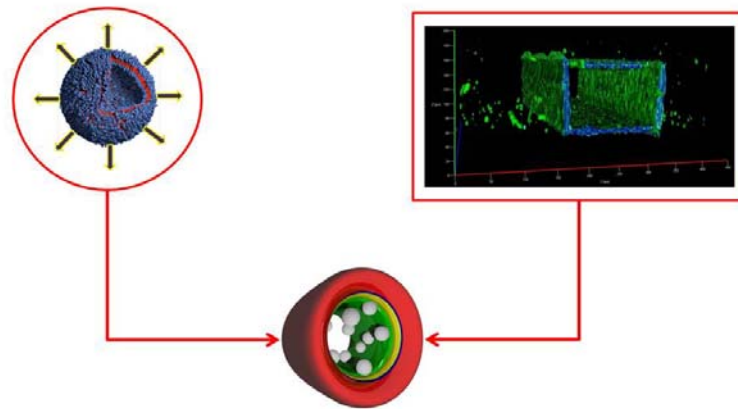


Herstellung und Untersuchungen von polymerbasierten Wirkstofftransportsystemen



Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades:

Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

an der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften

der Universität Bayreuth

vorgelegt von

Nonio Wolter

geboren in Neu-Kaliß

2014

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von August 2009 bis Oktober 2010 am Institut für physikalische Chemie der Universität Hamburg sowie von November 2010 bis Juni 2013 am Lehrstuhl für Physikalische Chemie I der Universität Bayreuth jeweils in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Stephan Förster durchgeführt.

Dissertation eingereicht: 04. September 2014

Zulassung durch die Promotionskommission: 24. September 2014

Wissenschaftliches Kolloquium: 11. Februar 2015

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Rhett Kempe

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Stephan Förster (Erstgutachter)

Prof. Dr. Carlo Unverzagt (Zweitgutachter)

Prof. Dr. Paul Rösch (Vorsitz)

Prof. Dr. Seema Agarwal

*für Olga, Alisa, Lucia und
meine Familie*

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	18
2	Theoretischer Hintergrund	20
2.1	Polymere	20
2.1.1	Einteilung der Polymere	20
2.1.2	Synthese von Polymeren	21
2.1.3	Anionische Polymerisation	23
2.1.3.1	Anionische Vinyl- und anionische ringöffnende Polymerisationen	26
2.1.4	Molekulargewichtsverteilungen	31
2.2	Selbstorganisation von amphiphilen Blockcopolymeren	34
2.2.1	Sphärische Mizellen	40
2.2.2	Polymersomen	41
2.2.3	Präparationsmethoden von Mizellen und Polymersomen	43
2.3	Kohlenhydrate in biologischen Systemen	44
2.4	Wirkstofftransportsysteme	48
2.5	<i>Click</i> -Reaktionen	52
2.5.1	Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare <i>HUISGEN</i> -Cycloaddition	53
2.5.2	Thiol-Ene- <i>Click</i> -Reaktion	55
2.5.3	DMT-MM vermittelte Verknüpfung von Carbonsäuren und Aminen	58
2.5.4	Fluoreszenzmarkierung von Blockcopolymeren	59
2.6	Mikrofluidik	60
2.6.1	Grundlagenexperimente zu Wechselwirkungen von Wirkstofftransportsystemen mit Proteinen	60
2.6.2	Das Herz-Kreislaufsystem des Menschen	63
2.6.3	Immobilisierung und Beschichtung im MF-Kanal	64
2.6.4	Grundlagen der Mikrofluidik	65
2.6.4.1	Die <i>Reynolds</i> -Zahl, Diffusion und Konvektion	66
2.6.4.2	Die <i>Navier-Stokes</i> -Gleichungen	68
2.6.4.3	Die No-Slip-Randbedingung	69
2.6.5	Fertigung der mikrofluidischen Bauelemente	70

3	Analytische Methoden.....	74
3.1	NMR-Spektroskopie.....	74
3.2	Gelpermeationschromatographie (GPC).....	79
3.3	MALDI-ToF-Massenspektrometrie.....	82
3.4	Dynamische Lichtstreuung (DLS).....	84
3.5	Mikroskopie.....	88
3.5.1	Lichtmikroskopie.....	89
3.5.1.1	Durchlichtmikroskopie.....	89
3.5.1.2	Fluoreszenzmikroskopie.....	92
3.5.1.3	Konfokale Laser-Rastermikroskopie.....	93
3.5.2	Elektronenmikroskopie.....	94
3.5.2.1	Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie.....	94
3.5.2.2	Rasterelektronenmikroskopie.....	96
3.6	UV/Vis-Spektroskopie.....	97
3.7	Fluoreszenzspektroskopie.....	97
4	Ergebnisse und Diskussion.....	100
4.1	Polymersynthese.....	100
4.1.1	Synthese und Charakterisierungen von PI-PEO.....	100
4.1.2	Synthese und Charakterisierungen von PEO-PLA.....	103
4.1.3	Weitere verwendete Blockcopolymere.....	106
4.2	Biofunktionalisierungen der Blockcopolymere.....	108
4.2.1	Biotin-Anbindung.....	108
4.2.2	SUR1-Pharmacophor Anbindung an ein PI-PEO-Blockcopolymer.....	110
4.2.3	Streptozotocin (STZ)-Anbindung an PEO-PCL.....	113
4.2.4	DMT-MM vermittelte Kopplung.....	117
4.3	Photoinduzierte Thiol-Ene-Click-Chemie an PI-PEO.....	119
4.3.1	Synthese des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosids.....	125
4.3.2	Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare <i>HUISGEN</i> -Cycloaddition von Galactosylazide an fluoreszenzmarkierten PI-PEO.....	128
4.3.3	Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare <i>HUISGEN</i> -Cycloaddition von Nonaazide an ein fluoreszenzmarkiertes PI-PEO.....	131
4.3.4	DMT-MM vermittelte Anbindung von 2-Aminohexosen an ein fluoreszenzmarkiertes PI-PEO.....	133
4.4	Anbindung eines Eisenschwefelclusters an PB-PEO-Blockcopolymer ^[204]	135

4.5	Einkapselung von CSS-Nanopartikeln	141
4.5.1	Synthese von PCL-DETA	141
4.5.2	Ligandenaustausch an CSS-Nanopartikeln	142
4.5.3	Einkapselung der Nano in Mizellen	143
4.6	Hydrolyse der Polyester-Blockcopolymer	145
4.6.1	Basische Hydrolyse	145
4.6.2	Saure Hydrolyse von Polyester-Blockcopolymer	149
4.6.2.1	Säurekatalysierte Hydrolyse von PEO-PCL und PEO-PCL/PGL	149
4.6.2.2	Langzeittest der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL	150
4.6.2.3	Photometrische Untersuchungen	152
4.7	Fluorphasen-Einkapselung in fluorinierte Polyester-Blockcopolymer für Bildgebungsverfahren	154
4.8	Cystein Seitenkettenmodifikation von PI-PEO mittels Thiol-Ene- <i>Click</i> -Chemie und die daraus resultierenden Veränderungen in der Überstrukturbildung	161
4.8.1	Thiol-Ene- <i>Click</i> -Chemie an PI-PEO	161
4.8.2	Hydrodynamische Fokussierung	163
4.8.2.1	Hydrodynamische Fokussierung des	163
	unfunktionalisierten PI-PEO-Blockcopolymer	163
4.8.2.1	Hydrodynamische Fokussierung des unfunktionalisierten PI _(NH₂) -PEO- Blockcopolymer	165
4.9	Mikrofluidik	169
4.9.1	Synthese des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl- <i>N</i> -3- ethoxysilylpropylaminopropanoat	169
4.9.2	Nachweis der Aminogruppen im MF-Kanal	170
4.9.3	Synthese eines aldehydfunktionalisierten PI-PEO	173
4.9.3.1	Immobilisierung der Aldehyd-Polymersomen im MF-Kanal	174
4.9.4	Avidinbeschichtung der MF-Kanäle	176
4.9.4.1	Säurefunktionalisierung der MF-Kanals	176
4.9.4.2	Avidinbeschichtung im MF-Kanal	177
4.9.4.3	Immobilisierung von biotinylierten Polymersomen im avidinbeschichteten MF-Kanal	181
4.9.4.4	Immobilisierung von zuckerfunktionalisierten Polymersomen	183
5	Experimenteller Teil	186
5.1	Verwendete Geräte	186

5.1.1	Kernresonanzspektroskopie (NMR).....	186
5.1.2	Gelpermeationschromatographie (GPC).....	186
5.1.3	MALDI-ToF-Analysen	186
5.1.4	UV/Vis-Spektroskopie	187
5.1.5	Fluoreszenzspektroskopie	187
5.1.6	UV-Lampe.....	187
5.1.7	NEMESYS-Spritzenpumpen.....	187
5.1.8	Durchlicht- und Fluoreszenzmikroskopie	188
5.1.9	Konfokale Laser-Rastermikroskopie.....	188
5.1.10	Cryo-TEM.....	188
5.2	Aufreinigungen der verwendeten Materialien.....	189
5.2.1	Aufreinigung des Ethylenoxids.....	189
5.2.2	Aufreinigung des Isoprens	189
5.2.3	Aufreinigung des ϵ -Caprolactons.....	189
5.3	Allgemeine Synthesevorschriften zur Darstellung der Polymere.....	190
5.3.1	Darstellung des Diphenylmethylkaliums	190
5.3.2	Darstellung des Polyisopren-Homopolymers.....	190
5.3.3	Darstellung des Polyisopren-Polyethylenoxid-Blockcopolymer.....	191
5.3.4	Darstellung des Polyethylenoxid-Homopolymers	191
5.3.5	Darstellung des Polyethylenoxid-Polylactid-Blockcopolymer.....	191
5.3.6	Darstellung des Polycaprolacton-Homopolymers.....	192
5.4	Darstellungen der niedermolekularen Verbindungen.....	193
5.4.1	Darstellung des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl- <i>N</i> -3-triethoxysilylpropylaminopropanoats.....	193
5.4.2	Darstellung der 1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -acetyl- <i>D</i> -Galactose	193
5.4.3	Darstellung des Tetra- <i>O</i> -acetyl- α - <i>D</i> -galactosylbromids	194
5.4.4	Darstellung des 2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl- β - <i>D</i> -galactopyranosylazids.....	194
5.4.5	Darstellung des 1-Azido-1-deoxy- β - <i>D</i> -galactopyranosids.....	195
5.4.6	Darstellung des <i>N</i> -Boc-2-bromoethylamins.....	195
5.4.7	Deacetylierung des STZ-Derivates C.....	196
5.5	Funktionalisierung der Polymere.....	196
5.5.1	Biotinylierung von PEO-PLA und PEO-PCL.....	196
5.5.2	Darstellung von PI-PEO-NW12-Ether-NH ₂	197
5.5.3	DMT-MM vermittelte SUR1-Anbindung an PI-PEO-NW12-Ether-NH ₂	198

5.5.4	Fluoreszenzmarkierung von PI-PEO-KV-2.1-OH mit Thionaphthol und 7-Mercapto-4-Methyl-Cumarin	198
5.5.5	Darstellung von α -carbonsäurefunktionalisierte PI-PEO und PB-PEO	199
5.5.6	Darstellung von α -alkinfunktionalisiertes PI-PEO.....	200
5.5.7	CuAAc-vermittelte Kohlenhydratanbindung an diverse Blockcopolymere	200
5.5.8	DMT-MM-vermittelte Kohlenhydratanbindung an diverse Blockcopolymere	201
5.5.9	Darstellung von H ₂ N-PEO-PCL-VIB3-TBDMS	202
5.5.10	Darstellung des α -alkinfunktionalisierten PEO-PCL-VIB3-TBDMS.....	202
5.5.11	Darstellung von PI _(NH₂) -PEO-NW15-OH.....	202
5.5.12	Darstellung von PB-PEO-2-UP365.....	203
5.5.13	Darstellung des PCL-MR-01-DETA's	203
5.5.14	Darstellung des aldehydfunktionalisierten PI-PEO-20,2	204
5.6	Ligandennachweis auf der Oberfläche von Polymersomen	205
5.6.1	NeutrAvidin-Biotin-Nachweis auf der Oberfläche von Polymersomen	205
5.7	Hydrolyse-Versuche der Polyesterblockcopolymere	205
5.7.1	Hydrolyse-Versuche der Polyesterblockcopolymere mit Natriummethanolat.	205
5.7.2	Hydrolyse-Versuche der Polyesterblockcopolymere mit Hydrazinhydrat.....	206
5.7.3	Saure Hydrolyse der Polyesterblockcopolymere	206
5.8	Einkapselung von verschiedenen Komponenten in Polymermatrizen	206
5.8.1	Einkapselung des Perfluoro-15-krone-5-ethers in eine PEO-PLA-Matrix	206
5.9	Experimente in mikrofluidischen Kanälen	207
5.9.1	Herstellung der PDMS-basierten Mikrofluidikchips mittels „ <i>soft-lithographie</i> “ 207	207
5.9.2	Verglasung der MF-Kanäle	207
5.9.3	Säurefunktionalisierung der aminofunktionalisierten MF-Kanäle.....	208
5.9.4	Avidinbeschichtung der säurefunktionalisierten MF-Kanäle	208
5.9.5	Lektinbeschichtung der avidinbeschichteten PDMS-MF-Kanäle.....	209
5.9.6	Überstrukturbildung des seitenkettenfunktionalisierten Blockcopolymers mittels hydrodynamischer Fokussierung.....	209
5.9.7	Immobilisierung von aldehydfunktionalisierten PI-PEO-Polymersomen in aminofunktionalisierten MF-Kanäle	210
5.9.8	Immobilisierung von biotinylierten PEO-PLA-Polymersomen in avidinbeschichteten MF-Kanälen.....	210
5.9.9	Immobilisierung von Kohlenhydrat gebundenen PEO-PLA-Polymersomen in lektinbeschichteten MF-Kanälen.....	210

6	Zusammenfassung	211
7	Summary	214
8	Literaturverzeichnis	217
9	Abbildungsverzeichnis	225
10	Tabellenverzeichnis	232
11	Gefahren- und Sicherheitshinweise ^[231-233]	233
11.1	Piktogramme und Kodierungen	233
11.2	H- und P-Sätze nach CLP-Verordnung	233
11.2.1	H200-Reihe: Physikalische Gefahren	233
11.2.2	H300-Reihe: Gesundheitsgefahren	234
11.2.3	H400-Reihe: Umweltgefahren	235
11.2.4	P 100-Reihe: Allgemeines	236
11.2.5	P 200-Reihe: Prävention	236
11.2.6	P 300-Reihe: Reaktion	237
11.2.7	P 400-Reihe: Aufbewahrung	240
11.2.8	P 500-Reihe: Entsorgung	240
12	Übersicht der verwendeten Chemikalien ^[231-233]	241
13	Danksagung	245
14	Erklärung	247

Abkürzungsverzeichnis

δ	chemische Verschiebung
$[I]_0$	eingesetzten Initiatorkonzentration
$[P]$	Konzentration der aktiven Kettenenden
$[\eta]$	intrinsischen Viskosität
„So“	Lösungsmittel (engl. solvent)
μm	Mikrometer
a_0	Oberflächenbedarf der Kopfgruppen
ADP	Adenosindiphosphat
APTES	3-Aminopropyltriethoxysilan
AROP	anionische ringöffnende Polymerisation
ATP	Adenosintriphosphat
B	Polymersomen
B_0	Magnetfeld
BL	β -Butyrolacton
BR	Bacteriorhodopsin
BuNa	Butadien und Natrium
C	Zylindermizellen
CAD	computer-aided design
CCD	Charge-coupled Device
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol
CL	ϵ -Caprolacton
CLSM	Konfokale Laser-Rastermikroskopie
CMC	kritische Mizellenkonzentration
cryoTEM	Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie
CSS	Kern-Schale-Schale
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition
D	Dispersitätsindex
d	charakteristische Länge des fluiden Systems

D_{Diff}	Diffusionskoeffizient
DEET	Diethylether
DETA	Diethylentriamin
ΔG_p	freie Polymerisationsenthalpie
DLS	dynamische Lichtstreuung
DMF	Dimethformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMT-MM	4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholiniumchlorid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPM	Diphenylemthyl
DPMK	Diphenylmethylkalium
DX	1,4-Dioxan-2-on
EDCI	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide-hydrochlorid
$Elut_{Vol}$	Elutionsvolumen
EM	Elektronenmikroskopie
EO	Ethylenoxid
EPR	enhanced permeability and retention
ER	Endoplasmatische Retikulum
F	elektrisches Feld
f_{Reib}	Reibungskoeffizient
f	Volumenanteil
FCC, BCC	kubisch gepackte Kugelmizellen
FDA	„Food and Drug Administration“ - behördliche Lebensmittelüberwachung und die Arzneimittelzulassungsbehörde der Vereinigten Staaten
FID	free induction decay
FITC-Nav	Fluoresceinisothiocyanat-markiertem NeutrAvidin
FLM	Fluoreszenzmikroskopie
FT	Fourier-Transformation
g	Gramm
G	Gyroid

Abkürzungsverzeichnis

Gew-%	Gewichtsprozent
GPC	Gelpermeationschromatographie
GUV	gigant unilamellar vesicles
H _{Ober}	mittlere Oberflächenkrümmung
H _{FWHM}	Halbwertsbreite
χ	Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameter
h	Plancksche Wirkungsquantum
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HEX	hexagonal gepackte Zylindermizellen
HOMO	höchsten besetzten Molekülorbital
H _P	Polymerisationsenthalpie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HPMA	Poly-[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide]
Hz	Hertz
I	Spinquantenzahl
IC	innere Umwandlung
ISC	intersystem-crossing
JNK	c-Jun N-terminale Kinasen
JPIV	JAVA PARTICLE IMAGE VELOCIMETRY
K	Gauß'sche Oberflächenkrümmung
k	Boltzmann-Konstante
k _{app}	apparenten Geschwindigkeitskonstante
kcal	Kilocalorie
K _d	Bruchteil
kDa	Kilodalton
kJ	Kilojoule
k _p	Geschwindigkeitskonstant der Polymerisation
kV	Kilovolt
LA	Lactid

Abkürzungsverzeichnis

LAM	lamellare Phasen
l_c	Konturlänge
LUV	large unilamellar vesicles
M	molare Masse
MALDI-ToF	matrixassistierte Laserdesorptionsionisations-Flugzeitmassenspektrometrie
MF	Mikrofluidik
MLAM,	modulierte Lamellen
$[M]_t$	Monomerkonzentration
MLV	multilamellar large vesicles
mM	Millimolar
MMIHC	MF-System für parallele Immunhistochemie
M_n	Zahlenmittel des Molekulargewichts
MRT	Magnetresonanztomographie
MTES	Triethoxymethylsilan
MTHF	2-Methyltetrahydrofuran
MVV	multivesicular vesicles
MW	Molekulargewicht
M_w	Gewichtsmittel des Molekulargewichts
n	normal
v	Fließgeschwindigkeit
n	Brechungsindex
P_n	Polymerisationsgrad
PLAM	perforierte Lamellen
NA	numerische Apertur
N_A	Anzahl der Polymerketten
NK	Naphtylkalilium
N_L	Loschmidt'sche Zahl
nm	Nanometer
NMR	kernmagnetischen Resonanz (engl. nuclear magnetic resonance)

μ	magnetisches Moment
OLV	oligolamellar large vesicles
P	Packungsparameter
PAA	Polyacrylsäure
P_{aq}	äquivalente Druck
PB	Polybutadien
PB-PEO	Polybutadien- <i>b</i> -Polyethylenoxid
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PDI	Polydispersitätsindex
PDMS	Polydimethylsiloxan
PEI	Polyethylenimin
PEO	Polyethylenoxid
PEO-PLA	Polyethylenoxid- <i>b</i> -Polylactid
PGL	Polyglycolid
PI	Polyisopren
PI-PEO	Polyisopren- <i>b</i> -Polyethylenoxid
PLA	Polylactid
PMAA	Polymethacrylsäure
ppm	parts per million
PS	Polystyrol
P_{Spin}	Kernspin
\vec{q}	Streuvektor
QD	Quanten-Dot
R	Reaktionsgeschwindigkeit
R_{disk}	Radius der Scheibenmizelle
Re	Reynolds-Zahl
REM	Rasterelektronenmikroskopie
R_H	hydrodynamische Radius
R_p	Polymerisationsgeschwindigkeit

R_{ves}	Radius des gebildeten Polymersoms
S	sphärischen Mizellen
SAPK	stress-activated phospho-kinases
SEC	Größenausschluss-Chromatographie
sec	sekundär
SEM	scanning electron microscopy
S_p	Entropieänderung
SPIO	superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln
STZ	Streptozotocin
SUV	small unilamellar vesicles
T	Triplettzustand
K	absolute Temperatur [K]
T_c	„ceiling-Temperatur“
$t_{Diffusion}$	Diffusionszeit
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethylorthosilikat
<i>tert.</i>	tertiär
THF	Tetrahydrofuran
$t_{Konvektion}$	Mischzeit
TMR-B	Tetramethylrhodamin- <i>o</i> -hydroxymethylphenyl-Boronsäure
U	Uneinheitlichkeit des Polymers
u	Gleichgewichtsfeld
UV	Ultraviolett
V	Volumen
Vis	Visual
V_L	Larmorfrequenz
v_m	mittleren Geschwindigkeit
w	Gewichtsanteil eines Polymerstranges
x_p	Monomerumsatz

Y	Y-verzweigte Struktur
Z	Aggregationszahl
γ	Elastizität der Polymersomenmembran
γ_{gyro}	gyromagnetisches („kreiselmagnetisches“) Verhältnis
δ_{Schl}	Schlupflänge
η	Viskosität
θ	Kontaktwinkel
Θ	Streuwinkel
λ_0	Wellenlänge
ρ	Dichte
σ	Abschirmungskonstante

1 Einleitung

Polymere sind aus unserem heutigen Alltag nicht mehr wegzudenken. Ähnlich wie andere Werkstoffklassen in der kulturgeschichtlichen Entwicklung der Menschheit wie die Keramik in der Steinzeit über die Bronze- und die Eisenzeit eine entscheidende Rolle gespielt haben, so dominieren heute die Polymere den technischen und zivilisatorischen Fortschritt. Keine Materialklasse hat das 20. Jahrhundert so sehr geprägt wie die vollsynthetischen Polymere, die auf Grundlage der Arbeiten unter anderem von *HERMANN STAUDINGER* (Nobelpreis 1953) möglich geworden sind.^[1] Heutzutage beschäftigt sich die Polymerchemie zunehmend mit Strukturen, die im mesoskopischen Bereich von 1–1 000 nm liegen.^[2] In der modernen Polymerchemie ist eine Vielzahl von „lebenden“ Polymerisationsmethoden bekannt, welche die gezielte Synthese von Polymeren mit definierten Molekulargewichten, chemischen Zusammensetzungen und Strukturen ermöglichen.^[3] Die vielfältigen Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten der Polymere beruhen auf ihrer molekularen Architektur. Polymere sind Kettenmoleküle, welche durch die Verknüpfung von kleineren Bausteinen, den Monomeren, aufgebaut sind. Wird ein hydrophiles und ein hydrophobes Homopolymer kovalent miteinander verbunden, entsteht ein amphiphiles Blockcopolymer. Diese gegensätzlichen Eigenschaften der einzelnen Blöcke ermöglichen durch Selbstorganisation die Bildung von geordneten Überstrukturen.^[4-10] Dabei kann ein Blockcopolymer in wässrigen Systemen aufgrund der Formanisotropie bei bestimmten Konzentrationen sphärische oder zylindrische Mizellen sowie Polymersomen bilden. Diese Überstrukturen eröffnen durch ihre Möglichkeiten kompatible Stoffe in sich aufzunehmen, vielfältigste Anwendungen in erster Linie im medizinischen und pharmazeutischen Bereich. Vor allem als mögliches Wirkstofftransportsystem, nach dem Beispiel des von *PAUL EHRLICH* vorgestellten Konzept der *MAGIC BULLET*^[11], sind in den letzten Jahren enorme Fortschritte erzielt worden.^[12-15] Die meisten klinisch verwendeten Medikamente sind überwiegend niedermolekulare Verbindungen, die nur eine kurze Halbwertszeit im Blut haben und sich gleichmäßig durch freie Diffusion im gesamten Körper verteilen. Dadurch kommt es zu einer relativ geringen Konzentration des Wirkstoffes am Zielort und eventuell zu Nebenwirkungen im gesunden Gewebe. Um solche Defizite zu umgehen, wurde von *HELMUT RINGSDORF* ein Konzept eines allgemeinen Wirkstofftransportsystems vorgestellt, bei dem sowohl die Wirkstoffe als auch die bioaktiven Liganden über Linkergruppen an das Polymer gebunden sind.^[16-18] Dabei sind vor allem drei Aspekte zu betrachten: der Wirkstofftransport (*drug delivery*), das Wirkstoff-Targeting (*drug targeting*) und die Wirkstofffreisetzung (*drug release*).^[2] Beim Wirkstofftransport geht es um die physikochemischen

Eigenschaften des Transportsystems, die den Transport vom Verabreichungsort über biologische Barrieren zum eigentlichen Wirkungsort ermöglichen. Dabei sind die Themen der Aufnahme des Wirkstoffes als auch die Toxikologie und die Stabilität des Transportsystems im Fokus.^[13] Bei der Aufnahme sind nicht nur Wirkstoffe, sondern auch andere Substanzen von großem Interesse. Nanopartikel und fluorhaltige Substanzen finden ihre Anwendung bei bildgebenden Verfahren in der medizinischen Diagnostik.^[19-22] Beim Wirkstoff-Targeting soll mit Hilfe der polymergebundenen bioaktiven Liganden, die selektiv an zelluläre Rezeptoren binden, das Wirkstofftransportsystem zielgerichtet an den Wirkungsort gebracht werden. Dabei ist vor allem die Anbindung der Liganden^[23-24], wie z. B. Antikörper^[25-27], Kohlenhydrate und Vitamine^[13] an die Polymere ein großes Aufgabengebiet. Ein weiterer wichtiger Aspekt in diesem Zusammenhang ist die Betrachtung des Targeting-Prozesses des Wirkstofftransportsystems an einen spezifischen Rezeptor^[22, 26], damit die physikalischen und chemischen Mechanismen der Wechselwirkung eines Transportsystems mit Proteinen oder sogar Zellen besser verstanden werden können.^[28] Mikrofluidische Kanäle bilden mit ihren Dimensionen und Geometrien eine ideale räumliche Grundlage für ein biologisches Modellsystem. Bei der Wirkstofffreisetzung geht es um die Kontrolle des Freisetzungsprozesses, unter welchen chemischen, physikalischen und physiologischen Bedingungen das Transportsystem den Wirkstoff frei gibt.

Ziel dieser Arbeit ist die Synthese und Verwendung von unterschiedlichen und teils biokompatiblen Blockcopolymeren, die aufgrund ihrer Blocklängenverhältnisse Mizellen oder vesikuläre Überstrukturen bilden konnten. Die Polymere wurden zum einem *pre-* oder *post-assembly* mit verschiedenen bioaktiven Liganden, wie diverse Kohlenhydrate, einem SUR1-Pharmacophore, einem Vitamin und einem Protein, kovalent als auch nicht-kovalent verknüpft. Einige dieser funktionalisierten Blockcopolymere wurden im Bereich Targeting bei verschiedenen Immobilisierungsversuchen im Mikrofluidikkanal getestet. Zum anderen sollte die Aufnahme und Freisetzung eines Wirkstoffes oder eines Kontrastmittels für ein Modellsystem im Bereich Wirkstofftransport oder diagnostischer Bildgebung untersucht werden.

2 Theoretischer Hintergrund

2.1 Polymere

2.1.1 Einteilung der Polymere

Polymere sind makromolekulare organische Verbindungen, die entweder aus abgewandelten Naturstoffen gewonnen werden oder aus niedermolekularen Grundbausteinen, sog. Monomeren (beispielhaft A und B genannt), aufgebaut sind.^[29] Ihre molare Massen (M) liegen in der Regel zwischen 10^3 g/mol und 10^7 g/mol, die Dicke eines Polymerstranges beträgt in etwa 0,3 nm (= 3 Å) und die Länge liegt zwischen 3– 100 000 nm.^[30] Eine Klassifizierung dieser Verbindungen kann auf drei verschiedene Weisen geschehen. Sie können zum Beispiel nach ihrer Herkunft und Herstellung eingeteilt werden. Dabei werden die Polymere in drei Hauptgruppen eingegliedert. Die erste Gruppe besteht aus den natürlichen Polymeren, wie zum Beispiel Polysaccharide, Eiweiß, Naturkautschuk, Stärke und Nukleinsäuren. Die zweite Gruppe ist die der modifizierten Naturstoffe, zu der die Viskoseide, die Zellwolle, das Zelluloid und das Papier gehören. In der dritten Gruppe werden die synthetischen Polymeren zusammengefasst. Zu ihnen gehören unter anderem die Thermoplasten und die Duroplasten.^[29, 31] Eine weitere Klassifizierung der Makromoleküle kann auch über die Gesamtstruktur des Polymers erfolgen, die entweder linear, verzweigt, vernetzt oder sternförmig aufgebaut sein kann. Die letzte Einteilung der Polymere erfolgt, wie in Abbildung 1 schematisch dargestellt, nach der Anzahl und der Anordnung der Monomere: Zuerst werden die Polymere entsprechend der Zahl ihrer verschiedenen Monomereinheiten unterschieden. Besteht ein Polymer nur aus einer Sorte von Monomeren, gehört es zu der Klasse der Homopolymere. Ist es dagegen aus zwei verschiedenen Monomereinheiten aufgebaut, die kovalent miteinander verbunden sind, ist es ein Copolymer. Ein Polymer, das aus mindestens drei unterschiedlichen Monomeren aufgebaut ist, wird als Terpolymer bezeichnet.^[31] Nachdem die Polymere nach der Anzahl ihrer Monomerarten eingeteilt worden sind, wird im nächsten Schritt nach der Anordnung der jeweiligen Monomereinheiten im Polymerstrang unterschieden. Diese Klassifizierung soll am Beispiel der Copolymere in Abbildung 1 gezeigt werden. Dabei können die Monomere blockförmig, alternierend, statistisch oder gepfropft miteinander verbunden sein. Ist ein Copolymer aus zwei unterschiedlichen Monomereinheiten blockförmig aufgebaut, wird weiterhin nach der Anzahl der Abschnitte der beiden Blöcke unterschieden. Besteht es aus zwei Abschnitten wird es als Diblockcopolymer bezeichnet. Ist das Polymer aber aus drei Abschnitten aufge-

baut, bei dem zwei gleiche Blöcke über einen anderen zentralen Block miteinander verbunden sind, wird es den Triblockcopolymeren zugeordnet. Die Anzahl der aufeinanderfolgenden Abschnitte kann bis hin zu Multiblockcopolymeren ausgeweitet werden.^[32-36] Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten und verwendeten Polymere gehören hauptsächlich zu den Diblockcopolymeren.

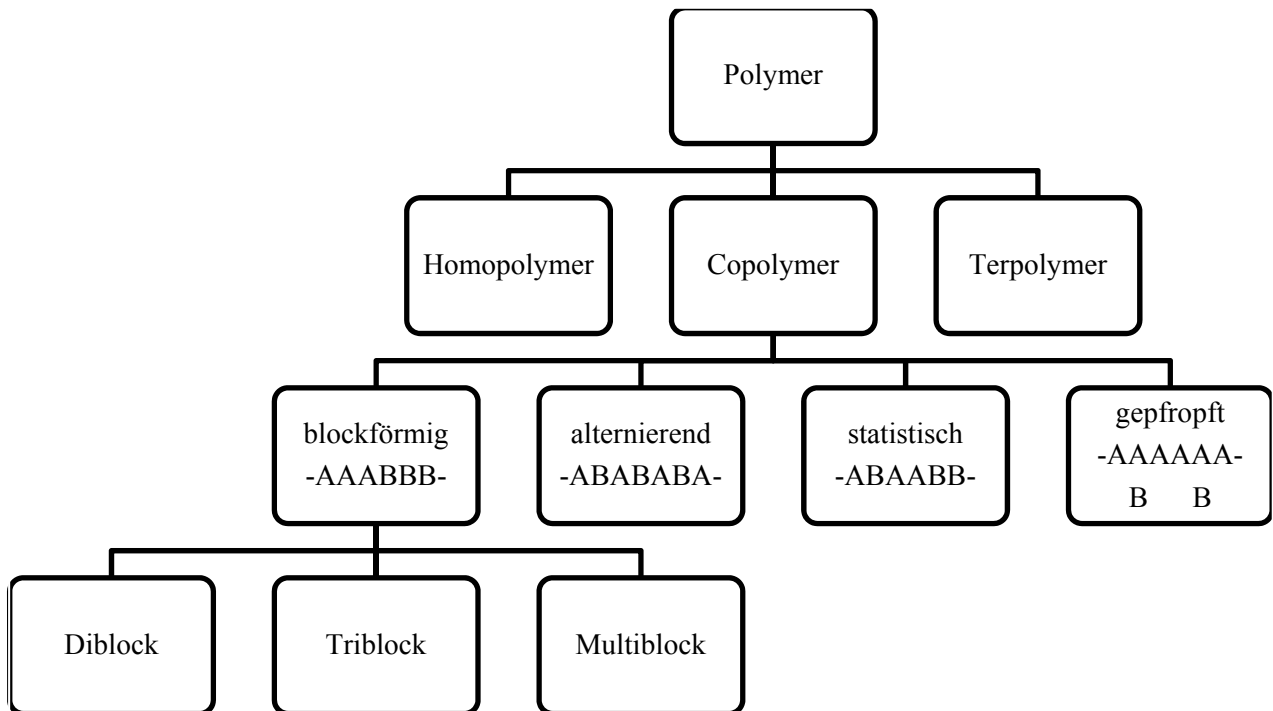


Abbildung 1: Einteilung der Polymere nach der Anzahl und Anordnung der Monomere, basiert auf Lit.^[32]

2.1.2 Synthese von Polymeren

Die Synthesemöglichkeiten von Makromolekülen können in drei verschiedenen Polymerbildungsreaktionen eingeteilt werden: die Polymerisation (auch Kettenreaktion genannt), die Polyaddition (auch Stufenreaktion genannt) und die Polykondensation.^[29, 31, 37] Damit ein Polymer aber gebildet werden kann, müssen in der Regel bestimmte strukturelle, thermodynamische und kinetische Voraussetzungen erfüllt sein. Unter der strukturellen Voraussetzung der Monomere wird die Funktionalität verstanden. Damit ist gemeint, dass ein Monomer funktionelle Gruppen, wie zum Beispiel Mehrfachbindungen, einem cyclischen Aufbau, Isocyanat- oder Alkoholgruppen aufweisen muss.^[38]

Bei den thermodynamischen Voraussetzungen muss die freie Polymerisationsenthalpie ΔG_p negativ sein.

$$\Delta G_p = \Delta H_p - T\Delta S_p < 0 \quad (1)$$

Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass der Aufbau einer Polymerkette zu einem besseren Ordnungsgrad führt als der freie ungeordnete Zustand der einzelnen Monomere. Deshalb wird die Entropieänderung ΔS_p negativ sein. Da die Polymerisationsenthalpie ΔH_p stets negativ ist (bis 160 kJ/mol), ist eine Polymerisation nur dann möglich, wenn für die Beträge $|T\Delta S_p| < |\Delta H_p|$. Ist $|T\Delta S_p| = |\Delta H_p|$, dann stehen die Aufbaureaktion und deren Abbau im Gleichgewicht. Die entsprechende Temperatur wird als „ceiling-Temperatur“ T_c bezeichnet.^[38]

$$T_c = \frac{\Delta H_p}{\Delta S_p} \quad (2)$$

Als kinetische Voraussetzung muss die Reaktion aufgrund der Reaktivität der einzelnen Monomere bzw. deren funktionellen Gruppen ausreichend schnell in Richtung Polymer ablaufen, um etwaige Konkurrenzreaktionen zu unterdrücken oder als Nebenprodukt zu belassen.^[38]

Sind die Voraussetzungen erfüllt, kann eine der drei genannten Polymerbildungsreaktionen ablaufen. Unter der Polykondensation wird eine Stufenreaktion verstanden, bei der die Polymere unter Abspaltung von Nebenprodukten, wie zum Beispiel Wasser bei der Nylonherstellung, gebildet werden. Im Gegensatz dazu werden bei der Polyaddition keine Nebenprodukte gebildet, sondern die Polymere, wie zum Beispiel bei der Polyurethanherstellung, entstehen durch „Addition“ der Monomere. Unter einer Polymerisation werden Kettenreaktionen zusammengefasst, bei denen die reaktiven Monomere, wie z. B. ungesättigte Reaktanden, ohne Bildung von Reaktionsnebenprodukten, miteinander verknüpft werden. Eine Polymerisation ist entsprechend ihrer Kinetik aus drei Reaktionsteilschritten aufgebaut^[31, 39]:

- Startreaktion
- Kettenfortpflanzungsreaktion
- Abbruchreaktion

Je nach Art der reaktionsfähigen Teilchen, welche die Polymerisation auslösen, wird zwischen den folgenden Polymerisationsarten unterschieden^[39]:

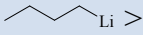
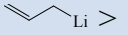
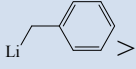
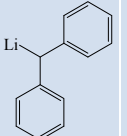
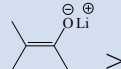
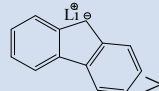

- radikalische Polymerisation
- kationische Polymerisation
- anionische Polymerisation
- Polymerisation mit Übergangsmetallverbindungen

In dieser Arbeit wurde für die Herstellung der Polymere die anionische Polymerisation verwendet, daher wird im Folgenden genauer auf diese Polymerisationsart eingegangen.

2.1.3 Anionische Polymerisation

Die anionische Polymerisation, auch „*lebende Polymerisation*“ genannt, wurde erstmals von *MICHAEL SZWARC* beschrieben.^[40] Diese Polymerisation wird durch ein Anion ausgelöst und verläuft über ionische Zwischenstufen. Bei einer schnellen Startreaktion und im weiteren Verlauf der Kettenfortpflanzung greift das Anion in einer nukleophilen Addition ein Monomer an. Die Auswahl an Monomeren für eine anionische Polymerisation ist beschränkt, da nur Doppelbindungen mit elektronenziehenden Substituenten, wie zum Beispiel Styrol, Vinylpyridin, Alkylacrylat, Butadien sowie Isopren oder Ringe verwendet werden können. Anionische polymerisierbare Ringe sind zum Beispiel Ethylenoxid (EO), Propylenoxid (PO), ϵ -Caprolacton (CL) und Lactid (LA). Als Initiatoren werden unter anderem monofunktionale Organometallverbindungen, wie zum Beispiel *n*-Butyllithium, *sec*-Butyllithium sowie *Grignard*-Verbindungen und Alkalialkoholate verwendet. Es kommen aber auch bifunktionelle Elektronentransferverbindungen, beispielsweise das BuNa^[41] (Butadien und Natrium) und auch radikalische anionische Initiatoren, wie Naphtylkalium^[40] (NK) oder Diphenylmethylkalium^[42] (DPMK), zum Einsatz. Die Reaktivität des Initiators hängt unter anderem von der Nukleophilie des Anions ab, diese wiederum korreliert mit dem pK_A-Wert. In der Tabelle 1 sind die pK_A-Werte verschiedener Lithiumorganylverbindungen aufgelistet. Wie zu erkennen ist, nimmt die Nukleophilie ab, wenn der pK_A-Wert sinkt.^[43]

Tabelle 1: pK_A-Werte verschiedener Lithiumorganylverbindungen^[43]

	Butyl	Allyl	Benzyl	DPM	Enolate	Fluorenyl	Alkoxid
pK _A	~56	~44	43	32	~30	23	~17
							

Damit die Startreaktion ablaufen kann, muss neben der Nukleophilie des Initiators die Elektrophilie des Monomers gleich stark oder etwas schwächer sein. Ein großer Unterschied zu anderen Polymerisationsarten ist, dass das initiiierende Anion ein Gegenion als Kation mit in die Reaktion bringt. Dieses Kation hat einen Einfluss auf die Polymerisationsgeschwindigkeit und die Polymerstruktur. Des Weiteren ist es für die anionische Polymerisation extrem wichtig, dass zum Erhalt des Anions Luftfeuchtigkeit und Sauerstoff ausgeschlossen werden, da diese frühzeitig zum Abbruch der Polymerisation führen können. Um diese Bedingungen zu erhalten, wurde für diese Polymerisationsart eine in Abbildung 2 gezeigte spezielle Glasapparatur entwickelt.

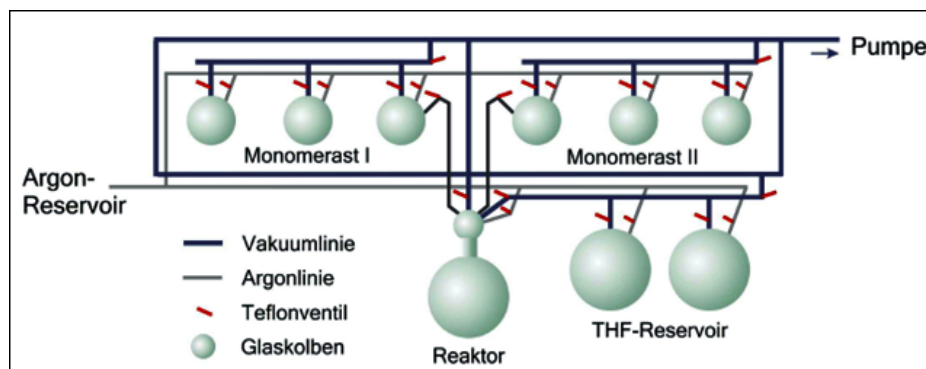


Abbildung 2: Schematischer Aufbau einer Apparatur für anionische Polymerisation^[44]

Bei einer idealen anionischen Polymerisation mit einer schnellen Startreaktion gilt für die Polymerisationsgeschwindigkeit R_p in Abhängigkeit von der Monomerkonzentration $[M]_t$:

$$R_p = -\frac{d[M]}{dt} = k_p [P^*] [M] \quad (3)$$

Dabei ist k_p die Geschwindigkeitskonstante der Polymerisation und $[P^*]$ die Konzentration der aktiven Kettenenden. Bleibt $[P^*]$ konstant, dann ist sie gleich der eingesetzten Initiatorkonzentration $[I]_0$ und führt nach einer Integration zum Zusammenhang der Gleichung (4), einer Kinetik erster Ordnung.

$$\ln \frac{[M]_0}{[M]_t} = k_p [P^*] t = k_{app} t \quad (4)$$

Diese Zeit-Umsatz-Funktion ergibt, wie in Abbildung 3, graphisch dargestellt, eine Gerade mit k_{app} , der apparenten Geschwindigkeitskonstante, als Steigung. Diese Beziehung besitzt nur dann Gültigkeit, wenn keine Abbruchreaktionen auftreten. Andernfalls muss die Steigung der Zeit-Umsatz-Funktion für längere Reaktionszeiten kontinuierlich abnehmen.

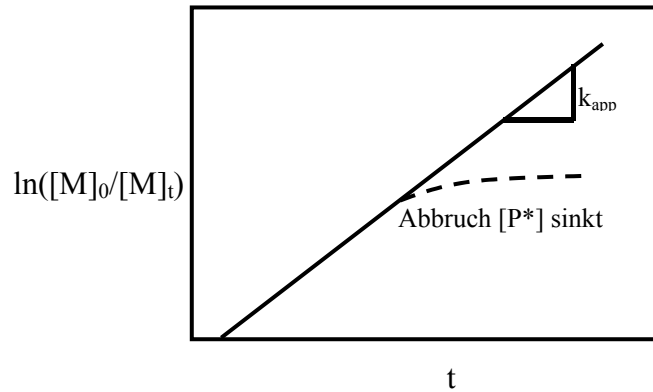


Abbildung 3: Graphische Darstellung der Umsatz-Zeit-Funktion mit und ohne Abbruchreaktion

Bei lebenden Polymerisationen hängt das Zahlenmittel des Polymerisationsgrades P_n linear vom Monomerumsatz x_p ab^[45]:

$$P_n = \frac{[M]_0 - [M]_t}{[P]} = \frac{[M]_0}{[P]} x_p \quad (5)$$

Dabei ist $[P]$ die Anzahl der aktiven und inaktiven Polymerketten. Treten nun Übertragungsreaktionen auf, so steigt $[P]$ und die Steigung verringert sich, wie in Abbildung 4 dargestellt.^[46]

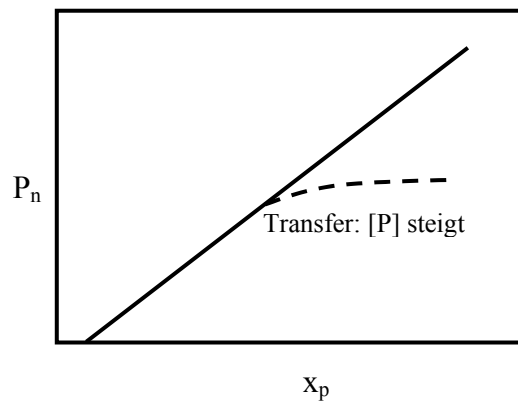


Abbildung 4: Graphische Darstellung des mittleren Polymerisationsgrades in Abhängigkeit vom Umsatz einer lebenden Polymerisation bzw. bei Auftreten von Transferreaktionen

Zusammenfassend gelten für die „lebende“ Polymerisation die von *QUIRK* und *LEE* aufgestellten sieben experimentellen Kriterien^[47]:

1. Die Polymerisation läuft solange, bis die ganze Monomermenge aufgebraucht ist. Das Hinzufügen eines weiteren Monomers führt zu einem Fortschreiten der Polymerisation.
2. Das numerische Zahlenmittel des Molekulargewichtes ist eine lineare Funktion der Umsetzung.
3. Die Anzahl der Polymermoleküle ist konstant, hängt aber von der Umsetzung ab.
4. Das Molekulargewicht wird von der Stöchiometrie der Reaktion kontrolliert.
5. Die hergestellten Polymere weisen eine enge Molmassenverteilung auf.
6. Blockcopolymere können durch eine sequentielle Hinzugabe von Monomeren hergestellt werden.
7. Die Endgruppenfunktionalisierung der Polymere kann mit quantitativen Ausbeuten verlaufen.

2.1.3.1 Anionische Vinyl- und anionische ringöffnende Polymerisationen

Nachdem die Voraussetzungen für die anionische Polymerisation aufgezeigt wurden, werden im Folgenden zwei Polymerisationstypen vorgestellt. Zum einem wäre da die anionische Vinylpolymerisation^[48] am Beispiel von Isopren und zum anderen die anionische ringöffnende Polymerisation (AROP) von Ethylenoxid und Lactid.

Die anionische Vinylpolymerisation von Isopren mit dem Initiator *sec*-Butyllithium kann, wie in Abbildung 5 gezeigt, zu Polyisopren mit vier verschiedenen Verknüpfungsstrukturen führen. Die Strukturen sind die *cis*-1,4-, *trans*- 1,4-, die 3,4- und die 1,2-Verknüpfungen.^[49]

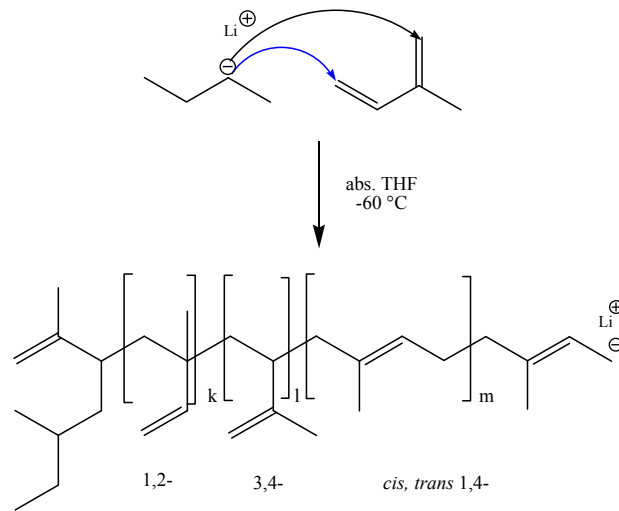


Abbildung 5: Vier verschiedene Verknüpfungsstrukturen von Polyisopren

Welche dieser Verknüpfungsmöglichkeiten bei der Polymerisation entstehen, ist von verschiedenen Reaktionsfaktoren abhängig. In Abhängigkeit des Lösungsmittels, der Struktur des Monomers und der bereits erwähnten Art des Gegenions des Initiators kann das wachsende Kettenende in verschiedenen Zuständen vorliegen. In Abbildung 6 sind die möglichen Zustände und Gleichgewichte des Gegenions mit der aktiven Polymerkette dargestellt. Dabei können die Ionen als Kontakt-Ionenpaar, solvat-getrenntes Ionenpaar oder als freie Ionen existieren. Die Lage der drei Gleichgewichte hängt im starkem Maße vom Gegenion und dem Lösungsmittel ab. Bei Polymerisationen mit höheren Temperaturen liegt vorwiegend der Zustand des Kontakt-Ionenpaars vor, bei tieferen Temperaturen treten hauptsächlich solvat-getrennte Ionenpaare auf. Bei allen drei Zuständen ist die Anlagerungsgeschwindigkeit des Monomers unterschiedlich. Bei einem solvat-getrennten Ionenpaar ist die Addition langsamer als an die freien Ionen. Im Vergleich dazu ist die Anlagerungsgeschwindigkeit eines Kontakt-Ionenpaars um drei Größenordnungen kleiner.^[50-52]

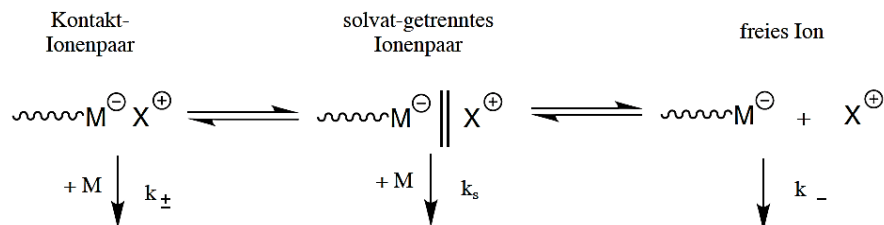


Abbildung 6: Mögliche Zustände und Gleichgewichte des Gegenions mit der aktiven Polymerkette^[52]

Ein weiterer bedeutender Faktor bei der anionischen Polymerisation ist die Art der Lösungsmittel. Tabelle 2 zeigt, welche Verknüpfungsstrukturen bei einer Polymerisationstemperatur von 25 °C in verschiedenen Lösungsmitteln entstehen. Die Lösungsmittel sind *n*-Heptan, Cyclohexan, *n*-Hexan, Benzol, Toluol, Diethylether (DEET), 2-Methyltetrahydrofuran (MTHF), Oxepan und Tetrahydrofuran (THF). Es fällt auf, dass mit dem Anstieg der Polarität des Lösungsmittels die vinylicke Struktur des Polymers immer mehr bevorzugt ist.^[53] So kommt es am Anfang der gezeigten Versuchsreihe, wie zum Beispiel bei *n*-Heptan oder sogar ohne Lösungsmittel, noch hauptsächlich zu einer 1,4-Addition, da das Lithiumion an der C-1'-Position lokalisiert ist (siehe Abbildung 7). Bei polaren Lösungsmitteln, wie z. B. bei THF, wird die 1,2- oder die 3,4-Addition bevorzugt, da die Ladungsdichte an der C-3'-Position des Polymers höher ist als an der C-1'-Position.^[48]

Tabelle 2: Verknüpfungen von Polyisopren bei der Polymerisation von Isopren mit dem Initiator *sec*-Butyllithium in verschiedenen Lösungsmitteln bei einer Polymerisationstemperatur von 25 °C^[53]

Versuchsnummer	Initiator [mol/L]	Lösungsmittel	Anteil in [%]			
			1,4- <i>cis</i>	1,4- <i>trans</i>	3,4	1,2
1	5	-	98	-	2	-
2	5	<i>n</i> -Heptan	95	2	3	-
3	4,6	Cyclohexan	92	5	3	-
4	5,3	<i>n</i> -Hexan	90	6	4	-
5	5	Benzol	72	20	8	-
6	5,2	Toluol	68	25	7	-
7	4,8	DEET	2	38	50	10
8	5	MTHF	-	22	58	20
9	5,3	Oxepan	-	20	60	20
10	4,9	THF	-	11	61	28

In Abbildung 7 ist das Reaktionsschema der 1,2 oder der 3,4-Addition an Polyisopren dargestellt. Die Bezeichnung „So“ steht für das Lösungsmittel. Durch die höhere Ladungsdichte an der C-3'-Position des Polymers kommt es, wie mit roten Pfeilen in der Abbildung angedeutet, bevorzugt zu einer 3,4-Addition. Es kann aber auch zu einer Addition von der C-1'-Position des Polymers an die C-2-Position des Monomeres kommen (blaue Pfeile), was dann zu einer 1,2-Verknüpfung führt.^[43]

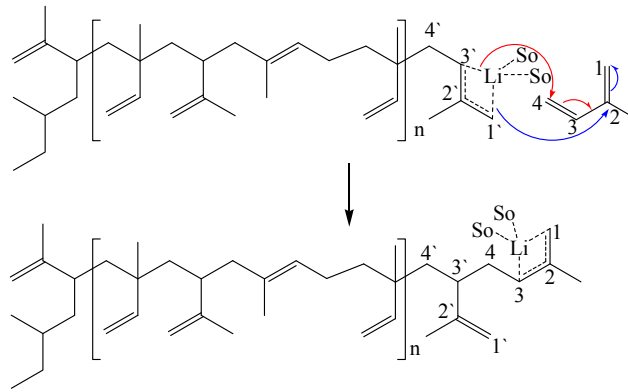


Abbildung 7: Reaktionsschema der 1,2- oder der 3,4-Addition an Polyisopren^[43]

Nachdem das Polyisopren-Homopolymer über die anionische Vinylpolymerisation hergestellt wurde, soll im Folgenden die von *STAUDINGER* realisierte anionische ringöffnende Polymerisation (AROP)^[31] am Beispiel von Ethylenoxid vorgestellt werden.^[54-55] Dafür wird, wie bereits schon erwähnt, das aktive Polyisopren-Anion als Makroinitiator mit Ethylenoxid, entsprechend der Abbildung 8 umgesetzt. Das Carbanion greift hier das cyclische Monomer nucleophil an, was zu einem heterolytischen Bindungsbruch führt. Bei diesem Polymerisationstyp kommt es durch die Polymerbildung zum Abbau der Ringspannung des Monomers der Monomere und zur Verschiebung des Anions. Vorher lag die negative Ladung immer als Carbanion vor, nach der Abbruchreaktion mit Ethylenoxid ist die Ladung in einem starken assoziierten Lithium-Alkoxid-Ionenpaar lokalisiert.

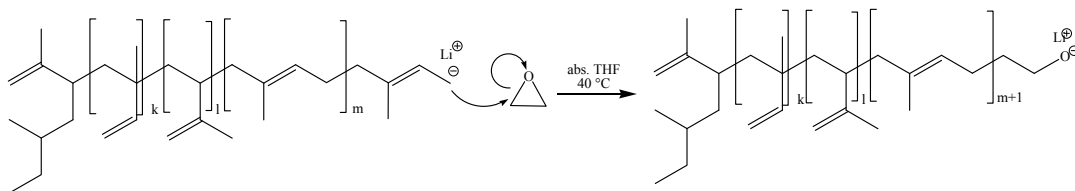


Abbildung 8: Abbruchreaktion des Polyisoprens mit Ethylenoxid.

Das Ethylenoxid kann nicht nur in einer anionischen ringöffnenden Polymerisation als Abbruchreagenz von PI-Homopolymeren genutzt werden, sondern auch durch entsprechende Initiatoren, wie Abbildung 9 zeigt, zu einem PI-PEO-Blockcopolymer^[56] oder sogar, entsprechend der Abbildung 10, zu einem Polyethylenoxid-(PEO)-Homopolymer umgesetzt werden.

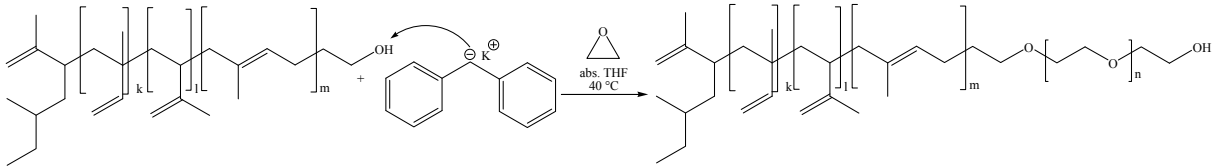


Abbildung 9: Synthese von einem PI-PEO-Blockcopolymer

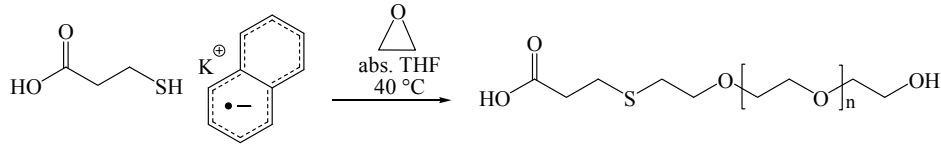


Abbildung 10: AROP von Ethylenoxid mit 3-Mercaptopropionsäure

Auch größere cyclische Verbindungen^[57-58], wie 6- bis 7-gliedrige Ringe, bei denen die Ringspannung nicht so groß ist, wie beim Ethylenoxid, können in einer AROP sowohl zu Homo- also auch Blockcopolymeren, wie am Beispiel von PEO-PLA in Abbildung 11 gezeigt, umgesetzt werden.

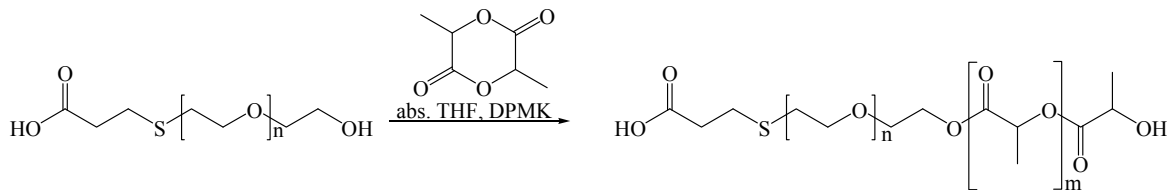


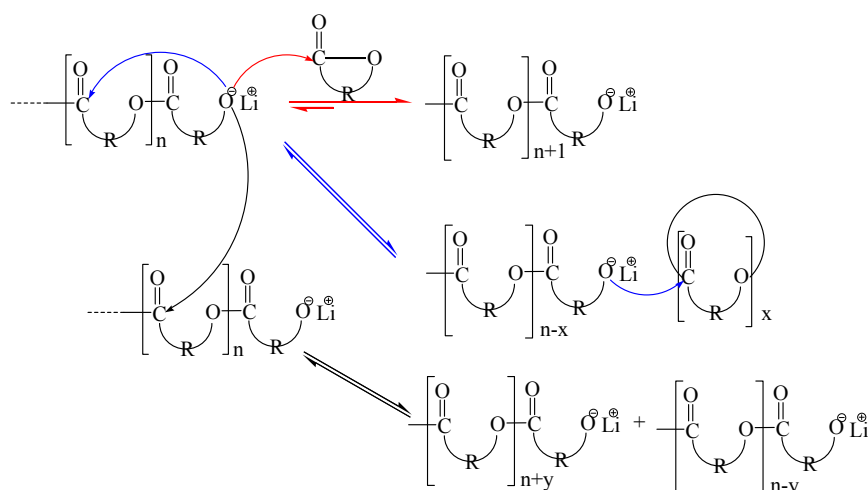
Abbildung 11: Synthese von Blockcopolymer PEO-PLA

Es gilt ebenso, dass die Polymerisation nur dann möglich ist, wenn die freie Enthalpie von Gleichung (1) negativ ist. Als Beispiele sollen hier die bereits genannten cyclischen Ester^[58] aufgeführt werden. In der Tabelle 3 sind einige thermodynamische Parameter der Polymerisation von cyclischen Estern bei 100 °C zusammengefasst. Neben den CL und dem LA werden auch die Polymerisationen von β -Butyrolacton (BL) und 1,4-Dioxan-2-on (DX) verglichen. Aus diesen Daten ist ersichtlich, dass bei der Polymerisation zwar die Entropie abnimmt, durch Aufhebung der Ringspannung aber eine negative Polymerisationsenthalpie zustande kommt.^[59]

Tabelle 3: Thermodynamische Parameter der Polymerisation von cyclischen Estern bei 100 °C^[59]

Monomer	Ringgröße	ΔH_P [kJ/mol]	ΔS_P [kJ/mol]
PL	4	-74,4	-51,0
LA	6	-22,9	-41,0
DX	6	-13,8	-45,0
CL	7	-13,9	-10,4

Dadurch dass beim entstehen des Polymers die Monomereinheiten über Esterbindungen miteinander verbunden sind, kann es, wie in Abbildung 12 dargestellt, zu drei verschiedenen Umesterungsreaktionen kommen. Es kann, wie mit den roten Pfeilen angedeutet, zu einem Kettenwachstum oder, wie mit den blauen Pfeilen gezeigt, zu einer intramolekularen Umesterung („backbiting“) mit einer eventuellen Cyclisierung kommen. Die letzte Reaktionsmöglichkeit ist, mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet, die intermolekulare Umesterung („scrambling“).^[58-59]

**Abbildung 12: Schematische Darstellung der AROP^[59]**

2.1.4 Molekulargewichtsverteilungen

Durch eine statistische Anbindung der Monomere an die aktiven Ketten bei einer anionischen Polymerisation, ist die Molekulargewichtsverteilung identisch mit einer *POISSON*-Verteilung.^[55] Bei anderen Polymerisationstypen, wie z. B. bifunktionelle Gleichgewichtspolykondensationen oder radikalische Polymerisationen, erhält man hingegen eher eine *SCHULZ-FLORY*-Verteilung.^[32, 60-61] Die beiden Verteilungen sind in Abbildung 13 graphisch dargestellt.

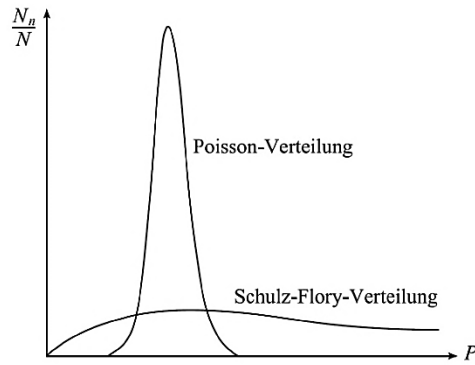


Abbildung 13: Graphische Darstellungen der *POISSON*- und *SCHULZ-FLORY*-Verteilungen^[32]

Da es nicht möglich ist, eine einheitliche exakte Masse des Polymers zu erhalten, werden verschiedene Mittelwerte herangezogen, um die Molekulargewichtsverteilung zu beschreiben. In Abbildung 14 wird beispielhaft eine Verteilung des Molekulargewichts eines synthetischen Polymers mit den verschiedenen Mittelwerten gezeigt, die im Folgenden näher erläutert wird.

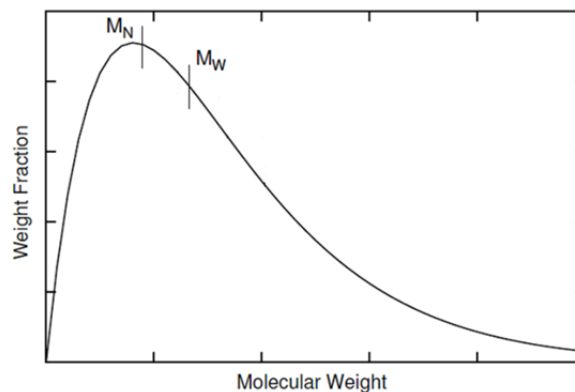


Abbildung 14: Eine schematische Darstellung einer Verteilung der Molekulargewichte zusammen mit den verschiedenen Mittelwerten, basiert auf Lit.^[44]

Das Zahlenmittel des Molekulargewichts M_N ist nur für diskrete Werte des Molekulargewichtes M_i zulässig, sofern diese ein Vielfaches des Monomergewichtes M_0 sind. Somit gilt für das Zahlenmittel:

$$M_N = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i} \quad (6)$$

Dabei sind N_i die Anzahl der Polymerketten und M_i die jeweiligen Molmassen.

Um das Gewichtsmittel des Molekulargewichts M_w zu bestimmen, wird die Gleichung (6) mit der Molmasse der Polymerketten M_i erweitert und erhält:

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} \quad (7)$$

Dabei ist

$$\frac{N_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} = w_i \quad (8)$$

Wobei w_i der Gewichtsanteil eines Polymerstranges ist. Mit diesem Zusatz vereinfacht sich die Gleichung (7) zu

$$M_w = \sum_{i=1}^{\infty} w_i M_i \quad (9)$$

Die beiden Mittelwerte der Molekulargewichtsverteilung stehen immer in folgender Reihenfolge zueinander: $M_w \geq M_N$.

Wird der Gewichtsanteil w_i mit der reziproken Dichte δ_i des Polymerstranges erweitert, ist es möglich, den Volumenanteil f_i zu bestimmen:

$$f_i = \frac{N_i M_i \delta_i^{-1}}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i \delta_i^{-1}} \quad (10)$$

Die beiden Mittelwerte der Molekulargewichtsverteilung stehen immer in nachstehender Reihenfolge zueinander $M_w \geq M_N$. Aus ihrem Verhältnis ist es möglich, ein Maß für die Breite der Verteilung der Molekulargewichte zu bestimmen. Dieses Verhältnis wird als Dispersitätsindex D bezeichnet und berechnet sich wie folgt:

$$D = \frac{M_w}{M_N} \quad (11)$$

Dieser Index liegt bei einer „lebenden“ anionischen Polymerisation meist im Bereich unter 1,1 bzw. 1,2.^[55]

2.2 Selbstorganisation von amphiphilen Blockcopolymeren

Unter dem Begriff der Selbstorganisation oder auch „*self-assembly*“ wird die Ausbildung definierter Strukturen über gerichtete, gegenseitige, nichtkovalente Wechselwirkungen der vorher einzeln vorliegenden Komponenten verstanden.^[2] Dieser Prozess ist vielleicht für die Entstehung des Lebens mitentscheidend gewesen sein.^[62] So ist es möglich, dass das bekannteste Beispiel aus der Biologie die Selbstorganisation der DNA-Doppelhelix aus zwei komplementären Oligonucleotiden.^[63] Amphiphile Blockcopolymeren sind aufgrund ihrer unterschiedlichen Eigenschaften auch in der Lage, in verdünnten selektiven Lösungsmitteln oberhalb der kritischen Mizellenkonzentration (CMC) durch Mikrophasenseparation sich selbst zu organisieren und definierte Überstrukturen zu bilden. Die dafür benötigten molekularen Voraussetzungen sind einer Seits die langreichweitige abstoßende Eigenschaften sowie anderer Seits die kurzreichweitige anziehende Kräfte (kovalente Bindung). Durch dieses gegensätzliche Kräftepaar kommt es, wie in Abbildung 15 dargestellt, zur Ausbildung von Domänen, bei denen ein Minimum der energetisch ungünstigen Wechselwirkung vorliegt.^[2]

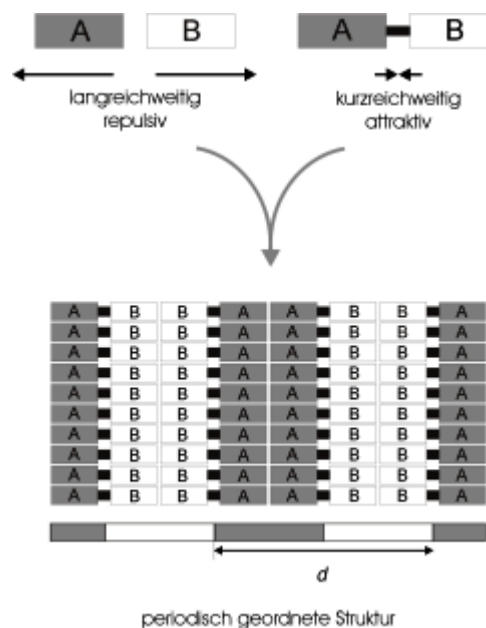


Abbildung 15: Schematische Darstellung der molekularen Voraussetzung zur Selbstorganisation von AB-Blockcopolymeren^[2]

Die Mikrophasenseparation von AB-Blockcopolymeren wird durch drei wichtige Parameter bestimmt. Diese sind der Polymerisationsgrad ($N = N_A + N_B$), die Zusammensetzung ($f = N_A / N$) und der Flory-Huggins-Wechselwirkungsparameter χ zwischen den beiden Blö-

cken. Je größer χ ist, desto unverträglicher sind die Blöcke, sodass es energetisch günstiger ist, wenn sie eine möglich kleine gemeinsame Fläche einnehmen. Bei der daraus resultierenden gestreckten Form entsteht bevorzugt eine planare Grenzfläche und damit streifenförmige oder lamellare Domänen. Ist aber eine Domäne kleiner als die andere, wie bei Blockcopolymeren, so ergibt sich eine gekrümmte Grenzfläche mit einem Krümmungsradius. Für unterschiedlich zusammengesetzte Blockcopolymere mit verschiedenen gekrümmten Grenzflächen ist es durch den Vergleich des Produktes χN und der Zusammensetzung möglich, das in Abbildung 16 gezeigte Phasendiagramm der möglichen Überstrukturen zu berechnen.^[2, 64]

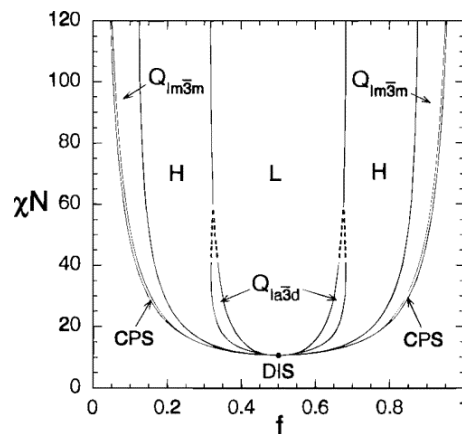


Abbildung 16: Berechnetes Phasendiagramm von Blockcopolymeren^[64]

Durch das Zusammenwirken anderer Parameter, wie der Konturlänge l_c , dem jeweiligen Volumen V und dem Oberflächenbedarf a_0 der Kopfgruppen, kann entsprechend der Abbildung 17 ein weiterer wichtiger Parameter bestimmt werden, der das Selbstorganisationsverhalten eines Blockcopolymeren beschreibt. Es handelt sich um den von *ISRAELACHVILI* eingeführten Packungsparameter P .^[65]

$$P = \frac{V}{a_0 l_c} \quad (12)$$

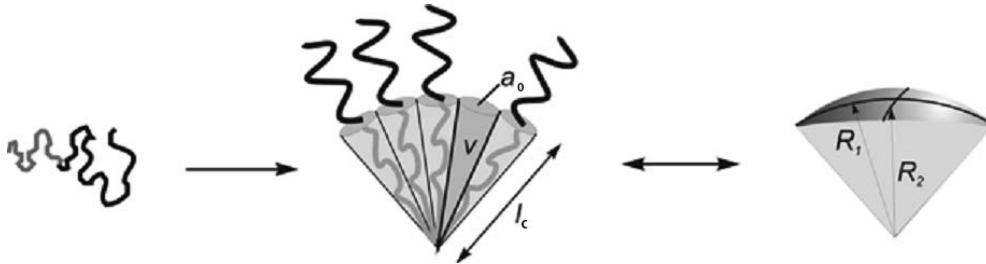


Abbildung 17: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem Packungsparameter und der Oberflächenkrümmung eines Amphiphiles, basiert auf Lit^[9]

Es ist auch möglich, den Packungsparameter anhand der gekrümmten Grenzflächen zu berechnen. Die mittlere Oberflächenkrümmung H_{Ober} und die Gauß'sche Oberflächenkrümmung K werden mittels der Radien R_1 und R_2 wie folgt beschrieben.^[9]

$$H_{Ober} = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (13)$$

$$K = \frac{1}{R_1 R_2} \quad (14)$$

Daraus ergibt sich für den Packungsparameter:

$$P = 1 - H_{Ober} l_c + \frac{K l_c^2}{3} \quad (15)$$

Anhand der im Packungsparameter berücksichtigten Informationen über das Blockcopolymer, kann entsprechend der Abbildung 18 eine Voraussage über die wahrscheinlichsten stabilsten Überstrukturen gemacht werden.^[66]

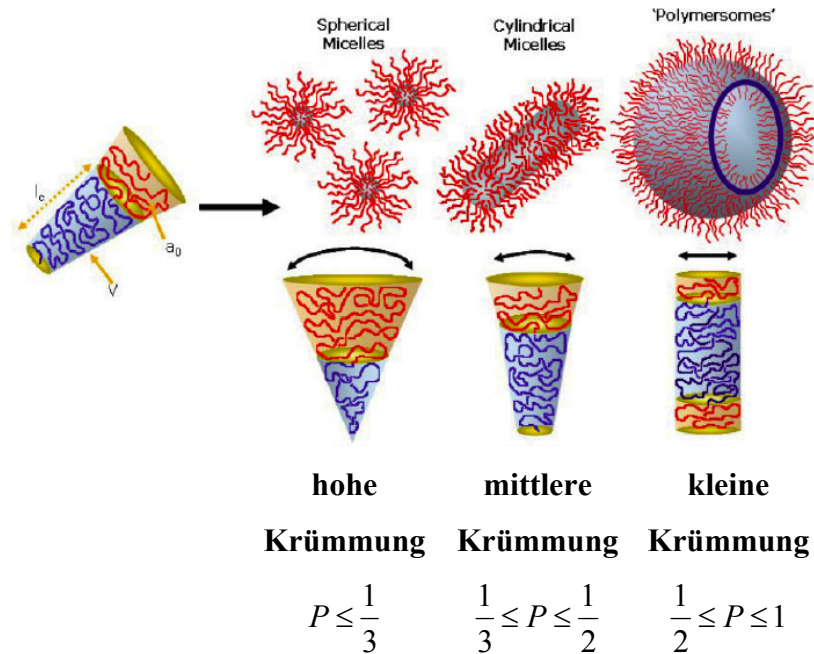


Abbildung 18: Verschiedene selbstgeordnete Strukturen eines amphiphilen Blockcopolymers in einem Block-selektiven Lösungsmittel^[66]

Aus Abbildung 18 ist ersichtlich, dass die Volumenanteile der beiden Blöcke eine entscheidende Rolle bei der zu bildenden Struktur spielen. Ist beispielsweise das Volumen des hydrophilen Blockes deutlich größer als der des hydrophoben Blocks so werden sphärischer Mizellen gebildet. Bei einem invertierten Verhältnis werden bevorzugt Polymersomen gebildet. Um Voraussagen zu können, welche Überstrukturen bevorzugt gebildet werden, muss der hydrophile Gewichtsanteil w_{PEO} im Verhältnis zum Polymerisationsgrad des hydrophoben Blockes betrachtet werden. In Studien konnte *FRANK S. BATES* den Einfluss jeweils der beiden Parameter auf die gebildeten Überstrukturen am Beispiel von Polybutadien-Polyethylenoxid-(PB-PEO)-Blockcopolymeren zeigen. In Abbildung 19 ist dieser Zusammenhang am Beispiel des Verhältnisses vom hydrophilen Gewichtsanteil w_{PEO} zum Polymerisationsgrad des hydrophoben Blockes dargestellt. Mit der Zunahme des Gewichtsteiles des hydrophilen Blockes verändern sich die gebildeten Überstrukturen von Polymersomen (B) über Y-verzweigte Strukturen (Y) und Zylindermizellen (C) bis hin zu sphärischen Mizellen (S).^[6, 67-68]

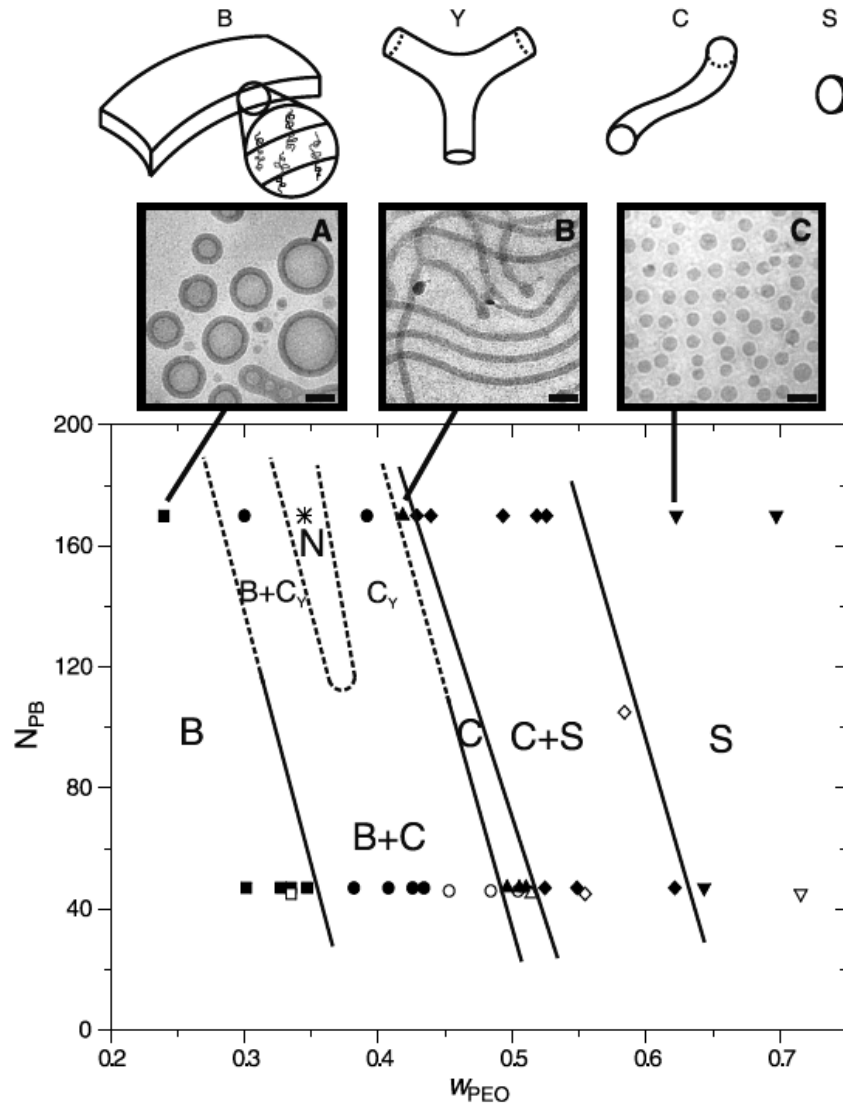


Abbildung 19: Morphologiediagramm von 1 Gew.-% PB-PEO-Blockcopolymer im wässrigen Medium^[67]

Für den hydrophilen Gewichtsanteil w_{PEO} in verdünnten selektiven Lösungsmitteln gilt, dass sich bei Blockcopolymeren mit einem w_{PEO} größer als 0,5 vorwiegend sphärische Mizellen bilden. Bei einem Volumenanteil zwischen 0,5 und 0,4 werden Zylindermizellen gebildet, bei einem kleiner als 0,4 bilden sich dann hauptsächlich Polymersomen.^[6, 8, 69]

In Substanzen sowie in lyotropen Phasen und tenären Systemen können durch Veränderungen des Volumenanteils f_1 des hydrophoben Blocks (z. B. roter Block) oder des hydrophilen Blocks (z. B. blauer Block) die in Abbildung 20 gezeigten Strukturen wie (S) BCC Kugeln, (C) hexagonal gepackte Zylinder, (G) Gyroid und (L) Lamellen gebildet werden.^[70]

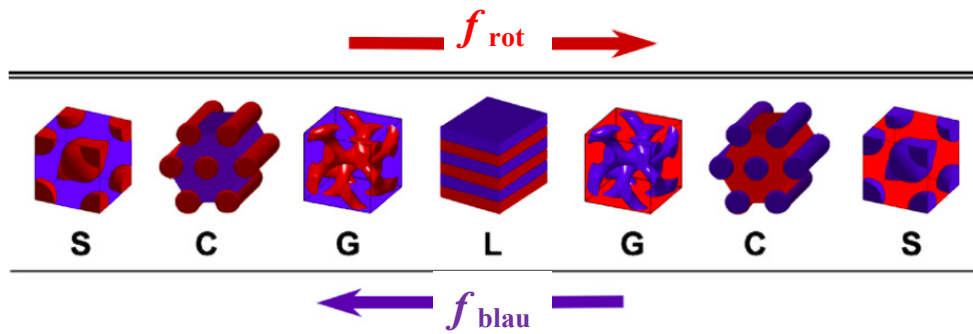


Abbildung 20: Diblockcopolymer Morphologien^[70]

Das Phasenverhalten eines Blockcopolymeres ist in Wasser stark von der Polymerkonzentration sowie dem Molekulargewicht abhängig. So bilden sich, wie in Abbildung 21 am Beispiel eines PB-PEO-Blockcopolymer mit einem hydrophilen Anteil von 0,3 gezeigt, im niedrigkonzentrierten Bereich vorwiegend Polymersomen. Nimmt die Polymerkonzentration aber zu, so werden von verbundenen Polymersomen über lamellare Strukturen bis hin zu ungeordneten Strukturen gebildet. Ein ähnliches Verhalten ist auch in Abhängigkeit des Molekulargewichtes zu beobachten. So bilden zum Beispiel Blockcopolymeren mit einem kleinen Molekulargewicht voneinander getrennt Polymersomen, steigt das Molekulargewicht bei gleicher Konzentration so werden Aggregate aus Polymersomen gebildet.^[71]

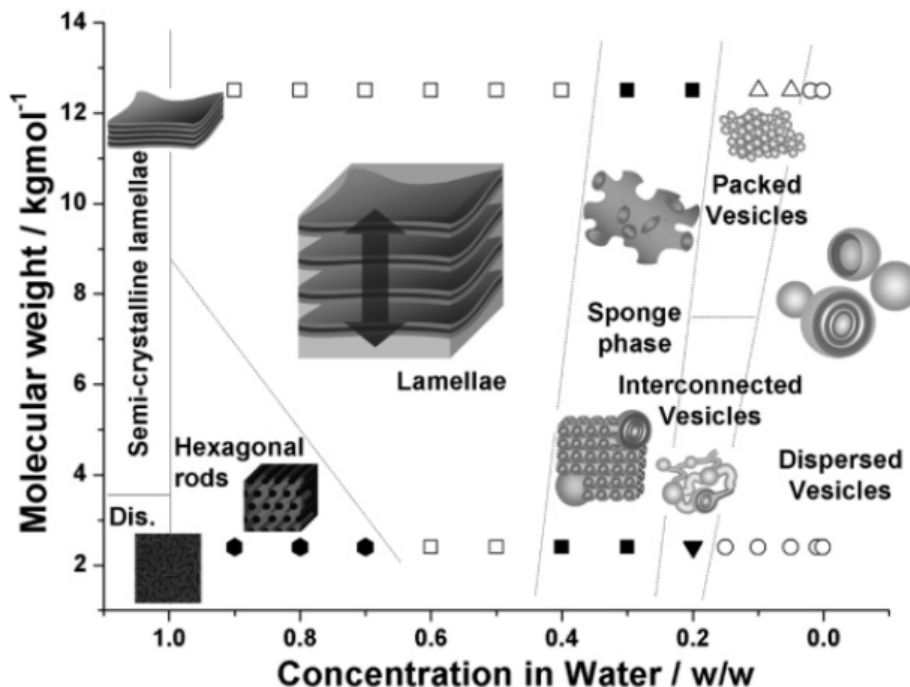


Abbildung 21: Isothermales Phasendiagramm von Blockcopolymeren in Wasser^[71]

Über die vorgestellten Parameter lassen sich unter anderem die vielfältigsten Selbstorganisationsstrukturen von Blockcopolymeren einstellen. In Abbildung 22 sind diese möglichen Strukturen zusammengefasst. Dabei bilden Blockcopolymeren in verdünnten selektiven Lösungsmitteln oberhalb der CMC und der Krafft-Temperatur Einzelteilchen wie sphärische und zylinderförmige Mizellen sowie Vesikel. In Substanz sowie in lyotropen Phasen und tenären Systemen bilden sich kubisch gepackte Kugelmizellen (FCC, BCC), hexagonal gepackte Zylindermizellen (HEX) und lamellare Phasen (LAM). Es können sich aber auch modulierte und perforierte Lamellen (MLAM, PLAM) sowie verschiedene minimalflächige Strukturen wie Gyroid oder F- und P-Flächen bilden.^[2]

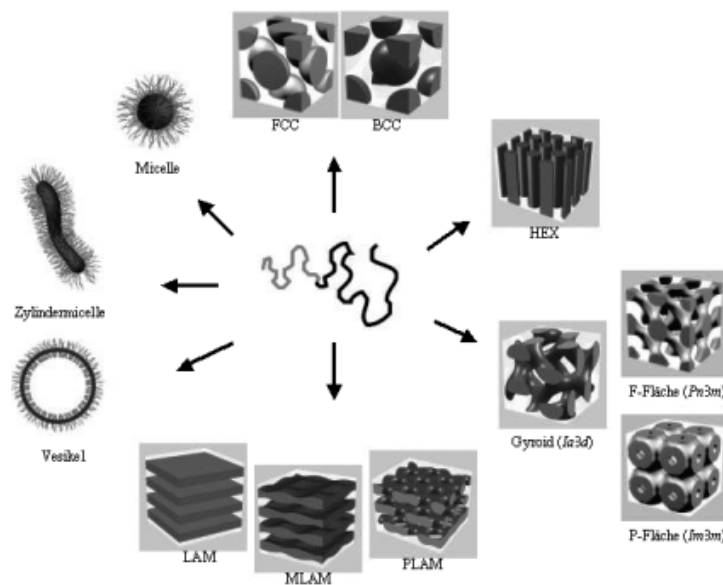


Abbildung 22: Mögliche Überstrukturen von amphiphilen Blockcopolymeren^[2]

2.2.1 Sphärische Mizellen

Eine der möglichen Überstrukturen sind die sphärischen Mizellen, sie können sowohl in polaren Lösungsmitteln wie Wasser als auch in sehr unpolaren Medien gebildet werden. Ihre Kerne bestehen aus dem unlöslichen Block mit einer Corona aus dem löslichen Block. Die Größe der sphärischen Mizellen ist durch die Länge des Blockcopolymeren definiert. Die Zahl der Blockcopolymeren die in einer Mizelle angeordnet sind, lässt sich durch die Aggregationszahl Z bestimmen. Diese ist abhängig von dem Polymerisationsgrad der einzelnen Blöcke und kann durch das Skalengesetz wie folgt beschrieben werden:

$$Z = Z_0 N_A^\alpha N_B^{-\beta} \quad (16)$$

Wobei N_A den Polymerisationsgrad des unlöslichen Blockes darstellt und $\alpha = 2$ und $\beta = 0,8$ ist. Z_0 ist abhängig von der Mischungsenthalpie zwischen den unlöslichen Block und dem Lösungsmittel. Sie ist für viele Blockcopolymerer tabelliert, wobei für viele Systeme gilt $Z \approx 1$, sodass die Aggregationszahl Z nur vom Polymerisationsgrad der beiden Blöcke abhängt.^[2]

2.2.2 Polymersomen

Eine andere mögliche Überstruktur sind die Polymersomen. Dabei handelt es sich um eine hohlkugelartige Struktur, bei denen die Blockcopolymerer eine gekrümmte Doppelschicht bilden. Die Bildung solcher Strukturen ist in Abbildung 23 gezeigt. Dabei lagern sich die einzelnen Blockcopolymerketten, wie bereits schematisch in Abbildung 15 angedeutet, zu Domänen sogenannten Scheibenmizellen zusammen. Diese scheibenförmigen Doppelschichten werden mit zunehmender Größe energetisch immer ungünstiger, was zur Schließung des Polymersoms führt. Dabei ist der Radius der Scheibenmizelle R_{Disk} doppelt so groß wie der Radius des gebildeten Polymersoms R_{Ves} .^[9]

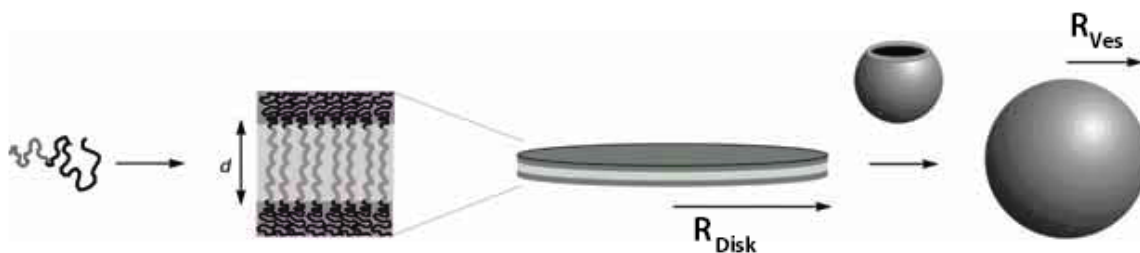


Abbildung 23: Schematische Darstellung der Bildung von Polymersomen^[9]

In experimentellen Studien und molekulardynamischen Simulationen konnte *DENNIS E. DISCHER* eine Abhängigkeit der Dicke und der Struktur der Polymersomenmembran vom Molekulargewicht (MW) des Blockcopolymerers aufzeigen. Dabei wurden Polymere mit einem Molekulargewicht von 2000 (i) bis 20000 (iv) g/mol die Polymersomen im Größenbereich von 100 bis 200 nm bildeten mittels Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie (cryo-TEM) untersucht. Die Untersuchungen ergaben, wie in Abbildung 24 gezeigt, dass die Dicke des hydrophoben Teils der Membran d mit der Zunahme des Molekulargewichtes von $d \approx 8-21$ nm steigt. Bei vergleichbaren Lipidvesikeln nimmt der entsprechende Bereich eine Größe von $d \approx 3-5$ nm ein. Somit konnte die folgende Abhängigkeit postuliert werden.

$$d \propto MW_h^b \quad (b \cong 0,55) \quad (17)$$

Zudem zeigte sich bei Polymersomen, die aus Blockcopolymeren mit niedrigen Molekulargewichten gebildet wurden, in der Doppelschicht eine klare Mittelebene zwischen den gegenüberliegenden Polymerketten. Nimmt dagegen das Molekulargewicht zu, so greifen die Polymerketten immer mehr ineinander und verschmelzen zu einer einzigen homogenen Schale.^[69]

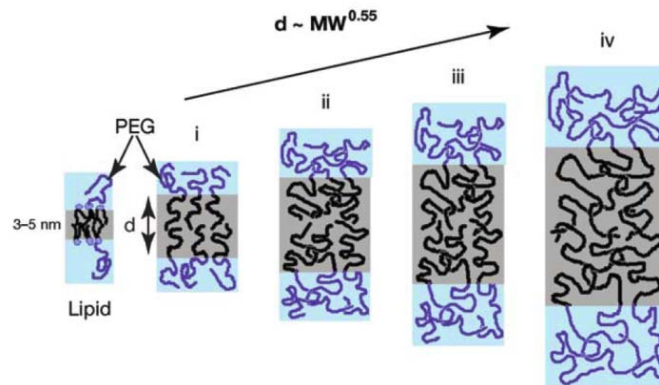


Abbildung 24: Schematische Darstellung der Membrandicke von Polymersomen in Abhängigkeit des Molekulargewichtes^[69]

Die gebildeten Polymersomen können weiterhin nach den in Abbildung 25 gezeigten unterschiedlichen Formen unterteilt werden.

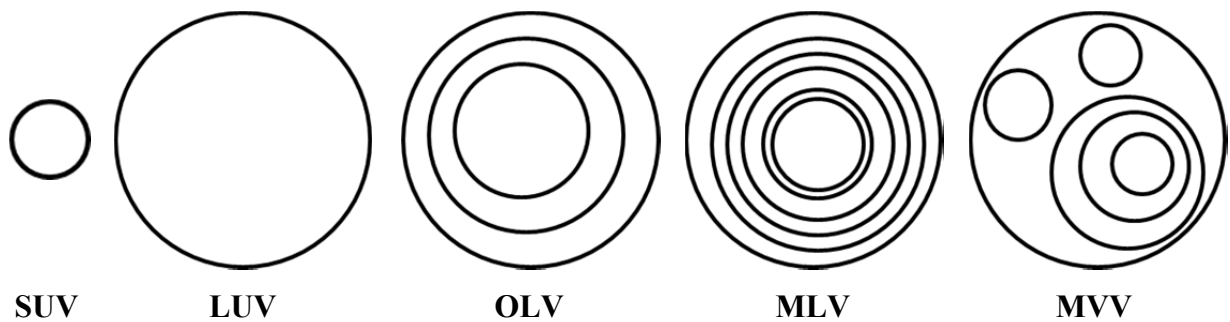


Abbildung 25: Schematische Darstellung verschiedener Polymersomenformen.

Die kleinsten gebildeten Polymersomen mit einem Durchmesser von bis zu 50 nm sind die SUVs (*small unilamellar vesicles*). Haben die Polymersomen einen Durchmesser von 50 bis 250 nm und eine Lamellarität (Anzahl der Lamellen) von 1, dann werden sie als LUVs (*large unilamellar vesicles*) bezeichnet. Steigt der Durchmesser über 250 nm bis hin zu einigen hundert Mikrometern, so sind es GUVs (*giant unilamellar vesicles*). Nimmt die Lamellarität zu so

werden die Polymersomen als OLVs (*oligolamellar large vesicles*), MLVs (*multilamellar large vesicles*) und MVVs (*multivesicular vesicles*) bezeichnet.

Die Form der unilamellaren Polymersomen wird durch die Parameter Volumen-Fläche-Verhältnis und die effektive Differenzfläche, d. h. die bevorzugte Krümmung der Membran, bestimmt. Das daraus resultierende theoretische Phasendiagramm ist in Abbildung 26a dargestellt. In Abbildung 26b sind die experimentell gefundenen Strukturen gezeigt, die entsprechend der Lage im theoretischen Phasendiagramm im rechten Diagramm angeordnet sind.^[9, 72]

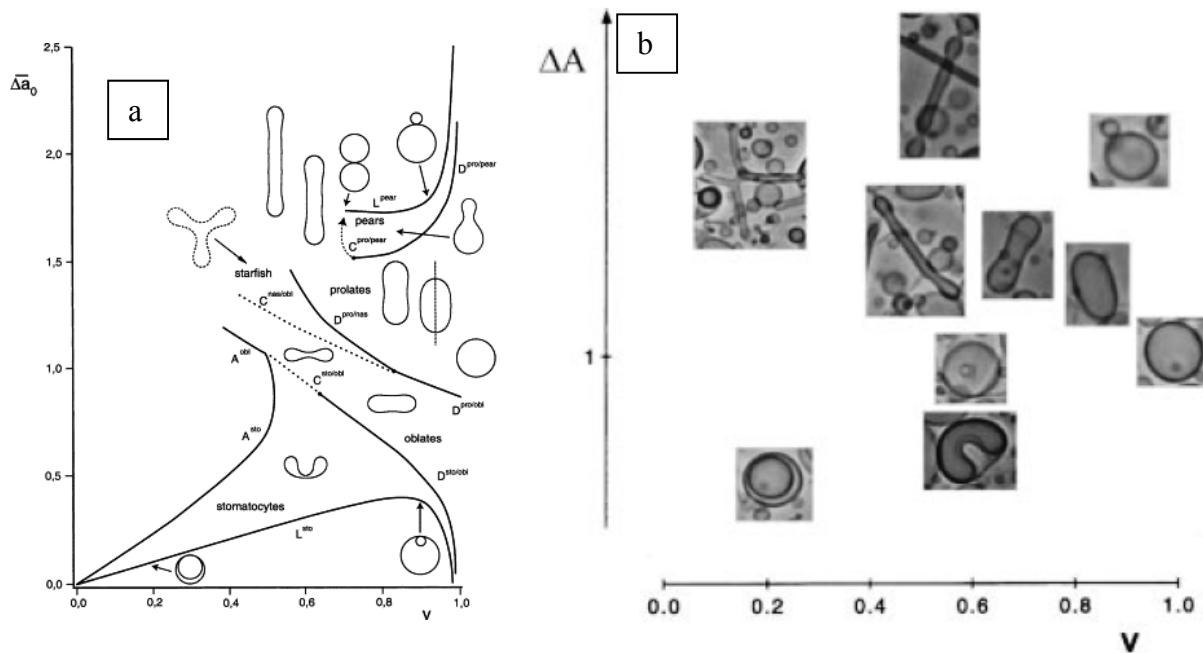


Abbildung 26: Phasendiagramm von Polymersomenformen; a: theoretisch berechnet^[9, 72]; b: experimentell ermittelt^[9]

2.2.3 Präparationsmethoden von Mizellen und Polymersomen

Für die Präparation von Mizellen und Polymersomen sind in der Vergangenheit viele Methode entwickelt und etabliert worden. Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten Präparationsmethoden kurz vorgestellt werden. Alle Methoden beruhen auf dem gleichen Wirkungsprinzip, nämlich dem Überschreiten des Lösungsproduktes des Blockcopolymers im wässrigen Medium, was anschließend zur Überstrukturbildung führt. Das im organischen Lösungsmittel gelöste Blockcopolymer wird ins Wasser überführt; dabei mischt sich die organische Phase entweder mit dem Wasser oder es wird vorher bzw. währenddessen entfernt.

Beispiele für eine Methode, bei der das organische Lösungsmittel vor der Überstrukturbildung entfernt wird, sind das Quellen oder die daraus abgeleiteten Film-Hydrations-Methode. In beiden Methoden wird das Polymer im wässrigen Medium vorgelegt. Dabei dringt das Wasser durch die Defektstellen der festen Polymerphase in den Festkörper oder Polymerfilm ein, quillt dann auf und bildet hauptsächlich MLV, OLV und MVV. Bei der Film-Hydrations-Methode wird vorher mittels eines geeigneten Lösungsmittels (meist Chloroform) eine vergrößerte Oberfläche in Form eines Polymerfilmes geschaffen, der dann großflächiger quellen kann.

Eine Methode, bei der das organische Lösungsmittel während der Überstrukturbildung entfernt wird, ist die reverse Phasenverdampfung. Dabei wird das Polymer in einem niedrigsiedenden wasserunlöslichen Lösungsmittel gelöst und mit Wasser überschichtet. Unter ständigem Rühren verdampft das organische Lösungsmittel langsam und wenn das Lösungsprodukt in der organischen Phase erreicht ist, geht das Blockcopolymer unter Überstrukturbildung in die wässrige Phase über.

Bei den nächsten vorgestellten Methoden wird das Polymer in einem wasserlöslichen Lösungsmittel in das wässrige Medium gebracht. Das kann mit Hilfe einer Spritze, wie bei der Einspritzmethode, oder durch Drucken, wie bei dem Injekt-Verfahren^[73], als auch mittels der hydrodynamischen Fokussierung im Mikrofluidik-(MF)-Kanal^[74] geschehen. In allen drei Fällen mischt sich das Lösungsmittel mit dem Wasser und es kommt zur Überstrukturbildung.

2.3 Kohlenhydrate in biologischen Systemen

Kohlenhydrate spielen in der Natur eine außergewöhnliche Rolle. Sie finden nicht nur als Energieträger, wie zum Beispiel Glucose, Fruktose und Maltose, oder als Gerüstbausteine, wie Glykogen, Cellulose oder Chitin, vielfältigste Anwendungen, sondern sind zudem auch in unterschiedlichster Form als Informationsspeicher im Einsatz. In der Übersicht in Abbildung 27 sind einige dieser vielfältigsten Anwendungsmöglichkeiten gezeigt. Dabei gehören die grün umkreisten Kohlenhydrate zu der Poly-/Oligosaccharid-Familie und die violett umkreisten gehören zu der Familie der Glycokonjugate.^[75]

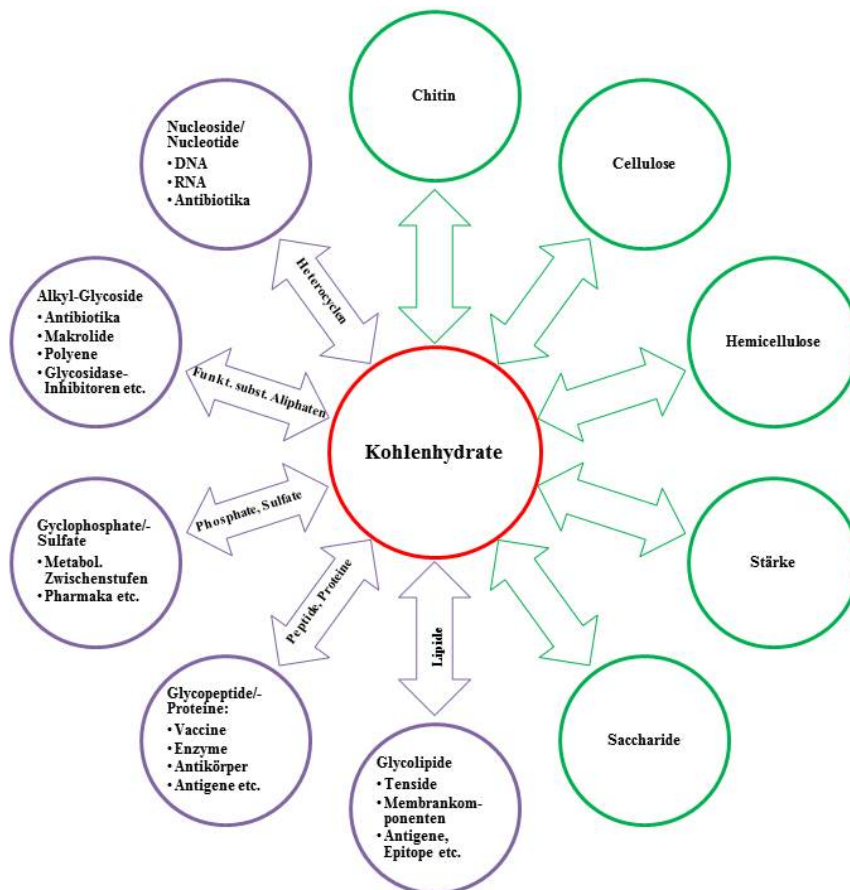


Abbildung 27: Übersicht über einige Anwendungen von Kohlenhydraten in biologischen Systemen, basiert auf Lit.^[75]

2-Aminohexosen zum Beispiel sind natürlich vorkommende bioaktive Verbindungen, die eine wichtige biologische Bedeutung besitzen. Sie kommen als Bestandteile von Aminopolysacchariden in verschiedensten Lebewesen als Skelettsubstanzen, in Antigenen und in Körperflüssigkeiten vor. Ferner sind sie Hauptbestandteil des Heparins, der Blutgruppensubstanzen und der zellständigen Virusrezeptorsubstanzen.^[76] Außerdem weist D-Glucosamin in vitro eine wachstumshemmende Wirkung auf Tumorzellen auf.^[77] Des Weiteren zeigen bestimmte Lektine eine hohe spezifische Affinität zu den 2-Aminohexosen auf.

Die Anbindung von 2-Aminohexosen, wie zum Beispiel Glucosamin und Galactosamin, an eine Polymerkette konnte neben der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition^[78] oder über eine 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide-hydrochlorid (EDCI) aktivierte Route gezeigt werden.^[79] Die meisten der gezeigten Reaktionen benötigen entweder absolutierte Lösungsmittel und sind sehr empfindlich gegenüber Feuchtigkeit oder es sind 2-Stufenreaktionen, bei denen zuerst die Säurefunktion aktiviert wird und dann anschließend die Aminokomponente hinzugegeben wird.

Glycokonjugate spielen in der Ausbildung von nicht kovalenten Komplexen zwischen Kohlenhydrat-Liganden und Kohlenhydrat-spezifischen Protein-Rezeptoren, sogenannten Lektinen, eine wichtige Rolle. In Abbildung 28 ist die Biosynthese dieser Glycokonjugate und die Zell-Zell-Erkennung vereinfacht dargestellt. Dabei nimmt die Zelle die Monosaccharide mit Hilfe von Transmembranproteinen auf und wandelt sie zu Nucleosid-Zuckern, sogenannten „Building-Blocks“, im Cytosol um. Diese Bausteine werden dann in sekretorischen Kompartimenten importiert und dort mit Hilfe diverser Enzyme zu Glycokonjugaten zusammengesetzt. Abschließend wird das Glycokonjugat ins Endoplasmatische Retikulum (ER) und danach in den Golgi-Apparat transportiert, wo es dann in die fertige Form gebracht wird. So kann es auf der Zelloberfläche exprimiert werden und zur multivalenten Zell-Zell-Erkennung beitragen.^[80]

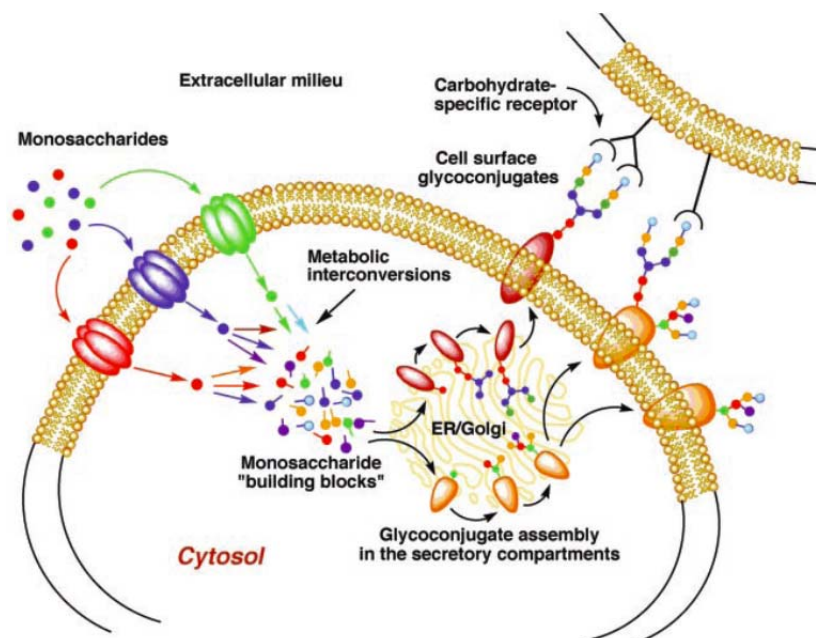


Abbildung 28: Biosynthese der Glycokonjugate und die Zell-Zell-Erkennung^[80]

Diese multivalente Interaktion ist bei der Zell-Zell-Erkennung im Körper von entscheidender Bedeutung. Einige Beispiele für Vorgänge solcher Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Beispiele für Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen in biologischen Ereignissen^[81]

Biologischer Ereignis	Kohlenhydrat-Liganden auf	Protein-Rezeptoren auf
Infektion	Gastzelle	Mikroorganismen
Immunabwehr	Phagozyten	Mikroorganismen
	Mikroorganismen	Phagozyten
Fertilisation	Eiern	Spermien
Entzündung	Leukozyten	Endothelzellen
(Leukozytenrekrutierung)	Endothelzellen	Leukozyten
Metastasierung	Zielorganen	Malignen Zellen
	Malignen Zellen	(wahrscheinlich Zielorgane)

Bei der Immunabwehr zum Beispiel ist das Funktionieren eines solchen Systems unerlässlich. Die wichtigsten Abwehrzellen, wie die weißen Blutkörperchen, die Lymphocyten, Monocyten und neutrophilen Granulozyten, eliminieren durch diese spezifische Bindungen in einer konzertierten Aktion Bakterien und andere Eindringlinge. Weiße Blutkörperchen wandern beispielsweise, wie schematisch in der Adhäsionskaskade in Abbildung 29 dargestellt, aus dem Blutstrom in das entzündete Gewebe, um dort pathogene Mikroorganismen zu töten.^[75] Bei diesem Prozess wird davon ausgegangen, dass die kombinatorische Spezifität durch vier Schritte erreicht wird: (a) dem Selektin-vermittelten Rollen, (b) der Chemokin-vermittelten Aktivierung (c) der Integrin-abhängigen Adhäsion und abschließend (d) der parazellulären und transzellulären Transmigration.^[82]

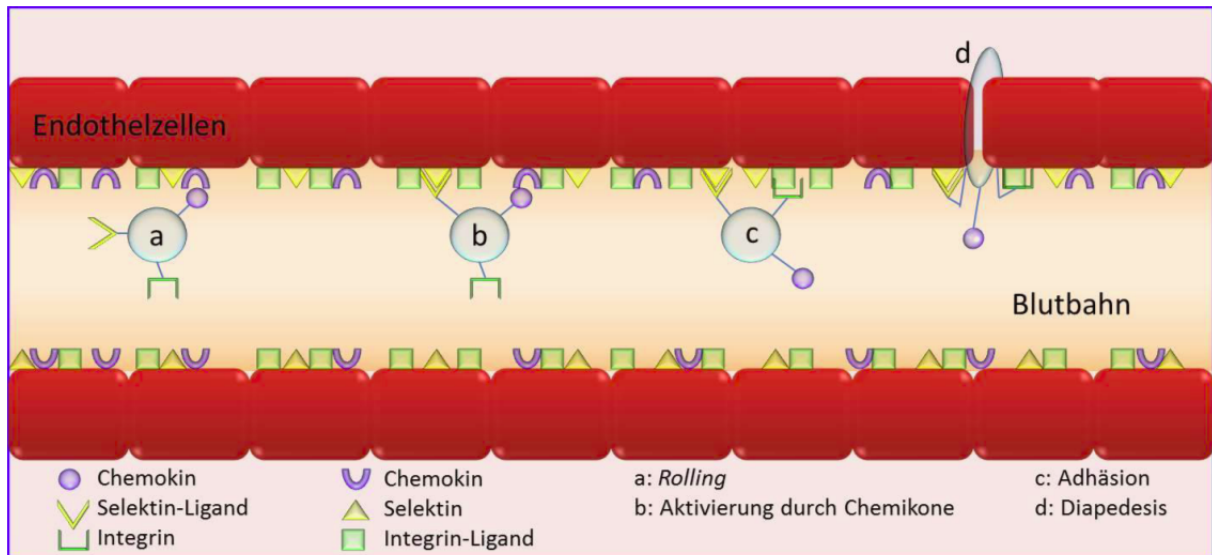


Abbildung 29: Schematische Darstellung der Adhäsionskaskade der Leukozyten aus der Blutbahn in entzündetes Gewebe^[83]

Dieses System der Liganden-gebundenen Erkennungsmerkmalen wird sich beim Designen von Wirkstofftransportsystemen, sogenannten „*drug delivery systems*“, zunutze gemacht.

2.4 Wirkstofftransportsysteme

Im Bereich der Entwicklung eines Wirkstofftransportsystems gibt es, wie in Abbildung 30 gezeigt, ganz unterschiedliche Möglichkeiten von Transportsystemen. So werden konventionelle Tenside, wie zum Beispiel bei dem Produkt Cremophor ELTM in Mizellen verwendet. Auch Lipide kommen in verschiedensten Formen zum Einsatz, wie Mikroemulsionen, Liposomen bis hin zu Lipoplexen. Sogar anorganische Materialien, wie zum Beispiel Kohlenstoffnanoröhrchen, kolloidale Gold-Nanopartikel oder verschiedenste Keramiken finden in diesem Zusammenhang ihre Anwendung. Aber eines der größten Anwendungsgebiete bilden die Polymersomen und polymerbasierten Mizellen.^[84]

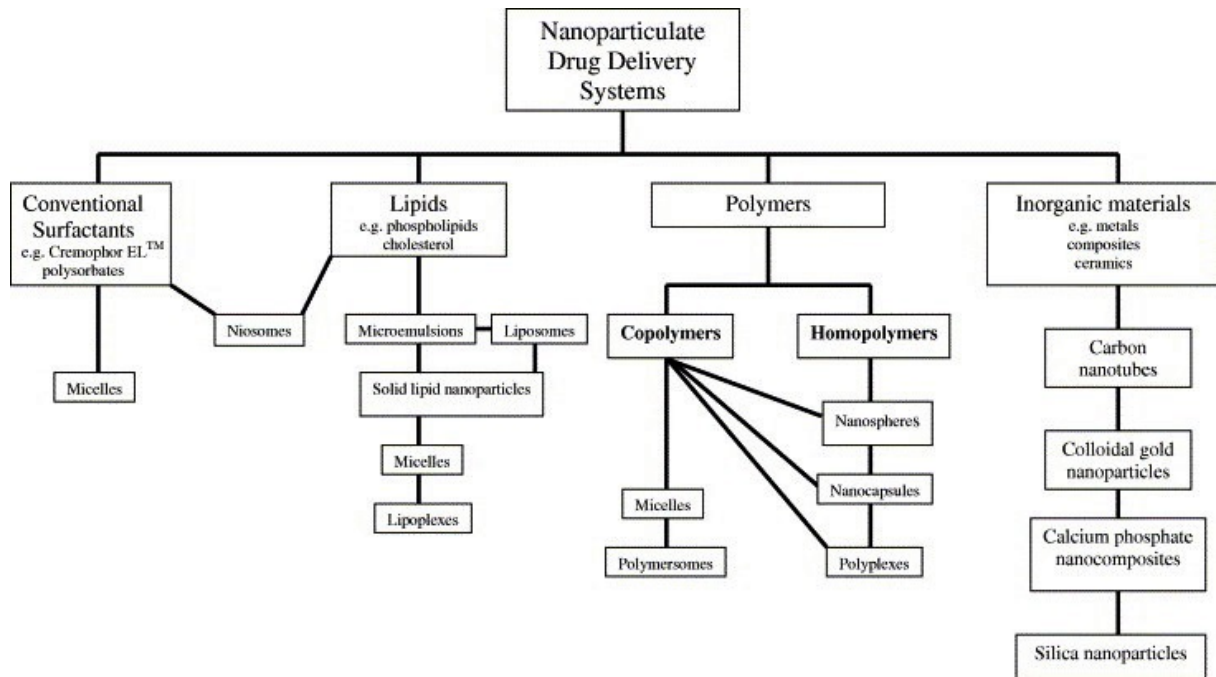


Abbildung 30: Einteilungen von möglichen Wirkstofftransportsystemen^[84]

In diesen Systemen kann das pharmakologisch relevante Wirkstoffmolekül, wie in Abbildung 31 gezeigt, in die Struktur eingeschlossen werden. Entsprechend der Überstruktur können Substanzen mit verschiedenen Eigenschaften verwendet werden. So ist es möglich, bei Polymersomen als Trägersystemen wasserlösliche und wegen der anisotropen Verteilung der Wassermoleküle in den Mizellen wasserunlösliche Moleküle einzukapseln. Dadurch ist die Verweilzeit des Wirkstoffmoleküls im Blutkreislauf in der Polymerstruktur auf Grund der Größe des Transportsystems (50 – 100 nm) höher, weil es nicht schnell über die Niere ausgeschieden wird. Bei den meisten verwendeten Blockcopolymeren besteht der hydrophile Block aus dem von der FDA zugelassen Polyethylenoxid. Dieses Polymer verhindert aufgrund des abschirmenden *Stealth-Effektes* eine Immunreaktion des Körpers gegen das Wirkstofftransportsystem. Transportsysteme mit einer PEO-Hülle bilden mit ihren sehr flexiblen Hauptketten eine „*Konformationswolke*“, die für die Hemmung der Wechselwirkungen von Transportsystemen mit Blutbestandteilen und Proteinen verantwortlich ist. Dadurch werden der enzymatische Abbau und eine opsonierungsbedingte Aufnahme durch das retikuloendotheliale System reduziert. Durch die geringeren Wechselwirkungen mit dem menschlichen Körper zeigen diese Polymerstrukturen eine niedrigere Immunogenität und Antigenität.^[14]

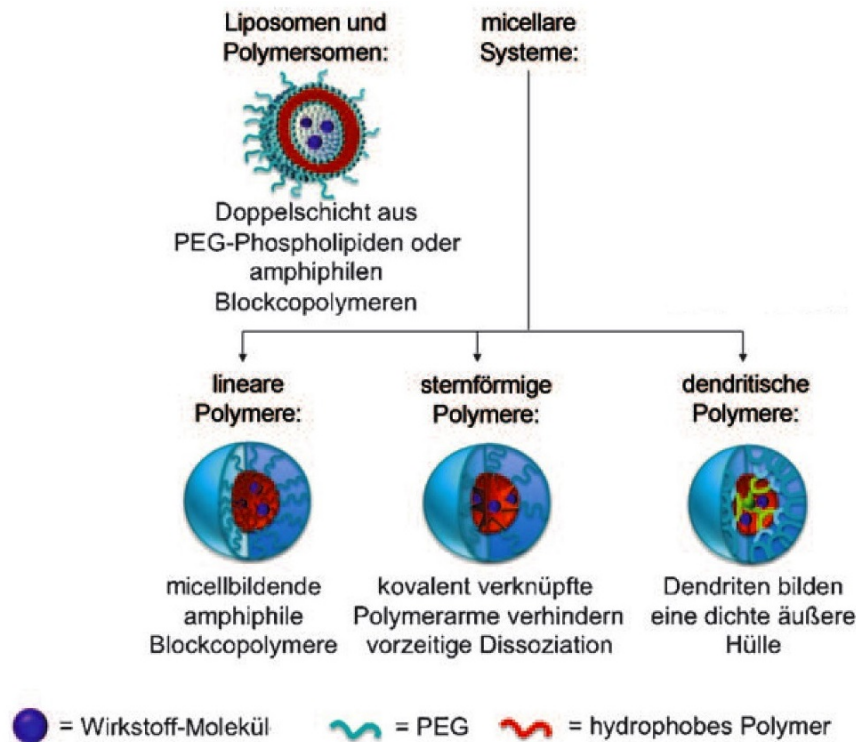


Abbildung 31: Überblick von vesikulärer und mizellarer Trägersysteme für den Wirkstofftransport, basiert auf Lit.^[14]

Aufgrund dieser verlängerten Verweilzeiten des Wirkstofftransportsystems im Blutkreislauf kommt es, wie in Abbildung 32 dargestellt, zur passiven Anreicherung im Tumorgewebe, dem sogenannten „*passiv targeting*“. Denn die Blutgefäße in den meisten gesunden Gewebe haben eine intakte Endothelschicht, welche die Diffusion kleiner Moleküle zulässt, Polymerüberstrukturen oder anderen Nanopartikeln jedoch den Eintritt in das Gewebe verwehrt. Dagegen ist die Endothelschicht der Blutgefäße im Tumorgewebe als eine Folge des schnellen Wachstums häufig porös, wodurch sowohl kleine als auch größere Aggregate in das maligne Gewebe eintreten können. Da das Tumorgewebe im Allgemeinen nicht über ein Lymphdrainagesystem verfügt, verweilen die Makromoleküle im Tumorgewebe und reichern sich dort passiv an. Diese erhöhte Permeabilität und Retention eines Wirkstofftransportsystems wird nach den Arbeiten von *MAEDA* und *JAIN* als EPR-Effekt („*enhanced permeability and retention*“) bezeichnet.^[14-16]

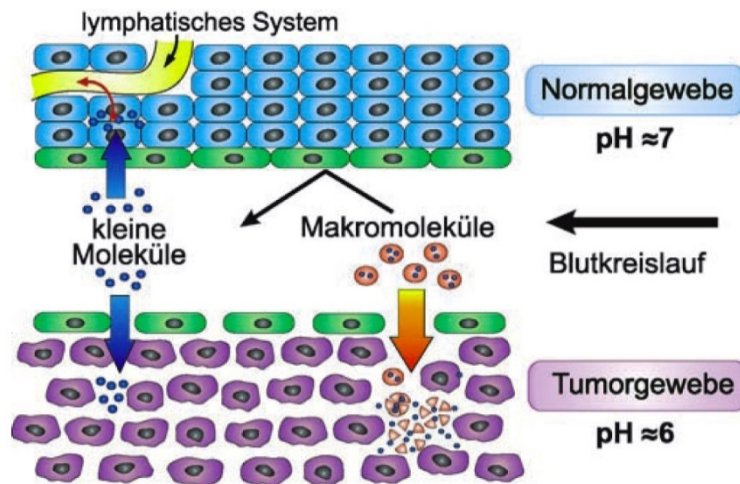


Abbildung 32: Schematische Darstellung des EPR-Effektes^[15]

Zusätzlich zum EPR-Effekt können die Wirkstofftransportsysteme aber auch noch weiter mit Liganden gebunden Erkennungsmerkmalen funktionalisiert werden, um die Zielgenauigkeit und die Selektivität zu erhöhen, sogenanntes „*active targeting*“. So wurde beispielsweise die Aufnahme von PEO-PLA-Mizellen in Tumorzellen gezeigt, die mit einem Antitumorwirkstoff sowie superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln (SPIOs) beladen waren. Das Blockcopolymer wurde vorher mit einem Liganden verknüpft, der an $\alpha_v\beta_3$ -Integrinen bindet, einem Rezeptor, der sich auf der Oberfläche von Zellen befindet.^[34, 85]

Nachdem die Wirkstoffmoleküle in die Transportsysteme aufgenommen wurden und aktiv oder passiv an den Wirkungsort gelangt sind, müssen sie dort kontrolliert freigesetzt werden. Dabei sind vor allem pH-sensitive Polymere von großem Interesse. Bei der Aufnahme des Wirkstoffträgersystems in das Tumorgewebe kommt es zu einer signifikanten pH-Wert-Änderung, angefangen von dem physiologischen pH-Wert 7,4 über den pH-Wert von 5-6 im Extrazellulärraum bis hin zu einem pH-Wert von 4-5 in den primären und sekundären Lysosomen.^[16] Aliphatische Polyester-Blockcopolymere sind dabei besonders anfällig für säure katalysierte Hydrolysen. Die am häufigsten verwendeten Polyester-Blockcopolymere sind die Polyglycolsäure, das Poly-D-Lactid, die Poly-D,L-Milchsäure und die Copolymeren aus Lactid / Glycolid und ϵ -Caprolacton.^[86]

Ein Beispiel für die kontrollierte Freisetzung unter der Verwendung der hydrolysierbaren Esterbindungen der PEO-PLA- und PEO-PCL-Blockcopolymere zeigten *DISCHER* und *AHMED* an fluoreszenzmarkierten Polymersomen, in denen das Krebsmittel Doxorubicin eingekapselt worden war. Die Freisetzungsrates des eingekapselten Wirkstoffes aus den hydrolysierbaren Polymersomen beschleunigte sich mit einem erhöhten Anteil an PEO. Eine länge-

re hydrophobe Kette (d. h. PCL) hingegen verzögerte die Freisetzung.^[87] Eine weitere Möglichkeit der Wirkstofffreisetzung ist die durch Bestrahlung mit UV-Licht. Dies konnte am Beispiel der in Abbildung 35 dargestellten PEO-PCL-Polymersomen gezeigt werden. Bei den verwendeten Blockpolymeren wurde zwischen den beiden Blöcken ein photolabiles 2-Nitrophenylalanin eingesetzt. Nach einer 6-stündigen Bestrahlung mit UV-Licht kam es zu einer Destabilisierung und der Freisetzung des eingekapselten Inhaltes.^[88]

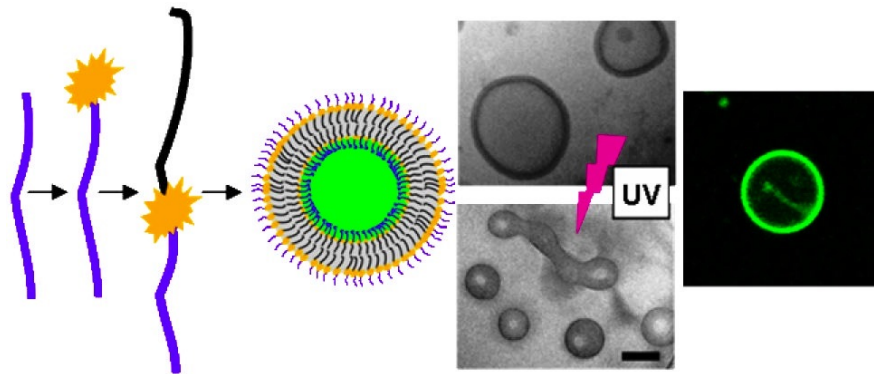


Abbildung 33: Syntheschema und Cryo-TEM- sowie FLM-Aufnahmen von photolabilen PEO-PCL-Polymersomen^[88]

2.5 Click-Reaktionen

Um sich das Ligand-gebundene Erkennungsmerkmal für ein Wirkstofftransportsystem zunutze machen zu können, hat sich das von *BARRY SHARPLESS* 2001 eingeführte Konzept der *Click-Reaktionen* bewährt. Dieses Konzept hat das Ziel, durch leistungsfähige und selektive modulare „Baueinheiten“ vielfältigste Verbindungen über Heteroatombindungen (C-X-C) in kleinem und großem Maßstab mit hoher Zuverlässigkeit zu bilden. Diese Reaktionen müssen modular und breit anwendbar sein sowie mit sehr hohen Ausbeuten ablaufen und nur unbedenkliche Nebenprodukte liefern. Zudem muss die Reaktion stereospezifisch unter einfachen Bedingungen ablaufen und sollte idealerweise nicht gegenüber Sauerstoff und Wasser empfindlich sein. Weiterhin sollten „bequeme“ Lösungsmittel verwendet werden können, die leicht zu entfernen sind. Die Aufreinigung sollte einfach und das Produkt muss unter physiologischen Bedingungen stabil sein.^[89] Nach diesem Konzept haben sich vor allem die Kupfer(I)- und kupferfreie-katalysierte *HUISGEN-Reaktion* (1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden und Alkinen) als auch die *Thiol-Ene-Click-Reaktion* in allen möglichen Bereichen der Synthesechemie etabliert.^[90] Vor allem sind diese Reaktionen besonders gut dazu geeignet, in

der Polymerchemie Polymere Schritt für Schritt aufzubauen^[90-92] oder mit funktionellen Einheiten^[25, 90-92] zu verbinden.

2.5.1 Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition

Die Variante der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition ist, wie ursprünglich von *SHARPLESS* bezeichnet, die „*Crème de la crème*“ der leistungsfähigen konzertierten *Click*-Reaktionen.^[89] Diese Reaktion wurde ursprünglich von *ARTHUR MICHAEL ENDE* im 19. Jahrhundert entdeckt und war durch *ROLF HUISGEN* in den 1960er Jahren entscheidend weiterentwickelt worden.^[93] Bei der 1,3-dipolaren Cycloaddition zwischen einer C-C-Dreifachbindung und einem Alkyl-/Aryl- oder Sulfonyl-Azid zu einem 1,2,3-Triazolring handelt es sich um einen klassischen *DIELS-ALDER*-Reaktionstyp. Dieser Typ von Reaktionen ist durch den Gewinn der thermodynamischen Enthalpie von mindestens 20 kcal/mol definiert und zeichnet sich durch hohe Ausbeuten, einfache Reaktionsbedingungen, schnelle Reaktionszeiten sowie eine hohe Selektivität aus.^[90]

In Abbildung 34 ist das sehr breite Anwendungsspektrum der 1,3-dipolaren Cycloaddition von Aziden und Alkinen in der Polymerchemie schematisch zusammengefasst. Es reicht von der Funktionalisierung über die Stufenpolymerisation bis hin zu Darstellung von cyclischen wie auch von Blockcopolymeren. Vor allem aber findet dieser Reaktionstyp eine sehr häufige Anwendung in der Verknüpfung von Polymeren mit biologisch aktiven Komponenten unterschiedlicher Art zu sogenannten Polymer-Biokonjugaten. Als letztes Beispiel sei noch die Synthese von vielarmigen Sternpolymeren genannt.^[94]

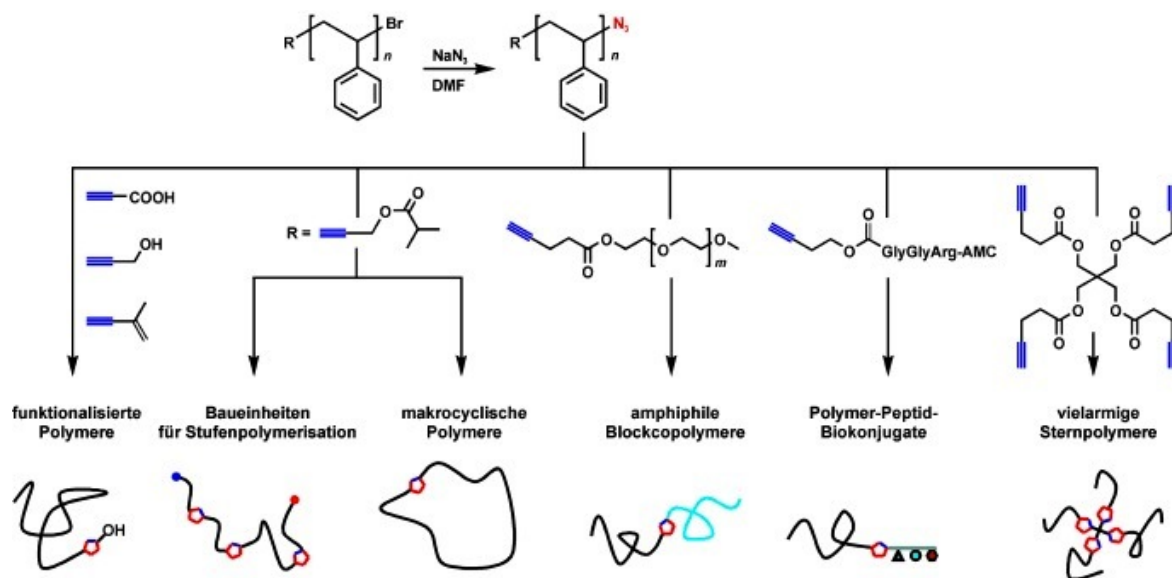


Abbildung 34: Anwendungsspektrum der 1,3-dipolaren Cycloaddition von Aziden und Alkinen in der Polymerchemie^[94]

Die 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden und Alkinen führt ohne Katalysator, wie am Beispiel der Cycloaddition von Phenylazid und Phenylacetylen in Abbildung 35 dargestellt, zu einem Gemisch der 1,4- und 1,5-Substitutionsprodukte in einem Verhältnis von ca. 1:1.^[95]

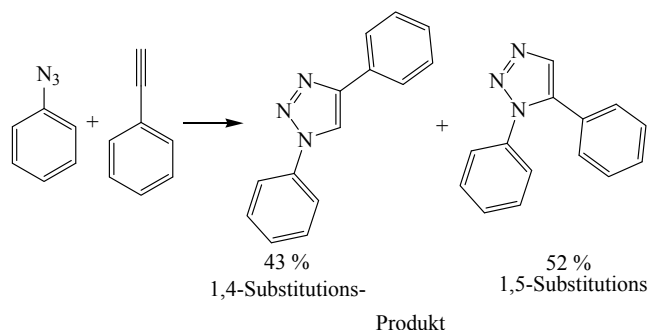


Abbildung 35: 1,3-dipolare Cycloaddition von Phenylazid mit Phenylacetylen, basiert auf Lit.^[95]

Durch die Verwendung von Kupfer-(I)-Salzen, die entweder in der benötigten Oxidationsstufe beigelegt oder aus Kupfer-(II)-Salzen *in situ* reduziert wurden, konnten die Ausbeuten der regioselektiven Produkte in Richtung des 1,4-substituierten Triazols verschoben werden.^[89, 96] Der nach heutigem Kenntnisstand in der Literatur postulierte Reaktionsmechanismus wird in Abbildung 36 gezeigt. Dabei kommt es nach der anfänglichen Deprotonierung des Alkin zur Ausbildung einer Cu-Acetylid-Spezies zwischen dem Kupferatom und dem terminalen Alkin. Diese Spezies bildet über eine oder mehrere Kupferbrücken eine Zwischenstufe mit der Azid-

Komponente. Aus dieser Zwischenstufe kommt es dann zur Cyclisierung eines 6-gliedrigen kupferverbrückten Ringes, aus dem sich dann im nächsten Schritt der 1,2,3-Triazolring bildet. Abschließend wird der Kupferligand mittels Protonierung vom 1,4-substituierten Produkt entfernt.^[90, 92, 95]

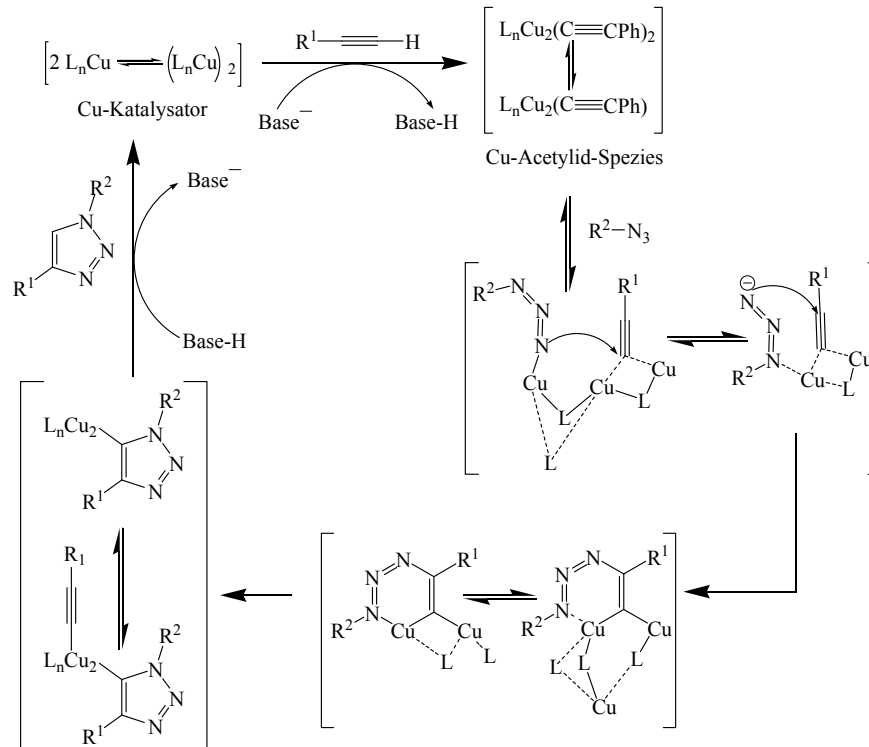


Abbildung 36: Aktuell postulierter Reaktionsmechanismus der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden und Alkinen zum 1,4-substituierten Triazol^[90, 92, 95, 97]

2.5.2 Thiol-Ene-Click-Reaktion

Im Folgenden soll nun eine weitere *Click*-Reaktion vorgestellt werden, die von *HELMUT SCHLAAD* in der Polymerchemie etablierte Thiol-Ene-*Click*-Reaktion.^[98-99] Mit dieser Methode können, wie beispielhaft in Abbildung 37 dargestellt, mittels eines Radikalstarters die endständigen Doppelbindungen von Vinyl-Polymeren, wie Polybutadien und Polyisopren mit vielen verschiedenen Molekülen in einer *anti-MARKOVNIKOV*-Orientierung als Hauptprodukt^[100] verknüpft werden. Es wurden hydrophile Säuregruppen, primäre und tertiäre Aminogruppen, Cystein- und andere Aminosäuregruppen sowie auch Dihydroxy-, Glucose-, nichthydrophile Ester-, Cholesterin-, Benzyl und fluorierte Gruppen erfolgreich angebunden.^[91, 98-99, 101-104]

2. Theoretischer Hintergrund

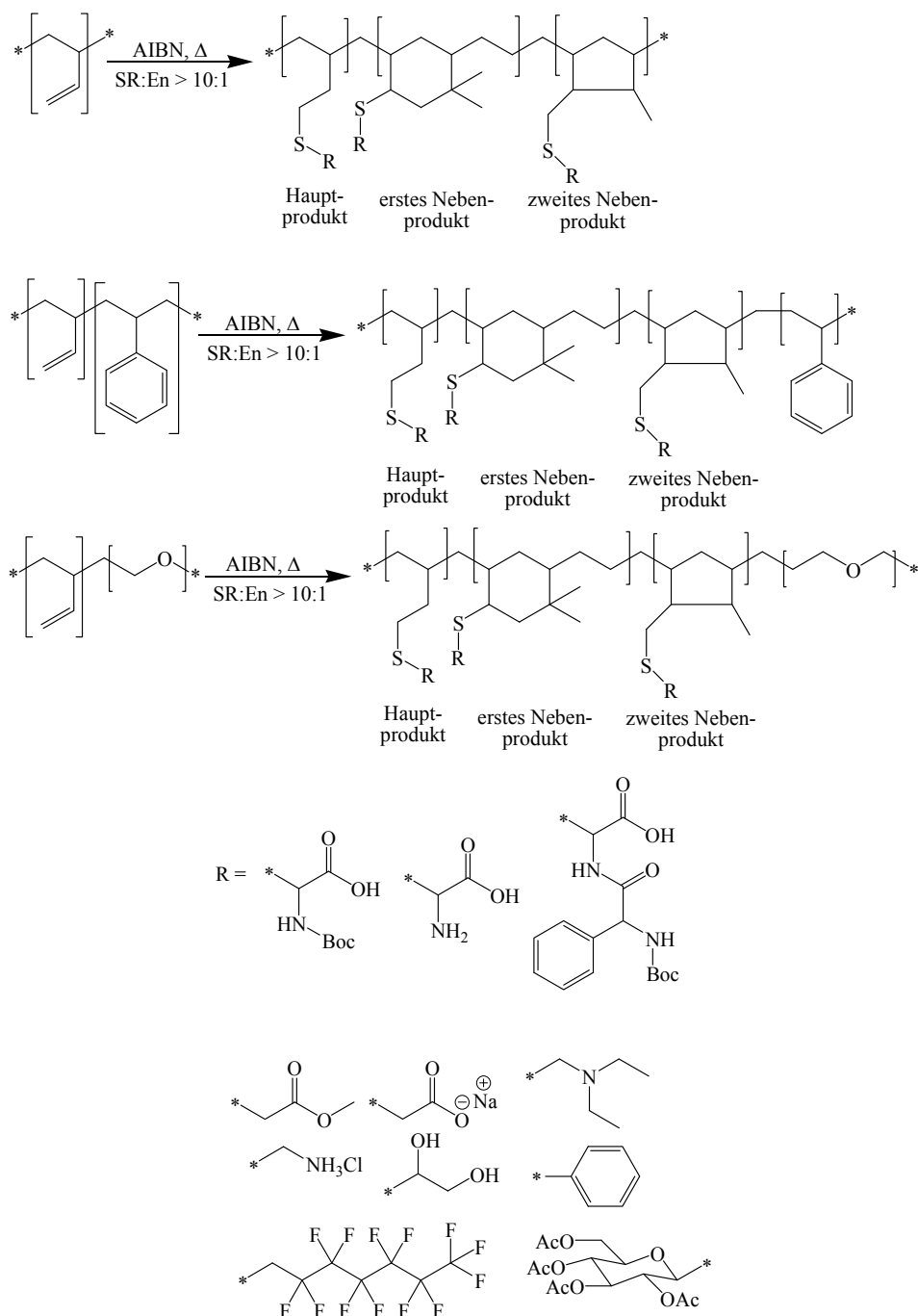


Abbildung 37: Beispiele der Modifizierung von 1,2-Polybutadien, 1,2-Polybutadien-Polystyrol- und 1,2-Polybutadien-Polyethylen-Blockcopolymer durch Thiol-Ene-Click-Reaktionen, basiert auf Lit.^[91]

Die Thiol-Ene-Click-Reaktion ist entsprechend der Abbildung 38 eine Radikalreaktion. Nach der Initiation des Thiylradikals, induziert mittels eines Radikalstartes oder UV- sowie Sonnenlichts^[103], wechseln sich bei der Propagation das Thiylradikals an der Ene-Gruppe und der Kettentransfer unter Wasserstoffradikalabstraktion vom Thiol durch das kohlenstoffzentrierte Radikal in geordneter Weise ab.^[91, 95, 105]

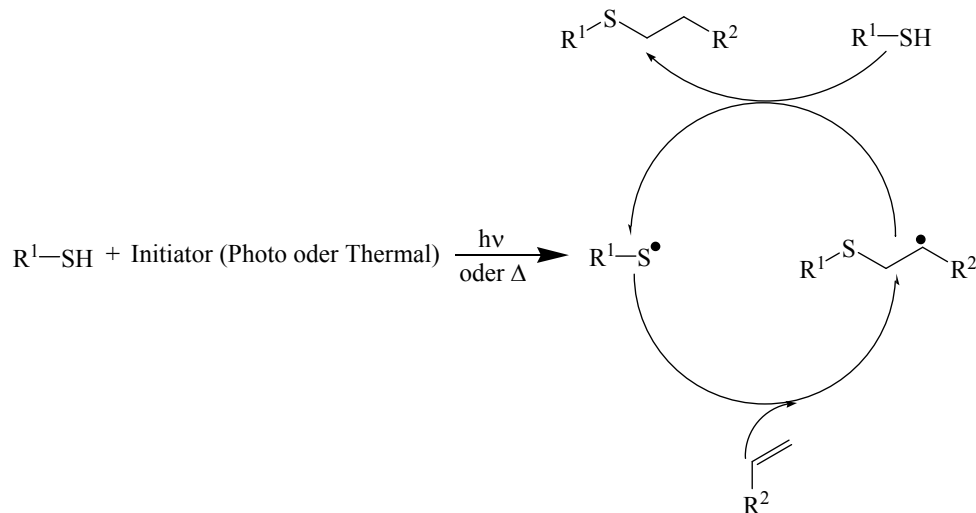


Abbildung 38: Schematische Darstellung des Reaktionsmechanismus einer Thiol-Ene-Click-Reaktion^[91, 95, 105]

Wie schon in Abbildung 37 angedeutet, bietet die Thiol-Ene-Click-Reaktion nicht nur die Möglichkeit der Anbindung von weiteren Komponenten an eine Polymerkette, sondern bei vinylichen Polymeren kommt es auch zur intramolekularen Cyclisierung von 5- und vor allem 6-gliedrigen Ringen.^[99, 104] Diese Cyclisierungen können zu einer beträchtlichen Änderung der chemischen und physikalischen Charakteristika des Substratpolymers führen.^[106] So führte dies in einem Fall, bei dem der Butadienblock eines PB-PEO-Blockcopolymers mit einem einfachen Cysteinamidderivat und mit einem hydrophoben Oligopeptid funktionalisiert wurde zu einer Veränderung des hydrophilen Gewichtsanteils von $w_{EO} > 0,7$ auf $w_{EO} > 0,5$. Vor der Reaktion bildete das Blockcopolymer im wässrigen Medium oberhalb der CMC sphärische Mizellen. Nach der Thiol-Ene-Click Reaktion waren die gebildeten Morphologien wurmartige Mizellen oder Polymersomen.^[107]

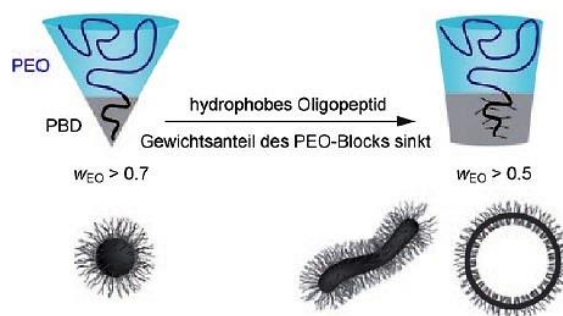


Abbildung 39: Wechsel der Morphologie von einer sphärischen zu einer wurmartigen Micelle oder einem Polymersom durch Funktionalisierung des PB-PEO-Blockcopolymers mit hydrophoben Peptideinheiten^[91, 107]

2.5.3 DMT-MM vermittelte Verknüpfung von Carbonsäuren und Aminen

Neben den beiden bereits gezeigten *Click*-Reaktionen ist die selektive Ausbildung einer Amidbindung zwischen einer Carbonsäure und einem Amin mittels des Kopplungsreagenz 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholiniumchlorid (kurz: DMT-MM) eine sehr effektive Methode.^[108-109] Dabei bildet das Kopplungsreagenz DMT-MM im ersten Schritt über eine nukleophile aromatische Substitution einen reaktiven Triazinylester, welcher im zweiten Schritt mit der aminofunktionalisierten Verbindung zum Produkt umgesetzt wird.^[110]

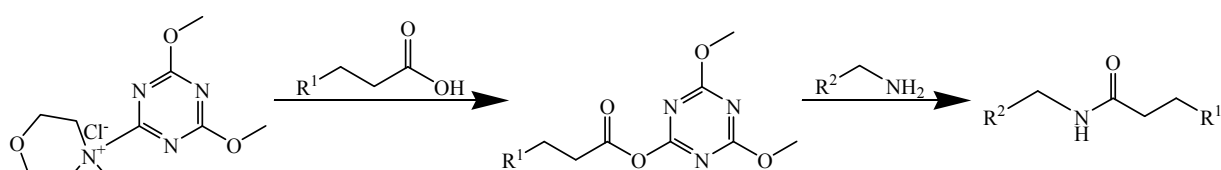


Abbildung 40: Reaktionsschema zur DMT-MM vermittelten Verknüpfung von Carbonsäuren und Aminen

Die Effektivität dieser Reaktion wird vor allem durch ihre Vielfalt gegenüber polaren Lösungsmitteln und ihrer Toleranz für die protonierten oder deprotonierten Formen der einzelnen Reagenzien bekräftigt. So läuft die Reaktion in vielen polaren Lösungsmitteln wie THF, Ethylacetat, DMSO, diversen Alkoholen und sogar in Wasser mit hervorragenden Ausbeuten ab. Des Weiteren kann die Carbonsäure als Carboxylat oder das Amin als zum Beispiel Hydrochlorid für die Verknüpfungsreaktion verwendet werden.^[109, 111]

Das Anwendungsspektrum dieser Verknüpfungsmöglichkeit reicht von der Peptidsynthese^[111], der Funktionalisierung der Seitenketten von Polyacryl-(PAA)- und Polymethacrylsäure (PMAA), wie in Abbildung 41 gezeigt, mit Galactosamin und Agmatin^[112] bis hin zur Fluoreszenzmarkierung dieser Polymere.^[113]

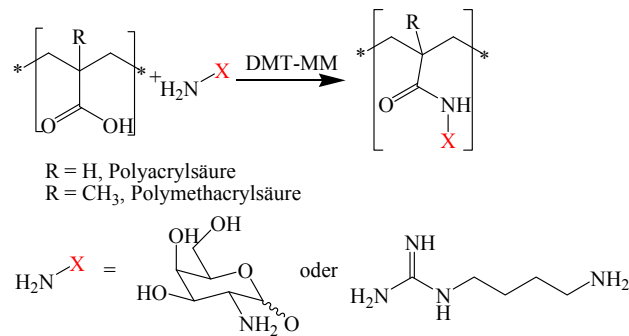


Abbildung 41: Syntheschema zur Funktionalisierung der Seitenketten von PAA und PMAA, basiert auf Lit.^[112]

2.5.4 Fluoreszenzmarkierung von Blockcopolymeren

Für die kovalente Anbindung eines Fluoreszenzfarbstoffes an ein Diblockcopolymer stehen viele Anknüpfungsmöglichkeiten zur Verfügung, eine ausführliche Betrachtung dieser Thematik ist unter anderem von *BEIJA* und *CHARREYRE et al.* vorgenommen worden.^[114] Die erste und meistgenutzte Anknüpfungsmöglichkeit ist die der α -ständigen Kopfgruppe. So konnte zum Beispiel bei einem PDMS-*b*-PMOXA ein Alexa Fluor 633-NHS-Farbstoff über eine α -sekundäre Aminogruppe^[27] und bei einem PB-PEO-Blockcopolymer ein Fluorescein-5-carbonylazid^[115] an die α -Hydroxygruppe des Polymers gebunden werden. Die zweite Möglichkeit ist ω -Funktionalisierung, hierbei soll zwischen verschiedenen Polymersorten unterschieden werden. Zum einem die Polymere, die aufgrund ihrer Monomerstruktur bereits schon reaktionsfähige Gruppen tragen, wie zum Beispiel die Polyester-Blockcopolymere PEO-PCL- und PEO-PLA-Blockcopolymere. Hier trägt das Polymer an der ω -Position eine Hydroxylgruppe, die genau wie eine α -ständige Hydroxygruppe umgesetzt werden kann. Dabei wird das Polymer mit einem Tetramethylrhodamine-5-carbonylazid, welches während der Reaktion in ein Isocyanat umgewandelt wird, umgesetzt, sodass der Farbstoff über einen Harnstofflinker angebunden ist.^[87] Für Polymere, die hingegen keine aktive Gruppe an ω -Position besitzen, wie zum Beispiel PI, PB oder PS, ist das Labeling unter anderem mit bereits fluoreszenzmarkierten Initiatoren möglich.

Alle genannten Fluoreszenzmarkierungen hatten den Nachteil, dass entweder die Kopfgruppe des Polymers belegt wurde oder bei der Polymerisation der Chromophor als Monomer hinzugesetzt werden musste. In dieser Arbeit soll mittels der Thiol-Ene-*Click*-Reaktion eine Markierungsmöglichkeit vorgestellt werden, die neben den α -, ω - und anderen Funktionalisierungen

gen, die Möglichkeit eröffnet Polymere wie PI und PB (Polybutadien) nach der Polymerisation zu markieren.^[98-99]

2.6 Mikrofluidik

Die Mikrofluidik bietet nicht nur für die Herstellung von Polymersomen oder Polymerkapseln als Wirkstofftransportsysteme vielfältigste Anwendungsmöglichkeiten^[74, 116-123], sondern sie eröffnet eine immer engere Verknüpfung mit der Biochemie und Biologie zur lokalen Anbindung von Proteinen^[124-128], zur Assay-Miniaturisierung^[126, 129] sowie der Diagnostik^[130] und fortgeschrittenen Aufreinigungen und Separationen.^[1, 28] So entwickelte *PARK* ein MF-System für parallele Immunhistochemie (MMIHC) auf Gewebeschnitten. Dabei wurden MF-Kanäle aus Polydimethylsiloxan (PDMS) auf ein Gewebe aufgebracht. Anschließend wurden verschiedenen Krankheitsmarkern durch Immobilisierung von Antikörpern nachgewiesen.^[28]

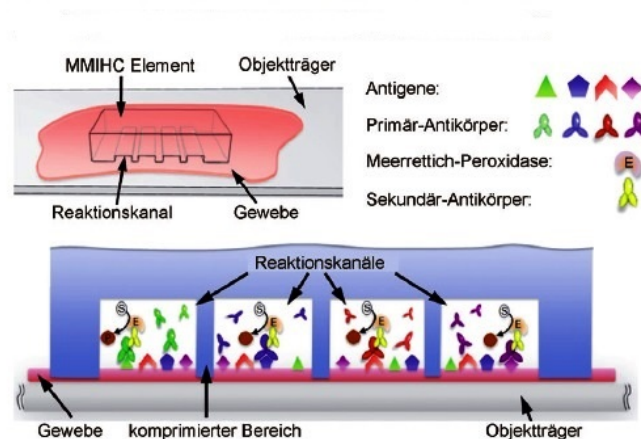


Abbildung 42: Schematische Darstellung des immunhistochemischen MF-Systems^[28]

2.6.1 Grundlagenexperimente zu Wechselwirkungen von Wirkstofftransportsystemen mit Proteinen

Eines der ersten Untersuchungen der physikalischen Wechselwirkungen eines Wirkstofftransportsystems mit Protein wurden von *DANIEL A. HAMMER*, wie in Abbildung 43 beschrieben, durch Messungen mittels der Mikropipetten-Aspirationstechnik an 2 unterschiedlich funktionalisierten Polymersomen gegen die entsprechenden funktionalisierten Mikropartikel vorgenommen. Bei der Mikropipetten-Aspirationstechnik wird, entsprechend des Abschnitts A der Abbildung 43, mittels einer Mikropipette - einer dünnen Glaskapillare - ein Teil der Polymersomenmembran oder des Mikropartikels angesaugt. In Abhängigkeit vom Saugdruck

wird die Einsauglänge der Membran in der Pipette gemessen. Diese ist proportional zur Oberflächenausdehnung. Aus dem ausgeübten Saugdruck, dem Pipettenradius und dem Polymer-somenradius können die auf der ganzen Membranoberfläche konstante Oberflächenspannung und andere mechanische Eigenschaften berechnet werden. Ein untersuchtes System war, wie Abschnitt B der Abbildung 43 darstellt, das Biotin-Avidin System. Dafür wurden PB-PEO-Polymersomen biotinyliert und die Mikropartikel mit Neutravidin beschichtet. Als zweites untersuchtes System wurden die biotinylierten Polymersomen mit einem biotinylierten BBIG-1A-anti-ICAM-1-Antikörper über eine Biotin-Avidin-Bindung beschichtet. Das Mikropartikel wurde mit dem entsprechenden Antigen, dem ICAM-1, beschichtet. In Abschnitt C der Abbildung sind die Ergebnisse der Messungen der kritischen Spannung aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass es bei den Ergebnissen, die mit den offenen Kreisen und der gestrichelten Linie dargestellt sind, ein Maximum bei ca. 60 % Beladungsdichte auf der Oberfläche gibt. Diese Werte stammen aus den Untersuchungen der Biotin-Avidin-Wechselwirkungen. Somit ist es nicht von Nöten, die gesamte Oberfläche eines Wirkstofftransportsystems mit Biotin zu beladen, um eine möglichst effektive Anbindung zu erhalten. Das zweite untersuchte System der Antikörper-Antigen-Wechselwirkung hingegen zeigt eine lineare Zunahme der Spannung mit der Beladungsdichte.^[26] HAMMER *et. al.* konnten hierdurch zeigen, dass die Beladungsdichte des bioaktiven Liganden für eine effektive Anbindung eines optimierten Wirkstofftransportsystems von entscheidender Rolle ist.

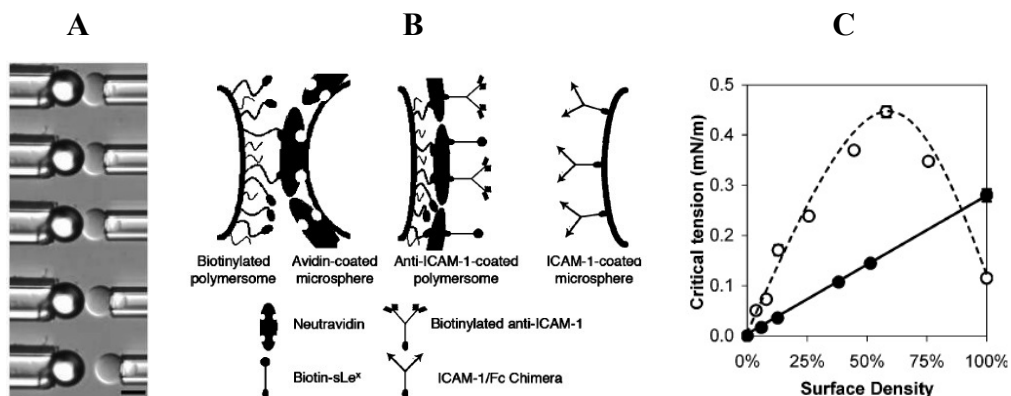


Abbildung 43: Messungen der kritischen Spannung mittels der Mikropipetten-Aspirationsstechnik an funktionalisierten Polymersomen und Mikropartikeln^[26]

Die ersten Ergebnisse wurden weitergeführt und daraufhin die Adhäsion von sogenannten Leuko-Polymersomen in parallelen Flusszellen untersucht. Die Leuko-Polymersomen sind Polymersome bestehend aus einem PB-PEO-Blockcopolymer mit zwei bioaktiven Liganden auf der Oberfläche, dem bereits bekannten BBIG-1A-anti-ICAM-1-Antikörper und das Koh-

lenhydrat *sialyl-Lewis X*. Aus der Fachliteratur ist bekannt, dass das *sialyl-Lewis X* selektiv an ein P-Selectin bindet, welches zur Familie der Kohlenhydrat-spezifisch-bindenden Proteine der Lektine gehört.

Durch die Modifikation der Beladung der Oberfläche der Leuko-Polymersomen mit den beiden bioaktiven Liganden und der Variation der Proteinbeschichtung in den Flusszellen ($430 \times 180 \mu\text{m}^{[131]}$) konnten verschiedene Ergebnisse, wie in Abbildung 44 gezeigt, erzielt werden. So war es möglich, 4 verschiedene Adhäsionsvorgänge zu beobachten. Die Vorgänge waren die feste Adhäsion (schwarz), das Rollen und die anschließende Immobilisierung (rot) sowie das stabile Rollen der Polymersomen durch die Flusszellen (grün) und das vorübergehende Rollen (gelb). Bei einer 100 %-igen und 50 %-igen Beschichtung der Flusszellen sowie einer 100 %-igen Beladung der Leuko-Polymersomen mit *sialyl-Lewis X* konnten die meisten rollenden Partikel detektiert werden. Bei einer Beschichtung von 100 %-igen mit dem Antigen ICAM-1 konnten nur wenige, vorübergehende Rollvorgänge und hauptsächlich nur feste Immobilisierung beobachtet werden. Somit konnte in dem Experiment gezeigt werden, dass die Antikörper-Antigen-Wechselwirkung kein Rollen der Polymersomen erlaubt und dass die *sialyl-Lewis X*-P-Selectin-Wechselwirkung hingegen, wie aus der Natur bekannt, für den Rollvorgang verantwortlich ist.^[132]

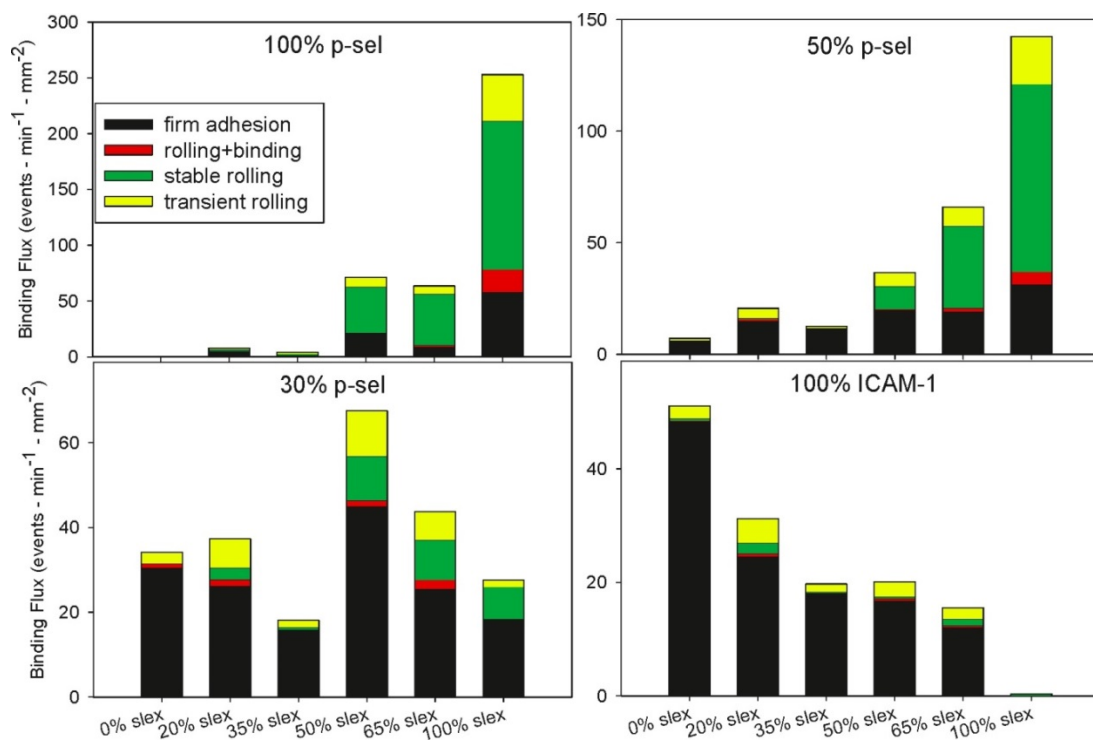
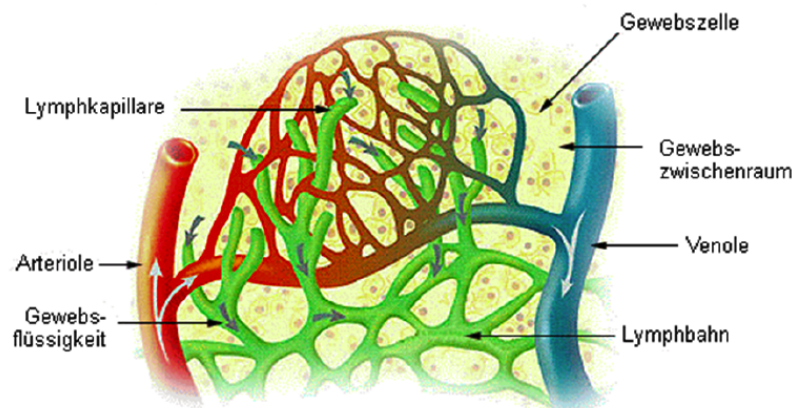


Abbildung 44: Immobilisierungen der funktionalisierten Leuko-Polymersomen in unterschiedlich beschichteten Flusszellen^[132]

2.6.2 Das Herz-Kreislaufsystem des Menschen

Auch Teile unseres Herz-Kreislaufsystems können als Modell-System durch die Mikrofluidik richtig beschrieben werden.^[133] Dabei erfüllt das Herz-Kreislaufsystem die lebenswichtige Aufgabe, Organe und Gewebe mit Sauerstoff und Nährstoffen zu versorgen sowie Stoffwechselprodukte abzutransportieren. Der eigentliche Stoffaustausch findet dabei in den stark verzweigten Arteriolen und Kapillargefäßen statt.^[134] In Abbildung 45 wird der schematische Aufbau, einige wichtige funktionelle Strukturen des kardiovaskulären Systems sowie die Größenverhältnisse und Wandstärken der Arterien und Venen gezeigt.^[135-136]



	Aorta	Mittlere Arterie	Arteriole	Kapillare	Venole	Vene	Vena Cava
Durchmesser:	1,5 cm	0,5 cm	50 µm	8 µm	20 µm	0,5 cm	3 cm
Wandstärken:	2 mm	1 mm	20 µm	1 µm	2 µm	0,5 mm	1,5 mm

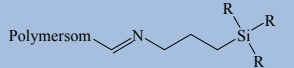
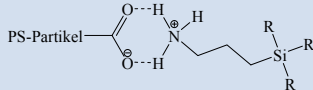
Abbildung 45: Schematischer Aufbau, einige wichtige funktionelle Strukturen des kardiovaskulären Systems sowie die Größenverhältnisse und Wandstärken der Arterien und Venen^[135-136]

Der Körperkreislauf besteht aus der Aorta, den Arterien, Arteriolen, Kapillaren, Venolen, Venen und der Vena Cava. Der Bereich der *REYNOLDS*-Zahl reicht von 3 600 bis 5 800 in der aufsteigenden Aorta über 1 200 bis 1 500 in der absteigenden Aorta bis hin zu 100 bis 800 in den Arterien. In den Arteriolen liegt sie zwischen 0,1 und 0,5, in den Arteriolen sowie bei den Muskelkapillaren von 7×10^{-4} bis 3×10^{-3} und von 0,1 bis 0,3 in den Venolen.^[136] Die Arteriolen haben einen Durchmesser von ca. 50 µm. In den Kapillargefäßen liegt der Durchmesser bei 4-9 µm bei einer Länge von 0,3 mm bis 0,1 mm. Somit ist ein Blutkörperchen mit seinem Durchmesser von ca. 8 µm manchmal kleiner als ein Kapillargefäß. Die durchschnittliche Fließgeschwindigkeit des Blutes in der Aorta beträgt 33 cm/s. In den Kapillaren fließt das Blut mit einer Geschwindigkeit von 0,3 mm/s.^[134]

2.6.3 Immobilisierung und Beschichtung im MF-Kanal

Die Anbindung eines Wirkstofftransportsystems an ein Zielobjekt, meistens ein Protein, ähnlich wie es in Abbildung 29 angedeutet ist, ist die Voraussetzung für die zielgerichtete Wirkung des eingeschlossenen Wirkstoffes. Damit sich spezifische Wechselwirkungen zwischen den Liganden von der Oberfläche des Wirkstofftransportsystems und dem Zielobjekt (Protein) ausbilden können, ist es notwendig, dass die Oberflächeneigenschaften der beiden Bindungspartner zueinander passen.^[137-138] Diese Protein-Ligand-Wechselwirkungen können bei den nichtkovalenten Bindungstypen in drei Kategorien eingeteilt werden: Wasserstoffbrückenbindungen, ionische und hydrophobe Wechselwirkungen.

Tabelle 5: Vergleich der Bindungsstärken einiger Bindungstypen^[139].

Bindungstyp	Bindungsstärke [kJ/mol]	Beispiel
kovalent	150 bis 580	
ionisch	20	
ion-Dipol	4 bis 17	$R_4N^+ \cdots NR_3$
Wasserstoffbrücke	1 bis 7	
Van der Waals-Wechselwirkung	2 bis 4	

Die kovalente Anbindung von Polymersomen zur Untersuchung mittels 3D-mikroskopischer Methoden konnte bisher, wie in Abbildung 46 schematisch dargestellt, mit Aldehydfunktionalisierten Polymersomen auf einer aminierten Glasoberfläche unter der Ausbildung einer Schiff'-schen Base erfolgreich gezeigt werden.^[140] Dabei wurden unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit und Sauerstoff mittels des (3-Aminopropyl)triethoxysilans die funktionellen Aminogruppen auf der Glasoberfläche generiert. Diese Methode ermöglicht nur „Steady state“ Untersuchungen.

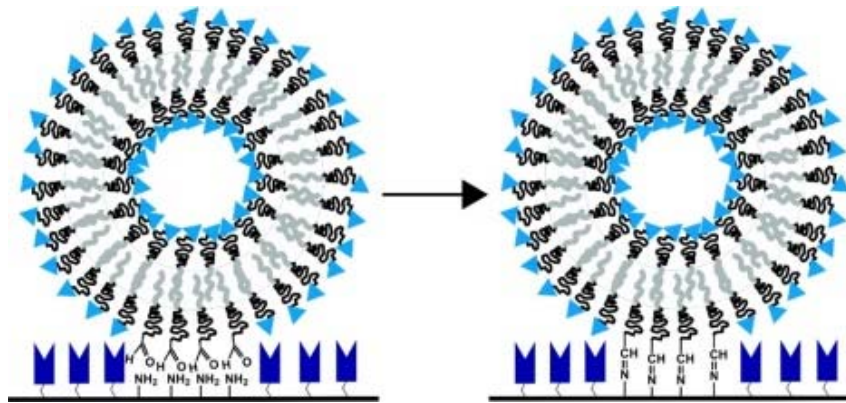


Abbildung 46: Immobilisierung von Aldehyd-funktionalisierten Blockcopolymer auf aminierten Glasoberflächen^[140]

Sollen aber die Untersuchungen als Modellsysteme für nanoskaligen Interaktionen komplexer biologischer Systemer, wie zum Beispiel der Zelladhäsion, herangezogen werden, dann ist es unumgänglich, die Polymersomen in einer Umgebung anzubinden, in der ein kontinuierlicher Fluss möglich ist. Die Mikrofluidik (kurz MF) bietet hierfür die passenden Untersuchungsgegebenheiten. In den Arbeiten von *DAVID A. WEITZ* konnte, wie in Abbildung 47 dargestellt, gezeigt werden, dass es möglich ist, MF-Kanäle mittels einer Sol-Gel-Methode mit Glas zu beschichten.^[141]

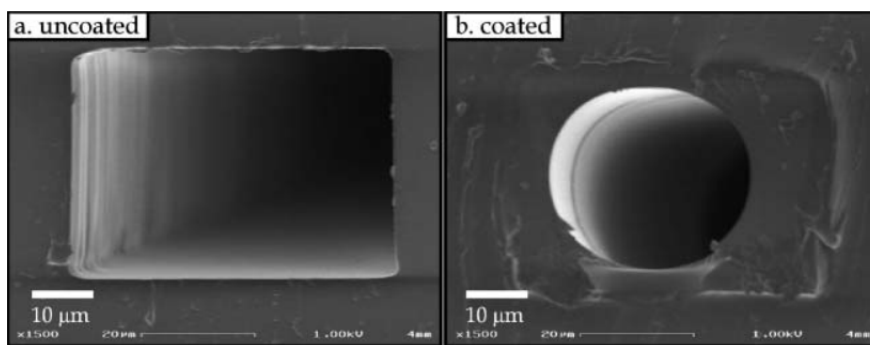


Abbildung 47: REM-Aufnahmen des unbeschichteten und des mit Glas beschichteten MF-Kanals^[141]

2.6.4 Grundlagen der Mikrofluidik

Die Mikrofluidik hingegen beschäftigt sich mit Flüssigkeiten und Gasen in Kanälen mit 10–100 µm Durchmesser, in denen geringste Mengen (10^{-9} – 10^{-18} L) durchgeleitet werden.^[142]

2.6.4.1 Die *Reynolds-Zahl*, Diffusion und Konvektion

Die allgemeine Beschreibung von Fluidbewegungen erfolgt durch die *REYNOLDS-Zahl* (Re), die das Verhältnis zwischen der Trägheitskraft und der viskosen Kraft betrachtet.

$$Re = \frac{d v \rho}{\eta} \quad (18)$$

Dabei ist d die charakteristische Länge des fluiden Systems, v die Fließgeschwindigkeit, ρ die Dichte der Flüssigkeit und η deren Viskosität. Bei großen *Reynolds-Zahlen* $Re \geq 1\,000$, wie zum Beispiel in der Aorta, dominiert die Trägheitskraft über die viskose Kraft. In den Venolen, Arteriolen und Kapillaren überwiegt der Einfluss der viskosen Kraft so sehr, dass die *Reynolds-Zahl* $\leq 0,1$ ist. In diesen Gefäßen ist das Verhältnis aus der Kontaktfläche zwischen der Flüssigkeit und der Röhrenwand sowie dem von der Röhre umschlossenen Volumen sehr groß. Deshalb wird die Reibung zu einem wesentlichen Parameter. Diese Dominanz der Viskosität hat zur Folge, dass die Strömung nicht mehr turbulent, sondern – wie gezeigt – laminar und ohne Verwirbelung fließt, sodass nur noch eine diffusive Durchmischung vorhanden ist.^[133]

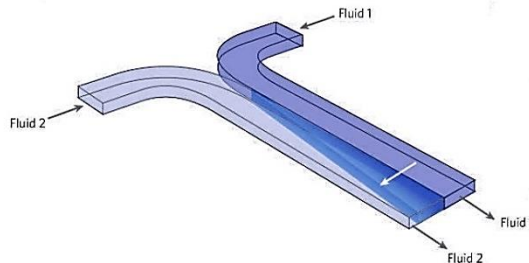


Abbildung 48: Vermischen zweier mischbarer Flüssigkeiten mittels Strömungslaminierung^[143]

Zudem gewinnen Phänomene wie Oberflächenspannung an Einfluss, sodass gemäß dem *Laplace-Gesetz* der äquivalente Druck P , welcher durch die Oberflächenspannung hervorgerufen wird, gegeben ist durch:

$$P = \frac{2\gamma \cos \theta}{r} \quad (19)$$

Dabei ist θ der Kontaktwinkel zwischen dem Fluid und der Oberfläche und r der Kanalradius.^[144-145]

Das vielfach zum Einsatz gekommene Kanaldesign bestand, wie in der Abbildung 49 dargestellt, aus zwei gekreuzten Kanälen, wodurch eine hydrodynamische Fokussierung des im Hauptkanal fließenden Fluides (rot) ermöglicht wurde. Hierfür wurde am Kreuzungspunkt ein weiteres Fluid, das mit dem ersten Fluid mischbar ist, durch die Nebenkanalströme (blau) zugeführt.

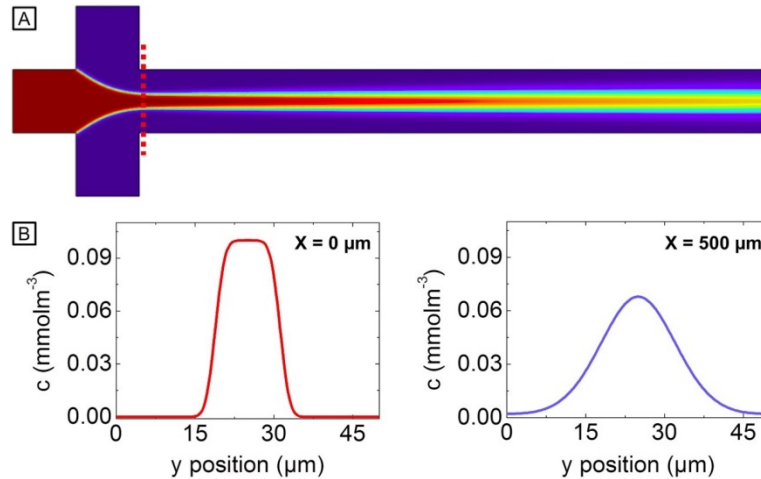


Abbildung 49: Eine FEM-Simulation zeigt eine auf Diffusion beruhende Mischung eines in der Strömung ausgerichteten Flüssigkeitsstrahl in einem mikrofluidischen Kanal. (A) 2D-Oberfläche Diagramm des Konzentrationsprofils. (B) Querschnitte des Auslaßkanals bei $x = 0$ und $x = 500 \mu\text{m}$ ^[146]

Das gewählte Kanaldesign und niederviskose, miteinander mischbare Flüssigkeiten erzeugen ein laminares Strömungsprofil ohne Turbulenzen, weshalb eine rein diffusionskontrollierte Durchmischung stattfindet. Die Diffusion eines Stoffes mit der Konzentration c kann im Allgemeinen dissipativen Fall mit der folgenden Gleichung beschrieben werden:

$$\partial_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla * (-D \nabla c) = R - u * \nabla c \quad (20)$$

Dabei ist D_{Diff} der Diffusionskoeffizient, u das Gleichgewichtsfeld, ∂_{ts} ist der zeitabhängige Koeffizient und R die Reaktionsgeschwindigkeit. Da von einem inkompressiblen Fluid ausgegangen wird, ist der Term $u * \nabla c = 0$. Folglich geht aus dem Strömungsprofil kein Term hervor, der die Nebenbedingung der Inkompressibilität nicht vollständig erfüllt.

Wird nun die Mischzeit $t_{\text{Konvektion}}$ mit der Diffusionszeit $t_{\text{Diffusion}}$ verglichen, wird deutlich, dass der diffusive Stofftransport schon im Zentimeterbereich nicht mehr durchführbar ist, da die charakteristische Länge l zur Mischzeit linear jedoch zur Diffusion im Quadrat eingeht.

$$t_{Konvektion} = \frac{1}{v_s} \text{ mit der kinematischen Viskosität } \nu_s = \frac{\eta}{\rho} \quad (21)$$

$$t_{Diffusion} = \frac{l^2}{D} \quad (22)$$

Durch den typischen kleinen Größenbereich von MF-Kanälen und daher kleinen Werten für l bzw. niedrigen Re-Zahlen ist eine effektive und schnelle Durchmischung mittels Diffusion möglich.^[144-146]

2.6.4.2 Die *Navier-Stokes-Gleichungen*

Des Weiteren basieren die hydrodynamischen Gesetzmäßigkeiten auf der Energieerhaltung, der Massenerhaltung und der Impulserhaltung.^[147] Aus dem Letzteren können mittels einer Kräftebilanz, unter Annahme isotroper Bedingungen, die *Navier-Stokes-Gleichungen* abgeleitet werden. Diese Gleichungen sind ein System nicht linearer partieller Differentialgleichungen zweiter Ordnung was ein mathematisches Modell für die Bewegung von inkompressiblen viskosen Flüssigkeiten wie etwa Wasser beschreibt. Die gelösten *Navier-Stokes-Gleichungen* geben das Geschwindigkeitsfeld und den Druck einer strömenden Flüssigkeit in der Abhängigkeit von Ort und Zeit an. Für ein inkompressibles Fluid, d. h. die Dichte bleibt entlang der Teilchenbahn konstant, lautet die allgemeine Form^[144, 146, 148-149]:

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} - \nabla * [\eta(\nabla u + (\nabla u)^T)] + \rho(u * \nabla)u + \nabla p = F \quad (23)$$

$$\nabla * u = 0 \quad (24)$$

Die Impulstransportgleichung (23) beschreibt das dynamische Verhalten Newtonscher Fluide mit der Dichte ρ sowie der dynamischen Viskosität des simulierten Fluids η , dem Geschwindigkeitsfeld u , einer auf das Fluid wirkende Kraft F und dem Gesamtdruck p . Zusammen mit der Inkompressibilität des Fluids und dem Massenerhaltungssatz wird die sogenannte Kontinuitätsgleichung (24) erhalten, aus der sich die Divergenzfreiheit von u ergibt. Diese besagt, dass bei jedem finiten Element eines räumlich und zeitlich diskretisierten Fluids in jedem Zeitbereich Δt genauso viel Masse in das Element wie aus dem Element transportiert werden muss.

Im MF-Bauelement herrscht eine laminare Strömung, weshalb dynamische Phänomene als stationär angenommen werden können. Für diesen Fall vereinfachen sich die *Navier-Stokes-Gleichungen* zu:

$$-\eta \nabla^2 u + \rho(u * \nabla)u + \nabla p = F \quad (25)$$

$$\nabla * u = 0 \quad (26)$$

Die Gleichung (25) enthält im Gegensatz zu den *Navier-Stokes*-Gleichungen (23) keine Zeitabhängigkeit, weshalb alle Bewegungen mit niedrigen *Reynolds*-Zahlen zeitsymmetrisch sind.^[144-146]

2.6.4.3 Die No-Slip-Randbedingung

Die Oberflächeneigenschaften des MF-Systems spielen aufgrund des großen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses eine wichtige Rolle und üben einen erheblichen Einfluss auf den Strömungswiderstand in Mikrokanälen aus. Die No-Slip-Randbedingung ist ein gängiges Modell, um die makroskopische hydrodynamische Interaktion von Flüssigkeiten mit Festkörperoberflächen zu beschreiben. Es besagt, dass sich ein Teilchen einer Flüssigkeit mit dem Geschwindigkeitsfeld u eines fließendes Fluid an der Grenzfläche mit dem MF-Kanal nicht bewegt und u daher Null ist. Moleküldynamische Berechnungen haben die Gültigkeit im submikroskopischen Bereich bewiesen. Es wird von einer Art hydrodynamischen Wand ausgegangen, die einer Festkörperwand entspricht und auf einer einen Moleküldurchmesser dicken Fluidschicht beruht. Diese Annahme ist im Mikro- und Nanobereich ungeeignet, wenn stark hydrophile Medien und stark hydrophobe sowie nanostrukturierte Materialien zum Einsatz kommen, bei welchen die Lineargeschwindigkeit v_x an der Grenzfläche nicht Null ist.^[144-146]

Die jeweils vorliegenden Randbedingungen können durch die Schlupflänge δ_{Schl} differenziert werden. Sie kann je nach dem experimentellen Bedingungen wenige Moleküldurchmesser bis mehrere Mikrometer betragen. Die Schlupflänge beschreibt, wie tief die an der Oberfläche eines Festkörpers vorliegende Lineargeschwindigkeit v_x in diesen hinein extrapoliert werden muss, um den Fall $v_x = 0$, d.h. die No-Slip Randbedingung, zu erfüllen. Abbildung 50 zeigt eine schematische Darstellung der möglichen Schlupflängen.^[144-146]

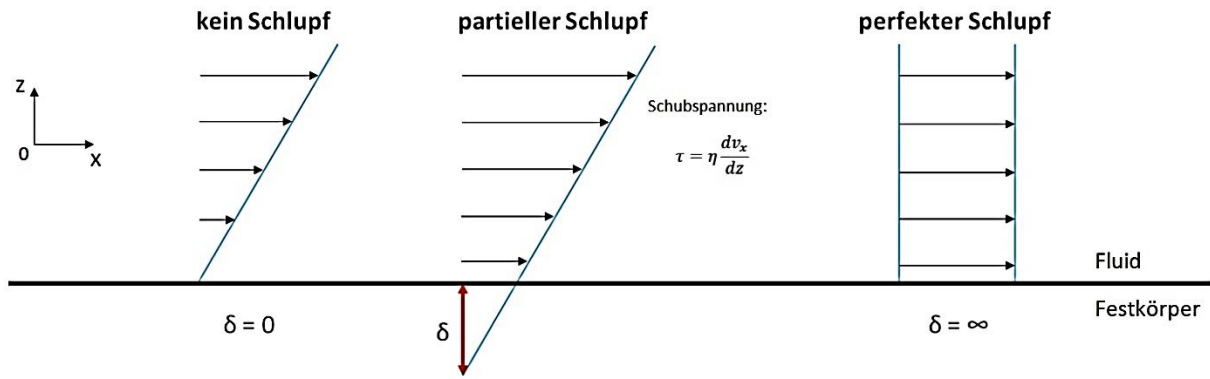


Abbildung 50: Schematische Darstellung der Schlupflänge δ mit den entsprechenden Grenzfällen^[144-145]

Bei den verwendeten verglasten PDMS-Kanälen, die mit wässrigen Lösungen durchspült werden, kann in guter Näherung von der No-Slip Randbedingung ausgegangen werden.^[144] Auf Grund der kleinen *Reynolds*-Zahlen im MF-Kanal und der Wechselwirkung zwischen der Flüssigkeit und den Kanalwänden kann angenommen werden, dass die Strömungsgeschwindigkeit an den Wänden sehr viel kleiner ist als im Zentrum, wo sie maximal ist. Somit stellt sich eine parabolische Geschwindigkeitsverteilung $v(r)$ über den Kanaldurchmesser R ein. Treibt eine Druckdifferenz Δp zwischen den Ausgängen des Kanals mit der Länge l diese Strömung an, so ergibt sich für eine maximale Fließgeschwindigkeit^[133]:

$$v_{\max} = \frac{\Delta p}{4l\eta} R^2 \quad (27)$$

2.6.5 Fertigung der mikrofluidischen Bauelemente

Die Fertigung der mikrofluidischen Bauelemente erfolgte nach dem von *GEORGE M. WHITESIDES* und *YOUNAN XIA* etablierten Verfahren des *rapid prototyping* (schneller Modellbau). Dieser Ablauf beschreibt die Verfahrensschritte von der konzeptionellen Entstehung eines Kanaldesigns mittels eines Computerprogrammes wie zum Beispiel AutoCAD (computer-aided design), über den Musterentwurf sowie der anschließenden photolithographischen Fabrikation einer Mastervorlage bis hin zur endgültigen softlithographischen Herstellung der PDMS basierten MF-Kanalstrukturen.^[150-151]

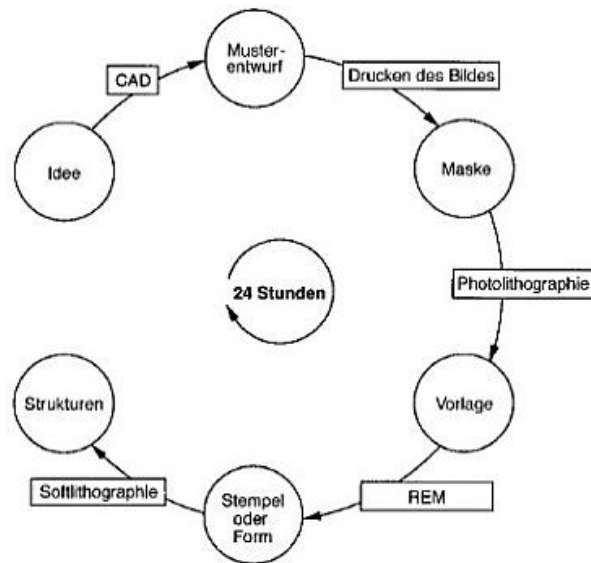


Abbildung 51: Schematische Darstellung des *rapid prototyping* zur Fertigung mikrofluidischer Kanalsysteme^[150]

Nach dem der mittels AutoCAD erzeugte Musterentwurf einer Kanalstruktur auf eine UV-durchlässige Belichtungsfolie gedruckt wurde, wird wie in Abbildung 52 gezeigt, eine Siliziumscheibe mit einem photosensitiven SU-8 50-Lack (Photoresist) über die „*spin-coating*“-Methode beschichtet. Anschließend wird die auf der Photomaske enthaltene Kanalstruktur in das Photoresist mittels der Photolithographie polymerisiert.^[144-146]

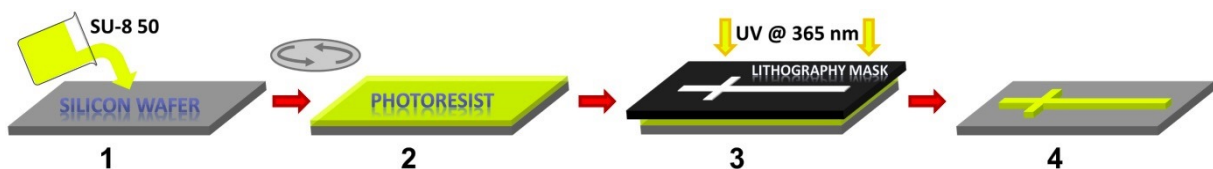


Abbildung 52: Herstellung einer mikrofluidischen Mastervorlage mittels Photolithographie^[146]

Der photosensitive Lack besteht aus dem von *SHELL CHEMICALS* entwickelten und in Abbildung 53 dargestellten epoxid-funktionalisierten EPON-SU-8 sowie einem Triarylsulfoniumhexafluoroantimonat-Salz, welches nach der UV-induzierten Photolyse neben Antimonhexafluorwasserstoffsäure radikalische Nebenprodukte freisetzt, die eine UV-initiierte freie radikalische und kationische Polymerisation starten.^[152-154]

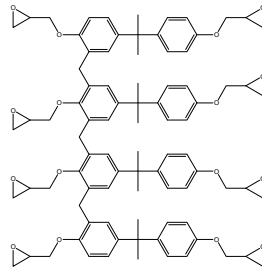


Abbildung 53: Photoresist SU-8

Die Oberflächen der fertiggestellten Mastervorlagen der mikrofluidischen Kanalstrukturen werden zur Bestimmung der Kanalhöhen und Aufspüren von Defektstellen mittels der Rasterelektronenmikroskopie (REM) analysiert. In Abbildung 54 sind Beispielaufnahmen solche REM-Messungen gezeigt. Dabei ist in der Aufnahme A die AutoCAD-Zeichnung der Kanalstruktur als Übersicht dargestellt. Diese Kanalgeometrie wurde für die Herstellung von Polymersomen mittels der hydrodynamischen Fokussierung entwickelt. In der Übersichtsaufnahme B ist die Mischzone des Kanalkreuzes des Hauptkanals und der Nebenkanäle abgebildet. Die Aufnahme D zeigt einen vergrößerten Ausschnitt des Kanalkreuzes aus der Aufnahme B. Dabei zeigt das wellenartige Profil der Seitenwände das begrenzte Auflösungsvermögen der Lithographiemaske an. Die dunkle Schicht am Boden der SU-8-Struktur ist nur eine optische Wirkung, die aus der begrenzten Schärfentiefe der sekundären Elektronen resultiert. Einer die drei möglichen Eingänge in die Kanalstruktur ist in der Aufnahme C abgebildet.^[146]

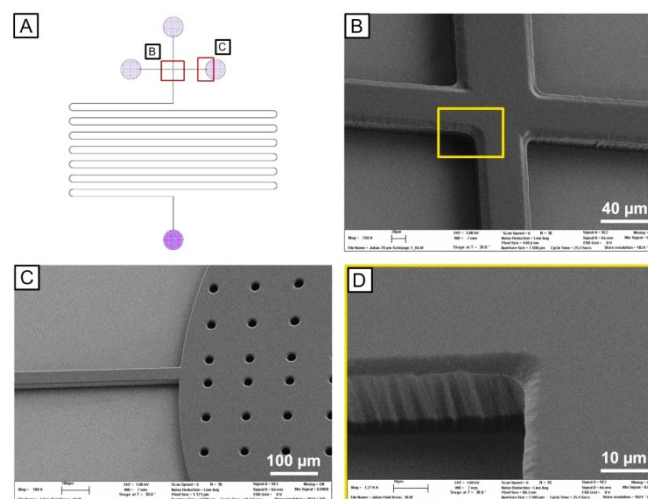


Abbildung 54: REM-Charakterisierung der mikrofluidischen Mastervorlage^[146]

Die so erzeugten Masterstrukturen können in gleichbleibend hoher Qualität mehrfach wiederverwendet werden, um mit einem Elastomer wie Polydimethylsiloxan (PDMS) die mikrofluidischen Bauelemente zu fertigen. PDMS hat sich vor allem aufgrund seiner isotropen, optisch

transparenten Eigenschaften, sowie seiner Einsetzbarkeit über einen größeren Temperaturbereich (-50 °C bis 200 °C) durchgesetzt. Des Weiteren ist der Werkstoff nicht toxisch und im Vergleich zu Silizium pro Volumeneinheit 50-mal günstiger.

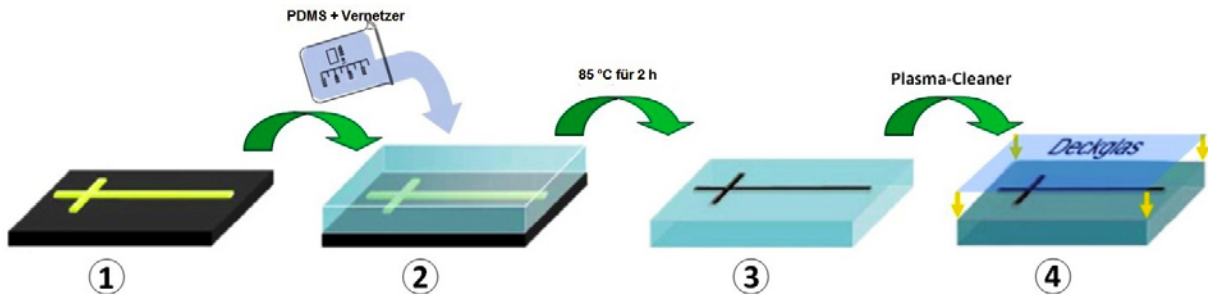


Abbildung 55: Soft-Lithographie der mikrofluidischen Mastervorlage zum fertigen PDMS-Mikrofluidik-Chip^[146]

Das im Schritt 1 hergestellte PDMS wird aus dem in Abbildung 56 gezeigten Zwei-Komponentensystem Sylgard 184 hergestellt, welches aus einem Basismaterial (60 % Dimethylsiloxan) und einem Quervernetzer (40 bis 70 % Hydrogenmethylsiloxan) besteht. Durch die Anwesenheit einer platinorganischen Verbindung wie Dihydrogenhexachloroplatinat(VI), erfolgt eine Hydrosilylierung der terminalen Vinylgruppen des Dimethylsiloxans mit dem wasserstoffhaltigen Vernetzer. Die ablaufende Vulkanisation lässt sich durch die Temperaturerhöhung (Schritt 2) beträchtlich steigern und ist weder von einem Gewichtsverlust, noch von einer bedeutsamen Schrumpfung (~ 1 %) begleitet.

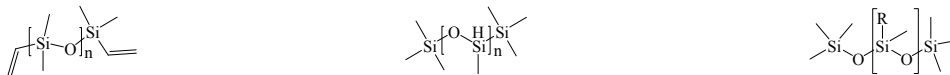


Abbildung 56: v. l. n. r.: Dimethylsiloxan (Sylgard® 184-Oligomer), Hydrogenmethylsiloxan (Vernetzer), quervernetztes PDMS^[144]

Hierdurch wird die Kanalstruktur während der Herstellung nicht deformiert. Nachdem die Abgussvorlage entfernt worden ist und die später benötigten Zu- und Abflüsse gestochen worden sind, wird die Kanalstruktur im PDMS durch ein dünnes Deckgläschen nach einer Plasmabehandlung durch kovalente Anbindung verschlossen (Schritt 3). In dem Plasma-Cleaner wird eine Luft- oder Sauerstoffplasmaentladung erzeugt, die beim PDMS zur Bildung von Silanolgruppen auf Kosten von Methylgruppen führt. Durch den Kontakt des oxidierten PDMS mit dem ebenfalls behandelten Deckglas werden die beiden Materialien irreversibel miteinander verbunden, weil sich zwischen ihnen kovalente -O-Si-O Bindungen bilden.^[144-146]

3 Analytische Methoden

3.1 NMR-Spektroskopie

Das Verfahren der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie („*nuclear magnetic resonance spectroscopy*“) beruht auf der Wechselwirkung zwischen dem magnetischen Moment eines Atomkerns und eines darauf einwirkenden magnetisches Feld.^[155] Die Mehrzahl der Atomkerne besitzt einen Eigendrehimpuls oder auch Kernspin P genannt. Dieser Spin führt entlang einer Spinachse zu einem magnetischen Moment des Atomkerns. Aus quantenmechanischen Rechnungen geht hervor, dass dieser Eigendrehimpuls gequantelt ist.^[156-158]

$$P = \sqrt{I(I+1)}\hbar; \hbar = \frac{h}{2\pi} \quad (28)$$

Dabei ist h das Planck'sche Wirkungsquantum ($6,626 \cdot 10^{-34}$ Js) und I die Spinquantenzahl. Die wichtigsten Kerne, die in dieser Arbeit für die NMR-spektroskopischen Untersuchungen verwendet wurden, sind ^1H und ^{19}F . Beide haben einen Kernspin von $\frac{1}{2}$ sowie eine natürliche Häufigkeit von 99,99 % für das ^1H -Kernisotop. Für ^{19}F -Kernisotop liegt sie bei 100 %. Mit dem Drehimpuls P ist proportional ein magnetisches Moment μ verknüpft.^[156-157]

$$\mu = \gamma P \quad (29)$$

Dabei ist γ ein Proportionalitätsfaktor, der als gyromagnetisches („*kreiselmagnetisches*“) Verhältnis bezeichnet wird. Dieser Faktor ist für jeden Kern spezifisch und von ihm hängt die Nachweisempfindlichkeit eines Kerns bei der NMR-Messung ab.^[156-157]

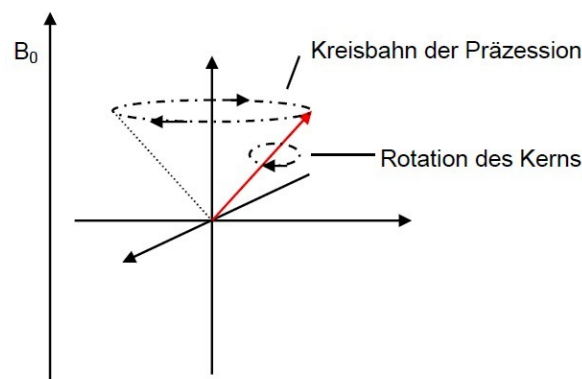


Abbildung 57: Schematische Darstellung der Präzessionsbewegung der Kerne im Magnetfeld B_0 ^[159-161]

Atomkerne mit einem Spin von $\frac{1}{2}$ können sich in einem angelegten B_0 -Feld nur parallel (α -Zustand) oder antiparallel (β -Zustand) orientieren. Da der parallel zum Feld orientierte α -Zustand energetisch günstiger ist als der antiparallel ausgerichtete β -Zustand, ist diese Orientierung stärker populiert. Diese energetisch aufgespaltenen Zustände werden als Kern-*ZEEMAN*-Niveaus bezeichnet. Somit zeigt sich, wie in Abbildung 58 dargestellt, für die beiden Niveaus die folgenden magnetischen Eigenzustände $m = +\frac{1}{2}$ und $-\frac{1}{2}$ der folgenden Energiezustände:

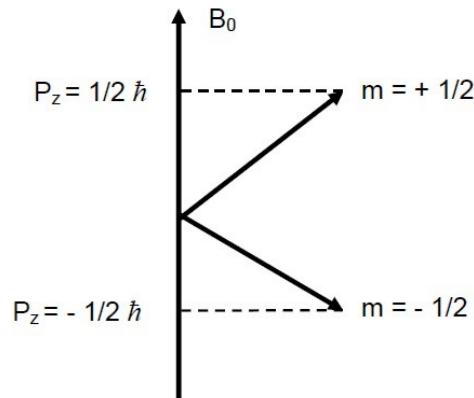


Abbildung 58: Richtungsquantelung des Drehimpulses für $I = \frac{1}{2}$ ^[159-161]

$$E_{+1/2} = -\frac{1}{2}\gamma\hbar B_0 \text{ und } E_{-1/2} = \frac{1}{2}\gamma\hbar B_0 \quad (30)$$

Die Differenz der Energieniveaus ist gegeben durch:

$$\Delta E = \gamma\hbar B_0 \quad (31)$$

Diese Energiedifferenz hängt direkt mit der Frequenz der Absorption oder Emission der eingestrahlten Wellenlänge zusammen:

$$\Delta E = h\nu_0 \quad (32)$$

Somit ergibt sich ein Zusammenhang zwischen der Radiofrequenz ν_L (Larmorfrequenz) und dem äußeren Magnetfeld.

$$\nu_L = \frac{|\gamma|}{2\pi} B_0 \quad (33)$$

Das Magnetfeld B_0 wechselwirkt mit dem magnetischen Moment μ ; die entsprechende Energie des magnetischen Dipols im Magnetfeld ist gegeben durch:

$$E = -\mu_z B_0 \quad (34)$$

Die Populationsdifferenz zwischen den magnetischen Kernniveaus lässt sich mittels der *BOLTZMANN*-Beziehung beschreiben:

$$\frac{N_{\beta}}{N_{\alpha}} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = 1 - \frac{\Delta E}{kT} = 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{kT} \quad (35)$$

Wobei N_{α} und N_{β} die Anzahl der Kerne im höheren bzw. niedrigeren Energieniveau, k die Boltzmann-Konstante ($1,3805 \cdot 10^{-23}$ J/K) und T die absolute Temperatur in Kelvin ist.

Aufgrund dieser unterschiedlichen Besetzungen der Energieniveaus ergibt durch die Summe der z -Komponenten aller magnetischen Kernmomente μ eine makroskopische Magnetisierung in Richtung des B_0 -Feldes.

Die Übergänge zwischen den beiden Energieniveaus sind nur durch die Einstrahlung einer elektromagnetischen Welle mit der richtigen Larmorfrequenz möglich. Wird mit dieser Wellenlänge auf die Probe eingestrahlt, präzediert die Magnetisierung danach bei einer bestimmten Frequenz. Anschließend relaxiert die Magnetisierung wieder ins Gleichgewicht zurück, was bedeutet, dass M_z wieder auf M_0 anwächst und die Quermagnetisierung M_y verschwindet. Dieses Signal kann als FID („*free induction decay*“) detektiert werden.^[156-157]

Diese Relaxation kann durch die *BLOCH*-Gleichungen beschrieben werden:

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1} \quad (36)$$

$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} \quad \text{und} \quad \frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2} \quad (37)$$

Wobei T_1 für die Spin-Gitter- oder longitudinale Relaxationszeit der M_z -Magnetisierung sowie T_2 für Spin-Spin-/transversale Relaxationszeit der M_x -, M_y -Magnetisierung stehen.

Der T_1 (Spin-Gitter-)Relaxationsprozess ist mit einer Energieänderung des Spinsystems verbunden, da die vom eingestrahlten Impuls aufgenommene Energie an die Umgebung, das sogenannte „Gitter“, abgegeben wird. Dieses Gitter steht stellvertretend für die Nachbarmoleküle in der Lösung oder für die Gefäßwand des NMR-Röhrchens. Die Länge der T_1 -Relaxationszeit ist abhängig von der chemischen Struktur des Moleküls, dem Einfluss der benachbarten Kerne und der Molekülgröße bzw. Beweglichkeit.^[158, 162]

Die Spin-Spin-Relaxation bestimmt den Zerfall der Quermagnetisierung M_y . Dieser Relaxationsprozess beruht auf einem Energieaustausch zwischen benachbarten Atomkernen. Die Gesamtenergie des Spinsystems und damit die Besetzungsverhältnisse der einzelnen Ener-

gieniveaus ändern sich dabei nicht; es handelt sich um einen reinen Entropieprozess mit einem Verlust der Phasenkohärenz zwischen den einzelnen Spins. Die hiermit verknüpfte T2-Relaxationszeit ist für die quantitative NMR-Spektroskopie eine vernachlässigbare Größe. Ihre praktische Bedeutung liegt jedoch in der Beeinflussung der Linienbreite; sie stellt somit ein Maß für die spektrale Auflösung dar.^[156-157, 162]

Wie in Abbildung 59 dargestellt wird, um alle Kerne einer Sorte anzuregen, der Hochfeldgenerator im sogenannten Impuls-Verfahren mit einer festen Frequenz ν_L für nur eine kurze Zeitdauer von ca. 10 μ s eingeschaltet, was einen Hochfrequenz-Impuls mit kontinuierlichem Frequenzband erzeugt, welches symmetrisch zur Frequenz ν_L liegt. Die Kerne relaxieren zurück und das FID kann aufgenommen werden. Mittels der mathematischen Operation der *Fourier-Transformation* (FT) der Gleichung (38) wird aus dem FID das NMR-Spektrum kalkuliert.^[156-157, 162]

$$g(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) e^{i\omega t} dt \quad (38)$$

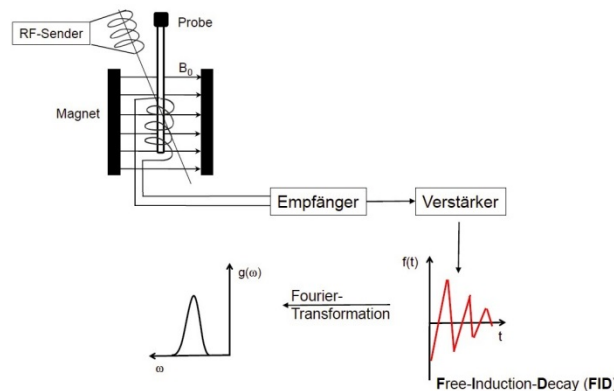


Abbildung 59: Messprinzip des Impulsverfahrens

Die Resonanzfrequenz des beobachteten Atomkerns wird durch die eigenen Elektronen und der benachbarten Atome beeinflusst. Daraus resultiert eine strukturabhängige chemische Verschiebung δ , welche ein Maß für die Stärke dieses Einflusses ist.

$$\delta_{Substanz} = \frac{V_{Substanz} - V_{Standard}}{V_L} \quad (39)$$

Die chemische Verschiebung ist auf die Frequenz eines Standardsignals bezogen. Früher wurde hierfür Tetramethylsilan eingesetzt, heutzutage wird meistens das Signal des eingesetzten Lösungsmittels verwendet.

Durch die unterschiedliche chemische Umgebung in einem Molekül ist die wirkende Flussdichte B_{eff} an einem Kernort stets um den Betrag σB_0 kleiner als das von außen angelegte Magnetfeld mit der Flussdichte B_0 .

$$B_{\text{eff}} = B_0 - \sigma B_0 = (1 - \sigma)B_0 \quad (40)$$

Dieser Effekt wird als Abschirmung bezeichnet und führt dazu, dass die Signale hochfeldverschoben sind. Ein Maß dafür ist die Abschirmungskonstante σ . Die Abschirmung ändert die Larmorfrequenz ν_L eines Kerns und somit die Resonanzbedingungen.^[158]

$$\nu_L = \frac{|\gamma|}{2\pi} (1 - \sigma)B_0 \quad (41)$$

Sind hingegen in der chemischen Umgebung eines Protons Atome oder Atomgruppen, welche die Elektronendichte verringern, so kommt es zu einer Entschirmung, was das zu führt, dass das Signal tieffeldverschoben ist. Einige aus Abschirmung bzw. Entschirmung resultierende chemische Verschiebungen von Protonen sind in Abbildung 60 gezeigt. Dabei sind die Bereiche für Hydroxy- und Aminogruppen (orange farbend) deutlich breiter gefasst als die meisten andere CH-Gruppen (blau).^[163]

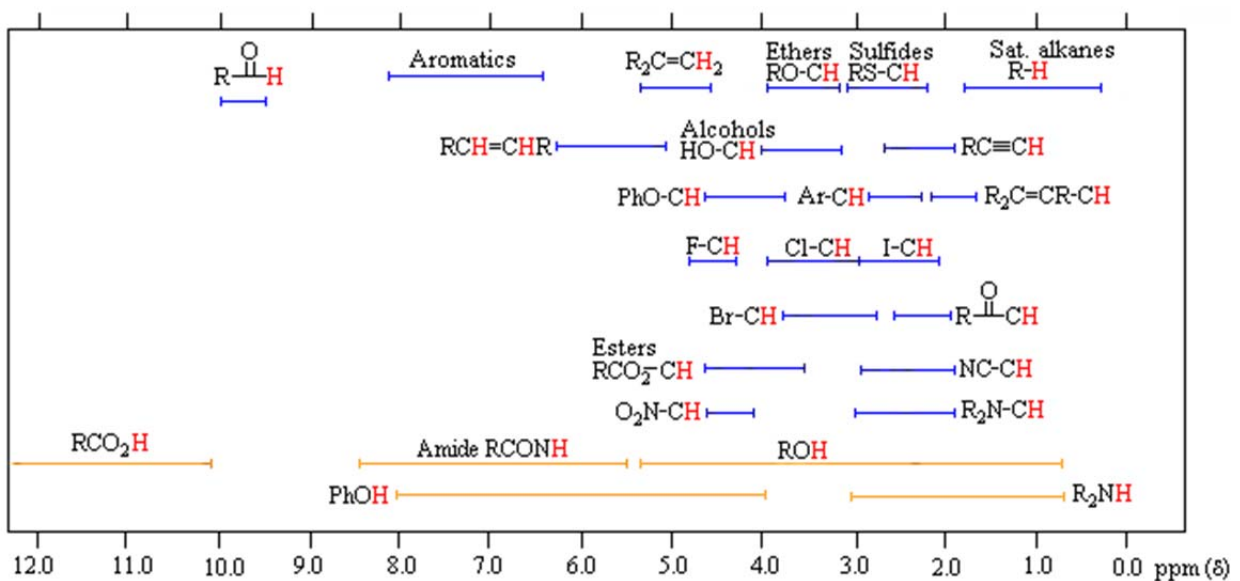


Abbildung 60: Einige chemische Verschiebungen von Protonen^[163]

Die chemische Verschiebung ist vorwiegend von der Ab- bzw. Entschirmung der chemischen Umgebung abhängig. Zusätzlich spielt aber auch noch ein Lösungsmittelleffekt eine kleine Rolle. In Tabelle 6 ist dieses Phänomen an einigen Beispielen gezeigt. Die ausgewählten Lösungsmittel sind Chloroform-d1, Benzol-d6, Aceton-d6, DMSO-d6 und D₂O. Gezeigt sind die

chemischen Verschiebung der Verbindungen MTBE (Methyl-*tert*-butylether), Isobutanol und Toluol. In den meisten Fällen liegt der Unterschied zwischen den einzelnen der chemischen Verschiebungen in einem Bereich von 0,2-0,03 ppm. Nur die Signale der Alkohole sind deutlicher vom Lösungsmittel abhängig. So zeigt die Hydroxygruppe im Benzol-d₆ eine chemische Verschiebung von 1,55 ppm, im DMSO-d₆ hingegen beträgt sie schon 4,19 ppm.^[163]

Tabelle 6: Einige typische ¹H-chemischen Verschiebungen in ausgewählten Lösungsmitteln^[163]

		Lösungsmittel				
		Chloroform-d ₁	Benzol-d ₆	Aceton-d ₆	DMSO-d ₆	D ₂ O
Verbindung	(CH ₃) ₃ COCH ₃					
	C-CH ₃	1,19	1,07	1,13	1,11	1,21
	O-CH ₃	3,22	3,04	3,13	3,03	3,22
	(CH ₃) ₃ C-OH					
	C-CH ₃	1,26	1,05	1,18	1,11	
	O-H	1,65	1,55	3,10	4,19	
	C ₆ H ₅ CH ₃					
	CH ₃	2,36	2,11	2,32	2,30	
	C ₆ H ₅	7,15 -7,20	7,00-7,10	7,10-7,20	7,10-7,15	

3.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie (GPC) oder auch Größenausschluss-Chromatographie (*size exclusion chromatography*, SEC) ist eine Methode zur Bestimmung der Molmassenverteilung und der fraktionierenden Trennung von Polymeren. Die Auftrennung der verschieden großen Makromoleküle erfolgt über das unterschiedliche hydrodynamische Volumen V_H . Die Polymerprobe wird, wie in Abbildung 61 schematisch dargestellt, zur Trennung durch eine Säule aus makroporösen Gelen geleitet. Die stationäre Phase kann entweder aus vernetztem Polystyrol, Dextran, Polyacrylamid sowie Cellulose oder Silica-Partikeln aufgebaut sein. Die nichtionischen, kugelförmigen Polymere weisen dabei eine definierte Porengrößenverteilung von 10-105 nm auf. Die unterschiedlich großen Makromoleküle, die in der mobilen Phase gelöst sind, wandern an der stationären Phase vorbei. Dabei dringen die Moleküle mit dem kleineren hydrodynamischen Volumen in die Poren ein, während die voluminöseren Makromoleküle vorbeifließen. Somit eluieren die größeren Polymere vor den kleineren. Denn mit abnehmendem hydrodynamischen Volumen steigt die Verweildauer in der stationären Phase und führt somit zu einer längeren Retentions- oder Elutionszeit.

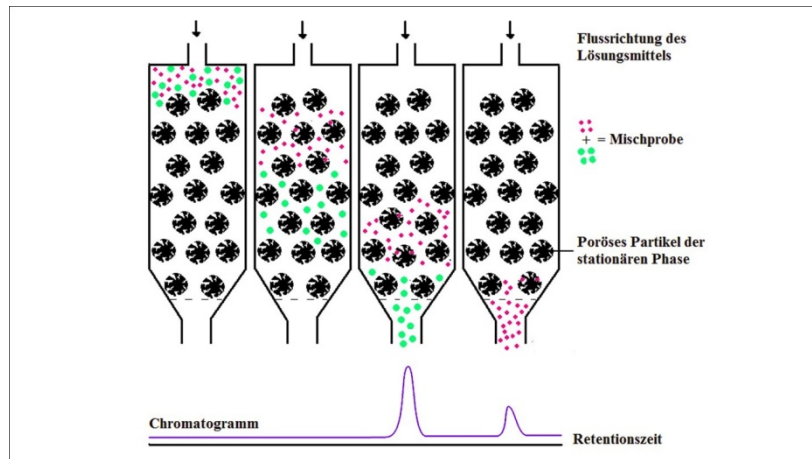


Abbildung 61: Schematische Darstellung der Trennung von Polymerproben mittels der GPC^[44]

Als Detektionsmethoden werden in der Regel die Messungen des Brechungsindex oder der UV-Adsorption des Eluats verwendet. Zudem wird jeder vermessenen Probe ein interner Standard zugesetzt, der in der vorliegenden Arbeit Toluol ist. Das Detektionssignal wird als Funktion des Elutionsvolumen V_{El} aufgetragen und korreliert somit mit der molaren Masse des Polymers. Das Elutionsvolumen ist die Summe des inneren Volumens V_i und des äußeren Volumens V_0 der stationären Phase.

Für Makromoleküle mit einem sehr großen hydrodynamischen Volumen entspricht das Elutionsvolumen dem äußeren Volumen, da das Polymer nicht in die Poren der stationären Phase eindringen kann.

$$V_{El} = V_0 \quad (42)$$

Molekülen mit kleineren hydrodynamischen Volumina steht zusätzlich das gesamte innere Volumen der stationären Phase zur Verfügung.

$$V_{El} = V_0 + V_i \quad (43)$$

Bei Molekülen, die nicht in alle Poren, sondern nur in einem Bruchteil K_d eindringen können, verändert sich das Elutionsvolumen zu:

$$V_{El} = V_0 + K_d V_i \quad (44)$$

Somit ergibt sich für die GPC, wie Abbildung 62 zeigt, eine obere und untere Ausschlussgrenze. Polymere mit einer größeren molaren Masse als M_0 eluieren gleichzeitig bei dem Elutionsvolumen V_0 , (obere Ausschlussgrenze). Moleküle, die eine kleinere molare Masse als M_u

haben, eluieren gleichzeitig bei der unteren Ausschlussgrenze mit dem Elutionsvolumen $V_{El} = V_0 + V_i$. Die Trennwirkung erfolgt also für Moleküle mit den Molmassen $M_0 > M > M_u$.

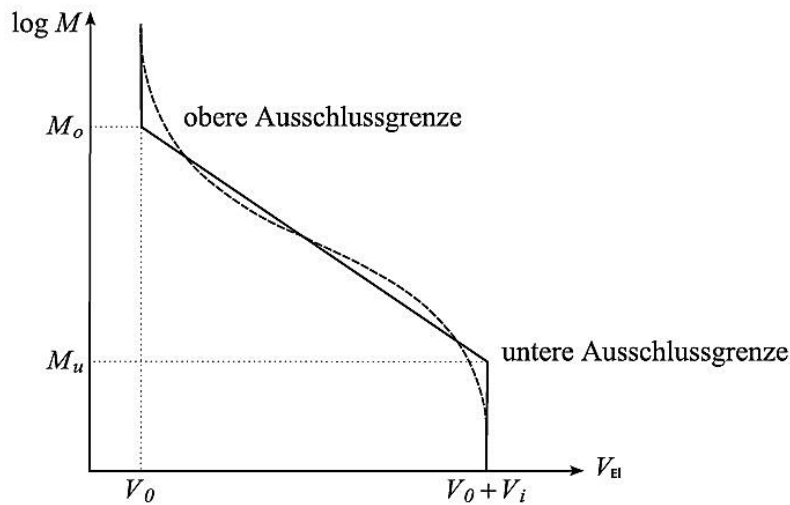


Abbildung 62: Auftragung einer GPC-Eichkurve.

Die durchgezogene Linie stellt den idealen, die gestrichelte Kurve einen experimentell ermittelten Verlauf dar^[164]

Da die Gelpermeationschromatographie keine Absolutmethode ist, ist eine Kalibrierung mit Polymeren bekannter enger Molekulargewichtsverteilung von Nöten. Hierbei steht das Elutionsvolumen mit der molaren Masse für ein Polymer-Lösungsmittel-System in folgender empirischer Beziehung:

$$\log M = a - bV_{El} \quad (45)$$

Es handelt sich bei a und b um zwei empirisch bestimmte Konstanten.

Aus dem gemessenen Elutionsvolumen lässt sich mit Hilfe der Kalibrierkurve die molare Masse bestimmen. Jedes Polymersystem zeigt aber ein unterschiedliches Knäuelverhalten und somit ein anderes hydrodynamische Volumen. Daher ist eine einzelne Kalibrierung für jedes System erforderlich.

Für einige Polymersysteme, wie zum Beispiel Blockcopolymere, stehen keine Standards zur Verfügung, daher müssen die molaren Massen näherungsweise über eine universelle Kalibrierung bestimmt werden. Hier wird das hydrodynamische Volumen mit der jeweiligen intrinsischen Viskosität $[\eta]$ des Polymers im verwendeten Lösungsmittel bei einer gegebenen Mess-temperatur mittels der Einstein'schen Gleichung ins Verhältnis gesetzt.

$$V_H = \frac{[\eta]M}{2,5N_L} \quad (46)$$

Dabei ist N_L die Loschmidt'sche Zahl. Die intrinsische Viskosität korreliert über die semiempirische MARK-HOUWINK-Beziehung mit der molaren Masse.

$$[\eta] = kM^\alpha \quad (47)$$

Dabei sind k und α für ein Polymer-Lösungsmittel-System konstante Faktoren und tabelliert.^[32] Durch Einsetzen der Gleichung (47) in die Gleichung (46) folgt:

$$V_H = \frac{kM^{\alpha+1}}{2,5N_L} \quad (48)$$

Da das hydrodynamische Volumen des untersuchten Polymers V_p gegen das des internen Standards V_s vermessen wird, folgt:

$$V_s = V_p \quad (49)$$

$$\frac{k_s M_s^{\alpha_s+1}}{2,5N_L} = \frac{k_p M_p^{\alpha_p+1}}{2,5N_L} \quad (50)$$

$$M_p = \left(\frac{k_s M_s^{\alpha_s+1}}{k_p} \right)^{\frac{1}{\alpha_p+1}} \quad (51)$$

Zur quantitativen Bestimmung der Polymere mit einer bestimmten molaren Masse muss die Konzentration der Polymere im Eluat erfasst werden. Als Detektoren dienen das UV/Vis-Spektrometer oder das Differentialrefraktometer.^[32, 43-44, 147, 164]

3.3 MALDI-ToF-Massenspektrometrie

Die von *KARAS* und *HILLENKAMP* entwickelte MALDI-ToF-Massenspektrometrie (*matrix assisted laser desorption and ionisation time of flight-mass spectrometry*) oder matrixassisierte Laserdesorptionsionisations-Flugzeitmassenspektrometrie ist eine Methode zur absoluten Bestimmung von Molmassen.^[165-166] Durch diese Technik können, wie in Abbildung 63 schematisch dargestellt, Makromoleküle ohne Fragmentierung in der Gasphase ionisiert werden. Dabei wird eine diskontinuierliche Methode verwendet, der die Desorption der Ionen jeweils als Folge von einzelnen Laserblitzen erfolgt, d. h. die Abfolge der Ionenerzeugung, Beschleunigung und Trennung wird in kurzen Zeitabständen wiederholt. Durch Stöße oder Komplexierungen mit zugesetzten Ionen werden die Polymere ionisiert. In einem ToF-

Spektrometer werden die ionisierten Moleküle der Masse m und der Ladung ze durch ein elektrisches Feld F über eine Wegstrecke d beschleunigt und legen dann eine Flugstrecke l zurück. Nach einer Zeit t erreichen sie den Detektor am Ende der Flugbahn.

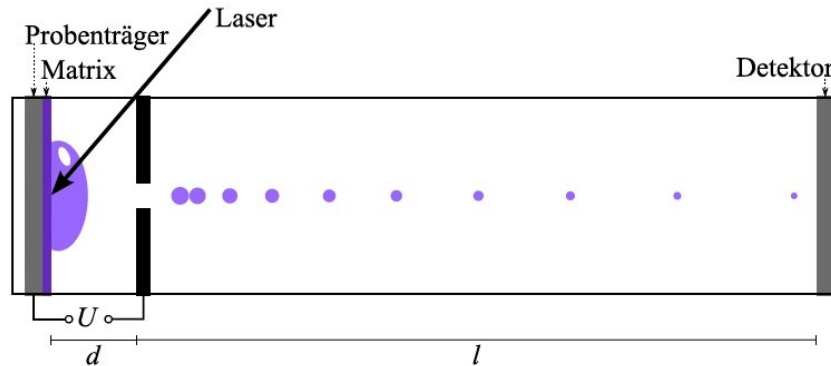


Abbildung 63: Schematischer Aufbau eines MALDI-ToF-Massenspektrometers^[164]

Die erzeugten Ionen werden in einem anliegenden, starken elektrischen Feld beschleunigt und in einem Flugzeitmassenspektrometer (ToF-MS) nach ihrer Flugzeit getrennt. Die ionisierten Moleküle haben nach dem Durchlaufen durch das Spannungsgefälle die gleiche kinetische Energie E_{kin} :

$$E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2 = zeFd \quad (52)$$

Wobei e die Elementarladung, m die Ionenmasse und v die Geschwindigkeit des Molekülions am Ende der Beschleunigungsstrecke d ist. Da die Beschleunigung über die Driftstrecke (Flugrohr des Massenspektrometers) vernachlässigt werden kann, somit $v = l/t$ gilt, ergibt sich aus Gleichung (52):

$$\frac{1}{2}m\left(\frac{l}{t}\right)^2 = zeFd \quad (53)$$

Nach einer Umformung ergibt sich daraus:

$$\frac{m}{z} = 2eFd\left(\frac{t}{l}\right)^2 \quad (54)$$

Aus der Flugzeit kann direkt, aufgrund der für ein bestimmtes Gerät konstanten Werte d , l , und F , das Verhältnis m/z für das Polymer bestimmt werden. Dabei erreichen als erstes Ionen mit dem kleinsten Verhältnis von Masse zu Ladung den Detektor. Durch die Auftragung von Intensität gegen das Verhältnis von m/z wird das Spektrum generiert. Die Intensität eines Peaks ist proportional zu der Häufigkeit, mit der die entsprechende Molmasse vorkommt,

gewichtet mit der Ionisations-Effizienz. Die MALDI-Technik generiert hauptsächlich einfach geladene Ionen, womit die Molmassen direkt aus dem Spektrum abgelesen werden können.^[161]

3.4 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Die dynamische Lichtstreuung wird dafür eingesetzt, um die Größe von Polymeraggregaten in Lösung mittels einer zeitlichen Änderung der Streuintensität zu bestimmen. Werden die Elektronen der Makromoleküle durch ein äußeres elektromagnetisches Wechselfeld in erzwungene Schwingungen versetzt, so kann ein solches System als eine Ansammlung von Hertz'schen Dipolen bezeichnet werden. Dieses System zeigt im zeitlichen Mittel ein charakteristisches Abstrahlungsmuster (statische Streuung). Durch die Bewegung der einzelnen Streuer relativ zueinander (z. B. infolge der Brown'schen Molekularbewegung) kommt es zu einer Intensitätsfluktuation. Diese gestattet es, mit einer entsprechenden Signalanalyse (Autokorrelation), eine Aussage über die Diffusionsbewegung der Teilchen zu machen. Dabei werden die Polymeraggregate mit einem Laser bestrahlt und die Streustrahlung gemessen. Bei den gestreuten Wellen kommt es, wie in Abbildung 64 dargestellt, zu konstruktiver und destruktiver Interferenz, da die Weglänge zum Detektor unterschiedlich ist, was zu einem räumlichen Hell-Dunkel-Fleckenmuster des Streulichts führt. Da die Wegdifferenz durch die Bewegung der einzelnen Polymeraggregate nicht konstant ist, tritt zudem eine zeitliche Intensitätsfluktuation eines Punktes im Fleckenmuster auf. Diese Fluktuation entspricht der Fourier-transformierten Funktion der Streufrequenzverbreiterung $[g(\vec{q}, \omega)]$, die durch den Dopplereffekt bei der Teilchenbewegung zustande kommt.^[164, 167]

$$g(\vec{q}, \omega) = \frac{1}{2\pi} \int g(\vec{q}, t) e^{i\omega t} dt = \frac{\vec{q}^2 D_{Diff}}{(\vec{q}^2 D_{Diff})^2 + \omega^2} \quad (55)$$

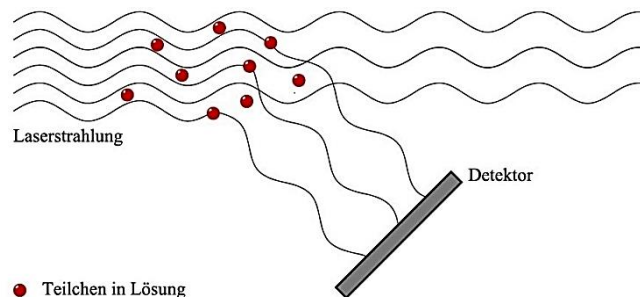


Abbildung 64: Schematische Darstellung der Streustrahlung und der Interferenz der bestrahlten Polymeraggregate^[164, 168]

Aus dieser spektralen Verbreiterung in der Streustrahlung, können über die Autokorrelation der Intensitäten zu verschiedenen Zeitpunkten wichtige Informationen über die dynamischen Prozesse in der Lösung erhalten werden. Diese Zeitpunkte liegen nur einige Nano- bis Mikroskunden auseinander und ergeben somit die Autokorrelationsfunktion. Die Bestimmung der Autokorrelationsfunktion erfolgt, wie in Abbildung 65 zeigt, über Messung der ankommenden Photonen an dem Photonenzählgerät (*Photon-Counter*).^[44, 169]

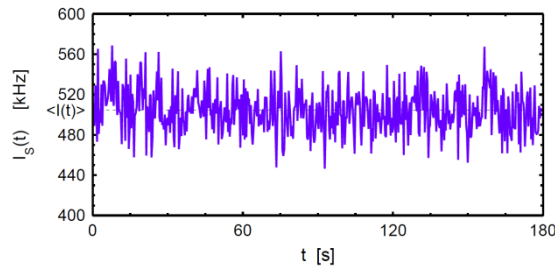


Abbildung 65: Intensitätsfluktuation der Streustrahlung auf Grund der Brown'schen Molekularbewegung der streuenden Partikel^[169]

Werden nun die Intensitäten, wie in Abbildung 66 dargestellt, von zwei sehr kleinen Intervallen (kleines τ), d. h. mit geringem zeitlichen Abstand zwischen zwei Messpunkten, mit denen von zwei weiter auseinander liegenden Intervallen (großes τ) korreliert, so ist eine Analyse der Intensitätsfluktuationen möglich. Die beiden Werte der Intervalle mit geringem zeitlichem Abstand sind noch stark voneinander abhängig, d. h. es liegt noch eine starke Korrelation vor. Bei den Intervallen mit dem größeren Abstand geht die Korrelation mehr und mehr verloren.^[167, 169]

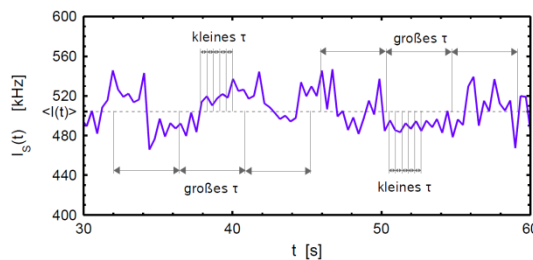


Abbildung 66: Schematische Darstellung der Lage der Zeitintervalle^[169]

Somit beschreibt die Autokorrelationsfunktion die Ähnlichkeit, in einem Rahmen von null bis eins, der einzelnen Streusignale mit einem Signal beim Zeitpunkt $t = 0$. Bei der Korrelationsfunktion wird die Korrelation gegen die verstrichene Zeit aufgetragen. Da die Geschwindigkeit der Fluktuationen direkt von der mittleren Geschwindigkeit v_m und somit von der Masse m der Partikel abhängt, gilt:

$$v_m = \sqrt{\frac{2kT}{m}} \quad (56)$$

Daraus folgt, dass mit steigender Temperatur die Geschwindigkeit aller Partikel zunimmt und dass sich kleine Partikel schneller als größere bewegen. Somit fällt, wie in Abbildung 67 gezeigt, für große Partikel die Korrelationsfunktion langsamer ab, da auch die Fluktuation langsamer ist als bei kleineren Teilchen.

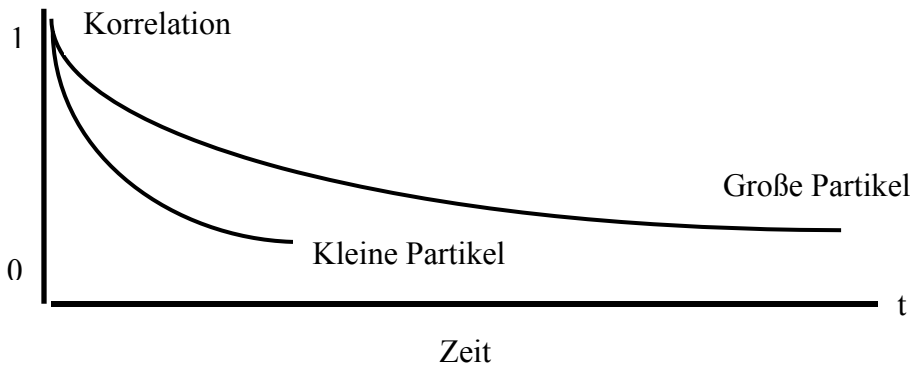


Abbildung 67: Normierte Korrelationsfunktion in Abhängigkeit von der Partikelgröße^[44, 168]

Die Korrelationsfunktion hängt im Falle von monodispersen sphärischen Teilchen in verdünnten Lösungen von der Zeit t , dem Streuvektor \vec{q} und dem Diffusionskoeffizienten D_{Diff} ab.

$$g(\vec{q}, t) = e^{\vec{q}^2 D_{\text{Diff}} t} \quad (57)$$

Dabei gilt für den Streuvektor $\vec{q} = \vec{k}_0 - \vec{k}_s$, mit dem Wellenvektor \vec{k}_0 des einfallenden und \vec{k}_s des gestreuten Strahles.

Der Betrag des Streuvektors ist vom Streuwinkel Θ abhängig.

$$|q| = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\Theta}{2}\right) \quad (58)$$

Dabei ist n der Brechungsindex des Lösungsmittels und λ_0 die Wellenlänge des eingestrahnten Lichts.

Die Gleichung (57) gilt nur für die perfekte Korrelation bei $t = 0$. Im realen Experiment beeinflussen noch andere Effekte die Intensität, zum Beispiel die Schwankung der Primärstrahlintensität des Lasers oder Schwankungen der Teilchenzahl im betrachteten Volumen.

Aus der Frequenzverbreiterung kann die Halbwertsbreite H_{FWHM} bestimmt werden, woraus wiederum der Diffusionskoeffizient berechnet werden kann.

$$H_{FWHM} = \bar{q}^2 D_{Diff} \quad (59)$$

Mit Hilfe des *STOKES-EINSTEIN*-Gesetzes für monodisperse sphärische Teilchen kann aus dem Diffusionskoeffizienten der hydrodynamische Radius R_H berechnet werden.

$$R_H = \frac{kT}{f_{Reib}} = \frac{kT}{6\pi\eta D_{Diff}} \quad (60)$$

Dabei ist f_{Reib} der Reibungskoeffizient.

Für ein polydisperses System ist die resultierende Autokorrelationsfunktion die Summe von Korrelationsfunktionen der einzelnen Teilchen mit einer Verteilung von Abklingzeiten. Durch eine Kumulantenentwicklung wird die Korrelationsfunktion angenähert.

$$\ln[g(t)] = \sum_{n=0}^{\infty} \Gamma_n \frac{-t^n}{n!} = 1 - \Gamma_1 t \frac{\Gamma_2 t^2}{2!} - \dots \quad (61)$$

Die Koeffizienten Γ_n sind hierbei die Kumulanten:

$$\Gamma_n = \left. \frac{\partial^n \lg[g(\vec{q}, t)]}{\partial t^n} \right|_{(t=0)} \quad (62)$$

Der erste Kumulante liefert den z-Mittelwert des Translationsdiffusionskoeffizienten und somit die Partikelgröße:

$$\Gamma_n = D_z \bar{q}^2 \quad (63)$$

Das Verhältnis der ersten beiden Kumulanten ergibt die relative Standardabweichung σ^2 , was auch als Polydispersitätsindex (PDI) bezeichnet werden kann. Dieser Index ist ein Maß für die Polydispersität der Partikel.

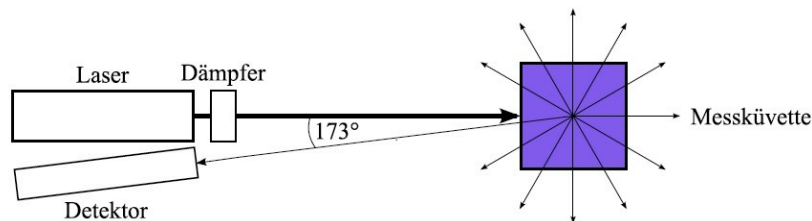
$$\sigma^2 = \frac{\Gamma_2}{(\Gamma_1)^2} = PDI \quad (64)$$

In der industriellen Standardanalyse werden für die PDI-Bereiche die in Tabelle 7 zusammen gefassten Einschätzungen verwendet.^[169]

Tabelle 7: Einschätzung der PDI-Bereiche^[169]

PDI	Einschätzung
< 0,05	quasi monodispers
0,05-0,2	enge Verteilung
0,2-0,7	breite bis sehr breite Verteilung
> 0,7	mit der Kumulantenmethode praktisch nicht auswertbare Autokorrelationsfunktion, zum Beispiel durch multimodale Verteilung.

In Abbildung 68 ist der schematische Aufbau einer dynamischen Lichtstreuung der Firma Malvern gezeigt. Er setzt sich zusammen aus einem optischen System, bestehend aus einem Helium-Neon-Laser mit einer Wellenlänge von 633 nm, einem Dämpfer, einer Messzellen-einheit und einer Detektoreinheit. Zudem gehört zu diesem Aufbau noch ein Signalverarbeitungssystem, bestehend aus Korrelator und Rechner. Dabei trifft der Laserstrahl auf die Probe und wird an den enthaltenen Teilchen gestreut. Ein Detektor misst die Intensität des gestreuten Lichts unter einem Winkel von 173° .^[164]

**Abbildung 68: Schematischer Messaufbau der dynamischen Lichtstreuung der Firma Malvern^[164]**

3.5 Mikroskopie

Um Objekte, wie zum Beispiel Polymersomen oder Mizellen, die unterhalb des Auflösungsvermögens des menschlichen Auges liegen, beobachten zu können, werden unterschiedlichste Mikroskope verwendet. Bei den mikroskopischen Verfahren wird im ersten Schritt nach der Art der Strahlungsquelle unterschieden. Kommt eine Lichtquelle zum Einsatz eröffnet dies das Feld der Lichtmikroskopie. Hier werden alle Arten von Lichtquellen unterschiedlichster Wellenlängen verwendet. Wird hingegen eine Elektronenquelle benutzt, so zählt dies zum Gebiet der Elektronenmikroskopie.

3.5.1 Lichtmikroskopie

Alle lichtmikroskopischen Verfahren verwenden Licht unterschiedlichster Wellenlängen. Die klassische Lichtmikroskopie umfasst ein Wellenlängenspektrum von ca. 400-750 nm. Mit geeigneten Detektoren, wie zum Beispiel CCD-Kameras können zudem auch die angrenzenden Spektren aus dem tiefroten und infraroten Bereich (bis 1200 nm) sowie des nahen ultravioletten Lichtes (200 – 380 nm) verwendet werden.^[170]

3.5.1.1 Durchlichtmikroskopie

Beim Durchlichtmikroskop gelingt es, wie in Abbildung 69 dargestellt, durch den Einsatz von im einfachsten Fall zwei Sammellinsen, einer Objektivlinse und einer Okularlinse, eine Vergrößerung des betrachteten Objektes zu erzielen. Dabei erzeugt das Objektiv ein reelles, auf dem Kopf stehendes, vergrößertes Bild. Dieses könnte durch die Annäherung des Objektivs an die Brennebene prinzipiell beliebig groß dargestellt werden. Durch den Lupeneffekt wird ein aufrechtes Bild im Unendlichen erzeugt.

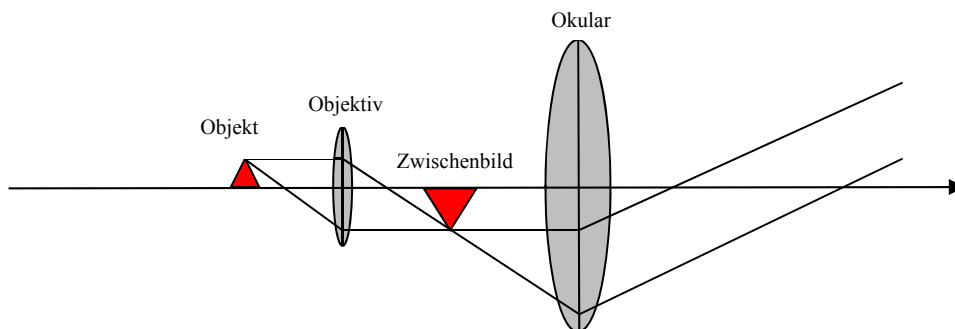


Abbildung 69: Schematische Darstellung des Strahlengangs in einem Durchlichtmikroskop^[83] basiert auf Lit.^[171]

Die Vergrößerung des Objektivs ist gegeben durch:

$$v_{Ob} = \frac{B}{G} = \frac{t}{f_{Ob}} \quad (65)$$

Die Winkelvergrößerung des Okulars wird beschrieben durch:

$$v_{Ok} = \frac{s_0}{f_{Ok}} \quad (66)$$

Dabei sind s_0 der Abstand des Nahpunkts vom Auge des Betrachters und f_{Ob} bzw. f_{Ok} die Brennweiten des Objektivs und des Okulars. Die Gesamtvergrößerung des Mikroskops ist gegeben durch das Produkt der Teilvergrößerungen:

$$v_M = v_{Ob} v_{Ok} = -\frac{t}{f_{Ob}} \frac{s_0}{f_{Ok}} \quad (67)$$

In modernen Durchlichtmikroskopen wird eine höhere Vergrößerung dadurch erreicht, dass für das Objektiv und das Okular mehrere Linsen verwendet werden. Hierbei sind vor allem die sphärische und die chromatische Abberationen von Bedeutung. Bei der sphärischen Abberation sind die einfallenden Strahlen nicht achsenparallel, was durch eine Blende korrigiert wird. Unterschiedliche Lichtwellen können miteinander in Wechselwirkung treten. Dabei können sich konstruktive und destruktive Interferenzen ergeben.

Nach der Abbe'schen Theorie der Auflösung entsteht ein Bild erst dann, wenn mindestens ein Nebenmaximum und ein Hauptmaximum in der Zwischenbildebene interagieren.^[167, 170]

Die chromatische Abberation beruht auf der Wellenlängenabhängigkeit der Brechung. Verschiedene transparente Medien, wie Luft, Wasser oder Glas, verlangsamen das durchtretende Licht. Es kommt aufgrund ihrer unterschiedlichen optischen Dichten zur Veränderung der Phase. Geht Licht in einem bestimmten Winkel von einem Medium (z. B. Luft) in ein anderes mit höherer optischer Dichte (z. B. Glas), wird dieses Licht nicht nur verlangsamt, sondern auch gebrochen, so dass der spezifische Winkel abgelenkt wird. Beim Wiederaustritt des Lichtes in ein Medium geringerer Dichte (z. B. Luft) sind die Geschwindigkeit und der spezifische Winkel wieder für dieses Medium charakteristisch. Dieser Fehler kann durch die Kombination von mehreren Linsen unterschiedlicher Brechungsindices oder durch Verwendung von monochromatischem Licht verringert werden. Der Brechungsindex n für Luft wird mit 1,000292 angegeben und steigt mit der optischen Dichte des Medium. Dabei resultiert er aus dem Verhältnis der Lichtgeschwindigkeit im Vakuum ($n = 1$) und in den verwendeten Medium.^[167, 170] Die Fähigkeit, zwei dicht nebeneinander liegende Punkte noch einzeln aufgelöst abbilden zu können, wird durch das Auflösungsvermögen beschrieben. Dieses Charakteristikum beruht auf der Beugung des Lichts. Es ist nur dann möglich, zwei Punkte zu unterscheiden, wenn sie, wie in Abbildung 70 gezeigt, in ihrem gegenseitigen ersten Beugungsminima liegen. Dabei können mittels kürzerer Wellenlängen höhere Auflösungen erreicht werden. Eine Begrenzung dieser Möglichkeit liegt in der starken Absorption des kurzwelligen Lichtes von vielen Materialien. Besonders bei UV- und Röntgenlicht kommt es zu hohen Adsorptio-

nen, daher sind für den Einsatz solcher Lichtquellen Photoplatten oder geeignete Detektoren von Nöten.^[167, 171]

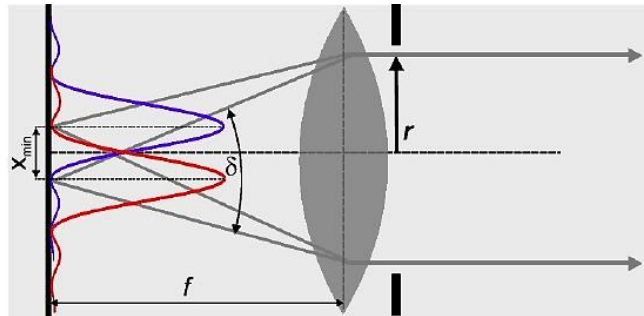


Abbildung 70: Lage der gegenseitigen ersten Beugungsminima^[167, 172-173]

Das Auflösungsvermögen ergibt sich aus:

$$\chi_{\min} \approx 1,22 \frac{\lambda}{r} f \approx \frac{\lambda}{NA} \quad (68)$$

Dabei ist NA die numerische Apertur, die gegeben ist durch:

$$NA \approx \sin \delta \approx 2 \frac{r}{f} = 1,22 \frac{\lambda}{r} \quad (69)$$

Die numerische Apertur, die in der Praxis verwendet wird, liegt bei 0,95, wenn sich zwischen dem Objekt und dem Objektiv Luft befindet. Somit ergibt sich mit sichtbarem Licht eine Auflösungsgrenze von 400 – 700 nm. Durch die Verwendung eines Immersionsöls kann, wie in Abbildung 71 gezeigt, auf Grund der ähnlichen optischen Dichten die Apertur auf 1,42 erhöht werden.

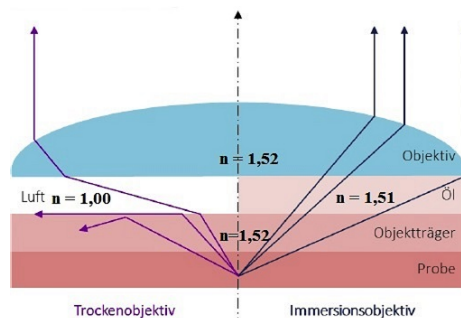


Abbildung 71: Schematische Darstellung des Strahlengangs unter Verwendung eines Trockenobjektivs (links) und eines Immersionsobjektivs (rechts)^[83, 167, 172]

3.5.1.2 Fluoreszenzmikroskopie

Bestimmte Moleküle, wie Fluorochrome oder fluoreszierende Nanopartikel (wie CdSe-Quanten-Dots) senden Licht mit einer Wellenlänge aus, die größer ist als die der Anregungswellenlänge. Dies wird als *STOKES*-Shift bezeichnet. Anders als bei der Durchlichtmikroskopie ist die Lichtquelle für das makroskopische Bild in der zu beobachteten Probe als Fluorophor selbst enthalten. Das Objekt muss mit Licht einer geeigneten Wellenlänge und Intensität angeregt werden um Fluoreszenzlicht emittieren zu können. Die Hauptaufgabe in der Fluoreszenzmikroskopie ist, wie in Abbildung 72 gezeigt, die Anregungs- und Emissionsstrahlungen möglichst effizient und sauber getrennt voneinander zu nutzen.^[170]

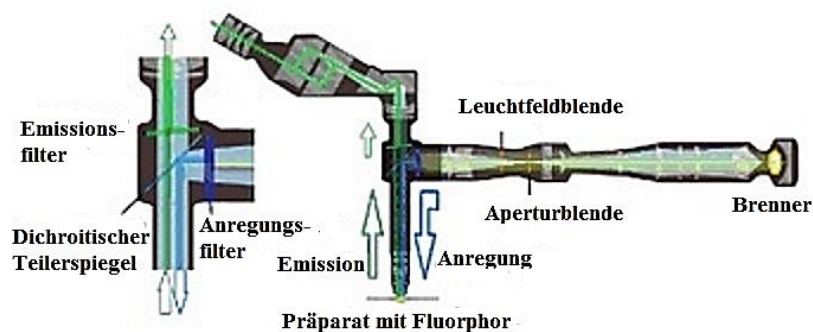


Abbildung 72: Darstellung des Fluoreszenzauflicht-Strahlengangs^[170]

Als Anregungslichtquellen werden meistens Hochdruckdampf lampen (Quecksilber, Xenon) verwendet, die für eine hohe Lichtintensität in den benötigten Anregungswellenbereichen sorgen. Das Anregungslicht wird gebündelt durch die Kollimatorlinse auf den Anregungsfilter gelenkt, der das Licht in seinem Spektrum einengt. Nur das Licht mit der benötigten Wellenlänge fällt auf den dichroitischen Teilerspiegel, der für diese Wellenlänge undurchlässig ist. Durch die Anordnung im Winkel von 45° wird das Anregungslicht zum Objektiv reflektiert, so dass das Licht auf das Präparat/Objekt fokussiert werden kann. Das Emissionslicht wird vom Objektiv aufgefangen und passiert den für diesen Wellenlängenbereich durchlässigen Teilerspiegel zum Emissionsfilter. Dieser Filter engt die Bandbreite des Lichtes ein, damit ein möglichst spezifisches Signal für die Beobachtung erhalten werden kann.^[170]

Welcher Wellenbereich angeregt und später abgebildet werden kann, wird durch die Wahl der Filter bestimmt. Hiermit wird auch die Möglichkeit der zu beobachteten Objekte festgelegt, die in der Probe vorkommen könnten.

3.5.1.3 Konfokale Laser-Rastermikroskopie

Eine weitere Variante der Lichtmikroskopie ist die in Abbildung 73 schematisch am Strahlengang dargestellte, konfokale Laser-Rastermikroskopie (*confocal laser scanning microscopy, CLSM*). Dabei wird ein Laser als Strahlungsquelle benutzt, mit dem die Probe nach einem bestimmten Muster abgerastert wird. Bei der Fluoreszenzmikroskopie, bei der Fluoreszenz der Probe nicht nur in der Fokusebene angeregt wird, sondern auch in Bereichen ober- und unterhalb dieser Ebenen, werden somit scharfe und unscharfe Bildbestandteile gleichermaßen detektiert. Bei der CLSM wird durch die Einführung einer Lochblende in die Feldblenden-ebene, konjugiert zur Fokusebene des Objektivs, nur diese Ebene scharf abgebildet. Eine weitere Lochblende vor dem Detektor sorgt dafür, dass Signale außerhalb der Fokusebene ausgeblendet werden und nicht zum Detektor gelangen. Die erste Blende schwächt die Intensität des Anregungslichts stark ab, sobald es sich außerhalb der Fokusebene befindet. Mit der zweiten Blende werden Fluoreszenzsignale geblockt und vom Detektor, einem Photomultiplier, gar nicht mehr registriert.^[170]

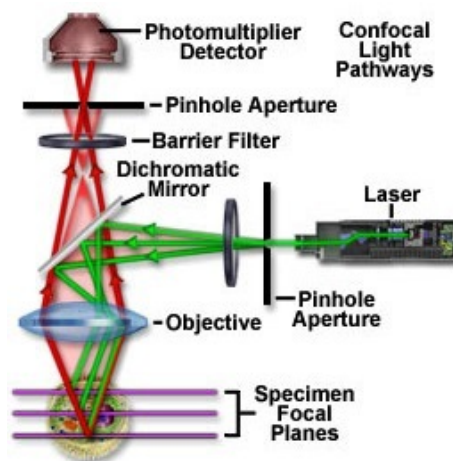


Abbildung 73: Schematische Darstellungen des Strahlengangs im CLSM^[44, 174]

Ein Konfokalmikroskop hat bei einer vergleichbaren Vergrößerung eine um den Faktor 1,4 verbesserte Auflösung als ein Lichtmikroskop. Zum einen sind die chromatischen Aberrationen auf Grund des monochromatischen Lasers geringer, zum anderen wird durch die Fokussierung weniger Streulicht detektiert. Um aber eine Probe nach dem konfokalen Prinzip zu untersuchen, müssen Konvektionsströme und Brown'sche Molekularbewegung der zu untersuchenden Partikel in Lösung eliminiert werden.^[44, 164, 170]

3.5.2 Elektronenmikroskopie

Wird als Strahlungsquelle für ein mikroskopisches Verfahren ein Elektronenstrahl eingesetzt, so wird dies als Elektronenmikroskopie (EM) bezeichnet. Ähnlich wie bei der Lichtmikroskopie gibt es auch hier unterschiedliche Anwendungsmöglichkeiten. So wird bei der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) der Elektronenstrahl beim Durchgang durch die Probe von den Atomen höherer Ordnungszahlen und von Objektbereichen mit größerer Dichte stärker gestreut. Ein Spezialfall dieser Anwendungsmöglichkeit ist die Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie. Hierbei wird ein dünner, gefrorener Probenfilm von Elektronen durchstrahlt und dadurch eine indirekte zweidimensionale Abbildung der Probe im nativen Zustand ermöglicht.^[175]

Eine zweite Anwendungsmöglichkeit der EM ist die Rasterelektronenmikroskopie (REM) engl. „*scanning electron microscopy*“ SEM. Hierbei wird die Topographie einer Oberfläche mittels eines Elektronenstrahls durch Rückstreu- und Sekundärelektronen abgerastert.

3.5.2.1 Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie

Der Aufbau eines Cryo-TEMs ist in erster Linie dem eines TEMs gleich. Die Grundlage für die Transmissionselektronenmikroskopie gelang *ERNST RUSKA*. Aufgrund des Wellenteilchen-Dualismus von Elektronen können sie anstelle von Licht für die Abbildung kleiner Objekte verwendet werden. Nach der DE BROGLIE-Gleichung ist die Wellenlänge eines Elektrons umgekehrt proportional zu dessen kinetischer Energie,

$$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{mv} = \frac{hc}{\sqrt{2E_{\text{kin}}E_0}} ; E_{\text{kin}} = eU \quad (70)$$

wobei h das Plank'sche Wirkungsquantum, m die Masse sowie v die Geschwindigkeit des Elektrons, c die Lichtgeschwindigkeit, E_0 die Ruheenergie des Elektrons und E_{kin} die kinetische Energie des Elektrons im elektrischen Feld ist. Durch die hohe kinetische Energie, die bei der TEM für Elektronen erreicht wird, ist das Auflösungsvermögen im Vergleich zur Lichtmikroskopie deutlich höher. Dieses höhere Auflösungsvermögen ist durch die resultierenden kleineren Wellenlängen λ der Elektronen begründet, was den kürzesten Abstand Δx zweier Linien, die noch eindeutig aufgelöst werden können, deutlich verringert.^[171]

$$\Delta x = \frac{\lambda}{n \sin \alpha} \quad (71)$$

Dabei ist n die Brechzahl und α der Akzeptanzwinkel des Objektivs.

Ein Elektronenmikroskop beinhaltet, wie in Abbildung 74 links schematisch dargestellt, eine Strahlquelle, meist einer Glühkathode zur Erzeugung des Elektronenstrahls. Diese wird durch einen Wehneltzylinder gebündelt und auf eine Anode hin beschleunigt. Die Geschwindigkeit der Elektronen hängt dabei von der Beschleunigungsspannung der Kathode ab, die in einem Bereich von 40 – 300 kV liegt. Zudem werden durch ein System aus magnetischen Linsen und einem Leuchtschirm bzw. einer Detektorplatte zur digitalen Verarbeitung die Aufnahmen realisiert. Die erreichbare Auflösung liegt auf Grund der geringen Objektivapertur bei einer Größe von bis zu 0,1 nm.^[175-176]

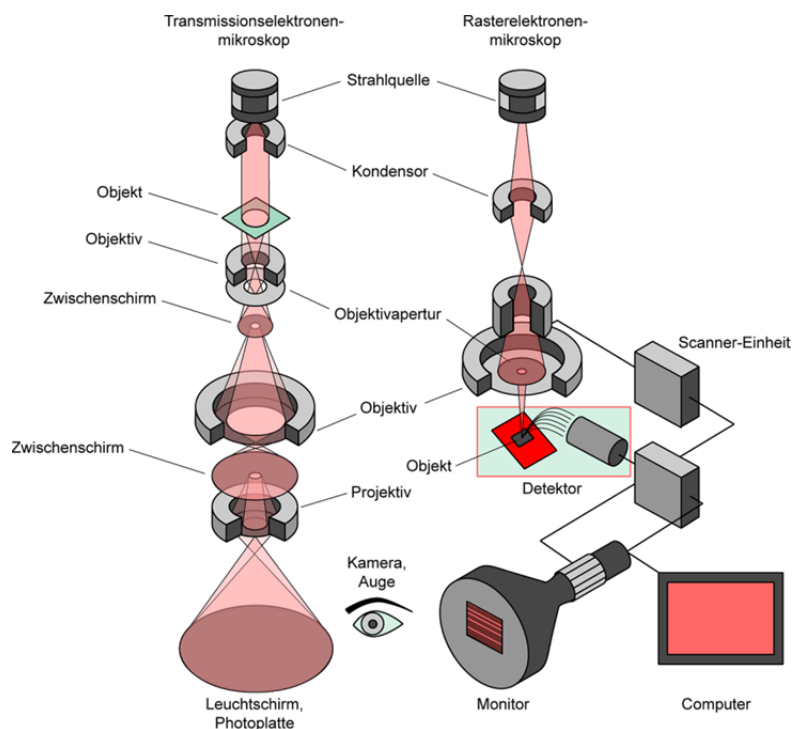


Abbildung 74: Vergleichbarer Aufbau eines Transmissions- und eines Rasterelektronenmikroskops^[177]

Die Elektronen treffen bei der Messung auf die Probe und treten mit deren Atomen in Wechselwirkung. Dabei werden sie zum einen von den positiven Kernen abgelenkt, zum anderen kommt es zu Zusammenstößen mit den Elektronen der Kernhülle. Bereiche in der Probe mit einer höheren Elektronendichte und Atome mit größerer Ordnungszahl lenken die Elektronen stärker ab. Da von der Objektivaperturblende nur Elektronen durchgelassen werden, die nicht gestreut wurden, wird das entstehende Bild als Massendickenkontrast oder Streuabsorptionskontrast bezeichnet und auf einen CCD-Detektor projiziert.^[176-177]

Die Cryo-TEM-Methode ist eine Möglichkeit zur Messung von Polymerpartikeln in wässrigem Medium. Dabei wird entsprechend der schematischen Darstellung in Abbildung 75 die gelöste Probe auf ein graphitbeschichtetes Kupfergitter aufgetropft, so dass in den Löchern nur ein dünner (ca. 100 nm) Film zurückbleibt, in den die Polymerpartikel eingebettet sind. Dieser Film wird in flüssigem Ethan (bei etwa $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$) schockgefroren. Dabei kristallisiert das Wasser nicht, sondern bildet vitrifiziertes (glasartiges) Eis.^[175, 178]

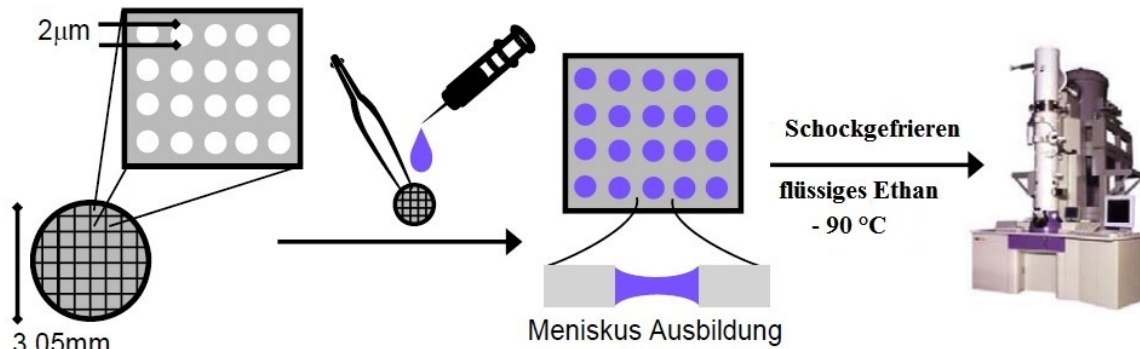


Abbildung 75: Schematische Darstellung der Probenpräparation für Cryo-TEM-Messungen, basiert auf Lit.^[178]

3.5.2.2 Rasterelektronenmikroskopie

Der Aufbau eines Rasterelektronenmikroskops ist dem eines Transmissionselektronenmikroskops sehr ähnlich. Doch bei den Cryo-TEM- oder reinen TEM-Messungen ist es vorwiegend nur möglich, die Proben in Transmission zu betrachten. Zudem muss, um eine ausreichende Helligkeit und guten Kontrast zu erreichen, ein Elektronenstrahl mit hoher Intensität verwendet werden.^[177]

Bei der Rasterelektronenmikroskopie werden diese Nachteile vermieden, indem der Elektronenstrahl auf einen kleinen Fleck des Objektes fokussiert wird, die Oberfläche abrastert und die Anzahl der emittierten Sekundärelektronen bzw. die Intensität der Strahlung detektiert wird. Da die Nachweiswahrscheinlichkeit für Sekundärelektronen sehr hoch ist, kann mit einem schwachen primären Elektronenstrahl gearbeitet werden, der nicht das Präparat zerstört. Außerdem können dickere Proben verwendet werden.^[175, 177]

3.6 UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Spektroskopie bezeichnet ein Verfahren, bei dem anorganische und organische Verbindungen durch Licht im ultravioletten und sichtbaren Bereich angeregt werden. Dabei werden die Valenzelektronen in den Orbitalen der äußeren Schalen angeregt und auf ein höheres Energieniveau angehoben. Um aber ein Elektron anheben zu können, muss neben der Resonanzbedingung noch die Bedingung der Impuls- bzw. Drehimpuls-Erhaltung erfüllt sein. Bei organischen Verbindungen lassen sich, wie in Abbildung 76 gezeigt, Klassifizierungen der beteiligten Elektronenübergänge mit Hilfe der beteiligten Molekülorbitale (MO) treffen.^[158, 161, 177]

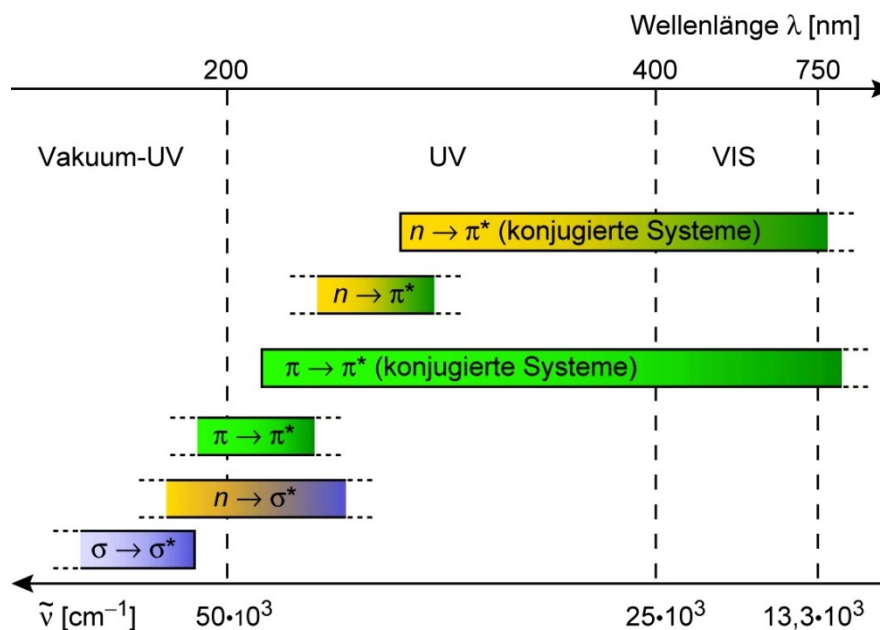


Abbildung 76: Klassifizierungen der beteiligten Elektronenübergänge in der UV/Vis-Spektroskopie^[177]

Anhand der Energieabsorption können Informationen über die Probe, wie z. B. die Anwesenheit bestimmter Moleküle oder Bindungsverhältnisse in Moleküle, erhalten werden.

3.7 Fluoreszenzspektroskopie

Bei der Fluoreszenzspektroskopie wird die molekulare Fluoreszenz von gasförmigen, flüssigen oder festen Stoffen gemessen. Dabei werden die Stoffe mit elektromagnetischen Wellen aus dem UV/Vis- Bereich angeregt und auf ein höheres Energieniveau angehoben. Wird nun ein elektronischer Übergang vollzogen, bleibt das Kerngerüst, wie in Abbildung 77 schema-

tisch dargestellt, nach dem *Franck-Condon-Prinzip* zunächst unverändert im Schwingungsgrundzustand und es kommt zu einem vertikalen Übergang aus dem elektronischen Grundzustand $E_0(v''=0)$ in den elektronisch angeregten Zustand $E_1(v'=2)$. Dieser angeregte Zustand kann nun strahlend desaktiviert werden, indem das angeregte Molekül seine überschüssige Energie wieder als Photon abstrahlt $E_1(v'=2) \rightarrow E_0(v''=0)$. Erfährt das angeregte Molekül jedoch Stöße mit seiner Umgebung, kommt es zunächst zur strahlungslosen Desaktivierung. Dabei wird die elektronische Energie in Form von Rotations-, Schwingungs- und Translationsenergie an die umgebenden Moleküle abgegeben, bis der Schwingungsgrundzustand des elektronisch angeregten Zustandes erreicht ist $E_1(v'=2) \rightarrow E_1(v'=0)$. Anschließend kommt es zu einer spontanen Emission, die als Fluoreszenz $E_1(v'=0) \rightarrow E_0(v''=2)$ bezeichnet wird.^[158, 161, 177]

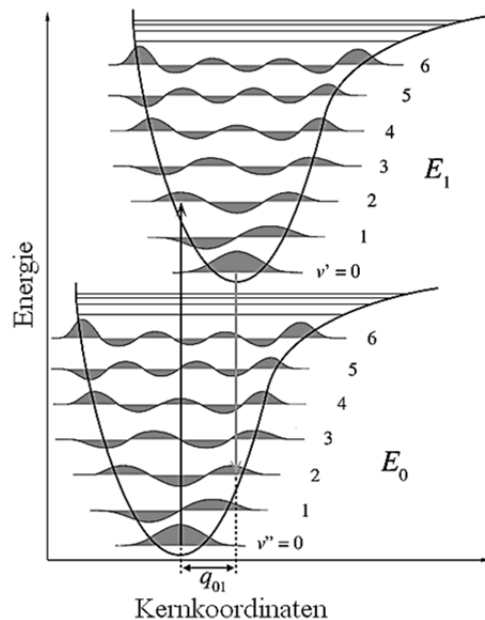


Abbildung 77: Franck-Condon-Diagramm^[161]

Vollführt das angeregte Molekül jedoch neben der strahlungslosen Desaktivierung des Singulettzustandes S_1 , wie unter anderem in Abbildung 78 dargestellt, ein *intersystem-crossing* (ISC), kommt es zu einer Entkopplung der Elektronenspins, wobei das angeregte Molekül in den Triplettzustand T_1 übergeht. Nachdem das Molekül in den T_1 -Zustand übergegangen ist, gibt es ebenfalls einen Teil seiner Energie durch Stöße an die Umgebung ab und landet schließlich im Schwingungsgrundzustand des ersten angeregten Zustandes. Von dort aus kann das Elektron nicht einfach durch die Abgabe eines Photons in den Grundzustand zurückfallen, da dieser Vorgang spinverboten ist. Durch die beim ISC möglich gewordene Spin-Bahn-Kopplung kommt es zu einer sehr langsamen Desaktivierung, der Phosphoreszenz.^[158, 161, 177]

Durch die innere Umwandlung [*internal conversion* (IC)] können angeregte Moleküle aus dem Schwingungszustand S_1 in einen hoch angeregten Schwingungszustand S_0 gelangen. Aus diesem Niveau können die Elektronen durch Stöße mit den umgebenden Lösungsmittelmolekülen innerhalb von ca. 10^{-12} s in den Grundzustand S_0 äquilibrieren.^[158, 161, 177]

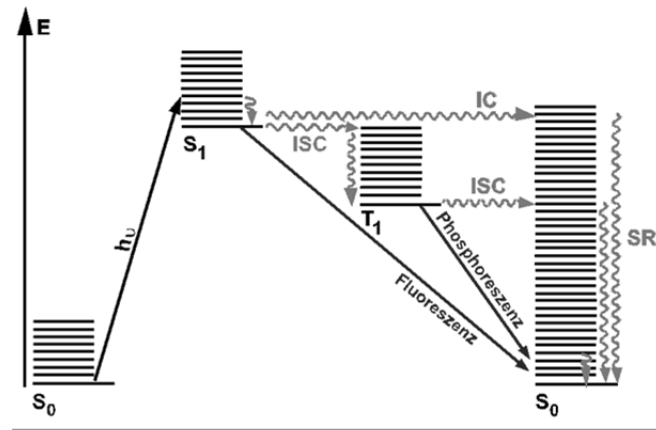


Abbildung 78: Jablonski-Diagramm^[161]

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Polymersynthese

Ein Ziel dieser Arbeit war es, amphiphile Blockcopolymere, die zum Teil auch biokompatibel sind, zu synthetisieren und zu funktionalisieren, damit sie als möglicher Biomarker und Wirkstoffträgersystem untersucht werden können. Die hergestellten Polymere sollten nach ihrer Selbstanordnung im wässrigen Medium vesikuläre und mizelläre Strukturen bilden. Die für diesen Zweck hergestellten Polymere waren Polyisopren-Polyethylenoxid (PI-PEO) und Polyethylenoxid-Polylactid (PEO-PLA). Schon bei der Benennung fällt auf, dass der hydrophile Block (PEO-Block) beim PI-PEO nach dem lipophilen Block (PI-Block) genannt wird. Bei dem Polyester-Blockcopolymer PEO-PLA hingegen wird der Polyethylenoxid-Block zuerst genannt. Diese Abfolge beschreibt die Reihenfolge der Polymerisation der einzelnen Blöcke. Der Grund für diese beiden unterschiedlichen Synthesewege liegt, wie in Abbildung 79 gezeigt, in der Nucleophilie des deprotonierten Initiators. Sie ist ein Ausdruck für die Fähigkeit eines Nucleophils zur Koordination mit einem elektronenärmeren Partner. Dabei wird ein Elektronenpaar vom Nucleophil für die Ausbildung einer neuen Bindung verwendet.^[179]

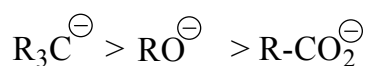


Abbildung 79: Reihenfolge der Nucleophilie^[179]

4.1.1 Synthese und Charakterisierungen von PI-PEO

Bei der Synthese des PI-PEO Blockcopolymers wird, wie in Abbildung 80 dargestellt, zuerst das Polyisopren-Homopolymer synthetisiert, welches mit einer Ethylenoxid-Einheit abgebrochen wird. Bei dieser Reaktion ist die negative Ladung während der Polymerisationsreaktion in einem Carbanion lokalisiert. Dieses Anion ist mit seinem nicht-bindenden Elektronenpaar am Kohlenstoffatom ausgesprochen stark nucleophil und kann mit sehr vielen anderen Monomeren eine Additionsreaktion eingehen. Nach der Abbruchreaktion mit dem Ethylenoxid ist die negative Ladung im Alkoxid-Anion lokalisiert. In einem zweiten Schritt wird dann der Polyethylenoxid-Block auf den ersten Block aufpolymerisiert. Dies kann sowohl wie gezeigt in einem zweistufigen Prozess oder unter der Verwendung einer Phosphazene Base *t*-BuP₄ in einem einstufigen Prozess durchgeführt werden.^[56, 180]

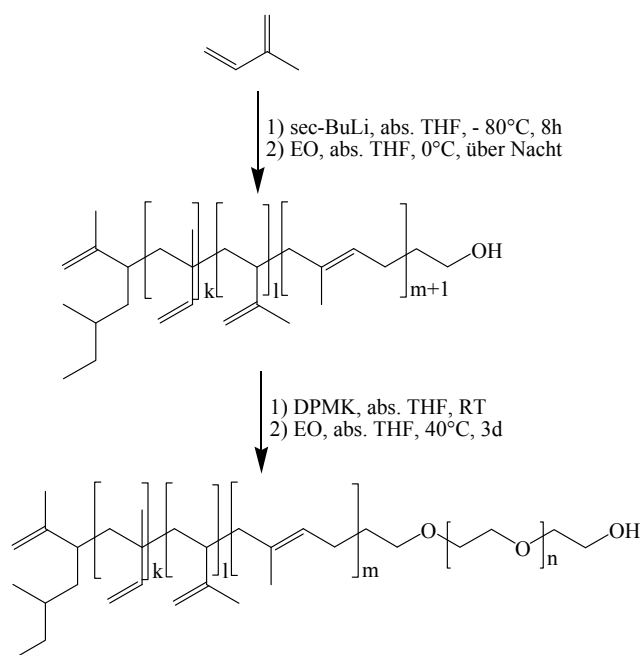


Abbildung 80: Syntheschema zur Polymerisation von Polyisopren-Polyethylenoxid

Die einzelnen Polymerisationsprodukte wurden NMR-spektroskopisch, chromatographisch und massenspektrometrisch charakterisiert. Am Beispiel der Analysen des Homopolymers PI-NW-14-OH und des zu PI-PEO-NW-15-OH weiter umgesetzten Blockcopolymer sollen die Charakterisierungen exemplarisch gezeigt werden. In Abbildung 81 sind die aufgenommenen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von PI-NW-14-OH (rotes Spektrum) und PI-PEO-NW-15-OH (blaues Spektrum) gezeigt. Aufgrund der in Polymeren eingeschränkten Relaxation sind die $^1\text{H-NMR}$ -Signale stark verbreitert. In beiden Spektren haben die vinyllischen Protonen der 1,2-, 3,4-, 1,4-Addition-Produkte jeweils eine chemische Verschiebung von 5,75, 4,83 und 4,65 ppm und die Protonen der *tert.*-Butyl-Gruppen eine von 1,57 ppm.^[49, 56, 181-182] Nach der Polymerisation zum Blockcopolymer PI-PEO-NW-15-OH ist nur das Signal des aufgewachsenen PEO-Blocks mit einer chemischen Verschiebung von 3,66 ppm hinzugekommen.

4. Ergebnisse und Diskussion

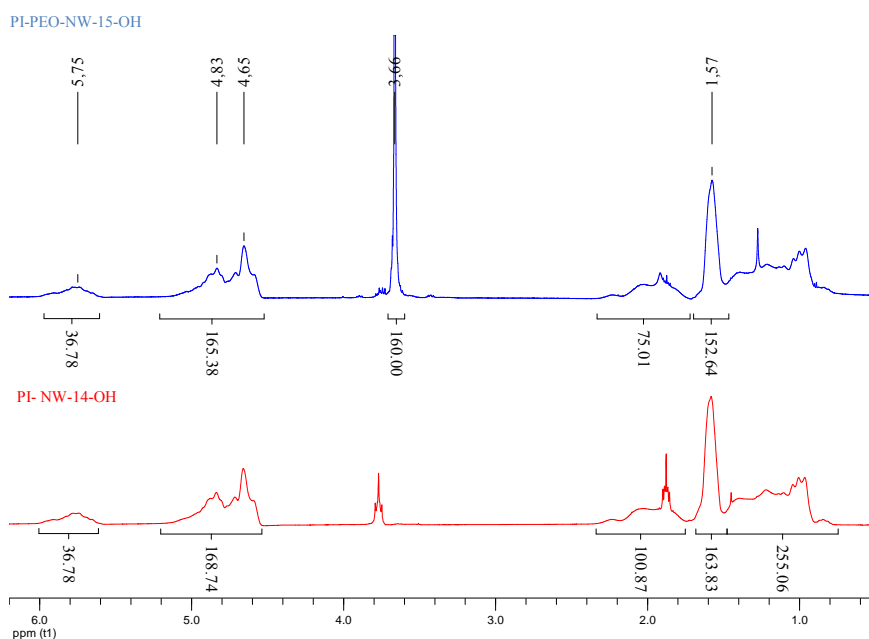


Abbildung 81: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von PI-NW-14-OH (rotes Spektrum) und PI-PEO-NW-15-OH (blaues Spektrum)

Die anschließenden GPC- und MALDI-ToF-Analysen sind in Abbildung 82 gezeigt. Die Chromatogramme beider Polymere zeigen zum einen jeweils keine auftretende Doppelkoppelung und zum anderen auch eine deutliche Verschiebung des Blockcopolymers PI-PEO-NW-15-OH ($\text{Elut}_{\text{Vol}} = 29,9 \text{ mL}$) zu kleineren Elutionsvolumen im Vergleich zum Homopolymer PI-NW-14-OH ($\text{Elut}_{\text{Vol}} = 30,6 \text{ mL}$). Diese Verschiebung ist durch den aufpolymerisierten PEO-Block und das damit zunehmende hydrodynamische Volumen des Polymers zu erklären. Im Massenspektrum der MALDI-ToF-Messung ist die Zunahme der Molmasse durch den PEO-Block deutlich zu erkennen.

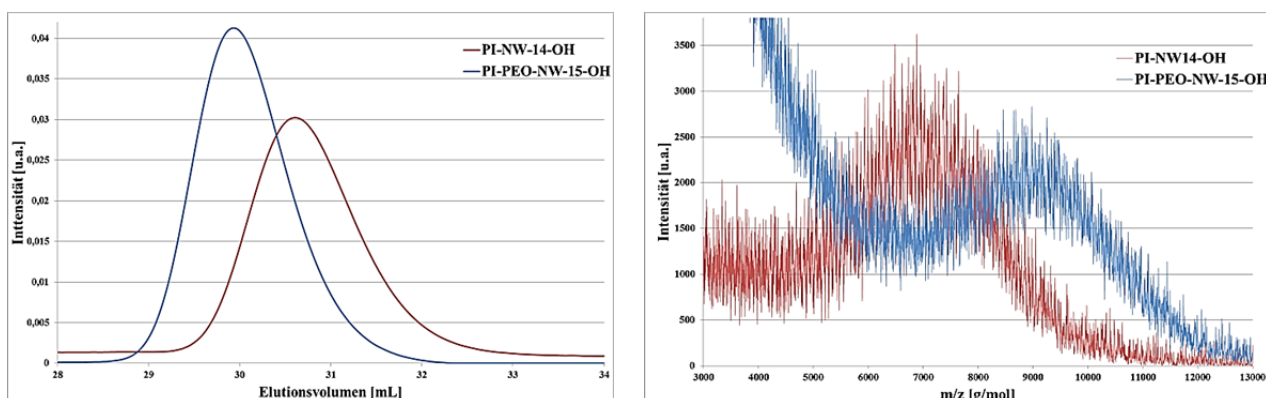


Abbildung 82: GPC-Chromatogramme und MALDI-ToF-Spektren von PI-NW-14-OH und PI-PEO-NW15-OH

In Tabelle 8 sind die aus den GPC- und MALDI-ToF-Analysen erhaltenen Daten zusammengefasst.

Tabelle 8: Zusammenfassung der GPC- und MALDI-ToF-Analysen von PI-NW-14-OH und PI-PEO-NW15-OH

Polymer	GPC			MALDI-ToF		
	M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	D	M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	D
PI-NW-14-OH	5280	5670	1,07	7120	7380	1,04
PI-PEO-NW-15-OH	7150	7500	1,05	9160	9430	1,05

In Tabelle 9 sind alle PI-PEO-Blockcopolymere zusammengefasst aufgelistet, die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt und nach den vorher gezeigten Verfahren analysiert worden sind. Die Volumenanteile des PEO-Blocks ($f_{(PEO)}$) wurden aus den Molmassen unter der Verwendung der amorphen Dichten der einzelnen Blöcke berechnet^[67-68, 183] ($\delta_{(PEO)} = 1,13 \text{ g/cm}^3$ und $\delta_{(PI)} = 0,89 \text{ g/cm}^3$).

Tabelle 9: Übersicht der synthetisierten PI-PEO-Blockcopolymere

Polymer	α -Position	M_{PEO} [g/mol]	M_{PI} [g/mol]	M_{ges} [g/mol]	D	$f_{(PEO)}$
PI-PEO-NW-1-OH	Hydroxy	2160	3100	5260	1,09	0,35
PI-PEO-NW-3-OH	Hydroxy	1590	2890	4480	1,08	0,30
PI-PEO-NW-5-OH	Hydroxy	1670	3120	4800	1,07	0,30
PI-PEO-NW-6-OH	Hydroxy	530	590	1120	1,14	0,42
PI-PEO-NW-7-OH	Hydroxy	260	600	870	1,13	0,26
PI-PEO-NW-12-OH	Hydroxy	5950	4660	10610	1,01	0,50
PI-PEO-NW-15-OH	Hydroxy	1760	7400	9160	1,05	0,14
PI-PEO-KV-2.1-OH	Hydroxy	1060	2650	3710	1,05	0,24
PI-PEO-KV-2.2-OH	Hydroxy	880	2650	3530	1,05	0,21

4.1.2 Synthese und Charakterisierungen von PEO-PLA

Als zweites Blockcopolymer wurde das PEO-PLA, wie in Abbildung 83 dargestellt, synthetisiert. Ausgehend von einem Initiator, hier am Beispiel des Tyramins gezeigt, wurde mit Hilfe des Deprotonierungsreagens Phosphazene Base $t\text{-BuP}_4$ zuerst ein α -aminofunktionalisiertes

PEO-Homopolymer hergestellt. Werden andere Initiatoren, wie zum Beispiel die Mercaptopropionsäure oder das 2-Methoxyethanol verwendet, muss das Deprotonierungsreagenz entsprechend an den Initiator angepasst werden. Im zweiten Schritt wird das α -funktionalisierte PEO-Homopolymer als Makroinitiator nach der Deprotonierung mittels DPMK mit dem Monomer des zweiten Blockes, dem 3,6-Dimethyl-1,4-dioxan-2,5-dion, zum Blockcopolymer umgesetzt.

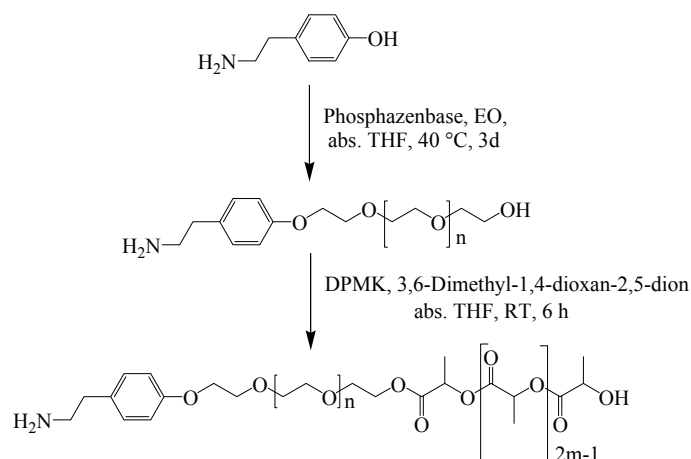


Abbildung 83: Syntheschema zur Polymerisation von PEO-PLA

Auch hier wurden die einzelnen Polymerisationsprodukte NMR-spektroskopisch, chromatographisch und massenspektrometrisch charakterisiert. Am Beispiel der Analysen des Homopolymers H_2N -PEO-TG2-OH und des zu H_2N -PEO-PLA-TG6-OH weiter umgesetzten Blockcopolymeres sollen die Charakterisierungen exemplarisch gezeigt werden. In Abbildung 84 sind die aufgenommenen 1H -NMR-Spektren von H_2N -PEO-TG2-OH (rotes Spektrum) und H_2N -PEO-PLA-TG6-OH (blaues Spektrum) gezeigt.

Im Ausschnitt des Spektrums des H_2N -PEO-TG2-OH ist deutlich das AA'XX'-Systems des para-substituierten Aromaten mit den beiden Dubletts bei den chemischen Verschiebungen von 7,11 ppm ($^3J = 8,9$ Hz) und 6,86 ppm ($^3J = 8,5$ Hz) zu erkennen. Die Signale der Ethylen-Gruppen des Polymers haben eine chemische Verschiebung um 3,65 ppm. Im Spektrum des H_2N -PEO-PLA-TG2-OH sind zusätzlich die Signale des Polylactid-Blocks mit den chemischen Verschiebungen von 5,17 ppm und 1,57 ppm zu erkennen. Die Berechnung des Polymerisationsgrades des PLA-Blockes erfolgte aus den Mittelwerten der jeweiligen NMR-Integrale. Als Referenz diente das PEO-Signal mit der chemischen Verschiebung von 3,65 ppm, dessen Integral mit Hilfe des Polymerisationsgrades aus dem MALDI-ToF-Massenspektrum bestimmt wurde.

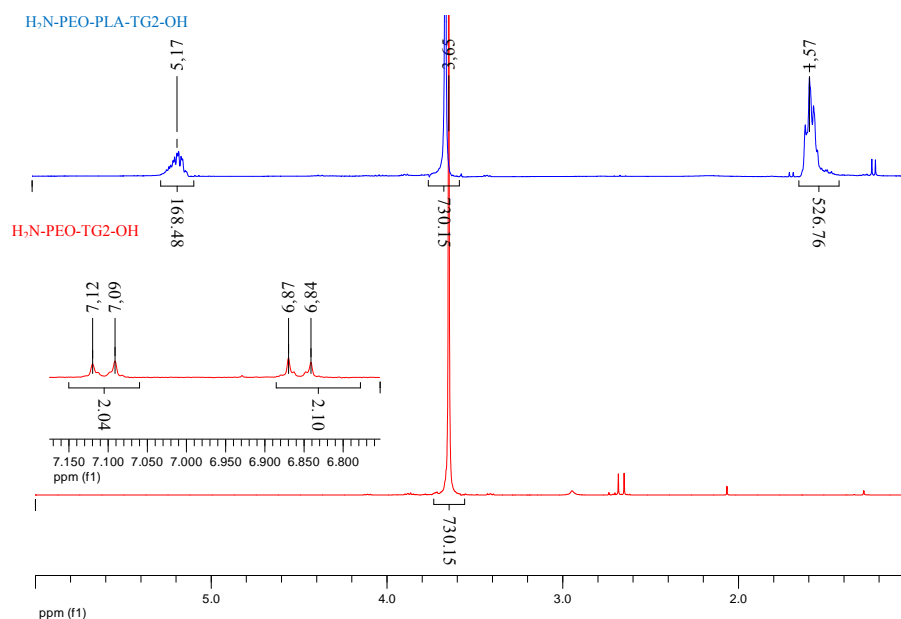


Abbildung 84: ^1H -NMR-Spektren von $\text{H}_2\text{N-PEO-TG2-OH}$ und $\text{H}_2\text{N-PEO-PLA-TG2-OH}$

Die anschließenden GPC und soweit möglich MALDI-ToF-Analysen sind in Abbildung 85 gezeigt. Die Chromatogramme beider Polymere zeigen eine deutliche Verschiebung zu kleineren Elutionsvolumen bezüglich des Blockcopolymers $\text{H}_2\text{N-PEO-PLA-TG6-OH}$, welches bei einem Elutionsvolumen von 32,2 mL eluiert im Vergleich zum Homopolymer $\text{H}_2\text{N-PEO-TG2-OH}$, welches bei 33,8 mL detektiert wird. Diese Verschiebung ist durch den aufpolymerisierten PEO-Block und das damit zunehmende hydrodynamische Volumen des Polymers zu erklären. Aufgrund der Zersetzung des PLA-Block bei der MALDI-ToF-Messung konnte von dem Blockcopolymer kein Massenspektrum aufgenommen werden^[184].

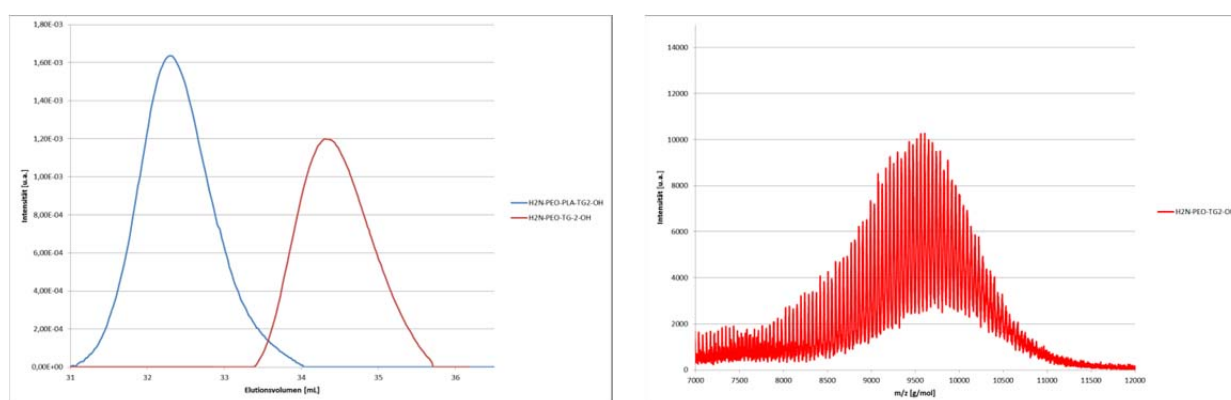


Abbildung 85: GPC-Chromatogramme von $\text{H}_2\text{N-PEO-TG2-OH}$ und $\text{H}_2\text{N-PEO-PLA-TG2-OH}$ (links) sowie das MALDI-ToF-Spektrum von $\text{H}_2\text{N-PEO-TG2-OH}$ (rechts)

In Tabelle 10 sind alle PEO-PLA-Blockcopolymere aufgelistet, die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt und nach den oben gezeigten Verfahren analysiert worden sind. Die Volumen-

teile des PEO-Blocks ($f_{(PEO)}$) wurden aus der Molmassen unter der Verwendung der amorphen Dichten der einzelnen Blöcke berechnet^[67-68, 183, 185] ($\delta_{(PEO)} = 1,13 \text{ g/cm}^3$ und $\delta_{(PLA)} = 1,24 \text{ g/cm}^3$).

Tabelle 10: Übersicht der synthetisierten PEO-PLA-Blockcopolymer

Polymer	α -Position	M_{PEO} [g/mol]	M_{PLA} [g/mol]	M_{ges} [g/mol]	D	$f_{(PEO)}$
H ₂ N-PEO-PLA-TG1-OH	Amin	9560	7850	17410	1,10	0,57
H ₂ N-PEO-PLA-TG2-OH	Amin	9560	15700	25260	1,14	0,40
H ₂ N-PEO-PLA-TG3-OH	Amin	9560	15300	24860	1,09	0,41
H ₂ N-PEO-PLA-TG4-OH	Amin	9560	19800	29320	1,05	0,35
H ₂ N-PEO-PLA-TG5-OH	Amin	9560	17600	27160	1,05	0,37
H ₂ N-PEO-PLA-TG6-OH	Amin	9560	39400	48960	1,06	0,21

4.1.3 Weitere verwendete Blockcopolymer

Die weiteren in dieser Arbeit verwendeten Blockcopolymer sind in Tabelle 11 zusammen gefasst. Dabei wurde das PI-PEO-Blockcopolymer von Herrn *VOLKAN FILIZ*, die PEO-PLA-Blockcopolymer von Frau *JASMIN NITSCHKE*, die PEO-PCL bzw. PEO-PCL/PGL-Blockcopolymer von Frau *STEPHANIE DOMES* und das PB-PEO-Blockcopolymer von Frau *FRANZISKA KRAUSE* im Rahmen ihrer jeweiligen Dissertationen bzw. Diplomarbeiten im Arbeitskreis von *STEPHAN FÖRSTER* über anionische oder Koordinations-Insertions-Polymerisation hergestellt.^[44, 164, 172, 186] Die Volumenanteile des PEO-Blocks ($f_{(PEO)}$) wurden aus der Molmassen unter der Verwendung der amorphen Dichten der einzelnen Blöcke berechnet^[67-68, 183, 185] ($\delta_{(PEO)} = 1,13 \text{ g/cm}^3$, $\delta_{(PB)} = 0,90 \text{ g/cm}^3$, $\delta_{(PGL)} = 1,53 \text{ g/cm}^3$ und $\delta_{(PCL)} = 1,10 \text{ g/cm}^3$).

Tabelle 11: Übersicht über die weiteren verwendeten Blockcopolymeren^[44, 164, 172, 186]

Polymer	α - Position	M_{PEO} [g/mol]	$M_{PCL/PLA/PI}$ [g/mol]	M_{PGL} [g/mol]	M_{ges} [g/mol]	D	f (PEO)
PI-PEO-20.2	-OH	1320	2730	-	4050	1,09	0,28
PEO-PLA-JN12	-COOH	1190	4680	-	5870	1,03	0,22
PEO-PLA V5a	-OCH ₃	2030	3600	-	5630	1,5	0,38
PEO-PLA V6	-NH ₂	8590	8770	-	17360	-	0,52
PEO-PCL 2	-OCH ₃	3660	23100	-	26760	-	0,13
PEO-PCL-VIB3	-NH ₂	2200	4200	-	6400	1,12	0,34
PEO-PCL-6	-OCH ₃	2420	13000	-	15420	1,26	0,15
PEO-PCL-7	-OCH ₃	1500	3100	-	4600	1,41	0,32
PEO-PCL 28a	-COOH	1200	23000	-	24200	1,17	0,05
PEO-PCL/PGL 1	-OCH ₃	1530	1700	1280	4510	-	0,36
PEO-PCL/PGL 4	-OCH ₃	1530	2290	480	4300	-	0,36
PEO-PCL/PGL 14	-COOH	2360	4000	2500	8860	-	0,29
PB-PEO-2	-OH	1230	2320	-	3550	1,07	0,30

4.2 Biofunktionalisierungen der Blockcopolymere

Einer der wichtigsten Aspekte in der Entwicklung eines Wirkstofftransportsystems ist neben der kontrollierten Freisetzung des Wirkstoffes der gezielte Transport an den gewünschten Platz im Körper. Um dieses Ziel zu erreichen, werden spezifische Liganden, wie DNA, Antikörper oder Peptide, die an bestimmte Zellrezeptoren binden, oder auch weniger spezifische Gruppen, wie Kohlenhydrate oder Vitamine, angebunden.^[13] Durch diese physikalische oder chemische Bindung eines solchen aktiven Moleküls kann es durch die erhöhte Molmasse zu einer verminderten Ausscheidung über die Nieren kommen.^[14] Für die Anbindung solcher spezifischen Liganden gibt es verschiedene Möglichkeiten, wie zum Beispiel die Biotin-Avidin-Anbindung. Das Biotin, auch bekannt als Vitamin H, ist in jeder Zelle vorhanden. Es wirkt als ein Cofaktor, welcher bei der Carboxylierung von Enzymen die Bildung von Oxalacetat durch Kondensation von Pyruvat und CO₂ katalysiert.^[187] Über die Biotin-Avidin-Bindungen konnten schon viele verschiedene Moleküle und Biokonjugate an Polymersomen gebunden werden, wie zum Beispiel Antikörper^[26-27, 188], Farbstoffe^[189] und Peptide.^[188, 190] Des Weiteren ist auch die Immobilisierung auf Oberflächen^[124, 191-192] oder MF-Kanälen über diese Methode bereits realisiert worden.^[193-195]

4.2.1 Biotin-Anbindung

Im Folgenden sollen die vesikelbildenden Polyester-Blockcopolymere PEO-PLA-TG6 und PEO-PCL-VIB3, wie schematisch in Abbildung 86 dargestellt, biotinyliert werden.^[196] Die Spezifikationen der Blockcopolymere sind in Tabelle 10 und Tabelle 11 zusammen gefasst. Für die Anbindung des Biotins werden in der Literatur zwei Methoden am häufigsten verwendet, zum einem ist es die Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition^[197] und zum anderen die zur Bildung einer Amidbindung führende Aktivester-Methode mittels des aktivierten Biotin-LC-LC-NHS (6-(Biotinamidocaproyl-amido)-capronsäure N-hydroxysuccinimidester).^[190] Dieses kann unter Eliminierung von N-Hydroxysuccinimid in einer elektrophilen Substitutionsreaktion an die Amino-Gruppe des Polymers binden. Hierbei dienen die beiden Capronsäure-Amide als *Spacer*, um eine sterische Hinderung des Polymersoms bei der Anbindung des Biotins in die aktive Tasche des Avidin zu verhindern.

4. Ergebnisse und Diskussion

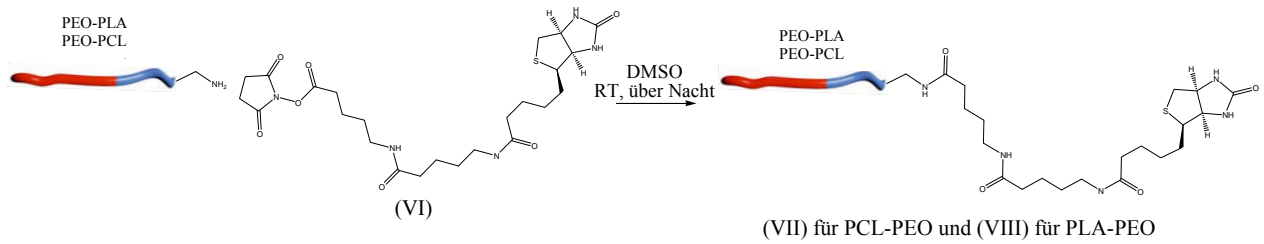


Abbildung 86: Biotinylierung der Polyester-Blockcopolymeren

Die Charakterisierung erfolgte mittels ^1H -NMR-Spektroskopie und mikroskopischer Untersuchungen.

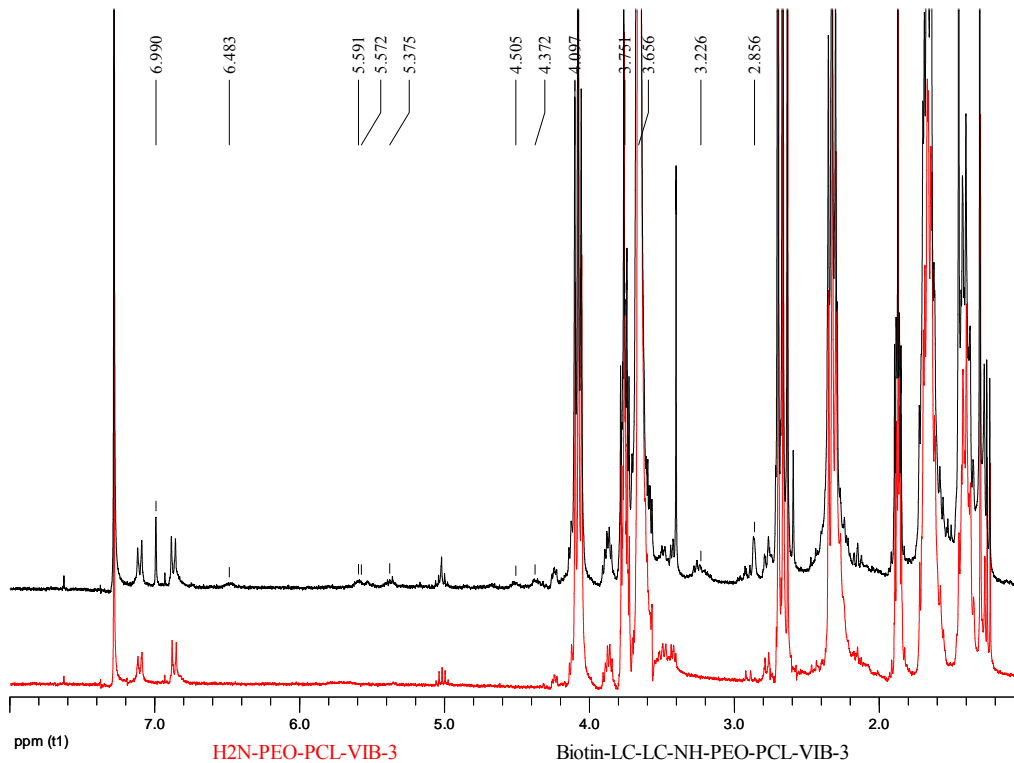


Abbildung 87: ^1H -NMR-Spektrum nach der Biotinylierung von PEO-PCL-VIB3

Beide NMR-Spektren, wie in Abbildung 87 dargestellt sind, zeigen im Vergleich zu ihren Edukten die gleichen neue Signale mit jeweils einer chemischen Verschiebung von 6,99 ppm, 4,75 ppm, 4,67 ppm, 2,84 ppm und 2,38 ppm. Um eine bessere Aussage darüber treffen zu können, ob die Biotin-Anbindung erfolgreich war, wurden die aus dem Polymer, mittels der Einspritzmethode, präparierten Polymersomen mit einem Fluoresceinisothiocyanat-markiertem NeutrAvidin[®] (FITC-NAv), welches von der CAN GmbH in Hamburg zur Verfügung gestellt wurde, gelabelt. Anhand der FLM-Aufnahmen, wie sie in Abbildung 88 gezeigt sind, konnte das Biotin auf der Oberfläche der Polymersomen nachgewiesen werden.

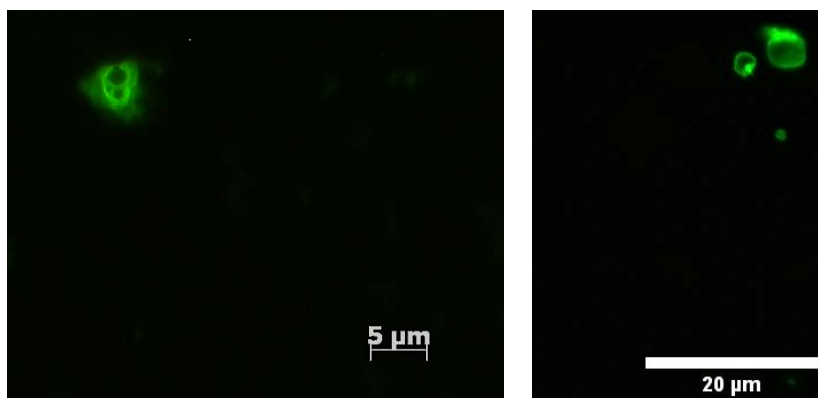


Abbildung 88: FLM- und CLSM-Aufnahmen der FITC-NA ν gelabelten PEO-PCL-VIB3- (links) und PEO-PLA-TG6-Polymersomen (rechts)

4.2.2 SUR1-Pharmacophor Anbindung an ein PI-PEO-Blockcopolymer

Das Ziel ist es, den in Abbildung 89 gezeigten SUR1 Pharmacophore über einen Harnstofflinker an ein PI-PEO-NW12-OH Blockcopolymer zu binden. Das SUR1-Molekül wurde von der CAN GmbH aus Hamburg zur Verfügung gestellt.

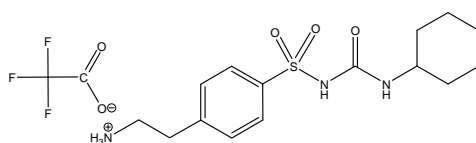


Abbildung 89: SUR1 Pharmacophore

Für die Möglichkeit, dass das PI-PEO-NW-12-OH eine Harnstoffbindung ausbilden kann, muss die terminale Hydroxygruppe in eine Aminogruppe überführt werden. Dafür musste im ersten Schritt, wie in Abbildung 90 gezeigt, das 2-Bromoethylaminhydrobromid zu *N*-Boc-2-bromoethylamin umgesetzt werden.

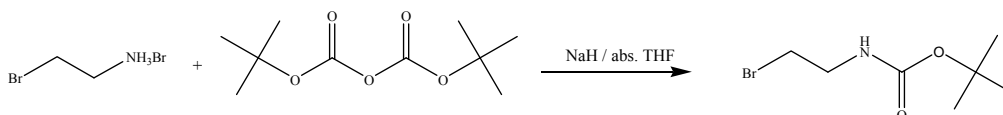


Abbildung 90: Boc-Schätzung von 2-Bromoethylaminhydrobromid

Anschließend wurde das *N*-Boc-2-bromoethylamin, entsprechend der Abbildung 91, mit dem PI-PEO-NW12-OH nucleophil verknüpft.

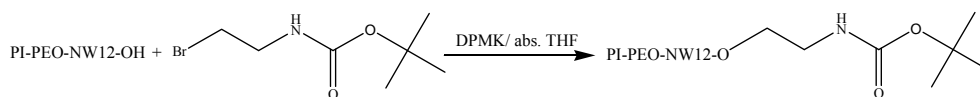


Abbildung 91: Reaktion von PI-PEO-NW12-OH mit N-Boc-2-bromoethylamin

Die erfolgreiche Anbindung konnte mittels der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren, die in Abbildung 97 gezeigt sind, nachgewiesen werden. Vor allem sind im Produkt (rotes $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum) die *tert.*-Butylgruppe der Boc-Schutzgruppe bei einer chemischen Verschiebung von 1,49 ppm und die Ethylengruppe neben der Amidfunktion bei 4,22 ppm deutlich zu erkennen.

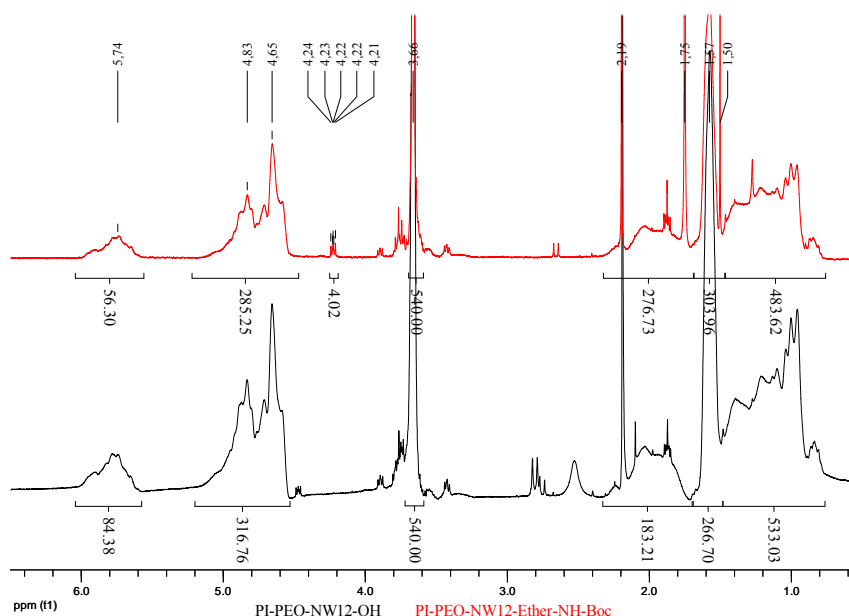


Abbildung 92: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von PI-PEO-NW12-OH (schwarz) und PI-PEO-NW12-Ether-NH-Boc (rot)

Die Anbindung des SUR1-Pharmacophore an das Blockcopolymer PI-PEO-NW12-Ether-NH₂ erfolgte entsprechend der Abbildung 6 nach der Abspaltung der Boc-Schutz mittels Trifluoressigsäure mit Hilfe des DMT-MM-Kopplungsreagenz und mit einem phosgenaktivierten Polymer.

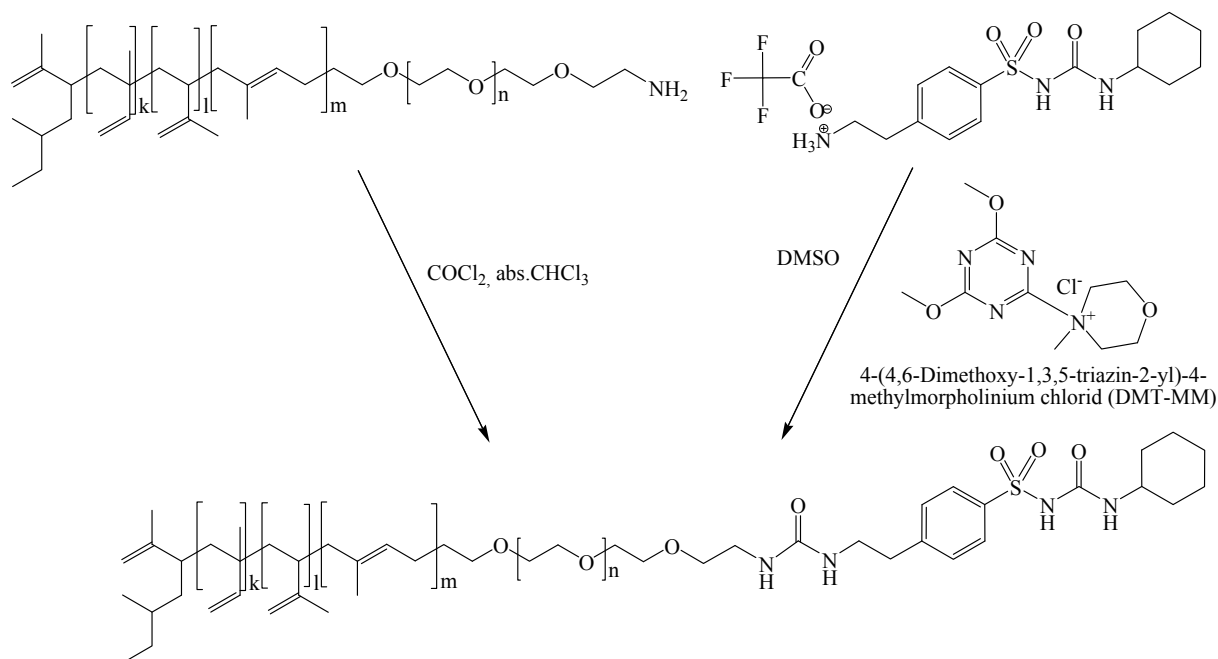


Abbildung 93: Reaktionsschema der Verknüpfung des SUR1-Liganden an PI-PEO-NW12-Ether-NH₂

Die Anbindung wurde NMR-spektroskopisch und chromatographisch analysiert. Das daraus resultierende ¹H-NMR-Spektrum des Produktes (grünes Spektrum) zeigt, wie in Abbildung 94 dargestellt, im Bereich der aromatischen Protonen im Vergleich zum Edukt des PI-PEO-NW12-OH (schwarzes Spektrum) nach der Verknüpfung die Signale des Liganden. Des Weiteren konnte aus den in Abbildung 95 gezeigten GPC-Chromatogrammen durch ein etwas geringeres Elutionsvolumen von $Elut_{Vol} = 34,1 \text{ mL}$ für das PI-PEO-NW12-OH und $Elut_{Vol} = 34,0 \text{ mL}$ für das PI-PEO-NW12-Ether-SUR1 die Anbindung des SUR1-Pharmacophore nachgewiesen werden.

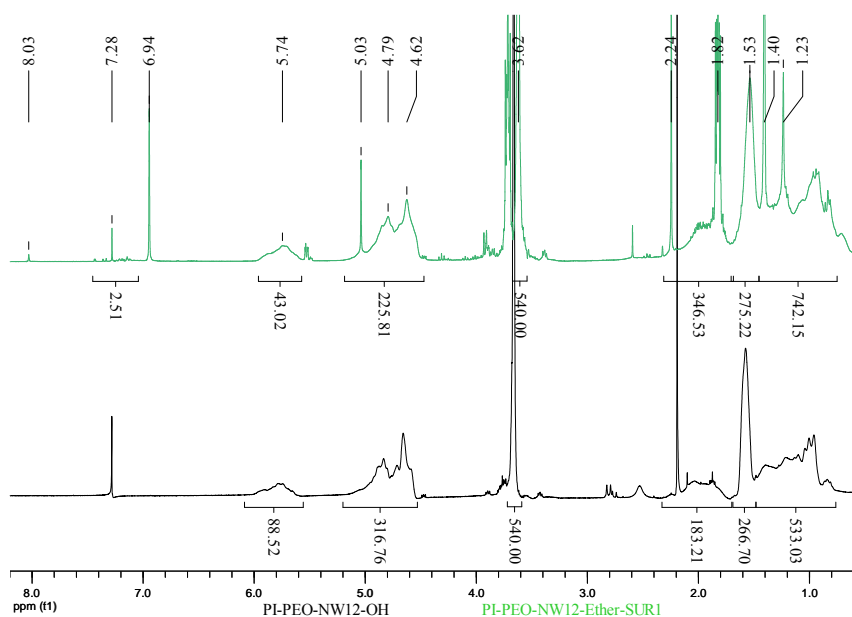


Abbildung 94: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren von PI-PEO-NW12-OH und PI-PEO-NW12-Ether-SUR1

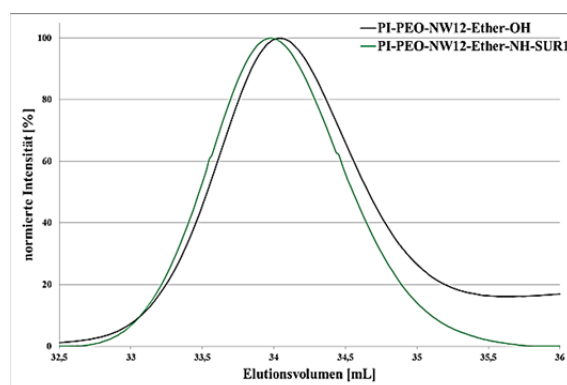


Abbildung 95: Vergleich der GPC-Elugramme von PI-PEO-NW12-OH und PI-PEO-NW12-Ether-SUR1

4.2.3 Streptozotocin (STZ)-Anbindung an PEO-PCL

Neben dem SUR1-Pharmacophor ist bei der β -Zell-Erkennung das Streptozotocin ein weiterer Ligand.^[22] Daher sollte nun eine Syntheseroute verfolgt werden, in der keine Schutzgruppen beim Zucker von Nöten sind. Deshalb wurde auf die Kupfer-(I)-katalysierte-Click-Reaktion (CuAAC) zurückgegriffen.^[82] Dazu wurden die von ANNA JACOBSEN und DANIEL WASCHKE zur Verfügung gestellten STZ-Derivate C und D, wie sie Abbildung 96 dargestellt sind, an eine alkinfunktionalisiertes PEO-PCL-Blockcopolymer gebunden.

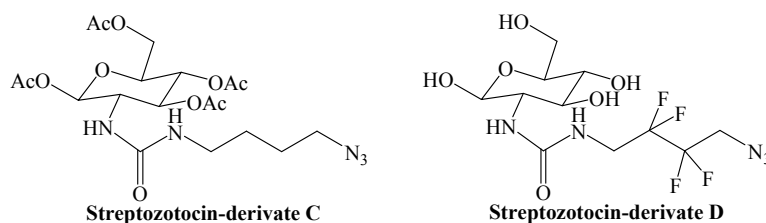


Abbildung 96: Schematische Darstellung der STZ-Derivate C und D

Zuerst aber musste das STZ-Derivat C deacetyliert werden, was erfolgreich über die *ZEMPLÈN*-Methode durchgeführt werden konnte, wie das NMR-Spektrum in Abbildung 97 zeigt.

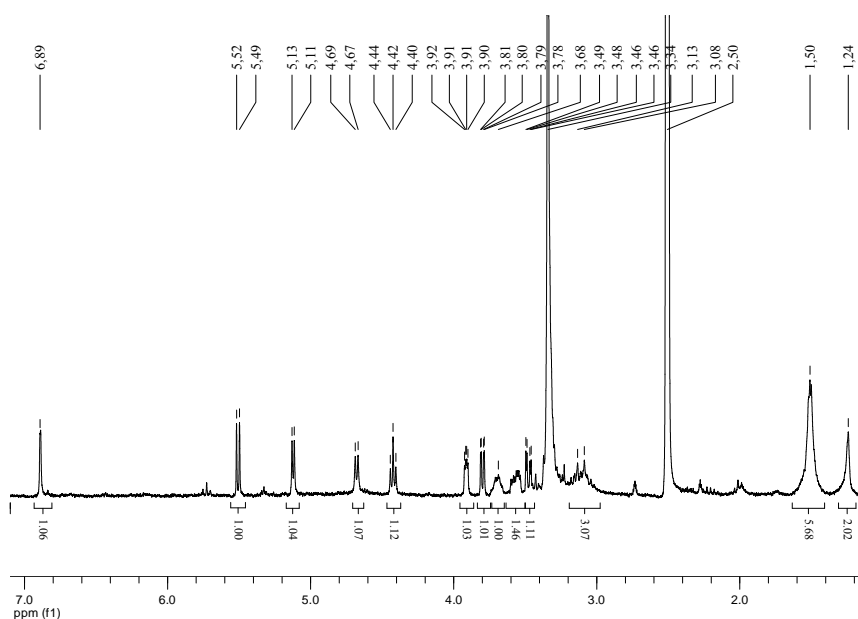


Abbildung 97: ^1H -NMR-Spektrum des deacetylierten STZ-Derivats C

Das deacetylierte STZ-Derivat C (dep-STZ-C) wie auch das STZ-Derivat D wurden anschließend an ein, an der ω -Position mit einer *tert*-Butyldimethylsilylether-Schutzgruppe (TBDMS) versehenes, geschütztes PEO-PCL-Blockcopolymer gebunden. In Abbildung 98 ist die Syntheseroute zur Anbindung der Derivate dep-STZ-C und STZ-D an das PEO-PCL-VIB-3-TBDMS gezeigt.

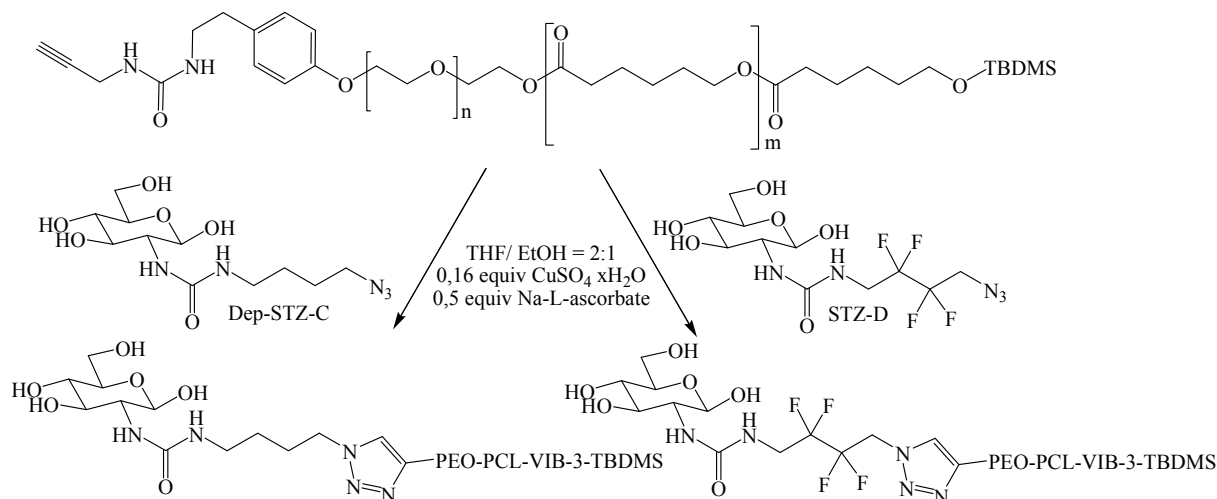


Abbildung 98: Syntheseroute zur Verknüpfung der STZ-Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3-TBDMS

Die Kopplungsprodukte wurden anschließend, wie in Abbildung 99 gezeigt, NMR-spektroskopisch und wie in Abbildung 100 dargestellt, GPC-chromatographisch analysiert. Bei den ¹H-NMR-Spektren fallen vor allem die Signale bei 8,84 ppm im blauen Spektrum (dep-STZ-C-PEO-PCL-VIB-3-TBDMS) und bei 8,15 ppm im roten Spektrum (STZ-D-PEO-PCL-VIB-3-TBDMS) auf. Diese beiden Signale sind charakteristisch für den sich bei der Reaktion bildenden 1,2,3-Triazolring. Der Unterschied in der chemischen Verschiebung der beiden Signale ist auf die Entschirmung der Fluoratome beim STZ-Derivat D zurückzuführen. Zudem können sowohl im roten als auch im blauen Spektrum die neuen Signale bei 2,88 ppm, 2,73 ppm und 2,12 ppm den STZ-Derivaten zugeordnet werden.

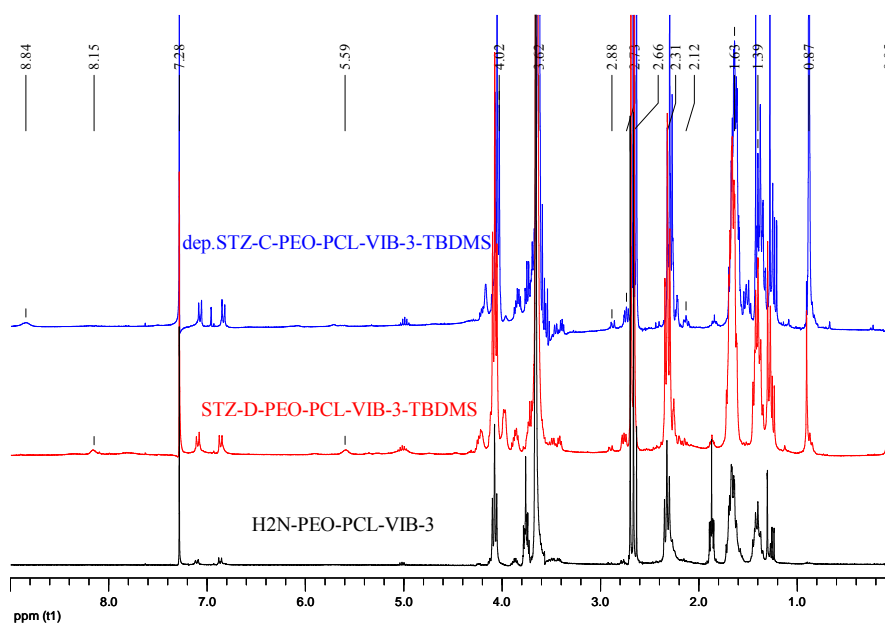


Abbildung 99: NMR-Spektren nach der Anbindungen der Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3

Die GPC-Messungen, die in Abbildung 100 gezeigt sind, bestätigen die erfolgreiche Anbindung der STZ Derivate an das Polyester-Blockcopolymer. Die Kopplungsprodukte haben ein Elutionsvolumen von ca. 37,0 mL, das PEO-PCL-VIB-3 eluiert erst bei 37,6 mL. Dieser Unterschied ist auf die STZ-Ankopplung zurückzuführen. In Tabelle 12 sind die bei der GPC-Messung erhaltenen Molmassen und Dispersitäten aufgelistet. Dort ist wiederum die Molmassenzunahme nach der Kopplung zu erkennen.

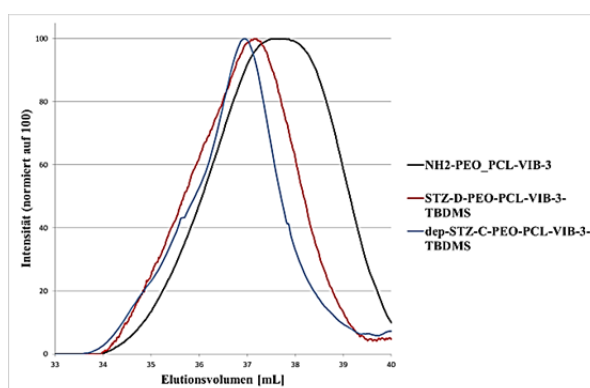


Abbildung 100: GPC-Messung nach der Anbindung der Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3

Tabelle 12: Ergebnisstabelle der GPC nach der Anbindung der Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3.

Polymer	M_n	M_w	D
H2N-PEO-PCL-VIB3	3620	3980	1,10
STZ-D-PEO-PCL-VIB3-TBDMS	4190	4630	1,11
Dep-STZ-C-PEO-PCL-VIB3-TBDMS	4220	4770	1,13

4.2.4 DMT-MM vermittelte Kopplung

Im Folgenden soll eine direkte Kondensationsreaktion einer 2-Aminohexose und des Hydrochlorid an ein α -Carbonsäure-funktionalisiertes Polymer unter Verwendung des DMT-MM möglich ist. Für die Anbindungen wurde, wie Tabelle 10 zu entnehmen ist, das vesikelbildende α -Carbonsäure-funktionalisierte Polymer PEO-PLA-JN12 verwendet.

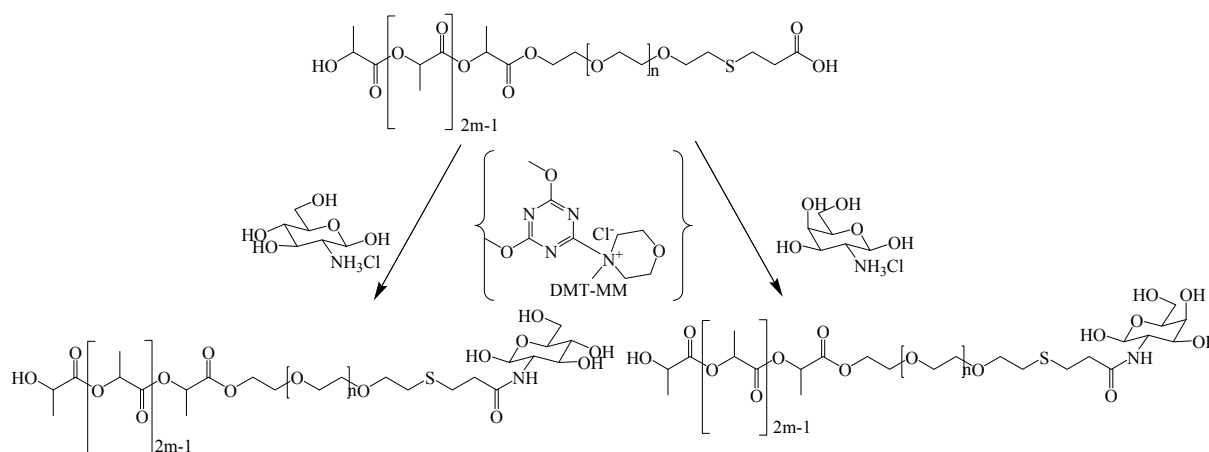


Abbildung 101: Syntheschema der DMT-MM-vermittelten Kupplung von der 2-Aminohexosen Glucosamine (links) und Galactosamine (rechts) an PEO-PLA-JN12

Aufgrund der hohen Toleranz des Kopplungsreagenz gegenüber Lösungsmitteln wurde die Reaktion in THF unter Inertgasatmosphäre (*pre-assembly*) und in Wasser (*post-assembly*) getestet. Die einzelnen Reaktionen wurden anschließend NMR-spektroskopisch und -chromatographisch analysiert. Da die Untersuchungen *post-assembly* durchgeführt wurden, wurden die Produkte vor der Charakterisierung gefriergetrocknet.

In Abbildung 102 sind die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der DMT-MM-vermittelten Kopplung von Glucosamin und Galactosamin an PEO-PLA-JN12 dargestellt. Dabei sind deutlich die Signale des angebindenen Monosaccharids bei den chemischen Verschiebung von 4,06 ppm und

3,97 ppm im Vergleich zum schwarzen Spektrum des PEO-PLA-JN12 Eduktes zu erkennen. Diese Signale passen in den Bereich der chemischen Verschiebung, wie sie für Galactose nach dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aus der Abbildung 114 unter der Berücksichtigung des Lösungsmittelseffektes aus Kapitel 3.1 zu erwarten wären. Weitere Signale des Kohlenhydrates und damit die Zuordnung, um welche Protonen es bei neuen Signalen handelt, können aufgrund der chemischen und dadurch NMR-spektroskopischen Ähnlichkeit zum PEO-Block wegen einer Signalüberlagerung nicht erfolgen. Die weiteren, teilweise auftretenden Signale bei den chemischen Verschiebungen von 1,87 ppm und 3,76 ppm können dem Lösungsmittel THF zugeordnet werden.

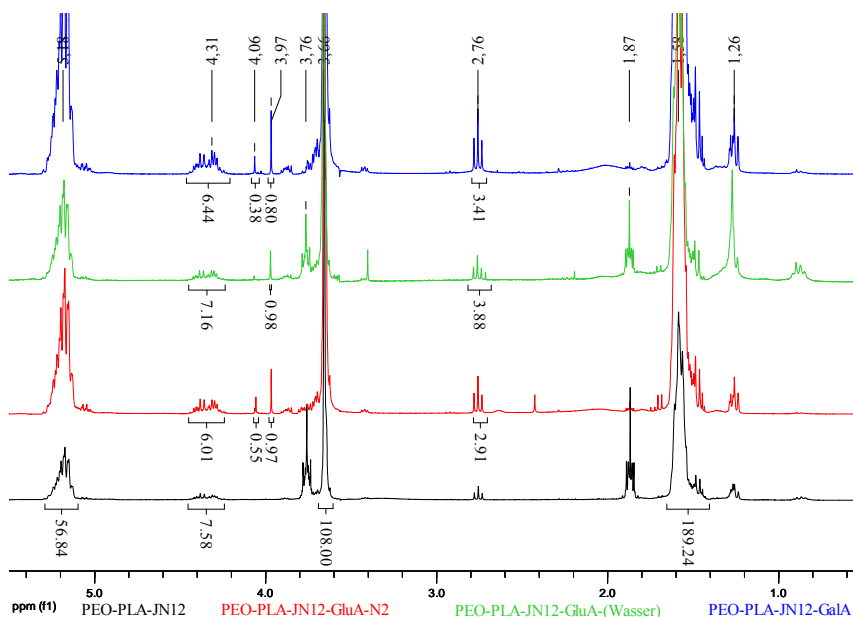


Abbildung 102: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der DMT-MM-vermittelten Kupplung von Glucosamine und Galactosamin an PEO-PLA-JN12.

Die Ergebnisse der GPC-Analysen, wie sie in Abbildung 103 dargestellt sind, kann eine Doppelkopplung oder ein Polymerabbau ausgeschlossen werden. Eine Anbindung der 2-Aminohexosen kann aus der Zunahme der erhaltenen Molmassen im Rahmen der Messgenauigkeit vermutet werden werden.

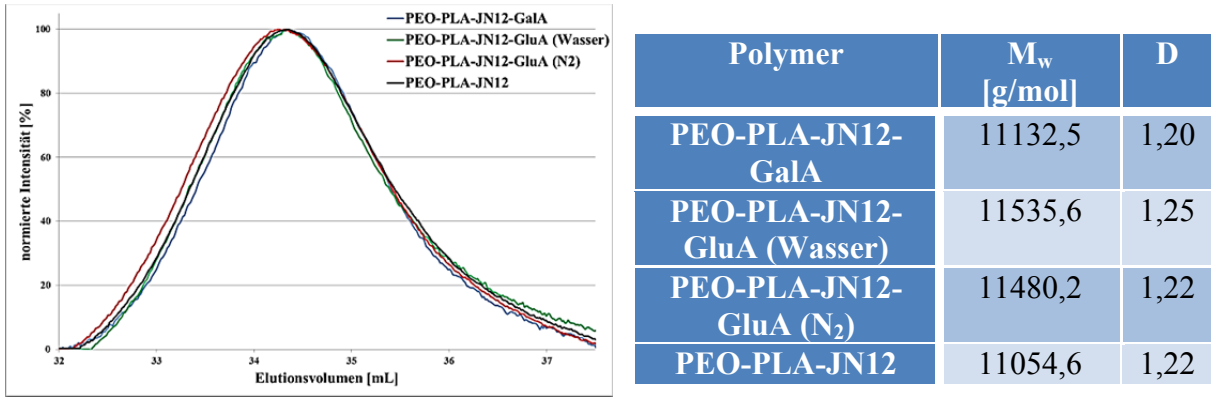


Abbildung 103: Normierte GPC-Eluogramme (links) und die erhaltenen Molmassen (rechts)

4.3 Photoinduzierte Thiol-Ene-Click-Chemie an PI-PEO

Mit Hilfe der Thiol-Ene-Click-Reaktion sollen nun zwei Chromophore, wie in Abbildung 104 gezeigt, nach der Arbeitsvorschrift von *WICKARD et. al.* an das PI-PEO-KV-2.1-OH gebunden werden.^[198] Anhand der Spezifikationen aus Tabelle 9 ist das Polymer mit einem hydrophilen Volumenanteil von $f_{(PEO)} = 0,24$ vesikelbildend. Die beiden Chromophore sind das Thionaphthol (**X₁**) und das 7-Mercapto-4-methylcumarin (**X₂**).

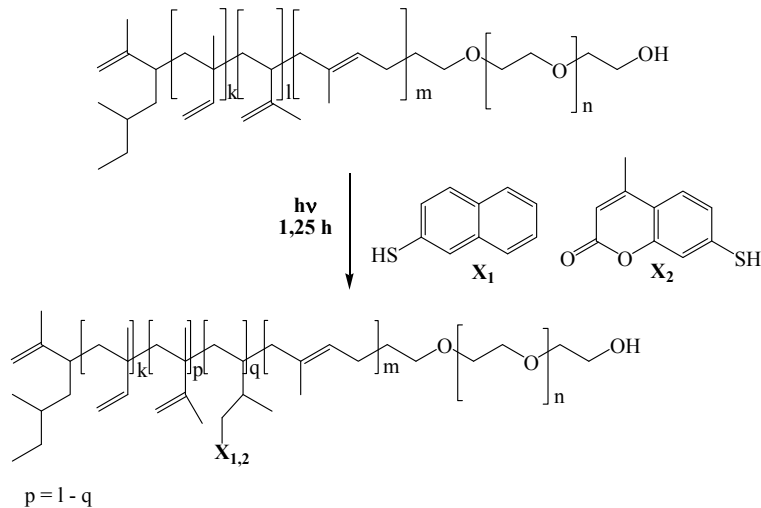


Abbildung 104: Syntheschema zur photoinduzierten Thiol-Ene-Click-Reaktion

Die Verwendung von Naphthalin als Seitenkettenchromophor zeigte *WINNIK* bereits 1984. Dabei wurde während einer PMMA-Polymerisation 10 mol% von einem 1-Naphthyl-

methylmethacrylate dem Reaktionsgemisch zugesetzt und somit die Fluoreszenzmarkierung erreicht.^[199]

Zunächst wurden diverse Fluoreszenzmarkierungsversuche am PI-KV-1-OH durchgeführt, um die richtigen Reaktionsbedingungen zu ermitteln. Die allgemeine Arbeitsvorschrift wurde aus der Arbeit von *WICKARD*^[198] entnommen. Dazu wurden zu verschiedenen Zeitpunkten, welche in Tabelle 13 zusammengefasst sind, Proben entnommen und mittels GPC-chromatographischer und NMR-spektroskopischer Methoden untersucht.

Tabelle 13: Zusammenfassung der entnommenen Proben nach einer bestimmten Reaktionszeit von PI-KV-1-OH mit Thionaphthol.

Probenbezeichnung	Reaktionszeit [min]	Probenbezeichnung	Reaktionszeit [min]
PI-KV-1-OH-Naph-0min	0	PI-KV-1-OH-Naph-25min	25
PI-KV-1-OH-Naph-1min	1	PI-KV-1-OH-Naph-45min	45
PI-KV-1-OH-Naph-2min	2	PI-KV-1-OH-Naph-75min	75
PI-KV-1-OH-Naph-3min	5	PI-KV-1-OH-Naph-115min	115
PI-KV-1-OH-Naph-10min	10	PI-KV-1-OH-Naph-175min	175

Abbildung 105 zeigt die GPC-Elugramme, des Brechungsindex- (links) und des UV-Detektors (rechts) nach den verschiedenen Reaktionszeiten. Die Elugramme des RI-Detektors zeigen, dass alle untersuchten Proben bei der Messung ein Elutionsvolumen von 34,9 mL haben. Anhand der Daten des UV-Dektors (rechts) ist der deutliche Intensitätsanstieg der markierten Polymere im Vergleich zur Referenzmessung zu erkennen.

4. Ergebnisse und Diskussion

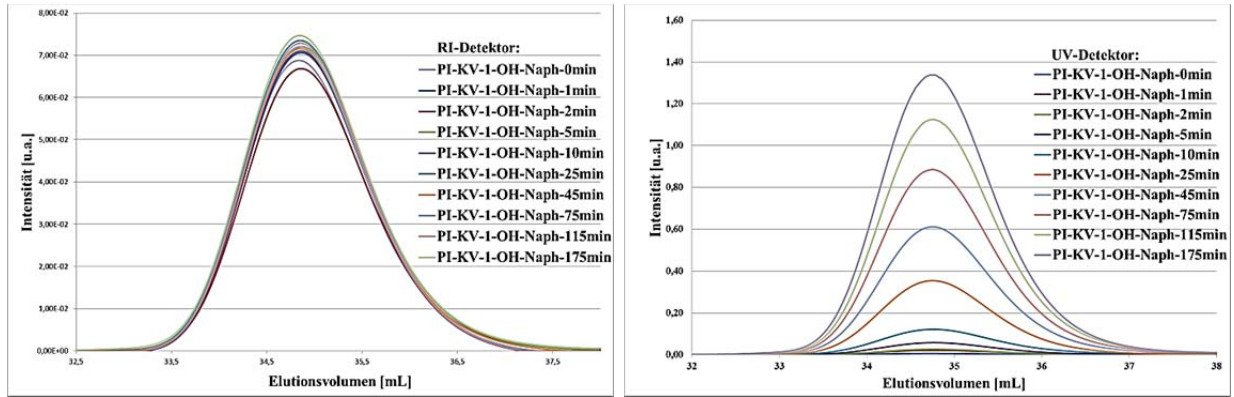


Abbildung 105: GPC-Eluogramme von PI-KV-1-OH-Naph nach verschiedenen Reaktionszeiten

Anhand der einzelnen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des Eduktes (schwarzes Spektrum) und zwei ausgewählter Produkte (blau und rot farbende Spektren), die in Abbildung 106 gezeigt sind, ist aufgrund der Abnahme der terminalen Doppelbindungen und im Bereich der chemischen Verschiebungen von 4,7-6,4 ppm, die Anbindung des Thionaphtols deutlich zu erkennen. .

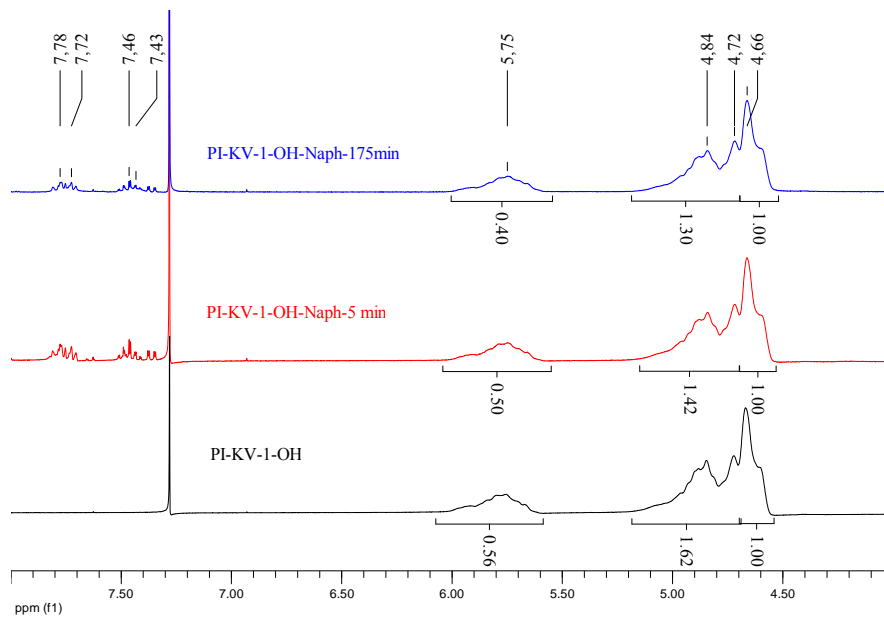


Abbildung 106: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von PI-KV-1-OH (schwarzes Spektrum) und PI-KV-1-OH-Naph nach 5 min (rotes Spektrum) sowie 175 min (blaues Spektrum) Reaktionszeit

Nach den Untersuchungen der Reaktionsbedingungen der Fluoreszenzmarkierung durch Thionaphtol an Polyisopren. Wurde ein PI-PEO-Blockcopolymer unter den gleichen Bedingungen jeweils mit Thionaphtol (X_1) und das 7-Mercapto-4-methylcumarin (X_2) umgesetzt. Dabei ist darauf geachtet worden, dass der hydrophile Gewichtsanteil des Polymers so wenig wie nötig beeinflusst wurde denn die vesikelbildenden Eigenschaften des Polymers sollten

durch die Fluoreszenzmarkierung nicht verändert werden. Die Umsetzungen wurden NMR-spektroskopisch und chromatographisch untersucht. In Abbildung 107 sind die einzelnen ^1H -NMR-Spektren des Eduktes und der Produkte dargestellt. Dabei ist das rote-farbendes Spektrum das Referenzspektrum des unfunktionalisierten PI-PEO-KV-2.1-OH. Die Integrale unter den Signalen passen zu den einzelnen Verknüpfungsmöglichkeiten. Beim hellblauen Spektrum handelt es sich um das 7-Mercapto-4-methylcumarin-markierte Polymer und das dunkelblaue Spektrum zeigt das Thionaphthol-markierte Polymer. Es ist anzumerken, dass die Integrale der vinylicischen Protonen des Polymers im Vergleich zum rot farbenes Referenzspektrum nach der Bestrahlung kleiner geworden sind. In den beiden Produktspektren sind zudem auch die neu dazugekommenen Signale im aromatischen Bereich bei 7,45 bis 7,54 ppm für das 7-Mercapto-4-methylcumarin-markierte und bei 7,77 bis 7,46 ppm für das Thionaphthol-markierte Polymer deutlich zu erkennen. Das hellblaue Spektrum des PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH enthält noch zusätzlich das Signal der Methylgruppe bei 2,43 ppm.

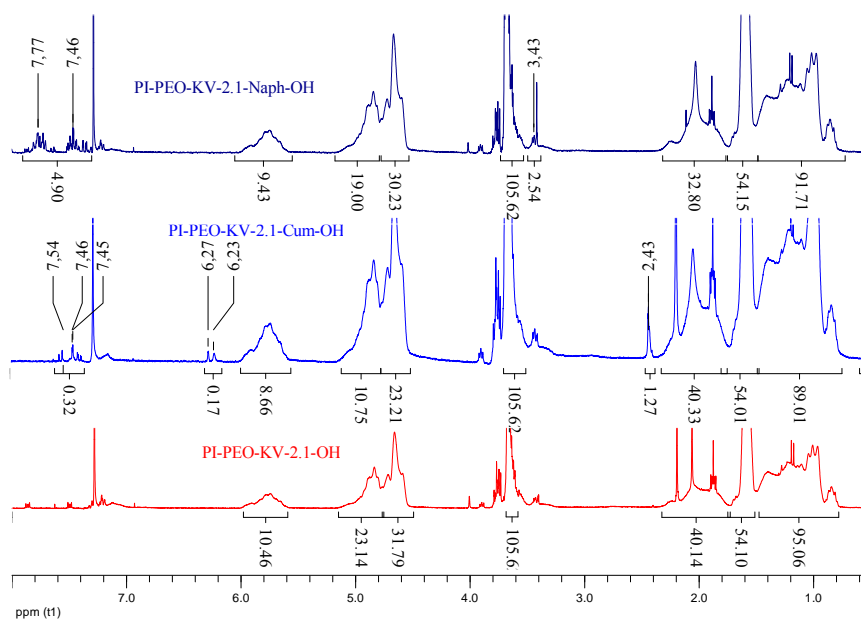


Abbildung 107: ^1H -NMR-Spektren von PI-PEO-KV-2.1-OH (rot farbenes Spektrum), PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (hellblaues Spektrum) und PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (dunkelblaues Spektrum)

An den GPC-Messungen ist zu erkennen, dass die Fluoreszenzmarkierungen erfolgreich durchgeführt werden konnten. Das Elugramm des RI-Detektors zeigt, wie in Abbildung 108 (rechts) dargestellt, dass es zur keiner Quervernetzung unter den einzelnen Polymerketten gekommen ist. Alle Polymere haben bei der Messung ein Elutionsvolumen von 34,4 mL. Anhand der Daten des UV-Dektors von Abbildung 108 (links) ist der deutliche Intensitätsan-

stieg der markierten Polymer im Vergleich zur Referenzmessung (rot farbender Graph) des reinen PI-PEO zu erkennen.

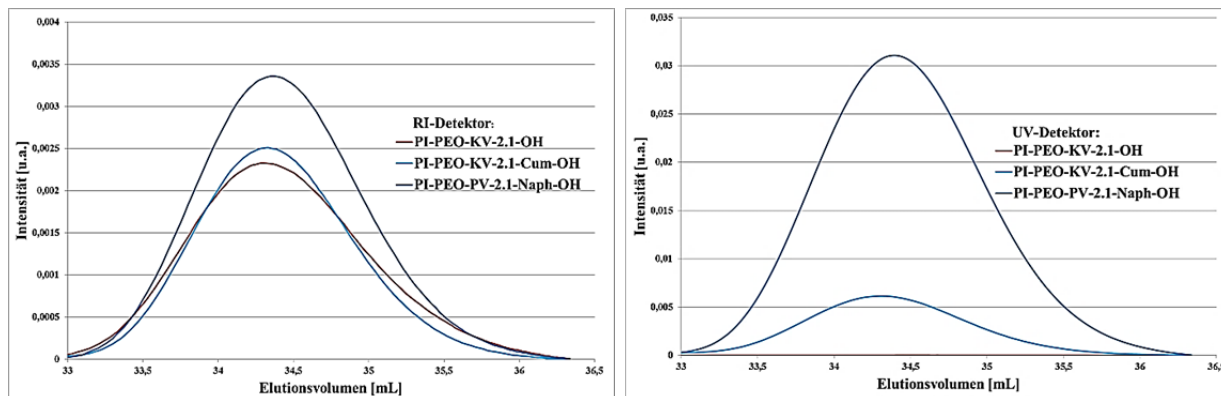


Abbildung 108: GPC-Messung von PI-PEO-KV-2.1-OH (roter Graph), PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (hellblauer Graph) und PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (dunkelblauer Graph)

Als nächstes wird nun mit Hilfe von Anregungsemissionsspektren die Wellenlängen herausgefunden, mit welcher die markierten Polymere bei späteren Mikroskopieuntersuchungen angeregt werden können. Dafür sind in Abbildung 109 die einzelnen Spektren dargestellt. Die Spektren A und B sind die Anregungsemissionsspektren der beiden Markierungsmoleküle Thionaphthol und 7-Mercapto-4-methylcumarin. Wie zu erkennen ist, haben die beiden Produkte ein Anregungsspektrum von 250-370 nm und ein daraus resultierendes Emissionsspektrum von 300-440 nm. Im Gegensatz dazu kann das unfunktionalisierte PI-PEO-KV-2.1-OH, wie es in Spektrum C gezeigt ist, nur mit einer Anregungswellenlänge von 250-300 nm angeregt werden und emittiert dann Licht mit einer Wellenlänge von 300-360 nm. Die Anregungsemissionsspektren der beiden markierten Polymere sind in den Spektren D (PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH) und E (PI-PEO-KV-2.1-Cum) gezeigt. Es fällt auf, dass die Spektren ähnlich sind. Daher ist es nun möglich, die Polymere mit einer Wellenlänge von 300-380 nm anzuregen.

4. Ergebnisse und Diskussion

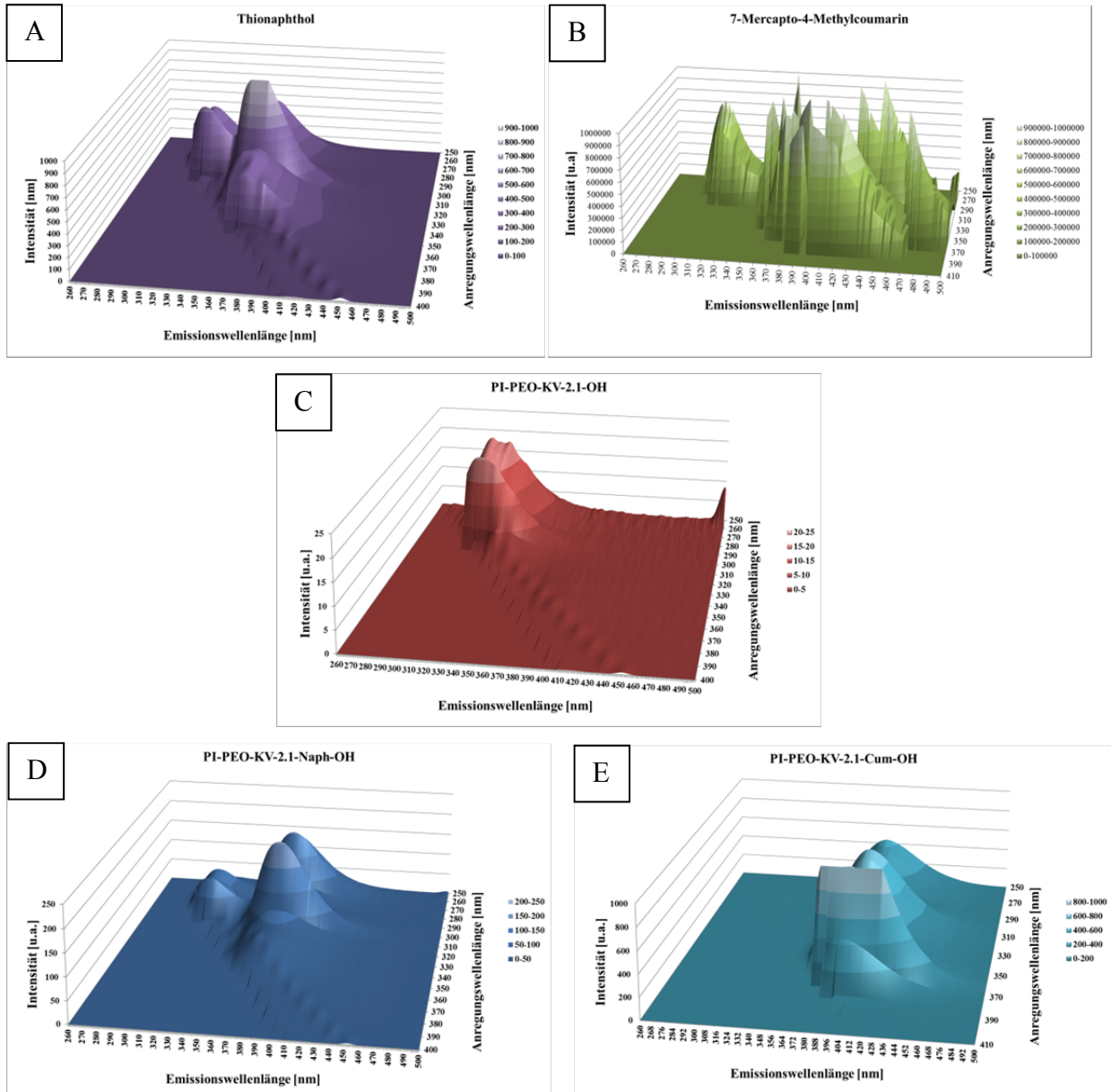


Abbildung 109: Anregungsemissionsspektren von Thionaphthol (Spektrum A), 7-Mercapto-4-methylcumarin (Spektrum B), PI-PEO-KV.2.1-OH (Spektrum C), PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (Spektrum D) und PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (Spektrum E)

Somit können die Polymere bei konfokal-mikroskopischen Untersuchungen mit einem Laser, dessen Anregungsmaximum bei 400 nm und kleiner liegt, sichtbar gemacht werden. In Abbildung 110 ist eine repräsentative CLSM-Aufnahme von Vesikeln gezeigt, die aus den markierten Polymeren besteht. Die Vesikel wurden mit einem Diodenlaser mit einem Anregungsmaximum von 405 nm bestrahlt.

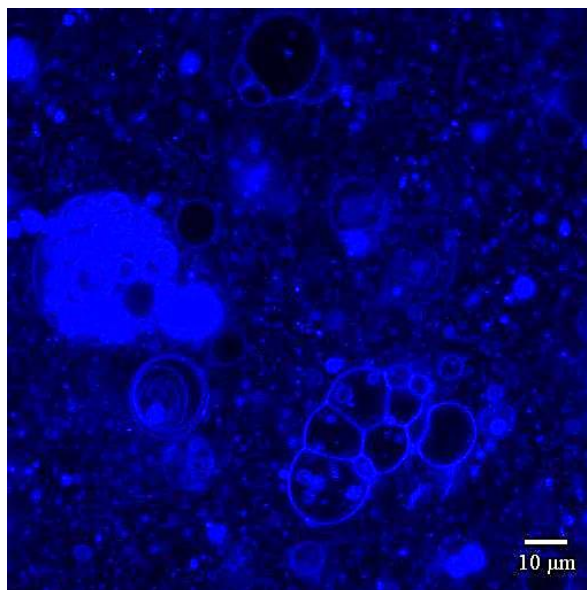


Abbildung 110: CLSM-Aufnahmen von PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH-Polymersomen

4.3.1 Synthese des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosids

Für die Untersuchung der kohlenhydratfunktionalisierten Polymersomen sollten neben der bereits in Kapitel 4.2.4 gezeigten DMT-MM vermittelten Kopplung auch die Anbindungsmöglichkeit der Kupfer(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition untersucht werden. Dafür musste zuerst ein 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosid synthetisiert werden. Das dazu gehörige Syntheschema ist in Abbildung 111 gezeigt^[200-201], wobei ausgehend von der Galactose im ersten Schritt die 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl-D-Galactose mittels Essigsäureanhydrid hergestellt wird. Dieses wird dann mit Bromwasser zum Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromid umgesetzt, welches weiter mit Natriumazid zum 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosylazid reagiert. Im letzten Schritt wird das geschützte Azid nach der *ZEMP-LÈN*-Methode deacetyliert und somit das Zielmolekül, das 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosid, erhalten.

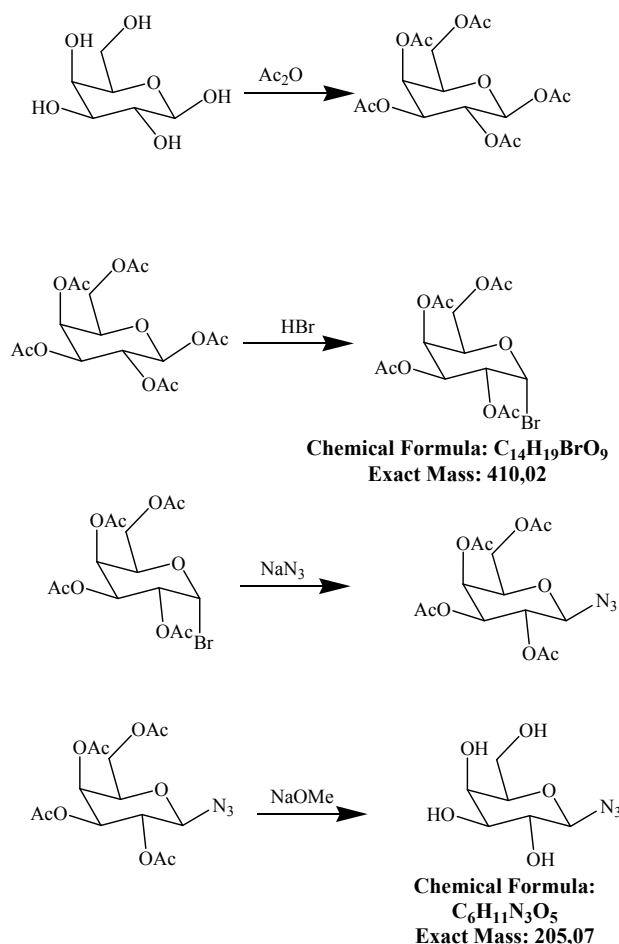


Abbildung 111: Syntheschema für die Synthese des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosids

Die einzelnen Zwischenstufen sowie das Zielmolekül wurden NMR-spektroskopisch und, soweit es möglich war, massenspektrometrisch untersucht. Da dies eine gängige Syntheseroute des Zielmoleküls ist, soll im Folgenden nur auf ein Zwischenprodukt und das Zielmolekül mit den analytischen Spektren eingegangen werden. In Abbildung 112 ist das ¹H-NMR-Spektrum und in Abbildung 113 das Massenspektrum des Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromids dargestellt. Die einzelnen Integrale unter den Signalen im NMR-Spektrum passen gut zu der Zwischenstufe. Im Massenspektrum ist die Masse des Bromids mit $m/z = 410,02$ sehr gut zu erkennen. Doch der Hauptpeak bei $m/z = 371,21$ kann dem Halbacetal des Bromides plus Natrium zugeordnet werden. Dieses Halbacetal entsteht, wenn das Zwischenprodukt hydrolysiert wird.

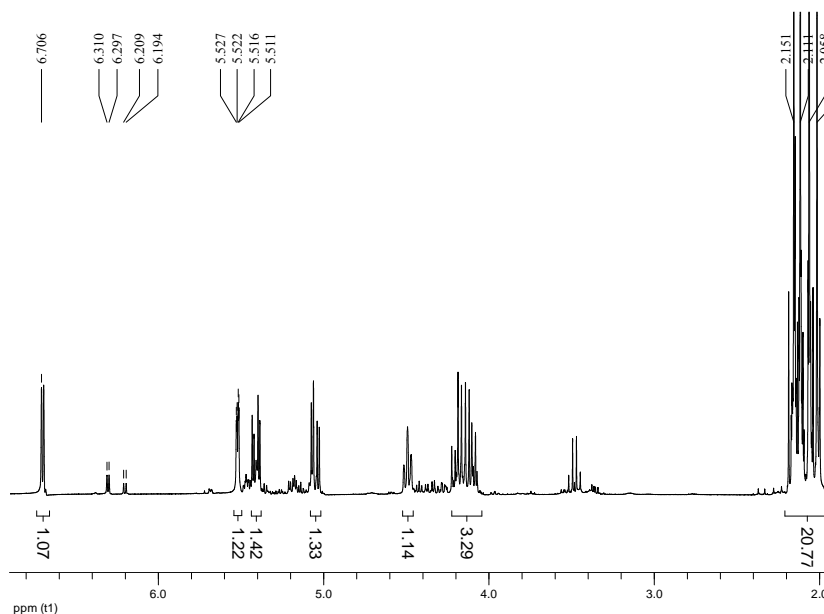


Abbildung 112: ^1H -NMR-Spektrum des Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromids

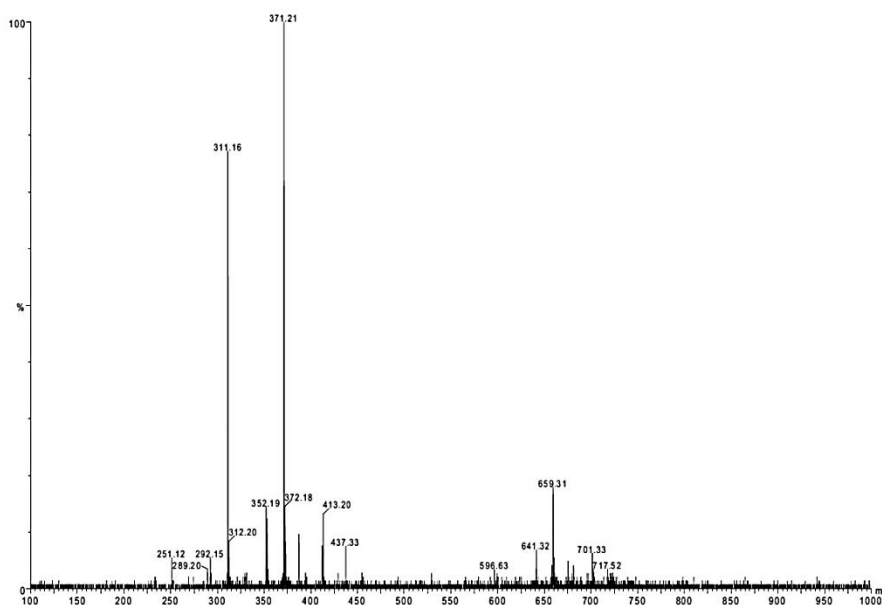


Abbildung 113: Massenspektrum des Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromids

Am Schluss dieser Synthesesequenz entsteht das Zielmolekül 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosid. Das dazu gehörige ^1H -NMR-Spektrum (Abbildung 114) zeigt ähnlich wie beim Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromid, dass die Integrale unter den Signalen sehr gut zum Zielmolekül passen. Im Massenspektrum (Abbildung 115) entspricht der Hauptpeak genau der Masse des Zielmoleküls.

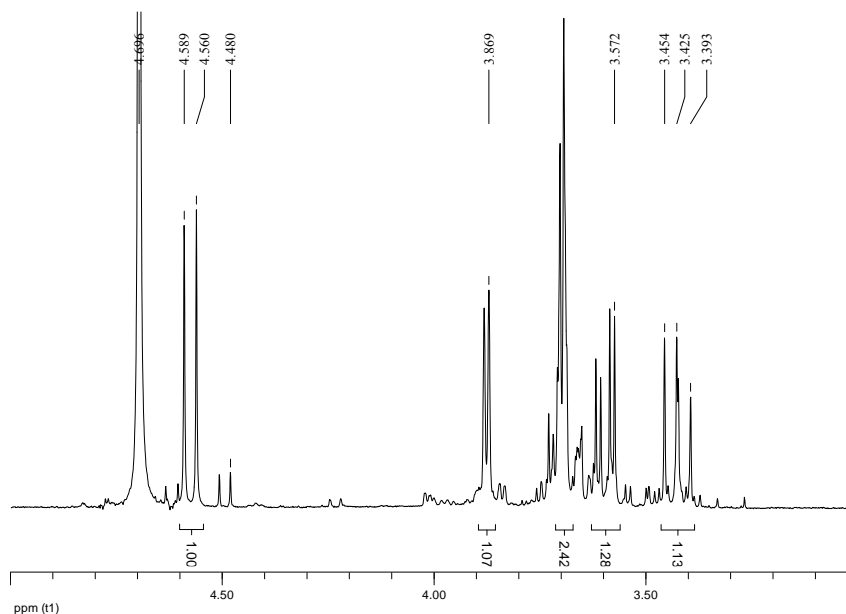


Abbildung 114: $^1\text{H-NMR}$ des 1-Azido-1-deoxy- $\beta\text{-D-galactopyranosids}$

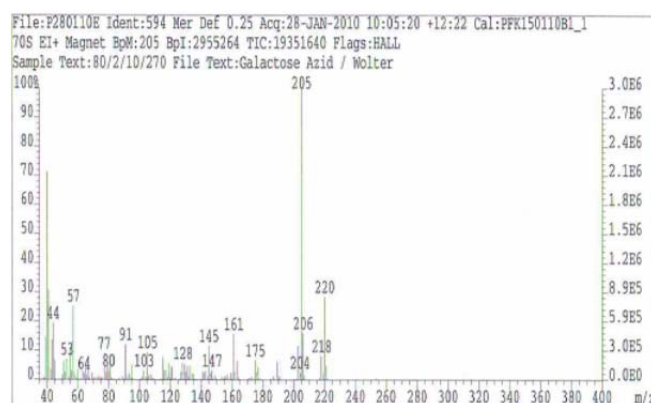


Abbildung 115: Massenspektrum des 1-Azido-1-deoxy- $\beta\text{-D-galactopyranosids}$

4.3.2 Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition von Galactosylazide an fluoreszenzmarkierten PI-PEO

Nachdem das Polymer mit dem fluoreszierenden Chromophor X_1 markiert und das 1-Azido-1-deoxy- $\beta\text{-D-galactopyranosid}$ synthetisiert wurde, sollen nun im Folgenden die beiden Komponenten, wie in Abbildung 116 gezeigt, miteinander verbunden werden. Dafür wird zuerst das Polymer in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion mit Propargylbromid umgesetzt. Dieses Alkinfunktionalisierte Polymer wird anschließend in einer Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition mit dem 1-Azido-1-deoxy- $\beta\text{-D-galactopyranosid}$ umgesetzt.

4. Ergebnisse und Diskussion

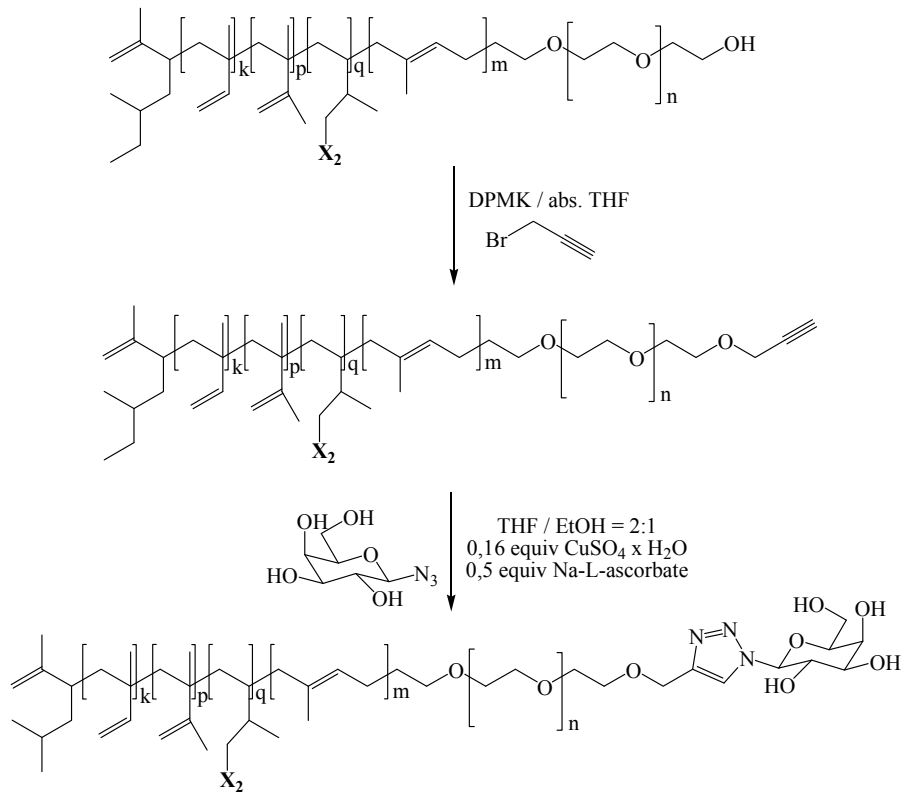


Abbildung 116: Syntheschema der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition des 1-Azido-1-deoxy-β-D-galactopyranosids an das PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH

Das Reaktionsprodukt wurde NMR-spektroskopisch und chromatographisch analysiert. In Abbildung 117 sind die Elugramme (linker Teil) und die daraus erhaltenen Molmassen-Verteilungen (rechter Teil) der analytischen GPC-Messungen gezeigt. Eine Verringerung im Elutionsvolumen von 35,4 mL auf 35,1 mL sowie die höheren Molmassen der endgruppenfunktionalisierten Polymere weisen auf eine erfolgreiche Ankopplung des Kohlenhydrates hin.

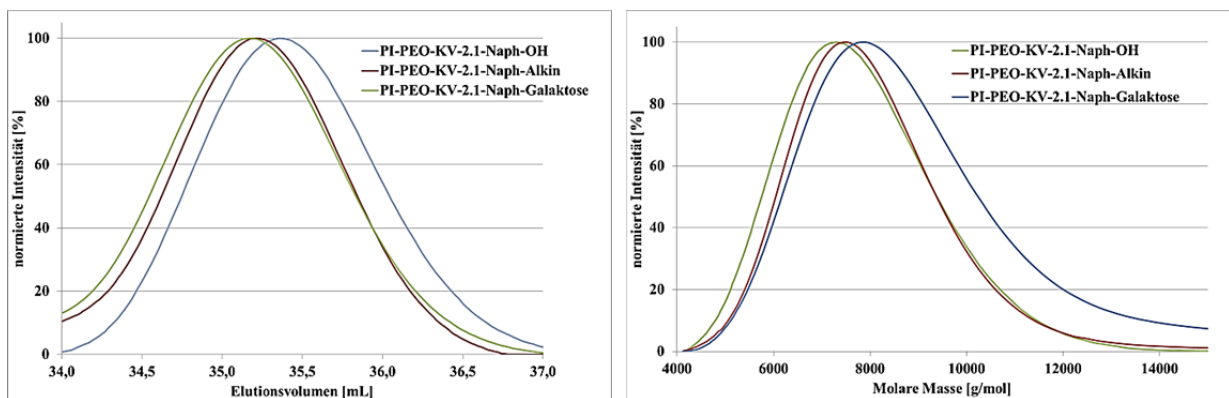


Abbildung 117: Normierte GPC-Elugramme (links) und mittels GPC erhaltene Molmassenverteilungen der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN* Cycloaddition des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosids an das PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH

Die erhaltenen Molmassen sind in Tabelle 14 noch einmal zusammengefasst. Aus den Daten wird durch die Molmassenzunahme und die zugrunde liegende Veränderung des hydrodynamischen Volumens der Polymerketten nach jedem erfolgreichen Anbindungsschritt deutlich.

Tabelle 14: Zusammenfassungen der Molmassen der CuAAC des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosids an das PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH.

Polymer	M_n	M_w	D
PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH	6980	7260	1,04
PI-PEO-KV-2.1-Naph-Alkin	7290	7570	1,04
PI-PEO-KV-2.1-Naph-Gal	7750	8190	1,06

Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zeigen auch eine erfolgreiche Anbindung des Kohlenhydrates Galactosylazid an das Polymer. Im Produktspektrum sind die Protonen der neugebildeten 1,2,3-Triazolringe mit einer chemischen Verschiebung von 8,05 ppm klar zu identifizieren. Weiterhin sind die Signale des Kohlenhydrats in einem neuen Multipllett bei ca. 4,00 ppm zu erkennen. Der Umsatz der Kupfer-(I)-katalysierten 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloadditionen beläuft sich für die Anbindung des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosid auf 45 %.

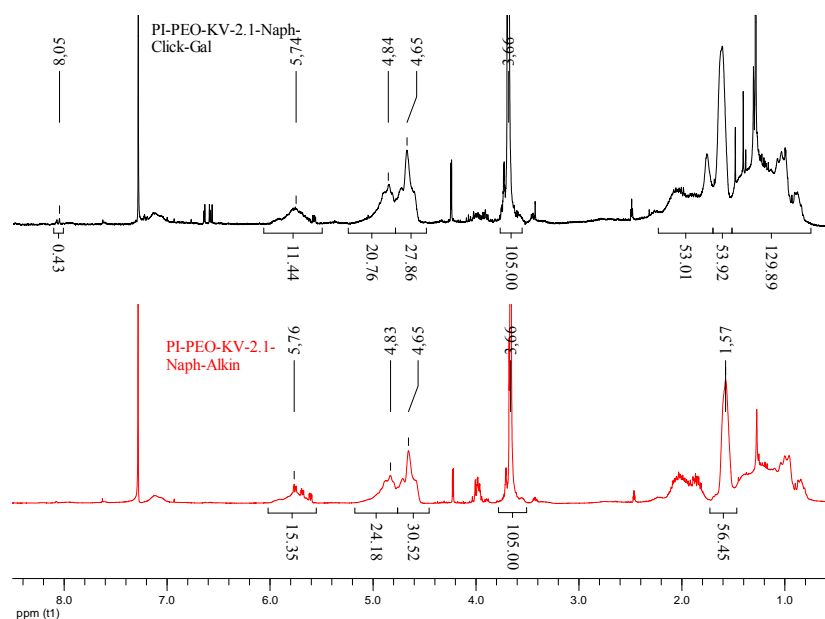


Abbildung 118: ^1H -NMR-Spektren nach der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition zum PI-PEO-KV-2.1-Naph-Click-Gal (schwarzes Spektrum) sowie das PI-PEO-KV-2.1-Naph-Alkin (rotes Spektrum)

4.3.3 Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition von Nonaazide an ein fluoreszenzmarkiertes PI-PEO

Nachdem die erfolgreiche qualitative Anbindung von einem Monosaccharid an das PI-PEO-Blockcopolymer vor der Selbstanordnung im wässrigen Milieu gezeigt werden konnte, soll nun die „*post-assembly*“-Funktionalisierung mittels der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition vorgestellt werden. Dabei wurde die Anbindung von *IRENE BOOS* vom „*Lehrstuhl für Bioorganische Chemie*“ der Universität Bayreuth an ein Nonaazid-Glycan (O- β -D-Galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4) -O- (2-desoxy-2-acetamido- β -D-glucopyranosyl) - (1 \rightarrow 2)-O- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3) - [O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4) - (O-2-desoxy-2-acetamido- β -D-glucopyranosyl) - (1 \rightarrow 2)-O- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-O-(β -D-mannopyranosyl) - (1 \rightarrow 4)-O-(2-desoxy-2-acetamido- β -D-glucopyranosyl) - (1 \rightarrow 4)-O-2-desoxy-2-acetamido- β -D-glucopyranosylazid unter den in Abbildung 119 gezeigten Bedingungen sowie mit Hilfe des in Abbildung 120 gezeigten GlcTA an ein alkinfunktionalisiertes Polymersom realisiert.^[202]

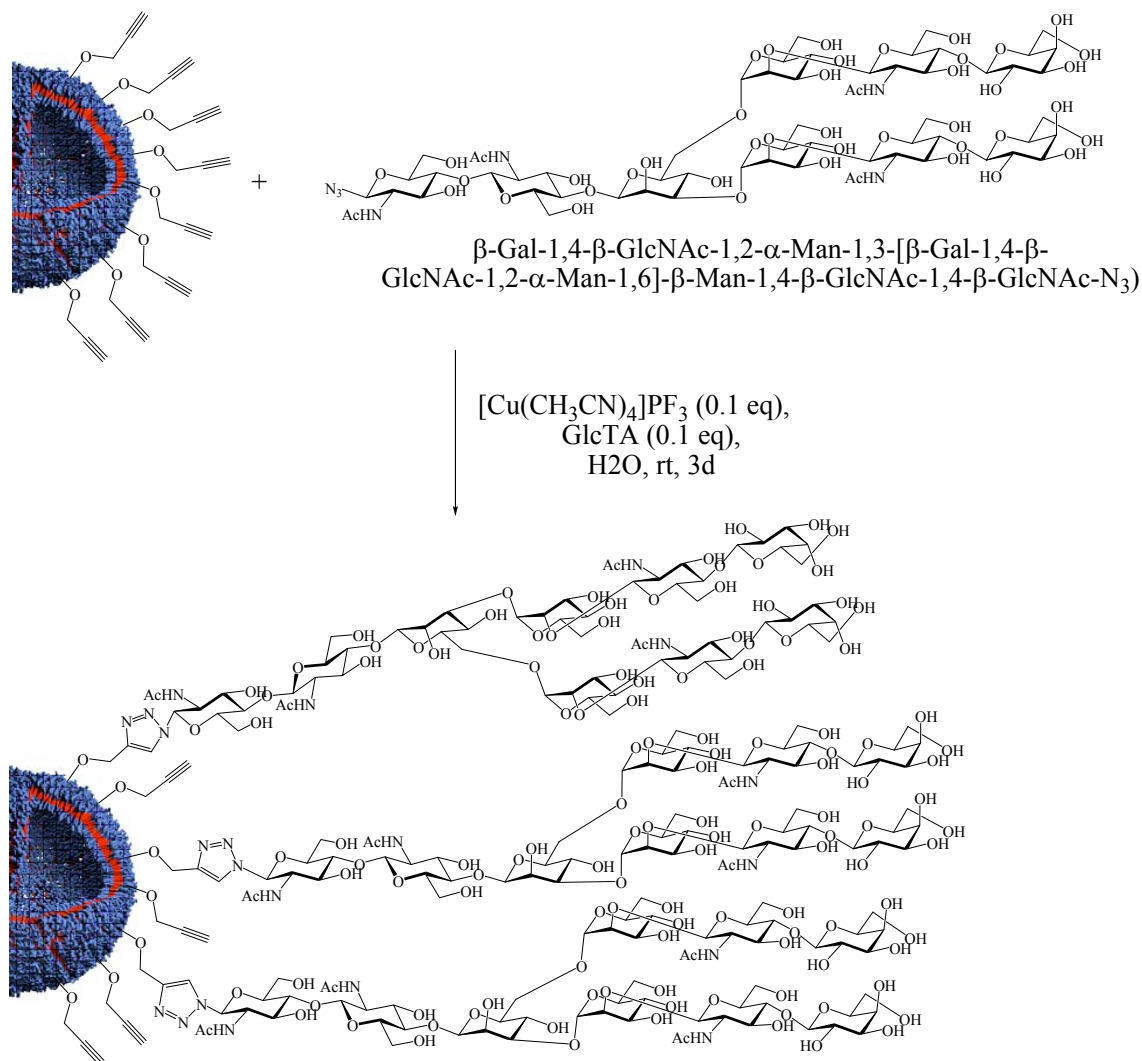


Abbildung 119: Anbindung des Nonaazids über eine Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare HUISGEN-Cycloaddition an ein alkynefunktionalisiertes Polymersom

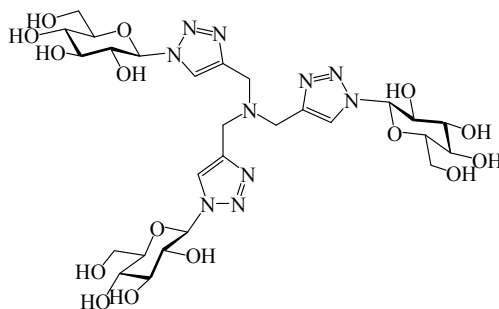


Abbildung 120: Strukturformel der GlcTA^[203]

Nach der Cycloaddition wurde die Probe gefriergetrocknet und ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht. In Abbildung 121 sind die ¹H-NMR-Spektren des Eduktes sowie des Produktes gezeigt. Dabei ist deutlich das Signal des gebildeten 1,2,3-Triazolringes bei einer chemischen

Verschiebung von 8,10 ppm zu erkennen. Weiter können die Signale bei den chemischen Verschiebungen von 1,86 ppm; 2,63 ppm und 3,76 ppm dem Nonaazid zu geordnet werden. Die Umsetzung dieser „*post-assembly*“-Funktionalisierung beläuft sich aufgrund der Bilayer-Struktur der vorliegenden Polymersomen, bei der nur die äußeren Polymermoleküle funktionalisiert werden konnten, auf ca. 60 %.

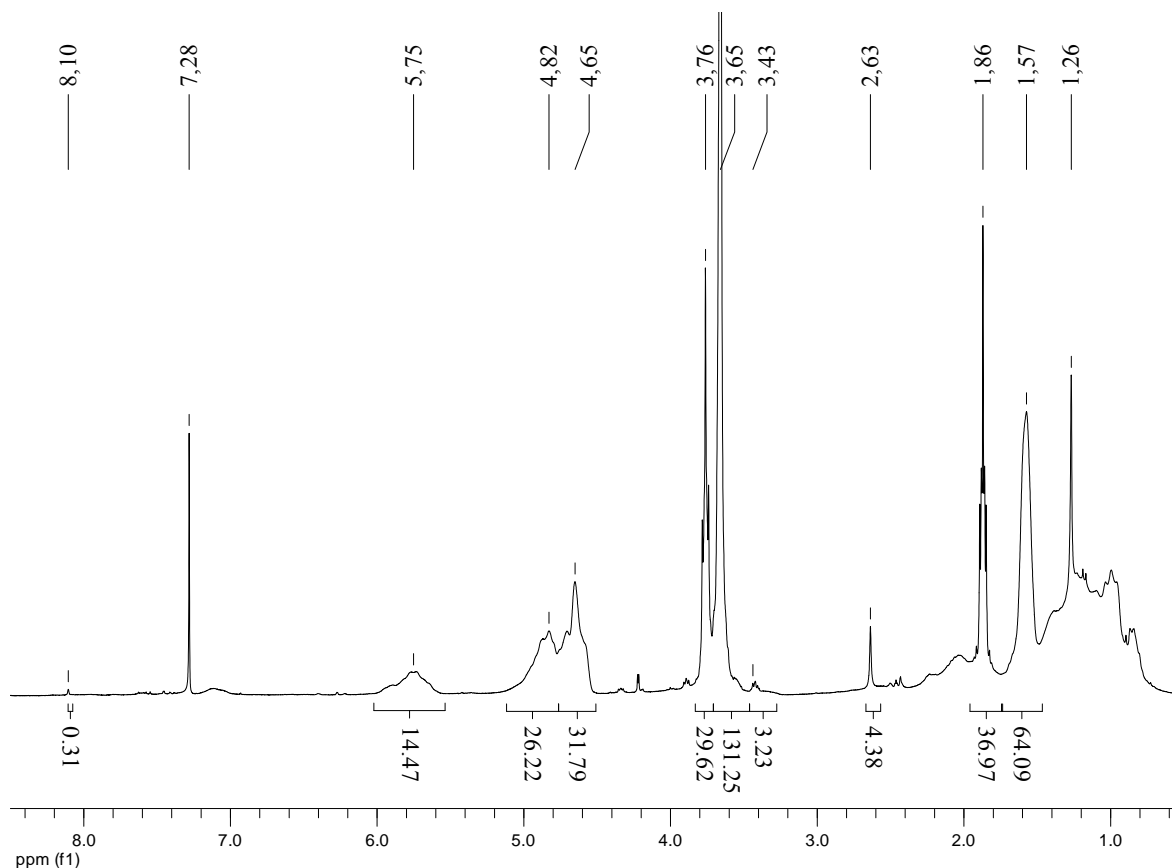


Abbildung 121: ¹H-NMR-Spektrum der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition des Nonaazids an ein alkinfunktionalisiertes PI-PEO

4.3.4 DMT-MM vermittelte Anbindung von 2-Aminohexosen an ein fluoreszenzmarkiertes PI-PEO

Nachdem das fluoreszenzgelabelte PI-PEO-Blockcopolymer über die Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare *HUISGEN*-Cycloaddition mit den Kohlenhydraten funktionalisiert wurde, sollen im Folgenden über die bereits in Kapitel 4.2.4 vorgestellte DMT-MM vermittelte Anbindungsmethode zwei 2-Aminohexosen an das PI-PEO angebunden werden. Dazu wurde, wie in Abbildung 122 dargestellt, zunächst das fluoreszenzmarkierte PI-PEO mit Chloressigsäure zu einem Blockcopolymer mit endständiger Carboxylgruppe umgesetzt. Anschließend wurden

an das Blockcopolymer über die Carboxylgruppe die Hydrochloride des Glucosamin bzw. des Galactosamin durch eine DMT-MM vermittelte Reaktion gekoppelt.

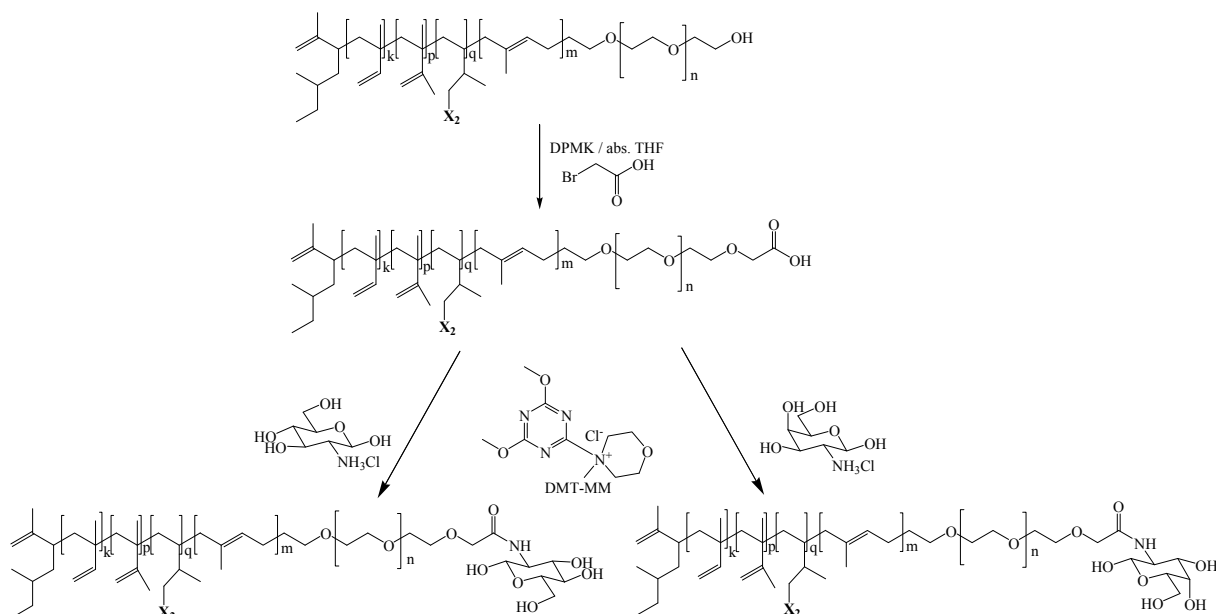


Abbildung 122: Syntheschema zur DMT-MM vermittelten Anbindung der 2-Aminohexosen an das fluoreszenzmarkierte PI-PEO-KV-2.1

Die Analyse der Umsetzungen erfolgte anhand der in Abbildung 123 gezeigten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren. In den Spektren der Produkte ist neben den zum Blockcopolymer gehörigen Signalen wiederum bei einer chemischen Verschiebung von 4,06 ppm das Signal, welches zum Monosaccharid zuzuordnen ist, zu erkennen.

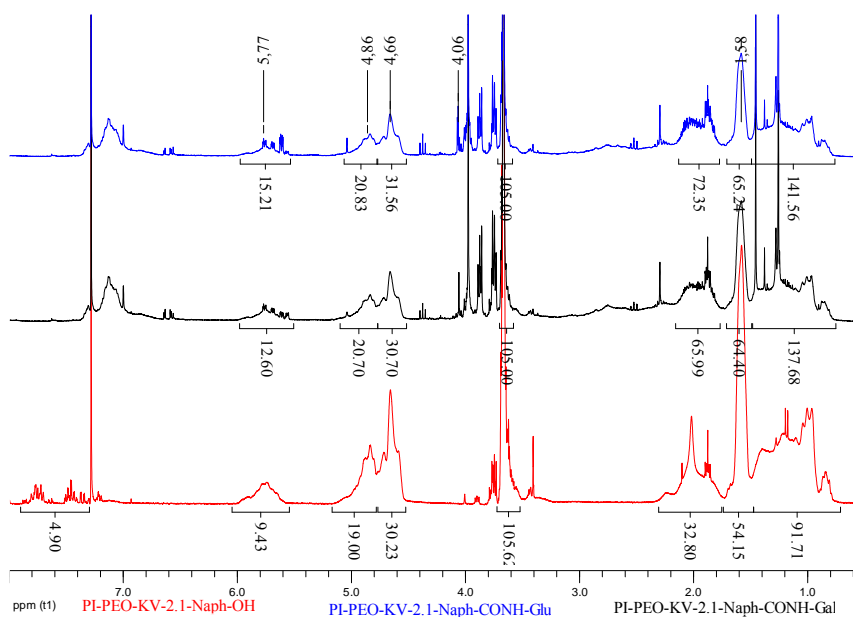


Abbildung 123: ^1H -NMR-Spektren der DMT-MM-vermittelten Anbindung von Glucosamin und Galactosamin an PI-PEO-KV-2.1-Naph; rotes Spektrum: PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH; schwarzes Spektrum: PI-PEO-KV-2.1-Naph-CONH-Galactose; blaues Spektrum: PI-PEO-KV-2.1-Naph-CONH-Glucose

4.4 Anbindung eines Eisenschwefelclusters an PB-PEO-Blockcopolymer^[204]

Für die Untersuchung eines $[2\text{Fe}_2\text{S}]$ -Hydrogenase-Modellsystems zur Generierung von Wasserstoff im wässrigen Medium, sollte ein Hexacarbonyl (*m*-2-hydroxypropan-1,3-dithiolato-*S,S'*)di-Eisenkomplexe über eine Synthesekaskade an ein vesikelbildendes Polybutadien-*b*-Polyethylenoxid (PB-PEO) gebunden werden. Die Spezifikation des Blockcopolymers sind in Tabelle 11 aufgelistet. Hydrogenasen sind Enzyme, die in der Natur die Erzeugung und Umsetzung von Wasserstoff katalysieren.^[205] Ein vereinfachter Metabolismus nach *MADIGAN et al.*^[206] ist in in Abbildung 124 (oberer Bereich) dargestellt. Bei einem Modellsystem könnte der Eisenschwefelkomplex ein Hydrogenase-Analogon und die Doppelschicht des Polymers die Zellmembran darstellen^[207-208], ähnlich wie in Abbildung 124 (unterer Bereich) gezeigt ist.

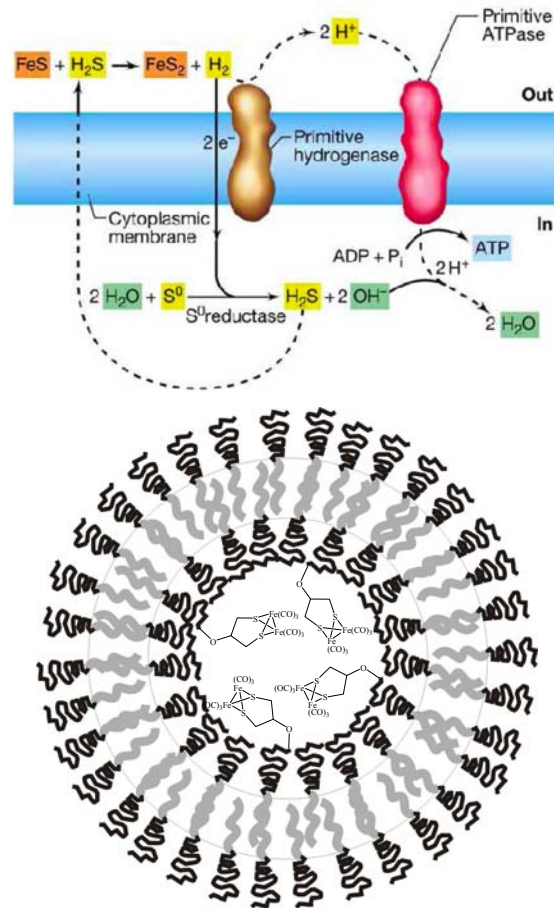


Abbildung 124: Vereinfachtes Zellmembranmodell eines Hydrogenase-Metabolismus (oben); schematische Polymersomendarstellung mit einem gebundenen [2Fe2S]-Hydrogenasekomplex im Inneren (unten)^[204, 206, 209]

Der Eisenschwefelkomplex, wie in Abbildung 125 gezeigt, wurde von *ULF PETER APFEL* aus der Arbeitsgruppe von *WOLFGANG WEIGAND* von der Universität Jena synthetisiert.^[210]

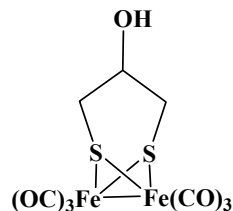


Abbildung 125: Strukturformel des Hexacarbonyl (m-2-hydroxypropan-1,3-dithiolato-S,S')di-Eisenkomplexes^[210]

In Abbildung 126 ist die Synthesekaskade zur Anbindung des Eisenschwefelkomplexes an das PB-PEO-2 dargestellt. Zuerst wird das hydroxy-terminierte Blockcopolymer mit Chloresigsäure zum carboxsäure-terminierten PB-PEO-2 umfunktionalisiert werden. Anschließend

wurde das Polymer mit CDI aktiviert und schließlich mit dem Eisenschwefelkomplex gekoppelt.

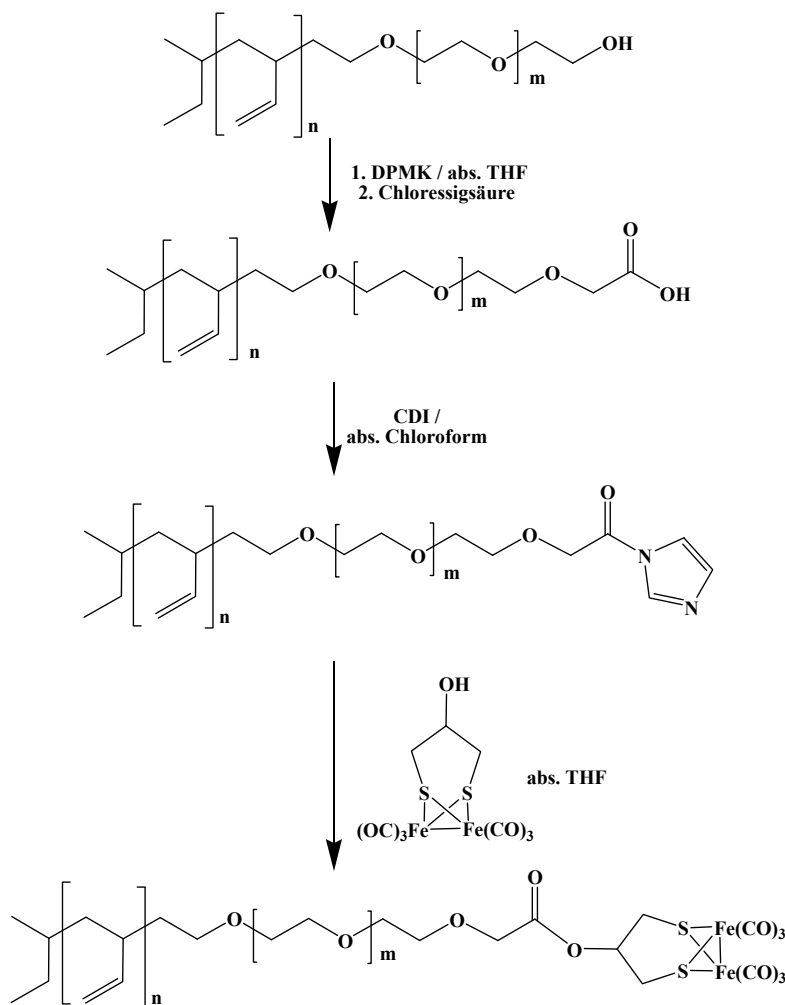


Abbildung 126: Reaktionskaskade zur Anbindung des Eisenschwefelkomplexes an PB-PEO-2

Die einzelnen Kopplungsschritte wurden mittels GPC-Chromatographie und ¹H-NMR-Spektroskopie analysiert. Der rechte Teil der Abbildung 127 zeigt die normierten Elugramme des Brechungsindexdetektors und im linken Bereich sind die des UV-Detektors aufgetragen. Es ist auf der rechten Seite deutlich zu erkennen, dass mit fortschreitender Synthese das Elutionsvolumen der einzelnen Stufen geringer wird. Haben das PB-PEO-2 (schwarzer Graph), die Zwischenprodukte sowie das α -carbonsäurefunktionalisierte Polymer (PB-PEO-COOH/ grüner Graph) als auch das CDI aktivierte PB-PEO-CO-CDI (blauer Graph) noch ein Elutionsvolumen von 35,4 bis 35,2 mL, so hat das komplexgebundenes PB-PEO (PB-PEO-2-UP-365 / violetter Graph) ein Elutionsvolumen von 34,5 mL. Diese Verschiebung ist durch eine Zunahme der Molekülgröße und des hydrodynamischen Volumens des funktionalisierten Block-

copolymers zu erklären. Zudem zeigt das Elugramm des UV-Detektors eine deutliche höhere Intensität des Endproduktes gegenüber seiner Vorstufen, was auf die Anbindung des Komplexes zurückzuführen ist. Zusammenfassend sind die Ergebnisse in Tabelle 15 aufgelistet.

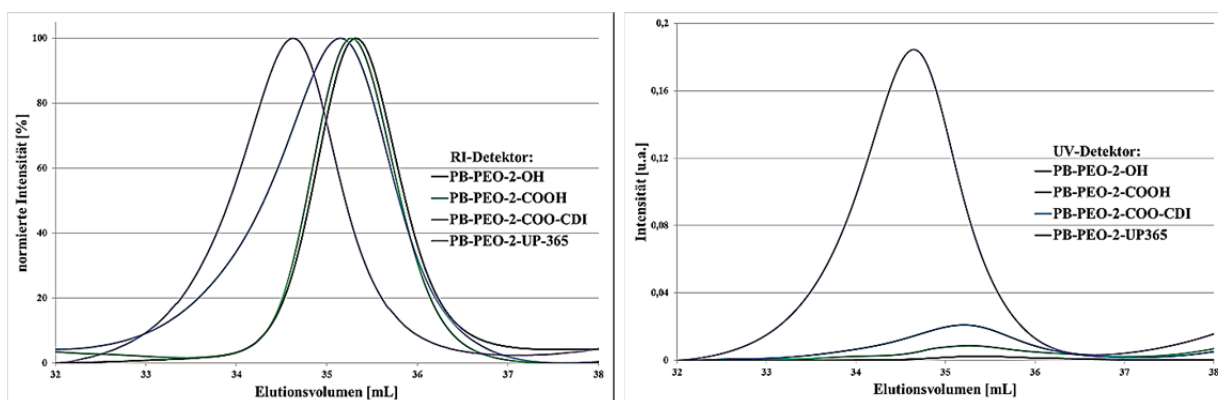


Abbildung 127: GPC-Elugramme der einzelnen Stufen; rechts normiertes GPC-Elugramm des RI-Detektors, links GPC-Elugramm des UV-Detektors

Tabelle 15: GPC-Daten der Reaktionskaskade zur Anbindung des Eisenschwefelkomplexes an PB-PEO.

Polymer	Mn [g/mol]	Mw [g/mol]	D
PB-PEO-2	3050	3280	1,07
PB-PEO-2-COOH	3800	4170	1,10
PB-PEO-2-CO-CDI	3370	3860	1,14
PB-PEO-2-UP 365	4420	5070	1,15

Die NMR-Spektren zeigen genau so wie die GPC-Analyse eine erfolgreiche Umsetzung. In Abbildung 128 ist das NMR-Spektrum des CDI aktivierte PB-PEO-CO-CDI repräsentativ dargestellt. Neben den klassischen PB-PEO-Polymersignalen sind zwei der drei Imidazol-Signale im Ausschnitt gezeigt.

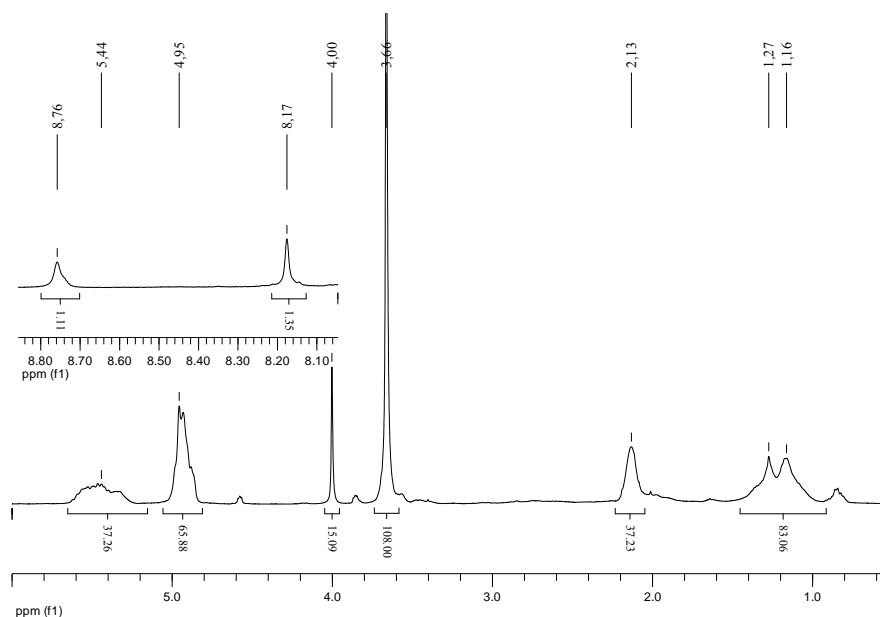


Abbildung 128: ^1H -NMR-Spektrum von PB-PEO-2-COO-CDI

In Abbildung 129 ist das komplexgebundenes PB-PEO (PB-PEO-2-UP-365) gezeigt. Es sind neben den bereits gezeigten Polymersignalen auch neue vom Eisenschwefelkomplex herrührende Signale zu erkennen. Alle dargestellten Ergebnisse der einzelnen Analysen zeigen eine erfolgreiche Anbindung des Eisenschwefelkomplexes an PB-PEO.

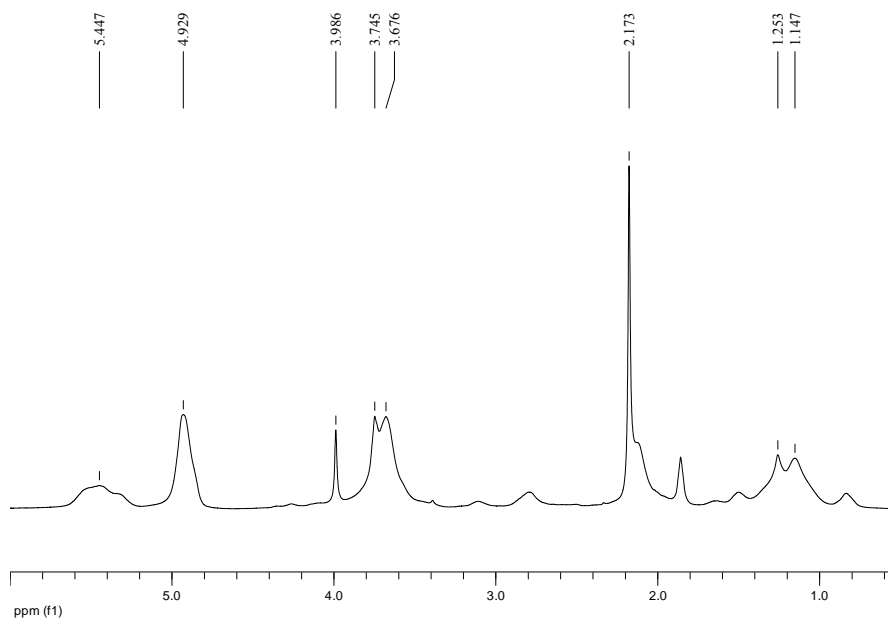


Abbildung 129: ^1H -NMR-Spektrum von PB-PEO-2-UP365

Für die Vesikelherstellung wurde das in THF gelöste PB-PEO-2-UP-365 in Tris-HCl-Puffer bei pH 7,4 eingespritzt. Die daraus resultierende Polymersomenlösung konnte dann von

FRANK STEINIGER vom Elektronenmikroskopischen Zentrum des Universitätsklinikums Jena dann mittels Cryo-TEM untersucht werden.^[204, 209]

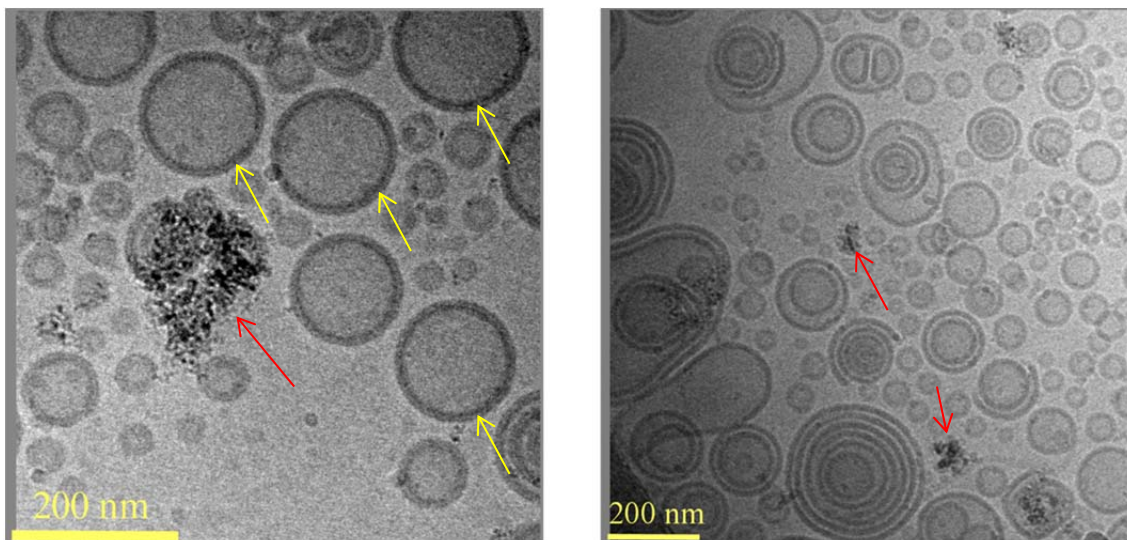


Abbildung 130: Cryo-TEM Aufnahmen von Komplex 1 gebundenen PB-PEO Polymersomen^[204, 209]

In den Cryo-TEM-Aufnahmen, wie in Abbildung 130 gezeigt, sind sowohl uni- als auch multilamellare polydisperse Polymersomen zu erkennen. In der linken Aufnahme ist im Inneren der Polymersomen (gelber Pfeil) ein deutlich höherer Kontrast zu erkennen als außen. Dieser Kontrastunterschied kann durch die Anwesenheit Elemente größer Ordnungszahl vergleichend zu den Polymerelementen (C, O, H) und somit durch Eisen zu erklären sein. Die kontraststarken Agglomerate, welche mit den roten Pfeilen gekennzeichnet wurden, stammen von nicht gekoppeltem Eisenschwefelkomplex. Es kann hier aber festgehalten werden, dass die Eisenschwefelkomplexes-Anbindung an PB-PEO keinen negativen Einfluss auf die Selbstorganisation des Polymers hat. Weitere Arbeiten hierzu sind dem Artikel von "*[FeFE]-Hydrogenase models assembled into vesicular structures*" von K. MENZEL et. al. zu entnehmen.^[204]

4.5 Einkapselung von CSS-Nanopartikeln

Die Einkapselung von CSS- und SPIO-Nanopartikeln in die PEO-PCL-Matrix wurde von *STEPHANIE DOMES* eingehend untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, PCL-PEI- oder PEO-PCL-PEI-beschichtete Nanopartikel mittels der Einspritzmethode lösungsmittelabhängig in Polymersomen oder Mizellen zu verkapseln.^[164] Aufbauend auf diesen Ergebnissen soll nun im Folgenden eine weitere Einkapselungsmethode, die Reverse-Phasen-Verdampfung, vorgestellt werden.

4.5.1 Synthese von PCL-DETA

Dafür wurde entsprechend dem Syntheschema in Abbildung 131 über die anionische Polymerisation ein Polycaprolacton-Homopolymer hergestellt, das anschließend über einen CDI-Aktivierungsschritt mit Diethylentriamin verbunden wird.^[211-212]

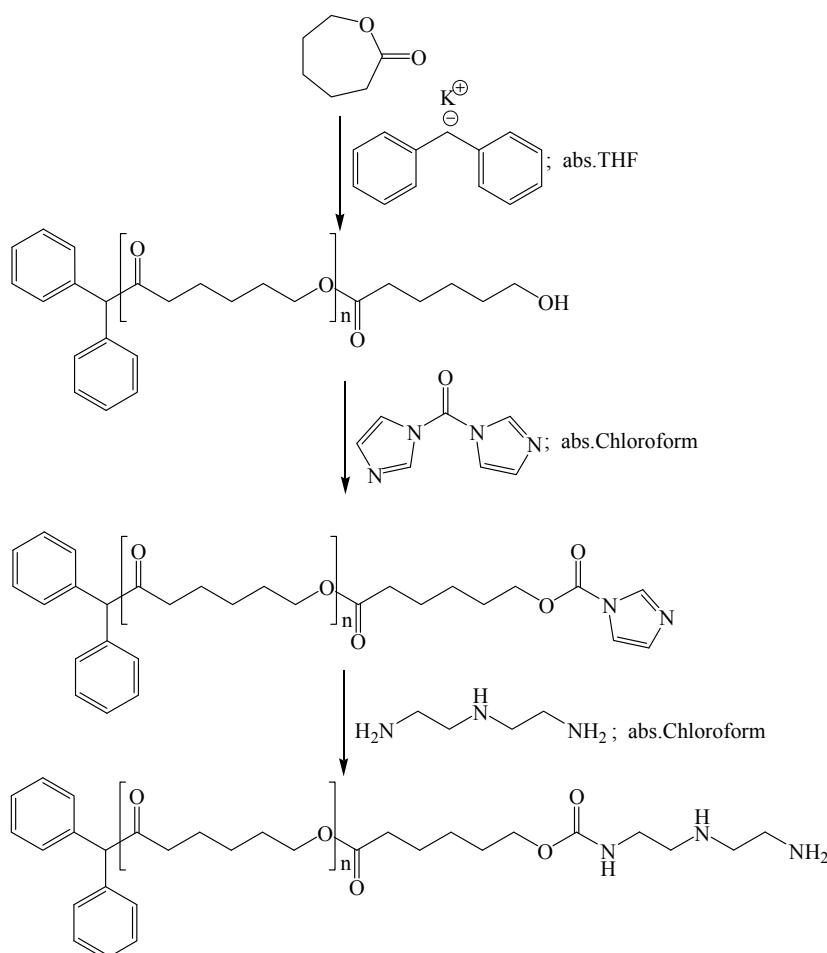


Abbildung 131: Syntheschema der DETA-Funktionalisierung von PCL

Die Reaktionsschritte wurden spektroskopisch und chromatographisch analysiert. Die Umsetzung des Polymers mit dem CDI und den DETA kann anhand der NMR-Spektren in Abbildung 132 belegt werden. Die Signale des angebundenen Imidazolrings sind im schwarzen Spektrum mit den chemischen Verschiebungen von 7,08 ppm sowie 7,44 ppm und 8,15 ppm klar zu zuordnen. Die anschließende Umsetzung mit DETA kann durch die neuauftretenden Signale mit den chemischen Verschiebungen bei 2,83 ppm und 3,35 ppm belegt werden.

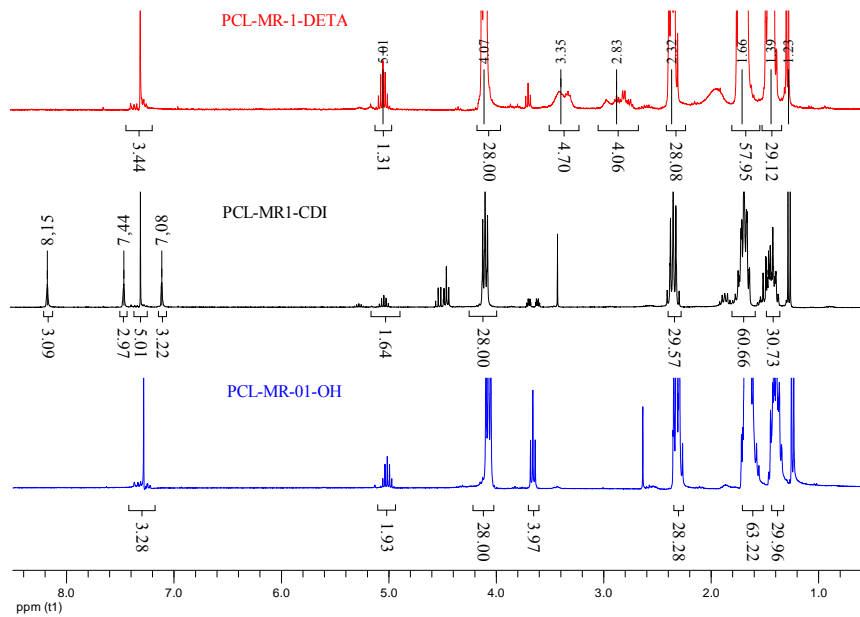


Abbildung 132: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der PCL-Funktionalisierung

4.5.2 Ligandenaustausch an CSS-Nanopartikeln

Nachdem das PCL mit dem DETA funktionalisiert wurde, konnte im Anschluss ein Ligandenaustausch, wie in Abbildung 133 schematisch dargestellt, von *SASCHA EHLERT* vom „Lehrstuhl für Physikalische Chemie 1“ der Universität Bayreuth, an CdSe-Nanopartikeln (QD) durchgeführt werden.

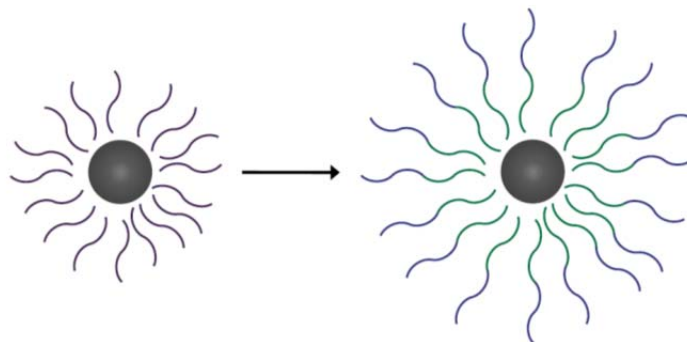


Abbildung 133: Ligandenaustausch an einem Nanopartikel^[164]

4.5.3 Einkapselung der Nano in Mizellen

Die PCL-DETA-beschichteten QD wurden für die Einkapselung in einem PEO-PCL-Blockcopolymer zusammen mit einem 650-fachen Überschuss von PEO-PCL-7 in Chloroform gelöst und mittels der Reverse-Phasen-Verdampfung ins wässrige Medium überführt. Die Spezifikationen des Polymers sind bereits in Tabelle 11 aufgelistet. Die wässrige mizellare Lösung wurde nach der Präparation mittels dynamischer Lichtstreuung vermessen und die Größenverteilung in Abbildung 134 dargestellt. Es ist eine bimodale Verteilung zu erkennen. Der hydrodynamische Partikeldurchmesser des ersten Maximums liegt bei 50,75 nm, das zweite Maximum liegt bei einem Durchmesser zwischen 460 nm und 710 nm. Um weiter aufklären zu können, welche Überstrukturen bei der Reversen-Phasen-Verdampfung gebildet wurden, wurde die Probe mit Hilfe der Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie weiter eingehend untersucht.

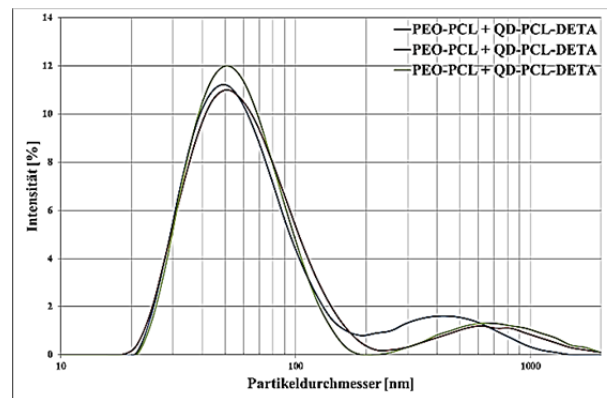


Abbildung 134: Größenverteilungen der PCL-DETA beschichteten QD, eingekapselt in PEO-PCL-Mizellen

In Abbildung 135 sind die Cryo-TEM-Aufnahmen der in PEO-PCL-Blockcopolymer eingekapselten QD gezeigt. In den Aufnahmen sind vorwiegend zwei Überstrukturformen zu erkennen: Zum einen sind es die antizipierten sphärischen Mizellen, die überwiegend mit QD-Nanopartikeln beladen sind. Die Partikelgrößen dieser Mizellen passen auch zu dem hydrodynamischen Durchmesser von 50 nm, der aus den DLS-Daten hervorgeht. Als zweite Überstruktur sind in den Aufnahmen Stäbchenmizellen zu deutlich erkennen, die keine QD-Nanopartikel eingelagert haben. Diese Stäbchenmizellen haben eine so stark ausgedehnte Größenverteilung, dass sie unter anderem dem zweiten Maximum in den DLS-Daten zugeordnet werden können.

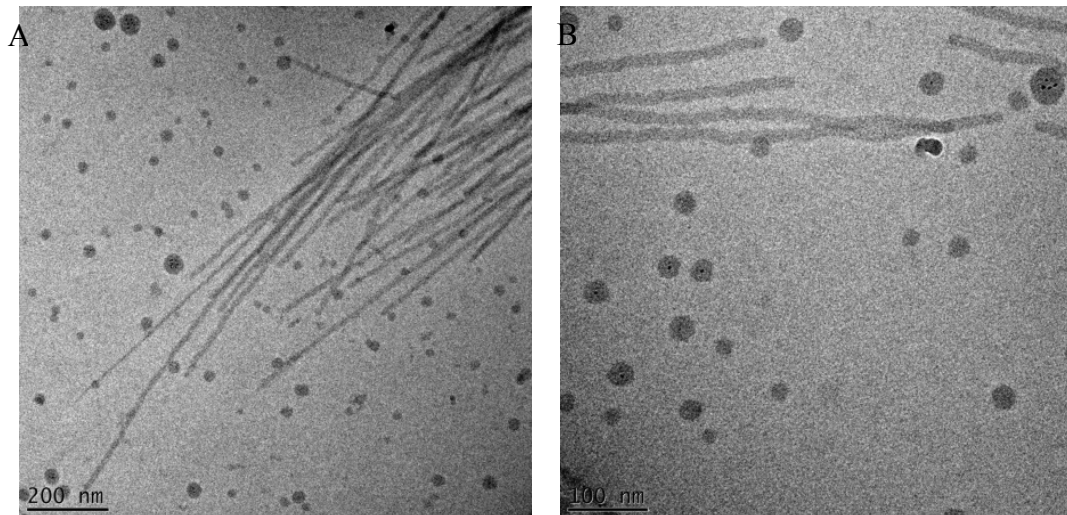


Abbildung 135: Cryo-TEM der eingekapselten QD in PCL-PEO-Mizellen

Neben den beiden gezeigten Strukturen, wie sphärischen Mizellen und Stäbchenmizellen, konnte auch noch vesikuläre Strukturen beobachtet werden. In Abbildung 136 sind die Cryo-TEM-Aufnahmen der vesikulären Strukturen exemplarisch gezeigt. Die Aufnahmen E und F zeigen, dass die kontrastgebenden Nanopartikel nur in den Bilayer der Vesikel eingelagert sind.

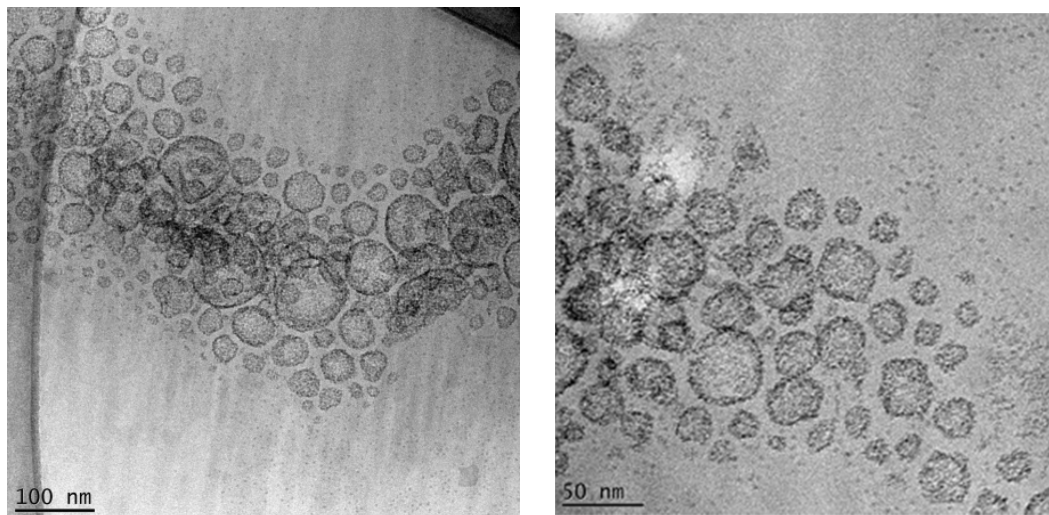


Abbildung 136: Cryo-TEM-Aufnahmen der vesikulären Strukturen mit den QD

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Reverse-Phasen-Verdampfung eine weitere Möglichkeit darstellt, um PCL-DETA-beschichtete Nanopartikel in Mizellen oder sogar in Vesikel einzukapseln.

4.6 Hydrolyse der Polyester-Blockcopolymere

Um Polyester-Blockcopolymere als Wirkstofftransportsysteme richtig nutzen zu können, ist es nicht nur wichtig sie wohldefiniert herzustellen, sondern auch ihre Stabilitäten, zum Beispiel unter basischen und sauren Bedingungen, zu kennen.^[87, 213] Die Hydrolyse-Eigenschaften sind nicht nur beim Thema der kontrollierten Wirkstofffreisetzung genauesten zu berücksichtigen sondern auch bei Funktionalisierungsreaktionen. So ist es zum Beispiel bei einer definierten Anbindung eines Biokonjugates (Peptid, DNA oder Kohlenhydrat) wichtig, einzukalkulieren, welche Schutzgruppen zur Anwendung kommen können und welche nicht.

4.6.1 Basische Hydrolyse

Daraufhin wurde untersucht, bei welchen Deacetylierungsreaktionen die Polyestergruppen der PEO-PLA- und PEO-PCL-Polymere stabil oder labil sind. Es wurden zwei Bedingungen getestet: Die erste ist die von *ZEMPLÈN* eingeführte Umesterung mit Natriummethanolat^[214-215], als zweite sollte die Hydrazinolyse untersucht werden.^[216] Die Spezifikationen der dafür eingesetzten Polymere PEO-PLA-V6 und PEO-PCL-6 sind bereits in Tabelle 11 aufgeführt.

Die Polymere wurden bei beiden Hydrolyseansätzen in abs. THF gelöst und mit entweder wenig Natriummethanolat (MeONa) oder Hydrazinhydroxid versetzt. Jedes Polymer wurde diesen Bedingungen für eine unterschiedliche Dauer ausgesetzt und anschließend nach einer kurzen Aufarbeitung NMR-spektroskopisch und GPC-chromatographisch analysiert. Die Reaktionszeiten sind in Tabelle 16 aufgeführt.

Tabelle 16: Reaktionszeiten während Hydrolysereaktionen.

Methode	Reaktionszeit
<i>ZEMPLÈN</i> -, Hydrazinolyse-Bedingung	30 min
<i>ZEMPLÈN</i> -, Hydrazinolyse-Bedingung	120 min
<i>ZEMPLÈN</i> -, Hydrazinolyse-Bedingung	360 min

In Abbildung 137 sind links die GPC Messungen und rechts die NMR-Spektren der Hydrazinolyse von PEO-PCL-6 gezeigt. An den GPC-Messungen ist zu erkennen, dass das Polymer bei allen drei Reaktionszeiten an der gleichen Stelle eluiert. Einzig die Messung PEO-PCL-6-

(30 min) [roter Graph] scheint aufgrund der geringen Intensität und dem leicht höheren Elutionsvolumen abgebaut worden zu sein. Doch die Integrale unter den Polymersignalen in den einzelnen NMR-Spektren zeigen im Rahmen der Messgenauigkeit, dass kein Abbau stattgefunden hat.

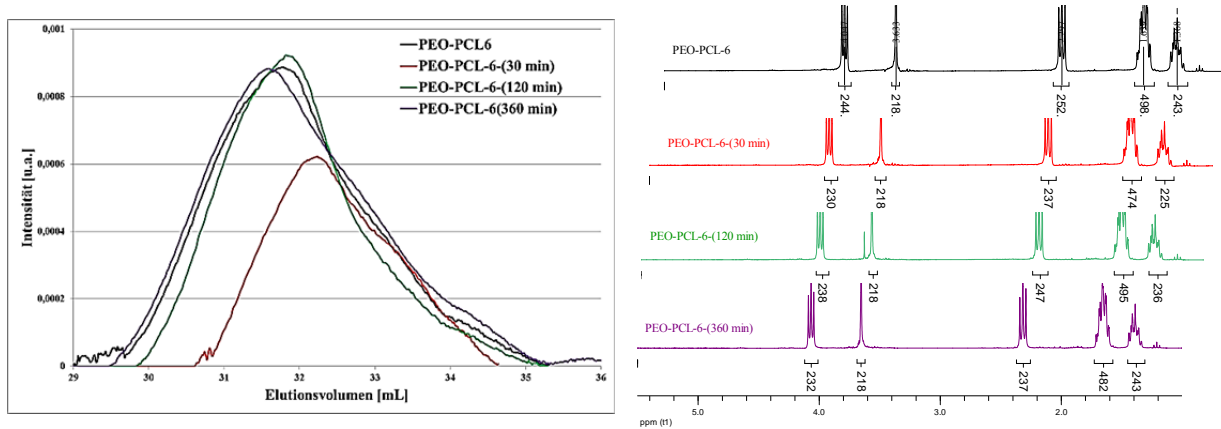


Abbildung 137: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrazinolyse von PEO-PCL-6

Hingegen ist beim PEO-PLA ein deutlicher Abbau durch das Hydrazin zu erkennen. Die GPC-Messungen zeigen, wie links in Abbildung 138 dargestellt, dass bereits schon nach 30 Minuten unter hydrazinolytischen Bedingungen das PEO-PLA-V6-(30 min) [roter Graph] mit 35,2 mL im Gegensatz zum PEO-PLA-V6 [schwarzer Graph], welches ein Elutionsvolumen von 34,7 mL hat, deutlich höher ist. Diese Änderung ist durch den Abbau des PLA-Blocks zu erklären. Die Produkte PEO-PLA-V6-(120 min) [grüner Graph] und PEO-PLA-V6-(360 min) [violetter Graph] eluieren ähnlich wie das Reaktionsprodukt nach 30 Minuten. Die NMR-Spektren (Abbildung 138 rechts) bestätigen diese Annahme der Hydrolyse des PLA-Blockes. In allen Spektren sind nach der Hydrazinolyse nur noch die Signale des PEO-Blocks bei 3,63 ppm zu erkennen. Die Signale des PLA-Blocks bei 1,56 und 5,15 ppm sind vollständig verschwunden.

4. Ergebnisse und Diskussion

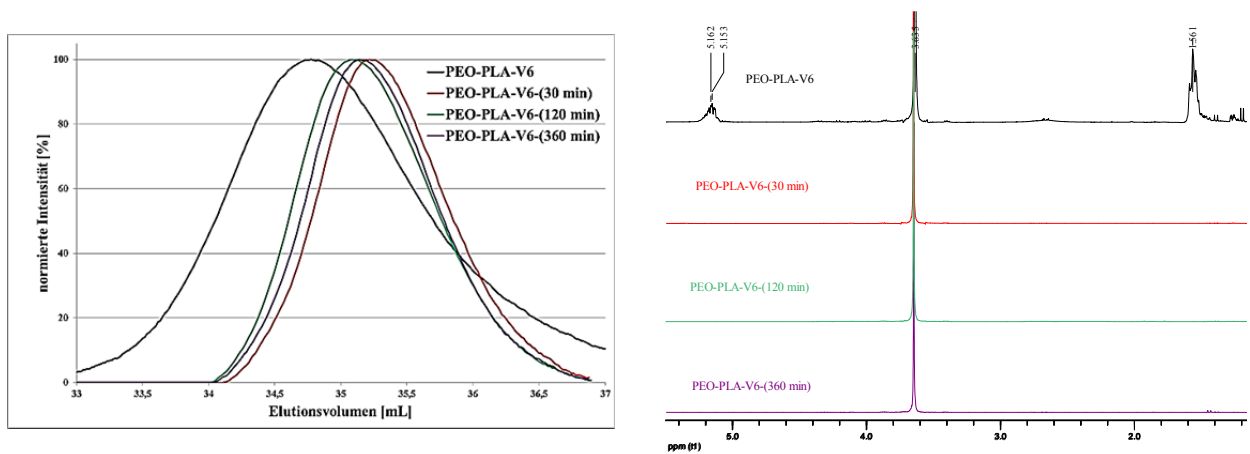


Abbildung 138: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrazinolyse von PEO-PLA-V6

Die Ergebnisse der chromatographischen (links) und spektroskopischen (rechts) Analysen der Hydrolyse des PEO-PCL-6 nach *ZEMPLÈN* sind in Abbildung 139 gezeigt. Es ist bei den NMR-Spektren anzumerken, dass auch hier wiederum die Intergrale unter den Polymersignalen mehr oder weniger gleich bleiben. Bis auf die Messung des PEO-PCL-6-(360 min) ist hier kein signifikanter Abbau des PCL-Blocks zu erkennen.

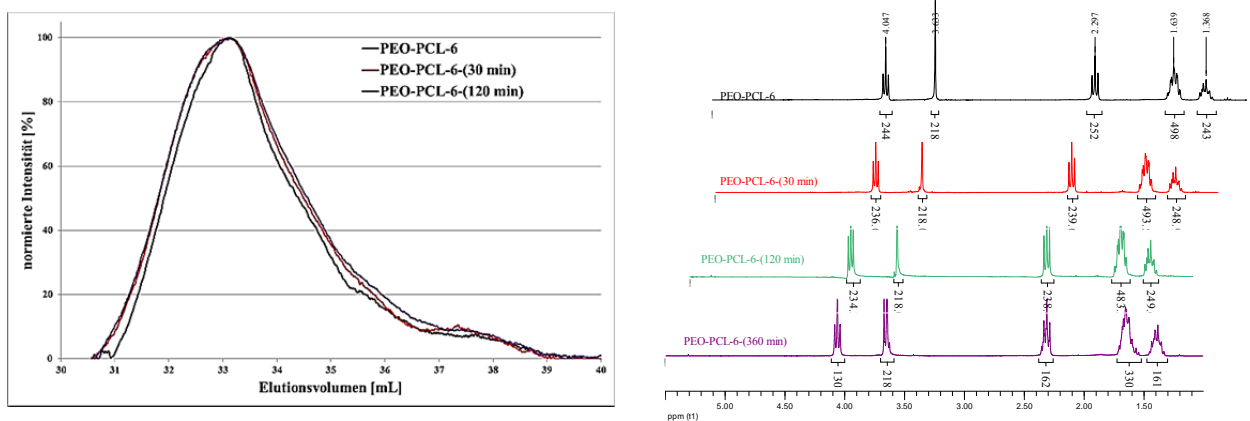


Abbildung 139: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrolyse nach *ZEMPLÈN* von PEO-PCL-6

In Tabelle 17 sind die Ergebnisse der einzelnen Integrale aus den NMR-Spektren von Abbildung 139 (rechts) aufgeführt. Dabei ist deutlich zu erkennen, dass beim PEO-PCL-6-(360 min) die Integrale unter den PCL-Signalen bei 1,37 ppm, 1,64 ppm, 2,29 ppm und 4,05 ppm signifikant geringer sind als beim PEO-PCL-6, obwohl bei beiden Auswertung das PEO-Signal bei 3,63 ppm auf 218 integriert wurde. Somit kann hier festgehalten werden, dass

beim PEO-PCL nach 360 Minuten Hydrolyse unter *ZEMPLÈN*-Bedingung der Abbau des PCL-Blocks begonnen hat.

Tabelle 17: Integrale der NMR-Spektren bei der Hydrolyse nach *ZEMPLÈN* von PEO-PCL-6.

Polymer	Integral bei 1,37 ppm	Integral bei 1,64 ppm	Integral bei 2,29 ppm	Integral bei 3,63 ppm	Integral bei 4,05 ppm
PEO-PCL-6	243	498	252	218	244
PEO-PCL-6- (30 min)	248	493	239	218	236
PEO-PCL-6- (120 min)	249	483	238	218	234
PEO-PCL-6- (360 min)	161	330	162	218	130

Beim PEO-PLA werden die Esterbindungen des PLA-Blocks genau wie unter den hydrazinolytischen auch unter *ZEMPLÈN*-Bedingungen gespalten. Die Ergebnisse der Analysen dieser Hydrolyse sind in Abbildung 140 gezeigt. Hier fällt auf, dass, wie bereits in Abbildung 138 gezeigt, schon nach 30 Minuten der PLA-Block vollständig abgebaut ist. Im NMR-Spektrum von PEO-PLA-V6-(30 min) und den darauffolgenden Spektren ist nur noch das PEO-Signal bei 3,63 ppm zu erkennen. Die GPC-Messungen unterstützen diese Annahme durch die Änderung des Elutionsvolumen der Hydrolyseprodukte auf über 35 mL im Gegensatz zum PEO-PLA-V6, das bei 34,7 mL eluiert.

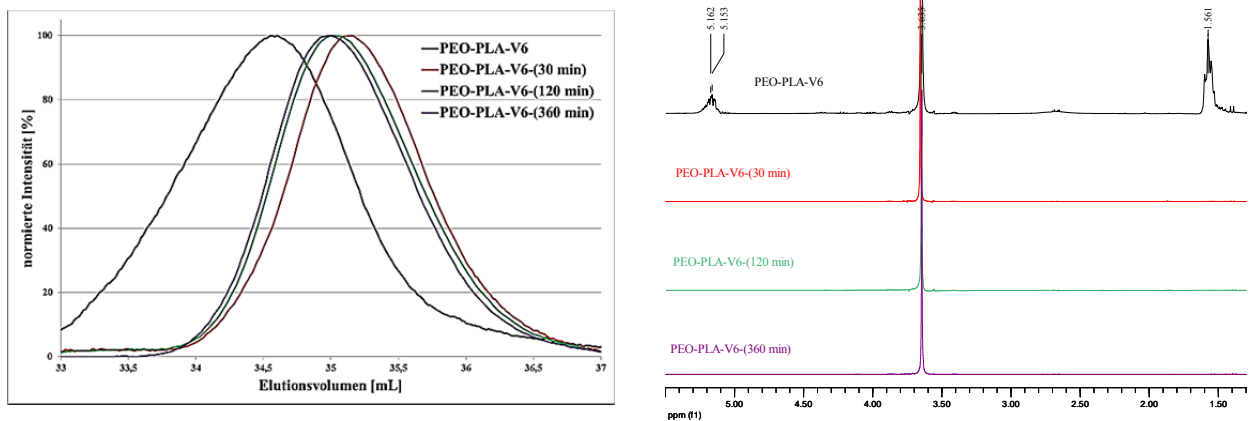


Abbildung 140: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrolyse nach *ZEMPLÈN* von PEO-PLA-V6

4.6.2 Saure Hydrolyse von Polyester-Blockcopolymer

Da sich das PEO-PCL unter den gezeigten Bedingungen am stabilsten gezeigt hat, wird nun im Folgenden die saure Hydrolyse des PEO-PCL- und des PEO-PCL/PGL-Systems untersucht. Ziel eines Wirkstofftransportsystems ist es, die Freisetzung des eingekapselten Wirkstoffes zum Beispiel durch pH-Änderung zu erreichen. Bei amphiphilen Polyester-Blockcopolymeren konnte die Wirkstofffreisetzung an PEO-PCL gezeigt werden.^[217] Die Spezifikationen der verwendeten Polyester-Blockcopolymeren sind bereits in Tabelle 11 aufgelistet. Die durchschnittlichen Blocklängen und der Anteil der alternierenden Diaden sind der Tabelle 18 zu entnehmen. $B_{\text{PCL/PGL:PEO}}$ steht für das Blocklängenverhältnis von hydrophilen zum hydrophoben Block. $V_{\text{PCL:PGL}}$ gibt die Verhältnisse der Monomereinheiten innerhalb des hydrophoben Blockes von Caprolacton zu Glycolid an.^[164]

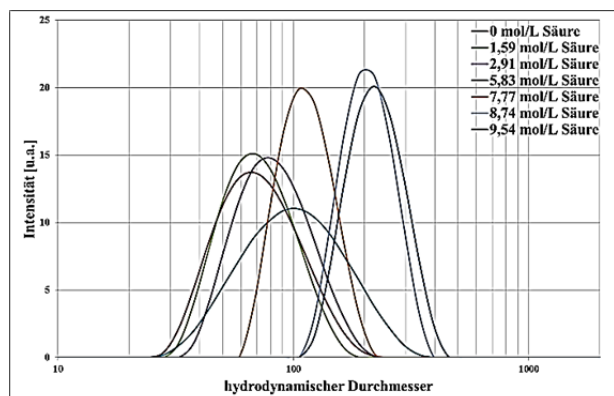
Tabelle 18: Durchschnittliche Blocklänge und Anteil an alternierenden Diaden^[164].

Polymer	$B_{\text{PEO-PCL/PGL}}$	$V_{\text{PCL:PGL}}$	L_{PCL}	alt (%)	L_{PGL}	alt (%)
PEO-PCL/PGL-1	1,9	0,7	1,18	85	1,69	41
PEO-PCL/PGL-4	1,8	2,4	2,27	44	1,06	3
PEO-PCL/PGL-14	2,8	0,8	1,60	62	1,99	50

4.6.2.1 Säurekatalysierte Hydrolyse von PEO-PCL und PEO-PCL/PGL

In der Versuchsreihe der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL-2 und PEO-PCL/PGL-4 bzw. 14 konnte mittels dynamischer Lichtstreuung eine Zunahme des hydrodynamischen Durchmessers der Polymersomen aufgezeichnet werden.

Zuerst sind in Abbildung 141 die Ergebnisse der Hydrolyse von PEO-PCL/PGL 4 dargestellt. Bei diesem Polymer überwiegt der PCL-Anteil deutlich den des PGL-Anteils.

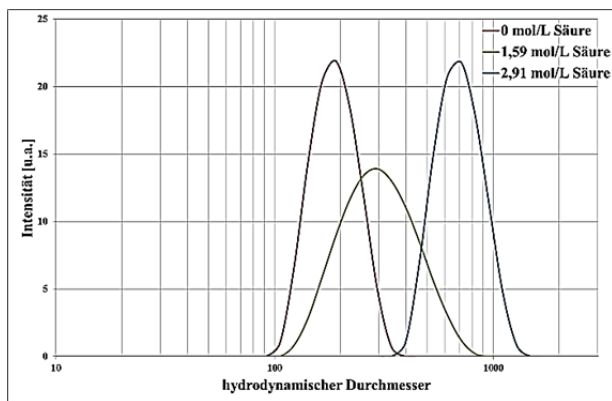


C_{AcOH} [mol/L]	hydrodynamischer Durchmesser [nm]
0,00	66,2
1,59	68,6
2,91	80,3
5,83	89,9
7,77	123,6

8,74	209,0
9,54	221,9

Abbildung 141: Größenverteilung (links) und DLS-Daten (rechts) der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4

Dagegen treten bei PEO-PCL/PGL-14 bereits nach der Zugabe von lediglich 5,83 mol/L Essigsäure, wie in Abbildung 142 zu erkennen, nicht verwertbare Messungen auf, so dass von einer vollständigen Hydrolyse ausgegangen werden kann.

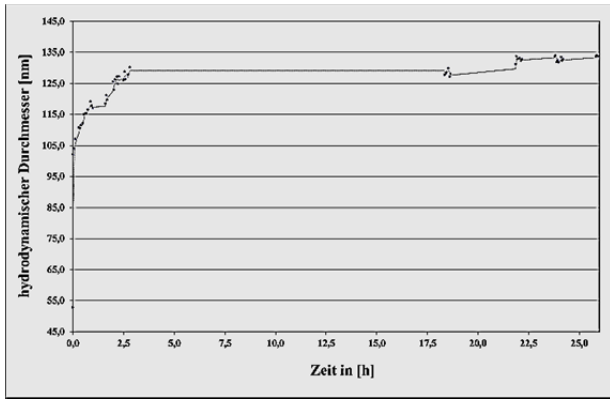


C_{AcOH} [mol/L]	hydrodynamischer Durchmesser [nm]
0,00	155,6
1,59	243,5
2,91	658,9

Abbildung 142: Größenverteilung (links) und DLS-Daten (rechts) der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-14

4.6.2.2 Langzeittest der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL

Der Langzeittest der säurekatalysierten Hydrolyse bei einer Säurekonzentration 5,83 mol/L von PEO-PCL/PGL 4, wie in Abbildung 143 dargestellt, veranschaulicht den Diffusionsprozess bis hin zur Gleichgewichtseinstellung. Innerhalb des Zeitfensters von 0 bis 2,7 Std. ist ein sehr steiler Anstieg der Kurven zu erkennen, der hydrodynamische Durchmesser steigt von 56,9 nm auf 127,2 nm an. Nach 19 Std. verläuft der Kurvenanstieg nicht mehr so stark und es kommt zur Ausbildung eines Plateaus bei einem Durchmesser von 127,8 nm. Ab 24 Std. tritt bei einem Durchmesser von 131,9 nm eine „Sättigung“ ein. Der maximal erreichte Vesikeldurchmesser nimmt nach 26 Std. einen Wert von 133,1 nm an, demzufolge kann ein weiteres Größenwachstum sowie die Zersetzung nur noch durch Verringerung des pH-Wertes erreicht werden.

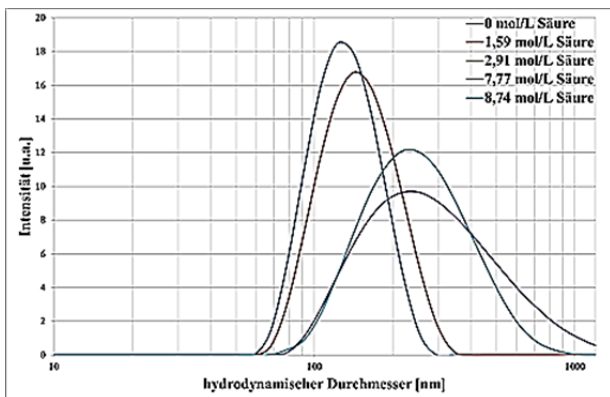


Messzeiten [h]	hydrodynamischer Durchmesser [nm]
0	56,9
2,7	127,2
19	127,8
24	131,9
26	133,1

Abbildung 143: Langzeittest der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4

Die PEO-PCL-PGL-Triblockcopolymeren enthalten zwei hydrolysierbare Esterbindungen. Aus den Ergebnissen der beiden gezeigten Messungen (Abbildung 141 und Abbildung 142) ist schon ersichtlich, dass das Blocklängenverhältnis einen Einfluss auf das Hydrolyseverhalten hat. Es zeigt sich, dass ein Blockcopolymer mit größerem PCL-Anteil einen langsameren Abbau der Vesikelmatrix aufweist. Liegt ein größerer Anteil an PGL vor, findet der Hydrolysevorgang bei wesentlich geringeren Konzentrationen statt. Als Referenz wurde eine säurekatalysierte Hydrolyse des Vergleichspolymer PEO-PCL-2 durchgeführt werden, da der hydrophile Block ausschließlich aus PCL besteht.

Aus den Daten, die in Abbildung 144 gezeigt sind, kann wiederum ein Größenzuwachs verzeichnet werden. Für die Zersetzung des Polyesterblocks musste in einem Bereich von höheren Essigsäure-Konzentrationen gearbeitet werden (10,2 mol/L). Somit zeigt der statistische Einbau des Polyglycolids einen wesentlichen Einfluss auf das säurekatalysierte Hydrolyseverhalten.



C_{AcOH} [mol/L]	hydrodynamischer Durchmesser [nm]
0	125,4
1,59	133,2
2,91	135,1
7,77	153,0
8,74	173,4

Abbildung 144: Größenverteilung (links) und DLS-Daten (rechts) der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL-2

4.6.2.3 Photometrische Untersuchungen

Durch Zugabe des fluoreszierenden Farbstoffes Nile Red konnte das Hydrolyseverhalten der Polymere PEO-PCL/PGL-1 und 4 photometrisch untersucht werden. Hierbei wurde die jeweilige Vesikeldispersion mit dem Fluoreszenzfarbstoff versetzt und wiederum mit Essigsäure titriert. Ausgehend von den bereits vorhandenen Ergebnissen, diffundiert die Säure in das Polymersom und es kommt zur Esterhydrolyse innerhalb der lipophilen Doppelschicht. Durch den Einbau des Farbstoffes Nile Red in die lipophile Doppelschicht kommt es zusätzlich zur Protonierung des Indikators.

Zum Vergleich wurde eine Blindprobe bestehend aus dem reinen Lösemittelgemisch und Nile Red herangezogen. Das Nile Blue-Oxazon dient als Indikator, der mit Absenken des pH-Wertes einen Farbumschlag von rosa nach blau zeigt. Das Triblockcopolymer PEO-PCL/PGL-4 verfügt, wie aus der Tabelle 18 zu entnehmen ist, über einen größeren PCL-Anteil als im Vergleich zum PGL-Anteil. Bei der Titration mit Essigsäure ist der Farbumschlag der Dispersionen aufgrund der stattfindenden Hydrolyse in Fotostrecke von Abbildung 145 B sehr gut zu erkennen. Durch Zunahme der Säurekonzentration findet eine Farbänderung von rosa (2,91 mol/L) nach tiefblau (7,77 mol/L) statt.

Das PEO-PCL/PGL-1 zeigt ebenfalls (s. Fotostrecke in Abbildung 145 C) den Farbumschlag bei zunehmender Säurekonzentration. Im Gegensatz zum PEO-PCL/PGL-4 ist bei einer Essigsäurekonzentration 8,74 mol/L nur noch eine Änderung bezüglich der Farbintensität erkennbar, was durch den höheren PGL-Anteil im hydrophoben Block erklärt werden kann.

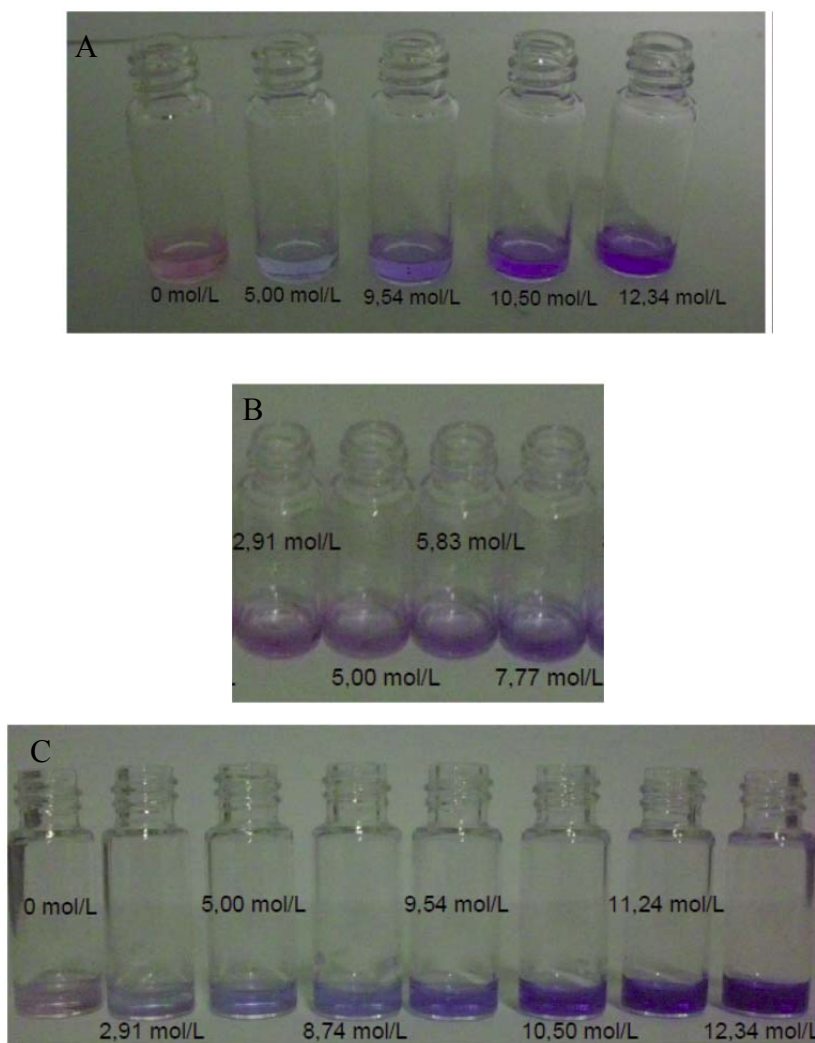


Abbildung 145: Fotostrecke der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4 mit Nile Red als Indikator. Bild A: Blindprobe Nile Red; Bild B: säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4; Bild C: säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-1

Die Untersuchung des Fluoreszenzfarbstoffes entspricht den Erwartungen. Nile Red liegt in Abwesenheit von Vesikeln im reinen Lösungsmittelgemisch vor. Demnach findet keine Diffusion in die Doppelschicht der Vesikel statt. Eine Protonierung des Indikators findet bereits bei kleinen Essigsäurekonzentrationen statt. Bei einer weiteren pH-Wert-Senkung wird lediglich eine Intensitätszunahme beobachtet. Das Absorptionsmaximum nähert sich bei PEO-PCL/PGL-1 schneller der Endwellenlänge an als bei PEO-PCL/PGL-4. Ursache hierfür ist das Blocklängenverhältnis des hydrophoben Blocks ($V_{\text{PCL:PGL}}$). Das PEO-PCL/PGL-1 hat einen $V_{\text{PCL:PGL}}$ von unter 1,00, was bedeutet, dass der PGL-Anteil hier überwiegt. Somit ist die Quantität der Hydrolyse bei geringeren Essigsäurekonzentration deutlich weiter fortgeschritten als beim PEO-PCL/PGL-4. Dies führt dazu, dass die Säuremoleküle schneller in die Polymer-Bruchstücke gelangen können und somit mehr Indikatormoleküle protoniert werden.

4.7 Fluorphasen-Einkapselung in fluorinierte Polyester-Blockcopolymeren für Bildgebungsverfahren

Das klinische Bildgebungsverfahren MRT (*Magnetresonanztomographie*) basiert typischerweise auf dem Wasserstoffkern und manchmal in Verbindung mit paramagnetischen Kontrastmitteln wie Gd^{III} oder superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln (SPIO). Andere Kontrastmittel basieren zum Beispiel auf dem ^{19}F -Kern. Der Vorteil von fluorinierten Kontrastmitteln sind die sehr geringe bis keine Hintergrundsignalstörung, ein hohes *gyromagnetisches* Verhältnis, gute Biokompatibilität und eine sehr empfindliche chemische Verschiebung in Bezug auf Änderung in ihrer lokalen Umgebung.^[218-219] Ein Beispiel für ein solches fluoriniertes Kontrastmittel ist der in Abbildung 146 gezeigte Perfluoro-15-Krone-5-ether^[20, 220], der von *MOHAN und RAPOPORT et. al.* in einen PEO-PCL Nanotropfen eingearbeitet wurde.^[221]

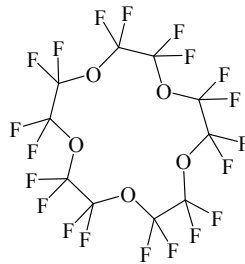


Abbildung 146: Strukturformel des Perfluoro-15-Krone-5-ether

Im Folgenden sollen nun die Ergebnisse vorgestellt werden, die bei der Einkapselung des Perfluoro-15-krone-5-ether in fluorinierte Polyester-Mizellen erhalten wurden. Die Spezifikationen der Polyester-Blockcopolymeren sind in Tabelle 11 aufgelistet. Mizellare Strukturen dieser Polymere sollten durch ihren fluorinierten Mizellkern eine erhöhte Solubilisierung gegenüber fluorinierten Verbindungen aufweisen. Um das zu untersuchen, wurde versucht ein Perfluoro-15-Krone-5-ether in die PEO-Polyester-Blockcopolymeren (PEO-PCL- R_F und PEO-PLA- R_F) einzukapseln. In Abbildung 147 sind die Größenverteilungen der beiden Ansätze gezeigt. Bei der Einkapselung in die PEO-PLA- R_F -Mizelle ist eine deutliche Verschiebung zu größeren Partikelgrößen zu erkennen. Im Vergleich dazu konnte bei der Aufnahme in die PEO-PCL- R_F -Mizellen keine Größenzunahme beobachtet werden.

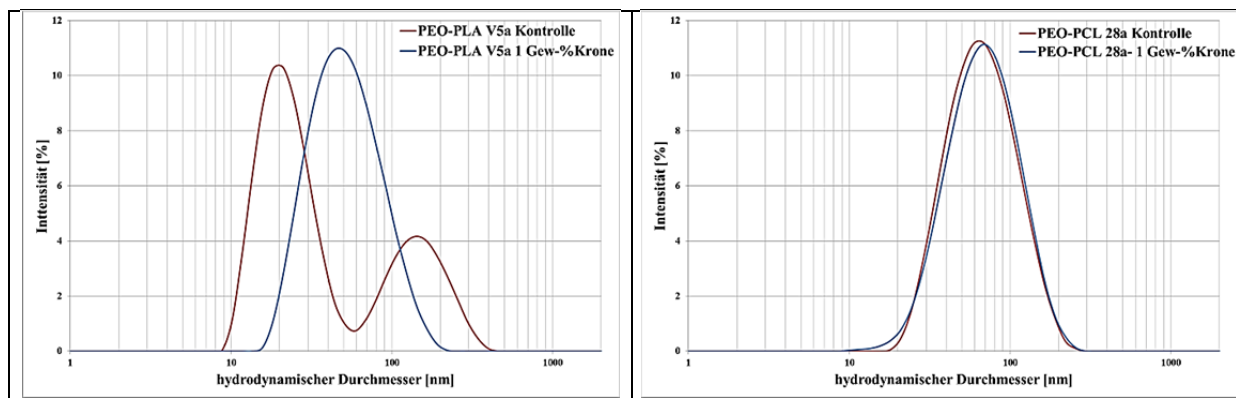


Abbildung 147: Größenverteilungen der Einkapselung des Perfluoro-15-krone-5-ethers in fluorinierten Polyester-Mizellen

In Tabelle 19 sind die Ergebnisse der DLS-Messungen noch einmal zusammengefasst.

Tabelle 19: Ergebnisse der DLS-Messungen der Einkapselungsversuche des Perfluoro-15-Krone-5-ethers in Polyester-Mizellen

Probenname	hydrodynamischer Durchmesser [nm]	PDI	Probenname	hydrodynamischer Durchmesser [nm]	PDI
PEO-PLA V5a Kontrolle	31,8	0,38	PEO-PCL 28a Kontrolle	68,8	0,19
PEO-PLA V5a 1 Gew-% Krone	53,1	0,18	PEO-PCL 28a-1 Gew-% Krone	71,9	0,23

Um eine Aussage darüber treffen zu können, ob der Perfluoro-15-Krone-5-ether in die Mizellen aufgenommen worden ist, konnte sich die Empfindlichkeit der chemischen Verschiebung in Bezug auf die lokale Umgebung des Kronen-Ethers bei der ^{19}F -NMR-Messung zunutze gemacht werden, da auch hier wieder ein ähnlicher Lösungsmittelleffekt, wie bereits in Tabelle 6 für die ^1H -NMR-Messungen gezeigt, zu erwarten ist. In der Abbildung 148 sind die ^{19}F -NMR-Spektren gezeigt: Zuerst wurde ein Referenzspektrum (schwarz) des Perfluoro-15-Krone-5-ether in Wasser mit Kaliumfluorid als interner Standard aufgenommen. Dieser Standard hat eine chemische Verschiebung von $-125,31\text{ ppm}$.^[222] Im Vergleich mit dem Spektrum des PEO-PCL-26a-Perfluoro-15-Krone-5-ether (violetttes Spektrum) ist zu erkennen, dass der Kronenether in beiden Proben die gleiche chemische Verschiebung von $-97,61\text{ ppm}$ hat. Hingegen gibt beim PEO-PLA-V5a-Perfluoro-15-Krone-5-ether (rotes Spektrum) eine deutliche Verschiebung des Signals auf $-91,10\text{ ppm}$. Somit kann festgehalten werden, dass die lokale Umgebung des Perfluoro-15-krone-5-ether in den beiden Einkapselungsversuchen unterschiedlich ist. Da das Signal des Kronenethers nur beim PEO-PLA- R_{F} eine andere chemische Verschiebung aufweist als im Vergleich zum Referenzspektrum oder der Einkapselung in die

PEO-PCL-R_F-Mizellen und unter der Berücksichtigung der Größenzunahme in den DLS-Messungen, ist nur die Aufnahme in die PEO-PLA-R_F-Mizellen erfolgreich gewesen.

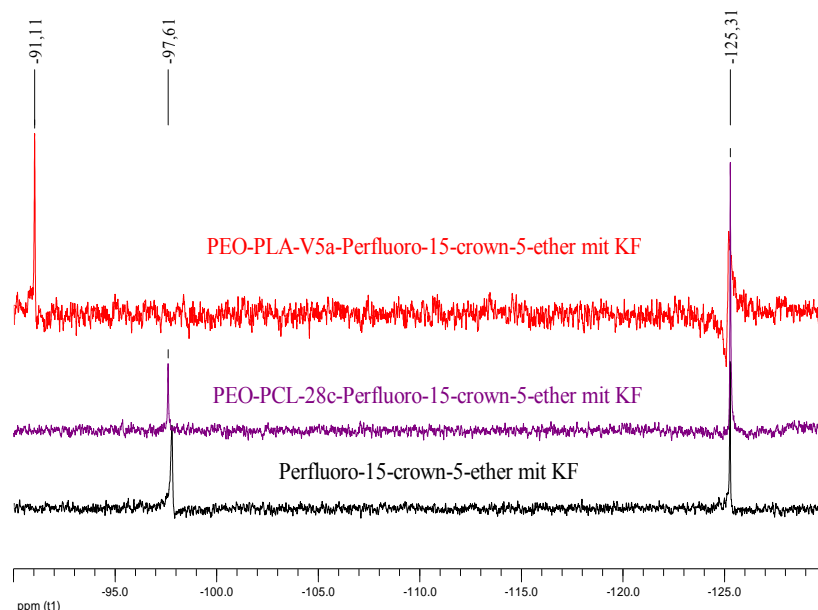


Abbildung 148: ¹⁹F-NMR-Spektren der Einkapselungsversuche des Perfluoro-15-krone-5-ethers in Polyester-Mizellen

Nachdem belegt wurde, in welche Mizellen der beiden Polyester-Blockcopolymer der Perfluoro-15-krone-5-ether aufgenommen werden kann, soll im Anschluss das Einkapselungsvermögen der PEO-PLA-R_F-Mizellen untersucht werden. Es kann davon ausgegangen werden, dass die maximale Aufnahmefähigkeit der Mizellen erreicht ist, wenn neben dem eingekapselten ¹⁹F-NMR-Signal des Perfluoro-15-krone-5-ethers wieder das freie Signal detektiert werden kann also eine maximale Größe der Partikel erreicht ist. Dazu wurden unterschiedliche Gewichtsprozent an Kronenether verkapselt und mittels dynamischer Lichtstreuung vermessen. Anschließend wurden die Mizellen für mehrere Minuten in ein Ultraschallbad gegeben, um zu sehen, ob vielleicht die Aufnahme dadurch begünstigt werden kann. In Tabelle 20 sind die Ergebnisse der Einkapselungen des Perfluoro-15-krone-5-ethers mit unterschiedlichen Gew-% in PEO-PLA-R_F-Mizellen zusammengefasst und in Abbildung 149 gegeneinander aufgetragen.

Tabelle 20: Größenverteilungen der Einkapselungen des Perfluoro-15-krone-5-ethers mit unterschiedlichen Gew-% in PEO-PLA-RF-Mizellen.

Probenname	Gew-% an Krone	hydrodynamischer Durchmesser [nm]	PDI	hydrodynamischer Durchmesser nach Ultraschallbad [nm]	PDI
PEO-PLA V5a 1 Gew-% Krone	1	52,1	0,19	60,6	0,29
PEO-PLA V5a 5 Gew-% Krone	5	80,5	0,44	93,6	0,31
PEO-PLA V5a 10 Gew-% Krone	10	103,7	0,27	114,8	0,30
PEO-PLA V5a 15 Gew-% Krone	15	149,1	0,44	158,2	0,31
PEO-PLA V5a 20 Gew-% Krone	20	175,5	0,29	177,8	0,29
PEO-PLA V5a 25 Gew-% Krone	25	209,4	0,31	190,3	0,25
PEO-PLA V5a 30 Gew-% Krone	30	228,6	0,37	192,8	0,19
PEO-PLA V5a 35 Gew-% Krone	35	252,4	0,37	193,0	0,18
PEO-PLA V5a 40 Gew-% Krone	40	243,7	0,27	187,7	0,17

In Abbildung 149 ist die deutliche Größenzunahme der Mizellen (grüne Kurve) mit der steigenden Perfluoro-15-krone-5-ether-Menge von 52,10 nm bei 1 Gew-% Kronenether bis hin 243,73 nm bei 40 Gew-% zu erkennen. Die Ultraschallbehandlung (rote Kurve) zeigt einen Einfluss auf die Partikelgröße bis zu einem Gewichtsanteil von 20 % des Kronenethers. Nach dem Ultraschallbad nehmen die Partikelgrößen leicht zu, die Änderungen liegen aber in der Toleranzgrenze des Polydispersionsindexes. Erst bei höheren Gewichtsprozenten wird der Unterschied in den hydrodynamischen Durchmessern der Partikel vor und nach dem Ultraschallbad deutlich. Dann nimmt der hydrodynamische Partikeldurchmesser nicht zu, sondern er wird um 20-60 nm verringert.

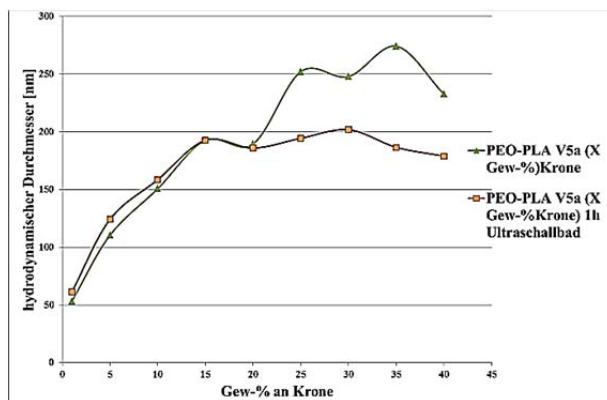


Abbildung 149: Hydrodynamischer Durchmesser bei verschiedenen Gew-% eingekapselten Perfluoro-15-krone-5-ethers in PEO-PLA-Mizellen

Die Probe mit 20 Gew-% Kronenether wurde mit Hilfe der Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie untersucht. Die Aufnahme (Abbildung 150) zeigt sowohl beladene als auch nicht beladenen Mizellen zu erkennen. Die erfolgreiche Beladung wird hier durch den Kontrastunterschied den beiden Mizellentypen deutlich gemacht.

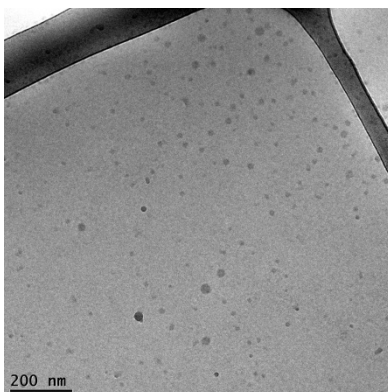


Abbildung 150: Cryo-TEM-Aufnahme der PEO-PLA-V 5a-Mizellen mit 20 Gew-% Perfluoro-15-krone-5-ethers

Zusammenfassend kann hier festgehalten werden, dass die Einkapselung des Perfluoro-15-krone-5-ethers in die PEO-PLA- R_F -Mizellen erfolgreich durchgeführt wurde. Als nächstes wurde untersucht, ob die unterschiedlichen Strukturen in den Proben auf Grund ihrer verschiedenen lokalen Umgebungen Änderung in den chemische Verschiebungen der ^{19}F -NMR-Messungen zeigen. Dafür wurden die Proben von *UWE HIMMELREICH* von der „*biomedizinischen NMR-Abteilung*“ der Katholischen Universität Leuven in Belgien vermessen. Aus den ^{19}F -NMR-Spektren, wie sie in Abbildung 151 gezeigt sind, ist zu erkennen, dass nur ein Signal mit einer chemischen Verschiebung von -95,8 ppm gemessen werden konnte. Dieses Signal ist in seiner chemischen Verschiebung unabhängig, jedoch steigt die Signalintensität mit der Menge des eingekapselten Perfluoro-15-krone-5-ethers.

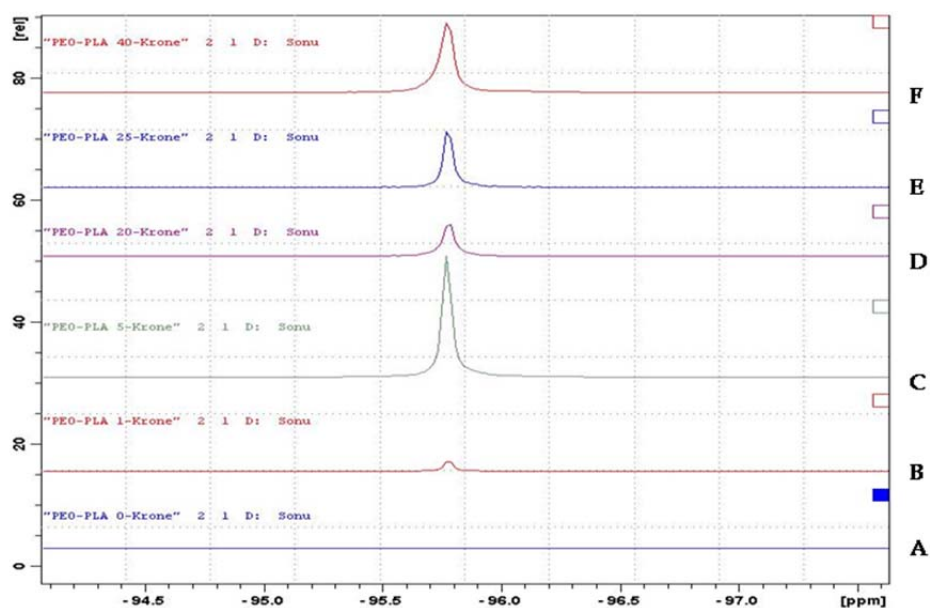


Abbildung 151: ^{19}F -NMR Spektren von PEO-PLA-Mizellen bei verschiedenen Gew-% des Perfluoro-15-krone-5-ethers: (A) PEO-PLA 0-Krone (no peak) (B) PEO-PLA 1-Krone (C) PEO-PLA 5-Krone (D) PEO-PLA 20-Krone (E) PEO-PLA 25-Krone (F) PEO-PLA 40-Krone

Die Ergebnisse der Messungen, wie sie in Tabelle 21 zusammengefasst sind, zeigen zudem, dass die ermittelte Konzentrationen und die Konzentration pro Anzahl der Fluoratome des Perfluoro-15-krone-5-ethers ansteigen, aber die T_1 -Relaxationszeit fast konstant bleibt. Ebenso bei der Probe PEO-PLA-V5a 5 Gew-% Krone: Die Konzentration hier ist deutlich höher als erwartet, aber die T_1 -Zeit steigt nicht übermäßig an.

Tabelle 21: Konzentrationen der Stammlösung und T₁-Werte (1:1 Verdünnung PBS/D₂O) der PEO-PLA-Mizellen bei verschiedenen Gew-% des Perfluoro-15-krone-5-ethers.

	Concentration [mM]	Concentration/ No. of Fluorine atoms (20) in 15-krone ether [mM]	T ₁ (ms)
PEO-PLA-V5a 0 Gew-% Krone	No peak	No peak	No peak
PEO-PLA-V5a 1 Gew-% Krone	8,09	0,40	978,7
PEO-PLA-V5a 5 Gew-% Krone	103,77	5,18	1051
PEO-PLA-V5a 20 Gew-% Krone	26,0	1,30	1031
PEO-PLA-V5a 25 Gew-% Krone	31,16	1,55	978,7
PEO-PLA-V5a 40 Gew-% Krone	36,25	1,81	1102

Abschließend konnte von der Probe PEO-PLA-V5a 5 Gew-% Krone die in Abbildung 152 gezeigten ¹⁹F-MRT-Aufnahme gemacht werden. Die Aufnahme A zeigt die ¹⁹F-MRT-Messung mit einem 9,4T MRI Kernspintomographen der unverdünnten Probe. Die Aufnahmen B und C sind jeweils die um die Hälfte verdünnten Proben. Die Protonen- und Fluor-Aufnahmen wurden unter der Verwendung der 3D-FLASH-Sequenz zusammengefügt. Die Aufnahmen zeigen, dass eine angemessene Empfindlichkeit des in die PEO-PLA-R_F-Mizellen eingekapselten Perfluoro-15-krone-5-ethers innerhalb der Aufnahmezeit von 30 Minuten erreicht worden ist. Die Parameter der ¹⁹F-MRT-Aufnahmen sind in zusammengefasst.

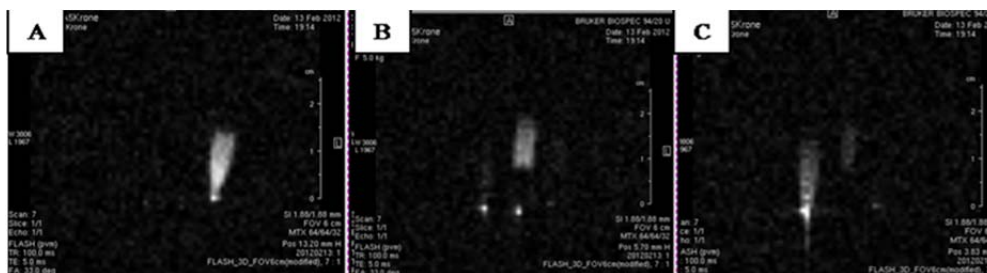


Abbildung 152: ¹⁹F-MRT-Aufnahmen der Probe PEO-PLA-V5a 5 Gew-% Krone bei drei unterschiedlichen Verdünnungen

4.8 Cysteamin Seitenkettenmodifikation von PI-PEO mittels Thiol-Ene-*Click*-Chemie und die darausre- sultierenden Veränderungen in der Überstruktur- bildung

Durch die Thiol-Ene-*Click*-Chemie ist es nicht nur möglich, den PI-Block mit einem Fluorophor zu markieren, sondern auch die Überstrukturbildung eines PI-PEO-Polymeres in Wasser zu beeinflussen.

4.8.1 Thiol-Ene-*Click*-Chemie an PI-PEO

Dafür wurde, wie in Abbildung 153 gezeigt, das Polymer mit Cysteamin-Hydrochlorid in Gegenwart des Radikalstarters AMBN umgesetzt und abschließend mit einer gesättigten Hydrogencarbonat-Lösung aufgearbeitet.

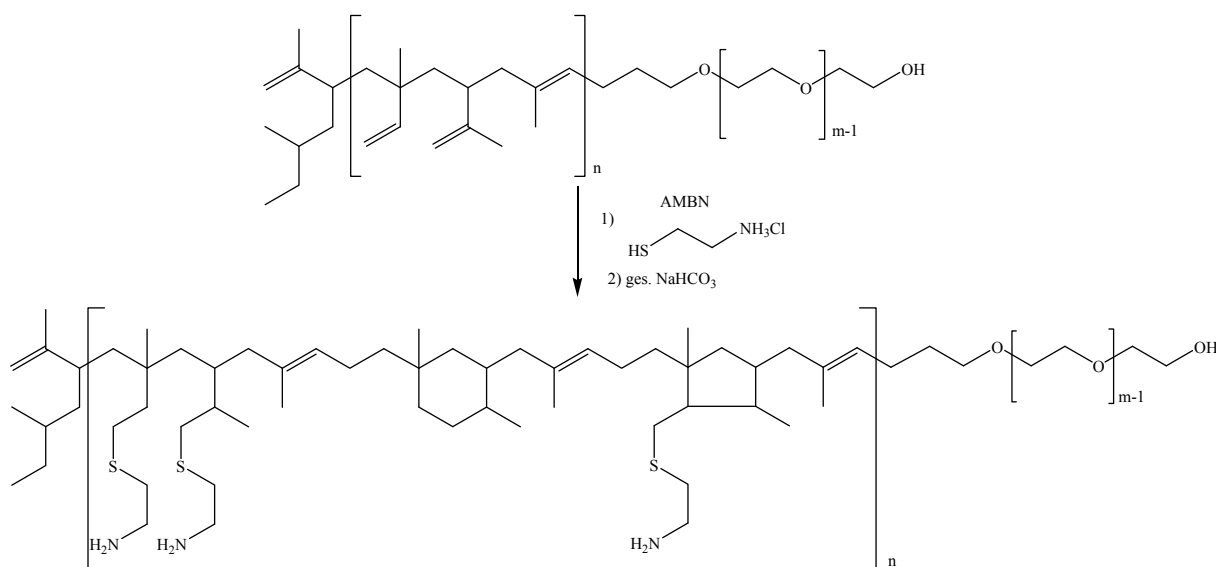


Abbildung 153: Thiol-Ene-*Click*-Chemie zur Seitenkettenfunktionalisierung von PI-PEO-NW15-OH

Anhand der NMR-Spektren aus Abbildung 154 ist zu erkennen, dass die vinylicischen Protonen unter den jeweiligen Signalen im Produkt (rotes Spektrum) deutlich abgenommen haben. Die Signale mit der chemischen Verschiebung von 5,75 ppm sind zum Beispiel im Produktspektrum nicht mehr vorhanden. Das bedeutet, dass die Einheiten mit einer 1,2-Verknüpfung vollständig, entweder mit dem Cysteamin-hydrochlorid oder in einer intramolekularen Cyclisie-

rungsreaktion, umgesetzt worden sind. Dass die Anbindung des Cysteamins erfolgreich war, ist nicht nur anhand der Zunahme der Molmasse, sondern auch an den beiden neuen Signalen mit den chemischen Verschiebungen von 2,56 ppm und 2,83 ppm zu belegen. Dass es zu einer intramolekularen Cyclisierung gekommen ist, lässt sich anhand der Signaländerung im aliphatischen Bereich im roten NMR-Spektrum des Produktes feststellen. Vor allem das Signal mit der chemischen Verschiebung von 1,65 ppm ist den neugebildeten intramolekularen Sechsringen zuzuordnen.^[49, 104]

Durch die Anbindungen des Cysteamins hat sich der Gewichtsanteil des PEO-Blocks am Polymer von $w = 0,19$ auf $w = 0,11$ verringert.

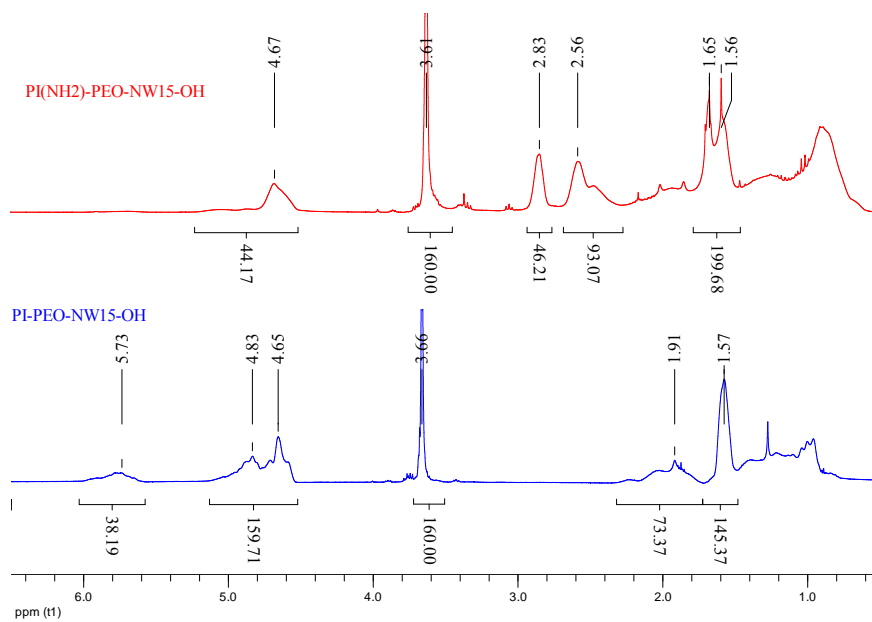


Abbildung 154 : ¹H-NMR-Spektren der Seitenkettenfunktionalisierung von PI-PEO-NW15-OH

In der Tabelle 22 sind die Gesamtergebnisse aus den spektroskopischen und spektrometrischen Analysen zusammen gefasst.^[67-68, 183] ($\delta_{\text{PEO}} = 1,13 \text{ g/cm}^3$, $\delta_{\text{PI}} = 0,89 \text{ g/cm}^3$ und $\delta_{\text{Cystemin-Hydrochlorid}} = 0,89 \text{ g/cm}^3$).

Tabelle 22: Zusammenfassung der Ergebnisse.

	M_n [g/mol]	D	N (PI _{1,2})	N (PI _{3,4})	N (PI _{1,4})	N (PEO)	$f_{\text{(PEO)}}$
PI-PEO-NW15-OH	9160	1,05	37	62	8	40	0,14
PI _(NH₂) -PEO-NW15-OH	15600	1,05	0	22	8	40	0,09

4.8.2 Hydrodynamische Fokussierung

Durch die Veränderung des hydrophilen Anteils des Polymers und der neuen basischen Aminogruppe am Polyisoprenblock sollte zuerst eine mögliche pH-Wert Änderung untersucht werden. Der pH-Wert beträgt 6,4 für PI-PEO-NW15-OH und 8,9 für PI_(NH₂)-PEO-NW15-OH. Durch den höheren pH-Wert des funktionalisierten Polymers ist belegt, dass die Aminogruppen am hydrophoben PI-Block eine positive Ladung tragen, wenn sie ins Wasser injiziert werden. Die eventuell daraus resultierenden Veränderungen im Verhalten der Selbstanordnung des Polymers sollen nun im Folgenden untersucht werden. Um die höchste Reproduzierbarkeit zu erreichen, wurde auf die Vesikelpräparationsmethode der hydrodynamischen Fokussierung im Mikrofluidikkanal zurückgegriffen.^[74]

4.8.2.1 Hydrodynamische Fokussierung des un-funktionalisierten PI-PEO-Blockcopolymers

Zuerst wurde das un-funktionalisierte Polymer in einer 2,5 mg/mL-konzentrierten THF-Lösung bei einem konstanten Strömungsverhältnis von NK : HK : NK 400 : 100 : 400 $\left[\frac{\mu\text{L}}{\text{h}}\right]$ durch den Mikrofluidikkanal geleitet, so dass eine 10 %ige THF-Wasser-Polymerlösung entstand. Die so durchgeführte Überstrukturbildung ist vergleichbar mit der Inkjet-Methode^[73] oder der klassischen Einspritzmethode^[223-224], bei der die Polymer/THF-Lösung mit einer Spritze in die zehnfache Menge Millipore-Wasser gespritzt wird. Allerdings kann durch die rein diffusionsgesteuerte Durchmischung der wässrigen und THF-Lösung eine schmale Größenverteilung der gebildeten Überstrukturen und somit ein niedrigerer PDI erzielt werden.^[145] Bei den wässrigen Lösungen in den Nebenkanälen (NK) handelte es sich um eine 0-1 M NaCl-Lösung. Die Analyse der Proben erfolgte mittels dynamischer Lichtstreuung, Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie und Fluoreszenzmikroskopie.

Die Größenverteilungen der gebildeten Partikel nach der hydrodynamischen Fokussierung bei unterschiedlichen Salzkonzentrationen sind in Abbildung 155 aufgetragen. Die Durchmesser der Strukturen steigt im Durchschnitt von 98,28 nm bei einer 0,0 M NaCl-Lösung auf 210,8 nm bei einer 1,0 M NaCl-Lösung, wobei der PDI für die Natriumchloridkonzentration von 0,0 M bis 0,9 M relative konstant bei $0,25 \pm 0,04$ liegt. Nur beim letzten Messpunkt bei einer Konzentration von 1,0 M des Natriumchlorides steigt der PDI auf 0,49 an.

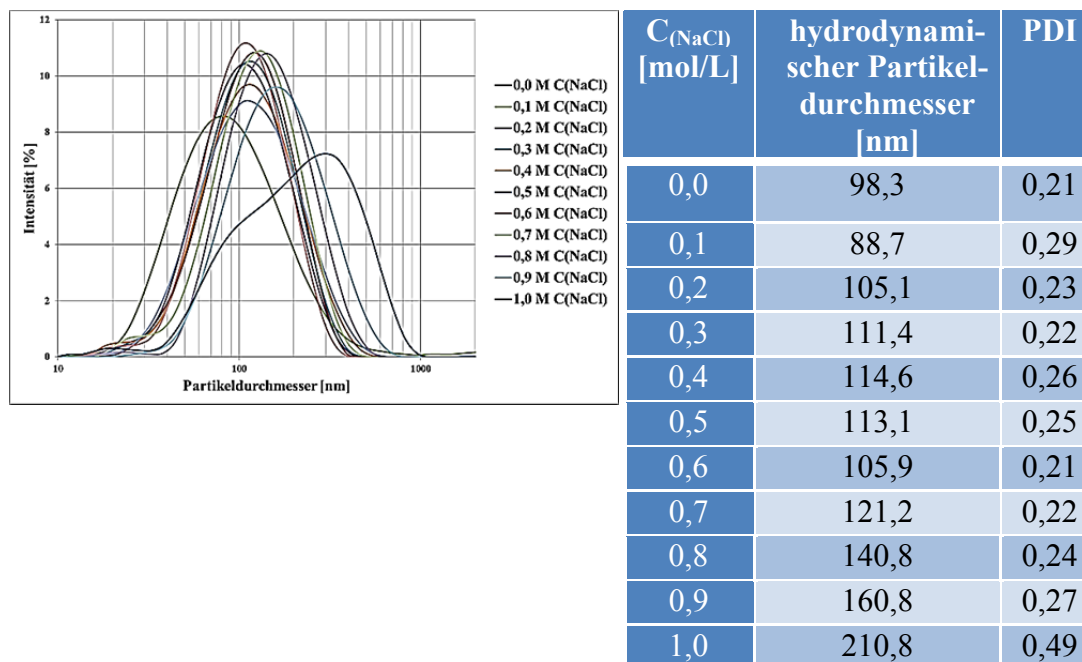


Abbildung 155: Größenverteilungen der hydrodynamischen Fokussierung im Mikrofluidikkanal von PI-PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen

Ob es sich bei den gebildeten Strukturen um Mizellen oder kleine Polymersomen handelt, wurde anschließend mit Hilfe der Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie untersucht, da die Teilchengrößen unterhalb der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops liegen. In der Abbildung 156 werden die Partikelgrößen gegen die NaCl-Konzentrationen sowie exemplarisch Cryo-TEM-Aufnahmen zweier Proben gezeigt. Die Probe mit einer NaCl-Konzentration von 0,1 M hat einen hydrodynamischen Partikeldurchmesser von 88,72 nm und zeigt einen „*Polymerenteppich*“, in dem bereits schon vesikuläre Strukturen zu erkennen sind. Die Cryo-TEM-Aufnahme der Probe 0,9 M zeigt vesikuläre Strukturen und es sind freien Polymersomen gebildet worden.

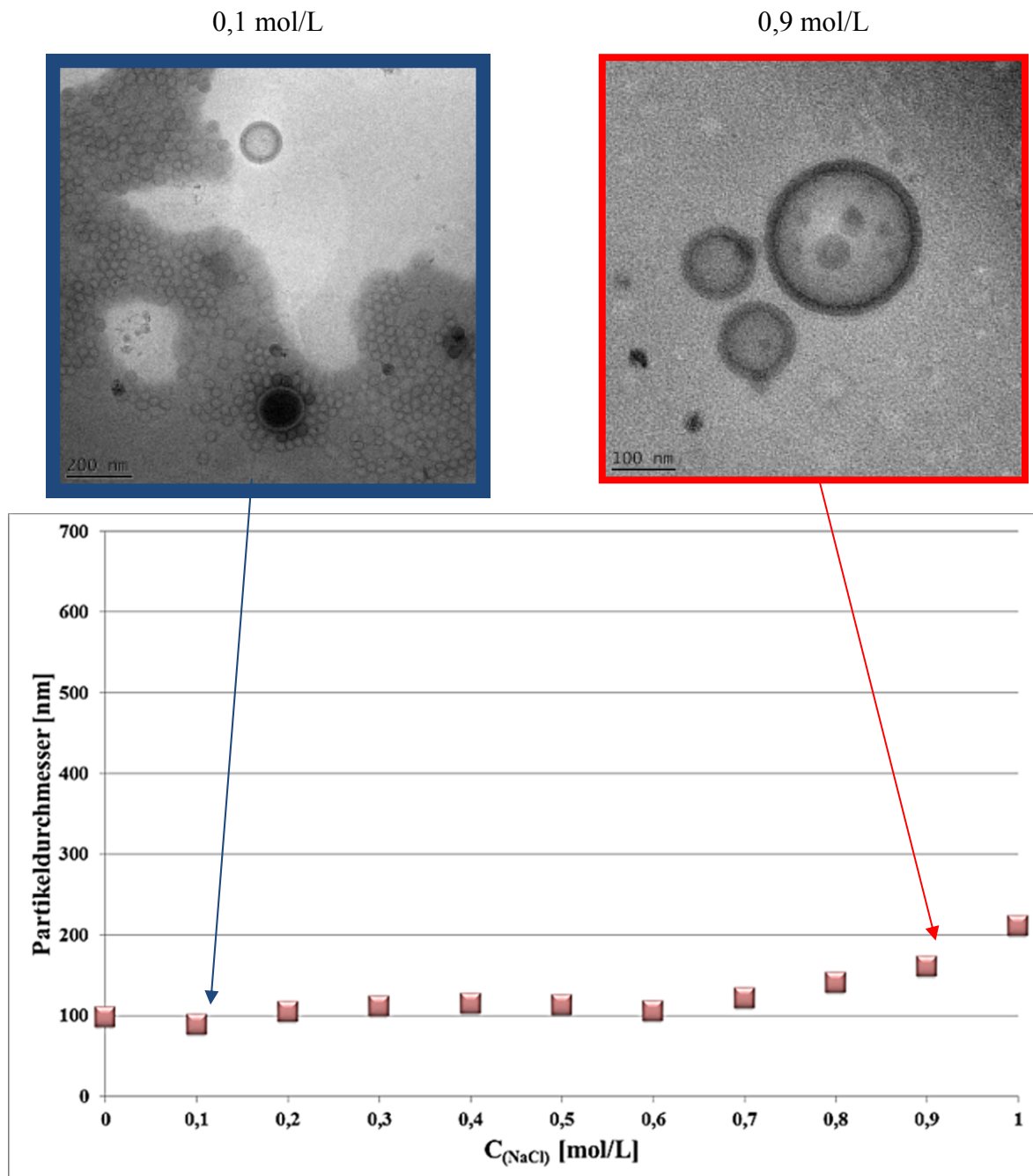


Abbildung 156: Ergebnisse der hydrodynamischen Fokussierung von PI-PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen

4.8.2.1 Hydrodynamische Fokussierung des unfunktionalisierten $\text{PI}_{(\text{NH}_2)}$ -PEO-Blockcopolymers

Im Folgenden soll nun untersucht werden, welche Strukturen bei der hydrodynamischen Fokussierung des seitenkettenfunktionalisierten Polymers bei den unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen gebildet werden. Die einzelnen Proben wurden nach der Präparation im ersten Schritt mittels dynamischer Lichtstreuung vermessen. Die dabei erhaltenen Daten sind in

zusammen aufgetragen. Auf den ersten Blick fällt auf, dass im Vergleich zu den in gezeigten Daten bei dieser Versuchsreihe bei niedrigen Salzkonzentrationen deutlich kleinere Partikelgrößen erzielt wurden. So beträgt der hydrodynamische Durchmesser der Teilchen der ersten drei NaCl-Konzentrationen ca. 50 nm. Das bedeutet, dass die Partikel um die Hälfte kleiner sind als die entsprechenden Teilchen in der Referenzversuchsreihe. Zudem ist die deutliche Zunahme in der Größenverteilung bis zu einer Größe von 131,9 nm im Durchmesser bei der NaCl-Konzentration von 0,8 M zu erkennen. Bis zu dieser Probe waren die Messungen aller vorherigen Proben monomodal und hatten einen Polydispersitätsindex von ungefähr 0,16. Die Probe bei 0,8 M hingegen ist bimodal mit einem PDI von 0,41. Die beiden letzten Proben mit den NaCl-Konzentrationen von 0,9 M und 1,0 M sind mit den PDIs von ca. 0,76 so polydispers, dass anhand dieser Messergebnisse keine nachvollziehbaren Aussagen getätigt werden können.

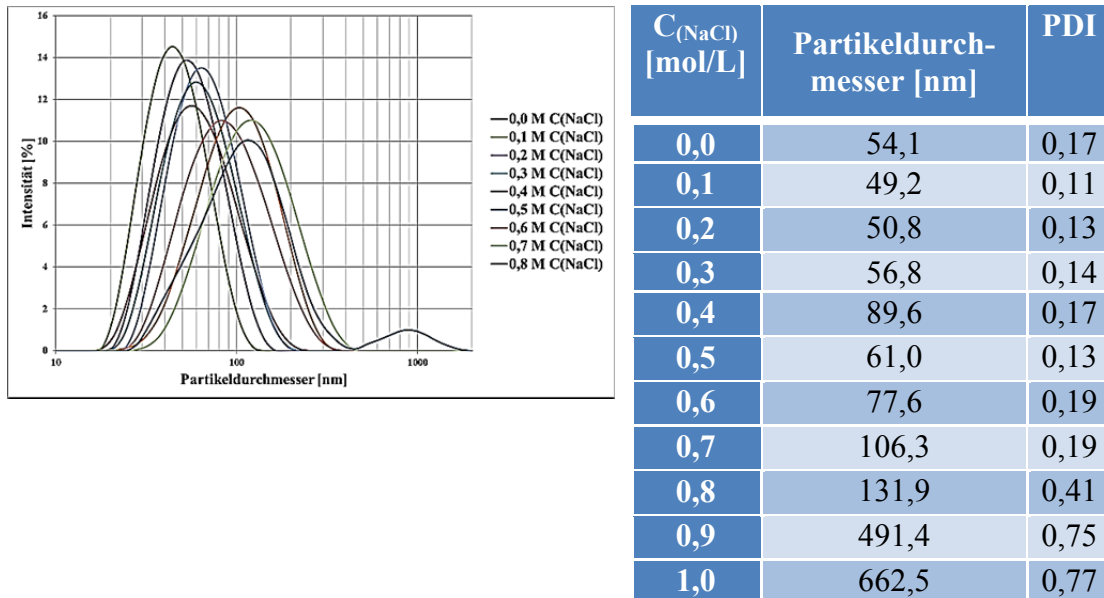


Abbildung 157: Größenverteilungen der hydrodynamischen Fokussierung im MF-Kanal von $\text{PI}_{(\text{NH}_2)}$ -PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen

Ab der NaCl-Konzentration von 0,8 M kommt es nicht nur zu einem starken Anstieg der Polydispersität sondern auch einer deutlichen Trübung der Proben. Daher waren diese Proben für eine Analyse mittels DLS ungeeignet und wurden mittels Fluoreszenz- und Durchlichtmikroskopie untersucht. Für die Untersuchung mit dem Fluoreszenzmikroskop wurden die trüben Proben zunächst mit dem hydrophoben Fluoreszenzfarbstoff Nile Red angefärbt. Die Proben, die eine Teilchengröße unterhalb der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops besitzen, wurden wiederum mittels Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie untersucht. Die

Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abbildung 158 zusammengefasst indem die Partikelgrößen gegen die NaCl-Konzentrationen aufgetragen worden sind.

Die Cryo-TEM-Aufnahme der Probe mit der NaCl-Konzentration von 0,0 M (blauer Rahmen) weist unterschiedlichste Strukturen auf. Neben den Agglomeraten von fadenartigen und mizellaren Strukturen fallen vor allem die, mit den weißen Pfeilen markierten, sichel- und spiegeleiförmigen Partikeln auf. Bei diesen Strukturen ist der Kontrast in der Mitte des Partikels deutlich höher als der in der Corona. Die Probe mit der NaCl-Konzentration von 0,1 M (oran-gener Rahmen) zeigt in der Cryo-TEM-Aufnahme Strukturen, die frei in der Probe vorliegen. Hier fällt auf, dass die sphärischen Mizellen beginnen, sich zu Stäbchenmizellen zusammenzulagern. Nebenbei sind weiter die sichel- und spiegeleiförmigen Strukturen deutlich sichtbar. Vor allem sind hier vereinzelt, deformierte vesikuläre Strukturen zu erkennen. Die nächste Cryo-TEM-Aufnahme stammt von der 0,4 M-Probe (gelber Rahmen). In der Aufnahme sind hauptsächlich nur noch Stäbchenmizellen und bereits einige Polymersomen zu erkennen. Ähnliche Strukturen sind auch in den Cryo-TEM-Aufnahme der Probe mit der NaCl-Konzentration von 0,6 M (brauner Rahmen) zu sehen. Die Probe mit der NaCl-Konzentration von 0,7 M (violetter Rahmen) zeigt in der Cryo-TEM-Aufnahme kleine vesikuläre Strukturen sowie deformierte, gestapelte Polymerdoppelschichten. Ein schwarzer Pfeil markiert einen Stapel solcher Polymerdoppelschichten, welcher in gekrümmter Form in der Aufnahme vorliegt, um sich vielleicht zu einem Polymersom zur Minimierung der Oberflächenenergie umzulagern.^[9] Die Probe mit der NaCl-Konzentration von 0,8 M weist eine Trübung der Probenlösung auf, und wurde daher mittels der Fluoreszenzmikroskopie (FLM) untersucht. Die Proben wurden für die Messung in ein Agarose-Gel eingebettet. Die FLM-Aufnahme zeigt Polymersomen, die in Form einer Perlenkette miteinander verbunden sind. Steigt die NaCl-Konzentration um eine weitere Stufe auf 0,9 M, dann zeigt die FLM-Aufnahme im grünen Kasten wieder die Polymersomen-Perlenketten-Struktur, bei der die Anzahl der Vesikel pro Kette im Vergleich zur der vorherigen Probe gestiegen ist. Die letzte untersuchte Probe dieser Versuchsreihe hat eine NaCl-Konzentration von 1,0 M (roter Rahmen). Hier sind wieder die Polymersomen-Perlenketten in der FLM-Aufnahme zu sehen. Die Vesikel sind fast ausschließlich direkt miteinander durch ein Polymerfilm verbunden. Die Polymersomen haben im Mittel einen Durchmesser von ungefähr 2 μm und sind nahezu monodispers.

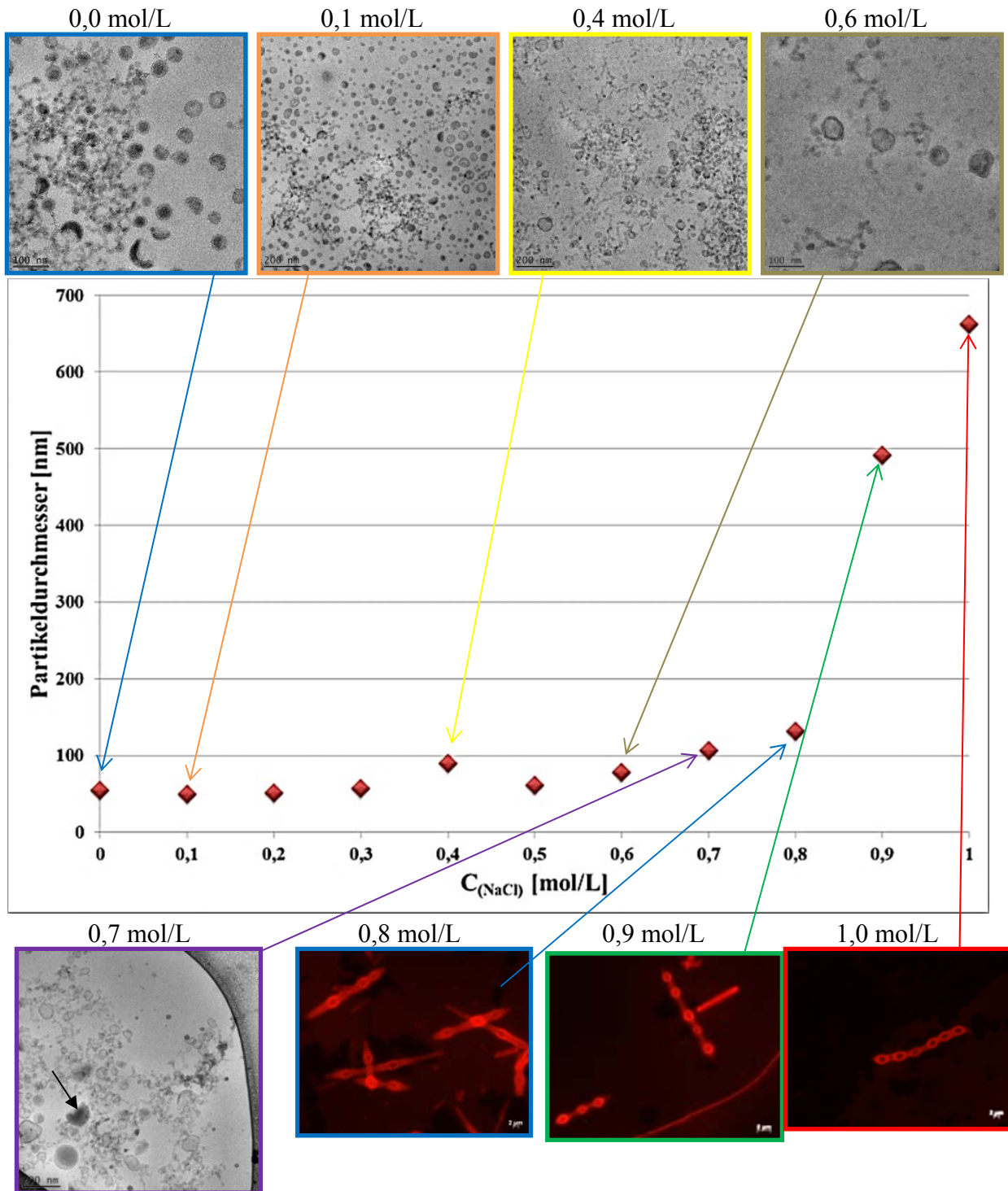


Abbildung 158: Ergebnisse der hydrodynamischen Fokussierung von $PI_{(NH_2)}$ -PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen

4.9 Mikrofluidik

Um das Adhäsionsverhalten solcher Wirkstofftransportsystems besser verstehen zu können, sollen nun zwei verschiedene Immobilisierungsmöglichkeiten untersucht werden, die kovalente und die Protein-Liganden Wechselwirkung.

Dazu wurde die MF-Kanäle in zwei Varianten verglast und mit unterschiedlich modifizierten Polymersomen durchspült. Die Verglasung wurde über ein Sol aus mit einer 1:1:1-Mischung (Volumenanteil) aus Tetraethylorthosilikat (TEOS), Triethoxymethylsilan (MTES), Ethanol und mit Salzsäure versetztem Wasser (pH = 4,5) hergestellt. Anschließend wurde dieses Gemisch in die MF-Kanäle gegeben, in denen vorher mittels Sauerstoffplasma Hydroxylgruppen generiert wurden und in der Hitze bei 100 °C zum Gel umgesetzt wurden.

4.9.1 Synthese des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl-*N*-3--ethoxysilylpropylaminopropanoat

Wird das TEOS gegen das 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES) ausgetauscht, können Aminogruppen auf der Glasoberfläche im MF-Kanal generiert werden. Da aber das APTES in Verbindung mit Feuchtigkeit präzipitiert, muss es vorher geschützt werden. Eine Möglichkeit ist die in Abbildung 159 von *E. Y. LADILINA et. al.* entwickelte Methode. Dabei wird das APTES mit 2,2,3,3,4,4,5,5-Octafluorpentylacrylat in einer Michael-Addition^[225] zum 1,1,5-trihydrooctafluoroamyl-*N*-3-triethoxysilylpropylaminopropanoat (geschütztes APTES) umgesetzt.

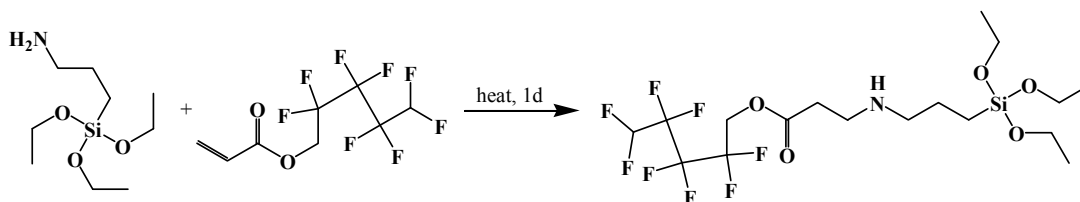


Abbildung 159: Synthese des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl-*N*-3-triethoxysilylpropylaminopropanoat^[226]

Die Umsetzung wurde anschließend NMR-spektroskopisch untersucht. Das gemessene ¹H-NMR-Spektrum ist in Abbildung 160 gezeigt. Die Signale des Zielmoleküls sind deutlich zuzuordnen.

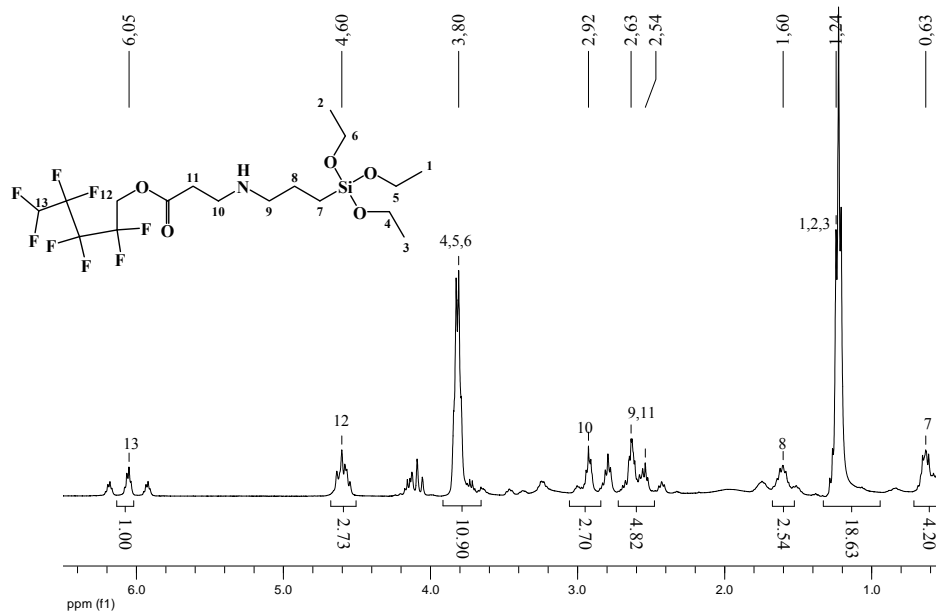


Abbildung 160: NMR-Spektrum des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl-N-3-triethoxysilylpropylaminopropanoates

4.9.2 Nachweis der Aminogruppen im MF-Kanal

Das geschützte APTES sowie das MTES, salzsaures Wasser und Methanol, wurden in einer Sol-Mischung vereinigt und in einen plasmabehandelten MF-Kanal injiziert. Anschließend wurde der Mikrofluidikchip in der Wärme bis zu einer vollständigen Verglasung behandelt. Für die Kontrollversuche wurden MF-Kanäle nach der oben beschriebenen Methode hergestellt. Durch Anbindung zweier unterschiedlich aktivierter Farbstoffe konnte der Nachweis der Aminogruppen auf der Glasoberfläche belegt werden. Durch die Möglichkeit der kovalenten Anbindung der beiden Farbstoffe ist auch gezeigt, dass eine Entschützung des APTES nach der Verglasung nicht notwendig ist, da bei der salzsauren Gel-Bildung die Schutzgruppe abgespalten worden ist und somit die Aminogruppen frei vorliegen. Der erste Nachweis ist die Anbindung eines, wie Abbildung 161 dargestellt, aktivierten Rhodamin-B-Säurechlorids an die aminierte Oberfläche im MF-Kanal.^[227] Dazu wurde das Natriumsalz des Rhodamins in seiner protonierten Form mit Oxalylchlorid unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit und Sauerstoff umgesetzt und anschließend direkt in die Kanäle injiziert.

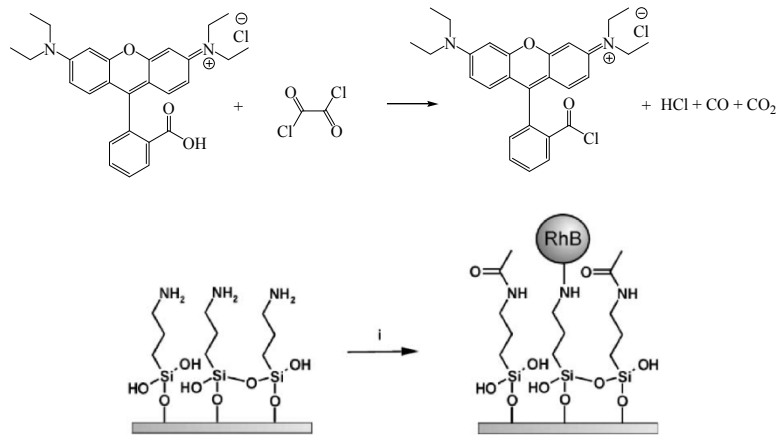


Abbildung 161: Rhodamin-B-Nachweis der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal^[227]

In Abbildung 162 sind die FLM-Aufnahmen des Rhodamin-B-Nachweises der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal gezeigt. Die Aufnahme A zeigt die Anbindung des Rhodamin-B an die aminierte Oberfläche im MF-Kanal. Der mit TEOS verglaste Kontrollversuch in der Aufnahme B zeigt, wie erwartet, keine Anbindung des Farbstoffes an die Oberfläche. Das Linienprofil der Fluoreszenzintensitäten rechts in der Abbildung 162 zeigt den deutlichen Unterschied an den beiden Kanalwänden. Der mit TEOS verglaste Kanal zeigt an den Wänden, bei den Positionen 70 μm und 220 μm , nur eine kleine Fluoreszenzintensität. Im Vergleich dazu zeigt der APTES-verglaste Kanal an den Kanalwänden, bei den Positionen 50 μm und 250 μm , eine deutlich höhere Fluoreszenz.

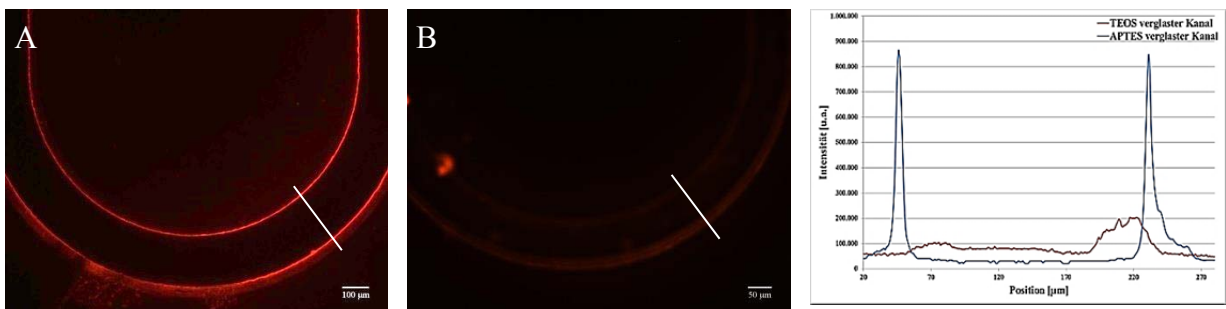


Abbildung 162: FLM-Aufnahmen des Rhodamin-B-Nachweises der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal

Die 3D-CLSM-Aufnahme in Abbildung 163, die in Zusammenarbeit mit *SEBASTIAN WITH* vom „Lehrstuhl für Physikalische Chemie I“ aufgenommen wurde, zeigt, dass der Farbstoff Rhodamin-B selektiv an die Oberfläche der Kanalwand gebunden ist, ohne in das permeable PDMS zu diffundieren.

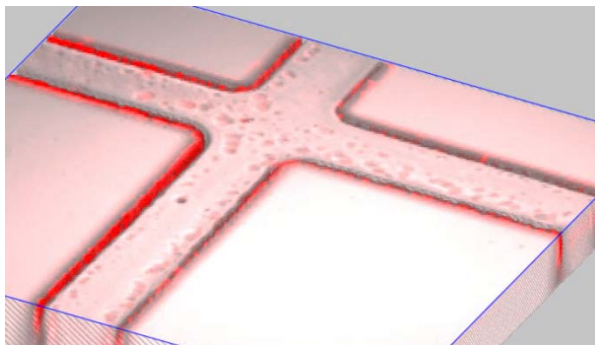


Abbildung 163: 3D-CLSM-Aufnahme des Rhodamin-B-Nachweises der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal

Der zweite Nachweis wurde mit einem Carbonsäuresuccinimidylester des *Alexa Fluor*[®] 488-Farbstoffes durchgeführt. Durch die Aktivierung mit N-Hydroxysuccinimid ist dieser Farbstoff auf Aminogruppen spezifisch und kann somit die im MF-Kanal befindlichen Aminogruppen nachweisen.^[228] Die daraus resultierenden Aufnahmen dieses Aminogruppenachweises sind in Abbildung 164 gezeigt. Auch hier bringt ein Vergleich der Aufnahmen C und D einen deutlichen Unterschied in den Fluoreszenzintensitäten zwischen den mit APTES- (Aufnahme C) und den mit TEOS- (Aufnahme D) verglasten Kanälen hervor. Dieser unverkennbare Gegensatz in den Intensitäten wird im Linienprofil der Fluoreszenzintensitäten wiederum erkennbar.

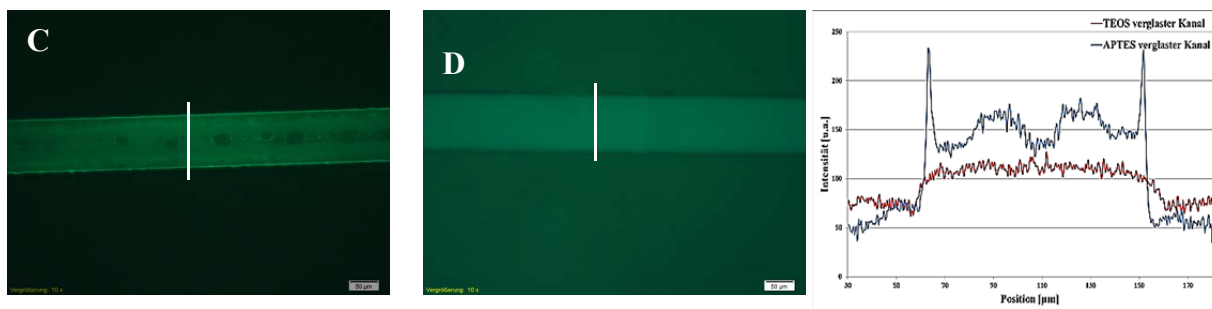


Abbildung 164: FLM-Aufnahmen des Nachweises der Aminogruppen mit *Alexa Fluor*[®] 488-Farbstoff auf der Oberfläche im MF-Kanal^[228]

Auch die 3D-CLSM-Aufnahme, wie sie in Abbildung 165 gezeigt ist, belegt den Erfolg der Farbstoffanknüpfung und somit der erfolgreichen Aminofunktionalisierung.

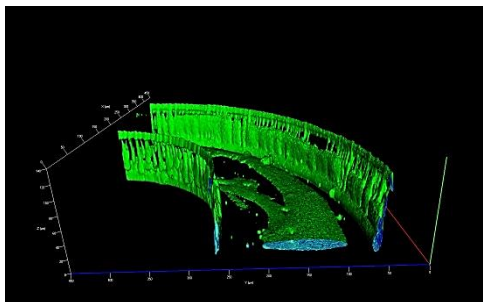


Abbildung 165: 3D-CLSM-Aufnahme des Nachweises der Aminogruppen mit *Alexa Fluor*[®]488-Farbstoff auf der Oberfläche im MF-Kanal

4.9.3 Synthese eines aldehydfunktionalisierten PI-PEO

Nachdem die Beschichtung der MF-Kanäle mit einem aminierten Glas durchgeführt wurde, soll im Folgenden die Immobilisierung aldehydfunktionalisierter Polymersomen in diesen MF-Kanälen vorgestellt werden.

Für die Immobilisierung der Polymersomen wurde zuerst ein PI-PEO Blockcopolymer mit einer α -ständigen Hydroxylgruppe mittels der IBX-Oxidation (2-Iodoxybenzoesäure) zum Aldehyd oxidiert. Die Spezifikation des PI-PEO ist in Tabelle 9 gezeigt. Die Umsetzung zum Aldehyd wurde NMR-spektroskopisch und chromatographischen analysiert. Die dabei erhaltenen Daten sind in Abbildung 166 dargestellt. Im ¹H-NMR-Spektrum (links) ist das Signal des Wasserstoffatoms der Aldehydgruppe mit einer chemischen Verschiebung von 9,70 ppm deutlich zu erkennen. Aus den Integralen unter den einzelnen Signalen ist eine fast quantitative Umsetzung, bezogen auf das Signal des PEO-Blocks, zu entnehmen.

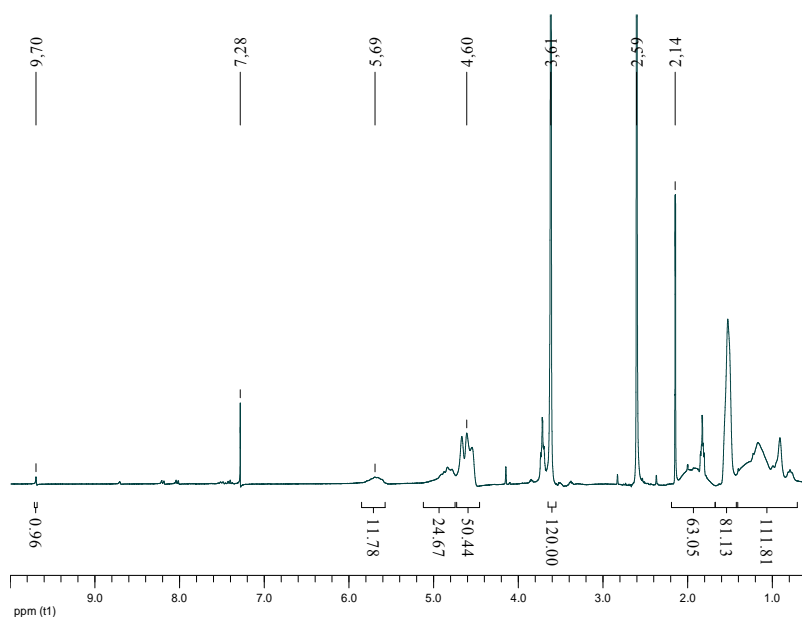


Abbildung 166: ^1H -NMR-Spektrum von PI-PEO-20.2-Aldehyd

4.9.3.1 Immobilisierung der Aldehyd-Polymersomen im MF-Kanal

Aus dem PI-PEO-20.2-Aldehyd-Blockcopolymer wurde mittels der Film-Hydratations-Methode eine Polymersomenlösung präpariert, die mit dem Farbstoff Nile Red angefärbt und anschließend in einen mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal geleitet. In Abbildung 167 wird eine FLM-Aufnahme von Polymersomen in einem MF-Kanal im „*steady state*“ gezeigt. Nur unter diesen Bedingungen ist eine Immobilisierung, durch Ausbildung einer Schiff'-schen Base, möglich.

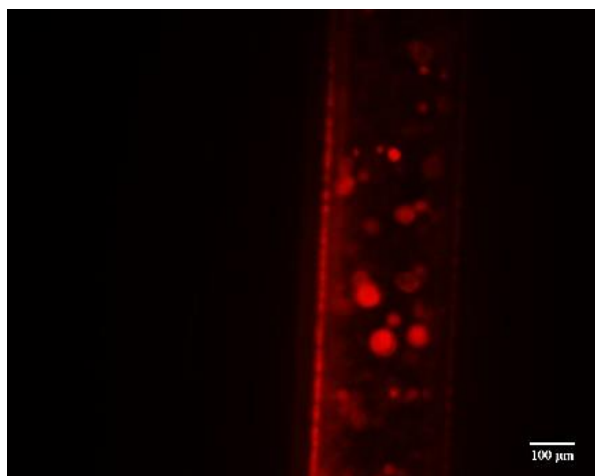


Abbildung 167: FLM-Aufnahme von Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal bei einer Flussgeschwindigkeit von $0 \mu\text{L/h}$

Um eine ausreichende Anzahl an immobilisierten Polymersomen im MF-Kanal zu erreichen, ist eine Anhaftungszeit von 18 Std von Nöten. In Abbildung 168 sind exemplarisch zwei FLM-Aufnahmen von immobilisierten Aldehyd-funktionalisierten Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal gezeigt.

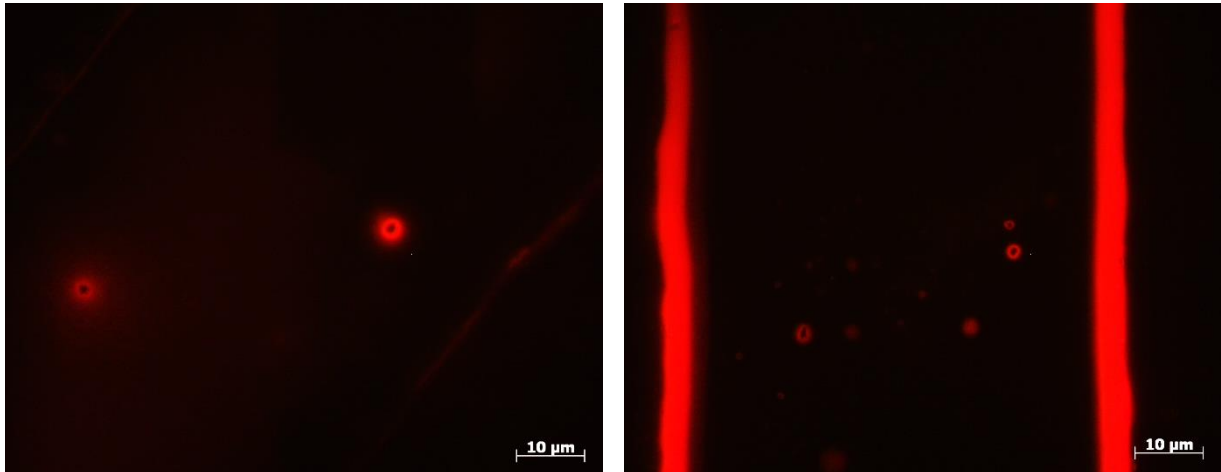


Abbildung 168: FLM-Aufnahmen von immobilisierten Aldehyd-funktionalisierten Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal

Eine 3D-CLSM-Aufnahme von einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal, in dem aldehydfunktionalisierte Polymersomen immobilisiert sind, zeigt Abbildung 169. Hier sind die aufgrund der flexibleren Polymersomenmembran typischen, flachen immobilisierten PI-PEO-Vesikelformen mit Pfeilen markiert.^[140]

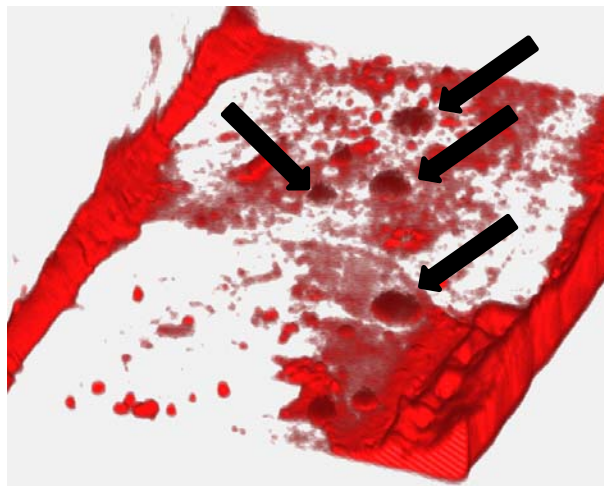


Abbildung 169: 3D-CLSM-Aufnahmen von immobilisierten Aldehyd-funktionalisierten Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass es möglich ist, Aldehyd-funktionalisierte Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal zu immobilisieren.

4.9.4 Avidinbeschichtung der MF-Kanäle

Nachdem die kovalente Immobilisierung von Polymersomen im MF-Kanal gezeigt wurde, soll im Folgenden die Protein-Liganden-vermittelte Immobilisierung von biotinylierten und Kohlenhydrat-gebunden Polymersomen im proteinbeschichteten MF-Kanal vorgestellt werden. Als Modellsystem der Protein-Liganden-Bindungen wurden ein Biotin-Avidin- und ein Lektin-Kohlenhydrat-System getestet. Die stärksten und bekanntesten Proteinkomplexe mit relativ einfachen organischen Molekülen treten bei der Bindung von Biotin mit Avidin und Streptavidin auf. Die Assoziationskonstante des Streptavidin-Biotin-Komplexes beträgt $2,5 \cdot 10^{13} \text{ mol}^{-1}$, die Gibbs-Bindungsenergie $-18 \text{ kcal mol}^{-1}$. Der ΔG -Wert des Avidin-Biotin-Komplexes beträgt sogar $-21 \text{ kcal mol}^{-1}$. Wichtiger Bestandteil des Bindungsvorgangs ist eine Aufklappbewegung des Proteins, welche die Bindung von Biotin erleichtert.^[229]

4.9.4.1 Säurefunktionalisierung der MF-Kanals

Die Proteinbeschichtung konnte wie im Folgenden dargestellt realisiert werden. Die Aminogruppen des beschichteten MF-Kanals wurden mittels Maleinsäureanhydrid, wie in Abbildung 170 dargestellt, zu Carbonsäuren umgesetzt.

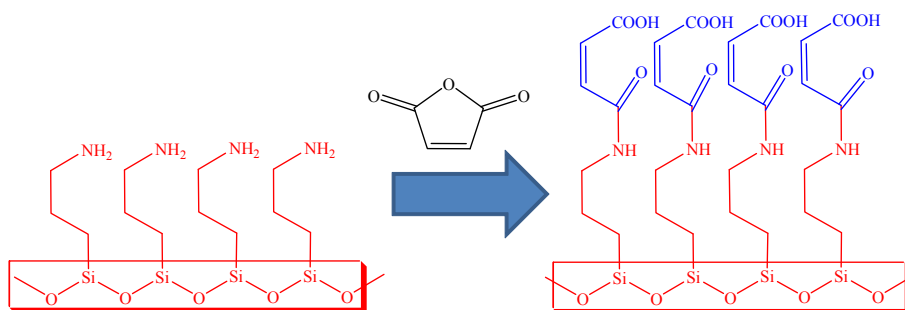


Abbildung 170: Säurefunktionalisierung des mit aminierte Glas beschichteten MF-Kanals ^[230]

Ami

Die Funktionalisierung konnte anschließend mit Hilfe des Indikators Thymolblau nachgewiesen werden. Der Indikator erscheint im neutralen Bereich gelb und schlägt seine Farbe im Säuren zu Rot um. In den Aufnahmen (Abbildung 171) ist die Farbveränderung der Thymolblaulösung nach dem Durchfluss durch den säurefunktionalisierten MF-Kanal im Vergleich zu den mit TEOS-verglasten (-OH) und dem mit aminierte Glas beschichteten MF-Kanal (-NH₂) deutlich zu erkennen.

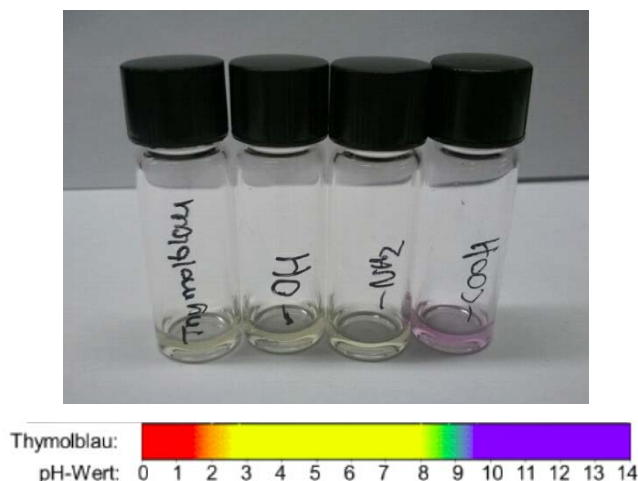


Abbildung 171: Thymolblau nach Durchfluss durch hydroxy-, amino- und säurefunktionalisierte MF-Kanäle (oben) und pH-Wert-Farbskala von Thymolblau (unten)

Anhand der UV-VIS-Spektren, wie sie in Abbildung 172 dargestellt sind, wird durch die Veränderung der Absorptionsmaxima von 429 nm bei der reinen Thymolblaulösung (gelbes Spektrum) über 436 nm des TEOS verglasten (violett Spektrum) und des mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanals (oranges Spektrum) bis hin zum Absorptionsmaximum von 548 nm beim säurefunktionalisierten MF-Kanal die Farbveränderung und somit die erfolgreiche Umsetzung deutlich.

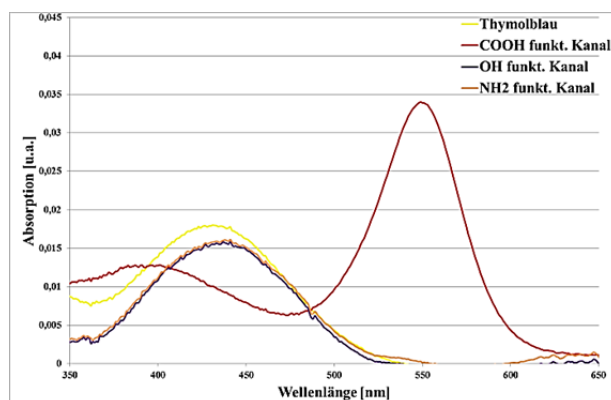


Abbildung 172: UV/Vis-Spektren von Thymolblau in aminierten, hydroxy- und säurefunktionalisierten Glas beschichteten MF-Kanäle

4.9.4.2 Avidinbeschichtung im MF-Kanal

Anschließend konnten über eine NHS-Aktivierung der Carbonsäuren das Avidin-D und Streptavidin kovalent an die Oberfläche des MF-Kanals gebunden werden.^[124, 126, 192] Die Protein-

beschichtung wurde im Anschluss durch die Anbindung eines biotinylierten Fluorescein nachgewiesen.

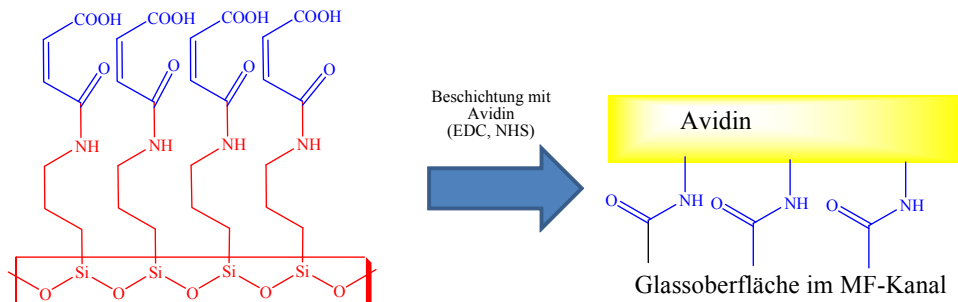


Abbildung 173: Kovalente Avidinbeschichtung des säurefunktionalisierten MF-Kanals^[124, 126]

In Abbildung 174 sind die FLM-Aufnahmen des Avidin-D-Nachweises mit biotinylierten Fluorescein sowie das Linienprofil der beiden Aufnahmen gezeigt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die schwarz umrandete Aufnahme (Avidin-D beschichteter MF-Kanal) eine intensivere Fluoreszenz zeigt als die Aufnahme mit dem roten Rahmen (säurefunktionalisierten MF-Kanal). Im Linienprofil sind die unterschiedlichen Fluoreszenzintensitäten der beiden Kanäle gezeigt.



Abbildung 174: FLM-Aufnahme des Avidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin

Eine 3D-CLSM-Aufnahme des Avidin-D-beschichteten MF-Kanals, wie sie in Abbildung 175 dargestellt ist, zeigt die Proteinschicht auf der Oberfläche des MF-Kanals.

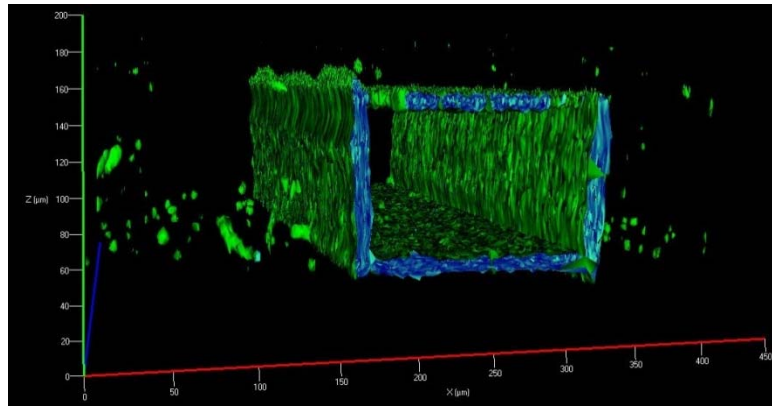


Abbildung 175: 3D-CLSM-Aufnahme des Avidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin

Analog zum Nachweis des Avidin-D's konnte auch, wie in Abbildung 176 dargestellt, das Streptavidin nachgewiesen werden. Auch hier zeigt die Aufnahme mit dem schwarzen Rahmen (Streptavidin beschichteter Kanal) eine höhere Fluoreszenz an den Kanalwänden als die Kontrollaufnahme des säurefunktionalisierten Kanals mit dem roten Rahmen. Das Linienprofil der beiden Aufnahmen verdeutlicht den Unterschied in den Fluoreszenzintensitäten.

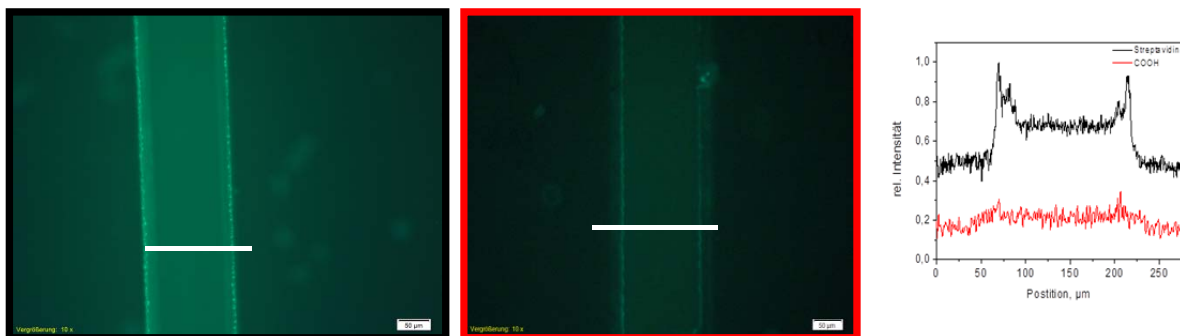


Abbildung 176: FLM- Aufnahme des Streptavidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin

Die 3D-CLSM-Aufnahme des Streptavidin beschichteten Kanals, wie in Abbildung 177 dargestellt, zeigt wieder die Proteinschicht auf der Oberfläche des MF-Kanals.

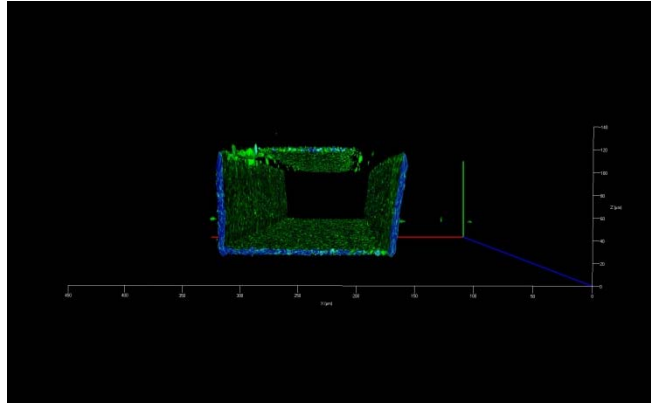


Abbildung 177: 3D-CLSM-Aufnahme des Streptavidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin

Als Alternative zur kovalenten Anbindung des Avidin konnte auch die Protein-Liganden-Anbindung von Avidin im MF-Kanal realisiert werden. Dazu wurden, wie in Abbildung 178 schematisch dargestellt, die Oberfläche des mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanals mit NHS-Biotin umgesetzt und anschließend mit FITC-Biotin beschichtet.^[83, 196]

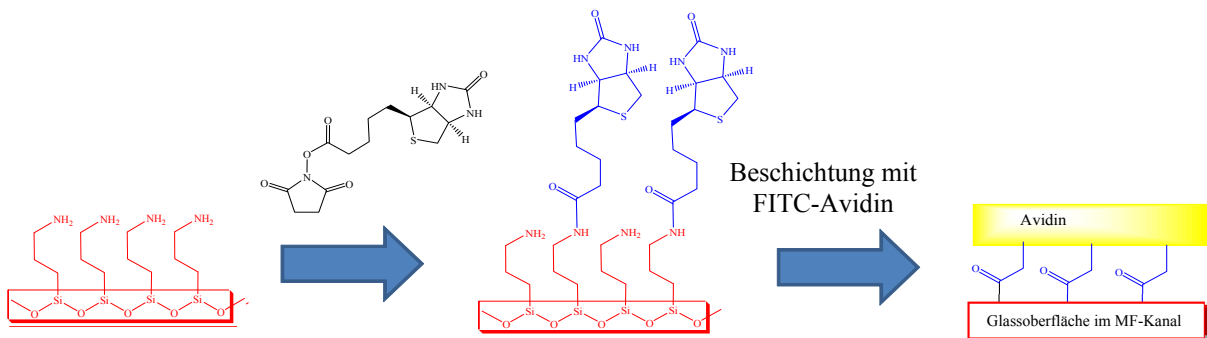


Abbildung 178: Protein-Liganden-Bindung des Avidin an die Oberfläche des mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanals, basiert auf Lit.^[83]

Die 3D-CLSM-Aufnahmen des beschichteten Kanals zeigen eine sehr homogene Proteinbeschichtung.

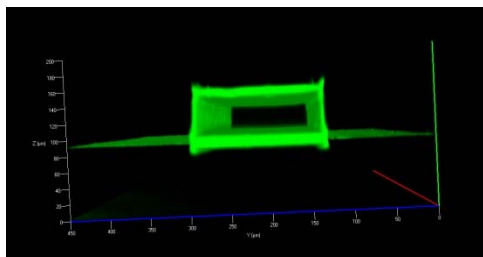


Abbildung 179: 3D-CLSM-Aufnahme mit FITC-Avidin beschichteten MF-Kanals^[83]

4.9.4.3 Immobilisierung von biotinylierten Polymer-somen im avidinbeschichteten MF-Kanal

Nachdem die MF-Kanäle mit den Proteinen erfolgreich beschichtet wurden, konnte nun im Folgenden, wie schematisch in Abbildung 180 dargestellt, die Immobilisierung von biotinylierten Polymersomen aus Abschnitt 4.2.1 im avidinbeschichteten MF-Kanal untersucht werden.

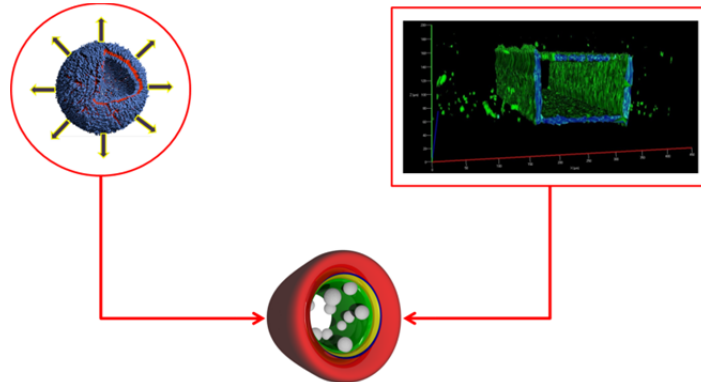


Abbildung 180: Schematische Darstellung der Immobilisierung der biotinylierten Polymersomen in avidinbeschichteten MF-Kanälen

Dazu wurden die Polymersomen mit einer Flussgeschwindigkeit von $10 \mu\text{L/h}$ durch den mit Avidin-D kovalent gebundenen Kanal gespült. Bereits nach 2 Minuten konnten immobilisierte Strukturen mittels Fluoreszenz- und Konfokalmikroskopie, wie in Abbildung 181 gezeigt, beobachtet werden.

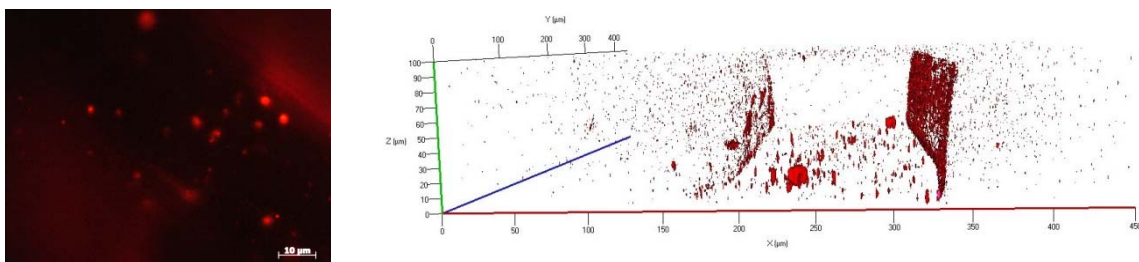


Abbildung 181: FLM- (links) und 3D-CLSM-Aufnahmen (rechts) von biotinylierten Polymersomen im avidinbeschichteten MF-Kanal während Pufferdurchfluss von $10 \mu\text{L/h}$

Die Immobilisierung der biotinylierten Polymersomen wurde weitergehend mit Hilfe einer Hochgeschwindigkeitskamera untersucht. Dabei konnte ein Video aufgenommen werden, das

4 im Fluss befindliche Polymersomen zeigt, wovon eines immobilisiert. In Abbildung 182 sind Standbilder aus diesem Video bei unterschiedlichen Zeiten (0 s / 1,4 s / 3,0 s und 3,3 s) gezeigt. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich zunächst alle 4 bunt markierten Polymersomen von rechts nach links bewegen. Zwischen den Zeitabschnitten 3,0 und 3,3 s bewegen sich jedoch nur noch 3 dieser Polymersomen (grün, orange und blau markiert). Das rot markierte Polymersomen blieb folglich an der Kanalwand haften.

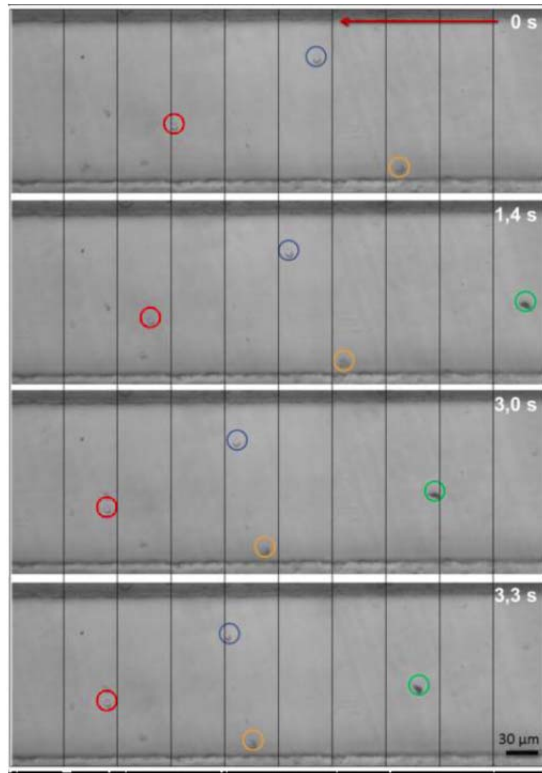


Abbildung 182: Standbilder aus dem mittels einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommenen Video nach unterschiedlichen Zeiten (0 s, 1,4 s, 3,0 s, 3,3 s)

Auch im MF-Kanal, in dem das FITC-Avidin über die Protein-Liganden-Bindung beschichtet wurde, konnten nach 5 Minuten und einer Flussgeschwindigkeit von 50 µL/h biotinylierte Polymersomen immobilisiert werden. In Abbildung 183 sind die 3D-CLSM-Aufnahmen der immobilisierten Polymersomen gezeigt.

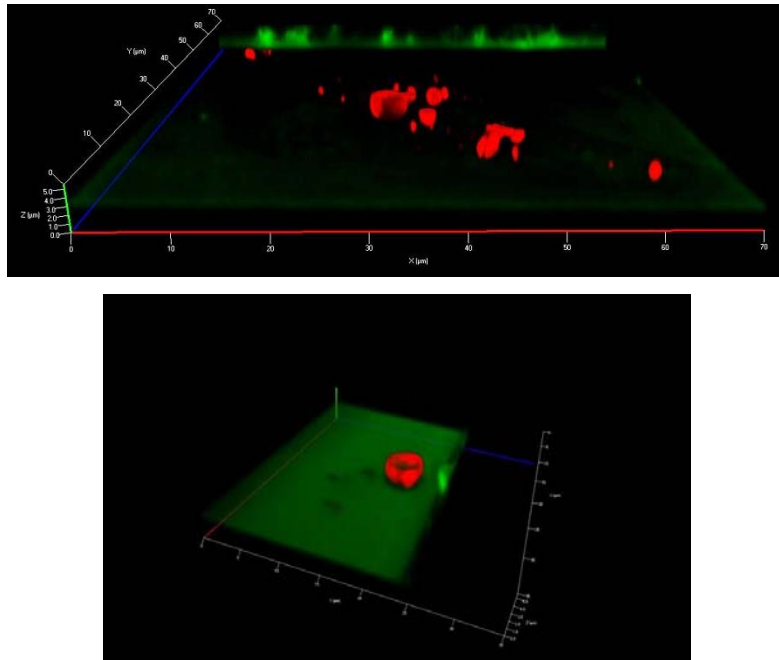


Abbildung 183: 3D-CLSM-Aufnahmen von biotinylierte Polymersomen im avidinbeschichteten MF-Kanal (Protein-Liganden-Bindung) während Pufferdurchfluss von 50 $\mu\text{L/h}$ ^[83]

4.9.4.4 Immobilisierung von zuckerfunktionalisier-ten Polymersomen

Nachdem die Immobilisierung der biotinylierte Polymersomen erfolgreich gezeigt werden konnte. Soll im Folgenden das Adhäsionsverhalten von Zucker funktionalisierten Polymersomen untersucht werden. Dazu wurde ein biotinyliertes Lektins, wie in Abbildung 184 dargestellt, die Oberfläche der Avidin beschichteten Kanalwand gebunden. Für die Untersuchungen wurde ein biotinyliertes Sojabohnen Agglutinin (SBA), welches spezifisch an *N*-Acetyl- α -D-Galactosamin und β -D-Galactose bindet, verwendet.

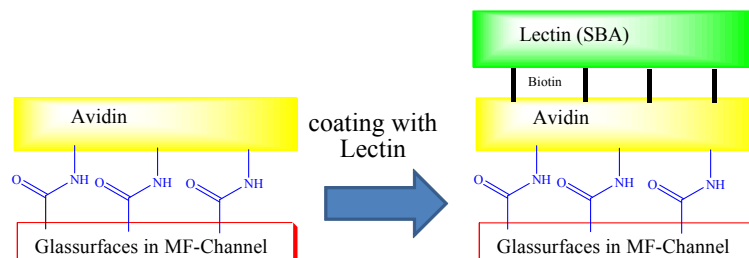


Abbildung 184: Schematische Darstellung der Lektin-Beschichtung über eine Avidin-Biotin-Sandwich-Bindung

Eine HEPES-Pufferlösung des biotinylierten Lektins mit einer Konzentration von 1 mg/ml wurde über Nacht in die avidinbeschichteten Kanäle geben, luftdicht bei 4 °C gelagert und am nächsten Tag mit freigespült.

Aus dem Zucker-funktionalisierten Polymer von Abschnitt 4.2.4 wurden mittels der Einspritzmethode in HEPES-Puffer (10 mg/ml) die Überstrukturen präpariert und anschließend mit einer Flussgeschwindigkeit von 10 µl/h durch die lektinbeschichteten MF-Kanäle geleitet. Bereits nach wenigen Sekunden konnten erste adhärierte Polymerstrukturen im Kanal beobachtet werden, wie in der FLM-Aufnahmen von Abbildung 185 zu sehen ist. Einige davon sind durch blaue Kreise markiert. Die FLM-Aufnahme zeigt einen Ausschnitt des MF-Kanals mittels Fluoreszenzmikroskopie. Während der Aufnahme wurde die Lösung weiterhin mit 10 µl/h durch den Kanal geleitet. Des Weiteren sind bewegende Polymerstrukturen zu erkennen, die aufgrund der langen Belichtungszeit als Striche erscheinen (markiert durch einen gelben Kreis).

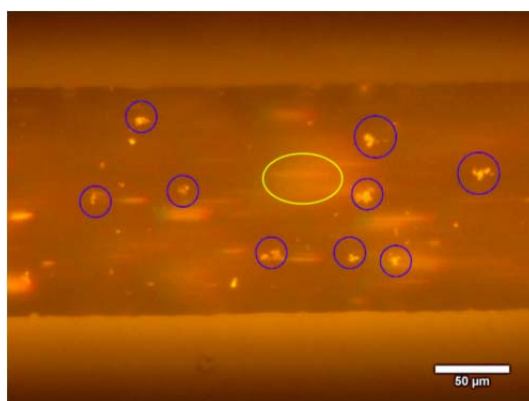


Abbildung 185: FLM-Aufnahme von Nile Red markierten, Galactose-funktionalisierten Polymerstrukturen im einem biotinylierten SBA-Lektin beschichteten MF-Kanal bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 10 µl/h

Nach einer Durchflusszeit der Polymerlösung von 5 Minuten wurde der MF-Kanal mit reinem HEPES-Puffer für 45 Minuten durchgespült, so dass alle nicht immobilisierten Polymerstrukturen aus dem MF-Kanal entfernt worden sind. Anschließend wurde dieser Kanal nach adhären Strukturen untersucht. Während der Untersuchung wurde weiterhin konstant mit einer 10 µl/h-Pufferlösung durch den Kanal gepumpt, um sicher zu gehen, dass die Strukturen tatsächlich immobilisiert sind. Abbildung 186 gibt einen Überblick über die detektierten Strukturen. Dazu wurden bei diesem Versuch in regelmäßigen Abständen Aufnahmen des MF-Kanals angefertigt. Die Aufnahmen zeigen, dass entlang des Kanalverlaufs einige adhären Polymerstrukturen zu finden sind. Zudem ist auffällig, dass am Anfang des Kanals die Anzahl

an adhärennten Strukturen erhöht ist. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die Lektinbeschichtung am Anfang des Kanals dichter ist als am Ende.

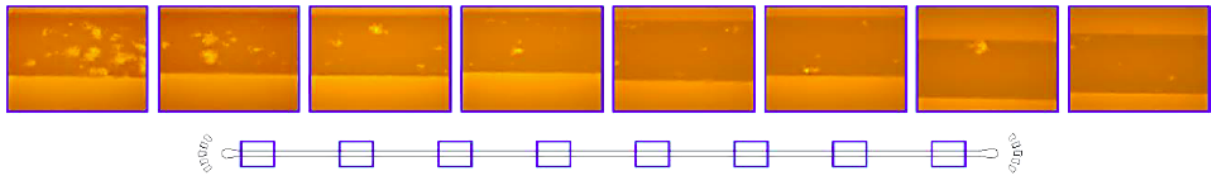


Abbildung 186: Nile Red angefärbte Polymerstrukturen aus Galactose-funktionalisiertem PEO-PLA immobilisiert im mit biotinyliertem SBA-Lektin beschichteten MF-Kanal

Während der Mikroskopie wurde konstant mit 10 $\mu\text{l/h}$ -HEPES-Puffer durch die Kanäle gespült. Als Negativkontrolle wurden die funktionalisierten Polymersomen durch einen nicht proteinbeschichteten MF-Kanal unter identischen Bedingungen geleitet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 187 zusammengefasst. Aus ihnen geht eindeutig hervor, dass nur sehr wenige kleine adhärennte Strukturen zu finden sind. Daraus lässt sich schließen, dass die mit Galactose funktionalisierten Polymerstrukturen im lektinbeschichteten MF-Kanal hauptsächlich über spezifische Wechselwirkungen zwischen Galactose und dem SBA-Lektin im Kanal haften

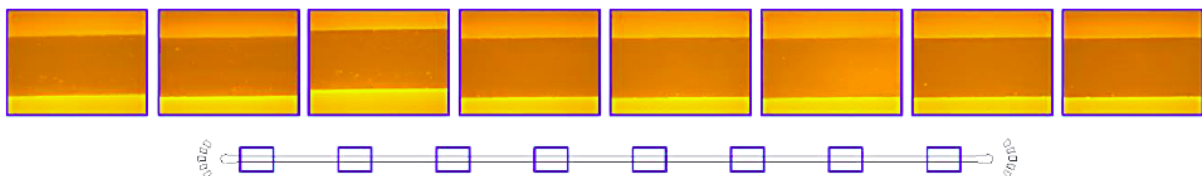


Abbildung 187: Nile Red angefärbte Polymerstrukturen aus Galactose-funktionalisiertem PEO-*b*-PLA im unbeschichteten PDMS-Mikrokanal

Während der Mikroskopie wurde konstant mit 10 $\mu\text{l/h}$ -HEPES-Puffer durch die Kanäle gespült. Die abgebildeten Kanäle haben eine Breite von 150 μm .

5 Experimenteller Teil

5.1 Verwendete Geräte

5.1.1 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Alle NMR-Spektren an der Universität Hamburg wurden von *INGE SCHULT* oder *CHRISTOPH WUTZ* mit einem Gerät von Bruker des Typs AMX-400 (400 MHz) und an der Universität Bayreuth mit einem Gerät der Firma Bruker des Typs Avance 300 Spektrometer (300 MHz) jeweils bei 298 K aufgenommen. Als Lösungsmittel dienten bei allen Proben deuteriertes Chloroform bzw. Wasser von Aldrich. Die Kalibrierung der Signale erfolgte auf das protonierte Signal des Lösungsmittels. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm MestRec Version 4.5.6.0.

5.1.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Für die GPC-Analysen wurden vier Trennsäulen (je 300 x 8 mm, SDplus, 5 μm) von MZ verwendet. Die Durchmesser der Poren der Säulenfüllung betragen in Fließrichtung: 10^6 , 10^5 , 10^3 und 100 \AA und wurden auf 25 °C temperiert. Die hergestellten Polymere wurden mit einer Konzentrationen von 1,5-3,0 g/L in Chloroform bzw. THF als Elutionsmittel gemessen. Die Lösungsmittel wurden mit einem Entgaser der Firma Uniows (DP 2010) entgast. Die GPC-Pumpe wurde von Thermo Separation Products (P100) bezogen und wurde mit einer Flussrate bei allen Messungen von 1,0 mL/min betrieben. Die Detektion der Signale erfolgte mit einem UV-Detektor (Spectra Series UV150) sowie einem RI-Detektor (Shodex 71). Die Kalibration erfolgte mittels engverteilter Polymerstandards der Firma PSS. Die Messwertaufnahme, sowie die Auswertung der aufgenommenen Daten erfolgte mit der Software HS NTeqGPC, Version 5.1.5.

5.1.3 MALDI-ToF-Analysen

Die MALDI-ToF-MS-Messungen erfolgten an der Universität Hamburg an einem an einem M@ldi L, einem linearen Instrument der Firma Micromass Ltd. (jetzt Waters), welcher mit einem Stickstofflaser ($\lambda = 337 \text{ nm}$) ausgerüstet war. Die *Source Voltage* betrug während der

Messungen 15000 V, die *Pulse Voltage* 2000 V. Zur Detektion und Auswertung der Messdaten kam das Programm MassLynx™ 4.0 zur Anwendung. An der Universität Bayreuth wurden die MALDI-ToF-MS-Messungen am Lehrstuhl für Makromolekulare Chemie 2 von ANNIKA PFAFFENBERGER, MELANIE FÖRTSCH oder CHRISTOPHER SYNATSCHKE mit einem Gerät der Firma Bruker des Typs Reflex III durchgeführt. Das Gerät ist ausgestattet mit einem Stickstofflaser ($\lambda = 337$ nm) im Reflektron und Linear Modus bei einer 20 kV Beschleunigungsspannung. Zur Bestimmung der molekularen Masse und als Ionisierungsreagenz wurden als Matrix Silbertrifluoacetat (AgTFA) und Trans-2-[3-(4-tert-butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene]malononitril (DCTB) verwendet.

5.1.4 UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Spektren wurden mit einem Gerät der Firma Agilent des Typs 8453 UV-Vis-Spektrometer sowie dem Programm Spectrophotometer (Online) [UV-Vis] aufgenommen. (Die Auswertung erfolgte mit dem Programm Microsoft Excel 2010.)

5.1.5 Fluoreszenzspektroskopie

Die 2D- und 3D-Fluoreszenzspektren wurden mit dem Gerät der Firma Jasco des Typs FP-6500 Spektrofluorometer sowie dem Programm Jasco-Spectra-Manager aufgenommen. Die Messungen wurden in THF mit einer Polymerkonzentration von 1-2 mg/mL durchgeführt. (Die Auswertung der Spektren erfolgte mit dem Programm Microsoft Excel 2010.)

5.1.6 UV-Lampe

Die photoinduzierte Thiol-Ene-Click-Reaktionen wurden mit einer UV-Lampe des Typs HBO 50 Quecksilberdampf-Kurzbogen L1 durchgeführt.

5.1.7 NEMESYS-Spritzenpumpen

Um bei den Experimenten in den mikrofluidischen Kanälen die eingesetzten Lösungen mit einer gleichmäßigen Flussrate durchleiten zu können, wurden Präzisions-Spritzenpumpen der Firma Cetoni GmbH des Typs *neMESYS* (*New Modular Extensible Syringe Pump System*)

verwendet. Diese Spritzenpumpen ermöglichen gleichmäßige und pulsationsfreie Fluidströme in Bereichen von Millilitern und Nanolitern pro Sekunde und genaueste Dosierung kleinster Fluidmengen. Zudem ist das Pumpensystem genau auf die verwendeten Spritzen (hier: *Hamilton* 1-0,5 ml Glaspritzen) einstellbar. Der Aufbau erfolgte mittels dreier Dosiereinheiten, welche unabhängig voneinander mit Hilfe des *NEMESYS® User-Interface v1.29* steuerbar sind.

5.1.8 Durchlicht- und Fluoreszenzmikroskopie

Für alle durchlicht- und fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden die inversen Mikroskope der Firma Zeiss des Typs Axiovert S100 oder Firma Olympus des Typs IX71 verwendet. Beide Mikroskope waren mit einer digitalen Mikroskopkamera ausgestattet (Zeiss AxioCam HRc und Olympus XC30). Die Untersuchungen der Polymersomen und / oder der MF-Kanäle erfolgte durch Objektive mit 4-, 10-, 20-, 40- und 100-facher Vergrößerung. Das Objektiv mit der 100-fachen Vergrößerung war ein Ölimmersionsobjektiv.

5.1.9 Konfokale Laser-Rastermikroskopie

Alle CLSM-Aufnahmen wurden an einem Gerät des Typs Zeiss LSM 710 in Verbindung mit der Software ZEN 2008 aufgenommen. Dabei konnten mehrere Laser (Argon: 458 nm, 488 nm, 514 nm; HeNe: 543 nm, 633 nm; Diode: 405 nm) und Objektive (5x, 10x, 20x, 63x, 100x) verwendet werden. In der Regel wurde das 63-fach-Ölimmersionsobjektiv für die Untersuchungen eingesetzt.

5.1.10 Cryo-TEM

Die Cryo-TEM-Messungen wurden an der Universität Bayreuth, Institut für Makromolekülforschung von *MARKUS DRECHSLER* an einem Gerät des Typs Zeiss EM922 Omega durchgeführt.

5.2 Aufreinigungen der verwendeten Materialien

Alle verwendeten Chemikalien wurden von Sigma-Aldrich Co. LLC, Vereinigte Staaten, Acros Organics, Belgien und anderen Anbietern erworben und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Lösungsmittel wurden wenn nötig vor der Verwendung im Vakuum destilliert. Das THF wurde über Natrium/Kalium-Legierung und das Chloroform wurde über P_2O_5 und CaH_2 getrocknet. Als Indikator für die THF-Trocknung diente Benzophenon.

Die Polymerisationsreaktionen wurden in einer geschlossenen Glasanlage unter Argon-Atmosphäre durchgeführt. Das Argon wurde zuvor über eine Phosphorpentoxid/Orangegelesäule und anschließend in drei Waschflaschen mit einer Natrium-Kalium-Legierung in Bis(2-methoxyethyl)ether (Diglyme) getrocknet.

Alle anderen luftempfindlichen Reaktionen wurden unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Der Stickstoff wurde zur Trocknung über eine Phosphorpentoxid/Orangegelesäule geleitet.

5.2.1 Aufreinigung des Ethylenoxids

Für das Ethylenoxid wurde unter Inertgasatmosphäre eine dreistufige Aufreinigungskaskade bei -50 °C für jeweils 30 bis 60 min durchgeführt. Im ersten Schritt wurde das EO über Calciumhydrid, im zweiten Schritt über einem Natriumspiegel und im letzten Schritt über *sec*-Butyllithium gerührt. Die Abmessung der EO-Menge erfolgte in einer graduierten Glasampulle.

5.2.2 Aufreinigung des Isoprens

Für das Isopren wurde unter Inertgasatmosphäre eine zweistufige Aufreinigungskaskade bei 70 °C für jeweils 60 min durchgeführt. Im ersten Schritt wurde das Isopren über Calciumhydrid und im letzten Schritt über Dibutylmagnesium gerührt.

5.2.3 Aufreinigung des ϵ -Caprolactons

Für das ϵ -Caprolacton wurde unter Inertgasatmosphäre eine zweistufige Aufreinigungskaskade durchgeführt. Im ersten Schritt wurde das ϵ -Caprolacton mehrere Tage über Phosphorpentoxid und im zweiten Schritt zwei Tage über Calciumhydrid gerührt. Anschließend wurde das

Monomer mittels einer fraktionierten Vakuumdestillation bei 90 °C auf ein aktiviertes Molekularsieb kondensiert und aufbewahrt.

5.3 Allgemeine Synthesevorschriften zur Darstellung der Polymere

5.3.1 Darstellung des Diphenylmethylkaliums

In 20 mL THF werden 4,23 g (33,0 mmol, 1,10 eq) Naphthalin gelöst, anschließend mit 1,17 g (29,9 mol, 1,00 eq) Kalium versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Die resultierende tief dunkelgrüne Naphthylkaliumlösung wurde mit 5,53 mL (330 mmol, 1,10 eq) Diphenylmethan versetzt und weitere 3 Tage bei RT gerührt, bis die Lösung eine tief-dunkelrote Farbe annahm.

5.3.2 Darstellung des Polyisopren-Homopolymers

Das aufgereinigte Isopren wurde auf gefrorenes abs. THF kondensiert. Nachdem das abs. THF vollständig geschmolzen war, wurde durch Hinzugabe von *sec*-BuLi die Polymerisation initiiert. Die Reaktion wurde bei – 60 °C über Nacht gerührt und anschließend mit getrocknetem EO abgebrochen. Zur Aufreinigung erfolgte die Fällung des Polymers aus kaltem Methanol.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 3,6 (s, 4H, H-16, H-17); 1,6 – 2,3 (m, 5H, H-6, H-12, H-15); 1,5 (s, 6H, H-7, H-13); 0,8 – 1,4 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.3.3 Darstellung des Polyisopren-Polyethylenoxid-Blockcopolymers

Das Polyisopren-Homopolymer wurde in ca. 800 mL abs. THF gelöst und mit Diphenylmethylkalium bis zum Äquivalenzpunkt titriert. Anschließend wurde das aufgereinigte EO auf die Polyisopren/THF-Lösung kondensiert und für drei Tage in einem Wasserbad bei 40 °C gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgte mittels 2 mL Eisessig. Zur Aufreinigung erfolgte die Fällung des Polymers aus kaltem Aceton.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 3,6 (s, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 1,6 – 2,3 (m, 5H, H-6, H-12, H-15); 1,5 (s, 6H, H-7, H-13); 0,8 – 1,4 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.3.4 Darstellung des Polyethylenoxid-Homopolymers

In 800 mL abs. THF wurden 991 mg (7,23 mmol, 1 eq) Tyramin gelöst und mit 7,23 mL (7,23 mmol, 1 eq) Phosphazenenbase versetzt. Anschließend wurden 70 mL (1,4 mol, 193 eq) des aufgereinigten EO aufkondensiert. Die Reaktionslösung rührte für drei Tage bei 40 °C. Der Abbruch geschah durch Zugabe von 2 mL Eisessig. Zur Aufreinigung erfolgte die Fällung des Polymers aus kaltem Diethylether.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,11 (d, 2H, H-3); 6,86 (d, 2H, H-4); 4,07 (m, 2H, H-5); 3,86 (m, 2H, H-6); 3,6 (s, 4H, H-7, H-8); 3,39 (m, 4H, H-9, H-10); 2,66 (m, 4H, H-1, H-2).

5.3.5 Darstellung des Polyethylenoxid-Polylactid-Blockcopolymers

Das Polyethylenoxid-Homopolymer wurde in ca. 800 mL abs. THF gelöst und mit Diphenylmethylkalium bis zum Äquivalenzpunkt titriert. Anschließend wurden ca. 50 g/L des Lactids in abs. THF gelöst und mittels einer Umdrucknadel in die Polyethylenoxid/THF-Lösung überführt. Das Reaktionsgemisch rührte daraufhin für sechs Stunden bei RT. Der Abbruch der

Reaktion erfolgte mittels 2 mL Isopropanol. Zur Aufreinigung erfolgte die Fällung des Polymers aus kaltem Isopropanol.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,11 (d, 2H, H-3); 6,86 (d, 2H, H-4); 5,13 (m 2H, H-11, H-13); 4,13 (m, 3H, H-10, H-15); 4,07 (d 2H, H-5); 3,86 (m, 4H, H-6, H-9); 3,6 (s, 4H, H-7, H-8); 3,39 (m, 4H, H-9, H-10); 2,66 (m, 4H, H-1, H-2); 1,54 (m 9H, H-12, H-14, H-16).

5.3.6 Darstellung des Polycaprolacton-Homopolymers

9,4 mL (88 mmol) des aufgereinigten ϵ -Caprolactons wurde in 500 mL abs. THF gelöst und mit 2,1 mL (3,5 mmol) einer 1,65-molaren DPMK-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 Std. bei RT gerührt und mit Isopropanol abgebrochen. Zur Aufreinigung erfolgte die Fällung des Polymers aus kaltem *n*-Heptan. Der daraus resultierende Feststoff wurde in 200 mL Dichlormethan gelöst und dreimal mit je 150 mL Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden vereinigt und mit 100 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingengt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,37 – 7,22 (m, 10H, H_{arom}); 5,02 – 4,98 (m, 1H, H-1); 4,09 – 4,05 (t, 2H, H-6); 3,63 (dd, 2H, H-7); 2,35 – 2,26 (t, 2H, H-2); 1,71 – 1,55 (m, 4H, H-3, H-5); 1,46 – 1,34 (m, 2H, H-4).

5.4 Darstellungen der niedermolekularen Verbindungen

5.4.1 Darstellung des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl-*N*-3-triethoxysilylpropylaminopropanoats

2,21 g (9,99 mol, 1,0 eq) 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES) und 2,86 g (9,99 mmol, 1,0 eq) 1,1,5-Trihydrooctafluoroamylacrylat wurden bei RT zusammengegeben und einen Tag gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum bis zur Trockne eingengt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

6,01 – 6,00 (m, 1H, H-9); 4,65 – 4,55 (m, 1H, H-8); 3,92 – 3,65 (m, 6H, H-2); 3,00 – 2,82 (m, 2H, H-6); 2,73 – 2,45 (m, 4H, H-7, H-5); 1,63 – 1,57 (m, 2H, H-4); 1,35 – 0,86 (m, 9H, H-1), 0,71 – 0,55 (m, 2H, H-3).

5.4.2 Darstellung der 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl-*D*-Galactose

15 g (0,09 mol, 1,0 eq) Galactose wurden in 500 mL Essigsäureanhydrid gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung im Vakuum eingengt und in Dichlormethan aufgenommen und mehrfach mit 1,0 M Salzsäure und ges. Na_2CO_3 -Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

5,68 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-1); 5,41 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H, H-3); 5,31 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-2); 5,07 (dd, $J = 3,4$ Hz, 7,0 Hz, 1H, H-4); 4,0 - 4,2 (m, 2H, H-6); 2,21 (s, 3H, H-7); 2,14 (s, 3H, H-8); 2,02 (br, 6H, H-10, H-9); 1,97 (s, 3H, H-11).

5.4.3 Darstellung des Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromids

10 g (25,62 mmol, 1,0 eq) Tetra-*O*-acetyl-D-Galactose wurden in 42,7 mL Essigsäure sowie 60 mL (0,98 mol, 4,0 eq) 33-%igen HBr in Eisessig gelöst und 4 Std. gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 340 mL Eiswasser gegeben und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mehrfach mit einer ges. NaCl-Lösung und ges. NaHCO₃-Lösung extrahiert über Magnesiumsulfat getrocknet sowie das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ /ppm) =

6,70 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H, H-1); 5,52 (dd, $J = 3,3, 1,3$ Hz, 1H, H-3); 5,44 – 5,38 (m, 1H, H-2); 5,08 – 5,02 (m, 1H, H-5); 4,49 (t, $J = 6,4$ Hz 7,4 Hz, H-4); 4,2 – 4,0 (m, 2H, H-6); 2,15 (s, 3H, H-7); 2,11 (s, 3H, H-8); 2,06 (s, 3H, H-9); 2,01 (s, 3H, H-11).

5.4.4 Darstellung des 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosylazids

8,41 g (20,5 mmol, 1 eq) Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactosylbromid wurden in der Kälte in 64 mL Dimethylformamid (DMF) gelöst und mit 4,06 g (62,5 mmol, 3,0 eq) Natriumazid versetzt. Nachdem das Reaktionsgemisch auf RT erwärmt wurde, wurde es für 24 Std. gerührt. Die Reaktion wurde durch Hinzugabe von 200 mL Ethylacetat abgebrochen und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mehrfach mit einer ges. NaHCO₃-Lösung extrahiert über Magnesiumsulfat getrocknet sowie das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ /ppm) =

5,42 (dd, $J = 3,4, 1,1$ Hz, 1H, H-3); 5,20 – 5,12 (m, 1H, H-4); 5,07 – 5,01 (m, 1H, H-2); 4,60 (d, $J = 8,7$ Hz, H-1); 4,2 – 4,0 (m, 2H, H-6); 2,17 (s, 3H, H-7); 2,09 (s, 3H, H-8); 2,06 (s, 3H, H-9); 1,99 (s, 3H, H-11).

5.4.5 Darstellung des 1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosids

7,53 g (20,1 mmol) des 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosylazids wurden in 100 mL abs. Methanol gelöst und mit katalytischen Mengen Natriummethanolat versetzt. Das Gemisch wurde 4 Std. bei RT gerührt und anschließend mit einer Spatelspitze Amberlite IR 120 neutralisiert. Die Lösung wurde über Aktivkohle und Celite filtriert und das Produkt im Hochvakuum zur Trockne eingeengt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , δ/ppm) =

4,57 (dd, $J = 8,9$ Hz, 1H, H-1); 3,87 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H, H-3); 3,74 – 3,64 (m, 3H, H-6, H-5); 3,63 – 3,56 (m, 1H, H-4); 3,46 – 3,38 (m, 1H, H-2).

5.4.6 Darstellung des *N*-Boc-2-bromoethylamins

6,4 g (14,56 mmol, 1,0 eq) des 2-Bromoethylaminhydrobromids wurden in 100 mL abs. THF gelöst und mit 3,2 g (63,35 mmol, 4,3 eq) Natriumhydrid versetzt. Zu dieser Lösung wurde anschließend 15,00 g (32,2 mmol, 2,2 eq) Di-*tert*-butyldicarbonat hinzugefügt und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung im Vakuum eingeengt und in Chloroform wieder aufgenommen. Die organische Phase wurde mehrfach mit einer ges. NaCl-Lösung und ges. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

3,98 (t, $J = 7,4$ Hz, 7,0 Hz, 2H, H-1); 3,48 (t, $J = 7,4$ Hz, 7,0 Hz, 2H, H-2); 1,53 (s, 9H, H-3).

5.4.7 Deacetylierung des STZ-Derivates C

110 mg (0,23 mmol) des STZ-Derivates C (DW326) wurden in 6 mL abs. Methanol gelöst und mit katalytischen Mengen Natriummethanolat versetzt. Das Gemisch wurde 3 Std. bei RT gerührt und anschließend mit einer Spatelspitze Amberlite IR 120 neutralisiert. Die gelbliche Lösung wurde über Aktivkohle und Celite filtriert und das Produkt im Hochvakuum zur Trockne eingeengt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , δ/ppm) =

6,89 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, H-1); 5,51 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H, H-3); 5,12 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H, H-2); 4,68 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H, H-5); 4,42 (t, $J = 6,2, 5,8$ Hz, 1H, H-4) 3,96 – 3,86 (m, 1H, H-6_a), 3,30 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, H-10) 3,15 – 3,03 (m, 2H, H-7); 1,64 – 1,51 (m, 4H, H-9, H-8).

5.5 Funktionalisierung der Polymere

5.5.1 Biotinylierung von PEO-PLA und PEO-PCL

11 mg (0,001 mmol, 1,0 eq) der α -aminofunktionalisierten Polyesterblockcopolymeren werden in 20 mL DMSO gelöst und mit 1 mg (0,001 mmol, 1,2 eq) Biotinamidohexanoyl-6-amino-hexansäure-*N*-hydroxysuccinimidester versetzt. Nachdem das Reaktionsgemisch über Nacht bei RT gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, filtriert und im Hochvakuum getrocknet.

$^1\text{H-NMR}$: PEO-PCL (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,11 (d, 2H, H-3); 6,99 (m, 2H, NHCONH); 6,86 (d, 2H, H-4); 4,75 (m, 2H, H-27, H-28), 4,67 (m, 2H, NH); 4,09 – 4,05 (m, 10H, H-9; H-15, H-19, H-23); 4,07 (m, 2H, H-5); 3,86 (m, 2H, H-6); 3,63 (m, 4H, H-7, H-8); 2,84 (m, 4H, H-1, H-18, H-22); 2,66 (m, 2H, H-2); 2,38 – 2,26 (m, 2H, H-26), 1,71 – 1,55 (m, 10H, H-10, H-12, H-16, H-20, H-24), 1,46 – 1,34 (m, 8H, H-11, H-17, H-21, H-25).

$^1\text{H-NMR}$: PEO-PLA (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,11 (d, 2H, H-3); 6,99 (m, 2H, *NHCONH*); 6,86 (d, 2H, H-4); 4,75 (m, 2H, H-27, H-28), 4,67 (m, 2H, NH); 4,13 (m, 3H, H-9, H-11); 4,09 – 4,05 (m, 10H, H-9; H-15, H-19, H-23); 4,07 (m, 2H, H-5); 3,86 (m, 2H, H-6); 3,63 (m, 4H, H-7, H-8); 2,84 (m, 4H, H-1, H-18, H-22); 2,66 (m, 2H, H-2); 2,38 – 2,26 (m, 2H, H-26), 1,71 – 1,55 (m, 10H, H-10, H-12, H-16, H-20, H-24), 1,46 – 1,34 (m, 8H, H-11, H-17, H-21, H-25).

5.5.2 Darstellung von PI-PEO-NW12-Ether- NH_2

Im ersten Schritt wurden 11,75 g (1,108 mmol, 1,0 eq) PI-PEO-NW12-OH in 100 mL abs. THF und mit einer 1,4 M DPMK-Lösung bis zum Äquivalenzpunkt titriert. Anschließend wurde die Lösung mit 3,72 g (17,9 mmol, 16,0 eq) *N*-Boc-2-bromoethylamin gelöst in abs. THF versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und zum Reaktionsabbruch mit 0,5 mL Eisessig versetzt. Daraufhin wurde die Reaktionslösung mehrfach mit jeweils 3 mL einer 0,1 M Salzsäure, ges. NaHCO_3 -Lösung und ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde in kaltem Aceton gefällt und im Hochvakuum zur Trockne eingeengt. Im zweiten Schritt wurde das gesamte Polymer mit konzentrierter Trifluoressigsäure deacetyliert. Das erhaltene Polymer wurde mehrfach mit ges. NaCl-Lösung extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet sowie im Hochvakuum zur Trockne eingeengt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

6,01 – 5,62 (m, 1H, H-10); 5,12 – 4,56 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 4,28 – 4,20 (m, 2H, H-23, H-22); 3,63 (s, 12H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21); 2,37 – 1,62 (m, 7H, H-6, H-12, H-15, H-24); 1,54 (s, 6H, H-7, H-13); 1,4 – 0,82 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.5.3 DMT-MM vermittelte SUR1-Anbindung an PI-PEO-NW12-Ether-NH₂

3,39 g (0,316 mmol, 1,0 eq) PI-PEO-NW12-Ether-NH₂ wurden 5 mL abs. Chloroform gelöst und mit 0,83 mL (7,9 mmol, 25 eq) einer 20-%igen Phosgen-Toluol-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 Std. bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in 20 mL abs. Chloroform aufgenommen und zu 141 mg (0,023 mmol, 1,1 eq) SUR1-Liganden und 88 mg (0,318 mmol, 1,1 eq) DMT-MM·xH₂O gelöst in 20 mL DMSO gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 20 Std. bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde erneut in 5 mL Chloroform gelöst und mit je 1 mL einer 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde im Hochvakuum zur Trockne eingengt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ/ppm) =

7,40 – 6,98 (m, 4H, H-27, H-26); 5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 4,20 – 4,28 (m, 4H, H-23, H-22); 3,6 (s, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 1,6 – 2,3 (m, 7H, H-6, H-12, H-15, H-24); 1,5 (s, 6H, H-7, H-13); 0,8 – 1,4 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.5.4 Fluoreszenzmarkierung von PI-PEO-KV-2.1-OH mit Thionaphthol und 7-Mercapto-4-Methyl-Cumarin

150 mL abs. THF wurden über eine basische Al₂O₃-Säule filtriert und auf ein Gemisch aus 2,00 g (0,57 mmol, 1,0 eq) PI-PEO-KV-2.1-OH und 9,27 mg (0,575 mmol, 1,0 eq) Thionaphthol bzw. 11,15 mg (0,58 mmol, 1,0 eq) 7-Mercapto-4-Methyl-Cumarin gegeben. Die Reaktionsgemische wurden für 75 min mit UV-Licht bestrahlt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum zur Trockene eingengt und in wenig Chloroform aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 1 M Salzsäure extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde in kaltem Aceton gefällt und im Hochvakuum zur Trockne eingengt.

$^1\text{H-NMR}$: PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,80 – 7,65 (m, 4H, H-22); 7,59 – 7,35 (m, 3H, H-21); 5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 4,20 – 4,28 (m, 2H, H-22); 3,6 (s, 12H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21); 1,6 – 2,3 (m, 7H, H-6, H-11, H-12, H-15, H-24); 1,5 (s, 6H, H-7, H-13); 0,8 – 1,4 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

$^1\text{H-NMR}$: PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,50 – 7,31 (m, 4H, H-22, H-23); 6,41 – 6,35 (m, 3H, H-24); 5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 3,6 (s, 12H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21); 1,6 – 2,3 (m, 7H, H-6, H-11, H-12, H-15, H-24); 1,5 (s, 6H, H-7, H-13); 0,8 – 1,4 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.5.5 Darstellung von α -carbonsäurefunktionalisierte PI-PEO

0,5 g (0,145 mmol, 1,0 eq) PI-PEO-KV-2,1-Naph-OH und 0,35 g (3,615 mmol, 25 eq) Chlor-essigsäure wurden in 150 mL abs. THF und mit einer 1,4 M DPMK-Lösung bis zum Äquivalenzpunkt titriert. Die Reaktionslösung wurde für 24 Std. bei RT gerührt und zum Reaktionsabbruch mit 0,5 mL Eisessig versetzt. Der dabei entstandene weiße Niederschlag wurde abfiltriert. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und mehrfach mit ges. NaHCO_3 -Lösung extrahiert. Da sich eine Emulsion bildete und keine Phasentrennung auftrat, wurde durch Zugabe ges. NaCl -Lösung und 1 M Salzsäure eine Phasentrennung bei neutralen Bedingungen erzielt. Nun wurde die organische Phase zweimal mit ges. NaCl -Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Hochvakuum zur Trockne eingeengt. Anschließend wurde das immer noch verunreinigte Polymer mittels präparativer GPC aufgereinigt.

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

7,80 – 7,31 (m, 8H, H_{arom}); 5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 4,25 (m, 2H, H-22); 3,63 (s, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,32 – 1,62 (m, 5H, H-6, H-12, H-15); 1,52 (s, 6H, H-7, H-13); 1,48 – 0,83 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.5.6 Darstellung von α -alkinfunktionalisiertes PI-PEO

0,5 g (0,145 mmol, 1 eq) PI-PEO-KV-2,1-Naph-OH und 0,4 mL (3,615 mmol, 25 eq) einer 80 Gew.-%-Propargylbromid-Toluol-Lösung wurden in 150 mL abs. THF und mit einer 1,4 M DPMK-Lösung bis zum Äquivalenzpunkt titriert. Die Reaktionslösung wurde für 24 Std. bei RT gerührt und zum Reaktionsabbruch mit 0,5 mL Eisessig versetzt. Der dabei entstandene weiße Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt und anschließend in kaltem Aceton zweimal gefällt. Da das Polymer nicht vollständig ausgefallen ist, wurde die Mutterlauge im Vakuum zur Trockne eingeeengt und das zurückbleibende verunreinigte Polymer mittels präparativer GPC aufgereinigt.

5.5.7 CuAAc-vermittelte Kohlenhydratanbindung an diverse Blockcopolymere

50 mg (0,014 mmol, 1,0 eq) der α -alkinfunktionalisierten Polymere PEO-PCL oder PI-PEO wurden in 5 mL THF gelöst und mit 0,41 mg (2,56 μ mol) CuSO₄ und 1,05 mg (5,96 μ mol) L-Ascorbinsäure sowie 15,32 mg (0,042 mmol, 3,0 eq) Lactosylazid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 Std. bei RT gerührt und anschließend im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und zur Abtrennung der unlöslichen Verunreinigungen über Watte filtriert, sodass eine klare, gelbliche Lösung entstanden ist. Die organische Phase wurde zweimal mit 0,1 M Salzsäure und fünfmal mit ges. NaCl-Lösung extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde im Hochvakuum zur Trockne eingeeengt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ /ppm) =

8,05 (s, 1H, H-23); 7,80 – 7,31 (m, 8H, H_{arom}); 5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 4,25 (m, 2H, H-22); 4,16 – 3,82 (m, 6H, H-24, H-25, H-26, H-27); 3,63 (s, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,32 – 1,62 (m, 5H, H-6, H-12, H-15); 1,52 (s, 6H, H-7, H-13); 1,48 – 0,83 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.5.8 DMT-MM-vermittelte Kohlenhydratanbindung an diverse Blockcopolymere

50 mg (0,014 mmol, 1,0 eq) der α -carbonsäurefunktionalisierte Polymere PEO-PLA oder PI-PEO wurden in 5 mL THF gelöst und mit 4,45 mg (0,016 mmol, 1,1 eq) DMT-MM·xH₂O sowie 3,39 mg (0,016 mmol, 1,1 eq) Glucosamin bzw. Galactoseamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 3 mL Chloroform aufgenommen. Die organische Phase wurde mit jeweils 5 mL gesättigter NaCO₃-Lösung, 0,1 M Salzsäure und gesättigter NaCl-Lösung extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde im Hochvakuum zur Trockne eingeengt.

¹H-NMR: PI-PEO (300 MHz, CDCl₃, δ /ppm) =

7,80 – 7,31 (m, 8H, H_{arom}); 5,6 – 6,0 (m, 1H, H-10); 4,5 – 5,1 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 4,25 (m, 2H, H-22); 4,16 – 3,82 (m, 6H, H-24, H-25, H-26, H-27); 3,63 (s, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,32 – 1,62 (m, 5H, H-6, H-12, H-15); 1,52 (s, 6H, H-7, H-13); 1,48 – 0,83 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

¹H-NMR: PEO-PLA (300 MHz, CDCl₃, δ /ppm) =

5,13 (m 2H, H-11, H-7); 4,13 (m, 3H, H-9); 4,07 (d, 2H, H-5); 4,06 – 3,82 (m, 6H, H-10, H-11, H-12, H-13, H-14); 3,86 (m, 4H, H-6, H-9); 3,6 (s, 4H, H-6, H-5, H-4); 3,39 (m, 4H, H-3); 2,81 – 2,66 (m, 4H, H-1, H-2); 1,54 (m, 9H, H-8).

5.5.9 Darstellung von H₂N-PEO-PCL-VIB3-TBDMS

571 mg (0,09 mmol, 1,0 eq) H₂N-PEO-PCL-VIB3-OH sowie 268 mg (18 mmol, 25 eq) TBDMSCl wurden in 10 mL abs. Chloroform gelöst und mit 0,24 mL (1,72 mmol, 25 eq) Triethylamin versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend mehrfach mit 5 mL ges. NaCl-Lösung extrahiert sowie über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ/ppm) =

7,11 (d, 2H, H-10); 6,86 (d, 2H, H-11); 4,09 – 4,05 (t, 2H, H-3); 4,07 (d, 2H, H-5); 3,6 (s, 4H, H-9, H-8); 3,6 (s, 4H, H-7, H-8); 3,39 (m, 4H, H-7,); 2,66 (m, 4H, H-6); 1,71 – 1,55 (m, 4H, H-3, H-5), 1,46 – 1,34 (m, 2H, H-4); 0,5 (s, 3H, H-2); 0,01 (s, 9H, H-1).

5.5.10 Darstellung des α-alkinfunktionalisierten PEO-PCL-VIB3-TBDMS

571 mg (0,09 mmol, 1,0 eq) H₂N-PEO-PCL-VIB3-TBDMS wurden in 50 mL abs. Chloroform gelöst und mit 0,23 mL (2,19 mmol, 24 eq) einer 20%igen Phosgen-Toluol-Lösung versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 Std. bei RT gerührt und anschließend im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde wiederum in 50 mL abs. Chloroform aufgenommen und mit 0,14 mL (2,19 mmol, 24 eq) Propargylamin versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 14 Std. bei RT wurde die Reaktionslösung mehrfach mit jeweils 3 mL einer 0,1 M Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

5.5.11 Darstellung von PI_(NH₂)-PEO-NW15-OH

31,95 g (3,12 mmol, 3,12 eq) PI-PEO-NW-15-OH wurden in 100 mL abs. THF gelöst und mit 7,09 g (62,4 mmol, 62,4 eq) Cysteamin-Hydrochlorid sowie 0,2 g (1,0 mmol, 1,0 eq) 2,2'-Azobis-(2-methylbutyronitril) (AMBN) versetzt. Die Lösung wurde daraufhin dreimal entgast und für 4 Std. bei 55 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf eine kleine

Menge BHT gegeben und in kaltem Aceton gefällt sowie im Hochvakuum zur Trockne eingengt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

5,1 – 4,5 (m, 3H, H-5, H-5, H-9); 3,6 (s, 4H, H-15, H-16, H-17, H-18,); 2,9 – 2,7 (m, 2H, H-11); 2,6 – 2,0 (m, 4H, H-11, H-10); 2,0 – 1,6 (m, 4H, H-6, H-14); 1,5 (s, 6H, H-1, H-7); 1,4 – 0,8 (m, 16H, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.5.12 Darstellung von PB-PEO-2-UP365

Im ersten Schritt wurde eine abs. Chloroform-Lösung bestehend aus 3,86 g (1,06 mmol, 1,0 eq) PB-PEO-2-COOH zu 4,79 g (29,52 mmol, 29 eq) 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI), welches wiederum in abs. Chloroform gelöst war, zugetropft. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend mit demineralisiertem Wasser extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet sowie im Vakuum zur Trockne gebracht.

Im zweiten Schritt wurden 1,42 g (0,39 mmol, 1,0 eq) PB-PEO-CO-CDI in 20 mL abs. THF gelöst und mit 0,72 g (1,79 mmol, 4,5 eq) Hexacarbonyl-(*m*-2-hydroxypropan-1,3-dithiolato-*S,S'*)di-Eisenkomplex (UP365) versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und im Vakuum zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und mehrfach mit jeweils 3 mL einer 0,1 M Salzsäure, ges. NaHCO_3 -Lösung und ges. NaCl -Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

5.5.13 Darstellung des PCL-MR-01-DETA

Im ersten Schritt wurde eine abs. Chloroform-Lösung bestehend aus 1,00 g (0,22 mmol, 1,0 eq) PCL-MR-01-OH zu 408 mg (2,5 mmol, 11 eq) 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI), welches wiederum in abs. Chloroform gelöst war, zugetropft. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend mit demineralisiertem Wasser extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet sowie im Vakuum zur Trockne gebracht.

Im zweiten Schritt wurden 0,85 g (0,06 mmol, 1,0 eq) PCL-MR1-CDI in 20 mL abs. Chloroform gelöst und mit 0,4 mL (3,72 mmol, 60 eq) Diethylentriamin (DETA) versetzt. Die Reak-

tionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und im Vakuum zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und mehrfach mit jeweils 3 mL einer 0,1 M Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

¹H-NMR: PCL-MR1-CDI (300 MHz, CDCl₃, δ/ppm) =

8,15 (s, 1H, H-10); 7,4 (s, 1H, H-9); 7,37 – 7,22 (m, 10H, H_{arom}); 7,06 (s, 1H, H-8); 5,02 – 4,98 (m, 1H, H-1); 4,09 – 4,05 (t, 2H, H-6); 3,63 (dd, 2H, H-7); 2,35 – 2,26 (t, 2H, H-2); 1,71 – 1,55 (m, 4H, H-3, H-5), 1,46-1,34 (m, 2H, H-4).

¹H-NMR: PCL-MR1-DETA (300 MHz, CDCl₃, δ/ppm) =

7,37 – 7,22 (m, 10H, H_{arom}); 5,02 – 4,98 (m, 1H, H-1); 4,09 – 4,05 (t, 2H, H-6); 3,63 (dd, 2H, H-7); 3,4 – 3,2 (m, 4H, H-9, H-8); 2,9 – 2,7 (m, 4H, H-11, H-10); 2,35 – 2,26 (t, 2H, H-2); 1,71 – 1,55 (m, 4H, H-3, H-5), 1,46 – 1,34 (m, 2H, H-4).

5.5.14 Darstellung des aldehydfunktionalisierten PI- PEO-20,2

7,08 g (1,74 mmol, 1,0 eq) PI-PEO-20,2 und 2,17 g (3,49 mmol, 2,0 eq) *o*-Iodbenzoesäure wurden in THF gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum zur Trockne eingengt und der Rückstand in Chloroform aufgenommen. Die organische Phase wurde mehrfach mit jeweils 3 mL einer 0,1 M Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , δ/ppm) =

9,70 (s, 1H, H-21); 6,0 – 5,6 (m, 1H, H-10); 5,1 – 4,5 (m, 5H, H-5, H-11, H-14); 3,6 (s, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,3 – 1,6 (m, 5H, H-6, H-12, H-15); 1,5 (s, 6H, H-7, H-13); 1,4 – 0,8 (m, 16H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-8, H-9).

5.6 Ligandennachweis auf der Oberfläche von Polymersomen

5.6.1 NeutrAvidin-Biotin-Nachweis auf der Oberfläche von Polymersomen

Zum Nachweis des Biotins auf der Oberfläche der Polymersomen wurden die Vesikel-Lösungen in PBS-Puffer eingespritzt und mittels Zentrifugationsfilter (50 kDa) gereinigt und aufkonzentriert. Zu 300 μL dieser Lösung wurden 100 μL Fluoresceinisothiocyanat-NeutrAvidin (1 mg/mL in PBS, 0,025 % Natriumazid) gegeben und über Nacht geschüttelt. Anschließend wurde die Lösung mit einem Zentrifugationsfilter (100 kDa) durch zweimaliges Spülen mit PBS-Puffer gereinigt und aufkonzentriert.

5.7 Hydrolyse-Versuche der Polyesterblockcopoly-mere

5.7.1 Hydrolyse-Versuche der Polyesterblockcopoly-mere mit Natriummethanolat

200 mg (0,012 mmol, 1,0 eq) PEO-PLA-V6 bzw. (0,013 mmol, 1,0 eq) PEO-PCL-6 wurden in 5 mL abs. THF gelöst und mit 0,1 mL einer 0,4 M Natriummethanolat-Lösung (in Methanol) versetzt. Der Reaktionsabbruch erfolgte nach 0,5 Std., 2 Std. bzw. 6 Std. durch Hinzugabe von Wasser und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum. Der Rückstand wurde in 10 mL Chloroform aufgenommen und mit 10 mL gesättigter NaCl-Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde im Hochvakuum zur Trockne eingeengt.

5.7.2 Hydrolyse-Versuche der Polyesterblockcopolymeren mit Hydrazinhydrat

200 mg (0,012 mmol, 1,0 eq) PEO-PLA-V6 bzw. (0,013 mmol, 1,0 eq) PEO-PCL-6 wurden in 9 mL 1,4-Dioxan gelöst und mit 1 mL Hydrazinhydrat (50-60 % in Wasser) versetzt. Der Reaktionsabbruch erfolgte nach 0,5 Std, 2 Std bzw. 6 Std durch Hinzugabe von 1 mL 0,1 M Salzsäure und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum. Der Rückstand wurde in 10 mL Chloroform gelöst und mit 10 mL gesättigter NaCl-Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Polymer wurde im Hochvakuum zur Trockne eingeeengt.

5.7.3 Saure Hydrolyse der Polyesterblockcopolymeren

Die hergestellten Polymerpartikellösungen wurden mit verschiedenen Mengen an konzentrierter Essigsäure versetzt und anschließend mittels DLS vermessen.

5.8 Einkapselung von verschiedenen Komponenten in Polymermatrizen

5.8.1 Einkapselung des Perfluoro-15-krone-5-ethers in eine PEO-PLA-Matrix

Auf 20 mg PEO-PLA-V5a wurden 0,6 μL (1,8 μM) des Perfluoro-15-krone-5-ethers zentrifugiert und mit 50 μL THF versetzt. Zu dieser 1 Gew.% Lösung wurde anschließend 1 mL PBS-Puffer gegeben und vermessen.

5.9 Experimente in mikrofluidischen Kanälen

5.9.1 Herstellung der PDMS-basierten Mikrofluidikchips mittels „*soft-lithographie*“

Die Herstellung der PDMS-basierten Mikrofluidikchips erfolgte in einer sauberen und staubfreien Atmosphäre in einer Laminar-Flow-Box (SCANLAF, Mars Safety Class 2). Der Master wurde zunächst mit einer 10:1 Mischung aus Dimethylsiloxan (Sylgard 184 Silicone Elastomer-Base, Dow Corning) und dem dazu gehörigem Vernetzer (Sylgard 184 Silicone Elastomer-Curing Agent, Dow Corning) 4 - 5 mm dick übergegossen. Anschließend wurden im Vakuum die entstandenen Luftblasen für 1 Std. entfernt. Danach wurde das Sylgard 184 bei 75 °C für 2 Stunden auspolymerisiert. Im Anschluss wurde der PDMS-Stempel vom Master getrennt und mit Hilfe einer Harris UNI-CORE™ Multi Purpose Sampling Tools (American MasterTech) wurden die Schlauchanschlüsse mit einem Durchmesser von 0,75 mm für den Zu- und Ablauf der Kanäle ausgestochen. Anschließend wurde der PDMS-Stempel als auch ein Glasobjektträgerglas mittels Plasmacleaner (MiniFlecto-PC-MFC, Plasma Technology GmbH) behandelt und miteinander verbunden. Das mikrofluidische Bauteil wurde für 30 min bei 75 °C gelagert. Im Anschluss wurden die Eingänge mit Polyethylenschläuchen (Polyethylene Micro Tubing PE-20, Scientific Commodities Inc.) versehen und mittels eines Zweikomponentenkleber (Loctite® 770 und Loctite® 406, Henkel) fixiert.

5.9.2 Verglasung der MF-Kanäle

Die Verglasung der MF-Kanäle erfolgte mittels Tetraethylorthosilikat (TEOS) oder geschützten APTES sowie Triethoxymethylsilan (MTES) und verdünnter Salzsäure (pH = 2). Dazu wurden die einzelnen Komponenten, wie in Tabelle 23 aufgelistet, zu einem Sol zusammengefügt. Das Sol wurde abwechselnd in einem 90 °C heißen Wasserbad oder auf einer Heizplatte erwärmt und mittels Vortex-Mischer bis zu einer klaren Lösung vermischt. Im Anschluss wurde die Sol-Mischung mit Methanol verdünnt. Die verdünnte Sol-Mischung wurde dann in zuvor mit Plasma behandelte MF-Kanäle injiziert und auf eine 150 °C heiße Heizplatte gelegt, bis das gesamte Methanol aus den Kanälen verdampft war. Analog wurden die verglasten MF-Kanäle mit Aminofunktionalisierungen hergestellt.

Tabelle 23: Chemikalien und eingesetzte Mengen zur Verglasung und Aminofunktionalisierung MF-Kanäle.

Chemikalien	eingesetzte Menge
Verglasung ohne Funktionalisierung	
TEOS	40 μL
MTES	40 μL
HCl	74 μL
MeOH	1546 μL
Verglasung mit Aminofunktionalisierung	
geschütztes APTES	40 μL
MTES	40 μL
HCl	74 μL
MeOH	1546 μL

5.9.3 Säurefunktionalisierung der aminofunktionalisierten MF-Kanäle

400 mg Maleinsäureanhydrid wurden in 4 ml abs. Diethylether gelöst und im Anschluss mit 100 $\mu\text{l/h}$ durch die aminofunktionalisierten MF-Kanäle geleitet. Nach 30 min wurden die Kanäle mit 3 ml Milliporewasser freigespült und mit Argon getrocknet.

5.9.4 Avidinbeschichtung der säurefunktionalisierten MF-Kanäle

Eine Lösung bestehend aus 230 mg (0,8 M) EDC und 34 mg (0,4 M, 1,0 eq) NHS in 1,5 ml abs. Chloroform gelöst wurde für 25 min mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 100 $\mu\text{l/h}$ durch die säurefunktionalisierten MF-Kanäle geleitet. Im Anschluss wurden die Kanäle mit 0,5 ml PBS-Pufferlösung gespült und mit Luft getrocknet. Anschließend wurde eine 0,025 % NaN_3 -PBS-Pufferlösung, in der 1 mg Avidin bzw. Streptavidin waren in die Kanäle injiziert und bei 4 °C über Nacht gelagert. Im Anschluss wurden die MF-Kanäle wieder mit PBS-Pufferlösung gespült. Ab diesem Zeitpunkt war darauf zu achten, dass der

(strept)avidinbeschichtete Kanal stets mit PBS-Puffer gefüllt und verschlossen gelagert wurden.

5.9.5 Lektinbeschichtung der avidinbeschichteten PDMS-MF-Kanäle

Zur Beschichtung der avidinbeschichteten Kanäle mit dem Soybean Agglutinin Lektin (SBA-Lektin) wurde durch den mit PBS-Puffer gefüllten MF-Kanal eine Lösung des Lektins (1 mg/ml) in 10 mM HEPES-Puffer mit 0,08 % NaN_3 für eine Stunde mit einer Fließgeschwindigkeit von 20 $\mu\text{l/h}$ geleitet. Im Anschluss wurde der MF-Kanal mittels PBS-Puffer von überschüssigem Lektin gereinigt und mit PBS-Puffer gefüllt verschlossen.

5.9.6 Überstrukturbildung des seitenkettenfunktionalisierten Blockcopolymers mittels hydrodynamischer Fokussierung

Die Überstrukturbildung mittels hydrodynamischer Fokussierung erfolgte in verglasten MF-Kanälen sowie mit insgesamt drei Spritzen. Zwei Spritzen enthielten die jeweils benötigte wässrige NaCl-Lösung und in der dritten war die Polymerlösung. Diese wurden über Schläuche mit den Kanaleingängen verbunden, wobei die Spritze mit der Polymerlösung mit dem mittleren Hauptkanal und die beiden anderen mit den Nebenkanälen verbunden worden sind. Für den Betrieb des MF-Kanalsystems ist das computergesteuerte, modulare Spritzenpumpensystem neMESYS®(new modular extensible syringepump system) der Cetoni GmbH verwendet worden. Die Spritzen wurden in drei Dosiereinheiten eingespannt und die Spritzenpumpen über die Software (User-Interface v1.29) unabhängig voneinander angesteuert. Nach einem gleichmäßigen, luftblasenfreien Fluss wurde die gewünschte Probenmenge, ca. 200 μL , aufgefangen. Die Beobachtung des Flusses am Kanalkreuz und über den restlichen Kanals erfolgte mit Hilfe eines Durchlichtmikroskops bei 20-facher Vergrößerung.

5.9.7 Immobilisierung von aldehydfunktionalisierten PI-PEO-Polymersomen in aminofunktionalisierten MF-Kanäle

Die mit Nile Red angefärbten Polymersomen wurden in den aminofunktionalisierten MF-Kanal geleitet und für mehrere Stunden im verschlossenen Kanal gelagert. Die Beobachtung der immobilisierten Polymersomen in den Kanälen erfolgte dann während eines Pufferdurchflusses von 100 $\mu\text{l/h}$. Die Untersuchung der Kanäle erfolgte nach einer Immobilisierungszeit von 8, 15, 18, 24, 48 und 72 Stunden.

5.9.8 Immobilisierung von biotinylierten PEO-PLA-Polymersomen in avidinbeschichteten MF-Kanälen

Die mit Nile Red angefärbten Polymersomen wurden mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 10 $\mu\text{l/h}$ für eine unterschiedliche Dauer durch die avidinbeschichteten MF-Kanäle geleitet. Die Beobachtung der immobilisierten Polymersomen in den Kanälen erfolgte bei der gleichen Geschwindigkeit. Die Untersuchung der Kanäle erfolgte nach Durchflusszeiten von 2, 5 und 7 Minuten.

5.9.9 Immobilisierung von Kohlenhydrat gebundenen PEO-PLA-Polymersomen in lektinbeschichteten MF-Kanälen

Die mit Nile Red angefärbten Polymersomen wurden in die lektinbeschichteten Kanäle injiziert und für mehrere Stunden im verschlossenen Kanal gelagert. Die Beobachtung der immobilisierten Vesikel in den Kanälen erfolgte dann während eines Pufferdurchflusses von 100 $\mu\text{l/Std}$. Die Untersuchung der Kanäle erfolgte nach einer Immobilisierungszeit von 1, 6 und 90 Stunden.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mittels anionischer vinyl- und ringöffnender Polymerisation mehrere, teils biokompatible und bioabbaubare, Blockcopolymere (PI-PEO, PEO-PLA und PCL) hergestellt. Die Blockcopolymere bildeten im wässrigen Milieu aufgrund des entsprechenden Blocklängenverhältnisses mizellare oder vesikuläre Strukturen. Es gelang, die Polymere mit bioaktiven Liganden wie Biotin, einem SUR1-Pharmacophor, zwei Streptozotocin-Derivaten und weiteren Kohlenhydraten zu funktionalisieren. Zudem konnte einer dieser Liganden auf den Oberflächen am Beispiel von Polymersomen durch die Bindung von Fluorescein-markiertem Neutravidin am Polyester-Blockcopolymere direkt nachgewiesen werden.

Vor allem die Anbindung von Kohlenhydraten, wie Glucose, Galactose und Nona-Zucker, konnte erfolgreich gezeigt werden. Dazu wurden die Kohlenhydrate an der α -Position der Blockcopolymere mittels zwei verschiedener Methoden verknüpft. Eine Methode war die etablierte Kupfer(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von alkinfunktionalisierten Polymeren mit den Azid-Derivaten der jeweiligen Kohlenhydrate. Die zweite Methode beruhte auf der Anbindung der 2-Aminohexa-Analoga der Kohlenhydrate an Carbonsäurefunktionalisierte Polymere unter Verwendung des Kupplungsreagenz 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholiniumchlorid (DMT-MM). Durch dieses Reagenz war es möglich, selektiv die 2-Aminohexosen über die Aminogruppe an die Blockcopolymere zu binden. Diese Reaktion konnte sowohl *pre-* als auch *post-assembly* erfolgreich durchgeführt werden.

Weiterhin konnten PI-PEO-Blockcopolymere mit Hilfe einer photoinduzierten Thiol-Ene-Click-Reaktion mit Thionaphthol oder 7-Mercapto-4-Methylcumarin Fluoreszenz erfolgreich markiert werden.

Neben Biofunktionalisierungen, konnte auch eine erfolgreiche Anbindung eines Eisenschwefelkomplexes zur Darstellung eines [2Fe2S]-Hydrogenase-Modellsystems an ein PB-PEO-Blockcopolymer gezeigt werden.

Ebenso war es möglich, durch die Reverse-Phasen-Verdampfung CdSe-Nanopartikel in eine PEO-PCL-Matrix einzukapseln. Mit dieser Methode wurden vorwiegend mizellare Strukturen

mit wenigen bis nur einem Nanopartikel erhalten. Dabei konnten auch neuartige nanopartikuläre, vesikuläre Agglomerate generiert werden.

Die Polyester-Blockcopolymere wurden nicht nur funktionalisiert, sondern auch auf ihre Stabilität im basischen als auch im sauren Milieu untersucht. Die basische Hydrolyse erfolgte unter *ZEMPLÉN*- sowie Hydrazinolyse-Bedingungen. Beide Bedingungen sind für verschiedenste Funktionalisierungsreaktionen von großer Bedeutung. Es konnte in den Untersuchungen gezeigt werden, dass die Esterbindungen des Polylactids unter basischen Bedingungen hydrolysiert werden. Das Polycaprolacton hingegen war unter den getesteten Bedingungen stabil. Lediglich bei der *ZEMPLÉN*-Methode konnte nach einer Reaktionszeit von sechs Stunden ein Abbau des Polyester-Blocks festgestellt werden. Aufgrund der gezeigten Stabilitäten des PCL-Blockes wurde anschließend die Hydrolyse eines PEO-PCL- sowie eines PEO-PGL/PCL-Blockcopolymer unter sauren Bedingungen untersucht. Deren Verhalten spielt vor allem bei der kontrollierten Freisetzung von Substanzen aus Wirkstofftransportsystemen eine wichtige Rolle. Bei den untersuchten Blockcopolymeren variierte der Glycolid-Anteil im Polymer. Es konnte gezeigt werden, dass die Hydrolyse-Empfindlichkeit mit dem Glycolid-Gehalt steigt.

In einer Kooperationsarbeit mit der Forschungsgruppe von *UWE HIMMELREICH* von der *Biomedizinischen NMR-Abteilung* der Katholischen Universität Leuven wurde das Einkapselungsvermögen einer Fluorphase in ein fluoriniertes Polyester-Blockcopolymer zur Entwicklung eines Transportsystems für medizinische Bildgebungsverfahren untersucht. Dazu wurde die Verbindung Perfluoro-15-krone-5-ether in eine PEO-PLA-Matrix eingekapselt und mittels DLS und ^{19}F -NMR untersucht. Aus den erhaltenen Daten kann zusammenfassend abgeleitet werden, dass eine maximale Aufnahmefähigkeit an Perfluoro-15-krone-5-ether bei ca. 20 Gew.-% erreicht ist.

Des Weiteren konnte ein PI-PEO-Blockcopolymer funktionalisiert werden, bei dem durch Seitenkettenfunktionalisierung mittels Thiol-Ene-Click-Chemie alle terminalen Doppelbindungen mit Cysteinamin verknüpft wurden. Diese Funktionalisierung führte dazu, dass das Blockcopolymer ein salzabhängiges Überstrukturbildungsverhalten zeigte. Das unfunktionalierte Polymer ordnete sich bei hydrodynamischer Fokussierung einer entsprechenden Lösung in einem mikrofluidischen Bauelement relativ salzunabhängig zu Polymersomen in einem Größenbereich zwischen 100 bis 200 nm an. Nach der Funktionalisierung bildete das Polymer bei einer Salzkonzentration von 0 bis 0,7 M fadenartige, sichelförmige, mizellare sowie spiegeleiförmige Strukturen in einem Größenbereich von 50 bis 100 nm. Ab einer NaCl-

Konzentration größer als 0,8 M konnten Polymersomen generiert werden, die einen Durchmesser von ca. 2 μm hatten und perlenkettenartig miteinander verbunden waren.

Für die Untersuchung des Adhäsionsverhaltens eines Wirkstofftransportsystems im Blutkreislauf wurden in den mikrofluidischen Kanälen diverse Immobilisierungsversuche als Modellsystem erfolgreich durchgeführt. Dazu war es zuerst nötig, mittels einer Sol-Gel-Methode bestehend aus 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES), Triethoxymethylsilan (MTES), Ethanol und Salzsäure (pH = 4,5) eine Glasschicht im MF-Kanal zu generieren, die frei zugängliche Aminogruppen auf ihrer Oberfläche trug. Auf dieser aminierten Oberfläche konnten chemisch Aldehyd-funktionalisierte Polymersomen oder elektrostatisch Carbonsäure-funktionalisierte PS-Partikel immobilisiert werden. Die Adhäsion der Aldehyd-funktionalisierten Polymersomen gelang ausschließlich in einem sogenannten „*stop-flow*“-Experiment. In weiteren Experimenten konnte die aminierte Oberfläche mit Proteinen wie Avidin, Streptavidin und in einem zweiten Schritt mit biotinylierten SBA-Lektin beschichtet werden. In den Avidin/Streptavidin-beschichteten MF-Kanälen wurden Adhäsionsversuche mit den biotinylierten PEO-PLA-Polymersomen vorgenommen. Ferner konnte in einigen Experimenten in den Mikrokanälen mikrofluidischer Bauelemente, die zuvor mit SBA-Lektin beschichtet worden waren, die Immobilisierung von Polymersomen nachgewiesen werden.

7 Summary

In this thesis, partial biocompatible and biodegradable polymers (PI-PEO, PEO-PLA and PCL) were synthesized via anionic vinyl- and ring-opening polymerization. The blockcopolymers formed in water micellar and vesicular structures. Several bio-functionalization reactions were realized by connecting polymers with different bio-active ligands, including biotin, a SUR1 pharmacophore, two streptozotocin derivatives and other carbohydrates. Furthermore, the presence of these ligands on the surfaces of polymersomes was proven, for example in case of biotin by fluorescein-labeled neutravidin on polyester blockcopolymers.

In particular, the binding of carbohydrates, such as glucose, galactose and a nona-sugar to polymers was successfully shown. These carbohydrates were linked to the α -position of the respective blockcopolymers via two different methods. The first method was based on copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of alkyne-functionalized polymers to the azide derivatives of the carbohydrates. In a second method, the covalent attachment of 2-aminohexa-analogues of the carbohydrates to carbonacid functionalized polymers was demonstrated by using the coupling agent 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methyl morpholinium chloride (DMT-MM). With this agent, the selective coupling of 2-amino hexoses via the amino group of the blockcopolymers could be realized. This reaction was successfully shown by pre- and post-assembly functionalization.

Further PI-PEO blockcopolymers were fluorescently labeled via photo-induced thiol-ene click reaction with thionaphthalene or 7-mercapto-4-methylcoumarin.

In addition to the biofunctionalization, the successful coupling of an iron-sulfur complex to a PB-PEO blockcopolymer to yield a [2Fe2S]-hydrogenase model system was also shown.

Moreover, it was possible to encapsulate CdSe nanoparticles in a PEO-PCL matrix by reverse-phase evaporation. With this method, micellar structures were mainly obtained with one to a few nanoparticles per micelle, and novel nanoparticular vesicular agglomerates were generated as well.

The polyester blockcopolymers were not only functionalized, but also investigated for their stability under basic and acidic conditions. The basic hydrolysis was performed under Zemplén and hydrazinolysis conditions. Both conditions are vitally important for different

functionalization reactions. The results of the investigations were that the ester groups of the polylactide were hydrolyzed under basic conditions, whereas the polycaprolactone was stable under the tested conditions. Only for the Zemplén method, the degradation of the polyester block was observed after a reaction time of six hours. Because of the stability of the PCL block, a PEO-PCL and a PEO-PGL/PCL blockcopolymer were tested under acid hydrolysis conditions thereafter. The behavior under these conditions generally plays an important role for controlled release applications. The blockcopolymers under investigation had been synthesized with varying amounts of glycolid, and it was shown, that the sensitivity to hydrolysis increased with the glycolid content.

In collaboration with the research group of UWE HIMMELREICH of the Bio-medical NMR Department (Catholic University of Leuven), the encapsulation of a fluoruous phase into a fluorinated polyester blockcopolymer was investigated for the purpose of developing a system for medical imaging. For this purpose, the compound perfluoro-15-crown-5-ether was encapsulated in a PEO-PLA matrix and analyzed by DLS and ^{19}F -NMR. Out of these data, it can be summarized, that a maximum capacity of the perfluoro 15-crown-5-ether is reached at about 20 w/w%.

In another set of experiments, a PI-PEO blockcopolymer was functionalized by means of side chain functionalization using ene-thiol click chemistry, and all terminal alkene bonds were connected with cysteinamin. This functionalization rendered the formation behavior of the blockcopolymer phase to be salt-dependent. Non-functionalized polymers formed polymersomes in a size range between 100 and 200 nm by hydrodynamic flow-focusing in a microfluidic device, rather independent of salt concentration. After functionalization however, the polymers formed rod-, crescent-shaped, thread- as well as micellar structures in a size range of 50 to 100 nm at a salt concentration from 0 to 0.7 M. Above a salt-concentration of 0.8 M, polymersomes of about 2 μm in diameter were generated, and they were connected to a pearl necklace with each other.

Different immobilization experiments were successfully conducted in microfluidic channels as model systems to investigate the adhesion behavior of a drug delivery system in the blood circulatory system. It was possible to generate a glass-layer on the surface of the microfluidic channels, which contains free accessible amino groups. A sol-gel method consisting of 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES), triethoxymethylsilane (MTES), ethanol and hydrochloric acid (pH = 4.5) was used for these experiments. Aldehyde-functionalized polymersomes

were immobilized on this aminated surface. The adhesion of the aldehyde-functionalized polymersomes only succeeded in a "*stop-flow*" experiment. In further experiments, the aminated surface was successfully coated with proteins, such as avidin, streptavidin, and in the second step with biotinylated SBA lectin. Immobilization experiments with the biotinylated PEO-PLA polymersomes were realized in the avidin/streptavidin-coated microfluidic channels. The immobilization of carbohydrate-functionalized polymersomes was observed, if the microchannels were additionally coated with SBA lectin.

8 Literaturverzeichnis

- [1] H. Ringsdorf, *Angewandte Chemie* **2004**, *116*, 1082-1095.
- [2] S. Förster, T. Plantenberg, *Angewandte Chemie* **2002**, *114*, 712-739.
- [3] M. A. Gauthier, M. I. Gibson, H.-A. Klok, *Angewandte Chemie* **2008**, *121*, 50-60.
- [4] L. Zhang, A. Eisenberg, *Science* **1995**, *268*, 23.
- [5] B. M. Discher, Y.-Y. Won, D. S. Ege, J. C. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, D. A. Hammer, *Science* **1999**, *284*, 1143-1146.
- [6] B. M. Discher, D. A. Hammer, F. S. Bates, D. E. Discher, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2000**, *5*, 125-131.
- [7] L. Luo, A. Eisenberg, *Langmuir* **2001**, *17*, 6804-6811.
- [8] D. E. Discher, A. Eisenberg, *Science* **2002**, *297*, 967-973.
- [9] M. Antonietti, S. Förster, *Advanced Materials* **2003**, *15*, 1323-1333.
- [10] P. Lim Soo, A. Eisenberg, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2004**, *42*, 923-938.
- [11] P. Ehrlich, C. Bolduan, *Collected studies on immunity*, Wiley, **1906**.
- [12] K. Riehemann, S. W. Schneider, T. A. Luger, B. Godin, M. Ferrari, H. Fuchs, *Angewandte Chemie* **2009**, *121*, 886-913.
- [13] E. Soussan, S. Cassel, M. Blanzat, I. Rico-Lattes, *Angewandte Chemie* **2009**, *121*, 280-295.
- [14] K. Knop, R. Hoogenboom, D. Fischer, U. S. Schubert, *Angewandte Chemie* **2010**, *122*, 6430-6452.
- [15] R. Haag, F. Kratz, *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 1198-1215.
- [16] R. Haag, *Angewandte Chemie* **2004**, *116*, 280-284.
- [17] L. Gros, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Angewandte Chemie* **1981**, *93*, 311-332.
- [18] L. Gros, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1981**, *20*, 305-325.
- [19] S. Cheong, P. Ferguson, K. W. Feindel, I. F. Hermans, P. T. Callaghan, C. Meyer, A. Slocombe, C. H. Su, F. Y. Cheng, C. S. Yeh, B. Ingham, M. F. Toney, R. D. Tilley, *Angewandte Chemie-International Edition* **2011**, *50*, 4206-4209.
- [20] M. Srinivas, L. J. Cruz, F. Bonetto, A. Heerschap, C. G. Figdor, I. J. M. de Vries, *Biomaterials* **2010**, *31*, 7070-7077.
- [21] X. Fan, J. N. River, M. Zamora, H. A. Al-Hallaq, G. S. Karczmar, *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics* **2002**, *54*, 1202-1209.
- [22] S. Speier, D. Nyqvist, O. Cabrera, J. Yu, R. D. Molano, A. Pileggi, T. Moede, M. Kohler, J. Wilbertz, B. Leibiger, C. Ricordi, I. B. Leibiger, A. Caicedo, P.-O. Berggren, *Nature Medicine* **2008**, *14*, 574-578.
- [23] L. Nobs, F. Buchegger, R. Gurny, E. Allémann, *Journal of pharmaceutical sciences* **2004**, *93*, 1980-1992.
- [24] S. Egli, H. Schlaad, N. Bruns, W. Meier, *Polymers* **2011**, *3*, 252-280.
- [25] M. M. J. Kamphuis, A. P. R. Johnston, G. K. Such, H. H. Dam, R. A. Evans, A. M. Scott, E. C. Nice, J. K. Heath, F. Caruso, *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 15881-15883.
- [26] J. J. Lin, P. P. Ghoroghchian, Y. Zhang, D. A. Hammer, *Langmuir* **2006**, *22*, 3975-3979.
- [27] S. Egli, M. G. Nussbaumer, V. Balasubramanian, M. Chami, N. Bruns, C. Palivan, W. Meier, *J Am Chem Soc* **2011**, *133*, 4476-4483.
- [28] G. V. Kaigala, R. D. Lovchik, E. Delamarche, *Angewandte Chemie* **2012**, *124*, 11386-11403.
- [29] P. Eyerer, T. Hirth, P. Elsner, *Polymer Engineering*, Springer Verlag, **2008**.

- [30] F. R. Schwarzl, *Polymermechanik: Struktur und mechanisches Verhalten von Polymeren*, Springer Verlag, **1990**.
- [31] U. Jonas, P. Theato, *Angewandte Chemie* **2009**, *121*, 9725-9738.
- [32] B. Tieke, *Makromolekulare Chemie*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **2012**.
- [33] K. Fukunaga, T. Hashimoto, H. Elbs, G. Krausch, *Macromolecules* **2002**, *35*, 4406-4413.
- [34] F. H. Schacher, P. A. Rugar, I. Manners, *Angewandte Chemie* **2012**, *124*, 8020-8044.
- [35] A. M. Mayes, M. O. de la Cruz, *J Chem Phys* **1989**, *91*, 7228.
- [36] Y. Matsumiya, H. Watanabe, A. Takano, Y. Takahashi, *Macromolecules* **2013**.
- [37] U. Jonas, P. Theato, *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 1955-1965.
- [38] M. Lechner, P. D. D. E. Nordmeier, in *Makromolekulare Chemie*, Springer Verlag, **2010**, pp. 48-170.
- [39] W. Michaeli, *Einführung in die Kunststoffverarbeitung*, Hanser Verlag, **2006**.
- [40] M. Szwarc, *Nature* **1956**.
- [41] W. Schlenk, J. Appenrodt, A. Michael, A. Thal, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1914**, *47*, 473-490.
- [42] N. Normant, B. Angelo, *Bulletin de la Societe Chimique de France* **1960**, 354.
- [43] K. Matyjaszewski, A. H. Müller, *Controlled and Living Polymerizations: From Mechanisms to Applications*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **2009**.
- [44] J. Nitsche, *Dissertation* **2011**, Hamburg.
- [45] H. Brody, M. Ladacki, R. Milkovitch, M. Szwarc, *Journal of Polymer Science* **1957**, *25*, 221-224.
- [46] M. Szwarc, *Living polymers and mechanisms of anionic polymerization*, Springer Verlag, **1983**.
- [47] R. P. Quirk, B. Lee, *Polymer International* **1992**, *27*, 359-367.
- [48] D. Baskaran, A. H. Müller, *Progress in Polymer Science* **2007**, *32*, 173-219.
- [49] Q. T. Pham, *Proton and carbon NMR spectra of polymers*, Taylor & Francis US, **1991**.
- [50] V. L. Böhm, W. Barnikol, G. Schulz, *Die Makromolekulare Chemie* **1967**, *110*, 222-232.
- [51] L. Böhm, M. Chmeliř, G. Löhr, B. Schmitt, G. Schulz, *Zustände und Reaktionen des Carbanions bei der anionischen Polymerisation des Styrols*, Springer Berlin Heidelberg, **1972**.
- [52] P. Théato, *Einführung in die Makromolekulare Chemie. -Skript*, Universität Mainz, **2007**.
- [53] M. M. F. Al-Jarrah, R. L. Apikian, A. Ahmed, *Polymer Bulletin* **1984**, *12*, 433-436.
- [54] H. Staudinger, H. Lohmann, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1933**, *505*, 41-51.
- [55] P. J. Flory, *J Am Chem Soc* **1940**, *62*, 1561-1565.
- [56] S. Förster, E. Krämer, *Macromolecules* **1999**, *32*, 2783-2785.
- [57] A. Löfgren, A.-C. Albertsson, P. Dubois, R. Jérôme, *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews* **1995**, *35*, 379-418.
- [58] H. R. Kricheldorf, I. Kreiser-Saunders, *Die Makromolekulare Chemie* **1990**, *191*, 1057-1066.
- [59] A. Duda, A. Kowalski, J. Libiszowski, S. Penczek, *Macromolecular Symposia* **2005**, 71-84.
- [60] H. Gerrens, in *Technische Chemie*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2005**, pp. 468-506.
- [61] H.-G. Elias, *Makromoleküle: Band 2: Physikalische Strukturen und Eigenschaften, Vol. 4*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **2009**.

- [62] H. Kuhn, J. Waser, *Angewandte Chemie* **1981**, *93*, 495-515.
- [63] D. Philp, J. F. Stoddart, *Angewandte Chemie* **1996**, *108*, 1242-1286.
- [64] M. Matsen, F. Bates, *Macromolecules* **1996**, *29*, 1091-1098.
- [65] J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell, B. W. Ninham, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* **1976**, *72*, 1525-1568.
- [66] A. Blanazs, S. P. Armes, A. J. Ryan, *Macromol Rapid Commun* **2009**, *30*, 267-277.
- [67] S. Jain, F. S. Bates, *Science* **2003**, *300*, 460-464.
- [68] A. K. B. You-Yeon Won, H. Ted Davis, and Frank S. Bates, *J. Phys. Chem. B*, **2002**.
- [69] D. E. Discher, F. Ahmed, *Annual Review of Biomedical Engineering* **2006**, *8*, 323-341.
- [70] N. A. Lynd, A. J. Meuler, M. A. Hillmyer, *Progress in Polymer Science* **2008**, *33*, 875-893.
- [71] G. Battaglia, A. J. Ryan, *Macromolecules* **2006**, *39*, 798-805.
- [72] H.-G. Döbereiner, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2000**, *5*, 256-263.
- [73] S. Hauschild, U. Lipprandt, A. Rumpelcker, U. Borchert, A. Rank, R. Schubert, S. Förster, *Small* **2005**, *1*, 1177-1180.
- [74] J. Thiele, D. Steinhauser, T. Pfohl, S. Förster, *Langmuir* **2010**, *26*, 6860-6863.
- [75] R. Schmidt, in *Wissenschaft - Grenzen übergreifend* (Ed.: H. D. Frey), Konstanz, **1994**, pp. 28 - 37.
- [76] J. Druey, G. Huber, *Helvetica Chimica Acta* **1957**, *40*, 342-349.
- [77] A. Fjelde, E. Sorkin, J. Rhodes, *Experimental Cell Research* **1956**, *10*, 88-98.
- [78] Q. Chen, Q.-Y. Cheng, Y.-C. Zhao, B.-H. Han, *Macromol Rapid Commun* **2009**, *30*, 1651-1655.
- [79] S. Shaunak, S. Thomas, E. Gianasi, A. Godwin, E. Jones, I. Teo, K. Mireskandari, P. Luthert, R. Duncan, S. Patterson, P. Khaw, S. Brocchini, *Nature Biotechnology* **2004**, *22*, 977-984.
- [80] C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, *291*, 2357-2364.
- [81] T. K. Lindhorst, *Chemie in unserer Zeit* **2000**, *34*, 38-52.
- [82] K. Ley, C. Laudanna, M. I. Cybulsky, S. Nourshargh, *Nature Reviews Immunology* **2007**, *7*, 678-689.
- [83] A. Bornschlegel, *Masterarbeit* **2013**, Bayreuth.
- [84] K. Letchford, H. Burt, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2007**, *65*, 259-269.
- [85] N. Nasongkla, E. Bey, J. Ren, H. Ai, C. Khemtong, J. S. Guthi, S.-F. Chin, A. D. Sherry, D. A. Boothman, J. Gao, *Nano Lett* **2006**, *6*, 2427-2430.
- [86] M. L. Adams, A. Lavasanifar, G. S. Kwon, *Journal of pharmaceutical sciences* **2003**, *92*, 1343-1355.
- [87] F. Ahmed, D. E. Discher, *Journal of Controlled Release* **2004**, *96*, 37-53.
- [88] J. S. Katz, S. Zhong, B. G. Ricart, D. J. Pochan, D. A. Hammer, J. A. Burdick, *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 3654-3655.
- [89] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angewandte Chemie* **2001**, *113*, 2056-2075.
- [90] W. H. Binder, R. Sachsenhofer, *Macromol Rapid Commun* **2007**, *28*, 15-54.
- [91] C. E. Hoyle, C. N. Bowman, *Angewandte Chemie* **2010**, *122*, 1584-1617.
- [92] W. H. Binder, R. Sachsenhofer, *Macromol Rapid Commun* **2008**, *29*, 952-981.
- [93] J. F. Lutz, *Angewandte Chemie* **2008**, *120*, 2212-2214.
- [94] J. F. Lutz, *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 1036-1043.
- [95] D. Kunz, *Chemie in unserer Zeit* **2009**, *43*, 224-230.
- [96] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [97] J.-F. Lutz, H. Schlaad, *Polymer* **2008**, *49*, 817-824.
- [98] J. Justynska, H. Schlaad, *Macromol Rapid Commun* **2004**, *25*, 1478-1481.

- [99] J. Justynska, Z. Hordyjewicz, H. Schlaad, *Polymer* **2005**, *46*, 12057-12064.
- [100] K. Griesbaum, Z. Rehman, *J Am Chem Soc* **1970**, *92*, 1416-1418.
- [101] R. M. Kandre, F. Kutzner, H. Schlaad, A. D. Schluter, *Macromolecular Chemistry and Physics* **2005**, *206*, 1610-1618.
- [102] A. Gress, A. Volkel, H. Schlaad, *Macromolecules* **2007**, *40*, 7928-7933.
- [103] N. ten Brummelhuis, C. Diehl, H. Schlaad, *Macromolecules* **2008**, *41*, 9946-9947.
- [104] R. L. A. David, J. A. Kornfield, *Macromolecules* **2008**, *41*, 1151-1161.
- [105] A. B. Lowe, *Polymer Chemistry* **2010**, *1*, 17-36.
- [106] A. L. Demirel, H. Schlaad, *Polymer* **2008**, *49*, 3470-3476.
- [107] Y. Geng, D. E. Discher, J. Justynska, H. Schlaad, *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 7740-7743.
- [108] M. Kunishima, K. Hioki, A. Wada, H. Kobayashi, S. Tani, *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 3323-3326.
- [109] M. Kunishima, C. Kawachi, K. Hioki, K. Terao, S. Tani, *Tetrahedron Letters* **2001**, *57*, 1551-1558.
- [110] P. Farkaš, S. Bystrický, *Carbohydrate Polymers* **2007**, *68*, 187-190.
- [111] M. Kunishima, A. Kitao, C. Kawachi, Y. Watanabe, S. Iguchi, K. Hioki, S. Tani, *Chemical and pharmaceutical bulletin* **2002**, *50*, 549-550.
- [112] J. M. Pelet, D. Putnam, *Bioconjugate Chemistry* **2011**, *22*, 329-337.
- [113] A. L. Becker, A. N. Zelikin, A. P. Johnston, F. Caruso, *Langmuir* **2009**, *25*, 14079-14085.
- [114] M. Beijs, M.-T. Charreyre, J. M. G. Martinho, *Progress in Polymer Science* **2011**, *36*, 568-602.
- [115] K. Rajagopal, D. A. Christian, T. Harada, A. Tian, D. E. Discher, *International Journal of Polymer Science* **2010**, *2010*.
- [116] J. Thiele, M. Windbergs, A. R. Abate, M. Trebbin, H. C. Shum, S. Förster, D. A. Weitz, *Lab Chip* **2011**, *11*, 2362-2368.
- [117] Q. B. Xu, M. Hashimoto, T. T. Dang, T. Hoare, D. S. Kohane, G. M. Whitesides, R. Langer, D. G. Anderson, *Small* **2009**, *5*, 1575-1581.
- [118] J. C. Stachowiak, D. L. Richmond, T. H. Li, A. P. Liu, S. H. Parekh, D. A. Fletcher, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, *105*, 4697-4702.
- [119] H. C. Shum, J.-W. Kim, D. A. Weitz, *J Am Chem Soc* **2008**, *130*, 9543-9549.
- [120] S. Ota, S. Yoshizawa, S. Takeuchi, *Angewandte Chemie-International Edition* **2009**, *48*, 6533-6537.
- [121] H. C. Shum, J. W. Kim, D. A. Weitz, *J Am Chem Soc* **2008**, *130*, 9543-9549.
- [122] H. C. Shum, A. R. Abate, D. Lee, A. R. Studart, B. Wang, C.-H. Chen, J. Thiele, R. K. Shah, A. Krummel, D. A. Weitz, *Macromol Rapid Commun* **2010**, *31*, 108-118.
- [123] J. Thiele, A. R. Abate, H. C. Shum, S. Bachtler, S. Förster, D. A. Weitz, *Small* **2010**, *6*, 1723-1727.
- [124] A. Kussrow, E. Kaltgrad, M. L. Wolfenden, M. J. Cloninger, M. G. Finn, D. J. Bornhop, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 4889-4897.
- [125] J. S. Yu, J. Whitesides, S. H. Lee, N. Taylor, W. R. Jacobs, N. L. Letvin, B. F. Haynes, *Clinical and Vaccine Immunology* **2011**, *18*, 43-49.
- [126] M. E. Yakovleva, A. P. Moran, G. R. Safina, T. Wadstrom, B. Danielsson, *Anal Chim Acta* **2011**, *694*, 1-5.
- [127] D. Qin, Y. N. Xia, G. M. Whitesides, *Nature Protocols* **2010**, *5*, 491-502.
- [128] T. Zheng, H. Yu, C. M. Alexander, D. J. Beebe, L. M. Smith, *Biomed Microdevices* **2007**, *9*, 611-617.
- [129] G. Safina, B. Duran Iu, M. Alasel, B. Danielsson, *Talanta* **2011**, *84*, 1284-1290.
- [130] M. Reches, K. A. Mirica, R. Dasgupta, M. D. Dickey, M. J. Butte, G. M. Whitesides, *Acs Applied Materials & Interfaces* **2010**, *2*, 1722-1728.

- [131] B. Biosciences, **2010**.
- [132] G. P. Robbins, R. L. Saunders, J. B. Haun, J. Rawson, M. J. Therien, D. A. Hammer, *Langmuir* **2010**, *26*, 14089-14096.
- [133] T. Franke, A. Wixforth, *Physik in unserer Zeit* **2007**, *38*, 88-94.
- [134] J. E. Hall, *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology: Enhanced E-book*, Saunders, **2010**.
- [135] S. Braunmüller, *Dissertation* **2011**, Augsburg.
- [136] S. Ruck, H. Oertel jr, *Blutkreislauf*, Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden, **2012**.
- [137] G. Klebe, *Wirkstoffdesign: Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, Springer Verlag, **2009**.
- [138] H. Gohlke, G. Klebe, *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, *41*, 2644-2676.
- [139] R. B. Silverman, *Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und pharmazeutische Chemiker*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **1995**.
- [140] S. Domes, V. Filiz, J. Nitsche, A. Frömsdorf, S. Förster, *Langmuir* **2010**, *26*, 6927-6931.
- [141] A. R. Abate, D. Lee, T. Do, C. Holtze, D. A. Weitz, *Lab Chip* **2008**, *8*, 516-518.
- [142] A. Abou-Hassan, O. Sandre, V. Cabuil, *Angewandte Chemie* **2010**, *122*, 6408-6428.
- [143] J. Atencia, D. J. Beebe, *Nature* **2005**, *437*, 648-655.
- [144] J. Thiele, *Diplomarbeit* **2008**, Hamburg.
- [145] M. W. Trebbin, *Diplomarbeit* **2009**.
- [146] J. Thiele, *Dissertation* **2011**, Bayreuth.
- [147] M. Baerns, A. Behr, A. Brehm, J. Gmehling, H. Hofmann, U. Onken, A. Renken, *Technische Chemie, Vol. 1*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **2006**.
- [148] H. Stark, *Physik Journal* **2007**, *6*, 31.
- [149] N.-T. Nguyen, *Strömungsmechanik im Mikrobereich*, Vieweg+ Teubner Verlag, Wiesbaden, **2004**.
- [150] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie* **1998**, *110*, 568-594.
- [151] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, *37*, 550-575.
- [152] V. Y. Voytekunas, F. L. Ng, M. J. Abadie, *European Polymer Journal* **2008**, *44*, 3640-3649.
- [153] J.-D. Cho, J.-W. Hong, *Journal of applied polymer science* **2004**, *93*, 1473-1483.
- [154] J.-D. Cho, J.-W. Hong, *European Polymer Journal* **2005**, *41*, 367-374.
- [155] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angewandte Chemie* **1988**, *100*, 507-554.
- [156] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Vol. 71*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **1988**.
- [157] M. Otto, *Analytische Chemie*, John Wiley & Sons, **2011**.
- [158] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2005**.
- [159] E. Breimaier, W. Voelter, *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic and Biochemistry*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **1990**.
- [160] A. Leson, *Dissertation* **2007**, Duisburg-Essen.
- [161] P. W. Atkins, A. Höpfner, A. Schleitzer, M. Bär, *Physikalische Chemie, Vol. 2*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, Basel, Cambridge, New York, **2006**.
- [162] T. Beyler, *Dissertation* **2011**.
- [163] <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/nmr/nmr1.htm>, **17.06.2013**.
- [164] S. Domes, *Dissertation* **2011**, Hamburg.

- [165] M. Karas, U. Bahr, U. Gießmann, *Mass spectrometry reviews* **1991**, *10*, 335-357.
- [166] M. Karas, F. Hillenkamp, *Analytical Chemistry* **1988**, *60*, 2299-2301.
- [167] S. Hauschild, *Dissertation* **2009**, *Hamburg*.
- [168] Z. N. S. U. Manual, in *Malvern Instruments England*, **2005**.
- [169] A. Horvarth, N. Dingenouts, Skript-Polymerpraktikum - Institut für Technische Chemie und Polymerchemie/ Abteilung Polymerchemie - Karlsruher Institut für Technologie, **2013**.
- [170] M. Mulisch, U. Welsch, *Romeis-mikroskopische Technik*, Spektrum Akademischer Verlag, **2010**.
- [171] P. A. Tipler, G. Mosca, D. Pelte, *Physik für Wissenschaftler und Ingenieure*, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, **2004**.
- [172] V. Filiz, *Dissertation* **2009**, *Hamburg*.
- [173] http://www.ipf.uni-stuttgart.de/lehre/online-skript/e50_14.html, **24.05.2013**.
- [174] <http://www.olympusconfocal.com/theory/index.html>, **23.05.2013**.
- [175] S. L. Flegler, J. W. Heckman, K. L. Klomparens, *Elektronenmikroskopie*, Spektrum Akad. Verlag, **1995**.
- [176] L. Bergmann, H. Niedrig, C. Schaefer, *Lehrbuch der Experimentalphysik Bd. 3 Optik: Wellen-und Teilchenoptik, Vol. 3*, Walter de Gruyter, **2004**.
- [177] W.-D. Deckwer, B. Dill, E. Eisenbrand, U. Bornscheuer, A. Pühler, F. Heiker, A. Kirschning, P. Schreier, B. Fugmann, G. Pohnert, Georg-Thieme-Verlag, **2006**.
- [178] W. Müller, *Dissertation* **2009**, *Mainz*.
- [179] E. Breitmaier, G. Jung, *Organische Chemie*, Georg Thieme Verlag, **2005**.
- [180] J. Allgaier, A. Poppe, L. Willner, D. Richter, *Macromolecules* **1997**, *30*, 1582-1586.
- [181] V. P. Šimák, G. Fahrbach, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie* **1971**, *16*, 309-324.
- [182] S. F. Mohd Yusoff, J. B. Gilroy, G. Cambridge, M. A. Winnik, I. Manners, *J Am Chem Soc* **2011**, *133*, 11220-11230.
- [183] L. Fetters, D. Lohse, D. Richter, T. Witten, A. Zirkel, *Macromolecules* **1994**, *27*, 4639-4647.
- [184] T. R. Güttler, *Masterarbeit* **2013**, *Bayreuth*.
- [185] K. Van de Velde, P. Kiekens, *Polymer Testing* **2002**, *21*, 433-442.
- [186] F. Krause, *Diplomarbeit* **2008**, *Hamburg*.
- [187] E. P. Diamandis, T. K. Christopoulos, *Clinical Chemistry* **1991**, *37*, 625-636.
- [188] D. A. Hammer, G. P. Robbins, J. B. Haun, J. J. Lin, W. Qi, L. A. Smith, P. Peter Ghoroghchian, M. J. Therien, F. S. Bates, *Faraday Discussions* **2008**, *139*, 129-141.
- [189] J. J. Lin, J. A. Silas, H. Bermudez, V. T. Milam, F. S. Bates, D. A. Hammer, *Langmuir* **2004**, *20*, 5493-5500.
- [190] S. M. Cannizzaro, R. F. Padera, R. Langer, R. A. Rogers, F. E. Black, M. C. Davies, S. J. B. Tendler, K. M. Shakesheff, *Biotechnology and Bioengineering* **1998**, *58*, 529-535.
- [191] J. L. Slack, C. P. Causey, Y. Luo, P. R. Thompson, *ACS Chemical Biology* **2011**, *6*, 466-476.
- [192] A. Ahmed, C. Bonner, T. A. Desai, *Biomed Microdevices* **2001**, *3*, 89-96.
- [193] X. Jiang, Q. Xu, S. K. W. Dertinger, A. D. Stroock, T.-M. Fu, G. M. Whitesides, *Analytical Chemistry* **2005**, *77*, 2338-2347.
- [194] M. A. Holden, S.-Y. Jung, P. S. Cremer, *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 1838-1843.
- [195] A. Winkleman, R. Perez-Castillejos, K. L. Gudiksen, S. T. Phillips, M. Prentiss, G. M. Whitesides, *Analytical Chemistry* **2007**, *79*, 6542-6550.
- [196] F. E. Black, M. Hartshorne, M. C. Davies, C. J. Roberts, S. J. B. Tendler, P. M. Williams, K. M. Shakesheff, S. M. Cannizzaro, I. Kim, R. Langer, *Langmuir* **1999**, *15*, 3157-3161.

- [197] R. P. Brinkhuis, F. P. J. T. Rutjes, J. C. M. van Hest, *Polymer Chemistry* **2011**, *2*, 1449.
- [198] T. D. Wickard, E. Nelsen, N. Madaan, N. ten Brummelhuis, C. Diehl, H. Schlaad, R. C. Davis, M. R. Linford, *Langmuir* **2010**, *26*, 1923-1928.
- [199] M. A. Winnik, O. Pekcan, *Macromolecules* **1983**, *16*, 1021-1023.
- [200] S. Deng, U. Gangadharmath, C.-W. T. Chang, *Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 5179-5185.
- [201] A. P. Esteves, L. M. Rodrigues, M. E. Silva, S. Gupta, A. M. F. Oliveira-Campos, O. Machalicky, A. J. Mendonça, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8625-8632.
- [202] T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Organic Letters* **2004**, *6*, 2853-2855.
- [203] A. Dumont, A. Malleron, M. Awwad, S. Dukan, B. Vauzeilles, *Angewandte Chemie* **2012**, *124*, 3197-3200.
- [204] K. Menzel, U.-P. Apfel, N. Wolter, R. Rüger, T. Alpermann, F. Steiniger, D. Gabel, S. Förster, W. Weigand, A. Fahr, *Journal of liposome research* **2014**, *24*, 59 - 68.
- [205] R. K. Thauer, A.-K. Kaster, M. Goenrich, M. Schick, T. Hiromoto, S. Shima, *Annual Review of Biochemistry* **2010**, *79*, 507-536.
- [206] M. T. Madigan, J. M. Martinko, J. Parker, *Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition*, Pearson Education Ltd. (London), **2003**.
- [207] K. Kitatokarczyk, J. Grumelard, T. Haefele, W. Meier, *Polymer* **2005**, *46*, 3540-3563.
- [208] X. Zhang, P. Tanner, A. Graff, C. G. Palivan, W. Meier, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2012**, 2293 – 2318.
- [209] U. P. Apfel, *Dissertation* **2010**, Jena.
- [210] U.-P. Apfel, Y. Halpin, H. Görls, J. G. Vos, B. Schweizer, G. Linti, W. Weigand, *Chemistry & Biodiversity* **2007**, *4*, 2138-2148.
- [211] M. S. Nikolic, M. Krack, V. Aleksandrovic, A. Kornowski, S. Förster, H. Weller, *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 6727-6731.
- [212] M. S. Nikolic, C. Olsson, A. Salcher, A. Kornowski, A. Rank, R. Schubert, A. Frömsdorf, H. Weller, S. Förster, *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 2752-2754.
- [213] L. Y. Qiu, Y. H. Bae, *Pharm Res* **2006**, *23*, 1-30.
- [214] G. Zemplén, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1926**, *59B*, 1254 - 1266.
- [215] G. Zemplén, E. Pacsu, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1929**, *62B*, 1613 - 1614.
- [216] X. Chen, K. Jankova, J. Kops, W. Batsberg, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1999**, *37*, 627-633.
- [217] P. P. Ghoroghchian, G. Li, D. H. Levine, K. P. Davis, F. S. Bates, D. A. Hammer, M. J. Therien, *Macromolecules* **2006**, *39*, 1673.
- [218] M. P. Krafft, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *47*, 209-228.
- [219] J. Xu, G. Sun, R. Rossin, A. Hagooly, Z. Li, K.-I. Fukukawa, B. W. Messmore, D. A. Moore, M. J. Welch, C. J. Hawker, *Macromolecules* **2007**, *40*, 2971.
- [220] A. M. Nyström, J. W. Bartels, W. Du, K. L. Wooley, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2009**, *47*, 1023-1037.
- [221] P. Mohan, N. Rapoport, *Molecular pharmaceuticals* **2010**, *7*, 1959.
- [222] http://chemnmr.colorado.edu/manuals/19F_NMR_Reference_Standards.pdf, **26.06.2013**.
- [223] J. Du, Y. Tang, A. L. Lewis, S. P. Armes, *J Am Chem Soc* **2005**, *127*, 17982-17983.
- [224] J. M. H. Kremer, M. W. Van der Esker, C. Pathmamanoharan, P. H. Wiersema, *Biochemistry* **1977**, *16*, 3932-3935.
- [225] J. Escalante, M. Carrillo-Morales, I. Linzaga, *Molecules* **2008**, *13*, 340-347.

- [226] E. Y. Ladilina, V. V. Semenov, Y. A. Kurskii, O. Kuznetsova, M. Lopatin, B. A. Bushuk, S. B. Bushuk, W. E. Douglas, *Russian Chemical Bulletin* **2005**, *54*, 1160-1168.
- [227] P. Mela, S. Onclin, M. H. Goedbloed, S. Levi, M. F. Garcia-Parajo, N. F. van Hulst, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, A. van den Berg, *Lab Chip* **2005**, *5*, 163-170.
- [228] T. Ghaly, B. E. Wildt, P. C. Searson, *Langmuir* **2009**, *26*, 1420-1423.
- [229] K. N. Houk, A. G. Leach, S. P. Kim, X. Zhang, *Angewandte Chemie* **2003**, *115*, 5020-5046.
- [230] M. Frankel, Y. Liwschitz, Y. Amiel, *J Am Chem Soc* **1953**, *75*, 330-332.
- [231] T. Smola, *Gefahrstoffe-Reinhaltung der Luft* **2009**, *69*, 303.
- [232] R. R. Radeisen, *REACH+ GHS:-REACH-Verordnung-Einführung zur REACH-Verordnung-REACH-Gebührenverordnung-GHS-Verordnung-Stoff-Richtlinie-Stand: 15. Januar 2009*, Lexxion Verlagsgesellschaft MbH, **2009**.
- [233] U. Welzbacher, *Die BG* **2009**, 184.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einteilung der Polymere nach der Anzahl und Anordnung der Monomere, basiert auf Lit. ^[32]	21
Abbildung 2: Schematischer Aufbau einer Apparatur für anionische Polymerisation ^[44]	24
Abbildung 3: Graphische Darstellung der Umsatz-Zeit-Funktion mit und ohne Abbruchreaktion.....	25
Abbildung 4: Graphische Darstellung des mittleren Polymerisationsgrades in Abhängigkeit vom Umsatz einer lebenden Polymerisation bzw. bei Auftreten von Transferreaktionen.....	25
Abbildung 5: Vier verschiedene Verknüpfungsstrukturen von Polyisopren	27
Abbildung 6: Mögliche Zustände und Gleichgewichte des Gegenionens mit der aktiven Polymerkette ^[52]	27
Abbildung 7: Reaktionsschema der 1,2- oder der 3,4-Addition an Polyisopren ^[43]	29
Abbildung 8: Abbruchreaktion des Polyisoprens mit Ethylenoxid.....	29
Abbildung 9: Synthese von einem PI-PEO-Blockcopolymer	30
Abbildung 10: AROP von Ethylenoxid mit 3-Mercaptopropionsäure.....	30
Abbildung 11: Synthese von Blockcopolymer PEO-PLA	30
Abbildung 12: Schematische Darstellung der AROP ^[59]	31
Abbildung 13: Graphische Darstellungen der <i>POISSON</i> - und <i>SCHULZ-FLORY</i> -Verteilungen ^[32]	32
Abbildung 14: Eine schematische Darstellung einer Verteilung der Molekulargewichte zusammen mit den verschiedenen Mittelwerten, basiert auf Lit. ^[44]	32
Abbildung 15: Schematische Darstellung der molekularen Voraussetzung zur Selbstorganisation von AB-Blockcopolymeren ^[2]	34
Abbildung 16: Berechnetes Phasendiagramm von Blockcopolymeren ^[64]	35
Abbildung 17: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem Packungsparameter und der Oberflächenkrümmung eines Amphiphilen, basiert auf Lit. ^[9]	36
Abbildung 18: Verschiedene selbstgeordnete Strukturen eines amphiphilen Blockcopolymeren in einem Block-selektiven Lösungsmittel ^[66]	37
Abbildung 19: Morphologiediagramm von 1 Gew.-% PB-PEO-Blockcopolymer im wässrigen Medium ^[67]	38
Abbildung 20: Diblockcopolymer Morphologien ^[70]	39
Abbildung 21: Isothermales Phasendiagramm von Blockcopolymeren in Wasser ^[71]	39
Abbildung 22: Mögliche Überstrukturen von amphiphilen Blockcopolymeren ^[2]	40
Abbildung 23: Schematische Darstellung der Bildung von Polymersomen ^[9]	41
Abbildung 24: Schematische Darstellung der Membrandicke von Polymersomen in Abhängigkeit des Molekulargewichtes ^[69]	42
Abbildung 25: Schematische Darstellung verschiedener Polymersomenformen.	42
Abbildung 26: Phasendiagramm von Polymersomenformen; a: theoretisch berechnet ^[9, 72] ; b: experimentell ermittelt ^[9]	43
Abbildung 27: Übersicht über einige Anwendungen von Kohlenhydraten in biologischen Systemen, basiert auf Lit. ^[75]	45
Abbildung 28: Biosynthese der Glycokonjugate und die Zell-Zell-Erkennung ^[80]	46
Abbildung 29: Schematische Darstellung der Adhäsionskaskade der Leukozyten aus der Blutbahn in entzündetes Gewebe ^[83]	48
Abbildung 30: Einteilungen von möglichen Wirkstofftransportsystemen ^[84]	49
Abbildung 31: Überblick von vesikulärer und mizellärer Trägersysteme für den Wirkstofftransport, basiert auf Lit. ^[14]	50
Abbildung 32: Schematische Darstellung des EPR-Effektes ^[15]	51

Abbildung 33: Syntheschema und Cryo-TEM- sowie FLM-Aufnahmen von photolabilen PEO-PCL-Polymersomen ^[88]	52
Abbildung 34: Anwendungsspektrum der 1,3-dipolaren Cycloaddition von Aziden und Alkinen in der Polymerchemie ^[94]	54
Abbildung 35: 1,3-dipolare Cycloaddition von Phenylazid mit Phenylacetylen, basiert auf Lit. ^[95]	54
Abbildung 36: Aktuell postulierter Reaktionsmechanismus der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden und Alkinen zum 1,4-substituierten Triazol ^[90, 92, 95, 97] ..	55
Abbildung 37: Beispiele der Modifizierung von 1,2-Polybutadien, 1,2-Polybutadien-Polystyrol- und 1,2-Polybutadien-Polyethylen-Blockcopolymer durch Thiol-Ene-Click-Reaktionen, basiert auf Lit. ^[91]	56
Abbildung 38: Schematische Darstellung des Reaktionsmechanismus einer Thiol-Ene-Click-Reaktion ^[91, 95, 105]	57
Abbildung 39: Wechsel der Morphologie von einer sphärischen zu	57
Abbildung 40: Reaktionsschema zur DMT-MM vermittelten Verknüpfung von Carbonsäuren und Aminen	58
Abbildung 41: Syntheschema zur Funktionalisierung der Seitenketten von PAA und PMAA, basiert auf Lit. ^[112]	59
Abbildung 42: Schematische Darstellung des immunhistochemischen MF-Systems ^[28]	60
Abbildung 43: Messungen der kritischen Spannung mittels der Mikropipetten-Aspirationstechnik an funktionalisierten Polymersomen und Mikropartikeln ^[26]	61
Abbildung 44: Immobilisierungen der funktionalisierten Leuko-Polymersomen in unterschiedlich beschichteten Flusszellen ^[132]	62
Abbildung 45: Schematischer Aufbau, einige wichtige funktionelle Strukturen des kardiovaskulären Systems sowie die Größenverhältnisse und Wandstärken der Arterien und Venen ^[135-136]	63
Abbildung 46: Immobilisierung von Aldehyd-funktionalisierten Blockcopolymer auf aminierte Glasoberflächen ^[140]	65
Abbildung 47: REM-Aufnahmen des unbeschichteten und des mit Glas beschichteten MF-Kanals ^[141]	65
Abbildung 48: Vermischen zweier mischbarer Flüssigkeiten mittels Strömungslaminierung ^[143]	66
Abbildung 49: Eine FEM-Simulation zeigt eine auf Diffusion beruhende Mischung eines in der Strömung ausgerichteten Flüssigkeitsstrahl in einem mikrofluidischen Kanal. (A) 2D-Oberfläche Diagramm des Konzentrationsprofils. (B) Querschnitte des Auslaßkanals bei $x = 0$ und $x = 500 \mu\text{m}$ ^[146]	67
Abbildung 50: Schematische Darstellung der Schlupflänge δ mit den entsprechenden Grenzfällen ^[144-145]	70
Abbildung 51: Schematische Darstellung des <i>rapid prototyping</i> zur Fertigung mikrofluidischer Kanalsysteme ^[150]	71
Abbildung 52: Herstellung einer mikrofluidischen Mastervorlage mittels Photolithographie ^[146]	71
Abbildung 53: Photoresist SU-8	72
Abbildung 54: REM-Charakterisierung der mikrofluidischen Mastervorlage ^[146]	72
Abbildung 55: Soft-Lithographie der mikrofluidischen Mastervorlage zum fertigen PDMS-Mikrofluidik-Chip ^[146]	73
Abbildung 56: v. l. n. r.: Dimethylsiloxan (Sylgard® 184-Oligomer), Hydrogenmethylsiloxan (Vernetzer), quervernetztes PDMS ^[144]	73
Abbildung 57: Schematische Darstellung der Präzessionsbewegung der Kerne im Magnetfeld B_0 ^[159-161]	74
Abbildung 58: Richtungsquantelung des Drehimpulses für $I = \frac{1}{2}$ ^[159-161]	75

Abbildung 59: Messprinzip des Impulsverfahrens.....	77
Abbildung 60: Einige chemische Verschiebungen von Protonen ^[163]	78
Abbildung 61: Schematische Darstellung der Trennung von Polymerproben mittels der GPC ^[44]	80
Abbildung 62: Auftragung einer GPC-Eichkurve.....	81
Abbildung 63: Schematischer Aufbau eines MALDI-ToF-Massenspektrometers ^[164]	83
Abbildung 64: Schematische Darstellung der Streustrahlung und der Interferenz der bestrahlten Polymeraggregate ^[164, 168]	84
Abbildung 65: Intensitätsfluktuation der Streustrahlung auf Grund der Brown'schen Molekularbewegung der streuenden Partikel ^[169]	85
Abbildung 66: Schematische Darstellung der Lage der Zeitintervalle ^[169]	85
Abbildung 67: Normierte Korrelationsfunktion in Abhängigkeit von der Partikelgröße ^[44, 168]	86
Abbildung 68: Schematischer Messaufbau der dynamischen Lichtstreuanlage der Firma Malvern ^[164]	88
Abbildung 69: Schematische Darstellung des Strahlengangs in einem Durchlichtmikroskop ^[83] basiert auf Lit. ^[171]	89
Abbildung 70: Lage der gegenseitigen ersten Beugungsminima ^[167, 172-173]	91
Abbildung 71: Schematische Darstellung des Strahlengangs unter Verwendung eines Trockenobjektivs (links) und eines Immersionsobjektivs (rechts) ^[83, 167, 172]	91
Abbildung 72: Darstellung des Fluoreszenzauflicht-Strahlengangs ^[170]	92
Abbildung 73: Schematische Darstellungen des Strahlengangs im CLSM ^[44, 174]	93
Abbildung 74: Vergleichbarer Aufbau eines Transmissions- und eines Rasterelektronenmikroskops ^[177]	95
Abbildung 75: Schematische Darstellung der Probenpräparation für Cryo-TEM- Messungen, basiert auf Lit. ^[178]	96
Abbildung 76: Klassifizierungen der beteiligten Elektronenübergänge in der UV/Vis-Spektroskopie ^[177]	97
Abbildung 77: <i>Franck-Condon-Diagramm</i> ^[161]	98
Abbildung 78: <i>Jablonski-Diagramm</i> ^[161]	99
Abbildung 79: Reihenfolge der Nukleophilie ^[179]	100
Abbildung 80: Syntheschema zur Polymerisation von Polyisopren-Polyethylenoxid	101
Abbildung 81: ¹ H-NMR-Spektren von PI-NW-14-OH (rotes Spektrum) und PI-PEO-NW-15-OH (blaues Spektrum).....	102
Abbildung 82: GPC-Chromatogramme und MALDI-ToF-Spektren von PI-NW-14-OH und PI-PEO-NW15-OH	102
Abbildung 83: Syntheschema zur Polymerisation von PEO-PLA	104
Abbildung 84: ¹ H-NMR-Spektren von H ₂ N-PEO-TG2-OH und H ₂ N-PEO-PLA-TG2-OH. 105	
Abbildung 85: GPC-Chromatogramme von H ₂ N-PEO-TG2-OH und H ₂ N-PEO-PLA-TG2-OH (links) sowie das MALDI-ToF-Spektrum von H ₂ N-PEO-TG2-OH(rechts).....	105
Abbildung 86: Biotinylierung der Polyester-Blockcopolymere.....	109
Abbildung 87: ¹ H-NMR-Spektrum nach der Biotinylierung von PEO-PCL-VIB3.....	109
Abbildung 88: FLM- und CLSM-Aufnahmen der FITC-NAv gelabelten PEO-PCL-VIB3- (links) und PEO-PLA-TG6-Polymersomen (rechts).....	110
Abbildung 89: SUR1 Pharmacophore.....	110
Abbildung 90: Boc-Schätzung von 2-Bromoethylaminhydrobromid.....	110
Abbildung 91: Reaktion von PI-PEO-NW12-OH mit N-Boc-2-bromoethylamin.....	111
Abbildung 92: ¹ H-NMR-Spektren von PI-PEO-NW12-OH (schwarz) und PI-PEO-NW12-Ether-NH-Boc (rot)	111
Abbildung 93: Reaktionsschema der Verknüpfung des SUR1-Liganden an PI-PEO-NW12-Ether-NH ₂	112

Abbildung 94: Vergleich der ¹ H-NMR-Spektren von PI-PEO-NW12-OH und PI-PEO-NW12-Ether-SUR1	113
Abbildung 95: Vergleich der GPC-Elugramme von PI-PEO-NW12-OH und PI-PEO-NW12-Ether-SUR1	113
Abbildung 96: Schematische Darstellung der STZ-Derivate C und D	114
Abbildung 97: ¹ H-NMR-Spektrum des deacetylierten STZ-Derivats C	114
Abbildung 98: Syntheseroute zur Verknüpfung der STZ-Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3-TBDMS	115
Abbildung 99: NMR-Spektren nach der Anbindungen der Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3	116
Abbildung 100: GPC-Messung nach der Anbindung der Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3	116
Abbildung 101: Syntheschema der DMT-MM-vermittelten Kupplung von der 2-Aminohexosen Glucosamine (links) und Galactosamine (rechts) an PEO-PLA-JN12	117
Abbildung 102: ¹ H-NMR-Spektren der DMT-MM-vermittelten Kupplung von Glucosamine und Galactosamin an PEO-PLA-JN12	118
Abbildung 103: Normierte GPC-Elugramme (links) und die erhaltenen Molmassen (rechts)	119
Abbildung 104: Syntheschema zur photoinduzierten Thiol-Ene-Click-Reaktion	119
Abbildung 105: GPC-Elugramme von PI-KV-1-OH-Naph nach verschiedenen Reaktionszeiten	121
Abbildung 106: ¹ H-NMR-Spektren von PI-KV-1-OH (schwarzes Spektrum) und PI-KV-1-OH-Naph nach 5 min (rotes Spektrum) sowie 175 min (blaues Spektrum) Reaktionszeit..	121
Abbildung 107: ¹ H-NMR-Spektren von PI-PEO-KV-2.1-OH (rot farbendes Spektrum), PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (hellblaues Spektrum) und PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (dunkelblaues Spektrum)	122
Abbildung 108: GPC-Messung von PI-PEO-KV-2.1-OH (roter Graph), PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (hellblauer Graph) und PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (dunkelblauer Graph)	123
Abbildung 109: Anregungsemissionsspektren von Thionaphthol (Spektrum A), 7-Mercapto-4-methylcumarin (Spektrum B), PI-PEO-KV.2.1-OH (Spektrum C), PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH (Spektrum D) und PI-PEO-KV-2.1-Cum-OH (Spektrum E)	124
Abbildung 110: CLSM-Aufnahmen von PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH-Polymersomen	125
Abbildung 111: Syntheschema für die Synthese des 1-Azido-1-deoxy-β-D-galactopyranosids	126
Abbildung 112: ¹ H-NMR-Spektrum des Tetra-O-acetyl-α-D-galactosylbromids	127
Abbildung 113: Massenspektrum des Tetra-O-acetyl-α-D-galactosylbromids	127
Abbildung 114: ¹ H-NMR des 1-Azido-1-deoxy-β-D-galactopyranosids	128
Abbildung 115: Massenspektrum des 1-Azido-1-deoxy-β-D-galactopyranosids	128
Abbildung 116: Syntheschema der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare HUISGEN-Cycloaddition des 1-Azido-1-deoxy-β-D-galactopyranosids an das	129
Abbildung 117: Normierte GPC-Elugramme (links) und mittels GPC erhaltene Molmassenverteilungen der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare HUISGEN Cycloaddition des 1-Azido-1-deoxy-β-D-galactopyranosids an das PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH	130
Abbildung 118: ¹ H-NMR-Spektren nach der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare HUISGEN-Cycloaddition zum PI-PEO-KV-2.1-Naph-Click-Gal (schwarzes Spektrum) sowie das PI-PEO-KV-2.1-Naph-Alkin (rotes Spektrum)	131
Abbildung 119: Anbindung des Nonaazids über eine Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare HUISGEN-Cycloaddition an ein alkinfunktionalisiertes Polymersom	132
Abbildung 120: Strukturformel der GlcTA ^[203]	132
Abbildung 121: ¹ H-NMR-Spektrum der Kupfer-(I)-katalysierte 1,3-dipolare HUISGEN-Cycloaddition des Nonaazids an ein alkinfunktionalisiertes PI-PEO	133

Abbildung 122: Syntheschema zur DMT-MM vermittelten Anbindung der 2-Aminohexosen an das fluoreszenzmarkierte PI-PEO-KV-2.1	134
Abbildung 123: ¹ H-NMR-Spektren der DMT-MM-vermittelten Anbindung von Glucosamin und Galactosamin an PI-PEO-KV-2.1-Naph; rotes Spektrum: PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH; schwarzes Spektrum: PI-PEO-KV-2.1-Naph-CONH-Galactose; blaues Spektrum: PI-PEO-KV-2.1-Naph-CONH-Glucose	135
Abbildung 124: Vereinfachtes Zellmembranmodell eines Hydrogenase-Metabolismus (oben); schematische Polymersomendarstellung mit einem gebundenen [2Fe2S]-Hydrogenasekomplex im Inneren (unten) ^[204, 206, 209]	136
Abbildung 125: Strukturformel des Hexacarbonyl (m-2-hydroxypropan-1,3-dithiolato-S,S')di-Eisenkomplexes ^[210]	136
Abbildung 126: Reaktionskaskade zur Anbindung des Eisenschwefelkomplexes an PB-PEO-2	137
Abbildung 127: GPC-Elugramme der einzelnen Stufen; rechts normiertes GPC-Elugramm des RI-Detektors, links GPC-Elugramm des UV-Detektors	138
Abbildung 128: ¹ H-NMR-Spektrum von PB-PEO-2-COO-CDI	139
Abbildung 129: ¹ H-NMR-Spektrum von PB-PEO-2-UP365	139
Abbildung 130: Cryo-TEM Aufnahmen von Komplex 1 gebundenen PB-PEO Polymersomen ^[204, 209]	140
Abbildung 131: Syntheschema der DETA-Funktionalisierung von PCL	141
Abbildung 132: ¹ H-NMR-Spektren der PCL-Funktionalisierung	142
Abbildung 133: Ligandenaustausch an einem Nanopartikel ^[164]	142
Abbildung 134: Größenverteilungen der PCL-DETA beschichteten QD, eingekapselt in PEO-PCL-Mizellen	143
Abbildung 135: Cryo-TEM der eingekapselten QD in PCL-PEO-Mizellen	144
Abbildung 136: Cryo-TEM-Aufnahmen der vesikulären Strukturen mit den QD	144
Abbildung 137: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrazinolyse von PEO-PCL-6	146
Abbildung 138: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrazinolyse von PEO-PLA-V6	147
Abbildung 139: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrolyse nach ZEMPLÈN von PEO-PCL-6	147
Abbildung 140: GPC-Messungen (links) und NMR-Spektren (rechts) der Hydrolyse nach ZEMPLÈN von PEO-PLA-V6	148
Abbildung 141: Größenverteilung (links) und DLS-Daten (rechts) der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4	150
Abbildung 142: Größenverteilung (links) und DLS-Daten (rechts) der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-14	150
Abbildung 143: Langzeittest der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4	151
Abbildung 144: Größenverteilung (links) und DLS-Daten (rechts) der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL-2	151
Abbildung 145: Fotostrecke der säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4 mit Nile Red als Indikator. Bild A: Blindprobe Nile Red; Bild B: säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-4; Bild C: säurekatalysierten Hydrolyse von PEO-PCL/PGL-1	153
Abbildung 146: Strukturformel des Perfluoro-15-Krone-5-ether	154
Abbildung 147: Größenverteilungen der Einkapselung des Perfluoro-15-krone-5-ethers in fluorinierten Polyester-Mizellen	155
Abbildung 148: ¹⁹ F-NMR-Spektren der Einkapselungsversuche des Perfluoro-15-krone-5-ethers in Polyester-Mizellen	156
Abbildung 149: Hydrodynamischer Durchmesser bei verschiedenen Gew-% eingekapselten Perfluoro-15-krone-5-ethers in PEO-PLA-Mizellen	158

Abbildung 150: Cryo-TEM-Aufnahme der PEO-PLA-V 5a-Mizellen mit 20 Gew-% Perfluoro-15-krone-5-ethers.....	158
Abbildung 151: ¹⁹ F-NMR Spektren von PEO-PLA-Mizellen bei verschiedenen Gew-% des Perfluoro-15-krone-5-ethers: (A) PEO-PLA 0-Krone (no peak) (B) PEO-PLA 1-Krone (C) PEO-PLA 5-Krone (D) PEO-PLA 20-Krone (E) PEO-PLA 25-Krone (F) PEO-PLA 40-Krone.....	159
Abbildung 152: 19F-MRT-Aufnahmen der Probe PEO-PLA-V5a 5 Gew-% Krone bei drei unterschiedlichen Verdünnungen.....	160
Abbildung 153: Thiol-Ene-Click-Chemie zur Seitenkettenfunktionalisierung von PI-PEO-NW15-OH.....	161
Abbildung 154 : ¹ H-NMR-Spektren der Seitenkettenfunktionalisierung von PI-PEO-NW15-OH.....	162
Abbildung 155: Größenverteilungen der hydrodynamischen Fokussierung im Mikrofluidikkanal von PI-PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen.....	164
Abbildung 156: Ergebnisse der hydrodynamischen Fokussierung von PI-PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen.....	165
Abbildung 157: Größenverteilungen der hydrodynamischen Fokussierung im MF-Kanal von PI _(NH₂) -PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen.....	166
Abbildung 158: Ergebnisse der hydrodynamischen Fokussierung von PI _(NH₂) -PEO-NW15-OH bei variierenden NaCl-Konzentrationen.....	168
Abbildung 159: Synthese des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl- <i>N</i> -3-triethoxysilylpropylaminopropanoat ^[226]	169
Abbildung 160: NMR-Spektrum des 1,1,5-Trihydrooctafluoroamyl- <i>N</i> -3-triethoxysilylpropylaminopropanoates.....	170
Abbildung 161: Rhodamin-B-Nachweis der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal ^[227]	171
Abbildung 162: FLM-Aufnahmen des Rhodamin-B-Nachweises der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal.....	171
Abbildung 163: 3D-CLSM-Aufnahme des Rhodamin-B-Nachweises der Aminogruppen auf der Oberfläche im MF-Kanal.....	172
Abbildung 164: FLM-Aufnahmen des Nachweises der Aminogruppen mit <i>Alexa Fluor</i> [®] 488-Farbstoff auf der Oberfläche im MF-Kanal ^[228]	172
Abbildung 165: 3D-CLSM-Aufnahme des Nachweises der Aminogruppen mit <i>Alexa Fluor</i> [®] 488-Farbstoff auf der Oberfläche im MF-Kanal.....	173
Abbildung 166: ¹ H-NMR-Spektrum von PI-PEO-20.2-Aldehyd.....	174
Abbildung 167: FLM-Aufnahme von Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal bei einer Flussgeschwindigkeit von 0 μL/h.....	174
Abbildung 168: FLM-Aufnahmen von immobilisierten Aldehyd-funktionalisierten Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal.....	175
Abbildung 169: 3D-CLSM-Aufnahmen von immobilisierten Aldehyd-funktionalisierten Polymersomen in einem mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanal.....	175
Abbildung 170: Säurefunktionalisierung des mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanals ^[230]	176
Abbildung 171: Thymolblau nach Durchfluss durch hydroxy-, amino- und säurefunktionalisierte MF-Kanäle (oben) und pH-Wert-Farbskala von Thymolblau (unten).....	177
Abbildung 172: UV/Vis-Spektren von Thymolblau in aminierten, hydroxy- und säurefunktionalisierten Glas beschichteten MF-Kanäle.....	177
Abbildung 173: Kovalente Avidinbeschichtung des säurefunktionalisierten MF-Kanals ^[124, 126]	178
Abbildung 174: FLM-Aufnahme des Avidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin.....	178

Abbildung 175: 3D-CLSM-Aufnahme des Avidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin	179
Abbildung 176: FLM- Aufnahme des Streptavidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin	179
Abbildung 177: 3D-CLSM-Aufnahme des Streptavidin-Nachweises auf der Oberfläche im MF-Kanal mit FITC-Biotin	180
Abbildung 178: Protein-Liganden-Bindung des Avidin an die Oberfläche des mit aminiertem Glas beschichteten MF-Kanals, basiert auf Lit. ^[83]	180
Abbildung 179: 3D-CLSM-Aufnahme mit FITC-Avidin beschichteten MF-Kanals ^[83]	180
Abbildung 180: Schematische Darstellung der Immobilisierung der biotinylierten Polymersomen in avidinbeschichteten MF-Kanälen.....	181
Abbildung 181: FLM- (links) und 3D-CLSM-Aufnahmen (rechts) von biotinylierten Polymersomen im avidinbeschichteten MF-Kanal während Pufferdurchfluss von 10 $\mu\text{L}/\text{h}$. 181	181
Abbildung 182: Standbilder aus dem mittels einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommenen Video nach unterschiedlichen Zeiten (0 s, 1,4 s, 3,0 s, 3,3 s).....	182
Abbildung 183: 3D-CLSM-Aufnahmen von biotinylierte Polymersomen im avidinbeschichteten MF-Kanal (Protein-Liganden-Bindung) während Pufferdurchfluss von 50 $\mu\text{L}/\text{h}$ ^[83]	183
Abbildung 184: Schematische Darstellung der Lektin-Beschichtung über eine Avidin-Biotin-Sandwich-Bindung	183
Abbildung 185: FLM-Aufnahme von Nile Red markierten, Galactose-funktionalisierten Polymerstrukturen in einem biotinylierten SBA-Lektin beschichteten MF-Kanal bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 10 $\mu\text{l}/\text{h}$	184
Abbildung 186: Nile Red angefärbte Polymerstrukturen aus Galactose-funktionalisiertem PEO-PLA immobilisiert im mit biotinyliertem SBA-Lektin beschichteten MF-Kanal.....	185
Abbildung 187: Nile Red angefärbte Polymerstrukturen aus Galactose-funktionalisiertem PEO- <i>b</i> -PLA im unbeschichteten PDMS-Mikrokanal	185

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: pKA-Werte verschiedener Lithiumorganylverbindungen ^[43]	23
Tabelle 2: Verknüpfungen von Polyisopren bei der Polymerisation von Isopren mit dem Initiator sec-Butyllithium in verschiedenen Lösungsmitteln bei einer Polymerisationstemperatur von 25 °C ^[53]	28
Tabelle 3: Thermodynamische Parameter der Polymerisation von cyclischen Estern bei 100 °C ^[59]	31
Tabelle 4: Beispiele für Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen in biologischen Ereignissen ^[81]	47
Tabelle 5: Vergleich der Bindungsstärken einiger Bindungstypen ^[139]	64
Tabelle 6: Einige typische ¹ H-chemischen Verschiebungen in ausgewählten Lösungsmitteln ^[163]	79
Tabelle 7: Einschätzung der PDI-Bereiche ^[169]	88
Tabelle 8: Zusammenfassung der GPC- und MALDI-Tof-Analysen von PI-NW-14-OH und PI-PEO-NW15-OH	103
Tabelle 9: Übersicht der synthetisierten PI-PEO-Blockcopolymere.....	103
Tabelle 10: Übersicht der synthetisierten PEO-PLA-Blockcopolymere.....	106
Tabelle 11: Übersicht über die weiteren verwendeten Blockcopolymere ^[44, 164, 172, 186]	107
Tabelle 12: Ergebnistabelle der GPC nach der Anbindung der Derivate C und D an PEO-PCL-VIB-3	117
Tabelle 13: Zusammenfassung der entnommenen Proben nach einer bestimmten Reaktionszeit von PI-KV-1-OH mit Thionaphthol	120
Tabelle 14: Zusammenfassungen der Molmassen der CuAAC des 1-Azido-1-deoxy-b-D-galactopyranosids an das PI-PEO-KV-2.1-Naph-OH	130
Tabelle 15: GPC-Daten der Reaktionskaskade zur Anbindung des Eisenschwefelkomplexes an PB-PEO.	138
Tabelle 16: Reaktionszeiten während Hydrolysereaktionen.	145
Tabelle 17: Integrale der NMR-Spektren bei der Hydrolyse nach <i>ZEMPLÈN</i> von PEO-PCL-6.	148
Tabelle 18: Durchschnittliche Blocklänge und Anteil an alternierenden Diaden ^[164]	149
Tabelle 19: Ergebnisse der DLS-Messungen der Einkapselungsversuche des Perfluoro-15-Krone-5-ethers in Polyester-Mizellen	155
Tabelle 20: Größenverteilungen der Einkapselungen des Perfluoro-15-krone-5-ethers mit unterschiedlichen Gew-% in PEO-PLA-RF-Mizellen.	157
Tabelle 21: Konzentrationen der Stammlösung und T ₁ -Werte (1:1 Verdünnung PBS/D ₂ O) der PEO-PLA-Mizellen bei verschieden Gew-% des Perfluoro-15-krone-5-ethers.	160
Tabelle 22: Zusammenfassung der Ergebnisse.	162
Tabelle 23: Chemikalien und eingesetzte Mengen zur Verglasung und Aminofunktionalisierung MF-Kanäle.	208

11 Gefahren- und Sicherheitshinweise^[231-233]

11.1 Piktogramme und Kodierungen

Piktogramm	Bezeichnung	Kodierung	Signalwort
	Explosierende Bombe	GHS01	Gefahr
	Flamme	GHS02	Gefahr
	Flamme über einem Kreis	GHS03	Gefahr
	Gasflasche	GHS04	Achtung
	Ätzwirkung	GHS05	Gefahr / Achtung
	Totenkopf mit gekreuzten Knochen	GHS06	Gefahr
	Gesundheitsgefahr	GHS08	Gefahr
	dickes Ausrufezeichensymbol	GHS07	
	Umwelt	GHS09	Achtung / Gefahr

11.2 H- und P-Sätze nach CLP-Verordnung

11.2.1 H200-Reihe: Physikalische Gefahren

H200	Instabil, explosiv
H201	Explosiv, Gefahr der Massenexplosion.
H202	Explosiv; große Gefahr durch Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H203	Explosiv; Gefahr durch Feuer, Luftdruck oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H204	Gefahr durch Feuer oder Splitter, Spreng- und Wurfstücke.
H205	Gefahr der Massenexplosion bei Feuer.
H220	Extrem entzündbares Gas.
H221	Entzündbares Gas.
H222	Extrem entzündbares Aerosol.
H223	Entzündbares Aerosol.
H224	Flüssigkeit und Dampf extrem entzündbar.

H225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
H228	Entzündbarer Feststoff.
H240	Erwärmung kann Explosion verursachen.
H241	Erwärmung kann Brand oder Explosion verursachen.
H242	Erwärmung kann Brand verursachen.
H250	Entzündet sich in Berührung mit Luft von selbst.
H251	Selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H252	In großen Mengen selbsterhitzungsfähig; kann in Brand geraten.
H260	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase, die sich spontan entzünden können.
H261	In Berührung mit Wasser entstehen entzündbare Gase.
H270	Kann Brand verursachen oder verstärken; Oxidationsmittel.
H271	Kann Brand oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel.
H272	Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.
H280	Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren.
H281	Enthält tiefgekühltes Gas; kann Kälteverbrennungen oder – Verletzungen verursachen.
H290	Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

11.2.2 H300-Reihe: Gesundheitsgefahren

H300	Lebensgefahr bei Verschlucken.
H301	Giftig bei Verschlucken.
H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H304	Kann bei Verschlucken und Eindringen in die Atemwege tödlich sein.
H310	Lebensgefahr bei Hautkontakt.
H311	Giftig bei Hautkontakt.
H312	Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt.
H314	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
H315	Verursacht Hautreizungen.
H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
H318	Verursacht schwere Augenschäden.
H319	Verursacht schwere Augenreizung.
H330	Lebensgefahr bei Einatmen.
H331	Giftig bei Einatmen.
H332	Gesundheitsschädlich bei Einatmen.
H334	Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
H335	Kann die Atemwege reizen.
H336	Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H340	Kann genetische Defekte verursachen <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.
H341	Kann vermutlich genetische Defekte verursachen <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.
H350	Kann Krebs erzeugen <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.

H350i	Kann bei Einatmen Krebs erzeugen.
H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.
H360	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen <konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt> <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.
H360F	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H360D	Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H360FD	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H360Fd	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H360Df	Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H361	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen <konkrete Wirkung angeben, sofern bekannt> <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass die Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>
H361f	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen.
H361d	Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H361fd	Kann vermutlich die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen.
H362	Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen.
H370	Schädigt die Organe <oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt> <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.
H371	Kann die Organe schädigen <oder alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt> <Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.
H372	Schädigt die Organe <alle betroffenen Organe nennen> bei längerer oder wiederholter Exposition <Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>
H373	Kann die Organe schädigen <alle betroffenen Organe nennen, sofern bekannt> bei längerer oder wiederholter Exposition <Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht>.

11.2.3 H400-Reihe: Umweltgefahren

H400	Sehr giftig für Wasserorganismen.
H410	Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
H411	Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
H413	Kann für Wasserorganismen schädlich sein, mit langfristiger Wirkung. Ergänzende Gefahrenmerkmale und Kennzeichnungselemente

(EUH-Sätze)

EUH 001	In trockenem Zustand explosiv.
EUH 006	Mit und ohne Luft explosionsfähig.
EUH 014	Reagiert heftig mit Wasser.
EUH 018	Kann bei Verwendung explosionsfähige / entzündbare Dampf / Luft-Gemische bilden.
EUH 019	Kann explosionsfähige Peroxide bilden.
EUH 044	Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss.
EUH 029	Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase.
EUH 031	Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase.
EUH 032	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
EUH 066	Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
EUH 070	Giftig bei Berührung mit den Augen.
EUH 071	Wirkt ätzend auf die Atemwege.
EUH 059	Die Ozonschicht schädigend.
EUH 201/	Enthält Blei. Nicht für den Anstrich von Gegenständen verwenden, die von Kindern gekaut oder gelutscht werden könnten.
EUH 201 A	Achtung! Enthält Blei.
EUH 202	Cyanacrylat. Gefahr. Klebt innerhalb von Sekunden Haut und Augenlider zusammen. Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
EUH 203	Enthält Chrom(VI). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 204	Enthält Isocyanate. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 205	Enthält epoxidhaltige Verbindungen. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 206	Achtung! Nicht zusammen mit anderen Produkten verwenden, da gefährliche Gase (Chlor) freigesetzt werden können.
EUH 207	Achtung! Enthält Cadmium. Bei der Verwendung entstehen gefährliche Dämpfe. Hinweise des Herstellers beachten. Sicherheitsanweisungen einhalten.
EUH 208	Enthält <Name des sensibilisierenden Stoffes>. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.
EUH 209/	Kann bei Verwendung leicht entzündbar werden.
EUH 209 A	Kann bei Verwendung entzündbar werden.
EUH 210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
EUH 401	Zur Vermeidung von Risiken für Mensch und Umwelt die Gebrauchsanleitung einhalten.

11.2.4 P 100-Reihe: Allgemeines

P101	Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungsetikett bereithalten.
P102	Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
P103	Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen.

11.2.5 P 200-Reihe: Prävention

P201	Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202	Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P210	Von Hitze / Funken / offener Flamme / heißen Oberflächen fernhalten.

	Nicht rauchen.
P211	Nicht gegen offene Flamme oder andere Zündquelle sprühen.
P220	Von Kleidung /.../ brennbaren Materialien fernhalten/entfernt aufbewahren.
P221	Mischen mit brennbaren Stoffen /... unbedingt verhindern.
P222	Kontakt mit Luft nicht zulassen.
P223	Kontakt mit Wasser wegen heftiger Reaktion und möglichem Aufblammen unbedingt verhindern.
P230	Feucht halten mit ...
P231	Unter inertem Gas handhaben.
P232	Vor Feuchtigkeit schützen.
P233	Behälter dicht verschlossen halten.
P234	Nur im Originalbehälter aufbewahren.
P235	Kühl halten.
P240	Behälter und zu befüllende Anlage erden.
P241	Explosionsgeschützte elektrische Betriebsmittel / Lüftungsanlagen / Beleuchtung /... verwenden.
P242	Nur funkenfreies Werkzeug verwenden.
P243	Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen.
P244	Druckminderer frei von Fett und Öl halten.
P250	Nicht schleifen / stoßen /.../ reiben.
P251	Behälter steht unter Druck: Nicht durchstechen oder verbrennen, auch nicht nach der Verwendung.
P260	Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol nicht einatmen.
P261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P262	Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen.
P263	Kontakt während der Schwangerschaft / und der Stillzeit vermeiden.
P264	Nach Gebrauch ... gründlich waschen.
P270	Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
P271	Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
P272	Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.
P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P280	Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.
P281	Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
P282	Schutzhandschuhe / Gesichtsschild / Augenschutz mit Kälteisolierung tragen.
P283	Schwer entflammbare / flammhemmende Kleidung tragen.
P284	Atemschutz tragen.
P285	Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen.
P231 + P232	Unter inertem Gas handhaben. Vor Feuchtigkeit schützen.
P235 + P410	Kühl halten. Vor Sonnenbestrahlung schützen.

11.2.6 P 300-Reihe: Reaktion

P301	BEI VERSCHLUCKEN:
P302	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT:
P303	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar):

P304	BEI EINATMEN:
P305	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:
P306	BEI KONTAMINierter KLEIDUNG:
P307	BEI EXPOSITION:
P308	BEI EXPOSITION ODER FALLS BETROFFEN:
P309	BEI EXPOSITION ODER UNWOHLSEIN:
P310	Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P311	GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P312	Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anru [^] fen.
P313	Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P314	Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P315	Sofort ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P320	Besondere Behandlung dringend erforderlich (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P321	Besondere Behandlung (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P322	Gezielte Maßnahmen (siehe ... auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P330	Mund ausspülen.
P331	KEIN Erbrechen herbeiführen.
P332	Bei Hautreizung:
P333	Bei Hautreizung oder -ausschlag:
P334	In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
P335	Lose Partikel von der Haut abbürsten.
P336	Vereiste Bereiche mit lauwarmem Wasser auftauen. Betroffenen Bereich nicht reiben.
P337	Bei anhaltender Augenreizung:
P338	Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
P340	Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P341	Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P342	Bei Symptomen der Atemwege:
P350	Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.
P351	Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen.
P352	Mit viel Wasser und Seife waschen.
P353	Haut mit Wasser abwaschen / duschen.
P360	Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
P361	Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen.
P362	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
P363	Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
P370	Bei Brand:
P371	Bei Großbrand und großen Mengen:
P372	Explosionsgefahr bei Brand.
P373	KEINE Brandbekämpfung, wenn das Feuer explosive Stoffe / Gemische / Erzeugnisse erreicht.
P374	Brandbekämpfung mit üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus angemessener Entfernung.
P375	Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.

P376	Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.
P377	Brand von ausströmendem Gas: Nicht löschen, bis Undichtigkeit gefahrlos beseitigt werden kann.
P378	... zum Löschen verwenden.
P380	Umgebung räumen.
P381	Alle Zündquellen entfernen, wenn gefahrlos möglich.
P390	Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermeiden.
P391	Verschüttete Mengen aufnehmen.
P301 + P310	BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P301 + P312	BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P301 + P330 + P331	BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.
P302 + P334	BEI KONTAKT MIT DER HAUT: In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
P302 + P350	BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen.
P302 + P352	BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
P303 + P361 + P353	BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
P304 + P340	BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P304 + P341	BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P305 + P351 + P338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
P306 + P360	BEI KONTAKT MIT DER KLEIDUNG: Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abwaschen und danach Kleidung ausziehen.
P307 + P311	Bei Exposition: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P308 + P313	Bei Exposition oder falls betroffen : Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P309 + P311	Bei Exposition oder Unwohlsein: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P332 + P313	Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P333 + P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P335 + P334	Lose Partikel von der Haut abbürsten. In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
P337 + P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P335 + P334	Lose Partikel von der Haut abbürsten. In kaltes Wasser tauchen / nassen Verband anlegen.
P337 + P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P342 + P311	Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

P370 + P376	Bei Brand: Undichtigkeit beseitigen, wenn gefahrlos möglich.
P370 + P378	Bei Brand: ... zum Löschen verwenden.
P370 + P380	Bei Brand: Umgebung räumen.
P370 + P380 + P375	Bei Brand: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.
P371 + P380 + P375	Bei Großbrand und großen Mengen: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Brand aus der Entfernung bekämpfen.

11.2.7 P 400-Reihe: Aufbewahrung

P401	...aufbewahren.
P402	An einem trockenen Ort aufbewahren.
P403	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P404	In einem geschlossenen Behälter aufbewahren.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.
P406	In korrosionsbeständigem /... Behälter mit korrosionsbeständiger Auskleidung aufbewahren.
P407	Luftspalt zwischen Stapeln / Paletten lassen.
P410	Vor Sonnenbestrahlung schützen.
P411	Bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C / ... aufbewahren.
P412	Nicht Temperaturen von mehr als 50 °C aussetzen.
P413	Schüttgut in Mengen von mehr als ... kg bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C aufbewahren
P420	Von anderen Materialien entfernt aufbewahren.
P422	Inhalt in / unter ... aufbewahren
P402 + P404	In einem geschlossenen Behälter an einem trockenen Ort aufbewahren.
P403 + P233	Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P403 + P235	Kühl an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P410 + P403	Vor Sonnenbestrahlung geschützt an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P410 + P412	Vor Sonnenbestrahlung schützen und nicht Temperaturen von mehr als 50 °C aussetzen.
P411 + P235	Kühl und bei Temperaturen von nicht mehr als ... °C aufbewahren.

11.2.8 P 500-Reihe: Entsorgung

P501	Inhalt / Behälter ... zuführen.
------	---------------------------------

12 Übersicht der verwendeten Chemikalien^[231-233]

Chemikalien	CAS-Nr	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
1,1'-Carbonyldiimidazol	530-62-1	GHS05, GHS07	302-314	280-305+351+ 338-310
1,4-Dioxan	123-91-1	GHS02, GHS07, GHS08	225-351-319- 335	210-261-281- 305+351+338
1-Azido-1-deoxy- β -D-galactopyranosid	35899-89-9	keine GHS-Piktogramme		
1-Azido-1-deoxy- β -D-lactopyranosid	69266-16-6	GHS07	315-319-335	261-305+351+ 338
1-Ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]-carbodiimidhydrochlorid	25952-53-8	GHS05,	314	280-305+351+ 338-310
2,2'-Azobis(2-methylbutyronitril)	13472-08-7	GHS02, GHS07,	242-302	
2-Bromoethylaminehydrobromid	107-09-5	GHS07	315-319-335	261-305+351+ 338
2-Propanol	67-63-0	GHS02, GHS07,	225-319-336	210-261-305 + 351+338
3,6-Dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dion	95-96-5	GHS07	315-319-335	261-305+351 +338
3-Aminopropyltriethoxysilan	919-30-2	GHS05, GHS07	302-314-317	280-305+351+ 338-310
3-Mercaptopropionsäure	107-96-0	GHS05, GHS06	301-314	280-301+310- 305+351+338- 310
4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chlorid	3945-69-5	GHS05, GHS07	302-314	280-305+351+ 338-310
5-Amino-2-(hydroxymethylphenyl)-boronsäure·HCl	117098-93-8	GHS07	315-319-335	261-305+351+ 338-302+352- 321-405-501A
7-Mercapto-4-Methyl-Cumarin	137215-27-1	Nicht vollständig geprüfter Stoff		
Aceton	67-64-1	GHS02, GHS07	225-319-336	210-261-305+ 351+338
Acetylchlorid	75-36-5	GHS02, GHS05	225-314	210-280-305+ 351+338-310
Aktivkohle	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Alexa Fluor ® 488	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Aluminiumoxid	1344-28-1	Nicht vollständig geprüfter Stoff		
Amberlite IR 120	37360-75-1	GHS07	319	305+351+338
Argon	7440-37-1	keine GHS-Piktogramme		
Biotinamidohexanoyl-6-aminohexansäure-N-hydroxysuccinimidester	89889-52-1	keine GHS-Piktogramme		
Bromwasserstoff	10035-10-6	GHS07	315-319	305+351+338

12. Übersicht der verwendeten Chemikalien

(32%ige Lösung in Essigsäure)				
Calciumhydrid	7789-78-8	GHS02	260	223-231+232-370+378-422
Celite	61790-53-2	GHS07	319-335	261-305+351+338
Chloressigsäure	79-11-8	GHS05, GHS06, GHS09	331-311-301-314-400	273-280-303+361+353-305+351+338-310-501
Chloroform	67-66-3	GHS07, GHS08	302-315-351-373	281
Chloroform-d1	865-49-6	GHS07, GHS08	302-315-351-373	281
Cysteaminiumchlorid	156-57-0	GHS07	302	-
D-(+)-Galactosaminhydrochlorid	1772-03-8	keine GHS-Piktogramme		

D-(+)-Glucosaminhydrochlorid	66-84-2	keine GHS-Piktogramme		
D ₂ O	7789-20-0	keine GHS-Piktogramme		
Dichlormethan	75-09-2	GHS08	351	281
Diethylether	60-29-7	GHS02, GHS07	224-302-336	210-261
Dimethylformamid	68-12-2	GHS02, GHS07, GHS08	226-312+332-319-360D	201-280-305+351+338-308+313
Dimethylsulfoxid	67-68-5	keine GHS-Piktogramme		
Di- <i>n</i> -butylmagnesium (1 M in Heptan)	1191-47-5	GHS02, GHS05, GHS07, GHS08, GHS09	225-250-260-304-314-336-H410	210-222-223-231+232-370+378-422
Diphenylmethylkalium	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Di- <i>tert</i> -butyl-dicarbonat	24424-99-5	GHS02, GHS06	226-315-317-319-330-335	260-280-284-305+351+338-310
Essigsäure	64-19-7	GHS02, GHS05	226-314	280-305+351+338-310
Essigsäureanhydrid	108-24-7	GHS02, GHS05, GHS07	226-302-314-332	280-305+351+338-310
Ethanol	64-17-5	GHS02	225	210
Ethylacetat	141-78-6	GHS02, GHS07	225-319-336	210-240-305+351+338
Ethylendiamin	107-15-3	GHS02, GHS05, GHS07, GHS08	226-302-312-314-317-334	261-280-305+351+338-310
Ethylenoxid	75-21-8	GHS02, GHS04, GHS06, GHS08	220-280-315-319-331-335-340-350	201-210-261-305+351+338-311-410+403
FITC-NA _v	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Fluoreszin	05.07.2321	GHS07	319	305+351+338
HEPES Puffer Lösung	7365-45-9	Nicht vollständig geprüfter Stoff		

12. Übersicht der verwendeten Chemikalien

Hexan	110-54-3	GHS02, GHS07, GHS08, GHS09	225-304-315-336-361f-373-411	210-261-273-281-301+310-331
Isopren	78-79-5	GHS02, GHS08	224-341-350-412	201-210-273-281-308+313
Kupfersulfat- Pentahydrat	7758-99-8	GHS07, GHS09	302-319-315-410	273-305+351+338-302+352
L-Ascorbinsäure	50-81-7	keine GHS-Piktogramme		
Loctite® 406	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Loctite® 770	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Magnesiumsulfat	7487-88-9	keine GHS-Piktogramme		
Maleinsäureanhydrid	108-31-6	GHS05, GHS08, GHS07	302-314-334-317	280-301+330+331-305+351+338-304+340-302+352-309-310
Methanol	67-56-1	GHS02, GHS06, GHS08	225-301+311+331-370	210-260-280-301+310-311
Naphthalin	91-20-3	GHS02, GHS07, GHS08, GHS09	228-302-351-410	210-273-281-501
Natrium	7440-23-5	GHS02, GHS05	260-314	223-231+232-280-305+351+338-370+378-422
Natriumazid	26628-22-8	GHS06, GHS09	300-410	264-273-301+310-501
Natriumcarbonat	497-19-8	GHS07	319	305+351+338
Natriumchlorid	7647-14-5	keine GHS-Piktogramme		
Natriumhydrid	7646-69-7	GHS02, GHS07	260-319	223-231+232-305+351+338-370+378-422
N-Boc-2-Bromoethylamin	39684-80-5	GHS07	302-315-319-335	261-305+351+338
<i>n</i> -Butyllithium (2,0 M in Cyclohexan)	109-72-8	GHS02, GHS05, GHS07, GHS08, GHS09	225-250-261-304-314-336-410	210-222-231+232-261-273-422
N-Hydroxysuccinimid	6066-82-6	keine GHS-Piktogramme		
Nile Red	7385-67-3	keine GHS-Piktogramme		
PEO	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
PEO-PCL	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
PEO-PGL/PCL	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
PEO-PLA	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Perfluoro-15-krone-5-ether	97571-69-2	Nicht vollständig geprüfter Stoff		
Phosgen (20% in Toluol)	75-44-5	GHS02, GHS05, GHS06, GHS08	225-304-314-330-336-361d-370	210-260-280-284-301+310-305+351+338
PI-PEO	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Polydimethylsiloxan	63148-62-9	keine GHS-	413	-

12. Übersicht der verwendeten Chemikalien

Propargylbromid	106-96-7	GHS02, GHS06, GHS08	225-301-304- 315-319-335- 336-361d- 373	210-261-281- 301+310-305 +351+338-331
Salzsäure	7647-01-0	GHS05, GHS07	314-335	261-280-305+ 351+338-310
<i>s</i> -Butyllithium (1,4 M in Cyclohexan)	598-30-1	GHS02, GHS05, GHS07, GHS08, GHS09	225-304-314- 336-410	210-261-273- 280-301+310- 305+351+338
Soybean Agglutinin	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Stickstoff	7727-37-9	GHS04	280	410+403
Streptavidin	9013-20-1	Nicht vollständig geprüfter Stoff		
SUR1-Pharmacophor	Nicht vollständig geprüfter Stoff			
Sylgard 184	68988-89-6	Nicht vollständig geprüfter Stoff		
<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl- chlorid	18162-48-6	GHS02, GHS05	228-314	210-280-305+ 351+338-310
Tetraethylorthosilikat	78-10-4	GHS02, GHS07	226-319-332- 335	261-305+351 +338
Tetrahydrofuran	109-99-9	GHS02, GHS07, GHS08	225-319-335- 351	210-261-281- 305+351+338
Tetramethylrhodamine- isothiocyanat	95197-95-8	Nicht vollständig geprüfter Stoff		
Toluol	108-88-3	GHS02, GHS07, GHS08	225-304-315- 336-361d- 373	210-261-281- 301+310-331
Triethoxymethylsilan	2031-67-6	GHS02	226	-
Triethylamin	121-44-8	GHS02, GHS05, GHS07	225-302-312- 314-332	210-280-305+ 351+338-310
Trifluoressigsäure	76-05-1	GHS05, GHS07	314-332-412	273-280-305+ 351+338-310
Trifluorethanol	75-89-8	GHS02, GHS05, GHS06	226-301-312- 315-318-331- 335	261-280-301+ 310-305+351 +338-311
Tyramin	51-67-2	GHS07	315-319-335	261-305+351 +338
ϵ -Caprolacton	502-44-3	GHS05, GHS07	315-318-335	261-280-305+ 351+338

13 Danksagung

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Stephan Förster für die herzliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis sowie die sehr gute Betreuung, die Unterstützung und die Freiheiten vor allem im synthetischen Bereich während der gesamten Zeit der Promotion. Insbesondere danke ich ihm für sein jederzeit offenes Ohr, die anregenden Diskussionen und die wertvollen Ratschläge.

Herrn Carlo Unverzagt danke ich für die Begutachtung meiner Arbeit.

Carlo Unverzagt, Claudia Pöhner und Irene Boos danke ich für die super Kooperation, die produktive und stetige Diskussionsbereitschaft i Bereich der Zuckerchemie sowie der Proteinbeschichtung im MF-Kanal.

Markus Drechsler danke ich für die Anfertigung der unzähligen Cryo-TEM-Aufnahmen.

Ein besonders großer Dank gilt meinen Praktikanten und Hilfwissenschaftlern, besser gesagt „*meiner kleinen Arbeitsgruppe*“, ohne deren hervorragenden Einsatz, engagierte Arbeitsbereitschaft und unerschöpfliche Geduld bei den verschiedensten Experimenten diese Arbeit nie möglich gewesen wäre. Dabei bedanke ich mich bei u. a. Kirsten Volk, Anne Bornschlegel, Maria Ritter, Tobias Güttler und Bernd Kopera.

Jasmin Nitsche und Stephanie Domes danke ich für die Einweisung in das Themengebiet der Synthese und Funktionalisierung der Polyester-Blockcopolymere und für die in ihren Arbeiten hergestellten hervorragende Polymere. Vor allem aber danke ihnen für die supertolle und unermüdliche Hilfsbereitschaft!!!!

Stephan „Hauschi“ Hauschild danke ich nicht nur die gewissenhafte Korrektur der vorliegenden Arbeit, sondern für seine große Hilfsbereitschaft.

Volkan Filiz danke ich für die Einweisung in die anionische Polymerisation von PI-PEO und den in seinen Arbeiten synthetisierten Polymeren.

Corinna Stegelmeier danke ich für ihre Hilfsbereitschaft bei verschiedensten Problemen in Bereich Polymersynthese. Vor allem aber für die überaus tolle Zusammenarbeit beim Aufbau und der Instandhaltung der Syntheseanlagen und den GPC's.

Martin Trebbin danke für die Einweisung und unermüdliche Hilfsbereitschaft im Bereich der Mikrofluidik.

Karlheinz Leuterbach danke für das tolle und überaus herzliche Willkommen in Bayreuth und seine unermüdliche Hilfsbereitschaft.

Alexander Exner danke ich für die schöne WG-Zeit in Bayreuth und die Freundschaft.

Denise Barelmann-Kahlbohm danke ich vor allem für die vielen gemeinsamen Fahrten zwischen Hamburg und Bayreuth, die das Pendeln viel viel erträglicher gemacht haben.

Elisabeth Dünfelder und Sigrid Zeckert danke ich für die Bewältigung aller organisatorischen Angelegenheiten und ein immer offenes Ohr.

Mathias Karg danke ich für eine tolle Zusammenarbeit und die Beantwortung bei allen möglichen Fragen, nicht nur zum Thema dynamische Lichtstreuung.

Markus Retsch danke ich für die stetige Hilfsbereitschaft und die gewissenhaften Korrekturen von Vorträgen und Bewerbungen.

Sara Mehdizadeh Taheri, Sascha Ehlert, Sebastian With und den vielen weiteren Mitarbeitern des Arbeitskreises in Hamburg als auch in Bayreuth danke ich für die tolle Zusammenarbeit.

Uwe Himmelreich danke ich für die ^{19}F -NMR-Messung.

Mario Gehoff als auch Julian Thiele danke ich für die ausführliche Korrektur dieser Arbeit.

Ein riesiges Dankeschön gilt meiner Familie, meinen Freunden sowie meinen Kommilitonen. Vor allem aber bin ich meinen Eltern Heike und Armin Wolter sowie meiner Schwester Anja und meiner Ehefrau Olga unendlich dankbar, ohne deren grenzenlose Unterstützung, ihrem Verständnis, ihrer Geduld und Zuversicht in meine Fähigkeiten ich diesen Weg nicht hätte gehen können!!!!

14 Erklärung

(Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen

(§ 5 Nr. 4 PromO)

Hiermit erkläre ich, dass keine Tatsachen vorliegen, die mich nach den gesetzlichen Bestimmungen über die Führung akademischer Grade zur Führung eines Doktorgrades unwürdig erscheinen lassen.

(§ 8 S. 2 Nr. 5 PromO)

Hiermit erkläre ich mich damit einverstanden, dass die elektronische Fassung meiner Dissertation unter Wahrung meiner Urheberrechte und des Datenschutzes einer gesonderten Überprüfung hinsichtlich der eigenständigen Anfertigung der Dissertation unterzogen werden kann.

(§ 8 S. 2 Nr. 7 PromO)

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass ich die Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

(§ 8 S. 2 Nr. 8 PromO)

Ich habe die Dissertation nicht bereits zur Erlangung eines akademischen Grades anderweitig eingereicht und habe auch nicht bereits diese oder eine gleichartige Doktorprüfung endgültig nicht bestanden.

(§ 8 S. 2 Nr. 9 PromO)

Hiermit erkläre ich, dass ich keine Hilfe von gewerbliche Promotionsberatern bzw. -vermittlern in Anspruch genommen habe und auch künftig nicht nehmen werde.

Bayreuth, den 08.09.2014

.....

Nonio Wolter