

Synthese und Charakterisierung von Nanopartikeln auf Basis von photoaktiven Dextranestern



seit 1558

Diplomarbeit

im Studiengang Materialwissenschaften

an der

Physikalisch - Astronomischen -Fakultät

und

Chemisch - Geowissenschaftlichen - Fakultät

Friedrich - Schiller - Universität

Jena

eingereicht von

Uwe Schneider

09.08.2010

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Einleitung | 11 |
| 2 | Allgemeiner Teil | 13 |
| 2.1 | Dextran | 13 |
| 2.1.1 | Struktur und Herstellung | 13 |
| 2.1.2 | Eigenschaften und Anwendung | 14 |
| 2.2 | Dextranderivate | 15 |
| 2.3 | Photochemie - Photochromie | 17 |
| 2.3.1 | Trans/Cis - Isomerisierung | 19 |
| 2.3.2 | Azobenzen und Azobenzenderivate | 20 |
| 2.3.3 | Photomechanische Eigenschaften | 21 |
| 2.4 | Nanopartikel | 22 |
| 2.4.1 | Selbstanordnende Strukturen | 23 |
| 2.4.2 | Amphiphile Selbstanordnung | 23 |
| 2.4.3 | Ouzo - Region ⁴³ | 25 |
| 3 | Spezieller Teil | 29 |
| 3.1 | AZO-Dextran | 29 |
| 3.1.1 | Synthese von AZO-Dextran | 29 |
| 3.1.2 | Strukturaufklärung von AZO - Dextran | 31 |
| 3.1.3 | Weitere Charakterisierung von AZO-Dextran | 32 |
| 3.2 | Methyl-4-phenylazobenzoat | 39 |
| 3.2.1 | Synthese von AZO-Methyl | 39 |
| 3.2.2 | Strukturaufklärung von AZO-Methyl | 39 |
| 3.2.3 | Vergleich von AZO-Methyl und AZO-Dextran | 41 |
| 3.3 | Nanopartikel aus AZO-Dextran | 43 |
| 3.3.1 | Nanopartikel durch Dialyse | 43 |
| 3.3.2 | Charakterisierung der Nanopartikel | 43 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.4 | Präparative Methoden zur Herstellung von Nanopartikeln | 50 |
| 3.4.1 | Pipettierroboter | 50 |
| 3.4.2 | Inkjet-Printer | 56 |
| 3.5 | Dünne Schichten aus AZO-Dextran | 57 |
| 3.5.1 | Herstellung dünner Schichten | 57 |
| 3.5.2 | Charakterisierung von dünnen Schichten | 58 |
| 4 | Experimenteller Teil | 61 |
| 4.1 | Chemikalien und Hilfsstoffe | 61 |
| 4.2 | Messmethoden | 62 |
| 4.2.1 | Kernspinresonanzspektroskopie | 62 |
| 4.2.2 | Elementaranalyse | 62 |
| 4.2.3 | GPC–Gelpermeationschromatographie | 62 |
| 4.2.4 | FTIR–Spektroskopie | 63 |
| 4.2.5 | UV–Belichtung | 63 |
| 4.2.6 | UV/VIS–Spektroskopie | 63 |
| 4.2.7 | Streulichtkorrigiertes Spektrum | 63 |
| 4.2.8 | DLS–Dynamische Lichtstreuung | 64 |
| 4.2.9 | Elektrische Dipolmomentbestimmung | 64 |
| 4.2.10 | Refraktometrie | 64 |
| 4.2.11 | Ultraschall | 65 |
| 4.2.12 | REM–Aufnahmen | 65 |
| 4.2.13 | Kontaktwinkelmessung | 66 |
| 4.3 | Synthesen | 66 |
| 4.3.1 | Vorschrift zur Synthese von AZO-Dextran | 66 |
| 4.3.2 | Vorschrift zur Perpropionylierung von Polysacchariden | 66 |
| 4.3.3 | Vorschrift zur Synthese von Methyl-4-phenylazobenzoat | 66 |
| 4.3.4 | Hergestellte Derivate | 67 |
| 4.4 | Partikelpräparation | 68 |
| 4.4.1 | Dialyse | 68 |
| 4.4.2 | Eintropfmethode | 68 |
| 4.4.3 | Pipettierroboter | 68 |
| 4.4.4 | Inkjet-Printer | 69 |
| 4.5 | Dünne Schichten | 69 |
| 4.5.1 | Spin–Coating | 69 |

| | |
|----------------------------------|-----------|
| 5 Zusammenfassung | 71 |
| 6 Danksagung | 73 |
| Literaturverzeichnis | 79 |
| Eidesstattliche Erklärung | 80 |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|----|---|----|
| 1 | Schematische Darstellung der Struktur von Dextran a) $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -verknüpften Hauptkette mit Verzweigungen in Position 2, 3, 4 b) Vereinfachte Darstellung der Hauptkette | 14 |
| 2 | Syntheseweg zur a) Veresterung von Dextran und b) Vernetzung von Dextranen durch Aktivierung mit CDI ¹⁸ | 18 |
| 3 | Schematische Darstellung aller möglichen photochemischen Übergänge zwischen dem Grundzustand S_0 und den angeregten Zuständen S_1 bzw. T_1 | 19 |
| 4 | Geometrische Anordnung von Azobenzolen im a) trans- und b) cis-Zustand | 20 |
| 5 | Typische Vertreter von Azobenzolchromophoren: Typ i) Azobenzene, Typ ii) Aminoazobenzene und Typ iii) Pseudo-Stilbene . . . | 21 |
| 6 | Selbstanordnung von niedermolekularen Molekülen mit hydrophoben und hydrophilen Enden im wässrigen Milieu zu a) polymeren Mizellen oder b) Vesikeln | 24 |
| 7 | Schematische Darstellung von a) intramolekularen und b) intermolekularen Wechselwirkungen von Dextranstrukturen | 26 |
| 8 | Rechtwinkliges Dreiphasensystem (Polymer/Lösungsmittel/Nicht-Lösungsmittel) für konstante Temperatur und konstanten Druck mit Ouzo-Region zwischen Spinodale und Binodale ⁵¹ | 28 |
| 9 | Homogene Veresterung von Dextran mit Azobenzol-4-carbonsäure in Dimethylsulfoxid (DMSO) | 30 |
| 10 | ¹ H-NMR-Spektrum von Dextran-4-phenylazobenzoat (3a, DS = 0,73) gemessen in Chloroform | 31 |
| 11 | Gemessene UV/VIS-Spektren von AZO-Dextran (3b, DS = 1,29) gelöst in Dichlormethan | 36 |

| | | |
|----|---|----|
| 12 | Absorptionsmaxima von AZO-Dextran (3b, DS = 1,29) gelöst in Dichlormethan in Abhängigkeit von der Belichtungszeit bei einer Wellenlänge von 333 nm | 37 |
| 13 | Veresterung von Methanol mit Azobenzon-4-carbonsäure (2) unter Verwendung von Carbonyldiimidazol (CDI) in Dimethylsulfoxid (DMSO) | 39 |
| 14 | ¹ H-NMR (oben) und ¹³ C-NMR (unten) Spektrum von Methyl-4-phenylazobenzoat (5) in Chloroform- <i>d</i> ₁ | 40 |
| 15 | Gemessenes UV/VIS Spektrum von Methyl-4-phenylazobenzoat (5), gelöst in Dichlormethan | 41 |
| 16 | Darstellung der zeitabhängigen Absorptionsmaxima von Methyl-4-phenylazobenzoat (5) und Dextran-4-phenylazobenzoat (3b), gelöst in Dichlormethan | 42 |
| 17 | REM - Aufnahme von Nanopartikeln, hergestellt aus Dextran-4-phenylazobenzoat (3a, DS = 0,75) | 45 |
| 18 | Streulichtkorrigiertes UV/VIS-Spektrum für photoaktive Nanopartikel, hergestellt aus Dextran-4-phenylazobenzoat mit verschiedenen DS-Werten | 46 |
| 19 | Hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3b, DS = 1,29) in einer 96 Wellplate | 51 |
| 20 | Gemessene UV/VIS-Spektren für eine dünne Schicht (DS1) aus AZO-Dextran (3c, DS = 1,72) | 58 |
| 21 | Gemessene Absorptionsintensität für Schicht DS1 während alternierender Belichtung mit UV- und VIS-Licht in Belichtungszyklen a fünf Minuten | 59 |
| 22 | Abbildung von Wassertropfen mit angelegten Tangenten für die Bestimmung der Kontaktwinkel auf Probe a) QS, b) DS2 und c) DS2 nach 15 min UV-Belichtung mit $\lambda = 365$ nm | 60 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|----|---|----|
| 1 | Ergebnisse der Synthesen von Dextran-4-phenylazobenzoat | 30 |
| 2 | Messwerte aus den GPC Messungen von Dextran und Dextran-4-phenylazobenzoat mit verschiedenen DS-Werten und den daraus berechneten DP-Werten | 33 |
| 3 | Ergebnisse für die Bestimmung der Viskosität von Dextran-4-phenylazobenzoat für verschiedene DS-Werte mit einer Konzentration von 2 mg/ml (in DMAc) bei 25 °C | 34 |
| 4 | Staudinger Indizes und Ergebnisse aus den Berechnungen mittels Viskositätswerten der AZO-Dextranderivate | 35 |
| 5 | Relative DK-Werte für die hergestellten AZO-Dextranderivate, gelöst in DMAc | 35 |
| 6 | Mittels UV/VIS Spektroskopie ermittelte Reaktionskonstanten von in Dichlormethan gelösten Dextran-4-phenylazobenzoat | 38 |
| 7 | Ergebnisse für die Bestimmung der Extinktionskoeffizienten für Dextran-4-phenylazobenzoat mittels UV/VIS-Spektroskopie | 38 |
| 8 | Ergebnisse der Größenbestimmung durch REM-Aufnahmen und DLS-Messung für Nanopartikel aus Dextran-4-phenylazobenzoat mit einer Polymerkonzentration von 4 mg/ml und DMAc als Lösungsmittel | 44 |
| 9 | Ergebnisse der Größenbestimmung durch DLS-Messung für Nanopartikel aus Dextran-4-phenylazobenzoat mit THF als Lösungsmittel und einer Polymerkonzentration von 4 mg/ml | 44 |
| 10 | Ergebnisse der pH-Stabilitätsuntersuchung von Nanopartikeln, hergestellt aus AZO-Dextran und den entsprechenden Versuchslösungen (3a, DS = 0,73) | 49 |
| 11 | Relative DK-Werte von Nanopartikeln aus AZO-Dextranen in wässriger Suspension, gemessen im Kalibrationsbereich 3 | 49 |

| | | |
|----|--|----|
| 12 | DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54) | 52 |
| 12 | DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54) | 53 |
| 12 | DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54) | 54 |
| 12 | DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54) | 55 |
| 13 | Ergebnisse der Schichtdicken durch das Vermessen des Schichtsystems DS1 mittels UV/VIS Spektroskopie (3c, DS = 1,72) | 59 |
| 14 | Gemessene Kontaktwinkel für dest. Wasser auf dünnen Schichten (DS2, DS3) und Quarzglassubstrat (QS) | 60 |
| 15 | Kalibrationswerte für die Bestimmung der relativen Dielektrizitätskonstanten | 65 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------------------------|------------------------------------|
| ϵ_r | relative Dielektrizitätskonstante |
| λ | Wellenlänge |
| \overline{M}_n | Zahlenmittleres Molekulargewicht |
| \overline{M}_w | Gewichtsmittleres Molekulargewicht |
| $\overline{M}_w/\overline{M}_n$ | Molekulargewichtsverteilung |
| ρ_{aqu} | Knäuldichte des Polymers |
| $[\eta]$ | Staudinger Index |
| ABC | Azobenzenchromophor |
| AGU | anhydro glucose unit |
| AZO-Dextran | Dextran-4-Phenylazobenzoat |
| AZO-Methyl | Methyl-4-Phenylazobenzoat |
| CDI | N,N'-Carbonyldiimidazol |
| CS | Carbonsäure |
| d_{aqu} | Knäuldurchmesser des Polymers |
| DK | Dielektrizitätskonstante |
| DMAc | Dimethylacetamid |
| DMAP | Dimethylaminopyridin |
| DMF | Dimethylformamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |

| | |
|-----------------|---------------------------------|
| DP | Polymerisationsgrad |
| DS | Substitutionsgrad |
| GPC | Größenausschlusschromatographie |
| Kat | Katalysator |
| KB | Kalibrationsbereich |
| LM | Lösungsmittel |
| MW | Mittelwert |
| PDI | Polydispersitätsindex |
| PP | Polypropylen |
| QS | Quarzglas |
| REM | Rasterelektronenmikroskop |
| THF | Tetrahydrofuran |
| V_{aqu} | Knäulvolumen des Polymers |

1 Einleitung

Nanostrukturierte Materialien im allgemeinen und Nanopartikel im besonderen sind gegenwärtig von großem Interesse für Technik und Forschung. Das große Verhältnis von Oberfläche zu Volumen führt zu ungewöhnlichen physikalischen Eigenschaften (optisch, mechanisch, magnetisch), die neuartige Anwendungen ermöglichen.¹ Prominente Beispiele sind sogenannte semiconductor quantum dots, deren Fluoreszenz im Gegensatz zur molekularen Fluoreszenz nur von der Größe der Partikel abhängig ist.² Neben veränderten optischen Eigenschaften weisen Nanopartikelsuspensionen ein verändertes Fließverhalten auf, was z.B. die Aufnahme in Gewebe und Zellen ermöglicht.³

Polysaccharide sind eine Klasse von Biopolymeren mit erstaunlichen Fähigkeiten der Selbstorganisation. Darüber hinaus ist durch eine gezielte Derivatisierung von Polysacchariden ein Design hinsichtlich molekularer und supramolekularer Struktur möglich. So kann durch die Veresterung des Polysaccharids Dextran eine Vielzahl verschiedener Derivate synthetisiert werden, die sich durch einen einfachen Lösungsmittelaustausch in sphärische Nanopartikel überführen lassen.⁴ Aufgrund ihrer günstigen Eigenschaften wie biologischer Verträglichkeit und der Möglichkeit multifunktionelle Materialien herzustellen, sind Polysaccharid-Nanopartikel für Anwendungen im medizinischen Bereich besonders interessant. Speziell Dextran basierende Nanopartikel wurden bereits für die Anwendung als pH-Sensor⁴ sowie für den Transport von Nukleinsäuren⁵ und Arzneistoffen⁶ erprobt.

Für eine Vielzahl von Anwendungen werden Möglichkeiten der Eigenschaftskontrolle von Nanopartikeln angestrebt. So lässt sich mit Hilfe von pH-⁷ und redoxabhängigen Systemen,⁸ im Falle der Anwendung von Nanopartikeln als Transportcontainer, der Freisetzungsort definiert einstellen. Eine weitere viel versprechende Möglichkeit ist die photochemische Kontrolle der Eigenschaften nanostrukturierter Biomaterialien.⁹

Aufbauend auf aktuelle Forschungsergebnisse zur Funktionalisierung von Dextran mit photoaktiven Substituenten^{10,11} befasst sich die vorliegende Diplomarbeit

mit der Herstellung und Charakterisierung von Nanopartikeln aus Dextran-4-phenylazobenzoat. Ziel ist zunächst die Synthese des lichtempfindlichen Dextranesters und die Untersuchung der photochemischen Eigenschaften des Polymers in Lösung. Zusätzlich sollen verschiedene Herstellungsmethoden für Nanopartikel erprobt werden. Von besonderem Interesse ist dabei die Beurteilung automatisierter Herstellungsverfahren (Pipettierroboter und Inkjet-Printer) hinsichtlich Eignung und Reproduzierbarkeit. Einen weiteren Schwerpunkt bildet die photochemische Eigenschaftskontrolle der Dextran-4-phenylazobenzoat-Nanopartikel.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Dextran

2.1.1 Struktur und Herstellung

Dextran ist der Oberbegriff für eine Klasse von Polysacchariden, welche von Milchsäurebakterien (*Leuconostoc*- und *Streptococcus*-stämmen) sowie verschiedenen *Acetobacter*-, *Betabacterium*- und *Streptobacterium*-Stämmen extrazellulär gebildet werden.^{12,13} Charakteristisch für diese Glucane ist die $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -glycosidische Verknüpfung der Wiederholungseinheiten innerhalb der Hauptkette. Darüber hinaus können $\alpha(1 \rightarrow 2)$ -, $\alpha(1 \rightarrow 3)$ - und $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -Verzweigungen auftreten (Abb. 1).^{4,14} Die Art und der Gehalt der Verzweigung ist wesentlich vom produzierenden Bakterienstamm, den Bedingungen und vom Nährmedium abhängig.¹⁵ Die Dextrane, welche in technischen oder medizinischen Bereichen Verwendung finden, werden durch fraktionierte Fällung, kontrollierte Säurehydrolyse oder gerichtete Synthese in Zellkulturen hergestellt.^{11,16}

Dextran von *Leuconostoc mesenteroides*

Dextran des Bakterienstammes *Leuconostoc mesenteroides* zeichnet sich durch einen hohen Anteil an $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -glycosidischen Bindungen aus (95 %). Der geringe Anteil (5 %) $\alpha(1 \rightarrow 3)$ -glycosidischer Verzweigungen umfasst zu 40 % eine, zu 45 % zwei und zu 15 % mehr als zwei Anhydroglucoseeinheiten (AGU).¹³ Diese strukturelle Einheitlichkeit macht Dextran des Bakterienstammes *Leuconostoc mesenteroides* zum wichtigsten bakteriellen Polysaccharid in Medizin, Pharmazie und Chemie.¹⁶

Für die vorliegende Arbeit wurde Dextran des Stammes *Leuconostoc mesenteroides*-NRRL B-512F, mit einem mittleren Molekulargewicht von $54400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, verwendet. Neben der einheitlichen Struktur weist dieses Dextran eine Molekulargewichtsverteilung (Polydispersitätsindex, PDI) von $\overline{M}_w/\overline{M}_n = 1,67$ auf.

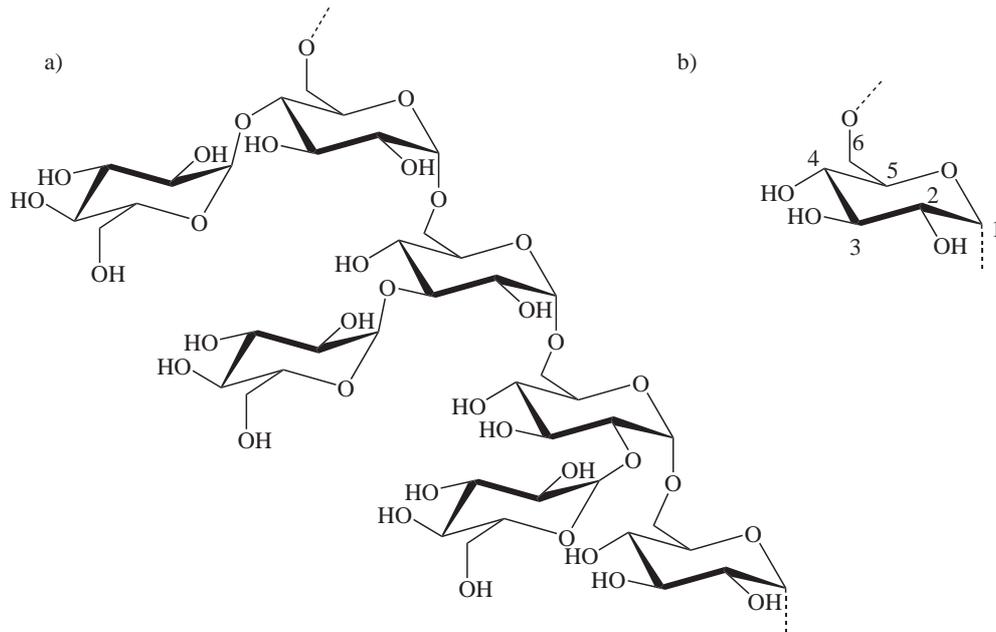


Abb. 1: Schematische Darstellung der Struktur von Dextran a) $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -verknüpften Hauptkette mit Verzweigungen in Position 2, 3, 4 b) Vereinfachte Darstellung der Hauptkette

2.1.2 Eigenschaften und Anwendung

Die Eignung von Dextran zur klinischen und pharmazeutischen Anwendung wird im wesentlichen durch die Löslichkeit, Abbaubarkeit (Entfernbarkeit) und Verträglichkeit im menschlichen Körper bestimmt.

Der hohe Anteil an $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Bindungen bestimmt maßgeblich die Löslichkeit von Dextran. Es ist hervorragend in Wasser, DMSO, DMA/LiCl, DMF/LiCl, Formamid und weiteren Lösungsmitteln löslich. Allerdings nimmt mit steigenden Molekulargewicht die Löslichkeit ab.¹⁷ Die Verträglichkeit von Dextran im menschlichen Körper ist von der Abbaubarkeit des Dextrans und der Entfernbarekeit aus dem Körper abhängig. Dextran kann im Magen-Darm-Trakt durch Enzyme aufgespalten oder über die Nieren aus dem menschlichen Körper entfernt werden. Die Nierenschwelle für die Harnfähigkeit beträgt $\bar{M} = 50000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Dextran mit einem höheren Molekulargewicht wird über die Nieren nur langsam ausgeschieden, indem es phagozytiert und aufgespalten wird. Die zur Aufspaltung

von Dextran benötigten Enzyme können $\alpha(1 \rightarrow 2)$ -, $\alpha(1 \rightarrow 3)$ - und $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -Bindungen schneller aufspalten, als $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Bindungen. Dadurch steigt die Verweilzeit von Dextran im Körper mit dem Molekulargewicht und dem Anteil an $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Bindungen an, woraus ebenfalls ein erhöhtes allergenes Potential resultiert. So kann die Bildung von dextranreaktiven Antikörpern erfolgen (4 % aller Patienten).^{16,18} Aufgrund der guten Entfernbarkeit, einer geringen Immunogenität und der biologischen Aktivität (Antitumoraktivität, Antikrebswirkung) kann für niedermolekulares Dextran eine gute physiologische Verträglichkeit beobachtet werden.^{14,17}

Diese Verträglichkeit bildet die Grundlage für eine Vielzahl von medizinischen Produkten. So wird Dextran mit einer Molmasse von 40000 bis 60000 $g \cdot mol^{-1}$ in 6 %igen wässrigen Lösungen als Blutplasmaexpander und Infusionslösung verwendet. Diese Lösungen besitzen die gleiche Viskosität und den gleichen kolloidosmotischen Druck wie Blut. Niedermolekulares Dextran besitzt neben seiner geringen Antigenität auch gerinnungshemmende Eigenschaften, was eine Anwendung als Thrombolytika zum Auflösen von Blutgerinnsel ermöglicht. Darüber hinaus lassen sich Dextrane durch ihre generelle Abbaubarkeit durch Enzyme hervorragend als Wirkstoffträger verwenden. Fraktioniertes Dextran wird weiterhin als Verdickungsmittel in der Lebensmittelchemie, als technologischer Hilfsstoff in der Pharmazie (Suspensions-, Protein- oder Impfstoffstabilisatoren) oder als Standard für die Analytische Chemie (Gelfiltrationschromatographie) verwendet.¹⁶

2.2 Dextranderivate

Dextrane und ihre Derivate sind in den Fokus der Wissenschaft gerückt. Dies belegt ein Anstieg von Publikationen zur gezielten Funktionalisierung, Charakterisierung und Anwendung von Dextranderivaten in den letzten zehn Jahren. Generell stehen die Hydroxylgruppen der Positionen 2, 3 und 4 für polymeranaloge Reaktionen von Dextranen zur Verfügung. Durch gezielte Funktionalisierung können multifunktionelle Dextranderivate hergestellt werden. Aus der räumlichen Anordnung der Hydroxylgruppen resultiert eine Abstufung der Reaktivität ($2 > 3 \geq 4$). Ester und Ether sind dabei die bedeutendsten Gruppen von Dextranderivaten.

Die Bildung eines der am häufigsten verwendeten Derivate erfolgt durch Reaktion einer alkalischen Dextranlösung mit Epichlorhydrin. Das Produkt (Sephadex,

Superdex) wird als Molekularsieve in der Chemie und Pharmazie für die Reinigung von Proteinen und Polysacchariden, sowie für die Wundbehandlung in der Medizin verwendet wird. Von großem Interesse in der Medizin sind ebenfalls anorganische Ester wie die Dextranphosphate und -sulfate, welche eine Reihe von biologischen Aktivitäten aufweisen. So wurden für diese Derivate neben Antitumoraktivitäten Palmitoyldextran phosphat auch cancerostatische Effekte (Dextransulfate) beobachtet.^{17,19}

Veresterung von Dextranen

Für die Veresterung von Dextran kommen sowohl homogene als auch heterogene Reaktionsbedingungen in Frage. Die heterogene Veresterung wird vorwiegend in kommerziellen Prozessen verwendet, in denen vollständig funktionalisierte Derivate synthetisiert werden können. Die heterogene Veresterung von Polysacchariden erfolgt in den meisten Fällen über Acylierungen. Hierbei werden vorwiegend Carbonsäureanhydride oder -chloride als Reagenzien verwendet, wobei die Reaktionen zum Beispiel mit DMAP katalysiert werden.¹⁷ Für die Synthesen im Rahmen der Diplomarbeit sind die heterogenen Reaktionen ohne Bedeutung.

Die gute Löslichkeit von Dextran in dipolar aprotischen Lösungsmitteln (Formamid, DMSO, DMF oder Wasser) ermöglicht auch eine homogene Reaktionsführung der Veresterung. Auf diesem Weg ist es möglich den Grad der Funktionalisierung gezielt einzustellen. Die homogene Veresterung von Dextran kann über die sauer katalysierte Umsetzung mit Carbonsäuren oder die Umsetzung mit Säurechlorid oder -anhydrid erfolgen. Nachteile, wie Polymerabbau durch Hydrolyse bei der sauren Katalyse, geringe Löslichkeit von Säurechloriden und schlechte Verfügbarkeit von Säureanhydriden führen zur Verwendung von alternativen Verfahren zur Veresterung von Polysacchariden.¹¹ Bei diesen Verfahren erfolgt die Veresterung über eine Einstufensynthese nach in-situ Aktivierung der Carbonsäure. Zur Aktivierung der Carbonsäure werden Reagenzien vom Typ Dialkylcarbodiimid oder N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI) verwendet.^{17,20} Die Aktivierung durch CDI ist von Vorteil, da die verwendeten Reagenzien außer CDI selbst und die gebildeten Produkte nicht toxisch sind. Während der Reaktion wird das reaktive Imidazolid und als Nebenprodukte CO₂ und Imidazol gebildet. Imidazol ist in zahlreichen Lösungsmitteln gut löslich und kann leicht entfernt werden. Bei der Umsetzung der Carbonsäure in Gegenwart von CDI sind zwei Reaktionswege möglich. Ein Reaktionsweg (Abb. 2 a)) läuft über die Aktivierung der Carbonsäure mit CDI

und der anschließenden Umsetzung des Polymers zum gewünschten Ester ab. Dabei erfolgte zunächst die Bildung eines Zwischenprodukts (reaktives Imidazolid) aus CDI und CS, unter Abspaltung von Imidazol. Dieses Zwischenprodukt wird anschließend unter erneuter Abspaltung von Imidazol an das Dextran gebunden. Der zweite Reaktionsweg (Abb. 2 b) läuft über die Aktivierung des Polysaccharids mit CDI ab. Die Aktivierung des Polysaccharids kann bei nicht stöchiometrischer Menge an Carbonsäure zur Bildung von Carbonaten und damit zur Vernetzung führen. Durch Einstellung eines geeigneten stöchiometrischen Verhältnis kann diese Reaktion unterbunden werden und es erfolgt die Synthese über Reaktionsweg eins (Abb. 2 a)). Die gesamte Reaktion kann zusätzlich in Dimethylsulfoxid als nicht toxisches, unbedenkliches Lösungsmittel durchgeführt werden, wodurch der unerwünschte Reaktionsweg b) ebenfalls unterbunden wird.^{14,17}

2.3 Photochemie - Photochromie

Die Photochemie spielt in vielen Bereichen des täglichen Lebens eine bedeutende Rolle. Sie stellt nicht nur die Lebensgrundlage für Pflanzen und zahlreiche Organismen dar, sondern findet auch in technischen Prozessen eine Anwendung. So werden optoelektronische Bauelemente, optische Speicher oder auch photo-optische Schalter auf Basis von photochemischen Reaktionen genutzt. Unter Photochemie werden alle chemischen Reaktionen zusammengefasst, welche durch die Absorption von Licht bzw. Photonen initiiert werden. Einen wichtigen Bereich der Photochemie stellt die Photochromie dar, in welchen alle reversiblen photochemischen Prozesse eingeordnet werden.^{21,22} Die Photochromie tritt bei einer Vielzahl von organischen und anorganischen Verbindungen (z.B. photochrome Gläser) auf. Die für organischen Verbindungen auftretenden Prozesse lassen sich in vier Gruppen unterteilen: trans/cis-Isomerisierungen, Tautomerien, Dissoziationsprozesse und Perizyklische Reaktionen.^{23,24} Im Folgenden soll ausschließlich die trans/cis Isomerisierung betrachtet werden, da sie für die vorliegende Diplomarbeit von besonderer Bedeutung ist. Ebenso soll nur Azobenzen und seine Derivate als Chromophore diskutiert werden.

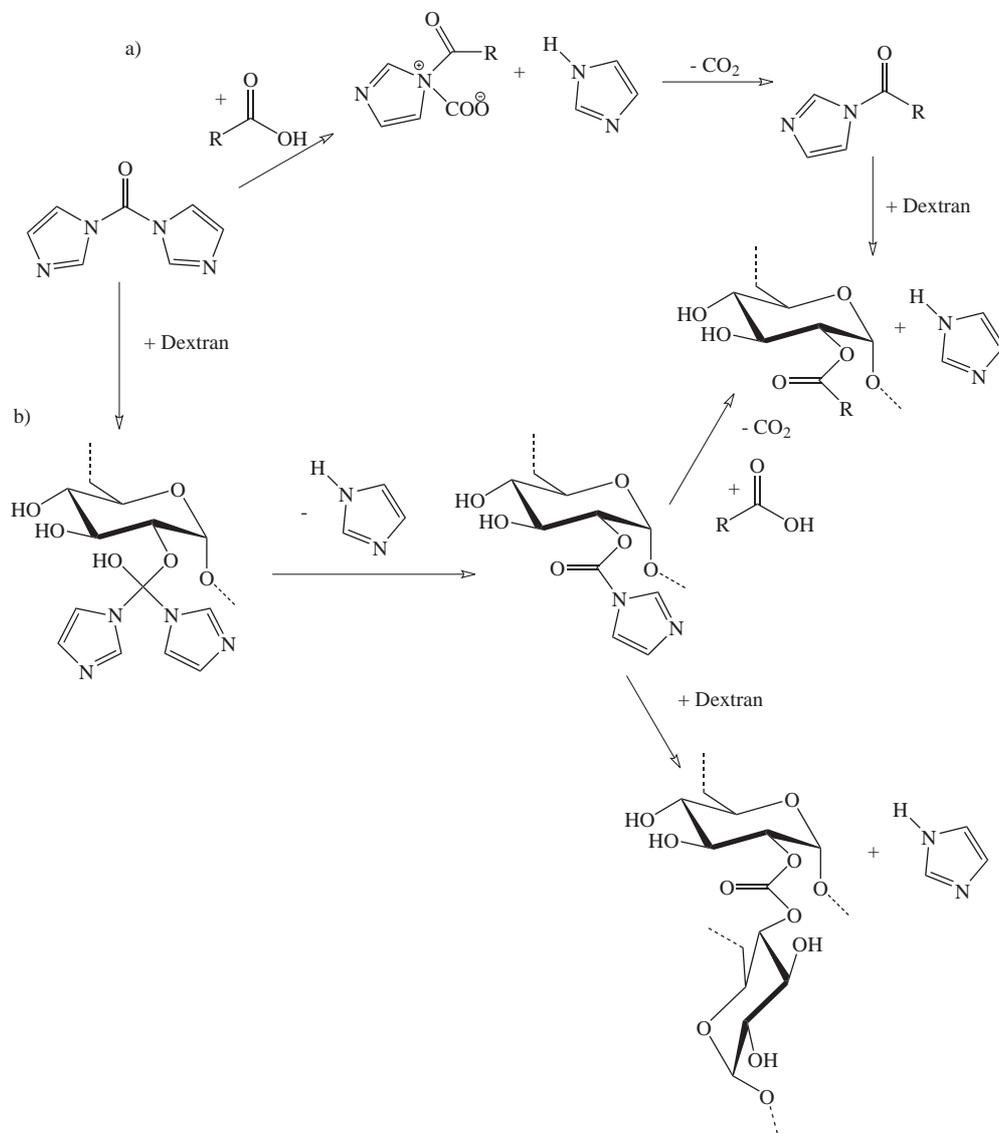
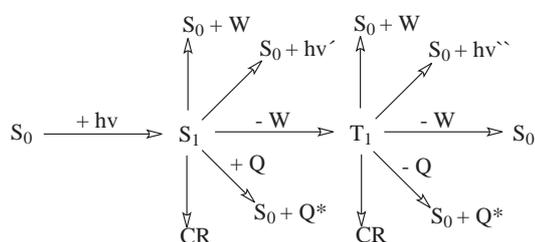


Abb. 2: Syntheseweg zur a) Veresterung von Dextran und b) Vernetzung von Dextranen durch Aktivierung mit CDI ¹⁸

2.3.1 Trans/Cis - Isomerisierung

Ausgangspunkt für die trans/cis Isomerisierung ist die Anregung von Doppelbindungssystemen mit unterschiedlichen Substituenten zur Strukturänderung. Hierbei werden Elektronen durch Energieaufnahme (Photonen, Wärme) aus dem niederenergetischen Grundzustand in einen höherenergetischen angeregten Zustand angehoben. Die π -Elektronen liegen für beide Zustände im Singulett-Zustand vor. Die Elektronen im angeregten Zustand besitzen, in Abhängigkeit von ihrer Stabilität, eine begrenzte Lebensdauer. Nach Ablauf dieser Lebensdauer erfolgt unter Abgabe von Energie (Wärme, Licht) der Übergang in den Grundzustand des Systems oder der Übergang in einen niederenergetischen, angeregten Triplett-Zustand (Abb. 3).²⁵



W - Wärme, CR - Chemische Reaktion, S_0 - Grundzustand, S_1 - angeregter Singulettzustand, T_1 - angeregter Triplettzustand, Q - Quencher

Abb. 3: Schematische Darstellung aller möglichen photochemischen Übergänge zwischen dem Grundzustand S_0 und den angeregten Zuständen S_1 bzw. T_1

Die Strukturänderung durch trans-cis Isomerisierung kann über drei Mechanismen ablaufen: Rotation, Inversion und Hula-Twist. Beim Rotationsmechanismus wird durch die Anregung der Elektronen die π -Bindung gebrochen, so dass die Moleküle leicht um die verbleibende σ -Bindung verdreht werden können. Der Inversionsmechanismus tritt hingegen vorwiegend bei AZO- ($-N=N-$) und Imin- ($-C=N-$) Bindungen auf. Dabei schwingt ein N-Atom unter gleichzeitigem Hybridisierungswechsel ($sp^2 \rightarrow sp \rightarrow sp^2$) durch die Bindungsebene.^{26,27} Weiterhin kann die Strukturänderung über den Hula-Twist-Mechanismus erfolgen. Bei diesem Isomerisierungsmechanismus erfolgt der Austausch von zwei benachbarten Bindungen durch Translokation einer Bindung zum jeweiligen Substituenten mit simultanen Wechsel von Konformation und Konfiguration.²⁸ Der im Molekülen tatsächlich

auftretende Mechanismus wird dabei von der Art der Anregung bestimmt. So wird der Rotationsmechanismus durch eine $\pi\pi^*$ -Anregung und der Inversionsmechanismus durch eine $n\pi^*$ -Anregung erzeugt. Der ($\pi\pi^*$)-Übergang besitzt gegenüber dem ($n\pi^*$)-Übergang eine deutlich höhere Absorptionsintensität.^{29,30}

2.3.2 Azobenzen und Azobenzenderivate

Eine wichtige Gruppe von Chromophoren, welche bereits seit mehr als 70 Jahren untersucht wird, ist die der Azobenzene. Diese Azobenzenchromophore (ABC) verdanken ihre Photoaktivität den Azobindungen ($-N=N-$), durch welche eine schnelle (Mikrosekunden) trans/cis-Isomerisierung (Abb. 4) möglich ist. Die trans/cis-Umwandlung kann durch Belichtung mit ultravioletten Licht angeregt werden. Aufgrund der Reversibilität der Isomerisierung kann die trans/cis-Umwandlung durch Belichtung mit sichtbarem Licht oder durch thermische Anregung umgekehrt werden.³¹ Darüber hinaus liegt für den Isomerisierungsprozess nur eine begrenzte Anzahl von durchführbaren Zyklen (10^5 bis 10^6) vor, bevor eine Verschlechterung des Isomerisierungsverhaltens einsetzt.³²

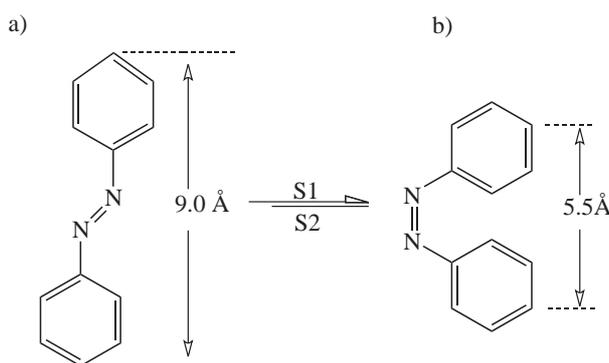


Abb. 4: Geometrische Anordnung von Azobenzen im a) trans- und b) cis-Zustand

Aufgrund ihrer aromatischen Struktur (Benzene) besitzen die Azobenzenchromophore ausgeprägte optische Absorptionsbanden im UV/VIS-Spektralbereich. Die genauen Lagen und Intensitäten dieser Banden hängen von den an den Phenylringen gebundenen Substituenten ab. Generell lassen sich die Azobenzenchromophore in drei Typen unterteilen: Typ i) Azobenzene, Typ ii) Aminoazobenzene und Typ iii) Pseudo-Stilbene (Abb. 5). Die Typ i) Moleküle zeichnen sich durch eine unsubstituierte Azobenzene-Struktur aus, welche eine starke Absorptionsbande

im UV-Bereich besitzen. In der Struktur der Typ ii) Moleküle befinden sich an den para- oder ortho-Positionen der Benzenringe zusätzliche elektronenspendende Substituenten, welche eine Absorption im blauen Spektralbereich hervorrufen. Die Moleküle vom Typ iii) besitzt im Gegensatz zu den vorher genannten eine breite Absorptionsbande über den gesamten sichtbaren Spektralbereich. Diese Moleküle besitzen nicht lineare optischen Eigenschaften. Diese Eigenschaft resultiert aus einer stark asymmetrischen Elektronenverteilung, welche von einer push-pull Substitution an den Positionen 4 und 4' ausgelöst wird.³³

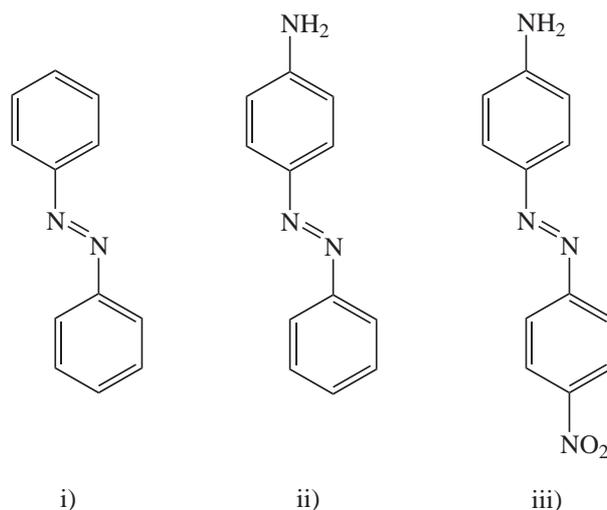


Abb. 5: Typische Vertreter von Azobenzenchromophoren: Typ i) Azobenzene, Typ ii) Aminoazobenzene und Typ iii) Pseudo-Stilbene

2.3.3 Photomechanische Eigenschaften

Von großem Interesse für die während der praktischen Arbeit durchgeführten Untersuchungen sind die photomechanischen Eigenschaften der Azobenzenderivate. Bei den photomechanischen Eigenschaften handelt es sich um alle Bewegungen, welche auf molekularer Ebene durch Licht induziert, verstärkt und auf die makroskopische Ebene übertragen werden. Für viele verschiedene Azobenzene enthaltende Strukturen wie Gele, Flüssigkristalle oder dünne Schichten konnte der photomechanische Effekt nachgewiesen werden.^{32, 34-37}

Bereits 1966 wurde zum ersten Mal die Strukturänderung aufgrund von photo-induzierter Isomerisierung, durch das Schrumpfen von Azobenzene enthaltenden

Nylonfasern, in Folge von Lichteinstrahlung beobachtet.³⁸ Abhängig von der Lage der Chromophore in den Polymerketten (Haupt- oder Seitenkette), ist der photomechanische Effekt mehr oder weniger stark ausgeprägt. Dabei wird der photomechanische Effekt durch die räumliche Enge in der Hauptkette des Polymers und den erhöhten Platzbedarf der Struktur verstärkt. Innerhalb des Polymerrückgrats lassen sich somit größere geometrische Änderungen der Struktur hervorrufen, als in den Seitenketten.

Untersuchungen von *Menzel et al.* an Azobenzen enthaltenden Monolayerschichten zeigten, dass durch den Isomerisierungsprozess weitere Effekte das photomechanische Verhalten beeinflussen können.^{37,39,40} So führt die Isomerisierung zu einer Ladungsverschiebung innerhalb der Azobenzenchromophore, welche eine lokale Erhöhung des Dipolmoments zur Folge hat. Bei Azobenzen bewirkt diese geometrische Änderung einen Anstieg des Dipolmoments von 0 D im trans Zustand, auf 3,1 D im cis Zustand.³³ In Folge einer Neuausrichtung der Polymerkette entsprechend der Dipolmomente, nimmt das Polymer einen energetisch günstigeren Zustand ein, welcher mit einer makroskopischen Bewegung verbunden sein kann. Weiterhin löst eine Änderung des Dipolmoments eine Änderung der Affinität der Struktur für das umgebende Medium, woraus ebenfalls eine Bewegung oder Volumenänderung resultieren kann.^{22,32}

2.4 Nanopartikel

Unter dem Begriff Nanopartikel sind Partikel mit einer Größe von kleiner 1 μm zusammengefasst. In dieser Größenordnung zeigen Partikel ein anderes Verhalten als massive Festkörper der gleichen Verbindung. Die Größe der Partikel ist für verschiedene Anwendungen besonders interessant, da Zellen in Organismen eine typische Größe von rund 10 μm besitzen. Die einzelnen Zellbestandteile sind zudem viel kleiner und liegen im Nanometerbereich vor. Somit befinden sich Nanopartikel in der gleichen Größenordnung wie Zellen bzw. deren Bestandteile.⁴¹ Die Möglichkeit Nanopartikel in nahezu beliebigen Käfigstrukturen und Größen herstellen zu können, bietet zudem vielfältige Möglichkeiten, um diese als Wirkstoffträger für Medikamente oder Kontrastmittel, als Mikrobauelemente oder als Ausgangsstoff für die Funktionalisierung von Oberflächen einzusetzen. Die gezielte Größeneinstellung stellt eine der größten Herausforderung für die Herstellung solcher Strukturen dar. Für die konkrete Anwendungen von Nano-Biomaterialien im

menschlichen Organismus wird bisher meist partiell derivatisiertes Pullulan mit sterisch anspruchsvollen hydrophoben Gruppen eingesetzt. Aufgrund des amphiphilen Charakters der Pullulanderivate neigen diese in wässrigen Medien zu einer selbstregulierenden Anordnung als Nanopartikel. Dieser Effekt ist ebenso für Dextranderivate mit amphiphilen Charakter bekannt.²⁰

2.4.1 Selbstanordnende Strukturen

Die gerichtete Selbstanordnung stellt eine in vielen Bereichen der Natur verwendete Strategie zur Bildung von funktionellen Strukturen dar. Bekannte Beispiele hierfür sind die Proteine und die DNA. Durch die Übertragung ihrer Funktionsweisen auf künstliche Systeme lassen sich zahlreiche 0-dimensionale (sphärische Nanopartikel), 1-dimensionale (Nanodrähte,-bänder oder -tubes) und 2- bis 3-dimensionale (hierarchische Strukturen) Strukturen herstellen. Die Triebkraft für diese Selbstanordnung ist das Wirken von gerichteten, nicht kovalenten Kräften, wie z.B. Van-der-Waals-Kräften, elektrostatischen Kräften (Wasserstoffbrückenbindungen) oder Kapillarkräften.^{42,43} Bei selbstanordnenden, sphärischen Nanopartikeln wird zwischen zwei Gruppen von Strukturen unterschieden. Zum Einen makromolekulare Käfige, welche in verschiedenen Größen vorliegen und deren Gestalt und Funktion durch Austausch von Molekülbestandteilen eingestellt wird. Zum Anderen polymere Mizellen bzw. Vesikel, welche aus hydrophilen und hydrophoben Kettensegmenten oder Multiblock-Copolymeren bestehen (Abb. 6).⁴⁴

2.4.2 Amphiphile Selbstanordnung

Bei den im speziellen Teil hergestellten Derivaten handelt es sich um Moleküle mit amphiphilen Eigenschaften. Diese können bei Dispersion in Wasser zur Bildung von polymeren Mizellen neigen. Dieser Effekt wurde 1959 erstmals durch *Kauzmann* mit dem Wirken des Hydrophobie-Effektes erklärt. Dieser beschreibt die Anordnung zu übergeordneten Strukturen als nötige Konsequenz, da das Dispergieren von Molekülen im Wasser eine Störung des vorherrschenden, thermodynamischen Gleichgewichts hervorruft. Die dispergierten Moleküle stören die starken attraktiven Wechselwirkung der Wassermoleküle, wodurch diese einen energetisch ungünstigeren Zustand einnehmen müssen. Als Reaktion auf die Störung dieses Systems, erfolgt die Anordnung der Moleküle in Strukturen mit möglichst kleinen Oberflächen. So erfolgt entsprechend des jetzt neu vorhandenen Systems die

Ausbildung des energetisch niedrigsten Zustands.^{34,35}

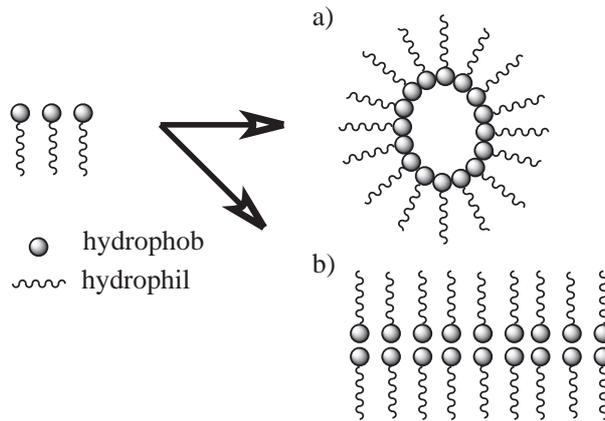


Abb. 6: Selbstanordnung von niedermolekularen Molekülen mit hydrophoben und hydrophilen Enden im wässrigen Milieu zu a) polymeren Mizellen oder b) Vesikeln

Bei amphiphilen Strukturen erfolgt in wässrigen Lösungen die Minimierung der Energie durch die Anordnung von hydrophilen Gruppen nach außen und hydrophoben Gruppen nach innen (Abb. 6). Die aus amphiphilen Molekülen gebildeten Strukturen werden maßgeblich von drei Energiethermen beeinflusst, welche direkt mit der freien Enthalpie verbunden sind.^{45,46} Als Reaktion auf die Veränderung eines dieser Energietherme ändert sich die Struktur sofort. Dies ist nötig, um einen energetisch günstigen Zustand einzustellen.⁴⁷

E_C : Der Clusterungstherm E_C beschreibt die Neigung der hydrophoben Gruppen zur Anordnung innerhalb der gebildeten Strukturen.

E_O : Der Oberflächentherm E_O beschreibt die Kohlenwasserstoff-Wasser Wechselwirkungen als Folge von elektrostatischer Abstoßung, Hydratation und sterischer Hinderung.

E_P : Der Packungstherm E_P beschreibt die Anordnung der hydrophoben Gruppen im Kern der gebildeten Strukturen. Dieser verlangt einen Ausschluss aller Wassermoleküle und polaren Gruppen aus dem Kern.

Weitere wichtige Einflussfaktoren für die Struktur sind: das Molekulargewicht, die Verschlaufung von Ketten (Entanglements), die relative Blocklänge, die Struktur der Blöcke (linear, verzweigt), sowie Art und Größe der funktionellen Gruppen.^{34,44,45} Der Selbstanordnungsmechanismus ist für eine Vielzahl von Molekülen in Verbindung mit wässrigen Lösungen bekannt und lässt sich ebenfalls für organische Lösungsmittel und ionische Flüssigkeiten anwenden.⁴⁶ Innerhalb der übergeordneten Strukturen sind Wechselwirkungen zwischen den eingebundenen funktionellen Gruppen möglich. So können zwischen aromatischen Gruppen innerhalb der amphiphilen Kohlenstoffkette, starke nicht kovalente Anziehungskräfte auftreten, welche zu einer verbesserten Selbstanordnung führen.^{48,49} Diese Wechselwirkungen sind nicht nur auf das Innere der übergeordneten Strukturen beschränkt, sondern können auch zwischen diesen auftreten (Abb. 7). Die Bildung von Agglomeraten bzw. Aggregaten aus Nanostrukturen wird unmittelbar durch diese Wechselwirkungen bestimmt. Somit ist eine Vermeidung von Wechselwirkungen zwischen den gebildeten Nanostrukturen für deren Stabilität unerlässlich. Eine Unterbindung von starken Wechselwirkungen (Wasserstoffbrückenbindungen) bei Dextranderivaten kann bereits durch die Funktionalisierung von verbleibenden Hydroxylgruppen erfolgen. Für den Austausch werden funktionelle Gruppen verwendet, die die Eigenschaften kaum beeinflussen.^{20,50}

2.4.3 Ouzo - Region⁴³

Die Bildung von Nanopartikel wird von zwei wichtigen Eigenschaftsgruppen beeinflusst. In der ersten Gruppe sind alle Parameter zusammengefasst, welche die Eigenschaften der Makromoleküle (Kettenlänge, funktionelle Gruppen, etc.) betreffen. Wohingegen die Gruppe zwei alle Parameter beinhaltet, welche die Nanopartikel während der Präparation (Tropfengröße, Konzentrationsgradient, etc.) beeinflussen.

Die Ouzo-Region beschreibt den Konzentrationsbereich, in welchem eine Ausbildung von metastabilen homogenen Dispersionen oder Emulsionen ohne Zusatzstoffe oder mechanische Bewegung stattfindet.⁵¹ Außerhalb der Ouzo-Region erfolgt die Bildung von Aggregaten bzw. Agglomeraten (oberhalb der Ouzo-Region) oder das Verbleiben des Derivats in gelöster Form (unterhalb der Ouzo-Region). Die Bestimmung der Grenzen des Ouzo-Bereichs erfolgt durch eine kontinuierliche Konzentrationsänderung der Ausgangslösung. Die Größenverteilung der in dieser Region gebildeten Partikel entspricht typischerweise einer logarithmischen

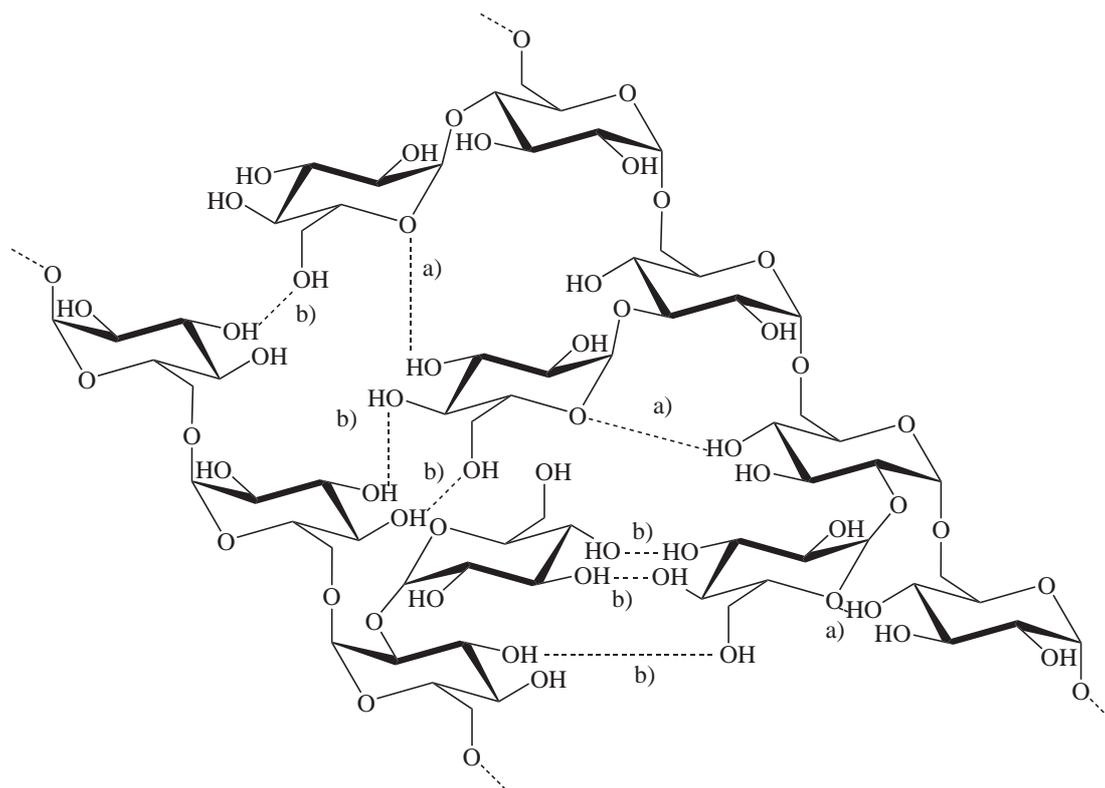


Abb. 7: Schematische Darstellung von a) intramolekularen und b) intermolekularen Wechselwirkungen von Dextranstrukturen

Normalverteilung.⁵² Untersuchungen dieses Bereiches für verschiedene Polymere zeigen, dass das Maximum der Ouzo-Region exponentiell mit dem Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel-Verhältnis, zu niedrigeren Derivatkonzentrationen verschoben wird (Abb. 8). Diese Verschiebung belegt, dass die Lage der Ouzo-Region nur von der Polymerkonzentration (Masseanteil $< 10^{-2}$) abhängig ist. Die Grenzen der Ouzo-Region werden dagegen nur vom Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel-Verhältnis beeinflusst.^{52,53} Für die Untersuchung der Ouzo-Region im praktischen Teil der Arbeit wird die spontane Bildung von Nanopartikeln aus amphiphilen oder hydrophoben Molekülen genutzt. Dafür wird das Derivat in einem polaren, mit Wasser mischbaren Lösungsmittel, gelöst und durch Mischen mit Wasser als Partikel ausgefällt. Da die Ursachen für dieses konzentrationsabhängige Verhalten nicht vollständig verstanden sind, gibt es für die Begrenzung der Ouzo-Region zwei mögliche Theorien. Bei der ersten Theorie handelt es sich um die Annahme eines Keimbildungs- und Keimwachstumsprozesses, bei dem die Ausbildung der Ouzo-Region nur für metastabile Polymerlösungen stattfindet. Spontane Fluktuationen der Molekülkonzentration können beim Überschreiten der kritischen Keimgröße zur Ausbildung von reinen und kleinen Wachstumskeimen führen. Durch Anlagerung von weiteren Derivatmolekülen können diese wachsen. Entsprechend dieser Überlegung ist die Lösung außerhalb der Ouzo-Region instabil, da durch große Konzentrationsfluktuationen ein spontaner und unkontrollierter Wachstumsprozess (Aggregate) stattfindet. Die zweite Theorie nimmt an, dass durch die Interdiffusion von Wasser und Lösungsmittel die vorliegende Lösung instabiler wird. In Folge dessen erfolgt die Aufspaltung der Lösung in zwei Phasen (Partikel und Lösungsmittel-Wasser-Gemisch). Eine Veränderung der Derivatkonzentration kann dabei den ablaufenden Aufspaltungsprozess beeinflussen und die Grenze der Ouzo-Region verschieben.^{52,53}

Bei allen Untersuchungen der Ouzo-Region ist zu berücksichtigen, dass während der Konzentrationsänderungen keine Gleichgewichtszustände vorliegen. Während der Präparation der Nanopartikel kommt es zur Ausbildung von nicht homogenen Zuständen in den Lösungen, welche die Ergebnisse verfälschen können. So liegt trotz der Ausbildung von metastabilen homogenen Dispersionen (Ouzo-Bereich) eine Abhängigkeit der Partikelgröße von der Derivatkonzentration vor.⁵³

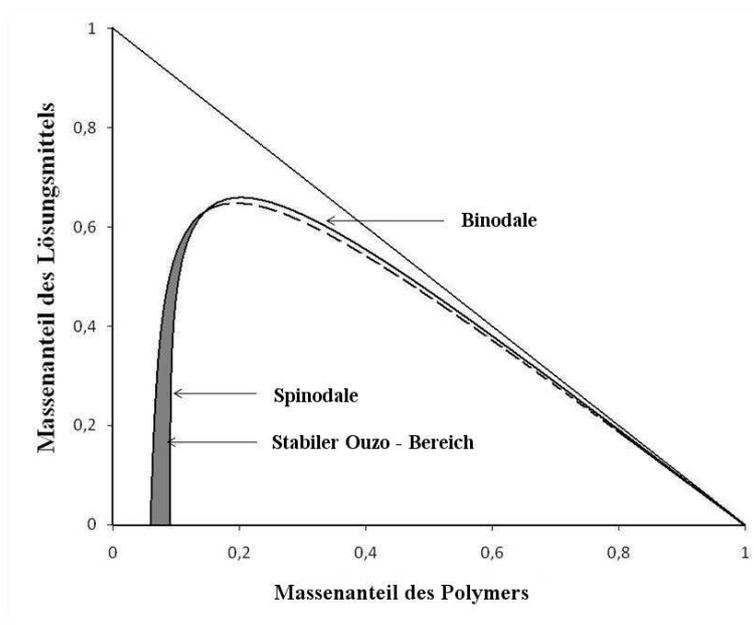


Abb. 8: Rechtwinkliges Dreiphasensystem (Polymer/Lösungsmittel/Nicht-Lösungsmittel) für konstante Temperatur und konstanten Druck mit Ouzo-Region zwischen Spinodale und Binodale ⁵¹

3 Spezieller Teil

Biopolymere mit gezielt einstellbaren Eigenschaften sind ein Forschungsschwerpunkt der Pharmazie, Medizin und Kosmetikindustrie. So sollen diese in Form von Nanopartikeln als Wirkstofftransportsysteme verwendet werden.^{41,43} In diesen Kontext sind die im speziellen Teil der Arbeit aufgeführten Ergebnisse zu betrachten, der in fünf Teile gegliedert ist. Die Abschnitte eins und zwei beschreiben die Synthese, Strukturaufklärung und Charakterisierung von Dextran-4-phenylazobenzoat (AZO-Dextran) und Methyl-4-phenylazobenzoat (AZO-Methyl). Die Abschnitte drei und vier befassen sich mit der Herstellung und Charakterisierung von Nanopartikeln aus dem Polymer AZO-Dextran. Im letzten Abschnitt wird die Eignung von AZO-Dextranlösungen für die Herstellung von dünnen Schichten untersucht.

3.1 AZO-Dextran

3.1.1 Synthese von AZO-Dextran

In einer polymeranalogen Reaktion wurde Dextran mit trans-Azobenzol-4-carbonsäure verestert, wobei die Carbonsäure mit CDI in-situ aktiviert wurde (Abb. 9). Um AZO-Dextran mit verschiedenen durchschnittlichen Substitutionsgraden (DS) herzustellen, wurden unterschiedliche Stoffmengenverhältnisse eingesetzt. Die Produkte wurden in Ethanol gefällt und durch mehrmaliges Waschen mit dem Fällungsmittel gereinigt. Die Ergebnisse dieser Synthesen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Zur Perpropionylierung wurden die Produkte (400 mg) mit Propionsäureanhydrid (Perpropionylierung) umgesetzt (80 °C für 20 h unter Anwesenheit von Dimethylaminopyridine, DMAP).

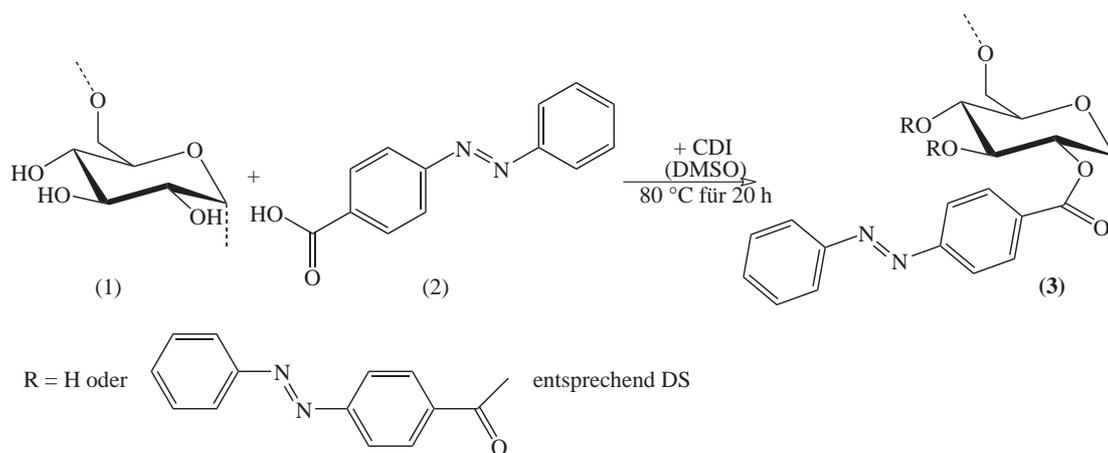


Abb. 9: Homogene Veresterung von Dextran mit Azobenzene-4-carbonsäure in Dimethylsulfoxid (DMSO)

Tabelle 1: Ergebnisse der Synthesen von Dextran-4-phenylazobenzoat

| Verbindung | Stoffmengenverhältnis AGU : CDI : (2) | DS |
|-------------|--|---------------------------------------|
| (3a) | 1 : 1 : 1 | 0,73 ^a / 0,75 ^b |
| (3b) | 1 : 2 : 2 | 1,29 ^a / 1,54 ^b |
| (3c) | 1 : 3 : 3 | 1,82 ^a / 1,72 ^b |

^a bestimmt durch ¹H-NMR-Spektroskopie nach Perpropionylierung

^b bestimmt durch N-Anteile der Elementaranalyse vor Perpropionylierung

3.1.2 Strukturaufklärung von AZO - Dextran

Die Strukturaufklärung der erhaltenen AZO-Dextrane, bevorzugt der perpropionylierten Derivate, wurde mittels ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie durchgeführt. Aufgrund der Perpropionylierung ist die Ausbildung von inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen unterbunden. Dies führt zu einer geringeren Spin-Spin- und Spin-Gitter-Relaxation und in Folge dessen zu einer Verlängerung der Lebensdauer von longitudinaler und transversaler Magnetisierung. Auf diese Weise wird eine Verringerung der Linienbreite und eine Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses erreicht. Darüber hinaus ist im ^1H -NMR-Spektrum eine Überlagerung von Signalen der Hydroxylgruppe mit den Signalen der Protonen der AGU ausgeschlossen, was eine bessere Signalzuordnung und die Bestimmung des DS aus den integralen Intensitäten ermöglicht. In Abbildung 10 ist das ^1H -NMR-Spektrum von AZO-Dextran mit einem DS von 0,73 dargestellt. Alle Signale des NMR-Spektrums können der Struktur des perpropionylierten AZO-Dextrans zugeordnet werden.

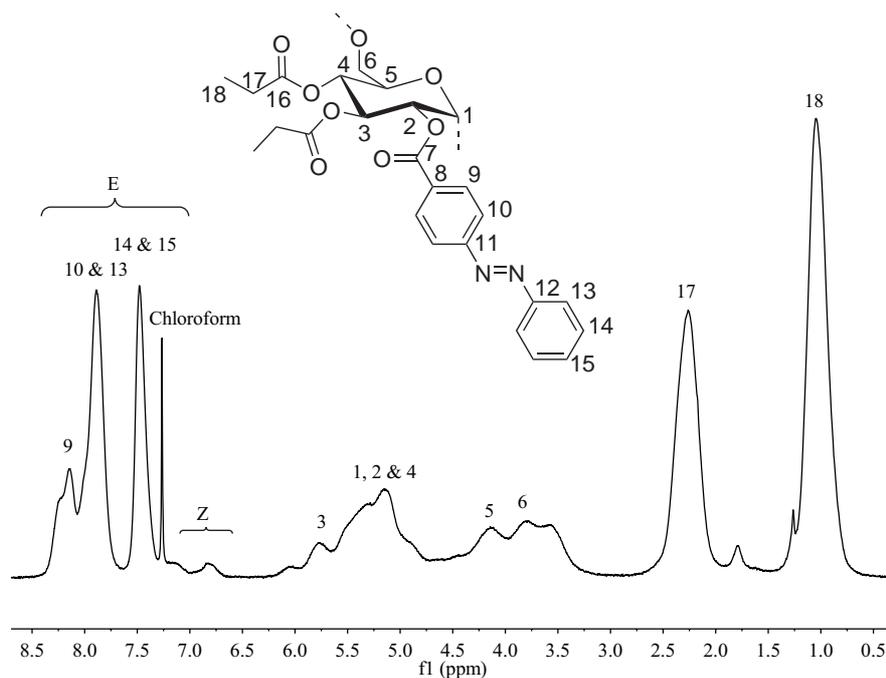


Abb. 10: ^1H -NMR-Spektrum von Dextran-4-phenylazobenzoat (3a, DS = 0,73) gemessen in Chloroform

Die trans- und cis-Isomere lassen sich im ^1H -NMR-Spektrum gut unterscheiden.

Die intensitätsschwache Signalgruppe zwischen 6,50 ppm und 7,25 ppm stammt von den Protonen 9, 10 und 13, 14 & 15 der Azobenzengruppe in cis-Stellung. Im Vergleich dazu erzeugen die gleichen Protonen in trans-Stellung die deutlich intensitätsstärkere Signalgruppe zwischen 7,30 ppm und 8,50 ppm. Über die im Folgenden angeführte Verhältnissrechnung lassen sich die prozentualen Anteile der Isomere aus den integralen Intensitäten (I) bestimmen.

$$I_{ges} = I_{trans} + I_{cis}$$

$$\frac{100\%}{I_{ges}} \cdot I_{trans} = trans(\%)$$

Es ist zu erkennen, dass nach der Synthese vorwiegend trans Isomere (circa 95 %) von AZO-Dextran vorliegen. Aufgrund der Laborbeleuchtung (Neonlampen mit UV-Lichtanteil) während Lagerung und Synthese und den Wartezeiten vor der NMR-Spektroskopie kann trans/cis Isomerisierung (circa 5 %) auftreten.

Die Protonensignale der AGU (1-6), der Methylgruppe des Propionats (18) und der Azobenzengruppe (9,10,13-15) können für die Bestimmung der DS-Werte verwendet werden. Die Berechnung der DS-Werte (Tab. 1) kann durch die folgenden drei Gleichungen erfolgen.

$$DS_{AZO} = \frac{7 \cdot I_{9,10,13-15}}{9 \cdot I_{1-6}}$$

$$DS_{AZO} = \frac{I_{9,10,13-15}}{\frac{I_{9,10,13-15}}{3} + I_{18}}$$

$$DS_{AZO} = 3 - \frac{7 \cdot H_{18}}{3 \cdot I_{1-6}}$$

$I_{9,10,13-15}$ = integrale Intensität der Protonenresonanzen 9,10,13-15

I_{1-6} = integrale Intensität der Protonenresonanzen 1-6

I_{18} = integrale Intensität der Protonenresonanz 18

3.1.3 Weitere Charakterisierung von AZO-Dextran

Die hergestellten AZO-Dextranderivate wurden durch Gelpermeationschromatographie (GPC), Viskosimetrie, Dipolmomentmessung und UV/VIS-Spektroskopie

charakterisiert. Die Bestimmung der durchschnittlichen Polymerisationsgrade (DP) für Dextran und die hergestellten AZO-Dextrane erfolgte mittels GPC. Findet während der Synthese eine Vernetzungsreaktionen statt, so ist diese durch einen Anstieg der DP-Werte zu beobachten. Ein Vergleich der DP-Werte für Dextran des Stammes *Leuconostoc mesenteroides*-NRRL B-512F und den hergestellten Dextranderivaten ist nicht möglich, da unterschiedliche Messbedingungen vorliegen. Die nicht perpropionylierten (3a - 3c) und perpropionylierten (4a - 4c) Dextranderivate lassen hingegen ein Vergleich, aufgrund gleicher Messbedingungen, zu. Hierbei ist ein signifikanter Unterschied der DP-Werte zu beobachten (Tab. 2). Im Gegensatz dazu weisen die DP-Werte der perpropionylierten Dextranderivate keine Änderungen auf. Mit zunehmenden DS-Werten (Probe 3a - 3c) kann eine Erniedrigung der DP-Werte und damit ein Kettenabbau beobachtet werden.

Tabelle 2: Messwerte aus den GPC Messungen von Dextran und Dextran-4-phenylazobenzoat mit verschiedenen DS-Werten und den daraus berechneten DP-Werten

| Probe | DS | M_n [g·mol ⁻¹] | M_w [g·mol ⁻¹] | DP _n | DP _w | PDI |
|------------------------|------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|------|
| (Dextran) ^a | - | 3,3692 · 10 ⁴ | 5,6281 · 10 ⁴ | 187 | 312 | 1,67 |
| (3a) ^b | 0,75 | 3,1346 · 10 ⁴ | 5,7960 · 10 ⁴ | 78 | 145 | 1,85 |
| (3b) ^b | 1,54 | 2,7358 · 10 ⁴ | 4,7814 · 10 ⁴ | 45 | 79 | 1,75 |
| (3c) ^b | 1,72 | 1,7715 · 10 ⁴ | 3,6440 · 10 ⁴ | 22 | 45 | 2,07 |
| (4a) ^c | 0,73 | 1,1608 · 10 ⁴ | 2,7353 · 10 ⁴ | 23 | 53 | 2,37 |
| (4b) ^c | 1,29 | 1,5083 · 10 ⁴ | 3,3193 · 10 ⁴ | 23 | 50 | 2,20 |
| (4c) ^c | 1,82 | 1,7402 · 10 ⁴ | 3,3897 · 10 ⁴ | 21 | 42 | 1,95 |

^a – Dextran NRRL B-512F (SEC-8, LM = DMSO + 0,5 % LiBr, Kalibrationsstandard = Dextran, Brechungsindex-Detektor, Flussrate = 0,5 ml·min⁻¹)

^b – AZO-Dextran vor Perpropionylierung (SEC-9, LM = DMAc + 0,21 % LiCl, Kalibrationsstandard = Pullulan, Brechungsindex-Detektor), Flussrate = 1,0 ml·min⁻¹)

^c – AZO-Dextran nach Perpropionylierung (SEC-9, LM = DMAc + 0,21 % LiCl, Kalibrationsstandard = Pullulan, Brechungsindex-Detektor), Flussrate = 1,0 ml·min⁻¹)

Die relative Viskosität der AZO-Dextranderivate wurde in DMAc bestimmt.

Hierfür wurde zunächst die kinematische Viskosität des Lösungsmittels gemessen, um die relative Viskosität ($\eta_{rel} = \eta / \eta_{kin}$), d.h. die Wechselwirkung der gelösten Polymerknäule mit den Lösungsmittelmolekülen, zu bestimmen.⁵⁴ Für DMAc wurde eine kinematische Viskosität von $\eta_{kin} = 1.12023 \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ erhalten. Mit dem Anstieg der DS-Werte beobachtet man für AZO-Dextran eine Zunahme des hydrophoben Charakters und eine Abnahme der Löslichkeit in DMAc. Diese Verschlechterung der Löslichkeit spiegelt die schwächer werdende Wechselwirkung von Polymerknäuel und Lösungsmittelmolekül wider. Entsprechend der abnehmenden Wechselwirkung liegt eine Erniedrigung der relativen Viskosität vor (Tab. 3).

Tabelle 3: Ergebnisse für die Bestimmung der Viskosität von Dextran-4-phenylazobenzoat für verschiedene DS-Werte mit einer Konzentration von 2 mg/ml (in DMAc) bei 25 °C

| Probe | DS | η_{rel} | η_{spez} |
|-------|------|--------------|---------------|
| (3a) | 0,75 | 1,062 | 0,062 |
| (3b) | 1,54 | 1,054 | 0,054 |
| (3c) | 1,72 | 1,040 | 0,040 |

Aus den relativen Viskositäten für verschiedene Konzentrationen (2 mg/ml bis 5 mg/ml), konnten die Staudinger-Indizes ($[\eta]$) der AZO-Dextrane bestimmt werden. Diese bilden die Grundlage zur Berechnung von Knäuldichte (ρ_{aqu}), Knäuldurchmesser (d_{aqu}) und Knäulvolumen (V_{aqu}) der Polymere (Tab. 4). Für die Berechnung dieser Werte wurden die folgenden Formeln verwendet.

$$\rho_{aqu} = \frac{2,5}{[\eta]}$$

$$d_{aqu} = \sqrt[3]{\frac{6 \cdot M \cdot [\eta]}{2,5 \cdot \pi \cdot N_A}}$$

$$V_{aqu} = \frac{1}{6} \cdot \pi \cdot d_{aqu}^3$$

Avogadro-Konstante – $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \cdot \text{mol}^{-1}$

M = Molekulargewicht der Wiederholungseinheit im Polymer

$[\eta]$ – Staudinger-Index

Die Messungen der relativen Dielektrizitätskonstanten (DK) wurden an gelösten

Tabelle 4: Staudinger Indizes und Ergebnisse aus den Berechnungen mittels Viskositätswerten der AZO-Dextranderivate

| Probe | $[\eta]$ [cm ³ · g ⁻¹] | ρ_{aqu} [g · cm ⁻³] | d_{aqu} [nm] | V_{aqu} [nm ³] |
|-------|--|---|-------------------|---------------------------------|
| (3a) | 32,50 | 0,0769 | 10,89 | 676,21 |
| (3b) | 26,72 | 0,0936 | 9,75 | 485,30 |
| (3c) | 24,38 | 0,1025 | 8,18 | 286,59 |

AZO-Dextranen (in DMAc) durchgeführt. Als Grundlage für die Bestimmung dienen die im experimentellen Teil der Arbeit (Tab. 15) aufgeführten Kalibrationswerte.⁵⁵ In den Messergebnissen (Tab. 5) sind keine signifikanten Unterschiede der relativen Dielektrizitätskonstanten zwischen Lösungsmittel und AZO-Dextran zu beobachten. Die relativen DK der AZO-Dextrane können mit Werten zwischen $\epsilon_r = 0,11 - 0,15 \text{ A}\cdot\text{s}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ angegeben werden. Aufgrund eines systematischen Messfehlers von $\pm 0,03 \text{ A}\cdot\text{s}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$, ist eine Beurteilung der Dielektrizitätskonstanten hinsichtlich der DS-Werte nicht möglich, da eventuelle Unterschiede unterhalb der Auflösungsgrenze des Messgerätes liegen.

Tabelle 5: Relative DK-Werte für die hergestellten AZO-Dextranderivate, gelöst in DMAc

| KB | Probe | ϵ_r [A·s·V ⁻¹ ·m ⁻¹] | Messwertanzeige | | | | |
|----|-----------|---|-----------------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | MW |
| 2 | DMAc | 37,96 | 107,40 | 107,20 | 107,30 | 107,30 | 107,30 |
| 2 | DMAc + 3a | 37,85 | 107,40 | 107,80 | 107,90 | 107,90 | 107,75 |
| 2 | DMAc + 3b | 37,81 | 107,90 | 107,90 | 107,90 | 107,90 | 107,90 |
| 2 | DMAc + 3c | 37,81 | 107,90 | 107,90 | 107,90 | 107,90 | 107,90 |

Photochemisches Verhalten von AZO-Dextran

Die untersuchten Dextranderivate besitzen aufgrund des Azobenzenchromophors ein charakteristisches Absorptionsverhalten, welches mittels UV/VIS-Spektroskopie in drei Bereiche unterteilt werden kann (Abb. 11). Die stärkste Absorption im UV/VIS-Spektrum befindet sich zwischen 280 nm und 370 nm und weist ein deutliches Absorptionsmaximum bei 323 nm auf, hervorgerufen durch einen $\pi\pi^*$ -Übergang des Azobenzenchromophors. Der zweite Bereich liegt zwischen 370 nm

und 530 nm und besitzt ein deutlich niedrigeres Absorptionsmaximum bei 448 nm. Die Absorption in diesem Bereich ist auf einen $n\pi^*$ -Übergang des Azobenzens zurückzuführen. Im Gegensatz zu den ersten beiden Bereichen zeigt der dritte Bereich zwischen 240 nm und 280 nm ein deutliches Absorptionsminimum bei 257 nm. Dieser Bereich ist für die Untersuchung der Zeitabhängigkeit der Isomerisierung von Bedeutung, da er durch zwei isosbestische Punkte begrenzt wird.

Das photochemische Verhalten der AZO-Dextranderivate wurde mit Hilfe der UV/VIS Spektroskopie untersucht. Dazu wurden die Dextranderivate in Dichlormethan gelöst und mit UV-Licht einer Wellenlänge von $\lambda = 333$ nm belichtet. Durch Belichtung mit UV-Licht (trans/cis-Isomerisierung des gelösten Polymers) wird das Absorptionsverhalten stark beeinflusst. So sinkt die Absorptionsintensität im Bereich eins ab, wohingegen in den Bereichen zwei und drei ein Anstieg zu verzeichnen ist. Für den Bereich von $\lambda < 240$ nm wird die Zunahme des Absorptionsverhaltens durch das Lösungsmittel selbst verursacht, da Dichlormethan zwischen 200 nm und 250 nm ein Absorptionsmaximum aufweist. Die Änderungen im UV/VIS-Spektrum bewirken das Auftreten von isosbestischen Punkten bei 240 nm, 280 nm und 380 nm (Abb. 11). Diese stellen einen Nachweis für die Einheitlichkeit der durchgeführten Photoreaktion (Umwandlung von trans- und cis-Isomeren) dar. Dieser Wechsel entspricht einer Reaktion 0. Ordnung, deren

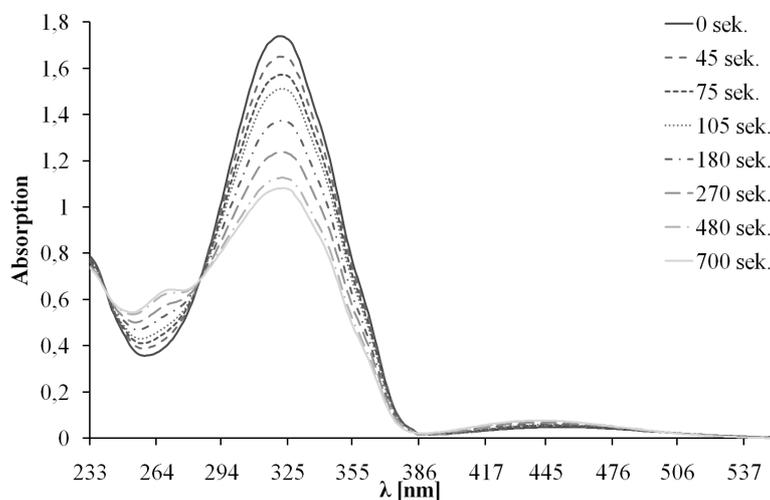


Abb. 11: Gemessene UV/VIS-Spektren von AZO-Dextran (3b, DS = 1,29) gelöst in Dichlormethan

Kinetik durch die folgenden Formeln beschrieben werden kann.

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k$$

$$\int d[A] = -k \int dt$$

$$[A]_0 - [A] = k \cdot t, \text{ bzw. } [A] - [A]_0 = -k \cdot t$$

Diese lineare Abhängigkeit der Änderung der Absorption von der Belichtungszeit kann für alle AZO-Dextrane beobachtet werden (Abb. 12). Allerdings strebt $[A]_0 - [A]$ einem Grenzwert zu, was sich durch das Erreichen des photostationären Zustands erklären lässt. Die Ergebnisse der Auswertung der Reaktion nach einer Kinetik nullter Ordnung sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Zudem sind die Zeiten für das Erreichen des photostationären Zustands angegeben.

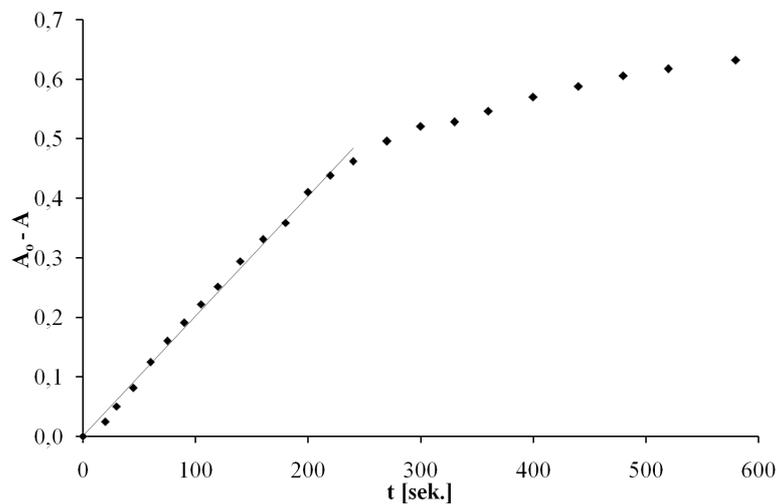


Abb. 12: Absorptionsmaxima von AZO-Dextran (3b, DS = 1,29) gelöst in Dichlormethan in Abhängigkeit von der Belichtungszeit bei einer Wellenlänge von 333 nm

Zur weiteren Charakterisierung des Absorptionsverhaltens wurde das im Folgenden angeführte Lambert-Beersche Gesetz zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten auf die UV/VIS-Spektren der AZO-Dextrane angewendet (Abb. 7). Als Rechengrundlage wurden die Absorptionsmaxima der $\pi\pi^*$ -Übergänge (323 nm) ohne UV-Belichtung, die Konzentrationen der Azobenzenchromophore in den Messlösungen und die Dicken der Messlösungen verwendet.

Tabelle 6: Mittels UV/VIS Spektroskopie ermittelte Reaktionskonstanten von in Dichlormethan gelösten Dextran-4-phenylazobenzoat

| Verbindung | DS | Reaktionskonstanten | zeitliche Grenze [sek] |
|-------------------|------|---------------------|---------------------------|
| (3a) ^a | 0,75 | - | - |
| (3b) | 1,54 | 0,0019 | 300 |
| (3c) | 1,72 | 0,0018 | 280 |
| (4a) | 0,73 | 0,0021 | 285 |
| (4b) | 1,29 | 0,0022 | 210 |
| (4c) | 1,82 | 0,0019 | 180 |

^a in Dichlormethan nicht löslich

$$E = \epsilon \cdot c \cdot d = -\ln\left(\frac{I_t}{I_0}\right) = A_\lambda$$

Tabelle 7: Ergebnisse für die Bestimmung der Extinktionskoeffizienten für Dextran-4-phenylazobenzoat mittels UV/VIS-Spektroskopie

| Verbindung | DS | λ [nm] | d [mm] | c [mmol · l ⁻¹] | A_λ | ϵ_λ [l · mol ⁻¹ · cm ⁻¹] |
|------------|------|-------------------|-----------|--------------------------------|-------------|---|
| (3b) | 1,54 | 323 | 10 | 0,0759 | 1,73232 | 2281 |
| (3c) | 1,72 | 323 | 10 | 0,0631 | 1,64455 | 2606 |
| (4a) | 0,73 | 323 | 10 | 0,0427 | 1,23957 | 2902 |
| (4b) | 1,29 | 323 | 10 | 0,0580 | 1,52468 | 2626 |
| (4c) | 1,82 | 323 | 10 | 0,0668 | 1,32744 | 1976 |

ϵ_λ – dekadischer molarer Extinktionskoeffizient in Abhängigkeit des Azobenzengehalts

c – Konzentration des Azobenzenchromophors in der Messlösung der Dicke d

I bzw. I_0 – Intensitäten des transmittierten Strahls zum Zeitpunkt 0 und t

A_λ – Absorptionsintensität für die Wellenlänge λ

Aus diesen Messwerten wurden die Extinktionskoeffizienten für das Azobenzenderivat beim $\pi\pi^*$ -Übergang für verschiedene DS-Werte berechnet (Abb. 7).

Da Derivat (3a) in Dichlormethan nicht löslich ist, wurde es in Tabelle 7 nicht eingetragen.

3.2 Methyl-4-phenylazobenzoat

Zur Überprüfung des photochemischen Verhaltens von AZO-Dextran und der Beeinflussung der *trans/cis*-Isomerisierung durch das Polymerrückgrat, wurde Methyl-4-phenylazobenzoat als niedermolekulares Vergleichsderivat synthetisiert und photochemisch untersucht.

3.2.1 Synthese von AZO-Methyl

Die Synthese von AZO-Methyl erfolgte durch Veresterung von Methanol mit Azobenzol-4-carbonsäure, wobei die Carbonsäure durch CDI *in-situ* aktiviert wurde. Das Produkt wurde im Anschluß in destilliertem Wasser (RT) gefällt und durch

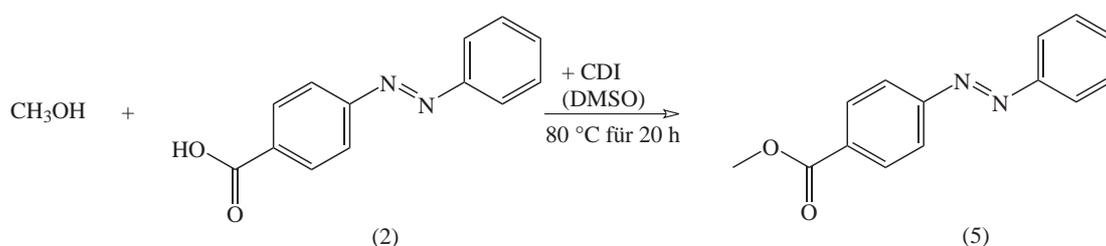


Abb. 13: Veresterung von Methanol mit Azobenzol-4-carbonsäure (2) unter Verwendung von Carbonyldiimidazol (CDI) in Dimethylsulfoxid (DMSO)

Umkristallisieren (100 °C) in selbigen gereinigt. Für die Reaktion wurde ausschließlich ein Stoffmengenverhältnis von 1:1:1 (Methanol : CDI : CS) eingesetzt.

3.2.2 Strukturaufklärung von AZO-Methyl

Die Strukturuntersuchung der erhaltenen Verbindung AZO-Methyl wurde mittels 1-dimensionaler ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) und 2-dimensionaler (HSQC) NMR-Spektroskopie durchgeführt. Aus den NMR-Spektren (Abb. 14) ist eine vollständige Signalzuordnung entsprechend der Struktur des AZO-Methyl möglich. Die Methylgruppe des AZO-Methyl wird im $^1\text{H-NMR}$ durch Signal 10 bei 4,00 ppm dargestellt. Der Nachweis der gebundenen Azobenzengruppe erfolgt durch die Signale 1 bis 3 und 6 bis 7 im Bereich von 7,40 ppm bis 8,80 ppm ($^1\text{H-NMR}$). Eine

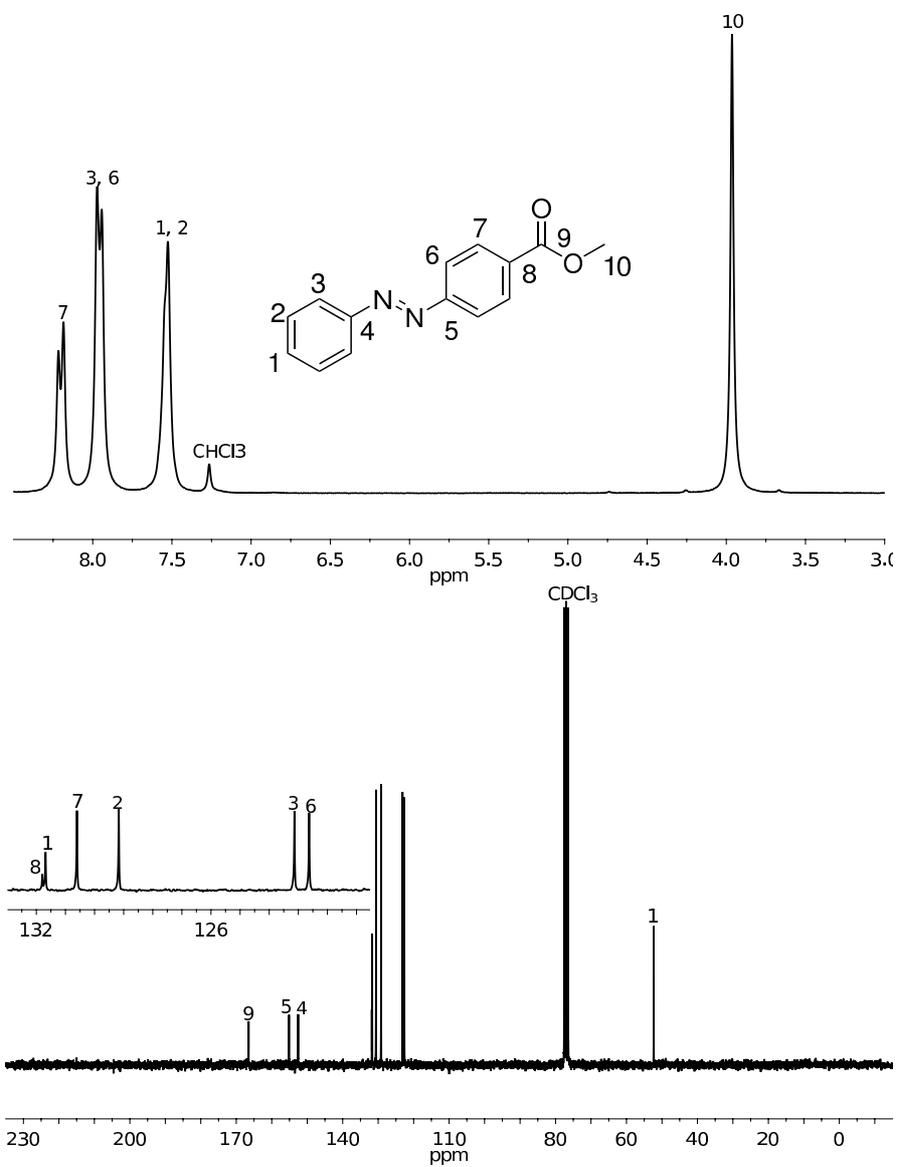


Abb. 14: $^1\text{H-NMR}$ (oben) und $^{13}\text{C-NMR}$ (unten) Spektrum von Methyl-4-phenylazobenzoat (5) in Chloroform- d_1

Aussage zum Isomerisierungszustand des Derivats ist aus den vorliegenden NMR-Spektren nicht möglich, da keine unterschiedlichen Signale für trans und cis Isomere vorliegen. Es liegt die Vermutung nahe, dass das Derivat vollständig als trans Isomer vorliegt, da trans-Azobenzol-4-Carbonsäure eingesetzt wurde.

3.2.3 Vergleich von AZO-Methyl und AZO-Dextran

Zur photochemischen Untersuchung wurde AZO-Methyl in Dichlormethan gelöst und mittels UV/VIS-Spektroskopie (Abb. 15) charakterisiert. AZO-Methyl zeigt einen ähnlichen Verlauf der Absorptionsintensität wie AZO-Dextran, wobei für alle AZO-Derivate (AZO-Dextran, AZO-Methyl) nach einer Belichtungszeit von circa 700 Sekunden mit einer Wellenlänge von $\lambda = 333$ nm der photostationäre Zustand eingestellt ist. Die Gegenüberstellung der UV/VIS-Spektren von AZO-Methyl und

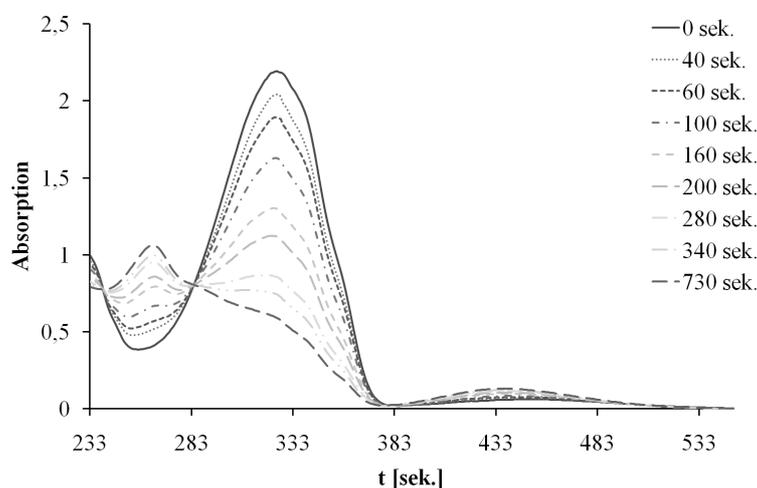


Abb. 15: Gemessenes UV/VIS Spektrum von Methyl-4-phenylazobenzoat (5), gelöst in Dichlormethan

AZO-Dextran lässt deutliche Unterschiede nach Erreichen des photostationären Zustands erkennen. Dabei ist zu beachten, dass für AZO-Methyl eine geringere Absorption für den $\pi\pi^*$ -Übergang des trans-Isomers und ein stärkerer Anstieg der Absorption im Bereich 240 nm bis 285 nm vorliegt.

Durch Auftragen der Absorptionsmaxima $[A]_0 - [A]$ von AZO-Methyl über die Belichtungszeit (t), kann für dieses Derivat eine lineare Abhängigkeit entsprechend einer Kinetik nullter Ordnung beobachtet werden (Abb. 16). Dabei strebt der Graph ab einer Belichtungszeit von $t \geq 400$ sek. einem Grenzwert zu, welcher

erneut durch das Erreichen des photostationären Zustands erklärt werden kann. Die Reaktionskonstante für die lineare Abhängigkeit von AZO-Methyl kann mit $k_1 = 0,0045$ ($t \leq 400$ sek.) angegeben werden. Der Vergleich der Reaktionskonstanten von AZO-Methyl und AZO-Dextran ist nur bedingt möglich, da signifikante Unterschiede in den Azobenzenkonzentrationen der Messlösungen vorliegen. Für das in Abbildung 16 dargestellte AZO-Dextran (3b) lag in der Messlösung eine Konzentration der photoaktiven Gruppe (Azobenzen) von $c = 0,759 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ und für das AZO-Methyl eine Konzentration von $c = 0,1469 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ vor.

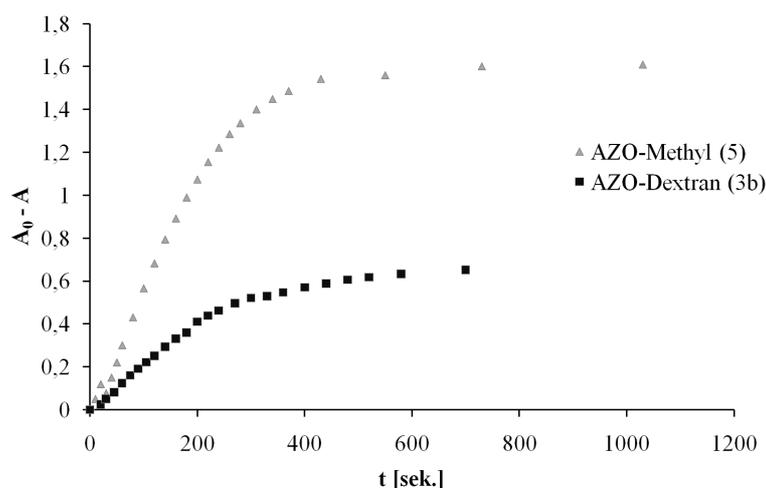


Abb. 16: Darstellung der zeitabhängigen Absorptionsmaxima von Methyl-4-phenylazobenzoat (5) und Dextran-4-phenylazobenzoat (3b), gelöst in Dichlormethan

Wegen der vorliegenden Reaktion nullter Ordnung ist die Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration der Azobenzenchromophore unabhängig, wird aber stattdessen von der Intensität der photochemischen Anregung und der sterischen Behinderung (Polymerrückgrat, Entanglements, etc.) der Isomerisierung beeinflusst.³⁶ Während der Untersuchungen der photochemischen Eigenschaften wurden die Versuchsbedingungen (Intensität der Anregung) nicht variiert, so dass eine Änderung der Azobenzenkonzentration keinen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit hatte. Die in Abbildung 16 und Tabelle 6 für AZO-Dextrane vorliegenden niedrigeren Reaktionskonstanten ($t \leq 400$ sek.) können somit durch die Behinderung des Isomerisierungsprozess (Polymerrückgrat) erklärt werden.

3.3 Nanopartikel aus AZO-Dextran

Ein wesentlicher Forschungsschwerpunkt der Arbeitsgruppe von Prof. Heinze ist die Herstellung von Nanopartikeln aus Polysacchariden, wodurch auf die vorhandenen präparativen Kenntnisse zurückgegriffen werden konnte. Zur Herstellung von Nanopartikeln wurden ausschließlich die in Abschnitt 3.1 bereits diskutierten Produkte verwendet.

3.3.1 Nanopartikel durch Dialyse

Die Dialysetechnik hat sich für die Herstellung von Nanopartikeln im Labormaßstab als geeignete Präparationsmethode erwiesen. Hierfür wurden Dextranderivate in einem mit Wasser mischbaren Lösungsmittel gelöst, die Polymerlösungen anschließend in Dialysemembranen gefüllt, diese verschlossen und vollständig in destilliertes Wasser getaucht. Durch den an der Dialysemembran vorliegenden Konzentrationsgradienten und die definierte Porengröße der Membran erfolgt der Austausch von Lösungsmittel gegen Wasser. Durch Mehrfach Austausch von Wasser und erneutem Konzentrationsausgleich kann das Lösungsmittel vollständig entfernt werden. Dieser Lösungsmittelaustausch führt zur Bildung von Nanopartikeln durch amphiphile Selbstanordnung. Die Einstellung der Partikelgröße kann über die Porengröße der Membran, die Konzentration der Lösung, das verwendete Lösungsmittel und das verwendete Derivat selbst erfolgen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde für die Herstellung von Nanopartikeln eine Konzentration von 4 mg/ml (AZO-Dextran) in DMAc verwendet. Die Nanopartikel wurden im Anschluss in wässrigen Suspensionen mittels dynamischer Lichtstreuung charakterisiert.

3.3.2 Charakterisierung der Nanopartikel

Durch Dialyse konnten aus den Dextranderivaten, mit Ausnahme von Probe (4c, DS = 1,82), Nanopartikel (Tab. 8) hergestellt werden. Die Nanopartikel besitzen Durchmesser zwischen 100 nm und 600 nm, wobei eine relativ enge Größenverteilung vorliegt (Tab. 8). Eine Erhöhung der DS-Werte führt zu einer Verkleinerung der durchschnittlichen Partikelgröße. Dieses Verhalten konnte Lösungsmittel unabhängig nachgewiesen werden. Durch Verwendung von THF wurden wesentlich größere Nanopartikel und Partikelgrößenverteilungen gebildet als mit DMAc.

Tabelle 8: Ergebnisse der Größenbestimmung durch REM-Aufnahmen und DLS-Messung für Nanopartikel aus Dextran-4-phenylazobenzoat mit einer Polymerkonzentration von 4 mg/ml und DMAc als Lösungsmittel

| Probe | Verbindung | DS | Partikelgröße | | PDI |
|-------|------------|------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | ∅ [nm] | ∅ [nm] | |
| PP17 | (3a) | 0,75 | 221,9 ^a | 213,5 ^b | 0,085 ^a |
| PP18 | (3b) | 1,54 | 240,2 ^a | 259,3 ^b | 0,137 ^a |
| PP19 | (3c) | 1,72 | 201,1 ^a | - ^c | 0,083 ^a |
| PPP20 | (4a) | 0,73 | 237,6 ^a | 242,5 ^b | 0,108 ^a |
| PPP21 | (4b) | 1,29 | 203,4 ^a | 223,8 ^b | 0,083 ^a |
| PPP22 | (4c) | 1,82 | - ^c | - ^c | - ^c |

^a - Mittelwert aus drei Messungen durch DLS

^b - Mittelwert aus 12 Größenmessungen durch Auswertung von REM Aufnahmen

^c - Vermessung der Probe nicht möglich

Tabelle 9: Ergebnisse der Größenbestimmung durch DLS-Messung für Nanopartikel aus Dextran-4-phenylazobenzoat mit THF als Lösungsmittel und einer Polymerkonzentration von 4 mg/ml

| Probe | Verbindung | DS | Partikelgröße | PDI |
|-------|------------|------|--------------------|-------|
| | | | ∅ [nm] | |
| PP10 | (3a) | 0,75 | 574,8 ^a | 0,327 |
| PP11 | (3b) | 1,54 | 454,6 ^a | 0,244 |
| PP12 | (3c) | 1,72 | 277,0 ^a | 0,264 |
| PPP13 | (4a) | 0,73 | 536,8 ^a | 0,209 |
| PPP14 | (4b) | 1,29 | 411,8 ^a | 0,206 |

^a - Mittelwert aus fünf Messungen durch DLS

Die Verkleinerung der Partikelgröße infolge der Erhöhung der DS-Werte kann durch den zunehmenden hydrophoben Charakter der Derivate und einer dichter gepackten Struktur erklärt werden.

Ein wichtiger Aspekt für die Beurteilung der Messergebnisse (DLS) ist die Partikelform, welche die Messergebnisse stark beeinflusst. Die Überprüfung von Form und Größe erfolgte durch Auswertung rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen von gefriergetrockneten Partikeln. Für alle Proben konnten sphärische Nanopartikel nachgewiesen werden. In diesen Aufnahmen liegen Partikel ohne eine Hydrathülle vor, wodurch der feste Partikeldurchmesser angegeben werden kann. Bei DLS-Messungen entspricht der angegebene Partikeldurchmesser (hydrodynamischer Durchmesser) dem festen Durchmesser plus Hydrathülle. Somit sind Partikeldurchmesser aus DLS-Messungen größer als aus REM-Aufnahmen.

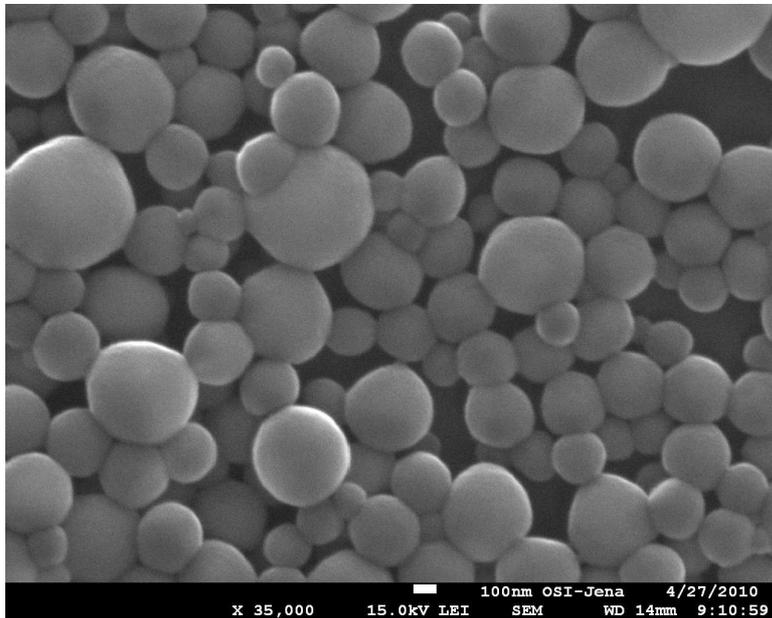


Abb. 17: REM - Aufnahme von Nanopartikeln, hergestellt aus Dextran-4-phenylazobenzoat (3a, DS = 0,75)

Die Verwendung von REM-Messwerten kann jedoch nur der groben Überprüfung von DLS-Messgrößen dienen, da die REM-Werte für die Partikelgrößen stark fehlerbehaftet sind. Hierbei sind systematische Fehler zu nennen, welche durch die Probenpräparation und Bildauswertung hervorgerufen werden, sowie statistische Fehler, welche durch die geringe Anzahl an Messwerten entstehen. Der Vergleich der REM- und DLS-Ergebnisse (Tab. 8) zeigt, dass durch die Vermessung

der REM-Bilder größere Partikeldurchmesser erhalten werden als durch die DLS-Messung. Für die Auswertung der REM-Bilder wurden 25 subjektiv ausgewählte Partikel vermessen und aus diesen der angegebene Mittelwert gebildet. Bereits bei Betrachtung der REM-Aufnahmen (Abb. 17) fällt auf, dass große Unterschiede (100 nm bis 400 nm) der Partikelgrößen innerhalb der Proben vorliegen. Während der Präparation kann ein Teil der Nanopartikel von der Probenoberfläche (Gefrier-trocknung) entfernt worden sein, so dass die Bilder nicht mehr der ursprünglichen Verteilung der Partikelgröße entsprechen. Von Nanopartikeln aus Derivat 3c konnten keine REM-Aufnahmen angefertigt werden, da auf dem Probenträger keinerlei Partikel zu finden waren.

Die Nanopartikel aus photoaktiven AZO-Dextran wurden mittels UV/VIS-Spektroskopie untersucht. Dabei liegt für alle Derivate ein veränderter Verlauf der Absorptionsintensität vor. Zur weiteren Untersuchung erfolgte die Aufnahme von streulichtkorrigierten UV/VIS-Spektren unter der Verwendung einer Ulbrichtkugel (Abb. 18). Für die Nanopartikel liegen in den streulichtkorrigierten UV/VIS-

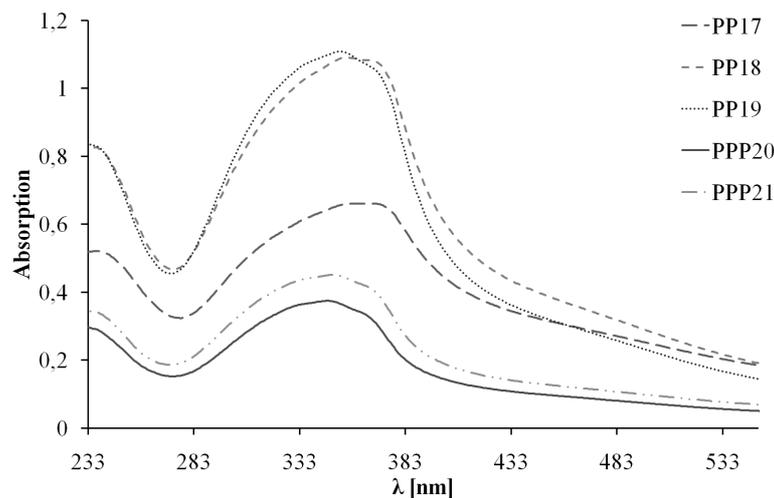


Abb. 18: Streulichtkorrigiertes UV/VIS-Spektrum für photoaktive Nanopartikel, hergestellt aus Dextran-4-phenylazobenzoat mit verschiedenen DS-Werten

Spektren unterschiedliche Absorptionsintensitäten bei Messbeginn vor, welche durch geringe Konzentrationsunterschiede der Partikelsuspensionen und durch unterschiedliche Partikelgrößen erklärt werden können. Zudem kann ab einer Wellenlänge von $\lambda = 600$ nm ein kontinuierlicher Anstieg der Absorptionsintensitäten beobachtet werden. Für die Nanopartikel ist die Absorption bei Messbeginn nicht,

wie in Abbildung 11 beobachtet, nahezu Null, weshalb der $n\pi^*$ -Übergang des Azobenzenchromophors in den Nanopartikelspektren nicht mehr erkennbar ist. Bei dem photochemischen Verhalten dieser Systeme ist zu berücksichtigen, dass neben der Intensität der Strahlungsquelle die Partikelgröße einen Einfluss auf das Absorptionsverhalten haben kann. So kann durch die Partikelgröße und die Anzahl von Azobenzengruppen an der Partikeloberfläche die Streuung des Lichts in der Messlösung beeinflusst werden. Der Einfluss der Partikelgröße wäre dabei nur messbar, wenn alle Partikel eine einheitliche Größe, alle Suspensionen die gleiche Konzentration hätten und die Messung des streulichtkorrigierten Spektrums vor der Ulbrichtkugel stattfinden würden. So könnte ein raumwinkelabhängiger Messbereich mit definierten Messgrößen für die Charakterisierung verwendet werden.

Weiterhin wurde der Einfluss von UV-Licht auf die Partikelgröße (photomechanischer Effekt) untersucht. Hierfür wurden die hergestellten Partikelsuspensionen verdünnt (240 μl auf 10 ml) und mit UV-Licht ($\lambda = 333 \text{ nm}$) belichtet. Nach Belichtungsintervallen von 10 s, 30 s, 60 s, 120 s. und 10 min wurden die Suspensionen mit DLS bezüglich Partikelgröße und Zetapotential vermessen. Dabei konnten keinen signifikanten Änderungen der Partikelgrößen und Zetapotentiale nachgewiesen werden. Lediglich bei instabilen Partikelsuspensionen (Lagerstabilität überschritten) konnten signifikante Größenänderungen von 100 nm - 200 nm erzeugt werden. Das Ausbleiben des photomechanischen Effektes könnte durch die Lage der Chromophore in der Polymerkette erklärt werden, da diese als funktionelle Seitengruppen vorliegen und nicht innerhalb des Polymerrückgrats. Trotz der Summe an Polymerketten und funktionellen Gruppen innerhalb der Nanopartikel scheinen diese nicht auszureichen, um eine makroskopische Änderung zu induzieren. Eine Verbesserung des photomechanischen Verhaltens könnte durch Einbau der Chromophore in das Polymerrückgrat erzielt werden, da so ein weitaus größerer geometrischer Platzbedarf während der Isomerisierung benötigt würde. Zur Überprüfung des Isomerisierungsverhaltens der Nanopartikel wurden zusätzlich UV/VIS-Spektren in Abhängigkeit von der UV-Belichtungszeit aufgenommen. Es konnte eine geringe Änderung der Absorptionsintensität von 2,7 % bis 3,5 % (trans/cis-Isomerisierung) nachgewiesen werden. Dies deutet in Verbindung mit dem nicht vorhandenen photomechanischen Effekt auf eine Behinderung oder Unterbindung des Isomerisierungsprozesses innerhalb der Nanopartikel hin. Eine abschließende Aussage zum Einfluss der Partikelgröße auf das Absorptionsverhalten,

sowie zum Ablauf der photochemischen Reaktion, war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor auf die Partikelgröße ist deren Stabilität. Während konstante Partikelgrößen für wässrige Suspensionen aus perpropionylierten AZO-Dextran für maximal zwei Monate vorlagen, konnten für nicht perpropionylierte AZO-Dextrane Lagerstabilitäten von mindestens zwei und maximal drei Monaten beobachtet werden. Aufgrund von starken Kohäsionskräften bilden die Nanopartikel dann Aggregate. Dieses Verhalten ist überraschend, da durch Austausch von Hydroxylgruppen am Polymerrückgrat (Perpropionylierung) die Ausbildung von Kohäsionskräften unterbunden werden sollte. Die Stabilität der Partikel in Abhängigkeit von mechanischer Beeinflussung konnte durch Behandlung mit Ultraschall untersucht werden. Hierfür wurden die aggregierten und nicht aggregierten Proben mit verschiedenen Zeitintervallen und Intensitäten (Amplituden) behandelt. Durch Ultraschall konnte in aggregierten Proben eine geringfügige und zeitlich begrenzte (< 15 min) Zerteilung von Aggregaten erzeugt werden. Ein Zusammenhang zwischen variierten Parametern und gemessenen Partikelgrößen konnte nicht hergestellt werden. Ebenso konnte keine Wirkung von Ultraschall auf lagerstabile Proben nachgewiesen werden.

Neben der Einwirkung von äußeren mechanischen Kräften kann der Charakter des umgebenden Milieus (saure und basische Umgebung) einen entscheidenden Einfluss auf die Stabilität der Partikel haben. Für die Untersuchung wurde ein Borat-Bersteinsäure-Puffer (3,73 M) nach Kolthoff mit einem pH-Wert von vier und ein Borsäurepuffer (0,15 M) nach Clark und Lubs mit einem pH-Wert von neun verwendet.⁵⁶ Von beiden Pufferlösungen wurden Verdünnungsreihen mit jeweils 100 μl auf 10 ml (drei Verdünnungen) hergestellt und von diesen 0,5 ml zu 1 ml Partikellösung ($c = 0,57 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) zugegeben (Tab. 10). Durch Änderung der pH-Werte konnte keine Aggregation der Partikel beobachtet werden. Für leicht saure und basische Partikellösungen ist wie für neutrale Proben eine Sedimentation der Partikel zu beobachten, wobei diese bei pH-Wert 4 und 9 am schnellsten stattfindet. Durch Schütteln konnten alle Proben redispersiert werden, ohne dass eine Veränderung der Partikel eintrat.

Wie für Dextranlösungen erfolgte für Nanopartikel die Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten. Hierfür wurden Nanopartikel in wässriger Suspension vermessen und die Messwerte auf bereits vorhandene Kalibrationskurven (Tab. 15) angewendet. Nach Abzug der Dielektrizitätskonstante für Wasser erhält man für die

Tabelle 10: Ergebnisse der pH-Stabilitätsuntersuchung von Nanopartikeln, hergestellt aus AZO-Dextran und den entsprechenden Versuchslösungen (3a, DS = 0,73)

| Bez. | Versuchslösung (Derivat + Pufferlösung) | n [mol] | pH-Wert | Stabilität |
|------|--|------------|---------|------------|
| 1-0 | 3a + PS0 ^a | 2,4860 | 4 | v |
| 1-1 | 3a + PS1 ^a | 0,2486 | 5 - 6 | v |
| 1-2 | 3a + PS2 ^a | 0,0248 | 6 | v |
| 1-3 | 3a + PS3 ^a | 0,0024 | 6 - 7 | v |
| 2-0 | 3a + PB0 ^b | 0,1000 | 9 | v |
| 2-1 | 3a + PB1 ^b | 0,0100 | 7 | v |
| 2-2 | 3a + PB2 ^b | 0,0010 | 6 - 7 | v |
| 2-3 | 3a + PB3 ^b | 0,0001 | 6 | v |

v - Partikel sind stabil, keine Agglomeration oder Aggregation

^a - Borat-Bersteinsäure-Puffer nach Kolthoff

^b - Borsäurepuffer nach Clark und Lubs

Nanopartikel aus AZO-Dextran DK-Werte (Tab. 11) von $\epsilon_r = 0,24 - 0,80 \text{ A}\cdot\text{s}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ und aus perpropionylierten Dextran von $\epsilon_r = 1,09 - 1,15 \text{ A}\cdot\text{s}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$. Aufgrund des vorliegenden systematischen Messfehlers von $\pm 0,03 \text{ A}\cdot\text{s}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ ist eine Beurteilung der Abhängigkeit der Dielektrizitätskonstanten vom Substitutionsgrad nicht möglich, da eventuelle Unterschiede unterhalb der Auflösungsgrenze des Messgerätes liegen.

Tabelle 11: Relative DK-Werte von Nanopartikeln aus AZO-Dextranen in wässriger Suspension, gemessen im Kalibrationsbereich 3

| Probe | Verbindung | ϵ_r [$\frac{\text{A}\cdot\text{s}}{\text{V}\cdot\text{m}}$] | Messwertanzeige | | | | Mittelwert |
|-------|------------|---|-----------------|-------|-------|-------|------------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| PP17 | 3a | 81,24 | 52,30 | 52,30 | 52,40 | 52,40 | 52,35 |
| PP18 | 3b | 80,97 | 53,30 | 53,40 | 53,40 | 53,40 | 53,38 |
| PP19 | 3c | 80,80 | 54,10 | 54,00 | 54,10 | 53,80 | 54,00 |
| PPP20 | 4a | 81,09 | 52,80 | 52,90 | 53,00 | 53,00 | 52,93 |
| PPP21 | 4b | 81,15 | 52,80 | 52,80 | 52,60 | 52,60 | 52,70 |

3.4 Präparative Methoden zur Herstellung von Nanopartikeln

Im Rahmen der Diplomarbeit sollten mit Hilfe verschiedener Präparationstechniken (Pipettierroboter, Inkjet-Printer) Nanopartikel hergestellt, Versuche zum Auftreten des OUZO-Effektes durchgeführt und die Präparationstechniken bezüglich ihrer Eignung zur Partikelherstellung beurteilt werden. In Vorbereitung auf die Verwendung dieser Geräte wurden Vorversuche zum Eintropfverhalten von Dextranlösungen in Wasser und von Wasser in Dextranlösungen durchgeführt. Die Lösungen wurden mittels Tropftrichter zugetropft, während die Basislösungen gerührt wurden. Alle Nanopartikelsuspensionen wurden nach ihrer Herstellung mittels DLS ausgewertet. Die zur korrekten Auswertung nötigen Brechungsindizes und Viskositätswerte wurden über definierte Lösungsmittelgemische bestimmt und daraus Kalibrationskurven berechnet. Zur Untersuchung des OUZO-Effektes wurden bei beiden Geräten die eingesetzten Polymerkonzentrationen im Lösungsmittel ($0,1 - 4,0 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) und das Verhältnis von Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel ($0,071 - 0,5$) variiert.

3.4.1 Pipettierroboter

Die Präparation von Nanopartikeln mittels Pipettierroboter erfolgte durch Vorlegen einer Basislösung (Nicht-Lösungsmittel oder Polymerlösung) in Wellplates und sukzessives Zugeben einer zweiten Lösung (Polymerlösung oder Nicht-Lösungsmittel), wobei amphiphile Selbstanordnung die Bildung von Nanopartikeln bewirkte. Für die Präparation konnte am Gerät Eintropfvolumen, Eintropfzeit und Präparationsablauf festgelegt werden. Nach Herstellerangaben ist die Verwendung von DMAc als Lösungsmittel nicht möglich, woraufhin THF ausgewählt wurde. Mit beiden Lösungsmitteln wurden bereits Nanopartikel mittels Dialyse hergestellt, so dass ein Vergleich der erhaltenen Messwerte (Dialyse, Eintropfmethode) möglich ist. Vorversuche zur Eintropfmethode zeigten für das Zutropfen von Nicht-Lösungsmittel zum Lösungsmittel eine begünstigte Bildung von Nanopartikeln und die Unterbindung von Aggregatbildung. Diese Variante ist aber in Verbindung mit leicht flüchtigen Lösungsmitteln ($T_B(\text{THF}) = 65,81 \text{ °C}$) problematisch, da durch hohe Verdampfungsraten, kleine Probenmengen der Polymerlösung und lange Präparationszeiten keine definierten Probenkonzentrationen einstellbar

sind. Daher wurden AZO-Dextranlösungen in Wasser eingetropft, indem in alle 96 Wells Wasser vorgelegt und im Anschluss Polymerlösung zugegeben wurde (Abb. 19). Da der Pipettierroboter über keinen Magnetrührer verfügt, konnte ein Konzentrationsausgleich der Proben nur durch vollständiges Eintropfen der Polymerlösung unter Druck und mehrfaches Aufziehen und Ausleeren der Pipetten erfolgen.

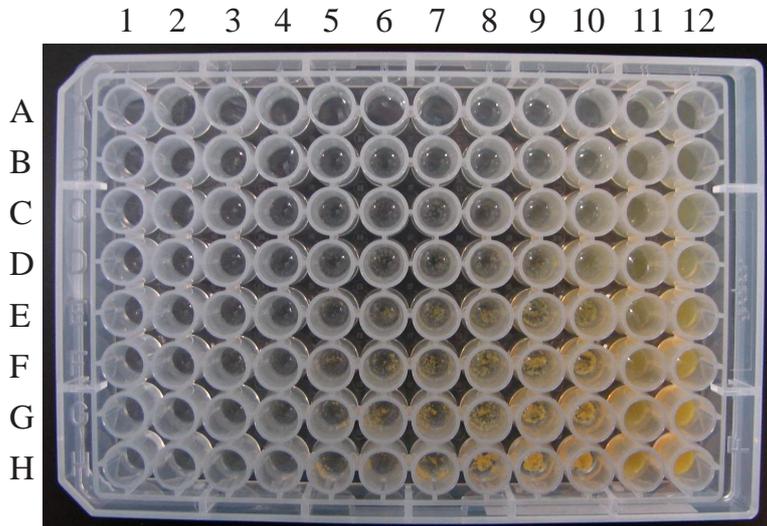


Abb. 19: Hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3b, DS = 1,29) in einer 96 Wellplate

Variation des LM/Nicht-LM Verhältnisses - Reihe A = 0,071 – H = 0,5

Variation der Polymerkonzentration - Spalte 1 = 0,01 mg·ml⁻¹ – 12 = 4 mg·ml⁻¹

Für Proben mit einer Polymerkonzentration von 4 mg·ml⁻¹ (Abb. 19) konnte nach Abschluss der Präparation keine sofortige Aggregation oder Partikelbildung beobachtet werden. Das Polymer lag zunächst in Lösung vor, fiel aber innerhalb von 2 h bei 23,0°C sukzessive aus. Im Anschluss an diese Wartezeit wurden alle Proben in Quartzglas-Wellplates transferiert und vermessen (Tab. 12). Die durch DLS Messung erhaltenen Ergebnisse haben jedoch aufgrund von Gerätefehlern und systematischen Fehlern bei der Probenpräparation nur eine geringe Aussagekraft. Problematisch ist dabei der Transfer von Partikellösungen in Quartzglas-Wellplates, da durch Aggregation und Sedimentation innerhalb der Proben Aggregate nicht mit übertragen und somit Präparationsergebnisse verfälscht werden können. Demzufolge musste für die Beurteilung der Ergebnisse, bestimmt via DLS, eine zusätzliche optische Kontrolle der Proben stattfinden.

Eine nahezu fehlerfrei präparierte Titrierplatte ist in Abbildung 19 dargestellt. Es lassen sich für die Bereiche mit hoher Polymerkonzentration (Spalten 10 bis 12) und hohem Verhältnis von Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel (Reihen E bis H) stark orange gefärbte und durch Aggregation getrübe Suspensionen erkennen. Alle hergestellten Titrierplatten aus verschiedenen AZO-Dextranderivaten entsprechen in ihrer farblichen Verteilung und ihrem Aggregationsverhalten Abbildung 19.

Tabelle 12: DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54)

| Probenfeld | Konzentration [mg·ml ⁻¹] | LM / N-LM | Partikeldurchmesser ∅ [nm] | PDI |
|------------|---|-----------|-------------------------------|-------|
| A 1 | 0,100 | 0,071 | 83,60 | 0,021 |
| A 2 | 0,140 | 0,071 | 148,69 | 0,019 |
| A 3 | 0,196 | 0,071 | 96,42 | 0,033 |
| A 4 | 0,273 | 0,071 | 107,62 | 0,004 |
| A 5 | 0,382 | 0,071 | 194,66 | 0,052 |
| A 6 | 0,535 | 0,071 | 124,14 | 0,028 |
| A 7 | 0,748 | 0,071 | 205,26 | 0,081 |
| A 8 | 1,046 | 0,071 | 122,03 | 0,040 |
| A 9 | 1,463 | 0,071 | 91,35 | 0,029 |
| A 10 | 2,045 | 0,071 | 117,59 | 0,022 |
| A 11 | 2,860 | 0,071 | 67,86 | 0,030 |
| A 12 | 4,000 | 0,071 | 115,40 | 0,065 |
| B 1 | 0,100 | 0,094 | 93,56 | 0,014 |
| B 2 | 0,140 | 0,094 | 132,95 | 0,063 |
| B 3 | 0,196 | 0,094 | - | - |
| B 4 | 0,273 | 0,094 | - | - |
| B 5 | 0,382 | 0,094 | 189,53 | 0,134 |
| B 6 | 0,535 | 0,094 | 124,45 | 0,033 |
| B 7 | 0,748 | 0,094 | 104,08 | 0,020 |
| B 8 | 1,046 | 0,094 | 99,91 | 0,004 |
| B 9 | 1,463 | 0,094 | 145,87 | 0,087 |
| B 10 | 2,045 | 0,094 | 84,93 | 0,028 |
| B 11 | 2,860 | 0,094 | 63,28 | 0,023 |
| B 12 | 4,000 | 0,094 | 48,76 | 0,009 |

Tabelle 12: DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54)

| Probenfeld | Konzentration [mg·ml ⁻¹] | LM / N-LM | Partikeldurchmesser ∅ [nm] | PDI |
|------------|---|-----------|-------------------------------|-------|
| C 1 | 0,100 | 0,125 | 105,89 | 0,028 |
| C 2 | 0,140 | 0,125 | 110,13 | 0,057 |
| C 3 | 0,196 | 0,125 | - | - |
| C 4 | 0,273 | 0,125 | 110,51 | 0,052 |
| C 5 | 0,382 | 0,125 | 86,05 | 0,006 |
| C 6 | 0,535 | 0,125 | 115,68 | 0,068 |
| C 7 | 0,748 | 0,125 | 93,58 | 0,019 |
| C 8 | 1,046 | 0,125 | 87,74 | 0,001 |
| C 9 | 1,463 | 0,125 | 92,06 | 0,015 |
| C 10 | 2,045 | 0,125 | 84,37 | 0,011 |
| C 11 | 2,860 | 0,125 | 58,76 | 0,027 |
| C 12 | 4,000 | 0,125 | 46,07 | 0,075 |
| D 1 | 0,100 | 0,164 | 140,12 | 0,055 |
| D 2 | 0,140 | 0,164 | 137,16 | 0,043 |
| D 3 | 0,196 | 0,164 | 136,33 | 0,041 |
| D 4 | 0,273 | 0,164 | 239,44 | 0,080 |
| D 5 | 0,382 | 0,164 | 103,49 | 0,067 |
| D 6 | 0,535 | 0,164 | 97,00 | 0,095 |
| D 7 | 0,748 | 0,164 | 65,12 | 0,095 |
| D 8 | 1,046 | 0,164 | 96,49 | 0,025 |
| D 9 | 1,463 | 0,164 | 91,94 | 0,028 |
| D 10 | 2,045 | 0,164 | 83,97 | 0,022 |
| D 11 | 2,860 | 0,164 | 54,39 | 0,006 |
| D 12 | 4,000 | 0,164 | 42,75 | 0,114 |
| E 1 | 0,100 | 0,217 | - | - |
| E 2 | 0,140 | 0,217 | 110,20 | 0,038 |
| E 3 | 0,196 | 0,217 | 112,68 | 0,201 |
| E 4 | 0,273 | 0,217 | 100,94 | 0,016 |
| E 5 | 0,382 | 0,217 | 88,47 | 0,020 |
| E 6 | 0,535 | 0,217 | 180,40 | 0,054 |

Tabelle 12: DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54)

| Probenfeld | Konzentration [mg·ml ⁻¹] | LM / N-LM | Partikeldurchmesser ∅ [nm] | PDI |
|------------|---|-----------|-------------------------------|-------|
| E 7 | 0,748 | 0,217 | - | - |
| E 8 | 1,046 | 0,217 | 93,67 | 0,007 |
| E 9 | 1,463 | 0,217 | 99,49 | 0,011 |
| E 10 | 2,045 | 0,217 | 93,67 | 0,014 |
| E 11 | 2,860 | 0,217 | 54,68 | 0,026 |
| E 12 | 4,000 | 0,217 | 40,24 | 0,112 |
| F 1 | 0,100 | 0,287 | - | - |
| F 2 | 0,140 | 0,287 | - | - |
| F 3 | 0,196 | 0,287 | - | - |
| F 4 | 0,273 | 0,287 | - | - |
| F 5 | 0,382 | 0,287 | 94,62 | 0,135 |
| F 6 | 0,535 | 0,287 | 94,41 | 0,093 |
| F 7 | 0,748 | 0,287 | 99,76 | 0,093 |
| F 8 | 1,046 | 0,287 | 86,14 | 0,001 |
| F 9 | 1,463 | 0,287 | 92,46 | 0,020 |
| F 10 | 2,045 | 0,287 | 69,10 | 0,031 |
| F 11 | 2,860 | 0,287 | 50,46 | 0,036 |
| F 12 | 4,000 | 0,287 | 38,45 | 0,131 |
| G 1 | 0,100 | 0,379 | - | - |
| G 2 | 0,140 | 0,379 | - | - |
| G 3 | 0,196 | 0,379 | 67,78 | 0,028 |
| G 4 | 0,273 | 0,379 | 116,71 | 0,040 |
| G 5 | 0,382 | 0,379 | 85,85 | 0,077 |
| G 6 | 0,535 | 0,379 | 109,39 | 0,074 |
| G 7 | 0,748 | 0,379 | - | - |
| G 8 | 1,046 | 0,379 | 99,65 | 0,036 |
| G 9 | 1,463 | 0,379 | 145,73 | 0,247 |
| G 10 | 2,045 | 0,379 | - | - |
| G 11 | 2,860 | 0,379 | 62,40 | 0,103 |
| G 12 | 4,000 | 0,379 | 38,14 | 0,231 |

Tabelle 12: DLS-Messwerte für mittels Pipettierroboter hergestellte Nanopartikel aus AZO-Dextran (3a; DS = 1,54)

| Probenfeld | Konzentration [mg·ml ⁻¹] | LM / N-LM | Partikeldurchmesser ∅ [nm] | PDI |
|------------|---|-----------|-------------------------------|-------|
| H 1 | 0,100 | 0,500 | - | - |
| H 2 | 0,140 | 0,500 | - | - |
| H 3 | 0,196 | 0,500 | - | - |
| H 4 | 0,273 | 0,500 | - | - |
| H 5 | 0,382 | 0,500 | - | - |
| H 6 | 0,535 | 0,500 | - | - |
| H 7 | 0,748 | 0,500 | 38,14 | 0,231 |
| H 8 | 1,046 | 0,500 | - | - |
| H 9 | 1,463 | 0,500 | - | - |
| H 10 | 2,045 | 0,500 | - | - |
| H 11 | 2,860 | 0,500 | - | - |
| H 12 | 4,000 | 0,500 | - | - |

Als Ursache für leere Bereiche in den Messtabellen können nicht auswertbare Proben, fehlerhaft präparierte Proben oder stark fehlerbehaftete Messwerte (zu großer Fehlerbereich) angegeben werden. Die Messergebnisse zeigen für fast alle Proben PDI-Werte von kleiner 0,1 und damit eine sehr enge Partikelgrößenverteilung. Wie erwartet liegen für aggregierte Proben die kleinsten Partikelgrößen vor, so dass diese bei der Auswertung zu vernachlässigen sind. Für Messwerte ohne Aggregation von Nanopartikeln liegen innerhalb der Konzentrationsreihen relativ große Schwankungen der Partikelgrößen vor, wodurch keine Tendenz zur Ausbildung eines OUZO-Bereichs zu verzeichnen ist. Dieser sollte bei Variation der Polymerkonzentration durch Bildung von konstanten Partikelgrößen zu erkennen sein. Der Vergleich von Messwerten mit Ergebnissen der Dialyse zeigt für die mittels Pipettierroboter hergestellten Partikel eine geringere Partikelgröße und Größenverteilung. Die Messwerte konnte teilweise mit Wiederholungsmessungen belegt werden.

Grundsätzlich sind Pipettierroboter für die definierte Herstellung von Nanopartikeln gut geeignet. Dabei kann die Präparation voll automatisch und reproduzierbar durchgeführt werden, was jedoch stark abhängig vom verwendeten Derivat und

Lösungsmittel-System ist. So sind das untersuchte Polymer-Lösungsmittel-System und Proben, die ein permanentes Rühren verlangen, für diese Präparationsmethode ungeeignet. Weiterhin kann bei diesem Gerät die Tropfengröße, welche auf die Nanopartikelbildung einen großen Einfluss besitzt, nicht bestimmt oder eingestellt werden.

3.4.2 Inkjet-Printer

Die Präparation von Nanopartikeln mittels Inkjet-Printer erfolgte ebenfalls über die Eintropfmethode in Wellplates. Um die Präparationstechniken der Eintropfmethode (Pipettierroboter, Inkjet-Printer) untereinander vergleichen zu können, wurde erneut Wasser als Basislösung vorgelegt und Dextranlösung sukzessiv zuge tropft. Ebenfalls kann für den Inkjet-Printer der entgegengesetzte Präparationsweg verwendet werden, da DMAc laut Hersteller als Lösungsmittel für das Gerät zugelassen ist. Hierbei führt der Einsatz von Wasser (Nicht-Lösungsmittel) als Eintropfmedium aber zu einer deutlichen Erhöhung der Eintropfzeit, da kleinere Tropfen ($30\ \mu\text{m}$) vorliegen und größere Volumen zugetropft werden müssen.

Für die Präparation war zunächst die Berechnung der Eintropfzeiten nötig, da der Inkjet-Printer über keine Kontrolle des Eintropfvolumens, der Tropfenzahl, Tropfenform und zeitlichen Abfolge des Eintropfens verfügte. Zur Berechnung der Eintropfzeiten erfolgte die Bestimmung der Tropfengröße (via CCD-Kamera), sowie die Berechnung des Tropfenvolumens aus dieser. Die Tropfengröße wurde dabei durch die Frequenz (angelegte Spannung) mit der Tropfen von der Druckernadel abgegeben wurden, die Konzentration der Lösung, den Pumpendruck und den Innendurchmesser der Druckernadel eingestellt. Für die Variation dieser Parameter stehen zudem verschiedene Druckernadelsysteme zur Verfügung, welche unterschiedliche Vorratsbehälter ($25\ \mu\text{l}$ - $10\ \text{ml}$) und Nadeldurchmesser ($30\ \mu\text{m}$ bis $70\ \mu\text{m}$) besitzen. Für die Berechnung des Eintropfvolumens wurden sphärische Tropfen angenommen. Während der Präparation konnten alle Proben simultan gerührt werden.

Für die Probenpräparation wurde eine Tropfengröße von $d = 50\ \mu\text{m}$ ($\pm 4\ \mu\text{m}$) eingestellt und die Tropfen mit einer Frequenz von $200\ \text{Hz}$ ($75\ \text{V}$) eingetro pft. Aufgrund hoher Eintropfzeiten von zehn bis zwölf Minuten pro zehn Mikroliter Polymerlösung wurden Proben nur für ein Verhältnis von Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel von $0,094$ (alle Polymerkonzentrationen) angefertigt. Für die Auswertung mittels DLS war erneut der Transfer von Partikellösungen in die

Quartzglas-Wellplates problematisch (Aggregation, Sedimentation), so dass eine optische Kontrolle nötig war.

Für die mittels Inkjet-Printer hergestellten Proben liegen keine auswertbaren Messergebnisse vor, da in alle Proben trotz permanenten Rührens Aggregation vorlag. Die erwartete Ausbildung von Nanopartikeln entsprechend des OUZO-Effektes konnte hier nicht beobachtet werden, obwohl durch geringe Eintropfmengen und langsam steigende Konzentrationsgradienten eine entsprechende Ausbildung von Nanopartikeln zu Präparationsbeginn möglich gewesen wäre. Stattdessen wurde unmittelbar nach Beginn des Eintropfens die Bildung von Aggregaten beobachtet.

Der Inkjet-Printer ist grundsätzlich für die Präparation von Nanopartikeln mit definierten Parametern gut geeignet. Durch zahlreiche Einstellmöglichkeiten des Gerätes können sehr gut die Einflussfaktoren auf die Partikelbildung variiert und untersucht werden. Die Präparation kann dabei voll automatisch und reproduzierbar durchgeführt werden. Dies ist aber nur für einen geringen Probenumfang von Vorteil, da sich aus den Tropfengrößen, Eintropffrequenzen und Probengrößen sehr große Präparationszeiten ergeben. Weiterhin ist die Eignung dieser Präparationsmethode stark von den verwendeten Polymer- und Lösungsmittel-Systemen abhängig.

3.5 Dünne Schichten aus AZO-Dextran

Zur Überprüfung des photochemischen Verhaltens im festen Zustand erfolgte die Herstellung von dünnen Schichten aus AZO-Dextran. Hierfür wurde exemplarisch das Derivat 3c mit einem DS von 1,72 (Abschnitt 3.1) verwendet.

3.5.1 Herstellung dünner Schichten

Für die Herstellung wurde AZO-Dextran in spektrenreinem Dichlormethan gelöst (50 mg/ml) und auf rotierende Substrate aufgetropft. Durch den niedrigen Siedepunkt dieses Lösungsmittels ($T_B = 39,7 \text{ °C}$) konnten die Schichten nach der Herstellung durch weiterführende Rotation (3 min) bei Raumtemperatur getrocknet werden. Als Substrat wurde Quartzglas verwendet, welches für photochemische Untersuchungen geeignet ist. Die Variation von Dicke und Homogenität der Schichten erfolgte durch die eingestellten Präparationsbedingungen: Polymerkonzentration, Drehzahl, Tropfenvolumen und verwendetes Lösungsmittel.

3.5.2 Charakterisierung von dünnen Schichten

Die Charakterisierung der leicht orangefarbenen und transparenten Schichten aus AZO-Dextran erfolgte mittels UV/VIS-Spektroskopie (Abb. 20) und Kontaktwinkelmessung. Für die UV/VIS-Spektroskopie wurden die Schichten senkrecht zum Strahlengang ausgerichtet und im gleichen Winkel mit UV-Licht (333 nm) belichtet.

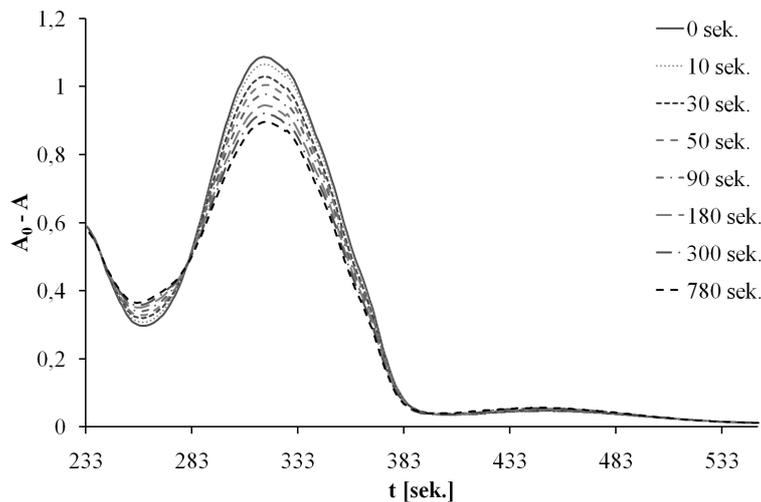


Abb. 20: Gemessene UV/VIS-Spektren für eine dünne Schicht (DS1) aus AZO-Dextran (3c, DS = 1,72)

Der Vergleich der UV/VIS-Spektren von AZO-Dextran in Lösung (Abb. 11) und im festen Zustand (Abb. 20) lässt keine signifikanten Unterschiede im Absorptionsverhalten erkennen. Für AZO-Dextran liegt im festen Zustand ein photochemisches Verhalten vor. Lediglich eine geringere Absorptionsintensität ist für dünne Schichten beim Erreichen des photostationären Zustands zu beobachten. Begründet werden kann die niedrigere Absorptionsintensität, trotz vorliegender Transparenz und vollständiger Belichtung, durch die feste Packung und geringere Beweglichkeit der Polymerkette innerhalb des Feststoffes. Neben trans/cis-Isomerisierung wurde auch die Rückreaktion (cis/trans) photochemisch untersucht. Dabei konnte nach Erreichen des photostationären cis-Zustands keine cis-trans Isomerisierung beobachtet werden. Weder durch gezielte kurzzeitige Belichtung mit sichtbarem Licht hoher Intensität noch durch mehrere Tage andauernde Belichtung mit Tageslicht konnte dies erreicht werden. Durch Initiierung der cis/trans-Umwandlung vor Erreichen des photostationären Zustands konnten die

Chromophore zur Rückisomerisierung angeregt werden. Aufgrund des geringen Abstands zwischen den Energieniveaus für cis/trans-Isomerisierung benötigt diese Umwandlung weniger Energie und kann schneller ablaufen. Während der zyklischen Belichtung (Abb. 21) mit sichtbaren und ultravioletten Licht ist somit ein Anstieg der Absorptionsintensität beobachtbar. Trotz effizienter Rückreaktion lässt sich das System nicht wieder in den Ausgangszustand (vollständige Rückisomerisierung) überführen. Durch Anwendung des Lambert-Beerschen Gesetzes

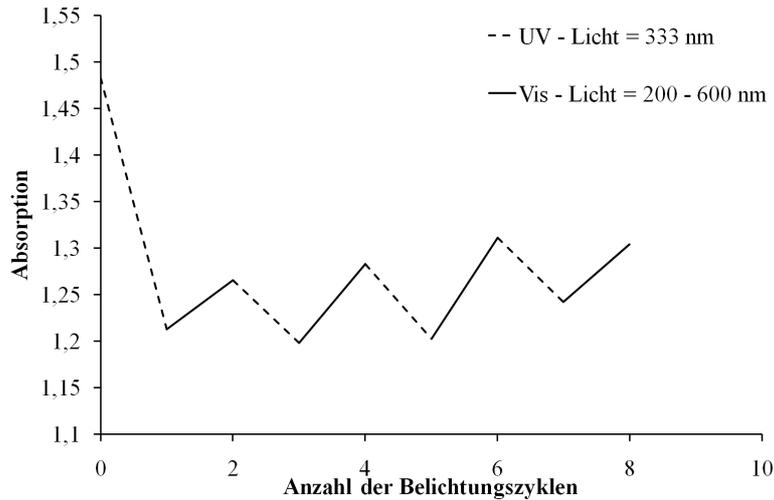


Abb. 21: Gemessene Absorptionsintensität für Schicht DS1 während alternierender Belichtung mit UV- und VIS-Licht in Belichtungszyklen a fünf Minuten

konnte die Dicke der hergestellten Schichten bestimmt werden. Dabei wurde der Extinktionskoeffizient aus den UV/VIS-Spektren der Polymerlösung 3c (Tab. 7) mit einer definierten Azobenzkonzentration auf die UV/VIS-Spektren der dünnen Schicht (DS1) angewendet. Für die dünne Schicht aus Derivat 3c konnte eine Schichtdicke von $d = 0,049$ mm berechnet werden (Tab. 13).

Tabelle 13: Ergebnisse der Schichtdicken durch das Vermessen des Schichtsystems DS1 mittels UV/VIS Spektroskopie (3c, DS = 1,72)

| Probe | DS | λ [nm] | d [mm] | c [mmol·l ⁻¹] | A_λ | ϵ_λ [l·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹] |
|-------|------|-------------------|-----------|------------------------------|-------------|--|
| (S3) | 1,72 | 322 | 10,00 | 0,063 | 1,64455 | 2606 |
| (DS1) | 1,72 | 322 | 0,049 | 84,22 | 1,07491 | 2606 |

Zur weiteren Charakterisierung der dünnen Schichten wurden Kontaktwinkelmessungen durchgeführt. Als Benetzungsmittel wurde für alle Versuche (Tab. 14) destilliertes Wasser verwendet. Zum Vergleich wurde zusätzlich der Kontaktwinkel für Wasser auf reinem Quarzglas (QS) bestimmt. Für Schicht DS2 und DS3 sind gegenüber reinem Quarzglas deutliche Anstiege in den Kontaktwinkeln zu beobachten. Durch das Aufbringen von AZO-Dextran auf Quarzglassubstrate nimmt deren Benetzungsverhalten (Abb. 22) stark ab. Dabei konnte keine Änderung im Benetzungsverhalten der AZO-Dextranschichten durch trans/cis-Isomerisierung beobachtet werden.

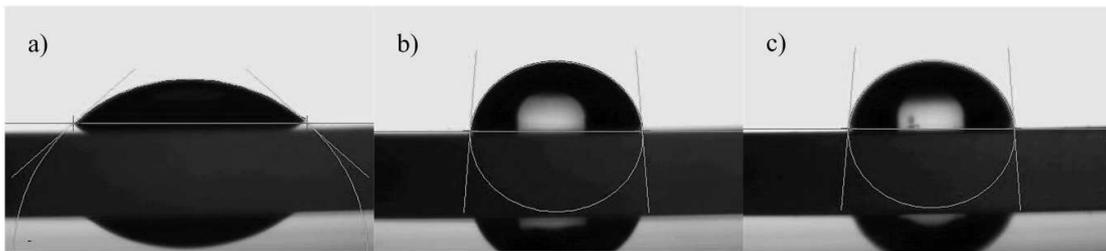


Abb. 22: Abbildung von Wassertropfen mit angelegten Tangenten für die Bestimmung der Kontaktwinkel auf Probe a) QS, b) DS2 und c) DS2 nach 15 min UV-Belichtung mit $\lambda = 365 \text{ nm}$

Tabelle 14: Gemessene Kontaktwinkel für dest. Wasser auf dünnen Schichten (DS2, DS3) und Quarzglassubstrat (QS)

| Probe | Schicht | DS | φ_L [°] | φ_R [°] | φ_M [°] |
|-------|---------|------|--------------------|--------------------|--------------------|
| (QS) | - | - | 41,4 | 41,4 | 41,4 |
| (DS2) | 3c | 1,72 | 85,5 | 85,6 | 85,5 |
| (DS3) | 3c | 1,72 | 85,1 | 85,6 | 85,3 |

4 Experimenteller Teil

4.1 Chemikalien und Hilfsstoffe

Die im folgenden genannten Chemikalien und Hilfsstoffe wurden ohne weitere Behandlung und Reinigung für die Arbeitsprozesse verwendet.

| | |
|---|----------------------------------|
| Aceton | Mineralöle Albert |
| Aceton-d ₆ | Deutero |
| Acetonitril | Fluka |
| Trans-Azobenzen-4-carbonsäure | Sigma-Aldrich |
| Natriumborat | VWR |
| Borsäure | VWR |
| Butandisäure | VWR |
| N-,N,-Carbonyldiimidazol | Sigma-Aldrich |
| Chloroform | Mineralöle Albert |
| Chloroform-d ₁ | Eurisio top |
| Dextran L.m. NRRL B-512F ($M_w = 54400 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) | Fluka |
| 1,2-Dichlorethan | VEB Jenapharm Laborchemie Apolda |
| Dichlormethan | Riedel-de Haën |
| Dimethylaminopyridin | Fluka |
| Dimethylsulfoxid | Sigma-Aldrich |
| Dimethylacetamid | Fluka |
| Dioxan | VEB Jenapharm Laborchemie Apolda |
| Ethanol | Mineralöle Albert |
| Isopropanol | Mineralöle Albert |
| Kaliumcarbonat | Merck |
| Kaliumchloridlösung 0,1 N | |
| Methanol | Mineralöle Albert |
| Methanol-d ₄ | Deutero |

| | |
|--------------------------------|-----------------------|
| Natriumhydrogencarbonat | VWR |
| Natronlauge 0,1 N | |
| n-Hexan | Mineralöle Albert |
| Propionsäureanhydrid | Fluka |
| Pyridin | Fluka |
| Spectra/Por®3-Dialyseschlauch | Spectrum Laboratories |
| Tetrahydrofuran | Sigma–Aldrich |
| Tetrahydrofuran-d ₈ | Sigma - Aldrich |
| Toluolsulfonsäure | Fluka |

4.2 Messmethoden

4.2.1 Kernspinresonanzspektroskopie

Die Strukturaufklärung der hergestellten Derivate wurden mittels 1-dimensionaler (¹H-NMR, ¹³C-NMR) und 2-dimensionaler (HSQC-NMR) Spektroskopie durchgeführt. Hierzu wurden die Spektrometer Avance 250 MHz und Avance 400 MHz der Firma Bruker verwendet. Die Proben wurden in Aceton-d₆, Chloroform-d₁, Methanol-d₄ und Tetrahydrofuran-d₈ gelöst und bei Raumtemperatur vermessen.

4.2.2 Elementaranalyse

Zusätzlich konnte zur Strukturaufklärung die Elementaranalyse für die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff verwendet werden. Die Analysen erfolgten mit dem Gerät CHNS-932 der Firma LECO Instrumente GmbH. Alle Werte werden in Masseprozent angegeben.

4.2.3 GPC–Gelpermeationschromatographie

Die Bestimmung der Molmassenverteilung wurde durch das Gerät RI-930 der Firma JASCO durchgeführt. Dieses ist mit Messsäulen verschiedener Porengrößen entsprechend der stationären Phase (10² nm, 10³ nm und 10⁵ nm) zur Auftrennung der mobilen Phase ausgestattet. Die Messsäule SEC-8 wurde mit Dextran als Kalibrationsstandard, DMSO + 0,5 % LiBr als Lösungsmittel, einer Flussrate von 0,5 ml·min⁻¹ und einem Brechungsindex-Detektor verwendet. Messsäule

SEC-9 wurde dagegen mit DMAc + 0,21 % LiCl als Lösungsmittel, Pullulan als Kalibrationsstandard, einer Flussrate von $1,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ und einem Brechungsindex-Detektor verwendet.

4.2.4 FTIR–Spektroskopie

IR Spektren wurden mit einem FTIR Spektrometer Nicolet AVATAR 370 DTGS der Firma Thermo Electron Corporation aufgenommen. Die Messung der Pulverproben erfolgte mit Hilfe von IR-transparenten Trägermaterial (KBr). Hierzu wurde KBr Pulver mit gemahlene und zu messende Pulver vermengt, unter Druck zu Rundkörpern verpresst und anschließend im Strahlengang vermessen.

4.2.5 UV–Belichtung

Für die Belichtung der Dextranderivate mit UV-Licht wurde eine HBO 200 Quecksilber-Extremdrucklampe mit kontinuierlichem Spektrum ($\lambda = 200 \text{ nm}$ bis 600 nm) verwendet. In den Strahlengang wurden verschiedene Filter zur Belichtung mit definierten Wellenlängen eingesetzt. Verwendet wurde ein Einbanden-Metallinterferenzfilter der Firma VEB Carl-Zeiss-Jena mit einem Absorptionsmaximum bei $\lambda = 333 \text{ nm}$ für Belichtung mit UV-Licht. Weiterhin wurde ein Zweibandfilter mit einem ersten schmalen Maximum im UV-Bereich bei $\lambda = 355 \text{ nm}$ und einem zweiten Maximum im roten, nahezu infraroten Bereich bei $\lambda = 745 \text{ nm}$ verwendet. Die Absorptionsintensität des ersten Peaks ist circa drei mal so hoch wie die des Zweiten.

4.2.6 UV/VIS–Spektroskopie

UV/VIS-Spektren wurden mit dem Gerät Lambda 10 UV/VIS der Firma Perkin-Elmer aufgenommen. Der Messbereich wurde von $\lambda = 233 \text{ nm}$ bis $\lambda = 550 \text{ nm}$ festgelegt und für verschiedene Verdünnungen der Proben gemessen. Die Messungen wurden allesamt in Transmission durchgeführt.

4.2.7 Streulichtkorrigiertes Spektrum

Die Aufnahme der streulichtkorrigierten Spektren erfolgte am Institut für Photonische Hochtechnologie (IPHT) Jena. Zur Verfügung stand das Gerät Lambda 900 UV/VIS/NIR der Firma Perkin-Elmer mit angeschlossener Ulbrichtkugel

PELA - 9048 Small Spot Kit. Die Messungen wurden im Bereich $\lambda = 200$ nm bis $\lambda = 800$ nm durchgeführt. Als Messvarianten standen die Messung der Absorption vor der Ulbrichtkugel und die Messung der Absorption innerhalb der Ulbrichtkugel zur Verfügung. Die Messungen erfolgten allesamt in Transmission.

4.2.8 DLS–Dynamische Lichtstreuung

Für die Messung der Partikelgröße, des Polydispersitätsindex und des Zetapotentials in wässriger Suspension stand ein Zetasizer Nano ZS der Firma Malvern Instruments zur Verfügung. Die Suspensionen wurden mit zweifach destilliertem Wasser verdünnt und mit rückgestreutem Licht der Wellenlänge $\lambda = 633$ nm in einem Winkel von $\alpha = 173^\circ$ vermessen. Die Auswertung der mittels Pipettierroboter und Inkjet-Printer hergestellten Proben erfolgte mit einem DynaPro Plate Reader Plus der Firma Wyatt Technology. Die Messungen mit rückgestreutem Licht bei einer Wellenlänge von $\lambda = 830$ nm wurden ausschließlich in Quarzglas-Titrierplatten durchgeführt. Für die Vermessung von DMAc/Wasser-Gemischen bzw. THF/Wasser-Gemischen erfolgte die Aufnahme von Kalibrationskurven (Viskosität, Brechungsindex), welche als Messgrundlage für die Nanopartikel verwendet wurden.

4.2.9 Elektrische Dipolmomentbestimmung

Die Messung der elektrischen Dipolmomente erfolgte am Institut für Physikalische Chemie mit einem DK-Meter vom Typ GK 60 der Firma VEB MLW-Prüfgerätewerk. Für die Messungen stand eine Messelektrode mit einer Leerkapazität von 1,8 pF zur Verfügung. Mit dieser wurden zunächst Kalibrationswerte für Dioxan-Wasser-Gemische (Gew.-% Dioxan), Aceton, Methanol und dest. Wasser mit den dafür bekannten relativen Dielektrizitätskonstanten bestimmt (Tab. 15)⁵⁵ und aus diesen drei Messbereichen (drei Kalibrationskurven) definiert, welche die Grundlage für die Vermessung der Lösungen darstellten. Der Messfehler für die Bestimmung der relativen Dielektrizitätswerte beträgt $\pm 0,02$.

4.2.10 Refraktometrie

Die Messung von Brechungsindizes wurde mit einem Digital Abbe Refractometer der Firma Krüss Optronic durchgeführt. Das Messprisma wurde über eine

Tabelle 15: Kalibrationswerte für die Bestimmung der relativen Dielektrizitätskonstanten

| Kalibrationsproben | Temperatur [°C] | ϵ_r | Messbereich | Anzeigenwert [MW] |
|--------------------|--------------------|--------------|-------------|----------------------|
| Aceton | 20 | 21,4 | 1 | 63,7 |
| Aceton | 20 | 21,4 | 2 | 168,3 |
| Methanol | 20 | 33,8 | 1 | 23,5 |
| Methanol | 20 | 33,8 | 2 | 130,5 |
| Dioxan (50 Gew.-%) | 20 | 36,9 | 1 | 3,5 |
| Dioxan (50 Gew.-%) | 20 | 36,9 | 2 | 113,8 |
| Dioxan (40 Gew.-%) | 20 | 45,9 | 2 | 75,5 |
| Dioxan (30 Gew.-%) | 20 | 54,8 | 2 | 36,3 |
| Dioxan (30 Gew.-%) | 20 | 54,8 | 3 | 151,1 |
| Dioxan (20 Gew.-%) | 20 | 63,5 | 3 | 117,5 |
| Dioxan (10 Gew.-%) | 20 | 72,0 | 3 | 91,9 |
| dest. Wasser | 20 | 80,1 | 3 | 54,3 |

Umwälzpumpe mit Heizspirale U3 der Firma Julabo Labortechnik GmbH auf 25°C temperiert.

4.2.11 Ultraschall

Die Ultraschallbehandlung der hergestellten Partikellösungen erfolgte mit einem Ultraschallgerät Digital Sonifier der Firma Branson. Dieses verwendet eine standardmäßig eingestellte Hochfrequenz von 20 kHz, deren Amplitude variiert werden kann. Für die Behandlung der Proben wurden 15 - 30 % der Amplitudenleistung verwendet. Die Kühlung der Proben während der Ultraschallbehandlung erfolgte mit auf 1°C temperierten Eiswasser.

4.2.12 REM–Aufnahmen

Die REM-Bilder der Nanopartikel wurden mit einem Feldemissionsrastermikroskop JEOL 7001F der Firma JOEL am Otto-Schott-Institut für Glaschemie aufgenommen. Als Objektträger dienten Glimmerplättchen, auf welche jeweils ein Tropfen unverdünnte wässrige Partikelsuspension aufgetropft wurde. Diese Proben wurden eingefroren, gefriergetrocknet und anschließend mit Kohlenstoff besputtert.

4.2.13 Kontaktwinkelmessung

Die Messung der Kontaktwinkel erfolgte mit einem OCA 20 der Firma Dataphysics GmbH. Die Präparation der zu vermessenden dünnen Schichten erfolgten mittels Spin Coating. Als Benetzungsmittel diente destilliertes Wasser, welches manuell per Spritze mit aufgesetzter Kanüle als Tropfen aufgetragen wurde.

4.3 Synthesen

4.3.1 Vorschrift zur Synthese von AZO-Dextran

Für die Synthese werden 3 mmol Dextran (AGU) mit 3 mmol Azobenzol-4-carbonsäure und 3 mmol CDI eingewogen. Anschließend werden 12 ml DMSO zugegeben und die Mischung unter Rühren zunächst auf 50°C für 30 min und danach auf 80°C für 20 h erhitzt. Im Anschluss wird die Mischung abgekühlt, in 300 ml Ethanol gefällt und der erhaltene Niederschlag abgetrennt. Nach mehrmaligem Waschen mit Ethanol erfolgt die Trocknung des Produkts bei 40°C im Vakuum-Trockenschrank.

4.3.2 Vorschrift zur Perpropionylierung von Polysacchariden

Für die Perpropionylierung werden 200 mg Dextranderivat und 20 mg DMAP als Katalysator eingewogen. Dazu werden 6 ml Pyridin, sowie 6 ml Propionsäureanhydrid zugegeben und das Gemisch bei 80°C für 20 h gerührt. Im Anschluss wird die Mischung abgekühlt und in 200 ml Ethanol gefällt. Der erhaltene Niederschlag wird abgetrennt, mehrmals gewaschen und das Produkt bei 40°C getrocknet. Zur Reinigung des Produkts wird dieses in 3 ml Chloroform gelöst und in 100 ml Ethanol umgefällt. Abschließend wird das Produkt erneut abgetrennt, gewaschen und getrocknet.

4.3.3 Vorschrift zur Synthese von Methyl-4-phenylazobenzoat

Für die Synthese werden 1,84 mmol Azobenzol-4-carbonsäure mit 1,84 mmol CDI eingewogen und 15 ml DMSO zugegeben. Die Mischung wird gerührt und dieser nach Abschluss der Blasenbildung 1,85 mmol Methanol zugegeben. Unter Rühren wird das Reaktionsgemisch auf 80°C erhitzt und für 20 h gerührt. Die Reaktion

findet unter Rückfluß und Feuchtigkeitausschluß statt. Im Anschluss wird die Mischung abgekühlt und in destilliertem Wasser gefällt. Die organische Schicht wird mit Wasser gewaschen und bei 40°C getrocknet. Abschließend wird das Produkt in destilliertem Wasser umkristallisiert.

4.3.4 Hergestellte Derivate

Für die Untersuchungen wurde Dextran-4-phenylazobenzoat mit 3 verschiedenen Molverhältnissen synthetisiert, von welchen im Anschluss jeweils 400 mg perpropionyliert wurden. Im folgenden sind ausgewählte Beispiele für die hergestellten AZO-Dextranderivate aufgelistet.

Probe(3a): Für Ansatz eins mit dem Molverhältnis (1:1:1) wurden 0,5 g Dextran (3 mmol), 0,677 g Azobenzol-4-carbonsäure (3 mmol) und 0,485 g CDI (3 mmol) eingesetzt.

Ausbeute: $m = 1,344$ g

Probe(3b): Für Ansatz zwei mit dem Molverhältnis (1:2:2) wurden 0,5 g Dextran (3 mmol), 1,354 g Azobenzol-4-carbonsäure (3 mmol) und 0,971 g CDI (3 mmol) eingesetzt.

Ausbeute: $m = 1,569$ g

Probe(3c): Für Ansatz drei mit dem Molverhältnis (1:3:3) wurden 0,5 g Dextran (3 mmol), 2,031 g Azobenzol-4-carbonsäure (3 mmol) und 1,456 g CDI (3 mmol) eingesetzt.

Ausbeute: $m = 1,621$ g

Für die Einschätzung des Einfluss eines Polymerrückgrats auf das Absorptionsverhalten wurde zusätzlich Methyl-4-phenylazobenzoat synthetisiert.

Probe(CS-1): Für den Ansatz mit einem Molverhältnis (1:1:3) wurden 0,4157 g Azobenzol-4-carbonsäure (1,84 mmol), 0,298 g CDI (1,84 mmol) und 0,22 ml Methanol (5,52 mmol) eingesetzt.

Ausbeute: $m = 0,3006$ g

4.4 Partikelpräparation

Die Herstellung von Nanopartikeln erfolgte mittels Dialyse- und Eintropftechnik. Als Präparationstechniken für die Eintropfmethode wurden neben der manuellen Präparation ein Inkjet-Printer und ein Pipettierroboter verwendet.

4.4.1 Dialyse

Für die Dialyse werden 20 mg Dextranderivat in 5 ml DMAc oder 5 ml THF gelöst. Vor Verwendung wird der Dialyseschlauch gewässert und anschließend das gelöste Derivat mittels Spritze und Spritzenvorfilter (0,2 μm) eingefüllt. Der Dialyseschlauch wird an den jeweiligen Enden verschlossen, in destilliertes Wasser getaucht und aller zwei Stunden gegen frisches destilliertes Wasser ausgetauscht.

4.4.2 Eintropfmethode

Für die Partikelherstellung mittels Eintropfen wurde das gelöste Derivat in destilliertes Wasser oder das destillierte Wasser in das gelöste Derivat unter Rühren eingetropft. Die Derivatlösungen besaßen eine Konzentration von 20 mg Dextranderivat pro 5 ml Lösungsmittel. Für manuelles Eintropfen wurde ein Verhältnis von Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel-Verhältnisse von 0,25 verwendet. Das Abfüllen in Probengefäße erfolgte nach ausreichender Verdunstungszeit und zusätzlichen Erwärmen mit oder ohne 1,2 μm Spritzenvorfilter. Als Lösungsmittel dienten THF und DMAc.

4.4.3 Pipettierroboter

Für die Untersuchungen zur Eintropfmethode mittels Pipettierroboter stand ein Gerät FasTrans der Firma Analytik Jena zur Verfügung. Mit diesem konnten in kürzester Zeit Titrierplatten (96 Wellplates) mit verschiedenen Proben (max. 750 μl) präpariert werden. Die verwendete Polymerlösung bestand aus Dextranderivate gelöst in THF, deren Polymerkonzentrationen von 0,1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ bis 4 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, sowie Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel-Verhältnis zwischen 0,071 und 0,5 während der Präparation variiert wurde. Das Rühren der Lösungen erfolgte während der Präparation mehrmals mittels Pipettenspitze, welche nach jedem Präparationsschritt gewechselt wurde. Die Präparation der Proben erfolgte in Wellplates

aus Polypropylen (PP) und die Auswertung mittels dynamischer Lichtstreuung in Wellplates aus Quarzglas (QS).

4.4.4 Inkjet-Printer

Die Partikelherstellung mittels Inkjet-Printer erfolgte durch ein Autodrop Professional Positioning System MD-P-801 der Firma microdrop Technologies GmbH. Die gleiche Firma lieferte zudem die Printernadel AD-K-501 mit einem Innendurchmesser von $70\ \mu\text{m}$. Die Dextranderivate wurden in DMAc gelöst und in Wasser, unter permanentem Rühren, eingetropft. Für eine konstante Tropfengröße wurde eine Frequenz von 200 Hz, eine Pulslänge von $20\ \mu\text{s}$ und eine Spannung von 75 V eingestellt. Die Reinigung der Printernadeln konnte zwischen den Präparationsschritten mittels Ultraschallimpulsen (12 kHz) erfolgen. Abschließend wurden die Partikellösungen mit Dynamischer Lichtstreuung vermessen. Die Präparation der Proben erfolgte in Wellplates aus Polypropylen (PP) und die Auswertung mittels DLS in Wellplates aus Quarzglas (QS).

4.5 Dünne Schichten

4.5.1 Spin-Coating

Die Herstellung dünner Schichten aus AZO-Dextran (3c) erfolgte mit Hilfe eines Spin-Coaters KL-SCI-50 + T der Firma LOT-Oriel. AZO-Dextran wurde in spektrenreinem Dichlormethan gelöst und eine Konzentration von 50 mg/ml hergestellt. Das Auftragen der Polymerlösung auf das Quarzglassubstrat erfolgte mittels Präzisionspritze mit einem Tropfenvolumen von $7\ \mu\text{l}$. Das Substrat rotierte dabei mit einer Geschwindigkeit von 200 rps. Nach der Präparation konnte das Trocknen der Probe durch weiterführendes Rotieren (3 min) bei 200 rps durchgeführt werden.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde Dextran-4-phenylazobenzoat als photoaktiver Dextranester synthetisiert und aus diesem Nanopartikel hergestellt. Die Synthese erfolgte durch eine homogene Veresterung von Dextran nach in-situ Aktivierung von Azobenzol-4-carbonsäure mit CDI. Mittels $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und HSQC-Spektroskopie wurde die Strukturuntersuchung der AZO-Dextranderivate durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass über die Variation der eingesetzten Molverhältnisse eine gezielte Einstellung der DS-Werte möglich ist. Weiterhin konnten für die Herstellung von Nanopartikeln verschiedene Präparationsmethoden angewendet und beurteilt werden. Hierfür wurden Nanopartikel unter Verwendung der Dialysetechnik und Eintropfmethode aus Dextranestern (AZO-Dextran) hergestellt. Es konnte gezeigt werden, dass die Eintropfmethode durch eine genauere Kontrolle der Präparationsbedingungen der Dialysetechnik überlegen ist. So konnte durch Einstellen der entsprechenden Parameter die Größe und der Polydispersitätsindex der hergestellten Nanopartikel stark gesenkt werden. Bei der Präparation mittels Eintropfmethode sind dabei grundsätzlich beide verwendeten Geräte (Pipettierroboter, Inkjet-Printer) geeignet. Durch Variation der Polymerkonzentration und des Verhältnis von Lösungsmittel zu Nicht-Lösungsmittel sollte der Ouzo-Bereich für die hergestellten Dextranderivate bestimmt werden, was aufgrund von technischen Mängeln der Präparationsgeräte und der schlechten Eignung des Polymer-Lösungsmittel-Systems nicht möglich war. Über die Charakterisierung der Eigenschaften der hergestellten Dextranester als Polymerlösung, als Nanopartikel in wässriger Suspension und als dünne Schicht konnte die Änderung der photochemischen Eigenschaften aufgezeigt werden. So konnte die photochemische Reaktion (0. Ordnung) in Form von trans/cis-Isomerisierung für alle untersuchten Systeme nachgewiesen werden, wohingegen der photomechanische Effekt nicht beobachtet wurde. Durch Vergleich von AZO-Dextran mit AZO-Methyl konnte die Behinderung der photochemischen Reaktion durch das Polymerrückgrat (Dextran) nachgewiesen werden.

6 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen, die zum Gelingen dieser Diplomarbeit beigetragen haben, bedanken.

Herrn Prof. Dr. T. Heinze danke ich für die Möglichkeit der Anfertigung dieser Arbeit, die stetige Hilfsbereitschaft und die Erstellung des Erstgutachtens.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dipl.Chem. Holger Wondraczek für die intensive Betreuung, die zahlreichen fachlichen Diskussionen und Anregungen, sowie die Durchsicht der Arbeit.

Danken möchte ebenso der gesamten Arbeitsgruppe Heinze, die durch das gute Arbeitsklima und die immer freundliche Unterstützung sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere Thomas Elschner für die IR-Messungen.

Ein weiterer Dank gilt dem gesamten technischen Personal des Instituts für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie, insbesondere Herrn Dr. Günther (NMR) und Frau Friedrich, Frau Lentvogt (EA), Frau Dr. Festag (GPC).

Herrn Dipl.-Chem. Stephan Grimm und Herrn Florian Lindner vom Institut für Photonische Hochtechnologien danke ich für die Unterstützung bei den Messungen der streulichtkorrigierten UV/VIS-Spektren.

Frau Dr. B. Truckenbrodt vom Institut für Physikalische Chemie danke ich für die Unterstützung bei den Messungen der Dipolmomente.

Ein großer Dank gilt meiner Familie für die Unterstützung und Motivation während des gesamten Studiums. Meinen Freunden und Kommilitonen möchte ich für die schöne Studienzeit danken.

Schließlich danke ich meiner Freundin Romy Rudolph für das Korrekturlesen der Arbeit und die Motivation während der Arbeit.

Literaturverzeichnis

- [1] Rubahn, H.-G. *Nanophysik und Nanotechnologie*; Teubner Verlag, 2004.
- [2] Medintz, I. L.; Uyeda, H. T.; Goldman, E. R.; Mattoussi, H. *Nature Materials* **2005**, *4*, 435–446.
- [3] Win, K. Y.; Feng, S.-S. *Biomaterials* **2005**, *26*, 2713–2722.
- [4] Horning, S.; Biskup, C.; Gräfe, A.; Wotschadlo, J.; Liebert, T.; Mohr, G. J.; Heinze, T. *Soft Matter* **2008**, *4*, 1169–1172.
- [5] Beaudette, T. T.; Cohen, J. A.; Bachelder, E. M.; Broaders, K. E.; Cohen, J. L.; Engleman, E. G.; Frechet, J. M. J. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 10360–10361.
- [6] Daus, S.; Heinze, T. *Macromolecular Bioscience* **2009**, *2*, 211–220.
- [7] Bachelder, E. M.; Beaudette, T. T.; Broaders, K. E.; Dashe, J.; Frechet, J. M. J. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 10494–10495.
- [8] Li, Y.-L.; Zhu, L.; Liu, Z.; Cheng, R.; Meng, F.; Cui, J.-H.; Ji, S.-J.; Zhong, Z. *Angewandte Chemie Internationale Edition* **2009**, *48*, 9914–9918.
- [9] Katz, J. S.; Burdick, J. A. *Macromolecular Bioscience* **2010**, *10*, 339–348.
- [10] Wondraczek, H.; Heinze, T. *Macromolecular Bioscience* **2008**, *8*, 606 – 614.
- [11] Wondraczek, H. Neue photoaktive dextranester Master's thesis, Chemisch - Geowissenschaftliche Fakultät der Friedrich - Schiller Universität Jena, **2007**.
- [12] Dingermann, T.; Hansel, R.; Zündert, I. *Pharmazeutische Biologie: Molekulare Grundlagen und klinische Anwendung*; Springer Verlag, 2002.
- [13] Naessens, M.; Cerdobbel, A.; Soetaert, W.; Vandamme, E. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2005**, *80*, 845–860.

- [14] Heinze, T.; Heublein, B.; Hornig, S.; ; Liebert, T.; Springer Verlag, 2006; Vol. 205 of *Polysaccharides II*; chapter Functional Polymers Based on Dextran, page 300.
- [15] Jeans, A.; Haynes, W. C.; Wilham, C. A.; Rankin, J. C.; Melvin, E. H.; Austin, M. J.; Cluskey, J. E.; Fisher, B. E.; Tsuchiya, H. M.; Rist, C. E. *Journal of the American Chemical Society* **1954**, *76*, 5041–5052.
- [16] Hänsel, R.; Sticher, O. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*; Springer Verlag, 2009.
- [17] Heinze, T.; Liebert, T.; Koschella, A. *Esterification of Polysaccharides*; Springer Verlag, 2006.
- [18] Aktories, K.; Förstermann, U.; Hofmann, F.; Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*; Elsevier GmbH, 2005.
- [19] Suzuki, M.; Mikami, T.; Matsumoto, T.; Suzuki, S. *Carbohydrate Research* **1977**, *53*(2), 223–229.
- [20] Liebert, T.; Hornig, S.; Hesse, S.; Heinze, T. April **2005**, *127*, 10484–10485.
- [21] Smets, G. *Journal of Polymer Science* **1975**, *13*, 2223–2231.
- [22] Jiang, H.; Kelch, S.; Lendlein, A. *Advanced Materials* **2006**, *18*, 1471–1475.
- [23] Becker, H.; Böttcher, H.; Dietz, F.; Rehorek, D.; Roewer, G.; Schiller, K.; Timpe, H.-J. *Photochemie - Einführung in die Photochemie*, 3; H.G.O. Becker, 1991.
- [24] Jünger, O. *Entwicklung photosensitiver Polymernetzwerke mit Formgedächtniseigenschaften* PhD thesis, Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, **2002**.
- [25] Horspool, W.; Armesto, D. *Organic Photochemistry - A Comprehensive Treatment*; Ellis Horwood PTR Prentice Hall, 1992.
- [26] Rau, H.; Shen, Y.-Q. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry* **1988**, *42*, 321–327.

- [27] Siebert, R. Femtosekunden zeitaufgelöste pump-probe spektroskopie an cyaninfarbstoffen Master's thesis, Chemisch - Geowissenschaftliche Fakultät der Friedrich - Schiller - Universität Jena, **2008**.
- [28] Liu, R. S. H. *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*(8), 1391–1396.
- [29] Bédard, M.; Skirtach, A. G.; Sukhorukov, G. B. *Macromolecular Rapid Communications* **2007**, *28*, 1517–1521.
- [30] Patnaik, S.; Sharma, A. K.; Garg, B. S.; Gandhi, R. P.; Gupta, K. C. *International Journal of Pharmaceutics* **2007**, *342*, 184–193.
- [31] Henzl, J.; Mehlhorn, M.; Gawronski, H.; Rieder, K.-H.; Morgenstern, K. *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 617–621.
- [32] Barrett, C. J.; Mamiya, J.-I.; Yager, K. G.; Ikeda, T. *Soft Matter* **2007**, *3*, 1249–1261.
- [33] Yager, K. G.; Barrett, C. J. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2006**, *182*, 250–261.
- [34] Wang, G.; Tong, X.; Zhao, Y. *Macromolecules* **2004**, *37*, 8911–8917.
- [35] Katz, J. S.; Burdick, J. A. *Macromolecular Bioscience* **2010**, *10*, 339–348.
- [36] Tanchak, O. M.; Barrett, C. J. *Macromolecules* **2005**, *38*, 10566–10570.
- [37] Seki, T. *Polymer Journal* **2004**, *36*, 435–454.
- [38] Merian, E. *Textile Research Journal* **1966**, *36*, 612–618.
- [39] Menzel, H.; Weichart, B.; Hallensleben, M. L. *Polymer Bulletin* **1992**, *27*, 637–644.
- [40] Higuchi, M.; Minoura, N.; Kinoshita, T. *Colloid and Polymer Science* **1995**, *273*, 1022–1027.
- [41] Salata, O. V. *Journal of Nanobiotechnology* **2004**, *2*(3).
- [42] Gibb, B. C.; Wiley - VCH Verlagsgesellschaft GmbH, 2008; chapter Nano - capsules Assembled by the Hydrophobic Effect, pages 291–304.

- [43] Wang, D.; Gil, M. P.; Lu, G.; Lu, Y.; Wiley - VCH Verlagsgesellschaft GmbH, 2005; chapter Nanostructured Systems from Low-Dimensional Building Blocks, pages 57–94.
- [44] Murase, T.; Fujita, M.; Wiley - VCH Verlagsgesellschaft GmbH, 2008; chapter Endochemistry of Self - assembled Hollow Spherical Cages, pages 205–222.
- [45] Velonia, K.; Cernelissen, J. J. L. M.; Feiters, M. C.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M.; Springer Verlag, 2005; chapter Aggregation of Amphiphiles as a Tool to create Novel Functional Nano-Objects, pages 119–185; Nanostructure Science and Technology.
- [46] Ariga, K.; Kunitake, T.; Springer Verlag, 2006; chapter Molecular Self-Assembly - How to Build the Large Supermolecules.
- [47] Gohy, J. F.; Springer Verlag, 2005; Vol. 190; chapter Block Copolymer Micelles, pages 65–136.
- [48] Kunitake, T.; Kim, J.-M.; Ishikawa, Y. *Journal of Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1991**, pages 885–890.
- [49] Whitten, D. G.; Chen, L.; Geiger, H. C.; Perlstein, J.; Song, X. *Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 10098–10111.
- [50] Steed, J. W.; Turner, D. R.; Wallace, K. J. *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*; John Wiley and Sons Ltd., 2007.
- [51] Capek, I. *Nanocomposite structures and dispersions: science and nanotechnology - fundamental principles and colloidal particles*; Elsevier GmbH, 2006.
- [52] Vitale, S. A.; Katz, J. L. *Langmuir* **2003**, *19*, 4105–4110.
- [53] Aubry, J.; Ganachaud, F.; Addad, J. P. C.; Cabane, B. *Langmuir* **2009**, *25*, 1970–1979.
- [54] Vieira, N. A. B.; Moscardini, M. S.; de Oliveira Tiera, V. A.; Tiera, M. J. *Carbohydrate Polymers* **2002**, *53*, 137–143.
- [55] Versuchsanleitung praktikum pc2 - v25. Dipolmomente.; Friedrich-Schiller-Universität Jena.

- [56] Kaltofen, R.; Opitz, R.; Schumann, K.; Ziemann, J. *Tabellenbuch Chemie*; VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 9 ed., 1982.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbständig und unter ausschließlicher Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel erstellt zu haben.

Jena, den 9. August 2010 _____
Unterschrift

Seitens des Verfassers bestehen keine Einwände, die vorliegende Diplomarbeit für die öffentliche Nutzung in der Thüringer Universitäts- und Landesbibliothek zur Verfügung zu stellen.

Jena, den 9. August 2010 _____
Unterschrift