenlänge einen parabolischen Verlauf. Die Kurve wird in zwei Bereiche unterteilt: in eine Region mit kurzem ionischen Block (engl. short ionic block regime SIBR) und mit langem ionischen Block (engl. long ionic block regime LIBR). Im SIBR steigt die Löslichkeit der Unimere mit länger werdendem ionischen Block an, was einen Anstieg der *cmc* zu Folge hat. Anschließend nimmt im LIBR die Ionenstärke der Lösung auf Grund der anwachsenden PEL-Blocklänge zu, wodurch die Lösungsmittelqualität sinkt [2, 148] und die Tendenz zur Mizellenbildung wieder ansteigen. Dieser Effekt ist umso geringer, je größer der hydrophobe Anteil ist, und verschwindet bei $N_{PS} \geq 100$ vollständig. Auch andere Systeme wie z. B. Polystyrol-*b*-Polyethylenoxid (PS-*b*-PEO) [147] und Polystyrol-*b*-4-vinylpyridium-ethylbromid (PS-*b*-P4VP.EtBr) [144] zeigen dieses Verhalten, wodurch die Annahme untermauert wird, dass für die Mizellenbildung mit kurzen PS-Blöcken

der hydrophile Charakter und für die mit langen hydrophoben Blöcke thermische Faktoren ausschlaggebend sind.

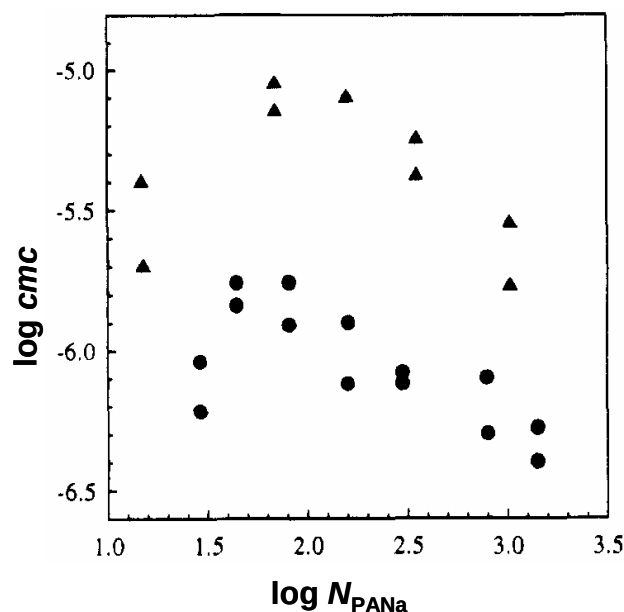


Abb. 2-13 Entwicklung der *cmc* mit zunehmender ionischer Blocklänge für zwei Serien $\text{PS}_x\text{-}b\text{-PANa}_y$: (▲) $x = 11$ und (●) $x = 23$ [147].

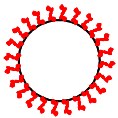
Bei Untersuchungen der *cmc* wird dem Zusatz von Fremdsalz besonders viel Aufmerksamkeit gewidmet, da durch Erhöhung der Ionenstärke die Debye-Länge λ_D abnimmt und so ein direkter Einfluss auf die Konformation, genauer gesagt, die Wechselwirkungen zwischen den PEL-Ketten genommen wird [7, 149]. Beispielsweise bewirkt der Zusatz von Natriumchlorid ($0,1 < c_s < 2,5 \text{ mol/L}$) zu Proben mit kurzem Polystyrolblock ($\text{PS}_{11/23}$) einen linearen Abfall der *cmc* mit der Wurzel aus der Salzkonzentration ($\text{cmc} \sim c_s^{1/2}$) [143].

Anhand von statischen Lichtstreuexperimenten wurde der Einfluss der Ionenstärke in Lösung auf das Aggregationsverhalten von $\text{PS}_6\text{-}b\text{-PANa}_{180}$ untersucht [150]. Für niedrige Fremdsalzkonzentrationen ($c_s < 0,1 \text{ mol/L}$) wird ein Anstieg der Aggregationszahl N_{Agg} verzeichnet, während darüber hinaus ein konstanter Wert beibehalten wird. Das gleiche Verhalten wird für $\text{PS}_{26}\text{-}b\text{-P4P.EtBr}_{140}$ bei LiBr-Konzentrationen unter- und oberhalb von $c_s = 0,2 \text{ mol/L}$ gefunden [144]. Eine theoretische Beschreibung dieses Phänomens basiert auf der bei zunehmender Ionenstärke ansteigender Abschirmung der elektrostatischen Abstoßung in der Hülle [151]. Bei niedrigem Salzgehalt wird das Mizellenwachstum auf Grund der elektrostatischen Wechselwirkungen, die sich in einer größeren Debye-Länge ausdrücken, eingeschränkt. Mit zunehmender Ionenstärke werden die elektrostatischen Wechselwirkungen abgeschirmt und die Aggregationsnummer steigt an. Bei konstanter

Salzkonzentration ($c_s = 2,5 \text{ mol/L}$) ist eine starke Abhängigkeit der Aggregationsnummer von der Styrolblocklänge zu beobachten. So führt bei fester PEL-Kettenlänge ein Anstieg des Polymerisationsgrades ($\text{PS}_{10 \rightarrow 50}$) zu einer deutlichen Vergrößerung der Aggregationszahl (N_{Agg} : $54 \rightarrow 270$). Der Einfluss des ionischen Blockes auf die N_{Agg} wird vom hydrophoben Anteil beeinträchtigt. Während für kurze Polystyrolsegmente (PS_6) mit wachsender PANA-Länge ($\text{PANA}_{89 \rightarrow 400}$) die Aggregationsnummer abnimmt (N_{Agg} : $59 \rightarrow 18$), ist für Styrolblöcke aus mehr als 23 Einheiten keine Abhängigkeit festzustellen ($N_{\text{Agg}} = 148 \pm 6$). Diese Beobachtung untermauert, dass für genügend lange Polystyrolblöcke die Mizellenbildung ausschließlich vom Kern bildenden Segment bestimmt wird. In salzhaltigen Lösungen ($c_s = 2,5 \text{ mol/L}$) weisen die Aggregationsnummern sowie der Gyrationen- R_G und Kernradius R_K eine gute Übereinstimmung mit den Vorhersagen von „Scaling“-Theorien auf [152-155].

Ausführliche Untersuchungen der Korona-Dicke in Abhängigkeit von der Salzkonzentration sind an den im dynamischen Gleichgewicht vorliegenden Systemen Poly(*tert.* butylstyrol)-*b*-Polynatriumstyrolsulfonat) (PtBS-*b*-NaPSS) [156-161] und Polyethylethylen-*b*-Polystyrolsulfonsäure (PEE-*b*-PSSH) [136] durchgeführt worden. Sind die Polymerketten in Form einer Schicht dicht an der Oberfläche gebunden, werden sie als Polymer-Bürsten bezeichnet, deren Schichtdicke als Funktion des zugesetzten Salzes c_s theoretisch beschrieben werden kann [162-168]. Je nach Fremdsalzkonzentration wird der osmotische Bürstenbereich (engl. osmotic brush regime), in dem die Salzkonzentration c_s geringer ist als die Gegenionenkonzentration c_c ($c_s < c_c$) und der salzhaltige Bürstenbereich (engl. salted brush regime), in dem $c_s > c_c$ ist, unterschieden. Im osmotischen Bürstenbereich führt der osmotische Druck der Gegenionen zu einer Streckung der PEL-Ketten und ein Zusatz von Salz hat keine Auswirkungen mehr auf die Bürsten-Höhe. Übersteigt die Salzkonzentration jedoch die intrinsische Ionenstärke nimmt die Bürstendicke D mit zunehmender Salzkonzentration ab ($D \sim c_s^{-1/3}$). Dieses Gesetz wird für „freistehende Filme“ (engl. free-standing block films) [157] und auf Latex-Partikeln absorbierte Blockcopolymere PtBS₂₆-*b*-PSSNa₄₁₃ [169], ebenso bestätigt, wie für planare Bürsten von PEE₁₁₄-*b*-PSSH₈₃ [156, 170]. Mit Hilfe von Kryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM)-Aufnahmen wurde die innere Struktur von PEE₁₄₄-*b*-PSSH₁₃₆-Mizellen untersucht [136]. Bei einer Salzkonzentration von $c_s = 3 \text{ mmol/L}$ liegen kugelförmige Mizellen mit einem Kernradius von $R_K = 9,1 \text{ nm}$ vor, bei einer Salzkonzentration von $c_s = 3 \text{ mol/L}$ haben die Mizellen einen $R_K = 13,4 \text{ nm}$ und einem Mizellenradius von $R_M = 26,3 \text{ nm}$. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen aus SANS-Messungen. Aus dem Kernradius wird der Verzweigungsabstand b berechnet und es zeigt sich, dass unterhalb von $c_s = 0,05 \text{ mol/L}$ der Verzweigungsabstand

konstant bleibt, während er oberhalb dieser Konzentration auf Grund der Abschirmung der elektrostatischen Wechselwirkung der Ketten in der Hülle abnimmt. Im Vergleich zu den theoretischen Vorhersagen wird allerdings eine viel geringere Abnahme gefunden ($D \sim c_s^{-0,13}$), die aber in der gleichen Größenordnung wie für PtBS₂₆-*b*-PSSNa₄₀₄ ($D \sim c_s^{-0,14}$) und PtBS₂₇-*b*-PSSNa₇₅₇ ($D \sim c_s^{-0,11}$) liegt [159].



„Crew-Cut“-Mizellen bildende Blockcopolymere

In „Crew-Cut“-Mizellen bildenden Blockcopolymeren ist der hydrophobe Anteil sehr hoch, so dass die Polymere nicht direkt in Wasser löslich sind. Im Fall einer Lösung von Polystyrol-*b*-Poly(4-vinylpyridinium-iodid) (PS-*b*-P4VPMel) in DMF führt eine aufeinander folgende Zufuhr von Methanol und Wasser zu einem anderen Aggregationsverhalten als die alleinige Zugabe von Wasser [171]. TEM-Aufnahme zeigen nach ausschließlicher Wasserzugabe geringere Durchmesser, Aggregationsnummern und Polydispersitäten als bei vorherigem Zusatz von Methanol. Dies ist auf die bessere Verträglichkeit von Polystyrol in Methanol zurückzuführen.

Das Phänomen der Mikrophasenseparation auf Grund einsetzender Mizellenbildung wurde für Polystyrol-*b*-Polyacrylsäure (PS-*b*-PAA) mittels statischer Lichtstreuung in Abhängigkeit des Wassergehaltes untersucht [172]. Wird ein kritischer Wassergehalt (*cwc*) überschritten, setzt die Mikrophasenseparation ein, woraus ein sprunghafter Anstieg der Streuintensität resultiert. Je höher die Polymerkonzentration oder das Molekulargewicht ist, desto kleiner sind die *cwc*-Werte. Bei einer konstanten Polymerkonzentration sinkt der *cwc* mit zunehmendem PS-Anteil, was auf den mit steigendem Wassergehalt wachsenden Flory-Huggins-Parameter zurückzuführen ist. Für Untersuchungen des dynamischen Gleichgewichts zwischen Mizelle und Unimeren werden zwei Copolymere unterschiedlicher Zusammensetzung vermischt und die Änderungen in der Größenverteilung der kugelförmigen Mizellen beobachtet [172]. Bei einem Wassergehalt von 5 % existiert eine einzige Verteilung, aber schon bei 11 % liegen eingefrorene Mizellen vor, da zwei isolierte Verteilungen gefunden werden, die den einzelnen Verteilungen der Copolymere entsprechen. Prinzipiell weisen PEL-Blockcopolymer-Mizellen enge Größenverteilungen auf (z. B. für PS₅₀₀-*b*-PAA₆₀ ist $D = 30,3 \pm 2,4$ nm) [173, 174]. Für den Kernradius wird eine Abhängigkeit von beiden Blocklängen gefunden, die über die empirische Beziehung $R_K \sim N_{PS}^{0,4} N_{PAA}^{-0,15}$ beschrieben werden kann. Dabei ist die gefundene Abhängigkeit des R_K vom hydrophoben Block deutlich geringer als von „Scaling-Theorien“ vorhergesagt (siehe [141]), was im wesentlichen zwei Gründe hat. Zum einen ist die angenommene

Grenzflächenenergie zwischen Kern und Lösungsmittel während der Mizellenbildung kleiner als angenommen [152, 175], woraus eine schwächere Skalierung des Kernradius mit der Kern bildenden Blocklänge resultiert. Zum anderen liegen eingefrorene Mizellen vor, während die theoretischen Berechnungen von einem Gleichgewicht ausgehen. Aus einem Vergleich der Kernradien R_K mit den hydrodynamischen Radien R_H kann eine Vorstellung der Dicke der Korona gewonnen werden [174]. Änderungen der Ionenstärke in der Lösung führen zu einer veränderten Konformation der PAA-Ketten und somit zu unterschiedlichen Dimensionen der Korona. In Tabelle 2–1 sind für den Blockpolyelektrolyten PS₁₄₀₀-*b*-PAA₃₁₀ die mit abnehmendem pH-Wert sinkenden Koronadurchmesser angegeben.

Tabelle 2–1 Zusammenfassung der Dimensionen (Mizellenradius R_M , Kernradius R_K , Ausdehnung der PAA-Ketten) von PS₁₄₀₀-*b*-PAA₃₁₀ bei verschiedenen pH-Werten [174].

pH [1]	R_M [nm]	$(R_M - R_K)$ [nm]	Ausdehnung [%]
6,8 ^a	90	72	96
5,3 ^b	48	30	39
4,5 ^c	38	20	25

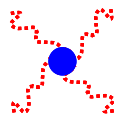
a) Hergestellt durch Dialyse gegen bidest. Wasser.
b) Hergestellt durch Dialyse gegen bidest. Wasser und anschließender Zugabe von 1 mol/ L NaCl.
c) Hergestellt durch Dialyse gegen dest. Wasser.

Mit zunehmendem hydrophoben Anteil ändert sich die bevorzugte Morphologie von Kugel (PS₁₈₀-*b*-PAA₂₈) über Stäbchen (PS₁₈₀-*b*-PAA₁₅) und Vesikel (PS₄₁₀-*b*-PAA₁₆) hin zu polydispersen Kugeln (PS₂₀₀-*b*-PAA₄) [173, 174]. Letztgenannte Struktur wird auch großer Mizellenverbund (engl. large compound micelle) genannt und besteht im Inneren aus reversen Mizellen, die von einer PAA-Hülle umgeben sind. Die bevorzugte Vesikel-Bildung, die sich über einen weiten Konzentrationsbereich in Koexistenz mit mizellaren Strukturen befindet, wird mittels TEM und AFM für Polybutadien-*b*-Poly(2-vinylpyridinium-hydrochlorid) (PB-*b*-P2VP*HCl) nachgewiesen [176-178]. Wird anstelle des PB-Blocks ein Polyethylenglycol eingesetzt, werden Riesen-Vesikel im Bereich von 5 ... 10 µm erhalten, die mittels optischer Mikroskopie betrachtet werden können [176]. Die Vesikel sind bis zu einem pH-Wert von pH = 4,5 äußerst stabil, zerfallen aber rasch, wenn der ionische Block in protonierter Form vorliegt.

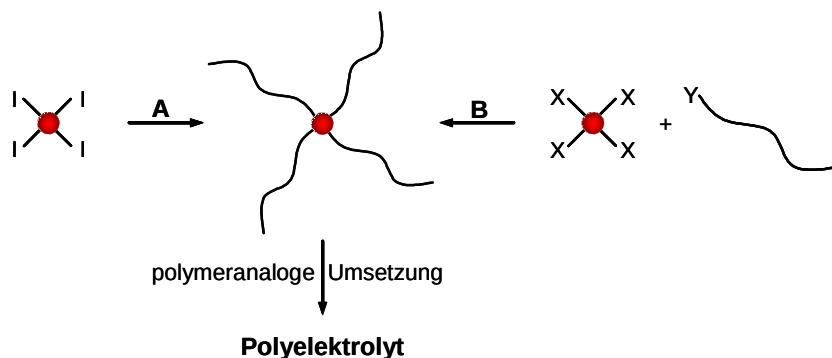
2.3 Nicht-lineare Polyelektrolytstrukturen

Verzweigte Polyelektrolyte sind für die Wissenschaft eine Herausforderung, da die Synthese von wohl definierten, verzweigten, wasserlöslichen Makromolekülen einige Schwierigkeiten bereithält. Ihre besonderen Eigenschaften sind aber Ansporn genug, dieses Problem zu lösen. So weist das industriell genutzte verzweigte Polyethylenimin auf Grund seiner Topographie und Struktur andere Eigenschaften auf als sein linearer Vertreter [3, 179, 180]. Die Variation des Verzweigungsgrades (engl.: degree of branching, DB) führt zu einer kontinuierlichen Änderung der Eigenschaften verzweigter Polymere, ausgehend von linearen Ketten bis hin zu weichen Nanopartikeln mit kompakter Struktur. Die Materialeigenschaften sind aber nicht nur vom DB und dem Molekulargewicht abhängig, sondern auch von der Art der Verzweigung, welche als Gliederungsbasis für das vorliegende Kapitel verwendet wird.

2.3.1 Sternpolymere



Für die Synthese von sternförmigen Makromolekülen stehen prinzipiell zwei Strategien zur Verfügung. In der Kern-Methode **A** (engl. core-first method) wird ausgehend von einem multifunktionalen Kern die Polymerisation der Arme gestartet. In der Arm-Variante **B** (engl. arm-first method) werden eng verteilte lineare Polymere synthetisiert, die über reaktive Endgruppen an das multifunktionale Agens gekuppelt werden (Schema 2–2). Weit verbreitete Kerne sind unabhängig vom Syntheseweg Ethylenglycoldimethacrylat (EGDMA) [181-183], Divinylbenzol (DVB) [184-187] oder Halogenmethylbenzolderivate wie beispielsweise 1,2,4,5-Tetrakis(brommethyl)-benzol [188-191].



Schema 2–2 Synthesevarianten für sternförmige PEL: **A** Kern-Methode; **B** Arm-Methode.

In Route **A** muss bei Verwendung von Polydivinylbenzol-Kernen darauf geachtet werden, dass sich bei der Kernsynthese keine Gelpartikel bilden. Drei Prozeduren haben sich hierfür in hoher Verdünnung als geeignet erwiesen: In unpolaren Kohlenwasserstoffen wird Butyllithium [192, 193]. oder ein kurzlebiges Poly(*tert.* butylstyrol) [194, 195] als Initiator eingesetzt, während in polaren Solvenzien die Polymerisation über Elektronentransfer gestartet wird [196-198]. Vorteil dieser Methode ist, dass eine funktionelle Gruppe (z.B. Hydroxy-) [196, 197] eingefügt werden kann. Bei der Arm-zuerst Methode **B** wird das lebende Kettenende entweder durch elektrophile Gruppen am multifunktionalen Kern deaktiviert [199, 200] oder das anionische Ende wird genutzt, um eine geringe Menge eines zweifach ungesättigten Monomers zu polymerisieren, so dass ein kleiner verzweigter Kern gebildet wird [201, 202]. Auf diesem Weg entstehen eng verteilte Polymere ohne funktionelle Endgruppen.

Über anionische Polymerisation von *tert.* Butylmethacrylat entstehen eng verteilte Precursor, die anschließend mit EGDMA zu Stern-Polymeren umgesetzt werden [182]. Dabei wird die mittlere Armzahl von der Precursorklänge, dem Verhältnis von Linker zu Initiator, der Reaktionszeit und besonders von der Gesamtkonzentration bestimmt. So führt eine Verdopplung der Konzentration zu einer fast doppelten Anzahl an Armen. Der Einfluss der genannten Parameter ist dabei vom verwendeten Polymerisationsmechanismus abhängig. Werden die Arme über Atomübertragungspolymerisation (engl. Atom Transfer Radical Polymerization ATRP) hergestellt, kann durch Variation der eingesetzten Kupfer(II)-Spezies und des auszutauschenden Halogenids zusätzlich Einfluss auf das Molekulargewicht und die Polydispersität genommen werden [187].

Ein vierarmiger Stern ist ausgehend von 1,2,4,5-Tetrakis(brommethyl)-benzol über ATRP von *tert.* Butylacrylat synthetisiert und charakterisiert worden [190]. Das geschützte Polymer besitzt nach Gelpermeationschromatographie (GPC) mit einem viskosimetrischen Detektor ein Molekulargewicht von 110 kDa, welches gut mit dem über das Verhältnis Monomer zu Initiator angestrebten Molekulargewichtes übereinstimmt. Nach der Abspaltung der Schutzgruppen durch saure Hydrolyse weisen Röntgenkleinwinkelstreuungen (SAXS) einen deutlichen Polyelektrolytcharakter auf: Im semi-verdünntem Konzentrationsbereich durchlaufen die Streukurven ein Maximum, dessen Position unabhängig vom Molekulargewicht ist, sich aber mit zunehmender Polymerkonzentration zu höheren q -Werten verschiebt, während die Intensität abnimmt. Der Austausch der Gegenionen Natrium gegen Cäsium führt zu einem analogen Verhalten, wobei die Position des Maximums bei niedrigeren q -Werten zu finden ist. Durch den Zusatz von niedermolekularem Salz werden die elektrostatischen Wechselwirkungen soweit abgeschirmt. Ist die Salzkonzentration ausreichend hoch (für $c_P \approx 0,75 \text{ mmol/L}$, $c_S > 100 \text{ mM}$) entspricht das Streuverhalten dem ungeladener Polymere. Das ähnliche Verhalten der sternförmigen und

linearen Polyelektrolyte bei vergleichbaren Molekulargewichten und Konzentrationen lässt darauf schließen, dass in diesem Konzentrationsbereich keine Selbstorganisation der Sterne auftritt.

Im Kontrast dazu weisen Systeme aus zehn bis zwölf Polystyrolsulfonat-Armen und einem Mikropartikelkern aus Polydivinylbenzol im semi-verdünnten Bereich in dem SAXS-Kurven ein deutliches und ein diffuses Maximum auf [184]. In verdünnten Lösungen hingegen ist nur das ausgeprägte Maximum sichtbar, aus dem über die Bragg-Beziehung ($d = 2\pi/q$) der mittlere Abstand zwischen zwei Sternzentren bestimmt werden kann. Demnach deutet einiges darauf hin, dass im verdünnten Konzentrationsbereich nur intramolekulare Wechselwirkungen auftreten (Abstoßung zwischen den Armen eines Sternmoleküls), während in semi-verdünnten Lösungen auch intermolekulare Wechselwirkungen zu beobachten sind.

Lichtstreuexperimente an Polyacrylsäure-Sternen basierend auf den Initiatoren **2-10** bis **2-12** (Abb. 2–14) zeigen, dass mit zunehmender Armzahl der Gyrationradius R_G abnimmt, also der kugelförmige Charakter zunimmt [203].

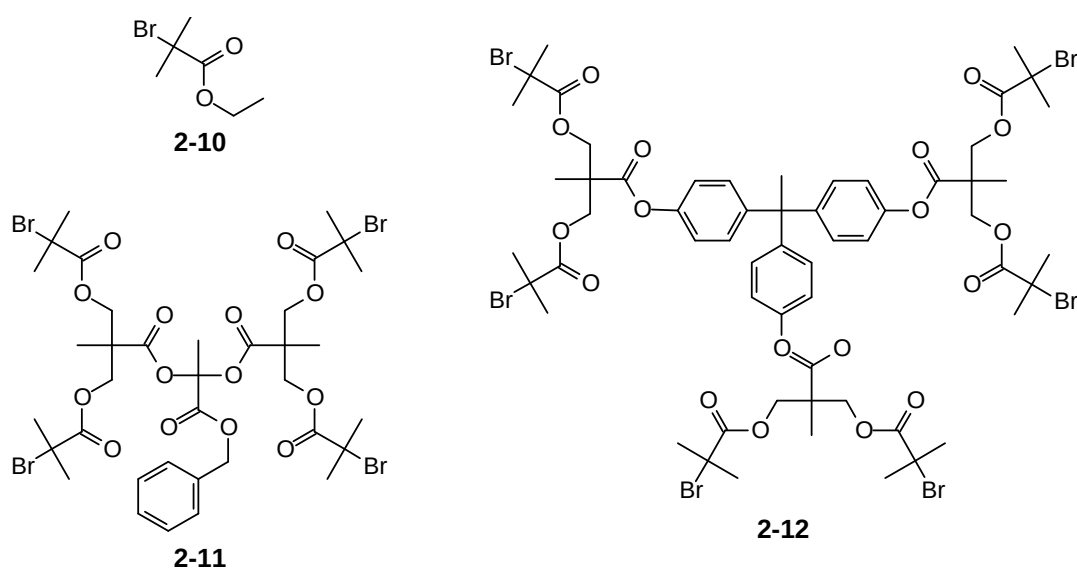


Abb. 2–14 Initiatorsysteme [203, 204]

Neben der Synthese von homopolymeren Sternen sind auch Blockcopolymere zugänglich, wobei unterschieden wird, ob die Arme aus Diblockcopolymeren [186, 191, 204] oder verschiedenen Homopolymeren [185, 205-207] bestehen.

Aus den ungeladenen Sternen mit Blockcopolymer-Armen aus Poly(*tert.* butylstyrol)-*b*-Polystyrol (P^tBS-*b*-PS) werden durch Sulfonierung starke Polyelektrolyte [186]. Der Grad der Sulfonierung kann über NMR, MALDI-TOF und Elementaranalyse bestimmt werden. Befindet sich der geladene Block im Sterninneren, wird in wässrigen Lösungen Gelbildung beobachtet.

Die molekulare Geometrie solcher Blockcopolymeren richtet sich stark nach dem Lösungsmittel. In Abb. 2–15 ist das aus ¹H-NMR-spektroskopischen Untersuchungen beobachtete Verhalten für zwölfarmige Sterne mit einem dendritischen Initiatorsystem basierend auf **2-12** mit Polymethylmethacrylat-*b*-Polyacrylsäure (PMA-*b*-PAA)-Armen schematisch dargestellt [204].

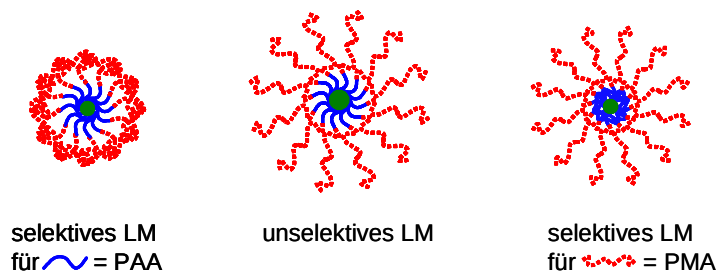


Abb. 2–15 Schematische Darstellung der PMA-*b*-PAA-Stern-Blockcopolymeren in Abhängigkeit des Solvents [204].

Anhand von AFM-Aufnahmen des Sternpolymeren aus je sieben Polystyrol und Poly(2-vinylpyridin)-Armen (PS₇-PVP₇) wird das Aggregationsverhalten in Wasser (pH = 2) und Toluol in Abhängigkeit von der Konzentration gezeigt [185]. In verdünnten Lösungen werden intramolekulare und bei höheren Konzentrationen intermolekulare Mizellenbildung beobachtet. Das Verhalten der unimeren Mizellen ist in Abb. 2–16 schematisch dargestellt.

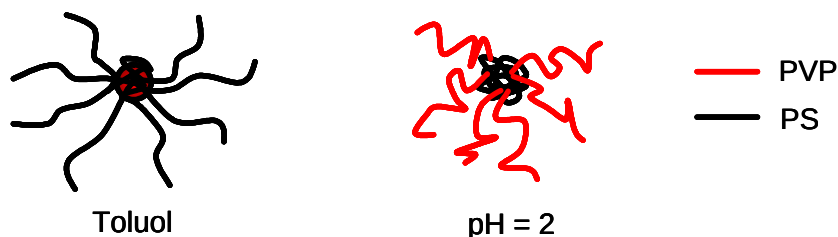


Abb. 2–16 Schematische Abbildung von AFM-Aufnahmen von PS₇-PVP₇ in Toluol und in Wasser bei pH = 2 [185].

Das anionische System PS₂₄-PAA₂₄ weist in Wasser schon für Polymerkonzentrationen unterhalb von 1 Gew.-% eine hochviskose Lösung auf [206]. Lichtstreuuntersuchungen einer

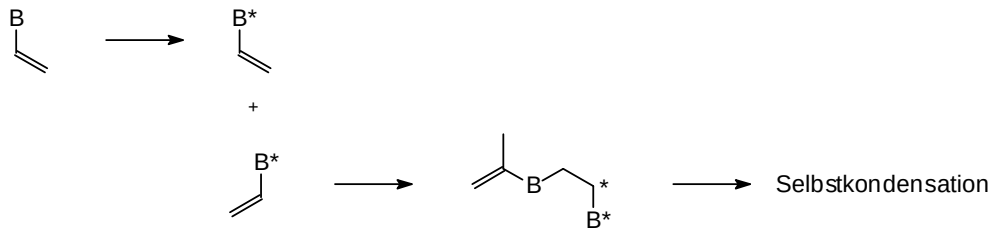
Lösung des neutralen Sternpolymers ($c_p = 0,77$ Gew.-%) zeigen, dass es sich um ein nicht im Gleichgewicht befindliches „eingefrorenes“ physikalisches Gel handelt, welches wahrscheinlich aus gestreckten Aggregaten gebildet wird. Für die hohe Viskosität sind intermizellare hydrophobe Wechselwirkungen verantwortlich.

Je nach relativer Zusammensetzung werden für ABC-Terpolymere in Tetrahydrofuran unterschiedliche Morphologien gefunden [205, 207]. Für Polybutadien-Polystyrol-Poly(2-vinylpyridin) wird eine tetragonale ($PS_{45}PB_{15}PVP_{40}$) hexagonale ($PS_{21}PB_{17}PVP_{62}$) oder lamellare ($PB_x > PS_y$) Morphologie nachgewiesen. Die Indizes der genannten Verbindungen geben die Massenanteile der verschiedenen Arme an.

2.3.2 Verzweigte Polyelektrolyte

Zufällig verzweigte Polymere tragen entlang der Polymerhauptkette willkürlich verteilte Verzweigungspunkte, aus der (hoch-)verzweigte bis baumartige Topologien resultieren. Je nach Verzweigungsgrad (DB), auf den durch Synthesebedingungen Einfluss genommen werden kann, werden unterschiedliche Lösungseigenschaften der PEL erwartet.

Ein praktisches Eintopf-Verfahren stellt die selbstkondensierende Vinylpolymerisation (engl. self-condensing vinyl polymerization SCVP) dar, bei der hypervverzweigte Polymere mit einem $DB \leq 0,5$ hergestellt werden [208]. Die Methode baut auf der Verwendung von Vinylmonomeren des AB-Typs auf, in dem A für die Vinyl- und B für eine angehängte Gruppe steht. In Schema 2–3 ist der Ablauf der Polymerisation dargestellt. Die Polymerisation wird durch Aktivierung der B-Gruppe mit Hilfe eines externen Agens gestartet, dessen Natur von dem gewählten Mechanismus abhängt. Das Kettenwachstum erfolgt durch Reaktion der aktivierten Gruppe B^* mit einer Vinyl Doppelbindung. Bei dem entstandenen Dimer handelt es sich um einen AB_2 -Baustein, der die Bildung verzweigter Strukturen ermöglicht. Nach der SCVP wurden über den kationischen [208], anionischen [209] und kontrolliert radikalischen Mechanismus [210-212] verschiedene verzweigte Polystyrole synthetisiert. Auch die Anwendung auf Methacrylat-Derivate ist nach der kontrollierten Radikalik [213-215] oder der Gruppentransferpolymerisation (GTP) [216] möglich. Die Synthese eines hypervverzweigten Polyglycerols erfolgt mit Glycerol über die ringöffnende Polymerisation [217].



Schema 2–3 Selbstkondensierende Vinylpolymerisation.

Auch die Herstellung von Copolymeren kann nach dem vorgestellten Syntheseverfahren erfolgen. Im Fall der selbstkondensierende Vinylcopolymerisation (engl. self-condensing vinyl-copolymerisation SCVCP) wird der Verzweigungsgrad über das Comonomer-Verhältnis kontrolliert [210, 218-220]. Eines der ersten Copolymere dieser Art basiert auf Styrol und Chlormethylstyrol und wird nach dem ATRP-Mechanismus gewonnen [210]. Viskosimetrische Untersuchungen zeigen, dass die intrinsische Viskosität $[\eta]$ verzweigter Polymere deutlich geringer ausfällt als die linearer Polymere mit gleichem Molekulargewicht. Die Differenz steigt mit zunehmendem Molekulargewicht an [210]. Diese Beobachtung wurde auch für verzweigte Copolymere gemacht, die auf Acrylat-Derivaten basieren [220-222]. Das Copolymer aus *tert.* Butylacrylat und 2-(2-Propionyloxy)ethylacrylat zeigt weiterhin eine Abnahme der Grenzviskosität mit zunehmender Verzweigung [222]. Wie kompakt die Struktur eines verzweigten Polymers ist, wird mit Hilfe des Kontraktionsfaktors g'

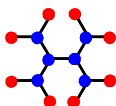
$$g' = \frac{[\eta]_{\text{verzweigt}}}{[\eta]_{\text{linear}}} \quad \text{Gl.(2-13)}$$

beschrieben [218], der mit zunehmendem Molekulargewicht und Verzweigung kleiner wird. Je verzweigter die Struktur ist, desto geringer ist der Einfluss des Molekulargewichtes. Nach Entschützung der Acrylate wird der Erhalt der verzweigten Polymere mittels NMR, IR und SEC nachgewiesen. Ihre Wasserlöslichkeit hängt stark vom Verzweigungsgrad und damit vom nicht-ionischen Anteil und dem pH-Wert ab. Beispielsweise fällt ein Polymer mit einem Comonomerverhältnis von $\gamma = 2,5$ (DB = 0,4) bei einem $\text{pH} \leq 4,7$ und mit einem $\gamma = 1,5$ (DB = 0,47) schon bei einem $\text{pH} \leq 8$ aus. Die Bestimmung des Verzweigungsgrades aus dem Comonomerverhältnis folgt bei vollständigem Umsatz der Beziehung [223]

$$DB_{\text{th}} = \frac{2 [1 - \exp(-\gamma - 1)] [\gamma + \exp(-\gamma - 1)]}{(\gamma + 1)^2} \quad \text{Gl.(2-14)}$$

Anhand von Lichtstreuuntersuchungen wird die kompakte Struktur der verzweigten Polymere manifestiert. Der ermittelte hydrodynamische Radius der verzweigten Polymere fällt durchweg kleiner aus als bei vergleichbaren linearen Makromolekülen [222]. Eine pH-Wert Erhöhung von drei auf zehn führt auf Grund der entstehenden Ladungen zu einer Streckung der Ketten und somit zu einem größeren hydrodynamischen Radius, der aber immer noch deutlich unterhalb des R_H einer vergleichbaren linearen Polyacrylsäure liegt.

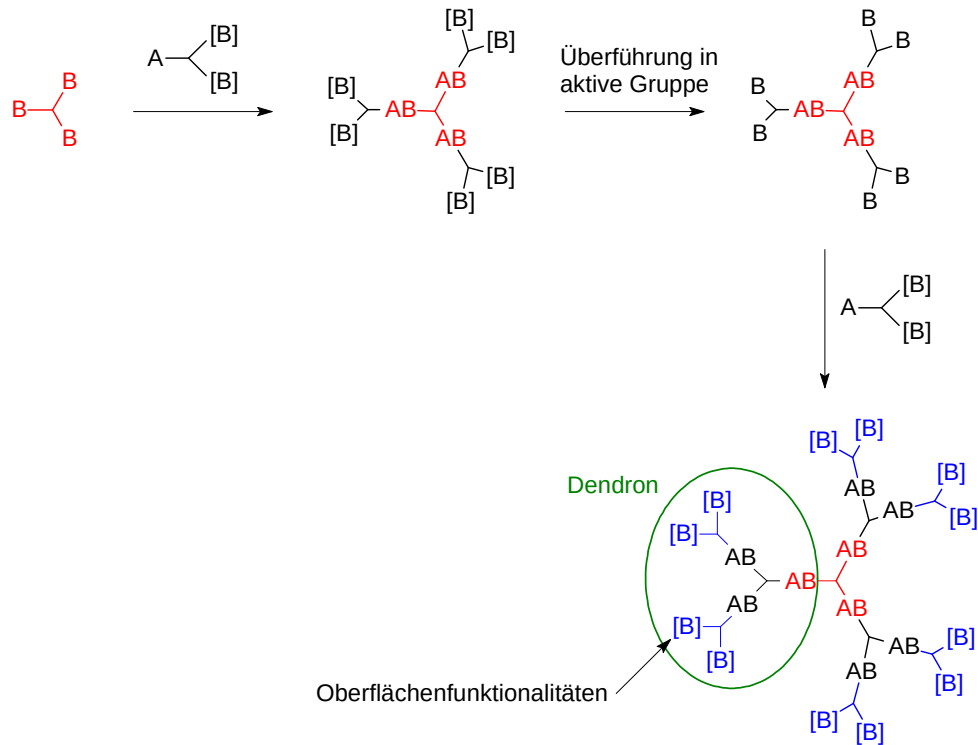
2.3.3 Dendrimere



Dendrimere sind hochverzweigte, aber dennoch monodisperse Makromoleküle mit genau definierter Größe, Molekulargewicht sowie einer definierten Zahl an Endgruppen [224, 225]. Im Gegensatz zur Dendrimersynthese, die in den letzten Jahren eine Blütezeit durchlebt hat, ist die Charakterisierung der physikochemischen Eigenschaften vernachlässigt worden [226-230] oder nur auf der Basis von Computersimulationen erfolgt.

Da die meisten wasserlöslichen Dendrimere Amingruppen tragen [231], werden nachstehend die experimentell untersuchten Lösungseigenschaften von Polyamidoamin (PAMAM) und/ oder Polypropylenimin (PPI) näher betrachtet. Die Synthese der beiden Dendrimere verläuft über den divergenten Syntheseweg, in dem der dendritische Aufbau am Kern beginnt (Schema 2–4) [232, 233].

Ausgehend von Ethylendiamin wird durch Michael-Addition von Methylacrylat und anschließende Amidierung mit Ethyldiamin die nullte Generation PAMAM synthetisiert. Durch Wiederholung der letzten beiden Schritte ist die Darstellung bis hin zur zehnten Generation möglich [230]. Im Fall von PPI wird 1,4-Diaminobutan als Kern eingesetzt, von dem aus vier Dendrone über Michael-Addition von Acrylnitril und nachfolgender Hydrierung der Nitrilgruppe gebildet werden [234, 235].



Schema 2–4 Schematische Darstellung der divergenten Dendrimersynthese.

Eine systematische Untersuchung von Form und Größe der Dendrimere in Abhängigkeit der Dendrimergeneration ist in verdünnten methanolischen Lösungen mit Röntgenkleinwinkelstreuung durchgeführt worden [236]. Der Gyrationradius steigt von der dritten ($R_G(G3) = 14,7 \text{ nm}$) bis hin zur zehnten Generation ($R_G(G10) = 54,1 \text{ nm}$) monoton an, was auf eine zunehmend kompaktere Struktur der Dendrimere hinweist. Beobachtet wird ein Übergang von sternförmigen Molekülen ($G0 \dots G2$) hin zu harten Kugeln ($G9$ und $G10$) [228]. Zwar besitzen die neunte und zehnte Generation keine perfekt kugelförmige Anordnung mit einer konstanten inneren Dichte, aber die Schwankungen in Form, Größe und lokaler innerer Segmentdichte sind minimal.

Neutrale und verdünnte Lösungen von G5-PAMAM in D_2O verhalten sich nach SANS-Messung wie nicht wechselwirkende Partikel. Nimmt die Menge an ionisierten Aminen zu, tritt analog G5-PPI-Dendrimere [237] eine lokale Ordnung der Moleküle auf [238]. Die elektrostatischen Wechselwirkungen können durch Fremdsalzzugabe abgeschirmt werden. Dann wird eine lineare Abnahme der Streuintensität mit zunehmender Salzkonzentration beobachtet [237]. Eine Änderung der Ionenstärke unterhalb von $c_s < 3 \text{ mol/L}$ oder des pH-Wertes zwischen $4,5 < \text{pH} < 10,1$ zeigt überraschender Weise keine Auswirkungen auf die Größe eines G8-PAMAM-Dendrimers [238]. Diese Invarianz steht im Gegensatz zu

theoretischen Vorhersagen, die auf der Basis von Monte-Carlo-Simulationen gemacht wurden [239].

In diesem Zusammenhang ist auch das Protonierungsverhalten der Dendrimere von Interesse, welches quantitativ mit dem Ising-Model beschrieben werden kann [180, 240-243]. Titrationskurven von schwachen, linearen PEL verlaufen, durch ein stabiles Intermediat getrennt, in zwei Schritten. Das Wechselwirkungspotenzial zwischen den ionischen Seitengruppen hat einen kurzreichweitigen Charakter, so dass durch eine alternierende Anordnung geladener und ungeladener Seitengruppen eine deutlich geringere elektrostatische Energie erreicht wird (Abb. 2–17) [240, 244]. Die mit Hilfe von (^{15}N)-NMR-Spektroskopie und Potentiometrie ermittelten Titrationskurven von PPI weisen einen analogen Verlauf auf. Im stabilen Zustand besitzt das Dendrimer ein zwiebelartiges Aussehen, da eine alternierende Anordnung geladener und ungeladener Gruppen entlang der Dendronachse vorliegt. (Abb. 2–17) [245].

Im Gegensatz dazu sind im stabilen Intermediat der PAMAM-Dendrimere nur die Oberflächen-Aminfunktionen protoniert (Abb. 2–17) [246]. Aus dem unterschiedlichen Säure-Base-Verhalten der Dendrimere resultieren für die Intermediate verschiedene Protonierungsgrade. Die von den Intermediaten Plateaus sind unterschiedlich ausgeprägt zwischen $7 < \text{pH} < 8$ zu finden.

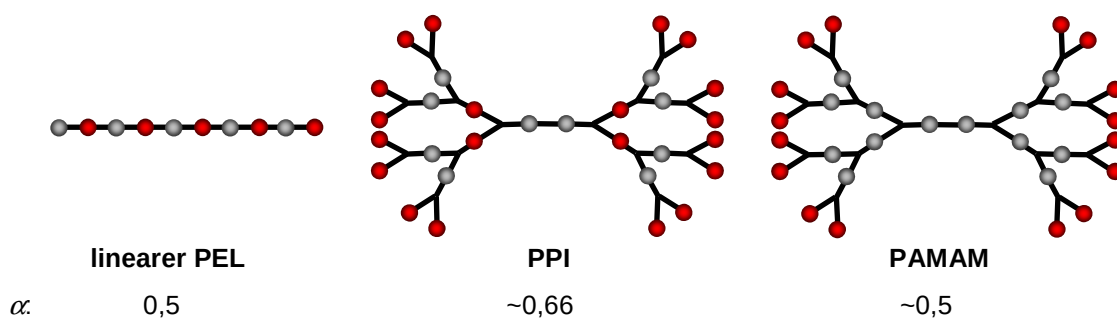


Abb. 2–17 Schematische Darstellung der stabilen Intermediate von linearen PEL, PPI und PAMAM mit den dazugehörigen Protonierungsgraden α .

Die spezifische Viskosität η_{sp} von Dendrimern durchläuft im Gegensatz zu linearen Polymeren in Abhängigkeit des Molekulargewichtes ein Maximum. Der Grund liegt in den kompakten Strukturen von verzweigten und insbesondere von dendritischen Molekülen, da der Radius von Generation zu Generation linear ansteigt, während sich das Molekulargewicht jedes Mal verdoppelt [225, 229].

2.4 Zusammenfassung

Die bisher bekannten Ergebnisse auf dem Gebiet der Polyelektrolytforschung basieren hauptsächlich auf systematischen Untersuchungen von linearen PEL, da ihre Synthese kaum noch Schwierigkeiten bereitet. Auf dem Gebiet der nicht-linearen Polyelektrolyte steht bis heute die Synthese im Vordergrund, so dass nur wenige ausführliche Untersuchungen der physikochemischen Eigenschaften existieren.

Zur Charakterisierung von Polyelektrolyten in wässriger Lösung können prinzipiell alle Methoden verwendet werden, die auch für ungeladene Polymere zum Einsatz kommen (z. B. GPC, Osmometrie, Streuung). Allerdings resultieren aus der großen Zahl an niedermolekularen Gegenionen andere, außergewöhnliche Verhaltensweisen, die im Vergleich zu ungeladenen Polymeren zu einem erhöhten experimentellen Aufwand in der Probenvorbereitung und der Messung führen.

Zur Unterdrückung der von den Gegenionen verursachten Effekte muss niedermolekulares, inertes Fremdsalz (z. B. NaCl) zugesetzt werden, wobei die gewählte Salzmenge so gering wie möglich zu halten ist und für jeden Polyelektrolyten individuell ermittelt werden muss.

Um PEL umfassend charakterisieren und verstehen zu können, müssen neben der Form und der Größe auch Parameter wie die Zahl und die Verteilung der geladenen Seitengruppen sowie deren Verhalten bei veränderten Bedingungen (Temperatur, Ionenstärke) ermittelt werden. Letztgenannte Abhängigkeiten verursachen sowohl in der Praxis als auch in der theoretischen Analyse Schwierigkeiten, da beispielsweise das Phänomen der zunehmenden Kettensteifigkeit bei abnehmender Ionenstärke die Interpretation von experimentellen Daten erschwert.

Anhand von systematischen Studien des PEL-Verhaltens in unendlich verdünnten Lösungen zeigt sich, dass eine Reihe der bei diesen geringen Ionenstärken gefundenen Effekte auf starke elektrostatische Wechselwirkungen zurückzuführen sind. Verstanden sind diese Verhältnisse aber nicht, was sich an den Versuchen die stark abnehmende spezifische Viskosität im Bereich stark verdünnter Lösungen zu beschreiben zeigt.

Ein weiteres Problem stellt die Grundlage theoretischer Analysen dar, denn einige Ansätze basieren auf einem Konzept der steifen Ketten wie im Poisson-Boltzmann-Zellmodell, in dem konformationelle Fluktuationen ignoriert werden.

Um die noch ungeklärten Verhaltensweisen von Polyelektrolyten in wässriger Lösung erklären zu können, muss in Zukunft eine enge interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Chemikern und Physikern erfolgen. Aber auch die Biologen und Biochemiker haben ein

Interesse daran, dass die physikochemischen Eigenschaften dieser Substanzklasse grundlegend geklärt werden, da viele der im menschlichen Körper ablaufenden Prozesse auf Proteinen und somit auf PEL basieren. Die in dieser Arbeit vorgestellten neuartigen Strukturen auf der Basis von *L*-Lysin sollen dazu beitragen den Charakter von PEL besser zu verstehen.

2.5 Literaturverzeichnis

- [1] Mandel M., in *Polyelectrolytes*, Vol. 11, S. 739., 2nd Ed ed., Wiley, New York, **1988**.
- [2] Oosawa F., in *Polyelectrolytes*, Marcel Dekker Inc., New York, **1971**.
- [3] Dautzenberg H., Jaeger W., Kötz J., Philipp B., Seidel C., Stscherbina D., in *Polyelectrolytes: Formation, Characterization, Application*, Carl Hanser Verlag, München, **1994**.
- [4] Spoor H., *Angew. Makromol. Chem.* **1984**, 123, 1.
- [5] Schmitz K.S., in *Macroions in Solution and Colloidal Suspension*, VCH, New York, **1993**.
- [6] Schmitz K.S., in *Macro-Ion Characterization*, ACS Symposium Series, Vol. 548, **1994**, pp. 1.
- [7] Förster S., Schmidt M., *Adv. Polym. Sci.* **1995**, 120, 51.
- [8] Alfrey T., Berg P.W., Morawetz H., *J. Polym. Sci.* **1951**, 7, 543.
- [9] Chapman D.L., *Phil. Mag.* **1913**, 25, 475.
- [10] Fuoss R.M., Katchalsky A., Lifson S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1951**, 37, 579.
- [11] Gouy G., *J. Phys. Radium* **1910**, 9, 457.
- [12] Wennerström H., Jönsson B., Linse P., *J. Chem. Phys.* **1982**, 76, 4665.
- [13] Lifson S., Katchalsky A., *J. Polym. Sci.* **1951**, 13, 43.
- [14] Deserno M., Holm C., May S., *Macromolecules* **2000**, 33, 199.
- [15] Le Bret M., Zimm B.H., *Biopolymers* **1984**, 23, 287.
- [16] Manning G.S., *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem. Chem. Phys.* **1996**, 100, 909.
- [17] Manning G.S., Ray J., *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1998**, 16, 461.
- [18] Manning G.S., *J. Chem. Phys.* **1969**, 51, 934.

- [19] Kozak D., Kristian J., Dolar D., *Zeitschr. Phys. Chem. A* **1971**, 76, 85.
- [20] Kern W.Z., *Zeitschr. Phys. Chem. A* **1938**, 181, 268.
- [21] Kern W.Z., *Zeitschr. Phys. Chem. A* **1939**, 184, 197.
- [22] Kern W.Z., *Z. Phys. Chem. A* **1939**, 184, 302.
- [23] Katchalsky A., *Pure Appl. Chem.* **1971**, 26, 327.
- [24] Kozak D., Kristan J., Dolar D., *Zeitschr. Phys. Chem. A* **1971**, 76, 93.
- [25] Reddy M., Marinsky J.A., *J. Phys. Chem.* **1970**, 74, 3884.
- [26] Reddy M., Marinsky J.A., Sarkar A., *J. Phys. Chem.* **1970**, 74, 3891.
- [27] Takahashi A., Kato N., Nagasawa M., *J. Phys. Chem.* **1970**, 74, 944.
- [28] Blaul J., *Dissertation*, Universität (TH) (Karlsruhe), **2001**.
- [29] Chu P., Marinsky J.A., *J. Phys. Chem.* **1967**, 71, 4352.
- [30] Lifson S., Katchalsky A., *J. Polym. Sci.* **1954**, 13, 43.
- [31] Huglin M.B., in *Light Scattering from Polymer Solutions*, Academic Press, New York, **1972**.
- [32] Kratochvil P., in *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*, Elsevier, Amsterdam, **1987**.
- [33] Feigin L.A., Sergun D.I., in *Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering*, Plenum Press, New York, **1987**.
- [34] Bacon G.E., in *Neutron Scattering in Chemistry*, Butterworths, London, **1977**.
- [35] Glatter O., Kratky O., in *Small Angle X-Ray Scattering*, Academic Press, New York, **1982**.
- [36] Brown W., in *Dynamic Light Scattering*, Clarendon Press, Oxford, **1993**.
- [37] Krause R., Maier E.E., Deggelmann M., Hagenbuchle M., Schulz S.F., Weber R., *Physica A* **1989**, 160, 135.
- [38] Donley J.P., Rudnick J., Liu A.J., *Macromolecules* **1997**, 30, 1188.
- [39] Stevens M.J., Kremer K., *Macromolecules* **1993**, 26, 4717.
- [40] Drifford M., Dalbiez J.P., *J. Phys. Chem.* **1984**, 88, 5368.
- [41] Ise N., Okubo T., Kunugi S., Matsuoka H., Yamamoto K., Ishii Y., *J. Chem. Phys.* **1984**, 81, 3294.
- [42] Nierlich M., Williams C.E., Boue F., Cotton J.P., Daoud M., Farnoux B., Jannink G., Picot C., Moan M., Wolff C., Rinaudo M., Gennes P.G.D., *J. Phys.* **1979**, 40, 701.
- [43] Ise N., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1986**, 25, 323.

- [44] Kassapidou K., Jesse W., Kuil M.E., Lapp A., Egelhaaf S., Van Der Maarel J.R.C., *Macromolecules* **1997**, 30, 2671.
- [45] Nierlich M., Boue F., Lapp A., Oberthur R., *Colloid Polym. Sci.* **1985**, 263, 955.
- [46] Plestil J., Mikes J., Dusek K., *Acta Polym.* **1979**, 30, 29.
- [47] Maier E.E., Krause R., Deggelmann M., Hagenbüchle M., Weber R., Fraden S., *Macromolecules* **1992**, 25, 1125.
- [48] Essafi W., Lafuma F., Williams C.E., in *Macro-Ion Characterization*, ACS Symposium Series, Vol. 548, **1994**, pp. 278.
- [49] Sedláč M., Konak C., Stepánek P., Ljakes J., *Polymer* **1989**, 28, 873.
- [50] Sedláč M., *J. Chem. Phys.* **1996**, 105, 10123.
- [51] Sedlak M., Amis E.J., *J. Chem. Phys.* **1992**, 96, 817.
- [52] Sedlak M., Amis E.J., *J. Chem. Phys.* **1992**, 96, 826.
- [53] Koene R.S., Mandel M., *Macromolecules* **1983**, 16, 220.
- [54] Koene R.S., Nicolai T., Mandel M., *Macromolecules* **1983**, 16, 227.
- [55] Koene R.S., Nicolai T., Mandel M., *Macromolecules* **1983**, 16, 231.
- [56] Morfin I., Reed W.F., Rinaudo M., Borsali R., *J. Phys. II* **1994**, 4, 1001.
- [57] Cohen J., Priel Z., Rabin Y., *Polym. Commun.* **1988**, 29, 235.
- [58] Förster S., Schmidt M., Antonietti M., *Polymer* **1990**, 31, 781.
- [59] Oppermann W., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1988**, 198, 927.
- [60] Yamanaha Y., Matsuoka H., Hasegawa M., Ise N., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 587.
- [61] Cohen J., Priel Z., *J. Chem. Phys.* **1988**, 88, 7111.
- [62] Cohen J., Priel Z., *Polym. Commun.* **1989**, 30, 223.
- [63] Cohen J., Priel Z., *Macromolecules* **1989**, 22, 2356.
- [64] Cohen J., Priel Z., *J. Chem. Phys.* **1990**, 93, 9062.
- [65] Fuoss R.M., Strauss U.P., *J. Polym. Sci.* **1948**, 3, 246.
- [66] Fuoss R.M., Strauss U.P., *J. Polym. Sci.* **1948**, 3, 603.
- [67] Fuoss R.M., Strauss U.P., *J. Polym. Sci.* **1949**, 4, 96.
- [68] Yang Y., *J. Macromol. Sci. Phys.* **2004**, B43, 845.
- [69] Mac Callum M.J., Vincent C.A., in *Polymer Electrolyte Reviews*, Elsevier, London, **1987**.

- [70] Auer H., E., Alexandrowicz Z., *Biopolymers* **1969**, 8, 1.
- [71] Mandel M., Schouten J., *Macromolecules* **1980**, 13, 1247.
- [72] Nicolai T., Mandel M., *Macromolecules* **1989**, 22, 438.
- [73] Nordmeier E., *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, 196, 1321.
- [74] Okubo T., Ise N., *Macromolecules* **1969**, 2, 407.
- [75] Wang L., A. B.V., *Macromolecules* **1991**, 24, 5791.
- [76] Berth G., Dautzenberg H., Christensen B.E., Harding S.E., Rother G., Smidsrod O., *Macromolecules* **1996**, 29, 3491.
- [77] Gamini A., Mandel M., *Biopolymers* **1994**, 34, 783.
- [78] Milas M., Rinaudo M., Duplessix R., Borsali R., Lindner P., *Macromolecules* **1995**, 28, 3119.
- [79] Sato T., Norisuye T., Fujita H., *Macromolecules* **1984**, 17, 2696.
- [80] Martin C., Kramer H., Johner C., Weyerich B., Biegel J., Deike R., Hagenbüchle M., Weber R., *Macromolecules* **1995**, 28, 3175.
- [81] Schulz S.F., Maier E.E., Weber R.J., *Chem. Phys.* **1989**, 90, 7.
- [82] Banerjee K., Lauffer M.A., *Biochemistry* **1966**, 5, 1957.
- [83] Lauffer M.A., Ansevin A.T., Cartwright T.E., Brinton C.C.J., *Nature* **1958**, 181, 1338.
- [84] Maier E.E., Schulz S.F., Weber R., *Macromolecules* **1988**, 21, 1544.
- [85] Paglini S., Lauffer M.A., *Biochemistry* **1968**, 7, 1827.
- [86] Lee C.C., Chu S.G., Berry J., *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.* **1983**, 21, 1573.
- [87] Metzger P., Cotts G.C., Berry J., *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.* **1983**, 21, 1255.
- [88] Roitman D.B., Mcalister J., Mcadon M., Wessling R.A., *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **1994**, 32, 1157.
- [89] Roitman D.B., Wessling R.A., Mcalister J., *Macromolecules* **1993**, 26, 5174.
- [90] Ballauff M., *Angew. Chem.* **1989**, 101, 261.
- [91] Brodowski G., Horvath A., Ballauff M., Rehahn M., *Macromolecules* **1996**, 29, 6962.
- [92] Rau I.U., Rehahn M., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1993**, 194, 2225.
- [93] Rau I.U., Rehahn M., *Polymer* **1993**, 34, 2889.
- [94] Rau I.U., Rehahn M., *Acta Polym.* **1994**, 45, 3.
- [95] Rulkens R., Schulze M., Wegner G., *Macromol. Rapid Commun.* **1994**, 15, 669.

- [96] Vanhee S., Rulkens R., Lehmann U., Rosenauer C., Schulze M., Köhler W., Wegner G., *Macromolecules* **1996**, 29, 5136.
- [97] Wittemann M., Rehahn M., *J. Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1998**, 623.
- [98] Ballauff M., *Mater. Sci. Technol.* **1993**, 12, 213.
- [99] Rehahn M., Schlüter A.D., Wegner G., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1990**, 191, 1991.
- [100] Rehahn M., Schlüter A.D., Wegner G., Feast W.J., *Polymer* **1989**, 30, 1060.
- [101] Schlüter A.D., Wegner G., *Acta Polym.* **1993**, 17, 2696.
- [102] persönliche Mitteilung von Rehahn M.
- [103] Traser S., Wittmeyer P., Rehahn M., *E-Polymers* **2002**.
- [104] Balanda P.B., Ramey M.B., Reynolds J.R., *Macromolecules* **1999**, 32, 3970.
- [105] Harrison B.S., Ramey M.B., Reynolds J.R., Schanze K.S., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 8561.
- [106] Mcquade D.T., Hegedus A.H., Swager T.M., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 12389.
- [107] Child A.D., Reynolds J.R., *Macromolecules* **1994**, 27, 1975.
- [108] Kim S., Jackiw J., Robinson E., Schanze K.S., Reynolds J.R., Baur J., Rubner M.F., Boils D., *Macromolecules* **1998**, 31, 964.
- [109] Baum P., Meyer W.H., Wegner G., *Polymer* **2000**, 41, 965.
- [110] Bockstaller M., Kohler W., Wegner G., Vlassopoulos D., Fytas G., *Macromolecules* **2000**, 33, 3951.
- [111] Bockstaller M., Kohler W., Wegner G., Vlassopoulos D., Fytas G., *Macromolecules* **2001**, 34, 6359.
- [112] Rulkens R., Wegner G., Thurn-Albrecht T., *Langmuir* **1999**, 15, 4022.
- [113] Belack J., *Dissertation*, Johannes Gutenberg Universität (Mainz), **2003**.
- [114] Farmer B.L., Chapman B.R., Dudis D.S., Adams W.W., *Polymer* **1993**, 34, 1588.
- [115] Hecht E., in *Optik*, Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH, München, **2001**.
- [116] Lachenmayer, *J. Chem. Phys.* **2002**, 116, 392.
- [117] Oosawa F., *Biopolymers* **1970**, 9, 677.
- [118] Yamaoka K., Ueda K., *J. Phys. Chem.* **1980**, 84, 1422.
- [119] Deserno M., Holm C., Blaul J., Ballauff M., Rehahn M., *Eur. Phys. J. E* **2001**, 5, 97.
- [120] Mandel M., *J. Phys. Chem.* **1992**, 96, 3934.

- [121] Manning G.S., *J. Phys. Chem.* **1984**, 88, 6654.
- [122] Das T., Bratko D., Bhuiyan L.B., Outhwaite C.W., *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 410.
- [123] Das T., Bratko D., Bhuiyan L.B., Outhwaite C.W., *J. Chem. Phys.* **1997**, 107, 9197.
- [124] Dolar D., Rogac M.B., *Acta Chim. Slov.* **1998**, 45, 111.
- [125] Dolar D., Skerjanc J., *J. Chem. Phys.* **1974**, 61, 4106.
- [126] Jiang J., Liu H., Hu Y.J., *J. Chem. Phys.* **1999**, 110, 4952.
- [127] Nagvekar M., Tihminlioglu F., Danner R.P., *Fluid Phase Equilib.* **1998**, 145, 15.
- [128] Lamm G., Pack G.R., *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101, 959.
- [129] Guillaume B., Ballauff M., Goerigk G., Wittemann M., Rehahn M., *Colloid Polym. Sci.* **2001**, 279, 829.
- [130] Guillaume B., Blaul J., Ballauff M., Wittemann M., Rehahn M., Goerigk G., *Eur. Phys. J. E* **2002**, 8, 299.
- [131] Guillaume B., Dissertation (Karlsruhe), **2001**.
- [132] Wittemann M., Kelch S., Blaul J., Hickl P., Guillaume B., Brodowski G., Horvath A., Ballauff M., Rehahn M., *Macromol. Symp.* **1999**, 142, 43.
- [133] Wittemann M., Dissertation (Karlsruhe), **2000**.
- [134] Laughlin R.G., in *The Aqueous Behavior of Surfactants*, Academic Press, London, **1994**.
- [135] Lindmann B., Wennestrom H., in *Topics in Current Chemistry*, Vol. 87, Springer-Verlag, Berlin, **1980**.
- [136] Förster S., Hermsdorf N., Bottcher C., Lindner P., *Macromolecules* **2002**, 35, 4096.
- [137] Alexandridis P., *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, 1, 490.
- [138] Chu B., *Langmuir* **1995**, 11, 414.
- [139] Moffitt M., Khougaz K., Eisenberg A., *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 95.
- [140] Selb J., Gallot Y., in *Developments in Block Copolymers*, Elsevier Applied Science, London U.K., **1985**.
- [141] Tuzar Z., Prochazka K., Zuskova I., Munk P., *Polym. Prep.* **1993**, 34, 1038.
- [142] Astafieva I., Zhong X.F., Eisenberg A., *Macromolecules* **1993**, 26, 7339.
- [143] Astafieva I., Khougaz K., Eisenberg A., *Macromolecules* **1995**, 28, 7127.
- [144] Selb J., Gallot Y., in *Polymeric Amines and Ammonium Salts*, Pergamon Press, New York, **1980**.
- [145] Valint L., Bock J., *Macromolecules* **1988**, 21, 175.

- [146] Tuzar Z., in *Solvents and Self-Organization of Polymers*, Kluwer, Dordrecht, **1996**.
- [147] Wilhelm M., Zhao C.L., Wang Y., Xu R., Winnik M.A., Mura J.L., Riess G., Croucher M.D., *Macromolecules* **1991**, 24, 1033.
- [148] Sélégny E., in *Polyelectrolytes*, Reidel Publishing Co., Dordrecht, Holland, **1974**.
- [149] Barrat J.L., Joanny J.F., in *Advances in Chemical Physics, Vol XCIV*, Advances in Chemical Physics, Vol. 94, **1996**, pp. 1.
- [150] Khougaz K., Astafieva I., Eisenberg A., *Macromolecules* **1995**, 28, 7135.
- [151] Dan N., Tirrell M., *Macromolecules* **1993**, 26, 4310.
- [152] De Gennes P.G., in *Solid State Physics*, Academic Press, New York, **1977**.
- [153] Halperin A., *Macromolecules* **1987**, 20, 2943.
- [154] Nagarajan R., Ganesh K., *J. Chem. Phys.* **1989**, 90, 5843.
- [155] Whitmore M.D., Noolandi J., *Macromolecules* **1985**, 18, 657.
- [156] Ahrens H., Forster S., Helm C.A., *Phys. Rev. Lett.* **1998**, 81, 4172.
- [157] Guenoun P., Schlachli A., Sentenac D., Mays J.W., Benattar J.J., *Phys. Rev. Lett.* **1995**, 74, 3628.
- [158] Guenoun P., Lipsky S., Mays J.W., Tirrell M., *Langmuir* **1996**, 12, 1425.
- [159] Guenoun P., Davis H.T., Tirrell M., Mays J.W., *Macromolecules* **1996**, 29, 3965.
- [160] Guenoun P., Muller F., Delsanti M., Auvray L., Chen Y.J., Mays J.W., Tirrell M., *Phys. Rev. Lett.* **1998**, 81, 3872.
- [161] Tauer K., Muller H., Rosengarten L., Riedelsberger K., *Colloid Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **1999**, 153, 75.
- [162] Argrillier J.F., Tirrell M., *Theor. Chim. Acta* **1992**, 82, 343.
- [163] Miklavic S.J., Marcelja S., *J. Phys. Chem.* **1988**, 92, 6718.
- [164] Misra S., Mattice W.L., Napped D.H., *Macromolecules* **1994**, 27, 7090.
- [165] Misra S., Varanasi S., Varanasi P.P., *Macromolecules* **1989**, 22, 4173.
- [166] Pincus P., *Macromolecules* **1991**, 24, 2912.
- [167] Zhulina E.B., Birshtein T.M., Borisov O.V., *Macromolecules* **1995**, 28, 1491.
- [168] Zhulina E.B., Borisov O.V., Birshtein T.M., *J. Phys. II* **1992**, 2, 63.
- [169] Hariharan R., Biver C., Mays J., Russel W.B., *Macromolecules* **1998**, 31, 7506.
- [170] Ahrens H., Forster S., Helm C.A., *Macromolecules* **1997**, 30, 8447.
- [171] Gao Z., Varshney S.K., Wong S., Eisenberg A., *Macromolecules* **1994**, 27, 7923.

- [172] Zhang L.F., Shen H.W., Eisenberg A., *Macromolecules* **1997**, 30, 1001.
- [173] Zhang L.F., Eisenberg A., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 3168.
- [174] Zhang L.F., Barlow R.J., Eisenberg A., *Macromolecules* **1995**, 28, 6055.
- [175] Leibler L., Orland H., Wheeler J.C., *J. Chem. Phys.* **1983**, 79, 3550.
- [176] Förster S., Abetz V., Müller A.H.E., *Adv. Polym. Sci.* **2004**, 166, 173.
- [177] Krämer E., Förster S., Göltner C., Antonietti M., *Langmuir* **1998**, 14, 2027.
- [178] Regenbrecht M., Akari S., Förster S., Netz R.R., Möhwald H., *Nanotechnology* **1999**, 10, 434.
- [179] Borkovec M., Koper G.J.M., *Progress in Colloid Polymer Science* **1998**, 109, 142.
- [180] Smits R.G., Koper G.J.M., Mandel M., *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 5745.
- [181] Efstratiadis V., Tselikas G., Hadjichristidis N., Li J.B., Wan Y.N., Mays J.W., *Polym. Int.* **1994**, 33, 171.
- [182] Held D., Müller A.H.E., *Macromol. Symp.* **2000**, 157, 225.
- [183] Simms J.A., *Rubber Chem. Technol.* **1991**, 64, 139.
- [184] Heinrich M., Rawiso M., Zilliox J.G., Lesieur P., Simon J.P., *Eur. Phys. J. E* **2001**, 4, 131.
- [185] Kiriya A., Gorodyska G., Minko S., Stamm M., Tsitsilianis C., *Macromolecules* **2003**, 36, 8704.
- [186] Yang J.C., Mays J.W., *Macromolecules* **2002**, 35, 3433.
- [187] Zhang X., Xia J., Matyjaszewski K., *Macromolecules* **2000**, 33, 2340.
- [188] Hogen-Esh T.E., Rtureki W., *Polym. Prep.* **1989**, 30, 129.
- [189] Mengel C., Meyer W.H., Wegner G., *Macromol. Chem. Phys.* **2001**, 202, 1138.
- [190] Moinard D., Taton D., Gnanou Y., Rochas C., Borsali R., *Macromol. Chem. Phys.* **2003**, 204, 89.
- [191] Pitsikalis M., Sioula S., Pispas S., Hadjichristidis N., Cook D.C., Li J.B., Mays J.W., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **1999**, 37, 4337.
- [192] Burchard W., Eschwey H., *Polymer* **1975**, 16, 180.
- [193] Eschwey H., Hallensleben M.L., Burchard W., *Makromol. Chem.* **1973**, 173, 235.
- [194] Batzilla T., Funke W., *Macromol. Rapid Commun.* **1987**, 8, 261.
- [195] Funke W., Okay O., *Macromolecules* **1990**, 23, 2623.
- [196] Gnanou Y., Lutz P., Rempp P., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1988**, 189, 2885.

- [197] Lutz P., Rempp P., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1988**, 189, 1051.
- [198] Rempp P., Lutz P., Merrill E.W., *Polym. Prep.* **1990**, 31, 215.
- [199] Alward D.B., Kinning D.J., Thomas E.L., Fetters L.J., *Macromolecules* **1986**, 19, 215.
- [200] Hadjichristidis N., Pispas S., Pitsikalis M., Iatrou H., Vlahos C., *Advances in Polymer Science.* **1999**, 142, 71.
- [201] Worsfold D.J., Zilliox J.G., Rempp P., *Can. J. Chem.* **1969**, 47, 3379.
- [202] Young R.N., Fetters L.J., *Macromolecules* **1978**, 11, 899.
- [203] Schnitter M., Engelking J., Heise A., Miller R.D., Menzel H., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 1504.
- [204] Heise A., Hedrick J.L., Frank C.W., Miller R.D., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 8647.
- [205] Hückstädt H., Göpfert A., Abetz V., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 296.
- [206] Voulgaris D., Tsitsilianis C., *Macromol. Chem. Phys.* **2001**, 202, 3284.
- [207] Zioga A., Sioula S., Hadjichristidis N., *Macromol. Symp.* **2000**, 157, 239.
- [208] Fréchet J.M.J., Henmi M., Gitsov I., Aoshima S., Leduc M.R., Grubbs R.B., *Science* **1995**, 269, 1080.
- [209] Baskaran D., *Macromol. Chem. Phys.* **2001**, 202, 1569.
- [210] Gaynor S.G., Edelman S., Matyjaszewski K., *Macromolecules* **1996**, 29, 3.
- [211] Hawker C.J., Fréchet J.M.J., Grubbs R.B., Dao J., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 10763.
- [212] Weimer M.W., Fréchet J.M.J., Gitsov I., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **1998**, 36, 955.
- [213] Matyjaszewski K., Gaynor S.G., *Macromolecules* **1997**, 30, 7042.
- [214] Matyjaszewski K., Gaynor S.G., *Macromolecules* **1997**, 30, 7034.
- [215] Matyjaszewski K., Gaynor S.G., Kulfan A., Podwika M., *Macromolecules* **1997**, 30, 5192.
- [216] Simon P.F.W., Radke W., Müller A.H.E., *Macromol. Rapid Commun.* **1997**, 18, 865.
- [217] Sunder A., Hanselmann R., Frey H., Mülhaupt R., *Macromolecules* **1999**, 32, 4240.
- [218] Burchard W., *Adv. Polym. Sci.* **1999**, 143, 113.
- [219] Paulo C., Puskas J.E., *Macromolecules* **2001**, 34, 734.
- [220] Simon P.F.W., Müller A.H.E., *Macromolecules* **2001**, 34, 6206.
- [221] Cheng G., Simon P.F.W., Hartenstein M., Müller A.H.E., *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21, 846.

- [222] Mori H., Seng D.C., Lechner H., Zhang M.F., Muller A.H.E., *Macromolecules* **2002**, 35, 9270.
- [223] Litvinenko G.I., Simon P.F.W., Müller A.H.E., *Macromolecules* **1999**, 32, 2410.
- [224] Newkome G.R., Moorefield C.N., Vögtle F., in *Dendritic Molecules-Concepts, Syntheses, Perspectives*, VCH Publishers, Weinheim, **1996**.
- [225] Tomalia D.A., Naylor A.M., Goddard W.A., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1990**, 29, 138.
- [226] Hummelen J.C., Vandongen J.L.J., Meijer E.W., *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1489.
- [227] Kleppinger R., Reynaers H., Desmedt K., Forier B., Dehaen W., Koch M., *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, 19, 111.
- [228] Prosa T.J., Bauer B.J., Amis E.J., Tomalia D.A., Scherrenberg R., *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.* **1997**, 35, 2913.
- [229] Scherrenberg R., Coussens B., Van Vliet P., Edouard G., Brackman J., De Brabander E., Mortensen K., *Macromolecules* **1998**, 31, 456.
- [230] Tomalia D.A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P., *Polym. J.* **1985**, 17, 117.
- [231] Tomalia D.A., *Sci. Am.* **1995**, 272, 62.
- [232] Moorefield C.N., *Aldrichimica Acta* **1992**, 25, 31.
- [233] Tomalia D.A., *Aldrichimica Acta* **1993**, 26, 91.
- [234] De Brabander E.M.M., Meijer E.W., *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1370.
- [235] De Brabander E.M.M., Brackman J., Mure-Mak M., De Man H., Hogeweg M., Keulen J., Scherrenberg R., Coussens B., Mengerink Y., Van Der Wal S., *Macromol. Symp.* **1996**, 102, 9.
- [236] Prosa T.J., Bauer B.J., Amis E.J., *Macromolecules* **2001**, 34, 4897.
- [237] Ramzi A., Scherrenberg R., Brackman J., Joosten J., Mortensen K., *Macromolecules* **1998**, 31, 1621.
- [238] Nisato G., Ivkov R., Amis E.J., *Macromolecules* **1999**, 32, 5895.
- [239] Welch P., Muthukumar M., *Macromolecules* **1998**, 31, 5892.
- [240] Borkovec M., Koper G.J.M., *Macromolecules* **1997**, 30, 2151.
- [241] Katchalsky A., Mazur J., Spitnik P., *J. Polym. Sci.* **1957**, 23, 513.
- [242] Marcus R.A., *J. Phys. Chem.* **1954**, 58, 621.
- [243] Reed C.E., Reed W.F., *J. Chem. Phys.* **1992**, 96, 1609.
- [244] Borkovec M., Daicic J., Koper G.J.M., *Physica a-Statistical Mechanics and Its Applications* **2001**, 298, 1.

- [245] Van Duijvenbode R.C., Borkovec M., Koper G.J.M., *Polymer* **1998**, 39, 2657.
- [246] Cakara D., Kleimann J., Borkovec M., *Macromolecules* **2003**, 36, 4201.

3 Selbstorganisation von Polystyrol-*b*-Poly(L-lysin)-Blockpolyelektrolyten in wässriger Lösung

3.1 Einleitung

Blockpolyelektrolyte vereinen die Eigenschaften von Polyelektrolyten (PEL), Blockcopolymeren und oberflächenaktiven Substanzen (Tensiden) und verkörpern somit eine interessante, aber komplizierte Klasse Polymere. Abhängig vom Molekulargewicht, den relativen Blocklängenverhältnissen und der chemischen Konstitution der einzelnen Blöcke führt die Selbstorganisation dieser amphiphilen Moleküle in Lösung zu einer Vielzahl unterschiedlicher Aggregate wie beispielsweise Kugel- oder Stäbchenmizellen oder Vesikeln [1, 2].

Blockcopolymere, die aus einem synthetischen Block und einem geladenen Peptidblock bestehen bilden eine besondere Gruppe der Blockpolyelektrolyte. Auf Grund der Möglichkeit des Peptidsegments, geordnete Sekundärstrukturen auszubilden, ist diese Art von Hybridpolymeren in der Lage, unkonventionelle Topologien auszubilden. Je nach Sekundärstruktur des Peptidsegmentes liegen Knäuel-Knäuel-Polymere und Stäbchen-Knäuel-Polymere vor. In Stäbchen-Knäuel-Diblockcopolymeren wird die Selbstorganisation nicht mehr ausschließlich von der Mikrophasenseparation bestimmt, sondern auch von der Tendenz der steifen Segmente anisotrope flüssig kristalline Domäne auszubilden. Dieser konkurrierend ablaufende Prozess führt zu Morphologien, die sich grundlegend von denen der Knäuel-Knäuel-Blockcopolymere unterscheiden, wie u. a. das Beispiel Polystyrol-*b*-Poly(isocyno-*L*-alanin-*L*-alanin) (PS-*b*-PIAA) zeigt [3]. In einer gepufferten wässrigen Lösung (pH = 5,6) von (PS₄₀-*b*-PIAA₂₀) entstehen Stäbchen mit einem Durchmesser von 12 nm. Im Inneren bilden die hydrophoben Styrolblöcke einen Kern von etwa 8 nm, der von einer etwa 2 nm dicken Hüllen des Polypeptidsegments umgeben ist (Abb. 3–1 A). Die Länge der Stäbchen geht bis in den Mikrometerbereich, so dass diese supramolekulare Struktur aus ca. 6000 Molekülen besteht. Die Morphologie der Blockpolyelektrolyte ist sensitiv gegenüber der Peptidblocklänge, dem pH-Wert und der Art des Gegenions.

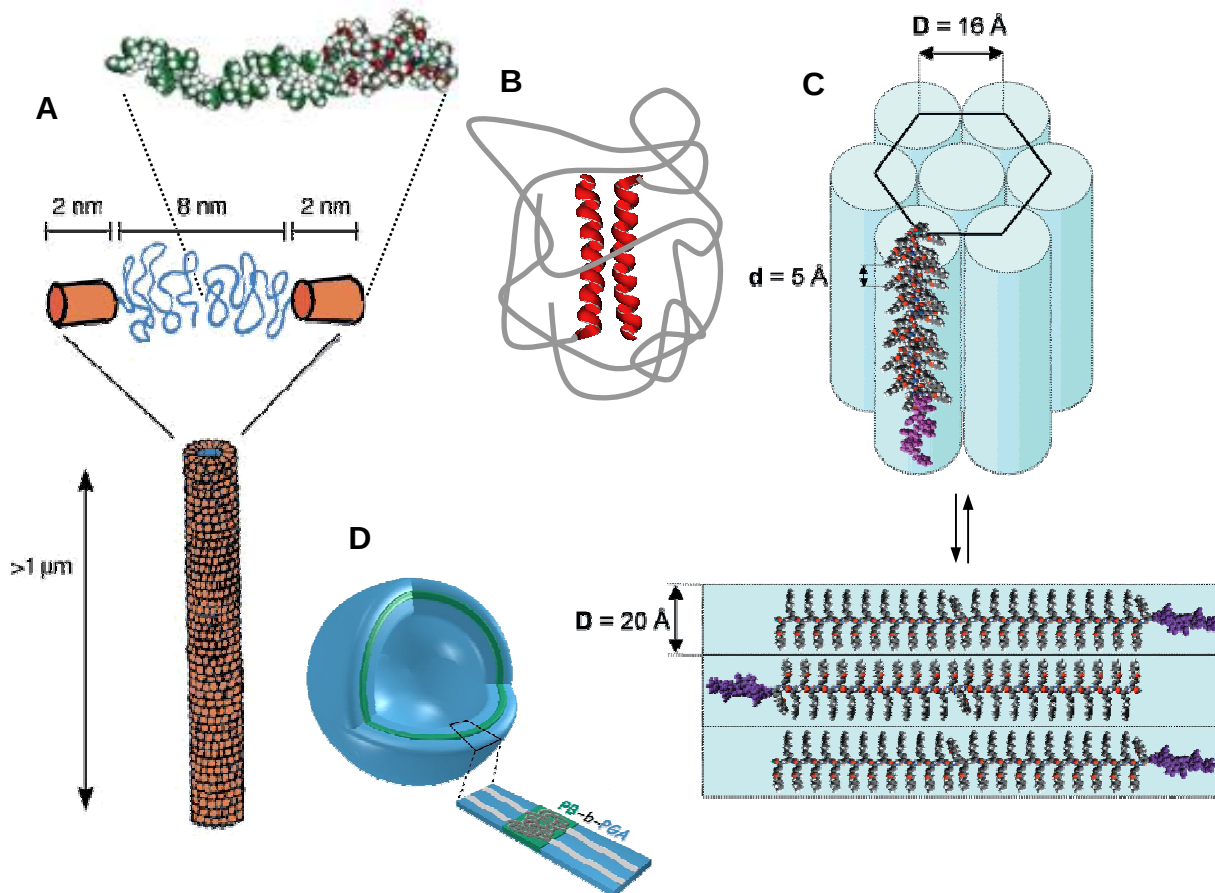


Abb. 3–1 Darstellung der verschiedenen Peptid-*b*-Synthetische Diblockcopolymeren. **A:** Zylinderförmige Superaggregate von PS-*b*-PIAA [3]; **B:** Dimerbildung von PEG-*b*-Polypeptid-Blockcopolymeren [4]; **C:** Morphologieänderung in Abhängigkeit der Sekundärstruktur von PS-*b*-PBGlu [5]; **D:** Vesikelbildung von PB-*b*-PLGlu [6].

Die Pionierarbeiten auf dem Gebiet der synthetischen Peptid-Hybrid-Blockcopolymeren stammen aus der Mitte der 70er Jahre [7-12]. Strukturuntersuchungen von Diblockcopolymeren aus einem Polystyrol- oder Polybutadiensegment und einem Poly(*O*^γ-benzyl-*L*-glutamat) oder Poly(*N*^ε-benzyloxycarbonyl-*L*-lysin) Block weisen sowohl in fester Phase als auch in Lösung eine lamellare Struktur auf, in der die helikalen Peptide eine hexagonale Anordnung einnehmen.

Etwa 25 Jahre später sind die Strukturuntersuchungen von Polystyrol-*b*-Poly(*N*^ε-benzyloxycarbonyl-*L*-lysin) (PS-*b*-PZLYs) in fester Phase hinsichtlich der Polymerarchitektur und der Sekundärstruktur des Peptidsegments erneut durchgeführt worden [13]. Für lineare Blockcopolymeren dominiert die lamellare Morphologie mit hexagonaler Anordnung der Peptidsegmente über einen weiten Bereich. Sternförmige Copolymeren und solche mit Flaschenbürsten-Architektur sind hingegen in der Lage, eine größere Grenzfläche zu stabilisieren, woraus wellenförmige Mesophasen resultieren. In Abhängigkeit von der Sekundärstruktur werden verschiedene lamellare Strukturen gefunden.

Aus der asymmetrischen Verteilung der Flexibilität der Stäbchen-Knäuel Diblockcopolymeren resultiert im Vergleich zu Knäuel-Knäuel-Polymeren ein größerer Flory-Huggins-Parameter, so dass eine Phasenseparation schon bei deutlich geringeren Polymerisationsgraden möglich wird [14-16]. Ein erstes Beispiel solcher Stäbchen-Knäuel-Oligomere untersucht die supramolekulare Organisation von Polystyrol-*b*-Poly(*O*^γ-benzyl-L-glutamat) (PS-*b*-PBGlu) und Poly(*N*^ε-benzyloxycarbonyl-L-lysin) (PS-*b*-PZLys) in fester Phase [5, 17]. Dabei zeigt sich eine Abhängigkeit der Morphologie dieser Stäbchen-Knäuel-Oligomere von der relativen Blocklänge ($N_{PS} = 10$, $N_{Peptid} = 10 \dots 80$), der Natur der α -Aminosäure und der Sekundärstruktur des Peptidblockes. So ändert sich die supramolekulare Organisation bei Temperaturerhöhung von einer doppelt hexagonalen (PS₁₀-*b*-PBGlu₂₀) oder einer columnar hexagonalen (PS₁₀-*b*-PBGlu₄₀ oder PS₁₀-*b*-PZLys₈₀) zu einer lamellaren β -Faltblatt Morphologie (Abb. 3–1 C).

In den letzten Jahren haben unabhängig voneinander zwei Arbeitsgruppen die Selbstorganisation von Polybutadien-*b*-Poly(L-glutaminsäure) Diblockcopolymeren (PB-*b*-PLG) in verdünnter wässriger Lösung beschrieben [18, 19]. So bilden PB₈₅-*b*-PLG₅₅ und PB₁₁₉-*b*-PLG₂₄ große vesikuläre Strukturen ($R_H = 70 \dots 90$ nm) aus, die als „Polymersome“ oder „Peptosome“ bezeichnet werden [19]. Ein pH-induzierter Knäuel-Helix-Übergang hat dabei keine signifikanten Änderungen der Morphologie oder Größe zur Folge. Ist hingegen das Polybutadiensegment aus weniger Wiederholungseinheiten aufgebaut als das Peptidsegment (PB₂₇-*b*-PLG₆₄), werden kugelförmige Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von etwa 16 nm gefunden. Die zweite Studie untersucht das Aggregationsverhalten von PB₄₀-*b*-PLG₁₀₀, welches Vesikel in der Größenordnung von $R_H = 114 \dots 128$ nm ausbildet (Abb. 3–1 D) [6]. Durch Änderungen des pH-Wertes oder der Ionenstärke wird auf diese Strukturen reversibel Einfluss genommen. Diese beiden Untersuchungsreihen verdeutlichen noch einmal, dass die einzelnen Blocklängen wichtige Parameter im Selbstorganisationsverhalten von amphiphilen Stäbchen-Knäuel-Oligomeren darstellen.

Eine weitere intensiv untersuchte Gruppe von Peptid-Hybrid-Blockcopolymeren ist aus zwei hydrophilen Segmenten aufgebaut: einem Polyethylenglykol (PEG) und einem Peptidsegment (Polyasparaginsäure (PAsp) [20-24], Poly(L-glutaminsäure) (PGlu) [25-27] oder Poly(L-lysin) (PLL)) [4, 20, 23, 24, 28, 29]. Für die Blockcopolymeren PEG₁₁₀-*b*-PLL₁₉ und PEG₁₅₀-*b*-PLL₁₈ tritt oberhalb von pH > 10,8 eine Dimerisierung auf [4], die bei zunehmender Basizität von dem Übergang des L-Lysinblocks von einer Knäuel- in eine Helixkonformation induziert wird. Diese Beobachtung ist bemerkenswert, da der PLL-Block eigentlich nicht lang genug ist, um eine stabile α -Helix auszubilden. In Abb. 3–1 ist unter B

eine schematische Grafik solcher Dimere gezeigt. Des Weiteren sind die Dimere deutlich widerstandsfähiger gegen chemische Denaturierung als ein Homopeptid mit größerem Molekulargewicht ($M = 170 \text{ kDa}$). Dieser stabilisierende Effekt der PEG-Kette ist auch in anderen Arbeiten beschrieben worden [30, 31]. Ansonsten liegt der Fokus der Veröffentlichungen über diese Blockcopolymere in einem möglichen Einsatz der Materialien in der Pharmakotherapie oder der Gentherapie [32-38].

In diesem Kapitel wird eine neue Klasse von Hybrid-Diblockcopolymeren aus einem Peptidblock und einem synthetischen Block vorgestellt. Der synthetische Block ist ein sehr kurzes, hydrophobes Oligostyrol ($N_{\text{Styrol}} \approx 10$) wohingegen der Peptidblock aus Poly(*L*-lysin) mit variierender Kettenlänge N_{Lys} ($N_{\text{Lys}} = 10 \dots 70$) aufgebaut ist. Untersucht wird die Selbstorganisation dieser Diblockoligomere in verdünnter Lösung in Abhängigkeit des Blocklängenverhältnisses.

3.2 Synthese und Charakterisierung der Polystyrol-*b*-Poly(*L*-lysin)-Blockpolyelektrolyte

Die Synthese der Blockpolyelektrolyte ist in vier Schritte unterteilt: Zunächst wird eng verteiltes, aminfunktionalisiertes Oligostyrol **3-1**, welches als Initiator dient, nach Literaturvorschrift synthetisiert [39, 40]. Darauf folgend wird unmittelbar vor der Polymerisation das Monomer *N*^ε-Benzyloxycarbonyl-*L*-Lysin-*N*-Carboxyanhydrid (Z-Lys-NCA) **3-2** nach bekannter Vorschrift hergestellt [41]. Im dritten Schritt wird das seitenkettengeschützte Blockcopolymer über ringöffnende Polymerisation hergestellt und abschließend in den wasserlöslichen Blockpolyelektrolyten überführt. Im vorliegenden Abschnitt wird auf die letzten beiden Schritte und die Charakterisierung der erhaltenen Polymere eingegangen.

3.2.1 Synthese der Polystyrol-*b*-Poly(*L*-lysin)-Blockcopolymere

Die ringöffnende Polymerisation von α -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden (NCA) ist eine gängige Technik zur Darstellung synthetischer Polypeptide. Allerdings ist diese Polymerisationsmethode nur begrenzt kontrollierbar, so dass nicht exakt definierte, polydisperse Polypeptide die Folge sind und im Gegensatz zu den molekulareinheitlichen

Proteinen mit exakt definierter Primärstruktur steht [42, 43]. Synthetische Polypeptide, die über NCA hergestellt werden, können jedoch als Modelle für natürliche Proteine bei Konformationsanalysen verwendet werden und sind für pharmazeutische und medizinische Zwecke von Interesse. Vorteilhaft ist die praktische Handhabung der Polymerisation, die zur Kategorie der Eintopfverfahren gehört. Dabei werden Monomer und Initiator im gewünschten Verhältnis zueinander vermischt. Nach beendeter Reaktion sind die einzig notwendigen Aufarbeitungsschritte das Ausfällen der Polymere und das Entfernen des nicht umgesetzten Monomers.

Über den Weg der ringöffnenden Polymerisation werden Blockcopolymere und Homopolypeptide, welche als Vergleichsubstanzen für die Bildung von Sekundärstrukturen dienen, verschiedener Kettenlängen hergestellt (Schema 3–1). Als Initiator wird für die Homopolymere das kommerziell erhältliche *n*-Hexylamin **3-3** und für die Blockcopolymere das zuvor synthetisierte aminfunktionalisierte Oligostyrol **3-1** eingesetzt. In der Synthese der Blockcopolymere mit kurzen *L*-Lysinketten ($N_{\text{Lys}} \leq 30$) wird der Initiator als Hydrochlorid verwendet, da kürzlich die Erkenntnis gewonnen wurde, dass auf diese Weise bei erhöhter Reaktionstemperatur eng verteilte Produkte gewonnen werden [44]. Begründet wird dieses Ergebnis mit dem Zurückdrängen der parallel ablaufenden Polymerisation nach dem aktivierten Monomer-Mechanismus [45, 46]. Die analytischen Daten der Initiatoren **3-1** sind in Tabelle 3–1 aufgelistet. Unter Ausschluss von Wasser wird eine entsprechende Menge frisch umkristallisiertes Z-Lys-NCA **3-2** in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) gelöst und über einen Spritzenfilter vorgelegt. Zu der Monomerlösung wird das primäre Amin (**3-1** oder **3-3**) in DMF gespritzt, wobei die gewünschte Kettenlänge durch das Molverhältnis von Initiator zu Monomer eingestellt wird (Schema 3–1). Nach fünf Tagen bei Raumtemperatur wird das Polymer durch Ausfällen aus Wasser erhalten. Nicht umgesetztes Monomer wird durch gründliches Waschen mit Diethylether entfernt.

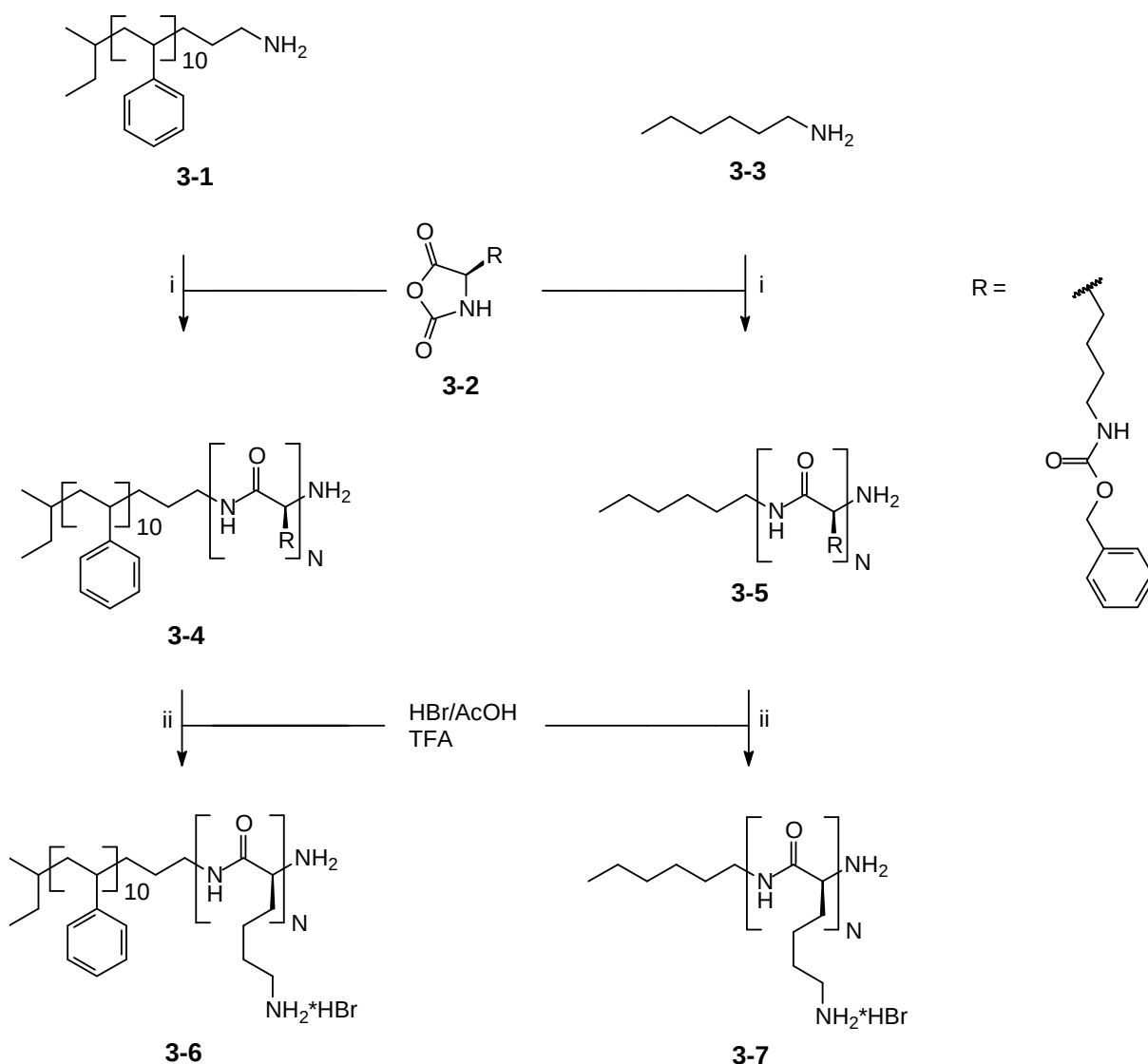
Tabelle 3–1 Analytische Daten der aminfunktionalisierten Oligostyrole: Kettenlänge N_{PS} , zahlenmittleres Molekulargewicht M_n und Polydispersität M_w/M_n .

Probe	N_{PS}^{a} [1]	M_n^{b} [g/ mol]	N_{PS}^{b} [1]	M_w/M_n^{b} [1]
3-1a	8	746	6	1,27
3-1b	10	815	7	1,23
3-1c	10	892	8	1,17

a) ^1H -NMR-spektroskopisch ermittelter Polymerisationsgrad.

b) Aus GPC-Messungen in THF gegen Polystyrol-Standards.

Um die Schutzgruppen zu entfernen, werden die Blockcopolymere **3-4** und die Homopolypeptide **3-5** in möglichst wenig Trifluoressigsäure (TFA) gelöst und mit einem Überschuss an Bromwasserstoff (HBr) in Essigsäure (AcOH) versetzt (Schema 3–1) [47]. Nach einer Stunde bei Raumtemperatur werden durch Zugabe von Diethylether die Produkte **3-6** und **3-7** als farbloser Niederschlag erhalten. Noch vorhandene Säurereste (TFA, HBr, AcOH) werden durch Dialyse in bidest. Wasser entfernt und die reinen Produkte **3-6** und **3-7** durch Lyophilisieren gewonnen.



Schema 3–1 Synthese der wasserlöslichen Polymere: i) DMF, RT, 5 Tage; 70 - 90 %; ii) TFA; HBr/ AcOH, 1 Std., RT, ~90 %.

Die auf diesem Weg erhaltenen Polymere werden zunächst über Gelpermeationschromatographie (GPC) und ^1H -NMR-Spektroskopie charakterisiert, bevor auf ihre Selbstorganisation in wässriger, fremdsalzfreier Lösung eingegangen wird.

3.2.2 Charakterisierung der Polystyrol-*b*-Poly(L-lysin)-Blockcopolymere

¹H-NMR-Spektroskopie

In Abb. 3–2 sind die ¹H-NMR-Spektren eines geschützten Homopolypeptides **3-5a** (oben) und eines ungeschützten Blockcopolymers **3-6e** (unten) dargestellt.

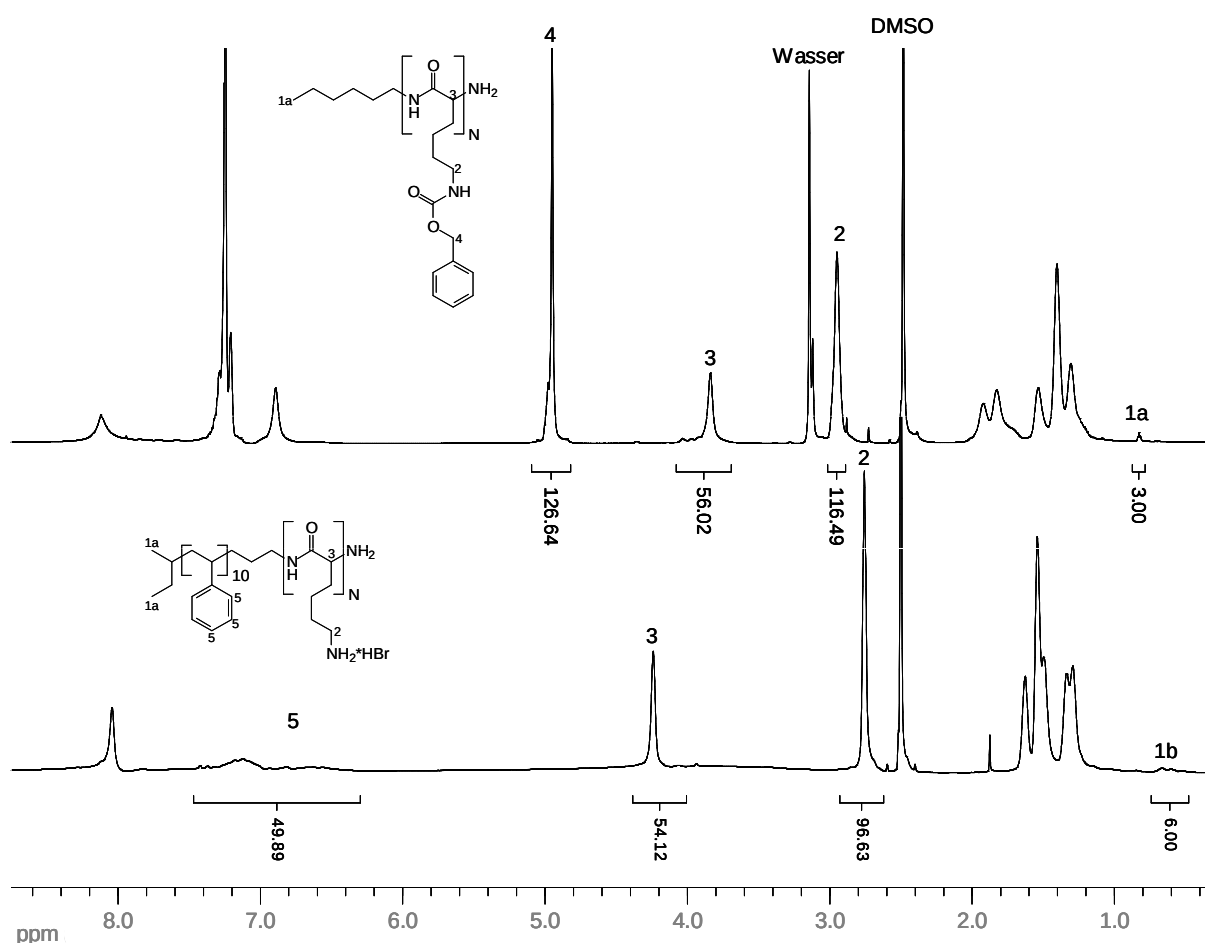


Abb. 3–2 ¹H-NMR-Spektren (700 MHz, DMSO, 333 K) des geschützten Homopolypeptides **3-5a** (oben) und des ungeschützten Blockcopolymers **3-6e** (unten).

Sowohl in den Spektren der Homopolymere als auch in denen der Blockcopolymere verursacht die charakteristische Gruppe der Initiatoren (Methylgruppe des *n*-Hexylamins (1a) und die Methylgruppen des sek. Butyllithiums (1b)) ein Signal, welches als Referenz zur Bestimmung des Polymerisationsgrades verwendet wird. So werden für die ungeschützten Polymere nur die Integrationsflächen der Methylenprotonen der Lysinseitenkette (2) und die α CH-Protonen (3) zur Berechnung der Kettenlänge herangezogen, während bei den

geschützten Oligomeren zusätzlich die Benzylester-Protonen (4) verwendet werden. Die in Tabelle 3-2 zusammengefassten Poly(*L*-lysin)-Kettenlängen stellen die Mittelwerte der Vergleiche dieser Integrationsflächen dar.

Gelpermeationschromatographie (GPC)

Im Gegensatz zur NMR-Spektroskopie ist die Gelpermeationschromatographie (GPC) eine Relativmethode, die zur Bestimmung der Molekulargewichte eine Kalibrierung des Systems erfordert. Die GPC-Chromatogramme der Z-geschützten Blockcopolymere **3-4** und Homopolypeptide **3-5** in Dimethylformamid (DMF) bei 60 °C weisen ein Signal auf (Abb. 3–3), aus dem sich gegen Polystyrolstandards Polydispersitäten (M_w/M_n) zwischen 1,15 und 1,44 für die Copolymere **3-4** und zwischen 1,10 und 1,49 für die Homopolymere **3-5** ergeben. Die resultierenden Kettenlängen liegen deutlich oberhalb der angestrebten Polymerisationsgrade. Dieses Ergebnis ist auf die Helix-induzierende Wirkung des Solvens DMF auf Poly(*N*^ε-benzyloxycarbonyl-*L*-lysin) zurückzuführen [48, 49]. Im Vergleich zu Peptiden in der Knäuelkonformation beansprucht die helikale Sekundärstruktur ein größeres hydrodynamisches Volumen und liefert somit ein „zu großes“ Molekulargewicht [50].

Ebenfalls nur ein Signal zeigen die GPC-Messungen der ungeschützten Polypeptide, die in einem Lösungsmittelgemisch aus Acetonitril (ACN), Wasser und Trifluoressigsäure (50/ 50/ 0,2 %) gemessen werden. Dies deutet darauf hin, dass die Löslichkeit von Oligostyrol in diesem Solvensgemisch ausreichend ist und die PEL-Blockcopolymere **3-6** keine Mizellen bilden (Abb. 3–3 rechts). Die ermittelten Polydispersitäten bei einer Kalibrierung mit Natriumpolystyrolsulfonat (NaPSS) liegen für die Blockcopolymere **5-6** zwischen 1,35 und 1,54 und für die Homopolypeptide **5-7** zwischen 1,31 und 1,61 und somit insgesamt höher als in DMF. Im Fall der Blockcopolymeren muss auf zwei Beobachtungen besonders hingewiesen werden. Zum einen wird mit abnehmender *L*-Lysinkettenlänge eine zunehmende Überbetonung der Wechselwirkung zwischen Probe und Säule festgestellt, welche sich in einem unsymmetrischen Kurvenverlauf darstellt. Diese Annahme wird durch die Beobachtung bestätigt, dass dieses Phänomen bei den Homopolymeren nicht auftritt. Zum anderen ist eine Molekulargewichtsbestimmung der Polymere **5-6a** und **5-6b** nicht möglich, da das Nachziehen der Kurve zu einem Verschmelzen der Messsignale mit dem Einspritzsignal ($V_E \geq 10,55$ mL) führt.

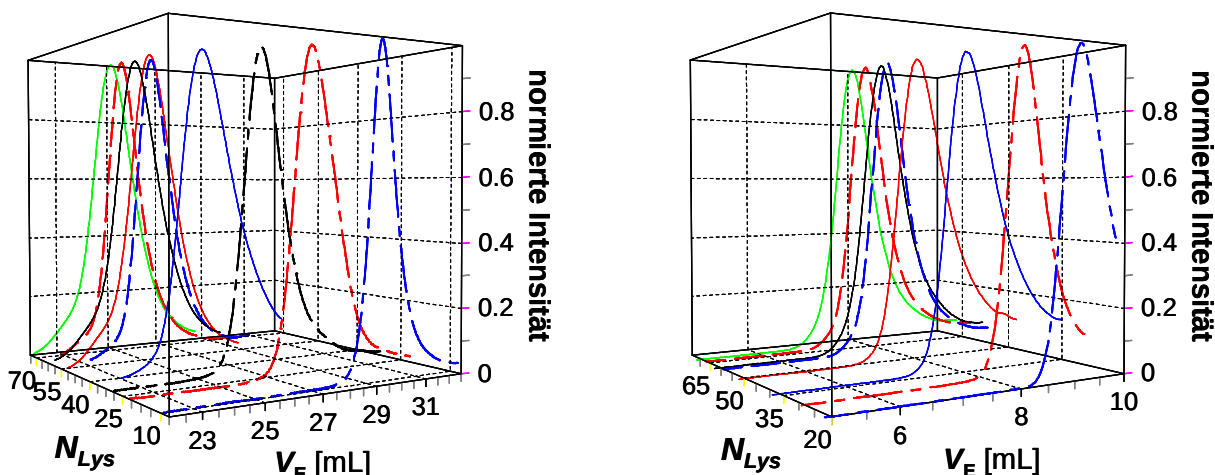


Abb. 3–3 GPC-Elugramme der PEL-Blockcopolymere: **links:** geschützte Form in DMF bei 60 °C **rechts:** die ungeschützten Blockpolyelektrolyte in ACN/ Wasser/ TFA (50 : 50 : 0,2). Die verschiedenen Linienarten repräsentieren die verschiedenen Initiatoren: **3-1a** (---), **3-1b** (···), **3-1c** (—).

In Abb. 3–4 ist der Zusammenhang zwischen den angestrebten und den ermittelten Kettenlänge aufgeführt. Die dazugehörigen Werte sowie die Ergebnisse der Homopolymerisation sind in Tabelle 3-2 zusammengefasst. Deutlich zeigt sich, dass die Ergebnisse der GPC in DMF das Molekulargewicht überschätzen. Dieser Effekt wird mit zunehmender Lysinkette größer, was mit der Annahme, dass die Helix-induzierende Wirkung des DMF hierfür verantwortlich ist, in Einklang steht.

Einen analogen linearen Verlauf zu den GPC's in DMF weisen die wässrigen Messungen auf. Allerdings bewirkt der mit sinkender L-Lysinblocklänge zunehmende relative Polystyrolanteil eine stärkere Wechselwirkung zwischen Probe und Säule, woraus ein späterer Austritt resultiert, der zur Bestimmung eines zu geringen Molekulargewichtes führt. Aus diesen Gründen können die GPC-Ergebnisse nur für qualitative Aussagen herangezogen werden.

Die NMR-spektroskopisch bestimmten Polymerisationsgrade der ungeschützten Blockcopolymere stimmen gut mit den angestrebten Kettenlängen überein. Da hier keine Nebeneffekte auftreten, werden nachfolgend diese Kettenlängen zur Berechnung von Konzentrationen verwendet.

Die Ergebnisse bestätigen somit, dass NCA-Polymerisationen mit primären Aminen als Initiator gut kontrollierbar sind, solange der angestrebte Polymerisationsgrad aus weniger als 100 Wiederholungseinheiten bestehen soll [43, 51]. Darüber hinaus treten auf Grund von

Nebenreaktionen wie Kettenabbruch, -transfer oder Terminierungsreaktionen größere Abweichungen auf [42, 52, 53].

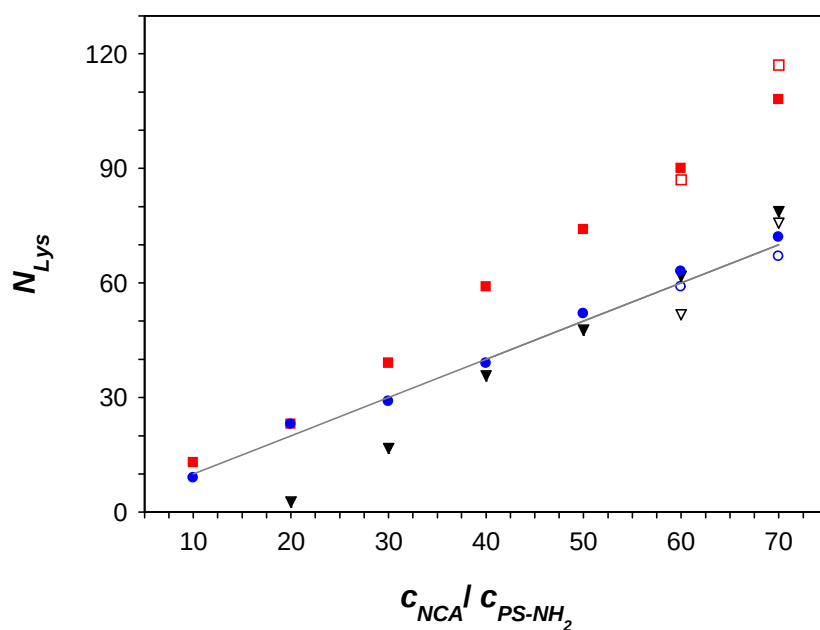


Abb. 3–4 Mittlere Polymerisationsgrade als Funktion des eingesetzten Monomer zu Initiator Verhältnisses: erwartete Länge (—), NMR-spektroskopisch ermittelte Kettenlänge der ungeschützten Polymere (●), Kettenlänge aus GPC-Analysen der geschützten (■) und ungeschützten Polymere (▼). Die nicht ausgefüllten Symbole entsprechen den Ergebnissen eines zweiten Reaktionsansatzes.

Tabelle 3–2 Überblick über die analytischen Daten der Blockcopolymere und der Homopolypeptide. Aufgeführt sind die Ausbeuten nach Entschützung, die theoretischen Kettenlängen N_{th} , sowie experimentell ermittelte Kettenlängen N_{Lys} und die Molekulargewichte M_n und Polydispersitäten M_w/M_n .

Probe	Ausbeute ^d [%]	N_{th} ^e [1]	N_{Lys} ^f [1]	M_n ^g [g/ mol]	N_{Lys} ^g [1]	M_w/M_n ^g [1]	M_n ^h [g/ mol]	N_{Lys} ^h [1]	M_w/M_n ^h [1]
3-6a ^a	41	10	9	4500	13	1,15	n.b.	n.b.	n.b.
3-6b ^a	51	20	22	6900	23	1,26	1500	3	1,41
3-6c ^a	59	30	29	11300	40	1,30	4500	17	1,52
3-6d ^b	59	40	39	13300	59	1,44	8600	36	1,52
3-6e ^b	73	50	52	20600	74	1,43	11200	48	1,54
3-6f ^c	74	60	59	24100	87	1,2	11900	52	1,40
3-6g ^b	90	60	63	24800	90	1,36	17600	79	1,35
3-6h ^c	80	70	67	31800	117	1,17	17100	76	1,48
3-6i ^b	80	70	72	29400	108	1,39	14200	62	1,40
3-7a	72	50	53	17500	67	1,49	16600	86	1,31
3-7b	48	60	63	20100	77	1,24	16800	80	1,48
3-7c	74	70	73	24900	95	1,19	18100	79	1,61
3-7d	74	80	80	37200	142	1,10	31000	148	1,31

a) Mit **3-1a** als Hydrochlorid als Initiator.

b) Mit **3-1c** als Initiator.

c) Mit **3-1b** als Initiator.

d) Die Berechnung der Ausbeute bezieht sich auf die wasserlöslichen Polymere.

e) Angestrebte Kettenlänge.

f) ¹H-NMR Spektroskopie der ungeschützten Polymere in DMSO-d₆ bei 60 °C.

g) GPC-Messungen in DMF bei 60 °C mit Polystyrol-Standards und einem RI-Detektor.

h) GPC-Messungen in ACN/ Wasser/ TFA (50/ 50/ 0,2) gegen Natrium-Polystyrolsulfonat mit einem UV^{210 nm}-Detektor.

3.3 Selbstorganisation der Polystyrol-*b*-Poly(L-lysin)-Blockcopolymere

Selbstorganisation ist die autonome Organisation von Komponenten in Muster oder Strukturen ohne menschliches Eingreifen [54]. In amphiphilen Blockcopolymeren wird die Selbstorganisation nicht nur durch das gleichzeitige Vorliegen kurzreichweitiger Anziehung (kovalente Bindung der Blöcke) und langreichweitiger Abstoßung (Inkompatibilität der Blöcke) verursacht, sondern vielmehr durch unspezifische hydrophobe Wechselwirkungen. Die Manipulation der Struktur und der Eigenschaften solcher Materialien ist daher nur begrenzt möglich. In diesem Kapitel wird der Einfluss einer variierenden Poly(L-lysin)-Blocklänge auf die Form und Größe der resultierenden Mizellen untersucht.

3.3.1 Sekundärstruktur des Poly(L-lysin)-Segments: Zirkulardichroismus

Die Ausbildung von Sekundärstrukturen aus ungeordneten Peptidketten (Knäuel) stellt ebenfalls eine Form der Selbstorganisation dar. Diese Umwandlung kann durch Änderung des pH-Wertes, der Ionenstärke oder der Temperatur hervorgerufen und durch Aufnahme von Zirkulardichroismus-Spektren (CD-Spektren) verfolgt werden, da jede Sekundärstruktur charakteristische Banden im ultravioletten Bereich besitzt (Abb. 3–5) [55]. Hervorgerufen werden diese Banden von $n\pi^*$ - und $\pi\pi^*$ -Übergängen des häufigsten Chromophors in Peptiden - der Amid-Gruppe [56-58].

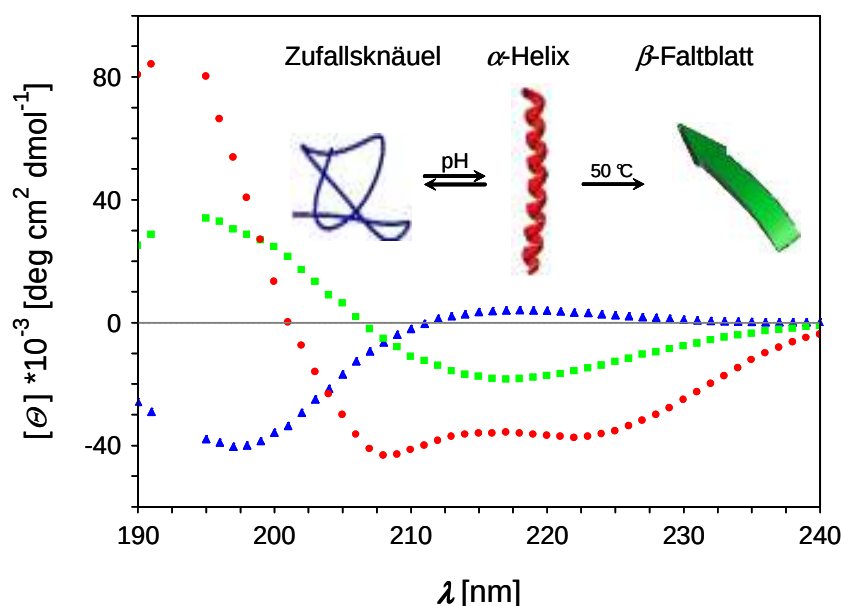
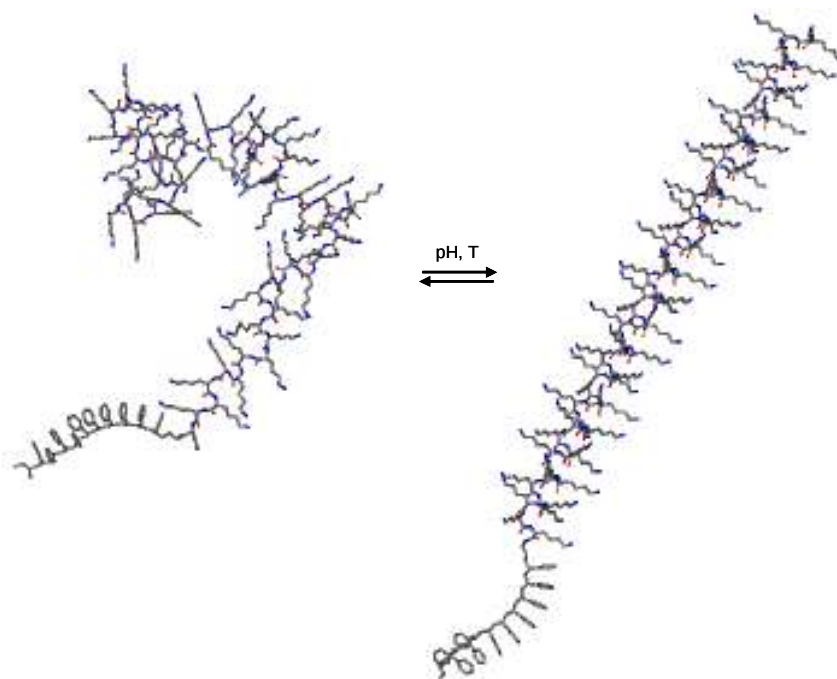


Abb. 3–5 CD-Spektren der „reinen“ Sekundärstrukturen (Knäuel (▲); β-Faltblatt (■); α-Helix (●)) nach Yang et al. 1985 [55].

Nach der Entschützung liegen die Peptide **3-6** und **3-7** als Hydrobromide vor, so dass in wässriger Lösung die elektrostatische Abstoßung der ionischen Seitengruppen die Bildung geordneter Strukturen verhindert und das Peptid in Form eines Zufallsknäuels (engl. random coil) vorliegt. In Schema 3–2 sind über Molekülsimulationen (HyperChem 6.0, MM+ Kraftfeld) errechnete Strukturen einer Knäuel- und einer α-Helix-Konformation für ein Polystyrol-*b*-Poly(L-lysin)-Blockcopolymer aus zehn Styrol- und 70 L-Lysin-Einheiten abgebildet. Durch den Zusatz von Base wird der Übergang zur α-Helix zum einen durch Eliminierung der intramolekularen Abstoßung und zum anderen durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen induziert.



Schema 3–2 Molekülsimulation für einen Knäuel-Helix-Übergang von PS₁₀Lys₇₀ (HyperChem 6.0, MM+ Kraftfeld).

Der pH-induzierte Knäuel-Helix-Übergang, dessen Strukturen in Schema 3–2 abgebildet sind, ist ein kontinuierlich ablaufender Prozess, der mittels CD-Spektroskopie verfolgt werden kann. In Abb. 3–6 sind daher exemplarisch die Spektren für den Blockpolyelektrolyten **3-6f** (unten) und das Homopeptid **3-7d** (oben) in Abhängigkeit des pH-Wertes gezeigt. Die Spektren lassen erkennen, dass die Änderung der Sekundärstruktur hin zur α -helikalen Form erst oberhalb von $\text{pH} > 9$ einsetzt. Die Auswirkungen einer pH-Wert-Erhöhung sind zwischen $8,5 < \text{pH} < 9,5$ am stärksten. Eine weitere Steigerung der Basizität bewirkt kaum weitere Konformationsänderungen. Eine Untersuchung oberhalb von $\text{pH} > 10,5$ für die Homopolypeptide und $\text{pH} > 10$ für die Blockcopolymere ist nicht möglich, da die Polymere in diesen Bereichen an die Grenzen ihrer Löslichkeit gelangen. Die isodichroitischen Punkte, die mit sinkender *L*-Lysinkette verschwinden, liegen bei $\lambda = 204,5 \text{ nm}$.

Ein qualitativer Vergleich der CD-Spektren des Homopolypeptides **3-7** mit dem Blockcopolymer **3-6** lässt auf den ersten Blick erkennen, dass das Poly(*L*-lysin) **3-7d** bei $\text{pH} \approx 10$ eine größere molare Elliptizitäten pro Aminosäure (engl. mean residue ellipticity) $[\theta]$ erreicht als das Blockcopolymer **3-6f**. Dies deutet auf eine weiter fortgeschrittene Helixbildung im Fall von **3-7d** hin. Ansonsten fällt auf, dass die Minima bei 222 und 208 nm auf einer Höhe liegen, was auf die Assoziation von Peptid-Helices hinweist [59, 60]. Die

Banden im Homopolymer kommen dabei deutlicher zum Vorschein als im Blockpolyelektrolyten **3-6f**.

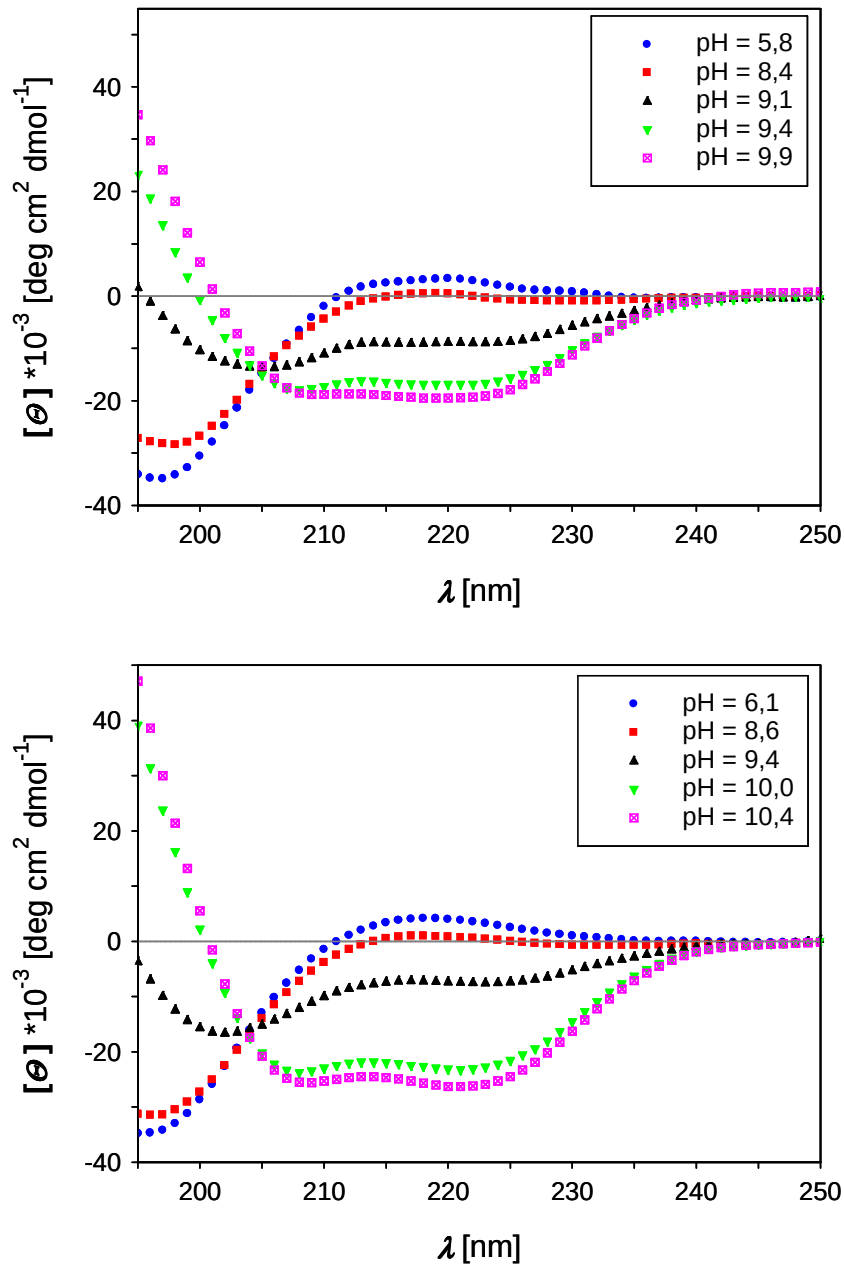


Abb. 3–6 Zirkulardichroismus-Spektren in Abhängigkeit des pH-Wertes. **Oben:** Blockcopolymer **3-6f**; **unten:** Homopeptid **3-7d**.

Erstaunlicherweise wird für ein synthetisches lineares Poly(L-lysin (PLL)-hydrochlorid) mit etwa 425 Wiederholungseinheiten im vergleichbaren pH-Bereich eine geringere molare Elliptizität pro Aminosäure $[\theta]$ als für **3-7** gefunden. Dafür konnte diese Messreihe bis zu einem pH-Wert von 11,7 durchgeführt werden [61] als in den vorliegenden Beispielen. Das gleiche Verhalten wie PLL*HCl weist ein über NCA-Polymerisation synthetisiertes

Poly(L-lysin)-Hydrobromid mit einem Polymerisationsgrad von 100 auf [62]. Für letztgenanntes Beispiel kann die hier gefundene fortgeschrittenere Helixbildung bei ähnlichen pH-Werten mit einer geringeren Ionenstärke in der Lösung begründet werden, da diese Proben nach der Entschüttung durch Dialyse von Fremdsalz befreit wurden. In der Vergleichssubstanz PLL*HBr hingegen führt die erhöhte Ionenstärke zu einer Denaturierung der α -Helix. Es ist anzunehmen, dass die Salzkonzentration in diesen Lösungen oberhalb der „Salting in“-Konzentration [63, 64] liegt, wodurch Messreihen bis zu höheren pH-Werten möglich sind.

Eine quantitative Aussage anhand der CD-Spektren ist erst dann möglich, wenn die molaren Elliptizitäten pro Aminosäure in eine prozentuale Zusammensetzung der Sekundärstrukturen überführt werden. Eine Methode zur Berechnung der Anteile der einzelnen Sekundärstrukturen betrachtet ein gemessenes CD-Spektrum als Linearkombination der reinen Sekundärstrukturen [65-68].

$$[\theta](\lambda) = f_H [\theta]_H^\infty(\lambda) \left(1 - \frac{k}{\bar{n}}\right) + f_F [\theta]_F(\lambda) + f_K [\theta]_K(\lambda) \quad \text{Gl.(3-1)}$$

- $[\theta]_H^\infty$: maximale molare Elliptizität pro Aminosäure einer unendlich langen Helix.
- $[\theta]_{F/K}$: molare Elliptizität pro Aminosäure einer reinen Faltblatt-/Knäuelkonformation.
- k : Kettenlängen abhängige Konstante
- $\bar{n}$: Kettenlänge
- f : Anteile der einzelnen Sekundärstrukturen

Dabei trägt der Ausdruck des helikalen Anteils der kettenlängenabhängigen Neigung zur Helixbildung Rechnung. Zur Lösung des linearen Gleichungssystems gilt folgende Randbedingung:

$$\sum f_i = 1; \quad f_i > 0 \quad \text{Gl.(3-2)}$$

Als Referenz-Spektren dienen die Messungen an synthetischem PLL-Hydrochlorid von Yang et al. [55]. Die charakteristischen Wellenlängen $\lambda = 208$ nm und $\lambda = 222$ nm werden als Beobachtungswellenlängen für die Linearkombination ausgewählt. In Abb. 3–7 sind die Ergebnisse der Berechnung für den Knäuel- (links) und den Helix-Anteil (rechts) sowohl für die Homopolypeptide **3-7** (oben) als auch die Blockcopolymere **3-6** (unten) in Abhängigkeit der Kettenlänge und dem pH-Wert dargestellt. Die exakten Werte der Berechnung für die drei Sekundärstrukturen können dem Anhang (S. 88) entnommen werden.

Wie zu erwarten nimmt der Knäuel-Anteil mit zunehmendem pH-Wert ab, während der Helix-Anteil ansteigt. Die Anteile in der β -Faltblattstruktur steigen von etwa 5 % im leicht sauren Milieu bis zu etwa 40 % im basischen Bereich und sind hier nicht mit abgebildet. Der Einfluss des Styrolblockes auf die Helixbildung ist nicht sehr ausgeprägt, da für einen bestimmten pH-Bereich die erhaltenen Prozente für Blockcopolymer und Homopeptid vergleichbar sind. Dieses Verhalten steht in Übereinstimmung mit Untersuchungen an Polybutadien-*b*-Poly(L-glutaminsäure)-Blockpolyelektrolyten [18, 19]. In einzelnen Fällen wird für die Blockcopolymere bei hohen pH-Werte ein Absinken der Helix-Anteile beobachtet, was auf den einsetzenden Fällungsprozess zurückzuführen ist.

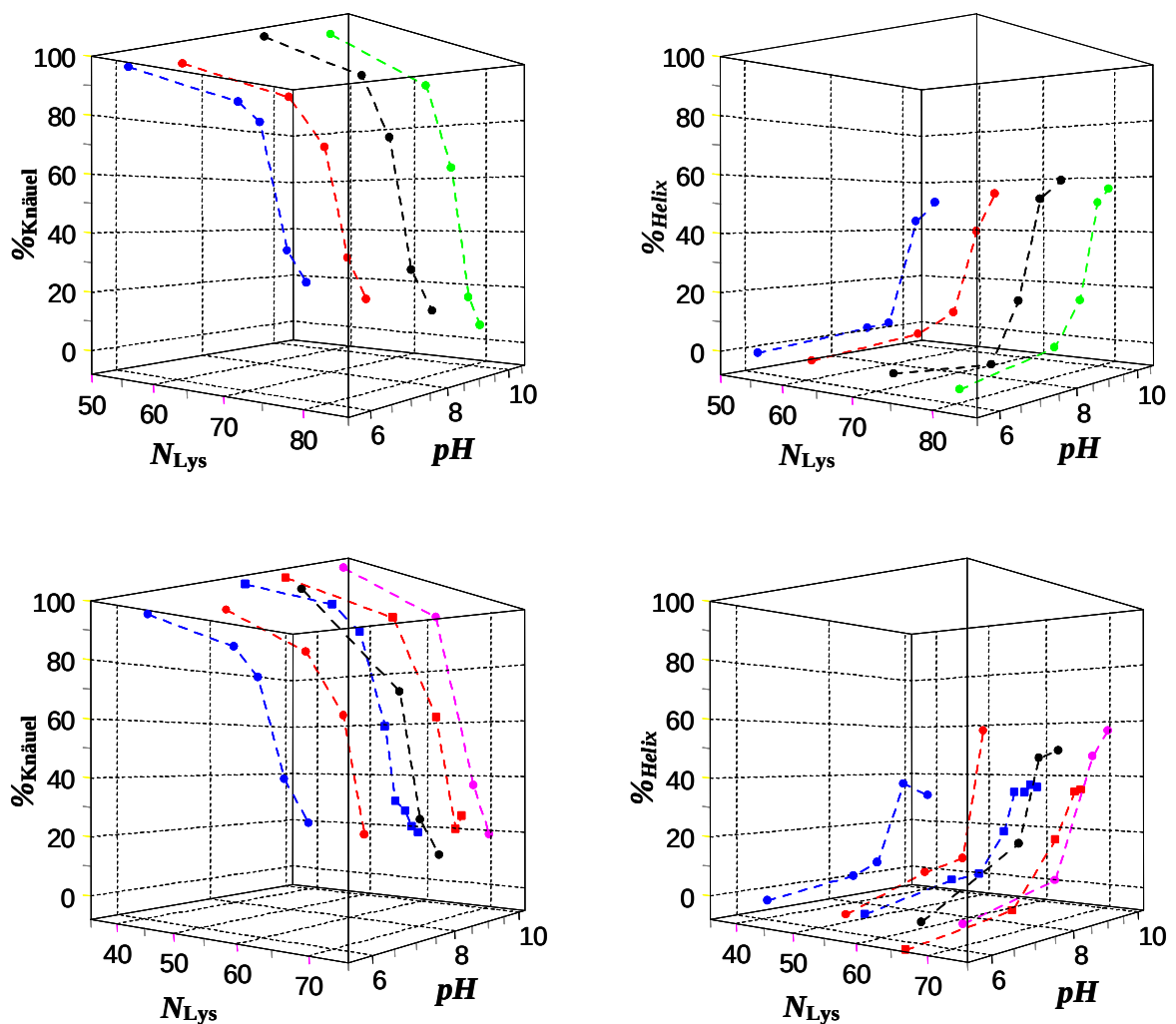


Abb. 3–7 pH-Abhängigkeit der Knäuel- (links) und Helix-Anteile (rechts) der Blockcopolymere 3-6 (unten) und der Homopolypeptide 3-7 (oben). Bei den Oligostyrol-*b*-Oligo(L-Lysin)-Polymeren steht (■) für die mit 3-1b als Initiator und (●) für die mit 3-1c synthetisierten Copolymere.

3.3.2 Kritische Mizellenkonzentration

Um die Gestalt und Größe der selbstorganisierten Strukturen der Blockpolyelektrolyte untersuchen zu können, muss zunächst die Konzentration an amphiphilen Molekülen, ab der Mizellenbildung auftritt, ermittelt werden. Diese Konzentration wird als kritische Mizellenkonzentration (*cmc*) bezeichnet. Zur ihrer Bestimmung können alle Verfahren angewendet werden, deren physikalische Eigenschaften von der Teilchengröße (Lichtstreuung [69-71]), Teilchenzahl (z.B. osmotische Druck [72, 73] oder Viskosität [73]) abhängen. Eine weitere Methode macht sich die Veränderung spektraler Eigenschaften (Absorption und Fluoreszenz) von Farbstoffen bei der Farbstoffsolubilisierung zu Nutze [74-76]. Auf Grund seiner photophysikalischen Eigenschaften (z. B. lange Lebensdauer, Excimerbildung) wird Pyren oft als Sondenmolekül für Fluoreszenzmessungen eingesetzt [77]. Da Pyren stark hydrophob ist, besitzt es eine sehr geringe Löslichkeit in Wasser, die dazu führt, dass sich Pyren vorzugsweise in das hydrophobe Innere von Mizellen einlagert [78-80]. Ferner ist Pyren einer der wenigen aromatischen Kohlenwasserstoffe, welcher eine ausgeprägte Feinstruktur bei Fluoreszenzmessungen in Lösung aufweist. In Anwesenheit von Pyren können in den Emissions- und Anregungsspektren mit steigender Polymerkonzentration signifikante Veränderungen im Fluoreszenzverhalten festgestellt werden, welche durch die Solubilisierung und der damit verbundenen möglichen Excimerbildung von Pyren hervorgerufen werden [81-83].

Charakteristische Emissions- und Anregungsspektren einer wässrigen Lösung des Blockpolyelektrolyten **3-6e** bei verschiedenen Konzentrationen in Anwesenheit von $c = 5,9 \cdot 10^{-7}$ mol/L Pyren sind in Abb. 3–8 dargestellt. Die Spektren zeigen, dass die Intensität innerhalb einer Messreihe mit steigender Polymerkonzentration zunimmt, da die Anzahl an hydrophoben Pyrenmolekülen, die sich im Mizelleninneren befinden, wächst. Zusätzlich wird in den Anregungsspektren eine Verschiebung der (0, 0)-Bande von 334,5 nm nach 339 nm (idealerweise von 332,5 nm nach 338 nm) beobachtet.

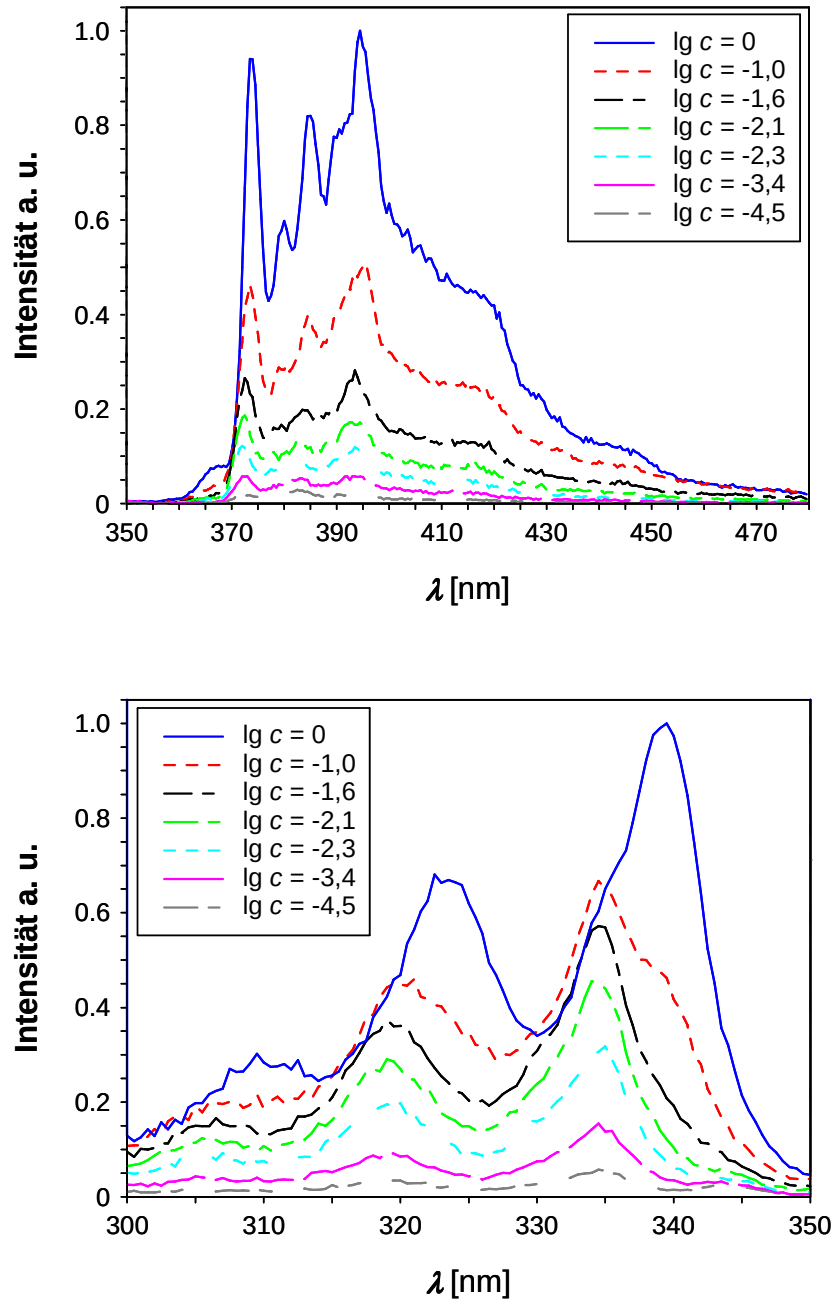


Abb. 3–8 Emissions- (oben) und Anregungsspektren (unten) von **3-6e** in Wasser bei verschiedenen Blockpolyelektrolyt-Konzentrationen in Anwesenheit von Pyren ($c = 5,9 \cdot 10^{-7}$ mol/L).

Aus der Auftragung des Intensitätsverhältnisses $I_{339}/I_{334,5}$ der Anregungsspektren gegen den Logarithmus der Polymerkonzentration wird die *cmc* bestimmt (Abb. 3–9) [84]. Im niedrigen Konzentrationsbereich nimmt das Verhältnis charakteristische Werte für Pyren in Wasser an ($\sim 0,25$). Mit steigender Konzentration nimmt die hydrophobe Umgebung des Pyrens zu und die Werte für $I_{339}/I_{334,5}$ steigen an. Der Schnittpunkt der durch diese beiden Bereiche gelegten Geraden entspricht der *cmc* des Systems.

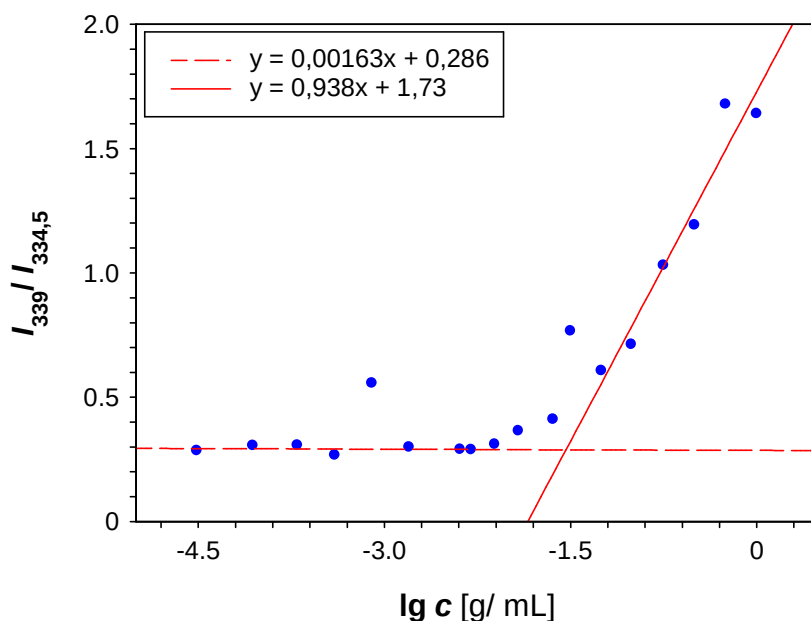


Abb. 3–9 Die Änderung des Intensitätsverhältnisses $I_{339}/I_{334,5}$ aus den Anregungsspektren (Abb. 3–8) für **3-6e** aufgetragen gegen den Logarithmus der Konzentration in g/ mL.

Tabelle 3–3 Zusammenfassung der mittels Fluoreszenzspektroskopie ermittelten kritischen Mizellenkonzentrationen (cmc), sowie das berechnete Molekulargewicht M_n und die Polydispersität (M_w/M_n).

Probe	PS _x - <i>b</i> -PLL _y ^a		$cmc \cdot 10^{-6}^b$ [mol/ L]	$\lg cmc^b$ [mol/ L]	M_n^c [g/ mol]	M_w/ M_n^d [1]
	x	y				
3-6a	8	9	3,09	-5,51	2819	1,15
3-6b	8	22	7,41	-5,13	5523	1,26
3-6c	8	29	4,17	-5,38	6979	1,30
3-6d	10	39	1,48	-5,83	9269	1,44
3-6e	10	52	2,40	-5,62	11973	1,43
3-6f	10	59	2,57	-5,59	13428	1,20
3-6g	10	63	2,29	-5,64	14261	1,36
3-6h	10	67	2,57	-5,59	15093	1,17
3-6i	10	72	2,19	-5,66	16133	1,39

- a) ¹H-NMR-spektroskopisch ermittelte Blockcopolymer-Zusammensetzung.
b) Anhand wässriger Fluoreszenzspektroskopie in Anwesenheit von Pyren bestimmt.
c) Als Grundlage dient die NMR-spektroskopisch ermittelte Zusammensetzung.
d) Aus GPC-Messungen in DMF mit LiBr ($c = 1$ g/ L) bei 60 °C gegen Polystyrol als Standard.

Die ermittelten cmc , die in Tabelle 3–3 zusammengefasst sind, weisen ein von der Länge des hydrophoben Blocks abhängiges Verhalten auf. Besteht der hydrophobe Block aus einem Octastyrol durchlaufen die kritischen Mizellenkonzentrationen ein Maximum. Für die

Blockpolyelektrolyte mit Decastyrolblock wird ein Anstieg bis zu einer PLL-Länge von etwa 60 Wiederholungseinheiten beobachtet. Die folgenden *cmc* bis zu einem Polymerisationsgrad von 72 liegen in der gleichen Größenordnung (Abb. 3–10). Es ist anzunehmen, dass mit weiter anwachsendem L-Lysinblock wiederum ein Absinken der *cmc* beobachtet wird, da sich das Maximum des parabelförmigen Verlaufs der *cmc* mit zunehmendem hydrophoben Teil zu längeren löslichen Blöcken hin verschiebt [85]. Die Erklärung für das Auftreten eines Maximums basiert auf zwei Effekten: Zunächst wird mit wachsender Kettenlänge des löslichen Segments eine bessere Löslichkeit induziert, die eine später einsetzende Mizellenbildung zur Folge hat. In diesem Bereich wird die Mizellenbildung vom Polyelektrolytcharakter des löslichen Blocks bestimmt und entspricht dem Verhalten niedermolekularer Tenside und PEO-Systeme [86]. Wird eine bestimmte Kettenlänge überschritten, hat die zunehmende Ionenstärke der Lösung ein Absinken der Lösungsmittelqualität zur Folge [87, 88], so dass die Tendenz zur Mizellenbildung wieder ansteigt.

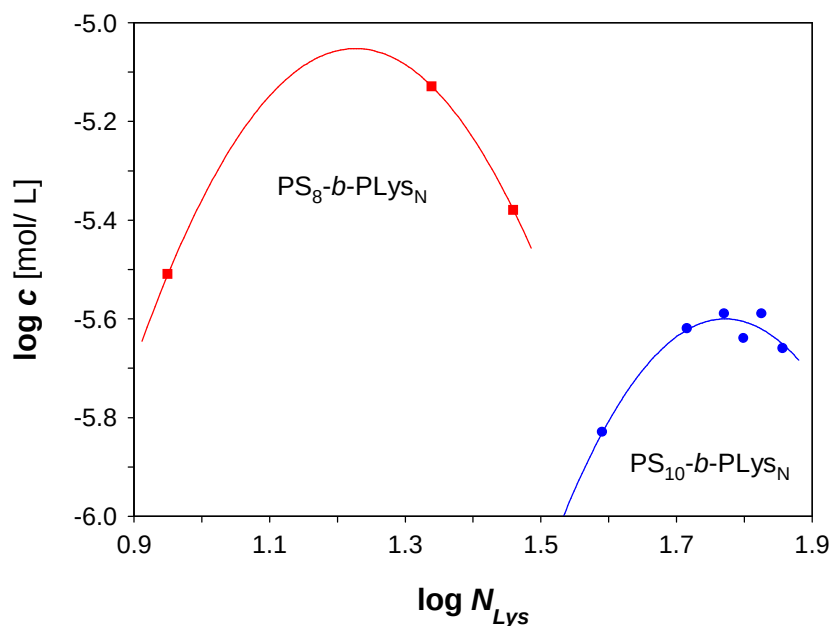


Abb. 3–10 Doppelt logarithmische Auftragung der *cmc* gegen die L-Lysinkettenlänge.

Für das anionische Blockpolyelektrolyt-System Polystyrol-*b*-Polynatriumacrylat $PS_{11}-b-PANa_x$ ($x = 15 \dots 1030$) wurde vor einigen Jahren ein parabolischer Verlauf gefunden, dessen *cmc*-Maximum im gleichen PEL-Kettenlängenbereich liegt ($c_{cmc}(PS_{11}PANa_{69}) = 10^{-5.1} \text{ mol/L}$) [89]. Allerdings setzt die Mizellenbildung bei den anionischen Blockcopolymeren zu einem späteren Zeitpunkt ein als bei den vorliegenden kationischen Blockpolyelektrolyten ($c_{cmc}(K^+) \approx \frac{1}{3} c_{cmc}(A^-)$).

3.3.3 Bestimmung der Mizellenform und -größe

Nachdem die minimale Konzentration, ab der die Mizellenbildung auftritt, bekannt ist, können über verschiedene Streumethoden wertvolle Informationen über das System gewonnen werden. So liefern statische Streumessungen (SLS, SANS) Auskunft über die Struktur (Größe, Molekülarchitektur) und die gewichtsmittlere Molmasse eines Moleküls. Aus der dynamischen Lichtstreuung hingegen ist der hydrodynamische Radius R_H zugänglich.

Statische Lichtstreuung (SLS)

In Abb. 3–11 sind die Streudaten von **3-6g** in fremdsalzfreien Lösungen ($\text{pH} \approx 6,5$) bei zwei Konzentrationen oberhalb ($c = 40 \mu\text{g/mL}$) und unterhalb ($c = 5 \mu\text{g/mL}$) der über Fluoreszenzmessungen bestimmten cmc in einer Zimm-Auftragung gezeigt. Zur besseren Übersicht sind die Werte durch den Kontrastfaktor dividiert worden. Die zunehmende Steigung der Geraden bei zunehmender Konzentration deutet ebenfalls auf die Assoziation von Molekülen hin. Diese Konzentrationsabhängigkeit des Kurvenverlaufes verhindert eine Bestimmung des Molekulargewichtes der PS-*b*-PLL-Mizellen und somit deren Aggregationsnummer über statische Lichtstreuung.

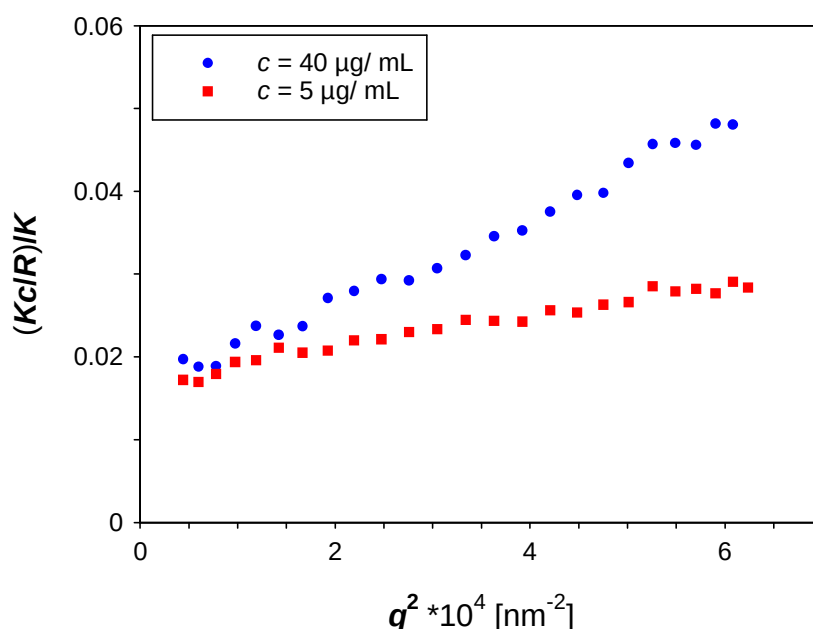


Abb. 3–11 Zimm-Auftragung von **3-6g** bei zwei Konzentrationen oberhalb ($c = 40 \mu\text{g/mL}$ (■)) und unterhalb ($c = 5 \mu\text{g/mL}$ (●)) der cmc .

Für verdünnte Lösungen, in denen die intermolekularen Wechselwirkungen der Mizellen untereinander vernachlässigt werden können ($S(q) = 1$), ist eine Anpassung des Formfaktors und somit eine Aussage über Form (Kugel, Zylinder, Stäbchen, usw.) und Größe (Länge, Durchmesser) der Mizelle möglich. Die Lichtstremessungen bei $c = 40 \mu\text{g}/\text{mL}$ erfüllen zwar diese Voraussetzung, aber auf Grund der geringen Streuintensität ist eine Anpassung des Formfaktors und somit eine quantitative Aussage nicht möglich.

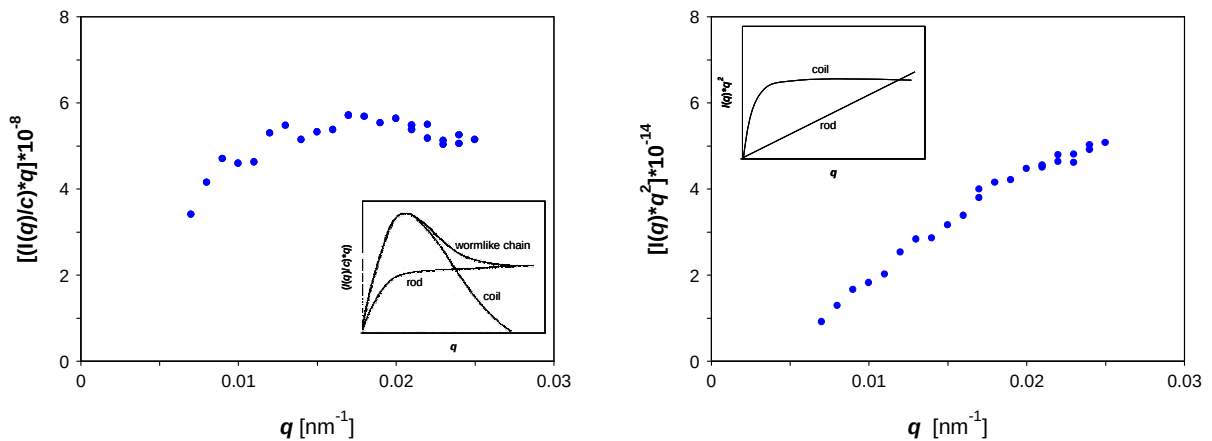


Abb. 3–12 Holtzer-Plot (links) und Kratky-Plot (rechts) von **3-6g** bei $40 \mu\text{g}/\text{mL}$. Die Insets zeigen charakteristische Kurvenverläufe der einzelnen Formen (aus [90-92]).

Eine qualitative Analyse der Streudaten durch Anfertigung eines Holtzer-Plots (Abb. 3–12 links) und Kratky-Plots (Abb. 2–11 rechts) deutet allerdings auf eine stäbchenförmige Gestalt hin. In Abb. 3–12 sind repräsentativ für alle Blockcopolymere diese beiden Auftragungen für **3-6g** dargestellt, wobei im jeweiligen Inset die charakteristischen Kurvenverläufe der einzelnen Formen symbolisiert sind.

Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Aus der dynamischen Lichtstreuung wird der hydrodynamische Radius eines Teilchens durch die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten experimentell zugänglich [93, 94]. Für die Blockcopolymere PS-*b*-PLL sind diese unter den gleichen Bedingungen wie bei der statischen Lichtstreuung bei einer Konzentration von $c = 40 \mu\text{g}/\text{mL}$ ermittelt worden und in Tabelle 3–4 zusammengestellt.

Mit Ausnahme von **3-6g**, dessen hydrodynamischer Radius $R_H = 101 \text{ nm}$ beträgt, liegen die Radien der anderen Proben im Schnitt bei $R_H = 74 \text{ nm}$. Anhand von Probe **3-6g** wird ferner gezeigt, dass ein Lösen der Probe in *N,N*-Dimethylformamid DMF und anschließende Dialyse gegen bidest. Wasser nicht zu einem veränderten hydrodynamischen Radius führt.

Der resultierende hydrodynamische Radius besitzt innerhalb der Messgenauigkeit den gleichen Wert, wie eine Probe, die direkt in bidest. Wasser gelöst wird.

Neutronenkleinwinkelstreuung (SANS)

Eine weitere statische Streumethode, mit deren Hilfe Informationen über die Aggregatgestalt erhalten werden, ist die Neutronenkleinwinkelstreuung (SANS). Dazu werden Messungen bei einer Konzentration von $c = 0,5$ Gew.-% der Proben **3-6d** bis **3-6i** durchgeführt und die erhaltenen Streukurven über Standardverfahren in normierte Streudaten umgewandelt [92].

Die Streuintensität $I(q)$ einer Lösung von homogenen, unendlich langen Zylindern mit dem Radius R und der Länge L ist gegeben durch [91, 95]:

$$I(q) = n_P L \Delta\rho^2 A^2 \frac{\pi}{q} \left[\frac{J_1(qR)}{qR} \right]^2 + BG \quad \text{Gl.(3-3)}$$

n_P : Zahl an Streuzentren
 A : Querschnittsfläche des Zylinders
 $\Delta\rho$: Exzess-Streulängendichte
 BG : inkohärenter Hintergrund

Die Zahl an Streuzentren ergibt sich aus:

$$n_P = \frac{N_A c}{N_{Agg}} \quad \text{Gl.(3-4)}$$

N_A : Avogadro-Konstante
 c : molare Konzentration
 N_{Agg} : Aggregationszahl

Unter Einbeziehung des Volumens V

$$V = N_{Agg} v = A L = \pi R^2 L \quad \text{Gl.(3-5)}$$

V : Zylindervolumen
 A : Fläche des Zylinderquerschnitts
 v : Molekülvolumen

geht Gl.(3-3) in folgende Beziehung über:

$$I(q) = 4v c N_A N_{Agg} \Delta\rho^2 \pi^2 \frac{J_1(qR)^3}{q^3} + BG \quad \text{Gl.(3-6)}$$

Um die experimentellen Daten an theoretische Werte anpassen zu können, wird Gl.(3-6) mit der Auflösungsfunktion, die die Wellenlängenungenauigkeit ($\Delta\lambda/\lambda = 0,1$) und Kollimationseffekte des SANS-Instrumentes berücksichtigt, gefaltet. Die korrigierte Intensität $I_k(q)$ entspricht damit folgender Gleichung:

$$I_k(q) = \frac{2\pi c N_A \Delta\rho^2}{\sigma} \int_0^\infty \frac{J_1(q'R) \exp\left\{-0,5(q' - q)^2 / \sigma^2\right\}}{q'^3} dq' + \text{BG} \quad \text{Gl.(3-7)}$$

In σ sind sowohl die Wellenlängenungenauigkeiten als auch die Kollimationseffekte enthalten [96].

An die experimentellen SANS-Daten wird mit Gl.(3-7) ein theoretischer Kurvenverlauf angepasst, wobei als Parameter die Exzess-Streulängendichte $\Delta\rho$, die molare Konzentration c , der Radius R und der inkohärente Hintergrund BG dienen. In Abb. 3–13 ist repräsentativ für alle Messungen das Ergebnis von **3-6e** gezeigt. Mit einem Radius von $R = 2,2$ nm wird für alle Proben ein zufrieden stellendes Ergebnis erzielt. Ein Vergleich mit Literaturdaten eines Decastyrols ($R = 3$ nm) [97] und Molekülsimulationen ($R = 2,4$ nm) deutet darauf hin, dass ausschließlich der hydrophobe Styrolblock mittels SANS sichtbar wird und dass der Kontrast des Lysinblockes zu gering ist, um den Radius der zylindrischen Mizelle zu bestimmen. Aus diesem Grund wird die Exzess-Streulängendichte auf $\Delta\rho = 4,95 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$ festgesetzt, was der Differenz zwischen Deuteriumoxid ($\rho = 6,38 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$) und Polystyrol ($\rho = 1,43 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$) entspricht. Der inkohärente Hintergrund BG wird für alle SANS-Kurven als gleich bleibend konstant angenommen und hat einen mittleren Wert von $\text{BG} \sim 0,005$. Aus den experimentellen Daten lassen sich molare Konzentrationen ermitteln, die in Tabelle 3–4 im Vergleich zu den theoretischen Werten aufgelistet sind. Im Mittel liegen die experimentell bestimmten Konzentrationen um zehn Prozent unterhalb der berechneten Werte. Die Gründe der Abweichungen können in experimentellen Fehlergrenzen und in der Skalierung der Normalisierung liegen. Ferner darf nicht vergessen werden, dass es sich bei den angegebenen Kettenlängen um ^1H -NMR-spektroskopische Mittelwerte handelt.

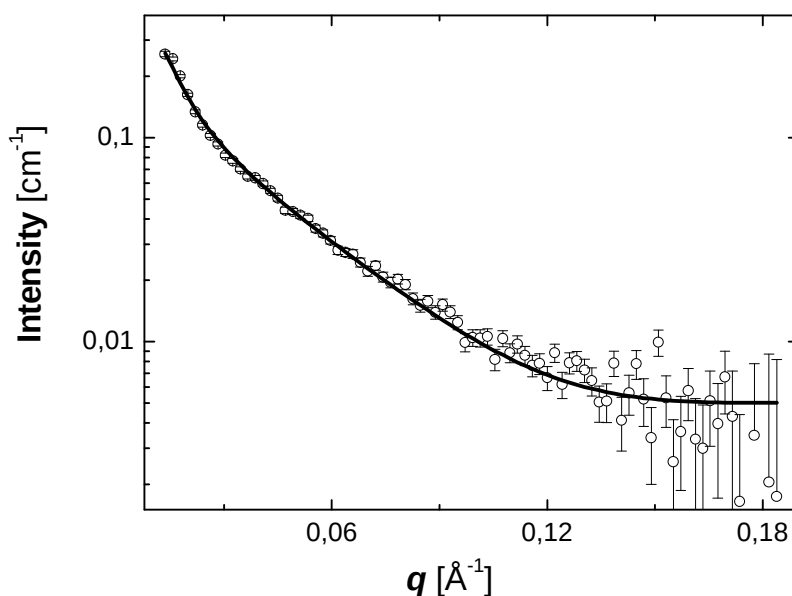


Abb. 3–13 SANS-Daten (O) einer Lösung von **3-6e** ($c = 0,5$ Gew-%) bei Raumtemperatur ($T = 25$ °C). Die durchgezogene Linie symbolisiert eine Anpassung nach Gl.(3-7).

Tabelle 3–4 Molare Konzentrationen c_{exp} aus den SANS-Messungen im Vergleich zu den berechneten Werte c_{th} , sowie die hydrodynamischen Radien R_H , die über dynamischen Lichtstreuung ermittelt sind.

Probe	PS _x - <i>b</i> -PLL _y ^a		$c_{th} \cdot 10^{-4}$ ^b	$c_{exp} \cdot 10^{-4}$ ^c	R_H ^d ~40µg/ mL
	x	y	[mol/ L]	[mol/ L]	[nm]
3-6a	8	9	-	-	71
3-6b	8	22	-	-	76
3-6c	8	29	-	-	76
3-6d	10	39	5,39	5,97	71
3-6e	10	52	4,18	5,25	76
3-6f	10	59	3,72	4,57	67
3-6g	10	63	3,51	3,78	101
3-6h	10	67	3,22	3,29	79
3-6i	10	72	3,10	3,23	79
3-6g^d	10	63	-	-	97

a) ¹H-NMR-spektroskopisch ermittelte Blockcopolymerzusammensetzung.

b) Anhand NMR-spektroskopischer Blocklängen berechnet.

c) Experimentell ermittelte Werte.

d) Probe ist in DMF gelöst und im Anschluss gegen bidest. Wasser dialysiert worden.

3.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel sind die Synthese und die Selbstorganisation von Blockcopolymeren aus einem kurzen Polystyrolblock und einem in der Länge variierendem Poly(L-lysin)-Block beschrieben worden. Ausgehend von aminfunktionalisiertem Oligostyrol als Initiator wurde über die ringöffnende Polymerisation von *N*^ε-Benzyloxycarbonyl-L-Lysin-*N*-Carboxyanhydriden (Z-Lys-NCA) das Blockcopolymer mit den gewünschten Peptidkettenlängen und einer für diese Synthesemethode typischen Polydispersität in hohen Ausbeuten erhalten.

Im Anschluss wurde zunächst über konzentrationsabhängige Fluoreszenzmessungen in Anwesenheit von Pyren die kritische Mizellenkonzentration ($cmc = 1,5 \cdot 10^{-6} \dots 7,5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$) bestimmt. Die Ergebnisse stimmen mit den Erwartungen überein: Mit abnehmender Styrolblocklänge tritt die Mizellenbildung früher ein, wohingegen sie mit zunehmendem Polyelektrolytanteil später einsetzt.

Mit Hilfe von Streumethoden konnte eine Vorstellung von der Form der Aggregate gewonnen werden. Die Ergebnisse der Streumethoden (DLS, SLS und SANS) deuten darauf hin, dass die Polystyrol-*b*-Poly(L-lysin)-Blockpolyelektrolyte zylinderförmige Mizellen bilden, in denen das Polystyrolsegment einen Kern vom Radius $R_K = 2,2 \text{ nm}$ ausbildet. Der hydrodynamische Radius der Mizellen liegt im Mittel bei $R_H \approx 74 \text{ nm}$. In Abb. 3–14 ist die Form der Aggregate modellhaft dargestellt.

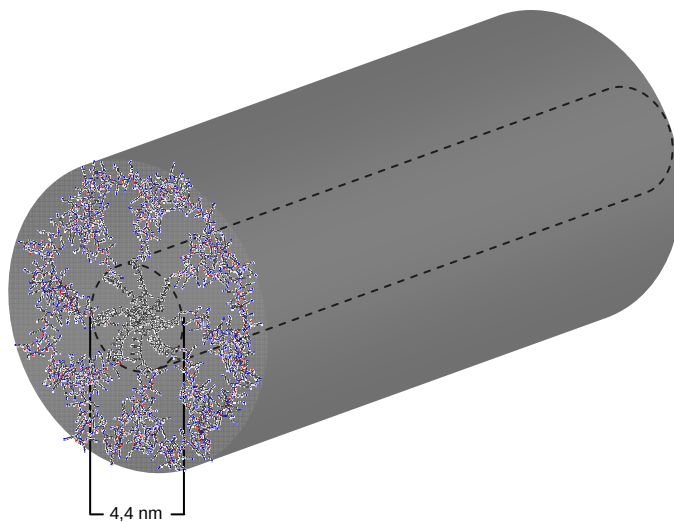


Abb. 3–14 Modell der Struktur der vorliegenden Mizellen.

3.5 Experimenteller Teil

3.5.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

Chemikalien und Lösungsmittel

Die eingesetzten Reagenzien sind von den Firmen Aldrich, Fluka und Merck bezogen und, wenn nicht anders erwähnt, ohne weitere Aufreinigung eingesetzt worden. Aus dem Chlormethylstyrol wurde zunächst durch Destillation der Stabilisator entfernt. *n*-Hexylamin ist über CaH₂ getrocknet und ebenfalls durch Destillation gereinigt worden. Ethylacetat und Dimethylformamid wurden über Molekularsieb (4Å) getrocknet. Das aminterminierte Oligostyrol **3-1** [39, 40] und das Monomer *N*^ε-Benzyloxycarbonyl-*L*-Lysin-*N*-Carboxyanhydrid **3-2** [41] wurden nach Literaturvorschriften hergestellt.

Reinigung:

Die Polypeptide werden über Dialyse in Schläuchen aus regenerierter Cellulose (Spectra/ Por®) aufgereinigt, welche über die Carl-Roth GmbH bezogen werden.

3.5.2 Physikalische und analytische Methoden

Probenpräparation

Alle PEL-Proben werden im Gefrierschrank aufbewahrt und vor jeder Messung erneut 24 Stunden im Hochvakuum getrocknet. Die Einwaagen von geringen Mengen ($m \leq 20$ mg) erfolgen an einer Mettler-Toledo Feinwaage. Alle anderen Mengen (auch Lösungsmittel) werden mit einer Satorius-Genius Analysenwaage eingewogen.

¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie:

Die NMR-Spektren wurden auf Bruker Advance Spektrometern (300 oder 700 MHz) aufgenommen. Als interne Standards dienen die Signale der verwendeten deuterierten Lösungsmittel.

Gelpermeationschromatographie

Für die gelchromatographische Analyse in organischen Lösungsmitteln werden drei hintereinander geschaltete Polymer-Standard Service (PSS) Styrol-Divinylbenzol (SDV) Säulen (Ausmaße: 300 x 8 mm) mit Porengrößen von 500, 10^5 , und 10^6 Å verwendet. Die Messungen in Dimethylformamid werden in Anwesenheit von LiBr (1 g/ L) bei 333 K (60 °C), und die in Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Elugramme werden mit einem UV/ Vis- und einem RI-Detektor innerhalb einer halben Stunde bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 mL/ min aufgenommen. Im Anschluss werden die Elutionszeiten über eine Kalibrierung mit eng verteilten Polystyrol-Standards in Molekulargewichte umgerechnet.

GPC-Messungen in wässriger Lösung werden mit Applied Biosystem Biocad Sprint Anlage mit einer PSS-Novema Säule (Ausmaße: 300 x 8 mm, Porengröße: 300 Å) durchgeführt. Als Lösungsmittel wird ein Gemisch aus Acetonitril/ Wasser (50 Vol-%) mit einem 2 %-igen Zusatz an Trifluoressigsäure verwendet. Die Fließgeschwindigkeit beträgt 1 mL/ min. Innerhalb einer halben Stunde werden die Elugramme mit einem dualen UV/ Vis-Detektor bei 210 und 280 nm verfolgt. Zur Umrechnung der Elutionszeiten in Molekulargewichte erfolgt zunächst eine Kalibrierung mit eng verteilten Natriumpolystyrolsulfonat-Standards der Firma Polymer-Standard-Service.

Zirkulardichroismus

Die Zirkulardichroismus-Spektren werden in einem Jasco J-715 Spektropolarimeter mit einer Jasco PTC-348WI temperaturgeregelten Zelle aufgenommen. Die Kalibrierung des Gerätes erfolgt sowohl mit einer wässrigen Lösung (+)-10-Camphersulfonsäure als auch D(-)-Pantolacton. Für die Messung werden 1 mm Quarzküvetten (Starna) verwendet. Der Messbereich reicht von 250 bis 195 nm, wobei eine Schrittweite von 0,5 nm eingestellt wird. Die Scangeschwindigkeit beträgt 20 nm/ min, die Integrationszeit 2 Sek. pro Datenpunkt und die Spaltbreite 1 nm. Für ein Spektrum werden durchschnittlich zehn Wellenlängenscans durchgeführt. Für die Bestimmung der Sekundärstruktur wird eine Lösung der Massenkonzentration $c = 80 \mu\text{g}/\text{mL}$ hergestellt. Die Lösung wird im Anschluss auf Polycarbonat-Gefäße aufgeteilt und durch Zusatz von 0,3-molarer Kaliumhydroxidlösung der pH-Wert eingestellt. Vor jeder Messung wird die Lösung eine Stunde unter milder Argonzufuhr äquilibriert. Die erhaltenen Daten werden im Anschluss in die mittlere molare Elliptizität pro Aminosäure ($[\theta]$ in $\text{deg cm}^2 \text{dmol}^{-1}$) umgerechnet.

Fluoreszenz-Spektroskopie

Die Messungen erfolgen bei Raumtemperatur an luftgesättigten Lösungen mit einem SPEX USA Fluorolog 2 Typ F212 Spektrometer, an das ein Hamamatsu PMT R 508-Detektor angeschlossen ist. Für die Bestimmung der kritischen Mizellenkonzentration wird die Pyrenmenge so gewählt, dass in den resultierenden Polymerlösungen eine Konzentration von $5,9 \cdot 10^{-7}$ mol/L vorliegt, die bei Raumtemperatur geringfügig über der Sättigungskonzentration von Pyren in Wasser liegt [78]. Hierzu wird Pyren in Aceton gelöst, die erforderliche Menge in leere 10 mL Messkolben gefüllt und das Aceton wieder verdampft. Im Anschluss wird die gewünschte Polymerkonzentration durch Verdünnung einer Stammlösung eingestellt. Um die Fremdionenkonzentration möglichst gering zu halten, werden die Lösungen in Polycarbonat-Gefäße überführt und zur Gleichgewichtseinstellung des Pyrens zwischen der Wasserphase und den Mizellen für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Messungen werden an luftgesättigten Lösungen in einer 10 x 10 mm Quarzküvette (Hellma) mit einer Schichtdicke von 1 cm und einer Spaltbreite von 0,5 mm aufgenommen. Die Anregungswellenlänge für die Emissionsspektren beträgt 339 nm und die Beobachtungswellenlänge der Anregungsspektren liegt bei 390 nm. Die Integrationszeit pro Datenpunkt ist 0,5 s und die Schrittweite 0,5 nm.

Lichtstreuung

Die Versuche sind mit einem ALV 5000E-Gerät bei Raumtemperatur an luftgesättigten Lösungen durchgeführt worden. Verwendet wurde ein Krypton-Ion-Laser (Spectra Physics Model Kr 2025) der Wellenlänge $\lambda = 647,1$ nm, dessen Leistung in Abhängigkeit der Streuintensität zwischen 100 und 300 mW variiert. Für die Lichtstreuexperimente werden die Blockcopolymere in bidest. Wasser gelöst und über einen 0,45 μ m Spritzenfilter aus Cellulosemischestern von Staub befreit. Anschließend werden die Proben 24 Stunden bei Raumtemperatur zur Mizellenbildung in Polycarbonatgefäßen äquilibriert.

Neutronenkleinwinkelstreuung

Die SANS-Messungen wurden mit einem SANS-I Instrument of the Swiss Spallation Neutron Source SINQ (Paul Scherrer Institut, Schweiz) durchgeführt. Die Streudaten sind mit einem zweidimensionalen Detektor aufgenommen worden. Die Wellenlänge ($\lambda = 5$ nm) sowie der Proben-Detektor-Abstand ($d = 4,5$ m) sind so gewählt, dass der Streuvektor einen Bereich von $q = 0,014 \dots 0,183 \text{ \AA}^{-1}$ abdeckt. Für die 0,5 Gew.-%-igen Probenlösungen wurde die entsprechende Menge Blockpolyelektrolyt PS_x-*b*-PLL_y in D₂O gelöst und über mehrere Tage

bei niedriger Temperatur ($T \approx 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) gelagert. Im Anschluss wurden die Proben in 1 mm dicke Standard Quarzküvetten überführt. Die Messungen wurden bei $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt, wobei die Temperaturkontrolle über ein Wasserbad erfolgte. Die Daten wurden nach Standardverfahren in Streudaten mit absoluter Skalierung überführt.

3.5.3 Synthesebeschreibungen

Synthese der seitenkettengeschützten Homo- und Blockcopolymere

In einem ausgeheizten Schlenkrohr mit Trockenrohr wird unter Argonatmosphäre das Monomer *N*^ε-Benzyloxycarbonyl-L-Lysin-*N*-Carboxyanhydrid **3-2** in möglichst wenig trockenem DMF über einen Spritzenfilter (PTFE) vorgelegt. Zu dieser stark rührenden Lösung wird im Folgenden schnell die Initiatorlösung (**3-1** oder **3-3** in abs. DMF) zugespritzt. Die Reaktionsmischung wird fünf Tage unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur gut gerührt und im Anschluss aus der gut 20-fachen Menge Wasser ausgefällt. Nicht umgesetztes Monomer wird durch ausgiebiges Waschen mit Diethylether entfernt. Die eingesetzten Mengen sowie die Ausbeuten können Tabelle 3–5 entnommen werden.

Tabelle 3–5 Synthetische Details der Polymerisationen, wie eingesetzte Mengen (m_{NCA} , $m_{\text{Initiator}}$ oder $V_{\text{Initiator}}$) und Ausbeuten.

Probe	m_{NCA} [g]	$m_{\text{Initiator}}$ [mg]	$V_{\text{Initiator}}$ [μL]	Ausbeute [mg]	Ausbeute [%]
3-6a	0,52	169	-	510	82
3-6b	0,62	100	-	520	83
3-6c	0,65	70	-	560	92
3-6d	0,95	90	-	717	80
3-6e	1,0	76	-	845	91
3-6f	1,1	83	-	838	82
3-6g	1,0	63	-	883	98
3-6h	1,1	69	-	926	92
3-6i	1,0	54	-	796	88
3-7a	0,75	0,005	70	533	81
3-7b	0,75	0,004	58	482	74
3-7c	0,75	0,004	50	513	79
3-7d	0,9	0,004	50	714	91

Im Folgenden sind exemplarisch die ^1H -NMR-Daten eines seitenkettengeschützten Blockcopolymers **3-4** und Homopolymers **3-5** aufgeführt.

3-4: ^1H -NMR (700 MHz, DMSO, 333K): δ (ppm) = 0,49 - 0,75 (m, 6 H, $-\text{CH}_3$); 0,90 - 2,15 (m, (9 + 3*10 + 6N) H, CH_3-CH + CH_3-CH_2 + aliph. Oligostyrol + $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,96 (s, 2N H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 3,65 - 4,38 (m, N H, αCH); 4,97 (m, 2N H, Bzl- CH_2); 6,28 - 7,38 (m, (5N + N) H, $\alpha\text{-CH-NH}$ + arom. CH); 8,13 (bs, N H, $\text{CH}_2\text{-NH}$).

3-5: ^1H -NMR (700 MHz, DMSO, 333K): δ (ppm) = 0,84 (t, 3 H, $-\text{CH}_3$); 1,05 - 2,16 (m, (8 + 6N) H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5$ + $\alpha\text{-CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,96 (s, 2N H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 3,71 - 4,12 (m, N H, αCH); 4,97 (s, 2N H, Bzl- CH_2); 6,91 (bs, N H, $\alpha\text{CH-NH}$); 7,26 (m, 5N H, arom. CH); 8,13 (bs, N H, $\text{CH}_2\text{-NH}$).

Synthese der wasserlöslichen Polymere

Zur Überführung der Z-geschützten Homo- und Blockcopolymere in wasserlösliche Polyelektrolyte werden die Polypeptide in möglichst wenig Trifluoressigsäure gelöst und mit vier Äquivalenten Bromwasserstoff in Eisessig ($c(\text{HBr}) = 5,7 \text{ mol/L}$) versetzt. Im Laufe der Reaktion, welche nach einer Stunde bei Raumtemperatur beendet ist, bildet sich ein klebriger Feststoff, der durch Zugabe von Diethylether in einen fein verteilten, nahezu farblosen Niederschlag übergeht. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und solange gegen bidest. Wasser dialysiert, bis das Konduktometer einen konstanten Wert anzeigt. Zum Schluss wird das reine Produkt durch Gefriertrocknung erhalten. Die eingesetzten Mengen sowie die Ausbeuten können Tabelle 3–6 entnommen werden. Nachstehend sind exemplarisch die Spektren eines wasserlöslichen Homopeptides und eines Blockcopolymers angegeben.

3-6 ^1H -NMR (700 MHz, DMSO, 333K): δ (ppm) = 0,48 - 0,75 (m, 6 H, CH_3); 1,24 - 1,80 (m, (9 + 10*3 + 6N) H, CH_3-CH + CH_3-CH_2 + aliph. Oligostyrol + $\alpha\text{-CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,77 (bs, 2N H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 4,28 (m, N H, αCH); 6,33 - 7,34 (m, 5N H, arom. CH); 7,92 (bs, N H, $\alpha\text{-CH-NH}$).

3-7 ^1H -NMR (700 MHz, DMSO, 333K): δ (ppm) = 0,86 (t, 3 H, CH_3); 1,16 - 1,78 (m, (10 + 6N) H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5$); 2,77 (bs, 2N H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 4,25 (m, N H, αCH); 8,04 (bs, N H, $\alpha\text{-CH-NH}$).

Tabelle 3–6 Synthetische Details der Entschützung der Polymere wie eingesetzte Mengen (m_{Polymer} , $V_{\text{HBr/AcOH}}$) und Ausbeuten sowie die molekulare Ausschlussgrenze (MWCO) der Dialysemembranen.

Probe	M_{Polymer} [mg]	$V_{\text{HBr/AcOH}}$ [mL]	Ausbeute [mg]	Ausbeute [%]	MWCO [1]
3-6a	410	0,80	151	50	1000
3-6b	420	0,94	178	62	1000
3-6c	470	1,15	198	64	2000
3-6d	602	1,44	360	74	3500
3-6e	730	1,79	543	92	5000
3-6f	700	1,72	513	91	1000
3-6g	760	1,90	580	94	5000
3-6h	800	2,01	567	87	1000
3-6i	680	1,72	500	91	8000
3-7a	400	1,05	282	89	3500
3-7b	350	1,05	204	64	5000
3-7c	400	1,05	296	93	5000
3-7d	600	1,60	390	81	1000

3.6 Literaturverzeichnis

- [1] Allen C., Maysinger D., Eisenberg A., *Colloid Surf. B Biointerfaces* **1999**, 16, 3.
- [2] Burke S., Shen H.W., Eisenberg A., *Macromol. Symp.* **2001**, 175, 273.
- [3] Cornelissen J.J.L.M., Fischer M., Sommerdijk N.A.J.M., Nolte R.J.M., *Science* **1998**, 280, 1427.
- [4] Harada A., Cammas S., Kataoka K., *Macromolecules* **1996**, 29, 6183.
- [5] Lecommandoux S., Achard M.F., Langenwaller J.F., Klok H.A., *Macromolecules* **2001**, 34, 9100.
- [6] Chécot F., Lecommandoux S., Klok H.A., Gnanou Y., *Eur. Phys. J. E* **2003**, 10, 25.
- [7] Billot J.P., Douy A., Gallot B., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1976**, 177, 1889.
- [8] Billot J.P., Douy A., Gallot B., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1977**, 178, 1641.
- [9] Douy A., Gallot B., *Polym. Eng. Sci.* **1977**, 17, 523.

- [10] Douy A., Gallot B., *Polymer* **1982**, 23, 1039.
- [11] Perly B., Douy A., Gallot B., *Comptes Rendus Hebdom. Seanc. Acad. Sci. C* **1974**, 279, 1109.
- [12] Perly B., Douy A., Gallot B., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1976**, 177, 2569.
- [13] Schlaad H., Kukula H., Smarsly B., Antonietti M., Pakula T., *Polymer* **2002**, 43, 5321.
- [14] Bates F.S., Schulz M.F., Rosedale J.H., Almdal K., *Macromolecules* **1992**, 25, 5547.
- [15] Matsen M.W., *J. Chem. Phys.* **1996**, 29104, 7758.
- [16] Singh C., Goulian M., Liu A.J., Fredrickson G.H., *Macromolecules* **1994**, 27, 2974.
- [17] Klok H.A., Langenwalter J.F., Lecommandoux S., *Macromolecules* **2000**, 33, 7819.
- [18] Chécot F., Lecommandoux S., Gnanou Y., Klok H.A., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2002**, 41, 1339.
- [19] Kukula H., Schlaad H., Antonietti M., Forster S., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1658.
- [20] Harada A., Kataoka K., *Macromolecules* **1995**, 28, 5294.
- [21] Harada A., Kataoka K., *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.* **1997**, A34, 2119.
- [22] Harada A., Kataoka K., *Macromolecules* **1998**, 31, 288.
- [23] Harada A., Kataoka K., *Langmuir* **1999**, 15, 4208.
- [24] Harada A., Kataoka K., *Science* **1999**, 283, 65.
- [25] Jeong J.H., Lim D.W., Han D.K., Park T.G., *Colloid Surf. B Biointerfaces* **2000**, 18, 371.
- [26] Kim H.K., Park T.G., *Macromol. Rapid Commun.* **2002**, 23, 26.
- [27] Yoo H.S., Park T.G., *J. Control. Release* **2001**, 70, 63.
- [28] Kataoka K., Ishihara A., Harada A., Miyazaki H., *Macromolecules* **1998**, 31, 6071.
- [29] Kakizawa Y., Harada A., Kataoka K., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11247.
- [30] Cammas S., Harada A., Nagasaki Y., Kataoka K., *Macromolecules* **1996**, 29, 3227.
- [31] Vandermeulen G.W.M., Tziatzios C., Klok H.A., *Macromolecules* **2003**, 36, 4107.
- [32] Katayose S., Kataoka K., *Bioconjugate Chem.* **1997**, 8, 702.
- [33] Harada-Shiba M., Yamauchi K., Harada A., Takamisawa I., Shimokado K., Kataoka K., *Gene Ther.* **2002**, 9, 407.
- [34] Itaka K., Yamauchi K., Harada A., Nakamura K., Kawaguchi H., Kataoka K., *Biomaterials* **2003**, 24, 4495.

- [35] Kakizawa Y., Kataoka K., *Langmuir* **2002**, 18, 4539.
- [36] Kakizawa Y., Kataoka K., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, 54, 203.
- [37] Aoyagi T., Sugi K., Sakurai Y., Okano T., Kataoka K., *Colloid Surf. B Biointerfaces* **1999**, 16, 237.
- [38] Ho D.H., Brown N.S., Yen A., Holmes R., Keating M., Abuchowski A., Newman R.A., Krakoff I.H., *Drug Metab. Dispos.* **1986**, 14, 349.
- [39] Hirao A., Hayashi M., *Acta Polym.* **1999**, 50, 219.
- [40] Ueda K., Hirao A., Nakahama S., *Macromolecules* **1990**, 23, 939.
- [41] Poché D.S., Moore M.J., Bowles J.L., *Synth. Commun.* **1999**, 29, 843.
- [42] Kricheldorf H.R., in *alpha-Aminoacid-N-Carboxyanhydrides and Related Heterocycles*, Springer-Verlag, Berlin, **1987**.
- [43] Kricheldorf H.R., in *Models of Biopolymers by Ring-Opening Polymerisation*, CRC Press Inc., Boca Raton, **1990**.
- [44] Dimitrov I., Schlaad H., *Chem. Commun.* **2003**, 2944.
- [45] Bramford C.H., Block H., *J. Chem. Soc.* **1961**, 4992.
- [46] Bramford C.H., Block H., *J. Chem. Soc.* **1961**, 4989.
- [47] Ben-Ishai D., Berger A., *J. Org. Chem.* **1952**, 17, 1564.
- [48] Bywater S., *Adv. Polym. Sci.* **1979**, 30, 89.
- [49] Fasman G.D., Idelson M., Blout R.J., *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 709.
- [50] Kulicke W.M., Clasen C., in *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2004**.
- [51] Bramford C.H., in *Poly(Amino Acid)s, Polypeptides and Proteins*, University of Wisconsin Press, Madison, **1962**.
- [52] Deming T.J., *Adv. Mater.* **1997**, 9, 299.
- [53] Deming T.J., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2000**, 38, 3011.
- [54] Whitesides G.M., Grzybowski B., *Science* **2002**, 295, 2418.
- [55] Yang J.T., Kubota S., in *Microdomains in Polymer Solution*, New York, **1985**.
- [56] Woody R.W., Tinoco I., *J. Chem. Phys.* **1967**, 46, 4927.
- [57] Sakar P.K., Doty P., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1966**, 55, 981.
- [58] Greenfield N., Fasman G.D., *Biochemistry* **1969**, 8, 4109.
- [59] Chitra R., Smith P.E., *J. Chem. Phys.* **2001**, 114, 426.

- [60] Lau S.Y.M., Taneja A.K., Hodges R.S., *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 13253.
- [61] Myer Y.P., *Macromolecules* **1969**, 2, 624.
- [62] Rodríguez Hernández J., *Dissertation*, Johannes Gutenberg Universität (Mainz), **2003**.
- [63] Eisenberg A., Mohan G.R., *J. Phys. Chem.* **1959**, 63, 671.
- [64] Takahashi A., Kato T., Nagasawa M., *J. Phys. Chem.* **1967**, 71, 2001.
- [65] Chen Y.H., Yang J.T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1971**, 44, 1285.
- [66] Chen Y.H., Yang J.T., Martinez H.M., *Biochemistry* **1972**, 11, 4120.
- [67] Saxena V.P., Wetlaufer D.B., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1971**, 68, 969.
- [68] Chen Y.H., Yang J.T., Chau K.H., *Biochemistry* **1974**, 13, 3350.
- [69] Nicholas C.V., Luo J.Z., Deng N.J., Attwood D., Collett J.H., Price C., Booth C., *Polymer* **1993**, 34, 138.
- [70] Quintana J.R., Villacampa M., Munoz M., Andrio A., Katime I.A., *Macromolecules* **1992**, 25, 3125.
- [71] Quintana J.R., Villacampa M., Katime I.A., *Macromolecules* **1993**, 26, 601.
- [72] Price C., *Pure Appl. Chem.* **1983**, 55, 1563.
- [73] Sikora A., Tuzar Z., *Makromol. Chem. Macromol. Chem. Phys.* **1983**, 184, 2049.
- [74] Jada A., Siffert B., Riess G., *Colloid Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **1993**, 75, 203.
- [75] Kabanov A.V., Nazarova I.R., Astafieva I.V., Batrakova E.V., Alakhov V.Y., Yaroslavov A.A., Kabanov V.A., *Macromolecules* **1995**, 28, 2303.
- [76] Wilhelm M., Zhao C.L., Wang Y., Xu R., Winnik M.A., Mura J.L., Riess G., Croucher M.D., *Macromolecules* **1991**, 24, 1033.
- [77] Zana R., in *Surfactant Solutions: New Methods of Investigation*, Marcel Dekker, New York, **1986**.
- [78] Kalyanasundaram K., in *Photochemistry in microheterogenous Systems*, Academic Press, Orlando, **1987**.
- [79] Lakowicz J.R., in *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York, **1983**.
- [80] Turro N.J., Grätzel M., Braun A., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1980**, 19, 675.
- [81] Cao T., Munk P., Ramireddy C., Tuzar Z., Webber S.E., *Macromolecules* **1991**, 24, 6300.
- [82] Kiserow D., Prochazka K., Ramireddy C., Tuzar Z., Munk P., Webber S.E., *Macromolecules* **1992**, 25, 461.

- [83] Prochazka K., Kiserow D., Ramireddy C., Tuzar Z., Munk P., Webber S.E., *Macromolecules* **1992**, 25, 454.
- [84] Wilhelm M., Zhao C.L., Wang Y., Xu R., Winnik M.A., *Macromolecules* **1991**, 24, 1033.
- [85] Astafieva I., Khougaz K., Eisenberg A., *Macromolecules* **1995**, 28, 7127.
- [86] Rosen M.J., in *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 2nd ed., John Wiley & sons, New York, **1989**.
- [87] Oosawa F., in *Polyelectrolytes*, Marcel Dekker Inc., New York, **1971**.
- [88] Sélégny E., in *Polyelectrolytes*, Reidel Publishing Co., Dordrecht, Holland, **1974**.
- [89] Astafieva I., Khougaz K., Zhong X.F., Eisenberg A., *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1994**, 208, 211.
- [90] Feigin L.A., Sergun D.I., in *Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering*, Plenum Press, New York, **1987**.
- [91] Glatter O., Kratky O., in *Small Angle X-Ray Scattering*, Academic Press, New York, **1982**.
- [92] Lindner P., in *Neutrons, X-rays and Light Scattering*, Elsevier, Oxford, **2002**.
- [93] Burchard W., *Makromol. Chem. Macromol.Symp.* **1988**, 18, 1.
- [94] Chu B., Dinapoli A., in *Modern Methods of Particle Size Analysis*, John Wiley, New York, **1984**.
- [95] Cotton J.P., in *Neutrons, X-ray and Light Scattering*, Elsevier, Amsterdam, **1991**.
- [96] Pederson J.S., Posselt D., Mortensen K., *J. Appl. Cryst.* **1998**, 23, 321.
- [97] Khougaz K., Astafieva I., Eisenberg A., *Macromolecules* **1995**, 28, 7135.

3.7 Anhang

Tabelle 3–7 Prozentuale Anteile der einzelnen Sekundärstrukturen von **3-6**.

Probe	pH [1]	α -Helix [%]	β -Faltblatt [%]	Knäuel [%]
3-6d	6,2	-2	5	97
	8,1	1	10	89
	8,7	6	15	79
	9,4	35	24	40
	10,1	35	36	29
3-6e	6,3	-4	9	95
	8,1	5	11	84
	9,1	11	22	67
	9,7	55	27	17
	10,1	45	35	20
3-6f	5,8	-3	8	95
	7,7	1	6	93
	8,4	3	9	88
	9,1	17	26	57
	9,4	33	33	34
	9,7	31	40	28
	9,9	36	40	24
	10,1	34	46	20
	10,4	24	48	28
3-6g	6,4	-3	5	99
	8,8	15	17	69
	9,4	46	27	27
	10	53	29	18
	10,7	15	47	38
3-6h	5,5	-5	6	97
	7,9	-2	8	94
	9,1	19	17	65
	9,7	36	35	29
	10,2	30	42	28
3-6i	5,9	-1	4	97
	8,1	4	8	88
	9,2	43	23	34
	9,7	54	26	20
	10,5	26	44	30

Tabelle 3–8 Prozentuale Anteile der einzelnen Sekundärstrukturen von **3-7**.

Probe	pH [1]	α -Helix [%]	β -Faltblatt [%]	Knäuel [%]
3-7a	5,9	-1	4	96
	8,5	2	8	90
	9,1	3	14	83
	9,9	40	28	38
	10,5	48	35	17
3-7b	5,7	0	6	94
	8,2	3	9	88
	9,2	9	20	72
	9,9	37	34	29
	10,5	51	37	12
3-7c	5,9	-1	2	99
	8,3	-5	11	94
	9,1	14	12	74
	9,8	47	27	26
	10,5	53	37	10
3-7d	6,1	-4	6	98
	8,6	2	9	89
	9,4	15	22	62
	10,0	48	35	17
	10,5	53	41	6

4 Rot fluoreszierende, sternförmige Perylendiimid-Poly(L-lysin)-Konjugate

4.1 Einleitung

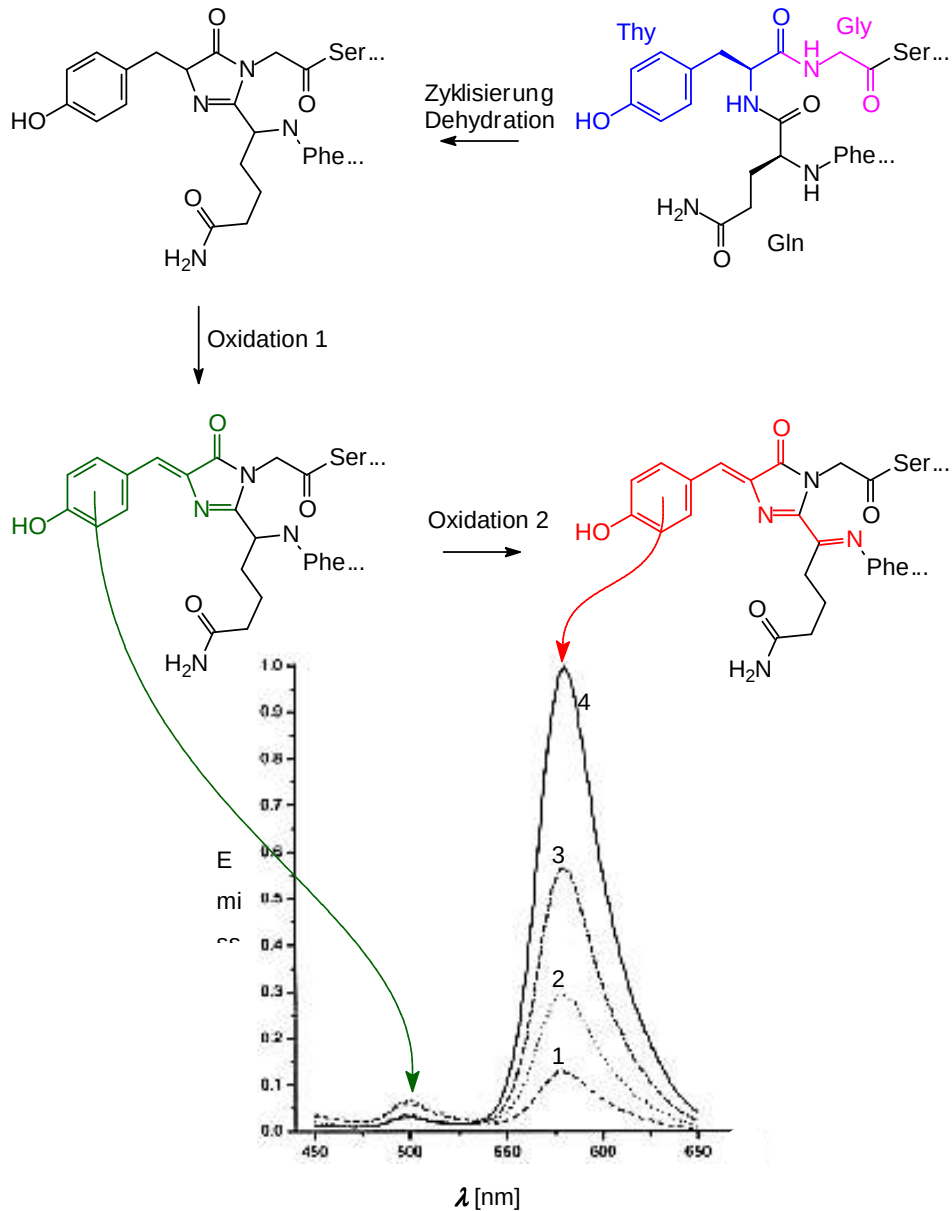
In den letzten Jahren sind lichtemittierende Proteine, mit denen biologische Vorgänge auf molekularer Ebene sichtbar gemacht werden, ins Zentrum der biomolekularen Forschung gerückt. Die Entwicklung von autofluoreszierenden Proteinen (AFP) ermöglicht die genetische Markierung ausgewählter Proteine und deren *in vivo* Beobachtung. Eine zentrale Rolle auf dem Gebiet der AFP kommt dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) zu, welches aus der Qualle *Aequorea victoria* isoliert wird [1]. Durch gezielte Mutationen im GFP-Gen sind spektral unterschiedliche Mutanten wie das gelb (YFP), blau (BFP) und cyan fluoreszierende Protein (CFP) zugänglich [2]. Den rot fluoreszierenden Proteinen (RFP) wird besonders viel Aufmerksamkeit zuteil, da sie sich als spektrale Partner für das GFP bei Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer-Messungen (FRET) und Fluoreszenz-Kreuz-Korrelations-Messungen (FCCS) eignen. Die RFP stammen von anderen Organismen ab als die GFP, die der Klasse der Anthozoa zugeordnet werden. Zur Anthozoa-Klasse gehören beispielsweise Korallen und Seeanemonen.



Abb. 4–1 **links:** Die Anthozoa-Koralle *discosoma striata* zeigt eine orange-rote Färbung an der Mundöffnung [3]. **rechts:** Die Tentakel der Seeanemone *Entacmaea quadricolor* zeigen bei Bestrahlung mit UV-Licht eine deutliche orangefarbene Fluoreszenz [4].

Aus der nicht-biolumineszierende Koralle *discosoma striata* (Abb. 4–1) wird das Protein drFP583 gewonnen, welches aus 225 Aminosäuren aufgebaut ist und ein Molekulargewicht von 26,1 kDa besitzt [5]. Seine Chromophor bildende Sequenz (-GlnThyGly-) ist der des

GFP (-SerThyGly-) sehr ähnlich. Die Reifung des Chromophors (~48 Std.) erfolgt über ein grün fluoreszierendes Intermediat, in dem durch Oxidation die Anzahl an konjugierten Doppelbindungen erhöht wird, woraus eine bathochrome Verschiebung resultiert (Schema 4–1) [6]. Im Verlauf der Chromophorbildung nimmt im Absorptionsspektrum die Bande bei 500 nm (grüne Farbe) ab, während die bei 583 nm (rote Farbe) anwächst (Schema 4–1).



Schema 4–1 Zusammen mit der Entstehung des Chromophors von drFP583 ausgehend von der Teilsequenz (-GlnThyGly-) [6] sind zeitabhängige Emissionsspektren abgebildet: sofort (1); 1½ Std. (2); 5 Std. (3) und 18 Std. (4) [7].

Das drFP583-Protein bildet eine tetramere Struktur aus (Abb. 4–2) [8], die sich positiv auf die Photostabilität seines Chromophors auswirkt. Das Chromophor ist damit viereinhalb Mal so

stabil wie das des GFP. Allerdings bilden sich in lebenden Zellen zytotoxische Aggregate, die sich auf einen Einsatz in Fusionsproteinen nachteilig auswirken [9].

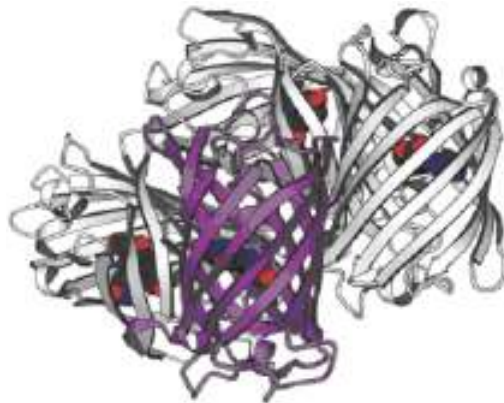


Abb. 4–2 Tetramere Struktur von drFP583. Die Chromophore, die sich im Inneren der Zylinder befinden, sind in rot-blau dargestellt [8].

Eine nahezu monomere Struktur besitzt hingegen das vergleichbar große eqFP611 (231 Aminosäuren, 25,9 kDa), welches kürzlich aus der Seeanemone *Entacmaea quadricolor* isoliert werden konnte [10]. Mit 611 nm besitzt dieses Protein die langwelligste Emission und weist mit 52 nm die größte Stokes-Verschiebung auf. Die Reifung des Chromophors (~12 Std.) durchläuft ebenfalls ein grün fluoreszierendes Intermediat, dessen Absorption nach vollständiger Chromophorbildung nur noch ca. 1 % der roten Absorption entspricht. Seine molekulare Helligkeit η ($\eta \propto \epsilon(\lambda) \phi_F$) würde eqFP611 zu einem viel versprechenden potenziellen Marker für *in vivo* Experimente machen, wenn seine optimale Faltungstemperatur bei 37 °C statt bei 30 °C liegen würde.

Die Hauptnachteile von RFP's sind sowohl die langen Reifungszeiten, bis sich über eine autokatalytische Synthese die Chromophore gebildet haben, wie auch die thermische und photochemische Instabilität. Gerade in letztgenannter Hinsicht haben sich synthetische Farbstoffe der Rylene-Klasse als besonders stabil erwiesen, so dass sie bereits in Nachweisverfahren eingesetzt werden [11-13]. Für einen Einsatz als Fluoreszenzmarker in biologischen Prozessen ist zusätzlich eine gute Löslichkeit in Wasser und die Komplexbildung beispielsweise mit DNS notwendig. Im Fall des Farbstoffes Perylendiimid (PDI) reichen vier polare Gruppen aus, um die notwendige Wasserlöslichkeit zu induzieren (Abb. 4–3) [14]. Das kationische System **4-1a** und das sulfonierte Molekül **4-1b** weisen in Wasser gute Fluoreszenzquantenausbeuten ϕ_F auf (**4-1a**: 66 %; **4-1b**: 58 %), wodurch sie potentiell für den Einsatz als Fluoreszenzmarker geeignet sind. Um die Komplexbildungseigenschaften zu verbessern, wurden über ringöffnende Polymerisation

L-Lysinarme verschiedener Kettenlänge angebracht (**4-1c** Abb. 4–3) [15, 16]. Eine Folge davon ist, dass diese Systeme **4-1c** eine geringe molekulare Helligkeit η aufweisen, was auf die niedrigen Fluoreszenzquantenausbeuten (~3 %) zurückzuführen ist [16].

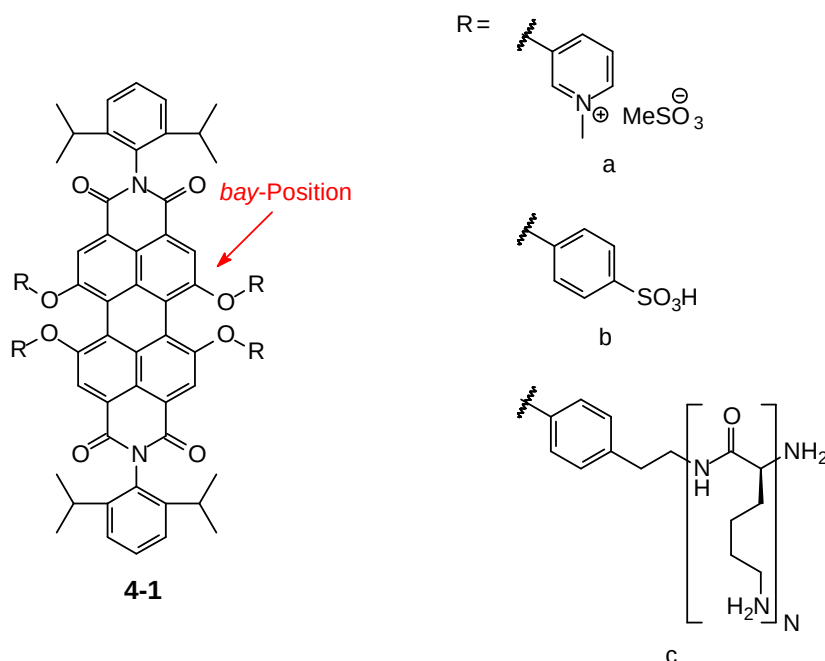


Abb. 4–3 Strukturformeln der wasserlöslichen PDI [14, 15].

Eine Weiterentwicklung der auf Perylendiimid basierenden Systeme **4-1** stellt das Anbringen von formpersistenten Polyphenylen-Dendronen in der *bay*-Position dar. Die Dendrone haben die Aufgabe den Perylendiimidkern gegen äußere Einflüsse (Lösungsmittel, Sauerstoff) abzuschirmen. Allerdings ist dadurch die Induzierung der Wasserlöslichkeit erschwert, was sich dadurch äußert, dass acht Carboxylfunktionen oder Amingruppen direkt auf der Oberfläche nicht ausreichend sind [17].

Im vorliegenden Kapitel wird das in der *bay*-Position mit Phenylendendronen der ersten und zweiten Generation versehene Perylendiimid über ringöffnende Polymerisation in wasserlösliche Systeme überführt. Der Vorteil dieser Reaktion ist, dass wie bei den AFP's keine aufwendige Reinigung der erhaltenen Produkte notwendig ist. Untersucht wird, ob die Abschirmung des PDI durch formpersistente Dendrone verbesserte fluoreszierende Eigenschaften der Stern-Polymere zur Folge hat. Dabei wird der Einfluss der Dendrone anhand von zwei Generationen mit variierender Oberflächenladungsdichte überprüft. Die Oberflächenladungsdichte wird dabei sowohl über die Zahl an *L*-Lysinarmen als auch durch deren Kettenlängen beeinflusst.

4.2 Synthesestrategie

Die Synthese der wasserlöslichen Rylenefarbstoffe mit einem PDI-Kern verläuft über die ringöffnende Polymerisation von α -Aminosäure-N-Carboxyanhydriden (NCA). Die NCA wird unmittelbar vor der Polymerisation nach Literaturvorschrift hergestellt [18]. Für die NCA-Polymerisationen werden γ -Aminobuttersäure (Gaba) funktionalisierte formpersistente Polyphenylen-Dendrimere als Initiatoren verwendet, die von Frau Dr. Grebel-Koehler zur Verfügung gestellt wurden und deren Darstellung im Folgenden kurz beschrieben wird.

4.2.1 Initiatorsynthese

Die multifunktionellen dendritischen Polyphenylen-Initiatoren basieren auf *N,N'*-Bis-(2,6-di-*iso*-propylphenyl)-1,6,7,12-tetra-[4-(acetylen)phenoxy]-perylen-3,4,9,10-tetra-carbonsäurediimid **4-2** (Abb. 4–4), welches zunächst in einer dreistufigen Synthese hergestellt wird [19].

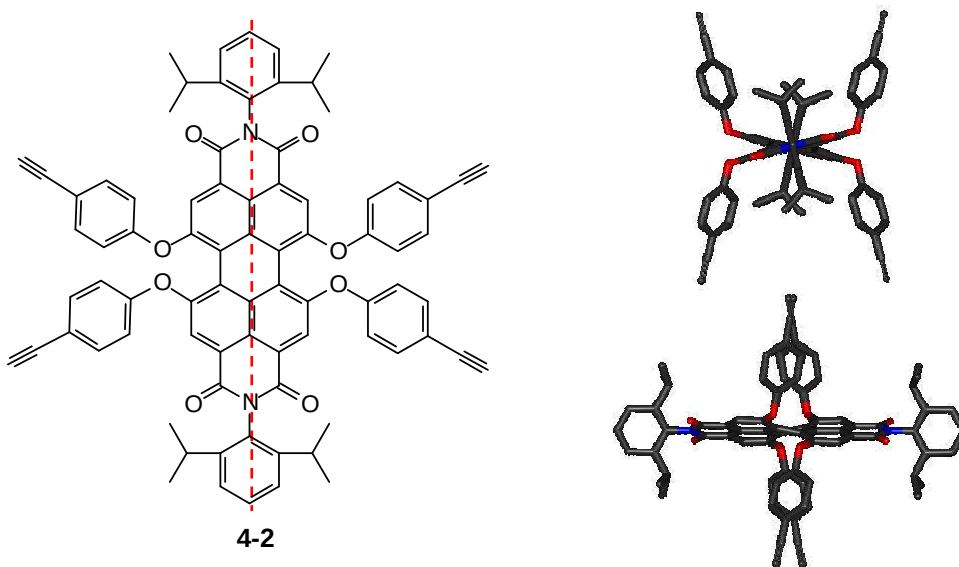


Abb. 4–4 Perylen-Kern **4-2**: **links**: Strukturformel; **rechts**: zwei Ansichten auf das Molekül (ohne Protonen), die mittels Molekülsimulationen (HyperChem 6.0, MM+ Kraftfeld) gewonnen sind.

Nach dem divergenten Syntheseprinzip werden durch repetitive Diels-Alder Reaktionen der Ethinfunktionen in *bay*-Position mit Cyclopentadienon-Derivaten die oberflächenfunktionalisierten Polyphenylen-Dendrimere gewonnen [19].

Als Cyclopentadienon-Bausteine kommen dabei zum einen der A₂B-Baustein **4-3** (Abb. 4–5) und zum anderen die γ -Aminobuttersäure (Gaba) funktionalisierten Derivate **4-4** und **4-5** (Schema 4–2) zum Einsatz. Diese werden ausgehend von den aminfunktionalisierten Cyclopentadienonen **4-7** und **4-8** [20] durch Kupplung der *N*-geschützten γ -Aminobuttersäure **4-6** mittels *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimid (EDC) als Aktivierungsmittels in *N,N*-Dimethylformamid gewonnen [19].

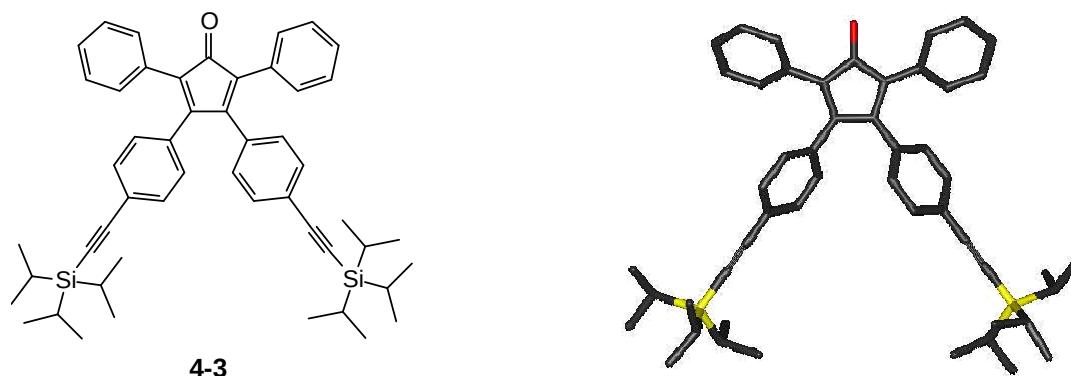
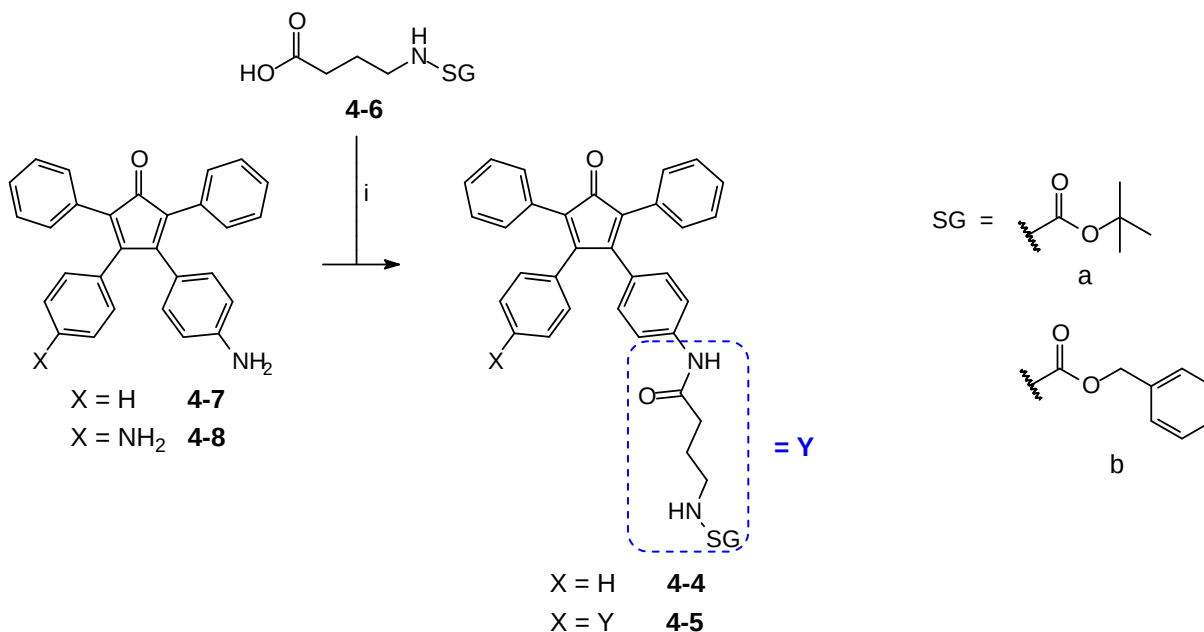


Abb. 4–5 TiPS-geschütztes Cyclopentadienon-Derivat **4-3**: links: Strukturformel, rechts: Molekülsimulation ohne Protonen (HyperChem 6.0, MM+Kraftfeld).



Schema 4–2 Synthese der γ -Aminobuttersäure funktionalisierten Cyclopentadienon-Derivate:
i) EDC, DMAP, RT, 24 Std., ~80 %.

In Schema 4–3 ist die Synthese der geschützten, oberflächenfunktionalisierten dendritischen Initiatoren (**4-9** bis **4-12**) dargestellt. Dabei wird die Pentaphenylbenzol-Einheit wie in Abb. 4–6 dargestellt, symbolisiert.

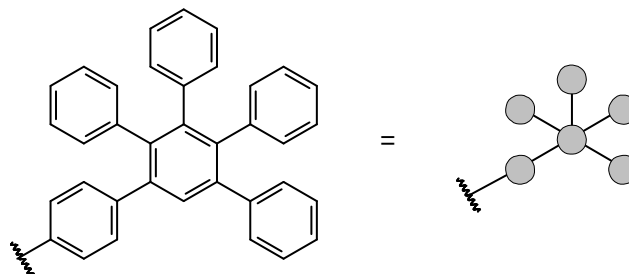
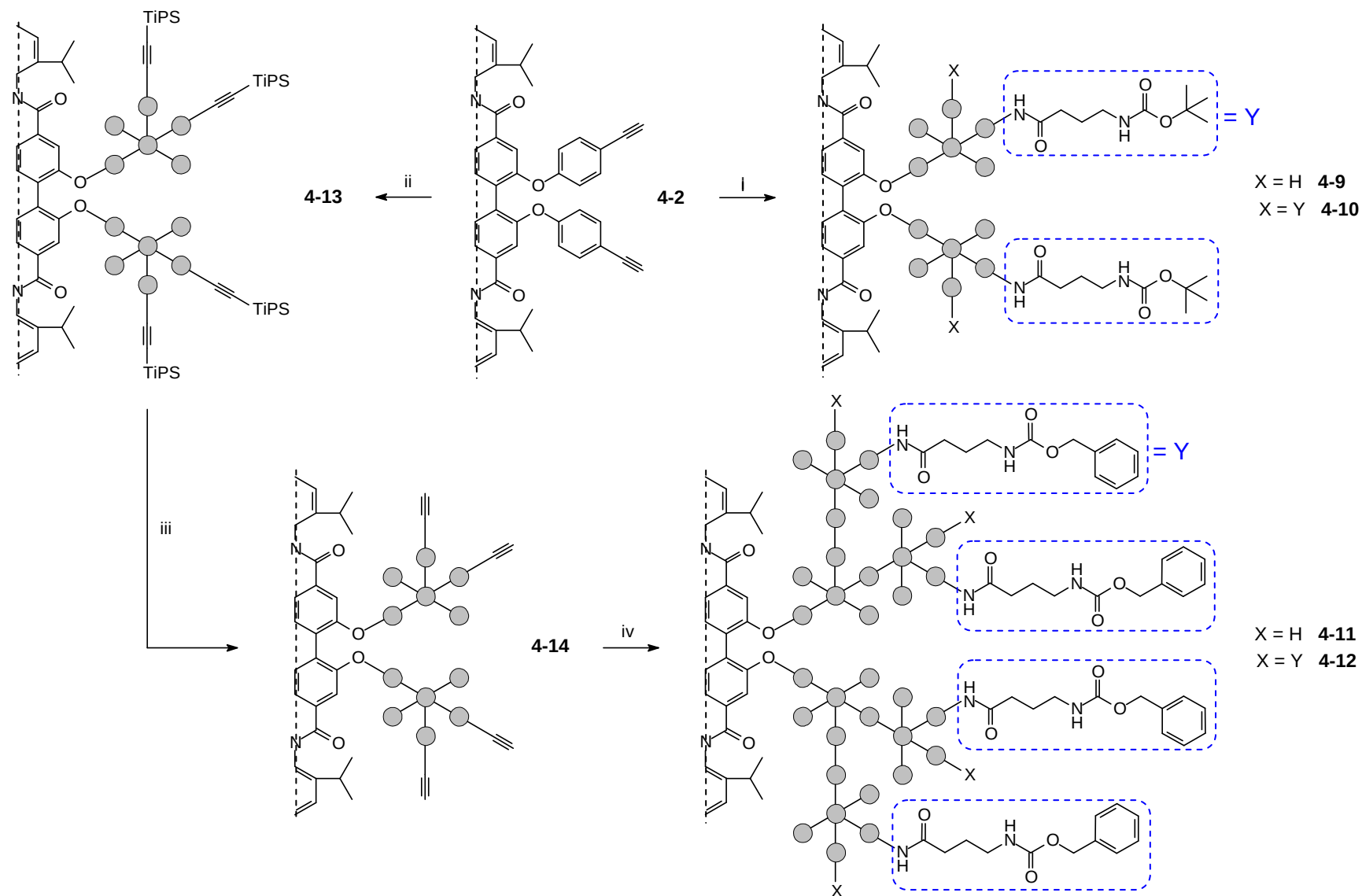


Abb. 4–6 Schematische Darstellung der Pentaphenylbenzol-Einheit.

Die erste Generation mit vier **4-9** und acht **4-10** Oberflächenfunktionalitäten wird durch Umsetzung der γ -Aminobuttersäure-substituierten Cyclopentadienonen **4-4a** und **4-5a** mit dem Perylen-Kern **4-2** erhalten.

Für die zweite Generation wird der PDI-Kern **4-2** zunächst mit dem Cyclopentadienon-Derivat **4-3** in einer Diels-Alder Reaktion umgesetzt. Nach Entschützung der Ethinfunktionen mit Tetrabutylammoniumfluorid wird das Zwischenprodukt **4-14** mit den Benzyloxycarbonylgruppe geschützten γ -Aminobuttersäure-substituierten Cyclopentadienonen **4-4b** und **4-5b** zur Diels-Alder-Reaktion gebracht, wodurch die zweite Generation mit acht **4-11** und sechzehn **4-12** Oberflächenfunktionen entsteht.

Die *N-tert.* Butoxycarbonyl -Schutzgruppen von **4-9** und **4-10** werden abschließend durch Behandeln mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan [21] und die Z-Schutzgruppen von **4-11** und **4-12** mit Bromwasserstoff in Eisessig abgespalten [22]. Die Überführung in die für die NCA-Polymerisation notwendigen primären Amine, erfolgt durch Zugabe in eine kaltgesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung und Filtration nach etwa einer Stunde. In Abb. 4–7 sind die Strukturformeln und je eine Molekülansicht aus der die Orientierung der Dendronen um den PDI-Kern hervorgeht (Molekülsimulation mittels HyperChem6.0, MM+ Kraftfeld) abgebildet.



Schema 4–3 Synthese der geschützten oberflächenfunktionalisierten Dendrimere: i) **4-4a** und **4-5a**, *o*-Xylol/ Toluol/ DMSO (1 : 1 : 0,1), 150 °C, 3 Tage, **4-9**: 70 % und **4-10**: 88 %; ii) **4-2**, *o*-Xylol, 20 Std., 170 °C, 94 %; iii) Bu₄NF, abs. THF, RT, 10 min, 96 %; iv) **4-4b** und **4-5b**, Diphenylether/ Tetraethylenglykol (1 : 1), 170 °C, 24 Std., **4-11**: 73 % und **4-12**: 71 % [19].

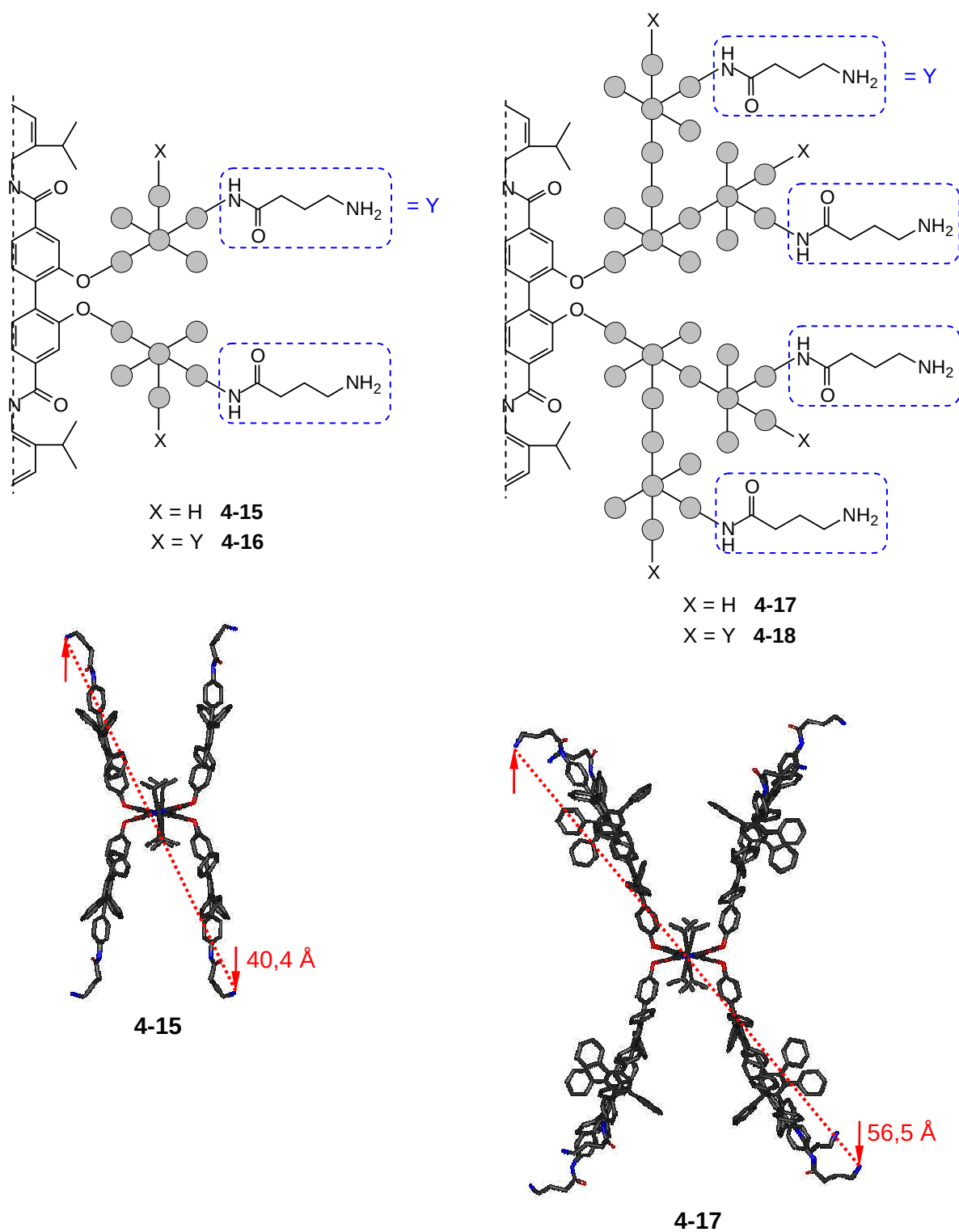
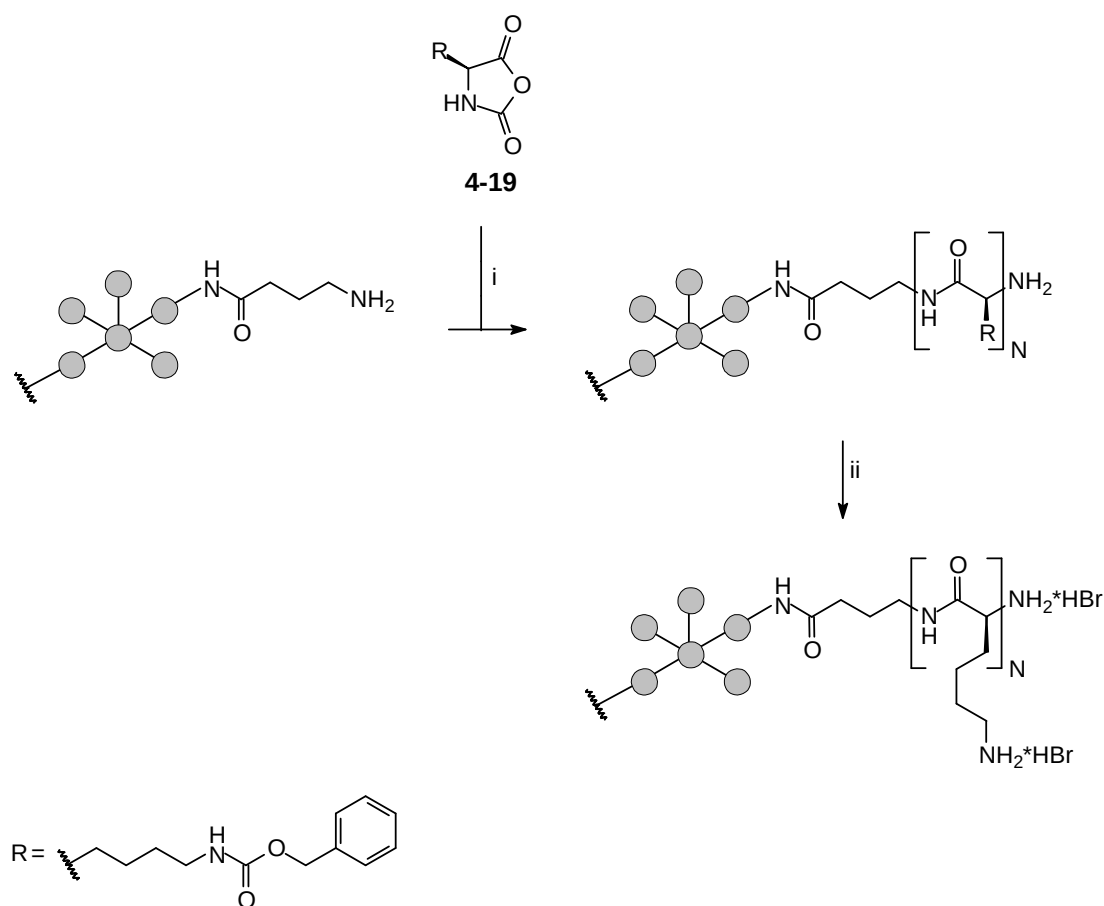


Abb. 4–7

oben: Strukturformeln der Initiatoren der ersten (links) und zweiten (rechts) Generation. **unten:** Molekülsimulationen ohne Protonen (HyperChem 6.0, MM+ Kraftfeld) der ersten Generation mit vier **4-15** (links) sowie der zweiten Generation mit acht Oberflächenfunktionen **4-17** (rechts).

4.2.2 Synthese der PDI-(*L*-Lysin)-Sternkonjugate

Das für die Polymerisation benötigte Monomer *N*^ε-Benzyloxycarbonyl-*L*-Lysin-*N*-Carbonsäureanhydrid (Z-Lys-NCA) **4-19** wird nach Literaturvorschrift synthetisiert [18]. In Schema 4–4 ist exemplarisch an einer Polyphenyleneinheit die Synthese der PDI-(*L*-Lysin)-Sternkonjugate gezeigt. Unter Ausschluss von Wasser werden Lösungen der Initiatoren (**4-15** bis **4-18**) und der Z-Lys-NCA **4-19** in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) über einen Spritzenfilter in ein Schlenkrohr vermischt. Die Kettenlänge der *L*-Lysinarmer (10, 50 und 100) wird dabei durch das Molverhältnis von Initiator zu Monomer bestimmt. Nach fünf Tagen bei Raumtemperatur werden die Polymere aus der gut 20-fachen Menge Wasser ausgefällt und mit Diethylether gewaschen, um nicht umgesetzte NCA **4-19** abzutrennen.



Schema 4–4 Schematische Darstellung der Polymerisation und anschließender Entschützung anhand einer Pentaphenylbenzyl-Einheit. i) NCA, abs. DMF, RT, 5 Tage; ii) TFA, HBr in AcOH, RT, 1 Std.

Zur Überführung der Z-geschützten Sterne in wasserlösliche Systeme werden die Polymere in möglichst wenig Trifluoressigsäure (TFA) gelöst und mit einem Überschuss an Bromwasserstoff in Eisessig (AcOH) versetzt [22]. Nach einer Stunde bei Raumtemperatur

wird das Produkt durch Zugabe von Diethylether ausgefällt, filtriert und im Vakuum getrocknet. Die überschüssige Säure (TFA, HBr und AcOH) wird über Ultrafiltration gegen bidest. Wasser entfernt und abschließend die reinen Produkte durch Lyophilisieren als roter Feststoff gewonnen.

Basierend auf der schematischen Darstellung der Polymerisation an einer Pentaphenylbenzoleinheit (Schema 4–4) werden mit Tabelle 4–1 die Bezeichnungen der Makromoleküle mit der zugehörigen Zusammensetzung (Generation, Anzahl an Peptidketten) eingeführt. Den Kettenlängen wird nachfolgend durch Anhängen eines Kleinbuchstaben an die Probennummer Rechnung getragen.

Tabelle 4–1 Zusammenfassung der Probenbezeichnungen hinsichtlich der Generation und der Zahl an Poly(L-lysin)-Seitenketten.

Probe	Generation	Armzahl
4-20	G1	4
4-21	G1	8
4-22	G2	8
4-23	G2	16

Bestimmung der Poly(L-lysin)-Kettenlänge

Nach der Polymerisation ist zunächst einmal die Frage nach der Kettenlänge der Seitenarme zu beantworten, da anhand dieser eine Aussage über den Erfolg der Polymerisation getroffen werden kann. Die Kettenlänge der L-Lysinarme kann nicht mittels NMR-Spektroskopie ermittelt werden, da die Signale der charakteristischen Isopropylgruppen des PDI-Kerns ($\approx 1,0$ ppm) mit den Methylengruppen des L-Lysins zusammenfallen.

Eine Alternativmethode zur Bestimmung des Molekulargewichtes und somit der mittleren Kettenlängen stellt die Gelpermeationschromatographie (GPC) dar. Entstehen während der Polymerisation in Konkurrenz zu den Sternpolymeren keine Homopolypeptide, zeigen die GPC-Elugramme sowohl im UV-Detektor bei 560 nm als auch im RI-Detektor eine monomodale Verteilung. In Abb. 4–8 sind die GPC-Kurven zweier PDI-(L-Lysin)-Konjugate mit kurzen Peptidketten (**4-20a** und **4-22a**) gezeigt, welche in einer 1 g/L LiBr-DMF-Lösung bei 60 °C gegen Polystyrol als Standard aufgenommen sind. Die GPC-Chromatogramme

besitzen einen monomodalen, aber polydispersen Verlauf, wobei allgemein die ermittelte Polydispersität der zweiten Generation größer ausfällt als für die erste Generation.

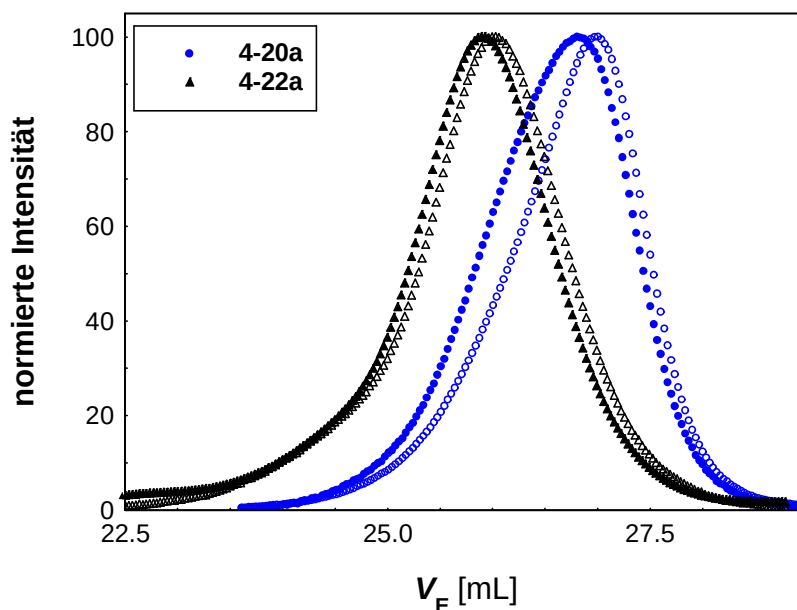


Abb. 4–8 GPC-Eluogramme der PDI-(L-Lysin)-Konjugate **4-20a** (●) und **4-22a** (▲), die mit einem UV_{560 nm}-Detektor (leer) und einem RI-Detektor (ausgefüllt) aufgenommen sind.

Zur Analyse der erhaltenen Molekulargewichte muss in Erinnerung gerufen werden, dass zwei Effekte die Messung beeinflussen. Zum einen sind Dendrimere globuläre Makromoleküle, deren mittels GPC bestimmte Molekulargewichte auf Grund ihrer kompakten Morphologie oftmals unterschätzt werden. Während sich das Molekulargewicht von der ersten **4-15** zur zweiten Generation **4-17** gut verdoppelt, nimmt der über Molekülsimulationen bestimmte Moleküldurchmesser nur um das etwa 1,4-fache zu (Abb. 4–7). Der gleiche Effekt wird auch bei Sternpolymeren beobachtet. Zum anderen wirkt DMF auf die Poly(L-lysine) Arme Helix-stabilisierend [23, 24], woraus stäbchenähnliche Sternarme resultieren. Wie sich die beiden Effekte auf die Bestimmung der Molekulargewichte der Sterne über GPC auswirken ist nicht bekannt, so dass die ermittelten Molekulargewichte keine quantitative Aussage zulassen.

Da die gängigen Methoden zur Bestimmung des mittleren Polymerisationsgrades hier versagen, wird auf die UV/ Vis-Spektroskopie zurückgegriffen, die auf dem Lambert-Beer'schen Gesetz basiert. Hierzu werden Lösungen bekannter Gewichtskonzentration in Dimethylsulfoxid vermessen. Zur Bestimmung des mittleren Polymerisationsgrades wird der Extinktionskoeffizient des reinen Chromophors (**4-15** bis **4-18**) im gleichen Lösungsmittel verwendet. In Tabelle 4–2 sind sowohl die über GPC als auch die über UV/ Vis ermittelten

Kettenlängen aufgeführt. Bei der Bestimmung des Polymerisationsgrades wird davon ausgegangen, dass alle Ketten gleichzeitig gestartet werden und homogen weiter wachsen.

Tabelle 4–2 Übersicht über die Poly(L-lysin)-Kettenlängen aus GPC und UV/ Vis.

Probe	N_{th}^a [1]	N_{Lys}^b [1]	M_w/M_n^b [1]	N_{Lys}^c [1]
4-20a	10	14	1,11	9
4-20b	50	54	1,16	50
4-20c	100	84	1,15	85
4-21a	10	12	1,09	9
4-21b	50	60	1,08	68
4-21c	100	74	1,10	76
4-22a	10	9	1,17	6
4-22b	50	22	1,42	28
4-22c	100	37	1,27	41
4-23a	10	16	1,26	14
4-23b	50	58	1,50	41
4-23c	100	68	1,42	89

a) Angestrebte Kettenlänge
 b) Aus GPC-Messungen in DMF bei 60 °C gegen Polystyrol als Standard.
 c) Über UV/ Vis-Spektroskopie ermittelte Kettenlängen in DMF.

Die Synthese der PDI-(L-Lysin)-Sternkonjugate über ringöffnende Polymerisation von α -Aminosäuren-N-Carboxyanhydriden (NCA) liefert Kettenlängen und Polydispersitäten, die im Rahmen der Methode zu erwarten sind [15, 25-27]. Verantwortlich für die Abweichungen kann die zunehmende Dichte der Initiatoren auf der Oberfläche sein, die eine sterische Hinderung bei der Polymerisation verursacht. Aber auch nach dem letzten Schritt der Initiatorsynthese nicht entfernte Salze können ein Erreichen der angestrebten Kettenlänge durch Starten einer Polymerisation oder Zerstören des Monomers verhindern. Eine Möglichkeit eine bessere Übereinstimmung zwischen theoretischem und experimentell erhaltenem Polymerisationsgrad zu erzielen, bietet der Einsatz der Initiatoren als Hydrochlorid [28]. Wie eine kürzlich veröffentlichte Studie belegt, können auf diesem Weg Polymere mit geringerer Polydispersität erhalten werden, da die parallel ablaufende Polymerisation nach dem aktivierten Monomer-Mechanismus zurückgedrängt wird [29, 30].

4.3 Charakterisierung der PDI-(L-Lysin)-Konjugate

In diesem Abschnitt werden die optischen Eigenschaften der PDI-(L-Lysin)-Konjugate untersucht. Dazu gehören zum einen die Ermittlung der vorliegenden Sekundärstruktur der L-Lysinarmer über Zirkulardichroismus (CD) und deren Beeinflussung durch externe Parameter (pH-Wert, Lösungsmittel). Zum anderen sind die optischen Eigenschaften in Hinblick auf ihr mögliches Einsatzgebiet als Fluoreszenzmarker, welche mit UV/ Vis- und Fluoreszenzspektroskopie analysiert werden, von besonderem Interesse.

4.3.1 Sekundärstruktur der Poly(L-lysin)-Seitenarme

In wässriger Lösung nehmen als Hydromide vorliegende Peptide eine (Zufalls-) Knäuelform (engl. random coil) ein (siehe Kapitel 3). Eine Verminderung der intramolekularen Wechselwirkungen und gleichzeitiger Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen, welche durch Variation des pH-Wertes oder Zugabe eines geeigneten Lösungsmittels erreicht werden, induziert den Übergang zur Helixkonformation (Abb. 4–9). Ein solches Agens ist beispielsweise Trifluorethanol (TFE) [31-34].

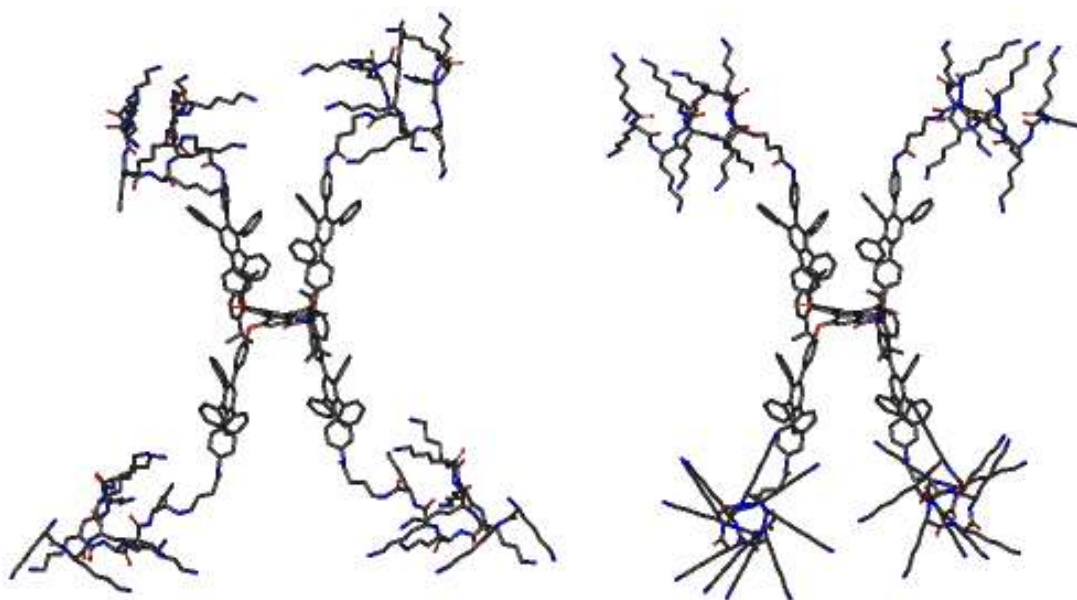


Abb. 4–9 Darstellung (ohne Protonen) eines PDI-(L-Lysin)-Konjugates der ersten Generation mit vier Poly(L-lysin)-Seitenarmen der Kettenlänge zehn in der Knäuel- (links) und der α -Helixkonformation (rechts) aus Molekülsimulationen (HyperChem 6.0, MM+ Kraftfeld).

Die Knäuel-Helix-Übergänge in Abhängigkeit des pH-Wertes und des TFE-Gehaltes sind anhand von **4-20c** in Abb. 4–10 exemplarisch dargestellt. Die Spektren zeigen, dass ab einem pH = 9 oder einer TFE-Menge von 75 % eine Änderung der Sekundärstruktur hin zur α -Helix einsetzt. Oberhalb von pH $\approx$ 10 oder einer höher konzentrierten TFE-Lösung (> 90 %) ist eine Analyse nicht mehr durchführbar, da unter diesen Bedingungen keine ausreichende Löslichkeit der Polymere vorliegt.

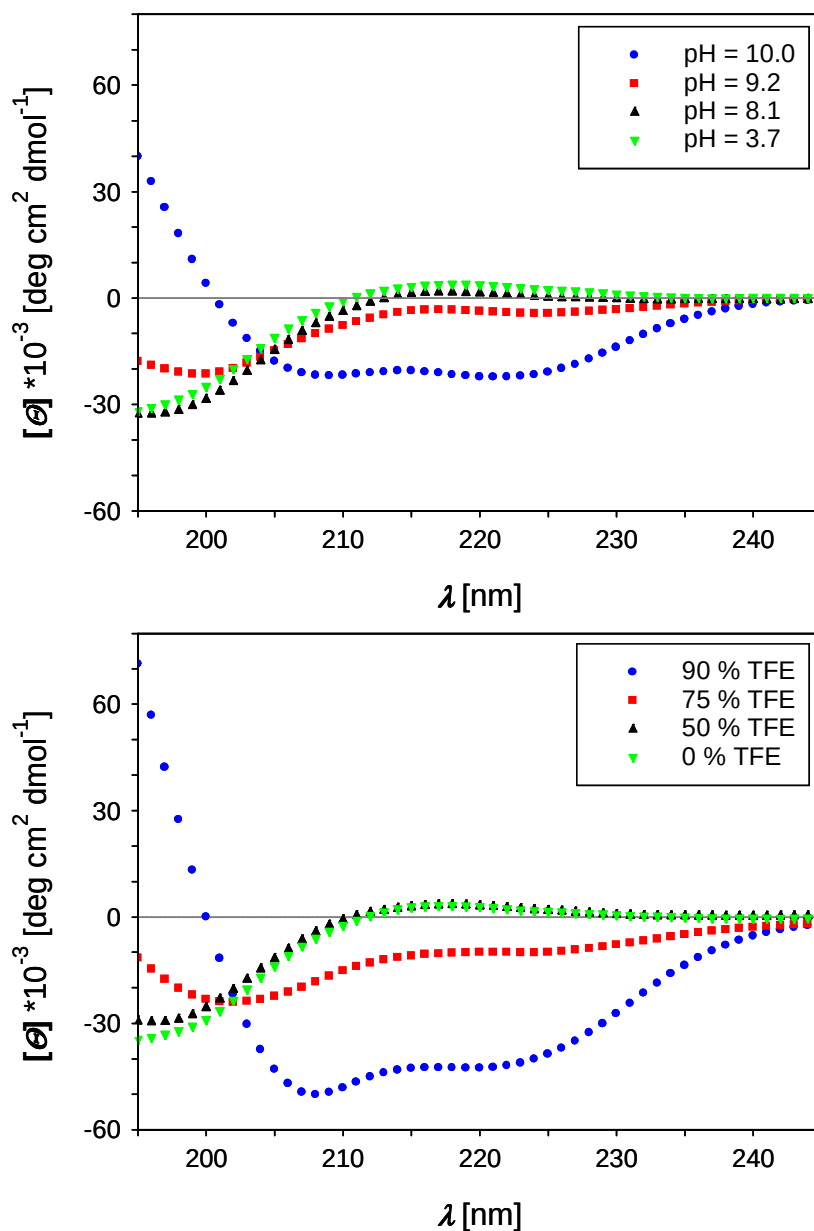


Abb. 4–10 CD-Spektren von **4-20c** ($c = 80 \mu\text{g}/\text{mL}$): **oben:** bei verschiedenen pH-Werten; **unten:** unterschiedliche TFE-Konzentrationen.

Ein qualitativer Vergleich der CD-Spektren bei $\text{pH} \approx 9,9$ und 90 % TFE lässt zwei Dinge erkennen: Zum einen ist die molare Elliptizität pro Aminosäure $[\theta]$ (engl. mean residue molar ellipticity) im Fall der TFE-Lösung größer als bei $\text{pH} \approx 9,9$ und zum anderen ist die Bande bei $\lambda = 208 \text{ nm}$ ausgeprägter.

Für eine quantitative Aussage werden die prozentualen Helix-Anteile unter Berücksichtigung der Kettenlänge benötigt, welche nach der Methode von Chen et al. ermittelt werden (siehe Kapitel 3) [35-37]. Als Referenz für die molare Elliptizität pro Aminosäure bei 222 nm wird Poly(L-lysin-hydrochlorid) verwendet, welches in vollständiger Helixkonformation eine molare Elliptizität pro Aminosäure von $[\theta] = -37600 \text{ deg cm}^2 \text{ dmol}^{-1}$ besitzt [37]. In Tabelle 4–3 sind die prozentualen Helix-Anteile der Polymere bei $\text{pH} \approx 9,9$ sowie ein Vergleich mit denen in einer 90 %-igen TFE-Lösung angegeben. Die Ergebnisse der Proben **4-21b** und **4-23c** müssen bei der Auswertung ausgenommen werden, da bei diesen Messungen bereits eine Fällung eingesetzt hat.

Tabelle 4–3 Analytische Daten der PDI-Poly(L-lysin)-Konjugate aus den CD-Spektren: Angegeben sind die Helix-Anteile bei $\text{pH} \approx 9,9$ und der prozentuale Vergleich der molaren Elliptizitäten pro Aminosäure zu den Proben in 90 % TFE.

Probe	$N_{\text{Lys}}^{\text{a}}$ [1]	pH [1]	α -Helix ^b [%] _{pH}	$[\theta]_{\text{water}} / [\theta_{\text{TFE}}]^{\text{c}}$ [%]
4-20a	9	9,9	44	78
4-20b	50	9,9	46	48
4-20c	85	10	61	53
4-21a	9	9,9	35	67
4-21b	68	10,1	28	26
4-21c	76	9,8	47	45
4-22a	6	9,9	46	113
4-22b	28	10	44	40
4-22c	41	9,9	43	43
4-23a	14	10	25	23
4-23b	41	9,9	81	71
4-23c	89	10,1	43	38

a) Kettenlänge aus UV/ Vis-Spektroskopie.

b) Helix-Anteile aus den wässrigen CD-Spektren bei $\text{pH} \approx 9,9$.

c) Prozentualer Vergleich der erreichten molaren Elliptizitäten pro Aminosäure in Wasser ($\text{pH} \approx 9,9$) und in einer 90 %-igen TFE-Lösung.

Für Homopoly(L-lysin), welches ebenfalls über NCA-Polymerisation gewonnen worden ist, liegen bei gleichem pH-Wert ($\text{pH} \approx 9,9$) die Helix-Anteile zwischen 43 % ($N_{\text{Lys}} = 53$) und 50 % ($N_{\text{Lys}} = 80$) (siehe Kapitel 3). Diese Ergebnisse liegen in der gleichen Größenordnung wie die Helix-Anteile der PDI-Poly(L-lysin)-Konjugate in Wasser (Tabelle 4–3), woraus der Schluss zu ziehen ist, dass weder der Kern noch die Nähe zu anderen Poly(L-lysin)-Seitenarmen die Helixbildung beeinträchtigt.

Bedauerlicherweise ist bei genauer Betrachtung von Tabelle 4–3 kein Trend bezüglich der Dendrongröße und der Armzahl auf der Oberfläche oder der L-Lysinkettenlänge erkennbar, da sowohl die Helix-Anteile als auch die prozentualen Anteile der molaren Elliptizität pro Aminosäure in Wasser im Vergleich zur TFE-Lösung stark schwanken. Verantwortlich hierfür können die Parameter sein, die einen Einfluss auf die Sekundärstruktur ausüben, wie die Kettenlänge oder die Ionenstärke. Werden z.B. bei der Synthese nicht alle Ketten gestartet oder erfolgt das Wachstum der Ketten nicht gleichmäßig, führt dies zu inkorrekten L-Lysinkettenlängen und damit Helix-Anteilen. Zudem variiert die Ionenstärke in den Proben, da einerseits zur Einstellung des pH-Wertes unterschiedliche Mengen an Kaliumhydroxid-Lösung benötigt werden und andererseits die Affinität zur Aufnahme von Kohlendioxid aus der Luft nicht für alle Proben gleich ist.

Trotz dieser Schwankungen führt die Zugabe von TFE, wie schon aus den Spektren ersichtlich, mit Ausnahme von **4-23a** zu einer Erhöhung der molaren Elliptizitäten pro Aminosäure. Dafür sind zwei Faktoren verantwortlich: Erstens unterstützt TFE die Helixbildung der ungeordneten Segmente und zweitens wird die Aggregatbildung aufgehoben [36, 38]. Der Übergang von Helix-Aggregaten hin zu einzelnen α -Helices wird von einer Abnahme des Quotienten $[\theta]_{222}/[\theta]_{208}$ begleitet (Abb. 4–11), der sich optisch in der mehr ausgeprägten Bande bei 208 nm bemerkbar macht.

Besteht die L-Lysinkette aus mehr als zehn Wiederholungseinheiten, nimmt der Quotient für jedes Lösungsmittel einen charakteristischen, nahezu konstanten Wert an. Für die kurzen Ketten ist ein Absinken des Verhältnisses zu beobachten, was auf den erhöhten Knäuel-Anteil zurückzuführen ist, der eine Verschiebung der Bande zu kürzeren Wellenlängen ($\lambda \leq 206$ nm statt $\lambda \leq 208$ nm) zur Folge hat (Abb. 4–12) [39].

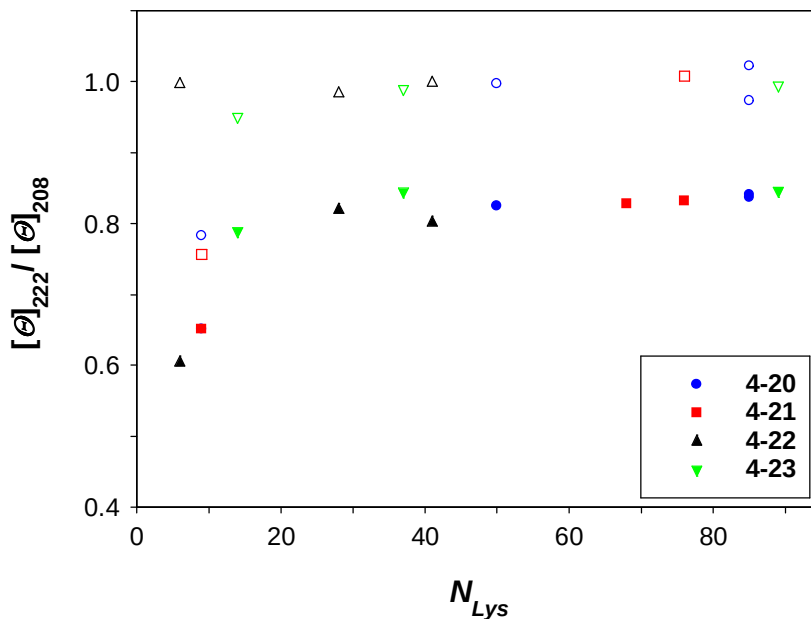


Abb. 4-11 $[\theta]_{222}/[\theta]_{208}$ der verschiedenen Generationen für **4-20** (●), **4-21** (■), **4-22** (▲) und **4-23** (▼) in 90 % TFE (ausgefüllt) und bei pH $\approx$ 9,9 (leer).

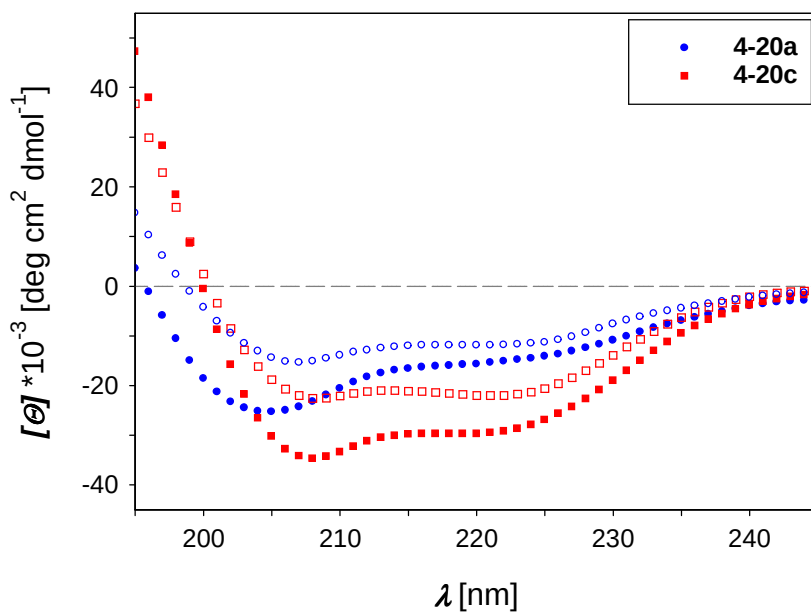


Abb. 4-12 Spektren von **4-20a** (●) und **4-20c** (■) bei pH $\approx$ 9,9 (leer) und in 90 % TFE (ausgefüllt).

Abschließend kann zusammengefasst werden, dass ein Knäuel-Helix-Übergang durch Erhöhung des pH-Wertes nur bis zu einem kritischen pH-Bereich (pH $\approx$ 9,9) induziert werden kann, wobei das Peptid keine vollständig α -Helix ausbildet. Bei einer weiteren Erhöhung des pH-Wertes fallen die Dendrimer-(L-Lysin)-Konjugate aus. Die Konformationsänderung kann

ebenfalls durch Zusatz von Trifluorethanol erreicht werden, wodurch sich das Gleichgewicht zwischen Helix-Aggregaten und einzelnen Helix-Strängen auf die Seite der α -Helices verschiebt.

4.3.2 Optische Eigenschaften

Für einen Einsatz als Fluoreszenzmarker sind die optischen Eigenschaften der PDI Poly(L lysin)-Konjugate von besonderer Bedeutung. Zunächst werden die Absorptionsspektren analysiert bevor auf die Fluoreszenzeigenschaften der Proben eingegangen wird.

UV/ Vis-Spektroskopie

In Abb. 4–13 sind exemplarisch die Absorptionsspektren der Sternpolymere **4-20a** und **4-22a** in Wasser und in einer 90 %-igen Trifluorethanol-Lösung dargestellt. Um einen direkten Vergleich der Messungen zu ermöglichen, entsprechen alle Messungen einer Chromophorkonzentration von $c = 8,9 \cdot 10^{-6}$ mol/ L. Zur leichteren Handhabung sind die Spektren durch die größte Intensität dividiert worden. Wie zu erwarten, führt der Einsatz eines polareren Solvens zu einer bathochromen Verschiebung (~ 12 nm) der Absorptionsmaxima ($\lambda_{\text{max, Wasser}} = 583 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{max, TFE}} = 595 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$). Die Spektren in TFE weisen eine mit den Initiatoren in Dimethylsulfoxid vergleichbare Feinstruktur des PDI-Chromophoren auf (Abb. 4–1). In wässriger Lösung ist die Feinstruktur hingegen weniger ausgeprägt, was auf eine Assoziation von Molekülen schließen lässt.

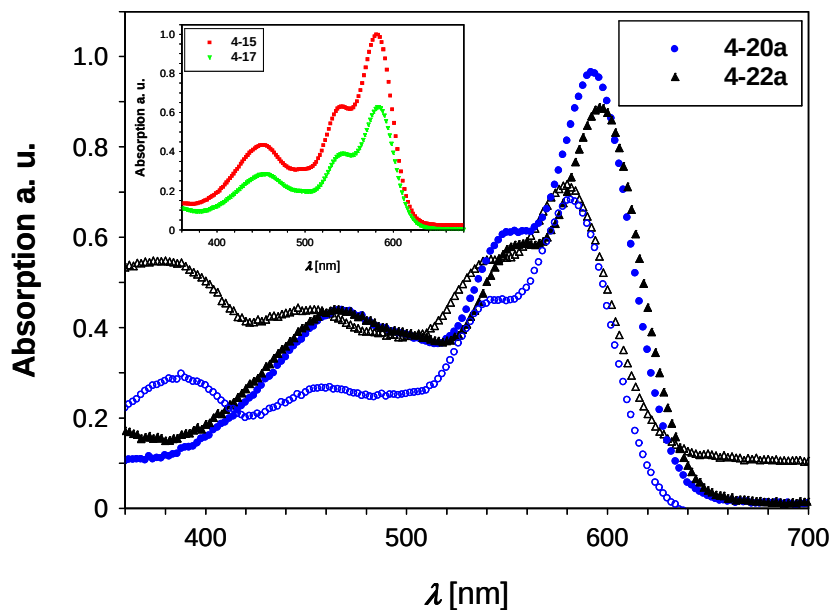


Abb. 4–13 UV-Spektren äquimolarer Lösungen von **4-20a** (●), und **4-22a** (▲) in 90 % TFE (ausgefüllt) und Wasser (leer). Das Inset zeigt die Absorptionsspektren der Initiatoren **4-15** (■) und **4-17** (▼) in DMSO.

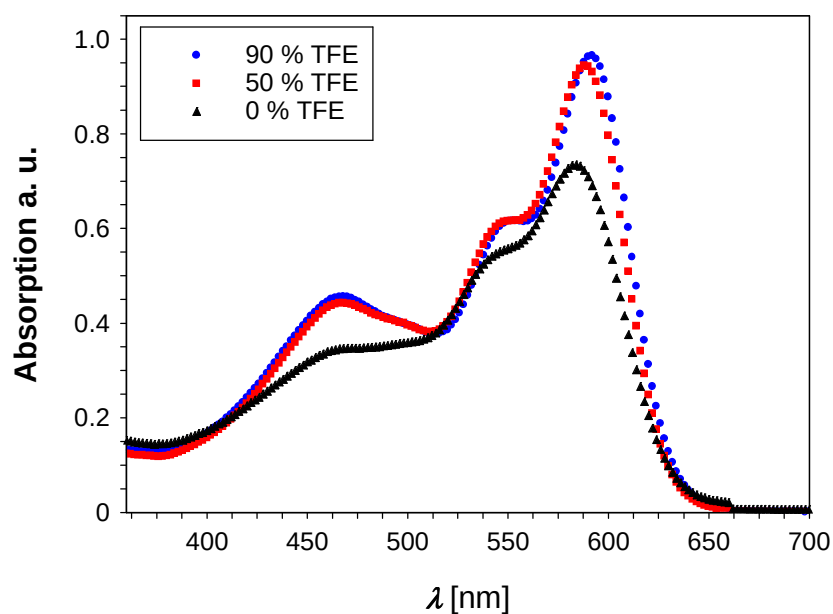


Abb. 4–14 Absorptionsspektren von **4-21a** ($c = 0,8$ mg/mL) bei verschiedenen TFE-Konzentrationen: 90 % (●), 50 % (■) und 0 % (▼).

Die Absorptionsspektren bei zwei weiteren TFE-Gehalten (50 und 75 %) zeigen, dass die Aggregatbildung nicht von der Sekundärstruktur des Peptides abhängt (Abb. 4–14). In einer 50 %-igen TFE-Lösung liegen die Polypeptidarme wie in Wasser ($\text{pH} \approx 6,5$) in einer

Knäuelkonformation vor, die Absorptionsspektren weisen aber keine Aggregate mehr auf. Für die Dissoziation der Aggregate sind demnach ausschließlich die Lösungsmiteigenschaften verantwortlich.

Um einen Eindruck des Einflusses der Dendrongröße und/ oder der Kettenlänge auf die Absorption zu bekommen, sind in Abb. 4–15 die Intensitätsmaxima gegen die Kettenlänge aufgetragen. Die Grafik verdeutlicht, dass die Intensität für alle Sternpolymere von der Lösungsmittelpolarität abhängt, da die Messungen in TFE höhere Intensitäten liefern. Eine Abhängigkeit von der Dendrongröße, der Anzahl an Poly(L-lysin)-Seitenketten auf der Oberfläche oder deren Kettenlänge wird hingegen nicht festgestellt.

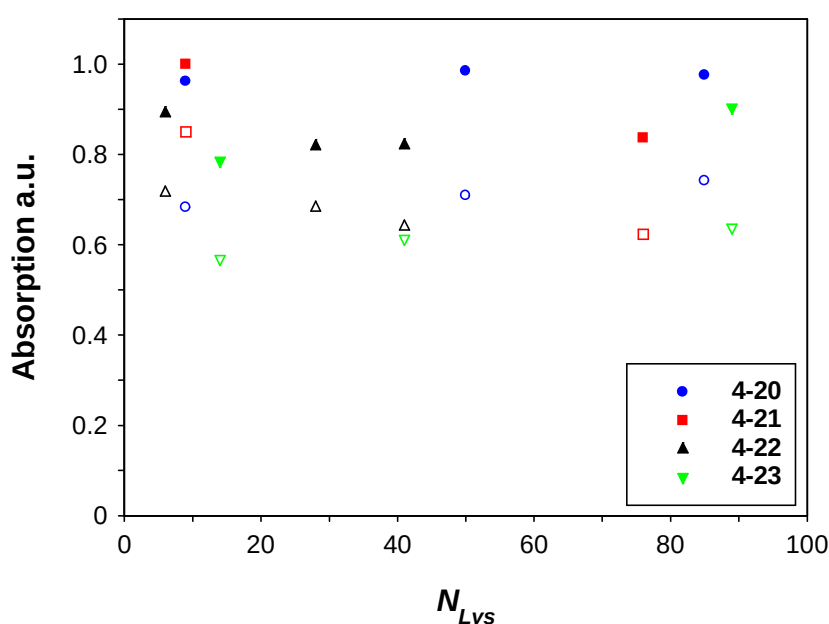


Abb. 4–15 Absorptionsmaxima ($\lambda_{\max, \text{Wasser}} = 583 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$; $\lambda_{\max, \text{TFE}} = 595 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$) aller Proben in 90 % TFE (ausgefüllt) und in Wasser bei pH $\approx 9,9$: **4-20** (●), **4-21** (■), **4-22** (▲) und **4-23** (▼).

Anhand der Absorptionsspektren werden die Extinktionskoeffizienten $\varepsilon(\lambda)$ nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz berechnet. In Tabelle 4–4 sind die aus dem Absorptionsmaximum ermittelten Koeffizienten in Abhängigkeit des Solvens aufgeführt. Die Werte in wässriger Lösung liegen in etwa im Größenordnungsbereich der autofluoreszierenden Proteine drFP583 ($\varepsilon_{583 \text{ nm}} = 75000 \text{ L/ mol cm}$) und eqFP611 ($\varepsilon_{611 \text{ nm}} = 78000 \text{ L/ mol cm}$), während in 90 % Trifluorethanol höhere Extinktionskoeffizienten erhalten werden.

Tabelle 4–4 Extinktionskoeffizienten $\varepsilon(\lambda)$ der PDI-(L-Lysin)-Konjugate in Trifluorethanol (TFE) und Wasser.

Probe	$N_{\text{Lys}}^{\text{a}}$	λ_{max} [nm]	$\varepsilon(\lambda_{\text{max}})^{\text{H}_2\text{O}}$ [L/ mol cm]	λ_{max} [nm]	$\varepsilon(\lambda_{\text{max}})^{\text{TFE}}$ [L/ mol cm]
4-20a	14	581	78200	594	111700
4-20b	54	584	81200	593	110200
4-20c	84	581	84900	593	112800
4-21a	12	586	97300	593	114500
4-21b	60	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
4-21c	74	586	71400	593	95900
4-22a	9	581	82000	597	102100
4-22b	22	580	78200	596	93800
4-22c	37	581	73400	597	94000
4-23a	16	582	65100	596	89900
4-23b	58	584	70100	n.b.	n.b.
4-23c	68	580	73000	597	103400

a) Aus GPC-Messungen in DMF bei 60 °C gegen Polystyrol als Standard.

Die Absorptionsspektroskopie bestätigt das Ergebnis des Zirkulardichroismus: Trifluorethanol ist in der Lage, Aggregate zu dissoziieren, woraus eine deutlichere Feinstruktur des Chromophors und eine bathochrome Verschiebung der Intensitätsmaxima (~12 nm) resultieren. Eine Abhängigkeit von der Dendrongröße, der Armzahl oder deren Kettenlänge auf die Absorption wird nicht festgestellt. Auf Grund der experimentell ermittelten Extinktionskoeffizienten ist ein Einsatz als Fluoreszenzmarker durchaus denkbar, obwohl die Aggregate ähnlich wie im Protein drFP583 einen negativen Effekt auf *in vivo* Experimente haben könnten.

Fluoreszenz-Spektroskopie

Die Fluoreszenzspektren der Initiatoren **4-15** und **4-17** in Dimethylsulfoxid (DMSO) weisen, wie das Inset von Abb. 4–16 zeigt, neben dem Fluoreszenzmaximum bei ca. 603 nm noch eine Schulter bei ~665 nm auf. Durch die Einführung der Poly(L-lysin)-Arme schwächt sich diese Feinstruktur des PDI-Chromophors ab (Abb. 4–16). In Wasser liegt das Maximum bei $\lambda_{\text{max, H}_2\text{O}} = 620 \pm 4$ nm und verschiebt sich im polaren Solvent (90 % TFE) bathochrom um 5 nm ($\lambda_{\text{max, TFE}} = 625 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$). Unter dem Gesichtspunkt, dass der Übergang zum ethanolischen Solvent von einer Dissoziation der Aggregate begleitet wird, ist diese Entwicklung nicht zu erwarten gewesen, denn ein in der Imidstruktur dendronisiertes

Perylendiimid erfährt beim Wechsel von Unimeren zu Aggregaten eine bathochrome Verschiebung [40]. Die Konsequenz dieses Ergebnisses ist, dass die veränderte Maximumlage durch einen dominierenden Lösungsmittelleffekt ausgelöst wird.

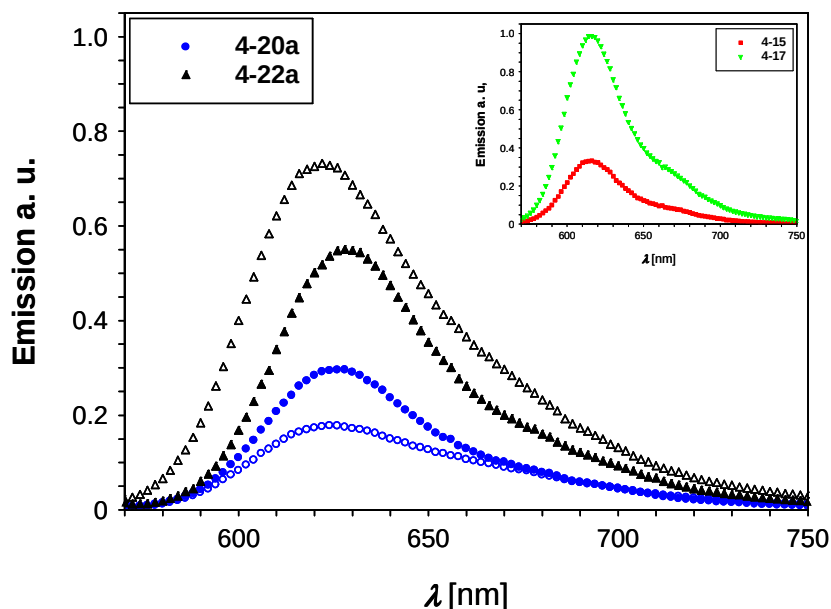


Abb. 4–16 Fluoreszenzspektren der äquimolaren Lösungen **4-20** (●), und **4-22** (▲). Die leeren Symbole stehen für Wasser und die ausgefüllten für eine 90 %-ige TFE-Lösung. Das Inset zeigt die Fluoreszenzspektren der Initiatoren **4-15** (■) und **4-17** (▼) in Dimethylsulfoxid.

Damit die Messungen direkt vergleichbar sind, haben alle Proben die gleiche Chromophorkonzentration ($c = 8,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L}$). Zur leichteren Handhabung sind die Spektren durch die größte Intensität dividiert worden. Auf diese Weise wird sofort sichtbar, dass die Intensitäten der zweiten Generation (mit Ausnahme von **4-23a**, siehe Abb. 4–17) höher liegen als die der ersten Generation, was für einen abschirmenden Effekt der Polyphenylendendronen spricht.

Auffällig ist, dass das Solvent auf die Fluoreszenzspektren der PDI-(L-Lysin)-Konjugate der ersten und zweiten Generation gegenteilige Auswirkungen hat. Während die Lösungen der ersten Generation (**4-20** und **4-21**) in Trifluorethanol intensiver fluoreszieren, sind für die zweite Generation (**4-22** und **4-23**) die Fluoreszenzeigenschaften in Wasser besser. Die Differenz in den Fluoreszenzintensitäten wird mit zunehmender Armzahl größer. So beträgt die Intensität in Wasser bei vier (L-Lysin)-Armen (**4-20a**) etwa 60 % der der ethanolischen Lösung, wohingegen mit acht Armen (**4-21a**) nur noch ~12 % erreicht werden. Der Polymerisationsgrad hat bei der ersten Generation keinen Einfluss auf die Fluoreszenzeigenschaften. Im Gegensatz dazu zeichnet sich für **4-22** und **4-23** je nach

Solvent eine Zu- (Wasser) oder Abnahme (TFE) der Intensität mit der Kettenlänge ab, der auf eine verbesserte Abschirmung des Chromophors hindeutet.

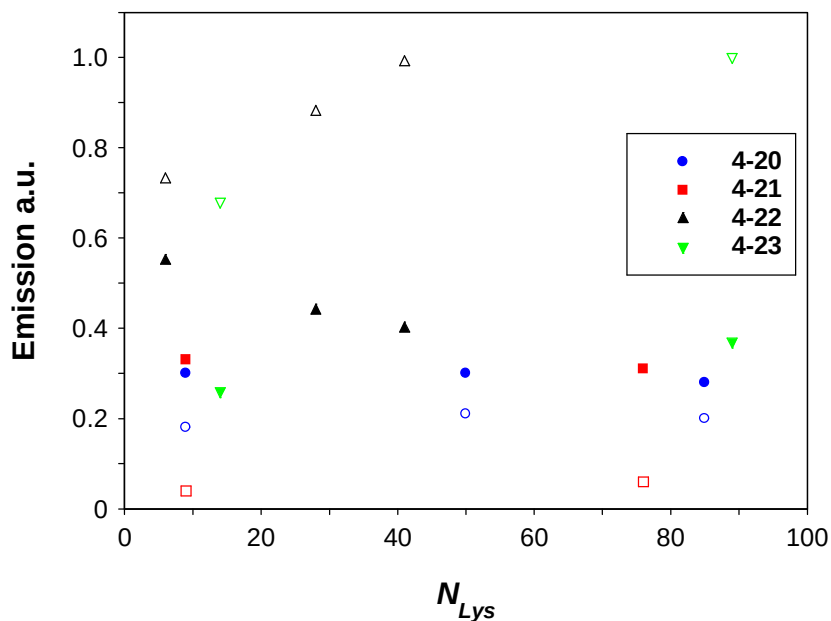


Abb. 4–17 Intensitätsmaxima der äquimolaren Fluoreszenz-Spektren: **4-20** (●), **4-21** (■), **4-22** (▲) und **4-23** (▼). Die leeren Symbole stehen für die Messungen in Wasser und die ausgefüllten für die in 90 % TFE.

Die Änderung der Sekundärstruktur hat keinen Einfluss auf die Fluoreszenzeigenschaften der Dendrimere, da Messungen in 50 % TFE das gleiche Verhalten zeigen wie in 90 %-igen Lösungen (Abb. 4–18) und das Peptid hier ausschließlich in Knäuelkonformation vorliegt.

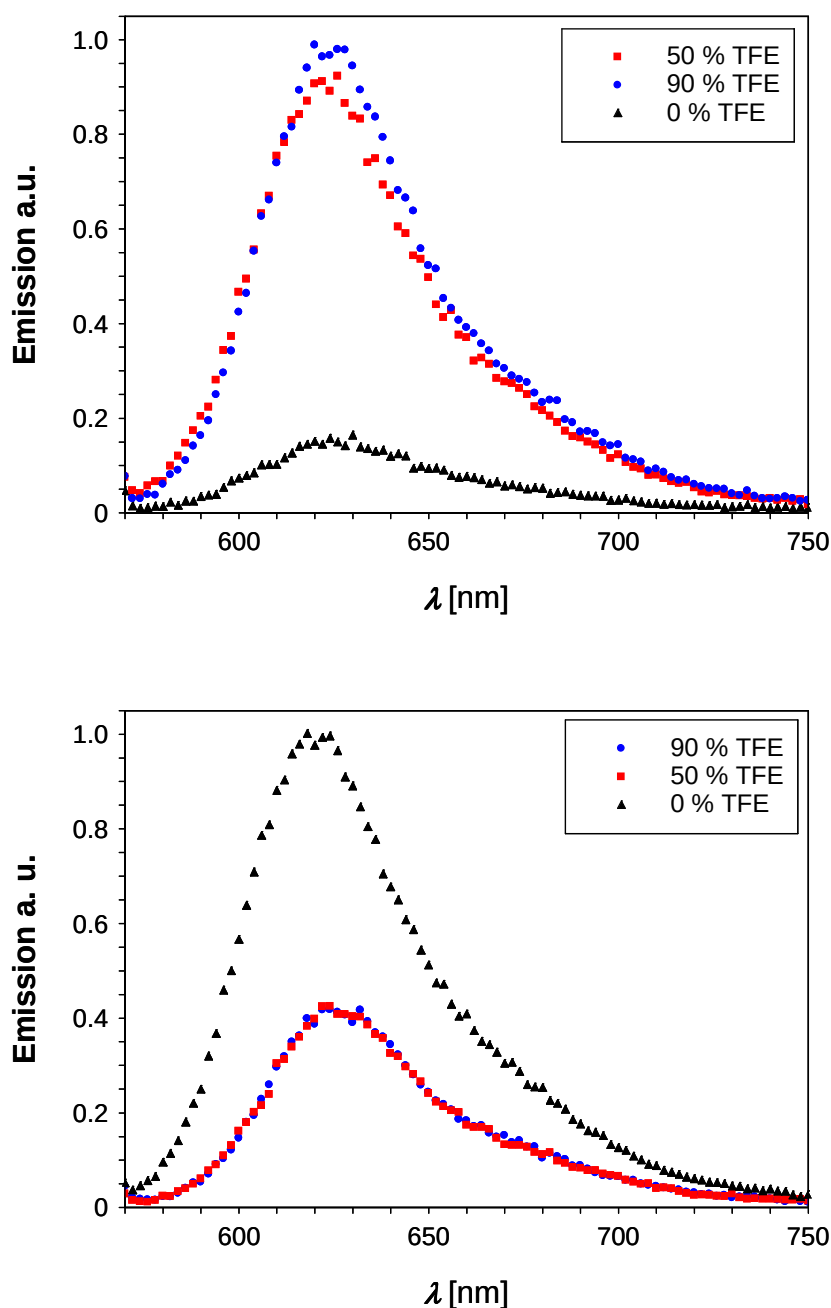


Abb. 4–18 Emissionsspektren von gleichen Massenkonzentrationen ($c = 0,8 \text{ g/mL}$) in Abhängigkeit der TFE-Konzentration: oben - **4-21a**; unten - **4-23a**.

Für den möglichen Einsatz der Polymere als Fluoreszenzmarker ist die Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeuten notwendig. Hierfür wird als Referenz eine Lösung aus Kresylviolett in Methanol verwendet [41], die die gleiche optische Dichte wie die Probe besitzt. Die gemessenen Fluoreszenzquantenausbeuten sind in Tabelle 4–5 zusammengefasst. Die geringen Fluoreszenzquantenausbeuten ($0,2 < \phi_F < 3,6 \%$) machen eine quantitative Aussage unmöglich. Der Fehler besitzt mindestens die gleiche Größenordnung. Die Quantenausbeuten der Gaba-funktionalisierten Initiatoren der ersten Generation (**4-15**, **4-16**)

($\phi_F \approx 0,5\%$) die in Trifluorethanol löslich sind, weisen ebenfalls ein praktisch nicht fluoreszentes Verhalten auf. Die Zahl an Oberflächenfunktionalisierungen reicht nicht aus, um eine Wasserlöslichkeit der Initiatoren herbeizuführen, so dass dieser Vergleich nicht erfolgen kann [19].

Tabelle 4–5 Fluoreszenzquantenausbeuten ϕ_F in Prozent der PDI-(L-Lysin)-Konjugate mit kurzen Peptidarmen in Wasser und Trifluorethanol (TFE).

Probe	$\phi_F(\text{H}_2\text{O})$ [%]	$\phi_F(\text{TFE})$ [%]
4-15	n. b.	0,4
4-16	n. b.	0,5
4-20a	0,9	0,9
4-21a	0,2	0,9
4-22a	3,6	1,4
4-23a	3,1	0,9

Zeitgleich zu der hier angewandten Kern-zuerst- (engl. core-first) Synthese der Konjugate sind nach der Arm-zuerst- (engl. arm-first) Methode von Frau Dr. Grebel-Koehler analoge Systeme mit monodispersen Pentalysinarmen hergestellt worden [19]. Die erzielten Ergebnisse in wässriger Lösung werden von den hier durchgeführten Untersuchungen bestätigt, da sich weder die Positionen der Absorptions- und Emissionsmaxima noch die erreichten Fluoreszenzquantenausbeuten merklich unterscheiden. Auch die höhere Fluoreszenzintensität der zweiten Generation wird untermauert.

Im Vergleich zu den optischen Eigenschaften der Sternpolymere **4-1c** muss festgestellt werden, dass die Weiterentwicklung nicht die gewünschten Erfolge liefert [16], da den PDI-Poly(L-lysin)-Konjugaten keine besseren Fluoreszenzeigenschaften zuteil werden.

Abschließend wird für den Abschnitt Fluoreszenzspektroskopie zusammenfassend festgehalten, dass die erreichbaren Intensitäten gering sind, wobei die verschiedenen Solvenzien eine unterschiedliche Wirkung auf die Generationen ausüben. So scheint sich die Aggregatbildung in Wasser positiv auf die zweite Generation (**4-22** und **4-23**) auszuwirken, wohingegen sich die Eigenschaften der ersten Generation (**4-20** und **4-21**) besser unter den Bedingungen der Unimere entwickeln können. Innerhalb einer Generation zeigt sich keine deutliche Abhängigkeit von der Armzahl oder deren Länge.

4.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel ist die Synthese von sternförmigen, fluoreszierenden Polypeptiden über ringöffnende Polymerisation von N^ϵ -Benzyloxycarbonyl-L-Lysin-N-Carbonsäureanhydrid ausgehend von dem Rylenfarbstoff Perylen beschrieben worden. Es zeigte sich, dass mit zunehmender Zahl von Aminfunktionalitäten auf der Oberfläche der Initiatoren die Abweichungen von den angestrebten Kettenlängen immer größer werden. Möglicherweise stellt die Verwendung der Initiatoren in Form des Hydrochlorids eine geeignete Problemlösung dar, da auf diese Weise ein gleichzeitig ablaufender Polymerisationsmechanismus unterdrückt werden kann [28]. Nach Entfernung der Z-Schutzgruppe wurden wasserlösliche Polymere erhalten, die mittels Ultrafiltration aufgereinigt wurden.

Anhand von Zirkulardichroismus (CD) wurde gezeigt, dass sich die Sekundärstruktur durch Erhöhung des pH-Wertes bis $\text{pH} \approx 10$ oder des Trifluorethanolgehalts ($< 90\%$) von einer Knäuel- zu einer α -helikalen Konformation ändert. Darüber hinaus waren auf Grund von fehlender Löslichkeit keine Untersuchungen mehr möglich. Ferner deuten die Messungen darauf hin, dass in Wasser Aggregate vorliegen, welche in TFE dissoziieren. Eine Beobachtung, die ebenfalls in den Absorptionsspektren gemacht wird und sich in einer Feinstruktur äußert, die mit der des reinen PDI-Chromophors in Dimethylsulfoxid vergleichbar ist. Im Gegensatz dazu schwächt sich die Feinstruktur der Fluoreszenzspektren durch Einführung der Peptidarme ab. Des Weiteren verursachen die Solvenzien auf Grund ihrer unterschiedlichen Polaritäten ungleiche Verschiebungen der Absorptions- und Emissionsmaxima, woraus verschiedenen Stokes-Verschiebungen resultieren. So liegt die Stokes-Verschiebung in Wasser im Durchschnitt bei 41 nm und in einer 90 %-igen Trifluorethanol (TFE) Lösung bei 30 nm.

Anhand der niedrigen Quantenausbeuten ($\phi_F(\text{Wasser}) \leq 3,6\%$; $\phi_F(\text{TFE}) \leq 1,4\%$) wird deutlich, dass die Fluoreszenzeigenschaften der PDI-L-Lysin-Konjugate durch die Einführung von formpersistenten Dendronen nicht verbessert werden konnten.

Da biologische Vorgänge überwiegend in wässrigen Systemen untersucht werden, kommt den optischen Eigenschaften der PDI-L-Lysin-Konjugate in Wasser eine besondere Bedeutung zu. Ein Einsatz als Fluoreszenzmarker ist auf Grund der schlechten fluoreszenten Eigenschaften unwahrscheinlich jedoch nicht vollkommen auszuschließen, da die molekulare Helligkeit η von dem Produkt aus Quantenausbeute und Extinktionskoeffizient bestimmt wird. Verglichen mit dem natürlichen Protein HcRed1, welches eine genauso geringe

Fluoreszenzquantenausbeute hat ($\phi_F \approx 1,5\%$), sind die Extinktionskoeffizienten der hier vorgestellten Systeme um das drei- bis vierfache größer als der von HcRed ($\epsilon(\lambda) = 20000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Damit liegen die Extinktionskoeffizienten in Wasser im gleichen Größenordnungsbereich wie die der Proteine drFP583 und eqFP611. Des Weiteren sind die langwellige Emission ($\sim 624 \text{ nm}$) und die relativ große Stokes-Verschiebung ($\sim 41 \text{ nm}$) von Vorteil. In Tabelle 4–6 sind die spektralen Daten der natürlichen Proteine und der PDI-Lysin-Konjugate mit kurzen Lysinarmen zusammengefasst.

Tabelle 4–6 Zusammenstellung der spektralen Daten der erwähnten RFP's und der PDI-Lysin-Konjugaten. Angegeben sind ihre Emissions- und Absorptionsmaxima sowie die Extinktionskoeffizienten $\epsilon(\lambda)$ und Fluoreszenzquantenausbeuten ϕ_F .

	$\lambda_{\text{max, abs.}}$ [nm]	$\lambda_{\text{max, em.}}$ [nm]	$\epsilon(\lambda)$ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	ϕ_F [1]
drFP583	558	583	75000	0,7
eqFP611	559	611	78000	0,45
HcRed1	588	618	20000	0,015
4-20a	581	624	78200	0,009
4-21a	586	628	97300	0,002
4-22a	581	622	82000	0,036
4-23a	582	620	65100	0,031

Um eine endgültige Aussage treffen zu können, ob sich diese Systeme trotz der geringen Quantenausbeuten als Fluoreszenzmarker eignen, sind noch Komplexierungsversuche mit DNS und die Untersuchung einer eventuellen Zytotoxizität der Aggregate notwendig.

4.5 Experimenteller Teil

4.5.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

Chemikalien und Lösungsmittel

Die eingesetzten Reagenzien sind von den Firmen Aldrich, Fluka und Merck bezogen und, wenn nicht anders angegeben, so eingesetzt worden. Die Solvenzien Ethylacetat und *N,N'*-Dimethylformamid wurden über Molekularsieb (4Å) getrocknet. Die Synthese von *N*^ε-Benzyloxycarbonyl-*L*-Lysin-*N*-Carboxyanhydrid (Z-Lys-NCA) erfolgt nach bekannter Vorschrift [18]. Die dendritischen Initiatoren **4-15** bis **4-18** wurden von Frau Dr. Grebel-Koehler synthetisiert und zur Verfügung gestellt [19].

Reinigung

Die Reinigung der PDI-Lysin-Konjugate erfolgt in Ultrafiltrationszellen (250 mL) der Firma Millipore. Die asymmetrischen Membranen haben einen Durchmesser von 63 mm und stammen ebenfalls von der Firma Millipore.

4.5.2 Physikalische und analytische Methoden

Probenpräparation

Alle Polyelektrolyt-Proben werden im Gefrierschrank aufbewahrt und vor jeder Messung 24 Stunden im Hochvakuum getrocknet. Die Einwaagen von geringen Mengen ($m \leq 20$ mg) erfolgen an einer Mettler-Toledo-Feinwaage. Alle anderen Mengen (auch Lösungsmittel) werden mit einer Satorius-Genius-Analysenwaage eingewogen. Werden Lösungsmittelgemische als Solvens eingesetzt, wird zunächst die Mischung angesetzt und nach Bestimmung der Dichte die notwendige Menge eingewogen.

Gelpermeationschromatographie

Für die gelchromatographische Analyse in Dimethylformamid (DMF) werden drei hintereinander geschalteten Polymer-Standard Service (PSS) Styrol-Divinylbenzol (SDV)

Säulen (Ausmaße: 300 x 8 mm) mit Porengrößen von 500, 10^5 , und 10^6 Å verwendet. Die Messungen werden in DMF mit LiBr (0,1 M) bei 333 K (60 °C) durchgeführt. Die Elugramme werden mit einem UV/ Vis- (560 nm) und einem RI-Detektor innerhalb einer halben Stunde bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 mL/ min aufgenommen. Im Anschluss werden die Elutionszeiten in Molekulargewichte umgerechnet, wofür zuvor eine Kalibrierung mit eng verteilten Polystyrol-Standards notwendig ist.

UV/ Vis-Spektroskopie

Die UV/ Vis-Spektren werden mit einem Perkin-Elmer-Lambda 9-Spektrometer aufgenommen. Die Messungen werden bei Raumtemperatur an luftgesättigten Lösungen in einer 10 x 10 mm Quarzküvette (Hellma) der Schichtdicke 1 mm und einer Spaltbreite von 2 nm aufgenommen. Der Messbereich erstreckt sich von 700 bis 200 nm, wobei eine Schrittweite von 0,5 nm eingestellt wird. Die Scangeschwindigkeit beträgt 240 nm/ min wobei pro Spektrum der Wellenlängenbereich nur einmal abgetastet wird.

Die Bestimmung der Kettenlänge folgt dem Lambert-Beer'schen Gesetz:

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) c l \quad \text{Gl.(4-1)}$$

$A(\lambda)$: Absorption
 λ : Wellenlänge
 $\varepsilon(\lambda)$: Extinktionskoeffizient
 c : Konzentration
 l : Weglänge

Hierzu wird eine definierte Konzentration [mg/ mL] der ungeschützten Polymere in Dimethylformamid vermessen. Obige Gleichung Gl.(4-1) wird im Anschluss nach dem Molekulargewicht, welches in c enthalten ist, aufgelöst, wobei als Extinktionskoeffizient der des reinen Chromophoren im gleichen Lösungsmittel eingesetzt wird.

Zirkulardichroismus

Die Zirkulardichroismus-Spektren werden mit einem Jasco J-715 Spektropolarimeter, welches mit einer Jasco PTC-348WI temperaturgeregelten Zelle versehen ist, aufgenommen. Die Kalibrierung des Gerätes erfolgt sowohl mit einer wässrigen Lösung (+)-10-Camphersulfonsäure als auch mit *D*(-)-Pantolacton. Für die Messung werden 1 mm Quarzküvetten (Starna) verwendet. Der Messbereich geht von 250 bis 195 nm, wobei eine Schrittweite von 0,5 nm eingestellt wird. Die Scangeschwindigkeit beträgt 20 nm/ min, die

Integrationszeit 2 s pro Datenpunkt und die Spaltbreite 1 nm. Für ein Spektrum werden durchschnittlich zehn Wellenlängenscans durchgeführt.

Für die Bestimmung der Sekundärstruktur wird eine Lösung der Massenkonzentration $c = 80 \mu\text{g}/\text{mL}$ hergestellt. Die Lösung wird im Anschluss auf Polycarbonatgefäße aufgeteilt und der pH-Wert durch Zusatz von 0,3-molarer Kaliumhydroxidlösung eingestellt. Vor jeder Messung wird die Lösung eine Stunde unter milder Argonzufuhr äquilibriert.

Für die Messungen in TFE/ Wasser-Mischungen werden die Lösungen in Volumenprozenten angesetzt (90, 75 und 50 %) und danach die notwendigen Mengen eingewogen. Auch diesen Proben werden eine Stunde Äquillibrierungszeit eingeräumt.

Die erhaltenen Daten werden im Anschluss in die mittlere molare Elliptizität pro Aminosäure ($[\theta]$ in $\text{deg cm}^2 \text{dmol}^{-1}$) umgerechnet.

Fluoreszenz-Spektroskopie

Die Messungen erfolgen bei Raumtemperatur an luftgesättigten Lösungen mit einem SPEX USA Fluorolog 2 Typ F212 Spektrometer, an das ein Hamamtsu PMT R 508- sowie PMT R 928-Detektor angeschlossen sind. Vermessen werden luftgesättigte Lösungen mit einer definierten PDI-Kern Konzentration. Die Messungen werden bei Raumtemperatur in einer 10 x 10 mm Quarzküvette (Hellma) mit einer Schichtdicke von 1 mm und einer Spaltbreite von 2 nm aufgenommen. Die Beobachtungswellenlänge der Anregungsspektren liegt bei 560 nm und die Schrittweite beträgt 0,5 nm.

Zur Berechnung der Quantenausbeuten wird folgende Beziehung verwendet:

$$\phi_F = \phi_F(R) \frac{I}{I(R)} \frac{F(R)}{F} \frac{n^2}{n^2(R)} \quad \text{Gl.(4-2)}$$

- ϕ_F : Fluoreszenzquantenausbeute
- $\phi_F(R)$: Fluoreszenzquantenausbeute der Referenz
(Kresylviolett: $\phi_F = 0,55$) [41]
- $I/I(R)$: optische Dichte der Probe/ Referenz
- $F/F(R)$: integrale Fluoreszenzintensität der Probe/ Referenz

4.5.3 Synthesebeschreibungen

Synthese der seitenkettengeschützten Perylendiimid-(L-Lysin)-Konjugate über ringöffnende Polymerisation

Für die Polymerisation wird ein ausgeheiztes Schlenkrohr mit einem Trockenrohr versehen und mit Schutzgas (Argon) befüllt. Auf Grund der relativ schlechten Löslichkeit der Initiatoren **4-15** bis **4-18**, werden diese in möglichst wenig trockenem *N,N'*-Dimethylformamid gelöst und über einen PTFE-Spritzenfilter vorgelegt. Zu dieser kräftig rührenden Lösung wird ebenfalls über einen Spritzenfilter schnell eine hochkonzentrierte Lösung Z-Lys-NCA in abs. DMF zugespritzt. Insgesamt sollte die NCA-Konzentration etwa $c \approx 0,2 \text{ mg/ mL}$ betragen. Die Reaktion wird fünf Tage unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur durchmischt, bevor das Polymer in der gut 20-fachen Menge Wasser ausgefällt wird. Nicht umgesetztes Monomer wird durch Waschen mit Diethylether entfernt. In Tabelle 4-7 sind die erreichten Kettenlängen zusammengestellt.

Abspaltung der N^ε-Benzyloxybenzylgruppe

Das Polymer wird in möglichst wenig Trifluoressigsäure gelöst und mit vier Äquivalenten Bromwasserstoff in Eisessig ($c = 5,7 \text{ mol/ L}$) versetzt. Innerhalb einer Stunde bildet sich ein klebriger Niederschlag, der durch Zugabe von Diethylether über Nacht in einen fein verteilten Niederschlag übergeht. Dieser Niederschlag wird abfiltriert und durch Ultrafiltration in bidest. Wasser von jeglichem Säureüberschuss und niedermolekularen Anteilen befreit. Das reine Produkt wird durch Lyophilisieren als roter Feststoff gewonnen.

In Tabelle 4-7 sind die eingesetzten Mengen, die zur Reinigung eingesetzten Ultrafiltrationsmembranen, Ausbeuten und Kettenlängen über GPC an den geschützten Polymeren und UV-Spektroskopie an den ungeschützten PDI-L-Lysin-Konjugaten aufgelistet.

Tabelle 4–7 Synthetische Details der NCA-Polymerisationen: Angegeben sind die Ansatzmengen von Initiator $m_{\text{Initiator}}$ und NCA-Monomer m_{NCA} , die zur Reinigung verwendeten nominellen Molekulargewichts Limits (NMWL) der Ultrafiltrationsmembranen sowie die Ausbeuten an Endprodukt. Ferner sind die angestrebten und erreichten Kettenlängen N_{Lys} .

Probe	$m_{\text{Initiator}}$ [mg]	m_{NCA} [mg]	NMWL [Da]	Ausbeute ^a [mg]	Ausbeute ^a [mg]	N_{th} [1]	N_{Lys} ^b [1]	N_{Lys} ^c [1]	M_w/M_n ^h [1]
4-20a	100	408	10000	210	70	10	9	14	1,11
4-20b	22,5	459	30000	195	73	50	50	54	1,16
4-20c	14,3	587	50000	286	84	100	85	84	1,15
4-21a	66,4	479	10000	265	88	10	9	12	1,09
4-21b	15,8	567	50000	273	84	50	68	60	1,08
4-21c	7,6	552	50000	238	76	100	76	74	1,10
4-22a	110,5	420	10000	195	64	10	6	9	1,17
4-22b	27,7	526	30000	175	56	50	28	22	1,42
4-22c	15,1	572	50000	120	35	100	41	37	1,27
4-23a	77,5	524	30000	298	87	10	14	16	1,26
4-23b	17,8	603	50000	253	73	50	41	58	1,50
4-23c	8,6	578	50000	245	75	100	89	68	1,42

- a) Bezogen auf die wasserlöslichen Polymere.
 b) UV/ VIS-Messungen sind an den wasserlöslichen Polymeren in Dimethylsulfoxid aufgenommen worden.
 c) GPC-Messungen sind in DMF bei 60 °C gegen Polystyrolstandards durchgeführt worden.

4.6 Literaturverzeichnis

- [1] Morise H., Shimomura O., Johnson F.H., Winant J., *Biochemistry* **1974**, 13, 2656.
- [2] Clontech, in *Living Colors User Manual*, Clontech Laboratories Inc, **2000**.
- [3] Tsien R.Y., *Nat. Biotechnol.* **1999**, 17, 956.
- [4] http://www.Uni-Ulm.De/Aktuelles/Aktuelles_Thema/Aktuell0211/.
- [5] Matz M.V., Fradkov A.F., Labas Y.A., Savitsky A.P., Zaraisky A.G., Markelov M.L., Lukyanov S.A., *Nat. Biotechnol.* **1999**, 17, 969.
- [6] Gross L.A., Baird G.S., Hoffman R.C., Baldrige K.K., Tsien R.Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, 97, 11990.
- [7] Terskikh A., Fradkov A., Ermakova G., Zaraisky A., Tan P., Kajava A.V., Zhao X.N., Lukyanov S., Matz M., Kim S., Weissman I., Siebert P., *Science* **2000**, 290, 1585.
- [8] Zhang J., Campbell R.E., Ting A.Y., Tsien R.Y., *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2002**, 3, 906.
- [9] Salih A., Larkum A., Cox G., Kuhl M., Hoegh-Guldberg O., *Nature* **2000**, 408, 850.
- [10] Wiedenmann J., Schenk A., Raussuchen A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 11646.
- [11] Langhals H., *Zeitschrift für Analytische Chemie* **1985**, 320, 361.
- [12] Langhals H., *Chem. Ind.* **1985**, 470.
- [13] Minard-Basquin C., Weil T., Hohner A., Rädler J.O., Müllen K., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5832.
- [14] Qu J.Q., Kohl C., Pottek M., Müllen K., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2004**, 43, 1528.
- [15] Klok H.A., Rodríguez Hernández J., Becker S., Müllen K., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2001**, 39, 1275.
- [16] Rodríguez Hernández J., *Dissertation*, Johannes Gutenberg Universität (Mainz), **2003**.
- [17] Weil T., *Dissertation*, Johannes Gutenberg Universität (Mainz), **2001**.
- [18] Poché D.S., Moore M.J., Bowles J.L., *Synth. Commun.* **1999**, 29, 843.
- [19] Grebel-Koehler D., *Dissertation*, Johannes Gutenberg Universität (Mainz), **2003**.
- [20] Herrmann A., Mihov G., Vandermeulen G.W.M., Klok H.A., *Tetrahedron* **2003**, 59, 3925.
- [21] Greene T.W., Wuts P.G.M., in *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, **1999**.

- [22] Ben-Ishai D., Berger A., *J. Org. Chem.* **1952**, 17, 1564.
- [23] Bywater S., *Adv. Polym. Sci.* **1979**, 30, 89.
- [24] Fasman G.D., Idelson M., Blout R.J., *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 709.
- [25] Deming T.J., *Adv. Mater.* **1997**, 9, 299.
- [26] Deming T.J., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2000**, 38, 3011.
- [27] Kricheldorf H.R., in *alpha-Aminoacid-N-Carboxanhydrides and Related Heterocycles*, Springer-Verlag, Berlin, **1987**.
- [28] Dimitrov I., Schlaad H., *Chem. Commun.* **2003**, 2944.
- [29] Bramford C.H., Block H., *J. Chem. Soc.* **1961**, 4989.
- [30] Bramford C.H., Block H., *J. Chem. Soc.* **1961**, 4992.
- [31] Cammers-Goodwin A., Allen T.J., Oslick S.L., McClure K.F., Lee J.H., Kemp D.S., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 3082.
- [32] Huang K., Park Y.D., Cao Z.F., Zhou H.M., *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Molec. Enzym.* **2001**, 1545, 305.
- [33] Maeda Y., Nakagawa T., Kuroda Y., *Journal of Peptide Science* **2003**, 9, 106.
- [34] Thennarasu S., Nagaraj R., *Biopolymers* **1997**, 41, 635.
- [35] Chen Y.H., Yang J.T., Chau K.H., *Biochemistry* **1974**, 13, 3350.
- [36] Lau S.Y.M., Taneja A.K., Hodges R.S., *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 13253.
- [37] Yang J.T., Kubota S., in *Microdomains in Polymer Solution*, New York, **1985**.
- [38] Chitra R., Smith P.E., *J. Chem. Phys.* **2001**, 114, 426.
- [39] Greenfield N., Fasman G.D., *Biochemistry* **1969**, 8, 4109.
- [40] Herrmann A., Weil T., Sinigersky V., Wiesler U.M., Vosch T., Hofkens J., De Schryver F.C., Müllen K., *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 4844.
- [41] Olmsted J., *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 2581.

5 L-Lysin-dendronisierte Polystyrole

5.1 Einleitung

Dendronisierte Polymere sind Makromoleküle, die an einem Polymergerüst dendritische Fragmente tragen [1-3]. Die Vorläufer dieser Substanzklasse waren Ende der 80er Jahre stäbchenförmige Polymere mit angehängten dendritischen Seitengruppen [4, 5]. Im Anschluss folgten Copolymere, die sowohl reine Styroleinheiten als auch solche mit angehängten Fréchet-Dendronen trugen [6]. Einige Jahre später sorgte die Selbstorganisation von Dendrimeren mit flexiblen Endgruppen in hexagonal columnar oder kubisch thermotrop flüssig kristallinen Phasen hoher Ordnung für Aufsehen [7]. Das Einbringen von polymerisierbaren Endgruppen im Fokus führt zu einer Formabhängigkeit vom Polymerisationsgrad [8]. So organisieren sich Monomere und kurze Polymerketten ($P_n < 20$) zu kugelartigen Überstrukturen, während höhere Polymerisationsgrade ($P_n > 20$) zylindrische Überstrukturen ausbilden [9]. Auf die Form der dendronisierten Polymere wird über die Größe der dendritischen Äste Einfluss genommen, denn mit zunehmender Dendrongeneration wird auf Grund des sterischen Anspruchs eine Streckung des Rückgrates induziert (Abb. 5–1) [7, 8]. Aus dieser Erfahrung heraus können kovalent gebundene zylinderförmige Moleküle mit einer Vielzahl funktioneller Gruppen auf der Oberfläche über den gesamten Nanometerbereich synthetisiert werden und bilden die Substanzklasse der dendronisierten Polymere [2].

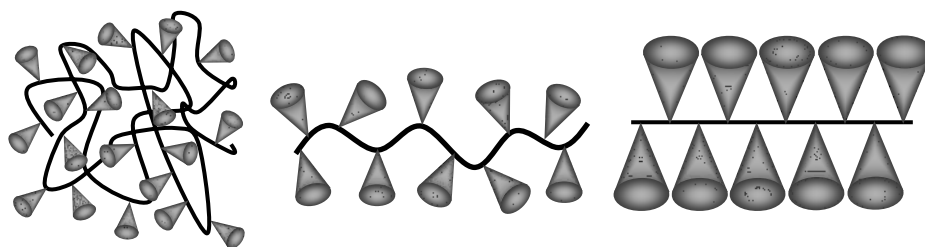
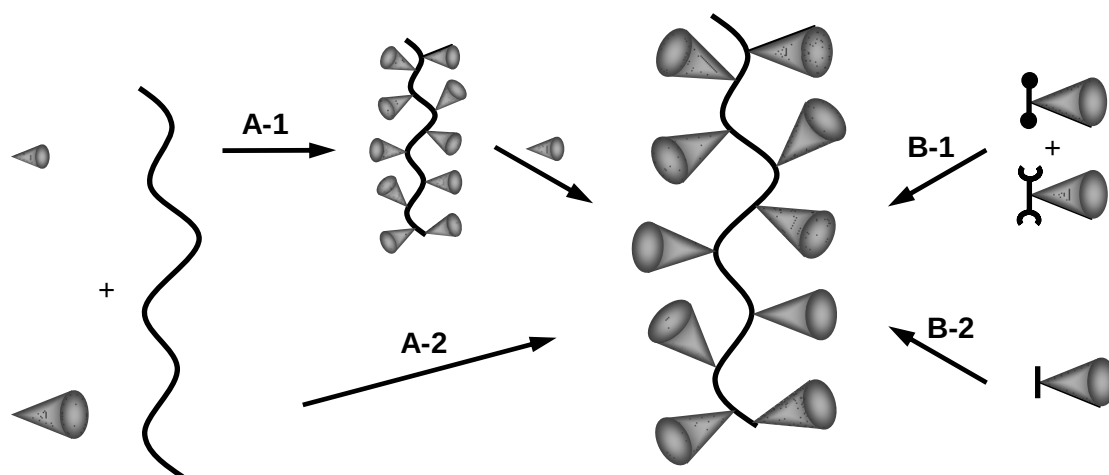


Abb. 5–1 Mögliche Konformationsänderungen in Abhängigkeit der Dendrongröße.

Für die Herstellung von dendronisierten Polymeren stehen zwei grundlegende Synthesestrategien zur Verfügung (Schema 5–1): In der Anknüpfungsmethode (engl. attach-to-route) (**A**) erfolgt das Anheften des Dendrons in einer polymeranalogen Umsetzung über den divergenten (**A-1**) oder konvergenten (**A-2**) Weg an die Ankergruppen des Polymers [10, 11].

Bei dieser lateralen Anknüpfung der Dendronen werden zumeist Substitutionsgrade kleiner eins erreicht, da bei großen Dendronen eine Abschirmung der Ankergruppe auftreten kann. Alternativ wird ein Makromonomer aufgebaut, das schrittweise (**B-1**) oder über Kettenwachstum (**B-2**) in ein Polymer überführt wird [12, 13]. Hierbei werden jedoch auf Grund des sterischen Anspruchs der Monomere nur geringere Molekulargewichte/ Polymerisationsgrade erreicht [14].



Schema 5–1 Synthesestrategien zur Herstellung von dendronisierten Polymeren.

Dendronisierte Polymere auf der Basis eines Polystyrolrückgrates sind unabhängig von der Dendronart über Weg **A** hergestellt worden [15-19]. Systematische Untersuchungen der Generationsabhängigkeit mit Fréchet-Dendronen [15] und des Einflusses der Kettenlänge des Polymerkerns mit Verzweigungseinheiten von Bis-(hydroxymethyl-)propansäure [10] tragen zu einem grundlegenden Verständnis der Problematik in der Synthese von dendronisierten Polymeren bei. Ein anderes Beispiel für dendronisierte Polystyrole trägt aus dem amingeschützten AB₂-Baustein 3,5-Dipropylaminobenzoessäure aufgebaute Dendrone. Nach Abspaltung der Aminschutzgruppen liegt ein hochgeladenes Stäbchen vor [18, 19], welches an Desoxyribonukleinsäuren (DNS) komplexiert [20] und sich für Raster-Kraft-Mikroskopie (engl. scanning force microscopy SFM) an Oberflächen eignet [21]. Diese Synthesestrategie ist ebenfalls zur Gewinnung von Polysiloxanen mit verschiedenen Allyl-terminierten Dendroneinheiten weit verbreitet [22-25].

Im Gegensatz dazu werden konjugierte Polymere über die Makromonomer-Route (**B-1**) gewonnen. Weit verbreitet sind in diesem Fall dendronisierte Polymere mit Fréchet-Dendronen, welche beispielsweise an Hauptketten aus Polyfluoren [26-29], Polythiophen [30], Dinaphthyl-Einheiten [31], Poly(*p*-phenylen) [32-36], Poly(*p*-phenylen-vinyl) [37, 38] oder Poly(*p*-phenylen-ethinyl) [39] angebracht sind. Besonderes Interesse rufen die

Polyfluorene hervor, da sie als licht-emittierende Diode Verwendung finden [26, 27]. Auch der Einsatz von Polyphenylendendronen führt hierbei zu Erfolg versprechenden Ergebnissen [28, 29]. Polyamidoamin-Dendrimere (PAMAM-) [40] sind für ihre Bioverträglichkeit bekannt, so dass die Existenz von dendronisierten Polymeren mit PAMAM- und Sebacinsäure-derivatisierten PAMAM-Dendronen nicht erstaunlich ist. Als Hauptkette dient in der Biomedizin eingesetztes Polyurethan [41].

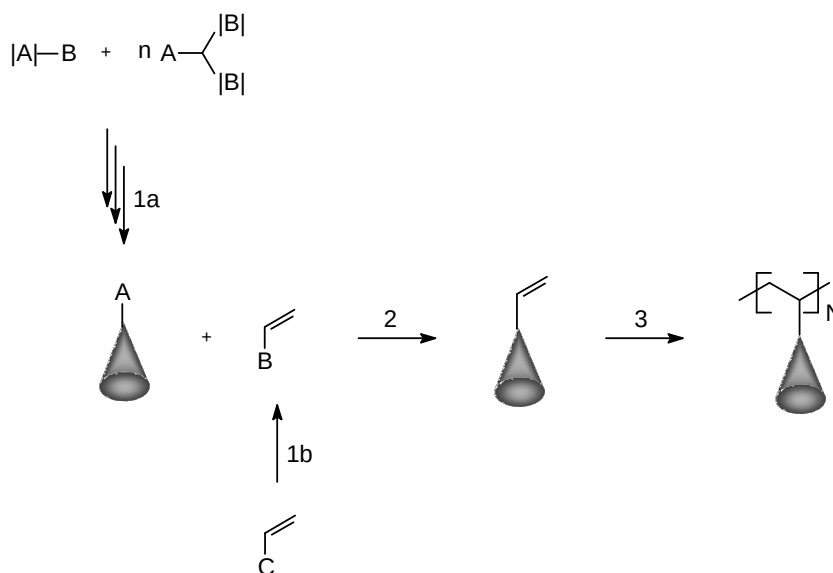
Dendronisierte Polymere mit einem Rückgrat aus Acrylsäure oder Methacrylsäure werden hauptsächlich nach der Makromonomer-Route **B-2** hergestellt [3, 42-51]. Als dendritische Seitengruppen dienen sowohl Pyridin-haltige Dendrone [50] ^{als} auch Dendrone aus 3,5-Dipropylaminobenzoesäure [3, 51] oder 2,2-Bis-(hydroxymethyl)-propionsäure [47].

Im Gegensatz dazu sind dendronisierten Polymeren mit aus Aminosäuren aufgebauten Dendronen bisher nicht viel Aufmerksamkeit zuteil geworden. Erste Arbeiten gehen von Asparaginsäure als Dendrimerbaustein und Methacrylsäure als Rückgrat aus [48, 49]. In letzter Zeit sind sowohl Dendrone aus geschützter Asparaginsäure als auch geschützter Glutaminsäure an Acrylsäure angeheftet und nach der Polymerisation in wasserlösliche Polymere überführt worden, denn die resultierenden Polyelektrolyteigenschaften sind von besonderem Interesse [42, 43, 45, 46, 52].

In diesem Kapitel wird die Synthese einer neuen Klasse von dendronisierten Polymeren vorgestellt, die aus einem Polystyrolrückgrat und einer dendritischen Einheit unsymmetrisch verzweigtem *L*-Lysin aufgebaut sind. Verzweigte Poly(*L*-lysine) der zweiten und dritten Generation werden als Kern-Matrix in Multiple-Antigen-Peptiden (MAP) eingesetzt, an die über einen Linker die Peptid-Antigene gebunden sind [53-56]. Die dendritische Anordnung dieses Poly(*L*-lysine)-Kerns ist für den hohen immunologisch aktiven Massenanteil des Makromoleküls verantwortlich. Die hier vorgestellten dendronisierten Polymere könnten eine neue Generation von Trägermaterialien sein, welche durch die Verwendung unterschiedlicher Monomere die Kombination verschiedener Peptid-Antigene in einem Makromolekül ermöglicht. Aus der Sicht der Grundlagenforschung sind solche Makromoleküle von Interesse, da das System die ersten dendronisierten Polymere aus Aminosäuren mit kationischen Oberflächenfunktionalitäten darstellt.

5.2 Synthese der L-Lysin-dendronisierten Makromonomere

Unter Berücksichtigung der oben aufgeführten Grenzen in den einzelnen Syntheseverfahren von dendronisierten Polymeren wird die Makromonomerroute (**B-2**) angewendet, die sich demzufolge in drei Schritte unterteilt (Schema 5–2): Zunächst werden die beiden Bausteine Dendron (**1a**) und polymerisierbares Monomer (**1b**) hergestellt, welche nachfolgend durch Bildung einer Peptidbindung in das Makromonomer überführt werden (2). Abschließend wird aus diesem Monomer durch radikalische Polymerisation das gewünschte Polymer (3) erhalten.



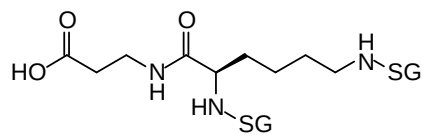
Schema 5–2 Schematische Darstellung der Synthese dendronisierter Polymere. Die Buchstaben stehen für die freien (X) und geschützten (|X|) Funktionalitäten.

5.2.1 Synthese der N^α, N^ϵ -geschützten L-Lysin-Dendrimere

Im ersten Schritt werden über den divergenten Syntheseweg drei Generationen unsymmetrischer L-Lysin-Dendrimere aufgebaut, deren N^α - und N^ϵ -Gruppen blockiert sind (Abb. 5–2). Die Wahl der Schutzgruppen ist darauf ausgelegt, Polymerisationen der geschützten Komponente in einem organischen Medium und mit freien Amingruppen auf der Oberfläche in wässriger Lösung zu ermöglichen. Ausgewählt werden drei Schutzgruppen, die sich in Größe, Polarität und Abspaltungsbedingungen unterscheiden. Die schlechte Löslichkeit von 9-Fluorenylmethoxycarbonyl- (Fmoc-) geschützten Aminosäuren ist während

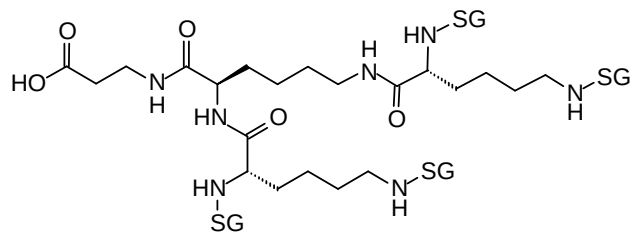
der Synthese vorteilhaft, da die Aufreinigung nach jedem Reaktionsschritt erleichtert wird, unterbindet aber die Polymerisation in organischen Lösungsmitteln. Die Abspaltung der Fmoc-Gruppe durch Zugabe einer Base ermöglicht hingegen die Polymerisation der freien Amine in wässriger Lösung [57]. Um Polymerisationen an geschützten Monomeren durchzuführen, wird auf die ebenfalls unpolare Benzyloxycarbonyl-(Z-)Schutzgruppe zurückgegriffen, wodurch eine bessere Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln erhalten wird. Die Abspaltung der Schutzgruppe findet unter stark sauren Bedingungen (HBr/ AcOH) statt, so dass das HBr-Salz entsteht [58]. Als Drittes wird die polare Trifluoracetamid-Schutzgruppe (TFAA-) mit geringem Raumbedarf verwendet, die auf Grund der starken Akzeptorwirkung der Trifluormethylgruppe bereits unter milden Bedingungen hydrolysiert wird (z. B. Kaliumcarbonat in Methanol/ Wasser-Gemischen) [59].

Ein umfassender Überblick über den Einfluss der Dendrongröße auf die Polymerisationseigenschaften wird anhand der verschiedenen Generationen gewonnen. Um auch einen Eindruck davon zu gewinnen welche Bedeutung der Distanzhalter β -Alanin ausübt, wird die Z-geschützte zweite Generation auch ohne diese Einheit **5-5** hergestellt.



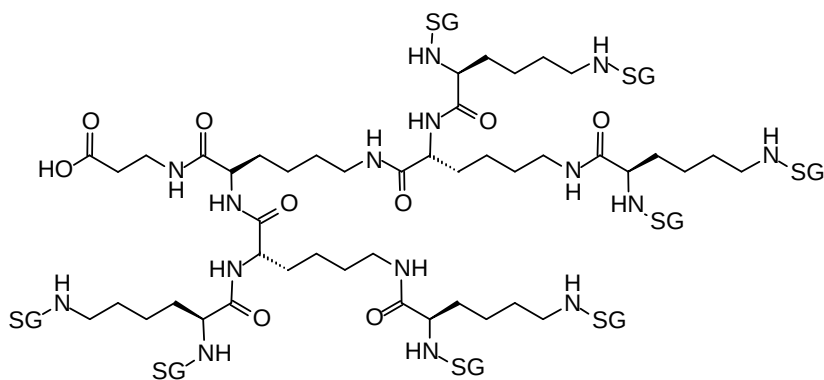
5-2

G0 (SG) = β -Ala—Lys_{SG}



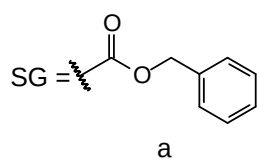
5-3

G1 (SG) = β -Ala—Lys $\begin{matrix} \text{Lys}_{\text{SG}} \\ \text{Lys}_{\text{SG}} \end{matrix}$

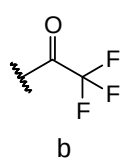


5-4

G₂(SG) = β -Ala—Lys $\begin{matrix} \text{Lys}_{\text{SG}} \\ \text{Lys}_{\text{SG}} \\ \text{Lys}_{\text{SG}} \\ \text{Lys}_{\text{SG}} \end{matrix}$



oder



oder

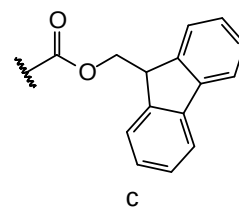
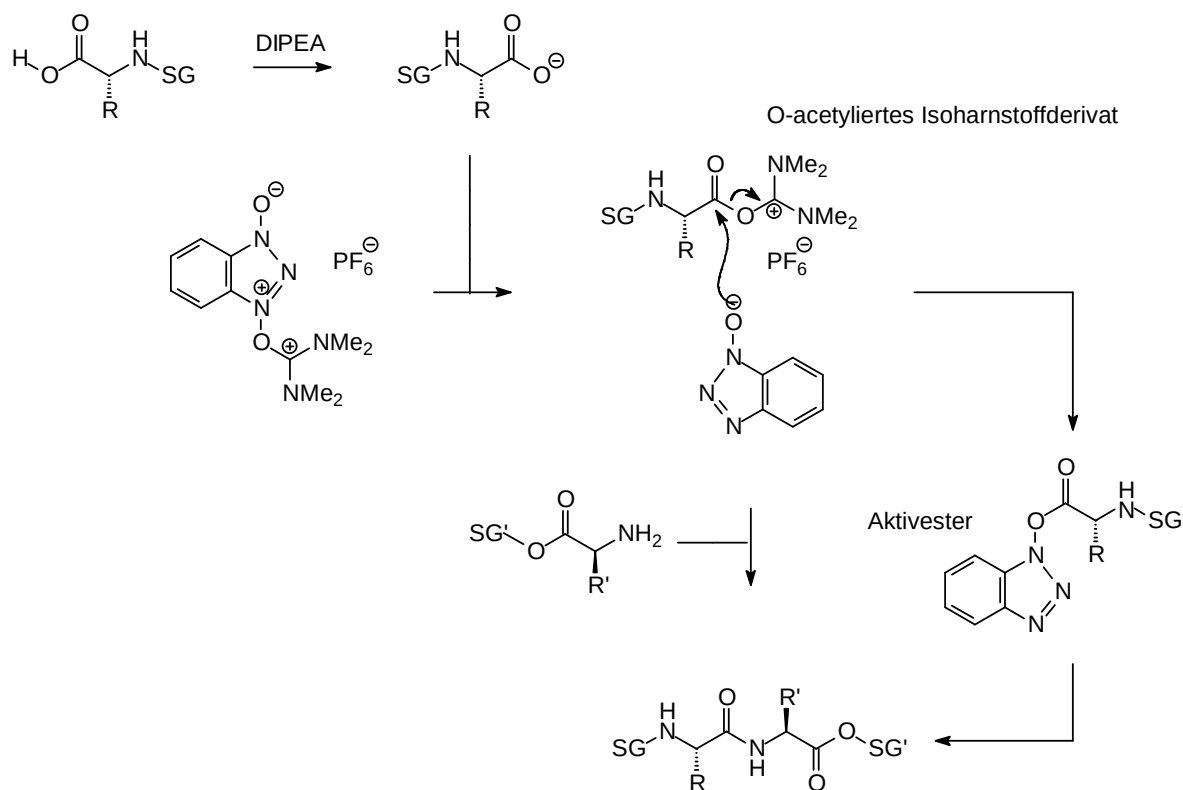


Abb. 5–2 Übersicht über die hergestellten Dendrimere.

Peptidkupplung

Grundlage der Synthese der Makromonomere ist die Ausbildung einer Peptidbindung, für die sich der Mechanismus über einen aktiven Ester [60, 61] als geeignet erwiesen hat. Daher wird der Mechanismus an dieser Stelle kurz beschrieben (Schema 5–3).

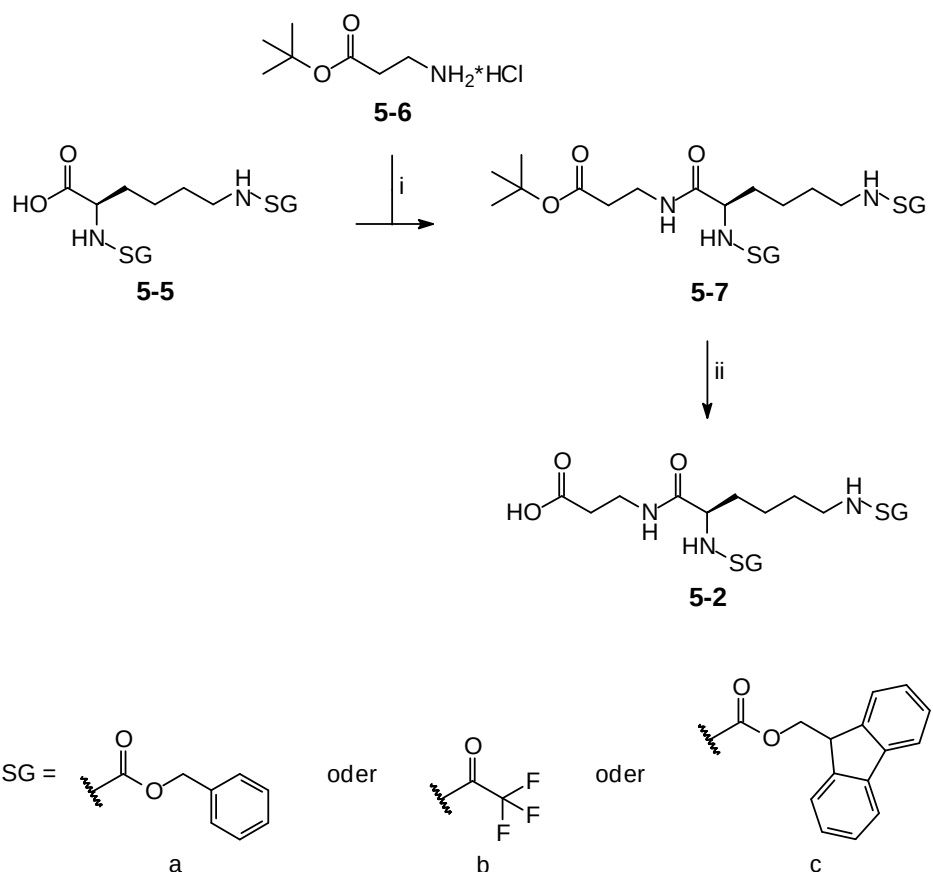


Schema 5–3 Mechanismus der Peptid-Kupplung über einen aktiven Ester.

Die Bildung der aktiven Spezies verläuft basenkatalysiert mit Di-iso-propylethylamin (DIPEA). Das entstandene Carboxylat der Aminosäure reagiert zunächst mit O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluoro-phosphat (HBTU) zu einem O-acetylierten Isoharnstoffderivat und einem N-Hydroxy-benzotriazol-Anion (HOBt). Das Zwischenprodukt kann entweder gleich mit der Aminkomponente der nächsten Aminosäure oder mit dem freigesetzten HOBt zu einem aktiven Ester reagieren. Die Verwendung eines Überschusses an HOBt lässt die Reaktion hauptsächlich über den aktiven Ester ablaufen, so dass die Tendenz zur Racemisierung unterdrückt wird [62].

Herstellung der N^α, N^ϵ -geschützten nullten Generation

In diesem Abschnitt wird die Synthese der nullten Generation **5-2** in homogener Lösung beschrieben, da die Aktivierungsreagenzien (HOBt, HBTU, DIPEA) und das Kupplungsredukt **5-6** im Gegensatz zum Produkt **5-8** in Wasser löslich sind. Dazu wird die gewünschte Säurekomponente (N^α, N^ϵ -zweifach geschütztes L-Lysin; SG = Z, TFAA, Fmoc) **5-6** zusammen mit HBTU und HOBt in *N,N*-Dimethyldormamid gelöst und mit DIPEA versetzt. Die entstehende gelbe Lösung enthält die aktive Spezies, aus der durch Zusatz von β -Alanin-*tert.* Butylester Hydrochlorid **5-7** über Nacht das Produkt **5-7** entsteht. Die O-geschützte nullte Generation wird durch Ausfällen aus Wasser in sehr guten Ausbeuten (98 %) als weißer Feststoff erhalten wird. Im Gegensatz zu N^α, N^ϵ -Di-Z-L-Lysin **5-5a** und N^α, N^ϵ -Di-Fmoc-L-Lysin **5-6c** ist N^α, N^ϵ -Di-trifluoracetyl-L-lysin **5-6b** nicht käuflich, sondern muss zunächst synthetisiert werden [63].

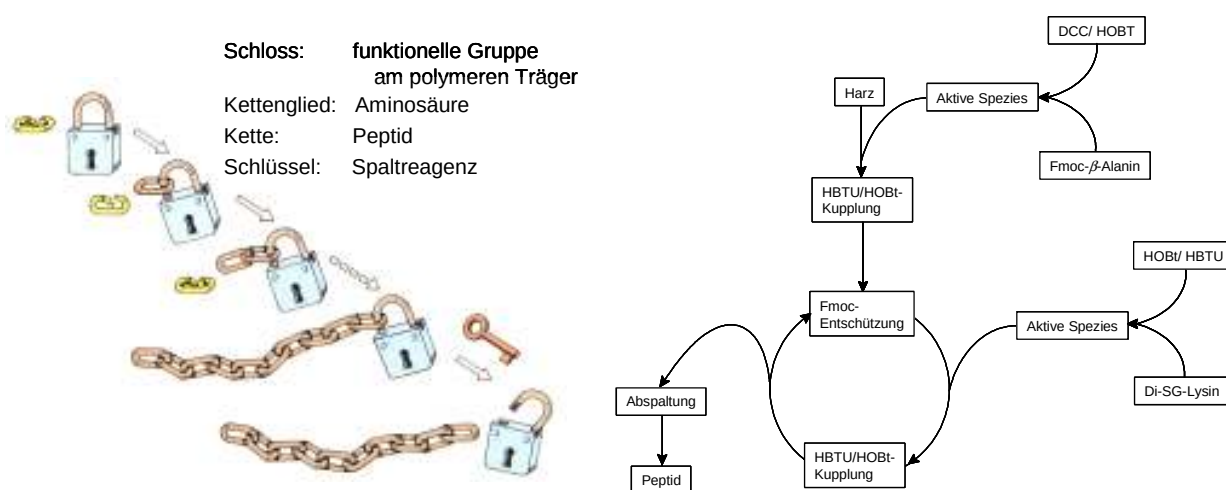


Schema 5–4 Synthese der nullten Generation **5-2**: i) 2 eq HOBt, HBTU, 3 eq DIPEA, abs. DMF, 16 Std., RT, ~98 %; ii) DCM/ TFA (50:50), 2 Std., RT, 99 %.

Im folgenden Schritt wird die *tert.* Butylschutzgruppe durch zweistündiges Behandeln mit einer Mischung aus gleichen Volumenanteilen Dichlormethan und Trifluoressigsäure (TFA) abgespalten. Überschüssige TFA wird nach Trocknung der Rohprodukte **5-2a** und **5-2c** durch Zugabe von Wasser und gründlichem Waschen mit Wasser entfernt. Im Fall des TFAA-geschützten Dendrimers **5-2b** wird aus kaltem Ether ausgefällt, da in Wasser eine bedingte Löslichkeit vorliegt.

Synthese der N^α, N^ϵ -geschützten Peptid-Dendrimere der ersten und zweiten Generationen

Die höheren Generationen werden im Gegensatz zur nullten Generation über Festphasensynthese hergestellt, um aufwendige Reinigungsprozesse der Zwischenstufen zu vermeiden. Der Grundgedanke dieser Festphasensynthese wird mit Hilfe von Schema 5–5 (links) [64] verdeutlicht: Das Peptid bleibt während der gesamten Synthese am polymeren Träger (Harz) gebunden, so dass die verwendeten Reagenzien durch intensives Waschen entfernt werden. Auf der rechten Seite ist der angewendete Syntheseyklus nach der Fmoc-Strategie aufgezeigt [65–67]. Für den Aufbau von Dendrimern ist die Beladung des Harzes wegen der exponentiellen Entwicklung (2^n) der Kupplungsstellen von besonderer Bedeutung. Daher sind die Harze so ausgewählt, dass zum einen eine Abspaltung vom Harz unter dem Verbleib der Fmoc-Schutzgruppe möglich ist und zum anderen vor der letzten Kupplung eine Beladung von 1,1 mmol/ g nicht überschritten wird.



Schema 5–5 **links:** Darstellung des Festphasenprinzips [64]; **rechts:** Reaktionszyklus nach der Fmoc-Strategie.

Aus ökonomischen Gründen erfolgen die Kupplungen der ersten beiden linearen Aminosäuren sowie die nachfolgende Abspaltung der Fmoc-Gruppe am Peptid-Synthesizer. Anschließend wird das Harz gründlich mit Dichlormethan gewaschen um sicherzustellen, dass das gesamte Piperidin entfernt wird. Erst dann werden die nächsten Generationen nach bewährter Methode aufgebaut, wie in dem Unterkapitel Peptidkupplung (siehe S. 133) beschrieben.

Im letzten Schritt wird die gewünschte Sequenz durch dreimaliges halbstündiges Behandeln mit einer Lösung aus TFA in DCM (3 Vol.-%) vom Harz abgespalten. Die vereinten Lösungen werden im Vakuum getrocknet und je nach Schutzgruppe erfolgt die Entfernung der Trifluoressigsäure entweder durch Ausfällen aus Wasser (Fmoc- und Z-Schutzgruppe) oder aus *n*-Hexan (TFAA-Gruppe).

Die hergestellten Dendrimere werden mittels ^1H -NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie charakterisiert. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf der quantitativen Kupplung der Verzweigungseinheit L-Lysin. Zunächst wird mit Hilfe von Abb. 5–3 exemplarisch auf das Protonenspektrum von **5-3a** näher eingegangen. Die Verschiebung der äußeren αCH 's (3) unterscheidet sich von der des inneren αCH (2), so dass das Verhältnis von zwei zu eins als Nachweis für den Erhalt der ersten Generation **5-3** gewertet wird. Des Weiteren erlauben die Methylengruppen der Z-Schutzgruppen (5), der Lysin-Seitenkett (4) und des β -Alanins (1) den Erfolg der Synthese zu überprüfen.

Zusätzlich zu den ^1H -NMR-Spektren weisen die Massenspektren der Z-geschützten ersten **5-3a** und zweiten Generation **5-4a** (Abb. 5–4) ausschließlich Signale der Dendrimere (**5-3a**: 1010 m/z; **5-4a**: 2060 m/z) mit Natrium oder Kalium auf. Nebenprodukte unvollständig angekuppelter Verzweigungseinheiten treten hingegen nicht in Erscheinung.

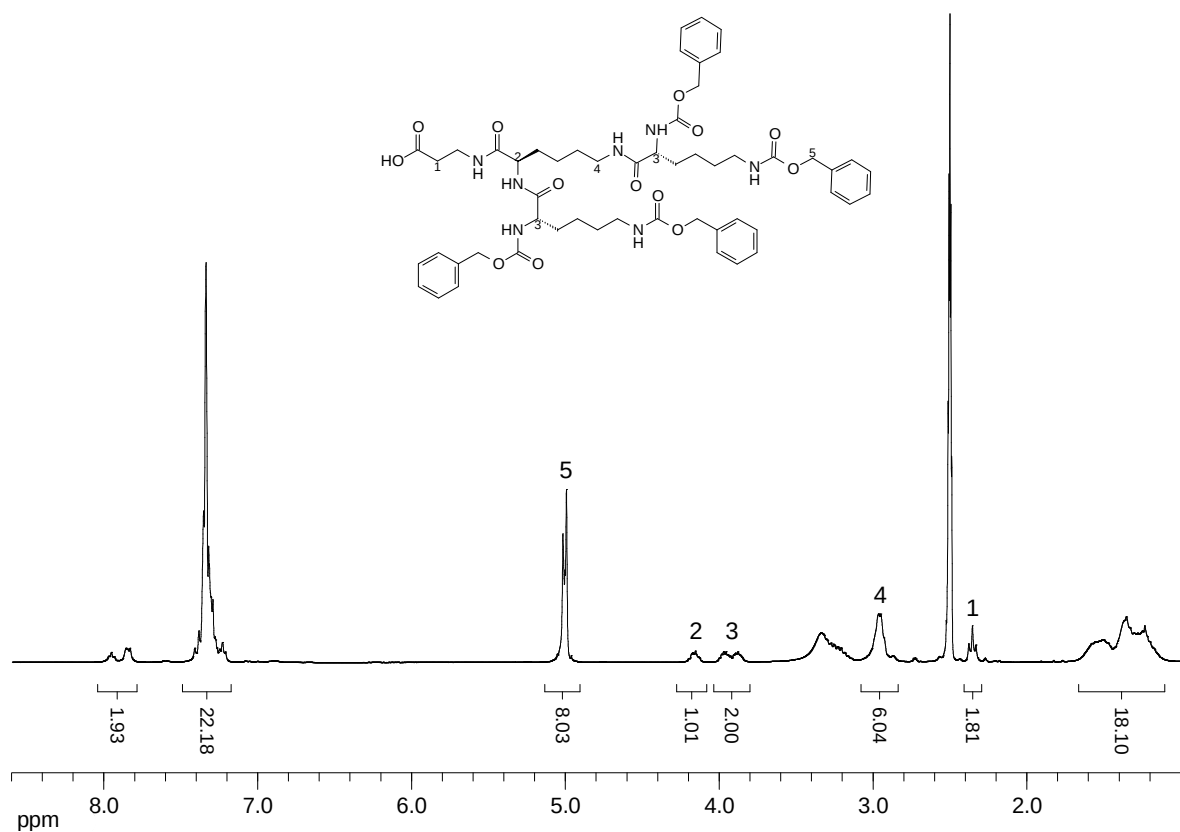


Abb. 5–3 Protonen-NMR-Spektrum (DMSO, 300MHz, 298 K) von **5-3a**.

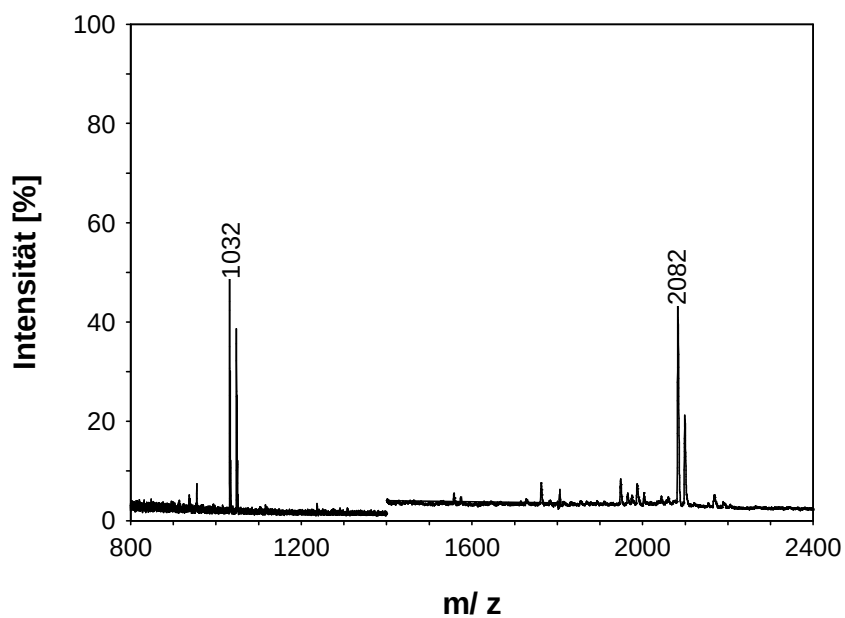
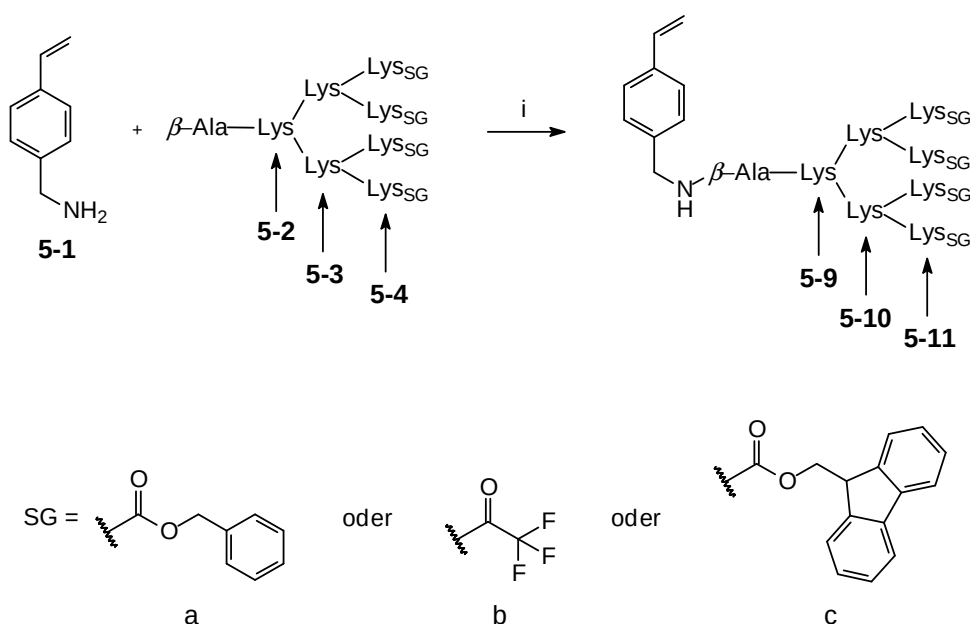


Abb. 5–4 MALDI-TOF-Massenspektren von **5-3a** (links) und **5-4a** (rechts).

5.2.2 Synthese der dendritischen Makromonomere

Den Abschluss der Makromonomersynthese bildet die Verknüpfung der Dendrimere mit dem polymerisierbaren Baustein Vinylbenzylamin **5-1**, welches zuvor ausgehend von Chlormethylstyrol nach Literaturvorschrift in einer Gabriel-Synthese hergestellt wird [68].

Der Mechanismus der Kupplung verläuft analog der Dendrimersynthese über die Bildung des aktiven Esters (siehe Seite 133) [60, 61]. Die Produkte werden durch Ausfällen aus bidest. Wasser und anschließendem ausgiebigem Waschen als beigefarbener Feststoff in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten.



Schema 5–6 Synthese der Monomere: i) NMP, HBTU, HOBt, DIPEA, ~97 %.

Dendronisierte Polymere mit einem Substitutionsgrad von Eins werden über diesen Reaktionsweg nur dann gewährleistet, wenn sowohl ein quantitativer Verlauf der Kupplung als auch eine vollständige Entfernung des überschüssigen Vinylbenzylamins **5-1** stattfindet. Das erfolgreiche Herausspülen des Vinylbenzylamins **5-1** wird mit Hilfe von ^1H -NMR-Spektroskopie überprüft. Anhand von Abb. 5–5, welches das Protonenspektrum der Z-geschützten ersten Generation **5-10a** zeigt, werden die charakteristischen Signale erläutert. Ein Vergleich der Vinylprotonen (6, 7 und 8) mit den äußeren αCH 's (3), der Methylengruppe des β -Alanins (1), der Z-Schutzgruppe (5) und der Lysinseitenkette (4) erlaubt einen Nachweis des gewünschten Produktes. Freies Vinylbenzylamin **5-1** wird über die Methylengruppe (9), sowie die Vinylprotonen (6 und 7) erkannt, da diese Signale im Vergleich zu den Gekuppelten tieffeldverschoben sind (Inset in Abb. 5–5).

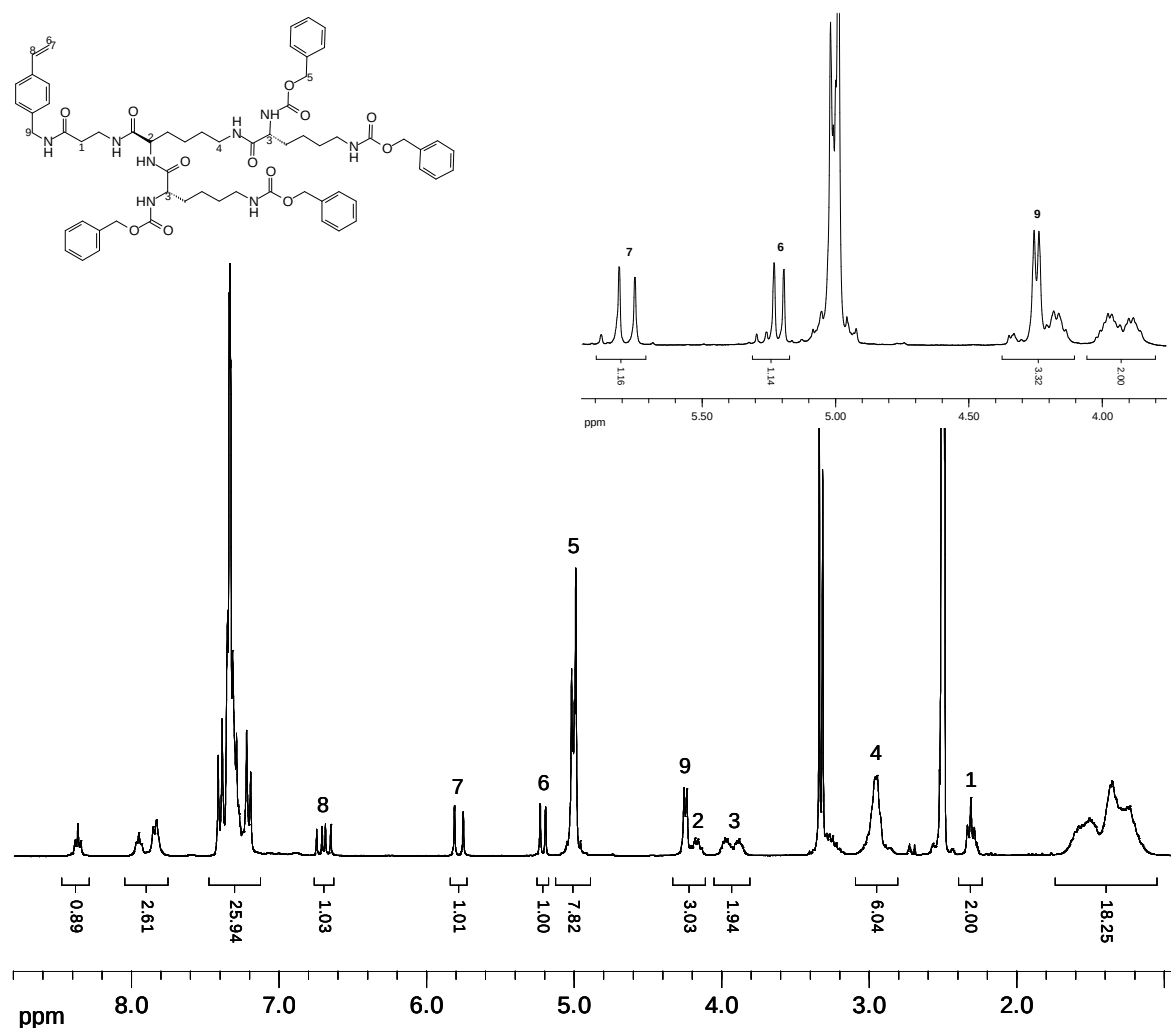


Abb. 5–5 ¹H-NMR-Spektrum (300 MHz, DMSO, 298 K) des Z-geschützten Makromonomers der ersten Generation **5-10a**. Das Inset zeigt den Ausschnitt einer Probe, in der neben dem Monomer **5-10a** noch Vinylbenzylamin **5-1** enthalten ist.

In Abb. 5–6 sind die Massenspektren der Z-geschützten Makromonomere der ersten **5-10a** und zweiten Generation **5-11a** abgebildet, wobei an den Stellen der Dendrone **5-3a** (1010 m/z) und **5-1a** (2059 m/z) keine Signale sichtbar sind. Die beiden Signale bei 1148 m/z und 2199 m/z entsprechen den gewünschten Natriumsalzen der Produkte. Eine Aussage über die vollständige Entfernung von Vinylbenzylamin **5-1** erlaubt diese Methode allerdings nicht. Dazu ist die Aufnahme eines Protonenspektrums erforderlich.

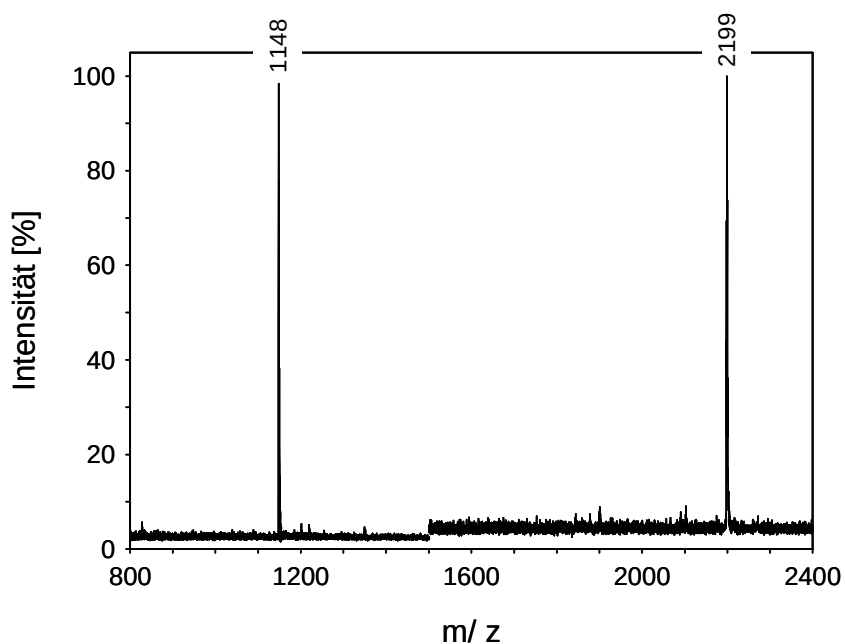


Abb. 5–6 MALDI-TOF Spektren der Z-geschützten Makromonomere der ersten **5-10a** (links) und zweiten Generation **5-11a** (rechts).

Während der Kupplung der Dendrimere **5-2c** bis **5-4c** an das Vinylbenzylamin **5-1** kommt es wegen der Basenlabilität der 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-Gruppe (Fmoc-) zu einer partiellen Abspaltung der Schutzgruppe. Diese parallel ablaufende Entschützung macht sich im Protonenspektrum durch das Auftreten eines zusätzlichen Singulettts bei etwa 6,2 ppm bemerkbar (Abb. 5–7), welches der Fluorenylmethylengruppe zugeordnet werden kann.

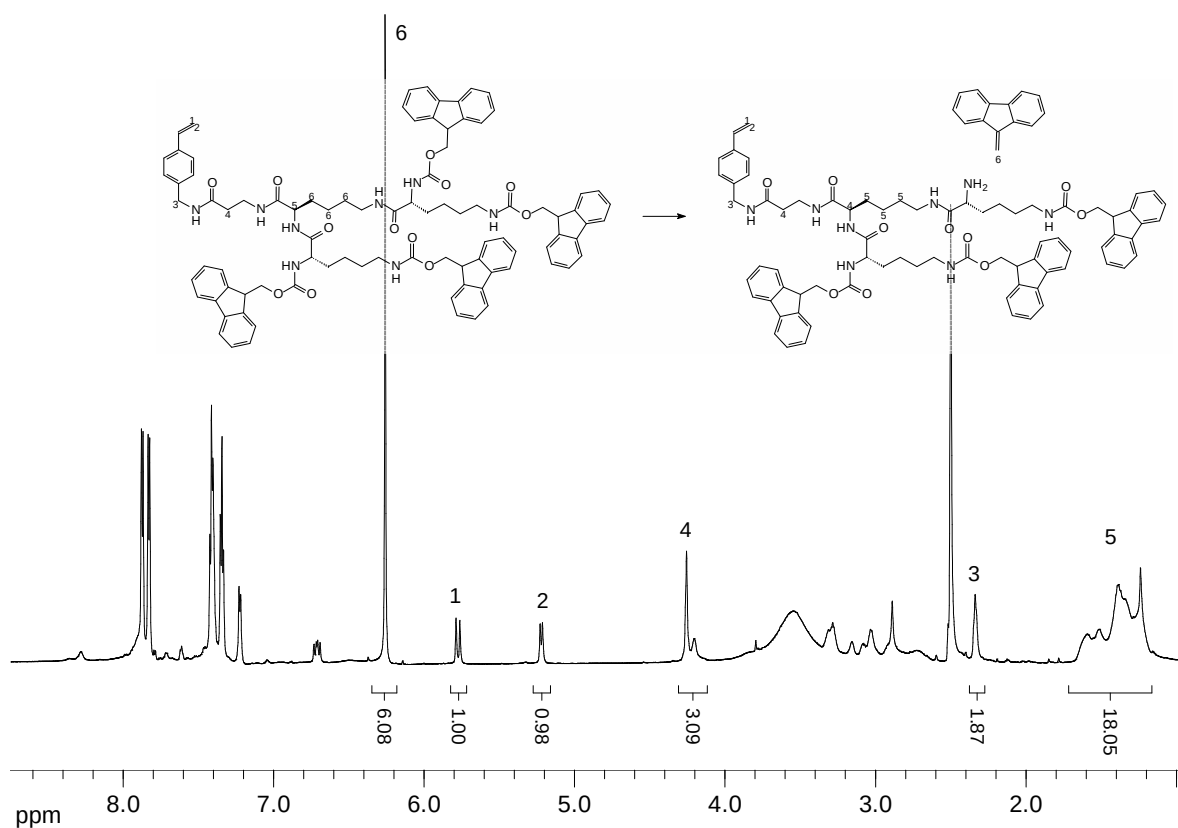


Abb. 5–7 ^1H -NMR-Spektrum (700 MHz, DMSO, 298 K) von **5-10c**, in dem ein Teil der Fmoc-Schutzgruppen abgespalten ist.

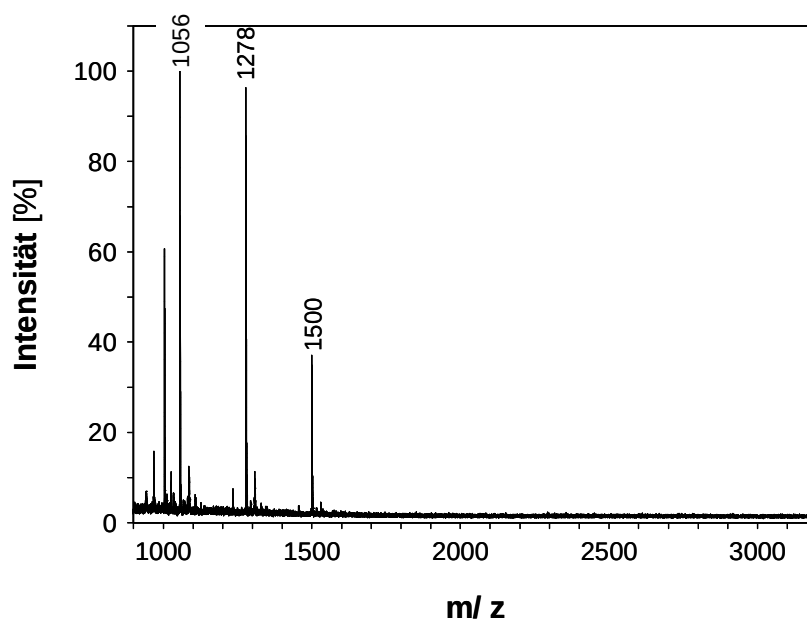
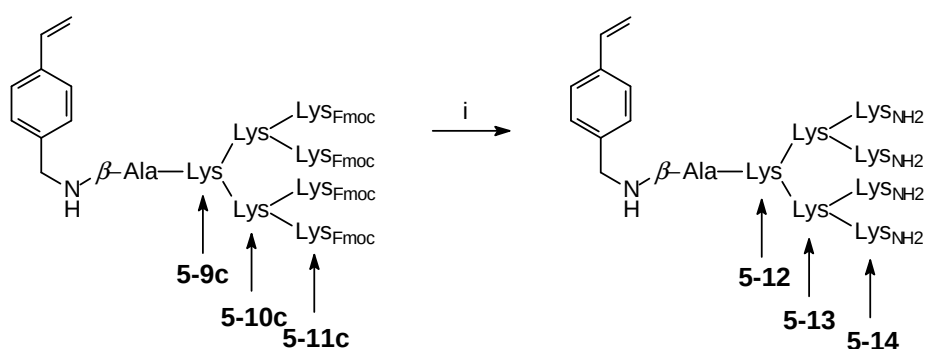


Abb. 5–8 **5-10c**-Massenspektrum mit teilweise abgespaltenen Fmoc-Schutzgruppen.

Auch auf das Massenspektrum hat die einsetzende Entschützung Auswirkungen, denn neben dem Produktpeak als Natriumsalz (1500 m/z) werden weitere Signale im Abstand von m/z = 223 (siehe Abb. 5–8) sichtbar.

Auf Grund dieser Problematik werden die Fmoc-geschützten Makromonomere nicht isoliert, sondern sofort einer vollständigen Entschützung durch Behandlung mit einer 10 %-igen Piperidinlösung unterzogen (Schema 5–7). Die Produkte werden durch Ausfällen aus Diethylether und abschließender Trocknung im Hochvakuum erhalten. Die so erhaltenen Makromonomere neigen mit zunehmender Zahl freier Amingruppen auf der Oberfläche zur Gelbildung, so dass sich die Aufnahme eines Protonenspektrums schwierig gestaltet. In wässriger Lösung sind die Styroleinheiten von polaren Dendronen umgeben, wodurch die Vinylprotonen im Spektrum nicht sichtbar sind. In organischen Lösungsmitteln (DMF, DMSO) hingegen ist ein Vergleich der charakteristischen Signale nicht möglich, da die Ammoniumgruppen die α CH's und die Methylengruppe des Vinylbenzylamins **5-1** überdecken.



Schema 5–7 Fmoc-Entschützung: i) Piperidin, DMF, 30 min, RT.

In Abb. 5–9 sind die Massenspektren der Makromonomere mit freien Amingruppen auf der Oberfläche abgebildet. Das Spektrum der ersten Generation **5-13** weist zwei Signale auf, die dem reinen Produkt und dem Natriumsalz des Produktes zugeordnet werden können (Abb. 5–9 links, **5-13** m/z = 589 und mit Natrium m/z = 611). Im Gegensatz dazu ist die Interpretation des Massenspektrums der zweiten Generation **5-14** etwas komplizierter. Im Spektrum zeigt sich ein Hauptsignal bei m/z = 1102, welches somit um 15 Einheiten zu hoch liegt. Das Nebensignal bei 1015 m/z entspricht dem Produktpeak (1086 m/z) weniger einer Lysinseitenkette. Da das Spektrum kein Signal aufweist, das auf eine unvollständige Kupplung des Vinylbenzylamins **5-1** an das Dendrimer hindeutet (kein Peak bei 1101 oder 1086 m/z weniger 132 m/z), wird das Makromonomer dennoch zur Polymerisation verwendet.

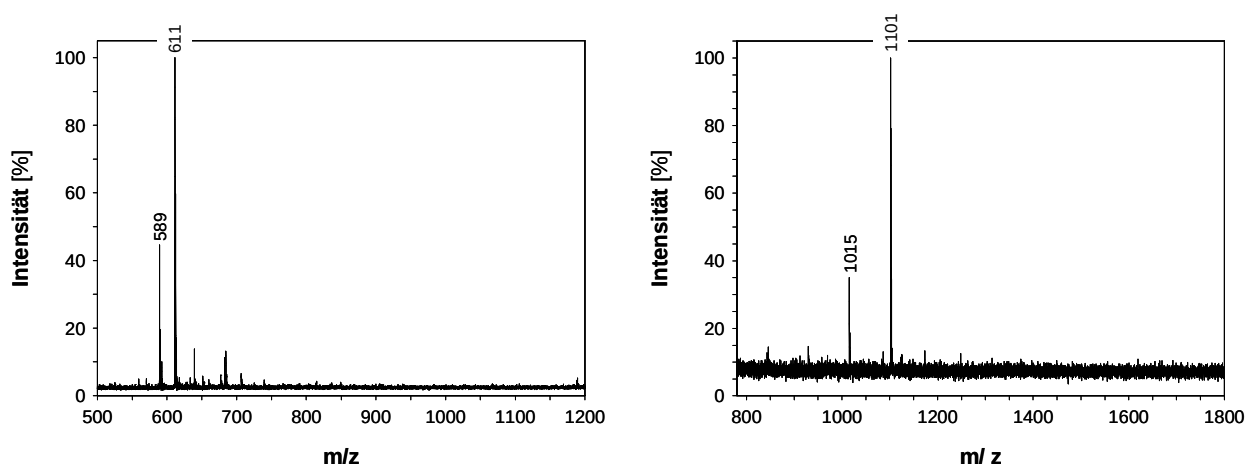


Abb. 5–9 Massenspektren von **5-13** (links) und **5-14** (rechts).

5.3 Polymerisation der Makromonomere

Welchen Einfluss haben die Dendrongröße oder die Konzentration auf das Polymerisationsverhalten? Um diese Frage zu beantworten, werden Polymerisationen der verschiedenen Generationen bei Konzentrationen im Bereich von 0,1 ... 1 mol/ L durchgeführt. Für die radikalische Polymerisation wird das Makromonomer zusammen mit der gewünschten Menge Initiator und Lösungsmittel vermischt und unter Ausschluss von Sauerstoff für 72 Stunden auf 70 °C erwärmt. Die geschützten Monomeren werden in Dimethylformamid mit Azo-*iso*-butylnitril (AIBN) als Initiator polymerisiert, während die Polymerisation der ungeschützten Monomere mit α, α' -Azo-di-*iso*-butyramidin-dihydrochlorid (V50) als Initiator in Wasser durchgeführt wird.

5.3.1 Umsatz der Polymerisation

Zur Bestimmung des Umsatzes wird von dem ungereinigten Substanzgemisch ein ^1H -NMR-Spektrum aufgenommen. Hierzu werden die Z-geschützten Polymere aus Wasser und die TFAA-geschützten Polymere aus Diethylether ausgefällt, filtriert und im Vakuum getrocknet. Die wässrigen Polymerisationen werden durch Lyophilisieren getrocknet. Ist die Reaktion quantitativ verlaufen, sind keine Vinylprotonen (6, 7 und 8 in Abb. 5–5) mehr vorhanden. Anderenfalls kann aus dem Verhältnis der durch Integration erhaltenen

Signalfächen der Umsatz berechnet werden. Die erhaltenen Umsätze können Tabelle 5-1 bis Tabelle 5-3 entnommen werden.

Zusätzlich zur tabellarischen Übersicht ist in Abb. 5-10 eine graphische Darstellung der Umsätze der Polymerisationen der Z-geschützten Monomere **5-9a**, **5-10a** und **5-11a** gegen die Konzentration aufgetragen. Auf Grund der sinkenden Löslichkeit mit zunehmender Dendrongröße ist ausschließlich die Polymerisation der nullten Generation **5-9a** bei allen Konzentrationen in homogener Lösung möglich. Bei der ersten Generation **5-10a** bleibt bei $c = 0,7$ und 1 mol/L auch in der Wärme ein unlöslicher, breiiger Rückstand zurück (Abb. 5-10, Symbole in Klammern). Daher werden diese Ergebnisse nicht in die folgende Diskussion mit einbezogen. Die zweite Generation **5-11a** bildet selbst bei einer Konzentration von $c = 0,1 \text{ mol/L}$ nur in der Wärme eine homogene Lösung aus, so dass auf die Durchführung bei höheren Konzentrationen verzichtet wurde.

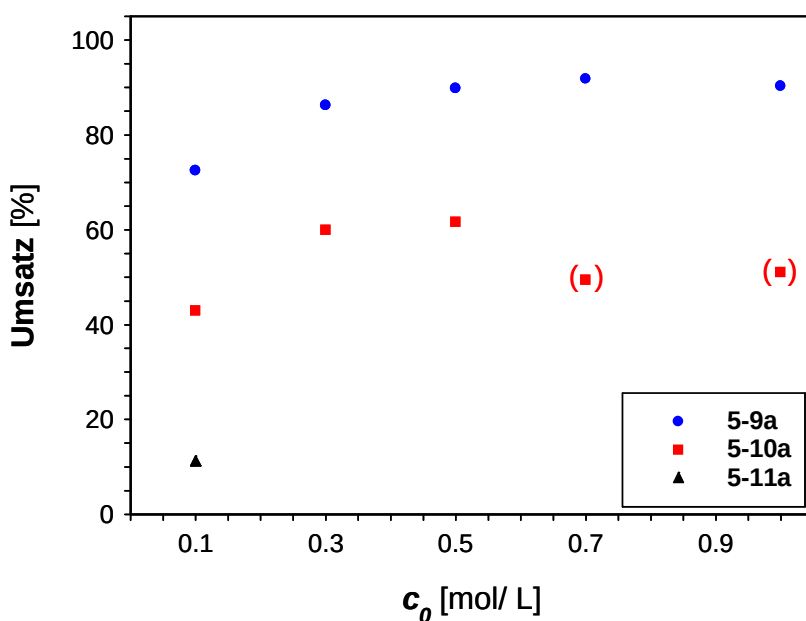


Abb. 5-10 Umsatz-Diagramm der Polymerisationen der Z-geschützten Monomere: **5-9a** (●), **5-10a** (■) und **5-11a** (▲). Die Symbole in Klammern stehen für die Polymerisationen, die nicht in homogener Lösung verlaufen sind.

Aus Abb. 5-10 ist für die Polymerisationen der Z-Reihe eine deutliche Abhängigkeit des Umsatzes von der Dendrongröße sichtbar. Mit zunehmender Größe wird eine starke Abnahme des Umsatzes beobachtet. Für die zweite Generation **5-11a** wird nur noch ein Umsatz von 11 % erreicht, der auch durch Verlängerung der Reaktionszeit von drei auf sieben Tage nicht erhöht werden kann. Im Gegensatz dazu verläuft die Polymerisation der Z-geschützten zweiten Generation ohne β -Alanin Spacer (**5-15**) mit einem Umsatz von 35 %.

In Abb. 5–11 ist das Umsatz-Diagramm der TFAA-geschützten dendronisierten Polymere gegen die Monomerkonzentration bei Polymerisationsbeginn aufgetragen. Innerhalb einer Konzentrationsreihe ist der erzielte Umsatz bei $c = 0,1 \text{ mol/L}$ am geringsten, steigt mit zunehmender Konzentration an und erreicht dann ein nahezu konstantes Niveau. Die TFAA-Makromonomerreihen **5-9b** und **5-10b** weisen ebenfalls eine Abhängigkeit von der Dendrongröße auf (vgl. Tabelle 5-1 bis Tabelle 5–3). Bei geringer Konzentration ist die Differenz zwischen den Umsätzen der Monomeren der nullten und ersten Generation größer als bei den Z-geschützten Makomonomeren, bei hohen Konzentrationen werden hingegen annähernd gleiche Umsätze erreicht.

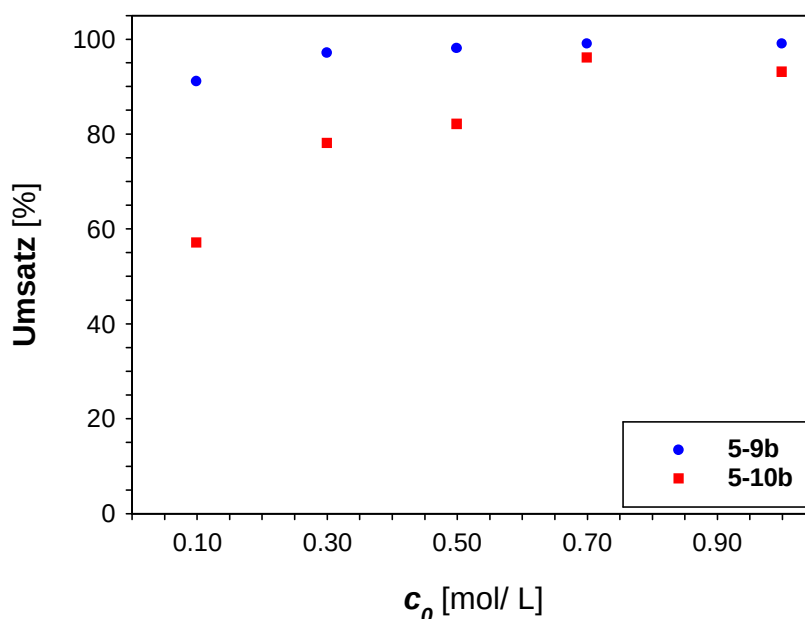


Abb. 5–11 Umsatz-Diagramm der Polymerisationen der TFAA-geschützten Monomere: **5-9b** (●), **5-10b** (■).

Das Verhalten der entschützten Makromonomere zeigt ein vergleichbares Verhalten (Abb. 5–12): Mit jeder nächst höheren Dendrongeneration ist der Umsatz über den betrachteten Konzentrationsbereich geringer, wobei der erreichte Umsatz dem der TFAA-Monomere ähnelt. Der Umsatzverlauf der Monomere der ersten Generation **5-13** unterscheidet sich deutlich von den bisher beobachteten Kurvenverläufen. Das Makromonomer besitzt eine optimale Startkonzentration zwischen $c = 0,3 \dots 0,5 \text{ mol/L}$, eine weitere Konzentrationserhöhung führt zu einem deutlichen Abfall des Umsatzes von 90 % auf ca. 30 %. Diese Abnahme kann darauf zurückgeführt werden, dass auf Grund der geringen Lösungsmittelmenge während der Polymerisation ein unlöslicher Niederschlag entsteht. Im Fall der dendronisierten Polymere mit freien Amingruppen auf der Oberfläche muss sich in Erinnerung gerufen werden, dass die NMR-Spektroskopie auf Grund der Tendenz zur

Gelbildung keine scharfen Signale liefert, so dass die Umsatzbestimmung leicht fehlerbehaftet ist.

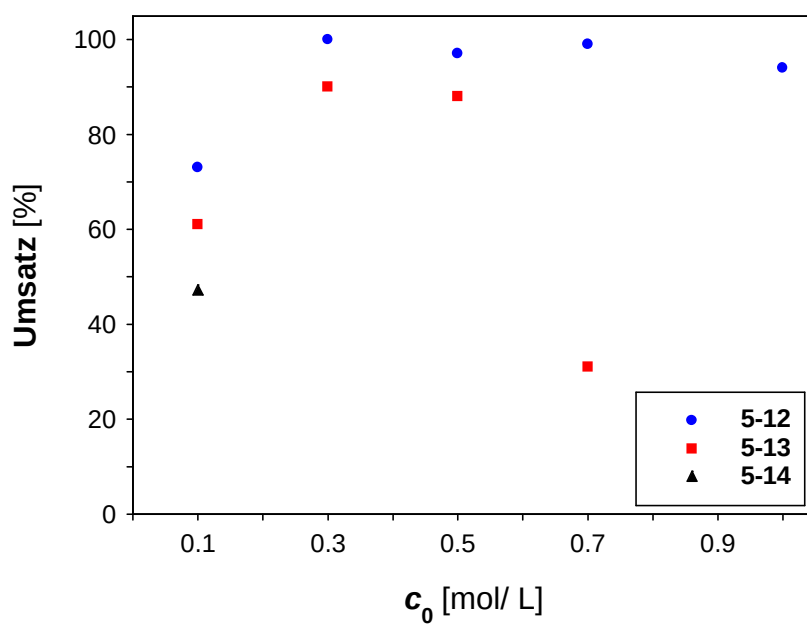


Abb. 5–12 Umsatz-Diagramm der Polymerisationen der ungeschützten Makromonomere: **5-12** (●), **5-13** (■) und **5-14** (▲).

Tabelle 5–1 Zusammenfassung der Analytik der Polymerisationen der Z-geschützten Makromonomere. Angegeben sind die eingesetzten Monomerkonzentrationen c_{Monomer} , der Umsatz, sowie die über GPC ermittelten Molekulargewichte M_n Polymerisationsgrade P_n , Polydispersitäten M_w/M_n , Mark-Houwink-Konstanten K_{MHS} und Koeffizienten a_{MHS} .

Experiment	Probe	c_{monomer} [mol/ L]	c_{monomer} [gew.-%]	Umsatz ^a [%]	$M_n \cdot 10^{-3b}$ [g/ mol]	P_n^b [1]	M_w/M_n^b [1]	$K_{\text{MHS}} \cdot 10^{-3b}$ [1]	a_{MHS}^b [1]
1	5-9a	0,1	6,0	109	65,5	89	2,04	13,19	0,561
2		0,3	16,0	89	53,4	132	2,73	9,53	0,598
3		0,5	24,1	154	92,6	133	2,27	9,71	0,597
4		0,7	30,7	160	96,1	159	2,51	11,23	0,593
5		1	38,7	156	93,8	141	2,41	10,43	0,594
6	5-10a	0,1	10,6	44	60,1	53	1,88	74,32	0,381
7		0,3	26,3	62	61,5	55	2,62	12,53	0,571
8		0,5	37,3	58	104,4	93	3,57	25,42	0,495
9 ^c		0,7	45,4	50	279,1	248	3,55	6,72	0,521
10 ^c		1	54,3	52	151,2	134	3,81	14,69	0,502
11	5-11a	0,1	18,7	11	11,9	5	2,62	9553,2	0,061
12 ^{d,e}		0,1	18,7	10	19,6	9	2,93	900,9	0,171
13 ^d	5-15	0,1	18,2	35	25,3	13	1,53	122,3	0,365

- a) Bestimmung mit $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie.
b) GPC-Messungen in DMF in Anwesenheit von LiBr ($c_s = 1 \text{ g/ L}$) bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$
c) Polymerisationen verliefen nicht in homogener Lösung.
d) Aufreinigung ist bis heute nicht abgeschlossen.
e) Reaktionszeit auf sieben Tage erhöht.

Tabelle 5–2 Zusammenfassung der Analytik der Polymerisationen der TFAA-geschützten Makromonomere. Angegeben sind die eingesetzten Monomerkonzentrationen c_{Monomer} , der Umsatz, sowie die über GPC ermittelten Molekulargewichte M_n , Polymerisationsgrade P_n , Polydispersitäten M_w/M_n , Mark-Houwink-Konstanten K_{MHS} und Koeffizienten a_{MHS} .

Experiment	Probe	c_{monomer} [mol/ L]	c_{monomer} [gew.-%]	Umsatz ^a [%]	$M_n \cdot 10^{-3}$ ^b [g/ mol]	P_n ^b [1]	M_w/M_n ^b [1]	$K_{\text{MHS}} \cdot 10^{-3}$ ^b [1]	a_{MHS} ^b [1]
14	5-9b	0,1	5,2	91	33,3	63	2,25	8,786	0,604
15		0,3	14,2	97	45,4	87	1,86	6,061	0,644
16		0,5	21,7	98	55,9	107	1,77	5,398	0,644
17		0,7	27,9	99	77,9	149	1,61	2,215	0,729
18		1	35,6	99	67,2	128	1,88	0,919	0,784
19	5-10b	0,1	9,3	57	63,3	65	1,71	18,33	0,512
20		0,3	23,6	78	147,4	152	1,80	1,708	0,701
21		0,5	33,9	82	181,6	187	1,75	0,625	0,785
22		0,7	41,8	96	215,8	222	2,54	1,774	0,714
23		1	50,7	93	235,8	242	1,98	1,329	0,738

a) Bestimmung mit ^1H -NMR-Spektroskopie.

b) GPC-Messungen in DMF in Anwesenheit von LiBr ($c_s = 1 \text{ g/ L}$) bei 60 °C.

Tabelle 5–3 Zusammenfassung der Analytik der Polymerisationen der ungeschützten Makromonomere. Angegeben sind die eingesetzten Monomerkonzentrationen c_{Monomer} und der Umsatz.

Experiment	Monomer	c_{monomer} [mol/ L]	c_{monomer} [gew.-%]	Umsatz ^a [%]
24	5-12	0,1	3,2	73
25		0,3	9,1	100
26		0,5	14,3	97
27		0,7	18,9	99
28		1	25,0	94
29	5-13	0,1	5,6	~61
30		0,3	15,0	~90
31		0,5	22,7	~88
32		0,7	29,2	~31
33	5-14	0,1	9,8	~47

a) Bestimmung mit ^1H -NMR-Spektroskopie.

5.3.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Im Anschluss an die Umsatzbestimmung erfolgt die Bestimmung des Molekulargewichtes. Hierzu werden zunächst die geschützten Polymere über Dialyse in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) von niedermolekularen Anteilen befreit und anschließend durch Ausfällen aus Wasser und Trocknen im Hochvakuum als weißer Feststoff erhalten. Von den gereinigten Polymeren werden GPC-Messungen in DMF in Anwesenheit von LiBr ($c_s = 1\text{g/ L}$) bei 60 °C durchgeführt. Die Elutionsvolumina werden durch universelle Kalibrierung mit Polymethylmethacrylat in Molekulargewichte umgerechnet und sind zusammen mit den ermittelten Polydispersitäten in Tabelle 5-1 und Tabelle 5-2 zusammengefasst. Abb. 5–13 zeigt exemplarisch die Chromatogramme der gereinigten Polymere **P5-9a**.

Das Substanzgemisch der Z-geschützten zweiten Generation lässt sich auf diesem Weg leider nicht aufreinigen. Durch den Zusatz von Guanidin-Hydrochlorid zum Dialysesolvent, welches alle elektrostatischen und hydrophoben Wechselwirkungen aufbricht, sollte der Austritt des Monomers erleichtert werden. Aber auch eine zusätzliche Erhöhung der Dialysetemperatur auf 45 °C führte nicht zur gewünschten Beweglichkeit der niedermolekularen Anteile. Daher erfolgt die Abtrennung des Monomers aus **P5-11a** (Experiment 11 in Tabelle 5-1) über präparative GPC. Zum Vergleich sind in Abb. 5–14 die GPC-Elugramme von **P5-11** vor und nach der erfolgreichen Aufreinigung gezeigt.

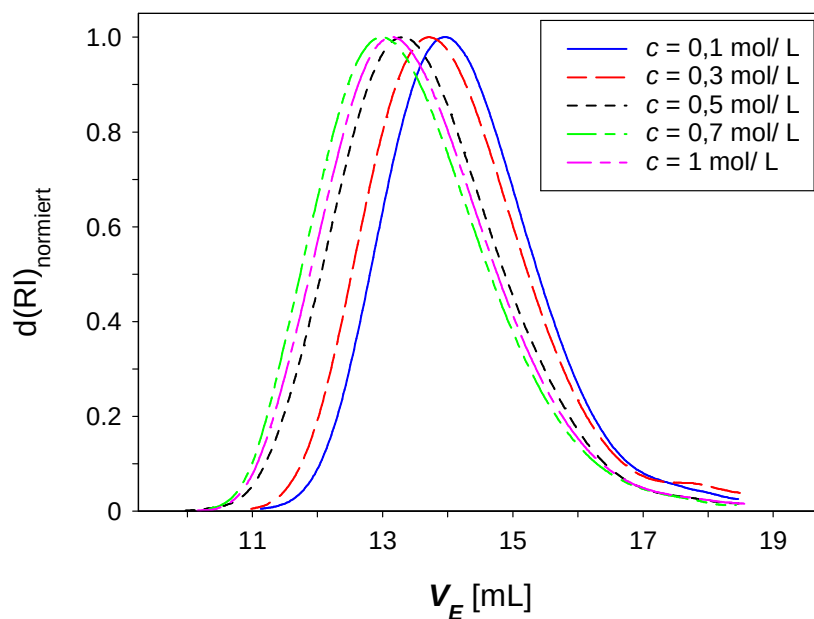


Abb. 5–13 GPC-Elugramme von **P5-9a**, die den Polymerisationen bei verschiedenen Konzentrationen entsprechen.

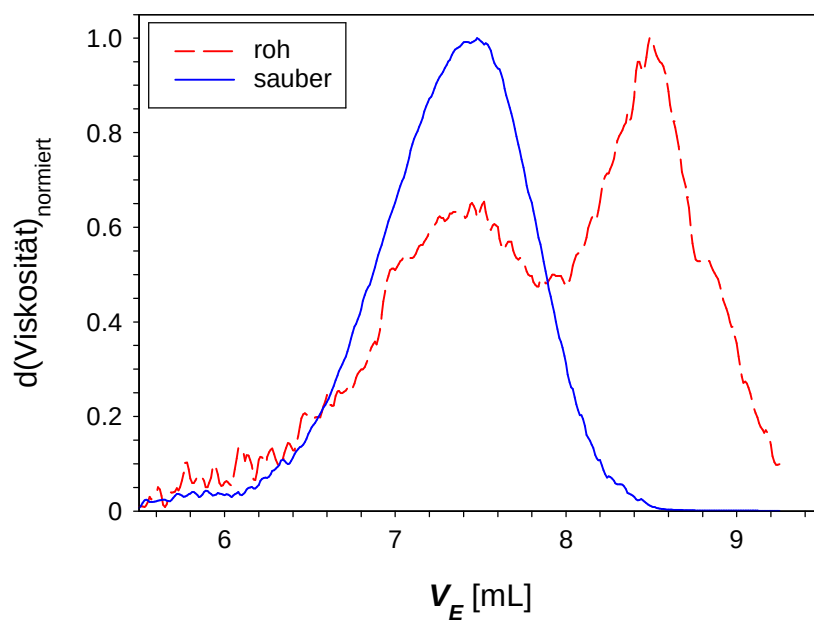


Abb. 5–14 GPC-Elugramme von **P5-11a** vor (---) und nach (—) der Reinigung.

Die Polyelektrolyte **5-12** bis **5-14** werden einer wässrigen Dialyse unterzogen und im Anschluss durch Lyophilisieren als weißer Feststoff gewonnen. Eine Molekulargewichtsbestimmung über GPC ist trotz Variation der Säule (Material und Porengröße) sowie Änderungen des Lösungsmittels und der Trennparameter (Durchflussgeschwindigkeit und Konzentration) nicht möglich. Eine Alternative, die zurzeit noch überprüft wird, ist die Blockierung der Amingruppen durch eine geeignete funktionelle Gruppe. Auf Grund der großen Zahl dicht beieinander liegender Amine auf der Oberfläche laufen Experimente mit dem kleinen und reaktiven Acetylchlorid als Gegenspieler.

Eine genaue Betrachtung der Molekulargewichte und Polymerisationsgrade, die in Tabelle 5–1 und Tabelle 5–2 zusammengefasst sind, lässt innerhalb einer Konzentrationsreihe ein vergleichbares, asymptotisches Verhalten wie bei den Umsätzen erkennen. Dies ist für **P5-9a** in Abb. 5–15 grafisch dargestellt. Die Konzentrationsabhängigkeit ist somit im vorliegenden Fall deutlich geringer ausgeprägt, als sie bei der radikalischen Polymerisation von aminterminierten dendronisierten Polystyrolen gefunden wurde [69].

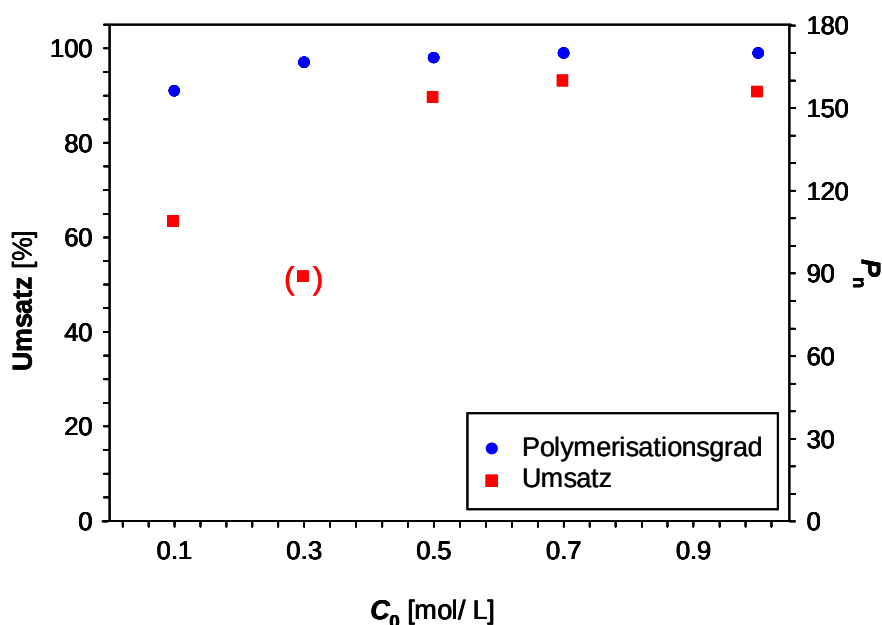


Abb. 5–15 Abhängigkeit des Umsatzes und des Polymerisationsgrades von **P5-9a** von der Polymerisationskonzentration.

Beim Übergang von der nullten zur ersten Generation wird eine Zunahme des Molekulargewichtes beobachtet, während sich bei der zweiten Generation die Grenzen dieser Syntheseroute bemerkbar machen und nur sehr geringe Molekulargewichte erhalten werden. So entspricht der für die Z-geschützten zweiten Generation **P5-10a** gefundene Polymerisationsgrad ($P_n = 4$) genau dem eines Polymethacrylats mit einem Dendron aus sieben Asparaginsäureeinheiten [46]. Im Vergleich zu dendronisierten Polymere mit einem

Polyvinylbenzylamin-Rückgrat aber Fréchet-Dendronen sind für die kleinste Generation vergleichbare Polymerisationsgrade erhalten worden, welche für das nächst größere Dendron übertroffen werden [70]. Die erhaltenen Polydispersitäten liegen in der gleichen Größenordnung wie bei anderen, über radikalische Polymerisation hergestellten dendronisierten Polymeren [69-72].

Zusätzlich zu den Molekulargewichten der geschützten dendronisierten Polymere können aus GPC-Messungen mit einem Viskositätsdetektor auch Informationen über deren hydrodynamischen Eigenschaften gewonnen werden. Auf diese Weise werden die Mark-Houwink-Kuhn-Sakurada (MHKS-) Koeffizienten a_{MHKS} und K ermittelt, welche ebenfalls in Tabelle 5–1 und Tabelle 5–2 aufgeführt sind. Von größerem Interesse ist der MHKS-Koeffizient a_{MHKS} , da eine Abhängigkeit von der Molekülkonformation vorliegt. Für die nullte und erste Generation der Z-geschützten Polymere liegen die Werte zwischen $0,381 < a_{\text{MHKS}} < 0,598$ und für die TFAA-geschützten Proben zwischen $0,512 < a_{\text{MHKS}} < 0,785$. Diese Ergebnisse deuten auf eine geknäuelte Konformation des Styrolrückgrates und nicht auf seine Streckung hin, da für semiflexible bis steife Stäbchen der MHKS-Koeffizient a_{MHKS} Werte zwischen eins und zwei annimmt [73]. Für das Polymer **P5-11a** (Experiment 11, Tabelle 5–1) wird sogar ein Koeffizient nahe Null ($a_{\text{MHKS}} = 0,066$) gefunden und liegt damit im Bereich für eine Kugel mit konstanter Dichte ($a_{\text{MHKS}} = 0$). Die GPC-Untersuchungen in verdünnten DMF-Lösungen der nullten und ersten Generation weisen demnach nicht auf eine, auf sterische Hinderung basierenden, Streckung des Polymerrückgrates hin. Der geringe Wert für **P5-11a** kann vermutlich auf den geringen Polymerisationsgrad ($P_n = 5$) zurückgeführt werden.

5.3.3 AFM-Aufnahmen

Um Aufschluss über die Frage der Gestalt der dendronisierten Polymere zu erhalten, wurden AFM-Aufnahmen von dünnen Filmen, welche durch Aufschleudern einer DMF-Lösung auf Mica erhalten wurden, gemacht. In Abb. 5–16 sind erste Aufnahmen des dendronisierten Polymers **P5-10a** (Experiment 8, Tabelle 5-1) abgebildet, die vor dem Hintergrund der GPC-Analyse ein überraschendes Ergebnis zeigen: Das dendronisierte Polymer der Z-geschützten ersten Generation nimmt sehr wohl eine stäbchenförmige Konformation ein (Abb. 5–16). Die dicht gepackten Stäbchen besitzen im Mittel einen Durchmesser von 7 nm und eine Länge von 20 nm.

Mit dem aus der GPC ermittelten Polymerisationsgrad von 93 errechnet sich die Länge einer Wiederholungseinheit zu 0,25 nm. Dies entspricht der Länge einer Polystyroleinheit (z.B. in NaPSS 0,252 nm [74]), so dass für das PS-Rückgrat von einer gestreckten Konformation ausgegangen werden kann.

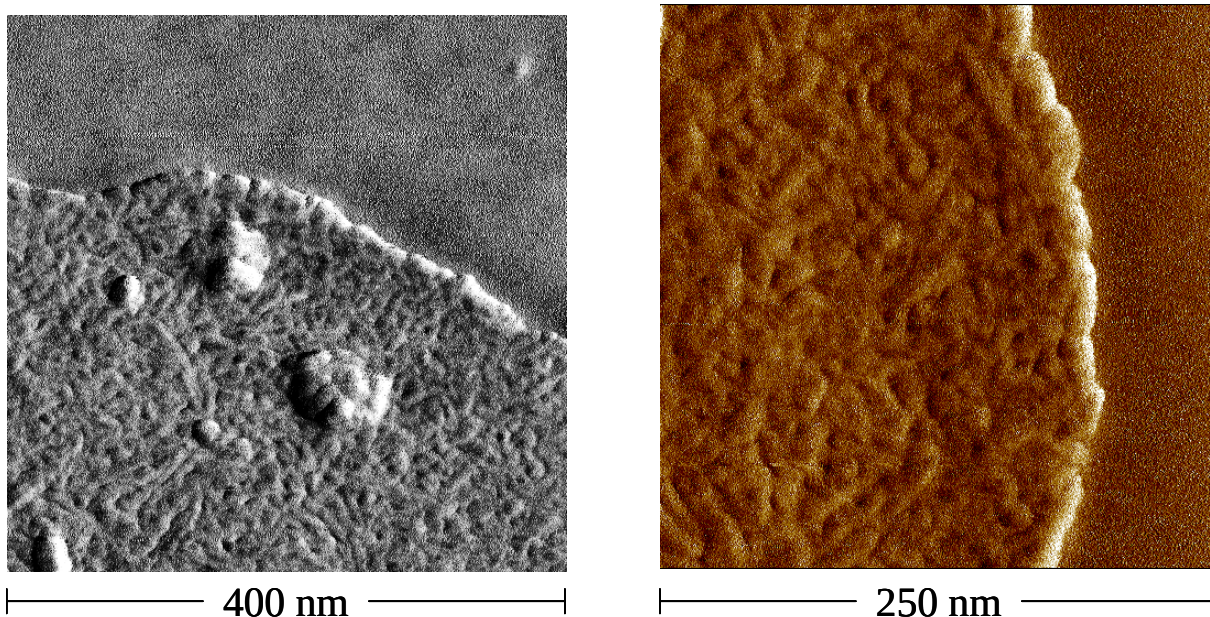


Abb. 5–16 AFM-Aufnahmen von **P5-10a** aus DMF auf Mica.

Während die aus GPC und AFM erhaltenen Daten bzgl. des Polymerisationsgrades konsistent sind, widersprechen sich die Informationen über die Gestalt der Polymere auf den ersten Blick. Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz könnte in dem geringen Verhältnis von Länge zu Durchmesser ($L/d \approx 3$) liegen. Obwohl die dendronisierten Polymere in den AFM-Aufnahmen optisch klar als Stäbchen zu erkennen sind, verhalten sie sich in der GPC hydrodynamisch annähernd wie ein Polymerknäuel.

5.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Synthese von dendronisierten Polymeren aus einem unsymmetrischen *L*-Lysin-Dendron und einer Styroleinheit nach der Makromonomer Route beschrieben. Die Synthese der nullten Generation **5-2** war problemlos in homogener Lösung durchzuführen, wohingegen sich für die höheren Generationen die Festphasensynthese als besser geeignet erwiesen hat. Die Synthese der Makromonomere mit freien Amingruppen auf der Oberfläche stellte sich als komplizierter heraus. Um das freie Amin zu erhalten, wurde die Fmoc-Schutzgruppe eingesetzt, die auf Grund ihrer Basenlabilität während der Kupplung ans Vinylbenzylamin **5-1** teilweise abgespalten wurde, so dass eine Charakterisierung des geschützten Zwischenproduktes nicht möglich war. Nach der vollständigen Abspaltung neigten die resultierenden Makromonomere zur Gelbildung, so dass eine umfassende Analytik erneut nicht erfolgen konnte. Die Handhabung der beiden geschützten Moleküle war vergleichsweise unproblematisch.

Die durchgeführten Polymerisationen bestätigten, dass mit zunehmender Dendrongeneration der Umsatz auf Grund sterischer Hinderungen abnimmt. Für kleine Monomerkonzentrationen zu Beginn der Polymerisationsreaktion wird ebenfalls eine Abnahme des Umsatzes beobachtet. Insgesamt lässt sich der Umsatz durch Ersetzen der Z-Schutzgruppen am Dendron durch die kleinere, polare TFAA-Schutzgruppe steigern, da sie einen geringeren sterischen Anspruch besitzt und zu einer besseren Löslichkeit des Monomers führt.

Anhand von AFM-Aufnahmen konnte gezeigt werden, dass das resultierende dendronisierte Polymer **P5-10a** tatsächlich eine Streckung des Rückgrates erfährt, so dass bei einem Polymerisationsgrad von $P_n = 93$ eine Gesamtlänge von 20 nm erreicht wird.

5.5 Experimenteller Teil

5.5.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

Chemikalien und Lösungsmittel

Die eingesetzten Reagenzien sind von den Firmen Aldrich, Fluka, Merck, Merck Bioscience (ehemals Calbiochem-NovaBiochem GmbH) bezogen und, wenn nicht anderes erwähnt, so eingesetzt worden. Azo-*iso*-butylnitril wurde aus Diethylether umkristallisiert und Chlormethylstyrol ist durch Destillation vom Stabilisator befreit worden. *N*-Methyl-2-pyrrolidon wurde von der BASF AG zur Verfügung gestellt und über Molekularsieb (4Å) getrocknet. Die Synthesen von Vinylbenzylamin **5-1** [68] und *N*^α,*N*^ε-Di-trifluoracetyl-*L*-lysin **5-5b** [63] erfolgten nach bekannten Verfahren.

Reinigung:

Die dendronisierten Polymere wurden über Dialyse gereinigt. Die Schläuche bestehen aus regenerierter Cellulose (Spectra/ Por®) und wurden über die Carl-Roth GmbH bezogen.

5.5.2 Physikalische und analytische Methoden

¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie:

Die NMR-Spektren sind mit Bruker Advance Spektrometern (250, 300, 500 oder 700 MHz) aufgenommen worden. Als interne Standards dienten die Signale der verwendeten deuterierten Lösungsmittel.

Massenspektrometrie:

Zur Aufnahme von FD-Spektren wurde ein VG ZAB 2-SE-FPD-Spektrometer verwendet. Die MALDI-TOF Massenspektren wurden mit einem Bruker Reflex II MALDI-TOF-Spektrometer aufgenommen. Sowohl für lösungsmittelhaltige Proben (DMF, DMSO) als auch für die lösungsmittelfreie Probenpräparation dient Dithranol als Matrix.

Gelpermeationschromatographie

Für die gelchromatographische Analyse in organischen Lösungsmitteln werden zwei hintereinander geschaltete TSK-Gel Alpha Säulen verwendet. Die Messungen werden in Dimethylformamid in der Anwesenheit von LiBr ($c = 1 \text{ g/L}$) bei 333 K (60 °C) durchgeführt. Die Elugramme werden mit einem Brechungsindex- (engl. *refractive index* RI) und einem Viskositäts-Detektor innerhalb einer halben Stunde bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,56 mL/min aufgenommen. Im Anschluss werden basierend auf einer universellen Kalibrierung mit Polymethacrylat-Standards, die Elutionszeiten in Molekulargewichte umgerechnet.

AFM-Aufnahmen

Die AFM-Aufnahmen wurden mit einem Multimode IIIa Atomic Force Mikroskop (Veeco Metrologie Gruppe) aufgenommen. Das Mikroskop wurde unter Umgebungsbedingungen ($T = 294 \text{ K}$, $RH = 45 \%$) eingesetzt. Verwendet wurden ein Silikonträger (Mikromasch) mit einer Resonanzfrequenz von etwa 200 kHz und einem Spitzenradius von ca. 10 nm. Um Schäden oder Verformungen zu verhindern wird der „Tapping-Mode“ mit einer möglichst geringen Amplitude verwendet. Zur Herstellung der Filme für die AFM-Analyse wird ein Instrument mit Laurell Technologie verwendet, um verdünnte Probenlösungen ($c = 1 \dots 10 \text{ mg/mL}$) auf das Mica-Substrat aufzutragen. Dazu wird auf das sich drehende Substrat (etwa 3000 Umdrehungen pro Minute) ein Tropfen der Lösung aufgetragen und abschließend noch 30 Sekunden geschleudert.

5.5.3 Synthesebeschreibungen

Synthese tert. Butyl-geschützten nullten Generation (5-8)

Die hier beschriebene Arbeitsvorschrift für die Erstellung einer Peptidbindung über den Mechanismus des aktiven Esters gilt auch für die nachfolgenden Synthesen. Die eingesetzten Mengen und gegebenenfalls auftretenden Abweichungen werden an entsprechender Stelle ergänzt.

In einem Kolben wird ein Äquivalent der Säurekomponente (7,34 mmol, **5-6a**: 3,04 g, **5-6b**: 2,48 g und **5-6c**: 4,34 g) zusammen mit zwei Äquivalenten (14,7 mmol) O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluor-phosphat (HBTU, 5,57 g) und 1-Hydroxy-benzotriazol (HOBt, 2,25 g) in 35 mL NMP gelöst und mit drei Äquivalenten Di-iso-propylethylamin

(DIPEA, 22 mmol, 3,8 mL) versetzt. Nach fünf bis zehn Minuten liegt eine klare gelbe Lösung vor, welche die aktive Spezies enthält. Zu dieser Mischung wird die Aminkomponente (1,5 eq, 11 mmol, 2 g) gefügt und 16 Stunden bei Raumtemperatur gut durchmischt. Die Reaktion wird durch tropfenweise Zugabe in die gut 20-fache Menge Wasser abgebrochen. Im Fall des Fmoc-tragenden Dendrons wird mit verdünnter Salzsäure ein neutraler pH-Wert der Lösung eingestellt, um ein Abspalten der Schutzgruppe zu verhindern. Der Niederschlag wird abfiltriert und gut mit Wasser gewaschen.

5-8a: Ausbeute: 3,91 g (7,2 mmol, 98 %) weißer Feststoff; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,17 - 1,59 (m, 15H, $^t\text{Bu} + \alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3$); 2,34 (t, 2H, $^t\text{BuOCO-CH}_2$); 2,95 (q, 2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,21 (m, 2H, $^t\text{BuOOCCH}_2\text{-CH}_2$); 3,89 (q, 1H, αCH); 4,99 (s, 2H, Z CH_2); 7,24 (t, 1H, NH); 7,33 (m, 11H, arom. CH + $\alpha\text{CH-NH}$); 7,94 (t, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,23 (CH_2); 28,20 (CH_2); 29,56 (CH_2); 32,13 (CH_2); 35,30 (CH_2); 55,13 (αCH); 65,58 (CH_2); 65,83 (arom. CH); 80,35 (qC); 128,19 ($N^{\text{E-Z}}$ arom. CH); 128,81 ($N^{\alpha\text{-Z}}$ arom. CH); 137,5, 137,76 (Z arom. qC); 156,39 (CO); 156,54 (CO); 171,05 ($\alpha\text{CH-CO}$); 172,39 (CO). Masse (FD): $m/z = 543$ (100 % $[\text{M}]^+$); 1085 (15 % $[2\text{M}]^+$).

5-8b: Ausbeute: 3,35 g (7,2 mmol, 98 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,23 (m, 2H, $\alpha\text{CHCH}_2\text{-CH}_2$); 1,39 (m, 11H, $^t\text{Bu} + \alpha\text{CH-CH}_2$); 1,66 (q, 2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{-CH}_2$); 2,35 (t, 2H, $^t\text{BuOCO-CH}_2$); 3,14 (m, 2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,25 (m, 2H, $^t\text{BuOOCCH}_2\text{-CH}_2$); 4,22 (t, 1H, αCH); 8,19 (t, 1H, NH); 9,4 (t, 1H, NH); 9,5 (d, 1H, $\alpha\text{CH-NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,63, 23,76 (CH_2); 28,59 (CH_2); 28,63 (CH_3); 30,34 (CH_2); 31,67 (CH_2); 35,74, 35,89 (CH_2); 39,71 (CH_2); 53,42, 54,18 (αCH); 80,84 (qC); 111,06, 114,88, 118,69, 122,51 ($N^{\alpha\text{-CF}_3}$); 111,19, 115,00, 118,82, 122,64 ($N^{\text{E-CF}_3}$); 156,78, 156,82, 157,01, 157,26, 157,35, 157,50, 157,75, 157,82 (CO-CF_3); 171,01, 171,43 ($\alpha\text{CH-CO}$); 172,87 (CO). $^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = -73,91, 73,95, -74,12, -74,16 ($N^{\alpha\text{-CF}_3}$); -74,44, -74,47 ($N^{\text{E-CF}_3}$). Masse (FD): $m/z = 466,6$ (100 % $[\text{M}]^+$); 932,8 (21 % $[2\text{M}]^+$).

5-8c: Ausbeute: 5,15 g (7,2 mmol, 98 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,11 - 1,57 (m, 15H, $^t\text{Bu} + \alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3$); 2,34 (t, 2H, $^t\text{BuOCOCH}_2$); 2,96 (bs, 2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$); 3,2 (m, 2H, $^t\text{BuOOCCH}_2\text{-CH}_2$); 3,90 (m, 1H, αCH); 4,23 (m, 6H, Fmoc CH_2CH); 7,29 - 7,97 (m, 18H, arom. + NH); 8,12 (d, 1H, $\alpha\text{CH-NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,28 (CH_2); 28,18 (CH_3); 29,56 (CH_2); 32,11 (CH_2); 35,19 (CH_2); 35,37 (CH_2); 47,15 (CH); 47,25 (CH_2); 54,99 (αCH); 65,66 (CH_2); 66,05 (CH_2); 80,35 (qC); 120,58 (arom. CH); 125,60, 125,79 (arom. CH); 127,52 (arom. CH); 128,06 (arom. CH);

141,19 (qC); 144,27, 144,41 (qC); 156,34 (CO); 171,04 (α CH-CO); 172,34 (CO). Masse (FD): m/z = 717,6 (100 % [M]⁺); 1435,1 (10 % [2M]⁺).

Synthese der Carbonsäurefunktionalisierten nullten Generation (5-2)

In einem Rundkolben werden 3 g Bu-G0(Z) **5-8a** (5,54 mmol), Bu-G0(TFAA) **5-8b** (5,54 mmol) oder Bu-G0(Fmoc) **5-8c** (4,2 mmol) in einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan und TFA (50 : 50) möglichst hochkonzentriert gelöst (~150mg/ mL). Nachdem die Lösung 1½ ... 2 Stunden bei Raumtemperatur durchmischt worden ist, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das reine Produkt wird durch Zugabe von Wasser als weißer Niederschlag erhalten und nach Filtration so lange mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat einen neutralen pH-Wert besitzt. Im Fall des TFAA-geschützten Produktes erfolgt das Ausfällen und Reinigen aus kaltem Diethylether.

5-2a: Ausbeute: 2,64 g (5,4 mmol, 98 %) weißer Feststoff. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,14 - 1,67 (m, 6H, α CH-(CH₂)₃); 2,38 (t, 2H, HOCO-CH₂); 2,96 (q, 2H, α CH(CH₂)₃-CH₂-); 3,23 (m, 2H, HOOCCH₂-CH₂); 3,90 (m, 1H, α CH); 5,01 (m, 4H, Z CH₂); 7,26 (t, 1NH, α CH-NH); 7,36 (m, 11H, arom. CH + α CH-NH); 7,96 (t, 1NH, α CHCO-NH). ¹³C-NMR- (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,7 (CH₂); 30,01 (CH₂); 32,59 (CH₂); 34,90 (CH₂); 35,74, 35,85 (CH₂); 40,91 (CH₂) 55,49 (α CH); 66,05, 66,31 (CH₂); 128,67 (N ^{α} -Z arom. CH); 129,28 (N ^{α} -Z arom. qC); 137,99, 138,22 (Z arom. qC); 156,87, 156,87 (NH-CO-O); 172,82 (α CH-CO); 173,96 (COOH). Masse (FD): m/z = 486,1 (100 % [M]⁺); 508,1 (92 % [M-Na]⁺); 524 (12 % [M-K]⁺); 993,2 (80 % [2M]⁺); 1477,9 (7 % [3M]⁺).

5-2b: Ausbeute: 2,59 g (6,35 mmol, 99 %) weißer Feststoff. ¹H-NMR (250 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,25 (m, 2H, α CHCH₂-CH₂); 1,44 (m, 2H, α CH-CH₂); 1,67 (q, 2H, α CH(CH₂)₂-CH₂); 2,38 (t, 2H, HOCO-CH₂); 3,20 (m, 2H, α CH(CH₂)₃-CH₂); 3,28 (m, 2H, HOOCCH₂-CH₂); 4,23 (q, 1H, α CH); 8,20 (t, 1H, N ^{ϵ} -NH); 9,40 (t, 1H, α CHCO-NH); 9,49 (d, 1H, α CH-NH); 12,72 (bs, 1H, COOH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,67 (CH₂); 28,73 (CH₂); 31,66 (CH₂); 34,62 (CH₂); 35,75, 35,87 (CH₂); 39,82, 39,94 (CH₂); 54,12, 54,21 (α CH); 111,10, 114,91, 118,73, 122,55 (N ^{α} -CF₃); 111,23, 115,04, 118,86, 122,68 (N ^{ϵ} -CF₃); 156,43, 156,53, 156,61, 156,83, 156,91, 157,01, 157,10, 157,30, 157,38, 157,50, 157,58, 157,78, 157,86, 157,99, 158,06 (CO-CF₃); 171,08 (α CH-CO); 173,72 (COOH). ¹⁹F-NMR (282 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = -73,93, -73,96 (N ^{α} -CF₃); -74,46, -74,49 (N ^{ϵ} -CF₃). Masse (FD): m/z = 410,3 (100 % [M]⁺); 819,6 (9 % [2M]⁺).

5-2c: Ausbeute: 2,76 g (4,2 mmol, 100 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,15 - 1,77 (m, 6H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,43 (t, 1H, $\text{HOOC}-\text{CH}_2$); 3,0 (q, 2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2$); 3,31 (m, 2H, $\text{HOOCCH}_2-\text{CH}_2$); 3,96 (q, 1H, αCH); 4,29 (m, 6H, Fmoc CH_2CH); 7,33 - 7,51 (m, 9H, arom. CH + NH); 7,70 - 7,78 (m, 5H, arom. CH + NH); 8,02 (t, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,75 (CH_2); 30,02 (CH_2); 32,59 (CH_2); 34,90 (CH_2); 35,7 (CH_2); 40,91 (CH_2); 47,63, 47,71 (CH); 55,51 (αCH); 66,15, 66,52 (CH_2); 121,05 (arom. CH); 126,08, 126,29 (arom. CH); 128,00 (arom. CH); 128,54 (arom. CH); 141,66 (arom. qC); 144,88 (arom. qC); 156,88 (NH-CO-O); 172,89 ($\alpha\text{CH}-\text{CO}$); 173,89 (COOH). Masse (FD): m/z = 440,2 (74 % $[\text{M} - 1\text{Fmoc}]^+$); 662,4 (100 % $[\text{M}]^+$); 1101,5 (62 % $[2\text{M} - 1\text{Fmoc}]^+$); 1324,2 (27 % $[2\text{M}]^+$).

Synthese carboxyfunctionalisierte Peptid-Dendrimere

Die Kupplungen der ersten beiden Aminosäuren erfolgten aus ökonomischen Gründen in automatisierter Festphasensynthese mit einem Applied Biosystems ABI 433A Peptid Synthesizer, bevor die nächsten Generationen im Kolben manuell aufgebaut werden. Das aus dem Synthesizer kommende Harz wird gründlich gewaschen und in DCM gequollen, bevor die aktive Spezies, welche nach der Vorschrift unter „Synthese *tert. Butyl-geschützten* nullten Generation (5-8)“ auf Seite 156 hergestellt worden ist, zugegeben wird. Nach erfolgter Kupplung wird die Reaktionslösung entfernt und das Harz gründlich gewaschen. Für die Synthese der zweiten Generation wird im ersten Schritt N^α, N^ϵ -Di-Fmoc-Lysin **5-5c** eingesetzt, und die Schutzgruppe durch halbstündiges Rühren in einer 10 %-igen Piperidin-DMF-Lösung (100 mg/ mL) abgespalten. Bevor erneut die aktive Spezies zugegeben wird, muss das Harz von jeglichem Piperidinresten befreit werden. Die entsprechenden Ansatzgrößen können Tabelle 5-3 und Tabelle 5-4 entnommen werden.

Abschließend wird die gewünschte Sequenz durch dreimaliges halbstündiges Behandeln des Harzes mit einer TFA-DCM-Lösung (3 Vol.-%) abgespalten und die vereinten Lösungen im Vakuum getrocknet. Die Dendrone mit unpolaren Schutzgruppen werden aus Wasser ausgefällt, während das TFAA-geschützten Dendron in Aceton gelöst und aus der 20-fachen Menge *n*-Hexan ausgefällt wird.

5-3a: Ausbeute: 1,2 g (1,19 mmol, 79 %) beigefarbener Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,1 - 1,7 (m, 18H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,35 (t, 2H, $\text{HOOC}-\text{CH}_2$); 2,95 (m, 6H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2$); 3,89, 3,97 (m, 2H, äußere αCH); 4,15 (m, 1H, inneres αCH); 5,01 (m, 8H, Z CH_2); 7,23 (t, NH); 7,34 (m, 20H, arom. CH); 7,85 (d, NH); 7,95 (t, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,47, 23,73 (CH_2); 29,66, 29,97 (CH_2); 32,41, 32,63, 32,79 (CH_2);

34,69 (CH₂); 35,60, 35,72 (CH₂); 39,36 (CH₂); 53,20 (äußere αCH); 55,62 (inneres αCH); 66,01 (N^ε-Z CH₂); 66,26, 66,30 (N^α-Z CH₂) 128,57, 128,61 (N^ε-Z arom. CH); 129,23 (N^α-Z arom. CH); 137,92, 137,96 138,19 (arom. qC); 156,78, 156,83, 156,91, 156,97 (Z-CO); 172,27, 172,35, 172,55 172,62 (CO); 173,69 (COOH). Masse (MALDI-TOF, Dithranol, DMSO): m/z = 1032 (50 % [M + Na]⁺); 1048 (39 % [M + K]⁺).

5-3b: Ausbeute: 0,78 g (0,91 mmol, 91 %) beigefarbener Feststoff. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,24 (bs, 6H, αCHCH₂-CH₂); 1,47 (bs, 6H, αCH-CH₂), 1,69 (m, 6H, αCH(CH₂)₂-CH₂); 2,37 (m, 2H, HOOC-CH₂); 3,01, 3,15 (s, 2H, αCH(CH₂)₃-CH₂); 3,24 (m, 2H, HOOCCH₂-CH₂); 4,20 (m, 2H, äußere αCH); 4,35 (m, 1H, inneres αCH); 7,98 (t, NH); 8,07 (t, NH); 8,12 (d, NH); 8,29 (d, NH); 9,38 (t, NH); 9,47 (m, 2NH); 12,21 (bs, 1H, COOH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,65 (CH₂); 28,68, 29,50, 29,60, 31,51, 31,67, 31,75, 32,72, 32,78, 34,60, 35,75, 39,40, 39,50 (CH₂); 53,20, 53,50 (äußere αCH); 54,24 (inneres αCH); 111,06, 114,87, 118,69, 122,51 (N^α-CF₃) 111,18, 115,00, 118,82, 122,64 (N^ε-CF₃); 156,38, 156,86, 157,33, 157,81 (N^α-CF₃-CO); 156,56, 157,04, 157,53, 158,01 (N^ε-CF₃-CO); 170,67, 170,75, 170,86, 170,94, 172,08, 172,18, 172,28, 173,63, 173, 71 (CO + COOH). ¹⁹F-NMR (282 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = -73,86, -73,88, 73,90 (N^α-CF₃); -74,40, -74,41 (N^ε-CF₃). Masse (MALDI-TOF, fest, Na): m/z = 841 (8 % ([M⁺ - OH]⁺); 880 (90 % [M + Na]⁺); 896 (14 % [M + K]⁺); 902 (59 % [M + 2Na]⁺); 918 (7 % [M + Na + K]⁺); 924 (7 % [M + 3Na]⁺).

5-3c: Ausbeute: 1,24 g (0,91 mmol, 91 %) beigefarbener Feststoff. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,07 - 1,73 (m, 18H, αCH-(CH₂)₃); 2,37 (t, 2H, HOOC-CH₂); 2,97 (m, 6H, αCH(CH₂)₃-CH₂); 3,24 (m, 2H, HOOCCH₂-CH₂); 3,89, 3,99 (m, 2H, äußere αCH); 4,20 (m, 9H, inneres αCH + Fmoc CH-CH₂); 4,27 (t, 4H, Fmoc CHCH₂); 7,28 - 7,42 (m, 16H, arom. CH); 7,48 (d, 3H, αCH-NH); 7,66 - 7,72 (m, 8H, arom. CH); 7,87 (d, 8H, arom. CH); 7,97 (t, 3H, NH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 22,49, 22,74 (CH₂); 28,68, 28,96 (CH₂); 31,45, 31,65, 31,77 (CH₂); 33,59 (CH₂); 34,60 (CH₂); 38,36 (CH₂); 46,57, 46,67 (CH); 52,18 (inneres αCH); 54,55 (äußere αCH); 65,10, 65,46 (CH₂); 119,98 (arom. CH); 125,01, 125,17 (arom. CH); 126,92 (arom. CH); 127,46 (arom. CH); 140,59 (arom. qC); 143,64, 143,82 (arom. qC); 155,87, 155,97 (Fmoc CO); 171,27, 171,36, 171,55, 171,65 (NH-CO); 172,63 (COOH). Masse (MALDI-TOF, DMSO, Na): m/z = 1386 (100 % [M + Na]⁺); 1407 (64 % [M + K]⁺).

5-4a: Ausbeute: 334 mg (0,16 mmol; 65 %) beigefarbener Feststoff. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,08 - 1,74 (m, 42H, αCH-(CH₂)₃); 2,36 (t, 2H, HOOC-CH₂); 2,95

(bs, 14H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,24 (m, 2H, $\text{HOOCCH}_2\text{-CH}_2$); 3,93 (m, 4H, äußere αCH); 4,19 (m, 3H, inneres αCH); 5,0 (m, 16H, Z CH_2); 7,33 (m, 40H, arom. CH + 7NH); 7,73 - 8,02 (m, 8NH); 12,13 (COOH). ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,55, 23,72 (CH_2); 29,67, 29,97 (CH_2); 32,41, 32,63 (CH_2); 34,61 (CH_2); 35,67 (CH_2); 39,39 (CH_2); 53,26 (äußere αCH); 55,62 (inneres αCH); 66,02 ($N^\epsilon\text{-Z CH}_2$); 66,27 ($N^\alpha\text{-Z CH}_2$); 128,60 ($N^\epsilon\text{-Z arom. CH}$); 129,22 ($N^\alpha\text{-Z arom. CH}$); 137,89, 137,94 ($N^\alpha\text{-Z arom. qC}$); 138,17 ($N^\epsilon\text{-Z arom. qC}$); 156,83, 156,91, 156,97 (Z CO); 172,09, 172,23, 172,28, 172,54, 172,62, 172,87 (CO); 173,66 (COOH). Masse (MALDI-TOF, Dithranol, DMSO): m/z = 2083 (46 % $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 2099 (21 % $[\text{M} + \text{K}]^+$).

5-4c: Ausbeute: 1,25 g (0,45 mmol, 91 %) beigefarbener Feststoff. ^1H -NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,06 - 1,76 (m, 42H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3$); 2,36 (t, 2H, HOOC-CH_2); 2,95 (bs, 14H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,23 (m, 2H, $\text{HOOCCH}_2\text{-CH}_2$); 3,91, 3,99 (m, 4H, äußere αCH); 4,24 (m, 27H, innere αCH + Fmoc CH_2CH); 7,29, 7,38 (t, 24H, arom. CH); 7,48 (t, NH); 7,53 - 8,02 (m, 24H, arom. CH + NH); 12,21 (COOH). ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,57, 23,75 (CH_2); 29,69, 29,98 (CH_2); 32,47, 32,66 (CH_2); 34,61 (CH_2); 35,67 (CH_2); 39,39 (CH_2); 47,58, 47,67 (CH); 53,32 (äußere αCH); 55,57 (inneres αCH); 66,10, 66,48 (Fmoc CH_2); 120,97 (arom. CH); 126,01, 126,17 (Fmoc CH); 127,91 (arom. CH); 128,46 (arom. CH); 141,61 (arom. qC); 144,67, 144,81 (arom. qC); 156,81, 156,89, 156,97 (Fmoc CO); 172,08, 172,23, 172,27, 172,57, 172,65, 172,89 (CO); 173,66 (COOH). Masse (MALDI-TOF, Dithranol, DMSO): m/z = 1260, 1281, 1383, 1406, 1555, 1576, 2086, 2107, 2255, 2276, 2466 (< 10 %); 2612 (12 %, $[\text{M-Fluoren} + \text{Na}]^+$); 2635 (20 %, $[\text{M-Fluoren} + 2\text{Na}]^+$); 2784 (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 2807 (89 %, $[\text{M} + 2\text{Na}]^+$).

5-14: Ausbeute: 740 mg (0,37 mmol, 74 %) beigefarbener Feststoff. ^1H -NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 0,99 - 1,80 (m, 42H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3$); 2,95 (bs, 14H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,89, 3,97 (m, 4H, äußere αCH); 4,14 (m, 2H, mittlere αCH); 4,27 (m, 1H, inneres αCH); 4,99 (m, 16H, Z CH_2); 7,21 (t, NH); 7,33 (m, 40H, arom. CH); 7,83 (t, NH); 8,08 (d, NH); 12,55 (COOH). ^{13}C -NMR-Spektrum, 75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,40, 23,54, 23,72 (CH_2); 29,65, 29,96 (CH_2); 32,39, 32,61, 32,77 (CH_2); 39,26, 39,37, 39,45 (CH_2); 52,72, 52,97, 53,23 (inneres αCH); 55,61 (äußere αCH); 66,02 ($N^\epsilon\text{-Z CH}_2$); 66,27 ($N^\alpha\text{-Z CH}_2$); 128,60 ($N^\epsilon\text{-Z arom. CH}$); 129,22 ($N^\alpha\text{-Z arom. CH}$); 137,90, 137,94 ($N^\alpha\text{-Z arom. qC}$); 138,17 ($N^\epsilon\text{-Z arom. qC}$); 156,82, 156,86, 156,92, 156,97 (Z CO); 172,10, 172,53, (CO); 174,31 (COOH). Masse (MALDI-TOF, Dithranol, DMSO): m/z = (13 % $[\text{M} - 1\text{Z}]^+$); 2012 (31 % $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 2028 (64 % $[\text{M} + \text{K}]^+$).

Tabelle 5–4 Reaktionsbedingungen für die manuelle Festphasensynthese von 1 mmol Peptid-Dendrimer der ersten Generation **5-3** an einen 4-Hydroxymethyl-3-methoxyphenoxybutyric Säure-BHA-Harz (0,61 mmol/ g) nach maschineller Ankupplung der ersten beiden Aminosäuren.

Produkt		5-6	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP [mL]	Zeit [Std.]
5-3a		2,07 g					
5-3b	2,5 eq 5 mmol	1,03 g	5 eq 10 mmol 3,79 g	5 eq 10 mmol 1,43 g	7,5eq 15 mmol 2,57 mL	35	16
5-3c		2,95 g					

Tabelle 5–5 Reaktionsbedingungen für die manuelle Festphasensynthese von 0,5 mmol Peptid-Dendrimer der zweiten Generation **5-4** an einen Tentagel AC-Harz (0,24 mmol/ g) nach maschineller Ankupplung der ersten beiden Aminosäuren.

Produkt		5-6	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP [mL]	Zeit [Std.]
5-3c		2,5 eq 2,5 mmol 1,48 g	5 eq 5 mmol 1,90 g	5 eq 5 mmol 0,77 g	7,5 eq 7,5 mmol 1,28 mL	12	16
5-4a	4 eq	4,73 g	8 eq 16 mmol	8 eq 16 mmol	12 eq 24 mmol	32	9
5-4c	8 mmol	3,31 g	6,07 g	2,45 g	4,11 mL		

Synthese der N^α, N^ϵ -geschützte Makromonomere

Die Kupplung erfolgt nach der auf Seite 156 beschriebenen Vorschrift. Zum Entfernen des überschüssigen Vinylbenzylamins **5-1** wird das Produkt aus bidest. Wasser ausgefällt und auf pH = 7 gebracht. Der Niederschlag wird filtriert und der Filterkuchen abschließend ausgiebig mit bidest. Wasser gewaschen. Eine Ausnahme stellen die höheren Generationen der TFAA-geschützten Monomere dar: sie werden nach Filtration in Aceton gelöst und aus *n*-Hexan ausgefällt.

5-9a:

Ansatz:

5-2a	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
6,18 mmol 3 g	2 eq 12,37 mmol 1,65 g	2 eq 12,37 mmol 4,69 g	2 eq 12,37 mmol 1,89 g	3 eq 18,55 mmol 3,18 mL	28 mL	16 Std.

Ausbeute: 3,61 g (6 mmol, 97 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,23 - 1,53 (m, 6H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,32 (t, 2H, VBA-CO- CH_2); 2,95 (q, 2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,27 (q, 2H, VBA-COCH $_2$ - CH_2); 3,90 (m, 1H, αCH); 4,25 (d, 2H, VBA CH_2); 5,00 (m, 4H, Z- CH_2); 5,21 (d, 1H, CH=CH $_2$); 5,78 (d, 1H, CH=CH $_2$); 6,70 (dd, 1H, CH=CH $_2$); 7,21 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,32 (m, 7H, Z arom. CH + 2NH); 7,41 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,97 (t, NH); 8,38 (t, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,71 (CH_2); 30,01 (CH_2); 32,56 (CH_2); 36,10 (CH_2); 36,24 (CH_2); 40,44 (CH_2); 42,71 (CH_2); 55,61 (αCH); 66,03, 66,29 (Z CH_2); 114,72 (CH=CH $_2$); 126,98 (VBA arom. CH); 128,39 (N^α -Z arom. CH); 128,64 (N^ϵ -Z arom. CH); 129,26 (VBA arom. CH); 136,61 (VBA arom. qC); 137,31 (CH=CH $_2$); 137,96 (N^α -Z arom. qC); 138,19 (N^ϵ -Z arom. qC); 140,16 (VBA arom. qC); 156,85, 157,0 (Z CO); 171,24 (CO); 172,81 (CO). Masse (FD): m/z = 601,8 (100 % $[\text{M}]^+$).

5-9b:

Ansatz:

5-2b	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
7,33 mmol 3 g	2 eq 14,66 mmol 1,95 g	2 eq 14,66 mmol 5,56 g	2 eq 14,66 mmol 2,25 g	3 eq 21,99 mmol 3,77 mL	35 mL	16 Std.

Ausbeute: 3,75 g (7,2 mmol, 98 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,29 (q, 2H, $\alpha\text{CHCH}_2\text{-CH}_2$); 1,43 (q, 2H, $\alpha\text{CH-CH}_2$); 1,67 (q, 2H, $\alpha\text{CH(CH}_2)_2\text{-CH}_2$); 2,33 (t, 2H, VBA-CO- CH_2); 3,15 (q, 2H, $\alpha\text{CH(CH}_2)_3\text{-CH}_2$); ~3,26, (m, VBA-COCH $_2$ - CH_2); 4,21 (s, 1H, αCH); 4,25 (d, 2H, VBA CH_2); 5,22 (dd, 1H, CH=CH_2); 5,79 (dd, 1H, CH=CH_2); 6,71 (q, 1H, CH=CH_2); 7,22 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,41 (d, 2H, VBA arom. CH); 8,2 (t, NH); 8,38 (t, TFAA-NH); 9,40 (t, NH); 9,47 (d, 1H, $\alpha\text{CH-NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,18 (CH_2); 28,21 (CH_2); 31,14 (CH_2); 33,53 (CH_2); 35,86 (CH_2); 39,32 (CH_2); 42,26 (CH_2); 53,62 (αCH); 114,28 (CH=CH_2); 126,51, 127,93 (VBA arom. CH); 136,16 (CH=CH_2); 136,83 (VBA arom. qC); 139,69 (VBA arom. qC); 170,50 (CO); 170,65 (CO). $^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = -73,83 ($N^\alpha\text{-CF}_3$); -74,37 ($N^\epsilon\text{-CF}_3$). Masse (FD): m/z = 525,0 (71 % $[\text{M}]^+$); 547,1 (100 % $[\text{M} + \text{Na}]^+$); 563,1 (18 % $[\text{M} + \text{K}]^+$).

5-10a:

Ansatz:

5-3a	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
1,48 mmol	2 eq	2 eq	2 eq	3 eq		
1,5 g	2,97 mmol	2,97 mmol	2,97 mmol	4,45 mmol	8 mL	16 Std.
	0,40 g	1,13 g	0,45 g	0,76 mL		

Ausbeute: 1,57 g (1,4 mmol, 94 %) weiß-brauner Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,07 - 1,73 (m, 18H, $\alpha\text{CH-(CH}_2)_3$); 2,31 (t, 2H, VBA-CO- CH_2); 2,96 (bs, 6H, $\alpha\text{CH(CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,,27 (m, 2H, VBA-COCH $_2$ - CH_2); 3,89, 3,98 (2m, 2H, äußere αCH); 4,17 (m, 1H, inneres αCH); 4,25 (d, 2H, VBA CH_2); 5,0 (m, 8H, Z- CH_2); 5,21 (dd, 1H, CH=CH_2); 5,78 (dd, 1H, CH=CH_2); 6,7 (q, 1H, CH=CH_2); 7,21 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,33 (m, 20H, Z arom. CH + 3NH); 7,4 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,84 (d, 3H, NH); 7,95 (t, 1H, NH); 8,36 (t, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,49, 23,73 (CH_2); 29,67, 29,98 (CH_2); 32,41, 32,65, 32,81 (CH_2); 36,04, 36,23 (CH_2); 39,37 (CH_2); 42,61, 42,72 (CH_2); 49,39 (VBA CH_2); 53,26 (äußere αCH); 55,62 (inneres αCH); 66,02 ($N^\epsilon\text{-Z CH}_2$); 66,27 ($N^\alpha\text{-Z CH}_2$); 114,70 (CH=CH_2); 126,95, 128,37 (VBA arom. CH); 128,61 ($N^\alpha\text{-Z arom. CH}$); 129,23 ($N^\epsilon\text{-Z arom. CH}$); 136,60 (VBA arom. qC); 137,28 (CH=CH_2); 137,91, 137,95 (Z arom. qC); 138,17 (VBA arom. qC); 156,84, 156,91 156,98 (Z-CO); 171,07, 171,15, 172,22, 172,30, 172,55, 172,64 (CO). Masse (MALDI, Dithranol, DMSO): m/z = 1148 (100 % $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

5-10b:

Ansatz:

5-3b	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
1,75 mmol 1,5 g	2 eq 3,5 mmol 1,47 g	3 eq 5,25 mmol 1,99g	3 eq 5,25 mmol 0,80 g	4,5 eq 7,87 mmol 1,35 mL	12 mL	8 Std.

Ausbeute: 1,45 g (1,5 mmol, 85 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,24 (q, 2H, $\alpha\text{CHCH}_2\text{-CH}_2$); 1,47 (q, 2H, $\alpha\text{CH-CH}_2$); 1,69 (q, 2H, $\alpha\text{CH(CH}_2)_2\text{-CH}_2$); 2,32 (t, 2H, VBA-CO- CH_2); 3,15 (q, 2H, $\alpha\text{CH(CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,3 (2H, VBA-COCH $_2\text{CH}_2$); 4,18 (m, 2H, äußere αCH); 4,25 (d, 2H, VBA CH_2); 4,35 (m, 1H, inneres αCH); 5,21 (dd, 1H, CH=CH_2); 5,79 (dd, 1H, CH=CH_2); 6,70 (q, 1H, CH=CH_2); 7,21 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,41 (d, 2H, VBA arom. CH); 8,29 (t, NH); 8,38 (t, TFAA-NH); 9,38 (t, NH); 9,47 (d, 1H, $\alpha\text{CH-NH}$). $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum, (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,73 (CH_2); 28,68 (CH_2); 31,47, 31,64, 31,78 (CH_2); 36,06 (CH_2); 36,08 (CH_2); 39,48 (CH_2); 42,71 (CH_2); 53,19 (inneres αCH); 54,20 (äußere αCH); 111,03, 114,84, 118,66, 122,48 ($\text{N}^\alpha\text{-CF}_3$); 111,14, 114,96, 118,78, 122,60 ($\text{N}^\epsilon\text{-CF}_3$); 114,69 (CH=CH_2); 126,95, 128,37 (VBA arom. CH); 136,60 (VBA arom. qC); 137,28 (CH=CH_2); 140,12 (VBA arom. qC); 156,33, 156,81, 157,28, 157,76 ($\text{N}^\alpha\text{-CF}_3\text{-CO}$); 156,51, 157,00, 157,48, 157,97 ($\text{N}^\epsilon\text{-CF}_3\text{-CO}$); 170,71, 170,87, 170,91, 171,06, 171,17 (CO); 172,10, 172,16 (CO). $^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = -73,88 ($\text{N}^\alpha\text{-CF}_3$); -74,41 ($\text{N}^\epsilon\text{-CF}_3$). Masse (FD): m/z = 995 (100 % [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$); 1017 (6 % [$\text{M} + 2\text{Na}$] $^+$).

5-11a:

Ansatz:

5-4a	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
0,87 mmol 1,8 g	3 eq 2,62 mmol 0,35 g	2,5 eq 2,19 mmol 0,83 g	2,5 eq 2,19 mmol 0,33 g	4 eq 3,5 mmol 0,60 mL	15 mL	16 mL

Ausbeute: 1,81 g (0,83 mmol, 95 %) beigefarbener Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,06 - 1,73 (m, 42H, $\alpha\text{CH- (CH}_2)_3$); 2,31 (t, 2H, VBA-CO- CH_2); 2,96 (bs, 14H, $\alpha\text{CH(CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,3 (m, 2H, VBA-COCH $_2\text{CH}_2$); 3,89, 3,97 (2m, 4H, äußere αCH); 4,16 (m, 3H; inneres αCH); 4,25 (bs, 2H, VBA CH_2); 5,0 (m, 16H, Z- CH_2); 5,21 (d, 1H, CH=CH_2); 5,78 (d, 1H, CH=CH_2); 6,69 (q, 1H, CH-CH_2); 7,2 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,33 (m, 40H, Z arom. CH + 7NH); 7,39 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,84 (bs, 7NH); 7,93 (bs, 1NH); 8,36 (t, 1NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,58, 23,73 (CH_2); 29,67, 29,97 (CH_2); 32,14, 31,60, 32,82 (CH_2); 36,05, 36,25 (CH_2); 39,39 (CH_2); 42,63, 42,71 (CH_2); 49,40

(VBA CH₂) 53,26 (äußere αCH); 55,61 (inneres αCH); 66,02 (N^ε-Z-CH₂) 66,27 (N^α-Z-CH₂); 114,72 (CH=CH₂); 126,98 (VBA arom. CH); 128,36 (VBA arom. CH); 128,60 (N^α-Z arom. CH); 129,23 (N^ε-Z arom. CH); 136,58, 137,88, 137,94 (Z arom. qC); 137,27 (CH=CH₂); 138,17 (VBA arom. qC) 140,11 (VBA arom. qC); 156,83, 156,92, 156,98 (Z-CO); 171,08, 171,16, 172,14, 172,22, 172,56 (CO). Masse (MALDI, Dithranol, DMSO): m/z = 2198 (100 % [M + Na]⁺).

5-15:

Ansatz:

5-14	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
0,65 mmol 1,30 g	3 eq 1,96 mmol 0,35 g	2,5 eq 1,63 mmol 0,83 g	2,5 eq 1,63 mmol 0,33 g	4 eq 2,62 mmol 0,45 mL	12 mL	15 Std.

Ausbeute: 1,28 g (0,61 mmol, 93 %) beigefarbener Feststoff. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,02 - 1,81 (m, 42H, αCH- (CH₂)₃); 2,96 (bs, 14H, αCH(CH₂)₃-CH₂); 3,89-4,06 (2m, 4H, äußere αCH); 4,1-4,38 (m, 5H; inneres αCH + VBA CH₂); 5,0 (m, 16H, Z CH₂); 5,19 (dd, 1H, CH=CH₂); 5,77 (dd, 1H, CH=CH₂); 6,6 - 6,76 (m, 1H, CH=CH₂); 6,82 - 7,52 (m, arom. CH); 7,71, 8,00, 8,20, 8,37 (NH). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,55, 23,72 (CH₂); 29,67, 29,97 (CH₂); 32,39, 32,64, 32,82 (CH₂); 39,37 (CH₂); 42,72 (VBA-CH₂) 53,25, 53,53 (inneres αCH); 55,61 (äußere αCH); 66,02 (N^ε-Z CH₂); 66,27 (N^α-Z CH₂); 114,70 (CH=CH₂); 126,90 (VBA arom. CH); 128,22 (VBA arom. CH); 128,60 (N^α-Z arom. CH); 129,22 (N^ε-Z arom. CH); 136,53, 136,59 (Z arom. qC); 137,25 (CH=CH₂); 137,89 (VBA arom. qC) 137,94 (VBA arom. qC); 156,82, 156,97 (Z CO); 172,09, 172,35, 172,54, 172,61, 173,21 (CO). Masse (MALDI, Dithranol,): m/z = 2128 (100 % [M + Na]⁺).

Synthese der ungeschützte Makromonomere

Da die Kupplung der Fmoc-geschützten Dendrone an Vinylbenzylamin **5-1** mit einer teilweisen Abspaltung der Fmoc-Gruppen einhergeht, werden die geschützten Monomere nicht isoliert, sondern die Schutzgruppen gleich abgespalten. Hierfür wird die Reaktionslösung mit so viel Piperidin versetzt, das eine 10%-ige Lösung entsteht. Nachdem die Reaktionsmischung eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt worden ist, wird das Produkt durch Tropfen in Diethylether als weißer Niederschlag erhalten. Um die Piperidin-Reste zu entfernen, wird der Niederschlag gründlich mit Ether gewaschen.

5-12:

Ansatz:

5-2c	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
4,53 mmol 3 g	2 eq 9,07 mmol 1,21 g	2 eq 9,07 mmol 3,44 g	2 eq 9,07 mmol 1,39 g	3 eq 13,6 mmol 2,33 mL	20 mL	16 Std.

Ausbeute: 1,46 g (4,4 mmol, 94 %) weißer Feststoff. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 1,18 - 1,59 (m, 6H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,32 (t, 2H, VBA-CO- CH_2); 2,88 (2H, NH_2); 3,04 (2H, NH_2); 3,27 (q, 2H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 4,25 (s, 2H, VBA CH_2); 5,22 (d, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5,79 (d, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 6,70 (dd, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 7,21 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,41 (d, 2H, VBA arom. CH); 7,95 (t, NH); 8,42 (t, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO, 298 K): δ (ppm) = 23,55 (CH_2); 35,80 (CH_2); 36,18 (CH_2); 42,6 (CH_2); 42,71 (CH_2); 50,46 (CH_2); 55,45 (αCH); 114,78 ($\text{CH}=\text{CH}_2$); 127,0 (VBA arom. CH); 128,4 (VBA arom. CH); 136,63 (VBA arom. qC); 137,33 ($\text{CH}=\text{CH}_2$); 140,21 (VBA arom. qC); 171,38, 176,06 (CO). Masse (FD): m/z = 333,3 (100 % $[\text{M}]^+$); 665,6 (6 % $[2\text{M}]^+$).

5-13:

Ansatz:

5-3c	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
0,95 mmol 1,3 g	6 eq 5,72 mmol 0,76 g	3 eq 2,86 mmol 1,09 g	3 eq 2,86 mmol 0,44 g	4,29 eq 3,04 mmol 0,74 mL	18 mL	8 Std.

Ausbeute: 0,5 g (0,83 mmol, 87 %) beige Feststoff. Masse (MALDI, Dithranol,): m/z = 589 (44 % $[\text{M}]^+$); 611 (100 % $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

5-14 :

Ansatz:

5-4c	5-1	HBTU	HOBt	DIPEA	NMP	Zeit
0,36 mmol 1 g	20 eq 7,24 mmol 0,96 g	4 eq 1,45 mmol 0,55 g	4 eq 1,45 mmol 0,22 g	6 eq 2,17 mmol 0,37 mL	9 mL	6 Std.

Ausbeute: 360 mg (0,33 mmol, 92 %) beige Feststoff. Masse (MALDI, Dithranol,): m/z = 1015 (35 %); 1101 (100 %).

Polymerisationen

Für die Polymerisationen wird das Monomer in einem 25 mL Schlenkrohr vorgelegt und mit Lösungsmittel und 1 mol-% Initiator versetzt. Im Anschluss wird die Lösung im eingefrorenen Zustand dreimal eine halbe Stunde evakuiert und zwischendurch ohne Belüften aufgetaut. Erst nach dem letzten Evakuieren wird der Kolben unter Argonzufuhr aufgetaut und langsam auf 70 °C erhitzt. Die Polymerisation wird nach 72 Stunden abgebrochen und die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Einzelheiten der Polymerisationen sind in Tabelle 5–6 bis Tabelle 5–8 zusammengestellt.

Die Polymere mit TFAA-Schutzgruppen werden aus Diethylether und die mit Z-Schutzgruppen aus Wasser ausgefällt. Nachdem der Niederschlag abgetrennt und getrocknet ist, wird mittels NMR-Spektroskopie der Umsatz bestimmt. Zur Entfernung der restlichen Monomere wird das Substanzgemisch in DMF dialysiert (**5-9a, b**: Molekulare Ausschlussgrenze (MWCO) 1000; **5-10a, b**: MWCO 2000; **5-11a/ 5-15** MWCO 5000). Das reine Produkt wird durch Ausfällen aus Ether oder Wasser, Filtrieren und Trocknen im Hochvakuum erhalten.

Im Fall der ungeschützten Polymere wird die wässrige Lösung in einen Rundkolben überführt und zwecks Umsatzbestimmung mit Hilfe von NMR-Spektroskopie gefriergetrocknet. Die Abtrennung der überschüssigen Monomere erfolgt durch Dialyse in dest. Wasser (G0-VBA/ G1-VBA: MWCO1000, G2-VBA: MWCO 2000). Durch abschließende Gefriertrocknung wird so das saubere Produkt gewonnen.

P5-9a: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO, 302 K): δ (ppm) = 1,08 - 1,68 (N*9H, $[-\text{CH}-\text{CH}_2-]$ + $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,32 (N*2H, VBA-CO- CH_2); 2,93 (N*2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2$); 3,92 (N*1H, αCH); 4,18 (N*2H, VBA CH_2); 4,96 (N*4H, Z CH_2); 5,97 - 7,05 (N*4H, VBA arom. CH); 7,17 (N*2NH); 7,28 (N*10H, Z arom. CH); 7,95 (N*1NH); 8,29 (N*1NH).

P5-9b: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMF, 298 K): δ (ppm) = 1,12 - 2,01 (N*6H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,54 (N*2H, VBA-CO- CH_2); 3,32 (N*2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2$); 4,15 - 4,58 (N*3H, αCH + VBA CH_2); 6,17 - 7,31 (N*4H, VBA arom. CH); 8,31 (N*1NH); 9,42 (N*1NH).

P5-12: $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO, 423 K): δ (ppm) = 1,13 - 1,53 (N*6H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 1,65 (N*2H, $[-\text{CH}-\text{CH}_2-]$); 1,75 (N*H, $[-\text{CH}-\text{CH}_2-]$); 2,44 (N*6H, VBA-CO- CH_2 + NH_2); 2,59 (N*2H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2$); 3,17 (N*H, αCH); 3,40 (N*2H, VBA-COCH $_2$ - CH_2); 4,24 (N*2H, VBA CH_2); 6,23 - 7,15 (N*5H, VBA arom. CH); 7,69 (N*1NH).

P5-10a: $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, DMSO, 333 K): δ (ppm) = 1,01 - 1,76 (N*21H, [-CH-CH₂-] + $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,33 (N*2H, VBA-CO-CH₂); 2,96 (N*6H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 3,93, 4,00 (N*2H, äußere αCH); 4,23 (N*3H, VBA CH₂ + inneres αCH); 4,99 (N*8H, Z CH₂); 6,04 - 6,99 (N*(4H + 3NH); VBA arom. CH + NH); 7,12 - 7,55 (N*20H, Z-CH₂); 7,60 - 7,87 (N*3NH); 8,11 (N*1NH)

P5-10b: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMF, 298 K): δ (ppm) = 1,18 - 2,13 (N*18H, $\alpha\text{CH}-(\text{CH}_2)_3$); 2,49 (N*2H, VBA-CO-CH₂); 3,15 (N+2H, VBA-COCH₂-CH₂); 3,31 (N*6H, $\alpha\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_2$); 4,25 - 4,67 (N*5H, αCH + VBA CH₂); 6,10 - 7,24 (N*4H, VBA arom. CH); 8,03 - 8,55 (N*NH); 9,37 (N*NH).

Tabelle 5–6 Zusammenfassung der Analytik der Polymerisationen der Z-geschützten Makromonomere. Angegeben sind die eingesetzten Monomerkonzentrationen c_{Monomer} , der Umsatz, sowie die über GPC ermittelten Molekulargewichte M_n Polymerisationsgrade P_n , Polydispersitäten M_w/M_n , Mark-Houwink-Konstanten K_{MHS} und Koeffizienten a_{MHS} .

Experiment	Probe	m [mg]	c_{monomer} [mol/ L]	c_{monomer} [gew.-%]	Umsatz ^a [%]	Ausbeute ^b [%]	$M_n \cdot 10^{-3c}$ [g/ mol]	P_n^c [1]	M_w/M_n^c [1]
1	5-9a	550	0,1	6,0	71	46	65,5	89	2,04
2			0,3	16,0	85	36	53,4	132	2,73
3			0,5	24,1	88	61	92,6	133	2,27
4			0,7	30,7	91	61	96,1	159	2,51
5			1	38,7	90	44	93,8	141	2,41
6	5-10a	750	0,1	10,6	44	23	60,1	53	1,88
7			0,3	26,3	62	37	61,5	55	2,62
8			0,5	37,3	58	19	104,4	93	3,57
9 ^d			0,7	45,4	50	28	279,1	248	3,55
10 ^d			1	54,3	52	31	151,2	134	3,81
11	5-11a	700	0,1	18,7	11	6	11,9	5	2,62
12 ^{e,f}		793	0,1	18,7	10	n.b	19,6	9	2,93
13 ^e	5-15	800	0,1	18,2	35	n.b	25,3	13	1,53

- a) Bestimmung mit ^1H -NMR-Spektroskopie.
b) Nach Dialyse.
c) GPC-Messungen in DMF in Anwesenheit von LiBr ($c_s = 1 \text{ g/ L}$) bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$
d) Polymerisationen verliefen nicht in homogener Lösung.
e) Aufreinigung ist bis heute nicht abgeschlossen.
f) Reaktionszeit auf sieben Tage erhöht.

Tabelle 5–7 Zusammenfassung der Analytik der Polymerisationen der TFAA-geschützten Makromonomere. Angegeben sind die eingesetzten Monomerkonzentrationen c_{Monomer} , der Umsatz, sowie die über GPC ermittelten Molekulargewichte M_n , Polymerisationsgrade P_n , Polydispersitäten M_w/M_n , Mark-Houwink-Konstanten K_{MHS} und Koeffizienten a_{MHS} .

Experiment	Probe	m [mg]	c_{monomer} [mol/ L]	c_{monomer} [gew.-%]	Umsatz ^a [%]	Ausbeute ^b [%]	$M_n \cdot 10^{-3}$ ^c [g/ mol]	P_n ^c [1]	M_w/M_n ^c [1]
14	5-9b	500	0,1	5,2	91	32	33,3	63	2,25
15			0,3	14,2	97	43	45,4	87	1,86
16			0,5	21,7	98	46	55,9	107	1,77
17			0,7	27,9	99	37	77,9	149	1,61
18			1	35,6	99	33	67,2	128	1,88
19	5-10b	400	0,1	9,3	57	41	63,3	65	1,71
20			0,3	23,6	78	48	147,4	152	1,80
21			0,5	33,9	82	51	181,6	187	1,75
22			0,7	41,8	96	87	215,8	222	2,54
23			1	50,7	93	71	235,8	242	1,98

a) Bestimmung mit $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie.

b) GPC-Messungen in DMF in Anwesenheit von LiBr ($c_s = 1 \text{ g/ L}$) bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabelle 5–8 Zusammenfassung der Analytik der Polymerisationen der ungeschützten Makromonomere. Angegeben sind die eingesetzten Monomerkonzentrationen c_{Monomer} , sowie der Umsatz und die Ausbeute.

Experiment	Probe	m [mg]	c_{monomer} [mol/ L]	c_{monomer} [gew.-%]	Umsatz ^a [%]	Ausbeute ^b [%]
24	5-12	450	0,1	3,2	73	57
25			0,3	9,1	100	70
26			0,5	14,3	97	80
27			0,7	18,9	99	74
28			1	25,0	94	75
29	5-13	200	0,1	5,6	~61	47
30			0,3	15,0	~90	87
31			0,5	22,7	~88	81
32			0,7	29,2	~31	33
33	5-14	400	1	9,8	~47	40

a) Bestimmung mit ^1H -NMR-Spektroskopie.

b) GPCNach Dialyse.

5.6 Literaturverzeichnis

- [1] Frey H., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1998**, 37, 2193.
- [2] Schlüter A.D., Rabe J.P., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2000**, 39, 864.
- [3] Zhang A., Wei L.H., Schluter A.D., *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, 25, 799.
- [4] Tomalia D.A., Kirchhoff P.M., Rod-shape dendrimers, Dow Chemical Co., USA, Patent-Nr. 834993, **1987**.
- [5] Yin R., Zhu Y., Tomalia D.A., Ibuki H., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 2768.
- [6] Hawker C.J., Fréchet J.M., *Polym. J.* **1992**, 33, 1507.
- [7] Hudson S.D., Jung H.T., Percec V., Cho W.D., Johansson G., Ungar G., Balagurusamy V.S.K., *Science* **1997**, 278, 449.
- [8] Percec V., Ahn C.H., Yeardley D.J.P., Möller M., Sheiko S.S., *Nature (London)* **1998**, 39, 161.
- [9] Percec V., Ahn C.H., Barboiu B., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 12978.
- [10] Grayson S.M., Fréchet J.M.J., *Macromolecules* **2001**, 34, 6542.
- [11] Shu L.J., Schafer T., Schluter A.D., *Macromolecules* **2000**, 33, 4321.
- [12] Jahromi S., Litvinov V., Coussens B., *Macromolecules* **2001**, 34, 1013.
- [13] Kaneko T., Horie T., Asano M., Aoki T., Oikawa E., *Macromolecules* **1997**, 30, 3118.
- [14] Schlüter A.D., Rabe J.P., in *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 3rd ed., Wiley VCH, New York, **2001**.
- [15] Desal A., Atkinson N., Rivera F., Devonport W., Ress I., Branz S.E., Hawker C.J., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2000**, 38, 1033.
- [16] Förster S., Neubert I., Schlüter A.D., Lindner P., *Macromolecules* **1999**, 32, 4043.
- [17] Grayson S.M., Fréchet J.M.J., *Macromolecules* **2001**, 34, 6542.
- [18] Shu L.J., Schluter A.D., Ecker C., Severin N., Rabe J.P., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2001**, 40, 4666.
- [19] Shu L.J., Gossel I., Rabe J.P., Schluter A.D., *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, 203, 2540.
- [20] Gössl I., Shu L.J., Schluter A.D., Rabe J.P., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6860.
- [21] Barner J., F. M., Shu L.J., Schluter A.D., Rabe J.P., *Angewandte Chemie-International Edition* **2003**.
- [22] Alonso B., González B., García B., Ramírez-Oliva E., Zamora M., Casado C.M., Cuadrado I., *J. Organometal. Chem.* **2001**, 642.

- [23] Kim C., Kang S., *Journal of Polymer Science Part A: Polym. Chem.* **2000**, 38, 724.
- [24] Kim C., Kang S., *Journal of Polymer Science Part A: Polym. Chem.* **2001**, 40, 976.
- [25] Quali N., Méry S., Skoulios A., Noirez L., *Macromolecules* **2000**, 33, 6185.
- [26] Chou C.H., Shu C.F., *Macromolecules* **2002**, 35, 9673.
- [27] Marsitzky D., Vestberg R., Blainey P., Tang B.T., Hawker C.J., Carter K.R., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6965.
- [28] Pogantsch A., Wenzl F.P., List E.J.W., Leising W., Grimsdale A.C., Müllen K., *Adv. Mater.* **2002**, 14, 1061.
- [29] Setayesh S., Grimsdale A.C., Weil T., Enkelmann V., Müllen K., Meghdadi F., List E.J.W., Leising W., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 946.
- [30] Malenfant P.R.L., Frechet J.M.J., *Macromolecules* **2000**, 33, 3634.
- [31] Jiang J., Liu H.W., Zhao Y.L., Chen C.F., Xi F., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2002**, 40, 1167.
- [32] Bo Z., Schluter A.D., *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 3235.
- [33] Karakaya B., Claussen W., Schäfer A., Lehmann A., Schluter A.D., *Acta Polym.* **1996**, 47, 79.
- [34] Karakaya B., Claussen W., Gessler K., Asaenger W., Schlüter A.D., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3296.
- [35] Stocker W., Karakaya B., Schürmann B.L., Rabe J.P., Schlüter A.D., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 7691.
- [36] Stocker W., Schürmann B.L., Rabe J.P., Förster S., Lindner P., Neubert I., Schlüter A.D., *Adv. Mater.* **1998**, 10, 793.
- [37] Bao Z., Amundson K.R., Lovinger A.J., *Macromolecules* **1998**, 31, 8647.
- [38] Jakubiak R., Bao Z., Rothberg L., *Synth. Met.* **2000**, 61, 114.
- [39] Sato T., Jiang D.L., Aida T., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10658.
- [40] Esfand R., Tomalia D.A., *Drug Discov. Today* **2001**, 6, 427.
- [41] Ghosh S., Banthia A.K., *Eur. Polym. J.* **2003**, 39, 2141.
- [42] Bilibin A., Zorin I., Saratovsky S., Moukhina I., Egorova G., Girbasova N., *Macromol. Symp.* **2003**, 199, 197.
- [43] Bilibin A.Y., Egorova G.G., Girbasova N.V., Saratovskii S.V., Mukhina I.V., *Polym. Sci. Ser. A* **2004**, 46, 89.
- [44] Cheng C.X., Tang R.P., Zhao Y.L., Xi F., *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, 91, 2733.
- [45] Girbasova N., Aseyev V., Saratovsky S., Moukhina I., Tenhu H., Bilibin A., *Macromol. Chem. Phys.* **2003**, 204, 2258.

- [46] Girbasova N.V., Migunova, Ii, Raspopova I.R., Bilibin A.Y., *Polym. Sci. Ser. A* **2003**, 45, 320.
- [47] Malkoch M., Carlmark A., Wodegiorgis A., Hult A., Malmstrom E.E., *Macromolecules* **2004**, 37, 322.
- [48] Niggemann M., Ritter H., *Acta Polym.* **1996**, 47, 351.
- [49] Niggemann M., Ritter H., *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.* **1997**, A34, 1325.
- [50] Scrivante A., Fasan S., Matteoli U., Seraglia R., Chessa G., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 326.
- [51] Vetter S., Koch S., Schluter A.D., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2001**, 39, 1940.
- [52] Bushin S.V., Girbasova N.V., Belyaeva E.V., Bezrukova M.A., Andreeva L.N., Bilibin A.Y., *Polym. Sci. Ser. A* **2002**, 44, 632.
- [53] Posnett D.N., Mc Grath H., Tam J.P., **1988**, 263, 1719.
- [54] Tam J.P., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1988**, 85, 5409.
- [55] Tam J.P., Lu Y.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1989**, 86, 9084.
- [56] Huang W.L., Nardelli B., Tam J.P., *Mol. Immunol.* **1994**, 31, 1191.
- [57] Atherton E., Sheppard R.C., in *The Peptides*, Vol. 9, Academic Press, New York, **1987**.
- [58] Ben-Ishai D., Berger A., *J. Org. Chem.* **1952**, 17, 1564.
- [59] Bergeron R.J., Mc Manis J.J., *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 3108.
- [60] Albericio F., Carpino L.A., *Methods in Enzymol.* **1997**, 287, 104.
- [61] Choi J.S., Lee E.J., Choi Y.H., Jeong Y.J., Park J.S., *Bioconjugate Chem.* **1999**, 10, 62.
- [62] Benoiton N.L., Lee Y.C., Steinauer R., Chen F.M.F., *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, 40, 559.
- [63] Weygand F., Geiger R., *Chem. Ber.-Recl.* **1956**, 89, 647.
- [64] in *Folienserie des Fonds der Chemischen Industrie*, 11, Fonds der Chemischen Industrie, Frankfurt am Main, **1993**, p. 13.
- [65] Chan W.C., White P.D., in *Fmoc solid phase peptide synthesis*, Oxford University Press, Oxford, **2000**.
- [66] Fields G.B., Noble R.L., *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, 35, 161.
- [67] Sarin V.K., Kent S.B.H., Tam J.P., Merrifield R.B., *Anal. Biochem.* **1981**, 117, 147.
- [68] Charreyre M.T., Razafindrakoto V., Veron L., Delair T., Pichot C., *Macromol. Chem. Phys.* **1994**, 195, 2141.
- [69] Shu L.J., Schlüter A.D., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 201, 239.

- [70] Neubert I., Schlüter A.D., *Macromolecules* **1998**, 31, 9372.
- [71] Neubert I., Amoulong-Kirstein E., Schlüter A.D., *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, 17, 517.
- [72] Neubert I., Schlüter A.D., *Acta Polym.* **1996**, 47, 455.
- [73] Kulicke W.M., Clasen C., in *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2004**.
- [74] Kozak D., Kristian J., Dolar D., *Zeitschr. Phys. Chem. A* **1971**, 76, 85.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden drei neue Polyelektrolyt-(PEL-)Architekturen auf der Basis von *L*-Lysin vorgestellt. Für ihre Synthese wurden die drei möglichen Varianten zur Ausbildung einer Peptidbindung verwendet. Die Vor- und Nachteile der Peptidkupplung a) durch sukzessive Kupplung in homogener Lösung, b) über Festphasensynthese und c) über die ringöffnende Polymerisation von α -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden (NCA) sind in Tabelle 6–1 zusammengestellt.

Tabelle 6–1 Übersicht der Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Methoden, die zur Synthese von Oligo- und Polypeptiden zur Verfügung stehen.

sukzessive Synthese in Lösung	Festphasensynthese	NCA-Polymerisation
☺ definierte Primärstruktur	☺ definierte Primärstruktur	☺ zeitsparend
☺ monodispers	☺ monodispers	☺ hohe Molekulargewichte
	☺ sehr gute Ausbeute	☺ große Mengen
	☺ einfache Aufarbeitung	
☹ zeitaufwendig	☹ kurze Ketten ($N < 40$)	☹ undefinierte Primärstruktur
☹ kurze Ketten		☹ polydispers

In **Kapitel 3** und **Kapitel 4** erfolgt die Synthese von Poly(*L*-lysin)-Ketten nach dem Mechanismus der ringöffnenden Polymerisation von α -Aminosäure-*N*-Carboxyanhydriden. Nach der Charakterisierung der gereinigten seitenkettengeschützten Polymere sowie der von Fremdsalz befreiten entschützten Polypeptide über NMR-Spektroskopie, Gelpermeationschromatographie und UV/Vis-Spektroskopie ergeben sich Kettenlängen und Polydispersitäten, die im Rahmen der Methode zu erwarten waren. Die auftretenden Abweichungen können sowohl mit dem Vorliegen der vier reaktiven Zentren im NCA-Molekül als auch mit den konkurrierend ablaufenden Polymerisationsmechanismen (Amin-, Carbamat- und aktiviertes Monomer Mechanismus) erklärt werden.

Die in **Kapitel 3** besprochenen Blockpolyelektrolyte sind aus einem sehr kurzen hydrophoben Block und einem in der Länge variierenden Poly(*L*-lysin)-Segment aufgebaut. Nach der erforderlichen Analytik der Systeme wurde die Selbstorganisation der wasserlöslichen Polymere näher untersucht. Anhand von Zirkulardichroismus (CD)-Experimenten konnte gezeigt werden, dass der angehängte Decastyrolblock keinen

gravierenden Einfluss auf die Bildung der Sekundärstruktur und die Löslichkeit der Polymere im Vergleich zu Homopolypeptiden ausübt. Mit Hilfe von verschiedenen Streumethoden (dynamische und statische Lichtstreuung, Neutronenkleinwinkelstreuung) wurde nach der Bestimmung der kritischen Mizellenkonzentration über Fluoreszenzspektroskopie eine Vorstellung der Aggregatform erhalten. Anhand der Ergebnisse wurde ein Modell vorgeschlagen, das auf zylinderförmigen Mizellen basiert (Abb. 3–14), in denen die hydrophoben Polystyrolblöcke einen Kernzylinder mit einem Durchmesser von $d = 4,4$ nm ausbilden.

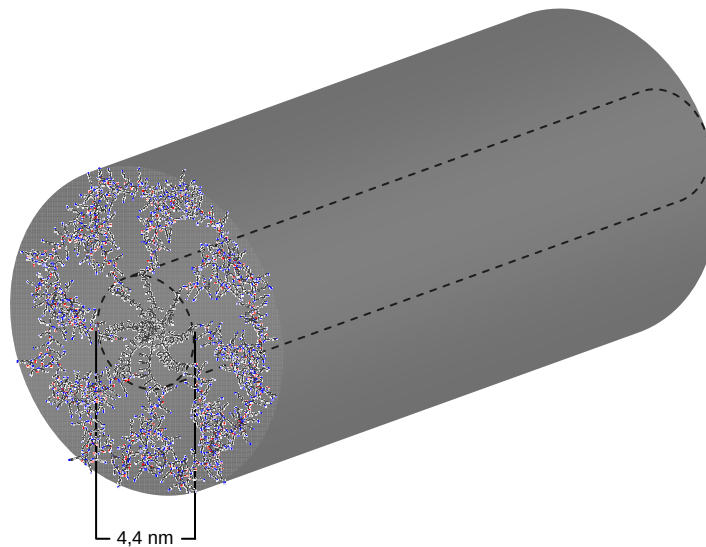


Abb. 6–1 Modell der Struktur der vorliegenden Mizellen.

Das **vierte Kapitel** hat sich mit den optischen Eigenschaften von Sternpolymeren beschäftigt, die als Kern einen rot fluoreszierenden Farbstoff der Rylenklasse besitzen. Der Perylendiimidkern ist zur besseren Abschirmung von einer Schale formpersistenter Polyphenylendendronen der ersten und zweiten Generation umgeben. Untersucht wurden die Veränderungen in Fluoreszenz und UV/Vis-Absorption mit in Zahl und Länge variierenden Poly(L-lysin)-Ketten, welche über NCA-Polymerisation angeheftet wurden. Anhand von CD-Experimenten konnte gezeigt werden, dass die Helixbildung weder vom Kern noch von der Nähe weitere Poly(L-lysin)-Ketten beeinflusst wird. Ferner findet in wässriger Lösung intramolekulare Assoziation der α -Helices statt, die durch den Zusatz von Trifluorethanol aufgebrochen werden. Dass die Dissoziation der Aggregate auf reine Lösungsmittelleffekte zurückzuführen ist, wurde über die optischen Eigenschaften dargelegt, da sich die UV/Vis- und Fluoreszenzspektren der einzelnen Makromoleküle in Knäuel- und Helixkonformation nicht unterscheiden. Erstaunlicherweise hat das Lösungsmittel

gegenteilige Auswirkungen auf die optischen Eigenschaften der PDI-(*L*-Lysin)-Konjugate mit Polyphenylendendronen der ersten und zweiten Generation: Während sich die Eigenschaften im Fall der zweiten Generation besser in Wasser entwickeln, bevorzugt die erste Generation eine ethanolische Umgebung. Insgesamt ist die Fluoreszenzquantenausbeute sehr gering ($\phi_F < 3,6 \%$), aber auf Grund der hohen Extinktionskoeffizienten ($\epsilon(\lambda) \geq 70000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ist ein Einsatz als Fluoreszenzmarker nicht ausgeschlossen.

Während für die Synthese der beiden zuvor behandelten Systeme auf die ringöffnende Polymerisation zurückgegriffen wurde, basiert der Aufbau der in **Kapitel 5** vorgestellten Moleküle auf den anderen beiden Varianten zur Knüpfung einer Peptidbindung. Zunächst wurden drei Generationen von *L*-Lysin-Dendrimern hergestellt. Für das kleinste Dendrimer hat sich die Synthese in homogener Lösung als besonders geeignet erwiesen, da das Produkt im Gegensatz zu den anderen Komponenten in Wasser nicht löslich war. Um die arbeitsintensive Reinigung der Zwischenprodukte zu umgehen, wurden nachfolgend die Dendrimere höherer Generation über Festphasensynthese gewonnen. Im Anschluss wurde über die Bildung einer Peptidbindung in homogener Lösung eine polymerisationfähige Styroleinheit in den Fokus der Dendrimere gebracht. Nach gründlicher Aufreinigung und Analyse der erhaltenen Makromonomere über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie wurde der Einfluss der Dendrongröße und der Monomerkonzentration auf das Polymerisationsverhalten untersucht. Die Schlussfolgerung aus den durchgeführten Experimenten ist, dass mit steigender Dendrongeneration u. a. auf Grund der rasch abnehmenden Makromonomerlöslichkeit der Umsatz der Polymerisation sinkt. Durch eine geeignete Wahl der Schutzgruppe kann dieser Effekt zwar nicht aufgehoben, aber zurückgedrängt werden. So liegen beispielsweise die Umsätze der mit Benzyloxycarbonyl (Z)-Gruppen geschützten Makromonomere der ersten Generation deutlich unterhalb derer mit Trifluoracetamid-Gruppen auf der Oberfläche. Ferner wurde anhand von AFM-Aufnahmen gezeigt, dass das Polymerrückgrat der Z-geschützten Komponente eine Streckung erfährt. Für ein dendronisiertes Polymer der ersten Z-geschützten Generation werden bei einem Polymerisationsgrad von $P_n = 93$ Stäbchen mit einer mittleren Länge von 20 nm und einem Durchmesser von 7 nm erhalten.

