

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN
DEPARTMENT CHEMIE
LEHRSTUHL FÜR MAKROMOLEKULARE CHEMIE

Maßgeschneiderte Poly(2-oxazolin)e für die Darstellung komplexer biomimetischer Zellmembranen

Michael Reif

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen Universität zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Klaus Köhler

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Rainer Jordan, Technische Universität Dresden
2. Univ.-Prof. Dr. Sevil Weinkauff

Die Dissertation wurde am 03.08.2009 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Chemie am 22.09.2009 angenommen.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2006 bis August 2009 unter der Leitung von Prof. Dr. Rainer Jordan am Lehrstuhl für Makromolekulare Chemie der Technischen Universität München angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt dem Betreuer meiner Arbeit, *Professor Dr. Rainer Jordan* für die interessante Aufgabenstellung meiner Dissertation, die großen Freiräume bei der Bearbeitung meines Themas und für die zahlreichen produktiven wissenschaftlichen Diskussionen.

Bei *Professor Dr. Dr. h.c. Bernhard Rieger* möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, meine Dissertation am WACKER-Lehrstuhl für makromolekulare Chemie anzufertigen, sowie für den produktiven Gedankenaustausch in den lehrstuhl internen Seminaren.

Selbiger Dank gilt in nicht minderm Maß *Professor Dr.-Ing. Oskar Nuyken*, der mich bereits bei meiner Masterarbeit betreut hat.

Dr. Carsten Troll und *Dr.-Ing. Heidi Samarian* danke ich für die zahlreiche organisatorische Hilfe und stets hilfsbereite Unterstützung, was das Arbeiten am Lehrstuhl sehr erleichtert hat.

Für die enge Zusammenarbeit und Kooperation gilt mein Dank *Peter Seitz* vom Lehrstuhl für biophysikalische Chemie II an der Universität Heidelberg und seinem Betreuer *Professor Dr. Motomu Tanaka*. Die wechselseitige Inspiration hat diese Arbeit maßgeblich mit beeinflusst.

Dr. Harald Huber, Dipl.-Ing. Thomas Hader und *Professor Dr. Michael Tomm* vom Archaeenzentrum am Institut für Mikrobiologie der Universität Regensburg danke ich vielmals für die freundliche Bereitstellung von Zellmasse des *Methanothermobacter thermoautotrophicum*. Herrn *Dr. Martin Haslbeck* und *Professor Dr. Johannes Buchner* gilt mein Dank für die freundliche Bereitstellung und für die Einweisung in die zum Aufschluß der Zellen benötigten Geräte.

Für die Durchführung der GPC- und MALDI-Messungen danke ich meinen Kollegen *Martin Schneider, Ning Zhang, Stephan Huber, Amir Doroodian* sowie *Helmut Krause* besonders. Ohne deren engagierten Einsatz hätte diese Arbeit nicht entstehen können.

Ich danke ferner meinen studentischen Hilfskräften *Constantin Tiemeyer, Waldemar Schrimpf, Georg Hartmann* und *Madeleine Ekström* für deren engagierte und motivierte Mitarbeit.

Meinen Kollegen *Manfred Gunesch, Stephan Klaus, Robert Reichardt* und *Uwe Seemann* danke ich für die schöne gemeinsame Zeit am Lehrstuhl. Meinem langjährigen Laborkollegen *Paul Heinz* gilt mein Dank für die kollegiale Arbeitsatmosphäre in der Zeit der Erstellung dieser Arbeit. Darüber hinaus möchte ich *Dr. Robert Luxenhofer*, der stets für konstruktive fachliche Ratschläge zur Verfügung stand, danken.

Allen „*Makros*“ danke ich für die entgegengebrachte Hilfsbereitschaft, Solidarität und das angenehme Arbeitsklima am Lehrstuhl.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* (Projekt JO287/4-1) danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Besonders großer Dank richtet sich an *meine Familie*, allen voran *meinem Vater*, die mich in meinen Entscheidungen und in meinem Lebensweg, der mich bis hierhin geführt hat, immer wieder aufbauend unterstützten. Ohne Euch wäre ich nicht bis hier gekommen. Vielen Dank!

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 GRUNDLAGEN	3
2.1 Biologische Membranen	3
2.1.1 Bakterielle und eukaryotische Zellmembranen	4
2.1.2 Archaea und deren Lipidmembranen	8
2.2 Künstliche Modellmembranen	12
2.2.1 Lipidmonoschichten an der Wasser-Luft-Grenzfläche	12
2.2.2 Black Lipid Membranes (BLMs)	13
2.2.3 Festphasenunterstützte Membranen	14
2.2.4 Polymerunterstützte Membranmodelle.....	17
2.3 Lebende Polymerisation	25
2.3.1 Lebende kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen	25
2.3.2 Schaltbarkeit von Polymeren, schaltbare Poly(2-oxazolin)e.....	31
3 ZIELSETZUNG	38
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION	39
4.1 Verwendete Lipide	39
4.1.1 Monofunktionale Lipide	40
4.1.1.1 2,3- <i>O</i> -Dioctadecylglycerol	40
4.1.1.3 Archaeol	42
4.1.2 Bifunktionale Lipide.....	45
4.1.2.1. Poly(dimethylsiloxan) Oligomere	46
4.1.2.2 10,12-Docosadiin-1,22-diol.....	47
4.1.2.3 Dodecan-1,12-diol	48
4.1.2.4 Bifunktionales Lipid aus <i>Methanothermobacter thermoautotrophicum</i>	49
4.2 Funktionale Lipopolymere basierend auf monofunktionalen Lipiden	60
4.2.1 Strukturvariabilität von Polymeren mit funktionalen Lipiden.....	60
4.2.2 Darstellung monofunktionaler Lipidinitiatoren.....	61
4.2.2.1 Dioctadecylglycerylinitiator	62

4.2.2.2 Diphytanylinitiator	63
4.2.3 Polymerisation von 2-Oxazolin.....	63
4.2.4 Lipohomopolymere basierend auf Poly(2-methyl- und 2-ethyl-2-oxazolin).....	65
4.2.5 Lipohomopolymere basierend auf Poly(2- <i>iso</i> -propyl-2-oxazolin)	71
4.2.6 Lipocopolymere	76
4.2.4 Polymeranaloge Reaktionen	78
4.2.4.1 Entfernung der Schutzgruppen.....	78
4.2.4.2 Fluoreszenzmarkierung	80
4.3 Symmetrische Lipopolymere basierend auf bifunktionalen Lipiden.....	83
4.3.1 Strukturvariabilität von auf bifunktionalen Lipiden basierenden Lipopolymeren..	83
4.3.2 Darstellung bifunktionaler Lipidinitiatoren	84
4.3.2.1 PDMS Diinitiator	84
4.3.2.2 Dodecyldiinitiator	85
4.3.2.3 Caldarchaeoldiinitiator	86
4.3.3 Polymerisation von 2-Oxazolin.....	87
4.3.3.1 Oligo(dimethylsiloxan)-haltige Lipopolymere	87
4.3.3.2 Dodecylinitiator-basierte Lipopolymere	90
4.3.3.3 Caldarchaeollipopolymer	92
4.4 Lipopolymere basierend auf asymmetrisch funktionalisierten Lipiden	94
4.4.1 Synthesestrategie zur Darstellung von Lipopolymeren basierend auf asymmetrisch funktionalisierten Lipiden	94
4.4.2 Darstellung asymmetrischer Lipoinitiatoren.....	95
4.4.3 Polymerisation von 2-Oxazolin.....	100
4.4.4 Entfernung der Schutzgruppen.....	103
4.4.5 Polymeranaloge Reaktionen	108
4.5.5.1 Fluoreszenzmarkierung	108
4.5.5.2 Funktionalisierung mit Phenylisothiocyanat.....	109
4.5.5.4 „Click“-Chemie mit distal alkinfunktionalisierten Poly(2-oxazolin)en.....	111
4.5.6 Lipopolymere basierend auf asymmetrisch funktionalisiertem Caldarchaeol.....	114
4.6 Schaltbare Poly(2-Oxazolin) basierte Lipopolymere	120
4.6.1 Thermisch schaltbare Lipopolymere.....	120
4.6.1.1 Bestimmung der <i>lower critical solution temperature (LCST)</i>	121
4.6.1.2 LCST von Lipohomopolymeren	121
4.6.1.3 LCST von Lipocopolymeren	123

4.6.1.4 LCST von symmetrischen „ABA“-Lipopolymeren	127
4.6.1.5 Polymerendgruppeneffekt	129
4.6.2 Untersuchungen zu thermisch schaltbaren Lipopolymeren an der Wasser-Luft-Grenzfläche.....	129
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	134
6 EXPERIMENTELLER TEIL.....	140
6.1 Geräte und Hilfsmittel	140
6.2 Lipidsynthesen und –extraktionen.....	145
6.2.1 Monofunktionale Lipide.....	145
6.2.2 Extraktion von Caldarchaeol aus Trockenmasse von Methanothermobacter thermoautotrophicum	148
6.2.3 Bifunktionale Lipidalkohole.....	150
6.3 Initiatorsynthesen	153
6.3.1 Monofunktionale Lipidinitiatoren	154
6.3.2 Bifunktionale Initiatoren	155
6.3.3 ω -TBDPS-geschützte Initiatoren.....	157
6.4 Polymersynthesen	159
6.4.1 Monofunktionale Lipohomopolymere.....	160
6.4.2 Monofunktionale Lipocopolymere.....	175
6.4.3 Polymeranaloge Reaktionen mit monofunktionalen Lipopolymeren.....	180
6.4.4 ABA Lipopolymere	186
6.4.5 Synthese distal TBDPS-geschützter Lipopolymere	193
6.4.6 Entfernung der Schutzgruppen von distal TBDPS-geschützten Lipopolymeren ..	198
6.4.7.1 Polymeranaloge Reaktionen entschützter bifunktionaler Lipopolymere	202
6.5 Click-Chemie mit distal alkinfunktionalisierten Poly(2-oxazolin)en.....	204
6.6 Lipopolymere basierend auf ω-TBDPS-funktionalisiertem Caldarchaeol.....	206
6.6.1 Darstellung	206
6.6.2 Entfernung der Schutzgruppen	209
7 LITERATUR	210

Abkürzungsverzeichnis

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
ACN	Acetonitril
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
Å	Ångström
BuOx	2-Butyl-2-oxazolin
c	Konzentration
C ₁₂	Dodecyl
°C	Grad Celsius
CP	Trübungspunkt (<i>engl.: cloud point</i>)
<i>cmc</i>	kritische Mizellbildungskonzentration (<i>engl.: critical micelle concentration</i>)
d	Tag
DC	Dünnschichtchromatogramm
DCM	Dichlormethan
diC ₁₈	1,2- <i>O</i> -Dioctadecyl- <i>sn</i> -glycerol
diPhy	1,2- <i>O</i> -Diphytanylglycerol
DMAc	<i>N,N'</i> -Dimethylacetamid
DMF	<i>N,N'</i> -Dimetyformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Doco	
DP	mittlerer Polymersationsgrad (<i>engl.: degree of polymerization</i>)
δ	chemische Verschiebung
et al.	<i>lat.: und andere</i>
EtOx	2-Ethyl-2-oxazolin
Et ₂ O	Diethyl Ether
eq	Äquivalente (<i>engl.: equivalents</i>)
FRAP	Ausheilung der Fluoreszenz nach dem Bleichen (<i>engl.: fluorescence recovery after photobleaching</i>)
g	Gramm
gew-%	Gewichtsprozent
h	Stunde
HLB	hydrophile/lipophile Balance

iPrOx	2- <i>iso</i> -Propyl-2-oxazolin
IUPAC	International Union Of Pure and Applied Chemistry
K	Kelvin
Kat., kat.	Katalysator, katalytisch
k_i	Geschwindigkeitskonstante der Initiation
k_p	Geschwindigkeitskonstante der Polymerisation
L	Liter
LCST	<i>Lower critical solution temperature</i>
LB	Langmuir-Blodgett
M	Molarität (mol/L)
$[M]_0$	Monomerkonzentration zur Zeit $t = 0$
$[M]_t$	Monomerkonzentration zur Zeit t
MALDI	<i>Matrix assisted laser desorption ionisation</i>
mbar	Millibar
MEM	
MeOH	Methanol
MeOx	2-Methyl-2-oxazolin
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
mL	Milliliter
mmol	Millimol
μmol	Mikromol
mol-%	Molprozent
MOM	
M_n	Zahlenmittel der molaren Masse
mN	Millinewton
MS	Massenspektrometrie
M_w	Gewichtsmittel der molaren Masse
MW	Mikrowelle
m/z	Masse/Ladungszahl (Massenspektroskopie)
n.b.	nicht bestimmt
nm	Nanometer

NMR	Nukleomagnetische Resonanz s: Singulett d: Dublett dd: Dublett von Dublett t: Triplett q: Quartett m: Multiplett br: breite Verteilung
NonOx	2-Nonyl-2-oxazolin
OEG	Oligo(ethylenglycol)
OMs	Methansulfonsäureester (Mesylat)
OTf	Trifluormethylsulfonat Triflat = Triflat
<i>n</i> PrOx	2- <i>n</i> -Propyl-2-oxazolin
P	Poly-
PAA	Poly(acrylamid)
PAAc	Poly(acrylsäure)
PEG	Poly(ethylenglycol)
Pip	Piperazin
PipBoc	1-Boc-Piperazin
PDI	Polydispersitätsindex = M_w / M_n
PNIPAAM	Poly(<i>iso</i> -propylacrylamid)
POx	Poly(2-oxazolin)
ppm	parts per million
PVCL	Poly(<i>N</i> -vinylcarpolactam)
PVE	Poly(vinylether)
PVI	Poly(vinylimidazol)
P4VP	Poly(vinylpyridin)
RI	Refraktionsindex
RT	Raumtemperatur
Sil	2-Aminopropyltrimethoxysilyl
t	Zeit
T_m	Schmelzpunkt
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBDMS	<i>tert.</i> Butyldimethylsilyl

TBDPS	<i>tert.</i> Butyldiphenylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
TIBS	Tri- <i>iso</i> -butylsilan
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
TOF	<i>time of flight</i>
Tos	Tosylat = Toluolsulfonat
TRITC	Tetramethylrhodaminisothiocyanat
UCST	<i>Upper critical solution temperature</i>
UV	ultraviolett
VIS	sichtbar (<i>engl. visible</i>)

1 EINLEITUNG

Membranen (abgeleitet von lat. „*membrana*“ = Häutchen), stellen Schichten dar, welche als undurchdringliche, selektive Barriere zwischen zwei Phasen fungieren, d.h. sie sind zunächst undurchlässig gegenüber bestimmten Molekülen oder Partikeln. Im technischen Bereich finden Membranen hauptsächlich als Filtermedium zur Stofftrennung von Partikeln mit Größen im Bereich zwischen 100 nm – 10 µm Anwendung. Abhängig von deren mittlerer Porengröße spricht man auch von mikro-, meso- und makroporösen Membranen. Je nach Betrachtungsweise kann sich allerdings auch Unterscheidung zwischen künstlichen und biologischen Membranen als sinnvoller erweisen.

So hat die Beispiele für die weitaus komplexesten Membransysteme im Laufe mehrerer Millionen Jahre Evolution die Natur hervorgebracht. Bei natürlich vorkommenden Membranen handelt es sich um ultradünne Strukturen von 6 - 10 nm Dicke, welche biologische Zellen kompartimentieren und vom extrazellulären Medium abgrenzen. Biologische Membranen bestehen aus Lipiddoppelschichten, durch welche der gesamte Informations- und Stoffaustausch zwischen Zellinnerem und -äußeren stattfindet. So werden beispielsweise toxische Verbindungen bzw. Elemente gezielt von den intrazellulären Kompartimenten ferngehalten und so daran gehindert, ihre schädliche Wirkung zu entfalten. Aus diesem Grund ist es zum Erhalt der vitalen Zellfunktionen, dass Transportprozesse durch solche Schichten hochselektiv ablaufen, um konstante physikalische und chemische Bedingungen im intrazellulären Medium aufrechtzuhalten. Weiterhin sind fast sämtliche Rezeptoren bei lebenden Organismen in oder an die Zellmembranen gebunden.

Aus diesen Gründen ist das Verständnis derartiger Membranen für Anwendungsbereiche wie die Sensorik von großem Interesse, speziell im Fall der sogenannten Biosensoren. Dabei handelt es sich um Systeme, in welchen eine biologische Komponente direkt an einen physikalischen Signalwandler wie ein Piezoelement gekoppelt ist. Anhand von Biosensoren können so beispielsweise gezielt bestimmte Verbindungen, neben einer Vielzahl ähnlicher, detektiert werden. Gelänge es, die biologischen Membranen zugrundeliegenden hochselektiven Prozesse zu imitieren bzw. hierfür relevante funktionelle Bereiche unter Beibehaltung ihrer Funktion zu isolieren, so verspräche dies Zugang zu neuen, Anwendungsmöglichkeiten in Bereichen der Medizin oder der chemischen Analytik.

Allerdings handelt es sich bei solchen Membranen um hochkomplexe Systeme, bei denen direkte Untersuchungen mit hohen Schwierigkeiten verbunden sind und die deshalb bisher bei weitem noch nicht vollständig verstanden sind. Wegen herausragender Eigenschaften, wie der hohen Selektivität, ist es bereits seit längerer Zeit das erklärte Ziel wissenschaftlicher Bemühungen, solche Prozesse sowie die generellen Eigenschaften der Membranen isoliert betrachten zu können. Hierfür bedurfte es wiederum der Entwicklung geeigneter Modellsysteme. Über einen längeren Zeitraum stellten Phospholipiddoppelschichten, welche auf eine feste Substratoberfläche aufgetragen waren, als guter Kompromiss zwischen Stabilität und Fluidität, das geläufigste Modell zur Untersuchung von Lipidmembranen dar. Für weiterführende Experimente, wie die Inkorporierung von Proteinen, ist es vorteilhafter, die Lipidschichten auf weichen, hydratisierten Polymerkissen zu lagern, um direkten Kontakt mit dem Substrat und damit eine Denaturierung auszuschließen. Solche Kissen übernehmen die Funktion eines Puffers bzw. *spacers* und entkoppeln die Membran von der Festkörperphase. Die Polymerschichten können dabei entweder als passive Trennschicht fungieren oder direkt in die Lipidschicht über kovalent mit dem Polymer verbundene Lipidanker (Lipopolymere) inkorporiert sein. In letzterem Fall besteht zudem die Möglichkeit, den Abstand zwischen Substrat und Lipidschicht direkt über die Länge der Polymerkette und damit die Viskosität der Polymerschicht zu steuern, weshalb dieser Ansatz wiederum beim heutigen Stand der Kenntnis den vielversprechendsten darstellt.

Darüber hinaus wäre es wünschenswert, solche Modellmembranen mit weiteren biomimetischen Funktionen zu versehen. Zum einen kann dies bei Lipopolymeren über Modifikation der Polymerkette erfolgen. Hierunter fiel beispielsweise der Einsatz von Lipopolymeren mit adaptiven Eigenschaften, d.h. solche, welche die physikalische Eigenschaften der Polymere, ausgelöst durch definierte externe Stimuli, ändern. Über neuartige polyfunktionale Lipide könnten in hoher Definition chemische funktionelle Gruppen an der Außenseite der Membran präsentiert werden, welche wiederum als Mimetika für extrazelluläre Motive dienen. Die wohl derzeit vielseitigste Grundlage für solche Strategien, die zum Aufbau komplexer lipopolymerer Systeme führen, bietet wiederum die kationische Polymerisation der 2-Oxazoline. Ausgehend von Lipidinitiatoren, können auf dieser Basis α,ω -funktionale Lipopolymere von gut definierter Zusammensetzung und mit genau definierten Endgruppen dargestellt werden.

2 GRUNDLAGEN

2.1 Biologische Membranen

Alle in der Natur vorkommenden Lebensformen weisen Zellmembranen auf, welche deren äußere räumliche Grenzen darstellen und das intrazelluläre Medium vom extrazellulären abgrenzen. Membranen fungieren als passive Trennschicht und übernehmen damit eine Funktion ähnlich einer Haut. Neben der Schutzfunktion gegen äußere Einflüsse stellt die selektive Permeabilität eine weitere wesentliche Eigenschaft dar - in den Membranen verankerte Proteine regeln den Stoff- und Informationstransport zwischen Zellinnerem und -äußeren. Während Membranen für kleinere, unpolare Moleküle gut durchlässig sind, sind sie für Wasser und polare Moleküle unspezifisch kaum zu durchdringen. Diese Eigenschaft von natürlichen Zellmembranen ist fundamental und ermöglicht so erst den Ablauf der meisten biochemischen und biologischen Prozesse, da auf diese Weise im Cytoplasma ein chemisches bzw. biochemisches Milieu aufrechterhalten wird, welches sich bisweilen gravierend vom jenem außerhalb unterscheiden kann. So kann beispielsweise durch die prinzipielle Undurchlässigkeit gegenüber geladenen Teilchen, innerhalb der Zelle eine von den äußeren Gegebenheiten unterschiedliche Ionenkonzentration eingestellt werden. Bis heute ist die Forschung weit davon entfernt, die Zusammensetzung von biologischen Zellmembranen vollkommen bestimmen zu können, was vor allem an deren Komplexität liegt, aber auch daran, dass gerade integrale Proteine oft nicht ohne Denaturierung und Erhalt ihrer natürlichen Funktionen isoliert werden können.^[1] Es ist bekannt, dass die Plasmamembranen zum überwiegenden Teil aus Lipiden und Proteinen bestehen, wobei erstere zumeist überwiegen. Die genaue Komposition variiert jedoch, abhängig von der Funktion der Zellen, stark. Der schematische Aufbau einer humanen Erythrocytenmembran ist als Beispiel in Abbildung 2.1 dargestellt.

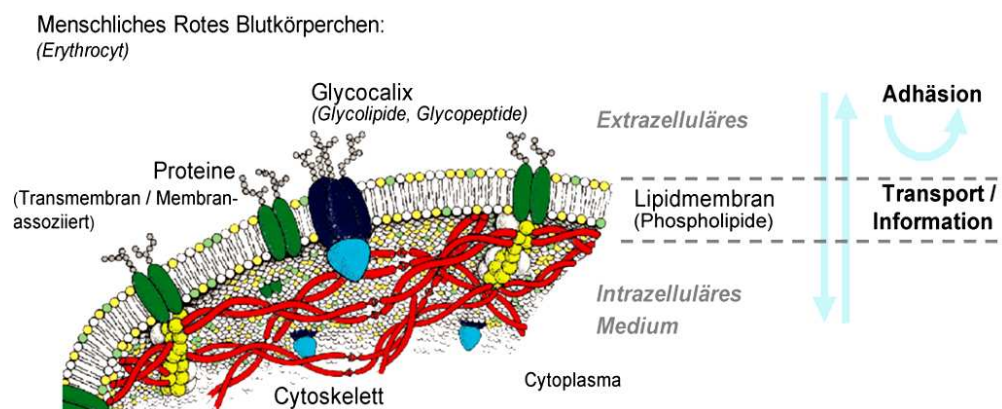


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau der Zellmembran von humanen Erythrocyten.^[2]

2.1.1 Bakterielle und eukaryotische Zellmembranen

Die Lipide der Membranen der Eubacteria und Eukaryoten liegen stets in Form von Lipiddoppelschichten mit einer Dicke von ungefähr 4 nm vor, welche durch hydrophile und hydrophobe Wechselwirkungen physikalisch stabilisiert werden. Bei solchen Lipiden handelt es sich um amphiphile Moleküle, bestehend aus einer hydrophilen Kopfgruppe sowie mindestens einer hydrophoben Alkylkette. Während Lipide in biologischen Systemen in einer Vielzahl von verschiedenen Formen auftreten, wie Glycolipiden, Phospholipiden und Steroiden, liegen sie als Teil von Zellmembranen überwiegend als Glycerophospholipide vor. Diese basieren auf Glycerin-3-phosphat, welches an der 1- und 2-Position mit Fettsäuren verestert ist (Abbildung 2.2). Die Phosphatfunktion liegt im selteneren Fall als Monoester vor, sondern ist zumeist über eine weitere Esterbindung derivatisiert, vorwiegend als im physiologischen pH-Bereich zwitterionisches Phosphatidylcholin. Darüber hinaus treten aber auch noch weitere Glycerophospholipide häufiger auf (Tabelle 2.1).

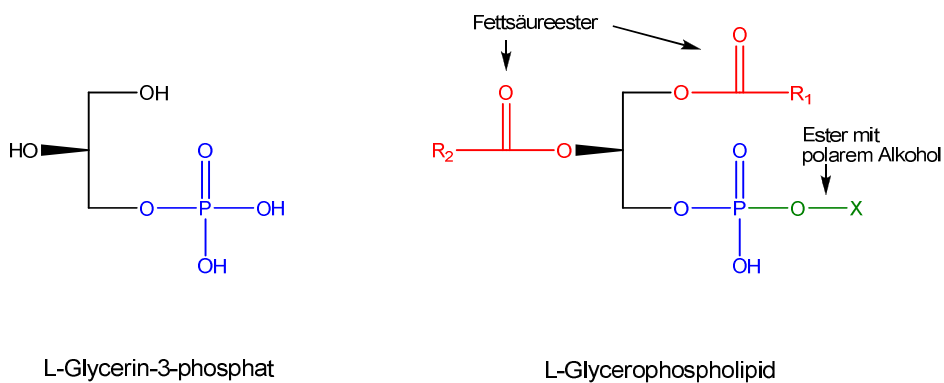
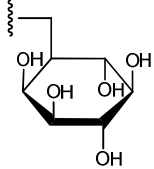


Abbildung 2.2: Strukturen von Glycerin-3-phosphat und Glycerophospholipiden.

Tabelle 2.1: Häufige Klassen an Glycerophospholipiden.^[1]

Name von X-OH	Formel von -X	Name des Phospholipids
Wasser	-H	Phosphatidsäure
Ethanolamin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$	Phosphatidylethanolamin
Cholin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$	Phosphatidylcholin
Serin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$	Phosphatidylserin
Glycerin	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	Phosphatidylglycerin
<i>myo</i> -Inositol		Phosphatidylinositol

An der C1-Position sind diese Lipide vorwiegend mit ungesättigten C₁₆- und C₁₈- Fettsäuren verestert, während an der C2-Position auch häufig ungesättigte C₁₆ – C₂₀-Fettsäuren beobachtet werden. Sämtliche Lipide enthalten jedoch aufgrund ihres biochemischen Synthesewegs stets geradzahlige Werte an C-Einheiten. Ungesättigte Fettsäuren besitzen mindestens eine, häufig auch mehrere Doppelbindungen, hauptsächlich in C9-Position, welche fast ausschließlich in deren Z-Konfiguration vorliegen, wodurch wiederum eine rigide Stauchung der Alkylketten um einen Winkel von 30° induziert wird. Diese hat zur Folge, dass solche Fettsäureester eine im Vergleich zu den homologen gesättigten Verbindungen wesentlich geringere Neigung zur Kristallisation zeigen. Folglich unterscheiden sich auch deren Schmelzpunkte drastisch, im Mittel um rund 50 °C, wie in Tabelle 2.2 zu sehen.

Tabelle 2.2: Allgemeine biologische Fettsäuren und deren Schmelzpunkte unter atmosphärischen Bedingungen.^[1]

Symbol ¹⁾	Systematischer Name (IUPAC)	T _m [°C]
12:0	Dodecansäure	44,2
16:0	Tetradecansäure	52
18:0	Octadecansäure	69,1
20:0	Eicosansäure	75,4
24:0	Tetracosansäure	84,2
16:1	9-Hexadecensäure	-0,5
18:1	9-Octadecensäure	13,2
18:2	9,12-Octadecadiensäure	-9
18:3	9,12,15-Octadecantriensäure	-17
20:4	5,8,11,14-Eicosatetraensäure	-49,5
20:5	5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure	-54
24:1	15-Tetracosensäure	39

Durch den Einbau solcher Lipide in biologische Membranen senkt die Natur die für Lipiddoppelschichten charakteristische Übergangstemperatur herab. Oberhalb dieser liegen die Fettsäureester in flüssigkristalliner Phase vor, darunter als gelartiger Feststoff. Entscheidende Parameter für diese Übergangstemperatur, welche zumeist zwischen 10 – 40 °C liegt, sind die Länge der Lipidseitenketten sowie deren Sättigungsgrade. Die Absenkung der Übergangstemperatur wird ebenfalls durch den Einbau von Cholesterinbausteinen in die Membranen erreicht, deren unbewegliches Steroidringsystem die Beweglichkeit der benachbarten Alkylketten reduziert, aber auch deren Fähigkeit zur Kristallisation durch

Interkalation verringert („Weichmacherwirkung“). Durch beide Eigenschaften wird so jeweils die Übergangstemperatur der Doppelschichten erhöht. In der Natur vorkommende Organismen sind in der Lage, die Zusammensetzung ihrer Zellmembranen in Abhängigkeit von der jeweiligen Umgebungstemperatur zu variieren und so die Fluidität der Membranen konstant zu halten. Die einzelnen Lipidmoleküle besitzen äußerst limitierte *transversale* Beweglichkeit, d.h. der Übergang eines Lipidmoleküls von der einen Seite der Lipiddoppelschichten auf die andere (*flip-flop*), ist mit einer äußerst niedrigen Wahrscheinlichkeit verbunden. Grund hierfür ist, dass für einen solchen Vorgang zunächst die Hydrathülle der polaren Kopfgruppe entfernt werden muss, welche darauf den inneren Bereich (*Cytosol*) der Membran zu durchqueren hat. Dabei handelt es sich in beiden Fällen um thermodynamisch stark benachteiligte Ereignisse. Dagegen besitzen Membranlipide eine im Vergleich dazu um mehrere Größenordnungen höhere *laterale* Beweglichkeit von bis zu 1 $\mu\text{m/s}$. Wegen der hohen Anisotropie der Diffusionsgeschwindigkeiten werden biologische Membranen auch als zweidimensionale Flüssigkeiten betrachtet. Die Viskosität ist in der Innenseite der Lipiddoppelschichten gering, steigt aber drastisch mit zunehmender Nähe zu den Außenseiten. So sind die Schwänze der Alkylketten kaum in ihrer Rotation eingeschränkt und in permanenter Bewegung, während die Viskosität in Richtung der polaren Kopfgruppen aufgrund ihrer Hydratisierung fortwährend abnimmt.

Neben den Lipiden bestehen alle biologischen Membranen aus einer Vielzahl an Proteinen. Diese können sowohl auf deren Innen- als auch Außenseite gefunden werden und verleihen den Membranen so eine asymmetrische Struktur. Zudem existieren Proteine, die in die Membranen eintauchen und solche, die sie durchdringen (*integrale* Proteine). Die Protein-Lipid-Komposition variiert dabei erheblich, abhängig vom Zelltyp (Tabelle 2.3).

Tabelle 2.3: Gewichtsverhältnis zwischen Proteinen und Lipiden in verschiedenen natürlichen Lipidmembranen.^[3]

Membrantyp	Verhältnis Proteine / Lipide [m/m]
Myelinmembran	0,23
Äußere mitochondriale Membran	1,1
Humane Erythrocytenmembran	1,3
Humane Hepatocytenmembran	1,5
Bakterielle Zellmembranen	2,0-3,5
Inneren mitochondriale Membran	3,2

Insgesamt unterscheidet man zwischen periphereren, lipidverankerten und integralen Proteinen. Erstere sind nur lose mit jeweils einer einzigen Seite der Lipiddoppelschicht assoziiert, während zweite kovalent mit Lipidmolekülen funktionalisiert sind, durch die sie in die Membran inseriert sind, mit welcher wiederum kein direkter Kontakt besteht. Integrale Proteine sind unmittelbar in die Membran inkorporiert und weisen amphipatische Struktur auf, wobei deren hydrophobe Bereiche in der Lipidschicht verankert sind, während sich die hydrophileren Abschnitte in Richtung der wässrigen Phase orientieren. Solche Biopolymere spielen eine wichtige Rolle beim Informations- und Stoffaustausch zwischen extrazellulärem Medium und Cytoplasma. So übernehmen diese unter Anderem hochspezialisierte Funktionen, wie die von hochselektiven Ionenkanälen, aber auch die von spezifischen Rezeptoren. Diese Proteine sind nicht unbeweglich in der Membran verankert, sondern ähnlich wie die Lipide lateral nahezu frei beweglich.

Nach Betrachtung der Gemeinsamkeiten von Lipiddoppelschichten und der von biologischen Membranen schlugen im Jahr 1972 *Singer* und *Nicolson*^[4] deshalb gemeinsam das als *fluid-mosaic* bekannte Konzept als Theorie der Struktur von biologischen Membranen vor. Danach können biologische Membranen als zweidimensionale Flüssigkeiten betrachtet werden, in welchen alle Bestandteile lateral vorwiegend frei diffundieren können. Die Proteine schwimmen bei diesem Modell gleichsam wie „Eisberge“ in einem „Ozean“ aus Lipiden. Diese Annahmen beruhten vor allem auf Experimenten von *Edidin et al.*^[5] zur Fusion zweier Zellen, bei welchen einige Membranproteine zuvor mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert waren und Diffusionsexperimenten mittels FRAP Spektroskopie. Bei dieser Technik werden durch einen fokussierten Laserpuls ($\tau = 200\text{ms}$) die Farbstoffmoleküle in der Membran innerhalb eines eng definierten Radius ($r \sim 5\mu\text{m}$) gebleicht. Anschließend wird untersucht, wie schnell und bis hin zu welcher Intensität die Fluoreszenz durch Diffusion intakter Farbstoffmoleküle wieder äquilibriert wird.^[2, 6] So wurde von *Edidin et al.*^[5] beobachtet, dass sich die beiden Chromophore binnen kürzester Zeit durchmischten, wodurch wiederum die nahezu freie Beweglichkeit der an diesem Prozess beteiligten Biomoleküle nachgewiesen werden konnte. Heutzutage wird dieses Modell trotzdem als veraltet betrachtet, da man inzwischen erkannt hat, dass es sich hierbei um eine idealisierte, stark vereinfachte Annahme handelt. So liegen Membranproteine zumeist in so hohen Konzentrationen vor, dass von freier unabhängiger lokaler Beweglichkeit nicht die Rede sein kann. Darüber hinaus weisen viele integrale Proteine größere hydrophobe Abschnitte auf als der Durchmesser der Lipiddoppelschichten beträgt und induzieren durch deren Aufspreizung lokale Defekte in der Membranstruktur. Solche Stellen zeigen höhere

Dichten und geringere Entropie, also einen höheren Grad an Ordnung, was wiederum lokal gravierende Auswirkungen auf die Viskosität hat. Derartige Strukturen werden als sogenannte *lipid rafts* klassifiziert, als häufig spezialisierte Mikrodomänen, welche in Membranen Aufgaben wie die Regulation der Neurotransmission übernehmen. Da diese weder untereinander verschmelzen, noch sich vermischen, liegen sie gleichsam „Flößen“ (engl. „raft“) in der Lipidschicht vor.

Somit handelt es sich bei biologischen Membranen um hochkomplexe und –spezialisierte Systeme. Obwohl ihre Grundstrukturen bereits gut verstanden sind, kann allerdings bisher und wohl auch in absehbarer Zeit von einer vollständigen Beschreibung, bzw. Verständnis all ihrer Bestandteile sowie deren Funktionen nicht die Rede sein.

2.1.2 Archaea und deren Lipidmembranen

Einen deutlich von den Eubacteria und Eukaryoten verschiedenen Zellmembranaufbau findet man bei den sogenannten *Archaea*. Diese wurden früher fälschlicherweise als *Archaeobakterien* mit zu den Prokaryoten gezählt, was daran liegt, dass sie mit ihnen häufig Größe und Form teilen. Sie besitzen ähnlich wie diese eine an Zellwände gebundene Zellmembran und benutzen zur Fortbewegung ebenfalls Flagellen.^[7] Andererseits weisen Archaeen jedoch keinerlei Zellkern oder Zellorganelle auf.^[8] *Woese et al.*^[9] fanden anhand von molekularbiologischen Untersuchungen dieser Lebewesen heraus, dass sich beispielsweise deren ribosomale RNA (rRNA) derart signifikant von bakterieller unterscheidet, dass nicht von einer direkten Verwandtschaft zu den Bakterien gesprochen werden kann. Bemerkenswert ist auch, dass bei diesen Experimenten sogar eine noch größere Nähe dieser Lebensformen zu den Eukaryoten festgestellt wurde. So sind unter anderem die in Archaeen ablaufenden Translations- und Transkriptionsprozesse ähnlich zu den analogen eukaryotischen. Mithin handelt es sich bei den Archaea eindeutig um einen eigenen phyletischen Stammbaum, was *Woese et al.*^[9] dazu bewog zu deren Klassifizierung das bis heute gültige Drei-Domänen-System einzuführen. Dieses besagt, dass die drei Hauptzweige der Evolution durch Bacteria, Archaea und Eukarya repräsentiert werden (vgl. Abbildung 2.3). Damit wurde auch die Bezeichnung der Prokaryoten obsolet, durch welche zuvor die beiden ersteren zusammengefasst wurden.^[8] Inzwischen gilt auch durch weiterführende phylogenetische Studien als erwiesen, dass die Aufspaltung zwischen den beiden Linien der Bacteria und Eukaryoten/Archaea bereits sehr früh in der Geschichte des Lebens stattfand und zugleich ein wesentliches Evolutionsereignis repräsentiert.

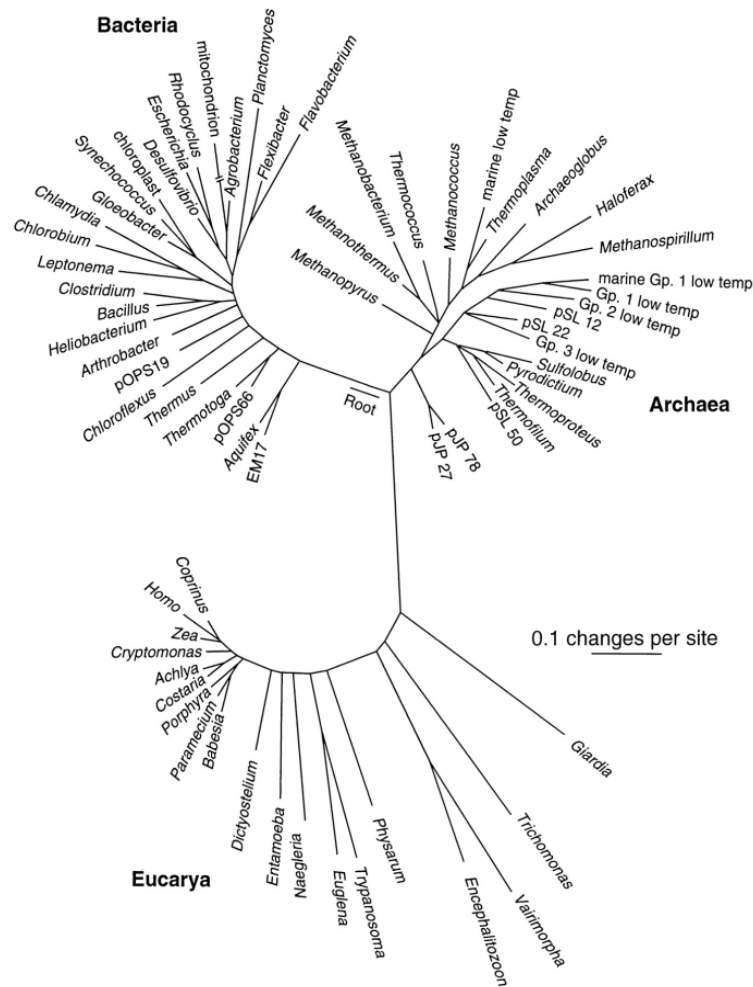


Abbildung 2.3: Universeller phylogenetischer Stammbaum des Lebens basierend auf SSU rRNA Sequenzen. Die Balkenlänge entspricht 0.1 beobachteten Veränderungen per Nucleotid.^[10]

Die Zellwände der Archaea enthalten nicht wie Bakterien Murein, sondern ein von diesem in mehreren charakteristischen Merkmalen abweichendes *Pseudomurein*, wodurch diese unempfindlich gegenüber bestimmten Antibiotika sind, welche Bakterien an dieser Position angreifen.^[11] Andererseits ist auch wiederum bis heute kein einziges pathogenes Archaeon bekannt. Zudem kennt man eine Vielzahl an DNA-Viren, welche ausschließlich Archaeen infizieren und nicht mit anderen bekannten Typen von Viren verwandt sind.^[12] Ursprünglich wurden Archaeen als Extremophile betrachtet, da sie zuerst in hochspezialisierten ökologischen Nischen entdeckt wurden, wie in heißen Quellen, Salzsolen, oder bei normalerweise lebenswidrigen pH-Werten und Drücken, also Bedingungen von welchen allgemein angenommen wird, dass sie in der Frühzeit des Lebens auf der Erde geherrscht haben. Daher leitet sich auch deren Bezeichnung vom altgriechischen ἀρχαία (= die sehr Alten) ab. Extremophile Archaea werden in vier verschiedene Gruppen unterteilt,^[13] namentlich in halophile (lebensfähig bei extremen Salzkonzentrationen), thermophile (bei

extremer Hitze bis zu 122 °C)^[14], sowie in alkali- und acidophile (jeweils bei extremen pH-Werten wie pH = 0).^[15] Inzwischen wurden diese Lebensformen aber auch in einer Vielzahl an Habitaten mit milderer ökologischen Bedingungen gefunden, wie in Böden, Ozeanen oder Sümpfen.^[16] Heute nimmt man an dass Archaeen gar unter den am häufigsten auftretenden Organismen sind und bis zu 20% zur Biomasse des Planeten beitragen könnten.^[17] Dass diese so lange übersehen wurden, lag auch an deren schwieriger Isolierbarkeit,^[18] Handhabbarkeit und Kultivierbarkeit unter Laborbedingungen.^[19, 20] Da der letzte gemeinsame Vorfahr von Bakterien und Archaeen vermutlich thermophil war, handelt es sich bei den für uns als moderat bekannten Bedingungen wiederum höchstwahrscheinlich um ursprünglich extreme Bedingungen für Archaea.

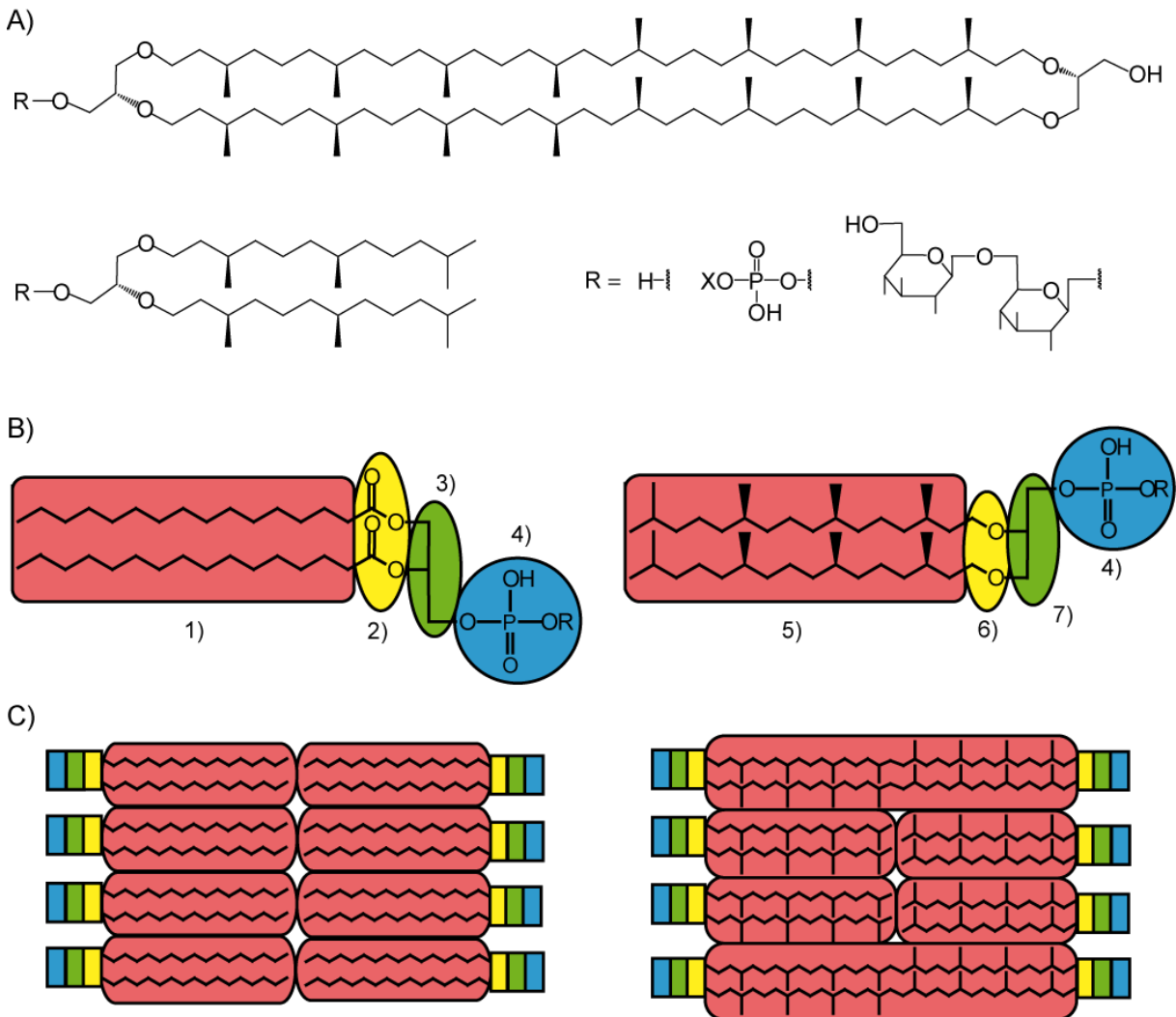


Abbildung 2.4: A) Typische archaeale Lipide.^[21] B) Strukturen von bakteriellen und eukaryotischen Lipiden (links), sowie von archaealen; 1) Fettsäure, 2) Esterbindung, 3) D-Glycerin, 4) Phosphatester, 5) Isoprenoidseitenkette, 6) Etherbindung, 7) L-Glycerin. C) Aufbau der analogen Zellmembranen.^[22]

Aus diesem Grund überrascht es nicht, dass die Vertreter der Archaeen als Folge der Anpassung an diese extremen Bedingungen gegenüber anderen Organismen fundamental abweichende Membranstrukturen aufweisen (Abbildung 2.4). So ist Stereochemie an der Glycerinfunktion bei sämtlichen anderen Lebensformen invertiert. Dies ist ein weiteres Indiz, welches nahe legt, dass die Abspaltung der Archaeen von den beiden anderen Domänen bereits früh in der Geschichte der Evolution statt gefunden haben muss, da sich die zur Synthese der Etherlipide benötigten Proteine bereits früh entwickelten. Weiterhin basieren ihre Membranen zwar ebenfalls auf Phospholipiden, bestehend aus hydrophilen Kopfgruppen und hydrophoben Seitenketten. Während bei den Vertretern der anderen beiden Domänen jene überwiegend als Glycidylester vorliegen, weisen jedoch diese an deren Stelle Glycidylether auf. Etherbindungen sind im Vergleich zu Estern insbesondere hinsichtlich säure- und basenkatalysierter Hydrolyse chemisch deutlich widerstandsfähiger und verleihen so den extremophilen Vertretern der Archaea die Fähigkeit, auch bei extremen pH-Werten zu überleben.^[23] Diese geringere Reaktivität erfolgt allerdings auch auf Kosten eingeschränkter chemischer Modifizierbarkeit.

Darüber hinaus unterschieden sich auch ihre Lipidketten gravierend von anderen Organismen. Dies gilt sowohl für deren Syntheseweg, als auch für deren Struktur. So bestehen sämtliche archaealen Lipide aus langen Isoprenoidseitenketten von hohem Verzweigungsgrad und enthalten bisweilen auch Cyclopentyl, bzw. -hexylringe,^[21, 24, 25] Merkmale wie sie bis heute nicht in anderen Lebensformen gefunden werden konnten. Isoprenoidketten spielen zwar überall in der Natur eine hervorgehobene Rolle, wie beispielsweise in Form der Phytolseitenkette des Chlorophylls und gehören damit zu den häufigsten Biomolekülen auf unserem Planeten, jedoch verwenden nur die Archaea Isopren als Baustein für ihre Lipide. Durch deren hohen Verzweigungsgrad wird, ähnlich wie durch den Einbau von ungesättigten Fettsäuren bei den Vertretern der anderen Domänen, auf diese Weise effektiv eine Verringerung der Membranübergangstemperatur erreicht, allerdings nicht durch chemisch reaktive Doppelbindungen. Die Methylgruppen an den Seitenketten verhindern eine enge räumliche Nähe benachbarter Alkylketten und erhalten so die flüssigkristallinen Eigenschaften der Membranen. Eine weitere dadurch erlangte Eigenschaft besteht darin, dass so die unspezifische Permeabilität der Zellmembranen auch bei hohen Temperaturen gering gehalten wird, bedingt durch höhere Packungsdichten.^[26]

Die wohl am meisten hervorzuhebende Eigenschaft archaealer Zellmembranen ist aber, dass bei manchen Vertretern die Phospholipiddoppelschicht durch eine einzige Monolage ersetzt wurde. Hierfür werden zwei separate Lipideinheiten zu einem einzigen *bolaamphiphilen*

Lipid mit zwei polaren Endgruppen verknüpft, wie im Falle des Caldarchaeols (vergleiche Abbildung 2.4, mit R = „H“). Anders als in den Strukturformeln gemeinhin angedeutet, darf man sich dieses Molekül nicht als aus zwei exakt parallel angeordneten Isoprenoidketten bestehend vorstellen. Stattdessen wird durch entropische Kräfte eine größtmögliche Entfernung zwischen ihnen angestrebt. Folglich kann man diesen Makrozyklus durchaus gleichsam einer „mechanischen Feder“ betrachten, welcher in lateraler Richtung durch entropisch bedingte Kräfte den Membranen höhere Festigkeit sowie Stabilität gegenüber widrigen chemischen und physikalischen Umweltbedingungen verleiht.^[26]

2.2 Künstliche Modellmembranen

Bei natürlich vorkommenden Membranen handelt es sich um hochkomplexe und bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig verstandene Systeme, was Untersuchungen von deren Eigenschaften und den damit assoziierten Prozessen bisweilen stark erschwert. Aus diesem Grund wurden zahlreiche Konzepte zum Aufbau artifizieller Modellmembranen entwickelt, um ausgewählte Aspekte von den Funktionen natürlicher Systeme isoliert zu untersuchen und Einblick ins Wechselspiel zwischen chemischen und physikalischen Phänomene und deren Einfluss auf die Membranfunktionen zu erlangen. Biologische Membranen sind allerdings bei weitem zu komplizierte Konstrukte, als dass diese beim derzeitigen Stand der Kenntnis in all ihren Eigenschaften und ihrer Vielfalt in absehbarer Zeit in vollem Maß imitiert werden könnten. Deshalb beschränken sich auch die im Folgenden beschriebenen Ansätze auf die Nachahmung einiger ausgewählter Merkmale.

2.2.1 Lipidmonoschichten an der Wasser-Luft-Grenzfläche

Zur Darstellung einer Lipidschicht an der Wasser-Luft-Phasengrenze wird in einem LB-Trog eine Mischung aus Lipiden sowie weiteren Membranbestandteilen auf der Wasseroberfläche gespreitet. Nach anschließender Komprimierung erfolgt Selbstausrichtung der Lipide mit den polaren Kopfgruppen hin zur wässrigen Phase, während sich die hydrophoben Seitenketten aus thermodynamischen Gründen hin zur Gasphase hin orientieren. Bei diesem Ansatz handelt es sich streng genommen nicht um ein biomimetisches Modell, da gemäß dieser Prozedur keine Lipiddoppelschichten erzeugt werden. Deshalb eignet sich dieses Modell bevorzugt zu Untersuchungen, welche durch die isolierte Betrachtung einer der beiden

Hälften einer Lipidmembran erleichtert werden. Darunter fallen beispielsweise Beobachtungen des Phasenverhaltens von in die Membran eingebundenen Lipiden sowie deren Mischbarkeit. Zur Beobachtung komplexerer membrangebundener Vorgänge ist es allerdings unumgänglich, mit Modellsystemen zu arbeiten, welche auf Lipiddoppelschichten beruhen.

2.2.2 Black Lipid Membranes (BLMs)

Eine der ersten eingeführten Techniken zur Darstellung künstlicher, bimolekularer Lipidmembranen im wässrigen Medium wurde 1962 von *Mueller* und *Montal* beschrieben.^[27-30] Hierfür wurde zunächst eine Teflonkammer mit Wasser gefüllt. Die Kammer war durch eine dünne Teflonwand getrennt, welche knapp oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche eine kleine Öffnung von 1-10 mm aufwies. Eine monomolekulare Lipidschicht wurde auf den Wasseroberflächen durch Spreitung aus einer Hexanlösung gebildet. Daraufhin wurde nacheinander der Pegel erst in einen, dann im anderen Kompartiment langsam angehoben (Abbildung 2.5).

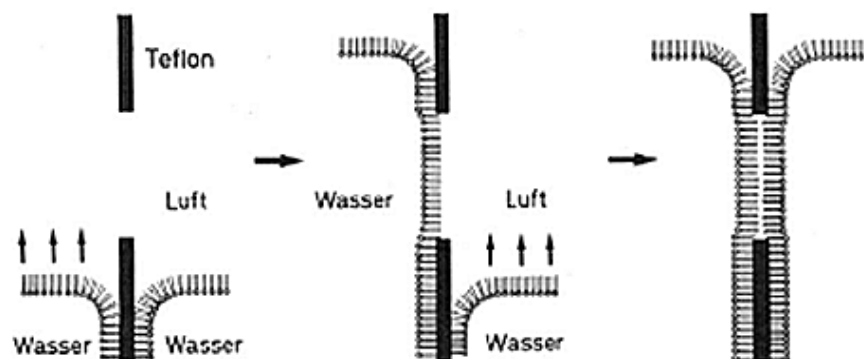


Abbildung 2.5: Bildung einer artifiziellen biomolekularen Lipidmembran durch Spreitung an der flüssig-flüssig-Grenzfläche.^[31]

Auf diese Weise konnten Lipiddoppelschichten von Durchmessern bis zu 10 mm² hergestellt werden. Durch destruktive Interferenzen im Bereich des sichtbaren Lichts erscheint die so gebildete Membran anfangs schwarz umrandet, nach vollständiger Bildung zuletzt komplett in schwarz. Die Bildung dieser Farbe kann als direkter Nachweis für die erfolgreiche Darstellung interpretiert werden. Aus diesem Grund spricht man deshalb von Black Lipid Membranes (BLMs).

Diese werden ausschließlich durch nicht-kovalente Kräfte zusammengehalten (Coulomb-, van-der-Waals- und grenzflächenphysikalische Kräfte) und befinden sich in flüssigkristallinem Zustand. Da die hierfür verwendeten Lipide naturidentisch bzw. direkt natürlichen Ursprungs waren, kann dies als eines der ersten Beispiele für biomimetische Membranen betrachtet werden. Es wurde gezeigt, dass solche über kleinere Flächen, ohne weitere unterstützende zelluläre Komponenten, stabil gehandhabt werden konnten. Zudem erlaubten es BLMs erstmalig, Membranproteine für elektrische Potentialmessungen zu inkorporieren.^[31, 32] Da die elektrische Leitfähigkeit von Lipiddoppelschichten in transversaler Richtung sonst äußerst gering ist, gestattete dies mit hoher Genauigkeit die Messung von Leitfähigkeitsveränderungen, welche z.B. durch Ladungstransport durch Ionenkanäle verursacht werden.

Allerdings erforderte die Ausbildung ausreichend stabiler Schichten äußerst saubere Substanzen, sowohl was den Teflontrog betrifft, als auch das eng definierte Verhältnis der Lipidmischung. Die Spielräume beim Vergleich mit biologischen Systemen, welche zumeist nicht exakt definiert vorliegen können, waren deshalb sehr limitiert. Darüber hinaus erwiesen sich die BLMs als insgesamt zu instabil für weiterführende Untersuchungen, weshalb dieses Konzept heute als veraltet gilt. Die Anstrengungen der Forschung konzentrierten sich deshalb schon bald auf die Entwicklung neuer, verbesserter Membranmodelle von höherer physikalischer und chemischer (Langzeit-)Stabilität.

2.2.3 Festphasenunterstützte Membranen

Eine zusätzliche Möglichkeit zur Untersuchung von Lipidschichten stellen Vesikel dar. Diese weisen eine oder mehrere lamellare Schichten auf, bestehend aus Lipidmono- oder –doppelschichten, in Abhängigkeit von deren Komposition. Jedoch schränkt ihre sphärische Form eine genauere Untersuchung von membrangebundenen Phänomenen und Prozessen stark ein. Aus diesem Grund ist es von Vorteil, solche Untersuchungen an stabilen, planaren

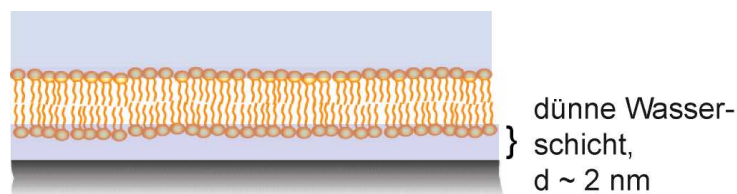


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung einer festphasenunterstützten Lipidmembran.

Doppelschichten vorzunehmen. Dieses Konzept wird bei den sogenannten *solid supported membranes* verfolgt, wobei es sich um Lipiddoppelschichten handelt, welche auf ein festes Substrat aufgetragen wurden (Abbildung 2.6). Deren Darstellung erfolgt zunächst über einen *Langmuir-Blodgett-Transfer* ^[33] einer Lipidmonolage auf eine hydrophile Oberfläche wie Quarz oder Glas, wobei sich die polaren Kopfgruppen der Lipide in Richtung des Substrates orientieren. Mittels eines *Langmuir-Schäfer-Transfers* ^[34] oder durch Vesikelfusion ^[35, 36] wird die Lipiddoppelschicht vervollständigt. Bei letzterer Vorgehensweise wird die bereits mit oder ohne einer Monolage vorpräparierte Oberfläche in einer wässrigen Vesikellösung behandelt, woraufhin ohne weiteres Zuwirken die zweite Lipidlage gebildet wird. Beim Langmuir-Schäfer-Transfer wird die präparierte Oberfläche in eine an der Wasser-Luft-Grenzfläche gespreitete Lipidmonolage in vertikaler Richtung eingesenkt und so mit einer zweiten Schicht vervollständigt. Derartige Membranen weisen - im Vergleich zu BLMs - außerordentlich höhere physikalische Stabilität auf.^[37-39] Darüber hinaus konnten so auch Schichten von weit größerer Ausdehnung dargestellt werden. Die Kopfgruppen der unteren Lipidschicht stehen dabei nicht in unmittelbarem Kontakt mit der Substratoberfläche, sondern schwimmen auf einer 1 - 2 nm hohen Wasserschicht ^[40-45] und verlieren dadurch nicht ihren flüssigkristallinen Charakter.

Die auf festen Substraten aufgetragene Phospholipiddoppelschichten waren über langen Zeitraum die geläufigsten Modellsysteme für biomimetische Membranen. Anders als bei Vesikeln wurde durch deren planare Geometrie der Einsatz einer größeren Bandbreite an weiterführenden analytischen Methoden ermöglicht, wie beispielsweise NMR Spektroskopie,^[40] FT-IR Spektroskopie,^[46] Röntgen- und Neutronenstreuung^[41, 47, 48] und fluoreszenzspektroskopische Untersuchungen.^[35, 49] Anhand dieser Systeme konnte eine Vielzahl an mit biologischen Membranen assoziierten Prozessen untersucht werden, von Zelladhäsion bis hin zu Immunreaktionen.^[50-58] Außerdem war es so möglich, periphere Membranproteine zu inkorporieren, bzw. integrale Proteine von geringerem extrazellulärem räumlichen Anspruch.^[59] Bei allen genannten Experimenten ist es von größter Wichtigkeit, dass eine laterale Beweglichkeit der Lipide gewährleistet war, um so die Untersuchung von dynamischen Vorgängen zu ermöglichen.

Jedoch ist dies bei jenem System nicht in dem vollen Umfang gegeben, wie z.B. in frei beweglichen Vesikeln bzw. in natürlichen biologischen Membranen. Grund dafür ist der extrem geringe Abstand zwischen Substrat und Modellmembran. Zwar ist dieser Spalt mit einer dünnen Wasserschicht gefüllt. Durch die dort gegebenen physikalischen Bedingungen jedoch weisen die Wassermoleküle in diesem Spalt eine deutlich höhere Viskosität auf, als an

der oberen Lipidmonolage. Die Lipidmoleküle der unteren Schicht zeigen damit eine weitaus geringere Diffusionsgeschwindigkeit als in der oberen. Einen ähnlichen Einfluss kann darüber hinaus die Oberflächenmorphologie der Substratoberfläche bewirken.^[60-62] Das Resultat ist in beiden Fällen eine Anisotropie der physikalischen Eigenschaften der Modellmembran, welche damit dem Anspruch eines biomimetischen Systems nicht vollständig im erwünschten Maß gerecht werden kann. Durch den geringen Abstand zur Oberfläche ist weiterhin die Inkorporation größerer integraler Proteine nicht durchführbar. Deren intrazelluläre Domänen ragen in Größen von bis zu mehreren zehn Nanometern aus der Membran heraus, was direkten Kontakt mit der festen Substratoberfläche zur Folge hat. Durch die dann auftretenden unspezifischen Wechselwirkungen denaturieren diese Proteine, was wiederum mit dem Verlust ihrer biochemischen Aktivität verbunden ist (Abbildung 2.7).^[39, 63-66]

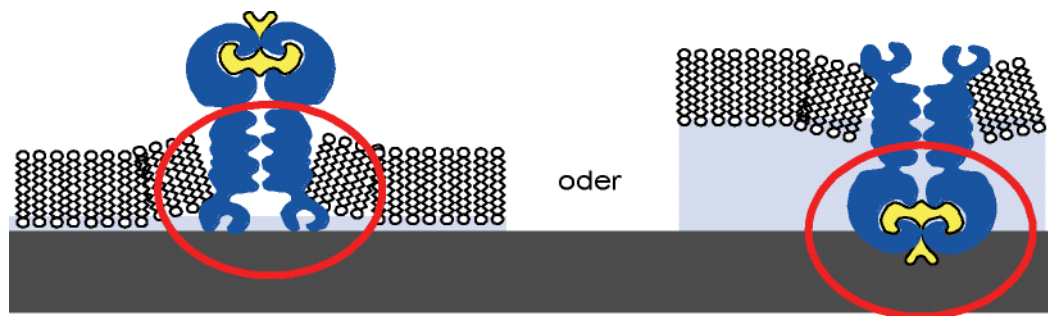


Abbildung 2.7: Unspezifische Wechselwirkung zwischen räumlich anspruchsvolleren Membranproteinen und Substratoberfläche bei festphasenunterstützten Modellmembranen.

Folglich weisen auch festphasenunterstützte Membranen Nachteile hinsichtlich der Beobachtung von biologischen Membranphänomenen auf - wegen der unvermeidbar geringen Distanz zur festen Phase, nebst den dadurch auftretenden physikalischen Anisotropien.

2.2.4 Polymerunterstützte Membranmodelle

Angesichts der bei den BLMs sowie bei den festphasenunterstützten Membranen in Erscheinung tretenden Nebeneffekte wurde weiter an Konzepten gearbeitet. Ringsdorf^[39, 67] und Sackmann^[39] regten deshalb an, die Lipiddoppelschicht auf weichen, hydrophilen Polymeren zu lagern, welche als Separator zwischen fester Substratoberfläche und Membran fungiert, um diese von dynamisch und sterisch von der festen Phase zu entkoppeln. Um dies zu erreichen, ist ein Abstand zwischen beiden von bis zu 100 nm wünschenswert, was entweder durch Auftragung der Lipidschicht auf ein Polymerkissen oder durch Einführung einzelner diskreter, an die Membran gebundener Polymerketten als Separatoren erreicht werden kann. Bei Ansätzen, die dieses Prinzip verfolgen, spricht man deshalb entweder von „*polymer-cushioned*“ oder von „*polymer-tethered*“ membranes.

2.2.4.1 „Polymer-cushioned“-Membranes

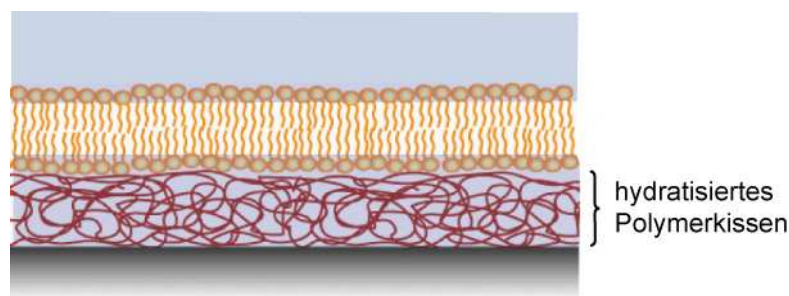


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung einer „polymer cushioned membrane“.

Polymere, die als Kissen (engl. „cushion“) für unterstützte Membranen eingesetzt werden, sollen als Lubrikant zwischen fester Phase und Lipiddoppelschicht fungieren (Abbildung 2.8). Auf diese Weise können mikroskopische Unebenheiten auf der Substratoberfläche sowie lokale Defekte in der Membran effektiv und dynamisch ausgeglichen werden.^[68] Hierfür angewandte Polymere müssen einer Reihe an Anforderungen genügen, um Zugang zu thermodynamisch stabilen Membranschichten zu ermöglichen. Die dazu wichtigsten Parameter finden sich im Zusammenspiel der Benetzbarkeiten an den Grenzflächen zwischen fester Phase, Polymerkissen und Membranschicht.^[65, 69] Die geschichteten Lagen sind nur dann stabil, wenn an den jeweiligen Grenzflächen vollständige Hydratisierung vorliegt.^[70, 71] Die Wechselwirkungen zwischen Lipiddoppelschicht und Substratoberfläche sind

idealerweise repulsiv oder nur leicht attraktiv, um einen Kollaps der Modellmembran durch Verdrängung der Polymerlage zu vermeiden.^[39, 72, 73] Damit die Polymerkissen über eine ausreichend hohe Flexibilität verfügen, um Oberflächenrauigkeiten auf dem Substrat aufzuheben, müssen diese eine hohe Wasserlöslichkeit aufweisen. Beispiele hierzu sind Dextran,^[72] Hyaluronsäure und Cellulose.^[74] Unter Berücksichtigung dieser Bedingungen lassen sich so polymerunterstützte Membranen darstellen, in welchen zwischen Lipidschicht und Oberfläche Abstände zwischen 5 – 100 nm herrschen. Hierdurch werden unspezifische Wechselwirkungen minimiert, welche maximal über 3 nm wirksam sind.^[68] *Sackmann et al.*^[75] erreichten die Einführung von räumlich anspruchsvollen Membranproteinen in derartige Modellsysteme, welche auf regenerierter Cellulose basierten. In auf solchen 5 nm dicken Schichten gelagerte Lipidmembranen konnten erfolgreich Integrine vom Typ $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ inkorporiert werden. Diese wiesen eine um bis zu einer Größenordnung höhere Adhäsionsenergie auf, als in analogen für polymerunterstützte Membranen durchgeführten Experimenten beobachtet wurde und zeugten somit von einer thermodynamisch günstigeren Wechselwirkung zwischen Lipidschicht und Protein. Aus diesen Untersuchungen ging ferner hervor, dass diese Integrine nach deren Einbau in die Membranen, in vollem Ausmaß ihre ursprüngliche biochemische Funktionsfähigkeit behielten.

Polymer cushioned membranes weisen folglich grundlegende, für biomimetische Funktionen wichtige Eigenschaften auf, welche bis dato an keinen anderen Modellsystemen beobachtet werden konnten. Ein Nachteil solcher Membranen liegt jedoch darin begründet, dass die Distanz zwischen Oberfläche und Lipiddoppelschicht nur schwer kontrollierbar ist. Darüber hinaus besteht nahezu keine Möglichkeit, die Viskosität des Polymerkissens zu variieren. Beide Parameter können jedoch wiederum gravierend auf Funktion und laterale Diffundierbarkeit von Membranproteinen Einfluß nehmen.

2.2.4.2 „Polymer-Tethered“ Membranes

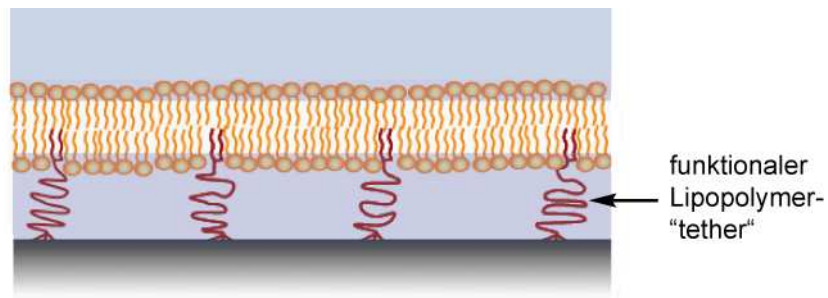


Abbildung 2.9: Schematische Darstellung einer „polymer tethered membrane“.

Eine Weiterentwicklung dieses Systems stellen die sogenannten „polymer-tethered“ membranes dar. Bei diesem Konzept wird der Abstand zwischen polarem Substrat und Lipidschicht durch in die Membran inkorporierte Lipide kontrolliert, welche mit makromolekularen polaren Ketten derivatisiert sind (Abbildung 2.9). Man spricht bei solchen Polymeren deshalb auch von „Lipopolymeren“. Über die Länge der Polymerketten kann darüber hinaus der Abstand zwischen Membran und Oberfläche und damit das Volumen des dazwischen liegenden Wasserreservoirs kontrolliert werden. Weiterhin wird so, wie im Falle der „polymer-cushioned“ membranes, ein direkter Kontakt zwischen Substrat und Lipidschicht vermieden. Optional können solche makromolekularen Strukturen als dritte Komponente noch Ankergruppen enthalten, zur kovalenten Anbindung zwischen Lipiddoppelschicht und Oberfläche (die schematisierte Darstellung eines solchen Lipopolymers ist in Abbildung 2.10 gezeigt).

Der Aufbau solcher Modellmembranen erfolgt analog der Vorgehensweise wie bei den *polymer-cushioned membranes*. Nach Auftrag einer selbstorganisierten Monolage, einer Mischung aus Lipiden und Lipopolymer, auf ein hydrophiles Substrat an der Wasser-Luft Grenzfläche wird mittels LB-Übertragung bzw. Vesikelfusion die Lipiddoppelschicht vervollständigt.

In der Literatur finden sich vielseitige Beispiele zum Aufbau solcher lipopolymeren Systeme. Als Polymerspacer war hierfür zunächst Poly- und Oligo(ethylenglycol) populär. Zum einen weist das Polymer hohe Hydrophilie auf, was eine gute Hydratisierung der Ketten verspricht, nebst einer geringen Viskosität des Wasserreservoirs, zum anderen kann Ethylenglycol über einen lebenden anionischen Mechanismus polymerisiert werden, was Zugang zu Polymeren von genauestens definierten Zusammensetzungen gewährt. So stellten Lang *et al.*^[76] 1994 ein



Abbildung 2.10: Struktur eines Lipopolymers zum Aufbau von polymerunterstützten Lipidmembranen.

auf Oligo(ethylenglycol) basierendes Lipopolymersystem vor. Die Lipidkopfgruppen befanden sich sowohl am distalen, als auch am proximalen Ende.

Eine PEG-Kette von variabler Länge trennt diese von einer Disulfid-Ankergruppe, welche sich in der Mitte der Polymere befanden. Anhand dieser Gruppe können die Polymere auf thiophilen Oberflächen wie Gold zum Aufbau stabiler Modellmembranen immobilisiert werden. Ein ähnliches Beispiel wird auch von *Schiller et al.*^[77] beschrieben. Ein aufwendigeres, auf OEG basierendes Membrankonstrukt wurde 1997 von *Cornell et al.*^[78] vorgestellt, welches bereits Funktionen eines Biosensors ausführen konnte. Durch Ein- und Ausschalten von in die Membran integrierten Ionenkanälen durch biotinylierte Antikörperfragmente konnte so die Ionenleitfähigkeit in transversaler Richtung der Modellmembranen gesteuert werden. Dieser Effekt ließ sich dann potentiometrisch durch Messung des Potentials zwischen Goldoberfläche und wässriger Phase feststellen. Weiterhin wird auch von Lipopolymeren mit längeren PEG Ketten berichtet, wodurch die Diffusion der Lipide in der Modellmembran weiter erhöht werden konnte.^[66] Darüber hinaus finden sich auch Beispiele für auf Thiopeptiden basierende Lipopolymere.^[79]

Ein Nachteil der bisher genannten Systeme liegt allerdings in ihrer zumeist aufwendigen Darstellung. Da viele der Komponenten der Zielstrukturen nicht mit dem jeweiligen Polymerisationsmechanismus kompatibel sind, werden zu deren Aufbau häufig mehrstufige Synthesen benötigt, welche die Ausbeuten schmälern. Das ist gerade dann von Nachteil, wenn mit natürlichen und begrenzt verfügbaren Lipiden gearbeitet werden muss. Dies kann umgangen werden durch radikalische Copolymerisation in einer einstufigen Reaktion von Monomeren, welche die jeweils erforderlichen Funktionen aufweisen (Anker-, Lipidfunktion, etc.).^[80, 81] Jedoch handelt es sich in diesen Fällen um statistische Copolymere, d.h. die funktionalen Gruppen wie die Lipid- und Ankergruppen liegen innerhalb der Polymerketten zufällig verteilt vor. Von definierten Systemen kann deshalb fast nicht mehr gesprochen werden. Weiterhin weisen mittels freier radikalischer Polymerisation dargestellte Makromoleküle stets breite Molmassenverteilungen auf. Dementsprechend ähneln die

hierdurch dargestellten Modellmembranen auch eher denen der *polymer cushions*, da die Polymere aufgrund ihrer undefinierten Zusammensetzung auch bei hoher lateraler Kompression eher die Form eines statistischen Knäuels annehmen. *Théato* und *Zentel*^[82-84] versuchten dieses Problem zu umgehen, wobei sie kontrollierte radikalische Polymerisation (ATRP, *atom transfer radical polymerisation*) zur Darstellung von Blockcopolymeren mit definierten Lipidkopfguppen, basierend auf einer Poly(acrylamid) Struktur einsetzten. Anhand dieser Vorgehensweise war es möglich, die Polydispersität der Polymere deutlich zu verringern. Die so synthetisierten Polymere besaßen proximale lipophile Kopfguppen und distale Disulfid-Ankergruppen. Ferner war es so möglich, die hydrophil/lipophile Balance der Polymerhauptkette durch Copolymerisation von Monomeren unterschiedlicher Polarität gezielt zu beeinflussen.^[82] Hierdurch konnten Lipopolymere mit sogenanntem LCST-Verhalten (von engl. *lower critical solution temperature*) dargestellt werden. Trug man beispielsweise eine Monolage aus Lipopolymeren auf eine feste Substratoberfläche auf und erwärmte dann im wässrigen Medium über diese Temperatur hinaus, so war es nicht mehr möglich, eine zweite, vervollständigende Lipidschicht mittels Vesikelfusion aufzutragen. Grund dafür ist, dass über der LCST die Lipopolymere als statistische Knäuel vorlagen. Da dies zur statistischen Verteilung der Lipidanker über das gesamte Polymerknäuel führte, wurde an der Oberfläche der Monolage eine zu geringe Anzahl an Lipidkopfguppen präsentiert, um eine weitere thermodynamisch stabile Lage aufzutragen. (Eine Übersicht ausgewählter, in der Literatur berichteten Lipopolymerstrukturen ist in Abbildung 2.12 gezeigt).

Darüber hinaus bietet die kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen Zugang zu lipopolymeren Systemen von definierter Zusammensetzung.^[85-94] Da es sich hierbei um einen lebenden Polymerisationsmechanismus handelt, kann dabei die Kettenlänge der resultierenden Polymere genau eingestellt werden, bei gleichzeitiger Wahrung engster Molmassenverteilungen. Somit ist es möglich, die jeweiligen Parameter (verwendete Lipidankergruppe, Kettenlänge, Kopplungsgruppe) genau an die jeweilige Aufgabenstellung anzupassen. Poly(2-oxazolin)e weisen darüber hinaus eine gute Biokompatibilität auf und im Gegensatz zu PEG-basierten Systemen die Möglichkeit, funktionale Gruppen über die Polymerseitenketten einzuführen. Zur kovalenten Anbindung solcher Systeme an Oberflächen wird von unterschiedlichen Ansätzen berichtet, wie beispielsweise über eine photochemische Reaktion auf ein zuvor funktionalisiertes Substrat.^[95] Dieser Prozess führt allerdings zur Pfropfungsreaktion mit der Oberfläche an unbestimmten Stellen entlang der Polymerkette, so dass eine effektive Kontrolle der Distanz zwischen Pfropfungsstelle und Lipidschicht nicht

möglich ist. Als Ankergruppen werden deshalb hierfür vorrangig terminal ins Lipopolymer eingeführte Silylester verwendet, zur Anbindung auf oxidischen Oberflächen wie SiO_2 . In einem zweistufigen Prozess erfolgt zunächst die Hydrolyse der Silanoxifunktionen, gefolgt von der Kondensationsreaktion mit der Oberfläche (Abbildung 2.11).^[96]

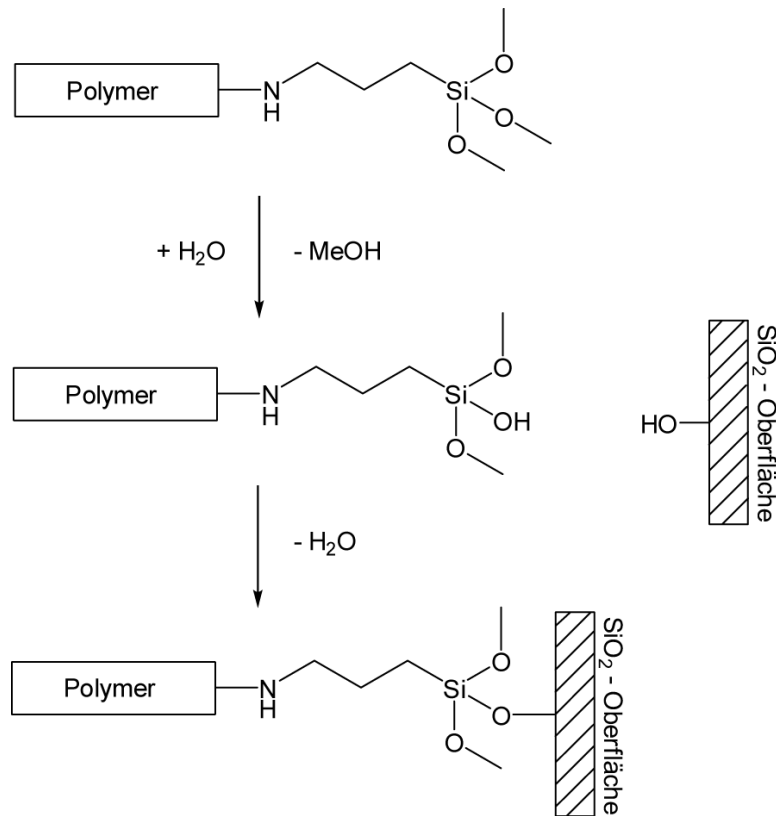
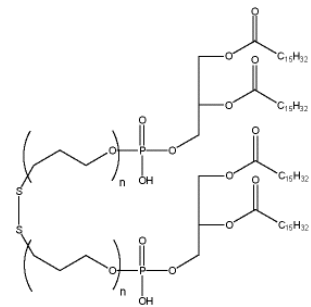


Abbildung 2.11: Kopplung von Alkoxysilanen an Silanole.^[96]

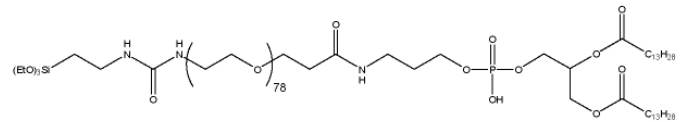
Gemäß dieser Vorgehensweise konnten so polymerunterstützte Modellmembranen mit genau definierter Struktur dargestellt werden. Da die Pfropfungsreaktion hierbei stets definiert am terminalen Ende des Polymers erfolgt, kann der Abstand zwischen Modellmembran und Oberfläche und damit Dicke und Viskosität des Wasserreservoirs über die Polymerkettenlänge kontrolliert werden.^[91] Anhand solcher Systeme wurden in Modellmembranen, welche auf Poly(2-methyl-2-oxazolin)-Lipopolymeren basierten, erfolgreich Membranproteine von hohem räumlichem Anspruch inkorporiert^[89, 91], darunter auch Integrine vom Typ $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$.^[90] Da sich hierbei in den Membranen die Lipopolymeranteile statistisch über die gesamte Membran anordnen, verspricht dieser Ansatz Zugang zu Systemen mit geometrischer Kontrolle der Zelladhäsion, nach Inkorporierung von spezifischen Rezeptorproteinen.^[88]

Somit bieten polymerunterstützte Membranen Zugang zu biomimetischen Systemen mit einer Vielzahl an Funktionen, die durch keines der zuvor vorgestellten Modelle erreicht werden können. Die wohl bedeutendste Eigenschaft von *polymer tethered membranes* liegt in der geringen Viskosität des Wasserkissens auf der Unterseite der Lipidschicht begründet, und dem gut kontrollierbaren Abstand zwischen dieser und der Substratoberfläche, einstellbar über den Polymerisationsgrad der Lipopolymere. Hierdurch werden über van-der-Waals Kräfte vermittelte unspezifische Wechselwirkungen effektiv ausgeschlossen, was wiederum die Inkorporierung von großen Membranproteinen gestattet, bei gleichzeitiger Wahrung ihrer lateralen Mobilität.^[68] *Polymer tethered membranes* stellen daher das bislang aussichtsreichste und vielseitigste Konzept zum Aufbau von biomimetischen Modellmembranen dar.

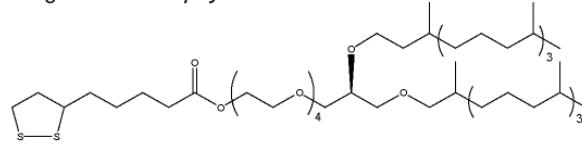
Poly(ethylenglycol)-basierte Lipopolymere



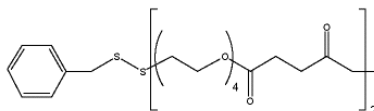
Lang et al. *Langmuir* 1994



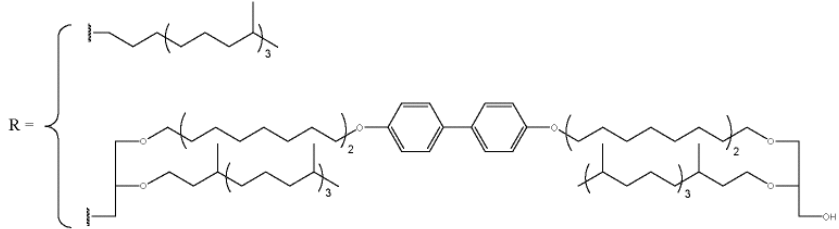
Wagner et al. *Biophys. J.* 2000



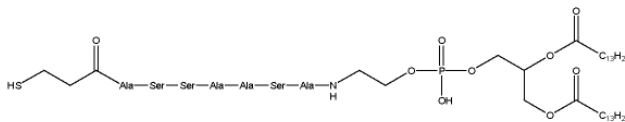
Schiller et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003



Cornell et al. *Nature* 1997

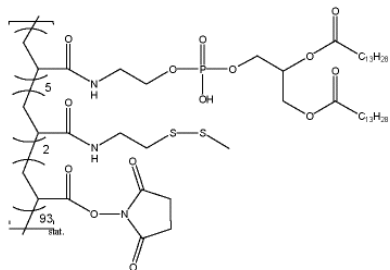


Poly(peptid)-basiertes Lipopolymer

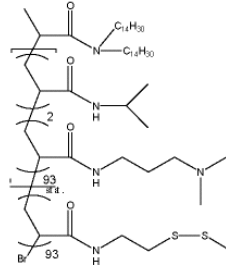


Bunjes et al. *Langmuir* 1997

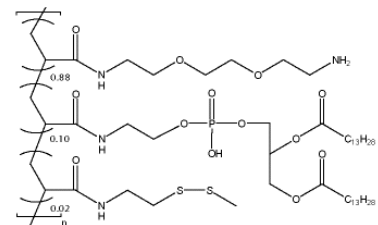
Poly(amid)-basierte Lipopolymere



Théato und Zentel *Langmuir* 2000,

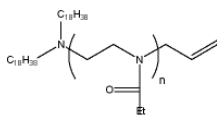


Macromol. Biosci. 2002

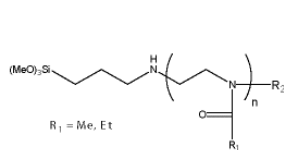


Seitz et al. *Langmuir* 2000

Poly(2-oxazolin)-basierte Lipopolymere



Naumann et al. *Biomacromolecules* 2002



Förtig et al. *Macromol. Symp.* 2004

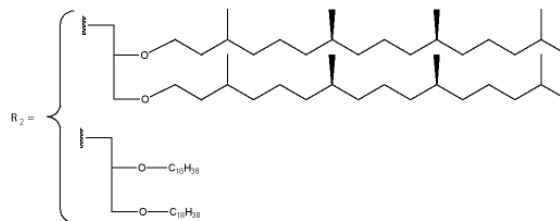


Abb. 2.12: Ausgewählte Übersicht von in der Literatur berichteten Lipopolymerstrukturen.

2.3 Lebende Polymerisation

Als lebende Polymerisation bezeichnet man Polymerisationsreaktionen, bei welchen ausschließlich Reaktionen zwischen den aktiven Kettenenden und Monomeren stattfinden und somit keine unerwünschten Nebenreaktionen wie Übertragung oder Abbruch. Darüber hinaus läuft die Initiationsreaktion schneller ab als die Wachstumsreaktion ($k_i \gg k_w$). Sind all jene Voraussetzungen erfüllt und liegt eine Kinetik erster Ordnung bezüglich der Kettenreaktion vor, spricht man vom „lebenden“ Charakter der Polymerisation. Die Konzentration der aktiven Spezies verbleibt dabei im Gegensatz zur radikalischen Polymerisation während der ganzen Reaktionsdauer und über diese hinaus konstant. Auch nach Abschluss der Reaktion kann zu den noch „lebenden“ aktiven Kettenenden weiteres Monomer zugegeben werden und die Wachstumsreaktion weiter fortgesetzt werden. Der resultierende mittlere Polymerisationsgrad (*average degree of polymerisation*, \overline{DP}) entspricht dabei nach vollständigem Umsatz dem Verhältnis zwischen eingesetztem Monomer zu Initiator.

$$\overline{DP} = \frac{M_0}{I_0} \quad \bar{M}_n = \frac{\sum_i n_i \cdot M_i}{\sum_i n_i} \quad \bar{M}_w = \frac{\sum_i m_i \cdot M_i}{\sum_i m_i} \quad PDI = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n}$$

Wenn all diesen Bedingungen entsprochen wird, kann bei den resultierenden Polymeren eine sehr enge Molmassenverteilung beobachtet werden, die durch eine Poisson-Verteilung beschrieben werden kann. Das statistische Maß für die Breite von polymeren Molmassenverteilungen ist der Polydispersitätsindex (PDI), der Quotient des mittleren Gewichts- und Zahlenmittel \bar{M}_w und \bar{M}_n . Im Falle der ionischen Polymerisation liegt dessen Wert in der Regel nahe 1.

2.3.1 Lebende kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen

Bei 2-Oxazolinen handelt es sich um zyklische Iminoether, welche nach einem kationischen Ringöffnungsmechanismus zu Poly(2-oxazolin)en, bisweilen auch Poly(N-acylethylenimid)e genannt, polymerisiert werden können (Abbildung 2.13), was bereits in den 60er Jahren des vergangenen Jahrhunderts von vier verschiedenen Gruppen unabhängig voneinander berichtet wurde. ^[97-102]



Abbildung 2.13: Struktur eines 2-Substituierten Oxazolinrings sowie dessen Umsetzung mittels eines elektrophilen Initiators zur lebenden Poly(2-oxazolin) Spezies.

Der lebende Charakter der Kettenwachstumsreaktion erlaubt die Darstellung von Poly(2-oxazolin)en mit definierten Endgruppen sowie die Synthese von Copolymeren. Durch Variation der Substituenten an der 2-Position der Monomere kann darüber hinaus spezifisch Einfluss auf die chemisch-physikalischen Eigenschaften der resultierenden Polymere genommen werden. Durch deren Poly(ethylenimin)-artige Struktur besitzen Poly(2-oxazolin)e ein polares Rückgrat. Anders als bei Poly(ethylenimin)en weist der Stickstoff an der Polymerhauptkette allerdings keine Nucleophilie auf, bedingt durch die Delokalisierung des freien Elektronenpaars über die Amidbindung. Die Eigenschaften des Polymers wie Polarität und Hydrophilie können darüber hinaus durch Variation der Reste an den Seitenketten verändert werden, etwa durch Einführung entsprechend substituierter Monomere.^[97, 103, 104]

Für die Kettenwachstumsreaktion liegen prinzipiell zwei Triebkräfte vor. Einerseits findet während der Polymerisation der Monomere Isomerisierung der Iminoether zu den analogen, energetisch tiefer liegenden Amidinen statt. Zweitens wird durch die dabei erfolgende Ringöffnung in einem exothermen Prozess die Spannung des Fünfrings aufgehoben. Der Energiegewinn der Kettenreaktion liegt zwischen 60 – 110 kJ/mol, was die Produktbildung thermodynamisch begünstigt.^[105]

Die Initiation der Polymerisation verläuft über starke Elektrophile, wie Lewis- und Brønstedtsäuren sowie deren Salze.^[106] Beispiele für Initiatoren sind Alkylhalogenide, starke Protonensäuren sowie Elektronenakzeptorverbindungen.^[107] Um einen lebenden Mechanismus zu ermöglichen, muss die Startreaktion quantitativ und schneller als die Kettenwachstumsreaktion verlaufen, unter Vermeidung von Nebenreaktionen. Aus diesem Grund gehören Sulfonate, allen voran Alkyltriflate, zu den am häufigsten beschriebenen Initiatorspezies.^[107] Durch deren hohe Reaktivität, bei gleichzeitiger geringer Nucleophilie und praktisch nicht vorhandener Reaktivität des korrespondierenden Gegenions ist eine schnelle Initiations- sowie Wachstumsreaktion gewährleistet, was wiederum in engen Molmassenverteilungen resultiert.^[107, 108] Weiterhin können so über entsprechend derivatisierte Initiatoren proximale Funktionalisierungen der Polymerketten eingeführt

werden. Durch gleichzeitige bzw. aufeinanderfolgende Zugabe verschiedener Monomere lassen sich statistische und Gradienten- sowie Blockcopolymere darstellen.^[109, 110]

Durch einen nukleophilen Angriff des 3-Stickstoffs am elektrophilen Zentrum des Initiators erfolgt zunächst intermediär die Darstellung eines Oxazoliniumkations. Darauf findet ein Angriff eines weiteren Monomers an der 5-Position des Rings statt, unter Isomerisierung zum Amid (ionischer Mechanismus). Die reaktive kationische Spezies steht dabei im Gleichgewicht mit einer linearen, ungeladenen offenen und weniger reaktiven kovalenten Spezies (Abbildung 2.14). An beiden kann im Folgenden der Angriff eines weiteren Monomers und somit Kettenwachstum geschehen. Dies erfolgt entweder regioselektiv an der 5-Position des kationischen Ringes bzw. durch nucleophilen Angriff am Alkylhalogenid. Welcher der beiden Mechanismen bevorzugt abläuft, ist abhängig von den gegebenen Reaktionsparametern, wie verwendetem Solvens, Gegenion, Temperatur sowie Substitution der Monomere. Aprotische, polare Lösungsmittel mit guten Donoreigenschaften, wie Acetonitril, können den reaktiveren und energetisch höher liegenden ionischen Zustand ausreichend stabilisieren und ermöglichen deshalb höhere Reaktionsgeschwindigkeiten. In unpolareneren Lösungsmitteln wie Chloroform, Dichlormethan oder Chlorbenzol tritt dagegen keine ausreichende Stabilisierung des terminalen Kations ein, weshalb hier das Gleichgewicht auf Seiten des kovalenten Mechanismus liegt. Einen ähnlichen Einfluss übt die Beschaffenheit der Gegenionen aus. Mit abnehmender Nucleophilie wird zunehmend der ionische Mechanismus bevorzugt. Bei niedrigerer Reaktionstemperatur erfolgt die Kettenwachstumsreaktion, thermodynamisch kontrolliert, über den kovalenten Mechanismus. Mit Erhöhung der Temperatur läuft die Reaktion zunehmend unter kinetischer Kontrolle über den ionischen Mechanismus ab.

Die kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen kann nur unter Abwesenheit von nukleophilen Verunreinigungen erfolgreich stattfinden. Hingegen können wiederum durch Termination mit geeigneten Reagenzien gezielt terminale Endgruppen eingeführt werden. Im Falle des kovalenten Mechanismus erfolgt der Angriff selektiv über nukleophile Substitution am lebenden Kettenende. Bei Reaktionsführung über den kationischen Mechanismus ist neben der zum analogen Produkt führenden Substitution an der 5-Position darüber hinaus eine solche an der 2-Position möglich, unter Ausbildung einer oxazolidinartigen Struktur. Da diese jedoch gegenüber der Amidform energetisch stark benachteiligt ist, wird sie nur selten beobachtet (Abbildung 2.12).

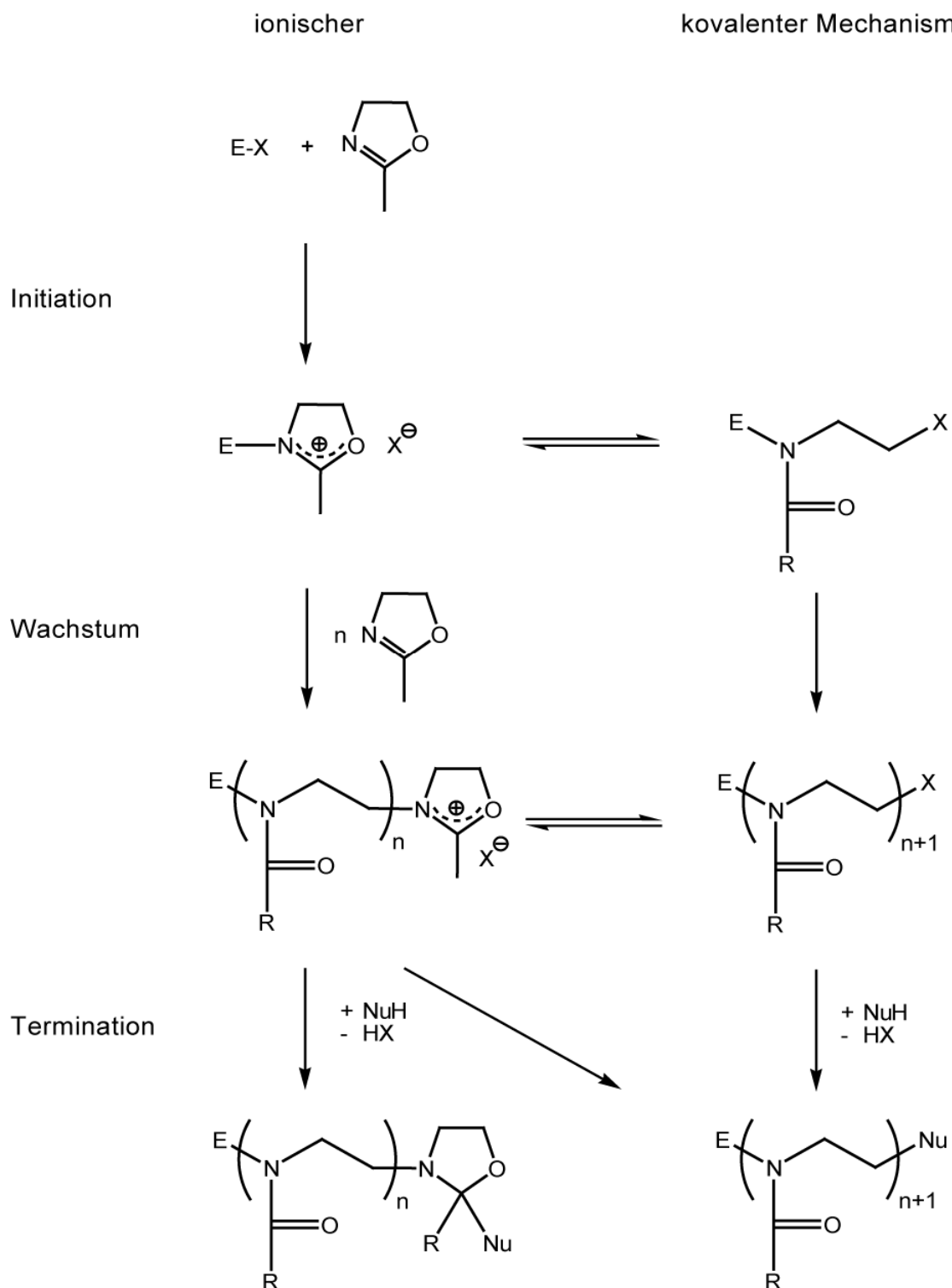


Abbildung 2.14: Mechanismus des lebenden kationischen Polymerisation von 2-Oxazolinen.
E-X = Elektrophiler Initiator, *NuH* = Nucleophiles Terminationsreagens.

Wegen ihrer hohen Nucleophilie eignen sich Amine besonders zur Termination der Polymerisation von 2-Oxazolinen und damit zur Einführung von terminalen Funktionalisierungen.^[85, 87, 92-94, 111, 112] Dies gilt insbesondere für zyklische, sekundäre Amine wie Piperidin und Piperazin.^[113, 114]

Wenngleich die kationischen Ringöffnungspolymerisation normalerweise lebend abläuft, beobachteten *Litt et al.*^[115] bei hohen Polymerisationsgraden und Reaktionstemperaturen vermehrt das Auftreten von Nebenreaktionen. Vorrangig handelt es sich dabei um Übertragungsreaktionen, wie in Abbildung 2.15 gezeigt. Verfügt die Seitenkette über eine CH₂- oder CH-Gruppe in α -Stellung, so erfolgt dies unter Migration eines Protons vom lebenden, ionischen Kettenende auf ein freies Monomer unter Bildung einer Enaminether-Spezies am terminalen Kettenende. Das neu gebildete Oxazoliniumkation ist wiederum ebenfalls zur Initiation der Polymerisationsreaktion befähigt, was die Verbreiterung der Molmassenverteilung der Produkte bewirkt.

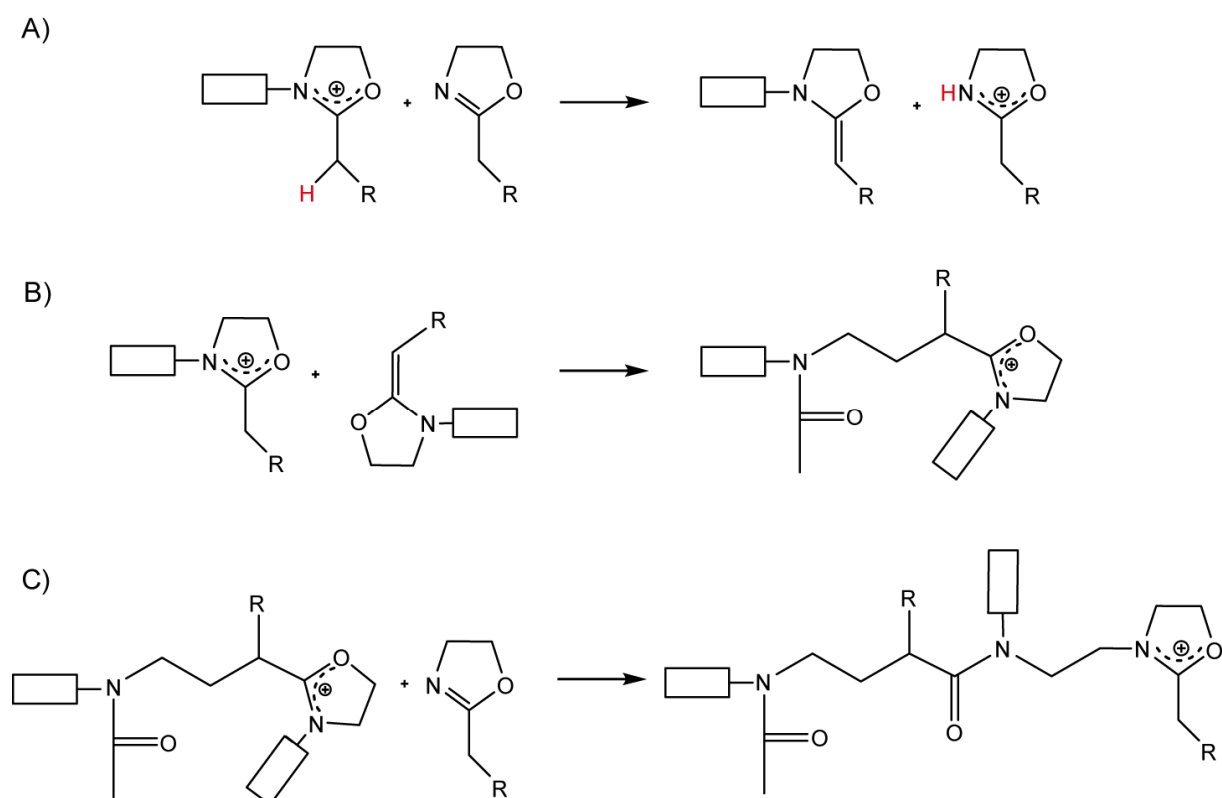


Abbildung 2.15: Vorgeschlagener Mechanismus zur Übertragungsreaktion bei der Polymerisation von 2-Oxazolinen. A) Reaktion zwischen aktivem Kettenende und Monomer unter Bildung einer Enamin-Spezies sowie Protoneninitiation am Monomer. B) Kupplung zwischen aktivem Kettenende und einer Enamin-Spezies. C) Wachstumsreaktion an der neugebildeten vernetzten Spezies.^[115, 116]

Wurde die Polymerisation zuvor mit einem funktionalen Initiator gestartet, so führt dies darüber hinaus zur Einführung einer neuen, von der Struktur her abweichenden aktiven Spezies. Weiterhin können Kupplungsreaktionen zwischen den Enaminether-terminierten Polymeren und einem lebenden Kettenende erfolgen und somit zur Vernetzung zweier zuvor voneinander unabhängiger Polymerketten führen.^[117, 118]

Die Häufigkeit solcher unerwünschten Reaktionen lässt sich jedoch durch Verdünnung, niedrigere Temperaturen und Reaktionsführung über den kovalenten Mechanismus reduzieren, da solche Übertragungsreaktionen nur am zyklischen, kationischen Kettenende stattfinden können. Darüber hinaus ereignen sich diese Nebenreaktionen bei Durchführung der Polymerisation im Mikrowellenfeld seltener, was die Darstellung von Poly(2-oxazolin)en von höheren Molmassen, bei gleichzeitig niedrigen Polydispersitäten, ermöglicht.^[119, 120] Die im Rahmen dieser Arbeit diskutierten Poly(2-oxazolin) basierenden Lipopolymere wurden über Lipidtriflate als Initiatoren dargestellt (Abbildung 2.16, Initiatorrest = Segment „E“). Diese weisen, bedingt durch ihre hydrophoben Alkylketten, eine zu geringe Löslichkeit in Acetonitril auf, so dass Chloroform als Lösungsmittel für die Polymerisation verwendet wurde. Um eine ausreichende Amphiphilie der Lipopolymere zu erreichen, empfiehlt es sich, die Polymerkette möglichst hydrophil zu halten, d.h. hydrophobe Reste an den Seitenketten *R* zu vermeiden. Dies gelingt durch Umsetzung der Initiatoren mit niedriger substituierten Monomeren wie 2-Methyl-2-oxazolin. Über geeignete nucleophile Terminationsreagentien können weiterhin Ankergruppen zur kovalenten Anbindung auf Substratoberflächen eingeführt werden (Segment *Nu*). Bei thermischer Reaktionsführung wurde zudem bei einer Temperatur von 60 °C polymerisiert, was die Wahrscheinlichkeit von unerwünschten Nebenreaktionen minimierte.

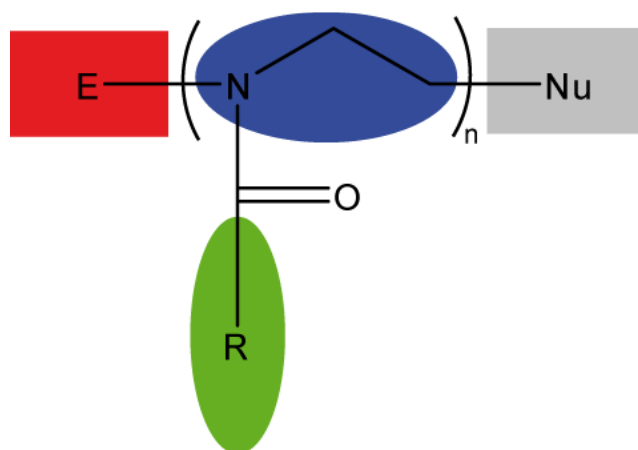


Abbildung 2.16: Grundstruktur eines Poly(2-oxazolins) mit den verfügbaren Möglichkeiten zur Funktionalisierung.

2.3.2 Schaltbarkeit von Polymeren, schaltbare Poly(2-oxazolin)e

Bei schaltbaren Polymeren handelt es sich um adaptive Makromoleküle, deren chemische und physikalische Eigenschaften in Abhängigkeit von äußeren Einflüssen selektiv und innerhalb eines kurzen Zeitraums angepasst werden können. Dabei kann es sich um Variationen des pH-Werts im wässrigen Medium handeln, aber auch der Temperatur, des chemischen oder elektrischen Potentials, um nur einige Möglichkeiten zu nennen. Solche anpassungsfähigen Substanzen werden in diesem Zusammenhang auch häufig als „intelligent“, Stimulus-sensitiv, bzw. –responsiv bezeichnet.^[121] Schaltbare Polymere versprechen Einsatzmöglichkeiten für Anwendungen in der Sensorik, aber vor allem auch für mögliche biomedizinische Applikationen, wie beispielsweise für thermosensitive Oberflächenmodifikationen sowie als biomimetische Schalter. Darüber hinaus eignen sie sich zur Immobilisierung von Biokatalysatoren, als chemische Ventile, zur Bioseparation und zur kontrollierten Wirkstofffreisetzung (*controlled drug-release*), was diese wiederum für pharmakologische Anwendungen interessant macht.^[121-129]

Wie erwähnt, bestehen verschiedene Möglichkeiten zur Einflussnahme auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Polymeren. Eine der naheliegendsten ist, dies über kontrollierte Änderungen des pH-Werts vorzunehmen. Voraussetzung ist hierbei das Vorhandensein von chemisch ionisierbaren funktionellen Gruppen am Polymer, wie z.B. von Amino-, Carboxyl- oder Phosphatgruppen. Ober- bzw. unterhalb eines charakteristischen pH-Werts existieren diese in geladener Form und somit bestehen zwischen ihnen repulsive Wechselwirkungen. Da die einzelnen Funktionalitäten kovalent an das Polymer gebunden sind, bewirken diese Kräfte eine Änderung der Konformation der Polymerhauptketten.^[121] Im ionischen pH-Bereich liegen diese bedingt durch Coulomb-Abstoßungen im gestrecktem und somit besser hydratisiertem Zustand vor. Beispiele hierfür sind Polybasen wie Poly(4-vinylpyridin),^[130] Poly(vinylimidazol),^[131] aber auch Polysäuren wie Poly(methylmethacrylat)^[132] und Poly(acrylat).^[133] Vernetzt man solche Polymere kovalent, so erhält man pH-sensitive Hydrogele. Anhand der dadurch veränderten Wasseraufnahmefähigkeit, d.h. dem Quellungsgrad solcher Materialien lassen sich eben genannte Effekte äußerst bildhaft demonstrieren. Während im nichtionischen Zustand Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Carbonsäurefunktionen den Abstand zwischen den Polymerhauptketten gering halten, verursacht deren Deprotonierung eine Vergrößerung der mittleren Kettenabstände, eine Weitung der Porengrößen sowie die Erhöhung der Hydrophilie der gesamten Polymerstruktur. Beide Effekte bewirken eine signifikante Erhöhung der Wasseraufnahmefähigkeit des Hydrogels.^[128, 134, 135] Schaltbare Hydrogele sind

vielversprechende Kandidaten für die kontrollierte pharmakologische Wirkstofffreisetzung.^[132, 134-136] Derartige Untersuchungen wurden beispielsweise an Hemicellulose-basierenden und mit Maleinatfunktionen derivatisierten Hydrogelen vorgenommen, welche zuvor mit pharmakologischen Wirkstoffen beladen wurden. Hierbei konnte eine pH-abhängige Kinetik der Freisetzung dieser Substanzen beobachtet werden.^[134, 135]

Weiterhin ist es möglich, Polymere durch reversible chemische Bindungen zu schalten. So finden sich Beispiele von schaltbaren Poly(2-oxazolin)en, mit Maleimid- und Furanfunktionalitäten in der Seitenkette.^[137] Durch eine reversible Diels-Alder-Reaktion zwischen diesen beiden Gruppen gelang es, den Quellungsgrad solcher Polymergele in Wasser selektiv zu steuern, allerdings wurden zum vollständigen Ablauf der Reaktion Zeitfenster von bis zu einer Woche benötigt.^[137] Dieselbe Gruppe stellte darüber hinaus ein Konzept für schaltbare Poly(2-oxazolin)e durch Bildung von Chelatkomplexen zwischen den Amidstickstoffen an der Polymerhauptkette und Metallionen vor.^[138, 139] Co^{2+} -Ionen bilden einen kinetisch labilen divalenten Komplex mit dem Polymer und können dadurch mit diesem nur in schwache Wechselwirkung treten. Durch Erhöhung der Oxidationsstufe der Cobaltionen von +2 auf +3 lassen sich entropisch und kinetisch bedeutend stabilere trivalente Komplexe zwischen Co^{3+} -Ionen und dem Polymerstickstoff darstellen. Dies bewirkt die Bildung von deutlich stabileren Gelen. Dadurch erhöhte sich die Wasseraufnahmefähigkeit solcher Hydrogele signifikant um einen Faktor von nahezu 50.^[138] Reversible Gelierung von Poly(2-oxazolin)en ist ebenfalls möglich, wenn diese mit Mercaptogruppen an den Seitenketten funktionalisiert sind.^[140, 141] Durch Oxidation der Thiofunktionen kommt es zur Bildung von Disulfidbrücken zwischen den Polymerketten und somit zur Gelierung. Die Reaktion ist umkehrbar, durch anschließende Reduktion mit geeigneten Reagenzien können die Disulfidbindungen wieder vollständig in den Ausgangszustand überführt werden (Abbildung 2.17).

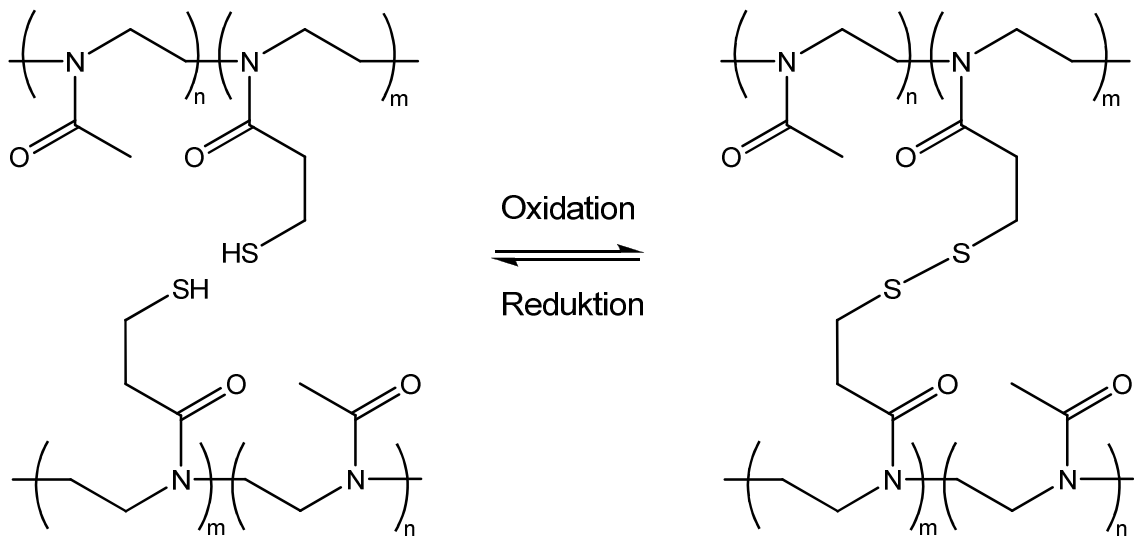


Abbildung 2.17: Gelierung thiolhaltiger Poly(2-oxazolin) basierter Copolymere über eine reversible Redoxreaktion zwischen Mercapto- und Disulfidgruppen.^[141]

Die bedeutendste Gruppe der stimulussensitiven Polymere bilden hingegen die thermisch schaltbaren Polymere, da der Parameter Temperatur vor allem bei Anwendungen *in vivo* ohne größere invasive Eingriffe und ohne Massentransport mit am einfachsten geregelt werden kann.^[121] Derartige Makromoleküle weisen eine charakteristische *higher* bzw. *lower critical solution temperature* (HCST, bzw. LCST) auf, welche den Umschlagspunkt der Löslichkeit der Polymere in Wasser anzeigt. So fällt eine solche Verbindung, die eine LCST aufweist, beim Überschreiten dieser Schwellentemperatur meist innerhalb von Sekunden aus. Dieser Befund ist vollständig reversibel - wird diese Temperatur unterschritten, ist das Polymer wieder löslich. Aus thermodynamischer Sicht handelt es sich bei diesem Phänomen um einen entropischen Effekt, der nur möglich ist, wenn die Lösungsentropie, des Polymers negativ ist d.h. die Gesamtentropie des Systems durch dessen Solvatisierung verringert wird.^[142] Weiterhin muss hierfür die Lösungsenthalpie positiv, also die Wechselwirkung zwischen Polymer und Lösungsmittelmolekülen energetisch vorteilhaft sein. Mit zunehmender Temperatur wird der Beitrag der Entropie zur freien Gibbs-Enthalpie und damit die hydrophoben Wechselwirkungen zunehmend größer, bis diese schließlich in den positiven Bereich verschoben wird, d.h. die Solvatisierung des Polymers thermodynamisch benachteiligt ist. Dies bewirkt wiederum Separation zwischen wässriger Phase und Polymerphase, was sich als starke Trübung der Lösung bemerkbar macht. Die Temperatur, bei der dies eintritt, wird deshalb auch als *cloud point* bezeichnet.^[143-146] Wird ein Polymer, welches eine LCST aufweist, unterhalb dieser Temperatur in Wasser gelöst, so wird dieses, bedingt durch Wasserstoffbrückenbindungen, zunächst von einer Hydrathülle umgeben.^[147]

Ist die Stärke der Wechselwirkung zwischen Wassermolekülen, also die Lösungsenthalpie, zu hoch, kann diese bis zum Siedepunkt von Wasser unter atmosphärischen Bedingungen nicht durch entropische Beiträge kompensiert werden. Derartige Polymere weisen somit keine LCST auf. Setzen sich die Polymere hingegen aus hydrophoberen Segmenten zusammen, so wird dessen Hydratisierung erschwert und somit die Lösungsenthalpie verringert (Abbildung 2.18). Mit zunehmender Verschiebung der *hydrophil/hydrophoben Balance* (HLB) der Polymerkomposition in Richtung des hydrophoben Bereichs verringert sich somit auch die LCST zunehmend.^[111, 148-159]

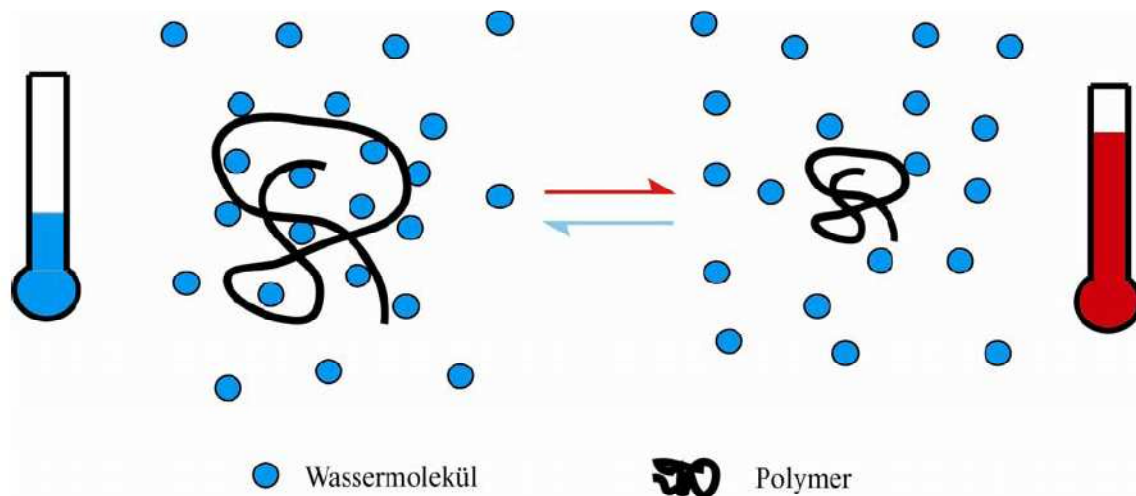


Abbildung 2.18: Auswirkung der Temperatur auf ein thermisch schaltbares Polymer. Nach Übertretung der LCST erfolgt Entmischung zwischen Polymer und wässriger Phase, da ab diesem Punkt hydrophobe Wechselwirkungen gegenüber den hydrophilen überwiegen.^[129]

Die genaue Lage des *cloud points* wird außer durch die Polymerstruktur durch das Wechselspiel von mehreren Faktoren beeinflusst. Hierzu zählt auch die Beschaffenheit des Lösungsmittels. Zwar wurde das Auftreten einer LCST bisher vornehmlich in wässrigen Lösungen beschrieben. Durch Mischung von polaren und unpolaren Lösungsmitteln lässt sich dagegen die Stärke der Wechselwirkungen zwischen Polymer und Solvens mit hoher Genauigkeit steuern und somit auf die Lage der Übergangstemperatur gezielt Einfluss nehmen.^[160, 161] Ein ähnlicher Effekt kann durch die Zugabe von Additiven wie Salzen oder Detergenzien ins wässrige Medium erreicht werden, welche eine Verringerung der LCST bewirken.^[161-164] Darüber hinaus besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Konzentration der Polymerlösung und der Lage des *cloud points*. Diese fällt zunächst mit zunehmender Konzentration auf ein Minimum, steigt jedoch mit zunehmendem Polymeranteil schließlich wieder stark an und ähnelt dadurch einem Typ I Flory-Huggins Verhalten.^[161, 165]

Herausragende Bedeutung auf die LCST hat auch die Beschaffenheit der Polymerendgruppen. Es wird vermutet, dass oberhalb der LCST die Entmischung mit der wässrigen Phase an den Polymerenden initiiert wird, aufgrund ihres höheren Entropiebeitrags. Ebenfalls kann eine Veränderung der Endgruppenpolarität gravierende Auswirkungen auf die Lage des *cloud points* haben. Je nach deren Hydrophilie, bzw. -phobie wird dieser angehoben bzw. abgesenkt.^[111, 149, 150, 152, 155, 158] Mit zunehmender Molmasse der Polymere kann zunächst ebenfalls die LCST verringert werden, um schließlich auf einem konstanten Niveau zu stagnieren. Dies wird dadurch erklärt, dass mit steigender Kettenlänge sich sowohl Enthalpie als auch Entropie des Polymers in Lösung verringern.^[142] Allerdings gilt dies für die Enthalpie in stärkerem Ausmaß, weshalb mit zunehmender Molmasse auch die Entmischung bereits bei immer niedrigeren Temperaturen eintritt. Bei weiter ansteigenden Kettenlängen nähern sich jedoch beide thermodynamischen Größen einem Grenzwert an, weshalb hierdurch der *cloud point* nicht unbegrenzt gesenkt werden kann. Anhand all dieser Parameter kann auf die Lage der LCST gezielt Einfluss genommen werden. Dies ist insbesondere für biomedizinische Anwendungen von Bedeutung, wenn der *cloud point* innerhalb eines physiologisch relevanten Bereichs auftreten soll. Die wohl bekanntesten Vertreter thermosensitiver Polymere stellen wohl die Poly(acrylamide), allen voran das Poly(*N*-isopropylacrylamid) (**PNIPAAM**) dar.^[121, 147, 157, 166-172]

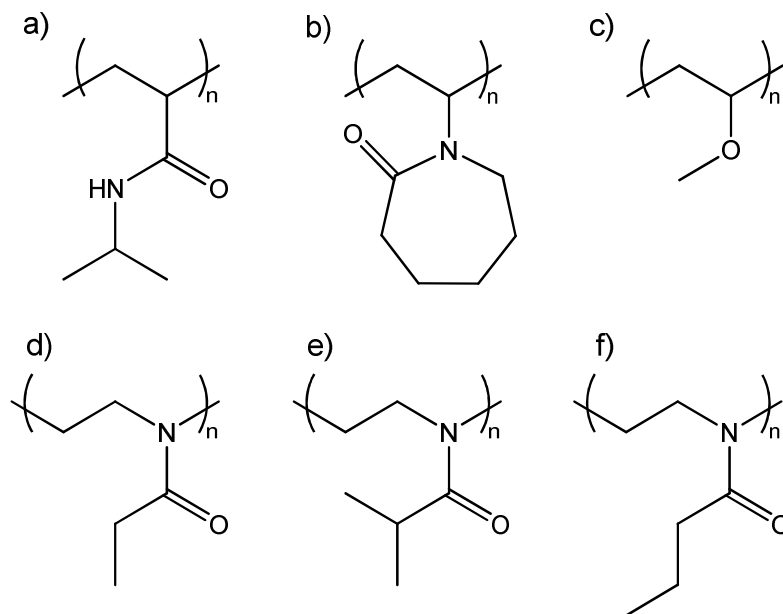


Abbildung 2.19: Strukturen von synthetischen, thermisch schaltbaren Polymeren. a) Poly(*N*-isopropylacrylamid) (**PNIPAAM**), b) Poly(*N*-vinylcaprolactam) (**PVCL**), c) Poly(vinylether) (**PVE**), d) Poly(2-ethyl-2-oxazolin) (**PEtOx**), e) Poly(2-isopropyl-2-oxazolin) (**PiPrOx**), f) Poly(2-*n*-propyl-2-oxazolin) (**PnPrOx**).

Weitere Beispiele für thermisch schaltbare Polymere sind Poly(N-vinylcaprolactam) (**PVCL**)^[173] und Poly(vinylether) (**PVE**) (Abbildung 2.19), aber auch Biopolymere wie einige Poly(saccharide)^[174, 175] und Poly(peptide)^[136, 176]. Eine aussichtsreiche Klasse von Polymeren, welche vor allem in jüngster Zeit intensiv hinsichtlich thermischer Schaltbarkeit untersucht wurde, stellen Poly(2-oxazolin)e dar.^[111, 129, 151] Von diesen sind insgesamt drei Homopolymere bekannt, welche eine LCST aufweisen. Konkret handelt es sich dabei um Poly(2-ethyl-2-oxazolin) (**PEtOx**), Poly(2-*iso*-propyl-2-oxazolin) (**PiPrOx**), sowie Poly(2-*n*-propyl-2-oxazolin) (**PnPrOx**).^[155, 161, 164] Diese Polymere weisen gegenüber **PNIPAAm** den entscheidenden Vorteil auf, dass sie über einen lebenden ionischen Polymerisationsmechanismus darstellbar sind, was somit eine genaue Kontrolle der Polymerstruktur und eine Korrelation dieser mit den resultierenden physikalischen Eigenschaften zulässt. Dadurch eröffnet sich darüber hinaus auch eine Vielzahl an Möglichkeiten, gezielt auf die HLB und damit auf die Lage des *cloud points* der Polymerlösungen Einfluss zu nehmen (Abbildung 2.20).

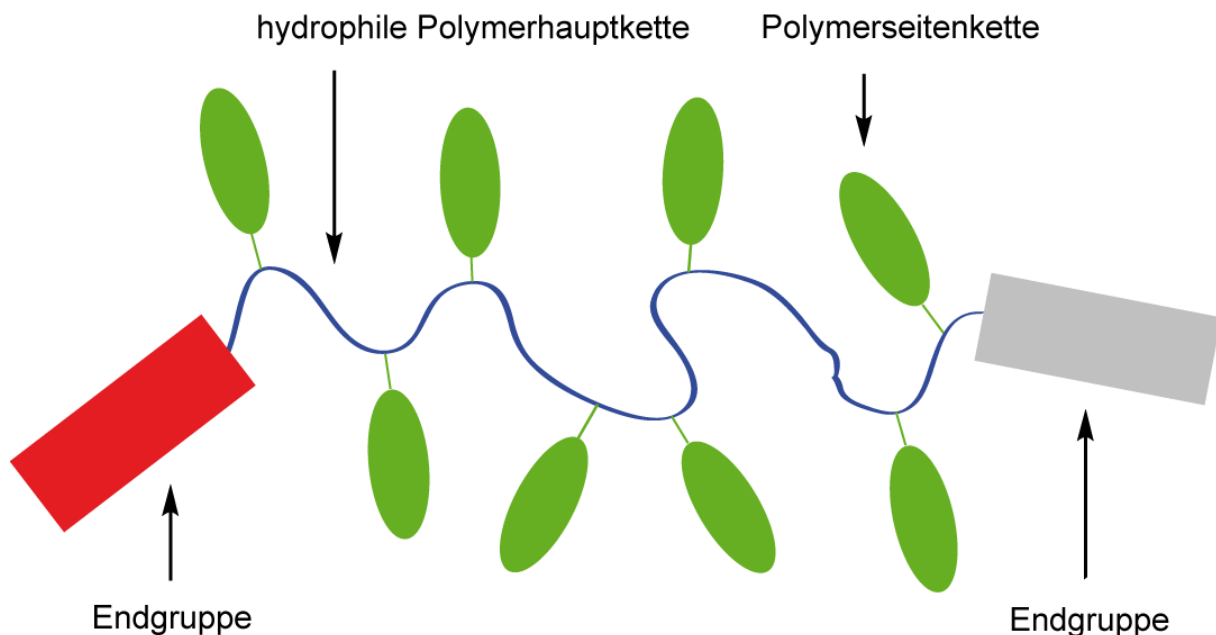


Abbildung 2.20: Grundstruktur eines Poly(2-oxazolin)s und Möglichkeiten zur Funktionalisierung zur Einflussnahme auf die LCST.

Poly(2-oxazolin)e verfügen über eine polare, hydrophile Polymerhauptkette. Bei Polymeren wie dem Poly(2-methyl-2-oxazolin) mit kurzen Alkylseitenketten überwiegen im wässrigen Medium die hydrophilen Wechselwirkungen gegenüber den hydrophoben so stark, dass keine LCST beobachtet werden kann. Mit zunehmender Hydrophobie der Seitenketten wird die Lösungsenthalpie reduziert, weshalb bereits ab dem Poly(2-ethyl-2-oxazolin) ein *cloud point*

unter 100 °C beobachtet werden kann. Zusätzlich kann darauf auch durch Einführung entsprechend hydrophober oder hydrophiler Polymerendgruppen Einfluss genommen werden. So konnten *Huber* und *Jordan*^[111, 129, 151] zeigen, dass sich durch Copolymerisation verschieden substituierter 2-Alkyl-2-oxazoline die LCST analoger Polymere über den gesamten Bereich zwischen 0 – 100 °C erstrecken kann. Unpolare Endgruppen an einem Polymerende wie *n*-Nonyl können die Hydrophilie entsprechend weiter reduzieren. Interessanterweise erhöht sich die Lage der LCST gegenüber diesen, wenn auch am anderen Polymerende derselbe Substituent eingeführt wird.^[111]

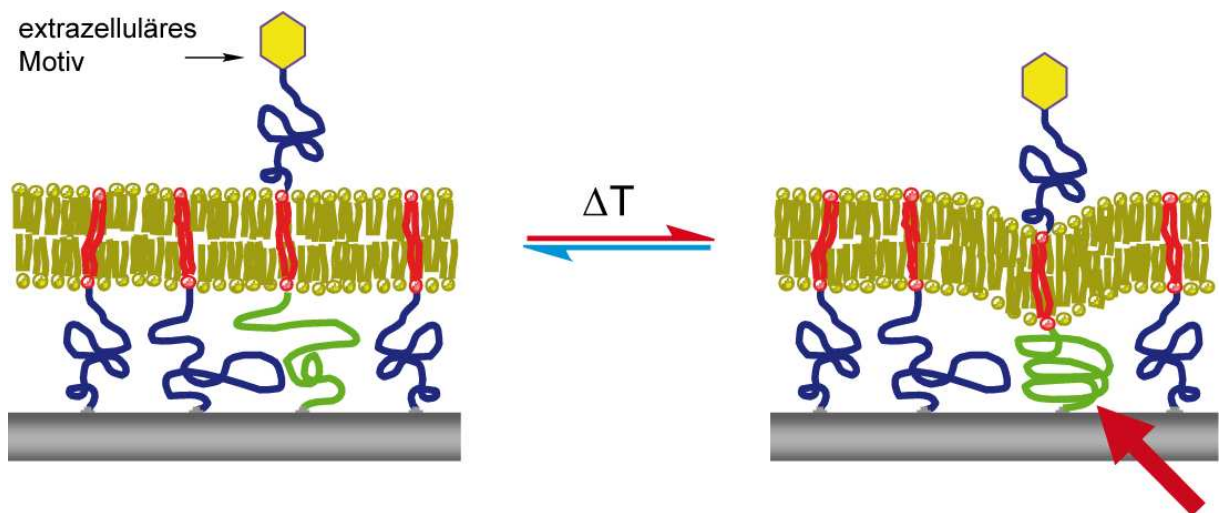


Abbildung 2.21: Polymer Tethered Membrane mit thermisch schaltbarem inkorporiertem Lipopolymer. Eine Konformationsänderung der Polymerkette, bedingt durch dessen veränderte physikalisch-chemische Eigenschaften über der LCST, erzwingt ebenfalls eine Verkürzung des Abstandes zwischen Modellmembran und fester Phase.

Thermosensitive Poly(2-oxazolin) basierte Lipopolymere versprechen Zugang zu „intelligenten“ polymerunterstützten Modellmembranen mit thermischer Schaltbarkeit (Abbildung 2.21). So könnte durch einen äußeren thermischen Stimulus gezielt Einfluss auf den Abstand zwischen Lipidmembran und fester Substratoberfläche genommen werden. Weist das schaltbare Lipopolymer darüber hinaus einen membranspannenden Lipidanteil auf, könnte gar die Verfügbarkeit eines mit diesem kovalent verknüpften „extrazellulären“ Motivs selektiv geregelt werden. Derartige Eigenschaften würden Zugang zu biomimetischen Funktionen gewähren, wie sie bis heute noch in keinem artifiziellen Membranmodell realisiert werden konnten.

3 ZIELSETZUNG

Ziel dieser Arbeit ist die Synthese funktionaler Lipopolymere mittels lebender kationischer Ringöffnungspolymerisation von 2-Oxazolinen zur Darstellung polymergebundener, artifizierter Modellmembranen auf Festkörperoberflächen nach einem von *Ringsdorf* ^[177] postulierten Konzept. Ausgehend von entwickelten Synthesen ^[87, 90, 91, 93] definierter Lipopolymere sollten in diese weitere Merkmale integriert werden. Dabei soll es sich auch speziell um Lipopolymere handeln, welche proximale Transmembranlipide aufweisen. Hierfür sollte ein geeigneter Syntheseweg entwickelt werden, der gezielt die asymmetrische Funktionalisierung solcher bifunktionaler Lipide mit Poly(2-oxazolin)en ermöglicht, ohne zu unerwünschten Nebenprodukten zu führen. Alle an der Reaktion beteiligte Schutzgruppen und Reagenzien sollten quantitativ von den gewünschten Produkten abtrennbar sein, bei gleichzeitiger Wahrung von möglichst hohen Ausbeuten. Um fortführende Funktionalisierungen der Zielstrukturen zu erlauben, sollten polymeranaloge Reaktionen ausgearbeitet werden, die eine quantitative Derivatisierung der Polymere ermöglichen. Die zum Aufbau der gewünschten Polymere erforderlichen Lipide sollten entweder synthetisch dargestellt werden bzw. direkt durch Extraktion aus lebenden extremophilen Organismen gewonnen werden. Schließlich sollten durch Copolymerisation geeigneter Monomere mit unterschiedlichen Lipiden und Polymeren thermisch schaltbare, Poly(2-oxazolin) basierte Lipopolymere entwickelt werden, welche bislang noch nicht bekannt waren und der Zusammenhang zwischen deren LCST und chemischer Zusammensetzung untersucht werden.

Hierdurch soll zu den daraus aufgebauten Membrankonstrukten weitere Dynamik und Funktion hinzugefügt werden, zwecks weiterführender quantitativer Untersuchungen von membranassoziierten Phänomenen wie Transmembrantransport, Zellerkennung und -adhäsion. ^[87, 88, 90, 91, 111, 151]

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1 Verwendete Lipide

Lipopolymere setzen sich, dem Namen entsprechend, aus einer Polymerkette sowie einem für den jeweiligen Verwendungszweck geeigneten Lipid zusammen. Um Lipopolymere darzustellen, welche ausreichend stabile Membranen bilden können, mussten die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Lipide, neben ausreichender Hydrophobizität, noch einer Reihe an weiteren Anforderungen genügen. So ist wichtig, dass eine gute Mischbarkeit zwischen dem hydrophoben Lipidanteil und den Membranlipiden gewährleistet ist, d.h. es darf nicht zu Phasenseparation bzw. Segregation zwischen Lipopolymer und freiem Lipid kommen. Auch sollte die künstliche Membran durch die Inkorporation von Lipopolymeren nicht in ihrer Stabilität beeinträchtigt werden. Dies wäre beispielsweise bei sterisch nicht mit der Membran kompatiblen Lipiden zu erwarten.

Die vorrangig in biologischen Membranen vorkommenden Lipide bestehen zumeist aus einem Glycerinderivat mit zwei hydrophoben Ketten. Dies verleiht den Membranen durch den größeren sterischen Anspruch höhere mechanische und entropische Stabilität. Jedoch sind in den meisten biologischen Membranen die Lipide als Fettsäuren über Esterbindungen mit dem Glycerinanteil verbunden, was diese wiederum bereits bei kleineren pH-Änderungen empfindlich gegenüber Hydrolyse macht. Um Lipopolymere aus thermodynamisch stabileren Lipiden darstellen zu können, welche gegenüber den Bedingungen der Initiatorsynthese und Polymerisation inert waren, wurden aus diesem Grund statt Estern nur Etherlipide, wie diese auch in archaealen Zellmembranen vorkommen, angewandt.

Zur Darstellung der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Lipopolymere wurde sowohl mit synthetischen Lipiden gearbeitet, als auch mit natürlichen bzw. naturidentischen. Verwendet wurden hierfür zum einen monofunktionale Lipide. In den vorliegenden Fällen handelte es sich bei der funktionellen Gruppe stets um eine Hydroxylfunktion. Zum anderen wurden mit der Absicht, membranspannende Lipide zu derivatisieren, auch bifunktionale, welche zwei OH-Gruppen aufweisen, eingesetzt.

4.1.1 Monofunktionale Lipide

4.1.1.1 2,3-*O*-Dioctadecylglycerol

Bei *n*-Octadecansäure (Stearinsäure) handelt es sich um eine häufig in der Natur aufzufindende Fettsäure. Sie kann aus tierischen und pflanzlichen Ölen gewonnen werden und ist Bestandteil zahlreicher kommerzieller Produkte wie z.B. in Waschmitteln oder wird als Lebensmittelzusatzstoff verwendet. Der Diglycidylether des homologen *n*-Octadecanols (*rac*-2,3-*O*-Dioctadecylglycerol, Abbildung 4.1) wurde als geeigneter Lipidbaustein für Poly(2-oxazolin) basierte Lipopolymere ausgewählt. Dieser ist kommerziell erhältlich und verfügt über eine derivatisierbare Alkoholfunktion. Zusätzlich weist er mit den Etherbindungen hinreichend die hierfür erforderliche Stabilität auf.

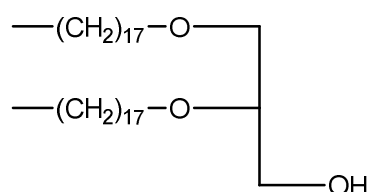


Abbildung 4.1: Struktur von *rac*-2,3-*O*-Dioctadecylglycerol.

Höhere, nicht verzweigte Alkylketten neigen schon bei verhältnismäßig kurzen Kettenlängen zu Kristallisation. So liegt bereits *n*-Heptadecan bei Raumtemperatur im festen Aggregatzustand vor. Derivatisiert man derartige Verbindungen zusätzlich mit einer polaren Gruppe, die intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen ermöglicht, wie z.B. einer Alkoholfunktion, so senkt sich der Schmelzpunkt weiter hin zu noch kürzeren Kettenlängen, wie in Tabelle 4.1 zu sehen.

Tabelle 4.1: Ausgewählte lineare aliphatische Kohlenwasserstoffe und deren Schmelz- und Siedepunkte.^[1]

Verbindung	Summenformel	m _p [°C]	b _p [°C]
<i>n</i> -Hexadecan	C ₁₆ H ₃₄	18	287
<i>n</i> -Heptadecan	C ₁₇ H ₃₆	20-22	302
<i>n</i> -Octadecan	C ₁₈ H ₃₈	26-29	317
<i>n</i> -1-Decanol	C ₁₀ H ₂₂ O	5-7	231
<i>n</i> -1-Undecanol	C ₁₁ H ₂₄ O	11	230
<i>n</i> -1-Dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	22-26	260-262

Folglich ist auch für 2,3-*O*-Dioctadecylglycerol eine Neigung der Seitenketten zur Kristallisation zu erwarten. In künstlichen Membranen kann es unterhalb der Übergangstemperatur zu Phasenseparation fest / flüssigkristallin kommen und damit zu Anisotropie. Solche Unregelmäßigkeiten bedeuten Störungen der Membran und deren Destabilisierung.

Die Natur umgeht diesen Effekt zumeist durch den Einbau von ungesättigten Fettsäuren, welche einen niedrigeren Schmelzpunkt aufweisen. Die so eingeführten Doppelbindungen stören die Ausbildung homogener Kristallstrukturen und senken damit wiederum den Schmelzpunkt biologischer Membranen. Diese Lösung ist jedoch aufgrund der zu hohen Reaktivität solcher Fettsäuren gegenüber Nucleophilen nicht mit der kationischen Polymerisation von 2-Oxazolinen kompatibel.

4.1.1.2 Phytanol (3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecan-1-ol)^[2]

Ein weiterer Ansatz, welchen die Natur zur Umgehung jenes Problems gefunden hat, ist der Aufbau von biologischen Membranen aus verzweigten Lipiden. Dieses Konzept findet man bei den sogenannten Archaea vor, Lebewesen welche sich auf extreme ökologische Nischen spezialisiert haben. Deren Membranlipide basieren auf 3,7,11,15-Tetramethylhexadecanylderivaten, also aus auf aus Isopreneinheiten aufgebauten Terpenoiden. Durch zahlreiche Verzweigungen wird so die Kristallisation der Membranen erschwert. Ferner erhöht sich noch die Hydrophobizität solcher Lipide, um so die Zellwände noch weiter zu stabilisieren. Ein Beispiel für ein einfacheres derartiges, natürlich vorkommendes, Lipid ist das Isoprenoid Phytol (3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecan-1-ol). Es stellt die hydrophobe Seitenkette des Chlorophylls dar, womit es sich deshalb wahrscheinlich um eine der am häufigsten in der Natur überhaupt vorkommende Struktur handelt. Die Verbindung ist kommerziell erhältlich. Mittels Hydrierung kann die für Folgereaktionen störende Doppelbindung reduziert werden, um so das homologe Phytanol zu erhalten (3,7,11,15, Tetramethyl-2-hexadecan-1-ol, Abbildung 4.2).

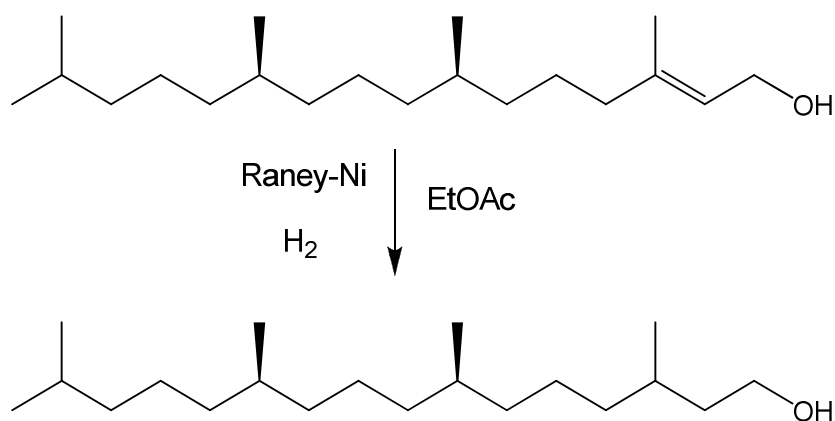


Abbildung 4.2: Darstellung von Phytanol aus Phytol mittels katalytischer Hydrierung.

Unter Katalyse von Raney-Nickel wurde die gewünschte Verbindung dargestellt.^[2] Hierbei war es wichtig, darauf zu achten, dass die Wasserstoffatmosphäre während der Reaktion mehrmals erneuert wurde. Zur schnelleren Sättigung des Katalysators wurde die Reaktionsmischung heftig gerührt. Nach fünf Tagen wurde die feste Phase abfiltriert. Durch Einengen des Filtrats und Trocknung im Hochvakuum erhielt man das gewünschte Produkt quantitativ. Da die Hydrierung nicht enantioselektiv abläuft, lag ein racemisches Gemisch der R- und S-Enantiomere vor. Obwohl es sich bei dem vorliegenden Lipid bereits um ein potentiellen Kandidaten zur Darstellung von Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymeren handelte, wurde die Verbindung noch weiter zum Diglycidylether umgesetzt, um die Darstellung thermodynamisch stabilerer Membranen zu ermöglichen.

4.1.1.3 Archaeol (2,3-*O*-Diphytanyl-*sn*-glycerol)^[2]

Der Diglycidylether des Phytanols, das Archaeol, ist Hauptbestandteil der Zellmembranen jüngerer Archaea. Dieses Lipid ist synthetisch zugänglich, wenn auch nicht enantiomerenrein. Dies hat jedoch keine nennenswerten Auswirkungen auf die Membraneigenschaften der daraus dargestellten Lipopolymere. Da Archaeol im Gegensatz zum Phytanol zwei hydrophobe Seitenketten aufweist, hat dieses einen weit stärkeren Einfluss auf die hydrophile-lipophile Balance (HLB) der daraus synthetisierten Lipopolymere. Lipopolymere mit verhältnismäßig zu kleinem Lipidanteil verhalten sich insbesondere an der Wasser-Luft-Grenzfläche instabil, da ein zu dominanter hydrophiler Polymeranteil das Lipopolymer solubilisiert. Zur Darstellung von Archaeol wird zunächst Phytanol in das korrespondierende Mesylat überführt. Dies wird durch direkte Umsetzung des Fettalkohols mit

Methansulfonsäurechlorid erreicht (Abbildung 4.3). Nach Extraktion und Trocknung im Vakuum wurde das gewünscht Sulfonat quantitativ erhalten.

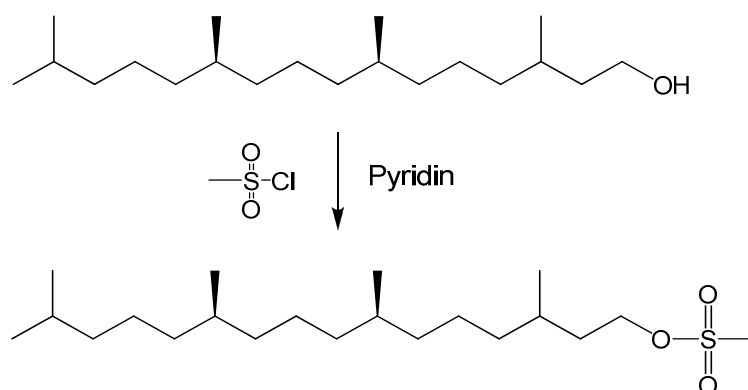


Abbildung 4.3.: Pyridinkatalysierte Sulfonierung von Phytanol.

Im Folgenden wurde *rac*-1-Benzyl-glycerol mittels Kaliumhydrid quantitativ in das korrespondierende Dialkoholat umgewandelt. Über den Weg einer Williamson Ethersynthese erfolgte Umsetzung von zwei Äquivalenten des zuvor synthetisierten Methansulfonats zum *rac*-1-Benzyl-2,3-*O*-di-(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)-*sn*-glycerol (Abbildung 4.4).

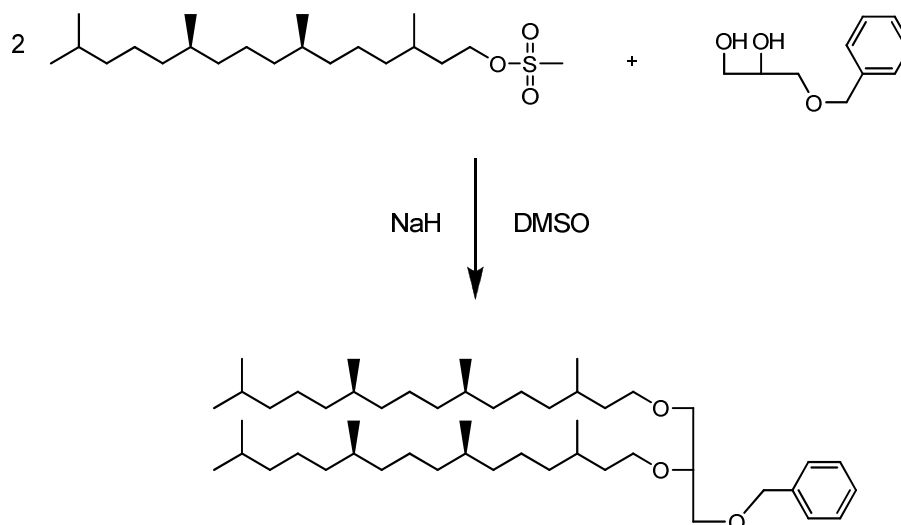


Abbildung 4.4.: Darstellung von *rac*-1-Benzyl-2,3-*O*-di-(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)-*sn*-glycerol durch Ethersynthese nach Williamson.

Das Reaktionsprodukt wurde nach anschließender Extraktion mittels Säulenchromatographie aufgereinigt, um so das gewünschte benzylgeschützte Archaeolderivat zu erhalten. Die Abspaltung der Schutzgruppe erfolgte hydrogenolytisch, analog der zuvor beschriebenen Hydrierung des Phytols, mit dem Unterschied dass hierfür Palladium auf Aktivkohle als Katalysator eingesetzt wurde (Abbildung 4.5). Nach fünf Tagen Reaktionsdauer war die Reaktion vollständig. Durch säulenchromatographische Aufarbeitung wurde darauf das

gewünschte Produkt 2,3-O-di-(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)-*sn*-glycerol (Archaeol) erhalten.

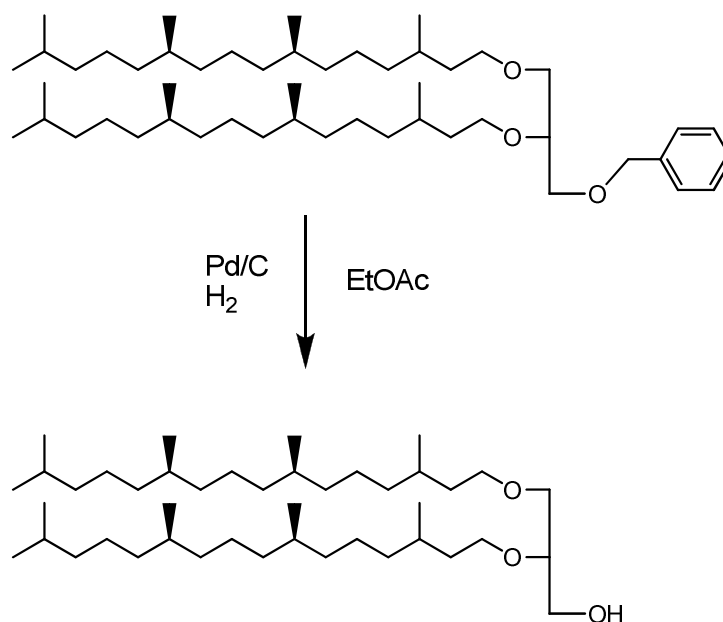


Abbildung 4.5: Darstellung von 2,3-O-di-(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)-*sn*-glycerol (Archaeol).

Als Ausgangsprodukte für diese Substanz wurden jeweils Racemate der Glycerin-, bzw. Phytanolderivate eingesetzt. Deshalb lag auch das auf diesem Weg dargestellte Archaeol als racemisches Gemisch vor, mit undefinierten Konfigurationen an der 3-Position der Seitenketten sowie der 2-Position am Glycerin. Da durch diesen Befund keine Auswirkungen auf die membranspannenden Eigenschaften der mit diesem Lipid dargestellten Lipopolymere erwartet wurden, wurde von der Entwicklung einer aufwendigeren, zum enantiomerenreinen Produkt führenden Synthese abgesehen.

4.1.2 Bifunktionale Lipide

Neben monofunktionalen Lipiden eignen sich auch solche mit zwei funktionellen Gruppen für die Synthese von Lipopolymeren zur Darstellung von Modellmembranen. Zur Modifikation derartiger Substanzen mit einer hydrophilen Polymerkette sind grundsätzlich zwei Möglichkeiten vorstellbar.

So kann eine bifunktionale Verbindung einerseits symmetrisch funktionalisiert werden, d.h. es erfolgt gleichzeitige Polymerisation in beide Richtungen, ausgehend vom Lipid zur Synthese von „ABA“ Lipopolymeren. Alternativ ist denkbar, solche Lipide zunächst *asymmetrisch* an nur einer Funktion mit einer Polymerkette zu modifizieren. Dieser Weg erfordert den Einsatz von Schutzgruppenchemie und bietet die Möglichkeit, die Verbindung nach erfolgter Darstellung anschließend polymeranalog zum entschützten Polymer umzusetzen. Dabei kann es sich beispielsweise um Funktionalisierung mit einer weiteren Polymerkette oder Modifikation mit einer unter den Bedingungen der Polymerisation inkompatiblen funktionellen Gruppe handeln. Produkte solcher Umsetzungen sind dann entweder asymmetrische „ABC“ Lipopolymere bzw. „XBA“ Telechele mit einer zusätzlichen chemischen Funktion an der distalen Kopfgruppe (vergleiche Abbildung 4.6).

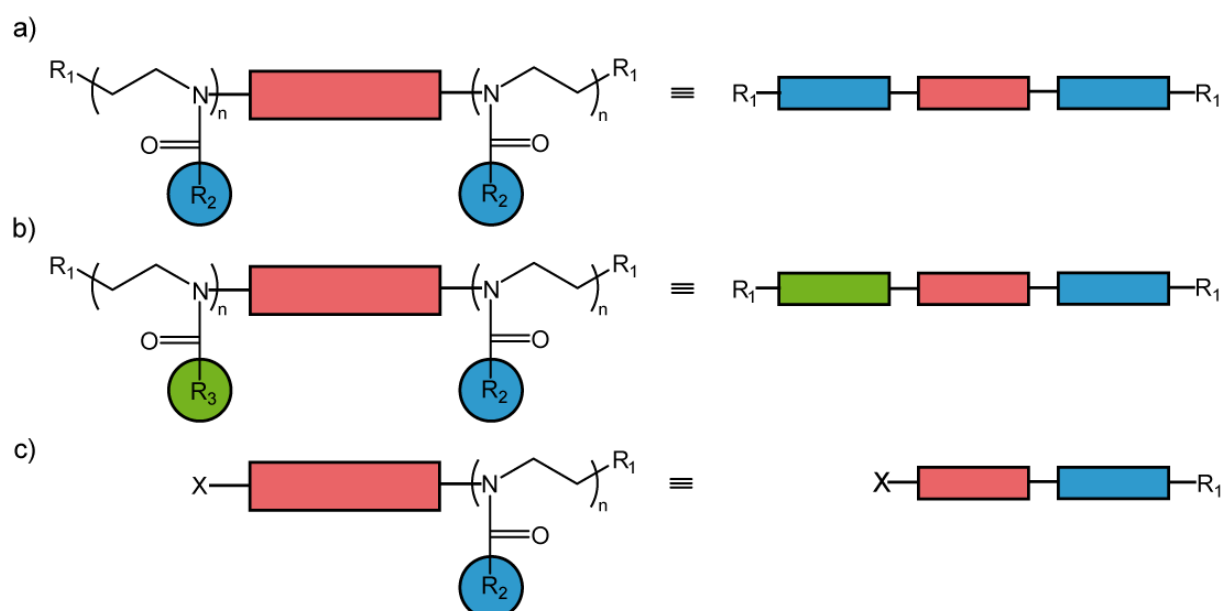


Abbildung 4.6: Aus bifunktionalen Lipoinitiatoren darstellbare Blockcopolymer. Der mittlere Block repräsentiert den Lipidblock, die anderen identische bzw. unterschiedliche Poly(2-oxazolin)-Ketten. X steht für eine definierte proximale chemische Funktionalität.

a) ABA-, b) ABC-Lipocopolymer, c) Lipopolymer mit distaler funktioneller Gruppe.

4.1.2.1. Poly(dimethylsiloxan) Oligomere (PDMS)

Neben natürlichen Lipiden gibt es verschiedene synthetische Mimetika, welche den Anforderungen zum Aufbau von biomimetischen, Poly(2-oxazolin)-basierten Membrankonstrukten gerecht werden.

Bei Poly(dimethylsiloxan) (**PDMS**) handelt es sich um eine Polymerklasse welche für diese Zwecke aus mehreren Gründen gut geeignet ist. PDMS neigt aufgrund der geringen inter- und intramolekularen Wechselwirkungen sowie der zahlreichen Verzweigungen am Polymerrückgrat in Form der Methylgruppen nur in geringem Maß zur Kristallisation. Weiterhin weist es hohe Biokompatibilität auf und ist für lebensmitteltechnologische und medizinische Anwendungen zugelassen. PDMS Telechele können sowohl kationisch als auch anionisch synthetisiert werden und sind kommerziell als Oligomere mit einer Vielzahl an definierten Endgruppen erhältlich. Für die Darstellung Poly(2-oxazolin)-basierter Lipopolymere eignen sich dabei PDMS Oligomere mit Carbinol-Endgruppen, welche terminal über eine Alkylgruppe direkt ans Oligomer angebunden sind. Diese enthalten keine chemisch labilen -Si-O-C- Bindungen, sondern bestehen ausschließlich aus chemisch äußerst stabilen Komponenten, weshalb sie für die kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen geeignet sind, wie bereits *Maier et al.*^[178-182] zeigen konnten (Abbildung 4.7).

Als die am geeignetsten bifunktionalen Lipomimetika für Experimente zur Darstellung von Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymeren wurden somit PDMS-Oligomere einer mittleren Kettenlänge von ~10 Wiederholungseinheiten mit terminalen Carbinolfunktionen betrachtet. Bei diesem Polymerisationsgrad wurde erwartet, dass die durch dieses Transmembranlipid gebildeten Lipidschichten vergleichbare Durchmesser aufweisen wie jene Doppellschichten, welche in archaealen Zellembrennen durch monofunktionelle Lipide, wie dem Archaeol, geformt werden.

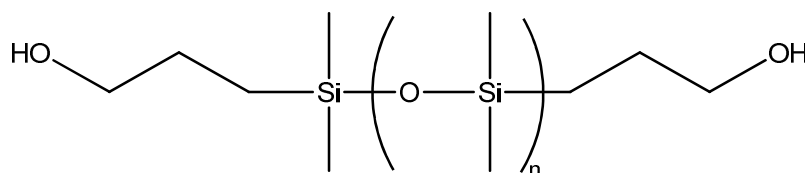


Abbildung 4.7: Struktur von α,ω -bis(3-propyloxy)-Poly(dimethylsiloxan).

4.1.2.2 10,12-Docosadiin-1,22-diol

In der Literatur finden sich nur wenige Beispiele für synthetisch ohne großen Aufwand darstellbare symmetrische bifunktionale Lipide bzw. -mimetika, welche zu den Bedingungen der kationischen Polymerisation von 2-Oxazolinen kompatibel sind. Um ein solches Lipid handelt es sich bei 10,12-Docosadiin-1,22-diol, ein Diin mit terminalen Hydroxidfunktionen. Diese Verbindung ist aus kommerziell erhältlichen Substraten zugänglich.^[183] Ausgehend vom 10-Undecin-1-ol erhält man das gewünschte Produkt über eine Glaser-Kupplung unter Einsatz stöchiometrischer Mengen Kupfer(II)acetat in Pyridin (Abbildung 4.8 a)). Nach Filtration, Extraktion, Umkristallisation, sowie anschließender Säulenchromatographie erhält man das gewünschte Produkt in Ausbeuten von 93%.

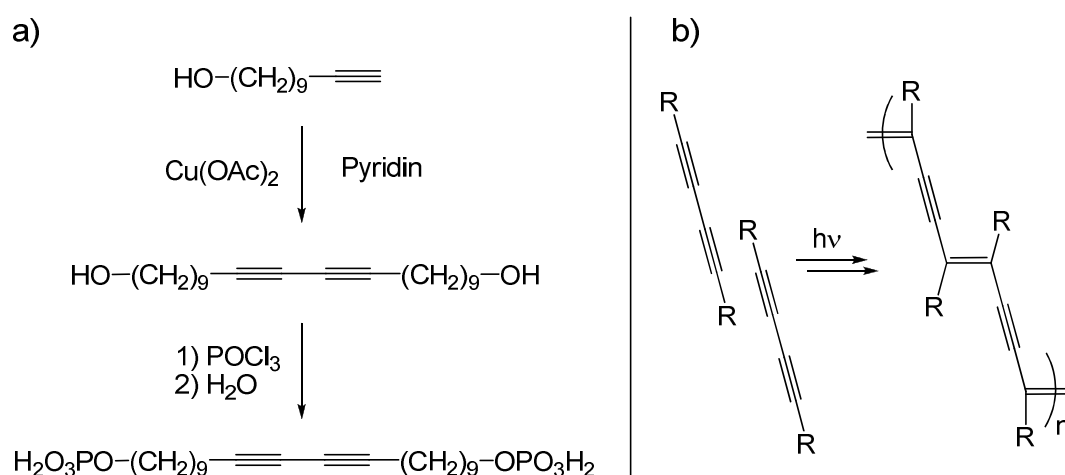


Abbildung 4.8: a) Darstellung von 10,12-Docosadiin-1,22-diol aus 10-Undecin-1-ol durch Glaser-Kupplung gefolgt von anschließender Phosphorylierung.

b) UV-Initiierte Polymerisation geordneter Diin-Ketten.^[183]

In dieser Form ist das Lipid bereits für die Darstellung von Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymeren geeignet. Jedoch wird diese Verbindung in der Literatur als noch nicht amphiphil genug für die Ausbildung von stabilen Lipidmembranen im wässrigen Medium beschrieben.^[183] Aus diesem Grund wurden dessen beide OH-Funktionen noch zusätzlich phosphoryliert. Dies wurde quantitativ durch Umsetzung des Diols mit Phosphorylchlorid sowie anschließender wässriger Aufarbeitung erreicht. Hierbei war unter Lichtausschluss zu arbeiten, auf Grund der Neigung der konjugierten Dreifachbindungen zur UV-initiierten Polymerisation, wenn diese in geordneter räumlicher Nähe vorliegen (vgl. Abbildung 4.8 b). Dies trifft vor allem auf jene mit terminalen Phosphorsäureestern funktionalisierten Lipide zu, da durch die wesentlich stärkeren intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen für eine

engere räumliche Distanz zwischen den Dieneinheiten gesorgt wird. Obwohl die Reaktionsmischung homogen, d.h. das Substrat vollständig solvatisiert war, verfärbte sich die Lösung bei Kontakt mit Sonnenlicht sofort ins tiefblaue, was auf die Entstehung von derartigen Photopolymerisationsprodukten hinwies. Diese Eigenschaft wurde andererseits durchaus als interessant für mit diesem Lipid funktionalisierte Lipopolymere betrachtet. Die durch diese Lipide gebildeten Schichten könnten durch Bestrahlung mit UV-Licht polymerisiert und damit fixiert werden, für eventuelle weiterführende Untersuchungen.

4.1.2.3 Dodecan-1,12-diol

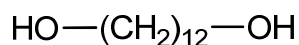


Abbildung 4.9: Struktur von 1,12-Dodecandiol.

Zur Entwicklung der polymerchemischen Reaktionen welche zur Entwicklung von ABA-, ABC-, sowie XBA-Lipopolymere erforderlich waren, wurde Dodecan-1,12-diol als Modellsystem gewählt (Abbildung 4.9). Diese Verbindung ist kommerziell erhältlich und insofern gut geeignet, da auch hier beide Hydroxylgruppen ausreichend räumlich voneinander getrennt sind, um als chemisch unabhängig voneinander zu gelten.

4.1.2.4 Bifunktionales Lipid aus *Methanothermobacter thermoautotrophicum*

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden für die Zielstrukturen Lipide aus natürlicher Quelle verwendet. Wie bereits berichtet, weisen die Membranen der Archaea eine im Vergleich zu den Eukaryoten völlig unterschiedliche Lipidkomposition auf, was diese als Ausgangsmaterialien für kationisch darzustellende Lipopolymere interessanter macht. Darüber hinaus enthalten jene Membranen vor allem hauptsächlich bei ausgewachsenen Archaeen membranspannende Lipide wie das Caldarchaeol und dessen Isomer Isocaldarchaeol (Abbildung 4.10). Nach Untersuchungen von *Grather et al.*^[184] liegen beide Lipide in den Organismen im nahezu statistischen Verhältnis von 55:45 vor. Die relative Orientierung der Glycerineinheiten spielt somit scheinbar keine bedeutende Rolle für die biologischen Funktionen dieser Naturstoffe. *Eguchi et al.*^[185] beschrieben 1998 einen elfstufigen Weg zur Totalsynthese von Caldarchaeol mit einer Gesamtausbeute im Bereich von ~1% bezogen auf die eingesetzten Substrate. Da dieser Naturstoff somit synthetisch nur in geringen Ausbeuten bei großem Syntheseaufwand verfügbar ist, wurde Caldarchaeol direkt

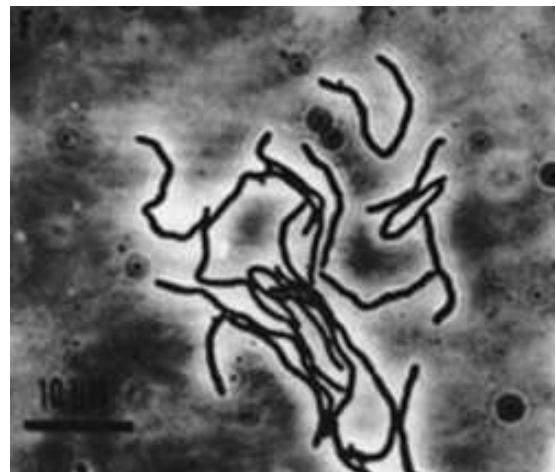
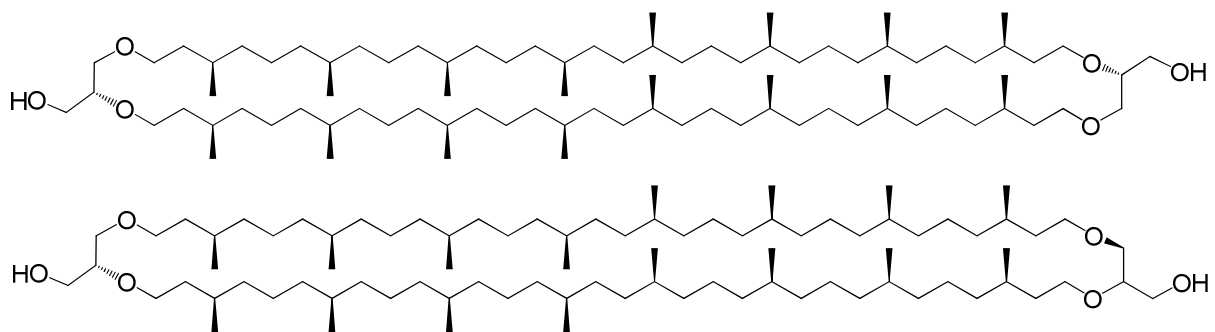


Abbildung 4.10: Oben: Strukturen von Caldarchaeol (oben) und Isocaldarchaeol (unten). Darunter: Octopus Spring im Yellowstone Nationalpark, Ort der ersten Entdeckung von *M. thermoautotrophicum* (links).^[186] Lichtmikroskopische Aufnahme von *M. thermoautotrophicum* (rechts).^[187]

aus Zellkulturen von *M. thermoautotrophicum* gewonnen, welche länger als fünf Tage kultiviert wurden, was einen maximalen Caldarchaeolanteil in deren Zellmembranen versprach (vergleiche Tabelle 4.2).^[21] Um diese Verbindung in der für kationische Polymerisation benötigten Reinheit zu erhalten, mussten die Lipide dieser Lebewesen zunächst von den restlichen Zellbestandteilen isoliert werden. Eines der gängigsten Extraktionsverfahren von Lipiden aus biologischer Substanz stammt von *Bligh und Dyer*,^[188] welches ursprünglich zur Extraktion von Fetten aus Fischgewebe entwickelt wurde. Bei dieser Methode wird der Zellaufschluss mit einer ternären Mischung aus Methanol, Chloroform und Wasser aufgenommen (Abbildung 4.11). Dabei werden von jenen drei Lösungsmitteln die jeweiligen Anteile so gewählt, dass die resultierende Mischung einphasig vorliegt, bewirkt durch Methanol als Phasenvermittler zwischen organischer und wässriger Phase. Eine solche Mischung bietet den Vorteil, über Aufnahmevermögen für extrem polare Komponenten, wie Salze zu verfügen, aber auch für lipophile Substanzen, welche sonst unlöslich im polaren Medium wären. Durch anschließende Zugabe von Chloroform und Wasser erfolgt dann Aufspaltung in zwei Phasen, von welchen die unpolare die Lipide, die polare die restlichen Zellbestandteile enthält. Der Einsatz eines derartigen Lösungsmittelgemisches zur Isolierung von Lipiden ist gegenüber einer Extraktion mit ausschließlich unpolaren Chemikalien wie Chloroform grundsätzlich zu bevorzugen. Grund dafür ist, dass der überwiegende Teil der Lipide in biologischem Zellmaterial mit polaren Endgruppen modifiziert vorliegt, wie z.B. in Form von Phosphorsäurederivaten.

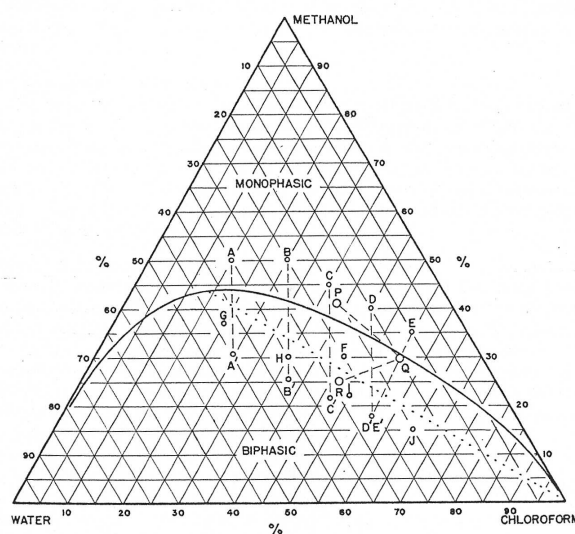


Abbildung 4.11: Ternäres Phasendiagramm des Gemisches der Lösungsmittel Wasser / Methanol / Chloroform. Unterhalb der Kurve liegen zwei Phasen vor, oberhalb ist das Gemisch einphasig.^[188]

Da Archaea, im Vergleich zu Eukaryoten bzw. Bakterien einen vollkommen anderen Aufbau der Zellmembranen aufweisen, kommt für die Extraktion ihrer Lipide das *Bligh-Dyer* Verfahren jedoch nur bedingt in Frage. Für solche Zwecke wurden allerdings bereits weitere Verfahren, aufbauend auf dieser Methode, entwickelt. So finden sich in der Literatur Vorschriften, in der die wässrige Komponente der ternären Mischung durch 0.1 M Natriumacetatlösung^[189] ersetzt wurde, bzw. durch 0.1 M Natriumchloridlösung^[190] und so in beiden Fällen die Ausbeuten merklich erhöht werden konnten. Zusätzlich könnten die Zellen vor dem Aufschluss noch mechanisch gestresst bzw. zerstört werden, um den Zugang zu den inneren Zellbestandteilen zu erleichtern.^[191] In dieser Arbeit wurde jedoch eine Vorschrift nach *Nishihara* und *Koga*^[24] verwendet und weiterentwickelt, bei welcher an Stelle von reinem Wasser eine 10%ige Lösung von Trichloressigsäure (TCA) eingesetzt wurde, einem geläufigen Denaturierungsreagenz für Proteine. Eine schematische Übersicht der angewandten und im Folgenden diskutierten Prozedur ist in Abbildung 4.12 dargestellt.

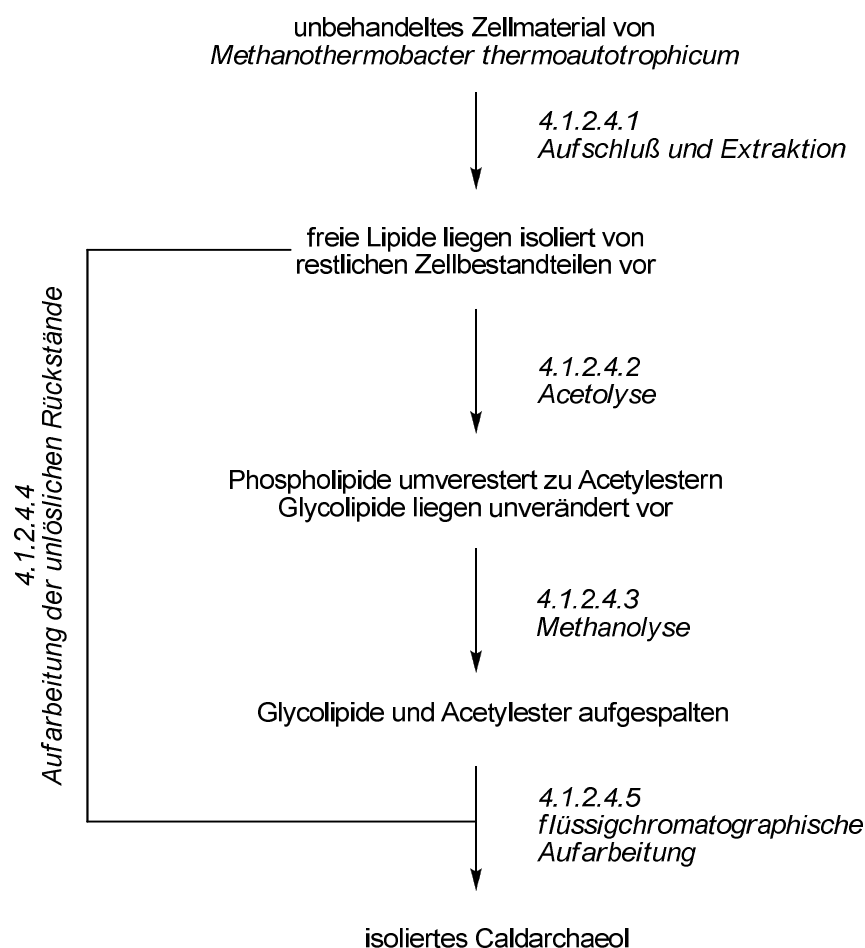
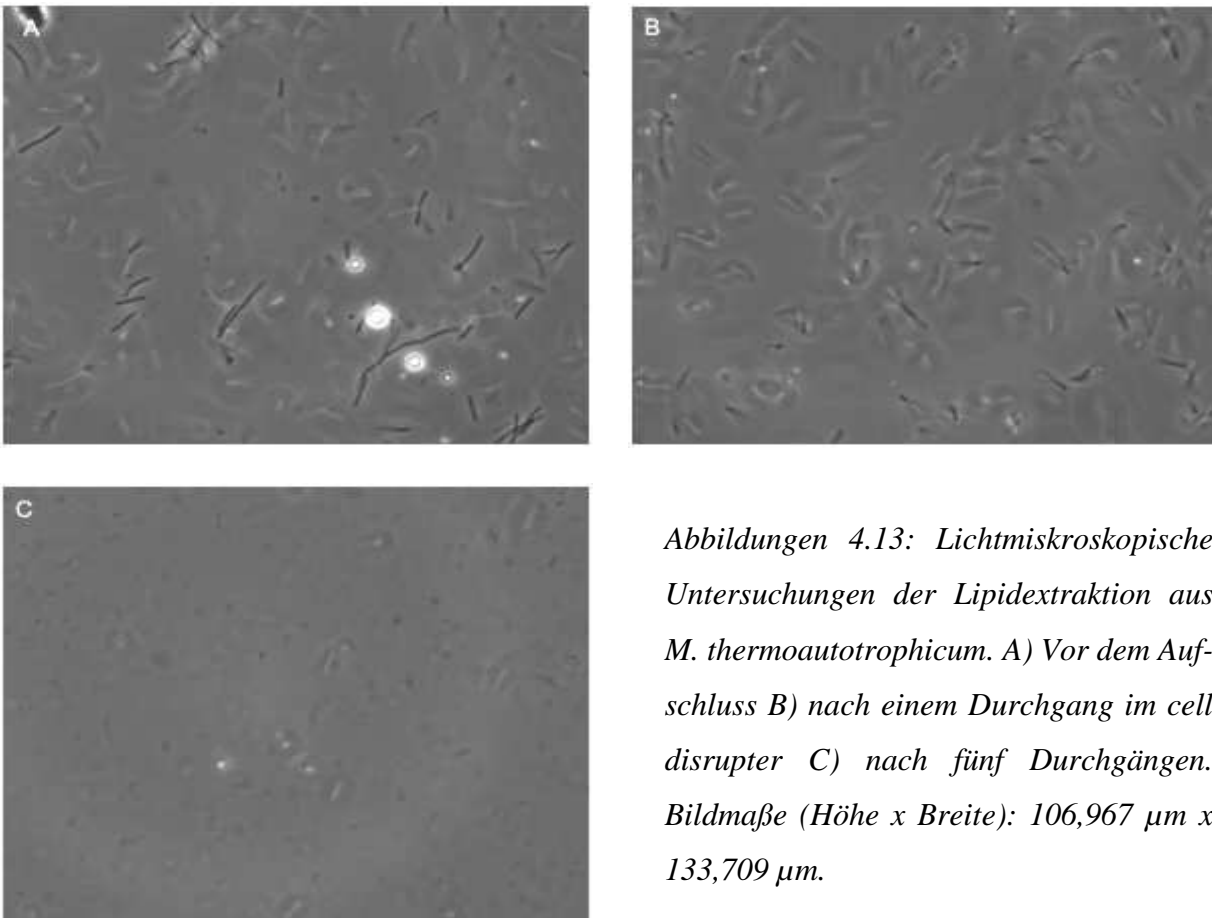


Abbildung 4.12: Übersicht zur Vorgehensweise zur Extraktion von Caldarchaeol aus Zellmaterial von *M. thermoautotrophicum* mit den jeweiligen Kapitelangaben.

4.1.2.4.1 Aufschluss und Extraktion

Für einen typischen Extraktionsdurchgang wurden 300 g an nasser Zellmasse einer sechs Tage alten Kultur von *M. thermoautotrophicum* verwendet, welche einen, den Erwartungen entsprechend hohen Anteil an Caldarchaeol enthielt. Die Zellmasse wurde über Dr. Harald Huber vom Archaeenzentrum am Institut für Mikrobiologie der Universität Regensburg (Leitung: Prof. Dr. Michael Thomm) bezogen. Nach Gefriertrocknung der grauen Masse verblieben noch 61.8 g trockenes Zellmaterial zurück. Um die darin enthaltenen Archaea unter Stress zu versetzen, was wiederum einen Zellaufschluss erleichtert, wurden diese abermals in 250 mL Wasser suspendiert und der Vorgang dreimal wiederholt. Der verbliebene Feststoff wurde zuletzt in 1.75 L Wasser suspendiert und mittels eines *cell disruptors* aufgeschlossen. Hierbei erwiesen sich die in der Suspension enthaltenen Lebewesen, wie ihrer extremophilen Natur nach zu erwarten, als extrem widerstandsfähig. So reicht beispielsweise für *E. coli* ein einziger Durchgang bei einem Druckgefälle von $p = 1.60$ kbar, um einen kompletten Aufschluss zu erreichen. Für die als bereits äußerst stabil geltenden Hefen muss hierfür bereits ein Druck von $p = 2.45$ kbar angewandt werden.



Abbildungen 4.13: Lichtmikroskopische Untersuchungen der Lipidextraktion aus *M. thermoautotrophicum*. A) Vor dem Aufschluss B) nach einem Durchgang im cell disrupter C) nach fünf Durchgängen. Bildmaße (Höhe x Breite): 106,967 μm x 133,709 μm .

Wurden diese Bedingungen dagegen auf *M. thermoautotrophicum* angewandt, so ließ sich lichtmikroskopisch keine nennenswerte Verringerung der intakten Zellanteile erkennen. Stattdessen war es erforderlich die Suspension fünf mal hintereinander bei einem Druck von $p = 2.45$ kbar zu behandeln. Zwischen den einzelnen Durchgängen wurde der Aufschluss zudem jeweils mit Ultraschall behandelt, um die überlebenden Zellen zusätzlich zu schwächen, und jeweils anschließend in Lichtmikroskop untersucht.

Wie in den Abbildungen 4.13 zu sehen, nahm die Konzentration der noch intakten Zellen mit zunehmender Zahl an Durchgängen ab, bis schließlich nach fünf Durchgängen der vollständige Aufschluss aller Zellen festgestellt werden konnte. In der so erhaltenen wässrigen Suspension wurden insgesamt 175 g TCA gelöst, gefolgt von 4,50 L Methanol sowie 2,25 L Chloroform. Somit betrug das Verhältnis wässrige Phase / Methanol / Chloroform 0,21 / 0,53 / 0,26 und führte damit zur Bildung einer homogenen Mischung in der flüssigen Phase. Nach heftigem Rühren über drei Tage wurde eine Phasenseparation durch Zugabe von weiteren 0,26 eq Wasser und Chloroform (jeweils 2,25 L) induziert. Die Suspension enthielt nunmehr drei Phasen. Neben der unteren organischen Phase, welche die Lipide enthielt und der oberen polaren, lag nun zusätzlich eine feste Phase dazwischen vor. Diese enthielt die unlöslichen festen Zellrückstände. Die Mischung wurde zentrifugiert und die feste, mittlere Phase abfiltriert und separat für die weitere Aufarbeitung aufbewahrt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die polare zusätzlich mehrmals gemäß dem oben beschriebenen Verfahren extrahiert, um sicherzustellen dass alles Lipid daraus isoliert wurde.

4.1.2.4.2 Acetolyse

Die vereinigten organischen Phasen enthielten nun hauptsächlich polare Phospho-, Glyko- und Phosphoglykolipide. Um das Lipid in der gewünschten freien Form zu erhalten, war es notwendig, die polaren Lipidkopfguppen abzuspalten. Das hierfür gängige Verfahren ist zunächst die Acetolyse. Dabei wird der Lipidauszug mit Essigsäure und Acetanhydrid versetzt und bei 160 °C refluxiert. Hierbei werden die Phosphoester aufgespalten, während die dadurch entstandenen freien Hydroxyfunktionen umgehend acetyliert werden (Abbildung 4.14). Auf Glycolipide hat diese Behandlung dagegen noch keine Auswirkung.

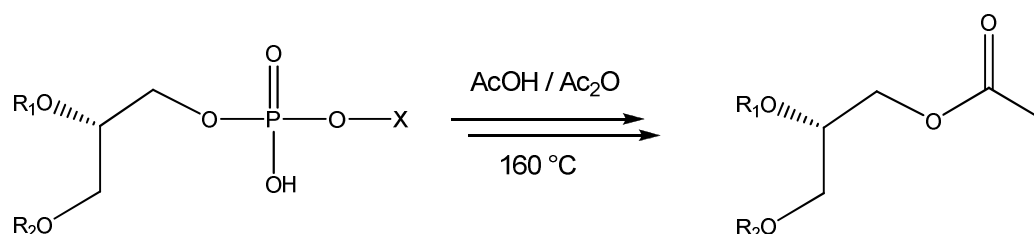


Abbildung 4.14: Acetolyse von Phospholipidestern.

4.1.2.4.3 Methanolyse

Um die glycosidischen Bindungen zwischen Lipiden und D-Glycosylresten aufzuspalten, wurden die aus der Acetolyse erhaltenen lipophilen Zellextrakte einer Methanolyse unterzogen. Diese wurden hierfür in methanolischer Chlorwasserstofflösung über vier Stunden im Autoklaven auf 100 °C erhitzt. Um ein Sieden der Lösung und damit die Korrosion des Autoklaven zu vermeiden, wurde deshalb unter einer Argonatmosphäre bei einem Druck von 40 bar gearbeitet. Weiterhin war hier zu beachten, dass als Reagenz keine Lösung aus wässriger Salzsäure in Methanol verwendet werden durfte. Da durch Wasser die Acidität des Hydrogenchlorids nivelliert werden würde, musste wasserfreies methanolisches HCl verwendet werden, um die gewünschten hohen Ausbeuten zu erzielen. Unter den Bedingungen der Methanolyse wurden säurekatalysiert die O-glycosidischen Bindungen gespalten und das als Zwischenstufe entstehende Glycosyliumion durch Methanol abgefangen (Abbildung 4.15). Weiterhin wurden im vorherrschenden aciden Medium alle noch in Folge der Acetolyse vorhandenen Acetylgruppen abgespalten. Nach Aufarbeitung mit dem ternären *Bligh-Dyer*-Solvens wurden so 4,29 g an Lipiden erhalten.

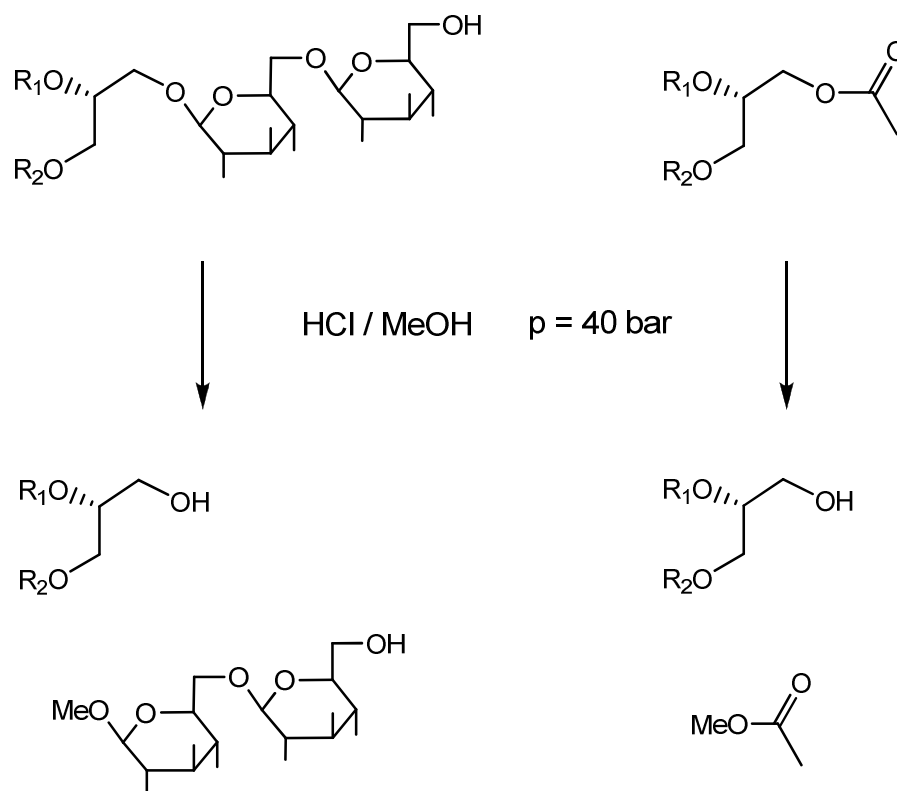


Abbildung 4.15: Methanolyse von Glycolipiden mittels methanolischem HCl. Unter diesen Bedingungen werden auch die vorhandenen Acetyl lipide methanolysiert.

4.1.2.4.4 Aufarbeitung der unlöslichen Rückstände

Die aus dem Extraktionsprozess verbliebenen festen Rückstände wurden abschließend mit methanolischem 4 N HCl versetzt, um noch enthaltene Lipide freizusetzen. Nach Erhitzen auf 100 °C über 18 Stunden wurde die wässrige Lösung analog dem zuvor beschriebenen Extraktionsprozess mit dem *Bligh-Dyer* Solvens^[188] behandelt. Nach Phasenseparation und mehrmaliger Extraktion der wässrigen Phase konnten so nochmals 1,83 g Lipid gewonnen werden.

4.1.2.4.5 Aufreinigung

Die Produkte der Methanolyse wurden mit den durch Extraktion aus den festen Rückständen enthaltenen Produkten zu insgesamt 6,12 g Lipidextrakten vereinigt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung konnten daraus 614 mg reines Caldarchaeol gewonnen werden. Insgesamt wurden mit der hier beschriebenen modifizierten Aufarbeitung

nach Nishihara und Koga, 7,63 nmol Caldarchaeol pro mg Zelltrockenmasse gewonnen. Ferner wurden noch mehrere Archaeol enthaltende Fraktionen isoliert und mit den bestehenden, zuvor synthetisch dargestellten vereinigt.

Tabelle 4.2: Lipidextraktion aus Zellen der Familie Methanothermobacter.^[21]

Zellen	Wachstums -dauer	Extraktions- solvens	m _{Lipid} / m _{Zellen} [%]	n _{Archaeol} / n _{Caldarchaeol}
Intakt ^{a [192]}	> 5 d	neutral	2,0	
Aufgeschlossen ^{a [192]}	> 5 d	neutral	3,9	41:59
Intakt ^{a [193]}	5 d	neutral	0,98	35:36
Intakt ^{a [193]}	5 d	sauer	5,6	10:83
Aufgeschlossen ^{a [193]}	5 d	neutral	5,3	9:83
Intakt ^{b [194]}	> 5 d	neutral	3,0	52:48
Aufgeschlossen ^{b [194]}	> 5 d	sauer	5,8	19:81
Intakt ^{a [190]}	2 d	neutral	1,6	41:59
Intakt ^{a [190]}	4 d	neutral		80:20
Intakt ^{a [190]}	6 d	neutral		89:11

^{a)} Methanothermobacter thermoautotrophicum, ^{b)} Methanothermobacter arboriphilicus.

Setzt man die gewonnen Lipide von 6,12 g ins Verhältnis mit der eingesetzten gefriergetrockneten Zellmasse von 61,8 g, so wurde ein Lipidanteil von insgesamt 9,9 % isoliert. Dieser Wert übertrifft vergleichbare, die in der Literatur berichtet werden deutlich, im Mittel um den Faktor zwei (vergleiche Tabelle 4.2).^[21] Für diesen Befund finden sich mehrere mögliche Erklärungen:

- Bei *M. thermoautotrophicum* kann der Pseudomureingehalt von Kultur zu Kultur stark variieren und damit den relativen Lipidanteil in der Trockenzellmasse stark beeinflussen.
- Die Werte für die Lipidausbeute wurden in der Literatur stets entweder durch Extraktion mit wässriger TCA Lösung ermittelt oder durch Zellaufschluss gefolgt von anschließender neutraler Extraktion. Dabei wurde allerdings nicht immer wie im Rahmen der vorliegenden Arbeit lichtmikroskopisch die Zerstörung aller Zellen überprüft. Es stellte sich hier heraus, dass zum vollständigen Aufschluss aller Zellen ein deutlich höheres Druckgefälle benötigt wurden und eine größere Anzahl an Durchgängen, als sie für andere Organismen erforderlich war.

- Bei jedem Extraktionsschritt wurden die wässrigen Phasen mehrmals nacheinander mit Chloroform extrahiert, wodurch die Gesamtausbeute an Lipid weiter erhöht werden konnte.

Das so aufgereinigte Caldarchaeol wurde anhand von ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie sowie MALDI-TOF-MS charakterisiert. Die entsprechenden Spektren sind in den Abbildung 4.16 gezeigt. Im MALDI-TOF wurden neben der erwarteten Spezies bei $m/z = 1324$ g/mol (entspricht $[\text{M-Na}]^+$) noch zwei weitere Verteilungen mit einem Abstand von jeweils 14 Einheiten beobachtet. Diese konnten den Spezies $[(\text{M+Me})+\text{Na}]^+$ bzw. $[(\text{M+2Me})+\text{Na}]^+$ zugeordnet werden. Bei ihnen wurde jeweils ein Wasserstoffatom gegen eine Methylgruppe ausgetauscht. Diese Annahme korrelierte auch mit dem ^1H -NMR Spektrum, hier lagen die Integrale der Methylprotonen leicht überrepräsentiert vor. Eine präzisere Quantifizierung dieser Protonen konnte allerdings mittels NMR-Spektroskopie nicht vorgenommen werden, da die Glycidylprotonen im Bereich zwischen 3,4 – 3,8 ppm aufgrund der Breite ihrer Signale nur bedingt als Kalibrierstandard geeignet waren. Genaue Angaben zur Anzahl der Methylprotonen konnten jedoch später anhand der NMR-Spektren von auf Caldarchaeol basierenden Derivaten getroffen werden, was im weiteren Lauf dieser Arbeit diskutiert werden wird (siehe Kapitel 4.5.6).

Diese Befunde mögen zunächst ungewöhnlich erscheinen. Allerdings ist darauf hinzuweisen, dass es sich bei dem extrahierten Lipid um einen Naturstoff handelt, der direkt aus lebendem Archaeen isoliert wurde. So beobachteten z.B. *Arigoni et al.*^[195] im Rahmen ihrer Arbeiten zur Untersuchung der Biosynthese von Caldarchaeol, das Auftreten von „ungewöhnlichen“ Methylierungsreaktionen an den Bisphytanolketten. Die Reaktion erfolgt unter Retention bezüglich der eingeführten Methylgruppe und unter Inversion am methylierten Zentrum und tritt besonders dann häufig auf, wenn Archaeobakterien unter Stressbedingungen kultiviert werden.^[196] Die gewöhnlichen Lipidether Caldarchaeol und Isocaldarchaeol werden dann an der 13-, bzw. 20-Position der Bisphytanolkette zu den Verbindungen Homocaldarchaeol und Isocaldarchaeol methyliert (Abbildung 4.15). Diese Reaktionen können durchaus mehrmals an ein und demselben Lipidmolekül ablaufen. Daher überraschte es auch nicht, in der besprochenen Analytik Hinweise auf das Vorhandensein zusätzlicher Methylgruppen zu finden bzw. dass selbige im ^1H -NMR überrepräsentiert erschienen. Aufgrund der geringen Unterschiede zwischen den genannten Verbindungen hinsichtlich Polarität und sterischem Anspruch ist es deshalb auch nicht verwunderlich, dass diese chromatographisch nicht voneinander aufzutrennen sind. Somit enthielt das isolierte Lipidmaterial nicht nur

Caldarchaeol, sondern noch verschiedene homologe und isomere Verbindungen, die jedoch stets die für geplante Folgereaktionen erforderlichen terminalen OH-Gruppen aufwiesen.

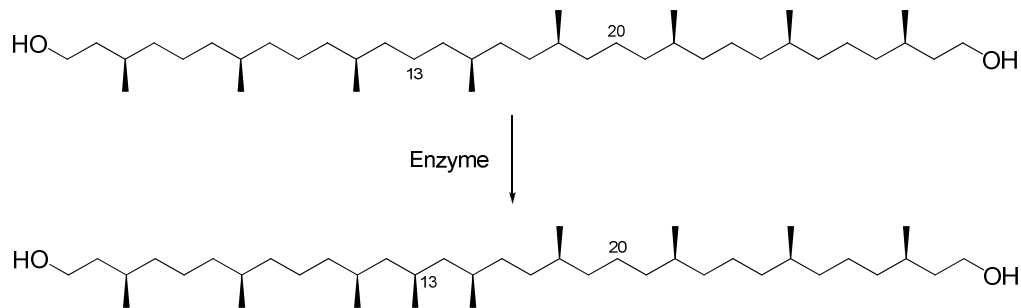


Abbildung 4.15: Enzymatische Methylierung einer Bisphytanolkette an der 13-Position, wie in Untersuchungen zu Biosynthese von Caldarchaeol beobachtet.^[195]

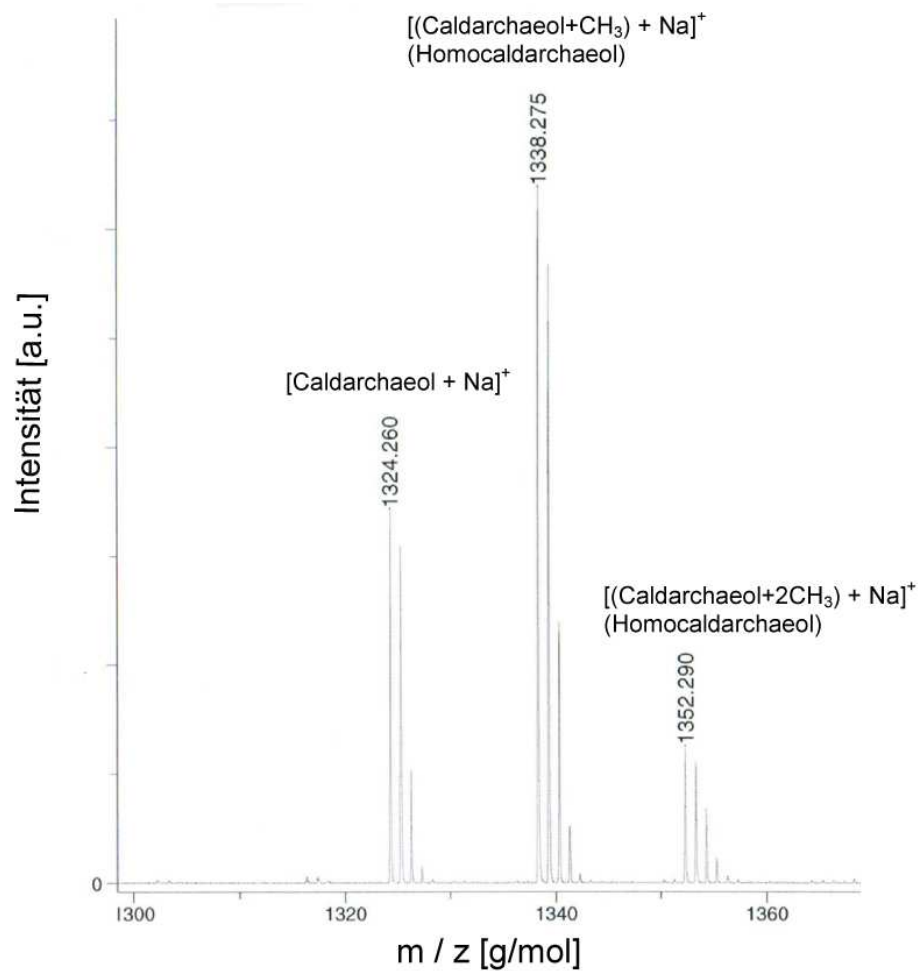
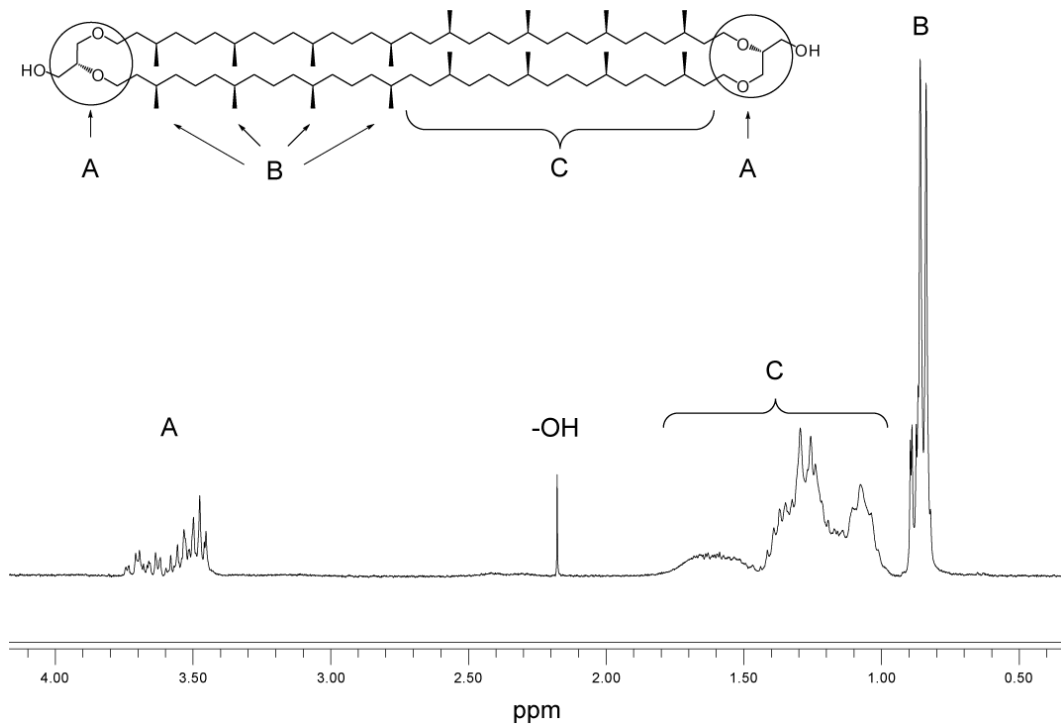


Abbildung 4.16: Oben: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des aufgereinigten Caldarchaeols in CDCl_3 . Unten: Entsprechendes MALDI-TOF Massenspektrum.

4.2 Funktionale Lipopolymere basierend auf monofunktionalen Lipiden

4.2.1 Strukturvariabilität von Polymeren mit funktionalen Lipiden

Lipopolymere setzen sich definitionsgemäß aus einer Polymerkette und einem hydrophoben, meist terminal gebundenen Lipidrest zusammen. Als besonders vielseitiges Polymer zur Darstellung von Lipopolymeren erwiesen sich aus mehreren Gründen Poly(2-oxazolin)e. So eignen sich diese durch kationische Ringöffnungspolymerisation dargestellten Polymere bestens für die Darstellung definierter Polymerstrukturen zum Aufbau künstlicher Zellmembranen. Ferner lassen sich diese mit hoher Strukturdefinition an fast allen Bereichen realisieren (Abbildung 4.17).

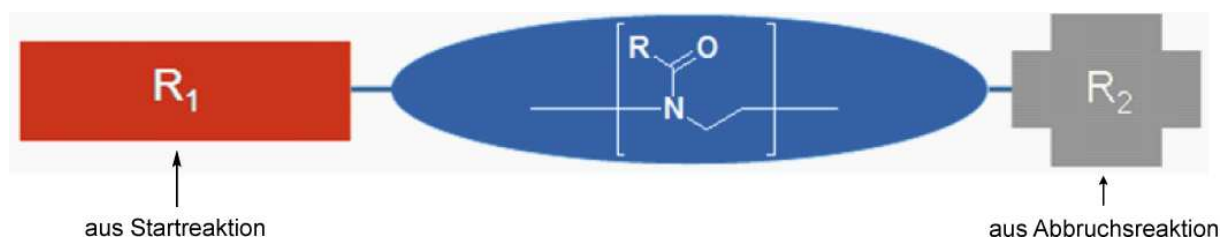


Abbildung 4.17: Schematische Darstellung eines auf Poly(2-oxazolin) und einem monofunktionalen Lipoinitiator basierenden Lipopolymers.

Der Rest R_1 wird quantitativ über die Startreaktion am proximalen Ende des Polymers eingeführt. Durch Polymerisation mit den gewünschten Monomeren erfolgt Wachstum der Poly(2-oxazolin) Kette mit den entsprechenden - falls gewünscht funktionalen - Resten R an den Seitenketten. Über die Abbruchsreaktion kann im Rest R_2 eine Endgruppe eingeführt werden, wie beispielsweise eine Kupplungsgruppe zur kovalenten Verknüpfung vom Lipopolymer an eine stationäre Phase oder eine reaktivere Gruppe für weiterführende polymeranaloge Reaktionen.

Im Falle von Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymeren wird R_1 über einen entsprechenden Lipidinitiator eingebaut. Polarität, Verzweigungsgrad und Größe des Lipidrests R_1 haben entscheidenden Einfluß auf das Aggregationsverhalten derartiger Polymere in Lösung und an Grenzflächen. Längere und sterisch anspruchsvollere Lipide sowie solche mit zwei Alkylketten bewirken eine höhere Stabilisierung jener Membranen. Durch diese Reste und durch die Komposition der Reste R an der Polymerkette entscheidet sich die hydrophile/lipophile Balance (HLB) und damit der amphiphile Charakter der so dargestellten

Lipopolymere. Als Monomere eignen sich hierfür vorrangig 2-Oxazoline mit kürzeren Alkylketten als Rest und dadurch bedingter höherer Hydrophilie. Am geeignetsten hierfür erschienen 2-Methyl-2-oxazolin sowie 2-Ethyl-2-oxazolin. Beide erlauben die Synthese von Polymeren mit guter Wasserlöslichkeit. Weiterhin weisen sie eine geringe Neigung zu Nebenreaktionen wie Abbruchs- oder Übertragungsreaktionen auf und gestatten so die Darstellung von Polymeren mit geringer Polydispersität und definierter Kettenlänge, wie es vor allem zur Realisation polymerunterstützter Membranen wünschenswert ist. Falls erforderlich, kann weiterhin über die Poly(2-oxazolin) Kette eine Feineinstellung der HLB durch statistische Copolymerisation mit hydrophoberen Monomeren wie 2-*n*-Butyl-2-oxazolin erreicht werden.

4.2.2 Darstellung monofunktionaler Lipidinitiatoren

Zur Darstellung von Poly(2-oxazolin)en mit enger Molmassenverteilung eignen sich insbesondere Trifluormethansulfonate. Durch die hohe Polarität und die damit einhergehende Labilität der Esterbindung weisen diese eine vergleichsweise starke Elektrophilie auf und somit hohe Initiationsgeschwindigkeiten (k_i) für die kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen. Ferner handelt es beim korrespondierenden Triflation um ein sehr weiches, resonanzstabilisiertes Gegenion, das mit dem aktiven lebenden Kettenende in geringer Wechselwirkung steht und somit eine schnelle Wachstumsreaktion (k_p) ermöglicht. Trifluormethansulfonsäureester können direkt mit hohen Ausbeuten aus den entsprechenden Alkoholen durch Umsetzung mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid gewonnen werden.

Ein geeigneter Lipoinitiator besteht somit aus einer polaren Sulfonatgruppe und einem hydrophoben Rest. Die hierfür verwendeten Lipide sollten keine funktionellen Gruppen wie $-C=C-$ Doppelbindungen oder Carbonsäureester enthalten, die gegenüber den Bedingungen der Triflatisierung bzw. der darauf folgenden Polymerisation als nicht inert bekannt waren. Für die Synthese von Poly(2-oxazolin)en, die auf monofunktionalen Lipiden basieren, wurden daher ausschließlich Glycidylether eingesetzt.

4.2.2.1 Dioctadecylglycerylinitiator^[2]

Bei diesem Initiator handelt es sich um den Glycidyl-diether des zur Stearinsäure homologen Alkohols. Aus der Ausgangsverbindung 2,3-*O*-Dioctadecylglycerol kann auf in der Literatur beschriebener Vorgehensweise das korrespondierende Trifluormethansulfonat dargestellt werden (*rac*-2,3-*O*-Dioctadecylglyceryltrifluormethansulfonat, Abbildung 4.18).

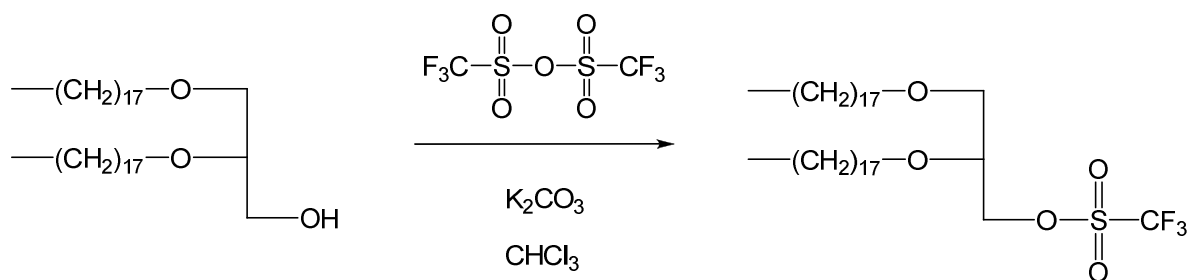


Abbildung 4.18: Darstellung von *rac*-2,3-*O*-Dioctadecylglyceryltrifluormethansulfonat.

Zu einer Suspension von Kaliumcarbonat in Chloroform wurde unter Schutzgasatmosphäre der Lipidalkohol zugegeben und anschließend unter starkem Rühren tropfenweise Trifluormethansulfonsäureanhydrid. Durch Einsatz des Anhydrids im Überschuss wurde ein quantitativer Umsatz zum korrespondierenden Triflat realisiert. Um die entstandene Säure vollständig abzufangen, wurde die heterogene Mischung über Nacht weitergerührt. Zur Aufarbeitung wurden die zurückbleibenden anorganischen Salze unter trockener Argonatmosphäre abfiltriert. Noch in der Reaktionsmischung verbliebenes Triflatanhydrid wurde im Ölpumpenvakuum entfernt. Zur endgültigen Aufreinigung wurde der zurückbleibende weiße Feststoff in trockenem Benzol aufgenommen und gefriergetrocknet. Die quantitative Umsetzung aller Hydroxyfunktionen in Triflate wurde mittels ¹H-NMR Spektroskopie, die Abwesenheit von Nebenprodukten dünnschichtchromatographisch nachgewiesen.

4.2.2.2 Diphytanylinitiator (2,3-O-Di(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)glyceryl-trifluormethansulfonat)^[2]

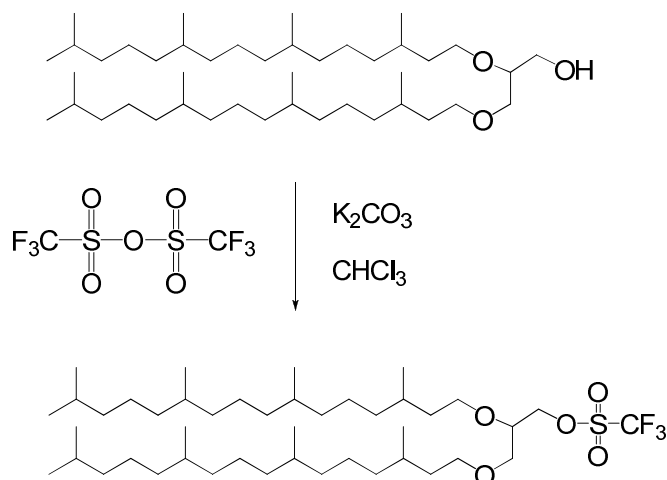


Abbildung 4.19: Darstellung von 2,3-O-Di(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)glycerol.

Wie unter 4.2.2.1 beschrieben, erfolgte die Umsetzung von Archaeol (2,3-O-Di(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)glycerol) in den entsprechenden Trifluormethansulfonsäureester (Abbildung 4.19). Zu Beginn zeigte die Reaktionsmischung dabei bisweilen leicht gelbliche Färbung, welche jedoch nach Rühren über Nacht verschwand. Nach Aufarbeitung lag der Initiator als hellgelbes Öl vor. Die vollständige Umsetzung allen Substrats konnte wie zuvor durch ¹H-NMR Spektroskopie bestätigt werden.

4.2.3 Polymerisation von 2-Oxazolinen

Der Lipidinitiator wurde in Chloroform oder Dichlormethan gelöst und in einem druckdicht verschließbaren Reaktionsgefäß vorgelegt. Anschließend wurde das Monomer im gewünschten molaren Verhältnis zugegeben. Die Polymerisation von 2-Oxazolinen wird bevorzugt im polaren, aprotischen Solvens wie Acetonitril bei Temperaturen ≥ 80 °C durchgeführt. Dieses System ist jedoch für die Reaktion mit Lipidinitiatoren ungeeignet, da diese nur in unpolaren Lösungsmitteln löslich sind. Deshalb wurde die Reaktion in lipophilen Lösungsmitteln wie Chloroform oder Dichlormethan durchgeführt. Die für die Polymerisation benötigte Energie wurde in Chloroform thermisch zugeführt durch Erhitzen der Reaktionsmischung in einem Ölbad bei 60 - 65 °C. Obwohl sich im Vergleich zur Durchführung in Acetonitril die Reaktionsgeschwindigkeit einerseits verlangsamte, so hatte dies andererseits auch den positiven Effekt, dass die Wahrscheinlichkeit unerwünschter

Nebenreaktionen wie Kettenübertragungen oder –abbruch in diesem System deutlich verringert war.

Alternativ konnten die Reaktionen auch an Stelle zum thermischen Verfahren im Mikrowellenfeld durchgeführt werden. Hierbei werden bevorzugt polare Gruppen mit hohem Dipolmoment der in der bestrahlten Lösung vorhandenen Moleküle angeregt. Im Falle der kationischen Polymerisation handelt es sich dabei vorrangig um die polaren Kettenenden.^[197]

Hierdurch konnte die zum vollständigen Umsatz allen Monomers benötigte Zeit von z.B. 26 Stunden unter gleichen Konzentrationsverhältnissen in 40 Minuten durchgeführt werden.^[119]

^{120]} Allerdings sind nicht immer alle Reaktanden bzw. Lösemittel, welche sich bei thermischer Reaktionsführung als stabil erweisen, inert gegenüber den Bedingungen der Mikrowellenpolymerisation. Auf beiden beschriebenen Wegen konnten so Polymere von niedrigen Polydispersitäten bei mittleren Polymerisationsgraden von $\overline{DP} = 80$ dargestellt werden. Nach Abschluß der Reaktion wurde die Polymerisation durch Zugabe des gewünschten Terminationsreagens terminiert. Hierfür wurden drei verschiedene Substanzen eingesetzt. Zum einen Piperidin als sekundäres Amin, zum anderen 1-Boc-piperazin, welches über eine weitere, geschützte Aminofunktion verfügt, die gegebenenfalls Zugang zu polymeranalogen Reaktionen ermöglicht. Drittens wurde auch mit Trimethoxyaminopropylsilan terminiert, zur kovalenten Pfropfung des Lipopolymers auf oxidischen Oberflächen. Die so eingeführte Trimethoxyfunktion erlaubt die anschließende kovalente Verknüpfung mit einem Substrat, welches Hydroxygruppen präsentiert, wie beispielweise die Oberfläche von Siliciumdioxid. Letzteres primäres Amin wurde in deutlichem Überschuss zugegeben, um Zweifachterminationen zu vermeiden. Nach Rühren über fünf Stunden wurde das Polymer durch Zugabe von Kaliumcarbonat neutralisiert. Die gewünschten Produkte wurden durch Filtration der Suspension, gefolgt von Fällung in kaltem Diethyl- oder Petrolether isoliert. Durch abschließende Gefriertrocknung wurden so die Polymere als weiße, bisweilen hygroskopische Pulver erhalten und unter trockenem Argon gelagert. Dies war vor allem im Falle von mit Trimethoxysilan terminierten Polymeren wichtig, um so eine Polykondensation der trifunktionalen Alkoxysilangruppe zu vermeiden

4.2.4 Lipohomopolymere basierend auf Poly(2-methyl- und 2-ethyl-2-oxazolin)

Zunächst wurden mit den zuvor diskutierten monofunktionalen Lipidinitiatoren verschiedene Homopolymere synthetisiert. Hierfür wurden 2-Methyl-2-oxazolin (**MeOx**) sowie 2-Ethyl-2-oxazolin (**EtOx**) als Monomere gewählt, da aus diesen Polymerketten von hoher Hydrophilie darstellbar sind, welche wiederum eine geeignete HLB der resultierenden Lipopolymere gewährleisten. Eine Übersicht über die so dargestellten Polymere ist in Tabelle 4.3 gegeben.

Tabelle 4.3: Dargestellte Poly(2-oxazolin) basierte monofunktionale Lipohomopolymere.

#	Polymer	Initiator	$[M]_0/[I]_0$	Technik	T [°C] a)	Reaktions- zeit
270	diC ₁₈ MeOx ₂₇ Piperidin	diC ₁₈ -OTf	30	M.W.	90	70 min
039	diPhyMeOx ₆₀ Piperidin	diPhy-OTf	52	thermisch	60	72 h
470	diC ₁₈ MeOx ₅₀ Sil	diC ₁₈ -OTf	50	M.W.	90	90 min
469	diC ₁₈ MeOx ₅₅ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	50	M.W.	90	90 min
401	diPhyMeOx ₃₄ PipBoc	diPhy-OTf	30	M.W.	90	90 min
125	diPhyMeOx ₄₀ PipBoc	diPhy-OTf	35	thermisch	60	96 h
380	diC ₁₈ EtOx ₁₄ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	15	M.W.	90	45 min
342	diC ₁₈ EtOx ₂₇ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	25	M.W.	90	75 min
341	diC ₁₈ EtOx ₅₃ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	50	M.W.	90	180 min
471	diC ₁₈ EtOx ₇₈ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	100	M.W.	90	210 min
497	diPhyEtOx ₂₆ PipBoc	diPhy-OTf	25	M.W.	90	75 min
499A	diPhyEtOx ₅₁ PipBoc	diPhy-OTf	50	M.W.	90	180 min
336	diPhyEtOx ₉₅ PipBoc	diPhy-OTf	100	M.W.	90	120 min
499B	diPhyEtOx ₅₁ Sil	diPhy-OTf	50	M.W.	90	180 min

a) vorgegebene Temperatur bei thermischer Polymerisation, bei mikrowellenunterstützter Polymerisation eingestelltes Temperaturmaximum. Nomenklatur: diC₁₈ = 2,3-O-Dioctadecylglyceryl; diPhy = 2,3-O-di-(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)-sn-glyceryl; PipBoc = 1-Boc-Piperazin; Sil = 3-Aminopropyltrimethylsiloxan.

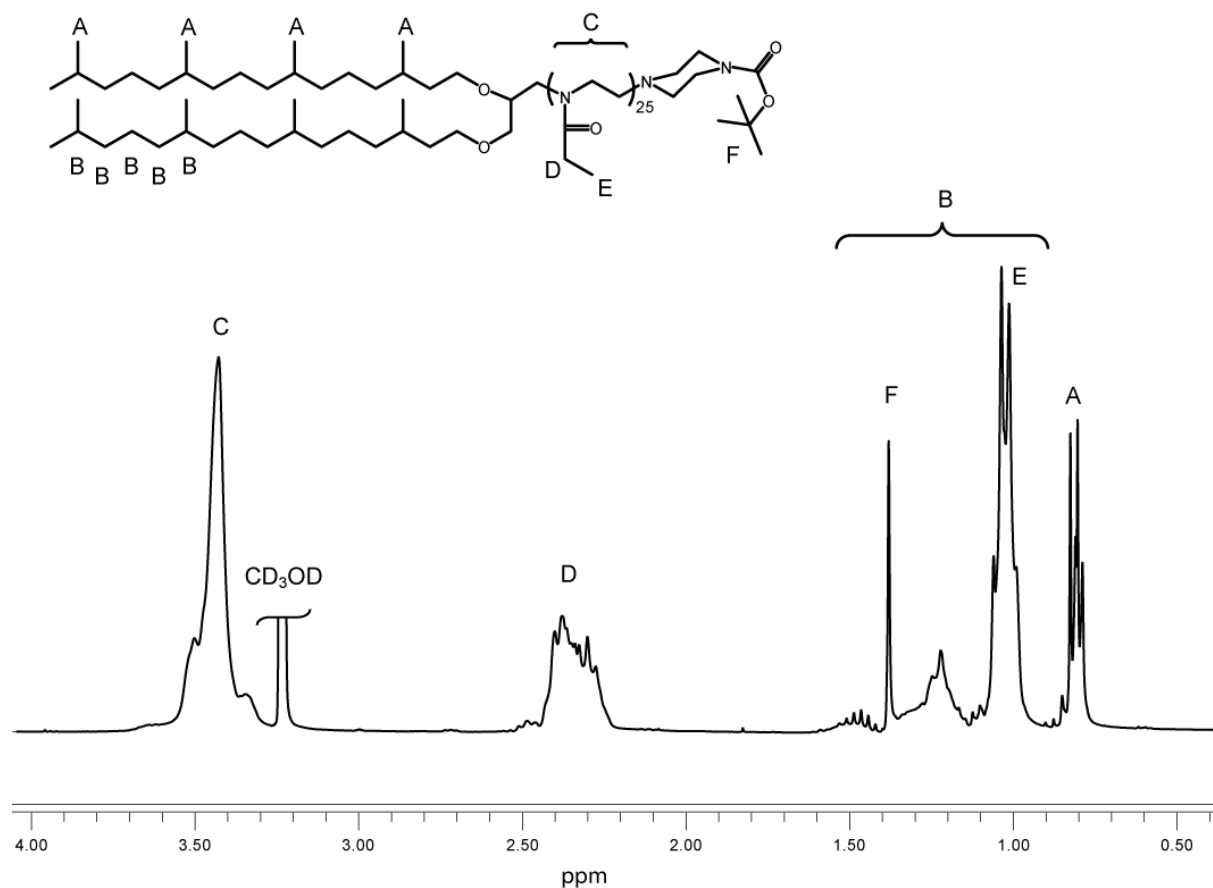


Abbildung 4.20: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von $\text{diPhyEtOx}_{25}\text{BocPip}$ in CD_3OD mit Signalzuordnung.

Die dargestellten Polymere wurden zunächst mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie untersucht. Dabei wurde durch Endgruppenanalyse die Kettenlänge der jeweiligen Verbindungen ermittelt. Durch den Vergleich der Integralverhältnisse zwischen den Signalen der Methylgruppen an der Lipidendgruppe und der Polymerkette wurde der Polymerisationsgrad bestimmt.

In Abbildung 4.20 liegen die Signale der Methylgruppen am Lipidrest bei einer chemischen Verschiebung von 1,00 ppm bis 1,14 ppm. Die Signale in diesem Bereich entsprechen 30 Protonen. Die Resonanz der Protonen der Alkylseitenketten lag zwischen 1,20 – 1,34 ppm ($-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_3$), 2,48- 2,73 ppm ($-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_3$), während die Signale der Hauptkette zwischen 3,55 bis 3,83 ppm zu finden waren. Durch die geringen Relaxationszeiten τ_1 sind die Signale der Polymerketten verbreitert. Da die endständigen Methylgruppen der Seitenketten mit den restlichen Signalen der Lipidketten teilweise überlagern, wurden zur Bestimmung des Polymerisationsgrades die Integrale der Methylenprotonen des Polymerrückgrats verwendet. Falls die über Polymerseitenketten- und Rückgrat ermittelten Werte leicht voneinander abwichen, so wurde der Mittelwert hieraus verwendet.

Waren die Polymere mit 1-Boc-piperazin terminiert, so konnte durch Vergleich der Alkylintegrale mit dem *tert.*Butylintegral ein weiterer Anhaltspunkt für die Reinheit der dargestellten Verbindungen erhalten werden. Wurde ein Verhältnis von $I_{\text{Methyl}} / I_{\text{tert. Butyl}} = 30 / 9$ beobachtet, so zeigte dies die Abwesenheit von weiteren Lewis-aciden Verunreinigungen im Ausgangsmaterial sowie Termination mit ausschließlich mit dem gewünschten Reagenz an. Über $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie konnte somit der Polymerisationsgrad durch Endgruppenanalyse relativ genau bestimmt werden. Allerdings waren damit keine Aussagen über Breite und Modalität der jeweiligen Molmassenverteilungen möglich. Der Polydispersitätsindex (**PDI**) der synthetisierten Verbindungen durch Gelpermeationschromatographie (**GPC**) mit *N,N'*-Dimethylacetamid (**DMAC**) als mobile Phase bestimmt. Für die Kalibrierung wurden Poly(methylmethacrylat) - Standards verwendet, während die Detektion über einen RI-Detektor erfolgte. Die so erhaltenen Molmassen waren auf Grund der eingeschränkten Vergleichbarkeit zwischen eingesetztem Standard und dem untersuchten Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymeren jedoch nur bedingt aussagekräftig.^[198] Dies traf jedoch nicht auf die so ermittelten Verteilungen der Molmassen zu, welche in Tabelle 4.4 gezeigt sind.

Tabelle 4.4: Ergebnisse der $^1\text{H-NMR}$ und GPC Messungen.

#	Polymer	Ausbeute [%]	$^1\text{H-NMR}$		GPC	
			DP	M_n [g/mol]	M_n [g/mol]	PDI
270	diC ₁₈ MeOx ₂₆ Piperidin	90	26	2877	4651	1,05
039	diPhyMeOx ₆₀ Piperidin	86	60	5146	7567	1,05
470	diC ₁₈ MeOx ₅₀ Sil	82	50	5014	5984	1,07
469	diC ₁₈ MeOx ₅₅ PipBoc	80	55	5446	7666	1,04
401	diPhyMeOx ₃₄ PipBoc	78	34	3375	5196	1,07
125	diPhyMeOx ₄₀ PipBoc	79	40	4226	7897	1,05
380	diC ₁₈ EtOx ₁₄ PipBoc	76	14	2153	n.b.	n.b.
342	diC ₁₈ EtOx ₂₇ PipBoc	83	27	3443	4528	1,08
341	diC ₁₈ EtOx ₅₃ PipBoc	81	53	6019	7198	1,08
471	diC ₁₈ EtOx ₇₈ PipBoc	72	77	8398	10849	1,03
497	diPhyEtOx ₂₆ PipBoc	82	26	3399	5239	1,04
499A	diPhyEtOx ₅₁ PipBoc	77	51	5877	7950	1,06
336	diPhyEtOx ₉₅ PipBoc	38	95	10239	13565	1,07
499B	diPhyEtOx ₅₁ Sil	78	52	5969	8128	1,03

Zum Vergleich sind die über $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie ermittelten Polymerisationsgrade sowie die daraus rechnerisch bestimmten entsprechenden Molmassen mit angegeben. Wie zu erkennen ist, lässt sich allgemein relativ gute Übereinstimmung zwischen angestrebtem sowie dem durch Endgruppenanalyse aus den $^1\text{H-NMR}$ Daten bestimmten Polymerisationsgrad feststellen. Eine Ausnahme bildet das Polymer $\text{diC}_{18}\text{EtOx}_{100}\text{BocPip}$ bei welchem zwar ein Polymerisationsgrad von 100 beabsichtigt war, aber nur ein solcher von 78 Wiederholungseinheiten ermittelt wurde. Grund für diesen Befund ist, dass es sich hierbei um das erste von einer solch langen Kettenlänge dargestellte Lipopolymer handelt, für dessen Synthese der Parameter Reaktionszeit erst noch optimiert werden musste. Die GPC Spektren hingegen weisen eine signifikante Abweichung von bis zu 30% sowohl vom erwünschten als auch im $^1\text{H-NMR}$ beobachteten Polymerisationsgrad auf. Dies ist, wie bereits erwähnt, auf die begrenzte Vergleichbarkeit zwischen Kalibrierstandard und untersuchtem Polymer zurückzuführen. Im Gegensatz hierzu waren die gemessenen Polydispersitäten repräsentativ und niedrig. Die ermittelten Werte lagen zwischen 1,03 und 1,08 wie für eine lebende Polymerisation zu erwarten. Die engen Molmassenverteilungen legen zudem den Befund nahe, dass es während der Polymerisationsreaktion von 2-Methyl-2-oxazolin und 2-Ethyl-2-oxazolin in keinem nennenswerten Umfang zu Abbruchs- oder Übertragungsreaktionen kam. Darüber hinaus wiesen alle aufgenommenen Spektren monomodale Verteilungsmuster auf, was auf die ausschließliche Bildung jeweils einer einzigen Polymerspezies schließen lässt.

Zusätzlich wurden die Lipopolymere mittels MALDI-TOF-MS untersucht. Bei dieser massenspektroskopischen Methode wird mittels eines Lasers auf besonders schonende Weise Ionisation der untersuchten Proben erreicht. Die Wahrscheinlichkeit einer Fragmentierung des Materials ist hierdurch deutlich reduziert. Jedoch erwiesen sich nicht alle dargestellten Polymere unter diesen Bedingungen als ionisierbar. Vor allem für jene mit Kettenlängen ≥ 50 war es bisweilen schwierig, Spektren von ausreichendem Signal- / Rauschverhältnis aufzunehmen. Die massenspektroskopisch ermittelten Daten sind in Tabelle 4.5 gegeben. Die so bestimmten Molmassen waren in guter Kongruenz zu den beabsichtigten und den zuvor über $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie ermittelten. Hingegen waren die Molmassenverteilungen signifikant enger bzw. geringer als die zuvor mittels GPC bestimmten. Dieser Befund ist jedoch mit gewisser Vorsicht zu interpretieren, da häufig im MALDI-TOF-MS höhere Molmassen diskriminiert werden, was zu einer Verschmälerung und damit Verfälschung der Massenverteilungsmuster führen kann. Der Abstand zwischen den einzelnen detektierten Signalen der Populationen entsprach stets den jeweiligen Monomermassen von 85,1 g/mol (M_{MeOx}), bzw. 99,1 g/mol (M_{EtOx}).

Tabelle 4.5: Ergebnisse der MALDI-TOF Massenspektroskopie.

#	Polymer	DP	M _n [g/mol]	M _w [g/mol]	PDI
470	diC ₁₈ MeOx ₅₀ SiI	47	4821	4850	1,01
469	diC ₁₈ MeOx ₅₀ PipBoc	51	5164	5200	1,01
401	diPhyMeOx ₃₈ PipBoc	33	3710	3987	1,07
125	diPhyMeOx ₄₂ PipBoc	37	4030	4086	1,01
380	diC ₁₈ EtOx ₁₅ PipBoc	15	2087	2137	1,02
342	diC ₁₈ EtOx ₂₅ PipBoc	28	3390	3476	1,03
341	diC ₁₈ EtOx ₅₀ BocPip	48	5327	5379	1,01
471	diC ₁₈ EtOx ₁₀₀ BocPip	68	7538	7596	1,01
497	diPhyEtOx ₂₅ BocPip	28	3470	3531	1,02

Im Falle von auf 2-Methyl-2-oxazolin basierenden Lipopolymeren konnten die Verteilungen immer der gewünschten Spezies zugeordnet werden. Bei Poly(2-ethyl-2-oxazolin) basierter Verbindungen wurde diese bisweilen erst an zweiter Stelle beobachtet. Die Hauptverteilung konnte in solchen Fällen mit –OH terminiertem Polymer zugeordnet werden. Für die Termination wurden jedoch ausschließlich trockene Reagenzien eingesetzt. Darüber hinaus ergab die Endgruppenanalyse im ¹H-NMR stets die erwarteten Integralverhältnisse zwischen den Protonen der Lipidkopfgruppe und jenen der terminalen Boc-Schutzgruppe. Wäre ein nennenswerter Anteil der aktiven Kettenenden nach erfolgter Polymerisation mit einem unerwünschten anderen Terminationsreagens zur Reaktion gekommen, so würde dies zu einer messbaren Verringerung der Integrale der *tert.*Butylprotonen führen. Da dies nicht zutraf, wurde gefolgert, dass es sich hierbei nur um Nebenprodukte handeln kann, welche zwar in nur geringer Menge vorhanden waren, jedoch bevorzugte Ionisierbarkeit aufwiesen und somit zu einer Diskriminierung der Signale des Hauptproduktes im MALDI-TOF-MS führen. Ein Grund, warum diese Beobachtung bei 2-Ethyl-2-oxazolin basierten Polymeren auftrat und nicht bei jenen auf 2-Methyl-2-oxazolin Basis, könnte darin zu finden sein, dass Poly(2-ethyl-2-oxazolin) bereits eine geringe Amphiphilie der Seitenketten ausweist, was zur Bildung von Aggregaten und Segregation aufgrund ungenügender Cokristallisierbarkeit mit der Matrix führen kann, wodurch wiederum die Verfügbarkeit der Polymere auf dem Target stark eingeschränkt wird. Da hingegen sämtliche andere verwendete Analytik dieser Verbindungen einen derartigen Befund nicht aufwies, wurde von weiteren Untersuchungen dieses Phänomens abgesehen. Eine Übersicht aller analytischen Daten zu den im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Lipopolymeren ist in Tabelle 4.6 gegeben.

Tabelle 4.6: Zusammenfassende Übersicht über sämtliche dargestellte Lipohomopolymere.

#	Polymer	Initiator	[M] ₀ /[I] ₀	Technik	Temperatur ^{a)} [°C]	Reaktionszeit	Ausbeute [%]	¹ H-NMR		GPC		MALDI-TOF		
								DP	M _n [g/mol]	M _n [g/mol]	PDI	DP	M _n [g/mol]	PDI
270	diC ₁₈ MeOx ₂₇ Piperidin	diC ₁₈ -OTf	30	M.W.	90	70 min	90	26	2877	4651	1,05	-	n.b.	-
039	diPhyMeOx ₆₀ Piperidin	diPhy-OTf	52	therm.	60	72 h	86	60	5146	7567	1,05	-	n.b.	-
470	diC ₁₈ MeOx ₅₀ Sil	diC ₁₈ -OTf	50	M.W.	90	90 min	82	50	5014	5984	1,07	47	4821	1,01
469	diC ₁₈ MeOx ₅₅ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	50	M.W.	90	90 min	80	55	5446	7666	1,04	51	5164	1,01
401	diPhyMeOx ₃₄ PipBoc	diPhy-OTf	30	M.W.	90	90 min	78	34	3375	5196	1,07	33	3710	1,07
125	diPhyMeOx ₄₀ PipBoc	diPhy-OTf	35	therm.	60	96 h	79	40	4226	7897	1,05	37	4030	1,01
380	diC ₁₈ EtOx ₁₄ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	15	M.W.	90	45 min	76	14	2153	n.b.	n.b.	15	2087	1,02
342	diC ₁₈ EtOx ₂₇ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	25	M.W.	90	75 min	83	27	3443	4528	1,08	28	3390	1,03
341	diC ₁₈ EtOx ₅₃ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	50	M.W.	90	180 min	81	53	6019	7198	1,08	48	5327	1,01
471	diC ₁₈ EtOx ₇₈ PipBoc	diC ₁₈ -OTf	100	M.W.	90	210 min	72	77	8398	10849	1,03	68	7538	1,01
497	diPhyEtOx ₂₈ PipBoc	diPhy-OTf	25	M.W.	90	75 min	82	26	3399	5239	1,04	28	3470	1,02
499A	diPhyEtOx ₅₁ PipBoc	diPhy-OTf	50	M.W.	90	180 min	77	51	5877	7950	1,06	-	n.b.	-
336	diPhyEtOx ₉₃ PipBoc	diPhy-OTf	100	M.W.	90	120 min	38	95	10239	13565	1,07	-	n.b.	-
499B	diPhyEtOx ₅₁ Sil	diPhy-OTf	50	M.W.	90	180 min	78	52	5696	8128	1,03	-	n.b.	-

^{a)} vorgegebene Temperatur bei thermischer Polymerisation, bei mikrowellenunterstützter Polymerisation eingestelltes Temperaturmaximum.
Nomenklatur: diC₁₈ = 2,3-O-Dioctadecylglyceryl; diPhy = 2,3-O-di-(3,7,11,15-tetramethylhexadecyl)-sn-glyceryl; PipBoc = 1-Boc-Piperazin; Sil = 3-Aminopropyltrimethylsiloxyan.

4.2.5 Lipohomopolymere basierend auf Poly(2-*iso*-propyl-2-oxazolin)

Die zuvor dargestellten Lipoinitiatoren sollten auch mit 2-*Iso*-propyl-2-oxazolin (**iPrOx**) umgesetzt werden. Vom Poly(2-*iso*-propyl-2-oxazolin) Homopolymer ist bekannt, dass dieses in wässriger Lösung eine *lower critical solution temperature* (LCST) aufweist. Initiiert durch lipidhaltige Initiatoren sollten durch Polymerisation dieses Monomers thermisch schaltbare Lipopolymere synthetisiert werden. Die Reaktion wurde im Mikrowellenfeld durchgeführt, da bei thermischer Reaktionsführung in Chloroform sehr lange Reaktionszeiten benötigt wurden, was insbesondere unerwünschte Nebenreaktionen begünstigt.

Wurden Lipoinitiatoren analog bereits diskutierter Vorgehensweise zur Umsetzung von iPrOx eingesetzt, so war der mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie bestimmte Polymerisationsgrad durchwegs höher als über $[M]_0/[I]_0$ erwartet. Im Falle einer mit Dioctadecylinitiator dargestellten Verbindung wurde beispielsweise bei einem gewünschten DP von 25 tatsächlich 45 gemessen. Derart signifikante Unterschiede ließen sich nicht durch Abweichungen im Rahmen der Messgenauigkeit erklären. Bei der Analyse der Integralverhältnisse der Endgruppen stellte sich heraus, dass die terminalen Boc-Protonen im Vergleich zu jenen der proximalen Lipidprotonen um ungefähr das Doppelte überrepräsentiert waren, was zunächst die Anwesenheit von Verunreinigungen im Initiator implizierte.

Diese Annahme wurde jedoch widerlegt. Denn setzte man aus derselben Quelle stammenden Initiator mit 2-Methyl-2-oxazolin sowie in einem separaten Ansatz mit iPrOx um, so erhielt man im ersten Fall stets das gewünschte Produkt mit dem erwarteten Polymerisationsgrad, während im letzteren Falle sich obiger Befund wiederholte. In den MALDI-TOF Spektren wurden für die aus iPrOx dargestellten Polymere stets bimodale Massenverteilungen beobachtet, wobei sich die unterrepräsentierte dem gewünschten Produkt und die dominantere einer mutmaßlich protoneninitiierten Spezies zuordnen ließ. Die Polymerisationen wurden bis zu diesem Punkt stets in Chloroform als Lösungsmittel durchgeführt, einer Verbindung die eine gewisse C-H Acidität aufweist. Um einen möglichen Einfluss des Solvens als unerwünschten Protonendonator auszuschließen, wurde hierfür die Polymerisation in einer Reihe von weiteren aprotischen Lösungsmitteln durchgeführt, zum einen mit Tetrachlormethan, zum anderen wurde ein ternäres Lösungsmittelgemisch entwickelt, aus Toluol, Acetonitril und Hexan, welches hinreichend lipophil ist, um alle an der Polymerisation beteiligten Komponenten zu lösen und gleichzeitig ausreichend polar, um eine hinreichend hohe Reaktionsgeschwindigkeit zu gewährleisten. Dennoch wiederholten sich auch in diesen beiden Fällen die zuvor getroffenen Beobachtungen. Daraus wurde

geschlossen, dass ein Effekt des verwendeten Solvens als Grund für die unerwartet hohen Polymerisationsgrade ebenfalls ausschied.

Dessen ungeachtet konnte das gewünschte Polymer in reiner Form isoliert werden. So wurde beobachtet, dass wässrige Lösungen der Reaktionsprodukte wie Poly(2-*iso*-propyl-2-oxazolin) eine *lower critical solution temperature* aufwiesen. Diese lag allerdings mit ca. 32 °C deutlich niedriger als für die entsprechenden Homopolymere um 41 °C.^[111, 129, 151] Daraus wurde gefolgert, dass die Erniedrigung des *cloud points* mit der Einführung der Lipidkopfgruppe einherging. Da die beiden Temperaturen hinreichend weit voneinander entfernt lagen, konnten beide im Produktgemisch enthaltenen Polymere erfolgreich separiert werden. Hierfür wurde eine wässrige 2,5 gew.-% Lösung des Polymergemisches in Zentrifugengläser gefüllt in einer auf 35 °C vortemperierten Zentrifuge bei 4000 rpm behandelt. Nach 15 min setzte sich voluminöser weißer Niederschlag ab. Die überstehende Lösung wurde dekantiert und weiter aufbewahrt, während der ausgefallene Feststoff zur weiteren Aufreinigung nochmals in Wasser gelöst, der selben Prozedur unterzogen und anschließend gefriergetrocknet wurde. Die durch ¹H-NMR spektroskopische Untersuchung erhaltenen Spektren dieser Substanz waren identisch mit den für das gewünschte Produkt erwarteten und die Endgruppenintegrale befanden sich im korrekten Verhältnis (Abbildung 4.21).

Nach Gefriertrocknung der dekantierten überstehenden Lösung verblieb ebenfalls ein Feststoff zurück, dessen Spektrum protoneninitiiertem und mit 1-Boc-Piperazin terminiertem Poly(2-*iso*-propyl-2-oxazolin) zugeordnet werden konnte. Im MALDI-TOF-MS wurde dieser Befund bestätigt. Neben dem Homopolymer waren darüber hinaus noch geringe Mengen des Lipopolymers zu detektieren. Das entsprechende Spektrum des niedergeschlagenen Feststoffs wies neben der dem gewünschten Produkt zugeordneten Hauptverteilung eine zu säureinitiiertem Polymer gehörige Subverteilung von nunmehr weit geringerer Intensität auf. Angesichts der Tatsache, dass eine nennenswerte Existenz dieses Nebenprodukts in der Substanz zu einer Überrepräsentierung der Signale der Boc-Schutzgruppe im ¹H-NMR Spektrum führen müsste, wurde gefolgert, dass es sich hierbei nur noch um Spuren handeln konnte, welche im MALDI-TOF-MS, bedingt durch die unterschiedliche Ionisierbarkeit beider Verbindungen, überrepräsentiert erschienen. In Tabelle 4.7 ist die Zusammenfassung typischer, aus solchen Experimenten gewonnener Daten gegeben.

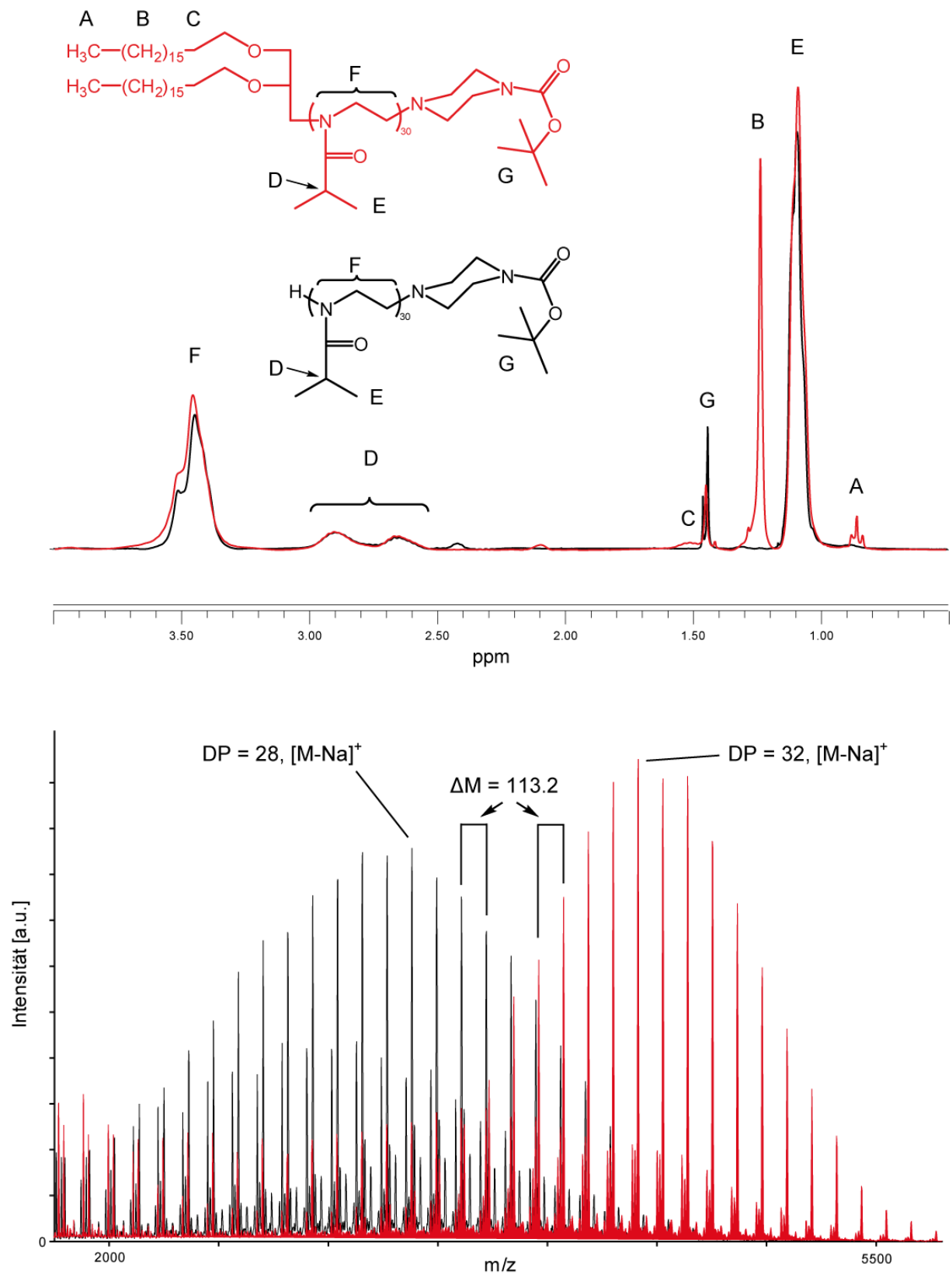


Abbildung 4.21: Überlagerungen der $^1\text{H-NMR}$ und MALDI-TOF Spektren der beiden mittels der LCST präparativ voneinander separierten Polymere. Die kleineren Subverteilungen entsprechen den Spezies $[\text{M-H}]^+$ und $[\text{M-K}]^+$.

Tabelle 4.7: *diC₁₈iPrOx₃₅BocPaz* vor und nach Aufarbeitung.

	Substanzmenge [mg]	¹ H-NMR		MALDI-TOF-MS		
		DP	M _n [g/mol]	M _n [g/mol]	DP	PDI
Produktgemisch	96 (100%)	61 ²⁾	-	- ³⁾	-	-
Wässrige Phase ¹⁾	27 (28%)	33	3695	3189	27	1,05
Niederschlag ¹⁾	57 (60%)	31	4499	4440	32	1,01

¹⁾ Nach Zentrifugation, ²⁾ Scheinbarer DP gemessen an Lipidintegralen, ³⁾ Nicht bestimmbar, da Produktgemisch mit teilweise überlagernden Signalen.

Wie zu erkennen, waren die für die jeweiligen Fraktionen bestimmten Kettenlängen durchwegs niedriger als im Falle des ¹H-NMR des Produktgemisches und in guter Übereinstimmung mit den Erwartungswerten. Die über MALDI-TOF-MS erhaltenen Molmassenverteilungen wiesen die für lebende ionische Polymerisationen typische niedrige Polydispersität auf. Für das aus der wässrigen Phase erhaltene Material wurde keine auffällige Verbreiterung entdeckt, welche beobachtbar sein müsste, falls das protoneninitiierte Polymer aus Übertragungsreaktionen, welche während der gesamten Reaktionszeit stattfanden, hervorgegangen wäre.

Somit enthielt das Produktgemisch offensichtlich zwei unterschiedliche, voneinander unabhängige Spezies an Poly(2-oxazolin)en. Wie bereits diskutiert, schieden bereits vor der Initiationsreaktion im Initiator vorhandene Brønsted-Säuren als Erklärung aus, ebenso wie Verunreinigungen im verwendeten Monomer, das vor dessen Umsetzung wiederholt über Standardverfahren getrocknet und aufgereinigt wurde und aus welchem seinerseits mit anderen Initiatoren saubere Homopolymere darstellbar waren.

Als Erklärung für die beobachteten Befunde, vor allem mit Hinblick auf die engen Molmassenverteilungen der entstandenen Spezies, verblieb somit nur, dass die zum Nebenprodukt führenden aciden Protonen bereits in einer frühen Phase der Polymerisation durch Übertragungsreaktionen abgespalten worden sein mussten. Wie bereits in Kapitel 2.3.1 erläutert, ist eine solche Nebenreaktion aus der Chemie der Poly(2-oxazolin)e bekannt, die umso wahrscheinlicher auftritt, je höher der Substitutionsgrad am als Monomer eingesetzten 2-Oxazolin ist.^[115]

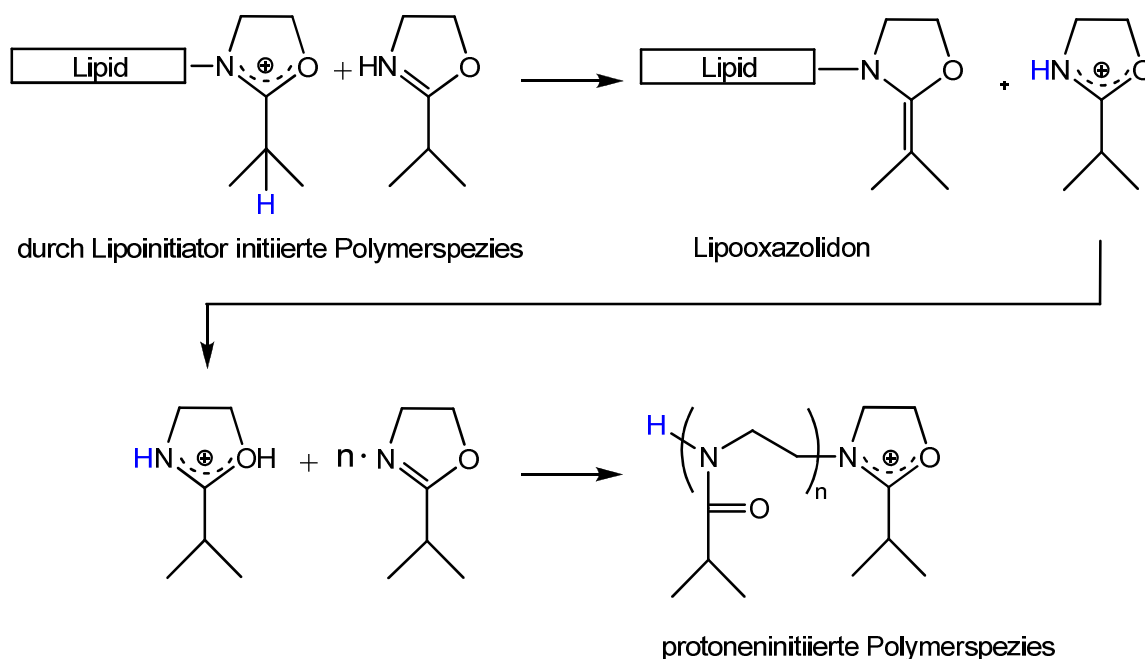


Abbildung 4.22: Reaktion zwischen aktivem iPrOx Kettenende der aktiven Spezies eines Lipopolymers und einem iPrOx-Monomer unter Bildung einer Lipooxazolidon-Spezies sowie Protoneninitiation am Monomer. Letzteres ist seinerseits zur Bildung einer protoneninitiierten PiPrOx-Spezies befähigt.

So weist 2-Ethyl-2-oxazolin eine höhere Neigung zu dieser Nebenreaktion auf als 2-Methyl-2-oxazolin. Von 2-*iso*-Propyl-2-oxazolin ist deshalb eine noch größere Tendenz hierzu zu erwarten. Der entsprechende Mechanismus wird am Beispiel einer durch einen Lipointiator gestarteten Polymerisation in Abbildung 4.22 gezeigt.

Derartige Reaktionen treten allerdings bei der Umsetzung von iPrOx mit Initiatoren wie Methyltriflat (MeOTf) nie in solcher Relevanz auf, wie im konkreten Fall festgestellt,^[129] weshalb dieser Mechanismus offenbar durch das Vorhandensein der Lipidkopfgruppe zusätzlich begünstigt wird. Von einer noch weitergehenden mechanistischen Untersuchung des Beitrags der Lipidkopfgruppe zu diesen Übertragungsreaktionen wurde allerdings abgesehen.

Die vermutlich so im frühen Stadium der Polymerisation gebildeten Lipooxazolidone (siehe Abbildung 4.22) traten nach Aufarbeitung des Reaktionsansatzes nicht mehr in Erscheinung, da diese aufgrund ihrer hohen Hydrophobie und geringen Molmasse beim Fällen in der etherischen Phase verblieben. Dies erklärt, warum in den ¹H-NMR Spektren des Produktgemisches die Verhältnisse der Integrale der Endgruppen nicht übereinstimmten, wie es beim Auftreten von Übertragungsreaktionen gleichwohl zu erwarten gewesen wäre, sondern die Signale des Lipids hierbei unterrepräsentiert erschienen.

Somit erwiesen sich die verwendeten Lipoinitiatoren als ungeeignet für die Polymerisation von 2-*iso*-Propyl-2-oxazolin. Obwohl die gewünschten Verbindungen gut aus dem Produktgemisch isoliert werden konnten, waren doch die Gesamtausbeuten zu gering, um diesen Ansatz zur Synthese thermisch schaltbarer Lipopolymere weiter zu verfolgen. Stattdessen wurde erwogen, diese durch Copolymerisation von Monomeren mit unverzweigten Seitenketten darzustellen, welche eine weit geringere Neigung zur Bildung von Nebenprodukten zeigen.

4.2.6 Lipocopolymere

Um Poly(2-oxazolin) basierte Lipopolymere mit einer feiner abgestimmten HLB zu erhalten, wurde eine Reihe von Lipocopolymeren durch Polymerisation von Lipidinitiatoren mit variierenden Verhältnissen der Monomere 2-Ethyl-2-oxazolin und 2-*n*-Butyl-2-oxazolin (**BuOx**) (Abbildung 4.23) dargestellt. Bei gleichbleibender Kettenlänge verschiebt eine Erhöhung des Anteils an 2-*n*-Butyl-2-oxazolin die HLB in Richtung höherer Hydrophobie und erlaubt somit eine feinere Einstellung und Kontrolle der Grenzflächeneigenschaften der Polymere als dies durch einen vollständigen Austausch eines Monomers gegen ein anderes, hydrophoberes zu erwarten ist.

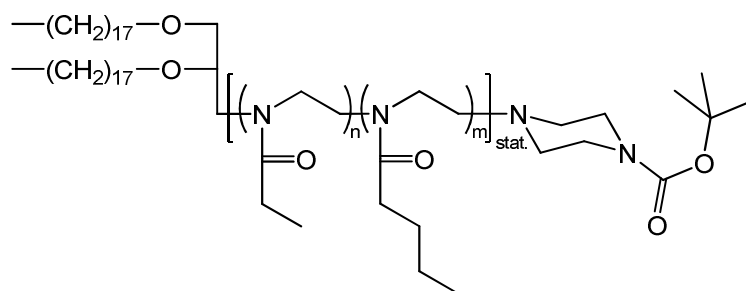


Abbildung 4.23: Statistisches Lipocopolymer, basierend auf Dioctadecylinitiator, EtOx, nBuOx, und 1-Boc-piperazin.

Die Synthese der Lipocopolymere erfolgte ausgehend vom Dioctadecylinitiator. Durch gleichzeitige Zugabe beider Monomere in den gewünschten Proportionen wurden statistische Lipocopolymere dargestellt. Termination wurde stets mit 1-Boc-piperazin vorgenommen, um eine nachträgliche polymeranaloge Modifikation der Polymere zu ermöglichen. Eine Übersicht über die dargestellten Verbindungen ist in Tabelle 4.8 gegeben.

Tabelle 4.8: Statistische Lipocopolymere mit analytischen Daten.

#	Polymer	¹ H-NMR			GPC	
		DP _{EtOx}	DP _{n-BuOx}	M _n [g/mol]	M _n [g/mol]	PDI
334	diC ₁₈ EtOx ₂₃ BuOx ₂ BocPip	23	2	3300	4145	1,09
335	diC ₁₈ EtOx ₄₈ BuOx ₂ BocPip	48	2	5778	7273	1,09
476	diC ₁₈ EtOx ₈₁ BuOx ₃ BocPip	81	3	8680	11943	1,04
475	diC ₁₈ EtOx ₄₁ BuOx ₈ BocPip	41	8	5833	7106	1,08
460	diC ₁₈ EtOx ₃₇ BuOx ₁₃ BocPip	37	13	6087	6790	1,12

Zunächst wurde der Anteil des hydrophoberen Monomers BuOx konstant bei zwei Einheiten gehalten, während dabei die Gesamtkettenlänge variiert wurde. Weiterhin wurde bei einem festgelegten Polymerisationsgrad von 50 der Quotient zwischen beiden Oxazolinbausteinen geändert. Auf diese Weise wurde eine Reihe von Copolymeren mit abgestufter Hydrophilie erhalten. Der Polymerisationsgrad bezüglich der jeweiligen Monomere wurde durch Endgruppenanalyse mittels ¹H-NMR spektroskopischer Daten durch die Integralverhältnisse der Methylprotonen in den Seitenketten zu den Protonensignalen an den Kopfgruppen ermittelt (Abbildung 4.24). Da sich die Signale der *n*-Butyl Protonen mit den Methylgruppen am Lipid überlagern, wurden hierbei vor der Bestimmung von DP_{BuOx} die entsprechenden Integralwerte abgezogen. Zur Kontrolle wurde die Summe der für beide Monomere errechneten Werte mit den Integralen der Protonen der Polymerhauptkette auf Übereinstimmung verglichen.

Die mittels GPC erhaltenen Werte für die mittleren Molekulargewichte sind auf Grund des bedingt vergleichbaren Kalibrierstandards etwas zu hoch eingeschätzt. Die Molmassenverteilungen waren durchwegs eng, wie es für Copolymere zu erwarten ist, die gemäß eines lebenden Polymerisationsmechanismus aus statistisch miteinander polymerisierbaren Monomeren dargestellt wurden.

Mittels MALDI-TOF-MS konnten für diese Verbindungen keine brauchbaren Ergebnisse erhalten werden. Aus vorgehenden Untersuchungen ist bekannt, dass Poly(2-oxazolin) basierte Copolymere unter den Bedingungen der MALDI-TOF Massenspektroskopie nur schwer ionisierbar sind und selten interpretierbare Spektren liefern.^[199]

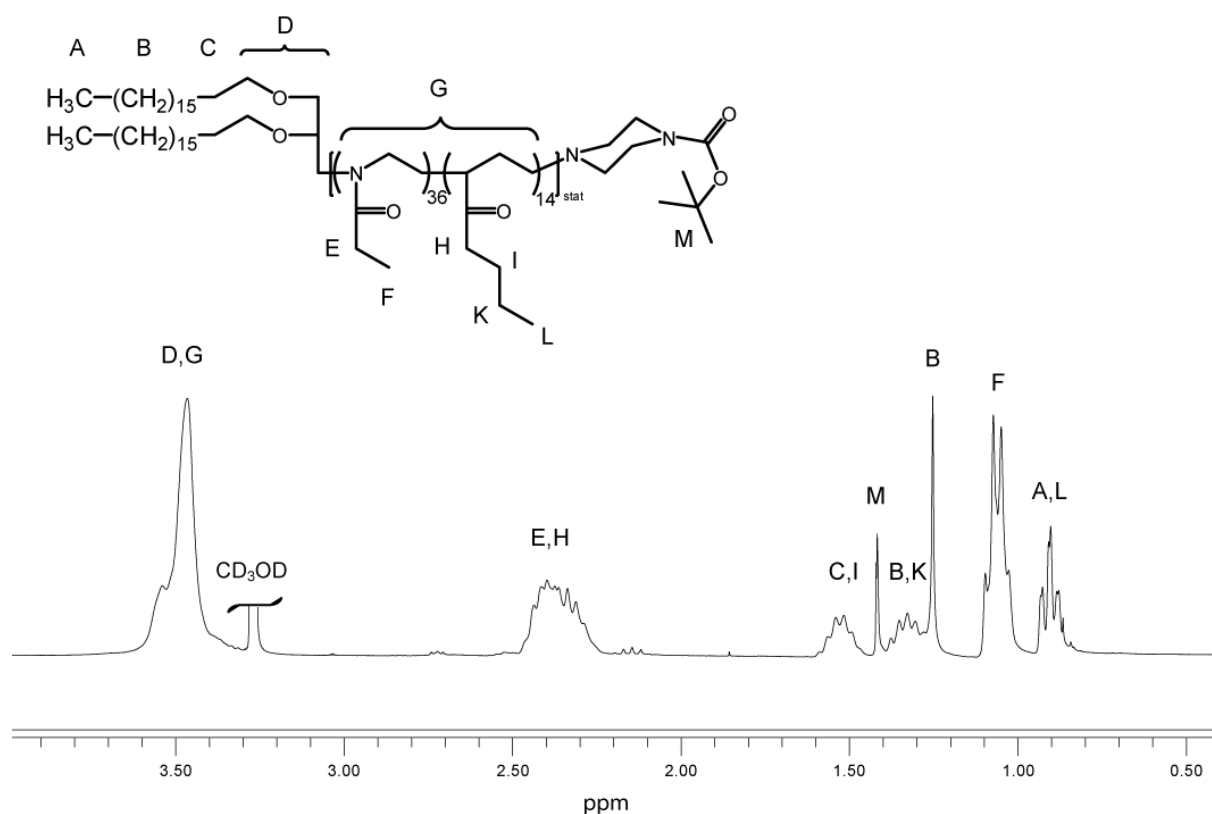


Abbildung 4.24: 1H -NMR Spektrum von $diC_{18}EtOx_{36}BuOx_{14}BocPip$ in CD_3OD .

4.2.4 Polymeranaloge Reaktionen

4.2.4.1 Entfernung der Schutzgruppen

Die so dargestellten, mit 1-Boc-Piperazin terminierten und auf monofunktionalen Lipiden basierenden Lipopolymere wiesen nach erfolgter Darstellung eine funktionale Gruppe am terminalen Ende auf, welche weiter polymeranalog umgesetzt werden konnte. Um die endständige sekundäre Aminofunktion chemisch zugänglich zu machen, musste zunächst die Boc-Schutzgruppe entfernt werden. Dies musste unter Bedingungen geschehen, welche die übrige Polymerstruktur unberührt ließen. Dabei wurde nach einer in der Literatur berichteten Methode, welche die Entfernung dieser Schutzgruppe explizit von Poly(2-oxazolin)en beschreibt, vorgegangen.^[116, 200] Hierin wurde eine aus der Peptidchemie bekannte Vorschrift zur Spaltung von *tert.*Butylcarbamaten modifiziert. Unter Einsatz eines Reagens, bestehend aus Trifluoressigsäure, Triisobutylsilan sowie Wasser in Volumenverhältnissen von 95 / 2,5 / 2,5 konnte quantitative Abspaltung der Boc-Gruppe beobachtet werden, ohne dabei unerwartete Nebenreaktionen, wie etwa die Hydrolyse der Amidseitenketten, am Polymer auszulösen (Abbildung 4.25, Methode A).

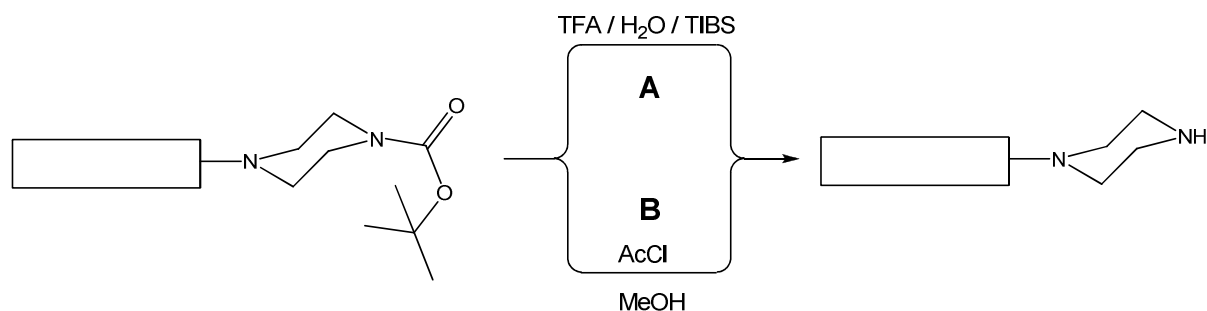


Abbildung 4.25: Entfernung der Boc-Schutzgruppe von Poly(2-oxazolin)en.

Darüber hinaus wurde zu diesem Zweck ein weiterer Reaktionsweg, unter Verwendung von Propionylchlorid in trockenem Methanol bei Raumtemperatur, entwickelt (Abbildung 4.25, Methode B). Durch Methanolyse des Carbonsäurechlorids entsteht dabei HCl *in situ* als aktive Spezies, wodurch ebenfalls eine quantitative Entfernung der Schutzgruppe erreicht wurde. Hintergrund und Mechanismus dieser Reaktion werden detaillierter in Kapitel 4.4.4 diskutiert. Eine repräsentative Übersicht über Lipopolymere, die unter diesen Bedingungen umgesetzt wurden, ist in Tabelle 4.9 gegeben.

Tabelle 4.9: Analytische Daten zu Lipopolymeren nach Entfernung der Boc-Schutzgruppe.

#	Polymer	Methode	DP (EtOx)	¹ H-NMR		GPC	
				DP (<i>n</i> -BuOx)	M _n [g/mol]	M _n [g/mol]	PDI
346	diC ₁₈ EtOx ₄₈ Pip	A	48	-	5424	7603	1,03
502	diC ₁₈ EtOx ₃₆ BuOx ₁₄ Pip	A	37	13	6107	8469	1,07
347	diC ₁₈ EtOx ₅₀ Pip	B	50	-	5223	7795	1,05
349	diC ₁₈ EtOx ₂₃ BuOx ₂ Pip	B	26	2	3569	4509	1,09

Durch ¹H-NMR Spektroskopie konnte die quantitative Entfernung der Schutzgruppe bestätigt werden. Die Signale der *tert.*Butylgruppe, welche im Substrat bei $\delta = 1,44$ ppm beobachtet wurden, waren im Reaktionsprodukt nicht mehr zu erkennen. Weiterhin verblieb das Verhältnis der Integrale der Protonen der Polymerhauptkette zu jenen der Seitenketten konstant, was darauf schließen lässt, dass keine Hydrolyse der Amidbindungen am Poly(2-oxazolin) während der Reaktion stattfand. Die gefundenen Polymerisationsgrade bestätigen die bereits für die Ausgangsverbindungen ermittelten. Die aus den GPC Elugrammen bestimmten Molmassenverteilungen weisen eine niedrige Polydispersität auf. Dies lässt darauf schließen, dass unter den gegebenen Bedingungen kein Abbau der Hauptkette des Polymers auftrat.

Tabelle 4.10: Über MALDI-TOF-MS erhaltene analytische Daten zu Lipopolymeren nach Entfernung der Boc-Schutzgruppe.

#	Polymer	Methode	DP	MALDI-TOF-MS	
				M_n [g mol^{-1}]	PDI
346	diC ₁₈ EtOx ₄₈ Pip (A)	A	45	5167	1,01
502	diC ₁₈ EtOx ₃₆ BuOx ₁₄ Pip	A	-	-	-
347	diC ₁₈ EtOx ₅₀ Pip (B)	B	49	5449	1,01
349	diC ₁₈ EtOx ₂₃ BuOx ₂ Pip	B	-	-	-

Die über MALDI-TOF-MS erhaltenen Spektren wiesen ebenfalls schmale, monomodale Verteilungen auf, welche den gewünschten Produkten zugeordnet werden konnten. Die Daten sind in Tabelle 4.10 gegeben. Hydroxyterminierte Lipopolymere, welche noch zuvor in den Spektren der Substrate primär vertreten waren, konnten nur noch im Falle von diC₁₈EtOx₅₀Pip (A) in Spuren beobachtet werden. In den übrigen Fällen konnte dieser Befund dagegen überhaupt nicht mehr festgestellt werden, was abermals die zuvor anhand der ¹H-NMR Spektren der Substrate aufgestellte These stützt, dass es sich bei den hydroxyterminierten Polymeren nur um eine im MALDI-TOF-MS bisweilen stark diskriminierte, unbedeutende Subverteilung handeln kann.

In den Spektren der gemäß Methode B dargestellten Polymere wurde eine marginale Subverteilung festgestellt, welche der Spezies [(M – (COCH₂CH₃)) + Na]⁺ zugeordnet werden konnte, die also den Verlust einer einzigen Polymerseitenkette ausweist. Da keine Verteilung gefunden wurde, bei der eine weitere Amidbindung hydrolysiert wurde und auch im ¹H-NMR dieser Verlust nicht nachweisbar war, wurde auch hier gefolgert, dass es sich auch nicht um eine bedeutende Nebenreaktion handeln konnte. Somit genügten beide Methoden den gestellten Anforderungen zur Entfernung der Boc-Schutzgruppe. Bei eventuell auftretenden Nebenprodukten konnte es sich jeweils nur um Spuren handeln. In keinem Fall wurde ein Abbau der umgesetzten Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymere beobachtet.

4.2.4.2 Fluoreszenzmarkierung

Um die chemische Reaktivität der nach Entfernung der Schutzgruppen zugänglich gewordenen terminalen sekundären Aminofunktionen zu demonstrieren, wurden die Polymere am Piperazinrest weiter modifiziert. Als Modellreaktion wurde hierfür die Umsetzung mit

dem Fluoreszenzfarbstoff Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC) gewählt (Abbildung 4.26). Nach einer modifizierten Vorschrift wurde dabei wie folgt vorgegangen.^[87, 201] Nach der Entfernung der Schutzgruppe wurde das Polymer in Acetonitril gelöst und in Gegenwart von Kaliumcarbonat als Base mit einem Überschuss des Farbstoffes versetzt. Nach Rühren über drei Tage unter Lichtausschluss wurde die Reaktionsmischung im Hochvakuum vollständig getrocknet.

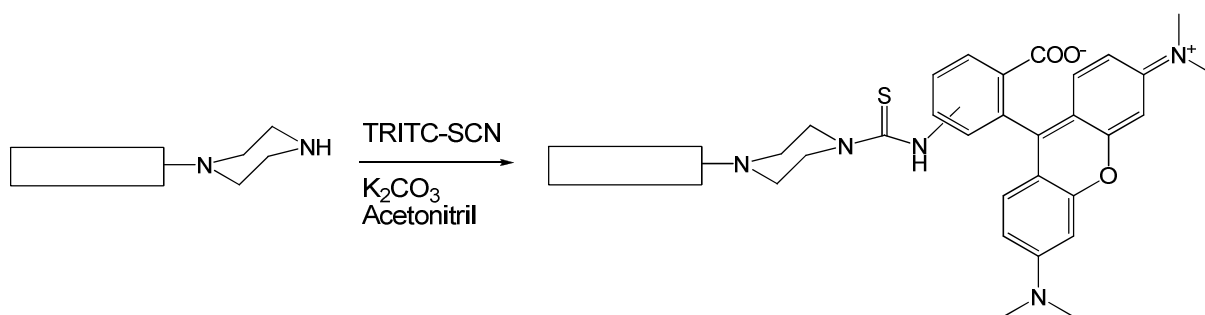


Abbildung 4.26: Funktionalisierung eines mit Piperazin terminierten Polymers mit Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC).^[201]

Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und das gewünschte Produkt chromatographisch (Sephadex) als gut zu erkennende rote Bande von überschüssigem Reagens isoliert. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als stark rotviolett gefärbtes Pulver erhalten. Die so erhaltenen fluoreszenzmarkierten Polymere wurden mittels $^1\text{H-NMR}$ und GPC charakterisiert. Eine Analyse mittels MALDI-TOF Massenspektroskopie war nicht möglich, da es sich beim nun kovalent ans Polymer angebondenen TRITC um ein Zwitterion handelte. Auf diese Weise wurden ausschließlich Lipopolymere, basierend auf Dioctadecylendgruppen mit einer Poly(2-ethyl-2-oxazolin) - Kette von jeweils 50 Wiederholungseinheiten, dargestellt. In Tabelle 4.11 ist die erhaltene Analytik für ein typisches, so erhaltenes fluoreszenzmarkiertes Lipopolymer gegeben.

Tabelle 4.11: Ergebnisse der Umsetzung eines Lipopolymers nach Entfernung der Boc-Schutzgruppe mit TRITC.

#	Polymer	Ausbeute [%]	$^1\text{H-NMR}$		GPC	
			DP	M_n [g/mol]	M_n [g/mol]	PDI
412	diC ₁₈ EtOx ₅₀ PipTRITC	72	53	5378	8167	1,20

Der Erfolg der polymeranalogen Reaktion konnte mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie nachgewiesen werden. In Abbildung 4.27 sind im Reaktionsprodukt neben den Signalen des Polymers die der aromatischen Protonen am TRITC zu sehen, jedoch von zu schwacher Intensität, als dass eine aussagekräftige Integration über diese möglich wäre. Die Signale der Methylprotonen überlagern sich mit den restlichen Signalen des Polymers und schieden somit ebenfalls als Referenz für die Endgruppenanalyse aus. Stattdessen konnte die Modifikation des Lipopolymers durch die quantitative Signalverschiebung der Protonen der Piperazinendgruppe nachgewiesen werden. Diese waren im Substrat aufgrund einer Überlagerung mit den Polymersignalen nicht beobachtbar und traten nun bei $\delta = 2,9$ ppm auf. Dadurch konnte gefolgert werden, dass die Derivatisierung des entschützten Polymers mit TRITC wie gewünscht verlief. Somit konnte auch die chemische Verfügbarkeit der durch die Entfernung der Schutzgruppen zugänglich gewordenen terminalen Aminofunktion der Lipopolymere gezeigt werden.

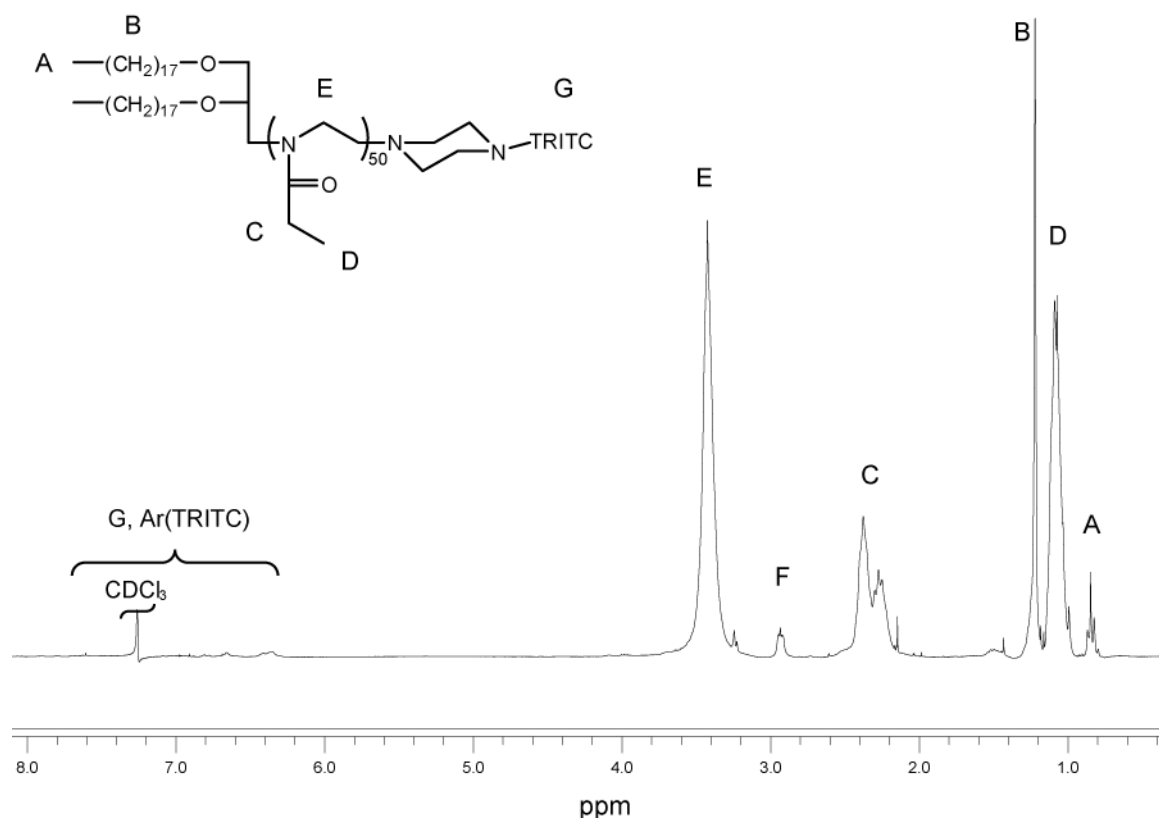


Abbildung 4.27: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von $\text{diC}_{18}\text{EtOx}_{50}\text{PipTRITC}$.

4.3 SYMMETRISCHE LIPOPOLYMERE, BASIEREND AUF BIFUNKTIONALEN LIPIDEN

4.3.1 Strukturvariabilität von auf bifunktionalen Lipiden basierenden Lipopolymeren

Wie bereits diskutiert, eignen sich monofunktionale Lipoinitiatoren zur Synthese von „AB“-Lipopolymeren, die sich aus einer hydrophoben Lipidkopfgruppe und einer hydrophilen Polymerkette zusammensetzen. Durch Umsetzung von bifunktionalen Initiatoren mit 2-Oxazolinen lassen sich dagegen bolaamphiphile „ABA“-Triblocklipopolymere darstellen. Zu den bekannten Eigenschaften von Vertretern derartiger Verbindungen gehört die selbstorganisierte Anordnung in wässrigem Medium zu vesikulären Aggregaten, die eine deutlich höhere Stabilität aufweisen können, als jene, die aus „AB“-Lipopolymeren aufgebaut sind.^[178-182, 202] Der Grund dafür liegt darin, dass das Triblockcopolymer bereits an beiden Enden mit hydrophilen Resten funktionalisiert vorliegt, so dass in diesem Fall zum Aufbau einer Membran keine zweite Lipid- bzw. Lipopolymerschicht mehr benötigt wird.

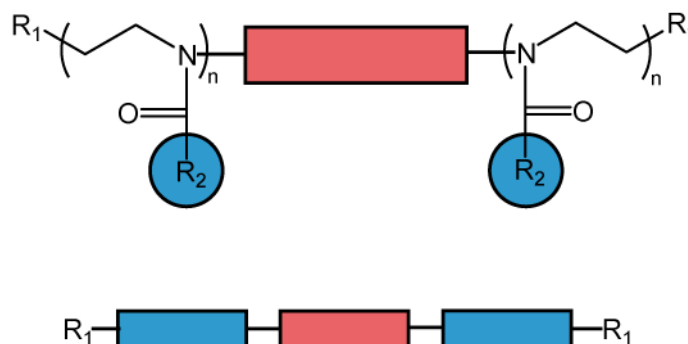


Abbildung 4.28: Schematische Darstellung eines Poly(2-oxazolin)-basierten ABA Lipopolymers mit funktionalen Endgruppen.

Die kationische Ringöffnungspolymerisation von 2-Oxazolinen eignet sich wiederum besonders zum Aufbau von „ABA“-Blockpolymeren, da diese eine hohe Variabilität der resultierenden Polymerstrukturen ermöglicht. In diesem Fall findet Kettenwachstum, ausgehend vom Initiator, in beide Richtungen statt. Daher unterscheiden sich die so synthetisierten Polymere deutlich in ihrer Struktur von den zuvor beschriebenen (vgl. Abbildung 4.28). R₁ steht hier für den hydrophoben Block „B“ und wird entsprechend über den bifunktionalen Initiator eingeführt. Weitere Bausteine sind die Monomere, aus welchen sich die hydrophilen Blöcke „A“ zusammensetzen (Variation an R) sowie die

Terminationsreagenzien (R_2). Um Blockcopolymere darzustellen, die in wässriger Lösung stabile Aggregate bilden, wird abermals eine geeignete HLB erfordert. Die Monomere 2-Methyl-2-oxazolin und 2-Ethyl-2-oxazolin eignen sich wiederum aufgrund ihrer Hydrophilie besonders gut zur Darstellung bolaamphiphiler „ABA“ Triblockcopolymere.

4.3.2 Darstellung bifunktionaler Lipidinitiatoren

Als Initiatoren wurden, wie zuvor, auf Grund der hohen Initiationsgeschwindigkeit k_i , Trifluormethansulfonate entsprechender Lipidverbindungen gewählt. Die Umsetzung erfolgte analog der Vorschrift für die monofunktionalen Lipidinitiatoren. Die verwendeten Lipide bzw. hydrophoben Blöcke wiesen keine funktionellen Gruppen auf, die inkompatibel zur lebenden kationischen Polymerisation der 2-Oxazoline sind. Die Synthese symmetrischer Lipopolymere war vorrangig auf die Funktionalisierung des natürlichen Lipids Caldarchaeol hin orientiert. Da dieser Naturstoff jedoch nur in äußerst geringen Mengen zur Verfügung stand, wurde zunächst die Synthese an geeigneten Modellsystemen entwickelt.

4.3.2.1 PDMS Diinitiator [α,ω -bis(3-Trifluormethansulfonylpropyl)-poly(dimethylsiloxan)]

Bei diesem Initiator handelt es sich um das Trifluormethansulfonat eines kommerziell erhältlichen PDMS-Telecheles. Poly(dimethylsiloxan) stellt auf Grund seiner hohen Hydrophobie ein geeignetes Mimetikum für das Lipid Caldarchaeol dar. Ferner zeigen beide Strukturen nur eine geringe Neigung zur Kristallisation in Lipidschichten.^[178-182, 202] Bei der Wahl eines geeigneten PDMS Polymers war zu beachten, dass dieses keine Silanolfunktionen (d.h. Si-OH Bindungen) enthielt, welche nach deren Triflatisierung zu Abbaureaktionen neigen. Aus selbigem Grund durften diese auch keine Si-O-C Bindungen aufweisen, da sich diese als instabil gegenüber Lewis-Säuren erweisen. Folglich wurden Oligomere von α,ω -bis(3-Hydroxypropyl)-oligo(dimethylsiloxan) mit einem mittleren Polymerisationsgrad von 10 Wiederholungseinheiten verwendet, welche terminale Carbinolfunktionen (d.h. C-OH Bindungen) aufwiesen (Abbildung 4.29).

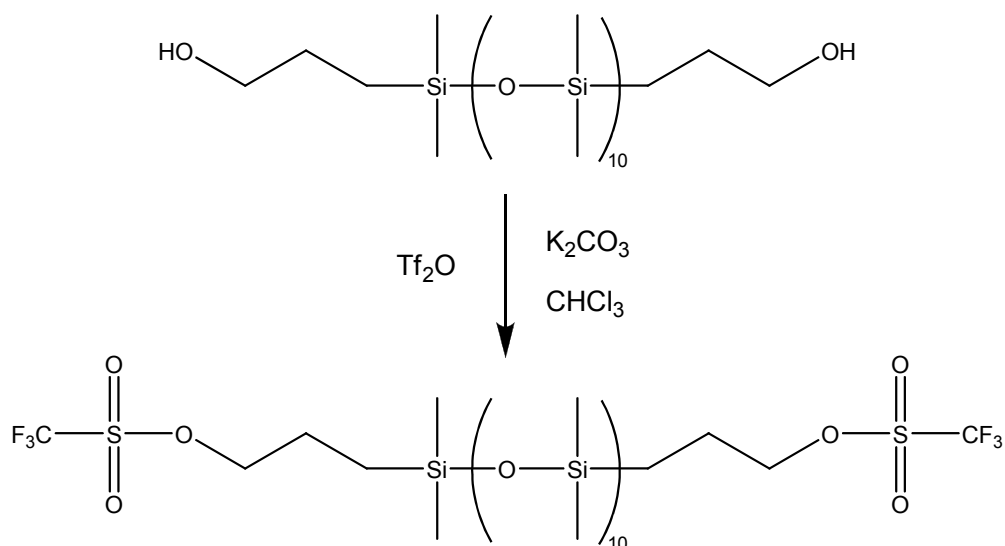


Abbildung 4.29: Termination von Carbinol-terminierten PDMS-Oligomeren.

Die zuvor gründlich getrockneten Oligomere wurden durch Umsetzung mit einem Überschuss an Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tf_2O) in die korrespondierenden Sulfonate überführt. Nach Filtration und Entfernung von überschüssigem Reagens und Lösungsmittel erhielt man den gewünschten Initiator als klares Öl. Auf Grund der chemischen Instabilität des Initiators wurde dieser direkt für die folgenden Polymerisationen eingesetzt.

4.3.2.2 Dodecyldiinitiator (1,12-Dodecyltrifluormethansulfonat)

Der Naturstoff Caldarchaeol lag nur in sehr geringen Mengen vor, weshalb damit nur im Mikromaßstab sowie bei der anschließenden Polymerisation nur unter hohen Verdünnungen gearbeitet werden konnte. Deshalb wurde mit einem weiteren geeigneten Modellsystem gearbeitet, um die optimalen Reaktionsparameter zu ermitteln.

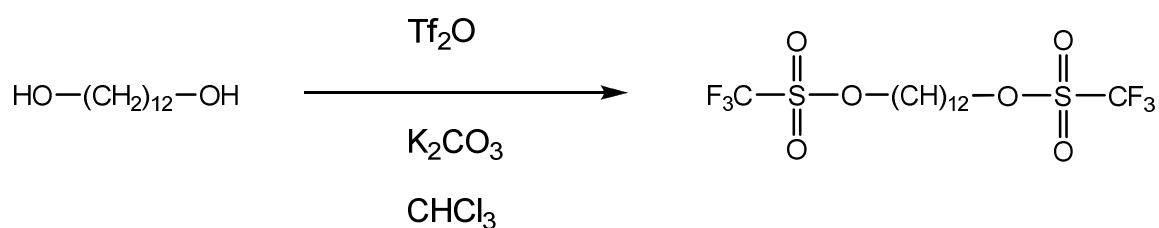


Abbildung 4.30: Darstellung von 1,12-Dodecanetrifluormethansulfonat.

Hierfür wurde das Trifluormethansulfonat des kommerziell erhältlichen 1,12-Dodecandiols gewählt (Abbildung 4.30). Die Verbindung liegt als Feststoff vor und konnte somit, im Gegensatz zu den PDMS-Oligomeren, leichter durch Gefriertrocknung von Spuren an

Wassern und Verunreinigungen befreit werden. Dies war von Bedeutung, da bereits geringe Kontaminationen die kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen, vor allem bei Arbeiten im Mikromaßstab, empfindlich behindern können. Durch Reaktion mit Tf_2O konnte der gewünschte Initiator in quantitativer Ausbeute erhalten werden, was mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie erfolgreich bestätigt wurde.

4.3.2.3 Caldarchaeoldiinitiator

Als membranspannendes, natürliches Lipid wurde Caldarchaeol als Grundlage für den Aufbau amphiphiler Blockcopolymere gewählt. Es wurde hierfür als geeignet betrachtet, da es wie oben bereits erwähnt, archaebakteriellen Zellmembranen außerordentliche Stabilität verleiht.

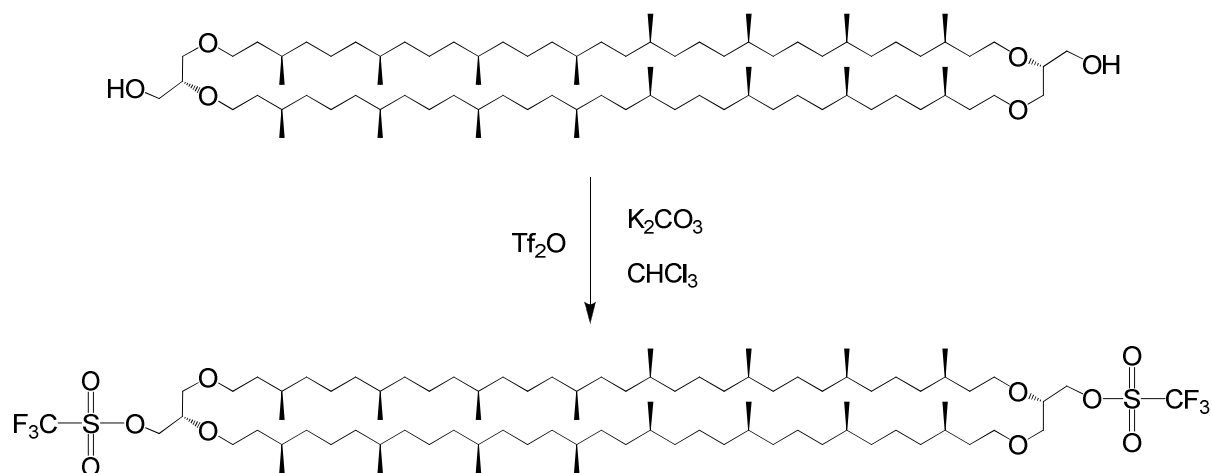


Abbildung 4.31: Darstellung des Caldarchaeoldiinitiators.

Analog der für den PDMS Initiator beschriebenen Vorgehensweise wurde die quantitative Umsetzung beider Hydroxyfunktionen des Caldarchaeols in die entsprechenden Triflate erreicht und das gewünschte Produkt als bräunliches Öl erhalten (Abbildung 4.31). Dessen Reinheit wurde vor der anschließenden Umsetzung mittels $^1\text{H-NMR}$ durch das Auftreten der vier Methylenprotonen zwischen $\delta = 4.4 - 4.7$ ppm erfolgreich nachgewiesen (Abbildung 4.32).

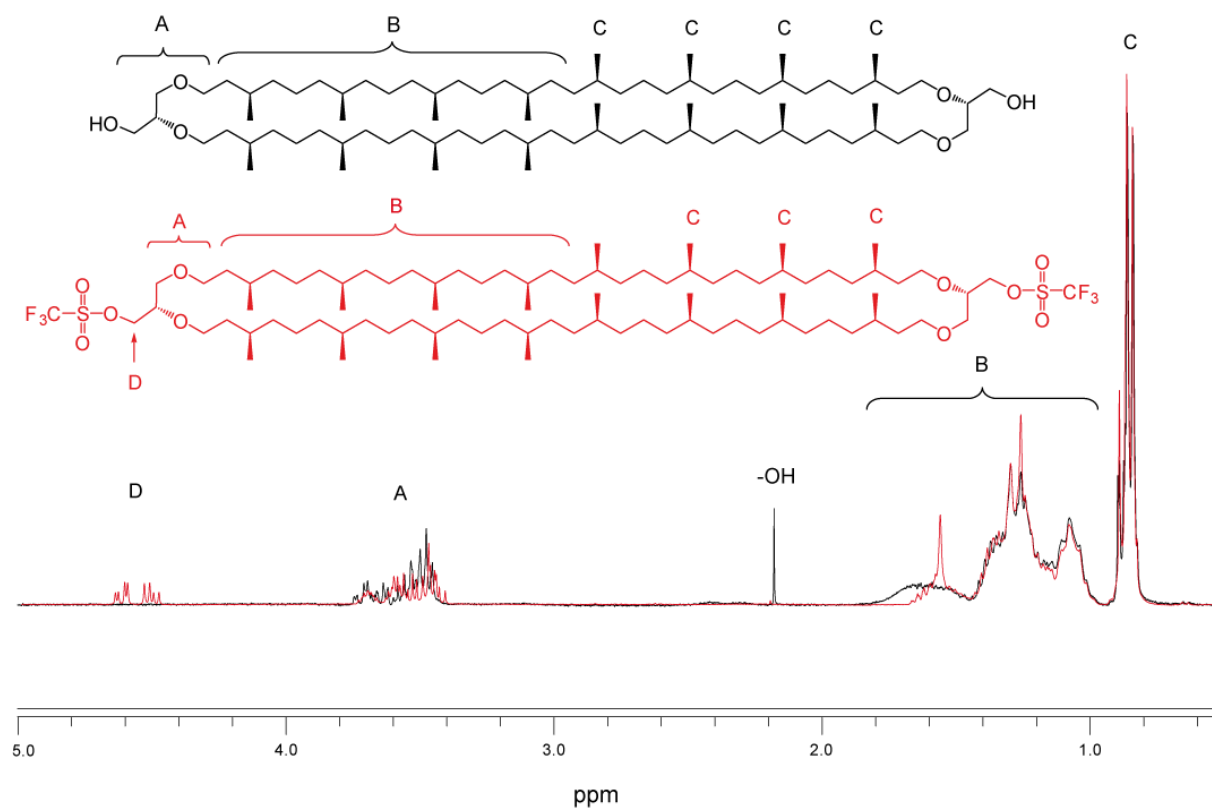


Abbildung 4.32: ^1H -NMR Spektren von *Caldarchaeol* und *Caldarchaeoldiinitiator*.

4.3.3 Polymerisation von 2-Oxazolinen

Die Polymerisation von 2-Oxazolinen mit bifunktionalen Lipoinitiatoren erfolgte nach einer analogen Vorgehensweise, wie bereits für die monofunktionalen Lipopolymere beschrieben.

4.3.3.1 Oligo(dimethylsiloxan)-haltige Lipopolymere

Gemäß diesem Verfahren wurde zunächst der PDMS-Initiator zur Synthese symmetrischer Lipopolymere eingesetzt. Als Monomere dienen 2-Methyl-2-oxazolin sowie das etwas hydrophobere 2-Ethyl-2-oxazolin (Abbildung 4.33). Letzteres wurde verwendet, um amphiphile Copolymere von leicht hydrophoberer HLB darzustellen, welche eine *lower critical solution temperature* aufweisen sollten. Um die beabsichtigten Reaktionsprodukte zu erhalten, mussten die Polymerisationen ausschließlich thermisch durchgeführt werden. Bei mikrowellenunterstützte Reaktionsführung wurden Polymere mit breiten, polymodalen Massenverteilungen erhalten (GPC), was vermutlich auf Abbaureaktionen an der PDMS-Kette zurückzuführen ist.

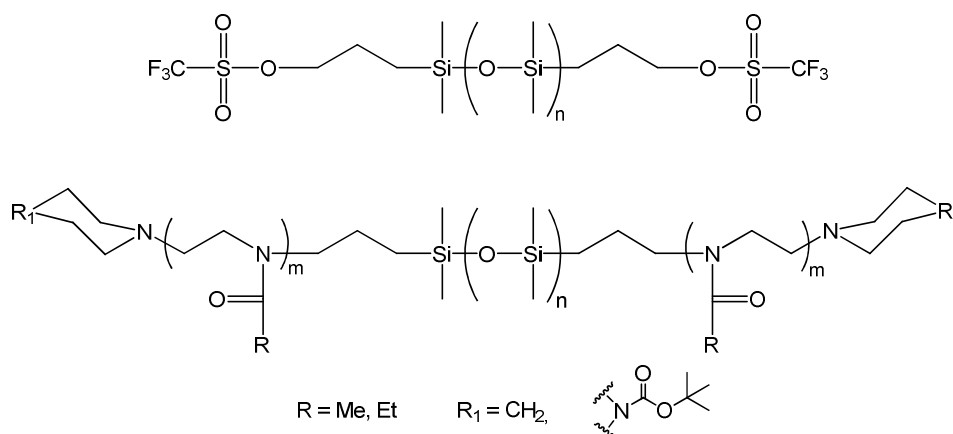


Abbildung 4.33: Struktur der dargestellten PDMS und Poly((2-oxazolin)-b-ODMS-b-(2-oxazolin)) ABA-Copolymere.

Die Entfernung des überschüssigen Abbruchreagens Piperidin gestaltete sich schwieriger als im Vorfeld erwartet, da davon, auch nach mehrmaliger Fällung in kaltem Petrolether, immer noch Spuren im $^1\text{H-NMR}$ beobachtet werden konnten. Letzte Reste an Piperidin konnten auch durch Gefriertrocknung des zuvor neutralisierten Polymers aus trockenem Benzol nicht entfernt werden. Das Problem konnte jedoch durch Aufreinigung der entsprechenden Polymere mittels Dialyse gelöst werden. Hierfür wurde eine Mischung aus Wasser und Methanol (1 : 1 vol-%) gegenüber reinem Wasser bevorzugt verwendet, um die Bildung von Aggregaten durch die stark grenzflächenaktiven Makromoleküle zu verhindern. Eine Übersicht über die so gewonnenen Polymere ist in Tabelle 4.12 gegeben.

Tabelle 4.12: Übersicht über dargestellte Poly((2-ethyl-2-oxazolin)-b-PDMS-b-(2-ethyl-2-oxazolin)) Lipopolymere.

#	Polymer	$^1\text{H-NMR}$		GPC	
		DP_{total}	M_n [g/mol]	M_n [g/mol]	PDI
429	PiperidinEtOx ₁₃ PDMS ₁₀ EtOx ₁₃ Piperidin	26	3581	4828	1,24
442	BocPipEtOx ₂₆ PDMS ₁₀ EtOx ₂₆ BocPip	55	6353	6592	1,19
417	PiperidinEtOx ₆₀ PDMS ₁₀ EtOx ₆₀ Piperidin	120	13294	7175	1,14

Eine Charakterisierung des Produkts mittels MALDI-TOF-MS war, aufgrund der für Copolymere typischen Vielzahl an Signalen sowie des geringen Signal / Rausch-Verhältnisses der Spektren nicht näher möglich. Jedoch konnte zwischen den einzelnen Massesignalen ein Abstand, der der Masse einer Monomereinheit entspricht, beobachtet werden.

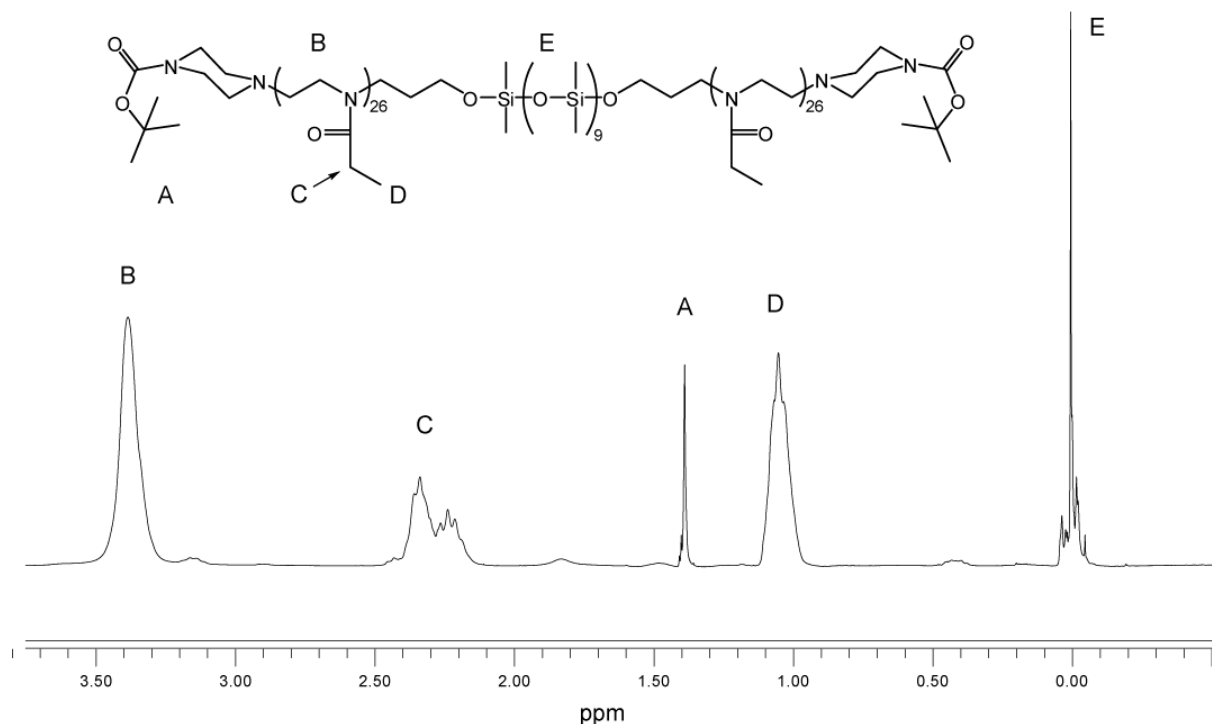


Abbildung 4.34: ¹H-NMR Spektrum des Polymeres BocPipEtOx₂₅PDMS₁₀EtOx₂₅BocPip.

Ein typisches ¹H-NMR Spektrum von BocPipEtOx₂₅PDMS₁₀EtOx₂₅BocPip ist in Abbildung 4.34 gegeben. Es besteht gute Übereinstimmung zwischen beabsichtigtem und bestimmten Polymerisationsgrad. Die Integrale der PDMS-Kette und der Endgruppen stehen im erwarteten Verhältnis. Neben den Signalen der Polymerhaupt- und Seitenketten sowie der Endgruppen wurden keine weiteren Signale von Nebenprodukten beobachtet. Weiterhin sind die über GPC erhaltenen Molmassenverteilungen monomodal und - unter Berücksichtigung der bereits im Initiator vorhandenen Massenverteilung - von durchwegs geringer Polydispersität und korrelieren, außer im Fall des Polymeres mit der größten Kettenlänge, gut mit den aus der Endgruppenanalyse errechneten Werten. Diese Befunde legen nahe, dass Initiation nur über die gewünschte Initiatorspezies und Termination ausschließlich durch das gewünschte Abbruchreagens stattfand. Somit gelang die Darstellung der gewünschten Polymere in hoher Reinheit.

4.3.3.2 Dodecylinitiator-basierte Lipopolymere

Für die Umsetzung des limitiert vorhandenen Naturstoffes Caldarchaeol musste eine Reduzierung des Maßstabs der zuvor beschriebenen Polymerisationsreaktion hin zu möglichst kleinen Ansatzgrößen erreicht werden. Zu diesem Zweck wurden deshalb zunächst die Reaktionsparameter anhand von Versuchsreihen mit dem leichter zugänglichen Dodecylidiinitiator variiert und optimiert.

Aus den Erfahrungen wurde das kleinstmöglich handhabbare Reaktionsvolumen für die Polymerisation von 2-Oxazolinen auf 1 mL befunden. Die thermischen Polymerisation von 2-Oxazolinen wurde bisher bei einer Konzentration von ~ 0,1 mmol/mL durchgeführt. Bezogen auf Caldarchaeol würde dies einer Mindesteinsatzmenge von 98 mg entsprechen, einem Wert, der, gemessen an der geringen Verfügbarkeit dieses Lipids, nicht akzeptabel ist. Vielmehr wurde eine Menge von 35 – 50 mg des Naturstoffes als vertretbare Obergrenze festgesetzt. Dies entspricht bei einem Ansatzvolumen von 1 mL einer Konzentration von 36 – 52 $\mu\text{mol/mL}$ bezüglich der Initiatorfunktionen. Um ausreichend hohe Reaktionsgeschwindigkeiten zu erhalten, sollten die Polymerisationen im Mikrowellenfeld durchgeführt werden, zunächst unter denselben Parametern wie für die Lipohomopolymersynthese angewandt, allerdings nun bei Konzentrationen von 46 $\mu\text{mol/mL}$. Aufgrund der durch die geringen Reaktionsvolumina bedingten relativ niedrigen Füllstände der Reaktionsgefäße war es nicht möglich, die Temperaturen jener vorherigen Versuche zu erreichen. Verstärkung der Mikrowellenleistung führte zwar zur Temperaturerhöhung, jedoch auch zum Auftreten von Nebenreaktionen wie anhand der polymodalen Massenverteilungen aus den entsprechenden GPC-Spektren zu erkennen war. Unter Bewahrung der ursprünglichen Feldleistung bei Variation der Reaktionszeiten konnten die Nebenreaktionen vermieden werden. Tabelle 4.13 zeigt eine Übersicht der Reaktionsparameter sowie eine Auswahl von Copolymeren, die auf diese Weise synthetisiert wurden.

In den $^1\text{H-NMR}$ Spektren befanden sich die Integrale der Signale der Alkylprotonen vom Initiatorrest und von den *tert.*Butylprotonen an den Endgruppen im erwarteten Verhältnis. Durch Relation dieser Integrale mit denen der Polymerkette wurde der jeweilige Polymerisationsgrad bestimmt. Wie zu erkennen ist, stieg dieser jeweils mit zunehmender Reaktionsdauer, bis auf 80 % der gemäß dem Verhältnis $[\text{M}]_0/[\text{I}]_0$ erwarteten Werte. Um einen vollständigen Umsatz aller Monomere zu erreichen, wäre eine längere Reaktionszeit erforderlich gewesen. Hiervon wurde jedoch abgesehen, da, nach vorherigen Erfahrungen, die

Entstehung von Nebenprodukten begünstigt wird, die durch polymodale Massenverteilungen in den GPC in Erscheinung treten.

Tabelle 4.13: Ergebnisse für im Mikrowellenfeld von 150 W bei $c = 46 \mu\text{mol/mL}$ in DCM dargestellte Copolymere einer beabsichtigten Gesamtkettenlänge von $[M]_0/[I]_0 = 50$ Wiederholungseinheiten.

#	Polymer	Reaktions- dauer [min]	T _{erreicht} a) [°C]	¹ H-NMR		GPC	
				DP (total)	M _n [g/mol]	M _n [g/mol]	PDI
479	BocPipMeOx ₂₅ C ₁₂ MeOx ₂₅ BocPip	60	60	32	3262	4065	1,20
483	BocPipMeOx ₂₅ C ₁₂ MeOx ₂₅ BocPip	90	70	35	3517	4209	1,11
480	BocPipEtOx _{20,5} C ₁₂ EtOx _{20,5} BocPip	180	74	41	4504	5694	1,07

^{a)} Gegen Ende der Reaktion.

Somit wurde gefolgert, dass auch noch bei einer Reduzierung der Ansatzgröße bis hin zu Reaktionsvolumina von 1 mL bei Konzentrationen von 46 $\mu\text{mol/mL}$ und bei richtiger Wahl der Reaktionsparameter, Poly(2-oxazolin)-basierte Copolymere von hoher Reinheit dargestellt werden konnten. Dies wiederum gestattete die Umsetzung des Caldarchaeoldiinitiators in vertretbaren Mengen. Durch die Tatsache, dass unter diesen Bedingungen kein vollständiger Umsatz erreicht werden konnte, musste die Monomerausgangskonzentration $[M]_0$ entsprechend höher bemessen werden.

4.3.3.3 Caldarchaeollipopolymer

Anhand der aus den Vorversuchen gewonnenen Erkenntnisse wurde der Caldarchaeoldiinitiator umgesetzt. Hierfür wurde der Initiator in 1 mL Dichlormethan gelöst. Nach Zugabe von 50 Äquivalenten 2-Methyl-2-oxazolin erfolgte Polymerisation im Mikrowellenfeld bei einer Leistung von 150 W über 180 min. Aus analogen Experimenten mit dem Dodecylinitiator die im Vorfeld durchgeführt wurden (Kapitel 4.3.3.2), wurde folglich mit einem gesamten Polymerisationsgrad von ungefähr 40 Wiederholungseinheiten gerechnet. Das membranspannende ABA-Lipopolymer wurde in der gängigen Weise aufgearbeitet und mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie untersucht (Abbildung 4.35 und 4.36).

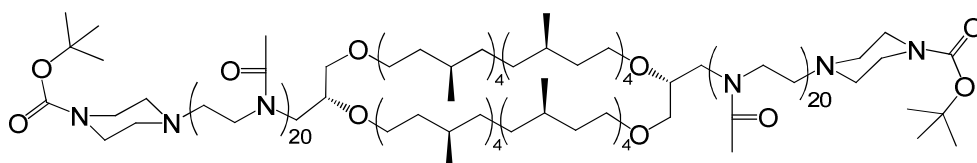


Abbildung 4.35: Dargestelltes Caldarchaeol-basiertes, ABA Lipopolymer.

Die Signale zwischen $\delta = 0,8 - 0,9$ ppm entsprechen den Protonen der Methylgruppen und zwischen $2,4 - 2,6$ ppm den Piperazinprotonen, während die der *tert.*Butylprotonen der Boc-Schutzgruppe bei $1,44$ ppm zu beobachten sind. Die Signale des Lipidblocks, die nicht mit der Polymerhauptkette überlagerten, treten zwischen $1,0 - 1,6$ ppm auf und schließen somit die Signale der Boc-Endgruppe mit ein. Aus diesem Grund wurde über den gesamten Bereich von $1,0 - 1,6$ ppm integriert und auf einen Wert von 122 Protonen kalibriert. Die Signale der Poly(2-methyl-2-oxazolin) Seitenketten sind zwischen $2,4 - 2,6$ ppm zu beobachten, während die der Polymerhauptkette, überlagert mit jenen der Glycidylprotonen, zwischen $3,3 - 3,6$ erscheinen.

Durch den Vergleich der Integralverhältnisse der Lipidprotonen zwischen $1,0 - 1,6$ ppm mit den Protonensignalen an der Hauptkette wurde die mittlere Gesamtkettenlänge ermittelt. Die gute Übereinstimmung zwischen diesen Integralen mit den erwarteten Werten wies wiederum auf die hohe Reinheit des eingesetzten Initiators hin.

Das entsprechende GPC-Eluogramm zeigte eine monomodale Massenverteilung, mit leichtem Nachzug (engl. *tailing*), was vermutlich von Aggregationsprozessen während des Chromatographievorgangs herrührt. Die Enge der Massenverteilung ließ zudem darauf schließen, dass keine Übertragungsreaktionen stattfanden.

Eine Untersuchung des Polymers mittels MALDI-TOF-MS lieferte keine brauchbaren Spektren. Ein möglicher Grund hierfür kann sein, dass die amphiphilen Polymere, bedingt durch deren Neigung zur Aggregatbildung, nicht mit der Matrix kokristallisierten.

Eine Zusammenfassung der spektroskopischen Daten über ein anhand von Caldarchaeoldiinitiator dargestelltes Lipopolymer ist in Tabelle 4.14 gegeben.

Tabelle 4.14: Analytische Daten zu $\text{BocPipMeO}_{x_{20}}\text{CAMEO}_{x_{20}}\text{BocPip}$.

#	Polymer	$^1\text{H-NMR}$		GPC	
		DP_{total}	M_n [g/mol]	M_n [g/mol]	PDI
485	$\text{BocPipMeO}_{x_{20}}\text{CAMEO}_{x_{20}}\text{BocPip}$	41	5043	6871	1.06

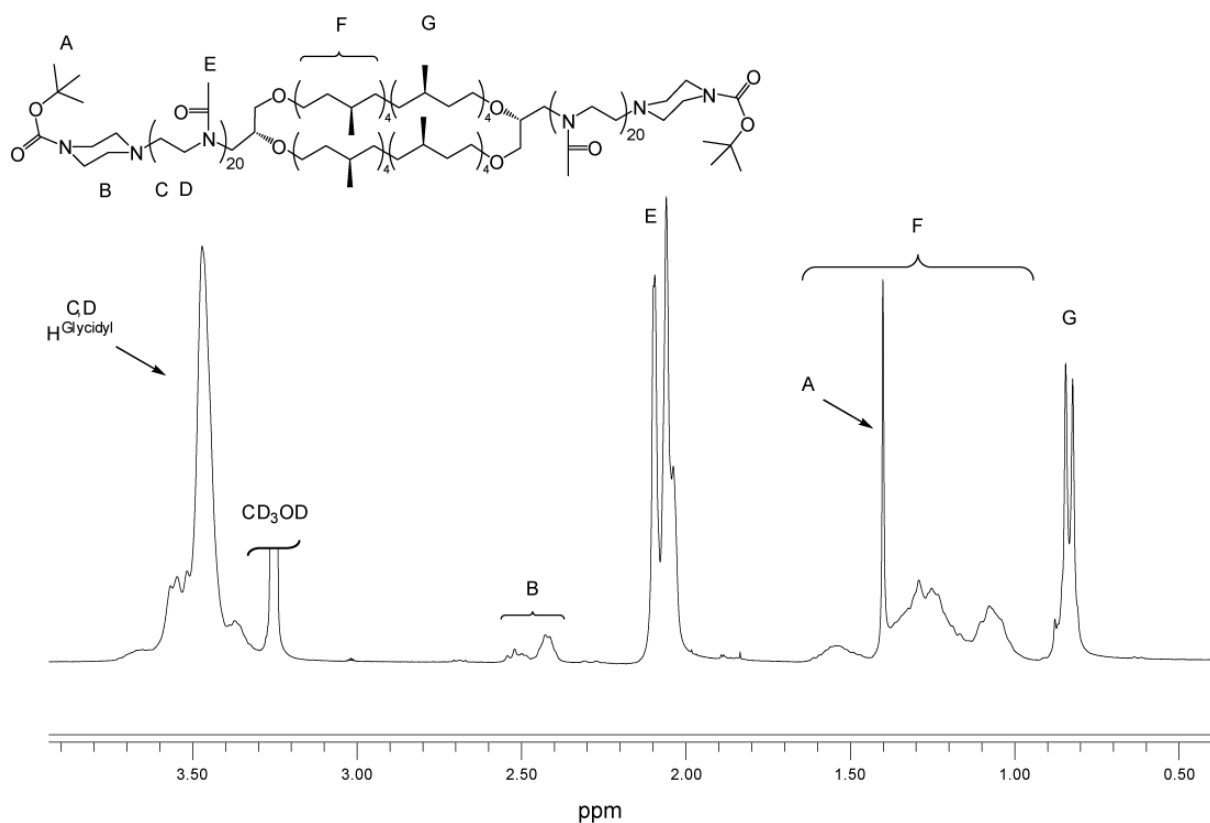


Abbildung 4.36: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von $\text{BocPipMeO}_{x_{20}}\text{CAMEO}_{x_{20}}\text{BocPip}$ in CD_3OD .

4.4 LIPOPOLYMERE BASIEREND AUF ASYMMETRISCH FUNKTIONALISIERTEN LIPIDEN

4.4.1 Synthesestrategie zur Darstellung von Lipopolymeren basierend auf asymmetrisch funktionalisierten Lipiden

Um die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten α,ω -hydroxyfunktionalen Lipide asymmetrisch zu derivatisieren, musste eine geeignete Schutzgruppe gefunden werden, die leicht und in hohen Ausbeuten in die Lipide eingeführt werden konnte

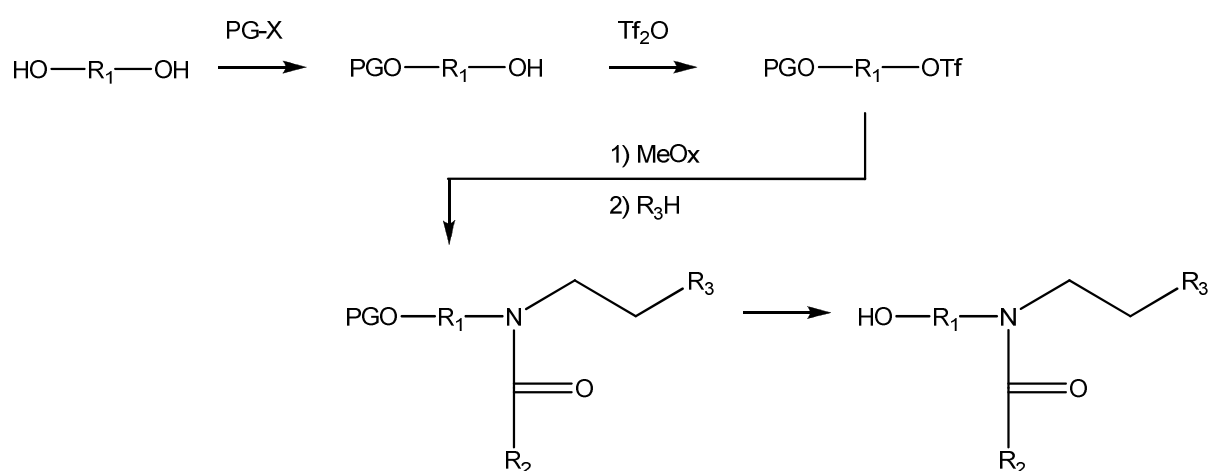


Abbildung 4.37: Generelle Strategie zur Darstellung von mit Poly(2-oxazolin)en asymmetrisch funktionalisierten Diolen.

Die Hauptanforderung an eine geeignete Schutzgruppe war Stabilität gegenüber den Bedingungen während der Initiatorherstellung, ausgehend von den asymmetrisch geschützten Diolen (Abbildung 4.37). Um hohe Initiationsgeschwindigkeiten k_i und damit enge Molmassenverteilungen zu ermöglichen, sollten ausschließlich Triflate eingesetzt werden. Folglich sollte sich eine geeignete Schutzgruppe unter den Bedingungen der Initiatorherstellung inert gegenüber dem Anhydrid der Trifluormethansulfonsäure (Tf_2O) verhalten. Zudem sollte sich die Schutzgruppe auch während der nachfolgenden Polymerisation mit 2-Oxazolinen stabil verhalten; eine Abspaltung der Schutzgruppen und dadurch unerwünschte Nebenreaktionen mit frei gewordenen Hydroxylfunktionen sollten verhindert werden. Als letzten Punkt sollte diese Gruppe nach der Aufarbeitung des Polymers vollständig abspaltbar sein, ohne dabei die Polymerstruktur zu verändern.

4.4.2 Darstellung asymmetrischer Lipoinitiatoren

Um bei der Suche nach einer geeigneten Schutzgruppe keine wertvolleren Lipide zu verbrauchen, sollte hierfür zunächst ein geeignetes kostengünstiges Modellsystem eingesetzt werden. Hierfür wurde 1,12-Dodecandiol gewählt, da es relativ preisgünstig bezogen werden kann. Die meisten bekannten Hydroxylschutzgruppen werden unter mehr oder weniger sauren Bedingungen von Brønstedt- bzw. Lewissäuren abgespalten. Als Hauptproblem erwies es sich, eine Schutzgruppe zu finden, die eine ausreichende Stabilität gegenüber den Bedingungen der Triflatisierung zeigte.

Sämtliche Ester, die gemeinhin als Hydroxyl-Schutzgruppen beschrieben werden, wurden bereits im Vorfeld als generell zu labil gegenüber Acidolyse betrachtet. Deshalb wurden ausschließlich als stabil geltende Schutzgruppen untersucht, welche die OH-Funktion über eine Etherbindung schützen. Deren Strukturen sind in Abbildung 4.38 dargestellt.

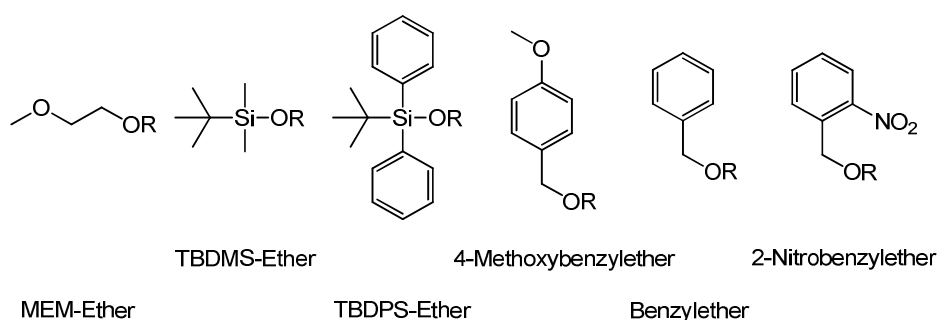


Abbildung 4.38 Untersuchte Schutzgruppen für die Darstellung mit Poly(2-oxazolin)en asymmetrisch funktionalisierten Diolen.

Zu diesem Zweck wurden die säurelabilen Methanoethoxymethylether (MEM), Silylether wie *tert.*Butyldiphenylsilyl Ether (TBDPS) und *tert.*Butyldimethylsilylether (TBDMS) auf ihre Eignung hin überprüft, ebenso der hydrogenolyselabile Benzylether und davon abgeleitete Derivate wie der photolabile 2-Nitrobenzyl Ether und der 4-Methoxyphenyl Ether, der eine selektive Oxidierbarkeit aufweist. 1,12-Dodecandiol wurde mit den entsprechenden Schutzgruppenreagenzien monofunktionalisiert. Die so dargestellten Derivate wurden anschließend auf ihre Anwendbarkeit hin untersucht.

Für die nachfolgende Umsetzung der verbliebenen OH-Funktion mit Tf_2O waren zwei Wege denkbar. Zum einen kann diese Reaktion entweder in Pyridin durchgeführt werden, zum anderen können die entsprechenden Triflate durch Reaktion in aprotischen, unpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform oder Dichlormethan, in Gegenwart von Kaliumcarbonat dargestellt werden. Es wurde der letzte Weg gewählt, da bei diesem keine wässrige Extraktion

des gewünschten Produkts erforderlich war. Dadurch konnten speziell bei kleineren Ansatzgrößen höhere Ausbeuten erzielt werden.

Es zeigte sich, dass alle für diesen Zweck untersuchten Schutzgruppen, mit Ausnahme der TBDPS- und Benzyl Ether, nicht den vorher erwähnten Anforderungen genügten.

Zunächst wurde der Benzyl Ether untersucht, der sich gegenüber den Bedingungen der Triflatisierung als komplett unempfindlich erwies. Die so synthetisierten 12-(Benzyloxy)dodecyltrifluormethansulfonate wurden anschließend direkt für die kationische Polymerisation von 2-Methyl-2-oxazolin eingesetzt. Die MALDI-TOF-Massen- und GPC-Spektren der resultierenden Polymere wiesen durchwegs enge Molmassenverteilungen auf. In den $^1\text{H-NMR}$ Spektren waren keine unerwünschten Nebenprodukte feststellbar und der beobachtete Polymerisationsgrad entsprach dem durch $[M]_0/[I]_0$ vorgegebenen. Es zeigte sich jedoch, dass es nicht möglich war, die Benzylgruppe von den Polymeren zu entfernen, ohne dass ein Abbau der Hauptkette auftrat.

Die Abspaltung von Benzylethern erfolgt gemeinhin quantitativ durch Hydrogenolyse, d.h. unter Katalyse von Übergangsmetallen wie Palladium in Gegenwart einer Wasserstoffatmosphäre. Wurden diese Bedingungen auf die benzylgeschützten Polymere angewandt, so hatte dies die gewünschte Entfernung der Schutzgruppe zur Folge. Die Amidbindungen zwischen der Hauptkette und den Seitenketten des Polymers erwiesen jedoch als nicht vollständig stabil. Zudem lagen die Polymere nach der Reaktion nicht mehr als Feststoff, sondern als stark hygroskopisches Öl vor, was zusätzlich auf die Bildung von Poly(ethylenimin)-ähnlichen Abschnitten am der Polymerhauptkette hinwies.^[203] Trotz zahlreicher Variationen der Reaktionsparameter konnte diese unerwünschte Nebenreaktion nicht vermieden werden. Deshalb war die Benzylschutzgruppe, trotz ihrer hohen Stabilität gegenüber den Lewis-sauren Bedingungen während der Triflatisierung und der Polymerisation, für die Aufgabenstellung letztendlich ungeeignet.

In den folgenden Experimenten wurde der TBDPS Ether auf seine Eignung als Schutzgruppe hin untersucht. So stellte sich die TBDPS-Schutzgruppe ebenfalls als stabil gegenüber den Bedingungen während der Triflatisierung heraus. Jedoch bedurfte es hierzu einer genaueren Einstellung der Reaktionsparameter. So erwiesen sich die zuvor angewandten Standardbedingungen, speziell die Verwendung von 1,5 Äquivalenten Tf_2O pro Hydroxyfunktion, als zu aggressiv, um eine ausreichende Stabilität der Silylether zu gewährleisten. Die Etherbindung wurde unter diesen Bedingungen offenbar von der Trifluormethansulfonsäure (**TfOH**, Abgangsgruppe bei der Triflatisierung mit Tf_2O), die noch nicht mit Kaliumcarbonat reagiert hatte, angegriffen. Dies bewirkte die Abspaltung der

TBDPS-Schutzgruppe und eine anschließende Triflatisierung der frei gewordenen Alkoholfunktion. Diese Nebenreaktion führte zur Bildung von doppelt triflatisiertem 1,12-Dodecandiol, also zur bifunktionalen Initiatorspezies, neben dem gewünschten monofunktionalen Reaktionsprodukt. Entsprechend wiesen die GPC-Elugramme der daraus dargestellten Poly(2-oxazolin)e bimodale Massenverteilungen auf. Eine in den GPC-Elugrammen auftretende Schulter bei ungefähr doppelter Molmasse deutet auf ein durch bifunktionalen Initiator hervorgegangenes Nebenprodukt hin. Dieser Befund konnte mittels MALDI-TOF MS verifiziert werden. Hier konnte deutlich neben dem vorrangig gebildeten gewünschten Produkt eine weitere Polymerspezies identifiziert werden, die auf den bifunktionalen Initiator zurückgeführt werden konnte.

Somit mussten geeignete Triflatisierungsbedingungen ermittelt werden, um die beschriebene Nebenreaktion zu vermeiden. So galt es, die Konzentration an während der Reaktion entstehender freier TfOH so gering wie möglich zu halten. Darüber hinaus sollte der Überschuss an Tf₂O aufs kleinstmögliche reduziert werden, um so ebenfalls während des Aufkonzentrierens bei der Aufarbeitung eine Reaktion zwischen Lewissäure und Schutzgruppe zu verhindern. Dies konnte erfolgreich durch Variation der im Folgenden beschriebenen Reaktionsparameter erreicht werden (für eine Gesamtübersicht über den erarbeiteten Reaktionsweg siehe Abbildung 4.40).

Zum einen wurde mit wesentlich stärker verdünnten Reaktionsmischungen gearbeitet, um so die Reaktivität aller beteiligten Komponenten niedriger zu halten, zum anderen wurde die Menge an Kaliumcarbonat relativ zum eingesetzten Substrat verdoppelt, um so entstandene TfOH effizienter abzufangen. Zusätzlich musste die eingesetzte Menge an Tf₂O auf 0,98 Äquivalente verringert werden, um Reaktionen zwischen dem Anhydrid und den Silylethern zuverlässig auszuschließen. Wurden die monogeschützten Initiatoren anschließend direkt zur Polymerisation von 2-Methyl-2-oxazolin verwendet, so konnte allerdings in den entsprechenden MALDI-TOF Massenspektren die Existenz einer protoneninitiierten Polymerspezies festgestellt werden. Dieser Befund wurde auch in den entsprechenden GPC-Spektren durch das Auftreten einer weiteren Molmassenverteilung einer neuen Spezies bei geringerer Masse registriert. Die protoneninitiierte Spezies erschien in den MALDI-Massenspektren mit einer dem Hauptprodukt vergleichbaren engen Polydispersität sowie mit ähnlichem Polymerisationsgrad.

Hieraus wurde gefolgert, dass die für das Entstehen der Nebenprodukte ursächlichen Protonen bereits zu Beginn der Polymerisation vorhanden sein mussten und nicht erst aus

Nebenreaktionen hervorgegangen sein konnten. Andernfalls wäre eine im Vergleich zum Hauptprodukt wesentlich breitere Massenverteilung zu erwarten gewesen. Daraus wurde geschlossen, dass die für die Triflatisierung angewandte Konzentration zu gering war, als dass die dabei entstandene Säure durch die Base Kaliumcarbonat abgefangen werden konnte.

Eine weitere mögliche Erklärung für diesen Befund ist, dass bedingt durch die hohe Verdünnung, die Reaktion noch nicht vollständig abgeschlossen war - wurde das Kaliumcarbonat abfiltriert, so lagen dann in der Reaktionsmischung noch nicht umgesetzter Alkohol und Tf_2O vor. Beim darauf folgenden Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum reagierten diese Reaktionspartner weiter zum Alkyltriflat sowie zu TfOH. Die Säure TfOH konnte nun nicht mehr durch das bereits abfiltrierte Kaliumcarbonat abgefangen werden und führte offenbar bei der anschließenden Umsetzung mit 2-Methyl-2-oxazolin zur Bildung der beobachteten säureinitiierten Polymerspezies.

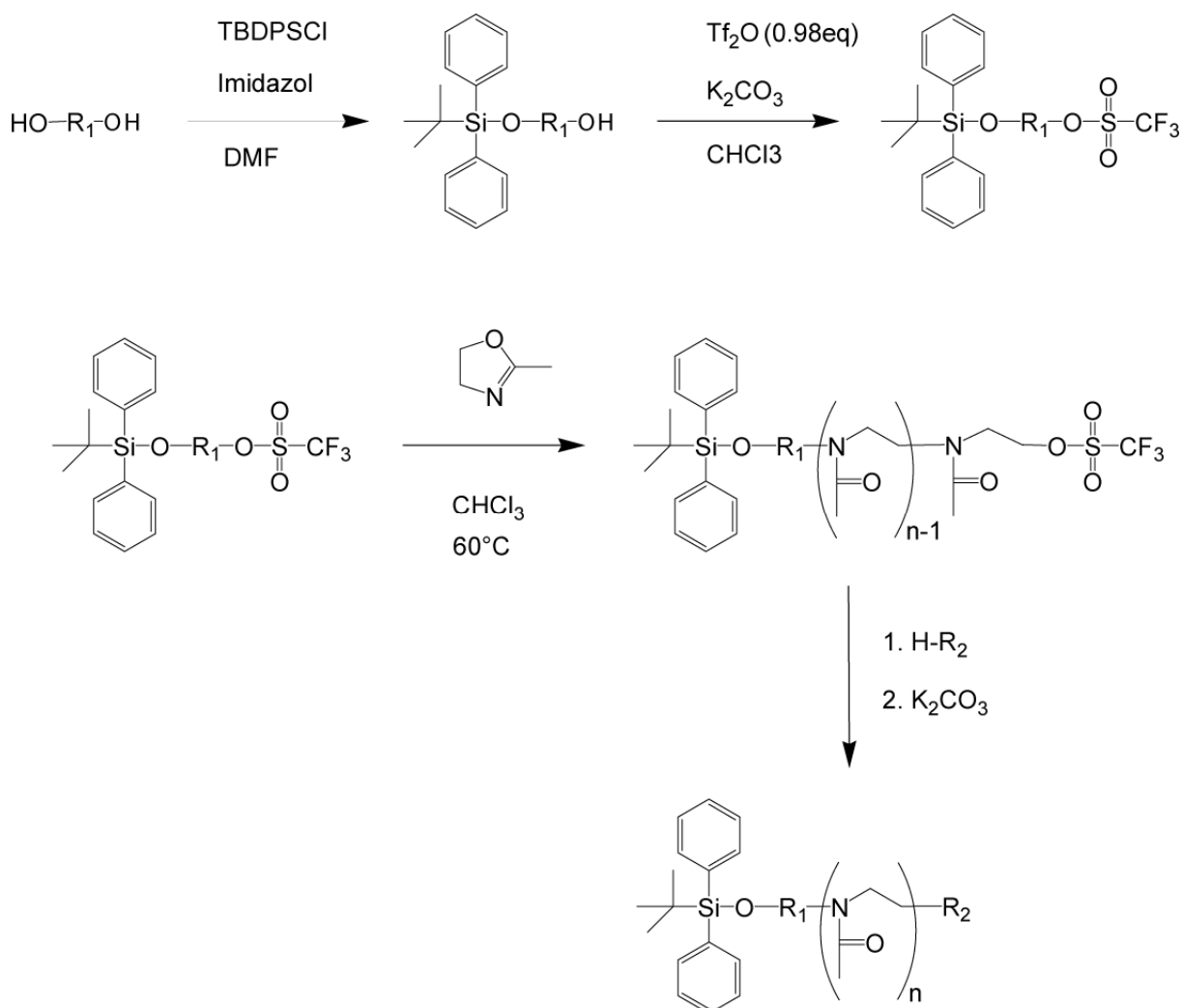


Abbildung 4.40: Reaktionsschema zur Darstellung von Poly(2-oxazolin)en, basierend auf asymmetrisch TBDPS-funktionalisierten Diolen.

Dieses letzte Problem konnte erfolgreich behoben werden, indem die Reaktionsmischung der Triflatisierung bis zur vollständigen Trocknung eingeengt und abschließend mit Chloroform extrahiert wurde. Das zurückbleibende anorganische Salz wurde abfiltriert und der Initiator direkt, ohne diesen zu isolieren, für die nachfolgende Polymerisation eingesetzt.

Die TBDPS-geschützten Triflate erwiesen sich als chemisch instabil und neigten zur Zersetzung, wenn sie nicht direkt nach ihrer Darstellung für die Polymerisation eingesetzt wurden. Deshalb war es nicht möglich, diese für weitere analytische Charakterisierungen, in reiner Form zu isolieren. Dieser Befund deckt sich auch mit Beobachtungen aus der Literatur, in der über die chemische Labilität von Verbindungen mit TBDPS- und Triflatfunktionen berichtet wird.^[204] Als Beleg für die Reinheit und Struktur der so synthetisierten Initiatoren sollte die Qualität der daraus dargestellten Polymere dienen.

Obwohl ein Unterschuss an Tf_2O eingesetzt wurde, also nicht sämtliche OH-Funktionen im Substrat zu Triflaten reagieren konnten, wurde keine durch Termination mit Hydroxyfunktionen hervorgehende Polymerspezies beobachtet.

Eine mögliche Erklärung für diesen Befund ist, dass während der Initiatorsynthese, nach Verbrauch von allem vorhandenen Tf_2O die verbleibenden freien OH-Funktionen mit den gebildeten Triflaten zu Ethern weiter reagierten (Abbildung 4.41). Die so dargestellten Ether störten nicht bei der anschließenden Polymerisation und wurden bei der Aufarbeitung des Polymers nach Fällung in einem unpolaren Lösungsmittel abgetrennt.

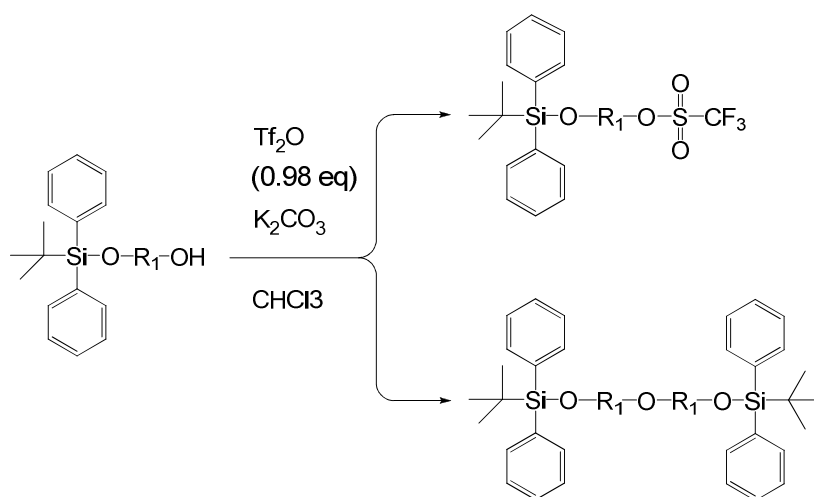


Abbildung 4.41: Gewünschte TBDPS-Initiatorspezies und unerwünschtes Nebenprodukt.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich folgern, dass sich die TBDPS Ether als Schutzgruppe für die weiteren Experimente als am geeignetsten erwiesen. Dies wurde nicht ohne Überraschung festgestellt, zumal in der Literatur davon berichtet wird, dass sich andere Schutzgruppen, wie

z.B. die MEM-Ether und substituierte Benzylether, stabiler gegenüber Acidolyse verhalten würden.^[205] In derartigen Studien wurde jedoch meist die Stabilität gegenüber protischen Säuren untersucht und nicht die gegenüber Lewis-Säuren, wie z.B. Tf_2O . Der Grund für die größere Reaktionsträgheit von TBDPS Ethern gegenüber Tf_2O liegt vermutlich in der stärkeren sterischen Abschirmung der Silylether begründet, während dieser Abschirmungseffekt bei den anderen zuvor genannten Schutzgruppen in weit geringerem Maße ausgesprägt ist.

4.4.3 Polymerisation von 2-Oxazolinen

Die kationischen Ringöffnungspolymerisationen wurden in Chloroform unter Verwendung TBDPS-geschützter Initiatoren und 2-Methyl-2-oxazolin (MeOx) als Monomer durchgeführt. Die Terminationen wurden mittels Piperidin, 1-Boc-piperazin, sowie mit Wasser vorgenommen. *Kobayashi et al.*^[206] berichteten über eine Methode zur wässrigen Termination in Acetonitril als Solvens. Diese Vorgehensweise war jedoch hier aufgrund der geringen Löslichkeit von Wasser in Chloroform nicht praktikabel. Deshalb wurden weitere Wege zur Darstellung hydroxyterminierten Poly(2-oxazolin)e entwickelt.

Dies konnte zum einen erreicht werden, indem nach Abschluss der Reaktion die Reaktionsmischung bis zur Trockne eingengt wurde. Der Rückstand wurde anschließend in Wasser aufgenommen.

Andere Reaktionswege erfolgten unter dem Einsatz ternärer Mischungen aus Chloroform/Methanol/Wasser bzw. Chloroform/Acetonitril/Wasser in Gegenwart von Kaliumcarbonat. Hierbei erwies sich vor allem letzterer als am besten geeignet, da auf diese Weise Produkte gewonnen wurden, die sich analytisch als am reinsten erwiesen.

Zur Synthese proximal TBDPS geschützter Polymere wurden zunächst Initiatoren basierend auf dem Modellsystem 1,12-Dodecandiol und auf dem synthetischen Lipid 10,12-Docosadiin-1,22-diol angewandt und mit MeOx umgesetzt.

Die durch GPC und MALDI-TOF Massenspektroskopie beobachteten Molmassenverteilungen der so dargestellten Polymere wiesen geringe Polydispersitäten auf. Die mittels $^1\text{H-NMR}$ und MALDI-TOF-MS beobachteten Polymerisationsgrade waren zusätzlich in guter Übereinstimmung mit $[\text{M}]_0/[\text{I}]_0$, was auf einen lebenden Polymerisationsmechanismus hinweist sowie auf eine schnelle Initiationsreaktion ($k_i \gg k_w$).

Die entsprechenden Spektren des Polymers TBDPSOC₁₂MeOx₃₅PipBoc werden exemplarisch in Abbildung 4.42 gezeigt, eine Zusammenfassung aller so erhaltenen Analytik ist in Tabelle 4.15 gegeben.

Diese für die TBDPS-geschützten Polymere gewonnenen Informationen belegen weiterhin, dass die TBDPS Ether während der thermischen Polymerisation in Chloroform bei 60 °C vollständig intakt verblieben. Die beobachteten Integrale sind in guter Übereinstimmung mit den angestrebten Polymerisationsgraden.

Im Fall von TBDPSODocoMeOx₃₇PipBoc waren die Signale der TBDBPS-Gruppe im ¹H-NMR leicht unterrepräsentiert. Auch konnte im MALDI-TOF-MS eine kleinere Subverteilung identifiziert werden, welche den Verlust dieser Schutzgruppe aufweist. Da allerdings die GPC- und MALDI-TOF- Massenspektren, auch beim Pendant HODocoMeOx₃₂Pip, bei dem die Schutzgruppen entfernt wurden, wiederum enge, monomodale Massenverteilungen aufwiesen, wurde gefolgert, dass die Schutzgruppe erst im Laufe der Aufarbeitung abgespalten worden sein musste, was wiederum nicht zur Bildung von unerwünschten Nebenprodukten geführt haben kann.

Tabelle 4.15: Analytische Daten zu Poly(2-methyl-2-oxazolin)en, basierend auf asymmetrisch TBDPS-funktionalisierten Diolen.

#	R ₁	Ausbeute	M _n ^{a)}	PDI ^{a)}	[M] ₀ /[I] ₀	DP	DP
		[%]	[g/mol]			a)	b)
148	TBDPSOC ₁₂ MeOx ₃₇ PipBoc	79	3586	1,01	35	35	37
240H	TBDPSOC ₁₂ MeOx ₂₄ Piperidin	60	2259	1,02	20	21	24
206I	TBDPSOC ₁₂ MeOx ₅₀ OH	73	5022	1,01	53	54	50
206II	TBDPSOC ₁₂ MeOx ₅₈ Pip	60	4961	1,01	52	52	58
200	TBDPSODocoMeOx ₃₂ PipBoc	70	3205	1,01	32	29	32
224	HOC ₁₂ MeOx ₃₆ Pip	77	3122	1,02	35	33	36
242H	HOC ₁₂ MeOx ₂₃ Piperidin	79	2189	1,02	20	23	23
237	HOC ₁₂ MeOx ₅₂ OH	80	4728	1,01	53	53	52
207	HODocoMeOx ₃₇ Pip	76	2653	1,03	32	26	37

a) Ermittelt aus MALDI-TOF Massenspektren. b) Ermittelt durch Endgruppenanalyse basierend auf den ¹H-NMR Spektren.

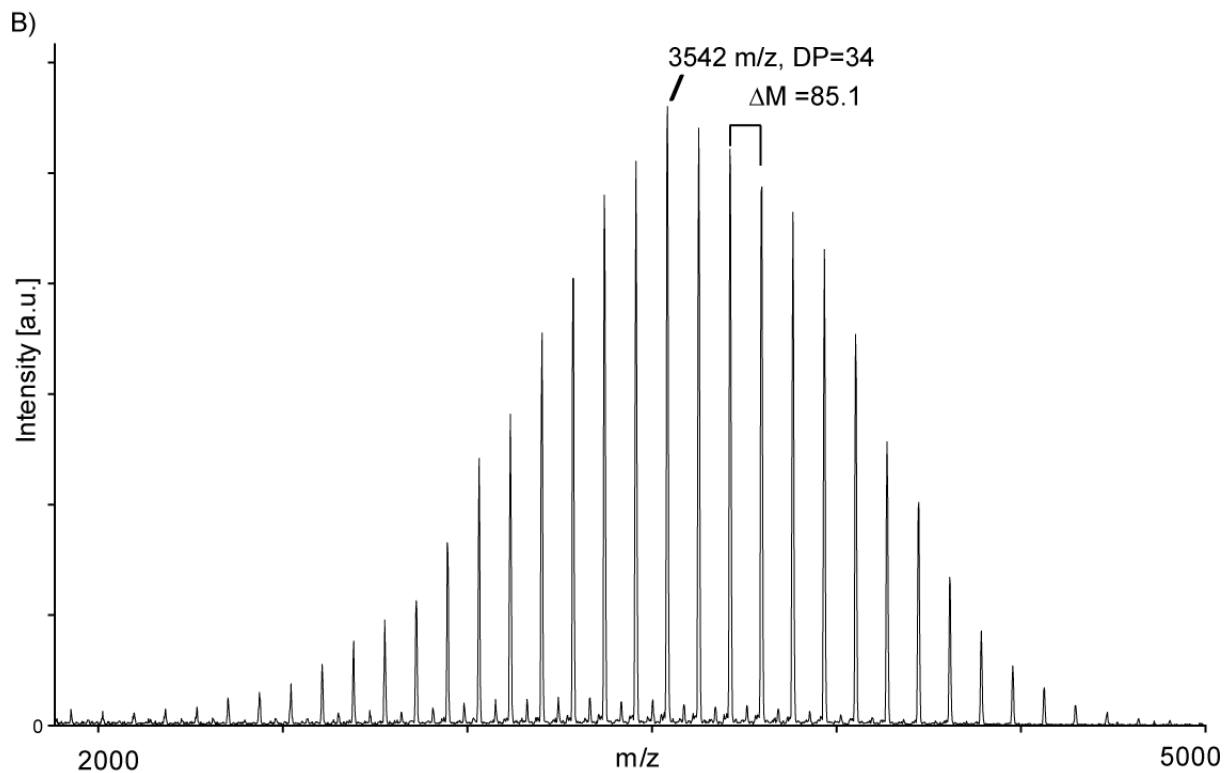
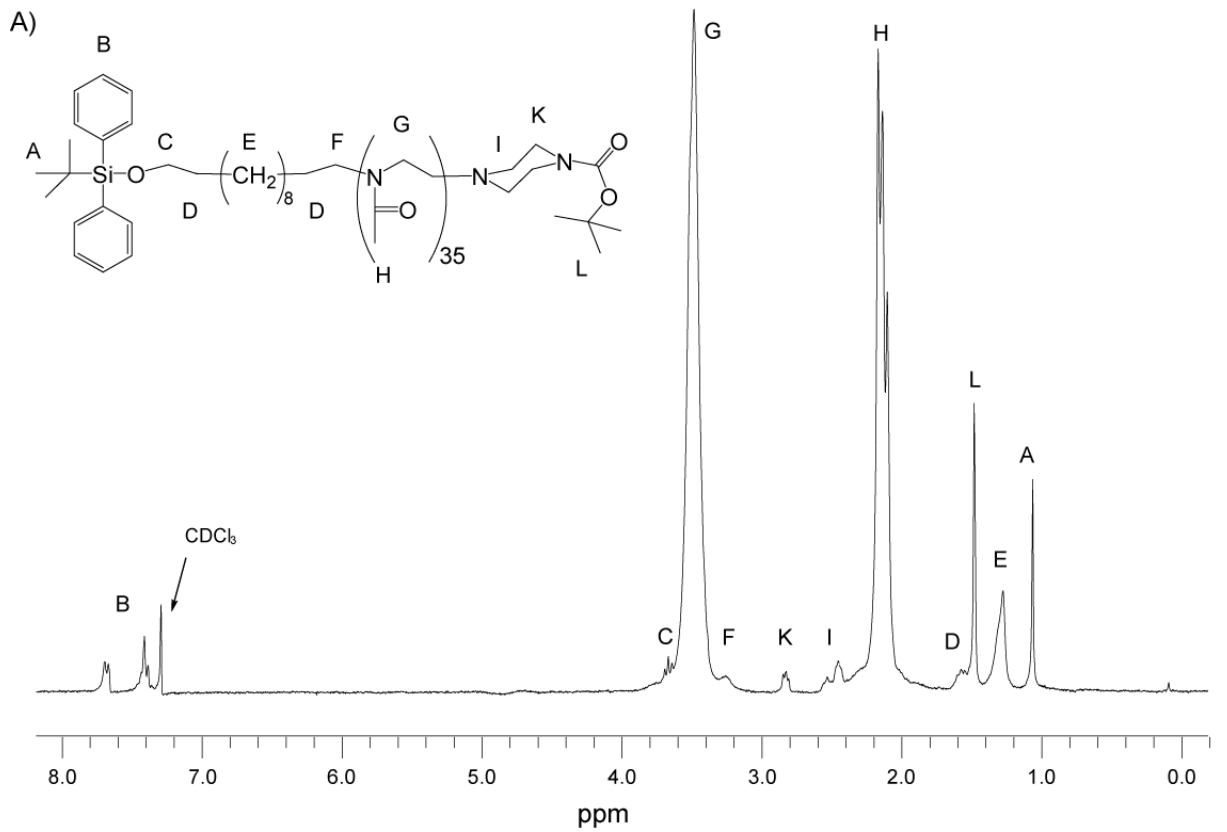


Abbildung 4.42: ^1H -NMR Spektrum und MALDI-TOF Massenspektrum von $\text{TBDPsOC}_{12}\text{MeO}_{x_{35}}\text{PipBoc}$.

Im MALDI-TOF Massenspektrum ist die für eine lebende Polymerisation zu erwartende enge Molmassenverteilung zu erkennen sowie eine hohe Kongruenz zum angestrebten Polymerisationsgrad. Alle beobachteten Signale konnten ein und derselben Polymerspezies zugeordnet werden. Im Falle des Polymers TBDPSO(CH₂)₁₂MeOx₃₇BocPip (Abbildung 4.42) traten die Massenverteilungen [TBDPSO(CH₂)₁₂p(MeOx)₃₇boc-piperazin + K]⁺ mit einem Maximum bei $m/z^{\text{exp}} = 3625$ g/mol auf, was einem DP = 35 entspricht ($m/z^{\text{calc}} = 3626$ g/mol). Die Massendifferenzen zwischen den einzelnen Signalen betragen $m/z = 85,1$ g/mol und stimmten mit der Molmasse der MeOx Monomereinheit überein. Des Weiteren fand während der Polymerisationsreaktion keine Abspaltung der Schutzgruppe statt. Es waren auch keine Massenverteilungen zu erkennen, die einer Polymerspezies zugeordnet werden konnten, welche durch nicht umgesetzten Lipidalkohol terminiert wurde, obwohl ein Unterschub an Triflatisierungsreagenz eingesetzt wurde (Vergleiche Abbildung 4.40).

Dieser Befund wiederum spricht für die zuvor postulierte Annahme, dass während der Initiatorsynthese alle zuletzt noch verbliebenen Hydroxyfunktionen von Triflaten abgefangen wurden. Aus diesen Ergebnissen wurde geschlossen, dass die Umstzung TBDPS-funktionalisierten Initiatoren mit MeOx, bei Einhaltung geeigneter Reaktionsparameter, ohne Nebenreaktionen abläuft sowie lebenden kationischen Polymerisationsmechanismus folgt.

Die mittels GPC bestimmten Molmassen waren durchwegs leicht höher im Vergleich zu den entsprechenden über MALDI-TOF-MS ermittelten. Dies ist, wie bereits zuvor diskutiert, den für die Kalibrierung verwendeten Poly(styrol) Standards zuzuschreiben, die für Poly(2-oxazolin)e nur bedingt vergleichbare Ergebnisse liefern. Desweiteren waren die so beobachteten Molmassen wiederum eng verteilt. Auch wurden in den GPC Elugrammen, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus dem MALDI-TOF-MS, in den beschriebenen Fällen keine bimodalen Massenverteilungen beobachtet.

4.4.4 Entfernung der Schutzgruppen

Die dargestellten proximal TBDPS-geschützten Verbindungen, wie z.B. TBDPSOC₁₂MeOx₃₅PipBoc, enthalten immer noch die Silylschutzgruppe, oder sind, wie im Falle der mit 1-Boc-piperazin terminierten Polymere, zusätzlich mit einer terminalen *tert.*Butylcarbamate-Gruppe geschützt. Um allen gestellten Anforderungen zu genügen, muss eine geeignete Schutzgruppe nach der Polymerisation wieder leicht vom Polymer entfernbar sein. Hierfür wurden mehrere in der Literatur beschriebene Methoden zur Abspaltung der

Silylether untersucht. Derartige Reaktionen sind organisch-chemisch generell leicht durchführbar, aber für polymeranaloge Synthesen nicht immer ohne Vorbehalt anzuwenden. So war es beispielsweise nicht möglich, die Silylether nach der konventionellen Route via Tetrabutylammoniumfluorid (**TBAF**) abzuspalten.^[205] Es erwies sich so als unmöglich, verbliebenes Reagenz und abgespaltene Schutzgruppenreste bei gleichzeitiger Wahrung von akzeptablen Ausbeuten, vom Polymer restlos zu entfernen.

Alternativ wurde die Abspaltung der TBDPS-Gruppe als Silylfluorid mittels Kaliumfluorid und 18-Krone-6 untersucht.^[207] Die bei dieser Prozedur abgespaltenen Schutzgruppenreste waren nach erfolgter Reaktion gut durch Fällung in Diethylether bzw. durch Dialyse abtrennbar. In den ¹H-NMR Spektren der Produkte waren auch keinerlei Hinweise mehr auf die Gegenwart der Silylether zu erkennen. Allerdings wurde eine signifikante Verringerung des Integrals der *tert.*-Butylprotonen an den terminalen Piperazinresten festgestellt, selbst bei Verwendung stöchiometrischer Mengen an Fluoridionen. Aus diesem Grund erwies sich diese Methode ebenfalls als ungeeignet.

Die komplette Entfernung aller beteiligten Schutzgruppen wurde unter Einsatz von verdünnter Salzsäure erreicht, gefolgt von anschließender Neutralisation mit Natriumhydrogencarbonat und Extraktion mit Chloroform. Bisweilen war im MALDI-TOF-MS ein minimaler Verlust der Seitenketten des Polymers feststellbar. Es war jedoch nicht möglich, diese Nebenprodukte zuverlässig zu quantifizieren, da keine Informationen über die jeweilige Ionisierbarkeit der verschiedenen beobachteten Spezies bekannt waren. Im ¹H-NMR war dieser Verlust an Polymerseitenketten hingegen nicht feststellbar. Somit wurde auch hier gefolgert, dass die im MALDI-TOF-MS beobachteten Nebenprodukte stark überrepräsentiert auftraten. Der Grund hierfür liegt in der offenbar besonders leichten Ionisierbarkeit der durch Deamidierungen an der Poly(2-oxazolin) Hauptkette gebildeten sekundäre Amine. Hierfür spricht auch, dass keine zwei- oder dreifache Deamidierung beobachtet werden konnte, wie sie bei häufigerem Auftreten dieser Nebenreaktion statistisch zu erwarten gewesen wäre.

Um eventuelle Nebenreaktionen noch weiter zu minimieren, wurde eine zusätzliche Methode zur Entfernung der Schutzgruppen entwickelt. Dies gelang durch Entwicklung einer Syntheseroute nach einer modifizierten, in der Literatur beschriebenen Methode, die Acetylchlorid in trockenem Methanol einbezog, wodurch *in situ* methanolisches HCl dargestellt wurde.^[208] In den ¹H-NMR Spektren der so umgesetzten Polymere konnten alle Signale den gewünschten Produkten zugeordnet werden und es waren auch keine Signale der Schutzgruppen mehr zu erkennen.

In den MALDI-TOF Massenspektren war nur noch eine äußerst geringe Nebenverteilung knapp über der Nachweisgrenze zu identifizieren, die der Spezies $[\text{POx} - \text{OAc}]^+$ zugeordnet werden könnte (Abbildung 4.44, Zusammenfassung der Analytik siehe Tabelle 4.15).

Interessanterweise wurde, wenn Acetylchlorid durch äquimolare Mengen an methanolischem HCl ersetzt wurde, eine signifikante Deamidierung an den Poly(2-oxazolin)en beobachtet und zwar stärker, als im Falle des zuvor beschriebenen wässrigen Systems bei jeweils gleichen Konzentrationen an HCl. Aus diesen Beobachtungen wurde geschlossen, dass Deamidierung auch während der Acetylchlorid-Methode stattfindet. Jedoch führt Acetylchlorid zu einer *re*-Amidierung an der Polymerhauptkette. Um diese Vermutung zu bestätigen, wurde Poly(2-ethyl-2-oxazolin) Homopolymer unter denselben Bedingungen behandelt. In den entsprechenden MALDI-TOF Massenspektren wurde dann, wie erwartet, ein Austausch der Propioamid- gegen Acetamidseitenketten beobachtet.

Somit erwies sich die Acetylchlorid-Methanol-Methode zur Entfernung der beteiligten säurelabilen Schutzgruppen von Poly(2-methyl-2-oxazolin) basierten Lipohomopolymeren als sehr gut geeignet. Für die Entfernung der Schutzgruppen von Copolymeren eignet sie sich jedoch nur eingeschränkt. Bedingt durch die zuvor beschriebene Reamidierung ist eine Veränderung der Zusammensetzung der Seitenketten an den Copolymeren nicht auszuschließen (vergleiche Abbildung 4.43).

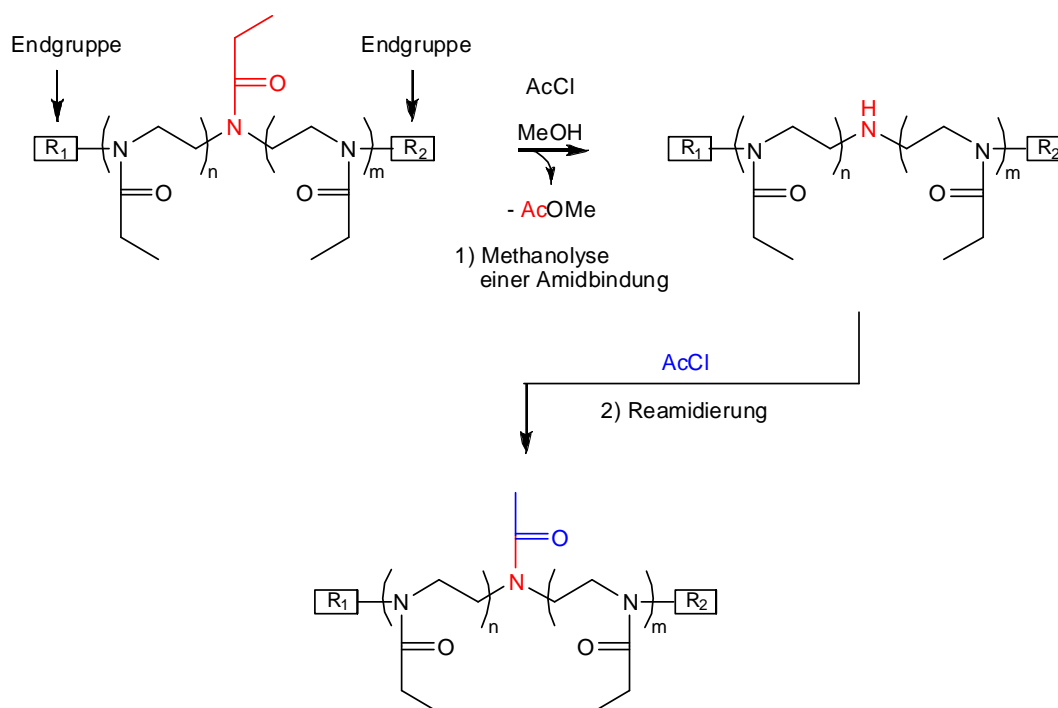


Abbildung 4.43: Veränderung der Zusammensetzung der Seitenketten eines Poly(2-ethyl-2-oxazolin)s durch Behandlung mit Acetylchlorid in Methanol.

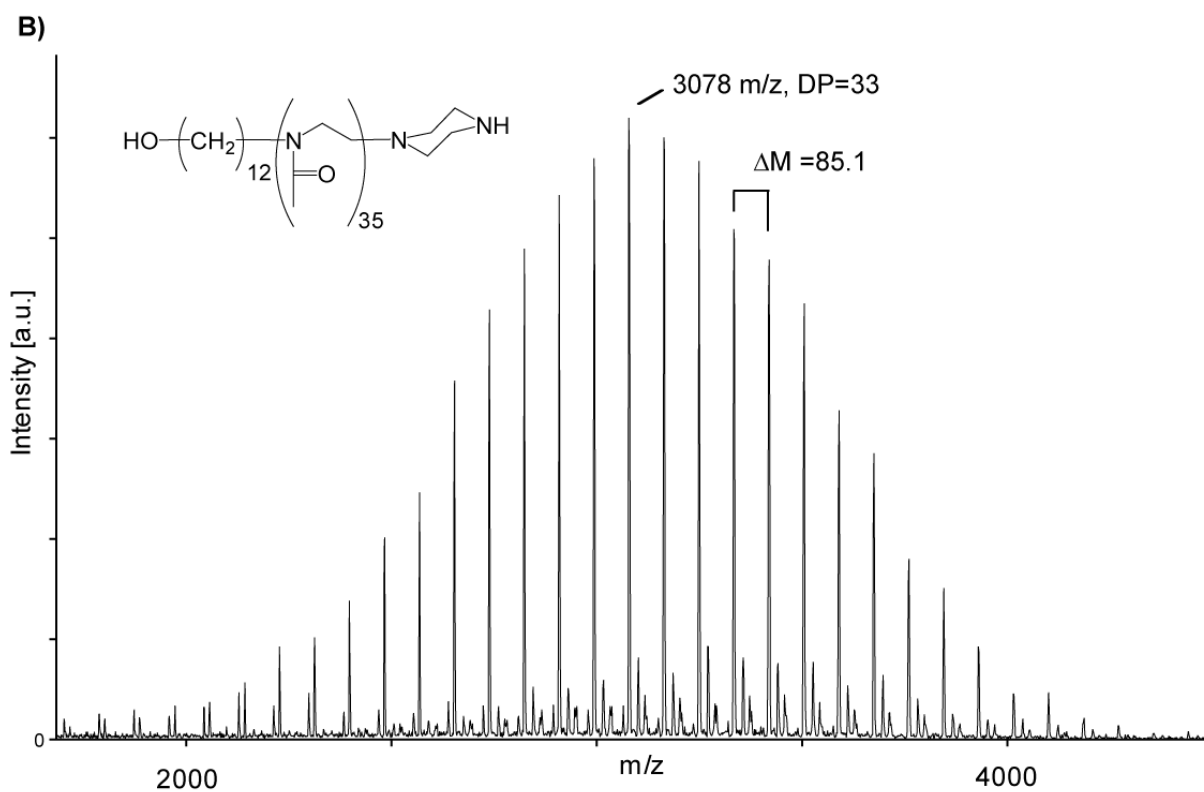
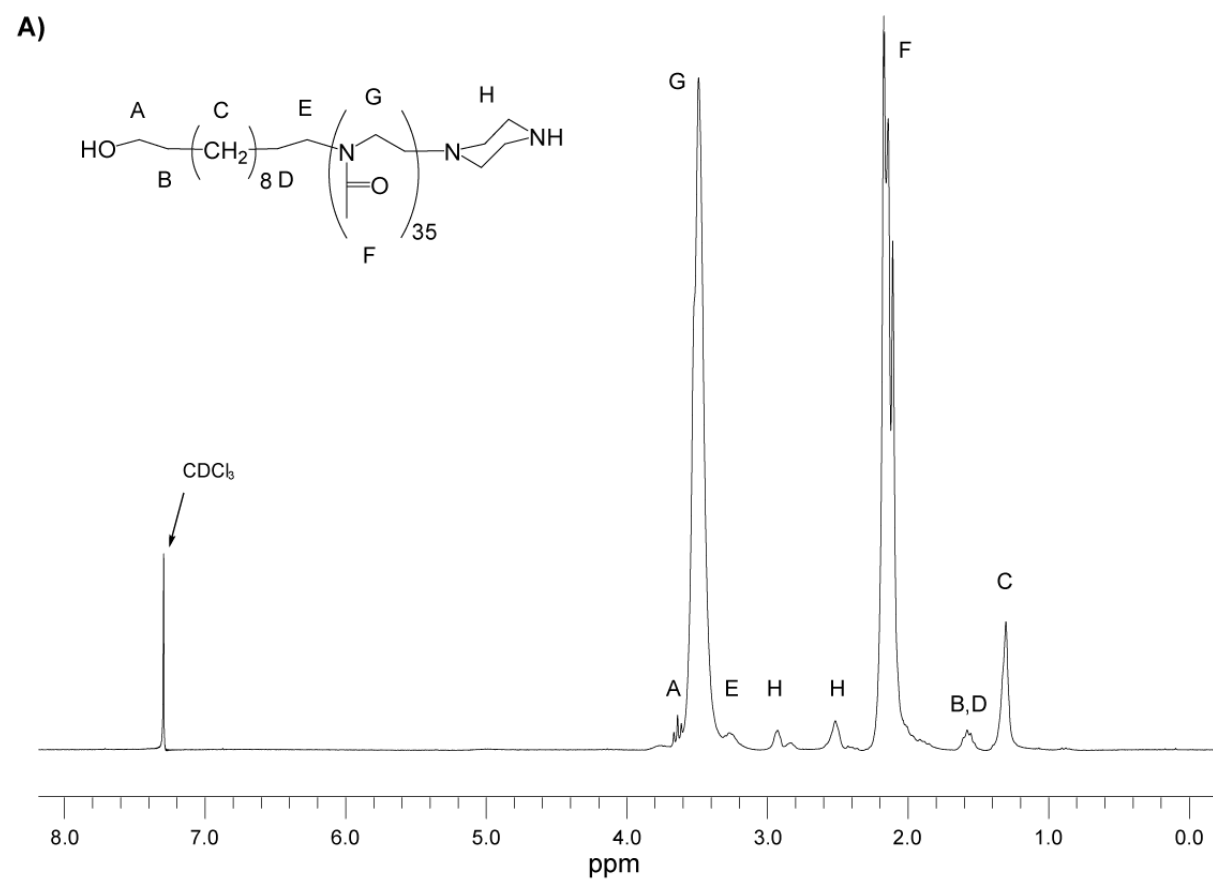


Abbildung 4.44: ^1H -NMR- und MALDI-TOF Spektren des Polymer $\text{HOC}_{12}\text{MeO}_{x35}\text{Pip}$ nach Entfernung der Schutzgruppen durch AcCl in MeOH .

Um diese Einschränkung zu umgehen, wurde eine dritte, allgemeinkompatible Methode entwickelt. Ein in der Literatur beschriebener und bereits zuvor diskutierter Weg (siehe Kapitel 4.2.4.1) zur Entfernung der Boc-Schutzgruppen von Poly(2-oxazolin)en wurde hierfür entsprechend modifiziert.^[116, 200] Zu diesem Zweck wurde wieder eine Mischung aus TFA / TIBS / H₂O (95 / 2,5 / 2,5) als Reaktionsmedium eingesetzt. Der entscheidende Reaktionspartner, den es hierbei zu optimieren galt, war die Reaktionszeit.

Wurde diese kürzer gewählt, wie für die Entfernung der Boc-Schutzgruppe benötigt (20 min), so ließ dies einen großen Teil der Silylether unberührt. Hingegen führte eine längere Reaktionsdauer von einem Tag zu Schäden am Polymer. All diese unerwünschten Effekte konnten jedoch durch Wahl einer optimalen Reaktionszeit von einer Stunde vermieden werden. Die ¹H-NMR Spektren der so behandelten Polymere entsprachen dem gewünschten Ergebnis und es wurden weder aromatische Signale der TBDPS-Gruppe gefunden, noch solche, die einer der beiden *tert.*Butyl-Gruppen zugeordnet werden konnten.

Anders als bei den zuvor beschriebenen Synthesewegen wurden im MALDI-TOF-MS auch keine Nebenverteilungen beobachtet, welche der Spezies [PO_x-OAc]⁺ zugeordnet werden konnten.

Es wurden drei Methoden zur einstufigen und vollständigen Entfernung von *tert.*Butyldiphenylsilyl Ethern bzw. von *tert.*Butylcarbamaten an Poly(2-oxazolin)en entwickelt. Hierbei erwies sich die Entfernung der Schutzgruppen mittels Trifluoressigsäure als am geeignetsten. Diese Route bot die höchsten Ausbeuten bei größter Reinheit und gleichzeitig kürzesten Reaktionszeiten und ist darüber hinaus für die Behandlung von Copolymeren geeignet.

Alle drei Wege ermöglichen die Einführung proximaler Hydroxyfunktionalitäten, die ansonsten nicht mit der Chemie der Poly(2-oxazolin)e kompatibel sind. Termination mit geeigneten Reagenzien führt zu Polymeren, die identische oder, falls erwünscht, verschiedenartige und chemisch orthogonale funktionelle Gruppen aufweisen. Dies wiederum gewährt Zugang zu weiterführenden selektiven polymeranalogen Modifikationen.

4.4.5 Polymeranaloge Reaktionen

Die in Kapiteln 4.4.2 sowie 4.4.4 beschriebenen Polymere weisen nach Polymerisation und erfolgter Entfernung der Schutzgruppen jeweils mindestens eine funktionelle Gruppe auf, die fortführende Modifizierungen gestattet. Um deren chemische Verfügbarkeit zu demonstrieren, wurden auf diesen monofunktionalen Polymeren polymeranaloge Reaktionen durchgeführt.

4.5.5.1 Fluoreszenzmarkierung

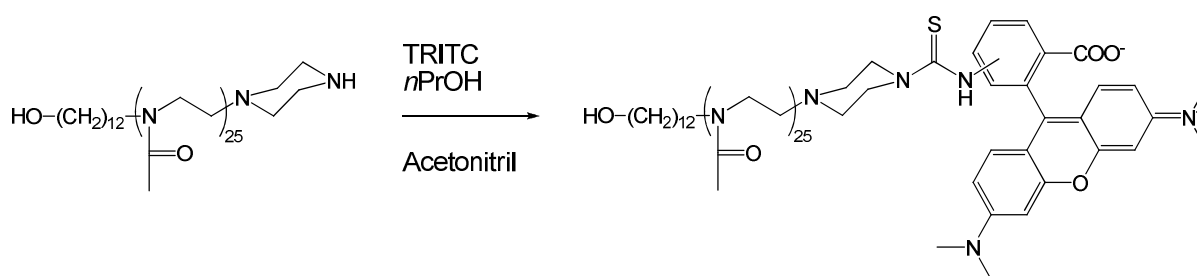


Abbildung 4.45 Funktionalisierung von $\text{HOC}_{12}\text{MeOx}_{25}\text{Pip}$ mit TRITC in Gegenwart von Methanol.

Hierfür wurde die Isothiocyanatkupplung untersucht (Abbildung 4.45). Von dieser Additionsreaktion ist bekannt, dass durch sie in Gegenwart von Alkoholen selektiv zwischen beiden chemischen Funktionalitäten unterschieden werden kann.^[201] Wie bereits zuvor für monofunktionale Lipopolymere beschrieben, wurde bifunktionales Poly(2-oxazolin), das proximale Hydroxy- und distale Aminofunktionen aufwies, mit TRITC in Gegenwart von Kaliumcarbonat als Base und Acetonitril als Solvens umgesetzt. Zusätzlich wurden 27 Äquivalente Methanol zugegeben, um so einer als Nebenreaktion auftretenden Derivatisierung der proximalen Alkoholfunktion entgegenzuwirken. Das Reaktionsgemisch wurde chromatographisch aufgetrennt (Sephadex). Der zwitterionische Charakter der Endgruppe verhinderte wiederum die Aufnahme von brauchbaren MALDI-TOF Massenspektren des Produktes. Der Erfolg der Reaktion, d.h. die ausschließliche Derivatisierung der terminalen Aminofunktionen des Substrats, war mittels $^1\text{H-NMR}$ nur schwer direkt nachzuweisen, da der eingeführte Farbstoff nur durch breite, für die Integration schlecht anwendbare Signale in Erscheinung trat. Stattdessen lieferte die quantitative Verschiebung der Piperazinprotonen im Produkt den indirekten Nachweis auf die Umwandlung allen Substrats in das gewünschten Reaktionsprodukts (Abbildung 4.46).

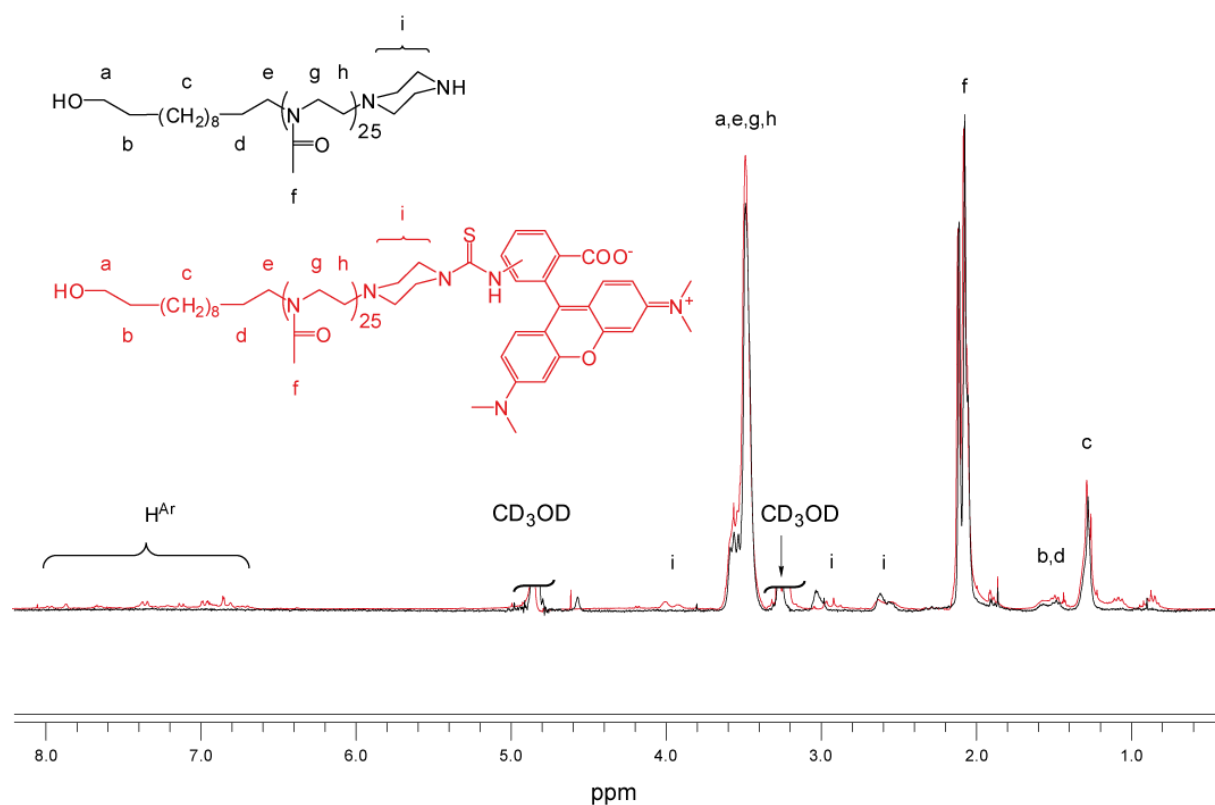


Abbildung 4.46: ¹H-NMR Spektren der Polymere HOC₁₂MeOx₂₅Pip und dem Produkt der polymeranalogen Umsetzung HOC₁₂MeOx₂₅PipTRITC.

4.5.5.2 Funktionalisierung mit Phenylisothiocyanat

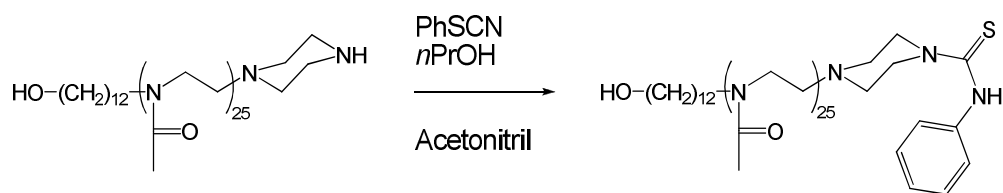


Abbildung 4.47 Funktionalisierung von HOC₁₂MeOx₂₅Pip mit Phenylisothiocyanat in Gegenwart eines Überschusses an *n*-Propanol.

Um die orthogonale Funktionalisierung nachzuweisen, wurde die Reaktion mit Phenylisothiocyanat als Reaktionspartner in Gegenwart eines Überschusses an *n*-Propanol durchgeführt (Abbildung 4.47). In diesem Fall konnte durch Endgruppenanalyse im ¹H-NMR die erfolgreiche Einführung eines Äquivalents durch die quantitative Verschiebung der Piperazinprotonen von $\delta = 3.0$ ppm zu 3,9 ppm bestätigt werden. Das zugehörige Spektrum ist in Abbildung 4.48 gezeigt. Nebenprodukte waren nicht nachweisbar. Nach Kalibrierung auf die 102 Protonen der Polymerhauptkette (3.37 – 3.68 ppm, DP_{Substrat} = 25) standen die

Integrale der Signale der aromatischen Protonen (7.04 – 7.33 ppm) hierzu im gewünschten Verhältnis von 5 : 102.

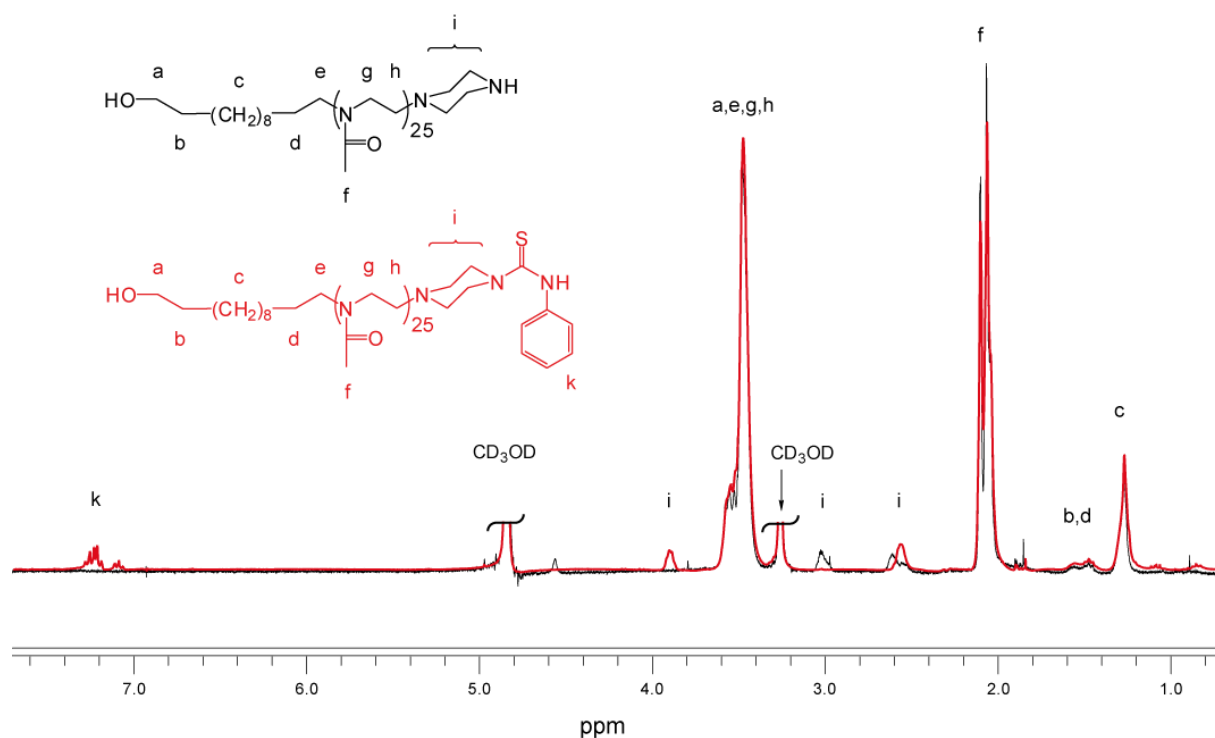


Abbildung 4.48: $^1\text{H-NMR}$ von $\text{HOC}_{12}\text{MeO}_{x25}\text{Pip}$, bzw. $\text{HOC}_{12}\text{MeO}_{x25}\text{PipSCNBn}$ nach polymeranaloger Umsetzung.

4.5.5.4 „Click“-Chemie mit distal alkinfunktionalisierten Poly(2-oxazolin)en

Zusätzlich wurde ein alternativer Weg zur asymmetrischen Derivatisierung von Poly(2-oxazolin)en ausgearbeitet, unter Anwendung der *click chemistry*. Unter diesem Begriff wird gemeinhin die kupferkatalysierte Huisgen 1,3-dipolare Cycloaddition verstanden, welche breite Verwendung im Bereich der Polymerchemie findet,^[200] insbesondere aber in der organischen Synthesechemie, der Biochemie und den Materialwissenschaften.^[209]

Aus vorhergehenden Experimenten war bekannt, dass Alkylether sich gegenüber den Bedingungen der Triflatisierung als inert erwiesen. Deshalb wurde 1,12-Dodecandiol einseitig mit Propargylbromid verethert, um Polymere mit einer terminalen Alkinfunktion darzustellen. Der ausführliche Syntheseweg wird in Abbildung 4.49 gezeigt. Die Umsetzung des Polymers mit (Azidomethyl)trimethylsilan in Gegenwart von Kupfer(I)acetat führte zur quantitativen Darstellung des entsprechenden Triazolderivates (Abbildung 4.50).

Die für diese Verbindung erhaltene Analytik deckt sich mit den Erwartungen (Abbildung 4.51). Im MALDI-TOF-MS und in den GPC Spektren wurden ausschließlich monomodale Massenverteilungen beobachtet. Im ¹H-NMR Spektren konnten sämtliche Signale dem gewünschten Reaktionsprodukt zugeordnet werden. Nebenprodukte wurden nicht festgestellt.

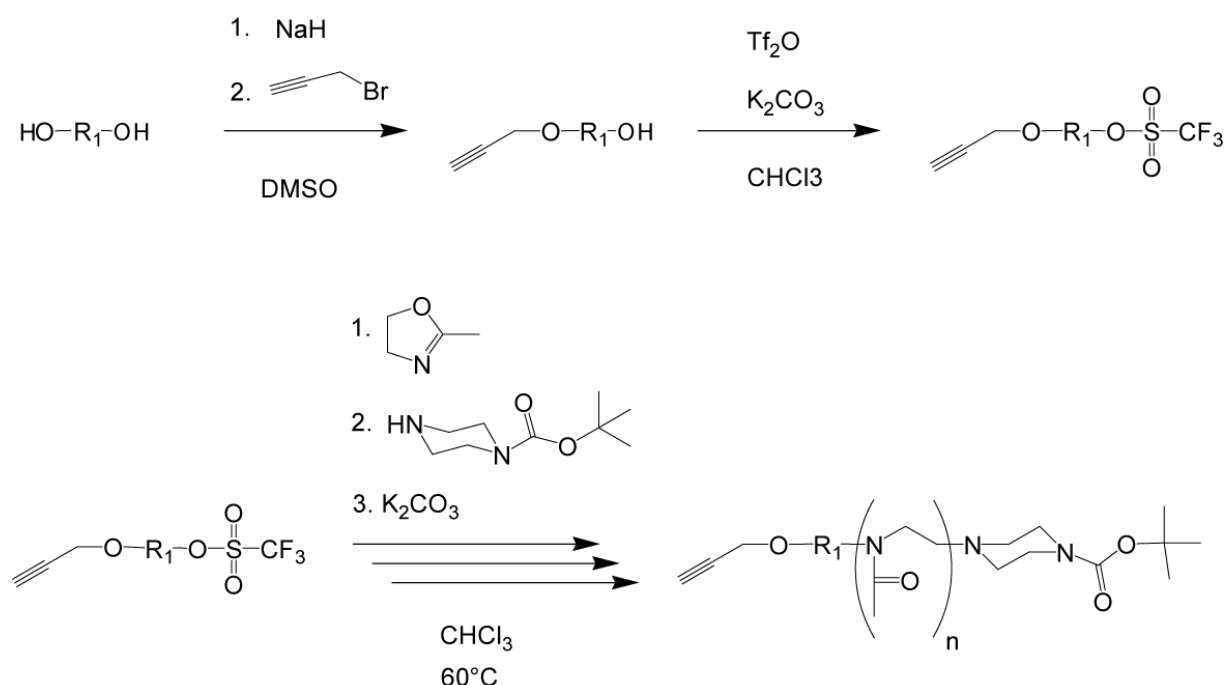


Abbildung 4.49 Reaktionsschema zur Darstellung von Poly(2-oxazolin)en mit distaler Propargylfunktion.

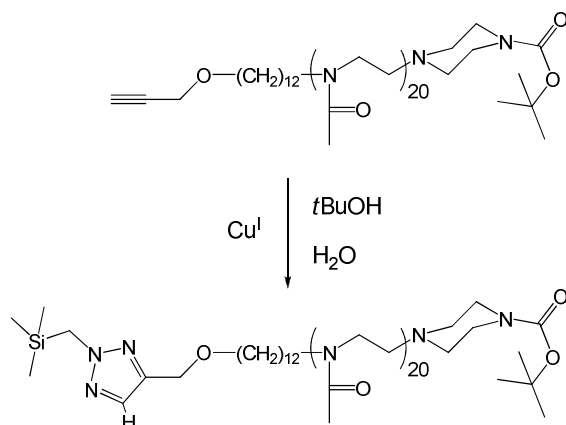


Abbildung 4.50: Polymeranaloge kupferkatalysierte Huisgen 1,3-dipolare Cycloaddition am proximalen Kettenende eines Poly(2-Oxazolin)s („Click-Chemie“).

Die im MALDI-TOF-MS beobachteten Massenverteilungen konnten dem gewünschten Produkt, bzw. dessen Fragmenten zugeordnet werden.

Somit wurde durch die zuvor beschriebenen polymeranalogen Reaktionen die Möglichkeit geschaffen, bei Poly(2-oxazolin) basierten Polymeren selektiv Modifikationen sowohl an der distalen, als auch an der proximalen Endgruppe einzuführen. Die Aufarbeitungsverluste waren bei gleichzeitig hoher Reinheit der Produkte gering. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass diese Reaktionen potentiell dazu geeignet sind, Lipopolymere auch nach deren Inkorporierung in artifizielle Membranen chemisch zu modifizieren.

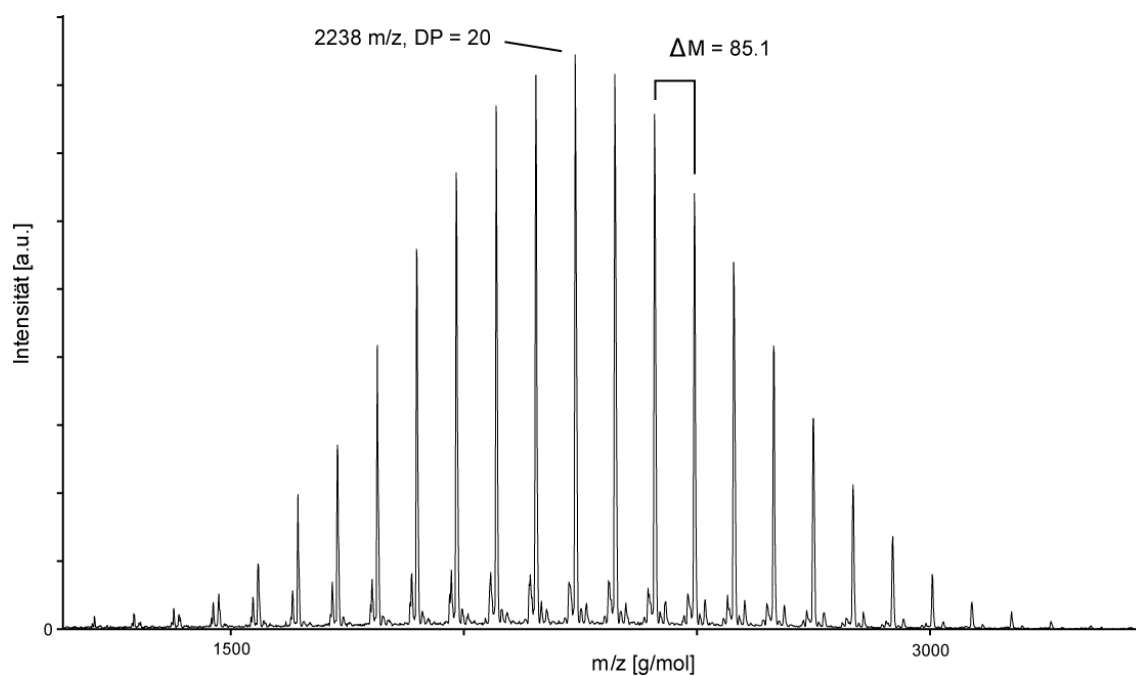
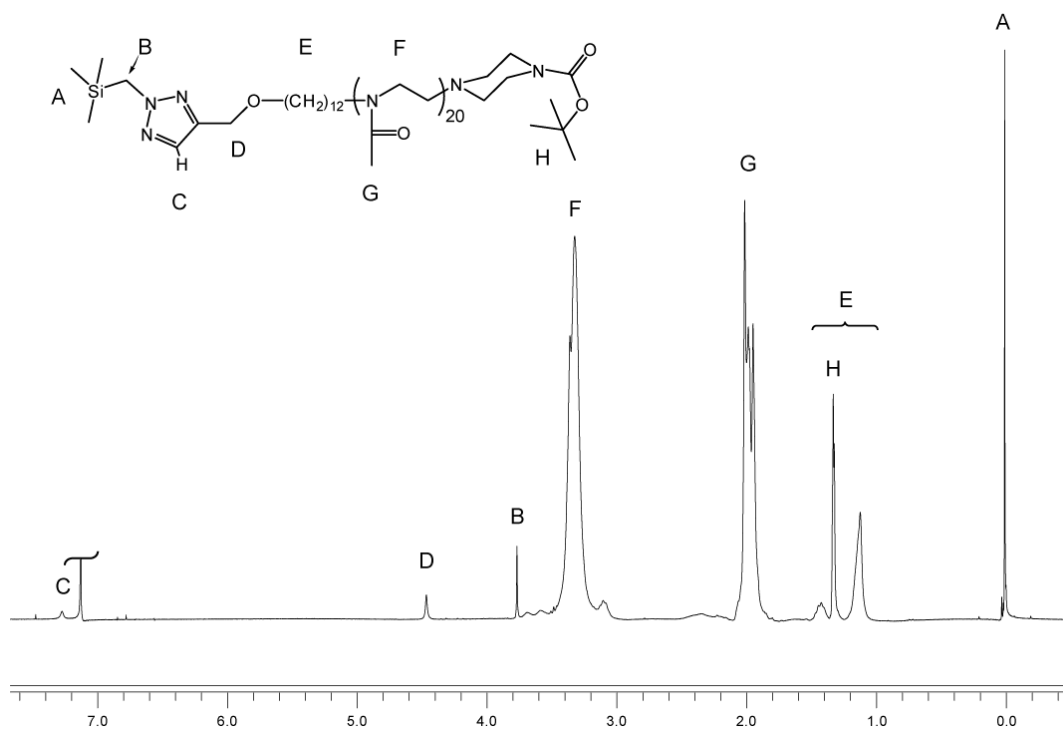


Abbildung 4.51: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum und MALDI-TOF Massenspektrum von $\text{Si}(\text{Me})_3\text{TriazolOC}_{12}\text{MeO}_{x20}\text{PipBoc}$.

4.5.6 Lipopolymere basierend auf asymmetrisch funktionalisiertem Caldarchaeol

Analog der in Kapitel 4.4.2 beschriebenen Vorgehensweise wurde das extrahierte Caldarchaeol einseitig mit TBDPS verethert. Die Prozedur hierfür unterschied sich jedoch von den zuvor diskutierten Beispielen insofern, dass aufgrund der geringen Verfügbarkeit des Naturstoffs mit bedeutend kleineren Mengen gearbeitet werden musste. Weiterhin konnte die Veretherungsreaktion mit dem Schutzgruppenreagens nicht mehr in reinem DMF durchgeführt werden, da das eingesetzte Lipid in diesem Lösungsmittel nicht löslich war. Dieses Problem konnte gelöst werden, indem die Reaktion in einer Mischung aus Chloroform und DMF eingesetzt wurde. Nach vollständigem Umsatz wurde das gewünschte Produkt durch säulenchromatographische Aufarbeitung in hohen Ausbeuten (90% d.Th.) und hoher Reinheit erhalten. Die $^1\text{H-NMR}$ und MALDI-TOF Spektren des asymmetrisch mit TBDPS funktionalisierten Caldarchaeolderivats sind in Abbildung 4.52 bzw. 4.53 gezeigt.

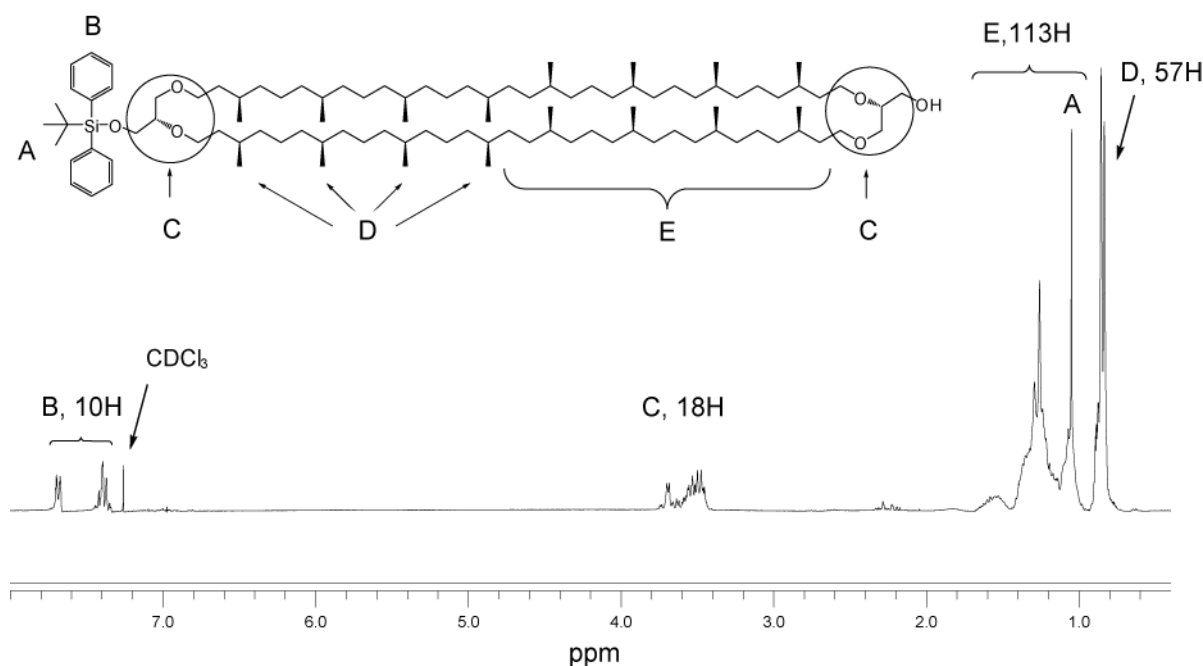


Abbildung 4.52: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von asymmetrisch mit TBDPS verethertem Caldarchaeol.

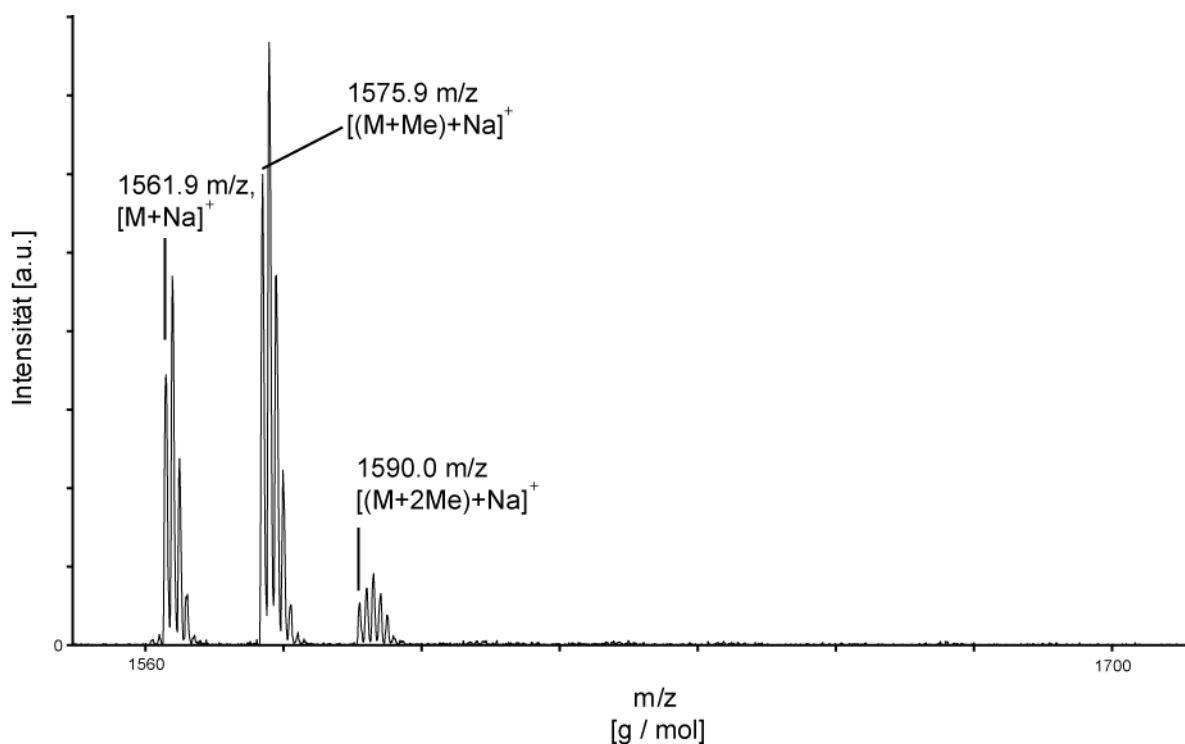


Abbildung 4.53: MALDI-TOF Massenspektrum mit TBDPS asymmetrisch verethertem Caldarchaeol.

Im Massenspektrum des Produkts wurden neben dem erwarteten Signal $[M + Na]^+$ bei $m/z = 1561.9$ g/mol auch Signale mit einem Massenunterschied von $m/z = 14$ beobachtet.

Diese weiteren Spezies lassen sich, analog zu den Massensignalen des Ausgangsproduktes, zum gewünschten Produkt homologen Verbindungen zuordnen, bei welchen jeweils eine bzw. zwei Protonen gegen Methylgruppen ausgetauscht wurden. Diese Verbindungen konnten chromatographisch nicht vom Zielprodukt isoliert werden.

Im $^1\text{H-NMR}$ wurden keine weiteren Signale von Nebenprodukten beobachtet. Alle Signale konnten erfolgreich dem gewünschten Produkt zugeordnet werden. Im Gegensatz zum Spektrum des Eduktes lagen in diesem Fall, bedingt durch die eingeführte Schutzgruppe, Signale vor, die eine exakte Quantifizierung der Größe des Integrals der Methylprotonen an den Bisphytanylketten ermöglichten. Nach Kalibrierung auf die 10 aromatischen H der TBDPS-Gruppe entsprach das Integral der Methylprotonen 57 H, also neun Protonen mehr als die für das „reine“ Caldarchaeolderivat erwarteten 48 H. Die Integrale der übrigen Protonen wurden in sehr guter Übereinstimmung mit den theoretischen Werten bestimmt.

Das asymmetrisch geschützte Diol wurde analog der zuvor beschriebenen Methode ins entsprechende Triflat überführt, wobei hier im Vergleich zur Vorgehensweise, die in Kapitel 4.4.2 beschrieben wurde, bei halbierter Konzentration gearbeitet werden musste, um bei den kleinen umgesetzten Mengen noch einen sauberen Ablauf der heterogenen Reaktion zu

gewährleisten. Als kleinstmögliches Volumen wurde abermals 1 mL betrachtet. Da maximal mit Substanzmengen von 50 mg, d.h. 31,2 μmol Initiator gearbeitet werden sollte, ergab sich eine Konzentration der aktiven Spezies während der Polymerisation, die nur knapp halb so hoch war, wie in den zuvor diskutierten Fällen. Aus diesem Grund wurden die Kettenwachstumsreaktionen mit verdoppelter Reaktionszeit durchgeführt. Als Monomere wurden 2-Methyl-2-oxazolin, 2-Ethyl-2-oxazolin bzw. 2-*n*-Butyl-2-oxazolin eingesetzt. Abbruchreaktion erfolgte mit 1-Boc-piperazin bzw. 1-Amino-3-(trimethoxysilyl)propan. Die Übersicht über die so dargestellten Caldarchaeol-basierenden Lipopolymere ist in Tabelle 4.16 gegeben.

Tabelle 4.16: Auf asymmetrisch funktionalisiertem Caldarchaeol basierende Lipopolymere. (CA) steht für den Caldarchaeolrest im Polymer.

#	Polymer	$[M]_0/[I]_0$	$^1\text{H-NMR}$		GPC	
			DP	M_n [g/mol]	M_n [g/mol]	PDI
494A	TBDPSO(CA)EtOx ₁₁₉ BuOx ₄₅ PipBoc	40/10	119/45 ^a	19246	14539	1,09
500A	TBDPSO(CA)MeOx ₈₀ PipBoc	50	80	8534	8705	1,04
500B	TBDPSO(CA)MeOx ₈₀ Sil	50	80	8527	8446	1,14
510	HO(CA)MeOx ₈₀ Pip	-	77	8179	9107	1,10

^{a)} Nach Aufarbeitung über präparativen LCST.

Anhand von MALDI-TOF-MS waren von keinem der erwähnten Polymere messbare Signale zu erhalten. Grund hierfür ist vermutlich Aggregatbildung während der Probenvorbereitung wie sie bei Amphiphilen auftreten kann. Im Fall des Copolymers TBDPSO(CA)EtOx₁₁₉BuOx₄₅BocPip konnte der Polymerisationsgrad mittels $^1\text{H-NMR}$ nur schwer ermittelt werden, da alle Signale der Polymerendgruppen mit Signalen der Poly(2-oxazolin)-Kette überlagerten. Allerdings errechnete sich anhand der Signalintegrale der untersuchten Peaks ein mittlerer Polymerisationsgrad, der gut doppelt so hoch war, wie beabsichtigt. Dies ist vermutlich auf Veretherungsreaktionen während der Darstellung der geringen Mengen des Initiators zurückzuführen, wie zuvor in Kapitel 4.42 diskutiert.

Das GPC Spektrum der entsprechenden Verbindung wies eine bimodale Verteilung auf, die sich durch eine leichte Schulter bei höheren Molmassen ausdrückte. Es wurde daher zunächst angenommen, dass es sich hierbei um Nebenprodukte in Form des homologen ABA Polymers

handelte, die aufgrund des hohen Polymerisationsgrades mit der damit einhergehenden größeren Wahrscheinlichkeit von Nebenreaktionen gebildet wurden. Deshalb wurde das Polymer einer präparativen Aufarbeitung über die LCST unterzogen, wie bereits zuvor für $\text{diC}_{18}\text{iPrOx}_{31}\text{BocPip}$ diskutiert (Kapitel 4.2.5), da angenommen wurde, dass das AB- und das homologe ABA Polymer aufgrund ihrer unterschiedlichen HLB auch *cloud points* bei entsprechend unterschiedlichen Temperaturen aufweisen. Die LCST für das Caldarchaeol-basierte Lipopolymer wurde bei 36-38 °C beobachtet. Nach Aufarbeitung bei 40 °C in der Zentrifuge wurde die überstehende wässrige Phase abdekantiert. Sowohl die feste als auch die flüssige Phase wurden gefriergetrocknet. Die geringen Mengen des aus der flüssigen Phase isolierten Produkts (5-10% im Verhältnis zur Masse des auf der festen Phase isolierten Produkts) wiesen keine Signale für die TBDPS-Schutzgruppe mehr auf, was nahelegt dass es sich in diesem Fall um das homologe ABA Polymer handelt.

Im $^1\text{H-NMR}$ Spektrum der festen Phase dagegen wurden die Integrale der distalen Boc-Schutzgruppe in guter Übereinstimmung mit den Integralen der aromatischen Protonen der distalen TBDPS-Schutzgruppe beobachtet, was darauf schließen lässt, dass hierbei das gesuchte AB-Lipopolymer vorliegt. Allerdings wies das korrespondierende GPC Spektrum wieder eine leichte bimodale Verteilung auf, mit ähnlichen Integralverhältnissen bezüglich Hauptverteilung und Schulter. Zur Überraschung wurde hingegen festgestellt, dass das GPC Spektrum des in der wässrigen Phase enthaltenen Produkts eine monomodale Verteilung, bei gleicher Molmasse wie der Hauptpeak bei der festen Phase, vorwies und nicht bei doppeltem Gewicht wie es zu erwarten gewesen wäre. Somit schieden die erwähnten „ABA“-Nebenprodukte als Erklärung für die gefundene Bimodalität aus. Die letzte naheliegende Erklärungsmöglichkeit wäre deshalb die Bildung von stabilen Aggregaten unter den Elutionsbedingungen auf der GPC. Diese Annahme konnte allerdings nicht durch Messungen in anderen GPC-Systemen weiter verifiziert werden, da die untersuchten Poly(2-oxazolin)e entweder zu langsam eluiert wurden (in Chloroform), nicht löslich waren (THF) oder keine detektierbaren Signale lieferten (THF/Wasser/TBAB).

Im Falle der auf Poly(2-methyl-2-oxazolin) basierenden Caldarchaeol-Lipopolymere konnten mittels $^1\text{H-NMR}$ (Abbildung 4.51) die jeweiligen Kettenlängen gut bestimmt werden. Im Spektrum des Polymers $\text{TBDPSO}(\text{CA})\text{MeOx}_{50}\text{Sil}$ wurde der Polymerisationsgrad durch Relation der Integrale der Methylprotonen an den Bisphytylketten zu jenen der Haupt- und Seitenketten am Polymer bestimmt. Nach Kalibrierung auf die Methylprotonen, wurde das Integral der aromatischen Protonen an der TBDPS Schutzgruppe in der gewünschten Stärke von 10 beobachtet. Im Spektrum des Polymers $\text{TBDPSO}(\text{CA})\text{MeOx}_{80}\text{BocPip}$ befanden sich

nach analoger Kalibrierung darüber hinaus die Integrale der *tert.*Butylgruppen an den beiden Schutzgruppen im gewünschten Verhältnis 1/1. Letztere Schutzgruppen wurden zusätzlich in einer polymeranalogen Reaktion vom Polymer entfernt. In Abbildung 4.54 ist der Erfolg der Reaktion an der vollständigen Abwesenheit der Signale der Schutzgruppen „A“, „B“ und „G“ gut zu erkennen, und außerdem abzuleiten, dass hierbei unerwünschten Nebenreaktionen an der Polymerkette stattfanden. Dies lässt darauf schließen, dass es sich bei den erhaltenen Verbindungen auch um die gewünschten Produkte handelt. Im Fall von TBDPSO(CA)MeOx₈₀BocPip trat im GPC Spektrum abermals eine bimodale Verteilung auf, die der für TBDPSO(CA)EtOx₁₁₉BuOx₄₅BocPip diskutierten sehr ähnlich war.

Im Falle von TBDPSO(CA)MeOx₈₀Sil wurde hier ebenfalls eine leichte, aber noch wesentlich schwächer ausgeprägte Schulter detektiert, wobei diese genauso von einer Vernetzungsreaktion zwischen den Silylendgruppen während der Elution bei 80 °C herrühren kann, wie aus vorhergehenden Arbeiten bekannt.^[2]

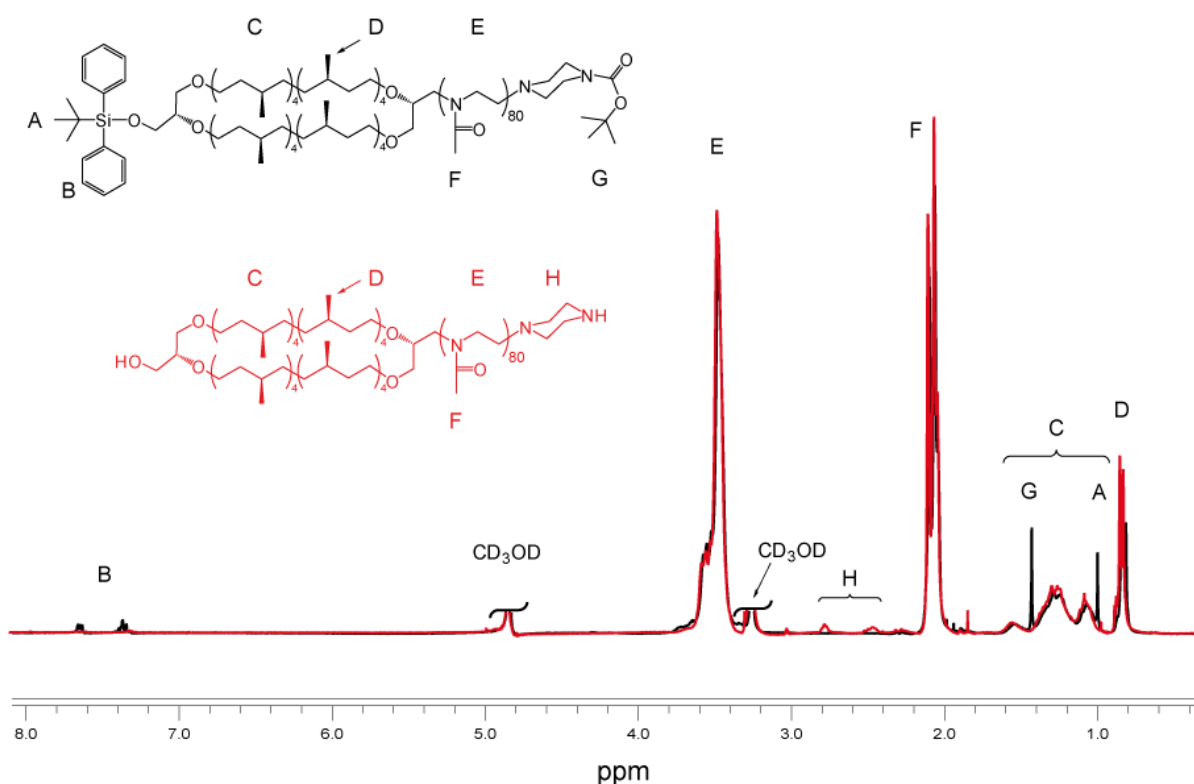


Abbildung 4.54: ¹H-NMR in CD₃OD von TBDPSO(CA)MeOx₈₀BocPip und dem entschützten homologen Pendant HO(CA)MeOx₅₀Pip.

Im Spektrum des entschützten Polymers $\text{HO}(\text{CA})\text{MeO}_{x_{80}}\text{Pip}$ war jene Schulter hingegen höchstens noch leicht zu erahnen.

Aus dem Zusammenschluss aller erhaltenen analytischer Daten, insbesondere aus der guten Übereinstimmung der Integralverhältnisse im $^1\text{H-NMR}$, wurde somit geschlossen, dass Aggregatbildung die Ursache für das Auftreten der bimodalen Elutionsverteilungen war. Die letzte Bestätigung für diese Schlussfolgerung kann durch den Einsatz der Lipopolymere in polymerunterstützten Membranen bzw. anhand von Untersuchungen zum Platzbedarf der Lipopolymere in Monolagen an der Wasser-Luft-Grenzfläche erhalten werden.

Diesbezüglich wurden bereits erste Versuche durchgeführt. Wie in Abbildung 4.55 gezeigt ist, lassen sich aus dem Polymer $\text{HO}(\text{CA})\text{MeO}_{x_{80}}\text{Pip}$ sehr stabile Filme darstellen, die erst bei einem sehr hohen Flächendruck von etwa 37 mN/m kollabieren. Lügen in den Filmen noch zusätzlich größere Mengen eines Nebenprodukts in Form eines „ABA“ Copolymers vor, so wäre eine Bildung derartig stabiler Filme, aufgrund der eingeschränkten Freiheitsgrade der Copolymere, nicht erwartet worden.

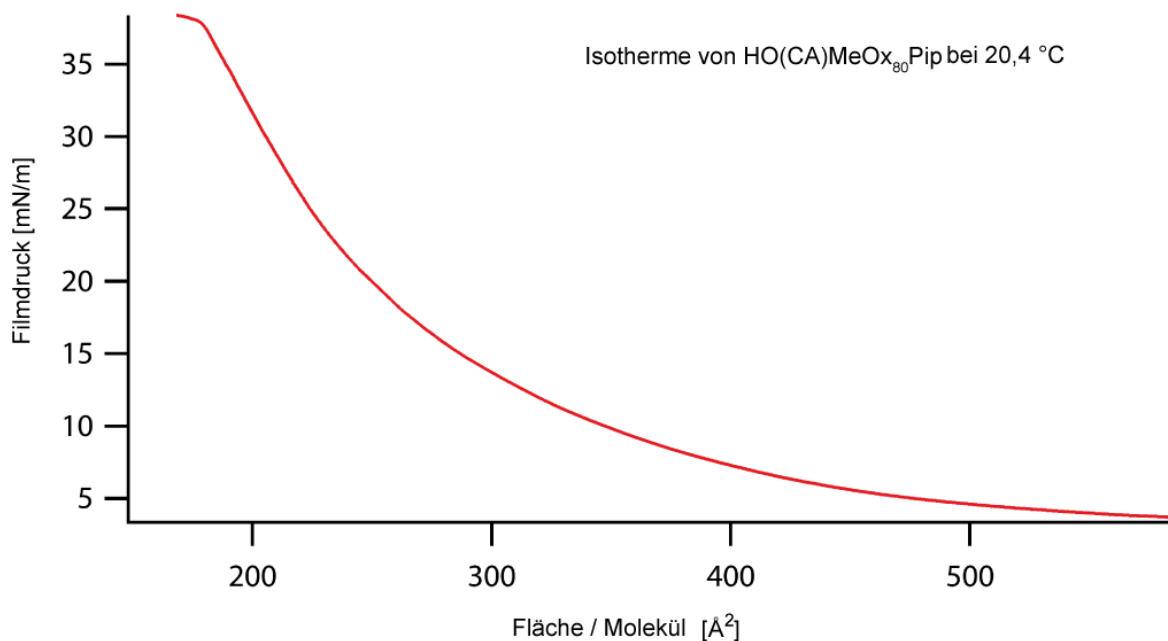


Abbildung 4.55: Für das Polymer $\text{HO}(\text{CA})\text{MeO}_{x_{80}}\text{Pip}$ bei $20,4 \text{ °C}$ gemessene Isotherme an der Wasser-Luft-Grenzfläche.

4.6 SCHALTBARE POLY(2-OXAZOLIN) BASIERTE LIPOPOLYMERE

4.6.1 Thermisch schaltbare Lipopolymere

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit war die Darstellung thermisch schaltbarer Lipopolymere. Inkorporierung solcher Polymere in Lipiddoppelschichten würde erstmalig Zugang zu thermosensitiven Membranmodellen ermöglichen. Im Falle von *polymer tethered membranes* könnte so der Abstand zwischen Substratoberfläche und Membran, abhängig von der Temperatur gesteuert werden. Darüber hinaus könnte die sterische und damit chemische Verfügbarkeit eines an der Lipidkopfgruppe präsentierten Bindungsmotivs selektiv durch einen externen Stimulus kontrolliert werden, wie in Abbildung 4.56 veranschaulicht ist. Aggregate, die in Lösung durch solche Lipopolymere gebildet wurden, kollabieren oberhalb der LCST, hervorgerufen durch einen sprunghaften Anstieg ihrer Hydrophobie, gefolgt von einer Entmischung aus der flüssigen Phase. Sind in den Aggregaten kleinere, hydrophobe Moleküle, wie beispielsweise ein pharmazeutischer Wirkstoff, eingeschlossen, so kann deren Verfügbarkeit im wässrigen Medium in Abhängigkeit von der Temperatur gezielt reguliert werden.

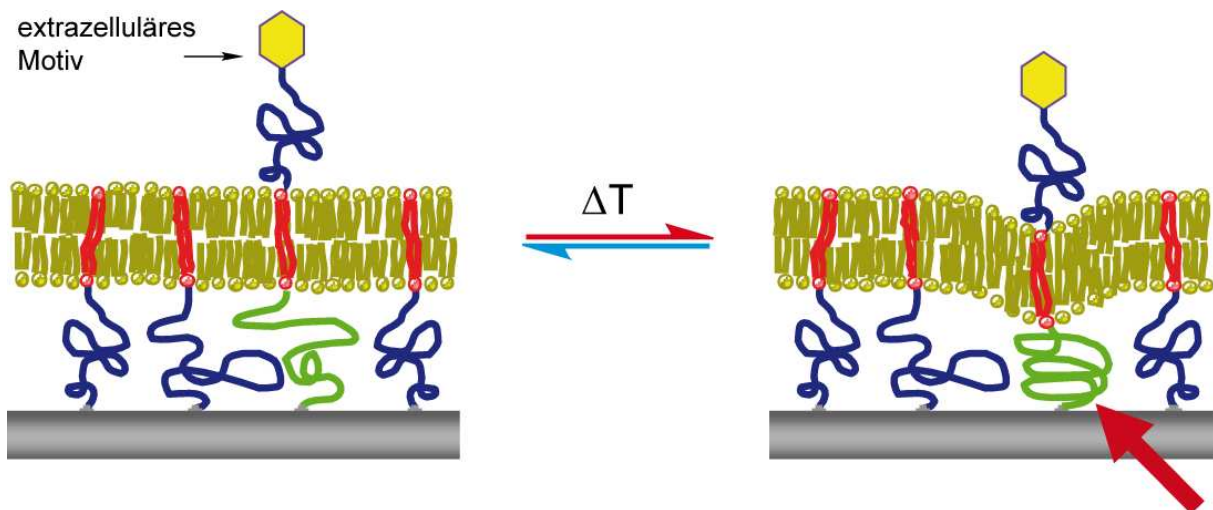


Abbildung 4.56: Funktionsweise einer thermisch schaltbaren polymerunterstützten Membran.

Für den möglichen Einsatz schaltbarer Lipopolymere für medizinische und biotechnologische Anwendungen bzw. zur Darstellung von polymerunterstützten Membranmodellen, ist die Verwendung von Polymeren mit engen Molmassenverteilungen und definierten Strukturen notwendig. Hierfür eignen sich wiederum Poly(2-oxazolin)e, aufgrund des Synthesewegs mittels lebender ringöffnender kationischer Polymerisation, und deren vielseitiger

Strukturvariabilität, in besonderer Weise. Es bieten sich prinzipiell zwei Möglichkeiten, um eine Einstellung der HLB und damit die genaue Lage der charakteristischen LCST von Poly(2-oxazolin) basierten Lipopolymeren zu erreichen. Zum einen kann dies über die Einführung polarer bzw. unpolarer Endgruppen erfolgen, zum anderen kann dies durch Variation der Polarität der Polymerseitenketten, durch unterschiedliche Monomere und/oder Copolymerisation von mehreren Monomeren mit unterschiedlicher Polarität erreicht werden.

4.6.1.1 Bestimmung der *lower critical solution temperature (LCST)*

Die individuellen Werte für die LCST der jeweiligen Polymere wurden mittels Transmissionsmessung an einem UV/Vis-Spektroskop bestimmt. Lösungen von schaltbaren Poly(2-oxazolin)en basierten Lipopolymeren waren unterhalb dieser Temperatur klar bzw. leicht trüb. Nach Überschreitung der LCST, erfolgte ein sofortiges Ausfällen der Polymere aus der wässrigen Phase, unter Bildung eines voluminösen Niederschlags. Zur Messung wurden Lösungen des zu untersuchenden Polymers mit einer Konzentration von 2 Gew.-% erzeugt. Diese wurden in Küvetten aus Quarzglas überführt und anschließend versiegelt. Über ein im Probenhalter eingelassenes Peltierelement wurde die Probe erwärmt. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, ist bei der Bestimmung der LCST neben der bloßen Steuerung der Temperatur die Einstellung der Verweilzeiten bei den jeweils angesteuerten Meßpunkten wichtig. Da es sich bei diesem Phänomen um einen reversiblen Vorgang handelt, ist es erforderlich, ausreichend lange Zeiten zur Einstellung des Gleichgewichts einzuhalten. Erwärmt man beispielsweise die zu untersuchende Lösung zu schnell, so wird aufgrund des langsamen Wärmetransports der *cloud point* zu hoch bestimmt.

4.6.1.2 LCST von Lipohomopolymeren

Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten, auf EtOx basierenden Lipohomopolymere zeigten in Vorversuchen thermische Schaltbarkeit. Reine PEtOx Homopolymere lassen erst ab Molmassen von knapp 7000 g/mol (entspricht DP ~ 70), unterhalb des Siedepunkts von Wasser, diesen Effekt erkennen. Durch Einführung der unpolaren Lipidkopfgruppen konnte die HLB der Polymere so weiter in Richtung des hydrophoben Bereichs verschoben werden, dass auch relativ kurze PEtOx-Lipopolymere einen *cloud point* zeigen. Das Ausfallen der Polymere aus der wässrigen Lösung erfolgte innerhalb eines sehr engen Temperaturintervalls

von ≤ 1 °C. Wie in Abbildung 4.57 gezeigt, wurden bei Dioctadecyl-basierten PEtOx Lipopolymeren, LCST-Übergänge in einem Bereich von ungefähr 45 °C bis 56 °C gemessen, gemäß dem wachsendem Polymerisationsgrad ansteigend.

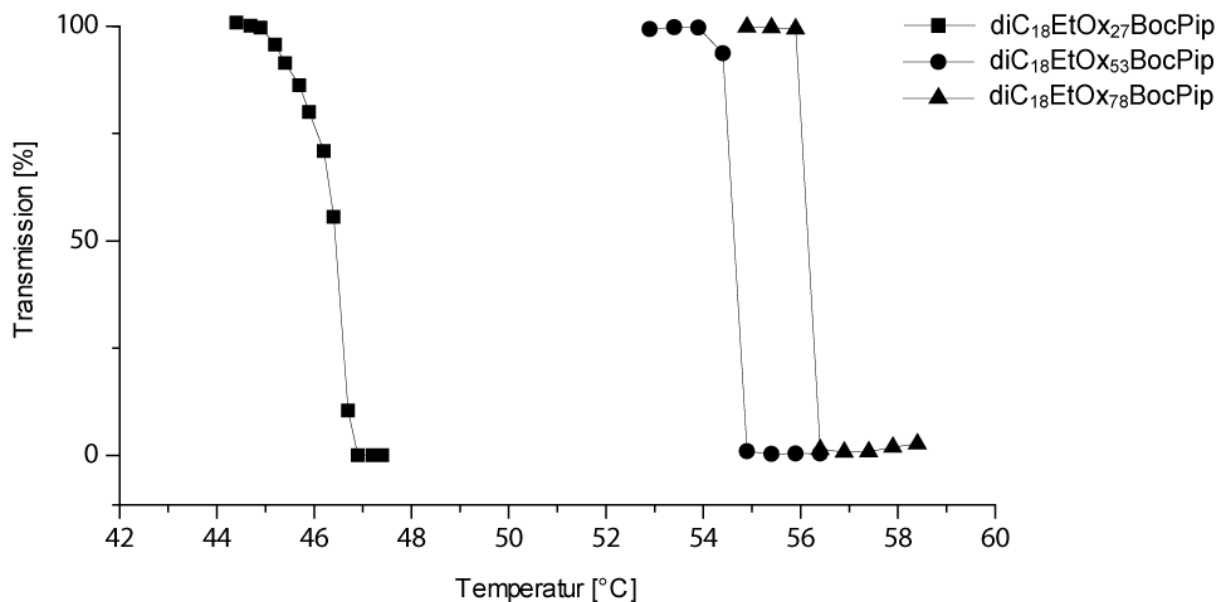


Abbildung 4.57: LCST Messungen von auf Dioctadecylinitiator basierenden Poly(2-ethyl-2-oxazolin) Lipopolymeren mit Kettenlängen von $n = 27, 53$ und 78 .

Für das Polymer diC₁₈EtOx₁₅BocPip konnte keine LCST über 0 °C gemessen werden, weshalb es wiederum nicht möglich war, diese Verbindung in wässrigem Medium zu solvatisieren. Wird die Lipidkopfgruppe gegen einen Diphytanoylrest ausgetauscht, hatte dies ebenfalls Auswirkung auf die LCST (Abbildung 4.58). Die Übergänge in den koagulierten Zustand wurden bei einer PEtOx-Kettenlänge von $n \sim 50$ zunächst noch bei etwa gleicher Temperatur bestimmt.

Bei der Gegenüberstellung der übrigen Polymere mit identischen Kettenlängen von jeweils rund 25 Wiederholungseinheiten wurden ähnliche Werte für deren LCST beobachtet, wobei der *cloud point* des Polymers diPhyEtOx₂₆PipBoc bei 41,5 °C lag und damit 3,5 °C tiefer als bei diC₁₈EtOx₂₇PipBoc. Dieser Befund wurde der leicht höheren Hydrophobie der Archaeolreste an den entsprechenden Polymerkopfgruppen zugeschrieben, allerdings hielt sich dieser Einfluss offenbar in engen Grenzen. Interessanterweise haben beide Lipidreste einen vergleichbaren Effekt auf das LCST-Verhalten. Zu beachten ist, dass die amphiphilen Lipopolymere in wässriger Lösung bereits oberhalb einer geringen kritischen Konzentration (*cmc*), von ca. 10 nmol/mL, Mizellen bilden. Da der Lipidrest der Polymere in solche Aggregate inkorporiert ist, kann dieser offensichtlich nur einen geringen Einfluss auf die

temperaturabhängige Löslichkeit der Polymere haben. Vielmehr ist der Grund für die Herabsetzung der LCST der Lipopolymere im Vergleich zu dem homologen Homopolymeren in der deutlichen Verringerung der Freiheitsgrade der Polymerketten, die mit den Mizellen verbundenen sind, zu suchen. So kann deren Solvatisierung bei Lipopolymeren oberhalb der *cmc* nurmehr ausgehend vom terminalen Ende erfolgen und nicht mehr von allen Seiten wie im Fall des vollständig hydratisierten Homopolymers. Die Folge ist eine geringere Lösungsenthalpie der Lipopolymere, was zur Entmischung bei niedrigeren Temperaturen führt - offensichtlich weitestgehend unabhängig von der weiteren Beschaffenheit des Lipidrests an den Polymeren.

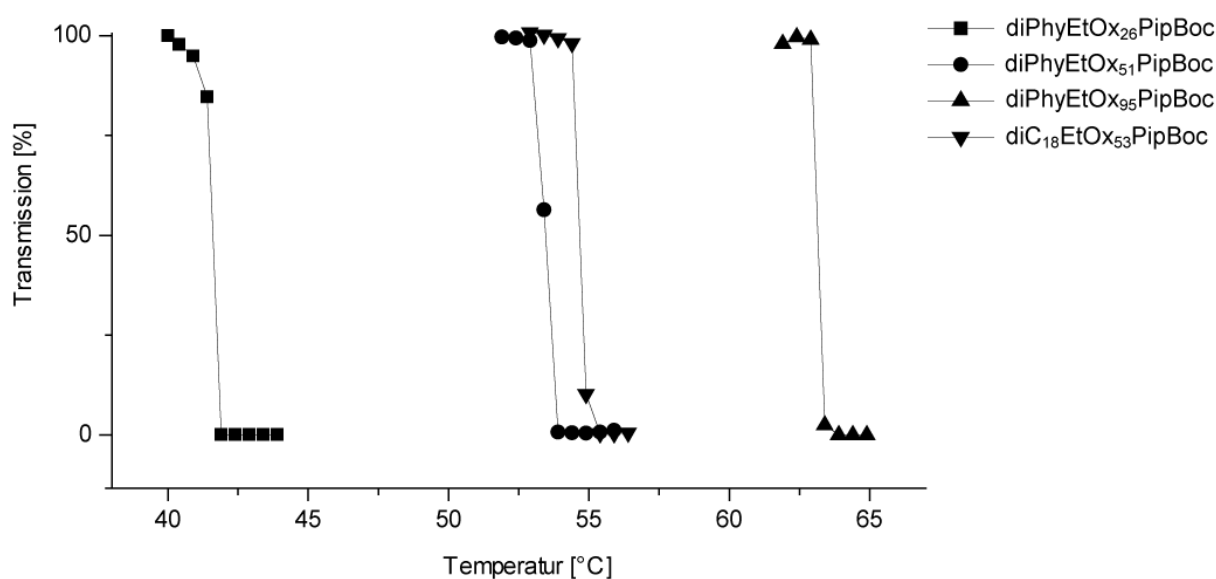


Abbildung 4.58: LCST Messungen von auf Archaeol basierenden Poly(2-ethyl-2-oxazolin) Lipopolymeren mit Kettenlängen von $n = 26, 51$ und 95 . Zum Vergleich sind die Daten für $diC_{18}EtOx_{53}PipBoc$ angegeben.

4.6.1.3 LCST von Lipocopolymeren

Die Copolymerisation von EtOx mit dem hydrophoberen Monomer BuOx erwies sich für eine gezielte Kontrolle der hydrophilen/lipophilen Balance als sehr gut geeignet. So bewirkte der Austausch von zwei Äquivalenten EtOx gegen BuOx bei Lipopolymeren mit einer Gesamtkettenlänge von ~ 25 Wiederholungseinheiten eine deutliche Absenkung der LCST um $9\text{ }^{\circ}\text{C}$ (vergleiche $diC_{18}EtOx_{27}PipBoc$ und $diC_{18}EtOx_{23}BuOx_2PipBoc$, Abbildung 4.59 bzw. Tabelle 4.15). Die für die BuOx-haltigen Lipocopolymeren gemessenen *cloud points* sind zusätzlich graphisch in Abbildung 4.60 zusammengefasst.

Mit abnehmendem relativem Anteil an BuOx in den Polymerketten verschiebt sich die Balance wieder in Richtung größerer Hydrophilie, weshalb diese Absenkung im Vergleich zu dem homologen Lipohomopolymer dann zunehmend geringer ausfällt. Eine Erklärung für die Reduzierung der LCST kann in der Betrachtung der freien Gibbschen Energie ΔG gefunden werden. So ist die Lösungsenthalpie ΔH der solvatisierten Polymere, bedingt durch deren höhere Hydrophobie, deutlich reduziert. Da dadurch folglich weniger Wassermoleküle für die Solvatisierung benötigt werden und damit mehr Moleküle in ungeordneterem Zustand verbleiben können, weisen diese Verbindungen ebenfalls eine vergleichsweise höhere Lösungsentropie ΔS auf. Weil es sich beim Phänomen der thermischen Schaltbarkeit von Poly(2-oxazolin)en um einen entropischen Effekt handelt, wird ΔG bereits bei deutlich niedrigeren Temperaturen in den positiven Bereich verschoben, was wiederum die Entmischung des Polymers aus der wässrigen Phase bedeutet.

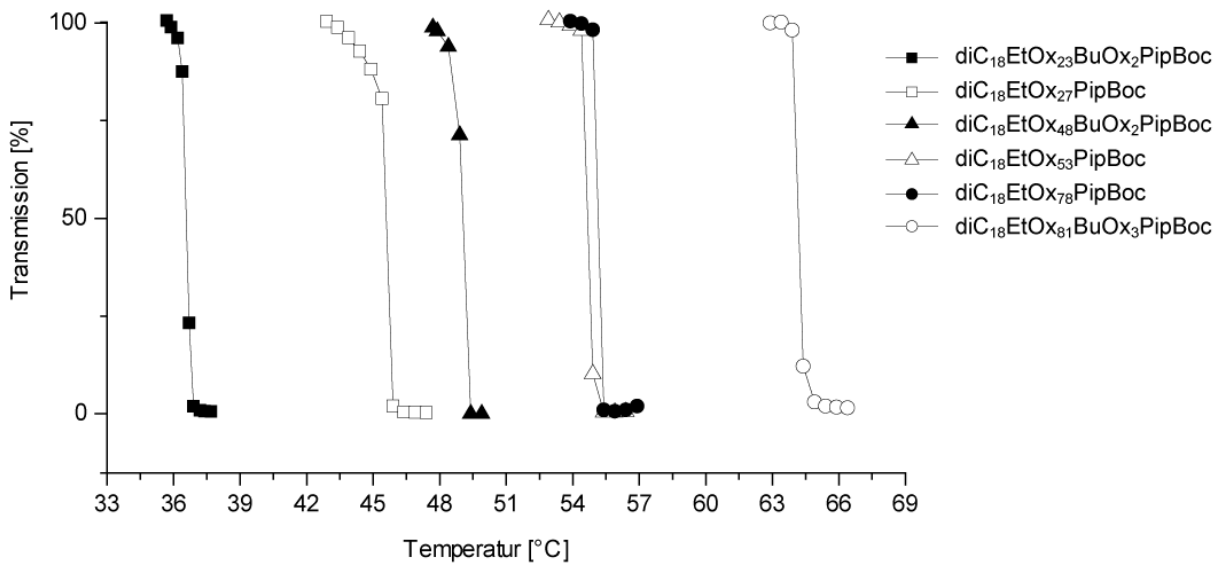


Abbildung 4.59: LCST Messungen von Poly(2-ethyl-2-oxazolin) Lipopolymeren, die auf Dioctadecylinitiator basieren, mit Kettenlängen von $n = 27, 53$ und 78 . Zum Vergleich sind dazu homologe Polymere angegeben, bei welchen jeweils zwei EtOx-Einheiten gegen BuOx ausgetauscht wurden.

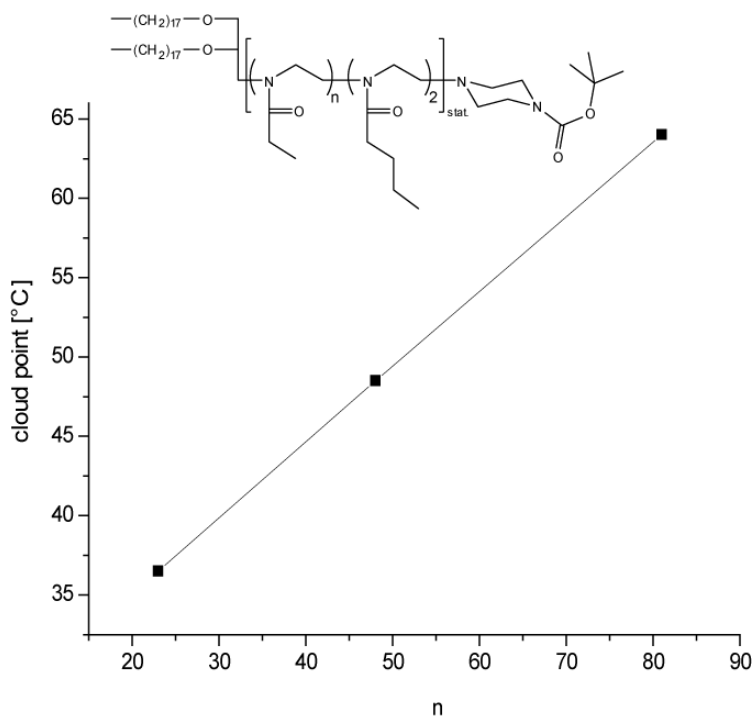


ABBILDUNG 4.60: Veränderung der cloud points von auf EtOx und BuOx basierenden Lipocopolymeren. Bei einem konstanten $DP_{BuOx} = 2$ erfolgte sukzessive Anhebung von DP_{EtOx} .

Schwerer erklärt werden kann allerdings die beobachtete LCST für das Polymer $diC_{18}EtOx_{76}BuOx_2PipBoc$, welche wider Erwarten bei einer höheren Temperatur als bei der entsprechenden, nur EtOx enthaltenden Verbindung gemessen wurde. Für diesen Befund konnte keine plausible Erklärung gefunden werden. Nach vorhergehenden Experimenten hätte mit einer zu tieferen Temperaturen hin verschoben LCST gerechnet werden müssen. Andererseits handelt es sich hierbei auch nicht um die erste, im Zusammenhang mit dem LCST-Phänomen zunächst „widersprüchlich“ erscheinende, gefundene Beobachtung.^[111]

Um den Einfluss der Copolymerisation genauer zu untersuchen, wurde der Anteil von BuOx diesmal bei konstanter Gesamtkettenlänge schrittweise erhöht. Wie in den Abbildungen 4.61 und 4.62 gezeigt, war so eine noch größere Variation der LCST als zuvor möglich. Besonders ist hierbei der *cloud point* von $diC_{18}EtOx_{42}nBuOx_8 BocPip$ zu erwähnen, welcher sich mit 36,5 °C im relevanten Bereich für medizinische Anwendungen befindet. Je tiefer die charakteristische LCST der Lipopolymere war, desto voluminöser fiel auch der Niederschlag nach deren Überschreitung aus.

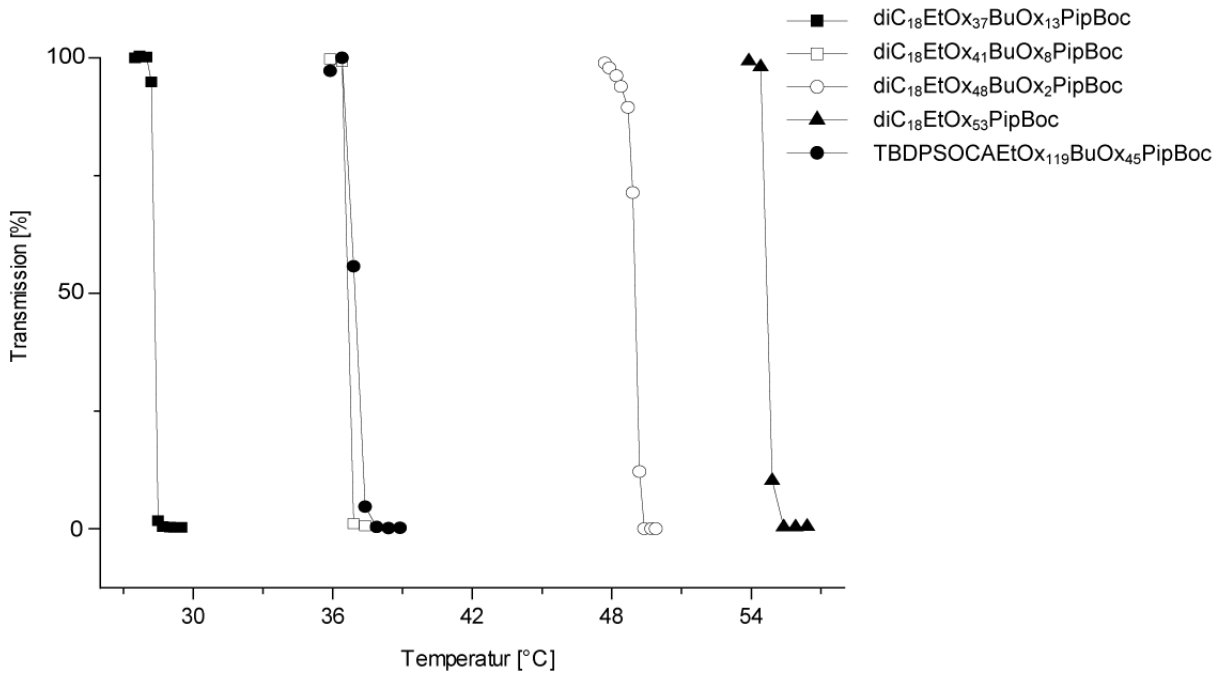


Abbildung 4.61: LCST Messungen von Poly(2-ethyl-2-oxazolin) Lipopolymeren, die auf Dioctadecylinitiator basieren, mit konstanten Gesamtkettenlängen, aber variierendem BuOx-Gehalt in der Polymerketten. Zusätzlich sind die Ergebnisse für das schaltbare Caldarchaeol-basierte Lipopolymer gegeben.

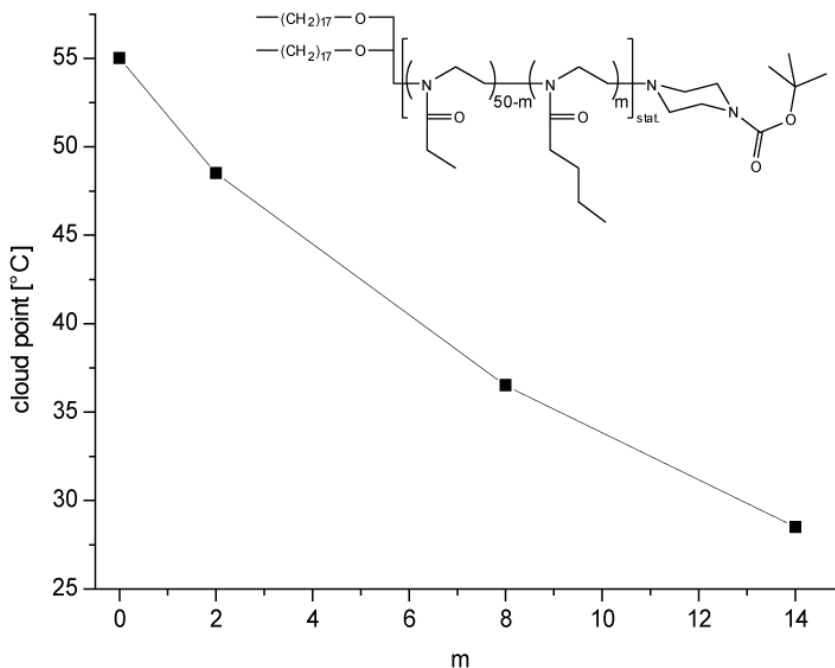


Abbildung 4.62: Veränderung des cloud points von auf auf EtOx und BuOx basierenden Lipocopolymeren. Die Gesamtkettenlänge wurde konstant bei $DP_{tot.} = 50$ konstant gehalten, während DP_{BuOx} sukzessive erhöht wurde.

4.6.1.4 LCST von symmetrischen „ABA“-Lipopolymeren

Darüber hinaus wurde auch der *cloud point* von PDMS - Lipopolymere bestimmt. Diese ABA Copolymere weisen, im Gegensatz zu den zuvor untersuchten, einen symmetrischen Aufbau auf und besitzen bolaamphiphilen Charakter. Sie sind deshalb in der Lage, Lipidmembranen zu spannen, ohne mit einer zweiten Lipidschicht zu verschmelzen. In wässriger Lösung neigen solche Verbindungen zur Bildung von Vesikeln, wie unter anderem bereits von *Meier et al.*^[178-182, 202] beschrieben. Da der Bereich dieser Vesikel, der die hydrophoben Polymerblöcke enthält, ähnlich wie bei Mizellen, kaum mit der wässrigen Phase in Wechselwirkung treten kann, stehen folglich nur die PEtOx-Ketten für die Solvatisierung zur Verfügung. Diese Annahme wird durch die Untersuchungen an BocPipEtOx₂₅PDMS₁₀EtOx₂₅ BocPip bekräftigt (Abbildung 4.63). So wurde in diesem Fall eine LCST von 43,5 °C festgestellt, die den Werten der AB-Lipopolymere diC₁₈EtOx₂₅BocPip sowie diPhyEtOx₂₅BocPip (45 °C bzw. 41,5 °C) nahe kommt.

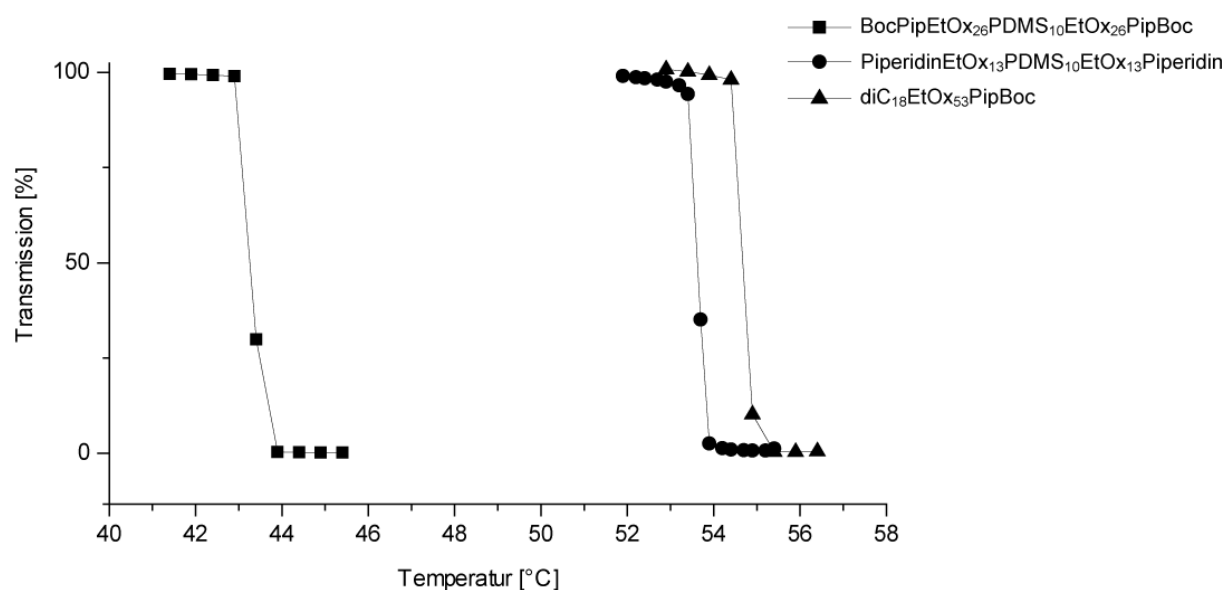


Abbildung 4.63: LCST Messungen von Lipopolymeren, die auf PDMS basieren. Zum Vergleich sind die für diC₁₈EtOx₅₀PipBoc erhaltenen Messdaten mit angegeben.

Von der Außenseite betrachtet sind die durch das bolaamphiphile ABA Lipocopolymer gebildeten Aggregate offenbar physikalisch kaum von den durch die zuvor genannten kürzeren Lipopolymeren gebildeten zu unterscheiden. Wie auch in den zuvor diskutierten Fällen scheint die Auswirkung der Zusammensetzung des hydrophoben Blocks auf die LCST nur marginal zu sein. Ursache dafür ist offenbar dessen Maskierung in der Lipiddoppelschicht.

Dagegen trifft dieser Befund nicht auf den *cloud point* des Lipopolymers PiperidinEtOx₁₃PDMS₁₀EtOx₁₃Piperidin zu, welches mit 55 °C trotz eines größeren relativen Lipidanteils bei deutlich höherer Temperatur gemessen wurde. Jedoch ist dieses Polymer aufgrund seiner Zusammensetzung nur bedingt mit den vorigen Verbindungen vergleichbar. Dieses Lipopolymer wurde mit Piperidin terminiert und weist dadurch eine andere Endgruppenpolarität auf, als sämtliche zuvor genannten, mit 1-Boc-piperazin terminierten Lipopolymere. Während für diC₁₈EtOx₁₅BocPip über 0° C keine LCST festgestellt wurde, weist dieses mit Piperidin terminierte ABA Copolymer hingegen thermische Schaltbarkeit auf. Folglich führt die Einführung von Piperidin am terminalen Ende zu einer deutlichen Verschiebung der HLB des Lipopolymers. Vermutlich erleichtert diese Endgruppe die Solvatisierung der Polymerketten durch Wassermoleküle, die bevorzugt an den Polymerenden initiiert wird. Auf diese Weise wird eine Auftrennung der Polymerknäuel erleichtert, was deren Lösungsenthalpie erhöht und durch die so erhöhte Wechselwirkung die LCST zu höheren Temperaturen hin verschiebt. Eine Zusammenfassung aller gemessenen LCST-Temperaturen ist in Tabelle 4.15 gegeben.

Tabelle 4.15: Übersicht aller gemessener thermisch schaltbarer Lipopolymere und deren LCST.

#	Polymer	LCST [°C]
380	diC ₁₈ EtOx ₁₄ PipBoc	< 0
342	diC ₁₈ EtOx ₂₇ PipBoc	45
341	diC ₁₈ EtOx ₅₃ PipBoc	55
471	diC ₁₈ EtOx ₇₈ PipBoc	55,5
497	diPhyEtOx ₂₆ PipBoc	41,5
499A	diPhyEtOx ₅₁ PipBoc	53
336	diPhyEtOx ₉₅ PipBoc	63
334	diC ₁₈ EtOx ₂₃ BuOx ₂ PipBoc	36,5
335	diC ₁₈ EtOx ₄₈ BuOx ₂ PipBoc	48,5
476	diC ₁₈ EtOx ₈₁ BuOx ₃ PipBoc	64
475	diC ₁₈ EtOx ₄₁ BuOx ₈ PipBoc	36,5
460	diC ₁₈ EtOx ₃₇ BuOx ₁₃ PipBoc	28,5
442	BocPipEtOx ₂₆ PDMS ₁₀ EtOx ₂₆ PipBoc	43
429	PiperidinEtOx ₁₃ PDMS ₁₀ EtOx ₁₃ Piperidin	53,5
494A	TBDPSO(CA)EtOx ₁₁₉ BuOx ₄₅ PipBoc	37

4.6.1.5 Polymerendgruppeneffekt

Um die Auswirkungen des Endgruppeneffekts auf die LCST weiter zu analysieren, wurden bei einer Auswahl der Lipopolymere die Boc-Schutzgruppen abgespalten. Jedoch konnte in keinem einzigen Fall das Auftreten eines *cloud points* unterhalb 100 °C festgestellt werden. Dies traf auch auf $\text{diC}_{18}\text{EtOx}_{36}\text{nBuOx}_{14}\text{Pip}$ zu, welches die homologe Verbindung zu $\text{diC}_{18}\text{EtOx}_{36}\text{nBuOx}_{14}\text{BocPip}$ ist, dem zuvor untersuchten Lipopolymer mit der niedrigsten LCST, also dem größten hydrophoben Charakter. Offensichtlich wird durch die Entfernung der Schutzgruppe vom terminalen sekundären Amin die HLB der Polymere so stark in Richtung der hydrophilen Seite verschoben, dass aus enthalpischen Gründen unterhalb 100 °C kein Ausfällen mehr stattfindet. Dies ist insofern nachvollziehbar, als dass hier am distalen Terminus der Polymere Piperazin als Endgruppe vorliegt, ein cyclisches Diamin. Da Amine in wässriger Lösung zu Quartärnisierung neigen, liegen somit die Enden der Polymere zweifach ionisiert vor, was wiederum die signifikante Erhöhung ihrer Hydrophilie und damit ihre erleichterte Solvatisierbarkeit erklärt.

4.6.2 Untersuchungen zu thermisch schaltbaren Lipopolymeren an der Wasser-Luft-Grenzfläche

Nachdem zahlreiche dargestellte Lipopolymere eine LCST in wässriger Lösung aufwiesen, sollte dieser Effekt auch an der Wasser-Luft-Grenzfläche untersucht werden. Hierfür wurde eine *Langmuir-Blodgett*-Übertragung (LB-Übertragung) einer Lipopolymermonolage vorgenommen, wie bereits von *Wagner et al.*^[66] für vergleichbare Systeme angewandt, wobei die schnelle Reorganisation der Polymerschicht durch sorgfältige Vororganisation der Lipopolymerschicht unterbunden wurde. Dabei wird eine Lösung der amphiphilen Verbindungen in einem wasserunlöslichen und volatilen Lösungsmittel erstellt und auf der Wasseroberfläche in einem PTFE-Trog gespreitet. Nach Verdampfen des organischen Solvens richtet sich der lipophile Teil der Polymere in Richtung der Gasphase aus. Die hydrophilen Polymerketten wiederum sind in der Wasser-Subphase gelöst. Diese Prozedur erwies sich zur geordneten Stabilisierung einer Lipidschicht aus Lipopolymeren über der hydrophilen Polymerlage, die durch hydrophil/hydrophobe Interaktionen stabilisiert ist, als geeignet. Diese Schicht tendiert dadurch nicht mehr zu unkontrollierter Reorganisation. Polymere, die in solche Lagen integriert sind, verfügen nur noch über eine zweidimensionale, d.h. laterale Beweglichkeit. Zunächst wurden LB-Monolagen des $\text{diC}_{18}\text{iPrOx}_{31}\text{BocPip}$

untersucht. Für dieses System wurden zahlreiche Isothermen bei unterschiedlichen Temperaturen aufgenommen (Abbildung 4.58). Die Isothermen implizieren bereits bei sehr geringen Drücken einen hohen Flächenbedarf pro einzelner Polymerkette, was darauf schließen lässt, dass die Polymere nicht vollständig in der wässrigen Phase solvatisiert sind, sondern an der Wasser-Luft-Grenzfläche spreiten. Um zu erzwingen, dass die Polymerketten in die Subphase gedrückt werden, wurde sukzessive der Filmdruck erhöht.

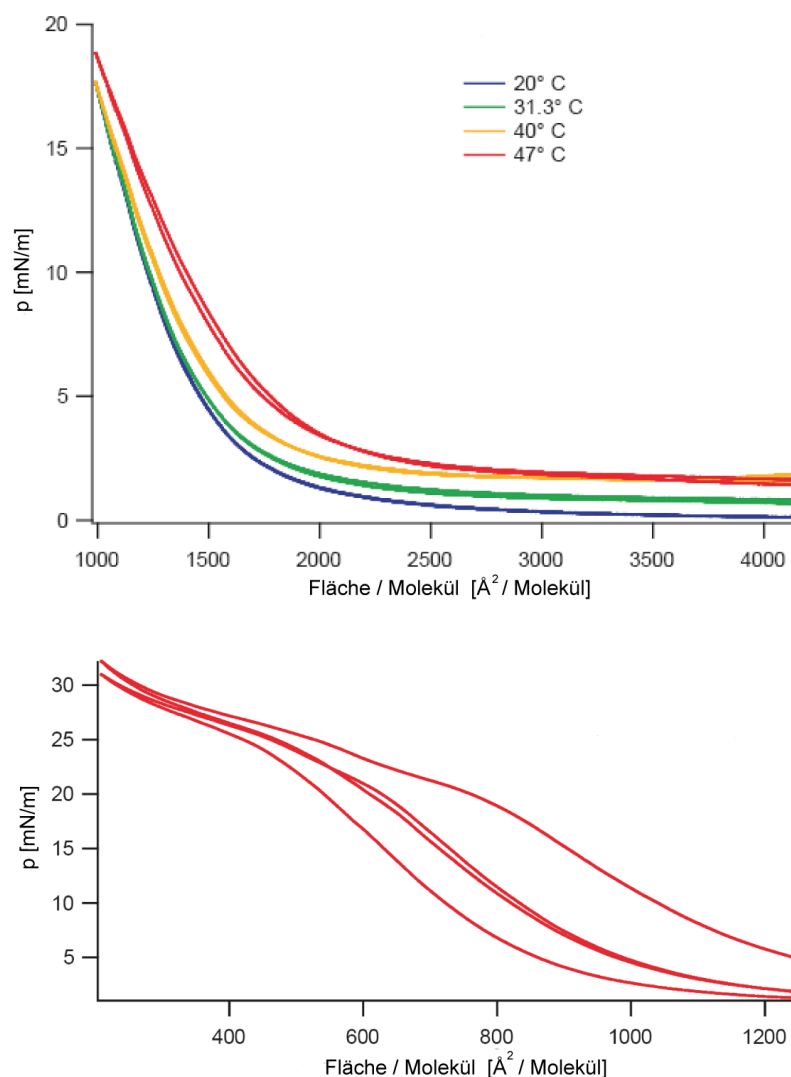


Abbildung 4.64: Isothermen von $\text{diC}_{18}\text{iPrOx}_{31}\text{BocPip}$ bei unterschiedlichen Temperaturen für hohe Flächen pro Molekül (oben) sowie für niedrigere (unten).

Bei höheren Drücken als 20 mN/m wurden die untersuchten Filme jedoch instabil. Wie in Abbildung 4.64 zu sehen, wurde eine Hysterese des Filmdrucks bei aufeinanderfolgenden Kompressions/Expansionszyklen gemessen. Selbst bei extrem hohen Drücken jenseits von 30 mN/m waren die von den individuellen Polymeren besetzten Flächen auffällig größer als der Flächenbedarf der Lipidankergruppen ($\leq 100 \text{\AA}^2$ / Molekül). Auch bei Temperaturen weit

oberhalb der in wässriger Lösung bestimmten LCST konnte kein wesentlicher Einfluss auf den gemessenen Filmdruck beobachtet werden. Es wäre ein signifikanter Anstieg des Drucks, der zur Aufrechterhaltung einer konstanten Fläche benötigt wird, erwartet worden. Der Druck erhöhte sich mit steigender Temperatur zunächst auch gleichmäßig leicht. Dieser Effekt ist jedoch von vergleichsweise geringerem Ausmaß und eher auf den erhöhten Platzanspruch der Polymerketten bei höheren Temperaturen zurückzuführen. Die Auswirkung der LCST sollte dagegen sprunghaft innerhalb eines Temperaturbereichs von $\Delta T \sim 1^\circ\text{C}$ stattfinden. Somit erwies sich die PiPrOx Kette der Lipopolymere ans sich als zu hydrophob, um vollständig in der wässrigen Subphase gelöst zu werden. Da kein messbarer LCST Effekt zu erwarten war, wenn das Polymer sich immer noch an der Grenzfläche befand, wurde von weiteren Untersuchungen an diesem System abgesehen. Stattdessen wurden weitere Messungen an $\text{diC}_{18}\text{EtOx}_{25}\text{BocPip}$ vorgenommen, einem Lipopolymer mit deutlich stärker hydrophilen Seitenketten, bei dem der *cloud point* in wässriger Lösung auch erst 20°C höher, bei einer Temperatur von 51°C , beobachtet werden konnte. Durch dieses hydrophilere System wurden wesentlich stabilere LB-Monoschichten gebildet, die Drücken bis hin zu 44 mN/m standhielten (Abbildung 4.65).

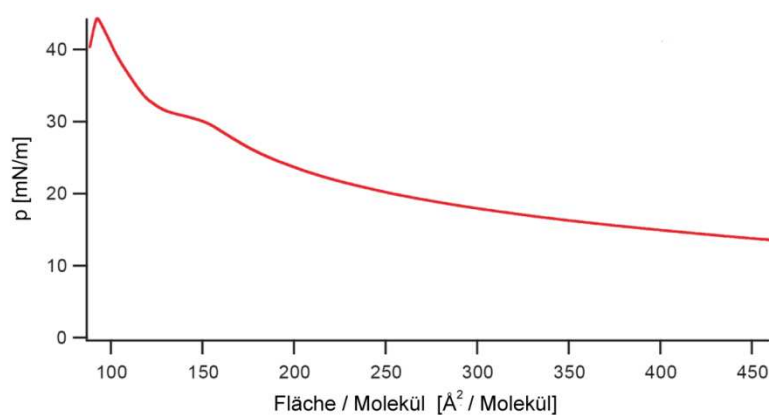


Abbildung 4.65: Isothermen von $\text{diC}_{18}\text{EtOxBocPip}$ bei Raumtemperatur.

Die Isotherme bei Raumtemperatur zeigt zunächst einen annähernd linearen Anstieg mit zunehmendem Filmdruck bei abnehmender Fläche pro Molekül. Bei $\sim 29\text{ mN/m}$ war ein leichter Knick zu beobachten. Ähnliche Beobachtungen für POx basierte amphiphile Lipopolymere wurden von *Foreman et al.*^[210] berichtet und konnten auf Kondensation der Alkylketten zurückgeführt werden. Ähnlich wie im Fall der PiPrOx Ketten liegen die PEtOx Lipopolymere bei niedrigem Druck zunächst an der Wasser-Luft-Grenzfläche gespreitet vor. Anders als bei ersteren, gelingt es jedoch bei diesen unter ausreichend hohem Druck, eine Ausrichtung in die Wassersubphase zu erzwingen. Aus diesem Grund wurden statt den

isothermen isochore Messungen durchgeführt (d.h. unter Beibehaltung einer konstanten Filmfläche), da nach diesen Erkenntnissen unterhalb des kritischen für die Alkylkettenkondensation erforderlichen Drucks ohnehin keine messbaren Auswirkungen eines LCST Effekts zu erwarten gewesen wären. Isochoren wurden bei $T = 20\text{ °C}$ und 55 °C gemessen. Nach vorherigen Überlegungen wurde durch die Auswirkungen dieses Effekts ein deutlicher Einfluss auf den gemessenen Filmdruck erwartet. Wenn die Polymerketten unterhalb der LCST komplett in die Subphase hinein orientiert vorliegen, so bilden sie Schichten von vergleichsweise hoher Dicke aus. Oberhalb dieser Temperatur tritt Entmischung mit der wässrigen Phase ein. Bei hinreichend enger Packungsdichte sollte so oberhalb der LCST eine Verringerung der Dicke der Polymerschicht erfolgen, verbunden mit einer Erhöhung des lateralen Platzbedarfs. Aus diesem Grund wurde erwartet, die Auswirkung des LCST-Effekts proportional zur Veränderung des lateralen Kompressionsdrucks messen zu können.

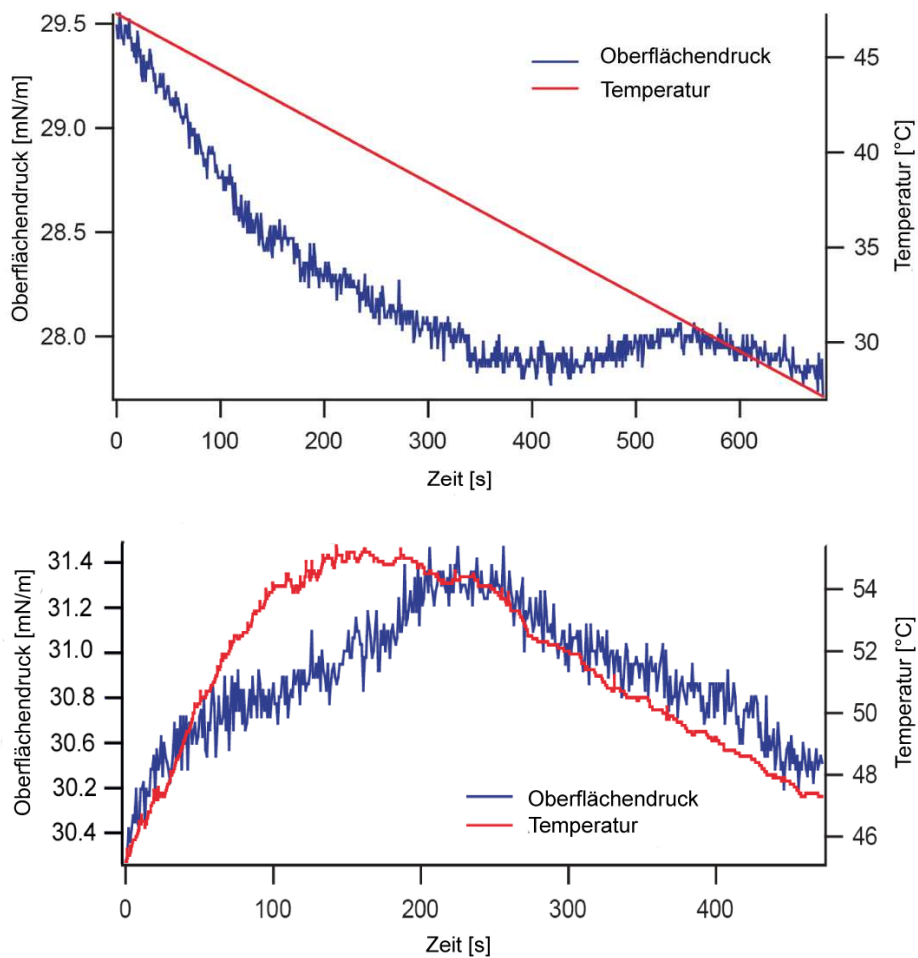


Abbildung 4.66: Isochoren von $diC_{18}EtOxBocPip$, gemessen in unterschiedlichen Temperaturbereichen.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Abbildung 4.66 gezeigt. Sowohl Oberflächendruck als auch Temperatur zeigen fast denselben Verlauf, bei nur geringer Variation des Lateraldrucks. Dies entspricht den Erwartungen, da im untersuchten Bereich die Oberflächenspannung von Wasser nahezu linear mit der Temperatur korreliert. Eine Auswirkung des LCST Verhaltens sollte plötzlich und innerhalb eines Intervalls von nur wenigen °C auftreten. Da dies nicht eintraf, wurde gefolgert dass dieser Effekt anhand dieser Experimente nicht messbar war. Hierfür gibt es eine Reihe möglicher Erklärungen:

- Die Auswirkungen des Effekts auf den Oberflächendruck sind energetisch zu gering oder unterhalb der Nachweisgrenze.
- Der LCST Effekt hängt stark von der räumlichen Anordnung der untersuchten Verbindungen ab bzw. war aus nicht näher definierbaren Gründen durch die planare, zweidimensionale Anordnung in der Monolage, jenseits der Messgrenzen von 55 °C, verschoben.

Der letzte Punkt konnte aufgrund experimenteller Einschränkungen nicht weiter überprüft werden. Für effiziente isobarische Messungen wäre eine LCST zwischen 25 – 30 °C günstig. Dies erzwingt jedoch die Einführung von hydrophoberen Polymerketten, was unweigerlich zu den für PiPrOx getroffenen Beobachtungen einer Orientierung der Polymere hin zur Gasphase führen würde. Dies macht es aus besagten Gründen unmöglich, den LCST Übergang zu detektieren. Folglich erwiesen sich die beiden diskutierten Methoden als nicht geeignet, um diesen Effekt näher zu untersuchen. Obwohl dieser in wässriger Lösung gut messbar war, in welcher die Lipidkopfgruppen der Polymere ebenfalls in einer zweidimensionalen, allerdings sphärischen Umgebung vorlagen, stellten sich die hierfür getroffenen Beobachtungen als nicht übertragbar auf das zweidimensionale, planare System an der Wasser-Luft-Grenzfläche heraus. Als geeignete Methode hierfür könnte sich beispielsweise Ellipsometrie erweisen, welche zur Messung von Veränderungen der Schichtdicken geeignet ist und somit einen Ansatz für weiterführende zukünftige Untersuchungen bietet.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Sämtliche lebenden Organismen weisen Lipidmembranen auf, die das Zellinnere vom – äußeren trennen. Über membrangebundene Proteine wird der Stofftransport zwischen beiden Bereichen geregelt, so dass, neben der Schutzfunktion gegen äußere Einflüsse, die selektive Permeabilität solcher Membranen eine ihrer wichtigsten Eigenschaften darstellt. Ziel dieser Arbeit war die Synthese lipopolymere Systeme, um weiterführende Untersuchungen von membranassoziierten Prozessen generell zu ermöglichen. Dafür sollten Ansätze zur Synthese von lipopolymeren Systemen, sogenannten *polymer tethered membranes*, angewandt und weiterentwickelt werden. In diesen fungiert die hydrophile Polymerkette des Lipopolymers als hydrophiler, flexibler Anker zwischen einer festen Substratoberfläche und einer Lipiddoppelschicht. Dadurch wird eine höhere physikalische Stabilität der Membranen erreicht und gleichzeitig vermieden, dass darin integrierte Zellbestandteile, wie z.B. Proteine, in Interaktion mit der Substratoberfläche treten können, was unspezifische Wechselwirkung und damit Denaturierung der Proteine zur Folge hätte. Der Aufbau der hierfür erforderlichen Polymere erfolgte auf der Basis der lebenden kationischen Ringöffnungspolymerisation von 2-Alkyl-2-oxazolin. Dieses System bietet Zugang zu einer großen Variation an Polymeren mit engen Molmassenverteilungen und gleichzeitig definierter struktureller Zusammensetzung (PDI = 1,01 – 1,30). Ausgehend von Lipidinitiatoren wurden so Poly(2-oxazolin)-basierte Lipopolymere verschiedenster Strukturen dargestellt, welche zur Physisorption bzw. kovalenten Anbindung an Festkörperoberflächen geeignet sind. Durch das verwendete System konnten verschiedenste Lipopolymere für eine Vielzahl an denkbaren Anwendungen synthetisiert werden.

Als Initiatoren dienten sowohl mono- als auch bifunktionale Lipide. Die hierfür erforderlichen Lipide wurden entweder direkt aus lebendem Zellmaterial extrahiert oder waren synthetisch zugänglich. Synthetische Lipide wurden durch entsprechende Aufbaureaktionen, bzw. durch Veretherung von Naturstoffen mit Glycerinderivaten dargestellt. Aus lebenden Zellkulturen von *Methanothermobacter thermoautotrophicum* wurde anhand einer optimierten Vorgehensweise das membranspannende, natürliche Lipid Caldarchaeol extrahiert. Die Ausbeuten an Lipid übertrafen vergleichbare, in der Literatur erwähnte Werte bisweilen um das Doppelte. Die Lipidalkohole wurden triflatisiert und als Initiatoren direkt für die Polymerisation zur Darstellung von Poly(2-oxazolin)en mit distaler Lipidfunktion, bzw. mit zentralem Lipidblock (im Falle von ABA Lipopolymeren) eingesetzt. Als Monomere dienten

dabei 2-Methyl-2-oxazolin (MeOx), 2-Ethyl-2-oxazolin (EtOx) und 2-Butyl-2-oxazolin (BuOx). Zur Synthese von Lipopolymeren mit terminalen Hydroxyfunktionen wurden zur Polymerisation im unpolaren Solvens kompatible Verfahren entwickelt. Weiterhin erfolgte Termination mit 3-(Trimethoxy)silylpropan-1-amin, Piperidin und 1-Boc-Piperazin, wobei die Schutzgruppe an letzterem, nach Einführung ins Polymer, bei Bedarf entfernt werden konnte. Die terminalen sekundären Aminofunktionen konnten in diesen Fällen mit Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC) fluoreszenzmarkiert werden.

Die monofunktionalen Lipoinitiatoren führten bei Umsetzung mit 2-*iso*-Propyl-2-oxazolin (iPrOx) nicht zum reinen, gewünschten Lipopolymer, sondern zu einem Gemisch aus säure- und lipidinitiierten Polymeren. Dies konnte wiederum anhand präparativer Aufarbeitung unter Ausnutzung der niedrigeren *lower critical solution temperature* (LCST) der Lipopolymer-Spezies belegt werden. Die Molmassenverteilungen der separierten Polymerspezies erwiesen sich als sehr eng. Somit neigen die iPrOx-Einheiten am aktiven Kettenende offenbar bereits in einer frühen Phase der Polymerisation zur Übertragungsreaktion. Dies ist vermutlich durch die hohe induktive Stabilisierung der resultierenden Enaminether-Spezies bedingt. Dadurch konnte gezeigt werden, dass sich iPrOx als Monomer zur Darstellung Poly(2-oxazolin) basierter Lipopolymere als ungeeignet erwies.

Um bifunktionale Lipide asymmetrisch mit Poly(2-oxazolin)en zu funktionalisieren, wurde ein neues Verfahren, unter Einbeziehung von *tert*.Butyldiphenylsilyl-Ethern (TBDPS-Ethern) als Schutzgruppen, entwickelt (Abbildung 5.1). Durch Optimierung der relevanten Reaktionsparameter, während der Triflatisierung von asymmetrisch mit TBDPS geschützten aliphatischen Diolen, wurden α,ω -funktionale Lipopolymere mit definierten Endgruppen dargestellt. Anhand der eingeführten *tert*.Butyl-Gruppen konnte die definierte strukturelle Zusammensetzung der Polymere mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie, sowie die gute Stabilität der TBDPS Ether unter den Polymerisationsbedingungen bestätigt werden. Die eingeführten terminalen Schutzgruppen konnten in einem einzigen Schritt entfernt und die dadurch erhaltenen Polymere in hoher Reinheit isoliert werden.

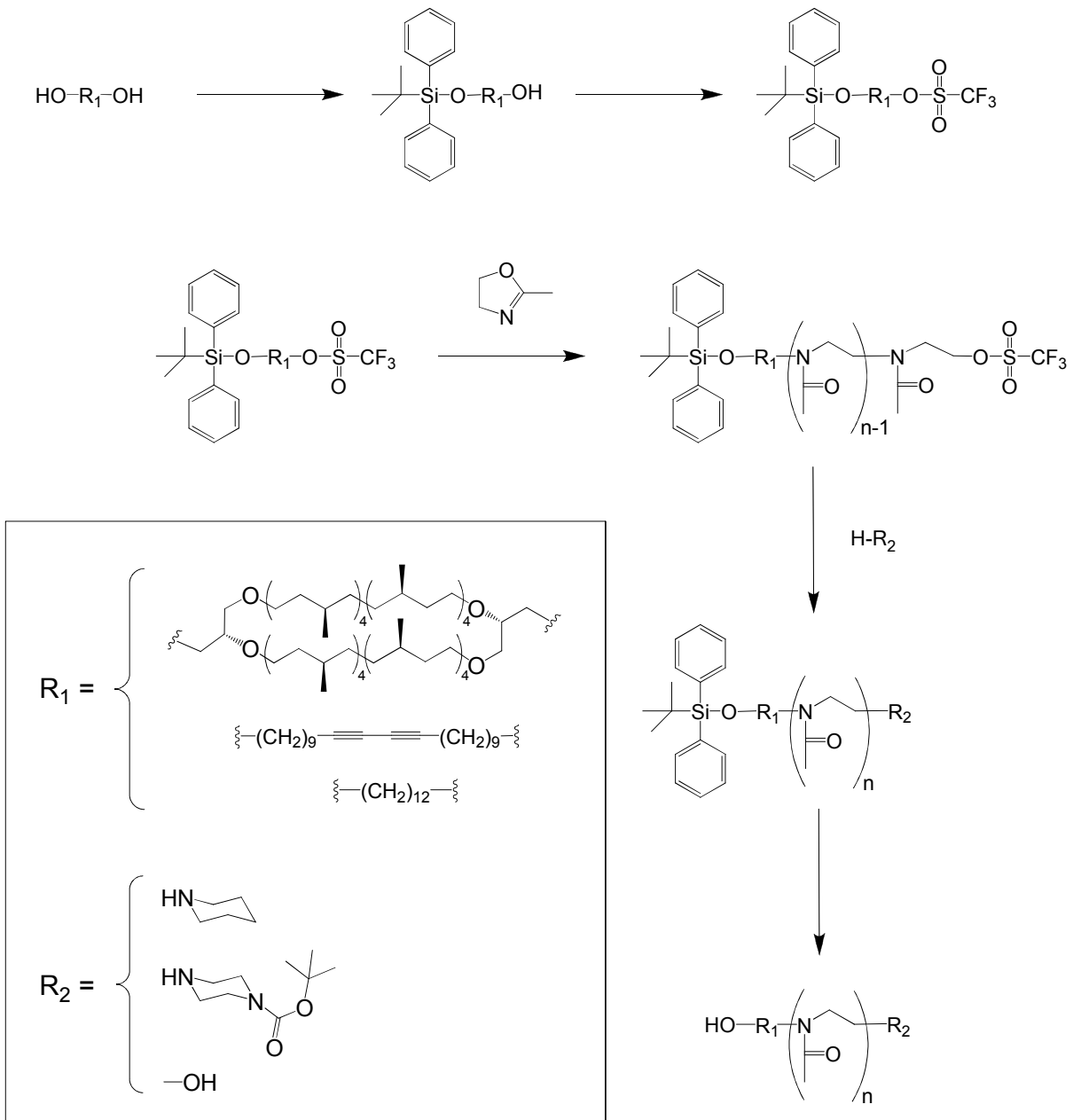


Abbildung 5.1: Reaktionsschema zu Darstellung asymmetrisch funktionalisierter Diole.

Die Polymerstruktur selbst blieb in Folge dieser Reaktionen unberührt und es konnte keine nennenswerte Bildung von Nebenprodukten festgestellt werden. Dieser Reaktionsweg erlaubt somit die Einführung von terminalen funktionalen Gruppen, welche sonst inkompatibel zur ringöffnenden kationischen Polymerisation der Poly(2-oxazolin)e sind. Termination mit entsprechenden Reagenzien führte zur Darstellung von Polymeren mit identischen, aber auch orthogonalen funktionellen Gruppen, was wiederum Ansatzpunkt für fortführende polymeranaloge Modifikationen bot. Um die chemische Reaktivität der eingeführten terminalen Gruppen zu demonstrieren, wurden entsprechende Verbindungen polymeranalog umgesetzt. Bei Reaktion mit Isothiocyanaten war es nach sorgfältiger Erarbeitung geeigneter

Reaktionsbedingungen möglich, chemisch zwischen proximalen Hydroxy- und distalen sekundären Aminofunktionen durch selektive Umsetzung der stärker nucleophilen Amine zu unterschieden. Ein weiterer Ansatz, der ebenfalls zu definiert α,ω -funktionalen Poly(2-oxazolin)en führt, wurde durch die „Click-Chemie“ realisiert.

Wurden über entsprechend modifizierte Initiatoren in die proximale Polymerendgruppe Propargylfunktionen eingeführt, so konnten, über kupferkatalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition mit funktionalen Aziden, gezielt am proximalen Terminus funktionale Triazolderivate eingebaut werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden erstmals Caldarchaeol-basierte Poly(2-oxazolin)-Lipopolymere dargestellt. Die Polymerisation erfolgte entweder ausgehend vom bifunktionalen Lipid beidseitig oder, gemäß der eben beschriebenen Technik, asymmetrisch an nur einer Seite. Hierbei wurde ebenfalls im $^1\text{H-NMR}$ gute Übereinstimmung zwischen den TBPDS- und Boc-Schutzgruppenintegralen beobachtet.

Des Weiteren wurden verschiedenste schaltbare Lipopolymere mit abgestufter Hydrophilie, basierend auf PEtOx-Lipohomopolymeren bzw. Lipocopolymeren mit BuOx als Comonomer synthetisiert. In diesem Zusammenhang wurden die ersten bekannten schaltbaren Poly(dimethylsiloxan)- und Poly(2-oxazolin)-basierten Lipopolymere synthetisiert und charakterisiert. Der *cloud point* der Polymere lag je nach hydrophiler/lipophiler Balance (HLB) in einem weit umspannenden Bereich zwischen 28,5 und 63 °C (Abbildung 5.2). Dabei wurde ein großer Einfluß der Endgruppen auf die LCST festgestellt. Lipopolymere mit stark polaren Endgruppen wie Piperazin liegen in wässriger Phase kationisch vor und erhöhen offensichtlich die Lösungsenthalpie der Polymere so weit, dass eine LCST unter 100 °C nicht mehr beobachtet werden konnte.

Mit den dargestellten thermisch schaltbaren Lipopolymeren wurden Experimente zur Beobachtung der LCST an der Wasser-Luft Grenzfläche durchgeführt. Allerdings konnte anhand der untersuchten Meßgrößen der LCST-Effekt nicht detektiert werden. Denkbare Gründe hierfür können sein, dass die LCST in der zweidimensionalen Umgebung der Modellmembranen stark zu höheren Temperaturen hin verschoben auftritt oder dass die Auswirkungen dieses Effekts energetisch zu gering sind, als dass diese so nachgewiesen werden könnten.

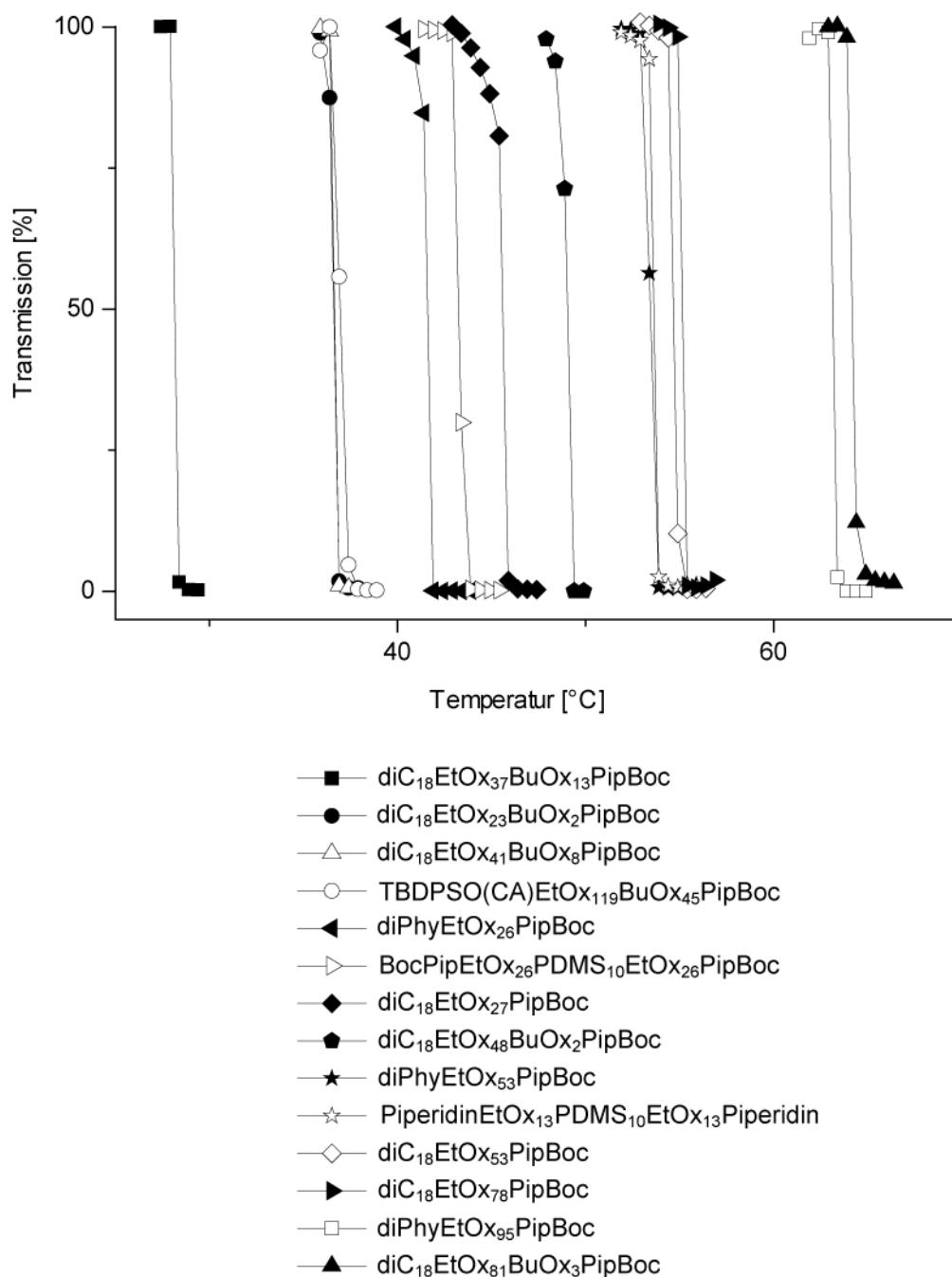


Abbildung 5.2: Zusammengefasste Übersicht der LCST-Messungen aller im Rahmen der Arbeit dargestellten thermisch schaltbaren Poly(2-oxazolin)-basierten Lipopolymere.

6 EXPERIMENTELLER TEIL

6.1 Geräte und Hilfsmittel

Dünnschichtchromatographie (DC)

Fa. Macherey-Nagel, Polygram® SIL G/UV₂₅₄ (SiO₂)

Dialyseschläuche

Fa. Roth, Zellutrans (V-Serie), MWCO: Nominal 1000, Wandstärke: 28 µm

EI-MS (Electron Impact Massenspektroskopie)

Fa. Finigann, MAT 8200

Elektronenenergie: 70eV

Elementaranalysen

Sämtliche Elementaranalysen wurden vom Mikroanalytischen Labor des Anorganisch-Chemischen Instituts, Department Chemie an der TU München vorgenommen.

GPC (Gelpermeationschromatographie)

Pumpe: Fa. Waters, Mod. 510

Flussrate: 1 mL/min

Temperatur: 80 °C

Eluent: N,N-Dimethylacetamid (DMAc) mit 75 mmol LiBr.

Säulensatz:	PSS SDV Vorsäule 50 x 8 mm, 2x PSS SDV linear M 300 x 8 mm; Polymer Laboratories, PLgel 5µm Guard, 50 x 7.5 mm; PLgel 5µm MIXED-V, 300, 7.5 mm; PL gel 5 µm MIXED-C 600 x 7.5 mm
RI-Detektor:	Fa. Waters 410
Kalibrierstandard:	Lineares Poly(styrol) (Fa. Polymer Standard Services) Lineares Poly(methylmethacrylat)
Gerät:	PL-GPC50 Plus, Polymer Laboratories (Fa. Varian, Inc.)
Flussrate:	1 mL/min
Temperatur:	35 °C
Eluent:	Tetrahydrofuran (THF) mit 250 ppm Butylhydroxytoluol (BHT) als Stabilisator.
Säulensatz:	PLGel 5 µm Mixed-C 300 x 7.5 mm, RL Rapide-H 100 x 10 mm
RI-Detektor:	intern
Kalibrierstandard:	Poly(styrol), $M_n = 580 - 1.57 \times 10^6 \text{ g/mol}$.

Glovebox

Fa. M.Braun, LABmaster 130	(Arbeitsgas: Argon)
Fa. M.Braun, UNILab	(Arbeitsgas: Argon)

Kernresonanz (NMR) - Spektroskopie

Fa. Bruker, ARX 300

Frequenzen: $^1\text{H-NMR}$: 300,13 Hz; $^{13}\text{C-NMR}$: 75.48 Hz

Fa. Bruker, AC 250

Frequenzen: ^1H -NMR: 250,13 Hz; ^{13}C -NMR: 62.9 Hz

Temperatur: 300K

Solvens: CDCl_3 (Standard: ^1H : 7,26 ppm / ^{13}C : 77.16 ppm), Methanol- d_4 (^1H : 4.84 ppm / ^{13}C : 49.0 ppm), DMSO- d_6 (2.54 / 39.52 ppm), D_2O (4.79 ppm).

Chemische Verschiebungen (δ) werden in ppm, die Kopplungskonstanten J in Hz angegeben. Die Nummerierung der entsprechenden Atome zu den jeweiligen Signalen erfolgte nicht konform nach den IUPAC-Regeln. Chemisch äquivalente Systeme wurden nur einmal nummeriert.

Kompressionsexperimente an der Wasser-Luft-Grenzfläche

Zur Messung des Oberflächendrucks wurde ein Wilhelmy Drucksensor (Fa. Nima, Type PS4) verwendet. Die Wassertemperatur wurde über ein Wasserheizbad (Fa. Julabo) eingestellt und mit einem Thermometer in der Subphase, die aus doppelt destilliertem Wasser bestand, kontrolliert.

Lichtmikroskopie

Fa. Zeiss, Axiovert 2000, 1000-fache Vergrößerung

MALDI-TOF Massenspektroskopie

Fa. Bruker-Daltonic, Biflex III

Modus : Positive Ion Mode

Die Proben wurden vorbereitet durch Mischung einer chloroformischen Lösung des zu untersuchenden Polymers und Dithranol als Matrix (10 mg/mL) in einem Verhältnis von 1:1 (v/v).

Säulenchromatographie:

Fa. Acros (Partikelgröße: 0.060 – 0.2 mm)

Fa. Fluka, Kieselgel 60 (0.060- 0.2 mm)

Die angegebenen Laufmittelmischungen verstehen sich als Volumenquotienten.

Synthesemikrowelle

CEM, Discover S-Klasse

Frequenz: 2455 MHz

Leistung: 120 – 200 W

Temperatur: 60 -120 °C (gemessen über IR-Sensor)

Reaktorgefäß: 10 mL Glasdruckgefäß mit Teflonseptum

UV/Vis – Spektroskopie:

Fa. Varian, Inc., Cary 50

Küvetten: Fa. VWR, PMMA Einmalküvetten, 4 mL, Quarzküvetten 4 mL, 1.2 mL

Küvettemperierung durch Peltierelement (Fa. Varian)

Software: ADL Shell Thermal Collects 1x0 Temperature Controller

Zur Bestimmung der LCST wurde eine wässrige Lösung des zu untersuchenden Polymers (2 Gew.-%) bei ansteigender Temperatur gemessen, in Schritten von 0.25, bzw. 0.5 °C. Vor jedem Meßpunkt wurden der Lösung zwei Minuten zur Gleichgewichtseinstellung gewährt.

Zellaufschluss / Cell Disruptor

Fa. Constant Systems (Warwick, UK), Basic Z

Düsendurchmesser: 0.18 µm

Zentrifuge:

Fa. Hettich, Universal 32R

Soweit nicht anders vermerkt, wurden alle verwendeten Chemikalien von den Firmen Acros Organics (Belgien), Aldrich (Steinheim, Deutschland), ABCR (Karlsruhe, Deutschland) und Bachem (Schweiz) erworben. Deuterierte Lösungsmittel für die NMR-Spektroskopie wurden von Deutero GmbH erworben.

Alle Lösungsmittel wurden vor Verwendung destilliert und falls notwendig nach gängigen Methoden absolutiert. Als Inertgas diente Argon 5.0 von der Firma Linde AG.

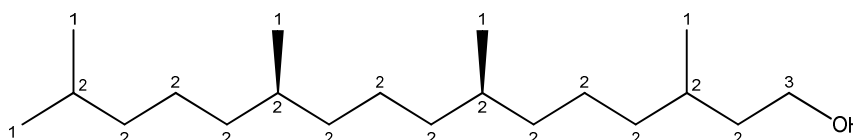
Für die Polymerisation verwendete 2-Oxazoline wurden über Calciumhydrid redestilliert und unter Schutzgas gelagert.

Alle verwendeten Reagenzien im festen Aggregatzustand wurden vor Anwendung gefriergetrocknet und unter Schutzgas aufbewahrt.

6.2 Lipidsynthesen und -extraktionen

6.2.1 Monofunktionale Lipide

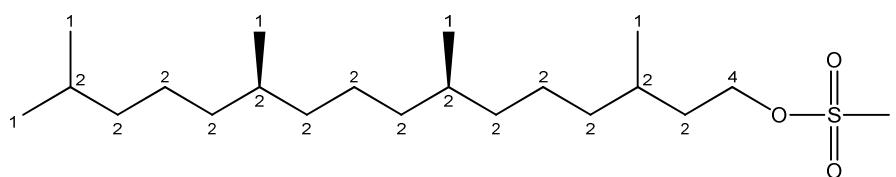
Phytanol (3,7,11,15-Tetramethylhexadecan-1-ol) (122)



200 mL einer 10%-igen Raney-Ni-Lösung werden dekantiert, dreimal mit 75 mL Ethylacetat gewaschen und in 100 mL Ethylacetat suspendiert und darauf 25.6 g (86.3 mmol, 1 eq) Phytol (3,7,11,15-Tetramethylhexadecan-1-ol) zugegeben. Das Reaktionsgefäß wird vorsichtig evakuiert, mit einer Wasserstoffatmosphäre versehen und die Reaktionsmischung über 5 Tage heftig gerührt. Der Katalysator wird abfiltriert und Methanol im Vakuum entfernt. Mit quantitativer Ausbeute erhält man das gewünschte Produkt (25.6 g, 86.3 mmol).

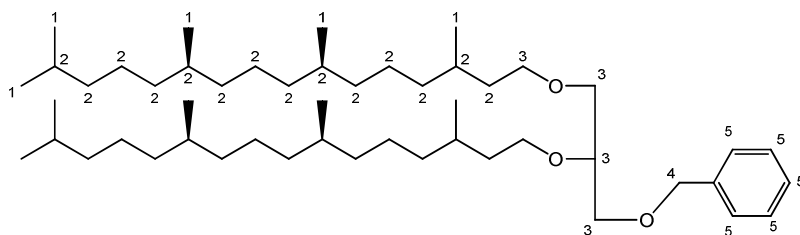
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, 293K, CDCl_3): $\delta = 0.8 - 0.9$ ppm (b, 15H, H^1), 1.0 - 1.6 (b, 24H, H^2), 3.5 - 3.7 (b, 2H, H^3).

Methansulfonsäure-3,7,11,15-tetramethylhexadecylester



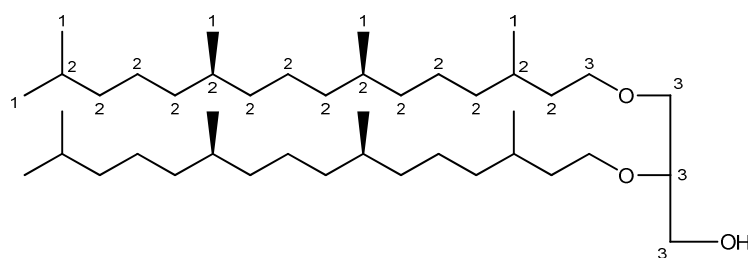
In 34 mL trockenem Pyridin werden 12.5 g Phytanol (41.9 mmol, 1 eq) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es erfolgt langsame Zugabe von 7.51 g Methansulfonsäurechlorid (65.5 mmol, 1.56 eq). Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur über 1 Stunde gerührt. Die Suspension werde in 150 mL 2 N HCl überführt und drei Mal mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wird gewaschen mit jew. 100 mL konz. NaHCO_3 -Lösung sowie konz. NaCl -Lösung. Das überschüssige Lösungsmittel wird im Membranpumpenvakuum entfernt, woraufhin das gewünschte Produkt erhalten wird (13.9 g, 36.9 mmol, 88% d.Th.).

$^1\text{H-NMR}$: (250 MHz, CDCl_3 , 293 K): $\delta = 0,8 - 0,9$ ppm (b, 15 H, H^1), 1,0 - 1,8 (b, 24H, H^2), 3,0 (s, 3H, H^3), 3,5 - 3,7 (b, 2H, H^4).

1-Benzyl-2,3-*O*-di-phytanylglycerol (129)

In 16 mL DMSO (anh.) werden 1,63 g Natriumhydrid (60 gew.-% Suspension in Mineralöl, 40,8 mmol, 3,3 eq) suspendiert. Es erfolgt Zugabe von 1-Benzylglycerol (2,28 g, 12,5 mmol, 1 eq). Die Suspension wird über 1 h gerührt. Darauf erfolgt Zugabe von Methansulfonsäure-3,7,11,15-tetramethylhexadecylester (11,6 g, 25,7 mmol, 2,06 eq). Die Reaktionsmischung wird auf 45 °C erwärmt und über 7 d heftig gerührt. Es werden 60 mL halbgesättigte NH₄Cl-Lösung zugegeben und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels im Membranpumpenvakuum erfolgt säulenchromatographische Aufarbeitung über Kieselgel (Laufmittel: Hexan / Ethylacetat = 100 / 1). Ausbeute: 5,06 g (6,80 mmol, 54% d.Th.).

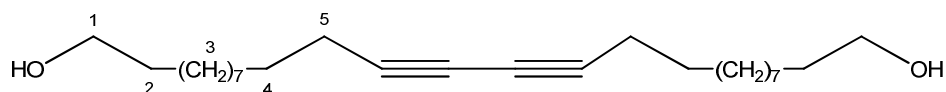
¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293 K): δ = 0,8-0,9 ppm (b, 30 H, H¹), 1,0-1,8 (b, 48H, H²), 3,5-3,7 (b, 9H, H³), 4,6 (s, 2H, H⁴), 7,2-7,4 (b, 5H, H⁵).

Archaeol (2,3-*O*-di-phytanylglycerol) (117)

In 20 mL Ethylacetat werden 1,13 g 1-Benzyl-2,3-*O*-di-phytanylglycerol (1,75 mmol, 1 eq) gelöst. Hierzu werden 0,5 g Pd/C (10%) zugegeben. Über eine Reaktionsdauer von 6 Tagen wird die Benzylschutzgruppe unter einer Wasserstoffatmosphäre bei 40 °C abgespalten. Der Katalysator wird abfiltriert. Das Lösungsmittel wird im Membranpumpenvakuum entfernt. Nach zweifach durchgeführter säulenchromatographischer Aufarbeitung (Hexan / Ethylacetat = 25 / 1) erhält man das gewünschte Produkt (690 mg, 61% d.Th.).

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293 K): δ = 0,8 - 0,9 ppm (b, 30 H, H¹), 1,0 - 1,8 (b, 50H, H²), 3,5 - 3,7 (b, 9H, H³).

10,12-Docosadiin-1,22-diol (165)



10-Undecin-1-ol (10,3 g, 61,2 mmol, 1 eq) wurde in 150 mL Ethanol sowie 150 mL Pyridin gelöst. Es erfolgte Zugabe von 11,6 g Kupfer(II)acetat (77,4 mmol, 1,26 eq), sowie einiger Kristalle Kupfer(I)chlorid. Die Reaktionsmischung wurde acht Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach weiteren 96 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung in 700 mL 5 N wässrige Salzsäure überführt. Der so entstandene bräunliche Niederschlag wurde abfiltriert und mehrmals mit Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mehrmals mit Chloroform gewaschen (3 x 200 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden gewaschen mit 2 N Salzsäure (2 x 100 mL), gesättigter wässriger NaHCO₃ Lösung (100 mL) sowie mit gesättigter wässriger NaCl Lösung (100 mL). Die organischen Phasen wurden mit dem zuvor gewonnenen Filtrerrückstand vereinigt und über Na₂SO₄ getrocknet. Die Reinheit des Produkts wurde dünnschichtchromatographisch überprüft (Hexan / Ethylacetat = 3 / 1). Die organische Phase wurde im Rotationsverdampfer eingeeengt, der feste Rückstand in trockenem Benzol aufgenommen und gefriergetrocknet, um das gewünschte Produkt als gelbbraunes Pulver zu erhalten. Ausbeute: 9,50 g (28,4 mmol, 95 % d.Th.).

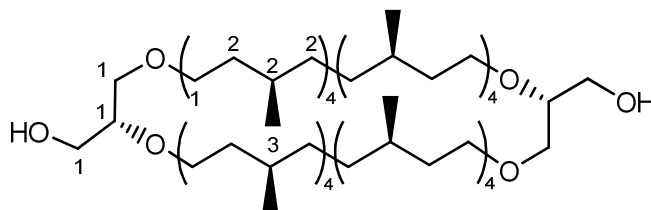
¹H NMR (250 MHz): δ = 1,26 (br, 20H, H³), 1,54 (m, 8H, H² und H⁴), 2,24 (t, 4H, ³J = 6,8Hz, H⁵), 3,64 (t, ³J = 6,7Hz, H¹).

¹³C NMR (75,48 MHz): δ = 25,69 ppm; 25,72; 26,90; 28,30; 28,34; 28,8; 29,00; 29,04; 29,30; 29,34; 29,4; 32,5; 32,8; 63,1; 64,0; 127,5; 129,5; 134,1; 135,6.

6.2.2 Extraktion von Caldarchaeol aus Trockenmasse von *Methanothermobacter thermoautotrophicum*

Bezeichnung des Produkts nach IUPAC:

((2*S*,7*R*,11*R*,15*S*,19*S*,22*S*,26*S*,30*R*,34*R*,38*S*,43*R*,47*R*, 51*S*,55*S*,58*S*,62*S*,66*R*,70*R*)-2,38-Bis(hydroxymethyl)-7,11,15,19,22,26,30,34,43,47,51,55,58,62,66,70-hexadecamethyl-1,4,37,40-tetraoxacyclodoheptacontan)



Für die Extraktion wurden sechs Tage alte Kulturen von *M. thermoautotrophicum* verwendet. 300 g Zellmasse wurden gefriergetrocknet, was 61,8g trockenen festen Zellrückstand ergab. Dieser wurde in 1,75 L Wasser suspendiert und mittels eines Cell Disruptors viermal bei einem Druck von $p = 2,45$ kbar aufgeschlossen. Zwischen den einzelnen Durchgängen wurde die Suspension über jeweils eine Minute mit Ultraschall behandelt.

Der Zellaufschluss wurde in einem 4 L Rundkolben mit 1,96 L Methanol und 0,98 L Chloroform und 175 g Trichloressigsäure versetzt, so dass eine einphasige, ternäre Mischung vorlag. Diese wurde über 72 h hinweg heftig gerührt. Danach wurde Phasentrennung induziert durch Zugabe von jeweils 0,98 L Wasser und Chloroform. Die trübe Emulsion wurde 30 min bei 6000 rpm zentrifugiert, filtriert über einen Papierfilter. Die festen Filtrerrückstände wurden vereinigt und die nun vorliegenden klaren flüssigen Phasen in einen Scheidetrichter überführt. Die organische Phase wurde abgetrennt und gesammelt, die wässrige Phase wurde erneut mit 33 vol.-% Chloroform extrahiert und die daraus erhaltene organische Phase mit der zuvor erhaltenen vereinigt und im Vakuum eingeeengt.

Das zurückbleibende dunkelbraune Öl wurde mit 300 mL Eisessig und 200 mL Acetanhydrid versetzt und unter Rückfluss über 17 h bei 165 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde in 600 mL Eiswasser gegossen. Es wurde zehnmal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde mit fünfmal mit 100 mL gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden vereinigt und nochmals dreimal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 100 mL gesättigter wässriger Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden durch Einengen des Filtrats im Vakuum 4,4 g eines dunkelbraunen Harzes gewonnen.

Dieser Rückstand wurde aufgenommen in 200 mL wasserfreier, methanolischer Chlorwasserstofflösung (5 gew.-%). Die Lösung wurde im Autoklaven unter eine Argonatmosphäre von 40 bar gesetzt und über vier Stunden auf 100 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung in einem 1 L Rundkolben überführt, mit 100 mL Chloroform und 80 mL Wasser versetzt und 72 h lang heftig gerührt. Die organischen Phasen wurden mittels eines Scheidetrichters abgetrennt. Die wässrige Phase wurde mit dreimal 50 mL Chloroform extrahiert. Die daraus erhaltenen organischen Phasen wurden mit den zuvor gewonnenen vereinigt, gewaschen mit 100 mL gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und im Vakuum bis zur völligen Trocknung eingeengt.

Das so erhaltene braune Öl wird säulenchromatographisch über Kieselgel aufgereinigt mit Hexan / Ethylacetat = 7 / 1 als Eluent.

So wurden insgesamt 612 mg Caldarchaeol erhalten.

R_f (Kieselgel, Hexan / Etylacetat = 7/1) = 0,08

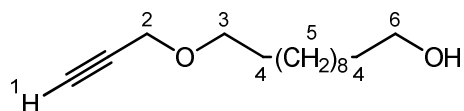
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 293K, CDCl_3): δ = 0,90 - 1,20 ppm (b, 48 H, H^3), 1,20 - 1,95 (b, 104 H, H^2), 3,60 - 3,95 ppm (b, 18 H, H^1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, 293 K, CDCl_3): δ = 14,13 ppm; 19,76; 19,81; 19,83; 19,85; 20,50; 20,57; 20,89; 22,66; 22,70; 24,15; 24,37; 24,46; 29,36; 29,66; 29,70; 29,74; 29,77; 29,82; 29,98; 30,20; 31,93; 32,78; 32,81; 33,05; 33,80; 33,96; 34,29; 36,56; 37,03; 37,32; 37,36; 37,41; 37,51; 37,61; 45,36; 45,44; 63,06; 68,58; 70,08; 71,04; 78,31; 98,96.

MALDI-TOF-MS: m/z = 1324,3 g/mol [$\text{Caldarchaeol} + \text{Na}$] $^+$, 1338,3 [$\text{Homocaldarchaeol} + \text{Na}$] $^+$, 1352,3 [$\text{Homocaldarchaeol} + \text{CH}_3 + \text{Na}$] $^+$

6.2.3 Bifunktionale Lipidalkohole

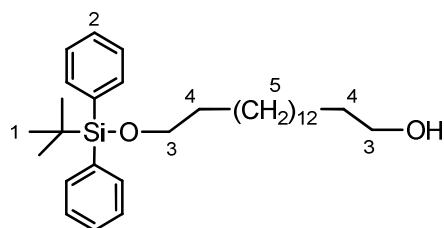
12-(Prop-2-inyloxy)dodecan-1-ol



In einem 100 mL Schlenkkolben wird unter Schutzgasatmosphäre mit 10 g 1,12-Dodecandiol befüllt (49 mmol, 2 eq) in 40 mL wasserfreiem DMSO gelöst. Es erfolgt vorsichtige Zugabe von 2.98 g einer Suspension von NaH in Mineralöl (60 Gew.-%, 74.5 mmol, 3.04 eq). Nach abgeklungener Gasentwicklung werden 10.3 g Propargylbromid zugegeben (als 80 Gew.-% Lösung in Toluol, 69 mmol, 2.8 eq) und auf 65 °C erhitzt. Nach heftigem Rühren über 48 h wird die Reaktion durch Überführung der Reaktionsmischung in 350 mL Wasser abgebrochen. Die wässrige Phase wird vier Mal mit 100 mL Diethylether extrahiert und mit 150 mL konz. NaCl Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat erfolgt säulenchromatographische Aufarbeitung mit Hexan / Ethylacetat (8 / 1) als Laufmittel. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Membranpumpenvakuum und anschließender Gefriertrocknung aus Benzol wird das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 3.25 g (36 %) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 293K, CDCl_3): $\delta = 1,22\text{-}1,49$ ppm (b, 16H, H^5), 1,50-1,69 (m, 4H, H^4), 2,44 (t, 1H, $^4J = 2,25$ Hz, H^1), 3,53 (t, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, H^3), 3,66 (t, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, H^6), 4,16 (d, 2H, $^4J = 2,25$ Hz, H^2).

1-(*tert.*Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecan-12-ol (141)



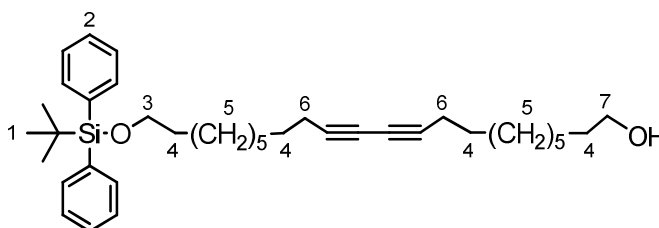
In einem 100mL Schlenkkolben werden 1,12-Dodecandiol (7,96 g, 39,4 mmol, 1 eq) in 40 mL DMF (anh.) gelöst. Imidazol (2,63 g, 38,6 mmol, 1 eq) sowie *tert.*Butylchlorodiphenylsilan (10,84 g, 39,4 mmol, 1 eq) werden zugegeben und die Reaktionsmischung wurde auf 45 °C erhitzt und gerührt. Nach 48 h werden 300 mL destilliertes Wasser zugegeben. Die wässrige Phase wird viermal mit 300 mL Diethylether

extrahiert, die organischen Phasen werden vereinigt und zweimal mit 100 mL wässriger 2M HCl, einmal mit 200 mL gesättigter wässriger NaHCO₃ Lösung und mit 200 mL gesättigter NaCl Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel mit Hexan / Ethylacetat (10 / 1) als Eluent ergab 7,98 g (46% d. Th.) des gewünschten Produkts als leicht gelbliches Öl.

¹H NMR (250 MHz, 293K, CDCl₃): δ = 1,05ppm (s, 9H, H¹), 1,26 (br, 16H, H⁵), 1,58 (m, 4H, H⁴), 3,65 (m, 4H, H³), 7,40 - 7,69 (m, 10 H, H²).

¹³C NMR (75 MHz, 293K CDCl₃): δ = 19,2 ppm; 25,7; 25,8; 25,9; 29,3; 29,4; 29,58; 29,6; 32,6; 32,8; 63,1; 64,0; 127,5; 129,4; 134,1; 135,6.

1-(*tert.*Butyldiphenylsilyl)oxy-10,12-docosadiin-22-ol (165)

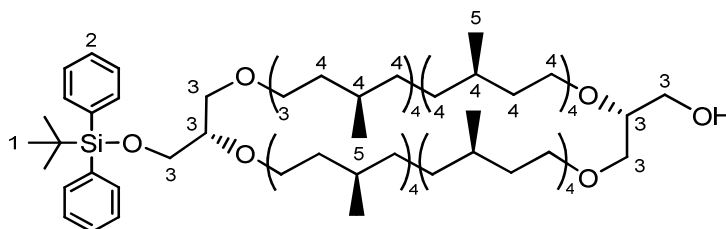


Die Synthese von 1-(*tert.*Butyldiphenylsilyl)oxy-10,12-docosadiin-22-ol erfolgte analog der Synthesevorschrift für 1-(*tert.*Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecan-12-ol in vergleichbaren Ausbeuten unter Verwendung von 10,12-Docosadiin-1,22-diol als Diolkomponente. Umsetzung von 10,12-Docosadiin-1,22-diol 9,40 g (28,1 mmol, 1 eq) ergab nach anschließender säulenchromatographischer Aufarbeitung über Silicagel (Hexan / Ethylacetat = 9 / 1) das gewünschte Produkt 6,50 g (11,1 mmol, 40%).

¹H NMR (250 MHz, 293K CDCl₃): δ = 1,05 ppm (s, 9H, H¹), 1,26 (br, 20H, H⁵), 1,53 (m, 8H, H⁴), 2,24 (t, 4H, ³J = 6,8Hz, H⁶), 3,64 (t, 2H, ³J = 6,5Hz, H³), 3,65 (t, 2H, ³J = 6,5Hz, H⁷), 7,40 - 7,69 (m, 10H, H²).

Asymmetrisch TBDPS-geschütztes Caldarchaeol (490)

(2*S*,7*R*,11*R*,15*S*,19*S*,22*S*,26*S*,30*R*,34*R*,38*S*,43*R*,47*R*,51*S*,55*S*,58*S*,62*S*,66*R*,70*R*)-2-(*tert*.Butyldiphenylsilylmethyl)-38-(hydroxymethyl)7,11,15,19,22,26,30,34,43,47,51,55,58,62,66,70-hexadecamethyl-1,4,37,40-tetraoxacyclodoheptacontan



In einem ausgeheizten Schlenkrohr werden unter Schutzgas 540 mg Caldarchaeol (0,415 mmol, 1 eq), 117 mg *tert*.Butylchlorodiphenylsilan 0,425 mmol, 1,02 eq) und 56 mg Imidazol (0,824 mmol, 2 eq) gelöst in einer Mischung aus wasserfreiem DMF (0,6 mL) und Chloroform (0,8 mL). Die Reaktionsmischung wird auf 45 °C erhitzt. Nach Rühren über 7 Tage wird die Reaktion durch Zugabe von 20 mL Wasser abgebrochen. Die wässrige Phase wird extrahiert mit drei Mal 10 mL Diethylether. Die organische Phase wurde anschließend gewaschen mit 2 x 2 N HCl (10 mL) und NaHCO₃ (10 mL). Die wässrige Phase wird noch einmal mit Chloroform extrahiert (5 mL) und die vereinigten organischen Phasen über Nacht über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels im Hochvakuum bleibt ein gelbliches Öl zurück, welches säulenchromatographisch aufgereinigt wird (Hexan / Ethylacetat = 12 / 1). Nach Trocknung über Natriumsulfat erhält man das gewünschte Produkt als farbloses Öl. Durch Spülen der Kieselgelsäule mit 1,2 L eines Gemisches aus 5 / 1 Hexan / Ethylacetat wird nicht abreagiertes Caldarchaeol wiedergewonnen (169 mg). Die Fraktionen im Vorlauf, welche doppelt geschütztes Caldarchaeol enthalten, werden zur Rückgewinnung des Substrats vereinigt und aufbewahrt. Ausbeute des gewünschten Produkts: 287 mg (90 % d.Th., 45 % bez. des eingesetzten Caldarchaeols).

¹H NMR (300 MHz, 293K CDCl₃): 0,72 - 0,92 ppm (57 H, H⁵), 0,95 - 1,70 (109H, H¹, H⁴), 3,4 - 3,7 (18H, H³), 7,30 - 7,76 (10H, H²),

¹³C NMR (75 MHz, 293K, CDCl₃): 14,13 ppm; 19,21; 19,67; 19,76; 19,80; 19,83; 20,50; 20,56; 20,90; 29,70; 29,72; 29,76; 29,81; 29,86; 29,95; 29,98; 30,19; 31,93; 31,73; 32,78; 32,81; 32,85; 33,05; 33,80; 33,97; 34,29; 36,55; 36,61; 36,66; 36,89; 36,92; 37,03; 37,07; 32,25; 37,32; 37,37; 37,43; 37,52; 37,62; 45,35; 45,43; 63,06; 63,58; 68,57; 68,80; 69,89; 70,07; 79,88; 71,07; 78,31; 79,46; 127,59; 129,56; 133,56; 133,62; 135,61; 221,63.

6.3 Initiatorsynthesen

Darstellung ungeschützter Lipoinitiatoren (*Triflatisierung A*)

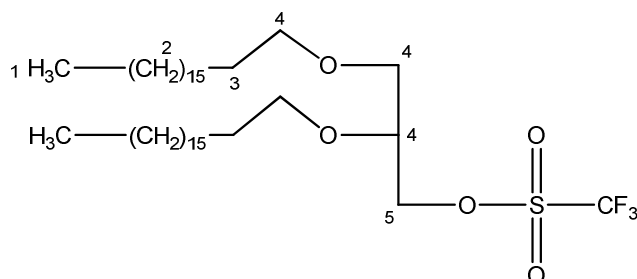
In einem ausgeheizten Schlenkrohr werden der primäre Lipidalkohol (1 eq) sowie wasserfreies Kaliumcarbonat (~7 eq K_2CO_3) vorgelegt und in Dichlormethan suspendiert (~ 1 mL / 0.1 mmol Alkohol). Unter Schutzgasatmosphäre erfolgt Zugabe von Trifluormethansulfonsäureanhydrid (1,3 eq), bei Triflatisierung von Diolen wurde entsprechend die Doppelte Menge verwendet. Nach heftigem Rühren über Nacht wird unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss die feste Phase über einen PTFE – Spritzenfilter ($\Phi = 0,2 \mu\text{m}$, VWR) abfiltriert. Das Filtrat wird anschließend im Hochvakuum bis zur vollständigen Trocknung eingeengt. Der Initiator wird darauf direkt für die nachfolgende Polymerisation eingesetzt.

Darstellung ω -TBDPS-geschützter Initiatoren (*Triflatisierung B*)

Unter Schutzgasatmosphäre wird ein Schlenkrohr mit 10 eq feinst gemörsertem Kaliumcarbonat befüllt und ausgeheizt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird 1 eq des ω -TBDPS-geschützten Lipidalkohols zugegeben und in einer Stammlösung aus Trifluormethansulfonsäureanhydrid in absolutem Chloroform gelöst (75 μmol / mL, 0,95 – 0,99 eq), woraufhin über 15 h lang heftig gerührt wird. Danach wird unter starkem Rühren das Solvens vollständig im Hochvakuum eingezogen. Der Rückstand wird in der gleichen Menge absolutem Chloroform wie zuvor aufgenommen und die Suspension noch insgesamt zweimal nach diesem Vorgang eingeengt. Anschließend wird der Rückstand abermals in demselben Volumen an absolutem Chloroform aufgenommen und unter Schutzgasatmosphäre mittels eines Spritzenfilters (PTFE, $\Phi = 0,2 \mu\text{m}$) das Kaliumcarbonat abfiltriert. Das Filtrat wird nicht im Vakuum eingeengt aufgrund der chemischen Instabilität des dargestellten TBDPS-geschützten Triflats sondern stattdessen direkt als Stammlösung für die anschließende Polymerisation verwendet.

6.3.1 Monofunktionale Lipidinitiatoren

2,3-Di-*O*-*n*-octadecyl-1-trifluormethansulfonyl-*sn*-glycerol (448)

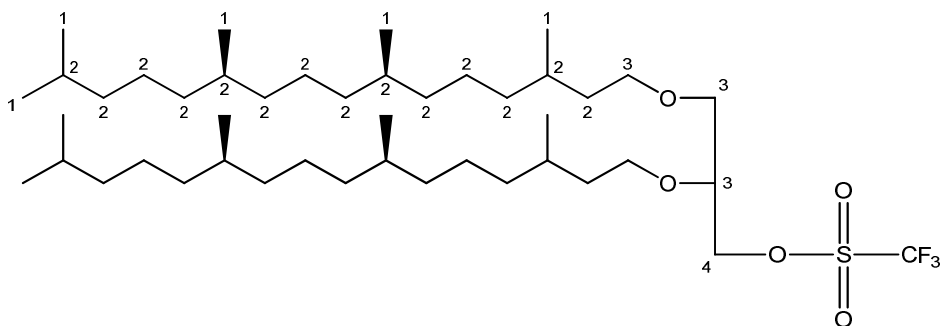


Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung A* dargestellt.

2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl- <i>sn</i> -glycerol	514 mg (0,862 mmol, 1eq)
K ₂ CO ₃	1,26 g (9,13 mmol, 10 eq)
Tf ₂ O	330 mg (1,17 mmol, 1,4 eq)
Solvens	12 mL Chloroform
Ausbeute	447 mg (98 % d. Th.)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃ 298 K): δ = 0,88 ppm (m, 6H, H¹), 1,26 (b, 60H, H²), 1,56 (b, 4H, H³), 3,34-3,74 (m, 7H, H³), 4,56 – 4,49 (m, 2H, H⁴).

2,3-Di-*O*-phytanyl-1-trifluormethansulfonyl-*sn*-glycerol

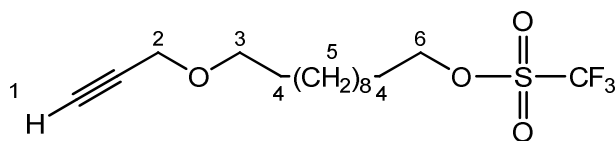


Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung A* dargestellt.

1-(<i>tert</i> .Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecan-12-ol	132 mg (0,202 mmol, 1eq)
K ₂ CO ₃	130 mg (0,36 mmol, 5 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	101 mg (0,36 mmol, 1,8 eq)
Solvens	2,8 mL Chloroform
Ausbeute	134 mg (gelbes Öl, 84 % d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 0,86 ppm (m, br, 30 H, H¹), 0,95 – 1,70 (b, 52H, H²), 3,36-3,79 (m, 7H, H³), 4,42-4,66 (m, 2H, H⁴).

12-(Prop-2-inyloxy)dodecyl Trifluormethansulfonat



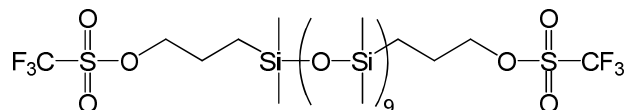
Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung A* dargestellt.

12-(Prop-2-inyloxy)dodecan-1-ol	105 mg (0,438 mmol, 1eq)
Kaliumcarbonat	650 mg (4,71 mmol, 10 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	191 mg (6,79 mmol, 1,55 eq)
Solvens	5 mL Chloroform
Ausbeute	142 mg (rötlicher Feststoff, 87 % d. Th.)

Der Initiator wurde ohne weitere Analytik umgehend für die nachfolgende Polymerisation eingesetzt.

6.3.2 Bifunktionale Initiatoren

PDMS-Initiator [α,ω -bis(3-Trifluormethansulfonylpropyl)-oligo(dimethylsiloxan)]

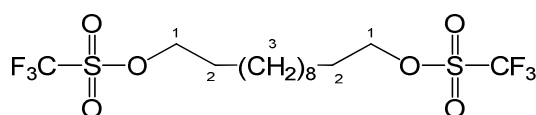


Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung A* dargestellt.

α,ω -bis(3-Hydroxypropyl)-oligo(dimethylsiloxan)	410 mg (0,482 mmol, 1 eq)
Kaliumcarbonat	910 mg (6,59 mmol, 13,7 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	425 mg (1,51 mmol, 3,13 eq)
Solvens	15 mL Chloroform
Ausbeute	210 mg (farbloses Öl, 40 % d. Th.)

Aufgrund der chemischen Instabilität des Initiators wurde dieser direkt und ohne weitere Analytik für die nachfolgende Polymerisation eingesetzt.

Dedecylinitiator (1,12-Dodecylditrifluormethansulfonat) (459)



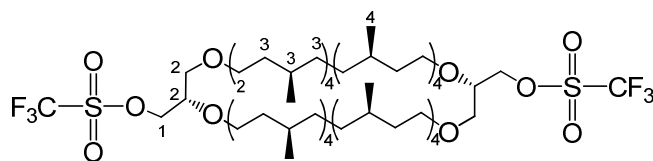
Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung A* dargestellt.

1,12-Dodecandiol	108 mg (0,534 mmol, 1 eq)
Kaliumcarbonat	1,03 g (7,46 mmol, 14 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	391 mg (1,39 mmol, 2,6 eq)
Solvens	14 mL Chloroform
Ausbeute	248 mg (farbloser Feststoff, quantitativ)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, 293K, CDCl_3): $\delta = 1,22 - 1,50$ ppm (b, 16H, H^3), 1,75 - 1,89 (m, 4H, H^2), 4,49 - 4,58 (t, 4H, $^3J = 6$ Hz, H^1).

Caldarchaeoldiinitiator (484)

(2*S*,7*R*,11*R*,15*S*,19*S*,22*S*,26*S*,30*R*,34*R*,38*S*,43*R*,47*R*,51*S*,55*S*,58*S*,62*S*,66*R*,70*R*)-2,38-Bis(trifluormethansulfonylmethyl)-7,11,15,19,22,26,30,34,43,47,51,55,58,62,66,70-hexadecamethyl-1,4,37,40-tetraoxacyclodoheptacontan



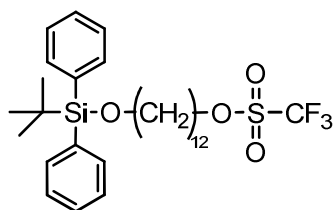
Der Initiator wurde gemäß der Vorschrift *Triflatisierung A* dargestellt.

Caldarchaeol	44,8 mg (34,4 μmol , 1 eq)
Kaliumcarbonat	75 mg (0,543 mmol, 15,8 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	30,4 mg (0,108 mmol, 3,13 eq)
Solvens	1 mL Chloroform
Ausbeute	40 mg (farbloses Öl, 70% d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 300 MHz, 293K): $\delta = 0,84$ ppm (m, 52H, H^4), 0,97 - 1,70 (m, br, 107H, H^3), 3,40 - 3,75 (m, br, 14H, H^2), 4,60 - 4,70 (m, br, 4H, H^1).

6.3.3 ω -TBDPS-geschützte Initiatoren

12-(*tert.*Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecyl-1-trifluoromethansulfonat

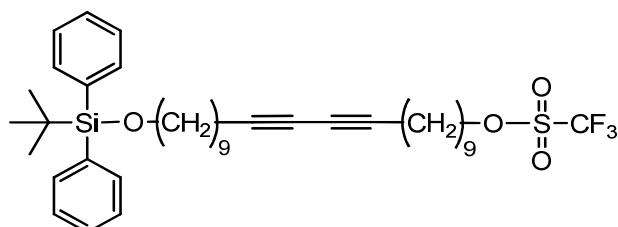


Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung B* dargestellt.

1-(<i>tert.</i> Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecan-12-ol	103 mg (0,234 mmol, 1 eq)
Kaliumcarbonat	320 mg (23,4 mmol, 10 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	64,8 mg (0,230 mmol, 0,98 eq)
Solvens	3,2 mL Chloroform

Der Initiator wurde aufgrund seiner chemischen Instabilität ohne Analytik gleich nach der Aufarbeitung für die Polymerisation eingesetzt.

22-(*tert.*Butyldiphenylsilyl)oxy-10,12-docosadiin-1-trifluoromethansulfonat (198)

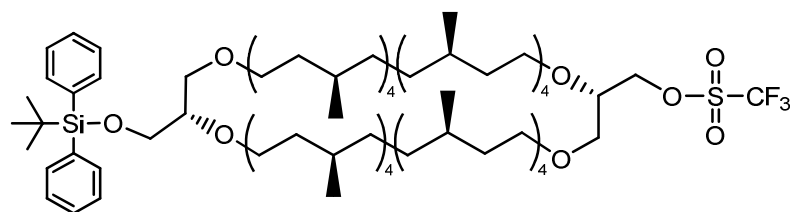


Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung B* dargestellt.

1-(<i>tert.</i> Butyldiphenylsilyl)oxy-10,12-docosadiin-22-ol	178 mg (0,303 mmol, 1 eq)
Kaliumcarbonat	400 mg (2,90 mmol, 9,6 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	61,2 mg (0,292 mmol, 0,96 eq)
Solvens	3,85 mL Chloroform

Der Initiator wurde aufgrund seiner chemischen Instabilität ohne Analytik unmittelbar nach der Aufarbeitung in Form einer Stammlösung für die Polymerisation eingesetzt.

Caldarchaeolmonoinitiator (498)



Der Initiator wurde nach der Vorschrift *Triflatisierung B* dargestellt, mit den Modifikationen, dass aufgrund des geringen Gesamtvolumens der Reaktionsmischung die Konzentration von Trifluormethansulfonsäureanhydrid nur halb so hoch war. Weiterhin wurde mit einer größeren Menge Kaliumcarbonat gearbeitet, um wegen der äußerst geringen Substratmenge zuverlässig alle entstehende Trifluormethansulfonsäure abzufangen.

ω -TBDPS-Caldarchaeol	55,8 mg (36,2 μ mol, 1 eq)
Kaliumcarbonat	150 mg (1,09 mmol, 30 eq)
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	9,73 mg (34,5 μ mol, 0,95 eq)
Solvens	0,9 mL Chloroform

Der Initiator wurde aufgrund seiner chemischen Instabilität ohne Analytik unmittelbar nach der Aufarbeitung in Form einer Stammlösung für die Polymerisation eingesetzt.

6.4 Polymersynthesen

Allgemeine Polymerisationsvorschriften

Thermische Polymerisation (*Polymerisationsvorschrift A*)

Der Initiator wird im zu verwendenden Solvens gelöst. Unter starkem Rühren wird der Lösung das Monomer zugegeben. Das Reaktionsgefäß wird druckdicht verschlossen und in ein auf 60 °C vorgeheiztes Ölbad überführt. Nach beendeter Reaktion wird das gewünschte Terminationsreagenz zugegeben. Die Lösung wird über 6 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend mit einer Spatelspitze an trockenem Kaliumcarbonat versetzt und über 14h heftig weiter gerührt. Das Lösungsmittel wird im Hochvakuum entfernt bis nur noch ein schaumiger Rückstand zurück blieb, welcher in Chloroform aufgenommen wurde. Das Kaliumcarbonat wurde via PTFE – Spritzenfilter ($\Phi = 0,2 \mu\text{m}$, VWR) abfiltriert, das Polymer im zehnfachen Überschuß an eiskaltem Diethyl- oder Petrolether gefällt und gegebenenfalls im Kühlschrank nachgefällt. Das Polymer wird abzentrifugiert, die überstehende flüssige Phase dekantiert und das verbleibende Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt. Das zurückbleibende Polymer wird je nach Löslichkeit aus Benzol oder Wasser gefriergetrocknet.

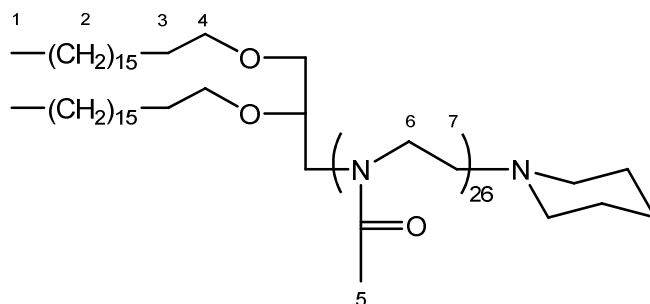
Für die Synthese statistischer Copolymere erfolgt gleichzeitige Zugabe beider Monomere.

Mikrowellenunterstützte Polymerisation (*Polymerisationsvorschrift B*)

Die Polymerisation von 2-Oxazolinen erfolgt wie in Methode A beschrieben, jedoch mit dem Unterschied dass die Reaktion in Dichlormethan und einem Mikrowellenfeld mit einer Leistung von 150 W durchgeführt wird. Nach Ende der Reaktion erfolgt Aufarbeitung der Reaktionsmischung identisch zu Methode A.

6.4.1 Monofunktionale Lipohomopolymere

diC₁₈MeOx₃₀Piperidin (270)

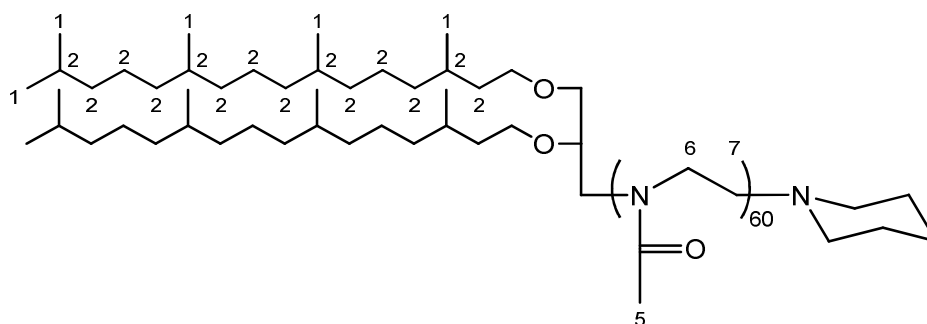


Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₄₈ H ₂₇₁ N ₂₇ O ₂₈
M _n (theoretisch)	2877 g/mol
2,3-Di- <i>O-n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	85,3 mg (0,117 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	292 mg (3,43 mmol, 30 eq)
Piperidin	60,0 mg (0,705 mmol, 6 eq)
Solvens	3,5 mL Chloroform
Reaktionszeit	70 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	328 mg (90% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, D₂O, 293K): δ = 0,84 ppm (m, 6H, H¹), 1,07 – 1,63 (m, br, 64H, H^{2,3}), 2,06 (m, br, 76H, H⁵), 2,44 (m, H^{Piperidin}), 3,47 (m, br, 112H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 4651 g/mol, PDI = 1,05

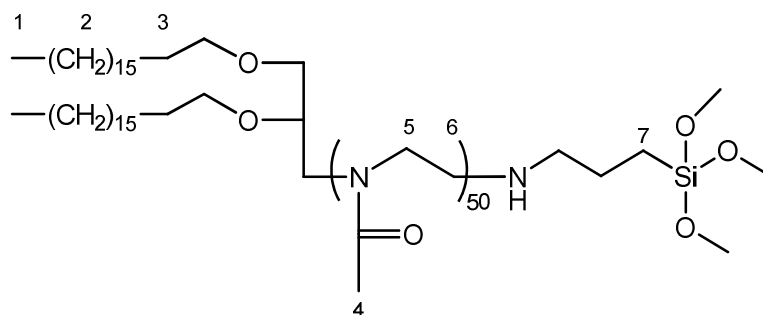
diPhyMeOx₆₀Piperidin (039)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₂₈₈ H ₅₁₇ N ₆₁ O ₆₂
M _n (theoretisch)	5146 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> -phytanyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	134 mg (0.171 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	750 mg (8.81 mmol, 52 eq)
Piperidin	290 mg (3.41 mmol, 20 eq)
Solvens	8 mL Chloroform
Reaktionszeit	42.5 h (60 °C)
Ausbeute	657 mg (86% d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,83 ppm (m, br, 30H, H¹), 0,92 – 1,60 (m, br, 50H, H²), 2,10 (m, br, 178H, H⁵), 3,45 (s, br, 240H, H^{6,7}),

GPC (DMAc): M_n = 7567 g/mol, PDI = 1,05

diC₁₈MeO_x50Sil (470)

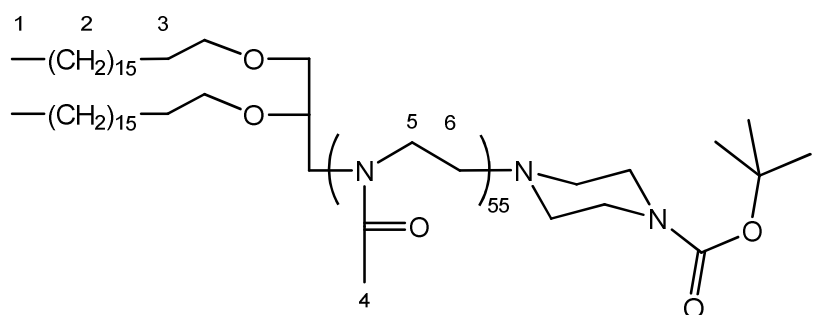
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₂₄₅ H ₄₄₅ N ₅₁ O ₅₅ Si
M _n (theoretisch)	5014 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	67 mg (0,920 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	397 mg (4,67 mmol, 51 eq)
3-Aminopropylmethoxysilan	294 mg (2,21 mmol, 24 eq)
Solvens	2,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	90 min (90 °C, 150 W)
Ausbeute	378 mg (82% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,64 (br, 2H, H⁷), 0,87 (t, 6H, ³J = 7 Hz, H¹), 1,24 (s, br, 60H, H²), 1,51 (m, 4H, H³), 2,10 (m, br, 151H, H⁴), 3,47 (m, br, 203H, H^{5,6}).

GPC (DMAc): M_n = 5984 g/mol, PDI = 1,07

MALDI-TOF: M_n = 4821 g/mol, PDI = 1,01

diC₁₈MeOx₅₀BocPip(469)

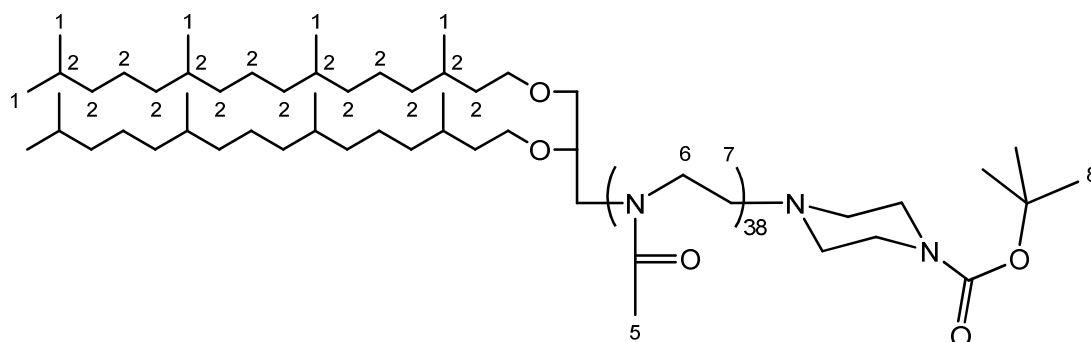
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₂₆₈ H ₄₈₁ N ₅₇ O ₅₉
M _n (theoretisch)	5446 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	69 mg (0,947 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	408 mg (4,80 mmol, 51 eq)
1-Boc-piperazin	100 mg (0,538 mmol, 5,7 eq)
Solvens	2,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	90 min (90 °C, 150 W)
Ausbeute	380 mg (80% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,86 ppm (m, 6H, H¹), 1,25 (br, 60H, H²), 1,41 (s, 8H, H⁸), 1,50 (m, 4H, H³), 2,07 (m, br, 166H, H⁴), 2,38 – 2,58 (m, br, H^{Piperazin}), 3,49 (m, br, 229H, H^{5,6}).

GPC (DMAc): M_n = 7666 g/mol, PDI = 1,04

MALDI-TOF: M_n = 5164 g/mol, PDI = 1,01

diPhyMeOx₃₀BocPip (401)

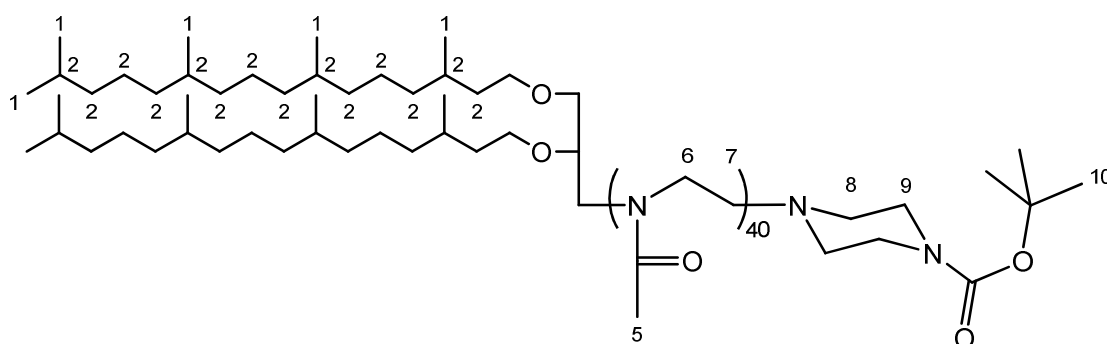
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₂₀₄ H ₃₀₇ N ₄₀ O ₄₂
M _n (theoretisch)	4055 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	72,7 mg (96,5 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	246 mg (2,89 mmol, 30 eq)
1-Boc-piperazin	160 mg (0,86 mmol, 9 eq)
Solvens	1,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	90 min (90 °C, 150 W)
Ausbeute	368 mg (78% d. Th.)

¹H-NMR: (CD₃OD, 300 MHz 293K): δ = 0,77 – 0,88 ppm (m, 30H, H¹), 0,92 – 1,37 (m, br, H²), 1,37 – 1,42 (s, 9H, H⁸), 1,42 – 1,63 (m, 6H, H²), 2,06 (m, br, 110H, H⁵), 2,44 (m, H^{Piperazin}), 3,47 (m, br, 157H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 5196 g/mol, PDI = 1,07

MALDI-TOF: M_n = 3710 g/mol, PDI = 1,07

diPhyMeOx₃₅BocPip (125)

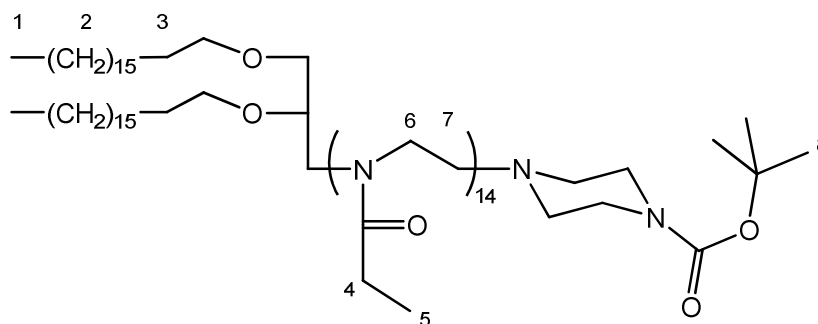
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₂₁₂ H ₃₈₄ N ₄₂ O ₄₄
M _n (theoretisch)	4226 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	58 mg (73,8 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	220 mg (2,58 mmol, 35 eq)
1-Boc-piperazin	500 mg (0,50 mmol, 6,8 eq)
Solvens	3 mL Chloroform
Reaktionszeit	90 min (60 °C)
Ausbeute	247 mg (79% d. Th.)

¹H-NMR: (CDCl₃, 250 MHz, 293K): δ = 0,83 ppm (m, br, 30H, H¹), 0,92 – 1,60 (m, br, 48H, H²), 1,44 (s, 9H, H⁸), 2,09 (m, br, 123H, H⁵), 2,35 – 2,55 (m, br, 4H, H⁹), 2,81 (t, 4H, ³J = 5 Hz, H⁸), 3,45 (s, br, 159H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 7897 g/mol, PDI = 1,05

MALDI-TOF: M_n = 4030 g/mol, PDI = 1,01

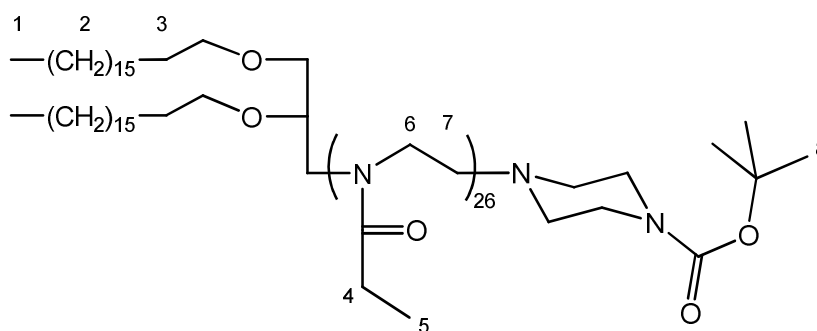
diC₁₈EtOx₁₅BocPip (380)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₁₈ H ₂₂₂ N ₁₆ O ₁₈
M _n (theoretisch)	2152 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	122mg (0,167 mmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	250 mg (2,52 mmol, 15 eq)
1-Boc-piperazin	186 mg (1,00 mmol, 5,9 eq)
Solvens	4,8 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	45 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	285mg (76% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,85 ppm (m, 6H, H¹), 1,06 (m, br, 34H, H⁵) 1,25 (s, br, 60H, H²), 1,41 (s, 9H, H⁸), 1,51 (m, 3H, H³), 2,34 (m, br, 28H, H⁴), 3,49 (m, br, 57H, H^{5,6}).

MALDI-TOF: M_n = 2087 g/mol, PDI = 1,02

diC₁₈EtOx₂₅BocPip (342)

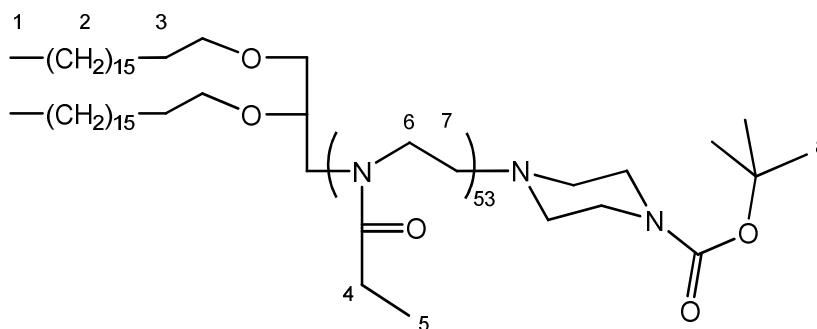
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₇₈ H ₃₃₀ N ₂₈ O ₃₀
M _n (theoretisch)	3243 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	57,1 mg (78,3 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	194 mg (1,96 mmol, 25 eq)
1-Boc-piperazin	170 mg (0,914 mmol, 11,7 eq)
Solvens	2,7 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	75 min (100 °C, 150W)
Ausbeute	210 mg (83% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,86 ppm (t, 6H, ³J = 7 Hz, H¹), 1,11 (m, br, 75H, H⁵) 1,24 (s, br, 60H, H²), 1,45 (s, 9H, H⁸), 1,51 (m, 4H, H³), 2,37 (m, br, 55H, H⁴), 3,44 (m, br, 106H, H^{5,6}).

GPC (DMAc): M_n = 4528 g/mol, PDI = 1,08

MALDI-TOF: M_n = 3390 g/mol, PDI = 1,03

diC₁₈EtOx₅₀BocPip (341)

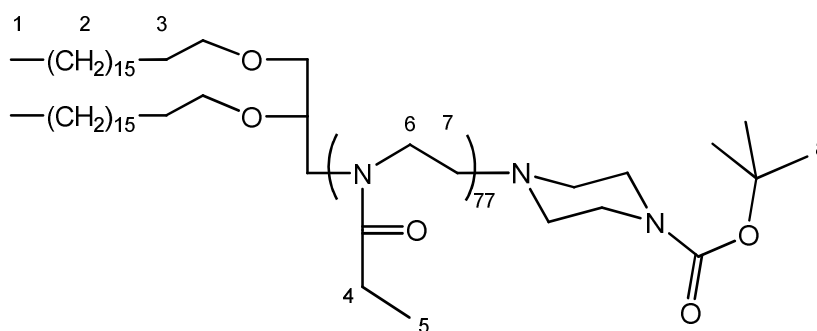
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₃₁₃ H ₅₇₃ N ₅₅ O ₅₇
M _n (theoretisch)	6019 g/mol
2,3-Di- <i>O-n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	63,4 mg (87,0 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	433 mg (4,36 mmol, 50 eq)
1-Boc-piperazin	150 mg (0,81 mmol, 9,3 eq)
Solvens	3 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	180 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	402 mg (81% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,86 ppm (t, 6H, ³J = 7 Hz, H¹), 1,11 (m, br, 155H, H⁵) 1,24 (s, br, 60H, H²), 1,45 (s, 9H, H⁸), 1,51 (m, 4H, H³), 2,37 (m, br, 108H, H⁴), 3,44 (m, br, 218H, H^{5,6}).

GPC (DMAc): M_n = 7198 g/mol, PDI = 1,08

MALDI-TOF: M_n = 5327 g/mol, PDI = 1,01

diC₁₈EtOx₇₇BocPip (471)

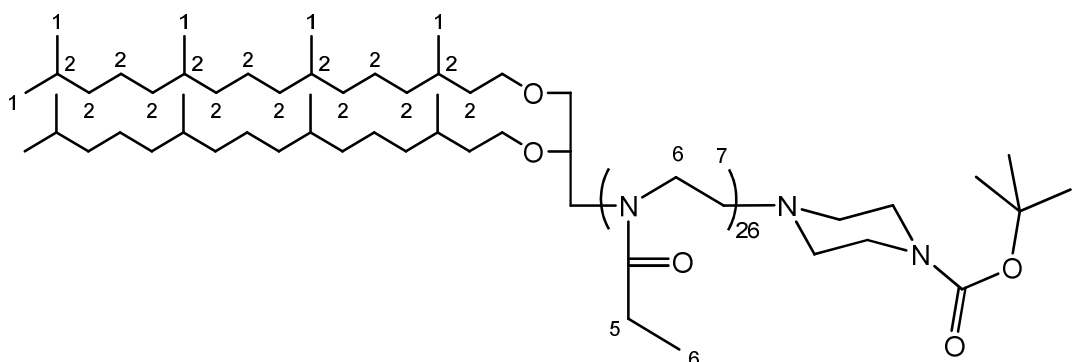
Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₄₃₃ H ₇₈₉ N ₇₉ O ₈₁
M _n (theoretisch)	8398 g/mol
2,3-Di- <i>O-n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	38,0 mg (52,1 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	518 mg (5,22 mmol, 100 eq)
1-Boc-piperazin	70,0 mg (0,376 mmol, 7,2 eq)
Solvens	2,65 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	210 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	401 mg (72% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,86 ppm (t, 6H, ³J = 7 Hz, H¹), 1,11 (m, br, 224H, H⁵) 1,24 (s, br, 60H, H²), 1,44 (s, 9H, H⁸), 1,51 (m, 4H, H³), 2,37 (m, br, 159H, H⁴), 3,44 (m, br, 304H, H^{5,6}).

GPC (DMAc): M_n = 10849 g/mol, PDI = 1,03

MALDI-TOF: M_n = 7538 g/mol, PDI = 1,01

diPhyEtOx₂₅BocPip (497)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₇₇ H ₃₂₉ N ₂₇ O ₂₉
M _n (theoretisch)	3399 g/mol
2,3-Di-O-phytanyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	82,2 mg (0,105 mmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	260 mg (2,62 mmol, 25 eq)
1-Boc-piperazin	137 mg (0,737 mmol, 7 eq)
Solvens	2 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	75 min (90 °C)
Ausbeute	283mg (82% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,75 – 0,85 ppm (m, br, 30H, H¹), 1,03 (m, br, 83H, H⁶), 0,90 – 1,6 (m, br, 48H, H²), 1,38 (s, 9H, H⁸), 2,34 (m, br, 52H, H²), 3,43 (m, br, 104H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 5239 g/mol, PDI = 1,04

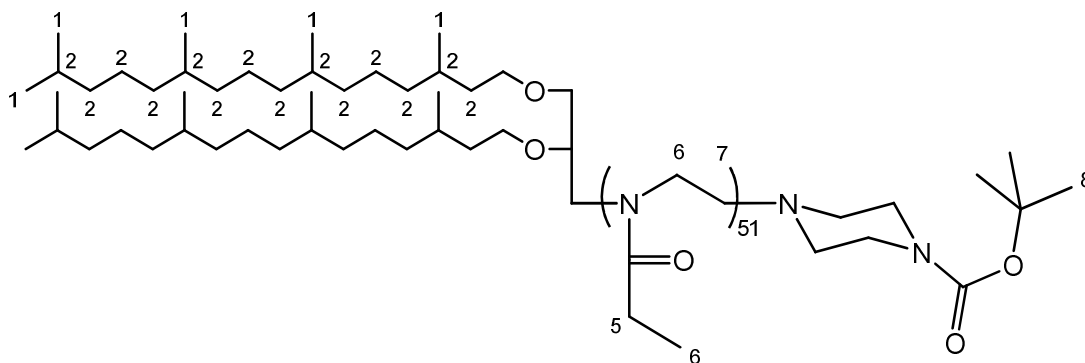
MALDI-TOF: M_n = 3470 g/mol, PDI = 1,02

diPhyEtOx₅₀BocPip (499A) / diPhyEtOx₅₀Sil (499B)

Die Polymere wurden nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt. Die Polymerisation wurde zunächst in einem gemeinsamen Ansatz angesetzt, um dann mit dem jeweiligen Terminationsreagens abgebrochen zu werden:

2,3-Di-O-phytanyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	79,9 mg (10,2 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	505 mg (5,09 mmol, 50 eq)
Solvens	1,95 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	180 min (90 °C, 150W)

diPhyEtOx₅₀BocPip (499A):

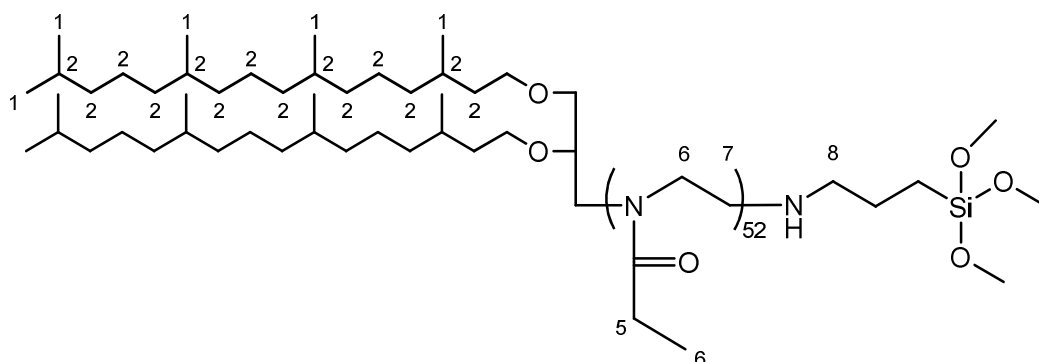


Der Reaktionsmischung wurden 1.6 mL (82% des Gesamtvolumens) entnommen und mit 1-Boc-piperazin terminiert.

Summenformel	C ₃₀₇ H ₅₆₃ N ₅₃ O ₅₅
M _n (theoretisch)	5877 g/mol
1-Boc-piperazin	106 mg (0,57 mmol, 7 eq)
Ausbeute	365 mg (77% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,85 ppm (m, br, 28H, H¹), 0,95 – 1,41(m, br, 185H, H^{2,6}), 1,41 – 1,48 (s, 9H, H⁹), 1,48 – 1,60 (m, 4H, H²), 2,35 (m, br, 102H, H²), 3,45 (m, br, 203H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 7950 g/mol, PDI = 1,06

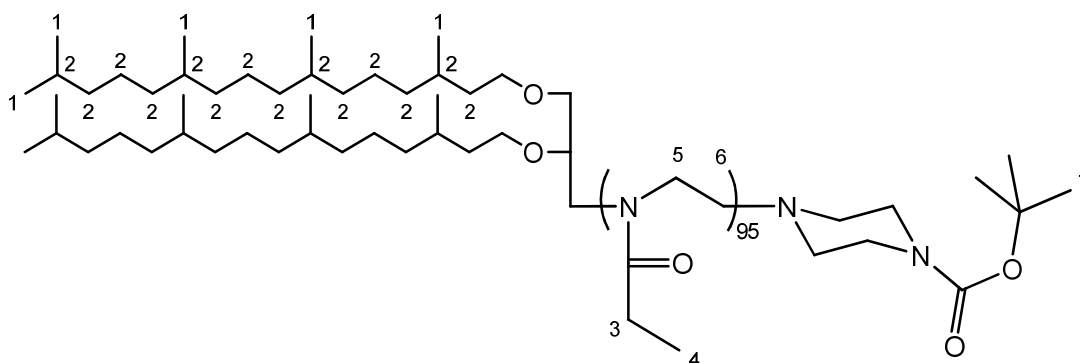
diPhyEtOx₅₀Sil (499B)

Die verbleibenden 0,35 mL (18% des ursprünglichen Gesamtvolumens) der Reaktionsmischung wurden mit 3-Aminopropyltrimethoxysilan terminiert:

Summenformel	C ₃₀₉ H ₅₇₁ N ₅₃ O ₅₇ Si
M _n (theoretisch)	5969 g/mol
3-Aminopropyltrimethoxysilan	60 mg (0,335 mmol, 16 eq)
Ausbeute	91,8 mg (78% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,77 – 0,92 (m, 30H, H¹), 0,92 – 1,61 (m, br, 200H, H^{2,6}), 2,19 – 2,54 (m, br, 102H), 2,80 (m, 4H, H^{7,8}), 3,54 (m, br, 215H).

GPC (DMAc): M_n = 8128 g/mol, PDI = 1,03

diPhyEtOx₉₅BocPip (336)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

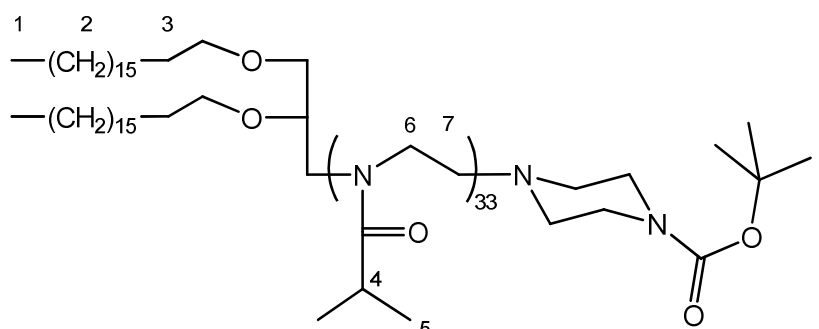
Summenformel	C ₅₂₇ H ₉₅₉ N ₉₇ O ₉₉
M _n (theoretisch)	10239g/mol

2,3-Di-O-phytanyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	79,7 mg (0,102 mmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	1,01 g (10,2 mmol, 100 eq)
1-Boc-piperazin	146 mg (0,785 mmol, 8 eq)
Solvens	3mL Dichlormethan
Reaktionszeit	120 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	400 mg (38% d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz, CDCl_3 , 293K): $\delta = 0,83$ ppm (m, br, 30H, H^1), 0,94 – 1,40 (m, br, 311H, $\text{H}^{2,4}$), 1,40 – 1,58 (m, 18H, $\text{H}^{2,7}$), 2,35 (m, br, 191H, H^3), 2,80 (t, 3H, $^3J = 5$ Hz, $\text{H}^{\text{Piperazin}}$), 3,43 (m, br, 380H, $\text{H}^{5,6}$).

GPC (DMAc): $M_n = 13565$ g/mol, PDI = 1,07

diC₁₈*i*PrOx₂₅PipBoc (283/291)



Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	$\text{C}_{198}\text{H}_{371}\text{N}_{27}\text{O}_{29}$
M_n (theoretisch)	3594 g/mol
2,3-Di- <i>O-n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	83,1 mg (0,114 mmol, 1 eq)
2- <i>iso</i> -Propyl-2-oxazolin	320 mg (2,83 mmol, 25 eq)
1-Boc-piperazin	144 mg (0,775 mmol, 7 eq)
Solvens	Acetonitril / Toluol / Heptan (2 / 1 / 0,5 mL)
Reaktionszeit	30 min (130 °C, 150W)
Ausbeute	201 mg (49 % d. Th.)

Anschließende präparative Aufarbeitung des erhaltenen Polymergemisches über die LCST:

Da Polymergemisch (96 mg) wird in 4.8 mL Wasser gelöst und auf 40 °C erwärmt, bis deutliche Trübung eintritt (die LCST wurde zuvor für 32 °C bestimmt). Die Lösung wird in ein 15 mL *falcon tube* überführt und über 40 min bei 40 °C zentrifugiert. Die flüssige Phase wird dekantiert und aufbewahrt, der feste Niederschlag wird abermals gemäß obigem Verfahren behandelt. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst. Die gelöste feste Phase und die vereinigten flüssigen Phasen werden getrennt gefriergetrocknet.

Feste Phase (enthält diC₁₈iPrOxPipBoc):

Ausbeute: 57 mg (60 Gew.-% der eingesetzten Gesamtmenge)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,87 ppm (t, 6H, ³J = 6,5 Hz, H¹), 1,10 (m, br, 199H, H⁵) 1,24 (s, br, 60H, H²), 1,45 (s, 9H, H⁸), 1,51 (m, 4H, H³), 2,50 – 3,04 (m, br, 33H, H⁴), 3,45 (m, br, 138H, H^{5,6}).

MALDI-TOF: M_n = 4440 g/mol, PDI = 1,01

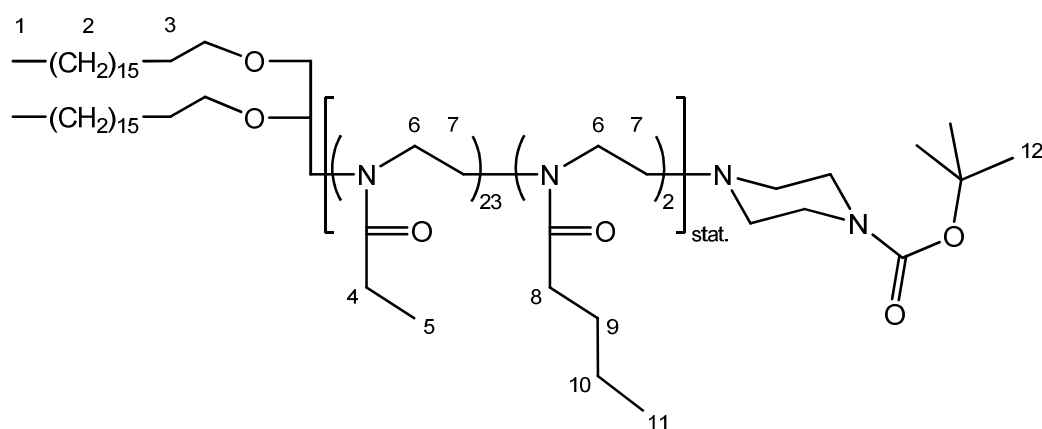
Wässrige Phase (enthält H-iPrOxPipBoc):

Ausbeute: 27 mg (28 Gew.-% der eingesetzten Gesamtmenge)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 1,10 ppm (m, br, 198H, H⁵), 1,44 (s, 9H, H⁸), 2,50 – 3,04 (m, br, 31H, H⁴), 3,45 (m, br, 121H, H^{5,6}).

MALDI-TOF: M_n = 3189 g/mol, PDI = 1,05

6.4.2 Monofunktionale Lipocopolymere

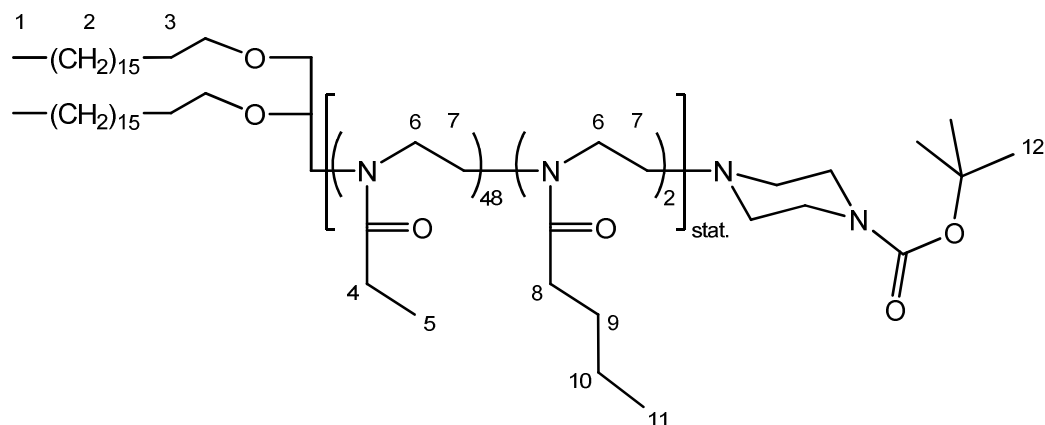
diC₁₈EtOx₂₃BuOx₂BocPip (481)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₇₇ H ₃₂₉ N ₂₇ O ₂₉
M _n (theoretisch)	3300 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	67,7 mg (92,8 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	212 mg (2,14 mmol, 23 eq)
2- <i>n</i> -Butyl-2-oxazolin	23,6 mg (0,184 mmol, 2 eq)
1-Boc-piperazin	108 mg (0,581 mmol, 6 eq)
Solvens	2,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	90min (90 °C, 150W)
Ausbeute	247 mg (81% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,75 – 0,95 ppm (m, br, 12H, H^{1,11}), 0,95 – 1,18 (m, br, 69H, H⁵), 1,18 – 1,40 (m, br, H^{2,10}), 1,40 – 1,46 (s, 7H, H¹²), 1,46 – 1,67 (m, 6H, H^{3,9}), 2,14 – 2,56 (m, br, 52H, H⁵), 3,44 (105H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 3371 g/mol, PDI = 1,15

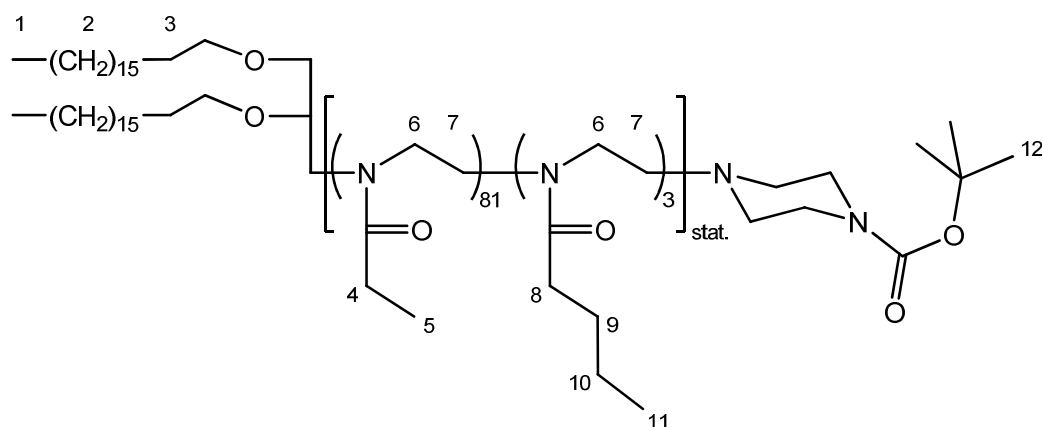
diC₁₈EtOx₄₈BuOx₂BocPip (335)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₃₀₂ H ₅₄₄ N ₅₂ O ₅₄
M _n (theoretisch)	5778 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	124 mg (0,171 mmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	837 mg (8,44 mmol, 49 eq)
2- <i>n</i> -Butyl-2-oxazolin	53 mg (0,413 mmol, 2 eq)
1-Boc-piperazin	182 mg (0,978 mmol, 6 eq)
Solvens	5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	90min (100 °C, 150W)
Ausbeute	808 mg (82% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,87 ppm (m, br, 13H, H^{1,11}), 1,13 (m, br, 144H, H⁵), 1,15 – 1,62 (m, br, 77H, H^{2,3,9,12}), 2,22 – 2,50 (m, br, 102H, H^{4,8}), 3,46 (m, br, 213H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 7273 g/mol, PDI = 1,09

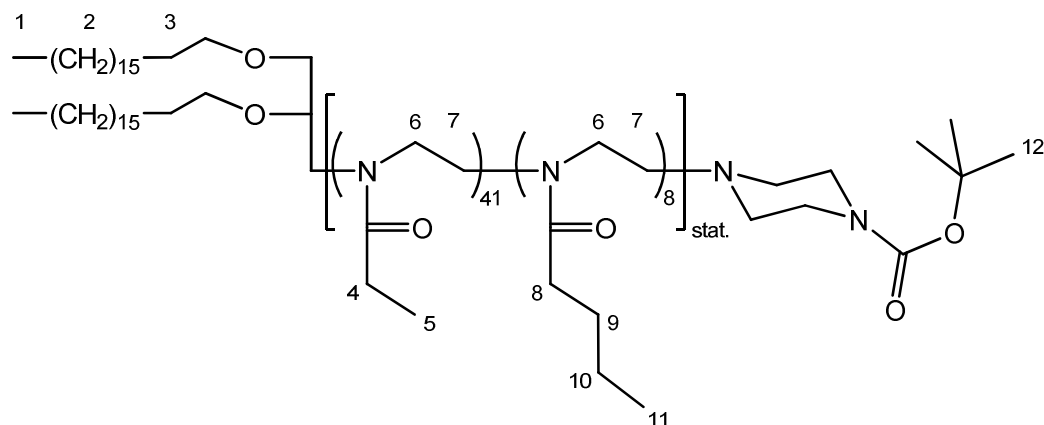
diC₁₈EtOx₉₈BuOx₂BocPip (476)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₄₇₄ H ₈₆₄ N ₈₆ O ₈₈
M _n (theoretisch)	9176 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	38,0 mg (52,1 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	507 mg (5,11 mmol, 98 eq)
2- <i>n</i> -Butyl-2-oxazolin	13,7 mg (0,107 mmol, 2 eq)
1-Boc-piperazin	67,8 mg (0,365 mmol, 7 eq)
Solvens	2,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	210 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	439 mg (88% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,87 ppm (m, br, 15H, H^{1,11}), 1,06 (m, br, 246H, H⁵), 1,18 – 1,59 (m, br, 77H, H^{2,3,9,12}), 2,20 – 2,51 (m, br, 170H, H^{4,8}), 3,15 (t, 4H, ³J = 5,5 Hz, H^{Piperazin}), 3,46 (m, br, 332H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 11943 g/mol, PDI = 1,09

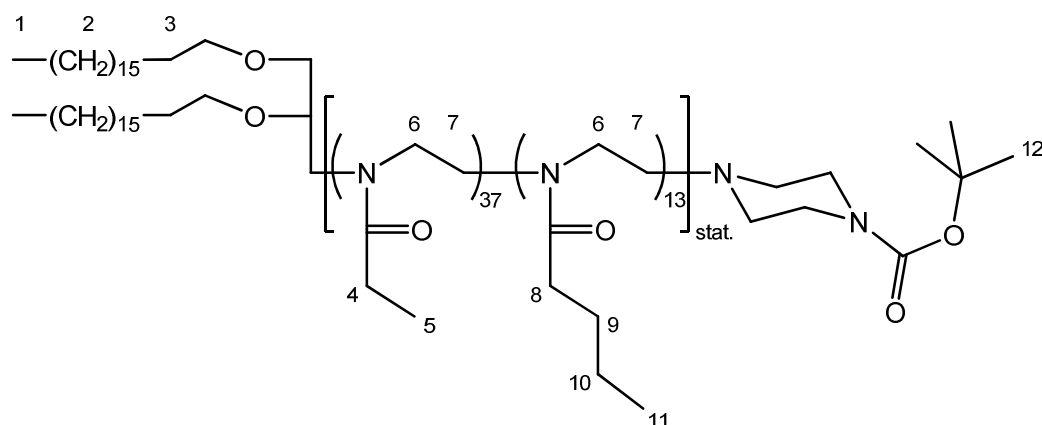
diC₁₈EtOx₄₂BuOx₈BocPip (475)

Das Polymer wurde nach *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₃₀₉ H ₅₆₉ N ₅₁ O ₅₃
M _n (theoretisch)	5847 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	67,7 mg (92,8 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	387 mg (3,93 mmol, 42 eq)
2- <i>n</i> -Butyl-2-oxazolin	99 mg (0,772 mmol, 8 eq)
1-Boc-piperazin	102 mg (0,548 mmol, 6 eq)
Solvens	2,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	120 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	414 mg (76% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,91 ppm (m, br, 29H, H^{1,11}), 1,11 (m, br, 120H, H⁵), 1,24 (m, br, 63H, H^{2,10}), 1,45 (s, 9H, H¹²), 1,55 (m, br, 17H, H^{3,9}), 2,13 – 2,51 (m, br, 103H, H^{4,8}), 3,44 (m, br, 196H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 7106 g/mol, PDI = 1,08

diC₁₈EtOx₃₆BuOx₁₄BocPip (460)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₃₂₄ H ₅₉₈ N ₅₂ O ₅₄
M _n (theoretisch)	5778 g/mol
2,3-Di- <i>O</i> - <i>n</i> -octadecyl-1-trifluormethansulfonyl- <i>sn</i> -glycerol	62,0 mg (85,3 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	304 mg (3,07 mmol, 36 eq)
2- <i>n</i> -Butyl-2-oxazolin	153 mg (1,20 mmol, 14 eq)
1-Boc-piperazin	150 mg (0,806 mmol, 9 eq)
Solvens	2,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	120 min (90 °C, 200W)
Ausbeute	396 mg (76% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,88 ppm (m, br, 45H, H^{1,11}), 1,04 (m, br, 111H, H⁵), 1,22 (br, 60H, H^{2,10}), 1,39 (s, 9H, H¹²), 1,49 (m, br, 29H, H^{3,9}), 2,18 – 2,47 (m, br, 103H, H^{4,8}), 3,44 (m, br, 202H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 6790 g/mol, PDI = 1,12

6.4.3 Polymeranaloge Reaktionen mit monofunktionalen Lipopolymeren

6.4.3.1 Entschützungsreaktionen

Allgemeine Reaktionsvorschrift zur Entschützung Boc-geschützter Lipopolymere mittels TFA (*Entschützungsvorschrift A*):

Das proximal Boc-geschützte Lipopolymer wird in einer Mischung aus TFA / Tri-*iso*-butylsilan (TIBS) / Wasser (95 / 2,5 / 2,5 vol-%, ~70 mg Polymer / mL) gelöst. Nach 10 min Reaktionsdauer (60 min bei distal TBDPS-geschützten Lipopolymeren) im Ultraschallbad wird das überschüssige Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen. Der Rückstand wird in 2 mL Chloroform aufgenommen und es wird eine Spatelspitze Kaliumcarbonat zugegeben. Nach Entfernung des Solvens im Hochvakuum wird der Rückstand in 2 mL einer Mischung aus Methanol und Chloroform (2 / 1 vol-%) aufgenommen, das Polymer in 0 °C kaltem Petrolether gefällt, in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet.

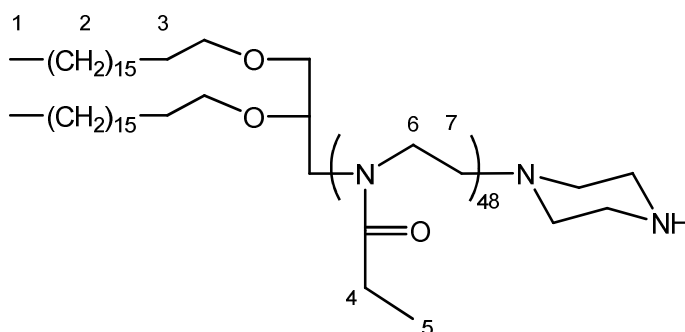
Allgemeine Reaktionsvorschrift zur Entschützung Boc-geschützter Lipopolymere über methanolisiertes Acetylchlorid (*Entschützungsvorschrift B*):

Das proximal Boc- und/oder distal TBDPS-geschützte Lipopolymer wird in trockenem Methanol unter einer trockenen Argonatmosphäre gelöst (~1 mL / 40 mg Polymer). Ist ein Poly(2-methyl-2-oxazolin) basiertes Polymer zu entschützen, erfolgt Zugabe von 10 mg Acetylchlorid (0,318 mmol) pro mL Methanol. Im Falle von Poly(2-ethyl-2-oxazolin) basierten Polymeren wird die entsprechende äquimolare Menge an Propionylchlorid zugegeben. Die Lösung wird heftig gerührt. Die Reaktion wird nach 48 h durch Zugabe von 2,5 mL konzentrierter wässriger NaHCO₃ Lösung abgebrochen. Das Lösungsmittel wird so weit möglich im Hochvakuum abgezogen und der Rückstand aus Wasser gefriergetrocknet. Der zurückbleibende Feststoff wird mit Chloroform extrahiert (~1 mL / 40 mg Polymer) und das Polymer in 0 °C kaltem Petrolether gefällt. Anschließend Gefriertrocknung aus Wasser liefert das gewünschte Produkt.

Allgemeine Reaktionsvorschrift zur Entschützung Boc-geschützter Lipopolymere über methanolisiertes Acetylchlorid (*Entschützungsvorschrift C*):

Das proximal Boc- und/oder distal TBDPS-geschützte Lipopolymer wird in 2N Salzsäure gelöst (~ 3 mL / 100 mg Polymer) und gerührt. Nach 24 h wird die resultierende Suspension mit NaHCO₃ neutralisiert, filtriert (Cellulose – Spritzenfilter, $\Phi = 0,2 \mu\text{m}$, VWR) und gefriergetrocknet. Der feste Rückstand wird über 3 h mit Chloroform extrahiert (3 mL / 100 mg Polymer). Das Polymer wird bei Raumtemperatur in einem zehnfachen Überschuss an Diethylether gefällt und aus Wasser gefriergetrocknet.

diC₁₈EtOx₄₈Pip (346)



Das Polymer wurde gemäß *Entschützungsvorschrift A* dargestellt.

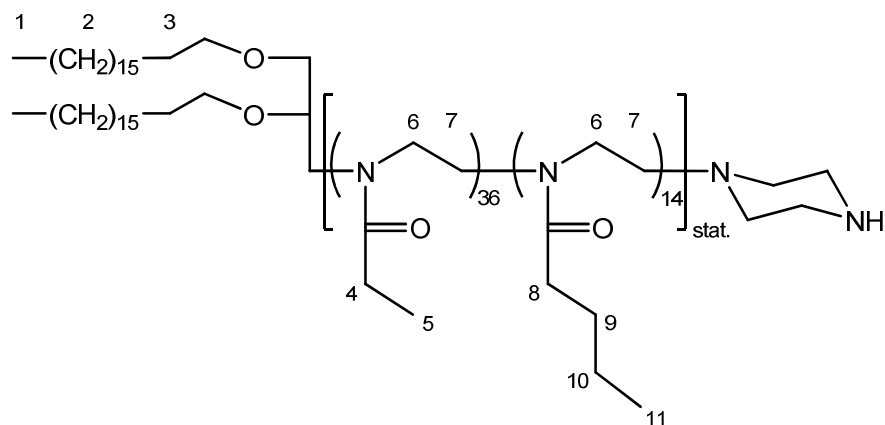
Summenformel	C ₂₉₃ H ₅₃₈ N ₅₂ O ₅₂
M _n (theoretisch)	5622 g/mol
diC ₁₈ EtOx ₅₁ PipBoc (341)	72 mg (12,6 μmol)
Solvens	1 mL TFA / TIBS / H ₂ O (95 / 2,5 / 2,5 vol-%)
Reaktionszeit	10 min
Ausbeute	50 mg (71% d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293K): $\delta = 0,86$ ppm (t, 6H, ³J = 6,6 Hz, H¹), 1,11 (m, br, 137H, H⁵), 1,24 (s, br, 59H, H²), 1,51 (m, 5H, H³), 2,37 (m, br, 94H, H⁴), 3,45 (m, br, 198H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 7603 g/mol, PDI = 1,08

MALDI-TOF: M_n = 5167 g/mol, PDI = 1,01

diC₁₈EtOx₃₆BuOx₁₄Pip (502)

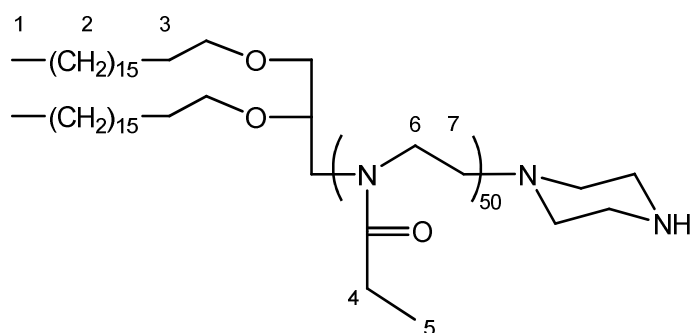


Das Polymer wurde gemäß *Entschüttungsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₃₁₂ H ₅₉₄ N ₅₂ O ₅₂
M _n (theoretisch)	6014 g/mol
diC ₁₈ EtOx ₃₇ BuOx ₁₃ PipBoc (460)	60 mg (9,81 μmol)
Solvens	0,6 mL TFA / TIBS / H ₂ O (95 / 2,5 / 2,5 vol-%)
Reaktionszeit	50 min
Ausbeute	54 mg (92% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,89 ppm (m, 45H, H^{1,11}), 1,05 (m, br, 113H, H⁵), 1,14 - 1,40 (m, br, 64H, H^{2,10}), 1,50 (m, 28H, H⁹), 2,34 (m, br, 104H, H⁴), 3,45 (m, br, 200H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 8469 g/mol, PDI = 1,07

diC₁₈EtOx₅₀Pip (347)

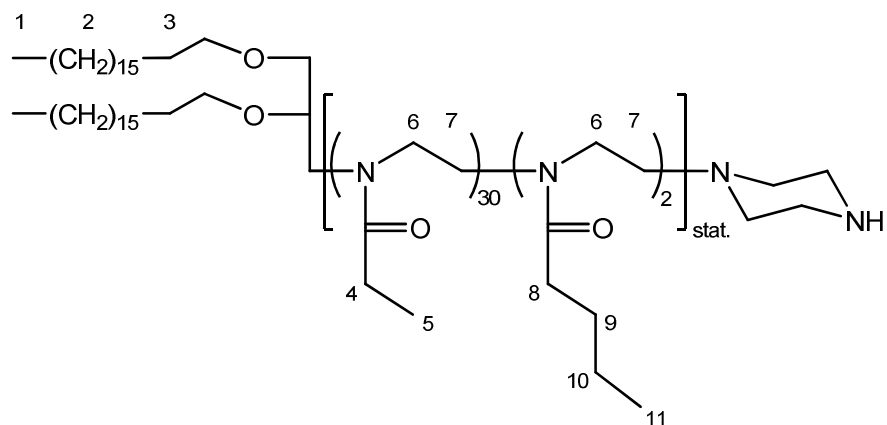
Das Polymer wurde gemäß *Entschüttungsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₂₉₃ H ₅₃₈ N ₅₂ O ₅₂
M _n (theoretisch)	5622 g/mol
diC ₁₈ EtOx ₅₀ PipBoc (332)	105 mg (18,3 μmol, 1 eq)
Propionylchlorid	25,5 mg (0,267 mmol, 15 eq)
Solvens	2,5 mL Methanol
Reaktionszeit	66 h
Ausbeute	54 mg (92% d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,89 ppm (t, 6H, ³J = 6,5 Hz, H¹), 1,05 (m, br, 146H, H⁵), 1,24 (br, 50H, H²), 1,52 (m, 5H, H³), 2,27 (m, br, 100H, H⁴), 2,86 (br, 4H, H^{Piperazin}), 3,45 (m, br, 198H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 7795 g/mol, PDI = 1,05

MALDI-TOF: M_n = 5449 g/mol, PDI = 1.01

diC₁₈EtOx₂₃BuOx₂Pip (349)

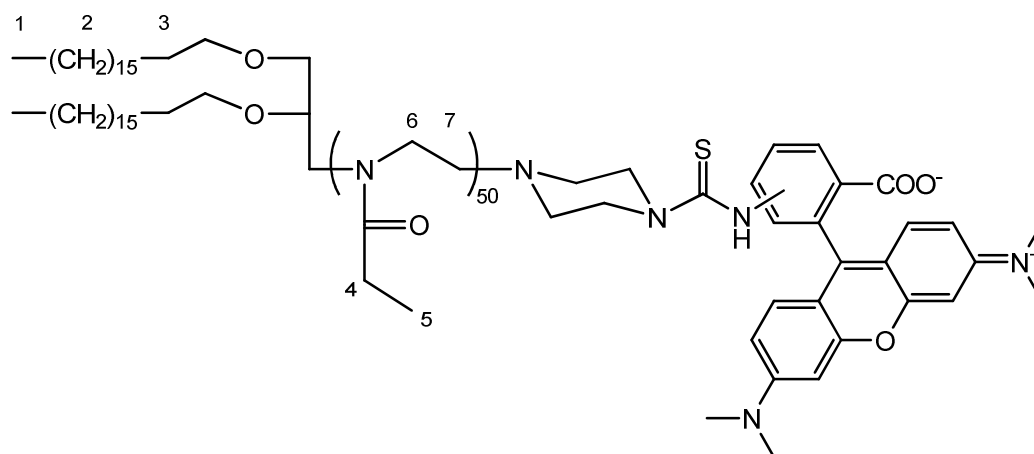
Das Polymer wurde gemäß *Entschüttungsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₂₀₇ H ₃₈₄₄ N ₃₄ O ₃₄
M _n (theoretisch)	3894 g/mol
diC ₁₈ EtOx ₅₀ PipBoc (334)	105 mg (18,3 μmol, 1 eq)
Propionylchlorid	25,5 mg (0,267 mmol, 15 eq)
Solvens	2,5 mL Methanol
Reaktionszeit	66 h
Ausbeute	54 mg (92% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,87 ppm (m, br, 12H, H^{1,11}), 1,11 (m, br, 81H, H⁵), 1,24 (br, 64H, H^{2,10}), 1,54 (m, 8H, H^{3,9}), 2,34 (m, br, 62H, H^{4,8}), 3,45 (m, br, 117H, H^{6,7}).

GPC (DMAc): M_n = 4509 g/mol, PDI = 1,11

6.4.3.2 Fluoreszenzmarkierung

diC₁₈EtOx₅₀PipTRITC (412)

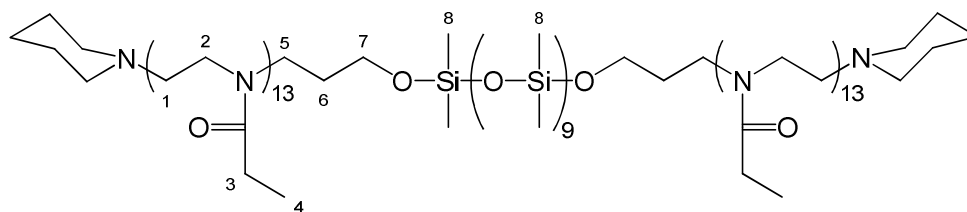
Vom Polymer diC₁₈EtOx₅₀Pip (411) werden 49 mg (9,1 μmol, 1 eq) in einem 5 mL Schraubdeckelglas in 1 mL trockenem ACN gelöst. Es erfolgt Zugabe von 60 mg trockenem Kaliumcarbonat (0,44 mmol, 48 eq) sowie von 7 mg TRITC (16 μmol, 1,7 eq). Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt und nach 64 h ohne weitere Behandlung, mittels präparativer Größenausschlusschromatographie aufgearbeitet (Sephadex LH-20). Die das gewünschte Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel im Membranpumpenvakuum abgezogen. Nach Gefriertrocknung aus Wasser wird das Produkt als tief kirschrotes Pulver erhalten. Ausbeute: 42 mg (76% d.Th.).

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,85 ppm (m, 9H, H¹), 1,07 (m, br, 133H, H⁵), 1,22 (br, 60H, H²), 1,45 (m, 6H, H³, Piperidin), 2,37 (m, br, 92H, H⁴), 2,94 (m, 6H, H⁷, Piperazin) 3,43 (m, br, 190H, H^{6,7}), 6,30 – 8,16 (m, H^{Ar}).

GPC (DMAc): M_n = 8645 g/mol, PDI = 1,06

6.4.4 ABA Lipopolymere

PiperidinEtO_x13ODMS₁₀EtO_x13Piperidin (429)



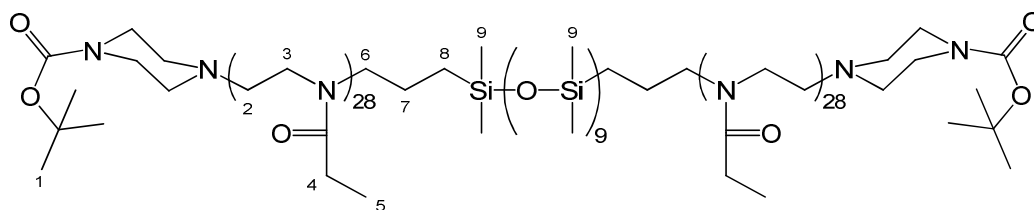
Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₁₅₈ H ₃₀₀ N ₂₈ O ₃₅ Si ₁₀
M _n (theoretisch)	3433 g/mol
α,ω-bis(3-Trifluormethansulfonylpropyl)- oligo(dimethylsiloxan)	320 mg (0,29 mmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	680 mg (6,85 mmol, 24 eq)
Piperidin	405 mg (4,76 mmol, 17 eq)
Solvens	4 mL Chloroform
Reaktionszeit	41 h (60 °C)
Ausbeute	842 mg (83% d. Th.)

Das Polymer wurde abschließend durch Dialyse (Methanol / Wasser = 1 / 1) aufgereinigt, um noch vorhandenes überschüssiges Terminationsreagens zu entfernen,

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,04 ppm (m, 60H, H⁸), 0,47 (m, 4H, H⁷), 1,11 (m, br, 81H, H⁴), 1,57 (m, br, H⁶), 2,37 (m, br, 53H, H³), 3,45 (m, br, 103H, H^{4,5}).

GPC (DMAc): M_n = 4828 g/mol, PDI = 1,24

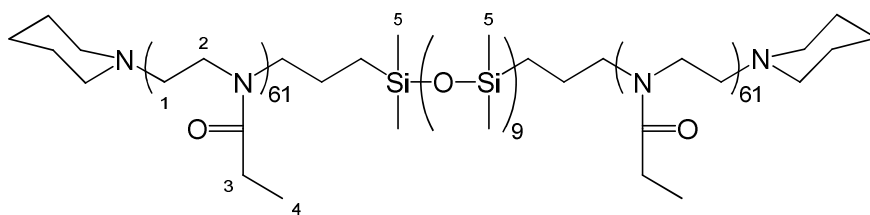
BocPipEtOx₂₅PDMS₁₀EtOx₂₅BocPip (442)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	$C_{316}H_{584}N_{60}O_{69}Si_{10}$
M_n (theoretisch)	6609 g/mol
α,ω -bis(3-Trifluormethansulfonylpropyl)- oligo(dimethylsiloxan)	195 mg (0,172 mmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	625 mg (6,30 mmol, 37 eq)
1-Boc-Piperazin	237 mg (1,27 mmol, 7,4 eq)
Solvens	2 mL Chloroform
Reaktionszeit	72 h (60 °C)
Ausbeute	474 mg (96% d. Th.)

1H -NMR: (300 MHz, $CDCl_3$, 293K): δ = 0,06 ppm (m, 61H, H^9), 0,47 (m, 4H, H^8), 1,11 (m, br, 162H, H^5), 1,44 (s, 9H, H^1), 1,54 (m, br, H^7), 2,37 (m, br, 117H, H^4), 3,44 (m, br, 219H, $H^{2,3,6}$).

GPC (DMAc): M_n = 6592 g/mol, PDI = 1,19

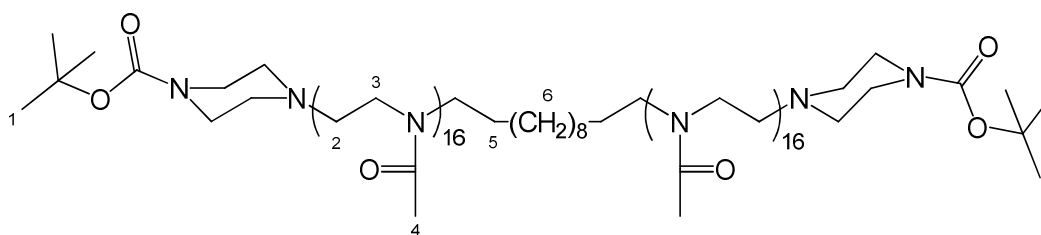
PiperidinEtOx₆₀PDMS₁₀EtOx₆₀Piperidin (417)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₆₂₈ H ₁₁₄₆ N ₁₂₂ O ₁₂₉ Si ₁₀
M _n (theoretisch)	12751 g/mol
α,ω-bis(3-Trifluormethansulfonylpropyl)- oligo(dimethylsiloxan)	300 mg (27 μmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	313 mg (3,15 mmol, 116 eq)
Piperidin	74 mg (0,87 mmol, 32 eq)
Solvens	3mL Chloroform
Reaktionszeit	70 h (60 °C)
Ausbeute	150 mg (43% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,04 ppm (m, 60H, H⁵), 1,09 (m, br, 367H, H⁴), 2,31 (m, br, 245H, H³), 3,42 (m, br, 486H, H^{1,2}).

GPC (DMAc): M_n = 7175 g/mol, PDI = 1,14

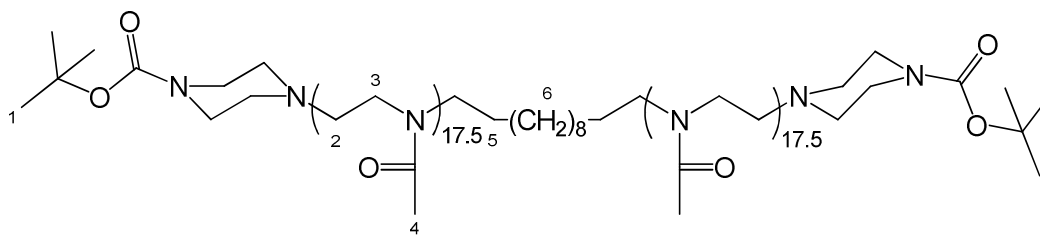
BocPipMeOx₂₅C₁₂MeOx₂₅BocPip (479)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₅₈ H ₂₈₂ N ₃₆ O ₃₆
M _n (theoretisch)	3262 g/mol
1,12-Dodecyltrifluormethansulfonat	16,3 mg (35 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	149 mg (1,75 mmol, 50 eq)
1-Boc-piperazin	89 mg (0,478 mmol, 14 eq)
Solvens	1,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	60 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	78 mg (68% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 1,26 ppm (br, 16H, H⁶), 1,44 (s, 9H, H¹), 1,48 – 1,61 (m, 3H, H⁵), 2,10 (m, br, 97H, H⁴), 2,37 – 2,54 (m, br, 10H, H^{Piperazin, 2}), 3,23 (m, 4H, H³), 3,44 (m, br, 128H, H^{2,3}).

GPC (DMAc): M_n = 4065 g/mol, PDI = 1,20

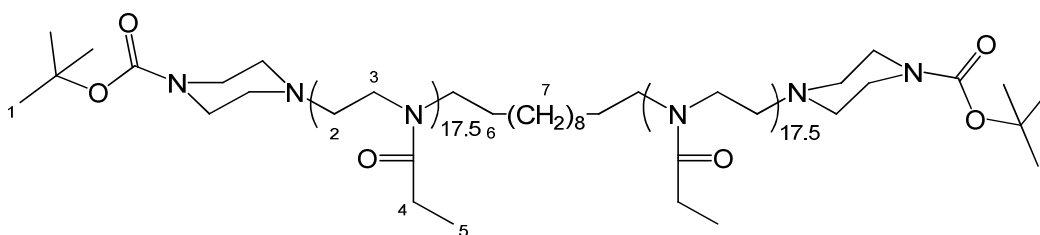
BocPipMeOx₂₅C₁₂MeOx₂₅BocPip (483)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₇₀ H ₃₀₃ N ₃₉ O ₃₉
M _n (theoretisch)	3517 g/mol
1,12-Dodecyltrifluormethansulfonat	13,3 mg (29 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	121 mg (1,42 mmol, 50 eq)
1-Boc-piperazin	52 mg (0,280 mmol, 10 eq)
Solvens	1,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	90 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	105 mg (99% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,27 ppm (br, 16H, H⁶), 1,42 (s, 17H, H¹), 1,47 – 1,63 (m, 3H, H⁵), 2,06 (m, br, 99H, H⁴), 2,38 – 2,61 (m, br, 13H, H^{Piperazin, 2}), 3,12 (m, 7H, H^{Piperazin, 3}), 3,47 (m, br, 143H, H^{2,3}).

GPC (DMAc): M_n = 4029 g/mol, PDI = 1,11

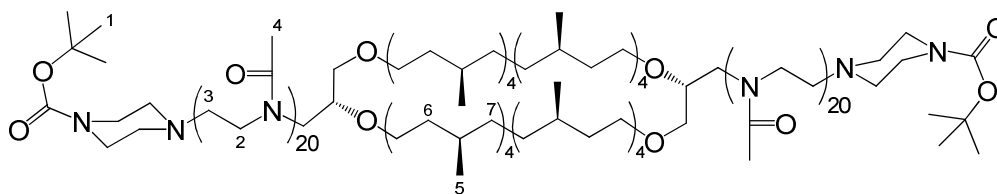
BocPipEtOx₂₅C₁₂EtOx₂₅BocPip (480)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₂₀₅ H ₃₇₃ N ₃₉ O ₃₉
M _n (theoretisch)	4008 g/mol
1,12-Dodecyltrifluormethansulfonat	16,3 mg (35 µmol, 1 eq)
2-Ethyl-2-oxazolin	175 mg (1,76 mmol, 50 eq)
1-Boc-piperazin	92 mg (0,50 mmol, 14 eq)
Solvens	1,5 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	180 min (90 °C, 150W)
Ausbeute	120 mg (86% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,11 ppm (m, br, 121H, H^{5,7}), 1,26 (br, 13H, H⁷), 1,46 (s, 18H, H¹), 1,48 – 1,59 (m, H⁵), 2,37 (m, br, 87H, H⁴), 3,21 (m, br, 4H, H^{Piperazin, 3}), 3,44 (m, br, 158H, H^{2,3}).

GPC (DMAc): M_n = 5694 g/mol, PDI = 1,07

BocPipMeOx₂₀CAMEOx₂₀BocPip (485)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift B* dargestellt.

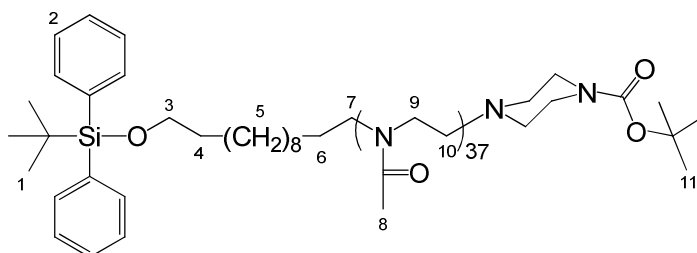
Summenformel	C ₂₆₄ H ₄₉₄ N ₄₄ O ₄₈
M _n (theoretisch)	5043 g/mol
α,ω-Caldarchaeyltrifluormethansulfonat	34,5 mg (22 μmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	95 mg (1,12 mmol, 51 eq)
1-Boc-piperazin	62 mg (0,333 mmol, 15 eq)
Solvens	1,2 mL Dichlormethan
Reaktionszeit	180 min (60 °C, 150W)
Ausbeute	116 mg (92% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,84 ppm (m, 57H, H⁵), 0,94 – 1,65 (m, br, 126H, H^{1,6,7}), 2,06 (m, br, 119H, H⁴), 2,36 – 2,57 (m, br, 9H, H^{Piperazin}), 3,47 (m, br, 173H, H^{2,3}).

GPC (DMAc): M_n = 6871 g/mol, PDI = 1,06

Asymmetrische Lipopolymere

6.4.5 Synthese distal TBDPS-geschützter Lipopolymere

TBDPSOC₁₂MeOx₃₇PipBoc (148)

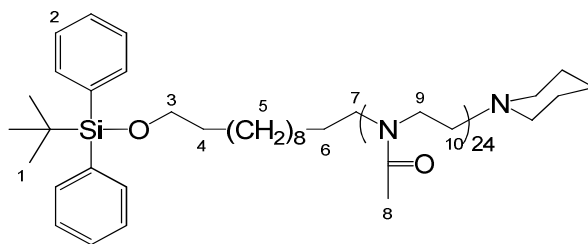
Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₁₈₅ H ₃₁₉ N ₃₉ O ₄₀ Si
M _n (theoretisch)	3758 g/mol
12-(<i>tert</i> ,Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecyl-1-trifluoromethansulfonat	125mg (0,218 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	650 mg (7,65 mmol, 35 eq)
1-Boc-piperazin	406 mg (2,18 mmol, 10 eq)
Solvens	6 mL Chloroform
Reaktionszeit	24 h (60°C)
Ausbeute	644 mg (79% d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 1,02 ppm (s, 9H, H¹), 1,24 (br, 17H, H⁴), 1,38 – 1,63 (m, br, 17H, H^{4,5,6,11}), 2,13 (m, br, 106H, H⁸), 2,34 – 2,79 (m, br, 4H, H^{7,Piperazin}), 2,79 (m, 2H, H⁹), 3,12 – 3,69 (m, br, 167H, H^{3,9,10}), 7,29 – 7,72 (m, br, 9H, H²).

GPC (DMAc): M_n = 5626 g/mol, PDI = 1,27

MALDI-TOF: M_n = 3586 g/mol, PDI = 1,01

TBDPSOC₁₂MeOx₂₄Piperidin (240H)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

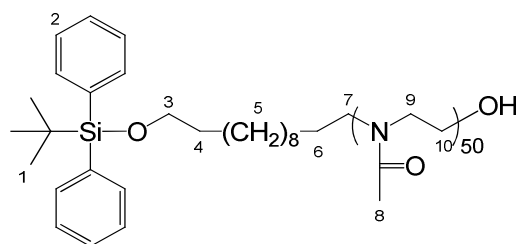
Summenformel	C ₁₂₉ H ₂₂₁ N ₂₅ O ₂₅ Si
M _n (theoretisch)	2550 g/mol
12-(<i>tert</i> ,Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecyl-1-trifluoromethansulfonat	1,09 g (1,90 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	3,15 g (37,0 mmol, 19,5 eq)
Piperidin	0,85 g (10 mmol, 5 eq)
Solvens	35 mL Chloroform
Reaktionszeit	26 h (60°C)
Ausbeute	3,16 g (94% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,09 ppm (s, 8H, H¹), 1,24 (br, 16H, H⁵), 1,54(m, br, 6H, H^{4,6,Piperidin}), 1,84 (m, br, 4H, H^{Piperidin}), 2,13 (m, br, 73H, H⁸), 2,41 (m, br, H^{Piperidin}), 3,10 – 3,71 (m, br, 100H, H^{3,9,10}), 7,28 – 7,71 (m, br, 10H, H²).

GPC (DMAc): M_n = 4463 g/mol, PDI = 1,18

MALDI-TOF: M_n = 2259 g/mol, PDI = 1,02

TBDPSOC₁₂MeOx₅₀OH (206-I)



Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

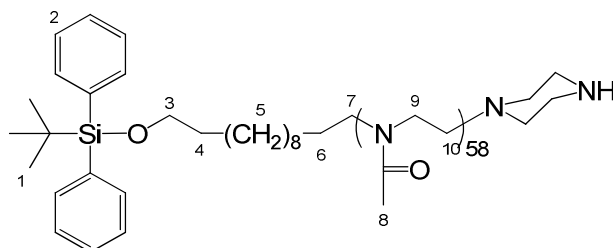
Die Termination der Reaktion erfolgte durch Zugabe einer Lösung von 433 mg Natriumhydrogencarbonat in 4.5 mL Wasser und 9.4 mL Methanol. Nach Rühren über Nacht wurde das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, der Rückstand in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Nach Extraktion mit Chloroform (8mL), Fällung in 0 °C kaltem Diethylether und anschließender Gefrierd Trocknung (Wasser) wurde das gewünschte Produkt als weißes Pulver erhalten.

Summenformel	C ₂₂₈ H ₃₉₄ N ₅₀ O ₅₂ Si
M _n (theoretisch)	4696 g/mol
12-(<i>tert</i> ,Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecyl-1-trifluoromethansulfonat	89 mg (0,17 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	736 mg (8,65 mmol, 53 eq)
Solvens	4,5 mL Chloroform
Reaktionszeit	48 h (60°C)
Ausbeute	586 mg (73% d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,03 ppm (s, 8H, H¹), 1,24 (br, 16H, H⁵), 1,52 (m, br, 4H, H^{4,6}), 2,13 (m, br, 145H, H⁸), 3,09 – 3,84 (m, br, 208H, H^{3,9,10}), 7,34 (m, 6H, H²), 7,65 (m, 4H, H²).

GPC (DMAc): M_n = 7286 g/mol, PDI = 1,08

MALDI-TOF: M_n = 5022 g/mol, PDI = 1,01

TBDPSOC₁₂MeOx₅₈Pip (206-II)

Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt. Die endgültige Aufarbeitung erfolgte mittels Dialyse aus Wasser.

Summenformel	C ₂₆₀ H ₄₅₁ N ₅₉ O ₅₈ Si
M _n (theoretisch)	5360 g/mol
12-(<i>tert</i> ,Butyldiphenylsilyl)oxy-dodecyl-1-trifluoromethansulfonat	89 mg (0,17 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	720 mg (8,46 mmol, 50 eq)
Piperazin	450 mg (5,23 mmol, 20 eq)
Solvens	4,5 mL Chloroform
Reaktionszeit	48 h (60°C)
Ausbeute	551 mg (60% d. Th.)

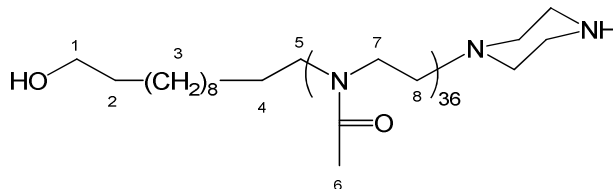
¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,01 ppm (s, 8H, H¹), 1,22 (br, 16H, H⁵), 1,54 (m, br, 3H, H^{4,6}), 2,11 (m, br, 173H, H⁸), 2,41 – 2,82 (m, br, H^{Piperazin}), 3,11 – 3,75 (m, br, 234H, H^{3,9,10}), 7,31 – 7,74 (m, br, 234H, H^{3,9,10}), 7,34 (m, 6H, H²), 7,64 (m, 4H, H²).

GPC (DMAc): M_n = 8144 g/mol, PDI = 1,24

MALDI-TOF: M_n = 4961 g/mol, PDI = 1,01

6.4.6 Entfernung der Schutzgruppen von distal TBDPS-geschützten Lipopolymeren

HOC₁₂MeOX₃₆Pip (224)



Das Polymer wurde gemäß *Entschützungs*vorschrift C dargestellt.

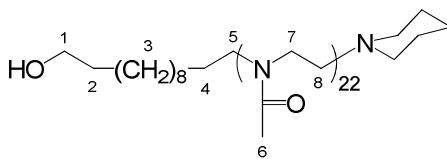
Summenformel	C ₁₆₀ H ₂₈₆ N ₃₈ O ₃₇
M _n (theoretisch)	3334 g/mol
TBDPSOC ₁₂ MeOX ₃₅ PipBoc (148)	50 mg (14 μmol)
Solvens	1,5 mL Salzsäure (4,8%)
Reaktionszeit	63h
Ausbeute	36 mg (77% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,26 ppm (br, 16H, H³), 1,54 (m, 4H, H^{2,4}), 2,14 (m, br, 114H, H⁶), 2,48 (m, br, H^{Piperazin}), 3,00 (m, br, H^{Piperazin}), 3,17 – 3,65 (m, br, 137H, H^{1,5,7,8}).

GPC (DMAc): M_n = 7646 g/mol, PDI = 1,30

MALDI-TOF: M_n = 3122 g/mol, PDI = 1,02

HOC₁₂MeO_{x20}Piperidin (242H)



Das Polymer wurde gemäß *Entschüttungsvorschrift C* dargestellt.

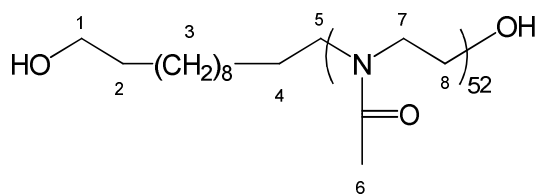
Summenformel	C ₁₁₃ H ₂₀₃ N ₂₅ O ₂₅
M _n (theoretisch)	2312 g/mol
TBDPSOC ₁₂ MeO _{x35} PipBoc (148)	250 mg (0,11 mmol)
Acetylchlorid	42 mg (0,54 mmol, 5 eq)
Solvens	2,5 mL Methanol
Reaktionszeit	94 h
Ausbeute	201 mg (79% d. Th.)

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 1,28 ppm (m, 16H, H²), 1,56 (m, br, 10H, H^{2,4,Piperidin}), 2,15 (m, br, 66H, H⁶), 2,42 (m, br, H^{Piperidin}), 3,47 (m, br, 92H, H^{7,8}). → DP = 22, M_n = 2142 g/mol.

GPC (DMAc): M_n = 4730 g/mol, PDI = 1,18

MALDI-TOF: M_n = 2189 g/mol, PDI = 1,02

HOC₁₂MeOx₅₂OH (237)



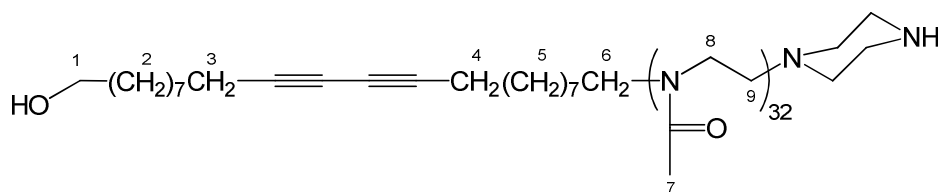
Das Polymer wurde gemäß *Entschüttungsvorschrift C* dargestellt.

Summenformel	C ₂₂₀ H ₃₉₀ N ₅₂ O ₅₄
M _n (theoretisch)	4628 g/mol
TBDPSOC ₁₂ MeOx ₃₅ PipBoc (148)	356 mg
Solvens	4 mL Salzsäure (4%)
Reaktionszeit	42 h
Ausbeute	270 mg (80% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,26 ppm (br, 16H, H³), 1,54 (m, 4H, H^{2,4}), 2,13 (m, br, 161H, H⁶), 2,80 (m, br, H^{Piperazin}), 3,11 – 3,83 (m, br, 205H, H^{1,5,7,8}).

GPC (DMAc): M_n = 9590 g/mol, PDI = 1,20

MALDI-TOF: M_n = 4728 g/mol, PDI = 1,01

HODocoMeOx₃₇Pip (207)

Das Polymer wurde gemäß *Entschüttungsvorschrift B* dargestellt.

Summenformel	C ₁₅₅ H ₂₇₁ N ₃₄ O ₃₃
M _n (theoretisch)	3551 g/mol
TBDPSODocoMeOx ₃₀ PipBoc (200)	217 mg (62.6 μmol, 1 eq)
Acetylchlorid	16.5 mg (210 μmol, 3.35 eq)
Solvens	5 mL Methanol (anh.)
Reaktionszeit	72 h
Ausbeute	149 mg (76% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 1,19 – 1,60 ppm (m, br, 28H, H^{2,5}), 1,96 – 2,27 (m, br, 112H, H^{3,4,7}), 2,50 (br, H^{Piperazin}), 2,94 (br, H^{Piperazin}), 3,12 – 3,64 (m, br, 150H, H^{8,9}).

→ DP = 34, M_n = 3309,2 g/mol.

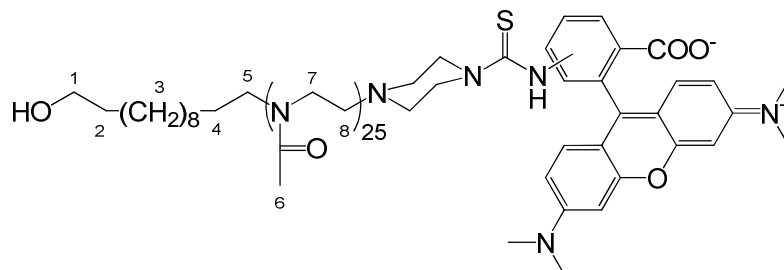
GPC (DMAc): M_n = 6165 g/mol, PDI = 1,16

MALDI-TOF: M_n = 2653 g/mol, PDI = 1,03

6.4.7.1 Polymeranaloge Reaktionen entschützter bifunktionaler Lipopolymere

6.4.7.1.1 Fluoreszenzmarkierung

HOC₁₂MeOx₂₅PipTRITC (501)

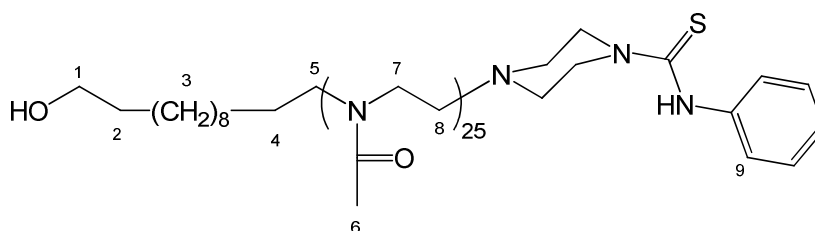


Vom Polymer HOC₁₂MeOx₂₅Pip (491) werden 45 mg (18 μ mol, 1 eq) in einem Schlenkrohr in 0,95 mL trockenem ACN gelöst. Es erfolgt Zugabe von 60 mg (0,44 mmol, 23 eq) trockenem Kaliumcarbonat, von 12,6 mg TRITC (27,3 μ mol, 1,5 eq) sowie von 14,5 mg trockenem Methanol (0,453 mmol, 24 eq). Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt. Nach 93 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen und gegen 1 mL Methanol ausgetauscht. Die Reaktionsmischung wird mittels präparativer Größenausschlusschromatographie aufgearbeitet (Sephadex LH-20). Die das gewünschte Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel im Membranpumpenvakuum abgezogen. Nach Gefriertrocknung aus Wasser wird das Produkt als gelbliches Harz erhalten. Ausbeute: 26 mg (48% d. Th.).

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,13 – 1,65 ppm (br, 20H, H^{2,3,4}), 2,06 (m, br, 73H, H⁶), 2,56 (m, br, H^{Piperazin}), 3,47 (m, br, 94H, H^{1,5,7,8}), 6,57 – 8,10 (m, H^{Ar'}).

GPC (DMAc): M_n = 4018 g/mol, PDI = 1,26

6.4.7.1.2 Kupplung mit Phenylisothiocyanat

HOC₁₂MeO_{x25}PipSCNPh (503)

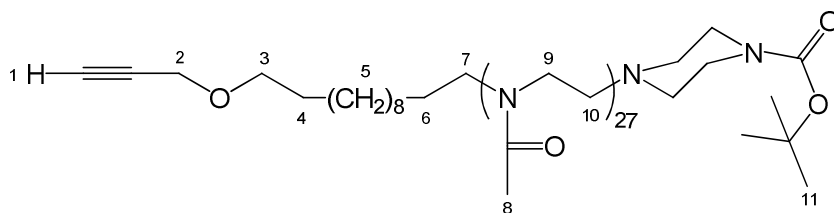
Vom Polymer HOC₁₂MeO_{x25}Pip (491) werden 56 mg (23 μ mol, 1 eq) in einem Schlenkrohr in 0,9 mL trockenem ACN gelöst. Es erfolgt Zugabe von 34 mg trockenem Kaliumcarbonat (0,25 mmol, 11 eq), von 20 mg Phenylisothiocyanat (0,15 mmol, 6 eq) sowie von 27 mg trockenem *n*-Propanol (0,45 mmol, 19 eq). Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt. Nach 62 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen und gegen 1 mL Methanol ausgetauscht. Die Reaktionsmischung wird mittels präparativer Größenausschlusschromatographie aufgearbeitet (Sephadex LH-20). Die das gewünschte Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel im Membranpumpenvakuum abgezogen. Nach Gefriertrocknung aus Wasser wird das Produkt als gelbliches Harz erhalten. Ausbeute: 26 mg (44% d. Th.).

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 1,17 – 1,66 ppm (br, 20H, H³), 1,47 (m, 4H, H^{2,4}), 2,06 (m, br, 74H, H⁶), 2,56 (m, H^{Piperazin}), 3,47 (m, br, 95H, H^{7,8}), 3,90 (m, H^{Piperazin}), 7,22 (m, 5H, H⁹).

GPC (DMAc): M_n = 4463 g/mol, PDI = 1,07

6.5 Click-Chemie mit distal alkinfunktionalisierten Poly(2-oxazolin)en

PgOC₁₂MeOx₂₇PipBoc (212)



Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt.

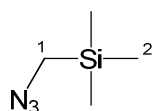
Summenformel	C ₁₃₂ H ₂₃₃ N ₂₉ O ₃₀
M _n (theoretisch)	2706 g/mol
12-(Prop-2-inyloxy)dodecyl Trifluoromethansulfonat	364 mg (0,977 mmol, 1 eq)
2-Methyl-2-oxazolin	1,67 g (19,6 mmol, 25 eq)
1-Boc-piperazin	933 mg (5,02 mmol, 6 eq)
Solvens	6 mL Chloroform
Reaktionszeit	22 h (60°C)
Ausbeute	1,78 g (84% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 1,25 ppm (br, 20H, H⁵), 1,44 (s, 11H, H¹¹), 1,55 (m, 4H, H^{4,6}), 2,13 (m, br, 81H, H⁸), 2,36 – 2,55 (m, br, 7H, H^{1,Piperazin}), 3,13 – 3,68 (m, br, 116H, H^{7,9,10}), 4,11 (d, 2H, ⁴J = 2,4 Hz, H²).

GPC (DMAc): M_n = 4541 g/mol, PDI = 1,16

MALDI-TOF: M_n = 2540 g/mol, PDI = 1,03

(Azidomethyl)trimethylsilan (204)



Das gewünschte Produkt wurde nach einer von *Anderson et al.*^[211] beschriebenen Synthesevorschrift dargestellt. Die Umsetzung von 25,27 g (Chloromethyl)trimethylsilan (206 mmol, 1 eq) mit 15,22 g Natriumazid (234 mmol, 1,14 eq) in 100 mL 1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon (DMPU) als Lösungsmittel ergab 13,05 g (101 mmol, 49% d.Th.) des Zielprodukts als leicht gelbes Öl.

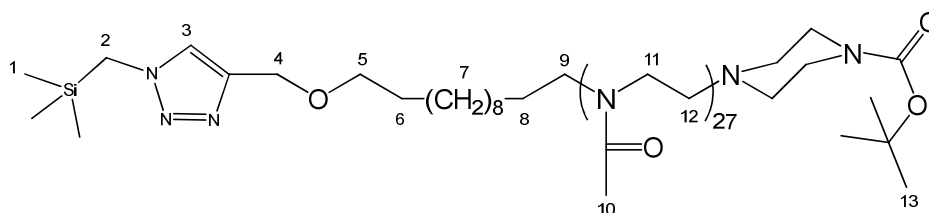
¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,12 ppm (s, 9H, H²), 2,76 (s, 2H, H¹).

¹³C-NMR: (75,48 MHz, CDCl₃, 293K): δ = -2,62; 42,03.

Elementaranalyse: Theoretisch: C 37,17; H 8,58; N 32,51; Si 21,73

Gefunden: C 36,94; H 8,65; N 30,37; Si 20,40

Click-Polymer (217) Me₃SiTriazMeOx₂₇PipBoc



In einem 5 mL Schraubdeckelglas werden 154 mg des Polymers PgOC₁₂MeOx₂₇PipBoc (212) (56,9 μmol, 1 eq) in 1,5 mL einer Mischung aus Wasser und *tert.*Butanol (1 / 1 vol-%) gelöst. Es erfolgt Zugabe von 4 mg Kupfer(II)sulfat pentahydrat (16 μmol, 0,3 eq), 8 mg Mononatriumascorbat (40 μmol, 0,7 eq) sowie von 40 mg (Azidomethyl)trimethylsilan (204) (310 μmol, 5,4 eq). Die Reaktionsmischung wird über 72 h gerührt. Das Lösungsmittel wird im Hochvakuum abgezogen und der Rückstand in 2 mL Chloroform aufgenommen. Das gewünschte Produkt wird nach Fällung in 0 °C kaltem Diethylether und anschließender Gefriertrocknung (Wasser) erhalten. Ausbeute: 159 mg orangerotes Pulver (99% d. Th.).

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,12 ppm (s, 9H, H¹), 1,23 (br, 21H, H⁷), 1,54 (s, 13H, H¹³), 1,55 (m, 4H, H^{6,8}), 2,12 (m, br, 86H, H¹⁰), 3,43 (m, br, 121H, H^{5,9,11,12}), 3,89 (s, 2H, H²), 4,58 (br, 2H, H⁴), 7,38 (br, 1H, H³).

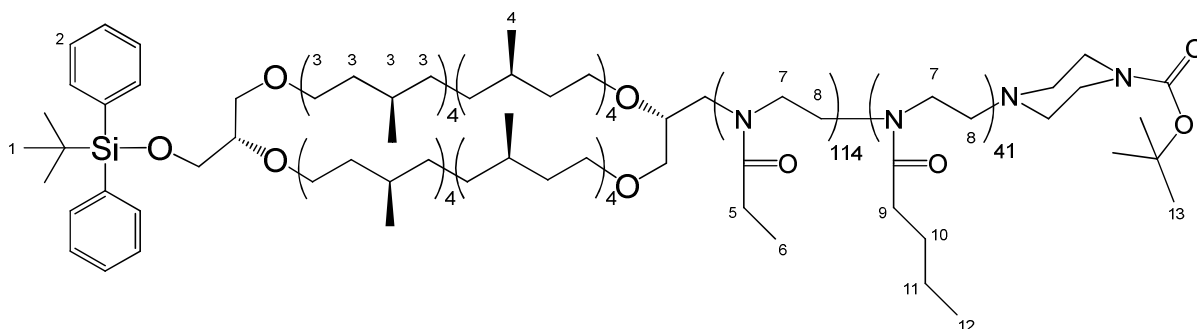
GPC (DMAc): M_n = 4339 g/mol, PDI = 1,24

MALDI-TOF: M_n = 2246 g/mol, PDI = 1,02

6.6 Lipopolymere basierend auf ω -TBDPS-funktionalisiertem Caldarchaeol

6.6.1 Darstellung

TBDPSO(CA)EtOx₁₁₉BuOx₄₅BocPip (494A / 511)



Das Polymer wurde gemäß *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt. Nach Darstellung wurde das Polymer zusätzlich präparativ über dessen LCST aufgearbeitet (vergleiche diC₁₈iPrOx₂₅PipBoc 281/293).

Summenformel	C ₄₃₁ H ₇₆₆ N ₈₂ O ₈₇
M _n (theoretisch)	18225 g/mol
ω -tert. Butyldiphenylsilyloxycaidarchaeyl- α -trifluormethansulfonat	30,2 mg (23,3 μ mol, 1 eq) ^{a)}
2-Ethyl-2-oxazolin	93,8 mg (0,946 mmol, 41 eq)
2-n-Butyl-2-oxazolin	31,5 mg (0,248 mmol, 11 eq)
1-Boc-piperazin	30 mg (0,16 mmol, 7 eq)
Solvens	0,75 mL Chloroform
Reaktionszeit	22 h (60°C)
Ausbeute	97 mg (23% d. Th.) ^{b)}

^{a)} Aufgrund seiner geringen chemischen Stabilität wurde der Initiator nicht in reiner Form isoliert, sondern stattdessen direkt aus der Stammlösung eingesetzt. Die angegebenen Werte sind Schätzwerte nach Erfahrungen aus entsprechenden vorhergehenden Experimenten. ^{b)} Bezüglich des über $[M]_0/[I]_0$ eingestelltes Polymerisationsgrades.

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,87 ppm (m, br, 187H, H^{4,12}), 1,06 (m, br, 407H, H^{1,3,6}), 1,14 – 1,41 (m, br, 156H, H^{3,11}), 1,42 – 1,44 (s, 9H, H¹³), 1,44 – 1,61 (m, br, 76H, H^{3,10}), 2,35 (m, br, 312H, H^{5,9}), 3,46 (m, br, 637H, H^{7,8}; 'Glycidyl').

GPC (DMAc): M_n = 14539 g/mol, PDI = 1,06 (Hauptpeak)

TBDPSO(CA)MeO_{x80}BocPip (500A) / TBDPSO(CA)MeO_{x80}Sil (500B)

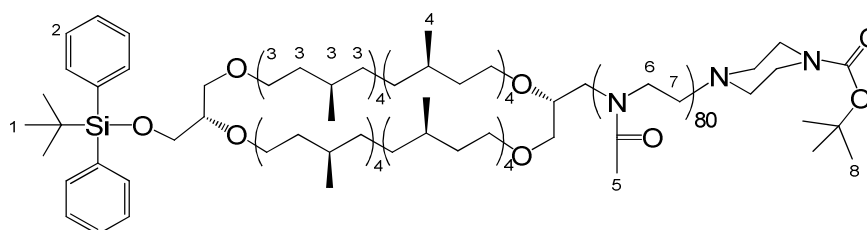
Die Polymere wurden nach *Polymerisationsvorschrift A* dargestellt. Die Polymerisation wurde zunächst in einem gemeinsamen Ansatz angesetzt, um dann mit dem jeweiligen Terminationsreagens abgebrochen zu werden:

ω - <i>tert</i> .Butyldiphenylsilyloxydarchaeyl- α -trifluormethansulfonat	46,5 mg (27,2 μ mol) ^{a)}
2-Methyl-2-oxazolin	116 mg (1,36 mmol, 50 eq)
Solvens	1 mL Chloroform
Reaktionszeit	72 h (61°C)

^{a)} Aufgrund seiner geringen chemischen Stabilität wurde der Initiator nicht in reiner Form isoliert, sondern stattdessen direkt aus der Stammlösung eingesetzt. Die angegebenen Werte sind Schätzwerte der Ausbeute nach Erfahrungen aus entsprechenden vorhergehenden Experimenten.

TBDPSO(CA)MeO_{x80}BocPip (500A):

Die Termination erfolgte mit 1-Boc-piperazin



Summenformel	C ₄₃₁ H ₇₆₆ N ₈₂ O ₈₇ Si
M _n (theoretisch)	8517 g/mol
1-Boc-piperazin	31 mg (0,17 mmol, 9 eq)
Ausbeute	78 mg (52% d. Th.) ^{a)}

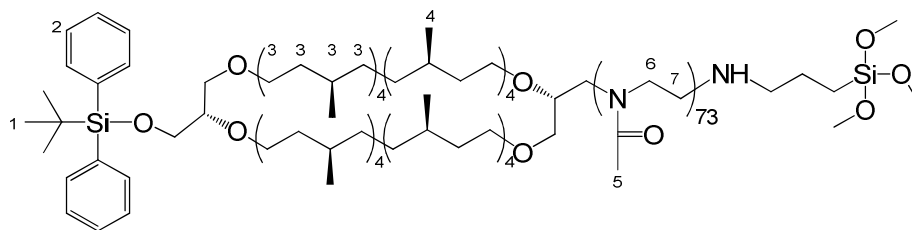
^{a)} Bezüglich des über $[M]_0/[I]_0$ eingestelltes Polymerisationsgrades.

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,84 ppm (m, 57H, H⁴), 0,97 – 1,02 (m, 10H, H^{1,3}), 1,02 – 1,41 (m, br, 99H, H³), 1,41 – 1,45 (m, 10H, H^{3,8}), 1,45 – 1,62 (m, br, 10H, H³), 2,06 (m, br, 234H, H⁶), 3,48 (m, br, 327H, H^{6,7}), 7,30 – 7,74 (m, br, 10H, H²).

GPC (DMAc): M_n = 8705 g/mol, PDI = 1,04 (Hauptpeak)

TBDPSO(CA)MeO_x80Sil (500B):

Die Termination erfolgte mit 3-Aminopropyltrimethoxysilan



Summenformel

C₄₀₀H₇₁₆N₇₄O₈₁Si₂

M_n (theoretisch)

7914 g/mol

3-Aminopropyltrimethoxysilan

28 mg (0,16 mmol, 16 eq)

Ausbeute

43 mg (57% d. Th.)

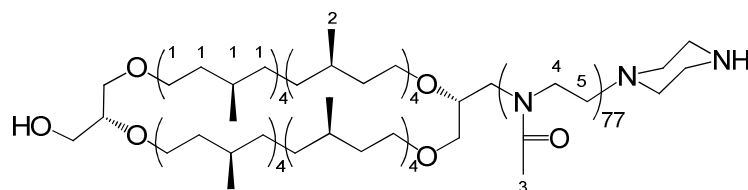
^{a)} Bezüglich des über [M]₀/[I]₀ eingestellten Polymerisationsgrades.

¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, 293K): δ = 0,84 ppm (m, 57H, H⁴), 0,90 – 1,65 (m, 111H, H^{1,3}), 2,14 (m, br, 218H, H⁵), 3,45 (m, br, 2190H, H^{6,7}), 7,36 (m, 6H, H²), 7,70 (m, 4H, H²).

GPC (DMAc): M_n = 8446 g/mol, PDI = 1,14

6.6.2 Entfernung der Schutzgruppen

HO(CA)MeOx₈₀Pip (510)



Das Polymer wurde gemäß *Entschützungsvorschrift A* dargestellt.

Summenformel	C ₂₉₃ H ₅₃₈ N ₅₂ O ₅₂
M _n (theoretisch)	8180 g/mol (DP=80)
TBDPSO(CA)MeOx ₅₀ BocPip (500A)	41 mg (4,81 μmol)
Solvens	1 mL TFA / TIBS / H ₂ O (95 / 2,5 / 2,5 vol-%)
Reaktionszeit	78 min
Ausbeute	37 mg (95% d. Th.)

¹H-NMR: (300 MHz, CD₃OD, 293K): δ = 0,84 ppm (m, 57H, H²), 0,89 – 1,64 (m, 112H, H¹), 2,05 (m, br, 224H, H³), 3,47 (m, br, 299H, H^{4,5}).

GPC (DMAc): M_n = 9107 g/mol, PDI = 1,10

7 LITERATUR

- [1] D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt, *Fundamentals of Biochemistry*, Wiley & Sons, Inc., New Jersey, **2002**.
- [2] A. Förtig, *Dissertation: Monomolekulare Lipopolymerschichten zum Aufbau von Biomimetischen Membranen*, TU München, **2004**.
- [3] H.-D. Dörfler, in *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **1994**, p. 316.
- [4] S. J. Singer, G. L. Nicolson, *Science* **1972**, 175, 720.
- [5] L. D. Frye, M. Edidin, *J. Cell Sci.* **1970**, 7, 319.
- [6] D. Axelrod, D. E. Koppel, J. Schlessinger, E. Elson, W. W. Webb, *Biophys. J.* **1976**, 16, 1055.
- [7] N. A. Thomas, S. L. Bardy, K. F. Jarrell, *Fems Microbiol. Rev.* **2001**, 25, 147.
- [8] C. R. Woese, *Microbiol. Rev.* **1994**, 58, 1.
- [9] C. R. Woese, O. Kandler, M. L. Wheelis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1990**, 87, 4576.
- [10] N. R. Pace, *Science* **1997**, 276, 734.
- [11] J. L. Garcia, B. K. C. Patel, B. Ollivier, *Anaerobe* **2000**, 6, 205.
- [12] D. Prangishvili, R. A. Garrett, Portland Press, **2004**, pp. 204.
- [13] E. V. Pikuta, R. B. Hoover, J. Tang, *Crit. Rev. Microbiol.* **2007**, 33, 183.
- [14] K. Takai, K. Nakamura, T. Toki, U. Tsunogai, M. Miyazaki, J. Miyazaki, H. Hirayama, S. Nakagawa, T. Nunoura, K. Horikoshi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, 105, 10949.
- [15] M. Ciaramella, A. Napoli, M. Rossi, *Trends Microbiol.* **2005**, 13, 49.
- [16] E. F. DeLong, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1998**, 8, 649.
- [17] E. E. DeLong, N. R. Pace, *Syst. Biol.* **2001**, 50, 470.
- [18] E. F. DeLong, D. M. Karl, *Nature* **2005**, 437, 336.
- [19] J. Theron, T. E. Cloete, *Crit. Rev. Microbiol.* **2000**, 26, 37.
- [20] T. M. Schmidt, *Int. Microbiol.* **2006**, 9, 217.
- [21] Y. Koga, M. Nishihara, H. Morii, M. Akagawamatsushita, *Microbiol. Rev.* **1993**, 57, 164.
- [22] M. Derosa, A. Gambacorta, A. Gliozzi, *Microbiol. Rev.* **1986**, 50, 70.
- [23] S. V. Albers, J. van de Vossenbergh, A. J. M. Driessen, W. N. Konings, *Front. Biosci.* **2000**, 5, D813.

- [24] M. Nishihara, H. Morii, Y. Koga, *J. Biochem.* **1987**, *101*, 1007.
- [25] J. S. S. Damste, S. Schouten, E. C. Hopmans, A. C. T. van Duin, J. A. J. Geenevasen, *J. Lipid Res.* **2002**, *43*, 1641.
- [26] Y. Koga, H. Morii, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 2019.
- [27] M. Montal, P. Mueller, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1972**, *69*, 3561.
- [28] P. Mueller, D. O. Rudin, H. T. Tien, W. C. Wescott, *Nature* **1962**, *194*, 979.
- [29] V. Vodyanoy, P. Halverson, R. B. Murphy, *J. Colloid Interface Sci.* **1982**, *88*, 247.
- [30] V. Vodyanoy, R. B. Murphy, *Biochim. Biophys. Acta* **1982**, *687*, 189.
- [31] P. Lauger, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **1985**, *24*, 905.
- [32] R. Benz, O. Frohlich, P. Lauger, M. Montal, *Biochim. Biophys. Acta* **1975**, *394*, 323.
- [33] K. B. Blodgett, *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 1007.
- [34] I. Langmuir, V. J. Schaefer, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 1351.
- [35] E. Kalb, S. Frey, L. K. Tamm, *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1103*, 307.
- [36] A. L. Plant, *Langmuir* **1993**, *9*, 2764.
- [37] J. T. Groves, S. G. Boxer, *Accounts Chem. Res.* **2002**, *35*, 149.
- [38] J. T. Groves, M. L. Dustin, *J. Immunol. Methods* **2003**, *278*, 19.
- [39] E. Sackmann, *Science* **1996**, *271*, 43.
- [40] T. M. Bayerl, M. Bloom, *Biophys. J.* **1990**, *58*, 357.
- [41] S. J. Johnson, T. M. Bayerl, D. C. McDermott, G. W. Adam, A. R. Rennie, R. K. Thomas, E. Sackmann, *Biophys. J.* **1991**, *59*, 289.
- [42] B. W. Koenig, S. Kruger, W. J. Orts, C. F. Majkrzak, N. F. Berk, J. V. Silverton, K. Gawrisch, *Langmuir* **1996**, *12*, 1343.
- [43] A. Lambacher, P. Fromherz, *Appl. Phys. A-Mater. Sci. Process.* **1996**, *63*, 207.
- [44] P. Fromherz, V. Kiessling, K. Kottig, G. Zeck, *Appl. Phys. A-Mater. Sci. Process.* **1999**, *69*, 571.
- [45] V. Kiessling, L. K. Tamm, *Biophys. J.* **2003**, *84*, 408.
- [46] S. A. Tatulian, P. Hinterdorfer, G. Baber, L. K. Tamm, *Embo J.* **1995**, *14*, 5514.
- [47] E. Kalb, J. Engel, L. K. Tamm, *Biochemistry* **1990**, *29*, 1607.
- [48] K. Kjaer, J. Alsnielsen, C. A. Helm, L. A. Laxhuber, H. Mohwald, *Phys. Rev. Lett.* **1987**, *58*, 2224.
- [49] T. H. Watts, H. E. Gaub, H. M. McConnell, *Nature* **1986**, *320*, 179.
- [50] A. A. Brian, H. M. McConnell, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1984**, *81*, 6159.
- [51] R. Bruinsma, A. Behrisch, E. Sackmann, *Phys. Rev. E* **2000**, *61*, 4253.

- [52] P. Y. Chan, M. B. Lawrence, M. L. Dustin, L. M. Ferguson, D. E. Golan, T. A. Springer, *J. Cell Biol.* **1991**, *115*, 245.
- [53] E. M. Erb, K. Tangemann, B. Bohrmann, B. Muller, J. Engel, *Biochemistry* **1997**, *36*, 7395.
- [54] A. Grakoui, S. K. Bromley, C. Sumen, M. M. Davis, A. S. Shaw, P. M. Allen, M. L. Dustin, *Science* **1999**, *285*, 221.
- [55] A. Kloboucek, A. Behrisch, J. Faix, E. Sackmann, *Biophys. J.* **1999**, *77*, 2311.
- [56] S. Y. Qi, J. T. Groves, A. K. Chakraborty, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98*, 6548.
- [57] E. Sackmann, R. F. Bruinsma, *ChemPhysChem* **2002**, *3*, 262.
- [58] L. K. Tamm, H. M. McConnell, *Biophys. J.* **1985**, *47*, 105.
- [59] O. Purrucker, H. Hillebrandt, K. Adlkofer, M. Tanaka, Pergamon-Elsevier Science Ltd, **2001**, pp. 791.
- [60] C. Duschl, W. Knoll, *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 4062.
- [61] C. Naumann, T. Brumm, T. M. Bayerl, *Biophys. J.* **1992**, *63*, 1314.
- [62] J. O. Rädler, T. J. Feder, H. H. Strey, E. Sackmann, *Phys. Rev. E* **1995**, *51*, 4526.
- [63] H. M. McConnell, T. H. Watts, R. M. Weis, A. A. Brian, *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, *864*, 95.
- [64] R. Merkel, E. Sackmann, E. Evans, *Journal De Physique* **1989**, *50*, 1535.
- [65] E. Sackmann, M. Tanaka, *Trends Biotechnol.* **2000**, *18*, 58.
- [66] M. L. Wagner, L. K. Tamm, *Biophys. J.* **2001**, *81*, 266.
- [67] L. Haussling, W. Knoll, H. Ringsdorf, F. J. Schmitt, J. L. Yang, Huthig & Wepf Verlag, **1991**, pp. 145.
- [68] M. Tanaka, E. Sackmann, *Nature* **2005**, *437*, 656.
- [69] G. Elender, E. Sackmann, *J. Phys. II* **1994**, *4*, 455.
- [70] J. Nissen, S. Gritsch, G. Wiegand, J. O. Radler, *Eur. Phys. J. B* **1999**, *10*, 335.
- [71] M. Tanaka, F. Rehfeldt, M. F. Schneider, G. Mathe, A. Albersdorfer, K. R. Neumaier, O. Purrucker, E. Sackmann, *J. Phys.-Condes. Matter* **2005**, *17*, S649.
- [72] G. Elender, M. Kuhner, E. Sackmann, Elsevier Advanced Technology, **1996**, pp. 565.
- [73] J. Rädler, E. Sackmann, *Curr. Opin. Solid State Mat. Sci.* **1997**, *2*, 330.
- [74] M. Schaub, G. Wenz, G. Wegner, A. Stein, D. Klemm, *Adv. Mater.* **1993**, *5*, 919.
- [75] S. Goennenwein, M. Tanaka, B. Hu, L. Moroder, E. Sackmann, *Biophys. J.* **2003**, *85*, 646.
- [76] H. Lang, C. Duschl, H. Vogel, *Langmuir* **1994**, *10*, 197.

- [77] S. M. Schiller, R. Naumann, K. Lovejoy, H. Kunz, W. Knoll, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 208.
- [78] B. A. Cornell, V. L. B. BraachMaksvytis, L. G. King, P. D. J. Osman, B. Raguse, L. Wieczorek, R. J. Pace, *Nature* **1997**, *387*, 580.
- [79] N. Bunjes, E. K. Schmidt, A. Jonczyk, F. Rippmann, D. Beyer, H. Ringsdorf, P. Graber, W. Knoll, R. Naumann, *Langmuir* **1997**, *13*, 6188.
- [80] M. Seitz, T. Plesnivý, K. Schimossek, M. Edelmann, H. Ringsdorf, H. Fischer, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6560.
- [81] P. Theato, R. Zentel, *Langmuir* **2000**, *16*, 1801.
- [82] P. Theato, R. Zentel, *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *268*, 258.
- [83] P. Theato, R. Zentel, S. Schwarz, *Macromol. Biosci.* **2002**, *2*, 387.
- [84] P. Theato, R. Zentel, Marcel Dekker Inc, **1999**, pp. 1001.
- [85] A. Förtig, R. Jordan, O. Purruicker, M. Tanaka, *Polymer Preprints* **2003**, *44*, 850.
- [86] T. Lehmann, J. Ruhe, *Macromol Symp.* **1999**, *142*, 1.
- [87] K. Ludtke, R. Jordan, P. Hommes, O. Nuyken, C. A. Naumann, *Macromol. Biosci.* **2005**, *5*, 384.
- [88] O. Purruicker, S. Gonnenwein, A. Förtig, R. Jordan, M. Rusp, M. Barmann, L. Moroder, E. Sackmann, M. Tanaka, *Soft Matter* **2007**, *3*, 333.
- [89] O. Purruicker, A. Förtig, R. Jordan, E. Sackmann, M. Tanaka, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*.
- [90] O. Purruicker, A. Förtig, K. Lüdtke, R. Jordan, M. Tanaka, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1258.
- [91] O. Purruicker, A. Förtig, R. Jordan, M. Tanaka, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 327.
- [92] A. Förtig, R. Jordan, K. Graf, G. Schiavon, O. Purruicker, M. Tanaka, *Macromol Symp.* **2004**, *210*, 329.
- [93] R. Jordan, K. Martin, H. J. Räder, K. K. Unger, *Macromolecules* **2001**, *34*, 8858.
- [94] R. Jordan, K. Graf, H. Riegler, K. K. Unger, *Chem. Commun.* **1996**, 1025.
- [95] C. A. Naumann, O. Prucker, T. Lehmann, J. Ruhe, W. Knoll, C. W. Frank, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 27.
- [96] M. Pomerantz, A. Segmüller, L. Netzer, J. Sagiv, *Thin Solid Films* **1985**, *132*, 153.
- [97] W. Seeliger, Aufderha.E, W. Diepers, R. Feinauer, R. Nehring, W. Thier, H. Hellmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *5*, 875.
- [98] W. Seeliger, Chemische Werke Hüls AG, D. P. 1206585, **1965**.

- [99] T. G. Bassiri, A. Levy, M. Litt, *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Letters* **1967**, *5*, 871.
- [100] M. Litt, A. Levy, **1965**, *BE Patent* 666829.
- [101] T. Kagiya, S. Narisawa, T. Maeda, K. Fukui, *J. Polym. Sci. Part B. Polym. Lett.* **1966**, *4*, 441.
- [102] D. A. Tomalia, D. P. Sheetz, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1966**, *4*, 2253.
- [103] J. A. Frump, *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 483.
- [104] A. Levy, M. Litt, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1968**, *6*, 1883.
- [105] S. Penczek, P. Kubisa, K. Matyjaszewski, *Adv. Polym. Sci.* **1985**, *68-9*, 1.
- [106] S. Kobayashi, *Prog. Polym. Sci.* **1990**, *15*, 751.
- [107] K. Aoi, M. Okada, *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 151.
- [108] R. Hoogenboom, M. W. M. Fijten, U. S. Schubert, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2004**, *42*, 1830.
- [109] G. F. Cai, M. H. Litt, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **1989**, *27*, 3603.
- [110] S. Kobayashi, T. Igarashi, Y. Moriuchi, T. Saegusa, *Macromolecules* **1986**, *19*, 535.
- [111] S. Huber, N. Hutter, R. Jordan, *Colloid Polym. Sci.* **2008**, *286*, 1653.
- [112] S. Kobayashi, H. Uyama, N. Higuchi, T. Saegusa, *Macromolecules* **1990**, *23*, 54.
- [113] A. Gross, G. Maier, O. Nuyken, *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 2811.
- [114] O. Nuyken, G. Maier, A. Gross, H. Fischer, *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 83.
- [115] M. Litt, A. Levy, J. Herz, *J. of Macromol. Sci. Part A.* **1975**, *A 9*, 703.
- [116] R. Luxenhofer, *Dissertation: Novel Functional Poly(2-oxazoline)s as Potential Carriers for Biomedical Applications*, TU München, München, **2007**.
- [117] R. Hoogenboom, R. M. Paulus, M. W. M. Fijten, U. S. Schubert, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2005**, *43*, 1487.
- [118] J. M. Warakomski, B. P. Thill, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **1990**, *28*, 3551.
- [119] R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 368.
- [120] R. Hoogenboom, F. Wiesbrock, H. Y. Huang, M. A. M. Leenen, H. M. L. Thijs, S. van Nispen, M. Van der Loop, C. A. Fustin, A. M. Jonas, J. F. Gohy, U. S. Schubert, *Macromolecules* **2006**, *39*, 4719.
- [121] E. S. Gil, S. A. Hudson, *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29*, 1173.
- [122] J. Akimoto, M. Nakayama, K. Sakai, T. Okano, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2008**, *46*, 7127.
- [123] Z. Y. Cheng, S. H. Liu, H. T. Gao, W. G. Tremel, N. Ding, R. L. Liu, P. W. Beines, W. G. Knoll, *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 1145.

- [124] C. Y. Hong, C. Y. Pan, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1831.
- [125] P. Markland, Y. H. Zhang, G. L. Amidon, V. C. Yang, *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *47*, 595.
- [126] K. Mondon, R. Gurny, M. Moller, *Chimia* **2008**, *62*, 832.
- [127] A. Nelson, *Nat. Mater.* **2008**, *7*, 523.
- [128] Y. Qiu, K. Park, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *53*, 321.
- [129] S. Huber, Dissertation, TU München, München **2009**.
- [130] J. F. Gohy, B. G. G. Lohmeijer, S. K. Varshney, B. Decamps, E. Leroy, S. Boileau, U. S. Schubert, *Macromolecules* **2002**, *35*, 9748.
- [131] R. C. Sutton, L. Thai, J. M. Hewitt, C. L. Voycheck, J. S. Tan, *Macromolecules* **1988**, *21*, 2432.
- [132] M. Torres-Lugo, N. A. Peppas, *Macromolecules* **1999**, *32*, 6646.
- [133] O. E. Philippova, D. Hourdet, R. Audebert, A. R. Khokhlov, *Macromolecules* **1997**, *30*, 8278.
- [134] M. Reif, Master's Thesis, KTH Stockholm, Stockholm **2006**.
- [135] J. Voepel, J. Sjoberg, M. Reif, A. C. Albertsson, U. K. Hultin, U. Gasslander, *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, *112*, 2401.
- [136] J. Cappello, J. W. Crissman, M. Crissman, F. A. Ferrari, G. Textor, O. Wallis, J. R. Whitledge, X. Zhou, D. Burman, L. Aukerman, E. R. Stedronsky, in *8th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems*, Elsevier Science Bv, Salt Lake City, Utah, **1997**, pp. 105.
- [137] Y. Chujo, K. Sada, T. Saegusa, *Macromolecules* **1990**, *23*, 2636.
- [138] Y. Chujo, K. Sada, T. Saegusa, *Macromolecules* **1993**, *26*, 6320.
- [139] Y. Chujo, K. Sada, T. Saegusa, *Macromolecules* **1993**, *26*, 6315.
- [140] S. Cesana, J. Auernheimer, R. Jordan, H. Kessler, O. Nuyken, *Macromol. Chem. Phys.* **2006**, *207*, 183.
- [141] Y. Chujo, K. Sada, A. Naka, R. Nomura, T. Saegusa, *Macromolecules* **1993**, *26*, 883.
- [142] D. G. Lessard, M. Ousalem, X. X. Zhu, *Can. J. Chem.-Rev. Can. Chim.* **2001**, *79*, 1870.
- [143] Y. H. Bae, T. Okano, S. W. Kim, *J. Polym. Sci. Part B. Polym. Phys.* **1990**, *28*, 923.
- [144] R. A. Horne, J. P. Almeida, A. F. Day, N. T. Yu, *J. Colloid Interface Sci.* **1971**, *35*, 77.
- [145] D. N. Rockwood, D. B. Chase, R. E. Akins, J. F. Rabolt, *Polymer* **2008**, *49*, 4025.
- [146] H. G. Schild, D. A. Tirrell, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4352.

- [147] Y. Okada, F. Tanaka, P. Kujawa, F. M. Winnik, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 11.
- [148] J. E. Chung, M. Yokoyama, T. Aoyagi, Y. Sakurai, T. Okano, in *8th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems*, Elsevier Science Bv, Salt Lake City, Utah, **1997**, pp. 119.
- [149] S. Furyk, Y. J. Zhang, D. Ortiz-Acosta, P. S. Cremer, D. E. Bergbreiter, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2006**, *44*, 1492.
- [150] R. Hoogenboom, H. M. L. Thijs, M. Jochems, B. M. van Lankvelt, M. W. M. Fijten, U. S. Schubert, *Chem. Commun.* **2008**, 5758.
- [151] S. Huber, R. Jordan, *Colloid Polym. Sci.* **2008**, *286*, 395.
- [152] P. Kujawa, F. Segui, S. Shaban, C. Diab, Y. Okada, F. Tanaka, F. M. Winnik, *Macromolecules* **2006**, *39*, 341.
- [153] R. C. W. Liu, S. Cantin, F. Perrot, F. M. Winnik, in *8th International Symposium on Polymers for Advanced Technologies*, John Wiley & Sons Ltd, Budapest, HUNGARY, **2005**, pp. 798.
- [154] J. S. Park, K. Kataoka, *Macromolecules* **2006**, *39*, 6622.
- [155] J. S. Park, K. Kataoka, *Macromolecules* **2007**, *40*, 3599.
- [156] H. Ringsdorf, J. Simon, F. M. Winnik, *Macromolecules* **1992**, *25*, 5353.
- [157] J. Rueda, S. Zschoche, H. Komber, D. Schmaljohann, B. Voit, *Macromolecules* **2005**, *38*, 7330.
- [158] Y. Xia, N. A. D. Burke, H. D. H. Stover, *Macromolecules* **2006**, *39*, 2275.
- [159] X. Yin, A. S. Hoffman, P. S. Stayton, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1381.
- [160] H. M. L. Lambermont-Thijs, R. Hoogenboom, C. A. Fustin, C. Bomal-D'Haese, J. F. Gohy, U. S. Schubert, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2009**, *47*, 515.
- [161] P. Y. Lin, C. Clash, E. M. Pearce, T. K. Kwei, M. A. Aponte, *J. Polym. Sci. Pt. B-Polym. Phys.* **1988**, *26*, 603.
- [162] E. D. Goddard, *Colloids and Surfaces* **1986**, *19*, 255.
- [163] E. D. Goddard, *Colloids and Surfaces* **1986**, *19*, 301.
- [164] H. Uyama, S. Kobayashi, *Chem. Lett.* **1992**, 1643.
- [165] D. Christova, R. Velichkova, W. Loos, E. J. Goethals, F. Du Prez, *Polymer* **2003**, *44*, 2255.
- [166] S. Aoshima, S. Kanaoka, in *Wax Crystal Control: Nanocomposites, Stimuli-Responsive Polymers, Vol. 210*, Springer-Verlag Berlin, Berlin, **2008**, pp. 169.
- [167] Y. H. Bae, T. Okano, R. Hsu, S. W. Kim, *Makromolekulare Chemie-Rapid Communications* **1987**, *8*, 481.

- [168] J. E. Chung, M. Yokoyama, K. Suzuki, T. Aoyagi, Y. Sakurai, T. Okano, *Colloid Surf. B-Biointerfaces* **1997**, *9*, 37.
- [169] I. Dimitrov, B. Trzebicka, A. H. E. Muller, A. Dworak, C. B. Tsvetanov, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 1275.
- [170] J. F. Lutz, O. Akdemir, A. Hoth, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13046.
- [171] K. Skrabania, J. Kristen, A. Laschewsky, O. Akdemir, A. Hoth, J. F. Lutz, *Langmuir* **2007**, *23*, 84.
- [172] Y. Xia, X. C. Yin, N. A. D. Burke, H. D. H. Stover, *Macromolecules* **2005**, *38*, 5937.
- [173] D. Crespy, R. N. Rossi, *Polym. Int.* **2007**, *56*, 1461.
- [174] M. Dentini, P. Desideri, V. Crescenzi, Y. Yuguchi, H. Urakawa, K. Kajiwara, *Macromolecules* **1999**, *32*, 7109.
- [175] M. Rinaudo, *Polym. Int.* **2008**, *57*, 397.
- [176] D. E. Meyer, A. Chilkoti, *Nat. Biotechnol.* **1999**, *17*, 1112.
- [177] H. Ringsdorf, B. Schlarb, J. Venzmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 113.
- [178] T. Ruyschaert, M. Germain, J. Gomes, D. Fournier, G. B. Sukhorukov, W. Meier, M. Winterhalter, *IEEE Trans. Nanobiosci.* **2004**, *3*, 49.
- [179] T. Ruyschaert, A. F. P. Sonnen, T. Haefele, W. Meier, M. Winterhalter, D. Fournier, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6242.
- [180] R. Stoenescu, A. Graff, W. Meier, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 930.
- [181] R. Stoenescu, W. Meier, *Chem. Comm.* **2002**, 3016.
- [182] A. Taubert, A. Napoli, W. Meier, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 598.
- [183] H. Bader, H. Ringsdorf, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **1982**, *20*, 1623.
- [184] O. Grather, D. Arigoni, *J. Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1995**, 405.
- [185] T. Eguchi, K. Ibaragi, K. Kakinuma, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2689.
- [186] http://www.science.psu.edu/alert/photos/miscphotos/Bryant_Octopus.jpg
entnommen am 21.6.2009.
- [187] http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Methanothermobacter/Methanothermobacter_1.gif,
entnommen am 21.6.2009.
- [188] E. G. Bligh, W. J. Dyer, *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, *37*, 911.
- [189] T. G. Tornabene, R. S. Wolfe, W. E. Balch, G. Holzer, G. E. Fox, J. Oro, *J. Mol. Evol.* **1978**, *11*, 259.
- [190] J. K. G. Kramer, F. D. Sauer, *FEMS Microbiol. Lett.* **1991**, *83*, 45.
- [191] C. D. Poulter, T. Aoki, L. Daniels, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2620.
- [192] R. A. Makula, M. E. Singer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, *82*, 716.

- [193] M. Nishihara, Y. Koga, *J. Biochem.* **1987**, *101*, 997.
- [194] H. Morii, M. Nishihara, Y. Koga, *Agric. Biol. Chem.* **1988**, *52*, 3149.
- [195] P. Galliker, O. Gräther, M. Rümmler, W. Fitz, D. Arigoni, in *Vitamin B12 and B12 Proteins*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, pp. 447.
- [196] M. Glasenapp-Breiling, F. P. Montforts, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 721.
- [197] S. Sinnwell, H. Ritter, *Macromol. Rapid Commun.* **2006**, *27*, 1335.
- [198] P. Persigehl, R. Jordan, O. Nuyken, *Macromolecules* **2000**, *33*, 6977.
- [199] S. Huber, *Persönliche Mitteilung*, **2008**.
- [200] R. Luxenhofer, R. Jordan, *Macromolecules* **2006**, *39*, 3509.
- [201] K. Lüdtke, *Dissertation: Fluoreszenzmarkierte Poly(2-oxazolin)e*, TU München, **2005**.
- [202] C. Nardin, T. Hirt, J. Leukel, W. Meier, *Langmuir* **2000**, *16*, 1035.
- [203] M. T. Zarka, O. Nuyken, R. Weberskirch, *Chem.-Eur. J.* **2003**, *9*, 3228.
- [204] L. A. Dakin, N. F. Langille, J. S. Panek, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6812.
- [205] T. W. Greene, P. G. M. Wutts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons, Inc., New York, **1999**.
- [206] S. Kobayashi, E. Masuda, S. Shoda, Y. Shimano, *Macromolecules* **1989**, *22*, 2878.
- [207] C. L. Liotta, H. P. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 2250.
- [208] A. T. Khan, E. Mondal, *Synlett* **2003**, 694.
- [209] H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1128.
- [210] M. B. Foreman, J. P. Coffman, M. J. Murcia, S. Cesana, R. Jordan, G. S. Smith, C. A. Naumann, *Langmuir* **2003**, *19*, 326.
- [211] W. K. Anderson, A. S. Milowsky, *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2241.