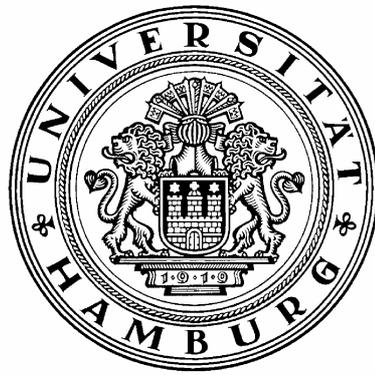


Untersuchungen zur Wechselwirkung von Biomolekülen mit selbstanordnenden Monoschichten



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Department Chemie

Universität Hamburg

vorgelegt von

Tobias Winkler

aus Hamburg

Hamburg 2008

Die vorliegende Arbeit entstand im Zeitraum
von März 2004 bis September 2008
am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie
der Universität Hamburg
im Arbeitskreis von Prof. Dr. Andreas Terfort.

Gutachter: Prof. Dr. Andreas Terfort
Prof. Dr. Stephan Förster

Tag der Disputation: 28.11.2008

Erklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Ich habe die Arbeit nicht an anderer Stelle eingereicht. Dies ist mein erster Promotionsversuch.

Tobias Winkler

Danksagung

In meiner Promotionszeit bin ich von vielen Menschen unterstützt worden, bei denen ich mich an dieser Stelle bedanken möchte. Großer Dank gebührt meiner Familie, die immer an mich geglaubt und mich immer unterstützt hat.

Dann möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Andreas Terfort für die Überlassung des spannenden Themas, die gute Betreuung und die vielen lustigen Grillabende bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. Jürgen Heck möchte ich mich für die großzügige Zurverfügungstellung von Laborräumen bedanken, wodurch es mir vergönnt war, meine Arbeit in Hamburg abschließen zu können.

Besonders möchte ich mich auch bei den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Terfort für die ausgesprochen angenehme Arbeitsatmosphäre und die zahlreichen gemeinsam verbrachten Abende bedanken. Ohne Dr. Björn Zeysing, Dr. Jan Müller, Nino Papukashvili, Birte Jürgens, Heidi Thomas, Björn Schüpbach, Simone Krakert und Kathrin Barbe wäre die Zeit nicht einmal halb so schön gewesen.

Ebenso möchte ich mich bei den zahlreichen Praktikanten bedanken, die mich bei meiner Arbeit tatkräftig unterstützt haben. Besonders hervorheben möchte ich in diesem Zusammenhang Michael Höltig, Katrin Schaefer, Ariane Munk, Andjana Pannicker, Michael Sartor, Lennart Götz und Stefan Günther.

Weiterhin möchte ich mich bei Prof. Dr. T. K. Lindhorst und Dr. Mike Kleinert von der Universität Kiel für die angenehme und erfolgreiche Zusammenarbeit im Rahmen des *Click on SAM*-Projekts bedanken.

Bei Prof. Dr. Stephan Förster und Michael Stolzenburg bedanke ich mich dafür, dass sie mir die Aufnahme von MALDI-TOF-Spektren ermöglicht haben.

Des Weiteren möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Anorganische und Angewandte Chemie für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung danken. Besonderer Dank gebührt der erstklassigen NMR-Abteilung und damit Dr. Erhard Haupt, Ute Gralla, Gabriele Eggers und Claudia Wontorra.

Zusätzlich möchte ich mich ganz herzlich bei Katrin Brüggemann für ihre Hilfe bei organisatorischen und bürokratischen Dingen bedanken.

Dem Graduiertenkolleg 611 danke ich für die finanzielle Unterstützung.

*We all agree that your theory is crazy.
The question which divides us is whether it is crazy enough.*

Niels Bohr to Wolfgang Pauli

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Selbstanordnende Monoschichten	2
1.1.1 Thiolat-SAMs auf Gold	4
1.1.2 Siloxan-SAMs	6
1.1.3 Phosphonat-SAMs	7
1.2 Oberflächen in biologischen Medien	7
1.2.1 Proteinadsorption	7
1.2.2 Zelladhäsion und Biofilme	10
1.2.3 Biorepulsive Monoschichten	12
1.2.4 Ursachen für Biorepulsivität	14
1.3 Spezifische Wechselwirkung zwischen SAMs und Biomolekülen: Biosensoren	18
1.4 Modifizierung von Monoschichten durch Click-Chemie	20
1.5 Chemische Oberflächengradienten	23
1.5.1 Chemische Gradienten in der Biologie	23
1.5.2 Methoden zur Erzeugung chemischer Gradienten	25
2 Zielsetzung	29
3 Methoden zur Oberflächencharakterisierung	31
3.1 Kontaktwinkelmessung	31
3.2 Ellipsometrie	33
3.2.1 Polarisiertes Licht	33

3.2.2 Reflexion an Mehrschichtsystemen	34
3.2.3 Ermittlung der Schichtdicke	36
3.3 Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie	37
3.3.1 Oberflächenplasmonen	37
3.3.2 Elektromagnetische Beschreibung von Oberflächenplasmonen	39
3.3.3 Anregung von Oberflächenplasmonen durch Photonen	42
3.3.4 SPR-Sensoren mit Prismenkopplung	47
3.3.4.1 Totalreflexion von Licht und evaneszente optische Felder	47
3.3.4.2 Anregung von Oberflächenplasmonen mit evaneszenten optischen Feldern	50
3.3.4.3 Messung von Adsorptions- und Bindungsvorgängen	51
3.3.4.4 Bestimmung der Schichtdicke gebundener Filme	56
3.3.5 Aufnahme von SPR-Spektren	62
3.3.5.1 Messaufbau	62
3.3.5.2 Messung der Proteinadsorption	68
3.3.5.3 Ablauf von SPR-Messungen	73
4 Synthesen	75
4.1 <i>N,N</i>-Dimethylalkylamine	75
4.2 Primäre und sekundäre Alkenylamine	76
4.3 Oligo- und Polyethylenglycol-substituierte Verbindungen	78
4.3.1 Oligoethylenglycol- und Polyethylenglycolmonomethylether-terminierte Undec-1-ene	78
4.3.2 Oligoethylenglycol-substituierte Undecanthiole	79
4.3.3 Polyethylenglycolmonomethylether-terminierte Undecylphosphon- und Undecylthiophosphonsäure	80
4.3.4 Azidohexaethylenglycolmonomethylether	82
4.4 Untersuchungen zur Hydrophosphorylierung von Alkenen mit Phosphon- und Thiophosphonsäureestern	82

4.5 Alkin-terminierte Moleküle	85
4.6 Polyglycerol-Dendrimere	86
4.6.1 Polyglycerol-terminierte Undecene durch anionische Polymerisation von Glycidol	87
4.6.1.1 Anionische Polymerisation von Glycidol	88
4.6.1.2 Alkoholate als Reaktionsstarter	90
4.6.1.3 Amine als Polymerisationsstarter	91
4.6.2 Polyglycerol-terminierte Undecylthioacetate	96
4.6.2.1 Voruntersuchungen zur Thioacetylierung von Aminoalkenen	96
4.6.2.2 <i>N</i> -Methylierung PG-substituierter Undecene	97
4.6.2.3 Thioacetylierung der <i>N</i> -methylierten Verbindungen	101
4.6.3 Polyglycerol-terminierte Undecyl(thio)phosphonsäuren	104
4.6.3.1 Permethylierung von PG-substituierten Undecenen	104
4.6.3.2 Hydrophosphorylierung von permethylierten PG-substituierten Undecenen	105
5 Modifizierung von SAMs durch Click-Chemie	108
5.1 Mechanismus der Click-Reaktion	108
5.2 Click-Reaktionen auf SAMs: Darstellung von Biosensoren	111
5.2.1 Click-Reaktionen in polaren organischen Lösungsmitteln	113
5.2.1.1 Optimierung der Click-Reaktion in Acetonitril	113
5.2.1.2 Click-Reaktion in Acetonitril unter optimierten Bedingungen	119
5.2.2 Click-Reaktion in unpolaren organischen Lösungsmitteln	122
5.2.2.1 <i>N,N</i> -Dimethylalkylaminiodidokupfer(I)-Komplexe als Click-Katalysatoren	124
5.2.2.2 Click-Reaktionen auf Alkin-terminierten Monoschichten mit Toluol und <i>n</i> -Hexan als Lösungsmittel	127
5.2.2.3 Click-Reaktion auf Alkin-terminierten OEG-haltigen SAMs in <i>n</i> -Hexan	133
5.3 Zusammenfassung des Kapitels Click-Chemie	135

6 Biorepulsive Polyglycerol-Kopfgruppen	137
6.1 Polyglycerol-terminierte Monoschichten auf Gold	138
6.1.1 Untersuchung von PG-terminierten SAMs mit Hilfe von Ellipsometrie und Kontaktwinkelmessungen	139
6.1.2 SPR-spektroskopische Untersuchung der Proteinadsorption	143
6.1.2.1 Untersuchung der Dendrimere der Klasse D1(SAc)	145
6.1.2.2 Untersuchung der Dendrimere der Klasse D2(SAc)	147
6.1.2.3 Untersuchung der Dendrimere der Klasse D3(SAc)	149
6.1.3 Vergleich der ellipsometrischen und SPR spektroskopischen Ergebnisse für die Proteinadsorption	153
6.2 Polymerisation von Glycidol auf Oberflächen	155
6.2.1 Polymerisation von Glycidol auf 3-Aminopropylsiloxan-SAMs	155
6.2.2 Polymerisation von Glycidol auf Siliciumdioxid	159
6.3 Zusammenfassung des Kapitels Biorepulsive Polyglycerol-Filme	162
7 Proteinresistenzgradienten	164
7.1 Untersuchung des IPER-Prozesses	165
7.2 Proteinadsorption auf mit IPER erzeugten EG₇-haltigen SAMs	168
7.3 Verwendung von IPER zur Erzeugung eines Biorepulsivitätsgradienten	169
7.4 Zusammenfassung des Oberflächengradienten Kapitels	172
8 Experimenteller Teil	173
8.1 Lösungsmittel	173
8.2 Verwendete Meßgeräte	173
8.3 Bestimmung von Brechungsindices durch Messung des Brewster-Winkels	176

8.4 Herstellung der PDMS-Flusskammern für die SPR spektroskopischen Messungen	177
8.5 Verwendete Substrate	177
8.6 Bildung von selbstanordnenden Monoschichten (SAMs)	178
8.7 Modifizierung von Thiolat-Monoschichten auf Gold mit IPER	179
8.7.1 Darstellung uniformer, gemischter SAMs durch Bestrahlung von Dodecanthiolat-SAMs mit Elektronen	179
8.7.2 Darstellung von Gradienten durch Kopplung von IPER mit Elektronenstrahl-Lithographie	180
8.8 Bildung von Polyglycerol-Filmen auf 3-Aminopropylsiloxan-SAMs	180
8.9 Bildung von Polyglycerol-Filmen auf SiO₂	181
8.10 Überprüfung der Aktivität von Katalysatoren für die Click-Reaktion	181
8.11 Click-Reaktion auf Alkin-terminierten SAMs	182
8.12 Ellipsometrische Bestimmung der Proteinadsorption	183
8.13 SPR-spektroskopische Messungen	184
8.14 Substanzen aus anderen Arbeitsgruppen	186
8.15 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)	186
8.15.1 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylalkylaminen (AAV 1)	186
8.15.2 Darstellung von HOEG _n C ₁₁ -1-en (AAV 2)	186
8.15.3 Thioacetylierung von HOEG _n C ₁₁ -1-en (AAV 3)	187
8.15.4 Entschützung der Thioacetate zu HOEG _n C ₁₁ SH (AAV 4)	187
8.15.5 Umsetzung von 10-Undecensäurechlorid zu 10-Undecensäureamiden (AAV 5)	187
8.15.6 Reduktion von Carbonsäureamiden zu Aminen (AAV 6)	188

8.15.7 Hydrophosphorylierung von Alkenen zu Alkylphosphinsäuren (AAV 7)	188
8.15.8 Hydrophosphorylierung von Alkenen zu Alkylphosphonsäureestern (AAV 8)	189
8.15.9 Umsetzung von Alkylphosphinsäuren zu Alkylphosphonsäuren (AAV 9)	189
8.15.10 Umsetzung von Alkylphosphinsäuren zu Alkylthiophosphonsäuren (AAV 10)	189
8.15.11 Darstellung von Polyglycerol-Dendrimeren (AAV 11)	190
8.15.12 <i>N</i> -Methylierung der Polyglycerol-Dendrimere (AAV 12)	190
8.15.13 Thioacetylierung der <i>N</i> -methylierten Polyglycerol-Dendrimere (AAV 13)	190
8.16 Durchgeführte Synthesen	191
8.16.1 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylbutylamin (1)	191
8.16.2 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylpentylamin (2)	192
8.16.3 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylhexylamin (3)	193
8.16.4 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylheptylamin (4)	194
8.16.5 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethyloctylamin (5)	195
8.16.6 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylnonylamin (6)	195
8.16.7 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethyldecylamin (7)	196
8.16.8 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylundecylamin (8)	197
8.16.9 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethyldodecylamin (9)	198
8.16.10 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethyltridecylamin (10)	199
8.16.11 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethyltetradecylamin (11)	199
8.16.12 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylpentadecylamin (12)	200
8.16.13 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethylhexadecylamin (13)	201
8.16.14 Darstellung von <i>N,N</i> -Dimethyloctadecylamin (14)	202
8.16.15 Darstellung von Undec-10-ensäurechlorid (15)	203

8.16.16 Darstellung von Undec-10-enamid (16)	203
8.16.17 Darstellung von <i>N</i> -Methylundec-10-enamid (17)	204
8.16.18 Darstellung von Undec-10-enylamin (18)	205
8.16.19 Darstellung von <i>N</i> -Methylundec-10-enylamin (19)	206
8.16.20 Darstellung von <i>N,N</i> -Bis(ethan-1,2-diy)lundec-10-enamid (20)	207
8.16.21 Darstellung von <i>N,N</i> -Bis(undec-10-enyl)ethan-1,2-diamin (21)	208
8.16.22 Darstellung von HOEG ₆ C ₁₁ -1-en (22)	209
8.16.23 Darstellung von HOEG ₇ C ₁₁ -1-en (23)	210
8.16.24 Darstellung von MeOEG ₍₃₋₁₂₎ C ₁₁ -1-en (24)	211
8.16.25 Darstellung von HOEG ₆ C ₁₁ SAc (25)	212
8.16.26 Darstellung von HOEG ₇ C ₁₁ SAc (26)	213
8.16.27 Darstellung von HOEG ₆ C ₁₁ SH (27)	214
8.16.28 Darstellung von HOEG ₇ C ₁₁ SH (28)	214
8.16.29 Darstellung von MeOEG ₍₃₋₁₂₎ C ₁₁ P(H)(O)(OH) (29)	215
8.16.30 Darstellung von MeOEG ₍₃₋₁₂₎ C ₁₁ P(O)(OH) ₂ (30)	216
8.16.31 Darstellung von MeOEG ₍₃₋₁₂₎ C ₁₁ P(S)(OH) ₂ (31)	217
8.16.32 Darstellung von MeOEG ₆ N ₃ (32)	218
8.16.33 Darstellung von Bis(trimethylsilyl)hypophosphit (33)	219
8.16.34 Darstellung von Phosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester (34)	220
8.16.35 Darstellung von Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester (35)	221
8.16.36 Versuchte Darstellung von Octadecylphosphonsäure- bis(trimethylsilyl)ester (36)	222
8.16.37 Darstellung von Octadecylthiophosphonsäure- bis(trimethylsilyl)ester (37)	222
8.16.38 Darstellung von Octadecylthiophosphonsäure (38)	223
8.16.39 Darstellung von <i>S</i> -11-Oxo-11-(prop-2-nylamino)- undecylthioacetat (39)	224

8.16.40 Darstellung von AcSC ₁₁ EG ₆ OC(O)C≡CH (40)	225
8.16.41 Darstellung von Triethylboran	226
8.16.42 Vorbemerkung zu den dargestellten Polyglycerol-Dendrimeren	228
8.16.43 Darstellung der Dendrimere der Klasse D1(en)	228
8.16.43.1 D1(en) ₃₀₀₀	229
8.16.43.2 D1(en) ₄₀₀₀	230
8.16.43.3 D1(en) ₆₀₀₀	230
8.16.43.4 D1(en) ₈₀₀₀	231
8.16.43.5 D1(en) ₁₀₀₀₀	232
8.16.44 Versuch der Polymerisation von Glycidol mit Undec-10-en-1-olat als Starter	232
8.16.45 Darstellung der <i>N</i> -methylierten Dendrimere der Klasse D1(en)(NMe)	233
8.16.45.1 D1(en)(NMe) ₃₀₀₀	234
8.16.45.2 D1(en)(NMe) ₄₀₀₀	234
8.16.45.3 D1(en)(NMe) ₆₀₀₀	235
8.16.45.4 D1(en)(NMe) ₈₀₀₀	235
8.16.45.5 D1(en)(NMe) ₁₀₀₀₀	236
8.16.46 Darstellung der Thioacetate der Klasse D1(SAc)	237
8.16.46.1 D1(SAc) ₃₀₀₀	238
8.16.46.2 D1(SAc) ₄₀₀₀	238
8.16.46.3 D1(SAc) ₆₀₀₀	239
8.16.46.4 D1(SAc) ₈₀₀₀	240
8.16.46.5 D1(SAc) ₁₀₀₀₀	240
8.16.47 Darstellung von MeD1(en) ₃₀₀₀	241
8.16.48 Darstellung der Phosphinsäure MeD1(Phosphin) ₃₀₀₀	242
8.16.49 Darstellung der Phosphonsäure MeD1(Phosphon) ₃₀₀₀	243
8.16.50 Versuchte Darstellung der Thiophosphonsäure	245
8.16.51 Darstellung der Dendrimere der Klasse D2(en)	245
8.16.51.1 D2(en) ₃₀₀₀	246
8.16.51.2 D2(en) ₅₀₀₀	247
8.16.51.3 D2(en) ₁₀₀₀₀	247

8.16.52 Darstellung der <i>N</i> -methylierten Dendrimere der Klasse D2(en)(NMe)	248
8.16.52.1 D2(en)(NMe) ₃₀₀₀	249
8.16.52.2 D2(en)(NMe) ₅₀₀₀	250
8.16.52.3 D2(en)(NMe) ₁₀₀₀₀	250
8.16.53 Darstellung der Thioacetate der Klasse D2(SAc)	251
8.16.53.1 D2(SAc) ₃₀₀₀	252
8.16.53.2 D2(SAc) ₅₀₀₀	253
8.16.53.3 D2(SAc) ₁₀₀₀₀	253
8.16.54 Darstellung der Dendrimere der Klasse D3(en)	254
8.16.54.1 D3(en) ₄₀₀₀	255
8.16.54.2 D3(en) ₈₀₀₀	256
8.16.54.3 D3(en) ₁₀₀₀₀	256
8.16.55 Darstellung der <i>N</i> -methylierten Dendrimere der Klasse D3(en)(NMe)	257
8.16.55.1 D3(en)(NMe) ₄₀₀₀	258
8.16.55.2 D3(en)(NMe) ₈₀₀₀	258
8.16.55.3 D3(en)(NMe) ₁₀₀₀₀	259
8.16.56 Darstellung der Thioacetate der Klasse D3(SAc)	259
8.16.56.1 D3(SAc) ₄₀₀₀	260
8.16.56.2 D3(SAc) ₈₀₀₀	261
8.16.56.3 D3(SAc) ₁₀₀₀₀	262
9 Zusammenfassung	263
10 Summary	266
11 Gefährdungspotentiale besonders relevanter Gefahrstoffe	269
12 Literatur	270

Abkürzungsverzeichnis

AFM	<i>Atomic Force Microscopy</i> (Rasterkraftmikroskopie)
AIBN	2,2'-Azobis(2-methylpropionitril)
AVV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Bu ₂ O	Dibutylether
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DNA	<i>Desoxy Ribonucleic Acid</i>
EG	Ethylenglycol-Einheit
Et ₂ O	Diethylether
Et ₃ B	Triethylboran
EtOAc	Ethylacetat
IR	Infrarot
MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption / Ionisation Time Of Flight Spectroscopy</i>
MeOH	Methanol
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance (Spectroscopy)</i>
OEG	Oligoethylenglycol
PG	Polyglycerol
SAc	Thioacetylgruppe
SAM	<i>Self-Assembled Monolayer</i>
SPR	<i>Surface Plasmon Resonance (Spectroscopy)</i>
UV	Ultraviolett

1 Einleitung

Im Bereich der chemischen¹ und biologischen² Analytik, vor allem aber in der medizinischen Diagnostik³ besteht ein großes Interesse in der Entwicklung neuer, leistungsfähiger Analyseverfahren. Hierbei stehen die Miniaturisierung der Analysegeräte und damit verbunden die Minimierung der benötigten Probenvolumina im Vordergrund. Aber auch die Ausschaltung von Detektionsinterferenzen bei Mehrkomponentensystemen spielt eine entscheidende Rolle. Neben anderen Methoden wird in diesem Zusammenhang zunehmend die Sensorik eingesetzt. Unter einem Sensor versteht man ein System, das eine spezifische Wechselwirkung mit dem Analyten eingeht und ein zur Analyt-Konzentration proportionales Messsignal generiert. Um für den Einsatz als analytisches Werkzeug geeignet zu sein, muss ein Sensor neben hinreichender mechanischer sowie chemischer Stabilität vor allem eine hohe Spezifität gegenüber dem Analyten und eine hohe Reproduzierbarkeit des Messsignals aufweisen.

Eine sehr praktikable Strategie, zu derartigen Sensoren zu gelangen, besteht in der Verwendung von Substraten mit geeignet modifizierten Oberflächen, an denen der Analyt spezifisch gebunden wird.⁴ Der Vorteil, die Wechselwirkung an einer Oberfläche stattfinden zu lassen, besteht darin, dass bereits kleine Veränderungen im Bedeckungsgrad der Oberfläche mit entsprechenden Messmethoden sehr gut detektierbar sind. Daher können auch sehr geringe Analyt-Konzentrationen bestimmt werden. Eine sehr einfache und zuverlässige Methode zur Modifizierung von Oberflächeneigenschaften stellt die Verwendung von selbstanordnenden Monoschichten (*Self-Assembled Monolayers*, **SAMs**) dar.⁵ Hierbei binden Moleküle in Form einer Monoschicht an die Oberfläche. Die physikalisch-chemischen - und damit verbunden auch die biologischen Oberflächeneigenschaften - werden dann durch die Molekülteile bestimmt, die von der SAM-Oberfläche exponiert werden. Da es sich bei SAMs um monomolekulare Schichten handelt, deren Dicke wenige Nanometer nicht überschreitet, bietet diese Technologie viel Spielraum zur Miniaturisierung von Sensorfeldern.⁶ Ein weiterer Vorteil SAM-basierter Sensoren besteht darin, dass gemischte Monoschichten gebildet werden können. Hierdurch ist es möglich, sensorisch aktive Moleküle in inerte Matrices einzubetten, die unspezifische Wechselwirkungen des

Analyten mit der Oberfläche unterbinden.⁷ Dies ist von besonderem Interesse bei Biosensoren, wo die spezifische Anbindung von Biomolekülen an den SAM detektiert wird.

1.1 Selbstanordnende Monoschichten

Die Ausbildung organischer Filme an Grenzflächen ist schon lange bekannt. Zuerst wurde dieses Phänomen an der Grenzfläche flüssig-gasförmig beobachtet. Bereits die Römer kannten den wellendämpfenden Effekt von Ölfilmen auf Wasseroberflächen und nutzten ihn in der Schifffahrt. Wissenschaftlich untersucht wurde das Phänomen aber erst im Jahre 1758 durch *B. Franklin*, der sich intensiv mit der Erforschung des Verhaltens von Öl in Wasser beschäftigte. 1891 veröffentlichte dann *A. Pockels* mit Hilfe von *Lord Rayleigh* die ersten systematischen Untersuchungen des Einflusses amphiphiler Moleküle auf die Oberflächenspannung. Zudem entwickelte sie ein Vorläufermodell der Langmuir-Filmwaage, mit der *I. Langmuir* 1917 Monoschichten amphiphiler Moleküle auf Wasser untersuchte,⁸ wofür er 1932 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde. 1935 gelang es dann *K. Blodgett*, die von *Langmuir* entdeckten Monoschichten auf feste Substrate zu übertragen (*Langmuir-Blodgett-Filme*).⁹ 1983 beschrieben *R. G. Nuzzo* und *D. L. Allara* ein System, das den eigentlichen Begriff SAM prägte.¹⁰ Es handelte sich um Monoschichten, die sich spontan durch die Einwirkung von Dialkyldisulfiden auf Goldoberflächen bildeten. 1989 wurde von *C. Bain* und *G. M. Whitesides* gezeigt, dass analoge Schichten auch durch die Adsorption von Alkanthiolen auf Goldoberflächen erhalten werden können.¹¹

Heutzutage ist eine Vielzahl solcher Monoschichten auf den unterschiedlichsten Substraten bekannt. Neben Thiolat-SAMs, die durch die Adsorption von Disulfiden, Thiolen und Thioacetaten auf Münzmetallen oder Galliumarsenid gebildet werden, lassen sich eine Reihe analoger Systeme durch andere Substrat/Adsorbat-Kombinationen erhalten. Die prominentesten Kombinationen sind in Abb. 1 dargestellt.

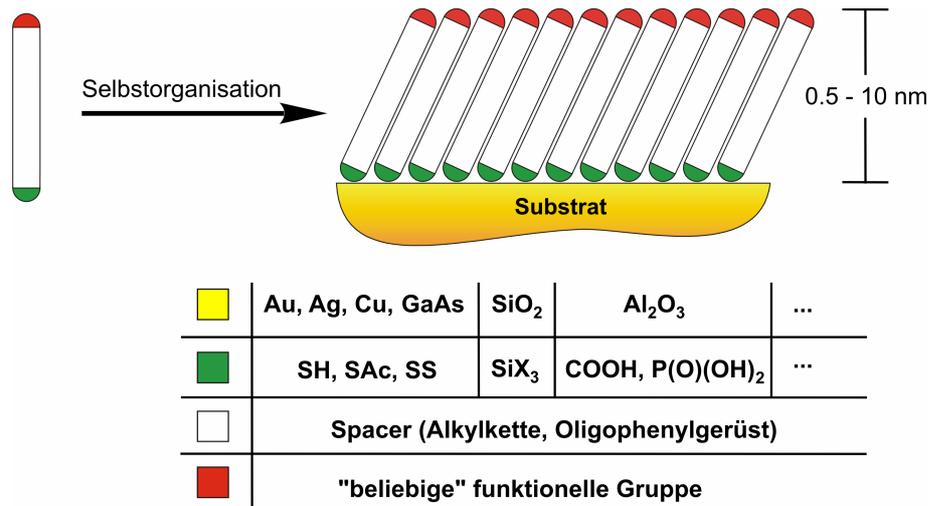


Abb. 1: SAMs auf verschiedenen Materialien.

So sind durch die Adsorption von Alkyltrichlorsilanen bzw. Alkyltrialkoxysilanen auf Siliciumdioxid oder Glas Alkylsiloxan-SAMs erhältlich.¹²⁻¹⁴ Fettsäuren und Alkylphosphonsäuren hingegen können zur Bildung von SAMs auf oxidischen Metalloberflächen eingesetzt werden.¹⁵⁻¹⁹

Moleküle, die geeignet sind, einen SAM auf einem gegebenen Substrat auszubilden, bestehen aus drei Teilen. An einem Ende befindet sich die Ankergruppe, mit der das Molekül fest an das Substrat bindet. Ein strukturgebendes Element (*spacer*) sorgt durch intermolekulare Wechselwirkungen (Van-der-Waals-Kräfte, π - π -Interaktion) zwischen den schichtbildenden Molekülen für eine hohe Ordnung und Packungsdichte in der Monoschicht. Bei Alkanthiolat-SAMs auf Gold wurden die zwischen den Alkylketten wirksamen Van-der Waals-Wechselwirkungen zu etwa 2 kJ/mol CH₂-Gruppe bestimmt.²⁰ Als dritten Teil besitzen die Moleküle eine so genannte Kopfgruppe. Im ausgebildeten SAM befinden sich die Kopfgruppen an der Grenzfläche zwischen Monoschicht und Umgebung. Ihre Natur bestimmt die physikalischen und chemischen Eigenschaften des SAMs und somit die Eigenschaften der modifizierten Oberfläche. Alkylphosphonat-Monoschichten mit hydrophoben CH₃-Kopfgruppen wirken z. B. der Korrosion des verwendeten Metallsubstrats entgegen.²¹

Eine weitere interessante Anwendung von selbstanordnenden Monoschichten besteht darin, Oberflächen zu generieren, die entweder keine Wechselwirkung mit Biomolekülen und Mikroorganismen eingehen (Biorepulsivität) oder spezifisch nur mit bestimmten Molekülen wechselwirken (sensorische Aktivität). Zur Erzeugung biorepulsiver Monoschichten wird die Oligoethylenglycol-Kopfgruppe genutzt. Beispiele

hierfür sind entsprechende Siloxan-SAMs auf Siliciumdioxid und Glas bzw. Thiolat-SAMs auf Gold.²²⁻²⁴ Ein Beispiel für einen SAM mit sensorisch aktiven Kopfgruppen sind Biotin-terminierte Monoschichten auf Gold, die spezifisch das Protein Streptavidin binden.²⁵ Gemischte Thiolat-SAMs auf Gold, bei denen die sensorisch aktiven Moleküle in eine biorepulsive Matrix aus Oligoethylenglycol (OEG)-terminierten Molekülen eingebettet sind, spielen im Bereich der Biosensorik eine große Rolle.

1.1.1 Thiolat-SAMs auf Gold

Alkanthiolat-SAMs auf Gold(111) stellen das am längsten bekannte und am besten untersuchte System dar. Gold als Substrat-Material bietet den Vorteil, gegenüber den meisten funktionellen Gruppen und vor allem gegenüber Sauerstoff inert zu sein. Zudem bildet Schwefel zu Gold eine sehr stabile Bindung aus. Die Schichten lassen sich bequem erzeugen, indem das entsprechende Molekül mit Schwefel-Ankergruppe aus Lösung oder aus der Gasphase auf dem Substrat immobilisiert wird. Allgemein wird davon ausgegangen, dass es sich bei der Schichtbildung um einen zweistufigen Prozess handelt.²⁶ Im ersten Schritt findet eine schnelle Adsorption der Moleküle auf dem Substrat statt. Innerhalb weniger Minuten bildet sich die Monoschicht zu 90 % aus. Dem ersten Schritt angeschlossen folgt ein zweiter, deutlich langsamerer Vorgang. Hier kommt es durch Adsorptions- und Desorptionsvorgänge sowie durch Oberflächendiffusion zu einer Erhöhung der Schichtordnung. Moleküle werden verschoben, Defekte ausgeheilt und noch freie Adsorptionsplätze besetzt. Dieser zweite Schritt der Schichtbildung, der auch als zweidimensionale Kristallisation bezeichnet wird, kann abhängig von Temperatur, Lösungsmittel und Konzentration des Adsorbens einige Stunden bis mehrere Tage in Anspruch nehmen. Der gesamte Adsorptionsprozess wird in der Literatur oft als Langmuir-Adsorption bezeichnet.²⁷ Im Detail ist der Vorgang aber deutlich komplizierter und nur durch komplexere kinetische Modelle zu beschreiben.²⁸ Die Bildung von Thiolat-SAMs mit Thiolen folgt folgender Reaktionsgleichung:



Dieser Bindungsmechanismus wurde lange kontrovers diskutiert, da der Verbleib des Wasserstoffs ungeklärt war. Letztlich konnte er durch den Nachweis von Wasserstoff im Ultrahochvakuum jedoch bestätigt werden.²⁹ Zusätzlich sprechen XPS-Daten für das Vorliegen einer Thiolat-Gold-Bindung im SAM.³⁰ Aufgrund dieser Ergebnisse gilt der vorgestellte Mechanismus als allgemein akzeptiert. Der Mechanismus der Bildung von Thiolat-SAMs mit Thioacetaten als Adsorbentien hingegen ist nicht geklärt. Die Struktur eines Alkanthiolat-SAMs auf Gold(111) lässt sich als $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$ -Struktur mit $c(4 \times 2)$ -Überstruktur beziehungsweise $p(2\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ -Überstruktur beschreiben.³¹⁻³³ In diesen Strukturen liegen je zwei inäquivalente Alkylketten pro Einheitszelle vor. Die inäquivalenten Thiolat-Zentren sind in Abb. 2 als grüne bzw. blaue Punkte dargestellt.

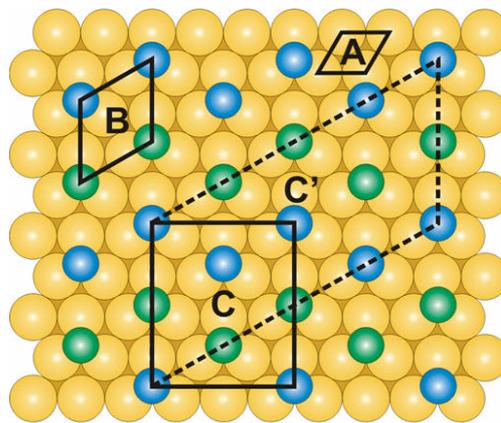


Abb. 2: Struktur eines Alkanthiolat-SAMs auf Gold(111), A: Elementarzelle des Goldes, B: $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$ -Struktur des Alkanthiolat-SAMs,³⁴ C: $p(2\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ -Überstruktur, C': $c(4 \times 2)$ -Überstruktur des SAMs.

Die Einheitszelle des Goldes ist mit **A** und die der Monoschicht mit **B** gekennzeichnet. **C** beschreibt die Elementarzelle der $p(2\sqrt{3} \times \sqrt{3})$ -Überstruktur und **C'** die Elementarzelle der $c(4 \times 2)$ -Überstruktur.

Röntgenbeugungs- und IR-spektroskopische Untersuchungen haben ergeben, dass die Alkylketten im Thiolat-SAM eine *all-trans*-Konformation aufweisen und um 30° gegenüber der Oberflächennormalen verkippt sind (Abb. 3).³²⁻³⁶ Durch diese Anordnung werden die Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten maximiert.

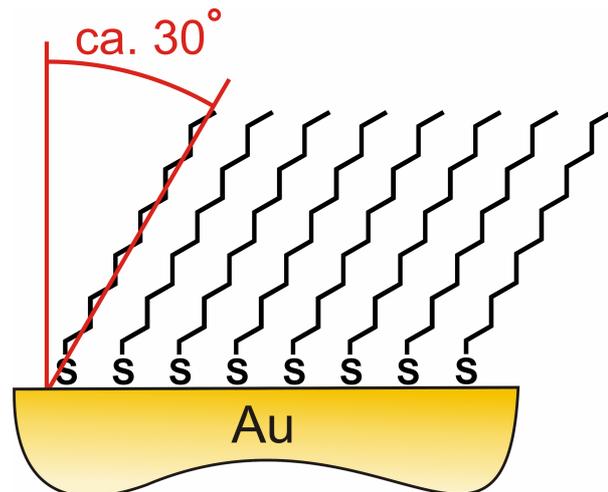


Abb. 3: Alkanthiolat-SAM auf Au(111).

Untersuchungen des Einflusses der Kettenlängen auf die Schichteigenschaften haben gezeigt, dass die Schichtordnung und der Bedeckungsgrad mit steigender Anzahl von CH_2 -Gruppen im *spacer* zunehmen. Die kritische Kettenlänge, unterhalb der unvollständige Schichtbildung eintritt, liegt zwischen vier und sieben CH_2 -Gruppen.³²⁻³⁸ Auch dieser Effekt ist auf die steigende Stabilisierung der Schicht durch Van-der-Waals-Wechselwirkungen bei steigender Kettenlänge des *spacer* zurückzuführen.

Amid-Funktionen im *spacer* des SAMs führen zu einer zusätzlichen Stabilisierung der Schicht, da zwischen diesen Gruppen intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden.³⁹

1.1.2 Siloxan-SAMs

Alkylsiloxan-SAMs unterscheiden sich in ihrer Struktur deutlich von analogen Thiolat-SAMs (Abb. 4A). Es handelt sich bei den Schichten um Polymere, in denen die einzelnen Moleküle über Si-O-Bindungen miteinander verknüpft sind.⁴⁰⁻⁴³ NEXAFS-Untersuchungen der Schichten deuten darauf hin, dass die Alkylketten gegenüber der Oberflächennormalen nicht oder nur sehr wenig verkippt sind.⁴⁴ Da die Si-O-Bindung deutlich stärker ist als die S-Au-Bindung, kommt es zu keiner dem primären Adsorptionsschritt angeschlossenen Umordnung der Schicht. Daher sind Siloxan-SAMs in der Regel weniger einheitlich als die entsprechenden Thiolat-SAMs.

1.1.3 Phosphonat-SAMs

Die Struktur eines Alkylphosphonat-SAMs ist in Abb. 4B dargestellt. Die Phosphonsäuremoleküle werden durch Kondensationsreaktionen mit den OH-Gruppen der oxidischen Oberfläche immobilisiert.⁴⁵ In der voll ausgebildeten Schicht liegen die Alkylketten in *all-trans*-Konformation vor.⁴⁶ Der Kippwinkel der Schichten wird in der Literatur mit Werten von 0° - 45° beschrieben.⁴⁷⁻⁵⁰ Es werden daher sowohl mono- als auch bi- und tridentate Anbindungen der Phosphonsäuregruppe an das Substrat diskutiert.^{51,52}

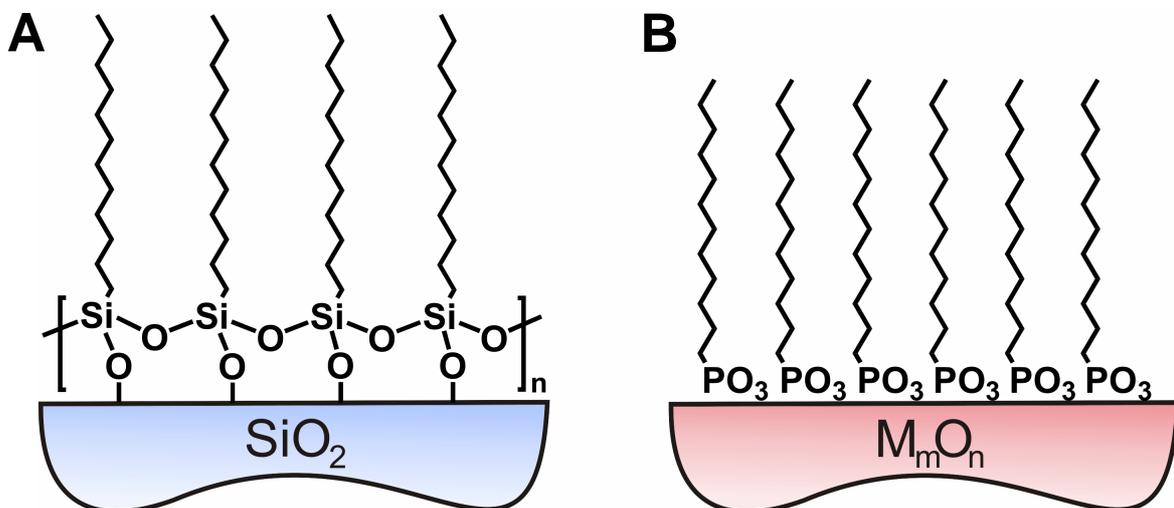


Abb. 4: Alkylsiloxan-SAMs auf SiO_2 (A) bzw. Alkylphosphonat-SAM auf Metalloxid (B).

1.2 Oberflächen in biologischen Medien

1.2.1 Proteinadsorption

Gelangt ein in Wasser gelöstes Protein an eine Oberfläche, so tritt es mit ihr durch hydrophobe Wechselwirkungen in Interaktion und adsorbiert. Da es sich um keinen spezifischen Vorgang handelt, spricht man in diesem Zusammenhang von unspezifischer Proteinadsorption. Auch elektrostatische Wechselwirkungen spielen bei diesem Prozess eine Rolle, allerdings in untergeordnetem Maß.⁵³⁻⁵⁷ In Abb. 5 ist der Vorgang der unspezifischen Adsorption schematisch dargestellt.

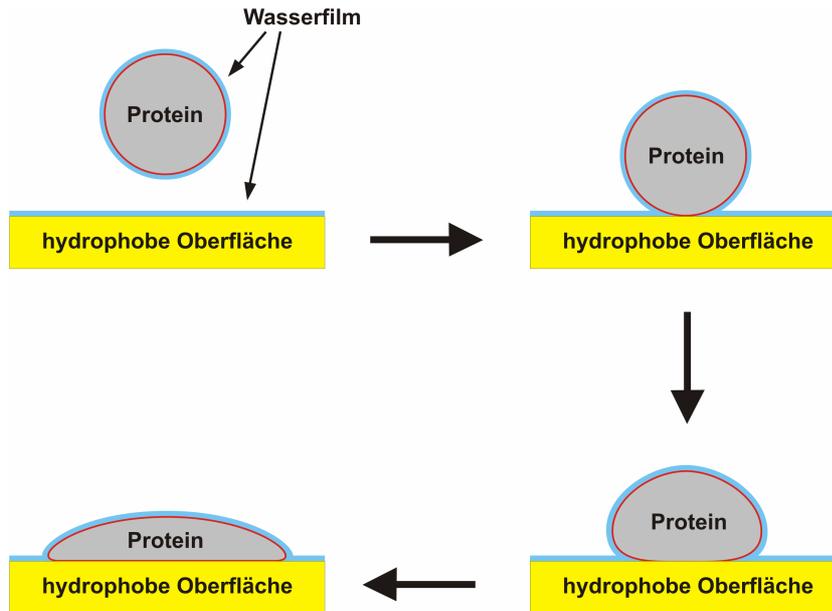


Abb. 5: Unspezifische Proteinadsorption an einer hydrophoben Oberfläche.

Die Stärke der hydrophoben Wechselwirkung hängt von der Grenzflächenenergie der Grenzfläche Oberfläche / umgebendes Wassers ab. Je stärker hydrophob die Oberfläche ist, desto niedriger ist die Grenzflächenenergie und desto leichter lassen sich die Wassermoleküle an der Grenzfläche (Wasserfilm) durch ebenfalls hydrophobe Teilchen verdrängen. Dies führt dann zu einer Aggregation der hydrophoben Partner.⁵⁸⁻⁶¹

An unpolaren Oberflächen wird die hydrophobe Wechselwirkung entropisch sehr stark begünstigt, da das verdrängte Oberflächenwasser im *bulk* eine deutlich größere Anzahl von Freiheitsgraden besitzt. Enthalpisch hingegen ist der Dehydratisierungsprozess nicht bevorzugt. Das liegt daran, dass der Wasserfilm an hydrophoben Oberflächen eine besondere Struktur besitzt, wodurch die Moleküle etwas stärkere intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden als es im *bulk*-Wasser der Fall ist.^{62,63} Das Entfernen des oberflächennahen Wassers ist daher mit einer schwach positiven Enthalpiebilanz besetzt. Die Ausbildung von Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen den beiden hydrophoben Partnern hingegen führt zu einer deutlichen Absenkung der Enthalpie und damit zu einer starken Begünstigung der Adsorption.

Im Gegensatz zu hydrophoben Oberflächen werden hydrophile durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen mit den Molekülen des Wasserfilms stabilisiert. Dies führt zu einer deutlichen Absenkung der Grenzflächenenergie. Das bedeutet, dass

die Dehydratisierung hydrophiler Oberflächen entropisch zwar begünstigt, enthalpisch aber sehr unvorteilhaft ist. Hinzu kommt eine enthalpisch ungünstige Wechselwirkung zwischen hydrophoben Proteinteilen und der hydrophilen Oberfläche. Die hydrophobe Wechselwirkung ist an hydrophilen Oberflächen deshalb deutlich schwächer ausgeprägt. Diesem Prinzip folgend nimmt die Stärke der hydrophoben Wechselwirkung und damit auch der unspezifischen Proteinadsorption mit steigender Polarität der betrachteten Oberfläche ab. Hierfür gibt es viele experimentelle Belege, die zeigen, dass die Proteinadsorption an unpolaren CH_3 -terminierten SAMs am stärksten ausgeprägt ist und mit steigender Hydrophilie der Monoschicht abnimmt.⁶⁴⁻⁷⁰

Der Vorgang der Proteinadsorption lässt sich, wie in Abb. 5 dargestellt, in verschiedene Schritte unterteilen. Zuerst gelangt das Protein in seiner nativen Form an die Oberfläche. Im nativen Zustand weist das Protein eine Gestalt auf, in der sich das hydrophobe Peptid-Gerüst im Inneren des Molekülknäuls befindet. Polare Gruppen wie $-\text{COO}^-$ und $-\text{NH}_3^+$ hingegen sind außen an der Grenzfläche Proteinknäuel / Wasser zu finden (Abb. 6).⁷¹

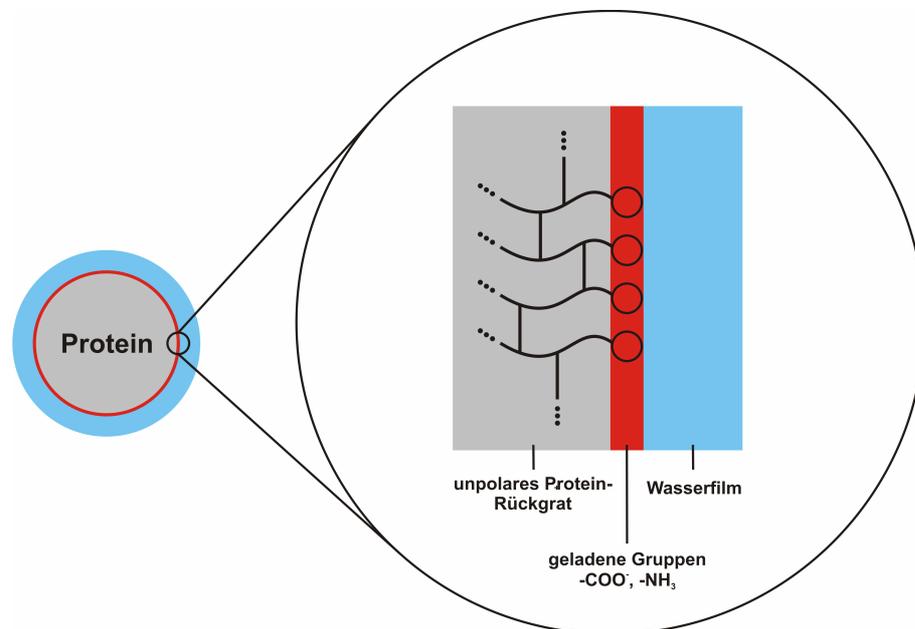


Abb. 6: Natives Protein in wässrigem Medium.

Bei Erreichen der Oberfläche adsorbiert das Protein zunächst unter Verdrängung des Wasserfilms in seiner nativen Form. Bei diesem Prozess handelt es sich um einen reversiblen Vorgang. Diesem ersten Adsorptionsschritt schließt sich dann ein zweiter

Schritt an, bei dem es zu einer Auffaltung des Proteins kommt. Die im Inneren liegenden hydrophoben Molekülteile werden dabei in Richtung Oberfläche exponiert, wodurch die hydrophobe Interaktion maximiert wird.⁷²⁻⁷⁴ Die hiermit verbundene Konformationsänderung des Proteins wird als Denaturierung oder Relaxation bezeichnet und führt zur irreversiblen Bindung an die Oberfläche. Der Adsorptionsschritt ist deutlich schneller als die Denaturierung. Da die Konformationsänderung mit einem steigenden Oberflächenbedarf des Proteins einhergeht, hängt der Anteil von denaturiert gebundenem Protein von der Konzentration und der Flussgeschwindigkeit der zur Adsorption verwendeten Proteinlösung ab. Je höher die Konzentration bzw. je dünner die Diffusionsschicht, desto mehr Adsorptionsplätze werden durch nativ gebundenes Protein besetzt, das aufgrund des fehlenden Platzes nur wenig oder gar nicht denaturieren kann.⁷²⁻⁷⁵ Die Geschwindigkeit der Proteinadsorption sowie der Grad der Denaturierung auf der Oberfläche nimmt mit deren hydrophobem Charakter zu.

Untersuchungen an SAMs mit unterschiedlich polaren Kopfgruppen haben dies bestätigt.⁷⁶⁻⁷⁸ Hier zeigten CH₃-terminierte Monoschichten sowohl die schnellste Adsorption als auch die höchste Protein-Relaxation. Beide Effekte sind auf den hydrophoben Charakter der Schicht zurückzuführen. Die schnelle Adsorption resultiert aus einer leichten Verdrängbarkeit des Wasserfilms. Die angeschlossene Denaturierung ist ein Ergebnis der starken hydrophoben Wechselwirkungen, die das Protein zur Oberfläche ausbilden kann.

Die Proteinadsorption wird aber zusätzlich von einer Fülle anderer Faktoren beeinflusst, die noch weitgehend unverstanden sind.

1.2.2 Zelladhäsion und Biofilme

Bakterien und Eukaryotische Zellen sind in der Lage, über spezielle Mechanismen auf den Oberflächen nahezu aller Materialien zu adhären und so genannte Biofilme zu bilden. Die Bildung von Biofilmen stellt in vielen technischen und medizinischen Prozessen einen unerwünschten Vorgang dar und soll dort nach Möglichkeit verhindert werden. Oft wird die Zelladhäsion durch eine vorausgehende Proteinadsorption auf der entsprechenden Oberfläche vermittelt. So verfolgen viele Bakterien bei der Besiedelung von Oberflächen folgende mehrstufige Strategie.⁷⁹⁻⁸² Zuerst

nähert sich das Bakterium der zu besiedelnden Oberfläche und adhärirt reversibel an ihr. Daraufhin sondert es bestimmte Proteine ab, die über unspezifische Adsorption an diese Oberfläche binden. Dann bindet das Bakterium selbst über spezifische Wechselwirkungen an das adsorbierte Protein und beginnt, auf der Oberfläche eine Kolonie zu bilden. Ab einer bestimmten Populationszahl produziert die Bakterienkolonie dann eine Kohlenhydratmatrix, mit der sie sich vollständig umgibt. Es entsteht der so genannte Biofilm, der die Kolonie vor Angriffen des Immunsystems und sogar gegen Antibiotika schützt.⁸³ Abb. 7 veranschaulicht diesen Vorgang am Beispiel der Adhäsion von Bakterien aus einem fließenden Medium.

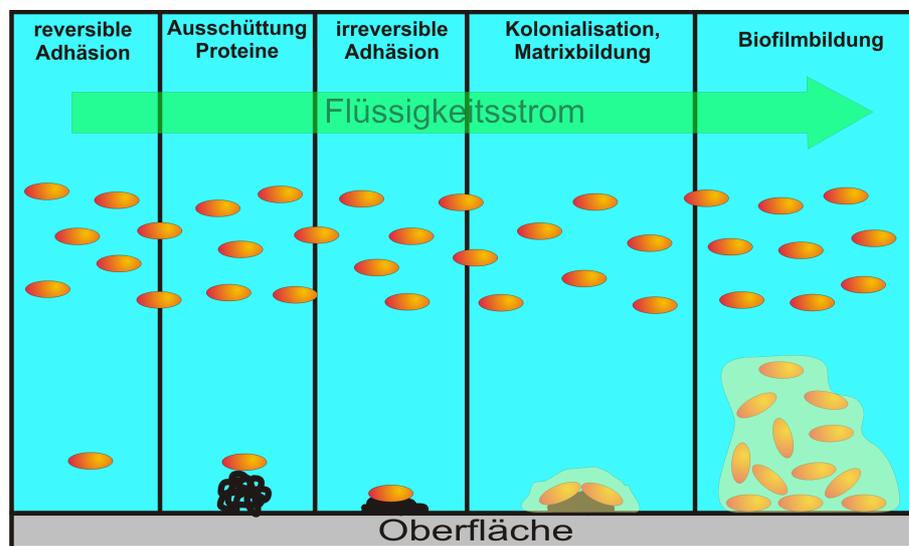


Abb. 7: Bakterienadhäsion an angeströmter Oberfläche.

Finden solche Besiedelungen auf medizinischen Implantaten statt, führt dies oft zu chronischen Entzündungen bis hin zu Nekrosen.⁸⁴ Auch körpereigene Zellen stellen im Zusammenhang mit Implantaten und Kathetern ein Problem dar. Gelangen derartige künstliche Oberflächen in den Organismus, findet sofort eine Adsorption von Plasmaproteinen statt. An diesen Proteinfilmern adhäreren dann Blutzellen und Fibroblasten, wodurch Thrombosen entstehen können.⁸⁵⁻⁸⁸

Biofilme sind nicht nur im medizinischen Bereich unerwünscht. Auch in der Lebensmittelindustrie und sogar in der Schifffahrt bereiten sie Probleme. So führt die bakterielle Besiedelung von Verpackungsmaterialien zu einer deutlich verminderten Haltbarkeit von Lebensmitteln.⁸⁹ Biofilme auf Schiffsrümpfen bewirken dagegen einen

erheblichen Anstieg des Wasserwiderstandes und damit eine Erhöhung des Kraftstoffverbrauchs.⁹⁰

Eine Möglichkeit zur Unterdrückung der Biofilmbildung besteht in der gezielten Veränderung der chemischen und physikalischen Eigenschaften von Oberflächen. Hierdurch ist es möglich, die initiale unspezifische Proteinadsorption zu verhindern. Oberflächen, die ein solches Verhalten zeigen, werden allgemein als biorepulsiv bezeichnet. SAMs eignen sich gut dazu, die Oberflächeneigenschaften von Substraten zu modifizieren. Daher sollten biorepulsive Oberflächeneigenschaften durch die Adsorption von monoschichtbildenden Molekülen mit biorepulsiver Kopfgruppe erzeugbar sein.⁹¹

1.2.3 Biorepulsive Monoschichten

Seit Anfang der achtziger Jahre ist bekannt, dass oberflächengebundenes Polyethylenglycol (PEG) die Adsorption von vielen Proteinen unterdrückt. Auch die Adhäsion von Zellen wird, je nach Typ, unterdrückt oder zumindest stark vermindert.⁹²⁻⁹⁴ Zu Beginn der neunziger Jahre wurde dieses Phänomen erstmals von *Whitesides* bei Alkanthiolat-SAMs auf Gold mit Oligoethylenglycol (OEG)- und Oligoethylenglycolmonomethylether (MeOEG)-Kopfgruppen beobachtet.^{95,96} Seitdem wurde eine Reihe analoger SAMs auf verschiedenen Substrat-Materialien wie z.B. Silicium,^{97,98} Siliciumdioxid und Glas dargestellt, die ebenfalls proteinrepulsives Verhalten zeigen.^{23,24} Im Vergleich zu den OEG-terminierten Alkylthiolat-SAMs auf Gold kommt diesen Systemen jedoch nur eine untergeordnete Bedeutung zu. Dies liegt zum einen darin begründet, dass Siloxan-SAMs weniger stark geordnet sind als analoge Thiolat-Monoschichten. Weiterhin zeigen die Silan-Ankergruppen der zur Schichtbildung verwendeten Moleküle nur eine geringe Toleranz gegenüber anderen Funktionalitäten, wodurch das Spektrum der verwendbaren Kopfgruppen deutlich eingeschränkt ist.

Zur Erzeugung biorepulsiver Oberflächeneigenschaften hat sich neben der Bildung von SAMs auch das Aufbringen PEG-haltiger Polymere auf die Substrate bewährt. Hierzu werden die Makromoleküle über mehrere Ankergruppen multivalent an Materialien wie Gold,⁹⁹ Thiolat-SAMs auf Gold,¹⁰⁰ Siliciumdioxid,¹⁰¹ Titandioxid^{102,103} oder Niobpentaoxid^{104,105} gebunden. Auch wurde gezeigt, dass durch Aufpolymerisieren

PEG-haltiger Monomere auf entsprechend funktionalisierte SAMs biorepulsiv wirk-same Filme erhalten werden können.^{106,107}

Außer PEG und OEG sind noch eine Reihe weiterer Kopfgruppen bekannt, die ebenfalls biorepulsive Eigenschaften aufweisen. Die effektivsten Vertreter sind Phosphorylcholin- bzw. Oligophosphorylcholine,¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Polycarboxybetaine,¹¹¹ Sulfo-betaine,¹¹²⁻¹¹⁴ Oligopropylensulfoxide,¹¹⁵ Polyglycerol¹¹⁶ und eine Reihe von kohlen-hydratbasierten Verbindungen, wie Mannitol und Galactose.^{117,118} Mit diesen Kopf-gruppen modifizierte SAMs sind in ihrer proteinrepulsiven Wirkung jedoch nicht so effizient wie die entsprechenden EG-terminierten Schichten. Eine Ausnahme bildet die Polyglycerol (PG)-Kopfgruppe, die vergleichbare Repulsivität zeigt.¹¹⁶ Neben der etwas höheren Effizienz haben EG-Verbindungen gegenüber PG-Verbindungen jedoch zwei große Nachteile: zum einen sind sie empfindlich gegen Sauerstoff und biologischen Abbau *in vivo*, was sie ihren Einsatz zur Modifizierung von Implantaten limitiert.¹¹⁹⁻¹²³ Des Weiteren ist ihre thermische Stabilität erheblich geringer als die des PG, wodurch die Sterilisation beschichteter Materialien bei erhöhten Temperatu-ren problematisch ist.¹²⁴

Die Prinzipien, die der repulsiven Wechselwirkung zwischen Kopfgruppe und Protein zugrunde liegen, sind noch weitgehend unverstanden. Dennoch geben experimentel-le Befunde Hinweise darauf, welche strukturellen und chemisch-physikalischen Eigenschaften für das Auftreten von Proteinresistenz erforderlich sind:^{125,126}

1. Das terminale Ende der Kopfgruppe muss polar sein.
2. Das Rückgrat der Kopfgruppe muss hydrophil sei, als Wasserstoffbrücken-Akzep-tor fungieren, aber keine Wasserstoffbrücken-Donor-Eigenschaften besitzen
3. Die Kopfgruppe muss elektrisch neutral sein. Ein zwitterionischer Charakter ist jedoch unproblematisch.
4. Bei der Verwendung von Oligomeren als Kopfgruppen steigt der repulsive Cha-rakter mit der Anzahl der Monomereinheiten im Rückgrat.

Weiterhin weisen alle repulsiven Systeme einen hohen Hydratisierungsgrad der Kopfgruppen auf, welcher durch helicale und vor allem amorphe Konformationen begünstigt wird. Die Konformation der Kopfgruppen wird wiederum stark durch die Packungsdichte der Schicht bestimmt.¹²⁷ Mit steigender Packungsdichte nimmt der

Anteil von amorphen Bereichen ab, was bei zu dicht gepackten SAMs zu einer Verminderung der Proteinresistenz führt. Eine zu geringe Packungsdichte führt hingegen ebenfalls zum Verlust des repulsiven Verhaltens.

Die oben genannten Kriterien für Biorepulsivität werden von vielen aktiven Systemen erfüllt. Es gibt jedoch auch Ausnahmen. So weisen einige kohlenhydratbasierte Kopfgruppen trotz Wasserstoffbrücken-Donoren im Rückgrat Proteinrepulsivität auf.^{117,118} Hierdurch wird deutlich, dass die geforderten Voraussetzungen keine allgemeine Gültigkeit besitzen und nur Hinweise auf eine eventuell vorhandene repulsive Aktivität der Kopfgruppe geben.

1.2.4 Ursachen für Biorepulsivität

Seit der Entdeckung des repulsiven Effektes von oberflächengebundenem PEG besteht ein starkes Interesse daran, die Gründe für dieses Verhalten zu verstehen. Entsprechende Untersuchungen existieren bis jetzt allerdings fast ausschließlich für EG-terminierte Monoschichten. Für diese Systeme wurden unterschiedliche Theorien zur Erklärung des Effektes entwickelt.

Mitte der achtziger Jahre wurde von *Anrade* und *de Gennes* die Theorie der sterischen Repulsion aufgestellt.^{53,128,129} Diese Theorie geht davon aus, dass oberflächengebundenes PEG in wässriger Umgebung eine stark hydratisierte, amorphe Struktur aufweist, und dass der Hydratisierungsgrad von der Konformation der PEG-Ketten abhängt. Die Adsorption eines Proteins auf dem PEG-Film hätte zwei Effekte zur Konsequenz: Zum einen würde die Bindung des Proteins an die PEG-Ketten eine Kompression der Filmstruktur bewirken, wodurch viele Freiheitsgrade der Ketten verloren gingen. Dies wäre mit einem deutlichen Entropieverlust des Systems verbunden. Weiterhin würde die Wechselwirkung mit dem Protein eine Konformationsänderung der PEG-Ketten verursachen, wodurch sich die Wechselwirkungsstärke der Schicht mit den eingelagerten Wassermolekülen vermindern würde. Dies hätte eine teilweise Dehydratisierung der Schicht zur Folge. Diesem Vorgang wirkt der Osmotische Druck entgegen, der eine höchstmögliche Hydratisierung der Schicht verlangt.

Mit dieser Theorie lässt sich der repulsive Effekt von PEG-Schichten und PEG-terminierten SAMs¹³⁰ erklären.

Auf OEG-terminierte SAMs kann diese Theorie jedoch nicht angewendet werden, da die EG-Ketten zu kurz sind, um den Effekt der sterischen Repulsion zu zeigen. Das Modell wurde daher Ende der neunziger Jahre von *Szleifer* mit Hilfe der *single-chain mean-field theory* (SCMFT) modifiziert.¹³¹⁻¹³³ *Szleifer* ging davon aus, dass die PEG-Ketten eines gebundenen PEG-Films mit freien Adsorptionsplätzen auf der Oberfläche attraktive Wechselwirkungen eingehen. Hierdurch werden mögliche Bindungsplätze für das Protein blockiert. Zwischen den PEG-Ketten und dem Protein besteht eine der sterischen Repulsion analoge Wechselwirkung, die eine Adsorption auf dem PEG-Film verhindert. Da in der Beschreibung nach *Szleifer* der repulsive Charakter der Schicht nur sehr wenig von der Kettenlänge der PEG-Stränge abhängt, lässt sich diese Theorie auch auf OEG-terminierte SAMs anwenden.

Neben diesen beiden Ansätzen gibt es noch ein drittes Modell, das die Wechselwirkung zwischen PEG- oder OEG-terminierten Oberflächen und Proteinen mit Hilfe der Theorie der Kosmotrope beschreibt.¹³⁴⁻¹³⁶ Kosmotrope sind polare Verbindungen, die mit Wasser stärkere Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden als Wassermoleküle im *bulk*-Wasser untereinander. Sie erhöhen daher den Ordnungsgrad im Wasser (*cluster*-Bildung). Im *bulk*-Wasser führt die Mischung mit einem Kosmotrop durch die stärkeren Wasserstoffbrückenbindungen zu einer Absenkung der freien Enthalpie. Gleichzeitig tritt eine auf die *cluster*-Bildung zurückzuführende Abnahme der Entropie auf, die durch die positive Mischungsentropie, die aus der Vermischung von Wasser und Kosmotrop resultiert, kompensiert wird. Für Wasser in der Solvatationshülle des Proteinmoleküls ist eine Erhöhung des Ordnungszustandes entropisch äußerst ungünstig. Daher hält sich das solvatisierte Protein bevorzugt an Orten des Systems auf, an denen kein Kosmotrop zugegen ist. Man spricht in diesem Zusammenhang vom exkludierten Volumen. Im System OEG-SAM / Proteinlösung stellen die OEG-Ketten das Kosmotrop dar, das sich durch Hydratisierung mit Wasser mischt. Die solvatisierten Proteinmoleküle bilden das exkludierte Volumen und kommen in keinen engen Kontakt mit der hydratisierten OEG-Schicht.

Alle genannten Modelle ermöglichen eine theoretische Beschreibung des repulsiven Effekts. Sie sind jedoch nicht in der Lage, ihn auf molekularer Ebene zu erklären. Ansätze hierfür wurden erst Ende der neunziger Jahre entwickelt, als erkannt wurde, dass der repulsive Effekt OEG-terminierter SAMs eng mit der Struktur der Monoschicht und der Konformation der Schichtmoleküle korreliert.

NEXAFS-Messungen¹³⁷ und *molecular modelling*¹³⁷ an dehydratisierten EG-terminierten SAMs haben gezeigt, dass die Struktur des EG-Teils stark von der Länge der Ketten abhängt. So weisen OEG-terminierte Alkanthiolat-SAMs auf Gold mit drei bis sechs Ethylenglycoleinheiten eine kristalline Struktur mit helicaler Konformation der Kopfgruppe auf. Mit steigender Kettenlänge des EG-Teils verändert sich die Struktur der Kopfgruppe von kristallin zu amorph. Mit langkettigem PEG terminierte Schichten zeigen daher eine rein amorphe Struktur.¹³⁷

Neben der Zahl der EG-Einheiten wird die Struktur des OEG-Teils stark von der Packungsdichte der Moleküle im SAM beeinflusst. Ein Vergleich der Strukturen von EG₃-terminierten Alkanthiolat-SAMs auf Gold und Silber zeigt dies. Auf Gold liegt die helical-kristalline Struktur vor, wogegen auf Silber eine wesentlich dichter gepackte, kristalline *all-trans*-Konformation zu beobachten ist.¹³⁸⁻¹⁴⁰ Aus diesem Ergebnis lässt sich ableiten, dass die Konformation der Kopfgruppe stark von der Packungsdichte der Schicht beeinflusst wird.

Alle Repulsivitäts-Modelle gehen davon aus, dass der PEG- oder OEG-Teil repulsiver SAMs stark hydratisiert ist und dass der Grad der Hydratisierung von der Konformation der EG-Ketten abhängt. Diese Annahmen konnten sowohl theoretisch als auch experimentell bestätigt werden. *Ab initio* Rechnungen und Monte Carlo-Simulationen für OEG-terminierte Thiolat-SAMs auf Gold sprechen dafür, dass sich Wasser in den OEG-Teil der Schicht einlagert und dort durch mehrere Wasserstoffbrückenbindungen pro Wassermolekül an Sauerstoffatome der Kopfgruppe gebunden wird.^{139,141} Die Stärke der Bindung zwischen den eingelagerten Wassermolekülen und den OEG-Ketten ist dabei stärker als die Bindung zwischen Wassermolekülen im *bulk*-Wasser. Damit diese starke Bindung des Wassers in der Schicht stattfinden kann, sind gestörte helicale oder stärker amorphe Konformationen der OEG-Ketten notwendig. Theoretische Arbeiten¹⁴²⁻¹⁴⁵ sowie auch *vibrational sum-frequency*-Messungen^{146,147} an EG₃- und EG₆-terminierten Thiolat-SAMs auf Gold bestätigen das. Hier konnte bei Kontakt mit Wasser ein Übergang der im dehydratisierten Zustand bevorzugten helicalen Konformation der Kopfgruppen in stärker amorphe beobachtet werden. Die Änderung der Konformation der OEG-Stränge kann auf die damit verbundene Maximierung der Wechselwirkung zu eingelagerten Wassermolekülen zurückgeführt werden. Eine derartige Wechselwirkung der Kopfgruppe mit Wasser ist bei anderen Konformationen der OEG-Gruppen nicht zu beobachten. So lagern EG₃-terminierte Thiolat-SAMs auf Silber, die *all-trans*-

Konformation aufweisen, kein Wasser ein und zeigen ein hydrophobes Verhalten.^{142,143}

Resistenz gegenüber Proteinadsorption wird nur bei hydratisierten SAMs beobachtet, was für eine wichtige Rolle des in die Kopfgruppe eingelagerten Wasser bei diesem Prozess spricht. AFM-Messungen an EG₃-terminierten SAMs auf Gold und Silber bestätigen dies. Eine mit Fibrinogen modifizierte AFM-Spitze zeigt gegenüber dem hydratisierten SAM auf Gold repulsive und gegenüber dem hydrophoben SAM auf Silber attraktive Wechselwirkung.²²

Neben den bereits vorgestellten Modellen gibt es aber auch andere Ansichten über die genaue Funktion des Wassers bei dem Phänomen der Proteinrepulsivität. So kommen einige theoretische Untersuchungen zu dem Ergebnis, dass die starke Wechselwirkung der OEG-Kopfgruppen mit oberflächennahem Wasser zu einem fest an den SAM gebundenen Wasserfilm führt, der den Kontakt zwischen Schicht und Protein verhindert.^{139,141,145} Dies konnte jedoch durch andere theoretische Arbeiten sowie durch Neutronenreflektivitätsmessungen an repulsiven SAMs widerlegt werden, die auf eine signifikant verminderte Dichte des Wassers in Oberflächennähe der Schicht hindeuten.^{148,149}

Neuste theoretische Untersuchungen wiederum schlagen für das Wasser an der Grenzfläche SAM / Wasser eine Dichte und Struktur vor, die sich kaum oder gar nicht vom *bulk*-Wasser unterscheiden.¹⁵⁰ Zusätzlich kommt diese Studie zu dem Ergebnis, dass das in die OEG-Kopfgruppe eingelagerte Wasser zwar stark an das OEG-Rückgrat gebunden ist, jedoch eine dem *bulk*-Wasser vergleichbare Diffusivität aufweist. Ein durch Proteinadsorption hervorgerufener Dehydratisierungsvorgang wäre daher nicht nur enthalpisch ungünstig, sondern würde auch kaum einen Zugesinn an Entropie bewirken. Somit wäre die Proteinadsorption mit einem starken Anstieg der freien Enthalpie verbunden und würde deshalb nicht stattfinden.

Wie die Vielzahl der teilweise widersprüchlichen Ergebnisse deutlich macht, sind die Prinzipien, die der Biorepulsivität zugrunde liegen, größtenteils noch ungeklärt.

1.3 Spezifische Wechselwirkung zwischen SAMs und Biomolekülen: Biosensoren

Auf selbst-anordnenden Monoschichten basierende Sensoren beginnen eine immer größere Rolle zu spielen. Ein Grund hierfür ist die Einfachheit des sensorisch aktiven Elements. Dieses besteht aus einer sensorisch aktiven Monoschicht, die auf einem Substrat wie z. B. Glas, Metall oder einem Metallfilm auf Glas gebunden ist. Ein weiterer Vorteil ist die geringe Größe des benötigten Sensor-Felds. Diese beträgt nur wenige Quadratmillimeter und wird im Wesentlichen durch die verwendete Detektionsmethode bestimmt. Abhängig von der Art des Analyten werden unterschiedliche Detektionsmethoden verwendet. Redoxaktive Spezies können beispielsweise voltammetrisch und amperometrisch bestimmt werden.^{151,152} Vor allem werden aber optische und akustische Verfahren, wie die Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie (**Surface Plasmon Resonance, SPR**)¹⁵³⁻¹⁵⁵ und Messungen mit der Quarzkristall Mikrowaage (**Quartz Crystal Microbalance, QCM**)¹⁵⁶⁻¹⁵⁸ angewendet. Die beiden letztgenannten Verfahren sind besonders attraktiv, da sie die Verfolgung von Bindungsereignissen auf der Monoschicht in Echtzeit ermöglichen. Alle genannten Detektionsmethoden sind in der Lage, geringste Veränderungen der Analytkonzentration an der SAM-Oberfläche zu erfassen. Daher können auch noch sehr geringe Analytkonzentrationen im Testmedium detektiert werden.

Neben dem Einsatz solcher Sensoren im anorganisch- und organisch-analytischen Bereich,^{151,152,159-162} spielen diese Systeme besonders im Bereich der Biosensorik eine bedeutende Rolle. Ganz allgemein beschreibt der Begriff Biosensor ein System, das in der Lage ist, das Vorhandensein eines bestimmten Biomoleküls qualitativ und quantitativ anzuzeigen. Der schematische Aufbau eines Biosensors auf Basis eines gemischten Thiolat-SAMs auf Gold ist in Abb. 8 dargestellt.

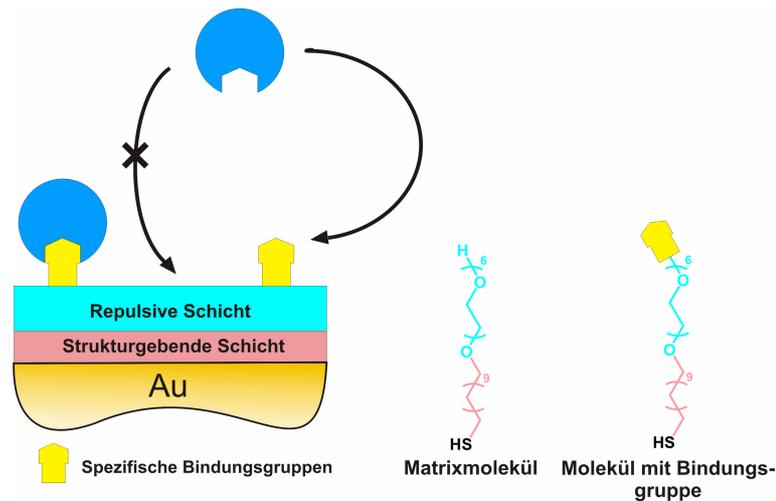


Abb. 8: Gemischter Thiolat-SAM mit spezifischen Bindungsgruppen für Biomoleküle.

Damit spezifische Wechselwirkungen zwischen Sensor und Biomolekül erfasst werden können, muss jegliche unspezifische Wechselwirkung des Analyten mit der Oberfläche ausgeschlossen werden. Daher werden für sensorische Zwecke gemischte SAMs verwendet, bei denen die Moleküle mit spezifischer Bindungsgruppe in eine biorepulsive Matrix aus OEG-terminierten Molekülen eingebettet sind. Es gibt noch einen weiteren Grund, der die Verwendung gemischter SAMs notwendig macht: Ein „unverdünntes“ Vorliegen der Bindungsgruppen an der Oberfläche verhindert aus sterischen Gründen eine effiziente Wechselwirkung mit den zu detektierenden Biomolekülen.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Der Grund hierfür ist, dass die Zielmoleküle im Regelfall sehr voluminös sind und sich gegenseitig bei der Anbindung an den SAM behindern. Ein gemischter, „verdünnter“ SAM, wie in Abb. 8 gezeigt, kann hingegen optimal mit den Zielmolekülen interagieren.

Bei den spezifischen Bindungsgruppen des Biosensors handelt es sich meistens selbst um Biomoleküle, die nach dem Schlüssel / Schloss-Prinzip den Analyten binden. Diese Art der Wechselwirkung wird allgemein als Antigen / Antikörper-Interaktion bezeichnet und stellt das elementare Prinzip der Biosensoren dar.

Die Anzahl der verschiedenen Sensorsysteme ist sehr groß. Eine Gruppe prominenter Vertreter sind die Proteinsensoren. Beispiele für diesen Sensortyp sind SAMs mit Biotin-Kopfgruppen, die spezifisch das Protein Streptavidin binden,^{166,167} oder Benzolsulfonamid-terminierte Schichten, die eine spezifische Wechselwirkung mit dem Enzym Carboanhydrase eingehen,^{168,169} sowie eine Fülle anderer Systeme.^{111,170-174} Auch anorganische Bindungsgruppen sind bekannt. So sind Ni^{2+} -modifizierte SAMs in

der Lage, spezifisch Histidin-exponierende Proteine zu binden.^{175,176} Prinzipiell ist die spezifische Bindung jedes Proteins möglich, soweit es gelingt, das entsprechende Antigen als Kopfgruppe in die Monoschicht einzuführen.

Ein zweiter wichtiger Vertreter der Gruppe der Biosensoren ist der DNA-Sensor. Als Kopfgruppe wird in diesem Fall Einzelstrang-DNA eingesetzt, wodurch die spezifische Bindung komplementärer DNA-Einzelstränge möglich ist.^{177,178} Dies gelingt sogar bei Verwendung komplexer Mischungen wie z. B. Blutserum, in denen eine Vielzahl Einzelstränge mit unterschiedlichen Nukleotidsequenzen vorliegt.^{179,180} Mit Hilfe des DNA-Sensors kann ein Medium daher sowohl auf bestimmte DNA-Fragmente als auch bezüglich der insgesamt enthaltenen DNA-Moleküle untersucht werden.

Kohlenhydrat-terminierte SAMs stellen einen weiteren wichtigen Typ von Biosensoren dar. Mit diesen Sensoren ist es möglich, spezifische Wechselwirkungen zwischen Kohlenhydraten und bestimmten Proteinen, so genannten Lektinen, zu untersuchen.¹⁸¹⁻¹⁸³ Diese Wechselwirkung spielt eine wichtige Rolle in biologischen Prozessen wie Gewebewachstum,¹⁸⁴ Zelladhäsion,¹⁸⁵ Zell / Zell-Kommunikation,¹⁸⁶ aber auch bei der Interaktion bzw. Infektion von Zellen mit Mikroorganismen und Viren.¹⁸⁷⁻¹⁹⁰ Von großem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Untersuchung der Wechselwirkung des aus der Schwertbohne stammenden Lektins *Concanavalin A* (Con A) mit Mannose-terminierten SAMs.¹⁹¹⁻¹⁹⁴ Dieses System ist von besonderer Relevanz, da es ein Modell für die Lektin / Mannose-Interaktion bei der Adhäsion von *E. coli* an Wirtszellen darstellt.¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ Aufgrund der Affinität der an der Oberfläche von *E. coli* vorhandenen Lektine zu Mannose konnten weiterhin Sensoren für die Detektion von *E. coli* konstruiert werden.^{198,199}

1.4 Modifizierung von Monoschichten durch Click-Chemie

Die größte Herausforderung bei der Erzeugung sensorischer Monoschichten ist die Einführung der aktiven Gruppe. Es ist nicht immer möglich oder erwünscht, diese direkt in das schichtbildende Molekül einzubauen. Daher werden die spezifisch bindenden Gruppen oft in bereits ausgebildete Monoschichten eingeführt. Um dies zu ermöglichen, müssen sowohl der SAM als auch die zu immobilisierende Gruppe Funktionalitäten aufweisen, die eine Anbindung erlauben. Für solche SAM-

Modifikationen gibt es eine Reihe von Beispielen, wie z. B. die Anbindung von Aminofunktionen an Anhydrid-terminierte²⁰⁰ oder aktivestervermittelte Kupplung von Aminogruppen an Carboxyl-terminierte SAMs.²⁰¹⁻²⁰³ Als weitere, wenn auch weniger verbreitete Methoden, lassen sich die Funktionalisierung Maleinimid-terminierter Monoschichten mit Mercaptanen²⁰⁴ oder Hydrazid-terminierter SAMs mit Aldehyden nennen.¹⁸¹ All diesen Methoden ist eigen, dass sie mehrstufige, teilweise komplizierte Reaktionsprotokolle aufweisen. Es wird daher nach Reaktionstypen gesucht, die eine einfache und zuverlässige Modifikation von Monoschichten ermöglichen.

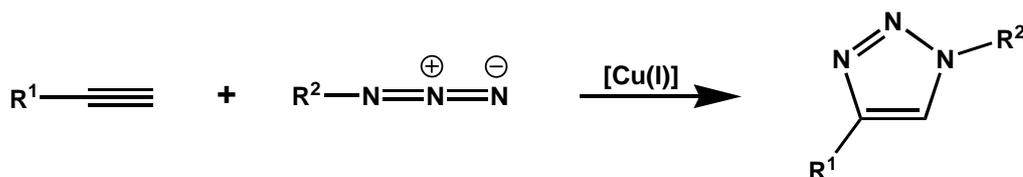
In diesem Zusammenhang rücken die so genannten Click-Reaktionen immer stärker in den Mittelpunkt des Interesses. Der Begriff Click-Reaktion wurde von *Sharpless* geprägt und meint den Aufbau komplexer Strukturen durch das Aneinanderfügen von molekularen Bausteinen durch effiziente Reaktionen. Um zu dieser Reaktionsklasse zu gehören, muss eine Reaktion bestimmte Kriterien erfüllen:²⁰⁵

1. Die Reaktion muss breit anwendbar sein.
2. Es müssen hohe Ausbeuten erzielt werden.
3. Es dürfen keine oder nur nicht störende Nebenprodukte gebildet werden.
4. Die Reinigung des Reaktionsprodukts muss mit nichtchromatographischen Methoden möglich sein.
5. Die Reaktion muss stereospezifisch verlaufen und irreversibel sein.
6. Die Edukte und Produkte müssen unter physiologischen Bedingungen stabil sein.
7. Der Reaktion muss eine starke thermodynamische Triebkraft zugrunde liegen ($\Delta G \geq 20$ Kcal/mol).

Beispiele für solche Reaktionen sind:²⁰⁵

- a. S_N -Reaktionen, vom Typ der ringöffnenden Reaktionen von Epoxiden
- b. nicht-aldolartige Carbonylreaktionen, z. B. die Bildung von Harnstoffen
- c. Addition an C-C Mehrfachbindungen, z. B. Epoxidierung
- d. Cycloadditionen, wie 1,3-dipolare Cycloadditionen und begrenzt Hetero Diels-Alder-Reaktionen

Insbesondere die Cu(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von Alkinen an Azide (*Huisgen*-Reaktion) hat sich unter diesen Methoden durchgesetzt (Schema 1).^{206,207}



Schema 1: Bildung von 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolen durch 1,3-dipolare Cycloaddition von Alkinen an Azide.

Die wichtigsten Gründe hierfür sind die hohe Toleranz der Reaktion gegenüber funktionellen Gruppen,²⁰⁸ die hohe Sauerstoff- und Hydrolysestabilität der Edukte bzw. des gebildeten Triazols, sowie die Durchführbarkeit der Reaktion im wässrigen Medium.^{205,209} Ein weiterer Vorteil ist, dass die benötigten Funktionalitäten (Alkin, Azid) unter milden Bedingungen in die jeweiligen Moleküle eingeführt werden können. Click-Reaktionen sind daher mit vielen Biomolekülen möglich.

Aus den genannten Gründen wird die *Huisgen*-Reaktion bereits in vielen Bereichen eingesetzt. Zu nennen wären hier die Biochemie und die medizinische Chemie, die diese Reaktion nutzen, um DNA, Proteine oder Viren zu modifizieren²¹⁰⁻²¹² und Substanzbibliotheken aufzubauen.^{213,214} Auch in den Materialwissenschaften spielt diese Reaktion eine große Rolle, wo sie beispielsweise zum Aufbau und zur Funktionalisierung von Polymeren²¹⁵⁻²¹⁷ und dendritischen Strukturen²¹⁸⁻²²⁰ genutzt wird.

Seit kurzem wird die Click-Reaktion auch zur Modifizierung von SAMs eingesetzt. Es konnte gezeigt werden, dass sich sowohl Alkin- als auch Azid-terminierte Monoschichten durch Umsetzung mit organischen Aziden bzw. Alkinen bequem funktionalisieren lassen.^{221,222} Die Reaktion wird deshalb mittlerweile in den unterschiedlichsten Bereichen eingesetzt. So z. B. bei der Einführung elektrochemisch aktiver Ferrocenylgruppen in Azid-terminierte SAMs auf Gold²²³⁻²²⁶ oder der Immobilisierung von Nanopartikeln auf Oberflächen. Zu diesem Zweck werden SAM-stabilisierte Gold-, Siloxan- und Cadmiumselenid-Nanopartikel durch die Click-Reaktion mit Funktionalitäten ausstatten, über die sie fest an ebenfalls modifizierte Oberflächen binden können.²²⁷⁻²²⁹

Bei der Entwicklung neuer Materialien für die *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) ist die Reaktion ebenfalls von Interesse. Hier wird sie genutzt, um Azid-terminierte Siloxan-SAMs auf Silicagel mit Kohlenhydraten, Cyclodextrinen und Alkylverbindungen zu modifizieren.^{230,231} Auf diese Weise werden Materialien für hocheffiziente stationäre Phasen zugänglich. Auch die direkte Anbindung Alkin-

funktionalisierter Polymere an Azid-terminierte Siliciumdioxid-Nanopartikel konnte realisiert werden.²³²

Ein weiteres Gebiet, auf dem die Click-Reaktion auf SAMs genutzt wird, ist die Strukturierung von Oberflächen. In diesen Zusammenhang sind das *Microcontact Printing* von Alkinen auf Azid-terminierten Siloxan-SAMs²³³ und die Erzeugung von Biomolekül-Gradienten durch das Immobilisieren von Azid-terminierten Peptiden auf Alkin-terminierten SAMs²³⁴ zu nennen. Die Click-Reaktion hat sich ebenfalls als geeignetes Werkzeug für die Anbindung entsprechend funktionalisierter Nucleoside an Alkin- und Azid-terminierte SAMs erwiesen.^{235,236} Die Einführung solcher Biomoleküle ist besonders im Zusammenhang mit der Entwicklung von Biosensoren von Bedeutung. Durch die Reaktion von Gemischen aus Azid-funktionalisiertem OEG und Azid-funktionalisierten Kohlenhydratderivaten mit Alkin-terminierten SAMs ist es gelungen, in einem einstufigen Prozess vollwertige, Lektin-spezifische Biosensoren herzustellen.²³⁷

1.5 Chemische Oberflächengradienten

Chemische Gradienten sind in vielen Bereichen von Interesse. Zu nennen wären hier die Mikrofluidik^{238,239} sowie die Materialwissenschaften.^{240,241} Vor allem spielen sie aber in der Biologie und der Medizin eine bedeutende Rolle, da sie viele Vorgänge im Organismus aktiv beeinflussen.

1.5.1 Chemische Gradienten in der Biologie

Eine Vielzahl biologischer Prozesse wird durch Botenstoffe gesteuert. Die wesentliche Aufgabe der Botenstoffe besteht darin, das gerichtete Wachstum von Zellverbänden beziehungsweise die gerichtete Bewegung von Zellen entlang von Konzentrationsgefällen zu ermöglichen (Abb. 9). Chemische Gradienten sind daher sowohl für einzellige Lebewesen als auch für höhere Organismen von großer Bedeutung.

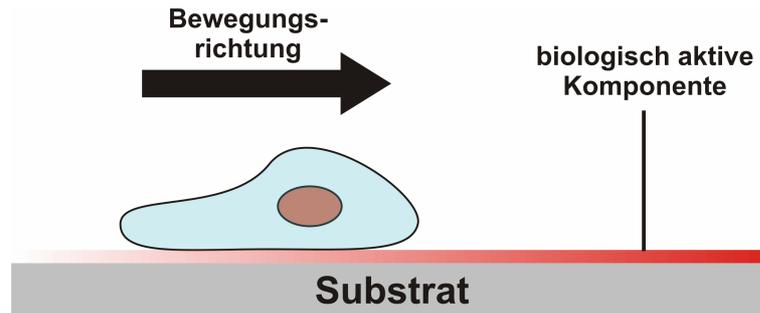


Abb. 9: Bewegung einer Zelle entlang eines Oberflächengradienten.

Mikroorganismen nutzen beispielsweise Botenstoffe zur Orientierung und zur Koordination ihrer Bewegungen.²⁴² Attraktiv wirksame Substanzen bewirken, dass sich der Organismus entlang des Konzentrationsgefälles aktiv auf die Quelle zu bewegt. Repulsiv wirkende Stoffe lösen dagegen eine von der Quelle fort gerichtete Bewegung aus.

In höheren Organismen übernehmen chemische Gradienten vornehmlich strukturdirigierende Funktionen. Beispiele sind die Steuerung der Wuchsrichtung von Axonen,²⁴³⁻²⁴⁸ sowie die Ausbildung neuer Blutgefäße²⁴⁹ durch so genannte Wachstumsfaktoren. Neben der Bildung organischer Strukturen wird auch die Wanderung von Zellen zu bestimmten Zielorten im Organismus von Botenstoff-Gradienten vermittelt. Dieser Vorgang ist von großem Interesse, da er bei der Metastasenbildung von Tumoren eine wichtige Rolle spielt.²⁵⁰⁻²⁵²

Ein weiterer Prozess, bei dem ein Einfluss chemischer Gradienten angenommen wird, ist die Morphogenese.²⁵³ Hierbei handelt es sich um die Differenzierung von Stammzellen zu höher spezialisierten Zellen oder Organismen. Vermutet wird, dass die Art des Botenstoffs, beziehungsweise dessen Konzentration, über die Spezialisierung der Stammzellen mitbestimmen.

Bei der Wechselwirkung von Zellen oder Zellverbände mit Gradienten unterscheidet man zwischen zwei grundsätzlichen Mechanismen: der Chemotaxis und der Haptotaxis. Bei der Chemotaxis liegt der Botenstoff gelöst im umgebenden Medium vor und der Gradient bildet sich durch Diffusion aus. Die Zellen, die auf den Gradienten reagieren, besitzen für den Botenstoff spezifische Rezeptoren, mit deren Hilfe sie örtliche Konzentrationsänderungen feststellen können. Die Richtung der Bewegung der Zellen folgt dem Konzentrationsverlauf in Lösung.²⁵⁴

Bei der Haptotaxis erfolgt die Bewegung entlang eines Gradienten oberflächengebundener adhäsiver Gruppen.²⁵⁰ Die Zellen besitzen Funktionalitäten, die spezifisch

über adhäsive Wechselwirkungen an die aktiven Gruppen des Gradienten binden. Die Bewegung von Zellen auf dem Gradienten erfolgt in Richtung steigender Oberflächenkonzentration adhäsiver Gruppen, also in Richtung steigender lateraler Adhäsionsstärke. Im Gegensatz zur Chemotaxis ist die Wechselwirkung bei der Haptotaxis rein adhäsiver Natur.

1.5.2 Methoden zur Erzeugung chemischer Gradienten

Um die beschriebenen Vorgänge *ex-situ* untersuchen zu können, ist die Erzeugung von Gradienten außerhalb von Organismen von großem Interesse. Die Darstellung solcher Systeme ist jedoch mit Problemen verbunden. Zum einen stellt die Realisierung eines kontinuierlich verlaufenden Konzentrationsprofils eine Schwierigkeit dar. Erschwerend kommt hinzu, dass der Gradient einen sehr steilen Verlauf zeigen muss, um biologische Aktivität zu gewährleisten. Grund hierfür ist, dass die Konzentrationsdifferenz des Botenstoffs entlang einer Zelle 2 % bis 10 % betragen muss, um eine gerichtete Bewegung zu bewirken.²⁵⁰ Bei Zellgrößen von wenigen Mikrometern bei Bakterien bis einigen zig Mikrometern bei eukaryotischen Zellen muss das Konzentrationsprofil des Gradienten daher bis in den Nanometerbereich hinein stufenlos verlaufen.²⁵⁵

In diesem Zusammenhang ist insbesondere die Erzeugung von diffusiven Konzentrationsgradienten zur Untersuchung chemotaxischer Vorgänge schwierig. Das Hauptproblem besteht in dem Aufrechterhalten des Gradienten über lange Zeiträume, die für das Wachstum von Zellverbänden notwendig sind. Es gibt jedoch Untersuchungen, die zeigen, dass zumindest kurzzeitig diffusive Konzentrationsgradienten entsprechender Steilheit erzeugt werden können.²⁵⁶

Oberflächengradienten zeigen hingegen keine zeitliche Abhängigkeit des Konzentrationsprofils und sind deshalb gut geeignet, um haptotaxische Prozesse zu untersuchen. Selbstanordnende Monoschichten bieten die Möglichkeit, die chemischen und physikalischen Eigenschaften einer Oberfläche einfach und effizient zu verändern. SAMs spielen daher auch bei der Erzeugung von Oberflächengradienten eine große Rolle. Bei einem SAM-basierten Gradienten handelt es sich um eine gemischte Monoschicht aus mindestens zwei unterschiedlich funktionalisierten Komponenten, deren Verhältnis entlang des Substrats variiert (Abb. 10).

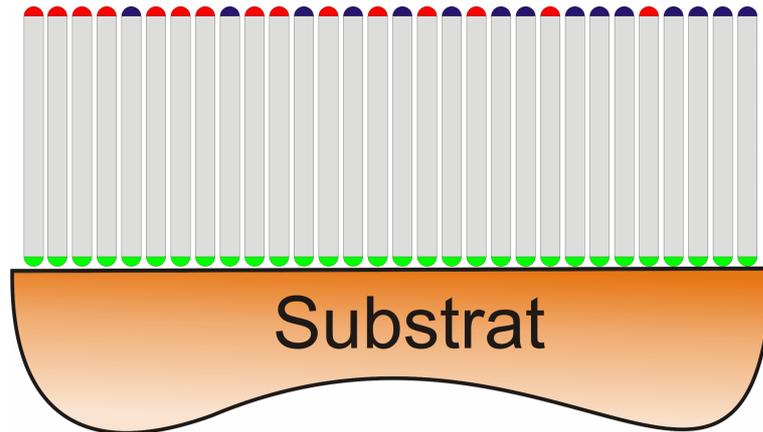


Abb. 10: Binärer Oberflächengradient, rot + blau = funktionelle Kopfgruppen, grün = Ankergruppe.

An den Enden des Gradienten werden die Oberflächeneigenschaften der Monoschicht von jeweils nur einer Schichtkomponente bestimmt. Im Bereich dazwischen findet ein idealerweise fließender Übergang zwischen beiden Extremen statt.

Es gibt mehrere Strategien, eine in Abb. 10 dargestellte Monoschicht zu erzeugen. Zum Beispiel kann die Mischung beider Komponenten durch Interdiffusion direkt auf dem Substrat erfolgen.^{257,258} Oft werden auch zweistufige Prozesse verwendet. Im ersten Schritt wird hierbei ein Gradient mit nur einer der beiden Komponenten auf dem Substrat gebildet. Dazu werden Techniken wie zeitkontrollierte Immersion²⁵⁹ und Diffusion²⁶⁰ sowie diffusionskontrolliertes *micro-contact printing*²⁶¹ verwendet. Daneben kann die Bildung des Einkomponenten-Gradienten auch durch kontrollierte elektrochemische Desorption^{262,263} erreicht werden. Die Bindung der zweiten Komponente erfolgt dann in einem zweiten Schritt durch das Besetzen der noch freien Bindungsplätze auf dem modifizierten Substrat.

Den hier beschriebenen Verfahren ist gemeinsam, dass sich mit ihrer Hilfe stufenlose Gradienten erzeugen lassen. Allerdings erstrecken sich die Konzentrationsprofile dieser Systeme über mehrere Millimeter oder sogar Zentimeter. Die Steigung der Gradienten ist demnach gering, weshalb sie für die Untersuchung haptotaxischer Prozesse ungeeignet sind. Zur Untersuchung von Protein / Protein-Wechselwirkungen^{264,265} und zur Bestimmung der kritischen Oberflächenkonzentration sensorischer Gruppen²⁵⁷ eignen sich diese Systeme jedoch hervorragend.

Ebenfalls stufenlose, aber deutlich steilere SAM-basierte Gradienten lassen sich mit Mikrofluidiksystemen^{243,266} erzeugen. Mit Hilfe dieser Technik ist es gelungen, eine

Reihe biologisch aktiver Gradienten herzustellen, auf denen das gerichtete Wachstum von Axonen beobachtet wurde.²⁴³

Ein weiterer Ansatz zur Erzeugung von Gradienten geht von Einkomponenten-SAMs aus, die bei Anwesenheit von Sauerstoff mit UV-Licht bestrahlt werden (Abb. 11).

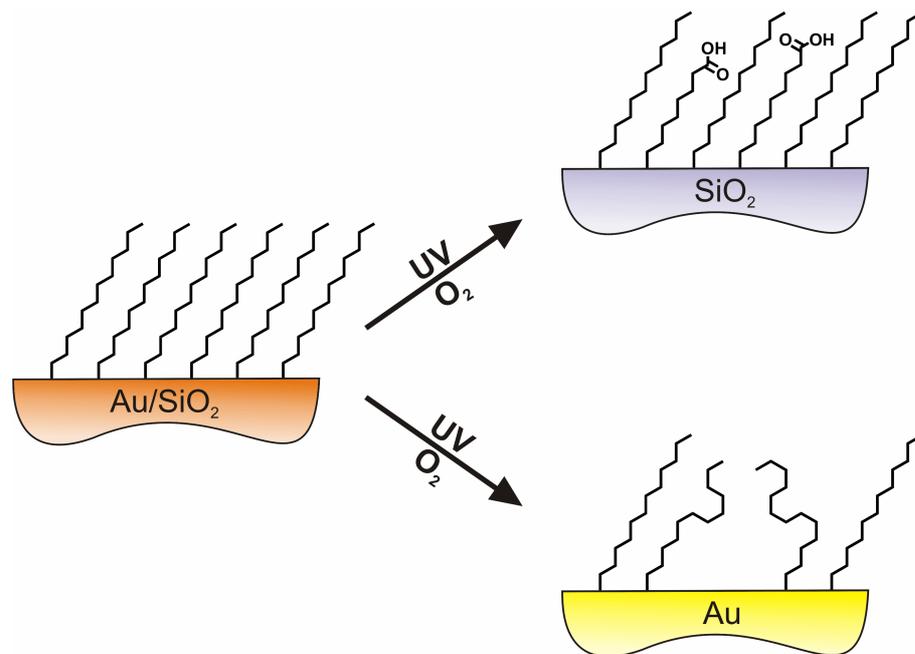


Abb. 11: Schädigung von SAMs durch UV-Strahlung.

Bei Siloxan-SAMs auf Siliciumdioxid tritt vornehmlich Abbau der Schicht unter Bildung von Carboxylgruppen auf.²⁶⁷ Bei Thiolat-SAMs auf Gold findet hingegen hauptsächlich oxidative Desorption von Schichtmolekülen statt.²⁶⁸⁻²⁷⁰ Über die gebildeten Carboxylgruppen können durch geeignete Reaktionen Funktionalitäten in die Schicht eingeführt werden.^{267,271} Desorbierte Schichtmoleküle können hingegen durch geeignet funktionalisierte Moleküle ersetzt werden.²⁶⁹ Die Ausprägung beider Vorgänge korreliert mit der verwendeten Strahlendosis und kann über die Bestrahlungsdauer gesteuert werden.

Die UV-Bestrahlung von SAMs wird ebenfalls genutzt, um geeignete Kopfgruppen für bestimmte Reaktionen zu aktivieren und auf diese Weise Funktionalitäten einzuführen.²⁴¹ Die Stärke der Aktivierung und damit die Oberflächenkonzentration der eingeführten Gruppen hängt wiederum von der verwendeten Strahlendosis ab.

Die durch UV-Bestrahlung erzeugten Gradienten zeigen zumeist ein flaches Konzentrationsprofil, wodurch sie zur Verfolgung haptotaxischer Prozesse weitgehend ungeeignet sind. Deutlich steilere Konzentrationsprofile können jedoch mit einem sehr ähnlichen Verfahren erhalten werden, das Elektronenstrahlung anstelle von UV-Licht benutzt. Der Prozess wird als IPER (*Irradiation Promoted Exchange Reaction*) bezeichnet und ist in Abb. 12 veranschaulicht.²⁷²⁻²⁷⁴

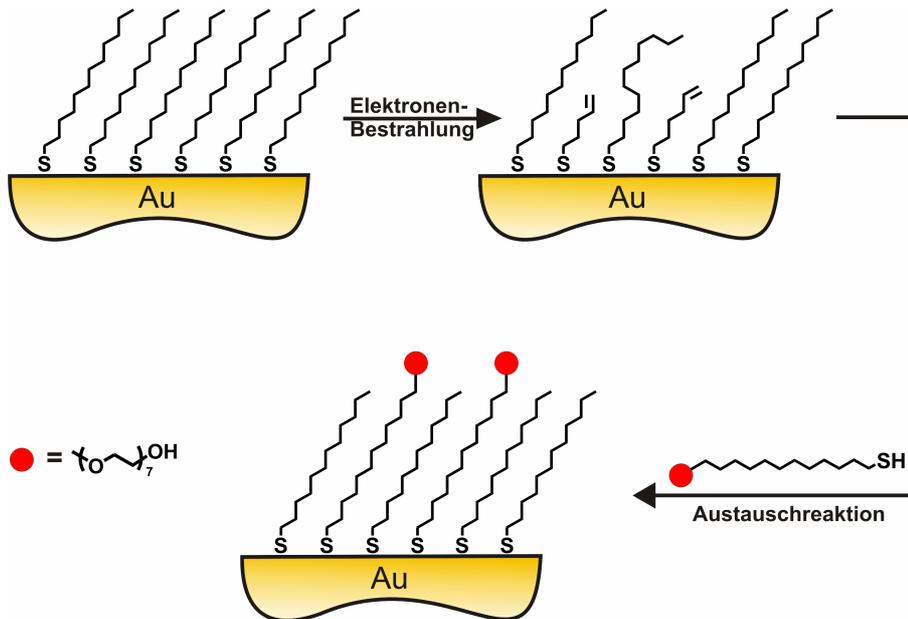


Abb. 12: Schädigung eines SAMs durch Elektronenstrahlung mit angeschlossener Austauschreaktion.

Durch die Bestrahlung der Monoschicht kommt es zu einer teilweisen Schädigung der Schichtmoleküle. Innerhalb der geschädigten Schichtbereiche sind die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Schichtmolekülen gegenüber dem unbestrahlten SAM deutlich vermindert. Die geschädigten Moleküle können daher in einer angeschlossenen Austauschreaktion leicht gegen Moleküle mit gewünschter Funktionalität ausgetauscht werden. Wie bei den UV-basierten Methoden bestimmt auch beim IPER-Prozess die verwendete Strahlendosis über den Umfang der SAM-Schädigung und damit über die Stärke der Austauschreaktion.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte eine geeignete Syntheseroute zur Darstellung SAM-bildender Moleküle mit biorepulsiver PG-Kopfgruppe entwickelt werden. Geplant war die Darstellung von drei Stoffklassen, wobei innerhalb jeder Klasse mehrere Moleküle mit unterschiedlichem Molekulargewicht synthetisiert werden sollten.

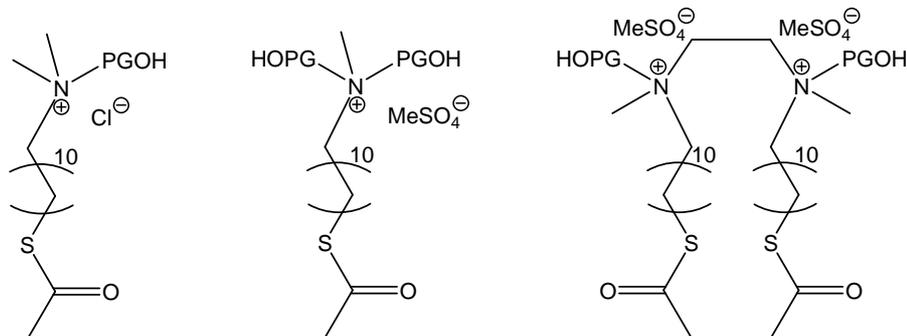


Abb. 14: PG-terminierte Verbindungsklassen zur Bildung proteinresistenter SAMs.

Von Interesse war, wie die molare Masse und die Struktur der Moleküle die Proteinrepulsivität der resultierenden Monoschichten beeinflussen. Parallel hierzu sollte die Bildung proteinrepulsiver PG-Filme durch Polymerisation von 1,2-Epoxypropan-1-ol (Glycidol) auf Amino- und Hydroxy-terminierten Oberflächen untersucht werden.

Im Rahmen des dritten Teils der Arbeit war vorgesehen, eine Methode zur Erzeugung von biologisch aktiven Oberflächengradienten zu entwickeln. Hierzu sollte die Bindungsaffinität eines gemischten SAMs gegenüber Biomolekülen durch örtliche Variation seiner Zusammensetzung verändert werden. Als Modellsystem war ein gemischter SAM aus Molekülen mit Methyl- bzw. OEG-Kopfgruppen vorgesehen. Ziel war es, den Umfang der Proteinadsorption auf der Monoschicht durch eine entlang des SAMs variierende Oberflächenkonzentration an OEG-Gruppen zu kontrollieren. Zur Erzeugung einer solchen Monoschicht sollte das IPER-Prinzip mit der Elektronenstrahlolithographie kombiniert werden. Von besonderem Interesse war in diesem Zusammenhang die Realisierung eines stufenlosen Konzentrationsprofils im Mikrometer-Bereich.

Weiterhin war vorgesehen, einen SPR-spektroskopischen Messaufbau zur Untersuchung von Adsorptionsprozessen an Goldoberflächen und Thiolat-SAMs auf Gold zu realisieren.

3 Methoden zur Oberflächencharakterisierung

Zur Oberflächencharakterisierung wurden eine Reihe von Methoden eingesetzt, deren Prinzipien nachfolgend vorgestellt werden. Kontaktwinkelmessungen und Ellipsometrie dienen zur Feststellung der Polarität beziehungsweise der Schichtdicke oberflächengebundener Filme. Zur Verfolgung der Proteinadsorption wurde zusätzlich die SPR-Spektroskopie eingesetzt, für die ein geeigneter Aufbau entwickelt wurde.

3.1 Kontaktwinkelmessung

Die Kontaktwinkelmessung ermöglicht die zerstörungsfreie Charakterisierung von Oberflächen bezüglich ihrer Oberflächenenergie und ihrer Rauigkeit und stellt daher ein geeignetes Instrument zur Untersuchung von SAMs dar. Zum einen gibt die Größe des Messwerts Auskunft darüber, ob eine Schichtbildung auf dem Substrat stattgefunden hat. Andererseits eignet sich die Methode aber auch, um den Ordnungsgrad der untersuchten Monoschicht qualitativ festzustellen.

Die Form eines Flüssigkeitstropfens, der sich auf einer Oberfläche befindet, lässt sich durch den Kontaktwinkel Θ an der Phasengrenze fest/flüssig/gasförmig beschreiben (Abb. 15). Die Größe von Θ ist von den Grenzflächenspannungen γ_{sl} , γ_{sv} und γ_{lv} an den Grenzflächen fest/flüssig, fest/gasförmig und flüssig/gasförmig abhängig.

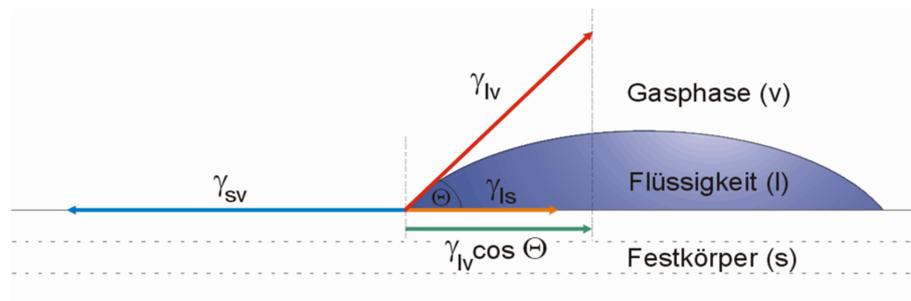


Abb. 15: Grenzflächenspannungen γ und Kontaktwinkel Θ an einer teilweise benetzten Oberfläche.

Die Größe γ_{lv} wird als Oberflächenspannung bezeichnet und die Grenzflächenspannung γ_{sv} ist als Oberflächenenergie bekannt.

Im Kräftegleichgewicht addieren sich die Horizontalkomponenten der drei Vektoren zu null. Für diesen Zustand wird der Zusammenhang zwischen den Grenzflächenspannungen und dem Kontaktwinkel Θ durch die Young-Laplace-Gleichung (Gl. 1) beschrieben:²⁷⁵

$$\gamma_{sv} = \gamma_{ls} + \gamma_{lv} \cdot \cos \Theta \quad \text{Gl. 1}$$

Die Größe Θ kann gemessen und zur Charakterisierung der Oberfläche herangezogen werden.²⁷⁶ Der Kontaktwinkel eines Flüssigkeitstropfens auf einer Oberfläche kann zwischen 0 ° und 180 ° variieren. Bei einem Kontaktwinkel von 0 ° ist die Oberflächenenergie sehr groß und die Oberfläche des Feststoffs wird vollständig benetzt. Im Fall eines Kontaktwinkels von 180 ° ist die Oberflächenenergie hingegen sehr gering und der Tropfen nimmt die Form einer Kugel an.

Weisen Oberflächen gegenüber Wasser einen Kontaktwinkel oberhalb von 90 ° auf, werden sie als hydrophob bezeichnet. Bei Wasser-Kontaktwinkeln unterhalb von 90 ° ist eine Oberfläche hingegen als hydrophil einzustufen.

Die Young-Laplace-Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen den Grenzflächenspannungen und dem Kontaktwinkel für den idealisierten Fall einer vollkommen glatten Festkörperoberfläche. Reale Oberflächen weisen aber immer eine gewisse Rauigkeit auf. Es ist bekannt, dass eine steigende Oberflächenrauigkeit zu einem Anstieg der so genannten Kontaktwinkelhysterese führt.²⁷⁷⁻²⁷⁹ Bei der Kontaktwinkelhysterese handelt es sich um den Unterschied zwischen dem Fortschrittswinkel Θ_A (*advancing contact angle*) und dem Rückzugswinkel Θ_R (*receding contact angle*). Die Größen Θ_A und Θ_R sind messbar und die Kontaktwinkelhysterese somit bestimmbar.

Zur Bestimmung der Kontaktwinkel wurde in dieser Arbeit die *sessile drop*-Methode benutzt.²⁶ Die Messanordnung ist schematisch in Abb. 16 dargestellt.

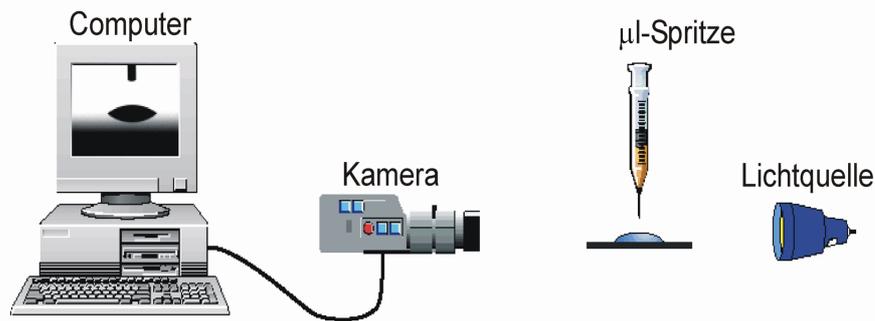


Abb. 16: Messanordnung zur Bestimmung von Kontaktwinkeln nach der *sessile drop*-Methode.

Mit einer Mikroliterspritze wird ein Wassertropfen auf die Oberfläche der Probe aufgebracht und von der Rückseite her beleuchtet. Durch eine Kamera wird ein Bild des Tropfens an einen Rechner übermittelt. Hier wird mit Hilfe einer Software die Kontur des Tropfens ermittelt und nach der Young-Laplace-Methode der Kontaktwinkel berechnet.

3.2 Ellipsometrie

Bei der Ellipsometrie handelt es sich um eine optische Methode, mit der Dicken dünner Filme mit einer Genauigkeit von etwa 1 \AA bestimmt werden können.²⁸⁰ Das Verfahren arbeitet zerstörungsfrei und ist gut geeignet, die Schichtdicken von SAMs oder adsorbierter Protein-Filme zu ermitteln.

3.2.1 Polarisiertes Licht

Licht kann als elektromagnetische Transversalwelle beschrieben werden, deren elektrischer Feldvektor senkrecht zur Ausbreitungsrichtung schwingt. In Abb. 17 ist die Reflexion eines Lichtstrahls an einer Oberfläche dargestellt.

Der Imaginärteil k bezeichnet den Extinktionskoeffizienten bei der verwendeten Wellenlänge. Findet keine Absorption des verwendeten Lichts statt, besitzt er einen Wert von Null. Das Medium wird in diesem Fall als transparent bezeichnet und sein Brechungsindex wird nur durch den Realteil bestimmt. Nichttransparente Medien weisen hingegen Werte für k auf, die von Null verschieden sind. Ihr Brechungsindex ist daher komplex.

Fällt ein Lichtstrahl auf ein System aus drei Schichten mit den komplexen Brechungsindices \tilde{n}_1 , \tilde{n}_2 und \tilde{n}_3 , kommt es zu Reflexions- und Brechungsvorgängen an den beiden Grenzschichten (Abb. 18).

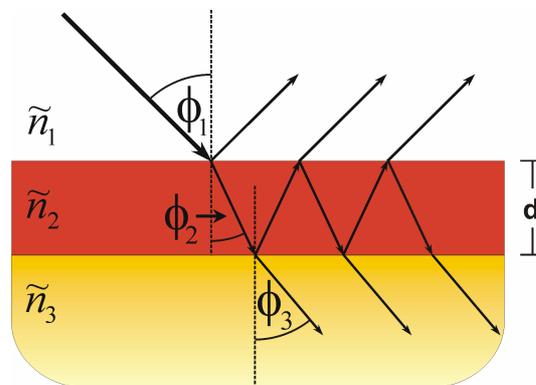


Abb. 18 Reflexion und Brechung eines Lichtstrahls im Dreischichtsystem.

Trifft der Strahl aus Medium 1 auf Medium 2, wird ein Teil des Lichts an der Grenzfläche reflektiert, wogegen der Rest in das zweite Medium eintritt und dort gebrochen wird. Durch die Reflexion ändern sich die Amplituden und Phasen der p- und s-Komponenten, wodurch das reflektierte Licht eine andere Intensität und eine andere Polarisation aufweist als das einfallende. An der Grenzfläche zwischen Medium 2 und Medium 3 wird der in Medium 2 eingetretene Strahl auf gleiche Weise in einen reflektierten und transmittierten Anteil aufgeteilt. Die an der zweiten Phasengrenze reflektierte Strahlung wird an der ersten Grenzfläche teilweise in das Medium 1 entlassen und teilweise in das Medium 2 zurückreflektiert.

Die gesamten in Medium 1 reflektierten Strahlen interferieren und es resultiert ein Strahl gesamtreflektierten Lichts. Bedingt durch die Reflexions- und Brechungereignisse an den Phasengrenzen ist der reflektierte Strahl gegenüber dem einfallenden Licht bezüglich der Amplituden $|E_p|$ und $|E_s|$ und der Phasen ϕ_p und ϕ_s , also bezüglich

seiner Polarisation, verändert. Neben den komplexen Brechungsindices der drei Medien und dem Einfallswinkel ϕ_1 beeinflusst auch die Schichtdicke d die Polarisation des reflektierten Strahls. Die Abhängigkeit von der Schichtdicke ist auf den Gangunterschied zurückzuführen, den das Licht beim Durchlaufen der Strecke d erfährt.

Der Unterschied der Polarisation und der Amplituden von reflektiertem und einfallendem Licht kann durch die ellipsometrischen Größen Δ und Ψ beschrieben werden (Gl. 3, Gl. 4):

$$\Delta = (\varphi_p^{\text{aus}} - \varphi_s^{\text{aus}}) - (\varphi_p^{\text{ein}} - \varphi_s^{\text{ein}}) \quad \text{Gl. 3}$$

$$\tan \Psi = \frac{E_p^{\text{aus}} / E_p^{\text{ein}}}{E_s^{\text{aus}} / E_s^{\text{ein}}} \quad \text{Gl. 4}$$

Δ und Ψ sind Größen, die direkt aus ellipsometrischen Messungen erhalten werden.

3.2.3 Ermittlung der Schichtdicke

Die Schichtdicke eines SAMs kann direkt aus der Differenz des Δ -Werts für das belegte Substrat und des Δ -Werts für das unbelegte Substrat bestimmt werden. Dieses Verfahren kann nach der Drude-Näherung auf Filme angewandt werden, deren Schichtdicken viel kleiner als die Wellenlänge des verwendeten Lichts sind.⁵⁸ Für ein Dreischichtsystem gilt folgende Beziehung (Gl. 5):

$$\Delta_{\text{belegt}} - \Delta_{\text{unbelegt}} = C_{\Delta} \cdot d \quad \text{Gl. 5}$$

$$C_{\Delta} = \left(\frac{180}{\pi} \right) \left(\frac{4\pi}{\lambda} \right) \frac{\cos \phi_1 \sin^2 \phi_1 (\cos^2 \phi_1 - \alpha)(1 - 1/n_2^2)}{(\cos^2 \phi_1 - \alpha)^2 + \alpha_1^2}$$

$$\text{mit } \alpha = \frac{n_3^2 - k_3^2}{(n_3^2 + k_3^2)^2} \quad \text{und } \alpha_1 = \frac{2n_3 k_3}{(n_3^2 + k_3^2)^2}$$

λ = Wellenlänge des Lichts, hier: 632,8 nm

3.3 Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie

Bei der Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie (*Surface Plasmon Resonance Spectroscopy*, **SPR**) handelt es sich um eine optische Methode, die zur Untersuchung von Adsorptionsprozessen auf Metalloberflächen eingesetzt wird. Durch SPR-Messungen können sehr genau Veränderungen im Bedeckungsgrad des Substrats festgestellt werden. Auch die Bestimmung der Schichtdicke des adsorbierten Films ist möglich. Die Methode eignet sich daher gut, um die Wechselwirkung von Molekülen mit Goldoberflächen oder mit Thiolat-SAMs auf Gold zu untersuchen.

3.3.1 Oberflächenplasmonen

An der Grenzfläche zu einem Dielektrikum lassen sich die Leitungselektronen von metallischen Leitern optisch zu longitudinalen, gedämpften Schwingungen um die positiv geladenen Atomrümpfe anregen. Dieser Schwingungstyp wird als Oberflächen-Plasmaschwingungen bezeichnet und ist in Abb. 19A schematisch dargestellt.

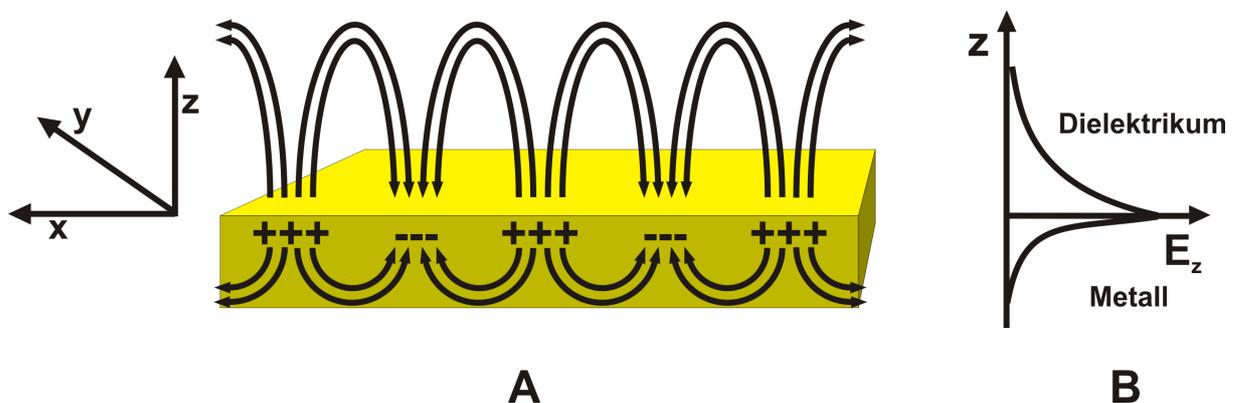


Abb. 19: A: Entlang der x-Koordinate angeregtes Oberflächenplasmon und sein elektrisches Feld an der Grenzfläche Metall/Dielektrikum, B: Verlauf des E-Feldes des Plasmons im Metall und im Dielektrikum.

Die Quanten solcher Plasmawellen heißen Oberflächenplasmonen.²⁸¹ Bei Anregung einer Oberflächen-Plasmaschwingungen wird daher auch von der Anregung des Oberflächenplasmons gesprochen.

Da es sich bei Oberflächenplasmonen um Elektronenschwingungen handelt, erzeugen sie ein elektromagnetisches Feld. Dieses erstreckt sich in beide Medien und fällt mit steigendem Abstand z zur Grenzfläche exponentiell ab.^{281,282} Der Verlauf des \mathbf{E} -Feldes des Plasmons ist in Abb. 19B dargestellt. Die Abnahme der Feldstärke ist dabei im Metall wesentlich stärker ausgeprägt als im Dielektrikum.

Über sein elektromagnetisches Feld steht das Plasmon in Wechselwirkung mit den umgebenden Medien. Die Energie beziehungsweise der Impuls, bei dem die Anregung der Schwingung erfolgt, werden daher stark von den komplexen Dielektrizitätskonstanten des Metalls (ϵ_M) und des Dielektrikums (ϵ_D) beeinflusst.²⁸² Die Definition der komplexen Dielektrizitätskonstante ϵ und ihre Beziehung zum komplexen Brechungsindex \tilde{n} sind in Gl. 6 gegeben.

$$\epsilon = \tilde{n}^2 = (n - ik)^2 = \epsilon' + i\epsilon'' \quad \text{Gl. 6}$$

$$\text{mit: } \epsilon' = n^2 - k^2$$

$$\epsilon'' = 2nk$$

$$n = \left[\frac{(\epsilon'^2 + \epsilon''^2)^{1/2} + \epsilon'}{2} \right]^{1/2}$$

$$k = \left[\frac{(\epsilon'^2 + \epsilon''^2)^{1/2} - \epsilon'}{2} \right]^{1/2}$$

ϵ = komplexe Dielektrizitätskonstante

ϵ' = Realteil der Dielektrizitätskonstante

ϵ'' = Imaginärteil der Dielektrizitätskonstante

\tilde{n} = komplexer Brechungsindex

n = Realteil des Brechungsindex

k = Imaginärteil des Brechungsindex

$i = (-1)^{1/2}$

Analog zu \tilde{n} wird auch ϵ im Fall transparenter Medien nur durch den Realteil ϵ' bestimmt. Oberflächenplasmonen können nur dann von Photonen angeregt werden, wenn die komplexe Dielektrizitätskonstante des metallischen Leiters bei der verwen-

deten Wellenlänge einen großen negativen Realteil ε' und einen kleinen positiven Imaginärteil ε'' aufweist.

Im NIR-, VIS- und NUV-Bereich werden diese Bedingungen von einer Reihe von Metallen wie Aluminium,²⁸³ Silber,²⁸⁴ Kupfer²⁸⁵ und Gold,²⁸⁶ aber auch von Metalloxiden, wie Iridium- oder Rutheniumoxid erfüllt.²⁸⁷ Für Anwendungen, die auf der Anregung des Oberflächenplasmons basieren, kommt jedoch hauptsächlich Gold zum Einsatz. Der Hauptgrund hierfür ist die Inertheit des Materials gegenüber (Luft-)Sauerstoff. Weiterhin lässt sich das Plasmon auf Gold durch Photonen im VIS- und NIR-Bereich anregen, was den Einsatz gängiger Laser als Lichtquellen zulässt.

3.3.2 Elektromagnetische Beschreibung von Oberflächenplasmonen

Oberflächenplasmonen breiten sich in einer Dimension an Metall / Dielektrikum-Grenzflächen aus. Im Folgenden wird davon ausgegangen, dass die Ausbreitung entlang der x-Koordinate im kartesischen Koordinatensystem erfolgt (vgl. Abb. 19). Das elektrische Feld \mathbf{E} und das magnetische Feld \mathbf{H} der Schwingung werden dann durch Gl. 7 und Gl. 8 beschrieben.²⁸⁸

$$\mathbf{E} = E_0 \cdot e^{i(k_x x - \omega t)} \cdot \left\{ \begin{array}{l} \left(\begin{array}{ccc} 1 & 0 & \frac{k_x}{k_{zD}} \end{array} \right) \cdot e^{-ik_{zD}z} \\ \left(\begin{array}{ccc} 1 & 0 & \frac{-k_x}{k_{zM}} \end{array} \right) \cdot e^{+ik_{zM}z} \end{array} \right\} \text{ für } \begin{cases} z > 0 \\ z < 0 \end{cases} \quad \text{Gl. 7}$$

\mathbf{E} = Elektrisches Feld des Plasmons

E_0 = Maximale Amplitude des elektrischen Felds

ω = Kreisfrequenz, t = Zeit

k_x = Komponente des Wellenvektors in x-Richtung

k_z = Komponente des Wellenvektors in z-Richtung

D = Dielektrikum, M = Metall

$$\mathbf{H} = \frac{\omega}{c} \cdot \mathbf{E}_0 \cdot e^{i(k_x x - \omega t)} \cdot \left\{ \begin{array}{l} \left(\begin{array}{ccc} 0 & -\varepsilon_D & 0 \\ & k_{zD} & \\ & & 0 \end{array} \right) \cdot e^{-ik_{zD}z} \\ \left(\begin{array}{ccc} 0 & \varepsilon_M & 0 \\ & k_{zM} & \\ & & 0 \end{array} \right) \cdot e^{+ik_{zM}z} \end{array} \right\} \quad \text{für } \begin{cases} z > 0 \\ z < 0 \end{cases} \quad \text{Gl. 8}$$

\mathbf{H} = Magnetisches Feld des Plasmons

c = Lichtgeschwindigkeit

Beide Felder müssen die Maxwell'schen Gleichungen und das Stetigkeitsprinzip erfüllen. Dies ist gewährleistet, wenn die in Gl. 9 und Gl. 10 aufgeführten Bedingungen gelten.

$$k_x^2 + k_{z,j}^2 = \varepsilon_j \cdot \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 \quad j = D, M \quad \text{Gl. 9}$$

D = Dielektrikum, M = Metall

ω = Kreisfrequenz, c = Lichtgeschwindigkeit

k_x = Betrag der Komponente des Wellenvektors in x-Richtung

k_z = Betrag der Komponente des Wellenvektors in z-Richtung

$$k_x = \left(\frac{\omega}{c} \right) \cdot \left(\frac{\varepsilon_M \cdot \varepsilon_D}{\varepsilon_M + \varepsilon_D} \right)^{1/2} \quad \text{Gl. 10}$$

Die Größen k_x und k_z beschreiben die Beträge der Komponenten des Wellenvektors \mathbf{k} in Ausbreitungsrichtung des Plasmons und entlang der z-Achse. Sie sind direkt proportional zu den entsprechenden Komponenten des Impulses \mathbf{p} in die jeweilige Raumrichtung (Gl. 11).

$$\mathbf{k} \cdot \hbar = \mathbf{p} \quad \text{Gl. 11}$$

\mathbf{k} = Wellenvektor, \mathbf{p} = Quanten-Impuls

\hbar = Plancksches Wirkungsquantum

Die Kreisfrequenz ω steht über eine analoge Beziehung in unmittelbarem Zusammenhang zur Energie der Schwingung (Gl. 12).

$$\omega \cdot \hbar = E \quad \text{Gl. 12}$$

E = Quanten-Energie

Die Beziehung zwischen Energie und Impuls von Quanten bei Durchgang durch Materie wird allgemein als Dispersion bezeichnet. Der Ausdruck in Gl. 10 wird daher auch Dispersionskurve des Oberflächenplasmons genannt.

Eine weitere gebräuchliche Bezeichnung für k_x ist longitudinale Propagationskonstante, da die Größe das elektrische Feld in Ausbreitungsrichtung des Plasmons beschreibt. Ihr Imaginärteil steht nach Gl. 13 in Beziehung zu der Propagationslänge L_x , nach der das elektrische Feld des Plasmons in x-Richtung um den Faktor $1/e$ abgefallen ist.

$$L_x = \frac{1}{2 \cdot \text{Im}\{k_x\}} \quad \text{Gl. 13}$$

L_x = Propagationslänge

Neben der Propagationslänge L_x wird das Oberflächenplasmon durch die Eindringtiefen L_M und L_D charakterisiert. Diese Größen beschreiben die Weglängen, nach denen das elektrische Feld des Plasmons in z-Richtung, also in Richtung des Metalls (M) und des Dielektrikums (D), um den Faktor $1/e$ abgefallen ist (Gl. 14, Gl. 15).

$$L_M = \frac{1}{\text{Re}\{\gamma_M\}} \quad \text{mit} \quad \gamma_M = i \frac{2\pi}{\lambda} \frac{\epsilon_M}{(\epsilon_M + \epsilon_D)^{1/2}} \quad \text{Gl. 14}$$

L_M = Eindringtiefe des elektrischen Feldes in den metallischen Halbraum

γ_M = Propagationskonstante in -z-Richtung

$$L_D = \frac{1}{\text{Re}\{\gamma_D\}} \quad \text{mit} \quad \gamma_D = i \frac{2\pi}{\lambda} \frac{\epsilon_D}{(\epsilon_M + \epsilon_D)^{1/2}} \quad \text{Gl. 15}$$

L_D = Eindringtiefe des elektrischen Feldes in den dielektrischen Halbraum

γ_D = Propagationskonstante in +z-Richtung

Die Ausdrücke γ_M und γ_D beschreiben die transversalen Propagationskonstanten des elektrischen Feldes.

3.3.3 Anregung von Oberflächenplasmonen durch Photonen

Durch resonante Wechselwirkung mit Photonen können Oberflächenplasmonen angeregt werden. Die entstehende Plasmawelle ist eindimensional und breitet sich nur entlang einer Oberflächenkoordinate aus. Diese sei per Definition die x-Koordinate. Eine Kopplung zwischen Photonen und Plasmon kann nur stattfinden, wenn die einfallende Lichtwelle eine elektrische Feldkomponente E_x aufweist, die parallel zur Ausbreitungsrichtung des Plasmons (x-Richtung) polarisiert ist. Diese Bedingung wird von p-polarisiertem Licht erfüllt (Abb. 20, Abb. 17). Das E -Feld von s-polarisiertem Licht schwingt senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des Plasmons und kann daher keine Anregung der Plasmaschwingung bewirken. Alle folgenden Überlegungen beziehen sich daher auf p-polarisiertes Licht.

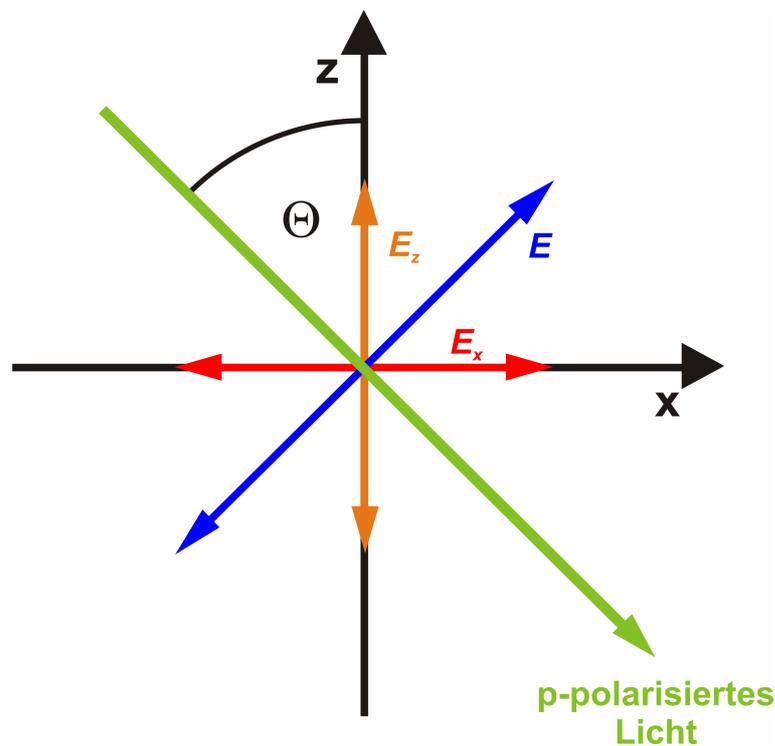


Abb. 20: E_x - und E_z -Komponente des E -Feldes von p-polarisiertem Licht, das unter dem Einfallswinkel θ auf eine Oberfläche fällt.

Betrachtet wird zunächst die Anregung von Plasmonen an der Grenzfläche Dielektrikum / Metall durch Photonen aus dem Halbraum des Dielektrikums. Für den Durchgang des Lichts durch das dielektrische Material lässt sich analog zum Oberflächenplasmon eine Dispersionsbeziehung formulieren (Gl. 16).

$$k_{\text{Ph}} = \frac{\omega}{c} \cdot (\epsilon_{\text{D}})^{1/2} \quad \text{Gl. 16}$$

k_{Ph} = Betrag des Wellenvektors der Photonen

ω = Kreisfrequenz, c = Lichtgeschwindigkeit

ϵ_{D} = Dielektrizitätskonstante des Dielektrikums

Die Komponente $k_{\text{Ph},x}$, die entlang der x-Achse verläuft und das Plasmon anregen kann, lässt sich mit Hilfe des Einfallswinkels des Lichtstrahls aus k_{Ph} berechnen (Gl. 17).

$$k_{\text{Ph},x} = k_{\text{Ph}} \cdot \sin \Theta = \frac{\omega}{c} \cdot (\epsilon_{\text{D}})^{1/2} \cdot \sin \Theta \quad \text{Gl. 17}$$

$k_{\text{Ph},x}$ = Betrag des Wellenvektors der Photonen in x-Richtung

Θ = Einfallswinkel des Lichts

Die Dispersionskurven in Gl. 16 und Gl. 17 werden auch als Lichtgeraden bezeichnet.

In Abb. 21 sind die Dispersionskurve des Oberflächenplasmons (Gl. 10) und die Lichtgerade aus Gl. 17 beispielhaft für das System Luft / Gold dargestellt. Beide Ausdrücke wurden nach ω umgestellt und gegen k_x aufgetragen.

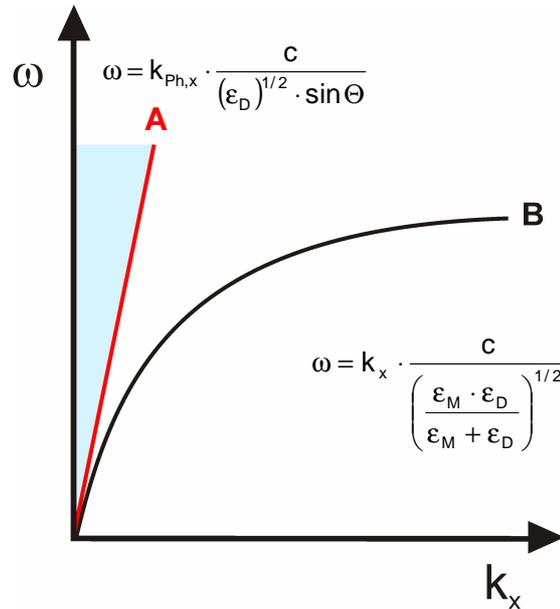


Abb. 21: Dispersionskurven von A: Photonen in Luft ($\epsilon_D = \epsilon_{\text{Luft}} = 1$), B: Oberflächenplasmonen an der Grenzfläche Gold / Luft.

Innerhalb des blau markierten Bereichs kann die Lage der Lichtgeraden durch den Einfallswinkel Θ variiert werden.

Aus der Auftragung geht deutlich hervor, dass sich die Lichtgerade und die Dispersionskurve des Plasmons bei keinem Einfallswinkel schneiden. Physikalisch bedeutet dies, dass es keinen Zustand gleichen Impulses und gleicher Energie gibt. Eine resonante Kopplung beider Wellen kann aber nur stattfinden, wenn die Gesetze der Energie- und Impulserhaltung erfüllt sind. Für die Anregung von Oberflächenplasmonen durch Photonen der Energie $E = \hbar\omega_{\text{Ph}}$ resultiert daher aus Gl. 10 und Gl. 17 folgende Resonanzbedingung (Gl. 18).

$$\begin{aligned}
 k_{\text{Ph},x}(\omega_{\text{Ph}}) = k_x(\omega_{\text{Ph}}) &\Rightarrow \frac{\omega_{\text{Ph}}}{c} \cdot (\epsilon_D)^{1/2} \cdot \sin\Theta = \frac{\omega_{\text{Ph}}}{c} \cdot \left(\frac{\epsilon_M \cdot \epsilon_D}{\epsilon_M + \epsilon_D} \right)^{1/2} \\
 &\Rightarrow (\epsilon_D)^{1/2} \cdot \sin\Theta = \left(\frac{\epsilon_M \cdot \epsilon_D}{\epsilon_M + \epsilon_D} \right)^{1/2} \quad \text{Gl. 18}
 \end{aligned}$$

$k_{\text{Ph},x}$ = Betrag des Wellenvektors der Photonen in x-Richtung

k_x = Betrag des Wellenvektors der Plasmonen in x-Richtung

ω_{Ph} = Kreisfrequenz der Photonen

Θ = Einfallswinkel des Lichts

Die in Gl. 18 formulierte Resonanzbedingung ist an der Grenzfläche Luft / Gold nicht erfüllt, da der Term $[\epsilon_D \epsilon_M / (\epsilon_D + \epsilon_M)]^{1/2}$ aufgrund des negativen Realteils von ϵ_M größer ist als $(\epsilon_D)^{1/2}$. Daraus resultiert, dass $k_{Ph,x}$ für alle Einfallswinkel Θ geringer ist als k_x , und eine Anregung des Oberflächenplasmons nicht stattfinden kann.

Um einen gemeinsamen Schnittpunkt der Dispersionskurven zu erhalten, muss die Steigung der Lichtgeraden durch eine Erhöhung von ϵ_D verringert werden (Abb. 22).

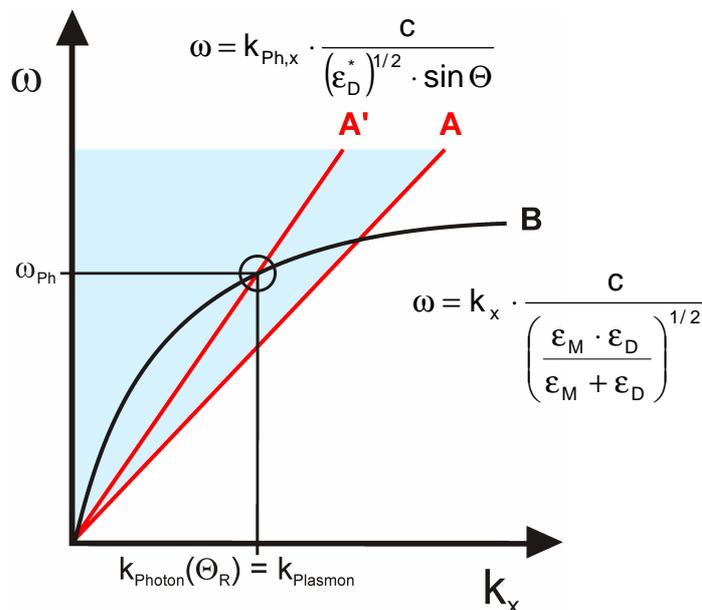


Abb. 22: Überlappung der Dispersionskurven von Photonen (A, A') und Plasmon (B) bei Erhöhung von $k_{Ph,x}$ durch Prismenkopplung, hier gilt: $\epsilon_D^* = \epsilon_{Prisma} > \epsilon_D$.

Dies kann erreicht werden, indem die Photonen vor ihrem Auftreffen auf die Grenzfläche Luft / Gold durch ein dielektrisches Medium mit einer Dielektrizitätskonstante $\epsilon_D^* > \epsilon_D$ geleitet werden. Meist werden hierzu Prismen aus hochbrechenden Gläsern benutzt, weshalb in diesen Zusammenhang auch von Prismenkopplung gesprochen wird.²⁸⁹⁻²⁹³ Die Absenkung der Steigung der Lichtgeraden ist gleichbedeutend mit der Erhöhung des Impulses der Photonen in x-Richtung. Durch die Wechselwirkung der Photonen mit dem Prisma wird die Komponente $k_{Ph,x}$ nach Gl. 17 erhöht und es kommt zu einer Überlappung der Lichtgeraden mit der Dispersionskurve des Plasmons (Kurve A in Abb. 22). Die Substitution der Größe ϵ_D in Gl. 17 durch ϵ_D^* , bzw. durch ϵ_P im Fall von Prismenkopplung, und Einsetzen in Gl. 18 führt zu einer erweiterten Resonanzbedingung (Gl. 19)

$$(\epsilon_D^*)^{1/2} \cdot \sin \Theta = \left(\frac{\epsilon_M \cdot \epsilon_D}{\epsilon_M + \epsilon_D} \right)^{1/2} \quad \text{Gl. 19}$$

- ϵ_D^* = Dielektrizitätskonstante des Mediums, mit dem die Komponente $k_{\text{Ph},x}$ der Photonen erhöht wird, bei Prismenkopplung gilt: $\epsilon_D^* = \epsilon_P$
- ϵ_D = Dielektrizitätskonstante des Dielektrikums an der Grenzfläche Dielektrikum / Metall
- ϵ_M = Dielektrizitätskonstante des Metalls
- Θ = Einfallswinkel des Lichts

Bei vorgegebener Energie der Photonen wird Gl. 19 bei einem bestimmten Einfallswinkel erfüllt, der Resonanzwinkel Θ_R genannt wird (Kurve A' in Abb. 22). Alternativ kann auch bei festgelegtem Einfallswinkel, also bei festgelegtem k_x , die resonante Wellenlänge des Lichts gesucht werden.

Die Prismenkopplung stellt die am häufigsten verwendete Methode zur Ankopplung von Photonen an Plasmonen dar. Seltener verwendete Methoden zur Erhöhung von $k_{\text{Ph},x}$ sind die Beugung von Photonen an Gittern (Gitterkopplung)²⁹⁴⁻²⁹⁷ sowie die Verwendung optischer Wellenleiter.^{298,299}

3.3.4 SPR-Sensoren mit Prismenkopplung

Bei der Prismenkopplung werden Oberflächenplasmonen durch evaneszente optische Felder angeregt. Solche Felder entstehen, wenn Photonen aus einem optisch dichteren Medium an der Grenzfläche zu einem optisch dünneren Medium totalreflektiert werden.

Zunächst wird daher auf die Entstehung und die Eigenschaften evaneszenter optischer Feldern eingegangen.

3.3.4.1 Totalreflexion von Licht und evaneszente optische Felder

Beim Übergang von Licht aus einem optisch dichteren Medium 1 in optisch dünneres Medium 2 wird der transmittierte Strahl vom Lot weggebrochen (grün in Abb. 23).

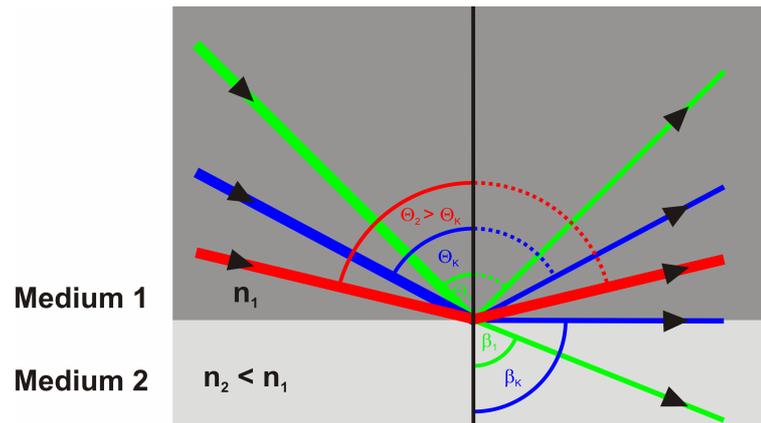


Abb. 23: Brechung / Reflexion und Totalreflexion an der Grenzfläche zweier Medien.

Die Zusammenhang zwischen Einfallswinkel Θ und Brechungswinkel β wird durch das Snellius'sche Gesetz beschrieben (Gl. 20).

$$\frac{\sin \Theta}{n_1} = \frac{\sin \beta}{n_2}$$

und

Gl. 20

$$\sin \Theta_R = \frac{n_2}{n_1} \text{ wenn } n_1 > n_2$$

n_1 = Brechungsindex des Mediums 1

n_2 = Brechungsindex des Mediums 2

Θ = Einfallswinkel

β = Brechungswinkel

Bei einem bestimmten Einfallswinkel Θ_K , der kritischer Winkel genannt wird, nimmt β einen Wert von 90° an und der gebrochene Lichtstrahl bewegt sich entlang der Grenzfläche im optisch dünneren Medium (blau in Abb. 23). Bei allen Einfallswinkeln oberhalb von Θ_K dringt kein Licht in das optisch dünnere Medium ein, sondern es findet Totalreflexion der Strahlung in das optisch dichtere Medium statt (rot in Abb. 23).

Bei der Totalreflexion stimmen die Intensitäten des einfallenden und reflektierten Lichtstrahls überein, was bedeutet, dass kein Energieübertrag in das optisch dünnere Medium stattfindet. Untersuchungen von *Goos* und *Hänchen* zeigten jedoch, dass

der Lichtstrahl nicht am Ort des Auftreffens auf die Grenzfläche, sondern etwas versetzt davon zurückläuft (Abb. 24).³⁰⁰⁻³⁰³

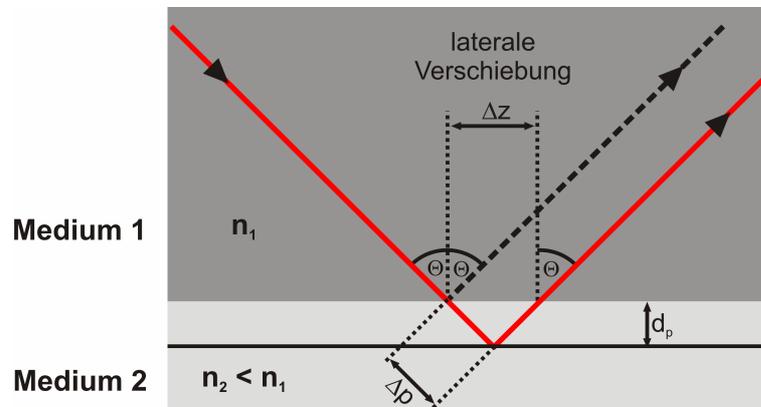


Abb. 24: Goos-Hänchen-Effekt und evaneszentes Feld bei der Totalreflexion.

Die beobachtete laterale Verschiebung Δz und ein Gangunterschied von $2 \Delta \phi$ entsprechen formal der Reflexion des Lichtstrahls an einer virtuellen Fläche, die in der Tiefe d_p im optisch dünneren Medium liegt. Dieses Phänomen wird als Goos-Hänchen-Effekt bezeichnet und fordert aus Gründen der Stetigkeit, die für Elektromagnetische Wellen gelten, die Existenz eines Lichtfeldes im optisch dünneren Medium. Bei diesem Lichtfeld handelt es sich um eine entlang der Grenzfläche propagierende elektromagnetische Welle, die exponentiell mit steigendem Abstand ins optisch dünnere Medium abfällt (Abb. 25).³⁰³⁻³⁰⁵

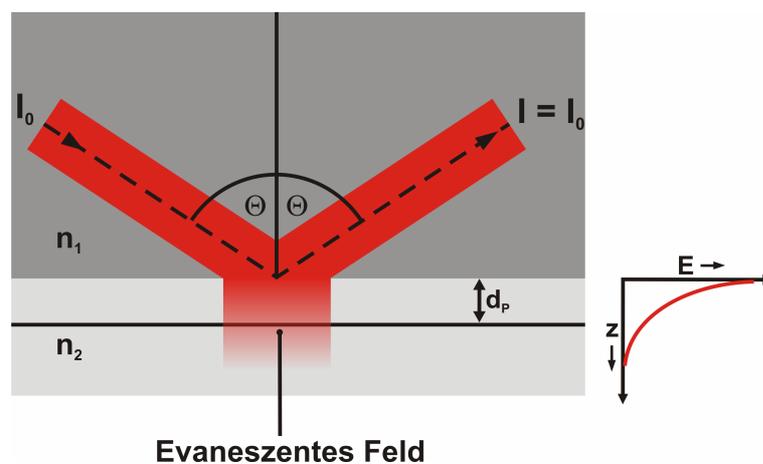


Abb. 25: Evaneszentes Feld, an der Grenzfläche zwischen optisch dichterem Medium (n_1) und optisch dünnerem Medium (n_2).

Die Größe d_p wird Eindringtiefe genannt und beschreibt den Abstand von der Grenzfläche, in dem das elektromagnetische Feld um den Faktor $1/e$ abfällt (Gl. 21).

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi \cdot (n_1^2 \cdot \sin^2 \Theta - n_2^2)^{1/2}} \quad \text{Gl. 21}$$

d_p = Eindringtiefe des evaneszenten Feldes

n_1 = Brechungsindex des Mediums 1

n_2 = Brechungsindex des Mediums 2

Θ = Einfallswinkel, $\Theta > \Theta_K$

λ = Wellenlänge des Lichts

Die Eindringtiefe d_p wird sowohl von der Wellenlänge des totalreflektierten Lichts als auch vom Einfallswinkel bestimmt. Eine Erhöhung von λ führt generell zu einer Vergrößerung von d_p . Steigende Einfallswinkel bewirken dagegen eine Abnahme der Eindringtiefe. Bei Einfallswinkeln kurz oberhalb von Θ_K beträgt d_p mehrere Wellenlängen und fällt zu Einfallswinkeln um 90° auf Werte deutlich unterhalb einer Wellenlänge ab.

Das evaneszente Feld überträgt im Normalfall keine Energie in das optisch dünnere Medium. Bringt man jedoch ein drittes Medium in die Nähe der Grenzfläche, kann dies mit dem evaneszenten Feld Wechselwirkung treten und der einfallenden Strahlung Energie entziehen. Je nach Höhe des Energieübertrags wird die Intensität des totalreflektierten Lichts vermindert, oder verschwindet ganz, weshalb in diesem Zusammenhang von frustrierter oder abgeschwächter Totalreflexion gesprochen wird.

3.3.4.2 Anregung von Oberflächenplasmonen mit evaneszenten optischen Feldern

Wie bereits erwähnt, wird zur Anregung von Oberflächenplasmonen hauptsächlich die Prismenkopplung verwendet. Hier wird zwischen der Otto-²⁸⁹ und der Kretschmann-Konfiguration^{290,292} unterschieden (Abb. 26).

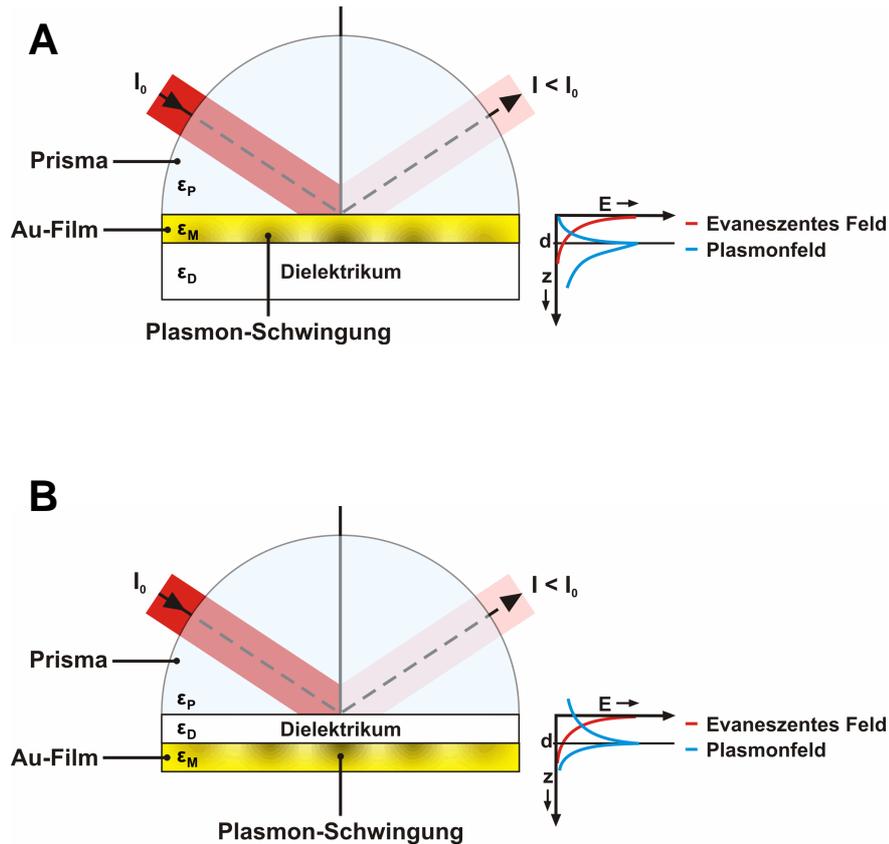


Abb. 26: Prismen-Kopplung in A: Kretschmann- und B: Otto-Konfiguration.

Beide Anordnungen nutzen ein evaneszentes optisches Feld zur Anregung des Oberflächenplasmons und basieren daher auf dem Prinzip der frustrierten Totalreflexion.

Bei der Kretschmann-Konfiguration besteht ein direkter Kontakt zwischen Prisma und Metallfilm und die Totalreflexion findet an der Grenzfläche Prisma / Metall statt. Das entstehende evaneszente Feld durchdringt den Metallfilm und regt das Plasmon auf der dem Prisma abgewandten Seite an, die in Kontakt mit dem Dielektrikum steht.

Bei der Otto-Konfiguration wird das Licht hingegen an der Grenzfläche Prisma / Dielektrikum totalreflektiert. Das evaneszente Feld durchdringt das Dielektrikum und regt das Oberflächenplasmon auf der dem Prisma zugewandten Seite des Goldfilms an. Damit das evaneszente Feld bis an die Metalloberfläche reicht, ist es notwendig, die Dicke des dielektrischen Mediums auf circa einen Mikrometer zu begrenzen. Die genaue Kontrolle der Dicke des Dielektrikums ist jedoch schwierig, weshalb die Otto-Konfiguration in der praktischen Anwendung kaum eine Rolle spielt.

Für alle in dieser Arbeit durchgeführten SPR-Messungen wurde die Kretschmann-Konfiguration verwendet. Die folgenden Ausführungen und Diskussionen erfolgen daher unter Voraussetzung dieser Messanordnung.

3.3.4.3 Messung von Adsorptions- und Bindungsvorgängen

Das Umstellen von Gl. 19 liefert den Resonanzwinkel, bei dem die Photonen mit dem Oberflächenplasmon an der Grenzfläche Metall / Dielektrikum in Wechselwirkung treten (Gl. 22).

$$\Theta_R = \arcsin \left(\frac{\epsilon_M \cdot \epsilon_D}{(\epsilon_M + \epsilon_D) \cdot \epsilon_P} \right)^{1/2} \quad \text{Gl. 22}$$

Θ_R = Resonanzwinkel

ϵ_M = Dielektrizitätskonstante des Metalls

ϵ_D = Dielektrizitätskonstante des Dielektrikums
(Umgebungsmedium)

ϵ_P = Dielektrizitätskonstante des Prismas

Bei Messung der reflektierten Lichtintensität in Abhängigkeit vom Einfallswinkel (Reflexionskurve) tritt bei Erreichen von Θ_R ein Minimum auf (Abb. 27).

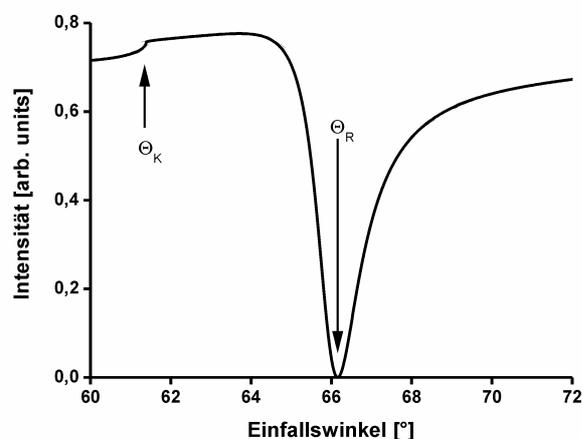


Abb. 27: Typischer Verlauf der Reflexionskurve bei resonanter Anregung von Oberflächenplasmonen, Θ_K = kritischer Winkel, Θ_R = Resonanzwinkel.

Wie aus Gl. 22 hervorgeht, hängt Θ_R neben den Dielektrizitätskonstanten ε_M des Metalls und ε_P des Prismas von der Dielektrizitätskonstanten ε_D des Umgebungsmediums ab. Eine Erhöhung von ε_D führt dabei zu einer positiven Verschiebung von Θ_R , während eine Verringerung von ε_D zu einer Verkleinerung des Resonanzwinkels führt (Abb. 28).

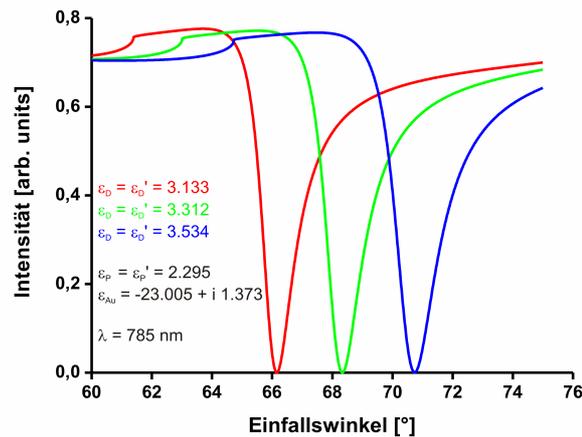


Abb. 28: Mit dem Programm *Winspall* berechnete Reflexionskurven auf Gold für Umgebungsmedien mit unterschiedlicher Dielektrizitätskonstante ε_D , Umgebungsmedium und Prisma sind transparent, daher gilt: $\varepsilon = \varepsilon'$.

Die SPR-Spektroskopie nutzt die Sensitivität des Resonanzwinkels gegenüber ε_D aus, um Veränderungen des Dielektrikums an und in der Nähe der Grenzfläche zum Metallfilm zu detektieren. Neben dem Wechsel des Umgebungsmediums ändert auch die Bindung von Substanzen an der Metall / Dielektrikum-Grenzfläche die dielektrischen Eigenschaften und führt daher zu einer Verschiebung des Resonanzwinkels. Ein solches System mit einem an der Grenzfläche gebundenen dünnen Film ist in Abb. 29 dargestellt.

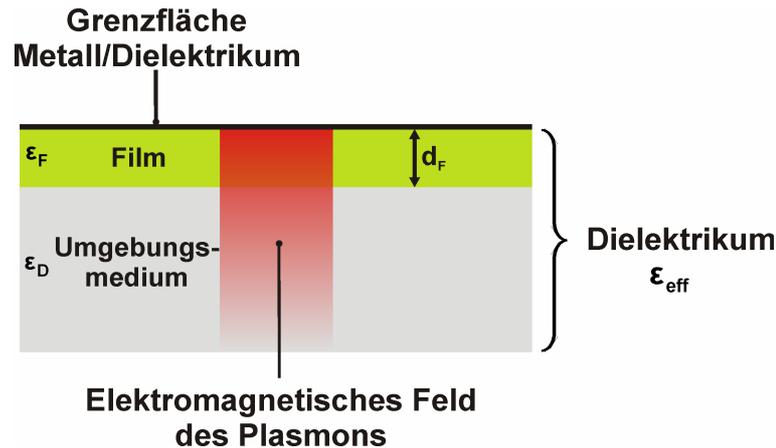


Abb. 29: Effektive Dielektrizitätskonstante bei Abscheidung eines dünnen Films auf der Au-Oberfläche.

Das Dielektrikum ist in diesem Fall nicht mehr homogen, sondern teilt sich in zwei Phasen mit den Dielektrizitätskonstanten ϵ_F und ϵ_D auf. Das elektromagnetische Feld des Plasmons reicht über den Film hinaus in das Umgebungsmedium hinein und tritt mit beiden Phasen in Wechselwirkung. Für das zweischichtige Dielektrikum muss daher die effektive Dielektrizitätskonstante ϵ_{eff} eingeführt werden, die sich anteilig aus den Dielektrizitätskonstanten beider Phasen zusammensetzt (Gl. 23).^{288,306}

$$\epsilon_{\text{eff}} = \frac{2}{L_D} \cdot \int_0^{\infty} \epsilon(z) \cdot e^{-(2z/L_D)} dz \quad \text{Gl. 23}$$

ϵ_{eff} = effektive Dielektrizitätskonstante des Dielektrikums

$\epsilon(z)$ = Profil der Dielektrizitätskonstanten des mehrphasigen Systems entlang der z-Koordinate

L_D = Eindringtiefe des Plasmonfelds in das Dielektrikum

Unter der Annahme, dass die beiden Phasen des in Abb. 29 dargestellten Systems homogen sind und jeweils nur durch die Dielektrizitätskonstante ϵ_F beziehungsweise ϵ_D charakterisiert sind, geht Gl. 23 in folgenden Ausdruck über (Gl. 24).³⁰⁶

$$\begin{aligned}\epsilon_{\text{eff}} &= \epsilon_F \left(1 - e^{-(2d_F/L_D)}\right) + \epsilon_D \cdot e^{-(2d_F/L_D)} \\ &= \epsilon_D + (\epsilon_F - \epsilon_D) \cdot \left(1 - e^{-(2d_F/L_D)}\right)\end{aligned}\quad \text{Gl. 24}$$

ϵ_F = Dielektrizitätskonstante des Films

ϵ_D = Dielektrizitätskonstante des den Film umgebenden Mediums

d_F = Dicke des Films

L_D = Eindringtiefe des Plasmonfelds in das Dielektrikum

Auch die effektiven Dielektrizitätskonstanten mehrschichtiger Systeme können in analoger Weise mit Gl. 23 berechnet werden.

Mit Hilfe von ϵ_{eff} lässt sich nach Gl. 25 die Lage des Resonanzwinkels von Mehrschichtsystemen berechnen.

$$\Theta_R = \arcsin\left(\frac{\epsilon_M \cdot \epsilon_{\text{eff}}}{(\epsilon_M + \epsilon_{\text{eff}}) \cdot \epsilon_P}\right)^{1/2}\quad \text{Gl. 25}$$

Θ_R = Resonanzwinkel

ϵ_M = Dielektrizitätskonstante des Metalls

ϵ_{eff} = effektive Dielektrizitätskonstante des Dielektrikums

ϵ_P = Dielektrizitätskonstante des Prismas

Im Fall homogener Dielektrika geht Gl. 25 in Gl. 22 über.

Die Abscheidung eines Films auf der Metalloberfläche (vergl. Abb. 29) ist immer mit einer Veränderung der effektiven Dielektrizitätskonstante um den Betrag $\Delta\epsilon_{\text{eff}}$ verbunden (Gl. 26).³⁰⁶

$$\Delta\epsilon_{\text{eff}} = (\epsilon_{\text{eff}}^{\text{nach}} - \epsilon_{\text{eff}}^{\text{vor}}) = (\epsilon_{\text{eff}}^{\text{nach}} - \epsilon_D) = (\epsilon_F - \epsilon_D) \cdot (1 - e^{-(2d_F/L_D)})\quad \text{Gl. 26}$$

$\Delta\epsilon_{\text{eff}}$ = Änderung der effektiven Dielektrizitätskonstante durch Adsorption

$\epsilon_{\text{eff}}^{\text{vor}}$ = effektive Dielektrizitätskonstante vor Schichtbildung

$\epsilon_{\text{eff}}^{\text{nach}}$ = effektive Dielektrizitätskonstante nach Schichtbildung

Im Bereich kleiner $\Delta\varepsilon_{\text{eff}}$ besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Veränderung der effektiven Dielektrizitätskonstante und der Verschiebung des Resonanzwinkels $\Delta\Theta_R$ (Gl. 27).³⁰⁶

$$\Delta\Theta_R = m \cdot (\Delta\varepsilon_{\text{eff}}) = m \cdot (\varepsilon_F - \varepsilon_D) \cdot (1 - e^{-(2d_F/L_D)}) \quad \text{Gl. 27}$$

$\Delta\Theta_R$ = Resonanzwinkelverschiebung

m = Proportionalitätsfaktor

Wenn die Schichtdicke des an die Metalloberfläche gebundenen Films viel kleiner ist als die Eindringtiefe L_D , zeigt $\Delta\Theta_R$ zusätzlich eine lineare Abhängigkeit zu dem Produkt $d_F \cdot (\varepsilon_F^{1/2} - \varepsilon_D^{1/2})$ (Gl. 28).³⁰⁶

$$\Delta\Theta_R = \frac{2m'}{L_D} \cdot d_F (\varepsilon_F^{1/2} - \varepsilon_D^{1/2}) \quad \text{Gl. 28}$$

$\Delta\Theta_R$ = Resonanzwinkelverschiebung

m' = Proportionalitätsfaktor

Die Proportionalitätskonstanten m und m' in Gl. 27 und Gl. 28 werden entweder experimentell bestimmt, oder durch Lösen der Fresnelschen Gleichungen für das entsprechende System erhalten. Auf die Bestimmung der Schichtdicke aus $\Delta\Theta_R$ wird im folgenden Kapitel genauer eingegangen.

Neben der Charakterisierung des gebundenen Films bietet die SPR-Spektroskopie die Möglichkeit, den zeitlichen Verlauf des Bindungsprozesses zu studieren. Bei der so genannten Kinetik-Messung wird die Intensität des reflektierten Lichts bei konstantem Einfallswinkel gemessen. Hierzu wird ein Winkel gewählt, der sich im linearen Teil der abfallenden Flanke der Resonanzkurve in Nähe des Minimums befindet (Abb. 30).

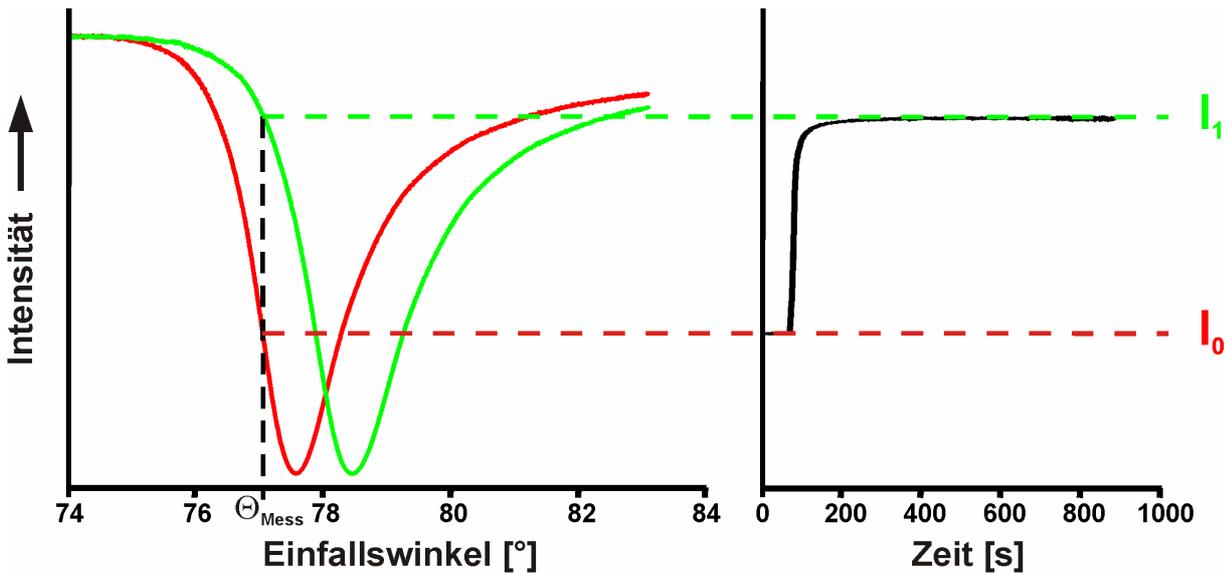


Abb. 30: Aufnahme der Adsorptionskurve bei konstanten Einfallswinkel Θ_{Mess} .

Bei Adsorption des Films kommt es zu einer Erhöhung der effektiven Dielektrizitätskonstante, und das Resonanzminimum wird zu höheren Winkeln hin verschoben. An die Verschiebung von Θ_R gekoppelt, erhöht sich die Intensität des reflektierten Lichts am gewählten Messpunkt von I_0 auf I_1 , wodurch die Adsorptionskurve erhalten wird.

Durch Analyse der Adsorptionskurve können die kinetischen Parameter des untersuchten Adsorptionsvorgangs ermittelt werden.^{282,307} Weiterhin kann im Kinetik-Modus der Fortschritt des Bindungsprozesses qualitativ beurteilt werden.

3.3.4.4 Bestimmung der Schichtdicke gebundener Filme

In der Sensorik wird die SPR-Spektroskopie verwendet, um spezifische Wechselwirkungen zwischen Molekülen zu quantifizieren. Meistens werden Rezeptorsubstituierte SAMs auf dem Metallfilm des Sensors abgeschieden und über das Umgebungsmedium in Kontakt mit dem Analyten gebracht. Die Bindung des Analyten an die sensorische Monoschicht führt nach Gl. 25 zu einer Verschiebung des Resonanzwinkels Θ_R . Diese Verschiebung steht in direkter Beziehung zur Schichtdicke beziehungsweise zur Oberflächenkonzentration der gebundenen Substanz und kann zur Quantifizierung des Bindungsereignisses herangezogen werden.

Eine Möglichkeit, die Schichtdicke d_F des gebundenen Films zu erhalten (vgl. Abb. 29), besteht in der direkten Berechnung der Größe aus der Verschiebung des Resonanzwinkels Θ_R (Gl. 29).³⁰⁸⁻³¹¹

$$d_F = \Delta(\sin \Theta_R) \cdot \frac{\lambda}{2\pi} \cdot \frac{(\epsilon'_M - \epsilon_D)^2}{(\epsilon'_M \cdot \epsilon_D)^{3/2}} \cdot \frac{\epsilon_F}{(\epsilon_F - \epsilon_D) \cdot (\epsilon_P)^{1/2}} \quad \text{Gl. 29}$$

d_F = Dicke des gebundenen Films

$\Delta(\sin \Theta_R)$ = ($\sin \Theta_R$ vor Filmbildung) – ($\sin \Theta_R$ nach Filmbildung)

λ = Wellenlänge des Lichts

ϵ'_M = Realteil der Dielektrizitätskonstanten des Metalls

ϵ_D = Dielektrizitätskonstante des den Film umgebenden Mediums

ϵ_F = Dielektrizitätskonstante der filmbildenden Substanz

ϵ_P = Dielektrizitätskonstante des Prismas

Voraussetzung für die Berechnung von d_F nach Gl. 29 ist die Kenntnis der Dielektrizitätskonstanten der vier Medien bei der verwendeten Wellenlänge. Auf die Bestimmung von ϵ_M , ϵ_P , ϵ_D und ϵ_F wird später näher eingegangen.

Eine zweite Methode zur Ermittlung der Filmdicke nutzt den linearen Zusammenhang zwischen der Resonanzwinkelverschiebung $\Delta\Theta$ und dem Produkt $(\epsilon_F^{1/2} - \epsilon_D^{1/2}) d_F$ (Gl. 28). Üblicherweise wird bei dieser Methode eine theoretische $\Delta\Theta_R(d_F)$ -Kurve für das jeweilige System Prisma / Metall / Film / Umgebungsmedium simuliert. Dies geschieht durch Lösen der Fresnelschen Gleichungen für unterschiedliche Werte von d_F (Abb. 31).

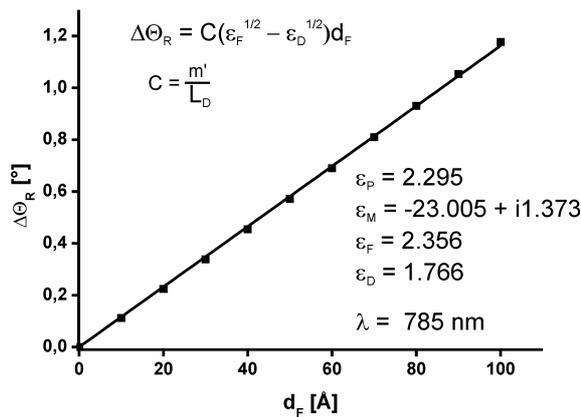


Abb. 31: Simulation des Resonanzwinkels $\Delta\Theta_R$ für verschiedene Schichtdicken d_F , ε_i bezeichnet die Dielektrizitätskonstante des jeweiligen Mediums.

Mit Hilfe der simulierten Kurve können dann praktisch bestimmte Werte für $\Delta\Theta$ direkt einer Filmdicke d_F zugeordnet werden.

Zur Berechnung der $\Delta\Theta_R(d_F)$ -Kurve kann die frei erhältliche Software *Winspill* benutzt werden.³¹² Auch hier müssen die Dielektrizitätskonstanten ε_M , ε_P , ε_F und ε_D bekannt sein.

Die vorgestellten Verfahren zur Bestimmung der Schichtdicke setzen die Transparenz des Films und des umgebenden Mediums im verwendeten Wellenlängenbereich voraus. Die Charakterisierung absorbierender Filme³⁰⁸ ist ebenfalls möglich, wird an dieser Stelle aber nicht diskutiert.

Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten der verschiedenen Medien

Wie bereits erwähnt, müssen die Dielektrizitätskonstanten des Systems bei der verwendeten Wellenlänge bekannt sein, um die Schichtdicke des gebundenen Films berechnen zu können. Für das Metall und das Prismenmaterial können die Größen in der Regel der Literatur entnommen werden.³¹³ Ist dies nicht der Fall, lassen sich ε_M und ε_P , wie im Folgenden gezeigt wird, rechnerisch ermitteln.

Die Dielektrizitätskonstante ε_F des Films muss fast immer bestimmt werden, da es kaum dokumentierte Werte gibt. Ausnahmen bilden einige Proteine, für die wellenlängenabhängige Messungen von ε durchgeführt wurden.^{314,315}

Auch ε_D des Umgebungsmediums ist in den meisten Fällen unbekannt. Oft handelt es sich um Pufferlösungen, deren Dielektrizitätskonstante zu ermitteln ist.

Die folgenden Abschnitte geben einen kurzen Überblick über die gängigen Methoden zur experimentellen oder rechnerischen Bestimmung der verschiedenen Dielektrizitätskonstanten.

Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten ε_M

Die Dielektrizitätskonstante ε_M des verwendeten Metalls kann nach dem Drude-Modell des freien Elektronengases folgendermaßen beschrieben werden (Gl. 30).³¹⁶⁻³¹⁸

$$\varepsilon_M = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\omega\tau} \quad \text{mit} \quad \omega_p = \left(\frac{4\pi \cdot N \cdot e^2}{m^*} \right)^{1/2} \quad \text{Gl. 30}$$

ε_M = Dielektrizitätskonstante des Metalls

ω = Kreisfrequenz des verwendeten Lichts

τ = Relaxationszeit der Elektronen

$i = (-1)^{1/2}$

ω_p = Plasmafrequenz

N = Konzentration frei beweglicher Elektronen

e = Ladung des Elektrons

m^* = effektive Masse des Elektrons

Aus diesem Ausdruck folgen für $\omega\tau \gg 1$ der Realteil ε_M' und der Imaginärteil ε_M'' der Dielektrizitätskonstanten ε_M (Gl. 31, Gl. 32).

$$\varepsilon_M' = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad \text{Gl. 31}$$

$$\varepsilon_M'' = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^3 \cdot \tau} \quad \text{mit} \quad \tau = \frac{\sigma \cdot m^*}{N \cdot e^2} \quad \text{Gl. 32}$$

σ = Gleichstromleitfähigkeit des Metalls

Die Größen σ , N , τ und m^* können einschlägiger Literatur entnommen werden.^{319,320}

Bestimmung der Dielektrizitätskonstante ε_P des Prismas

Das Prismenmaterial ist im betrachteten Wellenlängenbereich transparent. Die Dielektrizitätskonstante ε_P ist daher real ($\varepsilon_P = \varepsilon_P'$) und kann über den Realteil des Brechungsindex n_P hergeleitet werden. Hierbei gilt: $\varepsilon_P = n_P^2$.

Die Dispersion $n(\lambda)$ des realen Brechungsindex wird durch die Sellmeier-Formel beschrieben (Gl. 33).³²¹⁻³²⁴

$$n(\lambda) = \frac{B_1 \cdot \lambda^2}{\lambda^2 - C_1} + \frac{B_2 \cdot \lambda^2}{\lambda^2 - C_2} + \frac{B_3 \cdot \lambda^2}{\lambda^2 - C_3} \quad \text{Gl. 33}$$

$n(\lambda)$ = Realteil des Brechungsindex

λ = Wellenlänge des Lichts

B, C = materialspezifische Sellmeier-Koeffizienten

Die Sellmeier-Koeffizienten B und C sind materialspezifisch und können der Literatur entnommen werden.³²⁵

Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten ε_F des gebundenen Films und ε_D des umgebenden Mediums

Es möglich, die Größen d_F und ε_F des Systems durch SPR-Messungen simultan nebeneinander zu bestimmen.³⁰⁷⁻³¹¹ Diese Methode wird sehr häufig angewandt, da sie wenig aufwendig ist und die Parameter des Films *in situ* bestimmt werden. Die

auf diese Weise ermittelte Dielektrizitätskonstante ist repräsentativ für die aktuelle Zusammensetzung der Schicht und reagiert sensitiv auf Einflüsse wie etwa den Hydratisierungsgrad.

Ein Nachteil dieser Methode ist, dass vor der Abscheidung des zu untersuchenden Films der Resonanzwinkel $\Delta\Theta_R$ des unbelegten Goldfilms im Umgebungsmedium bestimmt werden muss. Bei Kontakt des Metalls mit Lösungen jeglicher Art finden jedoch sofort Adsorptionsereignisse statt. Ein auf diese Art ermittelter Resonanzwinkel entspricht demnach keiner unbelegten Metalloberfläche, was zu einem Fehler für die zu bestimmenden Größen ε_F und d_F führt.

Alternativ kann, wie im folgenden Abschnitt beschrieben, die Messung des Brewster-Winkels zur Bestimmung der Größe ε_F herangezogen werden.

Die Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten ε_D des Umgebungsmediums (vgl. Abb. 29) kann durch Messung des Brewster-Winkels Θ_B bei der entsprechenden Wellenlänge erfolgen.

Zur Bestimmung von Θ_B wird die winkelabhängige Reflexion von p-polarisiertem Licht an der Grenzfläche des zu untersuchenden Mediums und Luft bestimmt. In der Nähe des Brewster-Winkels nimmt die reflektierte Lichtintensität ab und fällt bei Erreichen von Θ_B auf null ab. Abb. 32 zeigt hierzu beispielhaft die Reflexionskurve für Wasser bei $\lambda = 785$ nm.

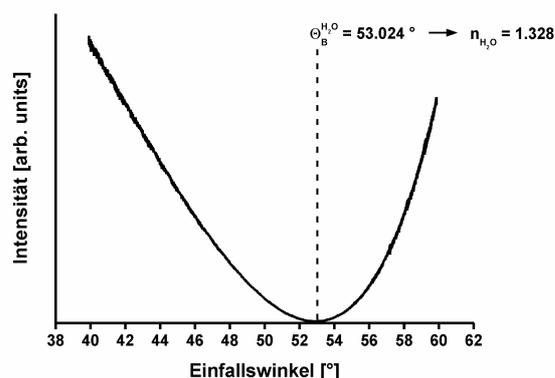


Abb. 32: Winkelabhängige Reflexionskurve von p-polarisiertem Licht an der Grenzfläche Wasser / Luft bei $\lambda = 785$ nm, Θ_B = Brewster-Winkel, n_{H_2O} = Realteil des Brechungsindex von Wasser bei $\lambda = 785$ nm (berechnet nach Gl. 34).

Der Zusammenhang zwischen Θ_B und dem Realteil n des Brechungsindex wird durch Gl. 34 beschrieben.

$$\Theta_B = \arcsin(n) \qquad \text{Gl. 34}$$

Θ_B = Brewster-Winkel

n = Realteil des Brechungsindex des untersuchten Mediums

Über die Beziehung $\varepsilon = n^2$ folgt hieraus die Dielektrizitätskonstante ε_D des Umgebungsmediums.

3.3.5 Aufnahme von SPR-Spektren

In diesem Kapitel wird der zur Aufnahme der SPR-Spektren verwendete Messaufbau vorgestellt sowie die Auswertung der Rohdaten diskutiert.

3.3.5.1 Messaufbau

Abb. 33 zeigt die verwendete Apparatur in schematischer Darstellung und als Photographie.

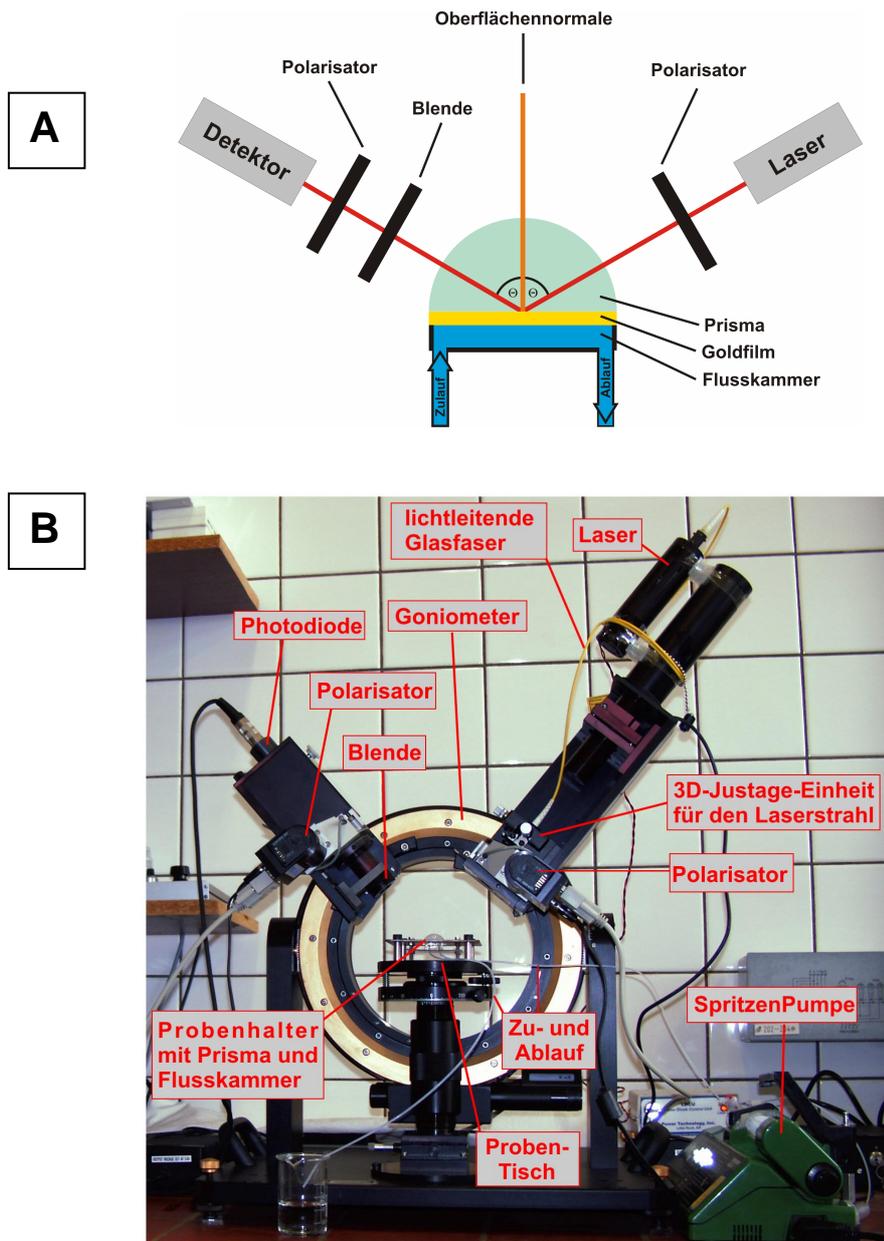


Abb. 33: Verwendetes SPR-Spektrometer, A: schematische Darstellung, B: Photographie.

Bei dem Gerät handelte es sich um ein Multiskop der Firma Optrel, das nachträglich mit einem 785 nm NIR-Laser ausgestattet wurde. Die Ermittlung des Resonanzwinkels erfolgte durch Variation des Einfallswinkels mit Hilfe des Goniometers.

Der Probenhalter (Abb. 34) wurde selbst entwickelt und ermöglichte einen schnellen, unkomplizierten Wechsel der zu untersuchenden Proben.

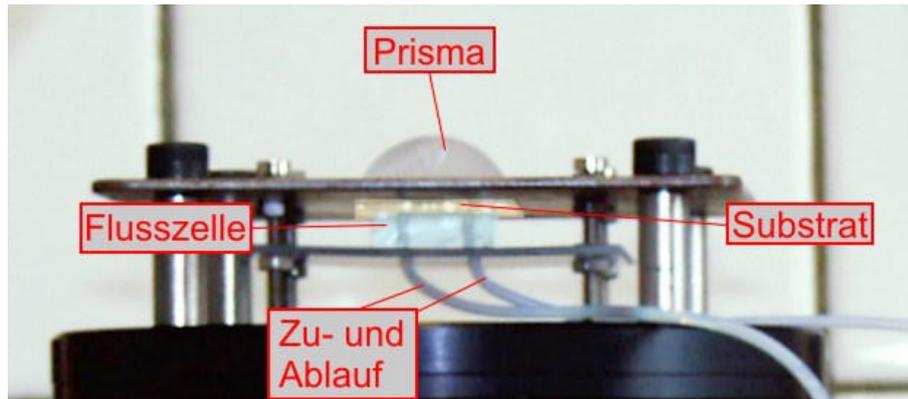


Abb. 34: Selbstkonstruierter Probenhalter.

Als Substrate dienten goldbedampfte Mikroskopie-Objektträger aus Sodaglas. Die Dicke der Goldschicht betrug 500 Å. Als Haftvermittler befand sich eine 20 Å dicke Chromschicht zwischen Goldfilm und Glas. Die optische Kopplung des Objektträgers an das Prisma aus BK7-Glas erfolgte durch ein Immersionsöl.

Eine auf den Goldfilm aufgesetzte Flusszelle ermöglichte es, Lösungen über das Substrat zu leiten. Die verwendeten Zellen besaßen ein Volumen von etwa 36 µL und wurden aus Polydimethylsiloxan hergestellt. Der Flüssigkeitstransport wurde durch eine Spritzenpumpe gewährleistet und erfolgte durch PTFE-Schläuche.

Verwendete Prismen

Abweichend von der in Abb. 33 und Abb. 34 dargestellten Messanordnung wurde für die SPR-Messungen anstelle des runden Prismas ein 90 °-Prisma aus BK7-Glas verwendet. Grund hierfür war, dass das runde Prisma keine perfekte halbzyklindrische Gestalt besaß und somit keine einfache Korrelation zwischen äußerem Einfallswinkel (Goniometerwinkel) und dem inneren Einfallswinkel Θ an der Goldschicht möglich war. Dieser Zusammenhang ist in Abb. 35 veranschaulicht.

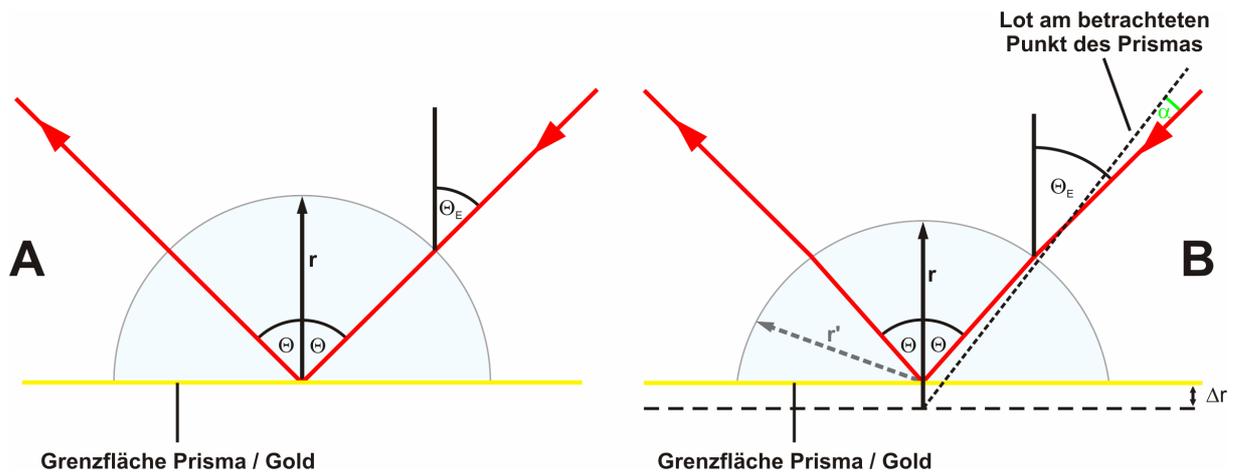


Abb. 35: Zusammenhang zwischen äußerem (Θ_E) und innerem (Θ) Einfallswinkel bei zwei halbzyklindrischen Prismen, A: perfektes Halbkreis-Prisma mit dem Radius r , B: halbzyklindrisches Prisma mit dem Radius $r' < r$, $\Delta r = r - r'$ bei $\Theta_E = 0^\circ$; α = Einfallswinkel des Lichts auf das Prisma bezüglich des Lots.

In Abb. 35 A ist der Zusammenhang zwischen dem äußeren Einfallswinkel Θ_E und dem inneren Einfallswinkel Θ für ein perfekt halbkreisförmiges Prisma dargestellt. Der Einfall des Lichtstrahls erfolgt bei jedem Wert von Θ_E entlang des Lots, weshalb er beim Durchgang durch das Prisma keine Ablenkung durch Brechung erfährt. Der gemessene Resonanzwinkel Θ entspricht deshalb immer dem Goniometerwinkel Θ_E . Für ein nicht perfekt halbkreisförmiges Prisma ist die Situation anders (Abb. 35 B). Da der Prismen-Radius r' kleiner ist als der Radius r des Halbkreises, fällt der Lichtstrahl bei allen Goniometerwinkeln Θ_E mit Ausnahme von $\Theta_E = 0^\circ$ nicht entlang der Normalen auf das Prisma, sondern im Winkel α bezüglich des Lots. Hieraus resultiert im Prisma eine Ablenkung des Strahls durch Brechung, was dazu führt, dass die Winkel Θ_E und Θ nicht mehr identisch sind. Dies allein wäre nicht problematisch, da die Winkel über das Snellius'sche Gesetz (Gl. 20) exakt in Beziehung zueinander gesetzt werden könnten. Der Radius r' und damit verbunden der Winkel α zwischen auftreffendem Lichtstrahl und der Normalen am jeweiligen Prismenpunkt sind jedoch eine Funktion des Einfallswinkels und ändern sich mit Θ_E . Hierdurch wird die Beschreibung des Zusammenhang zwischen Θ_E und Θ sehr kompliziert. Aufgrund der schwierigen Ableitung des Winkels Θ aus dem Goniometerwinkel wurde daher auf die Verwendung des zylindrischen Prismas verzichtet.

Alternativ wurde, wie in Abb. 36 dargestellt, ein 90° -Prisma verwendet.

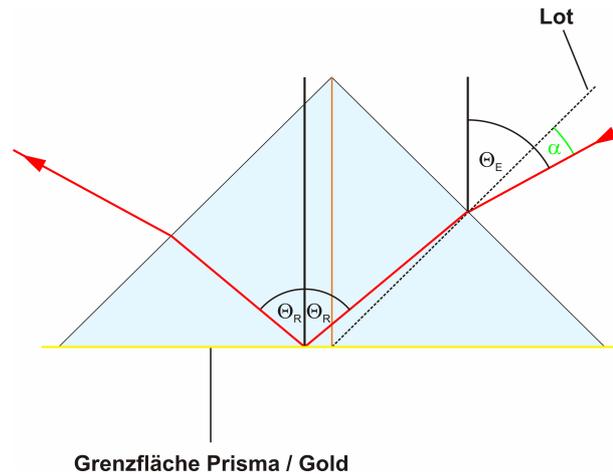


Abb. 36: Zusammenhang zwischen äußerem (Θ_E) und innerem (Θ_R) Einfallswinkel beim 90° -Prisma, α = Einfallswinkel des Lichts auf das Prisma bezüglich des Lots.

Beim 90° -Prisma tritt ebenfalls eine Ablenkung des Lichtstrahls durch Brechung auf. Über das Snellius'sche Gesetz (Gl. 20) können jedoch für alle Einfallswinkel Θ_E die entsprechenden Winkel Θ exakt ermittelt werden (Gl. 35).

$$\Theta = 45^\circ + \arcsin\left(\frac{\sin \alpha}{n_p}\right) \quad \text{mit} \quad \alpha = \Theta_E - 45^\circ \quad \text{Gl. 35}$$

Θ = Einfallswinkel des Lichts an der Grenzschicht Prisma / Gold

Θ_E = äußerer Einfallswinkel des Lichts (Goniometerwinkel)

α = Einfallswinkel des Lichts bezüglich des Prismen-Lots

n_p = Brechungsindex des Prismas

Für den Resonanzwinkel Θ_R , bei dem die Anregung des Oberflächenplasmons erfolgt, gilt entsprechend Gl. 36.

$$\Theta_R = 45^\circ + \arcsin\left(\frac{\sin(\Theta_{E,R} - 45^\circ)}{n_p}\right) \quad \text{Gl. 36}$$

Θ_R = Resonanzwinkel

$\Theta_{E,R}$ = resonanter Einfallswinkel (Goniometerwinkel)

n_p = Brechungsindex des Prismas

Die Größe, die aus einer SPR-Messung unmittelbar folgt, ist nicht die Resonanzwinkelsverschiebung $\Delta\Theta_R$, sondern die Verschiebung des resonanten Einfallswinkels $\Delta\Theta_{E,R}$. Die durch ein Adsorptionsereignis hervorgerufene Veränderung von $\Delta\Theta_{E,R}$ unterscheidet sich in ihrem Zahlenwert zwar von der Verschiebung $\Delta\Theta_R$, ist aber ebenfalls proportional zum Bedeckungsgrad bzw. zur Schichtdicke der gebundenen Substanz. Aus Gründen der Einfachheit wurde daher im Rahmen dieser Arbeit durchgängig die Größe $\Delta\Theta_{E,R}$ zur Quantifizierung von Bindungsereignissen herangezogen.

Aufbau der SPR-Sensoren

Das Schichtsystem der verwendeten Sensoren ist in Abb. 37 dargestellt.

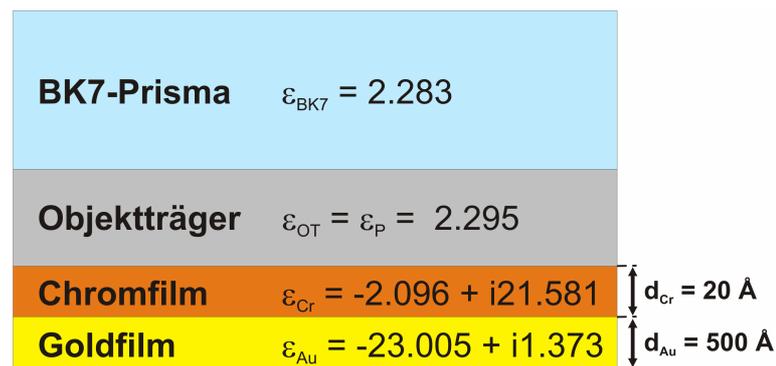


Abb. 37: Schichtsystem des SPR-Sensors und Dielektrizitätskonstanten der verschiedenen Medien bei $\lambda = 785 \text{ nm}$.

In der verwendeten Messanordnung war der Goldfilm auf dem Objektträger gebunden. Sowohl die Totalreflexion an der Grenzfläche Glas / Metall als auch die Anregung des Plasmons wurden daher von der Dielektrizitätskonstanten des Sodaglasses und nicht von der des Prismas bestimmt. Das BK7-Prisma diente lediglich zur Vorbrechung des Lichts. Aus diesem Grund war zur Beschreibung des Resonanzwinkels Θ_R nach Gl. 25 für ϵ_{P} die Dielektrizitätskonstante des Objektträgers ϵ_{OT} zu verwenden.

Die Bestimmung von ϵ_{OT} erfolgte über die Messung des Brewster-Winkels bei einer

Wellenlänge von 785 nm. Nach Gl. 34 und mit $\varepsilon = n^2$ ergab sich folgender Wert:

$$\varepsilon_{OT} = (2.295 \pm 0.004)$$

3.3.5.2 Messung der Proteinadsorption

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die SPR-Spektroskopie zur Quantifizierung der Proteinadsorption eingesetzt. Bei den untersuchten Oberflächen handelte es sich um Gold sowie um EG- und PG-terminierte Thiolat-SAMs auf Gold.

Von Interesse war die Bestimmung der relativen Proteinadsorption und der Schichtdicke des Proteinfilms aus der Resonanzwinkelverschiebung $\Delta\theta_{E,R}$.

Bestimmung des resonanten Einfallswinkels $\Delta\theta_{E,R}$ aus den Reflexionskurven

In Abb. 38 sind die Reflexionskurven eines mit Pufferlösung umgebenen Goldfilms vor und nach der Adsorption des Proteins BSA, sowie die so genannte Hintergrundkurve dargestellt.

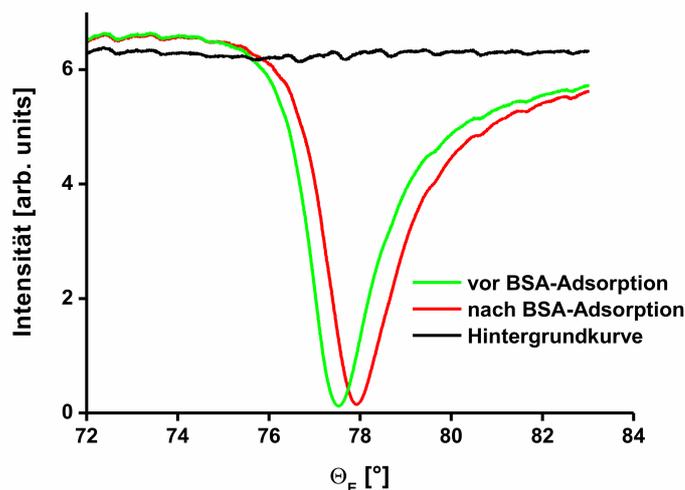


Abb. 38: Reflexionskurven eines Goldfilms in Kontakt mit Puffer vor (grün) und nach (rot) BSA-Adsorption, schwarz: Reflexionskurve des Goldfilms in Kontakt mit Luft (Hintergrundkurve).

Die Hintergrundkurve ist die Reflexionskurve der Goldschicht in Kontakt mit Luft. Sie wird benötigt, um die später aufgenommenen Messkurven zu normieren und zu glätten.

In Abb. 38 sind die Rohdaten der BSA-Adsorption aufgetragen. Neben der unnormierten Intensität ist erkennbar, dass dem Messsignal eine periodische Schwingung überlagert ist. Diese Schwingung resultiert aus der Interferenz der an den Grenzflächen Prisma / Objektträger und Objektträger / Gold reflektierten Strahlen. Eine Division der Messkurven durch die Hintergrundkurve eliminiert die Schwingung und führt gleichzeitig zu einer Normierung der Intensität (Abb. 39).

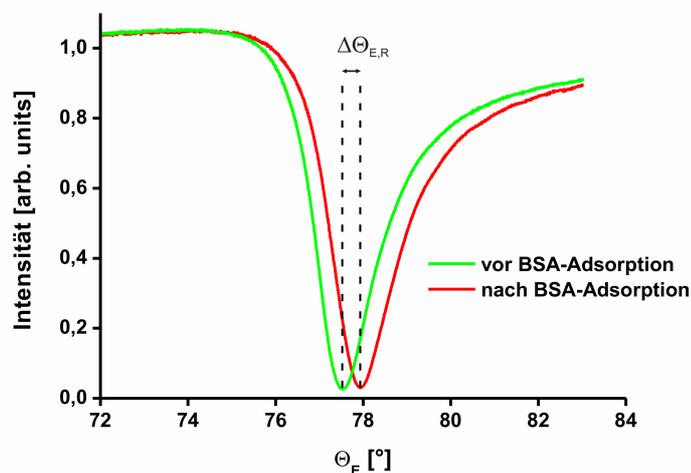


Abb. 39: Normierte und geglättete Reflexionskurven.

Die an der Prisma / Gold-Grenzfläche reflektierte Intensität ist abhängig vom Brechungsindex des Mediums, mit dem der Goldfilm auf der dem Prisma abgewandeten Seite in Kontakt steht. Für das Medium Luft ist die Reflektivität geringer als für das Medium Pufferlösung. Die Hintergrundkurve in Abb. 38 verläuft daher bei etwas geringerer Intensität als die Messkurven, was zu Maximalwerten über eins bei den normierten Kurven führt (Abb. 39).

Aus den optimierten Kurven können die resonanten Einfallswinkel vor und nach der Adsorption bestimmt werden. Die Größe $\Delta\Theta_{E,R}$ ergibt sich dann als die Differenz beider Werte.

Bestimmung der relativen Proteinadsorption auf Thiolat-SAMs

Um die relative Proteinadsorption zu ermitteln, wird das Adsorptionsexperiment mit der zu untersuchenden Probe sowie mit einer Referenzprobe durchgeführt. Nach Gl. 37 ergibt sich die relative Adsorption als prozentuales Verhältnis beider Verschiebungen $\Delta\Theta_{E,R}$.

$$\text{rel. Adsorption} = \frac{\Delta\Theta_{E,R}(\text{Probe})}{\Delta\Theta_{E,R}(\text{Referenz})} \cdot 100 \% \quad \text{Gl. 37}$$

$\Delta\Theta_{E,R}(\text{Probe})$ = Verschiebung des resonanten Einfallswinkels der untersuchten Probe

$\Delta\Theta_{E,R}(\text{Referenz})$ = Verschiebung des resonanten Einfallswinkels der Referenz

Bestimmung der Schichtdicke des adsorbierten Proteinfilms

Zur Berechnung der Schichtdicke d_F aus der Verschiebung $\Delta\Theta_{E,R}$ war es notwendig, die Dielektrizitätskonstanten der verwendeten Proteine und der im Experiment benutzten Pufferlösung für die Wellenlänge $\lambda = 785 \text{ nm}$ zu bestimmen. Beide Größen wurden durch Messung des Brewster-Winkels ermittelt und berechneten sich nach Gl. 34 zu:

Protein: $\epsilon_{\text{Prot}} = (2.356 \pm 0.006)$

Puffer: $\epsilon_{\text{Puff}} = (1.766 \pm 0.000)$

Stellvertretend für alle untersuchten Proteine wurde die Dielektrizitätskonstante von BSA bestimmt. Dieses Vorgehen war zulässig, da sich die meisten Proteine nur unwesentlich in ihren dielektrischen Eigenschaften voneinander unterscheiden.³¹⁴⁻³²⁷

Die Bestimmung der Protein-Schichtdicken erfolgte über die gemessenen Verschiebungen $\Delta\Theta_{E,R}$ mit Hilfe simulierter $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurven. Diese Methode wurde der Berechnung von d_F nach Gl. 29 vorgezogen, da die Absolutwerte von Θ_R für das betrachtete System nicht hinreichend genau bestimmt werden konnten.

Die Schichtsysteme, die der Simulation der $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurven zugrunde gelegt wurden, sind in Abb. 40 dargestellt.

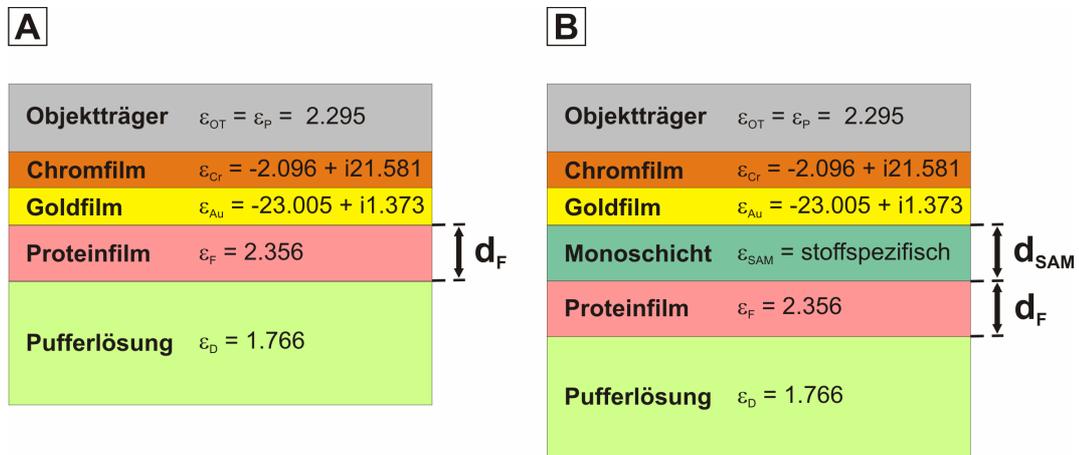


Abb. 40: Schichtsysteme für die Simulation der $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurven, A: Proteinadsorption auf Au, B: Proteinadsorption auf Thiolat-SAM auf Au, alle angegebenen Dielektrizitätskonstanten beziehen sich auf $\lambda = 785 \text{ nm}$.

In Abb. 41, Abb. 42 und Abb. 43 sind die simulierten $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurven für die unterschiedlichen Schichtsysteme abgebildet.

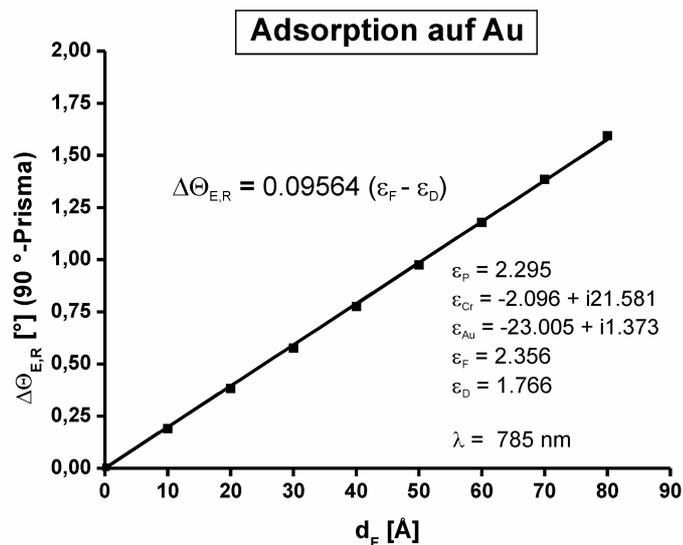


Abb. 41: Simulierte $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurve für die Adsorption von Proteinen auf Gold.

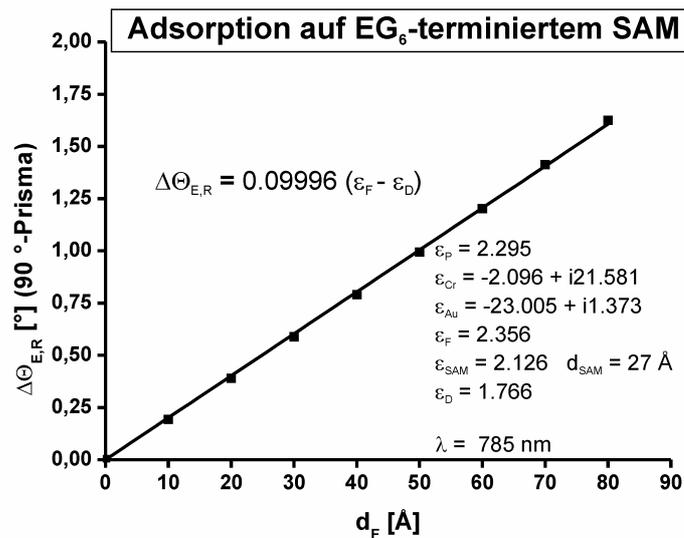


Abb. 42: Simulierte $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurve für die Adsorption von Proteinen auf EG₆-terminierten Undecanthalat-SAMs auf Gold.

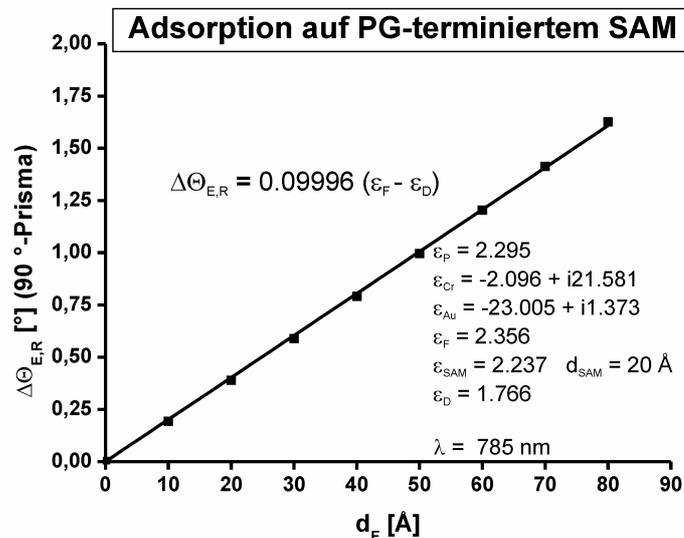


Abb. 43: Simulierte $\Delta\Theta_{E,R}(d_F)$ -Kurve für die Adsorption von Proteinen auf PG-terminierten Undecanthalat-SAMs auf Gold.

Mit Hilfe der Geradengleichungen der simulierten Kurven konnten die gemessenen Werte für $\Delta\Theta_{E,R}$ in die entsprechenden Schichtdicken d_F umgerechnet werden.

Für den EG₆-terminierten SAM wurde für die Simulation eine Dielektrizitätskonstante von $\epsilon_{EG} = 2.126$ und eine Schichtdicke von 27 \AA angenommen. Die Schichtdicke

wurde ellipsometrisch bestimmt. Zur Abschätzung der Dielektrizitätskonstanten wurde vorausgesetzt, dass der Alkylteil der Monoschicht durch leichtes Paraffin und der EG₆-Teil durch PEG einer mittleren Molmasse von 400 g/mol simuliert werden kann. Bei einer Wellenlänge von $\lambda = 785$ nm zeigen beide Substanzen eine Dielektrizitätskonstante von $\epsilon = 2.126$,^{328,329} weshalb dieser Wert auch für das gemischte Molekül gelten sollte.³⁰⁶

Zur Abschätzung der Dielektrizitätskonstanten ϵ_{PG} der PG-terminierten SAMs wurde davon ausgegangen, dass der Wert in etwa dem von unsubstituiertem Polyglycerol entspricht. Da keine Informationen über die optischen Konstanten des Polymers bei $\lambda = 785$ nm zur Verfügung standen, wurde alternativ ein Wert von $\epsilon = 2.237$ verwendet, der einer Wellenlänge von $\lambda = 589.3$ nm entspricht.³³⁰ Der Fehler, der hierdurch für die Steigung der simulierten Kurve resultiert, ist jedoch vernachlässigbar. Simulationen haben gezeigt, dass die Verschiebung $\Delta\Theta_{E,R}$ bei Proteinadsorption auf einer Monoschicht nur schwach durch die Dielektrizitätskonstante des SAMs beeinflusst wird. So variiert $\Delta\Theta_{E,R}$ bei Bindung von 20 Å Protein auf einem 20 Å dicken Thiolat-SAM auf Gold im Bereich von 2.403 bis 2.103 für ϵ_{SAM} nur um maximal 2.6 %.

Für die Dicke des PG-terminierten SAMs wurde ein Wert von 20 Å verwendet. Wie die Dielektrizitätskonstante hat auch die Dicke der Monoschicht kaum einen Einfluss auf die Verschiebung des resonanten Einfallswinkels. Simulationen haben bestätigt, dass die Verschiebung $\Delta\Theta_{E,R}$, die der Adsorption von 20 Å Protein auf der Monoschicht entspricht, bei Variation der SAM-Schichtdicke im Bereich von 15 Å - 30 Å um maximal 1.5 % variiert. In diesem Bereich der SAM-Schichtdicke wird der Zusammenhang zwischen $\Delta\Theta_{E,R}$ und der Schichtdicke des adsorbierten Proteins daher sehr gut durch die simulierte Kurve beschrieben.

3.3.5.3 Ablauf von SPR-Messungen

Der typische Gang eines SPR-Experiments wird hier am Beispiel einer Proteinadsorption auf einem Goldfilm erläutert.

Zu Beginn des Experiments wird Pufferlösung über das Substrat geleitet, bis das SPR-Sensogramm eine waagerechte Grundlinie zeigt (Bereich A in Abb. 44).

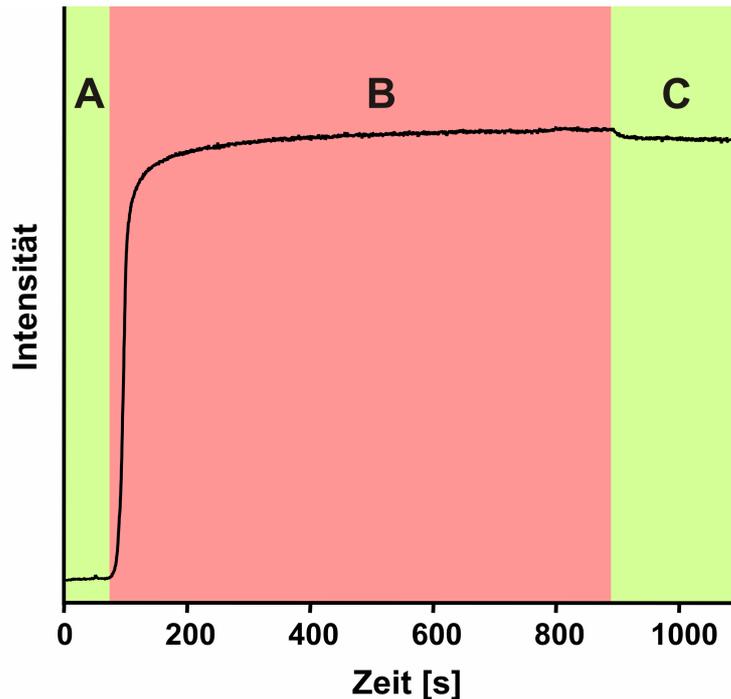


Abb. 44: Typisches SPR-Sensogramm eines Adsorptionsexperiments, hier Adsorption von BSA auf Au.

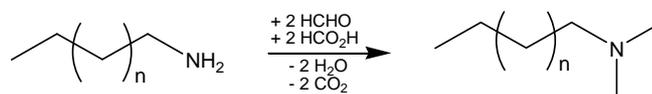
Dann wird die winkelabhängige Reflexionskurve gemessen, aus der der resonante Einfallswinkel $\Theta_{E,R(I)}$ vor der Adsorption bestimmt wird. Ist dies geschehen, wird die Pufferlösung gegen Proteinlösung ausgetauscht und es findet Adsorption auf dem Substrat statt (Bereich B in Abb. 44). Nach dem Adsorptionsschritt wird wieder Puffer über die Probe geleitet, um locker gebundenes Protein von der Oberfläche zu entfernen (Bereich C in Abb. 44). Hierbei fällt die Kurve im Sensogramm wieder leicht ab. Neben dem Entfernen von physisorbiertem Protein durch Spülen sind oft auch Unterschiede in der Dielektrizitätskonstanten von Puffer und Proteinlösung für diesen Effekt verantwortlich. Nach dem Spülen mit Puffer wird wieder die winkelabhängige Reflexionskurve gemessen, um den resonanten Einfallswinkel $\Theta_{E,R(II)}$ nach der Adsorption bestimmen zu können. Die Winkelverschiebung $\Delta\Theta_{E,R}$ ergibt sich dann, wie bereits weiter oben erwähnt, als die Differenz $\Theta_{E,R(II)} - \Theta_{E,R(I)}$.

4 Synthesen

In diesem Kapitel werden die Synthesestrategien vorgestellt, die verwendet wurden, um zu den jeweiligen Zielmolekülen zu gelangen. Die Darstellung der verschiedenen Verbindungen wird nach Substanzklassen sortiert präsentiert und diskutiert. Alle nicht isolierten Intermediate tragen die Bezeichnung **I** vor der Nummer.

4.1 *N,N*-Dimethylalkylamine

N,N-Dimethylalkylamine mit unterschiedlicher Kettenlänge im Alkylteil wurden als basische Cokatalysatoren für die 1,3-dipolare Cycloadditionsreaktion von Aziden mit Alkinen (Click-Reaktionen) benötigt. Die Darstellung der entsprechenden Verbindungen mit Kettenlängen zwischen 4 und 18 C-Atomen erfolgte durch *Eschweiler-Clarke-Methylierung* der jeweiligen primären Alkylamine (Schema 2).³³¹



n	Verbindung	Ausbeute [%]	n	Verbindung	Ausbeute [%]
1	1	39	8	8	76
2	2	57	9	9	67
3	3	66	10	10	80
4	4	66	11	11	79
5	5	68	12	12	86
6	6	82	13	13	71
7	7	77	15	14	97

Schema 2: Methylierung primärer und sekundärer Amine nach *Eschweiler-Clarke*.

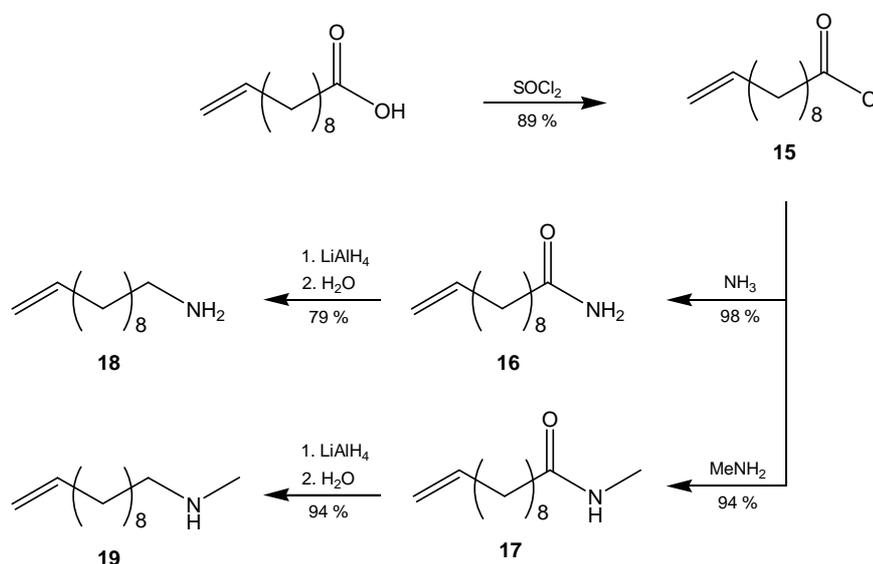
Zur Darstellung des *N,N*-Dimethyloctadecylamins **14** wurde abweichend vom *N*-Monomethylamin ausgegangen. Mit Ausnahme der Butyl- bzw. Pentyl-Verbindung lieferte die Reaktion die Produkte in moderaten bis sehr guten Ausbeuten. Der Grund

für die schlechten Ausbeuten bei den kurzkettingen Aminen liegt vermutlich in ihrer relativ guten Löslichkeit in Wasser begründet, welches bei der Aufarbeitung benutzt wurde. Das Auftreten von Nebenreaktionen, die zu einer Verringerung der Ausbeute führten, kann aber nicht ausgeschlossen werden. Ein Indiz hierfür ist die deutlich höhere Ausbeute für die Octadecyl-Verbindung, für deren Herstellung anstatt eines primären ein bereits monomethyliertes, sekundäres Amin eingesetzt wurde.

4.2 Primäre und sekundäre Alkenylamine

Es sollten eine Reihe unterschiedlicher ω -Alkenylamine hergestellt werden, um diese als Starter für die anionische Polymerisation von Glycidol zu Polyglycerol zu verwenden. Ausgehend von Undec-10-ensäure wurden daher zwei ungesättigte Monoamine sowie ein ungesättigtes Diamin synthetisiert.

Bei den beiden Monoaminen handelt es sich um Undec-10-enylamin **18** und *N*-Methylundec-10-enylamin **19**. Ihre Synthese erfolgte über das Undec-10-ensäurechlorid **15** und ist in Schema 3 aufgeführt.

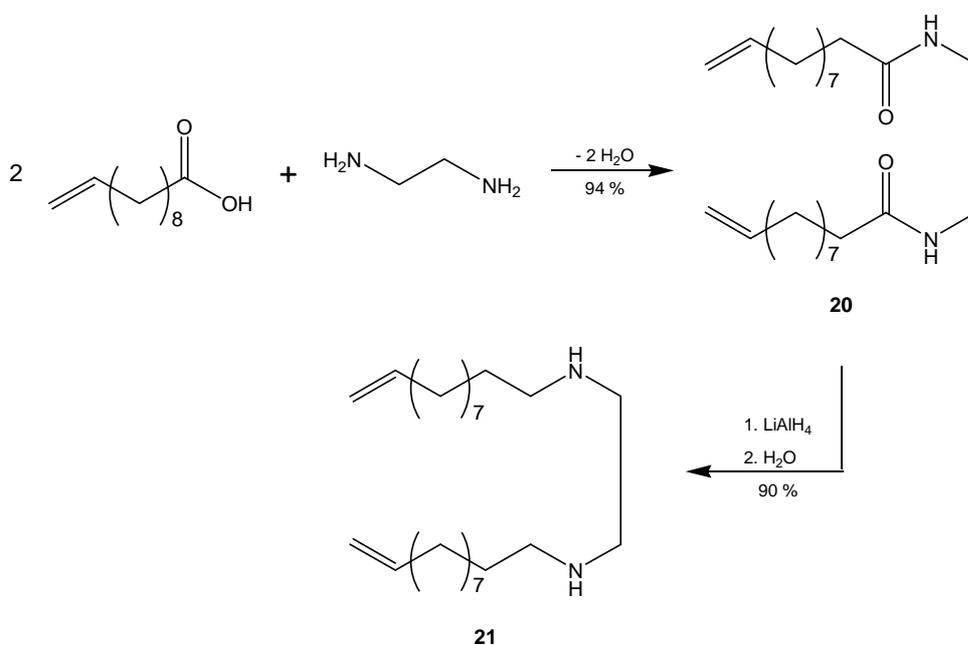


Schema 3: Darstellung von Monoaminen aus Carbonsäuren.

Im ersten Schritt wurde die Carbonsäure durch Reaktion mit Thionylchlorid in das Carbonsäurechlorid **15** überführt.³³² Durch die Umsetzung des Säurechlorids mit Ammoniak bzw. Methylamin konnten dann die entsprechenden Amide **16** und **17**

erhalten werden.³³³ Eine anschließende Reduktion der Amide mit Lithiumaluminiumhydrid in Diethylether lieferte dann die gewünschten Amine.³³³ Alle Reaktionen verliefen mit guten bis sehr guten Ausbeuten. Wie sich herausstellte, muss ein deutlicher Überschuss von Lithiumaluminiumhydrid verwendet werden, um die Amide quantitativ zu reduzieren. Grund hierfür könnte an die Feststoffe gebundenes Kristallwasser sein, das mit dem Reduktionsmittel reagiert.

Die Synthese des Diamins *N,N'*-Bis(undec-10-enyl)-1,2-diaminoethan **21** ist in Schema 4 dargestellt. In diesem Fall wurde das Diamid **20** durch die direkte Reaktion von Undec-10-ensäure mit Ethylendiamin bei ca. 200 °C erhalten (Schmelzkondensation).



Schema 4: Darstellung des Diamins 21 durch Schmelzkondensation des Carbonsäure-Ethylen-diaminsalzes mit angeschlossener Reduktion des Amids.

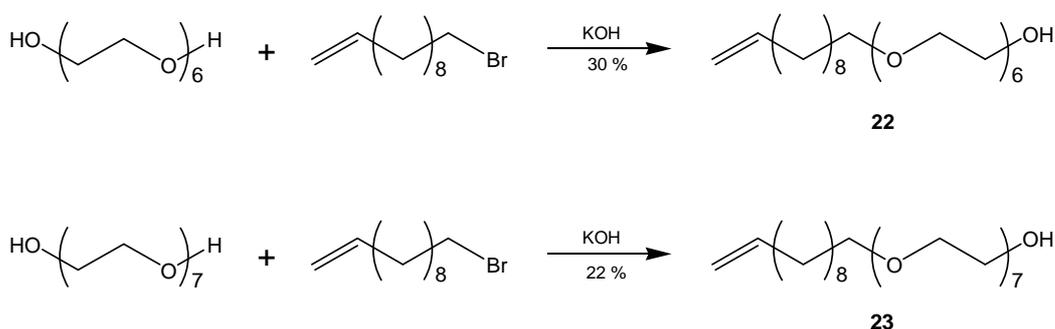
Die Reaktion wurde im offenen Kolben durchgeführt. Ein schwacher Stickstoffstrom durch den Kolben erleichterte dabei die Abfuhr des bei der Reaktion gebildeten Wassers und wirkte zusätzlich einer sauerstoffinduzierten Zersetzung des Reaktionsgemischs entgegen. Die Reduktion des Amids zum Amin erfolgte wiederum mit Lithiumaluminiumhydrid. Sowohl die Amidbildung als auch die angeschlossene Reduktion verliefen problemlos und mit guten Ausbeuten.

4.3 Oligo- und Polyethylenglycol-substituierte Verbindungen

Eine Reihe von OEG- und PEG-terminierten Verbindungen, die zur Erzeugung biorepulsiver Oberflächen eingesetzt werden sollten, wurden synthetisiert. Es handelte sich hierbei um Substanzen, die entweder direkt auf dem Substrat angebunden werden sollten, oder um solche, die die Modifikation eines bereits gebildeten SAMs durch die Click-Reaktion ermöglichten.

4.3.1 Oligoethylenglycol- und Polyethylenglycolmonomethylether-terminierte Undec-1-ene (HOEG_nC₁₁-1-en bzw. MeOEG_nC₁₁-1-en)

Die Synthese dieser Substanzen erfolgte über eine Veretherung von 11-Bromundecen mit dem jeweiligen Oligoethylenglycol im Sinne einer Ethersynthese nach *Williamson*. Hierzu wurde das Oligoethylenglycol zuerst mit wässriger Kaliumhydroxidlösung an seinen Hydroxylfunktionen deprotoniert. Dann erfolgte die Reaktion des Alkoholats mit dem Alkenylbromid zum Ether durch eine nukleophile Substitution zweiter Ordnung. Die Reaktionen für die Darstellung von HOEG₆C₁₁-1-en **22** und HOEG₇C₁₁-1-en **23** sind in Schema 5 dargestellt.

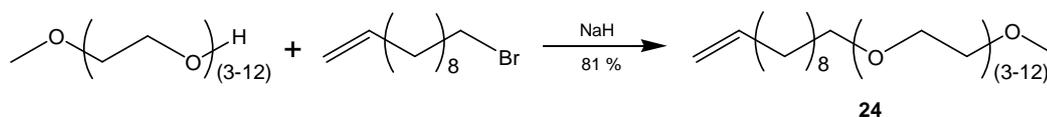


Schema 5: Oligoethylenglycol-terminierte Alkene durch *Williamson*-Synthese.

Abweichend von der in der Literatur beschriebenen Synthese,^{334,335} bei der das Oligoethylenglycol in großem Überschuss eingesetzt wurde, sind bei den hier beschriebenen Synthesen äquimolare Mengen an Glycol und Alkenylbromid verwendet worden. Hierdurch lassen sich die schlechten Ausbeuten erklären, die hauptsächlich

auf die Bildung von disubstituierten Glycolen zurückzuführen sind. Grund für die Abwandlung der Literaturvorschrift, die zwischen 10 und 20 Äquivalente der Glycolkomponente verwendete, war das Einsparen von teurem Hexa- und Heptaethylenglycol.

Die Darstellung von MeOEG₍₃₋₁₂₎C₁₁-1-en **24** durch Reaktion von Polyethylenglycolmonomethylether ($\bar{M}_w = 350$ g/mol) mit 11-Bromundec-1-en erfolgte in analoger Weise (Schema 6).

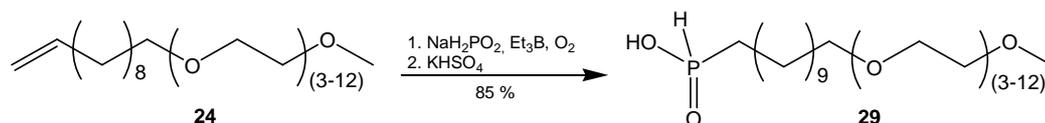


Schema 6: Synthese von Polyethylenglycolmonomethylether-terminiertem Undec-1-en.

Als Base diente diesem Fall allerdings Natriumhydrid.³³⁶ Im Vergleich zur Darstellung der monosubstituierten Glycole verlief die Reaktion mit wesentlich besserer Ausbeute, da die Bildung disubstituierter Verbindungen nicht stattfinden konnte.

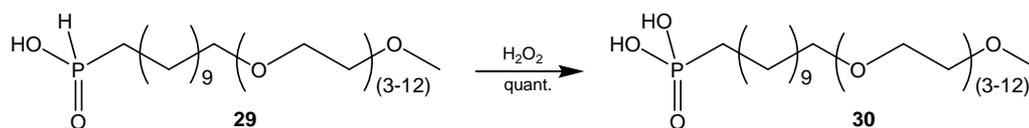
4.3.2 Oligoethylenglycol-substituierte Undecanthiole (HOEG_nC₁₁SH)

Die Thiole HOEG₆C₁₁SH **25** und HOEG₇C₁₁SH **26** wurden ausgehend von den Alkenen **22** und **23** hergestellt und dienten zur Bildung biorepulsiver SAMs auf Goldoberflächen.⁹⁶ In einem ersten Reaktionsschritt wurde Thioessigsäure in einer durch UV-Strahlung induzierten radikalischen Reaktion an die Doppelbindung addiert. Die aus dieser Reaktion erhaltenen Thioacetate **27** und **28** wurden dann durch Verseifung zu den entsprechenden Thiolen entschützt (Schema 7).



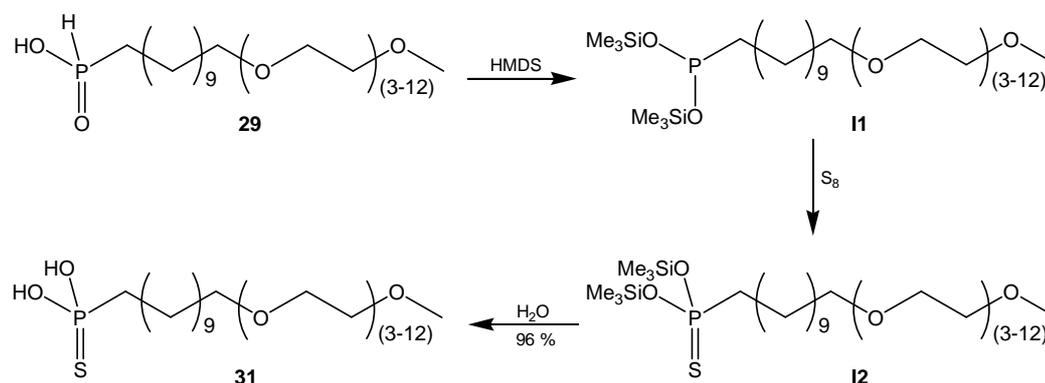
Schema 8: Darstellung von Organophosphon- und Organothiophosphonsäuren.

Die Hydrophosphorylierung verläuft radikalisch und wird durch Triethylboran bei Anwesenheit von Sauerstoff gestartet. Das Boran reagiert hierbei mit dem Sauerstoff unter Bildung von radikalischen Intermediaten, die als Startradikale fungieren. Die Phosphinsäure **29** war eine Schlüsselkomponente, da über sie sowohl die Phosphonsäure **30** als auch die Thiophosphonsäure **31** zugänglich waren. Die Umsetzung zur Phosphonsäure konnte durch direkte Oxidation mit Wasserstoffperoxid erreicht werden (Schema 9).³³⁸



Schema 9: Oxidation der Organophosphinsäure zur Organophosphonsäure.

Zur Darstellung der Thiophosphonsäure war zunächst die Überführung der Phosphinsäure in den Phosphonigsäure-bis(trimethylsilyl)ester **11** notwendig (Schema 10).

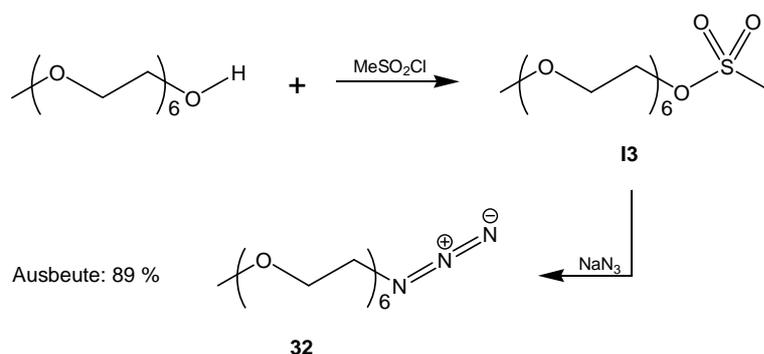


Schema 10: Oxidation der Organophosphinsäure zur Organothiophosphonsäure.

Dieser wurde dann mit Schwefel zum Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester **12** oxidiert, welcher nach Hydrolyse die Thiophosphonsäure **31** lieferte.³³⁹ Alle Reaktionen verliefen glatt und lieferten die jeweiligen Produkte in guten Ausbeuten.

4.3.4 Azidohexaethylenglycolmonomethylether

Ein Azid-substituierter Hexaethylenglycolmonomethylether sollte hergestellt werden, um Alkin-terminierte SAMs mit Hilfe der Click-Reaktion mit biorepulsiven Eigenschaften auszustatten. Die Synthese der Substanz ist in Schema 11 dargestellt.

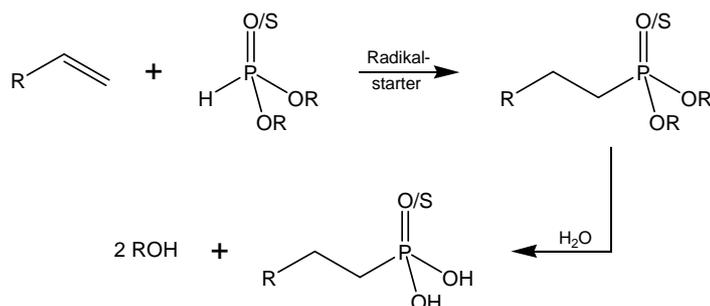


Schema 11: Synthese von Azidohexaethylenglycolmonomethylether.

Die Darstellung des Azids ging von Hexaethylenglycolmonomethylether aus, der zunächst mit Methansulfonsäurechlorid zum Mesylat **13** umgesetzt wurde. Das Mesylat wurde dann ohne weitere Aufreinigung in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion mit Natriumazid zum Produkt **32** umgesetzt.³⁴⁰ Die Gesamtausbeute der Reaktion betrug 89 %.

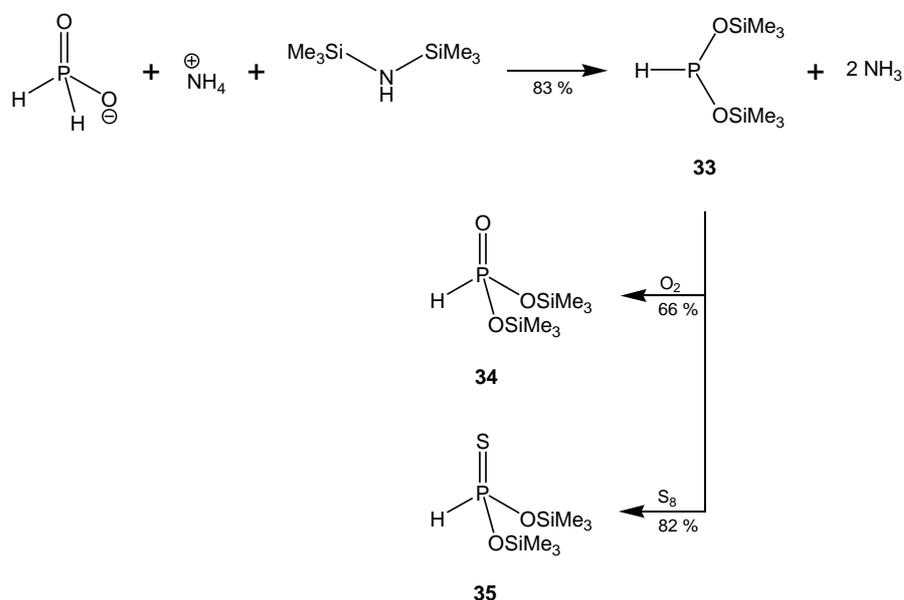
4.4 Untersuchungen zur Hydrophosphorylierung von Alkenen mit Phospon- und Thiophosphonsäureestern

Bei den in Abschnitt 4.3.3 vorgestellten Synthesen der $\text{MeEG}_{(3-12)}$ -terminierten Phosphonsäure **30** bzw. Thiophosphonsäure **31** handelte es sich um mehrstufige Reaktionen. Ausgehend vom eingesetzten Alken musste zunächst die Phosphinsäure dargestellt werden, über die die Zielverbindungen zugänglich waren. Gelänge die Hydrophosphorylierungsreaktion hingegen mit Phospon- bzw. Thiophosphonsäureestern anstelle von Hypophosphit, wären Organophospon- und Organothiophosphonsäuren in einstufigen Prozessen darstellbar (Schema 12).



Schema 12: Einstufiger Syntheseweg zu Organophosphon- und Organothiophosphonsäuren.

Es ist bekannt, dass Phosphon- bzw. Thiophosphonsäurediethylester mit Alkenen durch diese Reaktion die jeweiligen Organophosphonsäurediethylester bilden.³⁴¹ Diese Ester sind jedoch recht stabil und können im neutralen pH-Bereich nicht hydrolysiert werden. Die Hydrolyse gelingt hingegen leicht bei entsprechenden Trimethylsilylestern. Es wurden daher Phosphonsäure- **34** und Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester **35** synthetisiert und untersucht, ob sie Hydrophosphorylierungsreaktionen mit Alkenen eingehen. Die Synthese der Verbindungen **34** und **35** sind in Schema 13 dargestellt.³⁴²

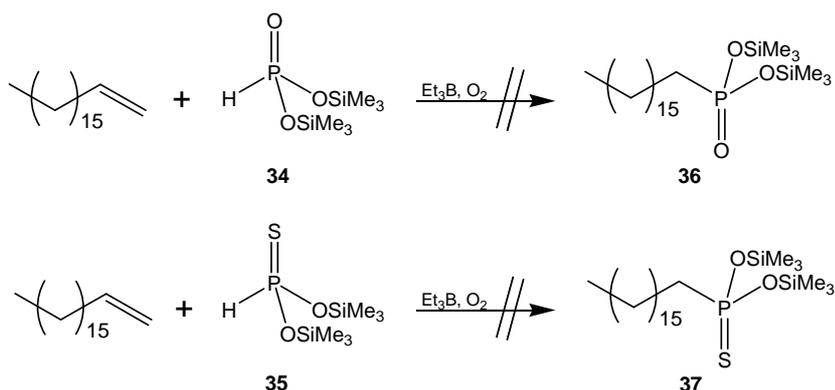


Schema 13: Darstellung von Phosphon- und Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester.

Zunächst wurde durch die Reaktion von Ammoniumhypophosphit mit Hexamethyldisilazan Bis-(trimethylsilyl)hypophosphit **33** dargestellt. Durch Einleiten von trockener

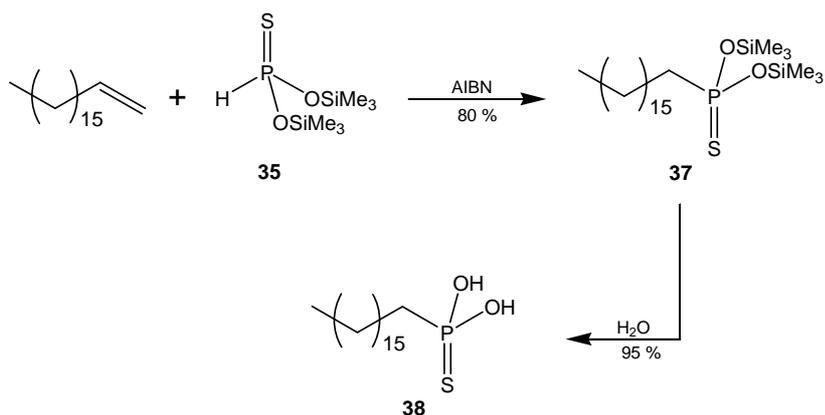
Luft ließ sich hieraus Verbindung **34** erhalten. Eine Reaktion mit Schwefel hingegen lieferte die Thioverbindung **35**.

Um die Reaktivität beider Substanzen in Hydrophosphorylierungsreaktionen zu überprüfen, wurden versucht, sie mit Octadec-1-en umzusetzen. Als Initiator der radikalischen Reaktion wurde zunächst das System Triethylboran / Luft benutzt (Schema 14).³⁴¹



Schema 14: Hydrophosphorylierung mit Triethylboran / Luft als Radikalstarter.

Eine ^1H -NMR-spektroskopische Untersuchung der Reaktionsprodukte zeigte, dass in beiden Fällen keine Reaktion stattgefunden hatte. Beide Reaktionen wurden deshalb unter Verwendung von AIBN als Radikalstarter wiederholt (Schema 15).³⁴³



Schema 15: Hydrophosphorylierung mit AIBN als Radikalstarter.

Die NMR-spektroskopische Untersuchung der Reaktionsprodukte zeigte hierbei, dass im Fall der Thioverbindung **35** eine vollständige Umsetzung des Alkens zum Octadecylthiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester **37** erreicht werden konnte. Der

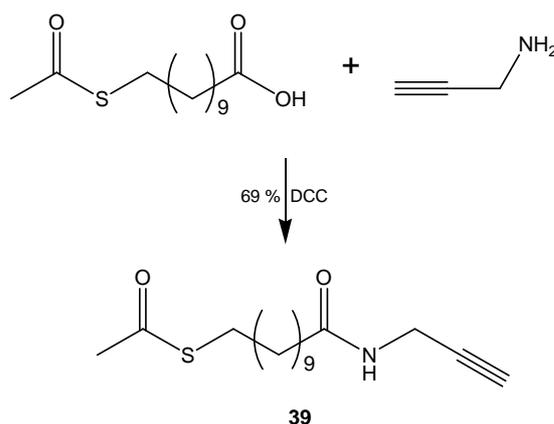
Phosphonsäureester **34** erwies sich allerdings auch unter diesen Bedingungen als unreaktiv. Der Thiophosphonsäureester **37** wurde ohne weitere Aufreinigung mit Wasser verseift und lieferte nach Aufarbeitung Octadecylthiophosphonsäure **38** in einer Ausbeute von 95 %.

Wie die hier durchgeführten Experimente gezeigt haben, stellt die Hydrophosphorylierung von Alkenen mit Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester mit angeschlossener Hydrolyse einen bequemen Weg zur Darstellung von Organothiophosphonsäuren dar.

4.5 Alkin-terminierte Moleküle

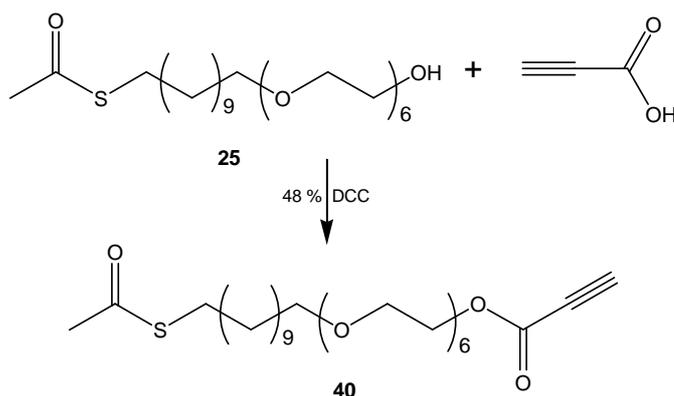
Es wurden zwei terminale Alkine mit ω -ständiger Thioacetat-Funktionalität dargestellt, um Alkin-terminierte SAMs auf Gold zu erzeugen. An diesen Monoschichten wurde die Modifizierung Alkin-terminierter SAMs mit Organoaziden durch die Click-Reaktion untersucht.

Bei dem ersten der beiden Moleküle handelte es sich um das Propargylamid **39**, das durch DCC-vermittelte Amidbildung aus Propargylamin und 10-Thioacetylundecansäure erhalten wurde (Schema 16).³⁴⁴



Schema 16: DCC-vermittelte Bildung des Propargylamids.

Bei der zweiten Substanz handelte es sich um den EG₆-haltigen Propiolylester **40**, der durch DCC-vermittelte Veresterung von Verbindung **25** mit Propiolsäure zugänglich war (Schema 17).³⁴⁵



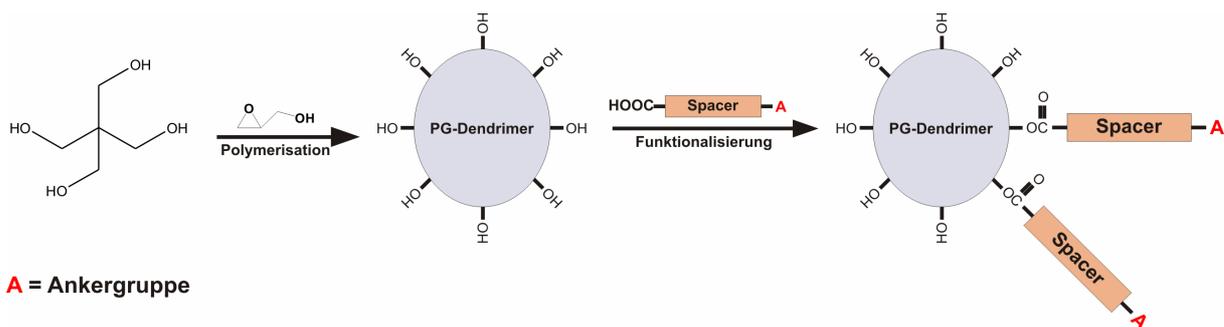
Schema 17: DCC-vermittelte Bildung des Propiolsäureesters.

In beiden Fällen stellte sich das Entfernen des bei der Reaktion gebildeten *N,N'*-Dicyclohexylharnstoffs als problematisch heraus, da dieser durch chromatographische Methoden nur schlecht abzutrennen war. Dies galt insbesondere für Verbindung **40**, die trotz mehrfacher Chromatographie immer noch deutliche Spuren der Verunreinigung aufwies. Die wiederholte Reinigung kann auch als Grund für die geringe Ausbeute angeführt werden. Das feste Amid **39** hingegen konnte durch fraktionierte Fällung aus Chloroform weitgehend vom Harnstoff befreit werden.³⁴⁶

4.6 Polyglycerol-Dendrimere

Ziel war es, Verbindungen mit dendritischer Polyglycerol-Kopfgruppe herzustellen und diese auf Gold bzw. oxidischen Metalloberflächen zur Darstellung biorepulsiver Monoschichten zu immobilisieren.

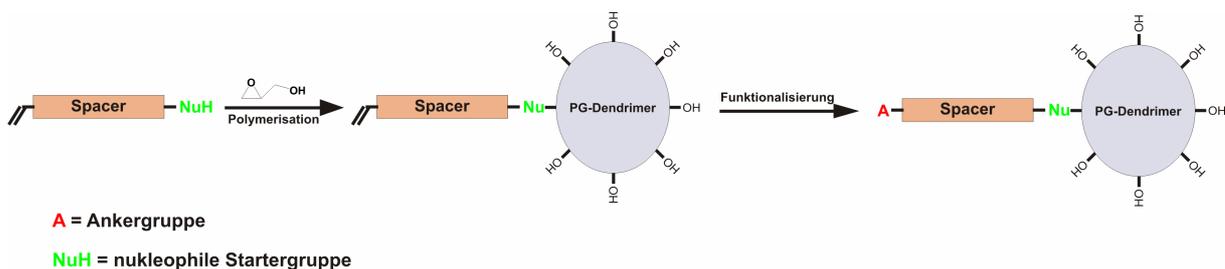
Die Synthese PG-terminierter Moleküle, die sich zur Bildung von proteinrepulsiven SAMs eignen, wurde erstmals von *Haag* beschrieben.¹¹⁶ Zur Darstellung dieser Verbindungen wurde eine zweistufige Strategie verfolgt, deren erster Schritt in der Synthese von PG durch Polymerisation von Glycidol bestand. Das Polymer wurde dann nachfolgend mit *spacer* and Ankergruppe versehen (Schema 18).



Schema 18: Synthese von PG mit angeschlossenem Einbau von *spacer* und Ankergruppe.

Ein Nachteil dieses Verfahrens liegt in der Schwierigkeit begründet, eine Mehrfach-funktionalisierung des PG beim Anbringen des *spacers* zu verhindern, die möglicherweise negative Auswirkungen auf die Biorepulsivität der SAMs hat.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher eine alternative Strategie entwickelt. Diese sieht die direkte Polymerisation des PG an einer reaktiven Gruppe des *spacer*-Moleküls und nachfolgend die Einführung der Ankergruppe vor (Schema 19).



Schema 19: Alternativer Syntheseweg für SAM-bildende PG-Dendrimere.

Eine Mehrfachfunktionalisierung der PG-Dendrimere kann bei dieser Reaktionsführung ausgeschlossen werden. Dies zeigen Ergebnisse aktueller Studien zum Aufbau Mercaptoethyl-substituierter Polyglycerole.³⁴⁷

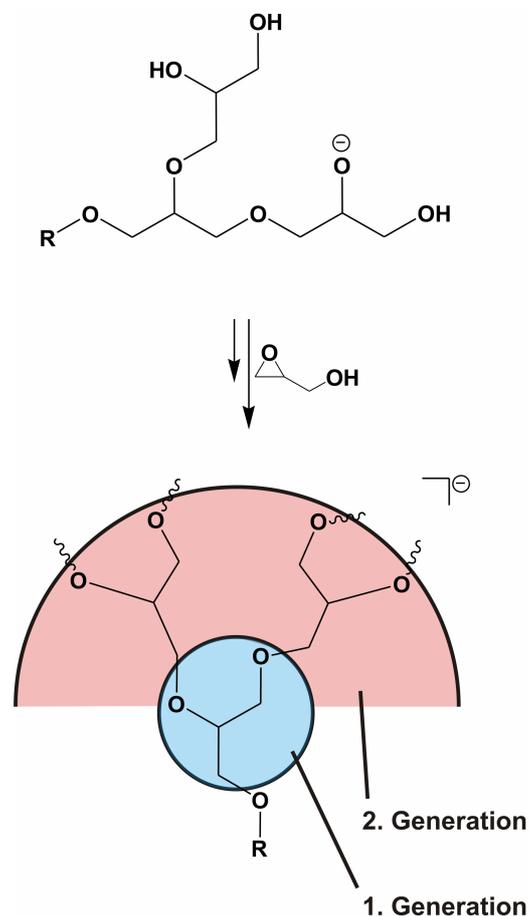
4.6.1 Polyglycerol-terminierte Undecene durch anionische Polymerisation von Glycidol

An erster Stelle der Synthesesequenz stand die Darstellung PG-terminierter Undec-10-ene. Über die terminalen Alken-Funktionen sollten dann nachfolgend durch

Thioacetylierung oder Hydrophosphorylierung Ankergruppen eingebaut werden, die eine Anbindung an Gold oder Metalloxide ermöglichen.

4.6.1.1 Anionische Polymerisation von Glycidol

Funktionalisiertes PG kann durch anionische Polymerisation von (\pm)-2,3-Epoxypropan-1-ol (Glycidol) erhalten werden.^{348,349} Das Prinzip dieser Reaktion ist in Schema 20 dargestellt. Die Reaktion wird gestartet, indem ein Nukleophil, in diesem Beispiel ein Alkoholat, das Oxiran unter Ringöffnung angreift.

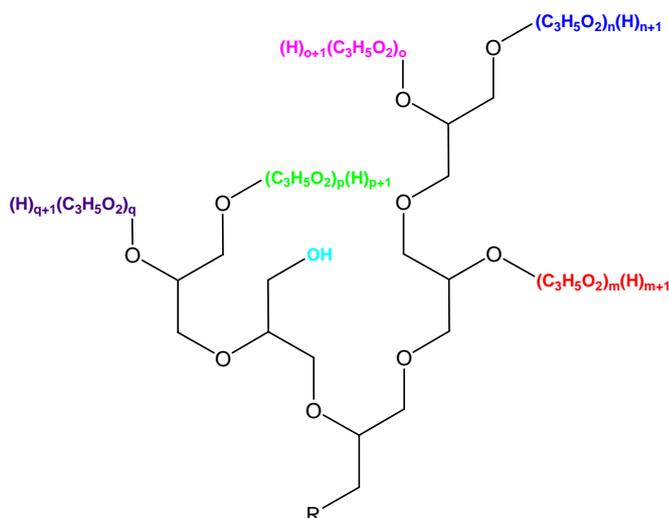


Schema 20: Anionische Polymerisation von Glycidol.

Es entsteht ein einfach deprotonierter Glycerolalkylether, der seinerseits mit einem weiteren Molekül Glycidol unter Bildung eines um eine Glycerolgruppe verlängerten Alkoholats reagieren kann. Zwischen der Alkoholatfunktion und den Hydroxylgruppen im Molekül findet ein ständiger Protonentausch statt.³⁴⁸ Die Polymerisation findet

daher an allen im Molekül vorhandenen Hydroxylgruppen statt, wodurch das mit steigendem Polymerisationsgrad immer stärker verzweigte OH-terminierte PG-Dendrimer entsteht. Vom Polymerisationskern ausgehend kann das Dendrimer in Schichten eingeteilt werden, die jeweils einen solchen Verzweigungspunkt beinhalten. Diese Schichten werden allgemein als Generationen bezeichnet, und anstelle des Polymerisationsgrads wird für Dendrimere oft die Anzahl der Generationen angegeben. Im Idealfall weisen alle Moleküle die gleiche Generation und somit die gleiche Molmasse auf.

Polyglycerole, die durch anionische Polymerisation dargestellt wurden, sind streng genommen keine Dendrimere, da nicht alle Hydroxylgruppen des wachsenden Polymers mit gleicher Geschwindigkeit mit Glycidol-Molekülen reagieren. An manchen Punkten erfolgt das Wachstum des Makromoleküls daher schneller als an anderen und man kann nicht mehr von einer einheitlichen Generation der Moleküle sprechen (Schema 21).

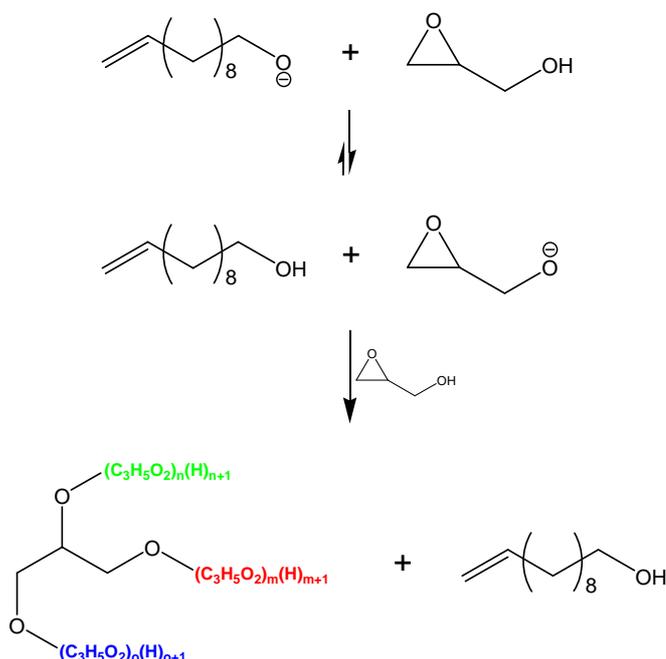


Schema 21: Beispiel für die Struktur eines *hyperbranched* Polyglycidols.

Zudem sind die Reaktionsprodukte aus der anionischen Polymerisation nicht monodispers, sondern weisen eine Molmassenverteilung auf. Man spricht deshalb in solchen Fällen von *hyperbranched polymers* anstatt von Dendrimeren.^{350,351} Aus Gründen der Einfachheit werden die durch anionische Polymerisation dargestellten Polyglycerole im Folgenden trotzdem als Dendrimere bezeichnet.

4.6.1.2 Alkoholate als Reaktionsstarter

Zuerst wurde versucht, Undec-10-enyl-substituierte Dendrimere durch die Polymerisation von Glycidol unter Verwendung von Undec-10-en-1-olat als Polymerisationsstarter zu erhalten. Das Glycidol wurde in Anlehnung an die Synthese von unfunktionalisiertem PG innerhalb von 12 h bei erhöhter Temperatur zum vorgelegten Starter getropft.³⁴⁸ Bei diesen Reaktionen wurde jedoch nicht das gewünschte Dendrimer gebildet, sondern hauptsächlich unfunktionalisiertes PG (Schema 22).

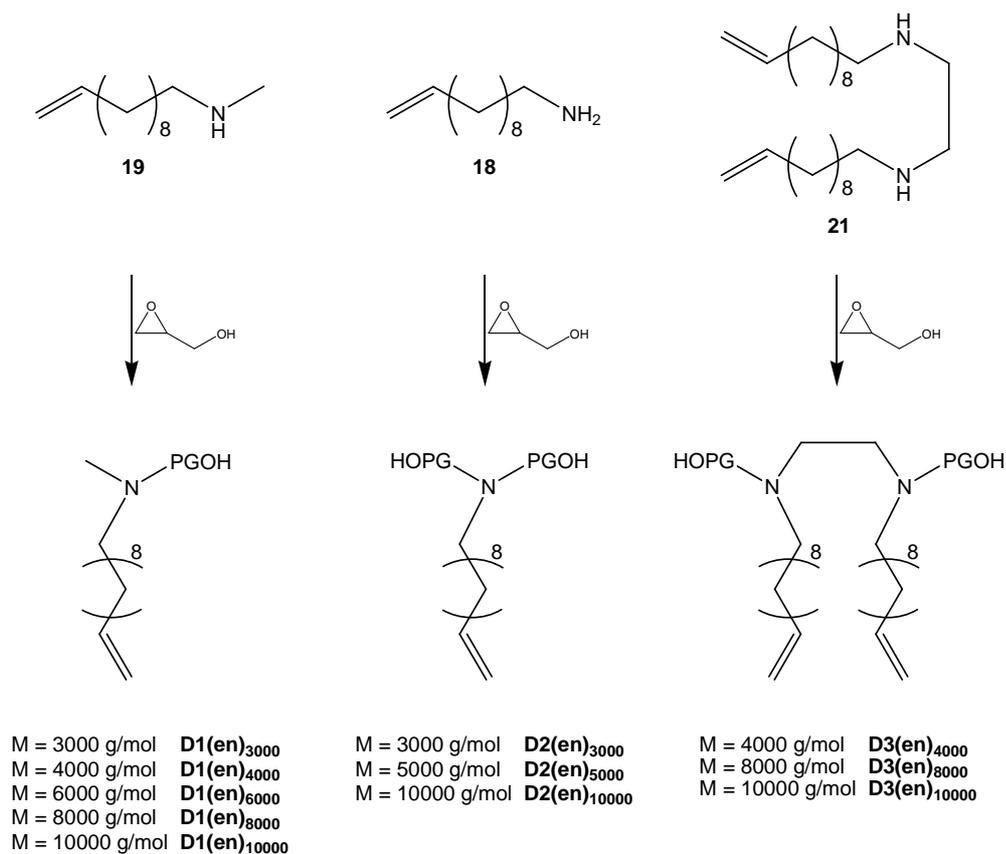


Schema 22: Bildung von unsubstuiertem PG bei Verwendung von Undec-10-en-1-olat als Polymerisationsstarter.

Wahrscheinlich war die Bildung von unfunktionalisierten PG auf den im Vergleich zum Undec-10-en-1-ol kleineren pKs-Wert des Glycidols zurückzuführen. Dies würde dazu führen, dass das Undec-10-en-1-olat das Glycidol nicht nukleophil angreift, sondern von ihm protoniert wird. Das Glycidol würde hierdurch an seiner Hydroxylfunktion deprotoniert werden und selbst als Starter für die Polymerisation wirken. Als Produkt dieser Reaktion würde, wie beobachtet, PG hervorgehen.

4.6.1.3 Amine als Polymerisationsstarter

Anstatt stark basischer Alkoholate wurden nun die deutlich schwächer basischen ungesättigten Amine **18**, **19** und **21** als Polymerisationsstarter eingesetzt. Die Zugabe des Glycidols erfolgte wiederum über einen Zeitraum von 12 h. Schema 23 veranschaulicht die durchgeführten Polymerisationsreaktionen.



Schema 23: Polymerisation von Glycidol mit Amin-Startern, PG = Polyglycerol, M = angestrebte Molmasse.

Im Fall der zuerst synthetisierten Dendrimerklasse **D1(en)** erfolgte an dieser Stelle eine Aufreinigung der Reaktionsprodukte durch Fällung mit Aceton aus methanolischer Lösung. Hierdurch sollten niedermolekulare Polymerisate entfernt werden, um das mittlere Molekulargewicht des Produkts zu erhöhen. Da die niedermolekularen Bestandteile im Rohprodukt in den nachfolgenden Umsetzungen nicht störten, wurde aus Gründen der Zeitersparnis bei den Dendrimeren der Klassen **D2(en)** und **D3(en)** auf die Fällung verzichtet.

Die molaren Massen der Dendrimere sollten durch die Menge des zur Reaktion zugefügten Glycidols bestimmt werden. Angestrebt waren mittlere Molmassen \bar{M}_n zwischen 3000 g/mol und 10000 g/mol. MALDI-TOF-Messungen der Dendrimere zeigten allerdings, dass Produkte erhalten wurden, deren mittlere Molmasse nicht deutlich über 2000 g/mol lag. Überschüssiges Glycidol wurde in diesen Reaktionen zu unfunktionalisierendem PG umgesetzt. Dies konnte den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Substanzen entnommen werden. Abb. 45 zeigt beispielhaft die MALDI-TOF-Spektren der Dendrimere **D1(en)**₁₀₀₀₀ und **D2(en)**₁₀₀₀₀.

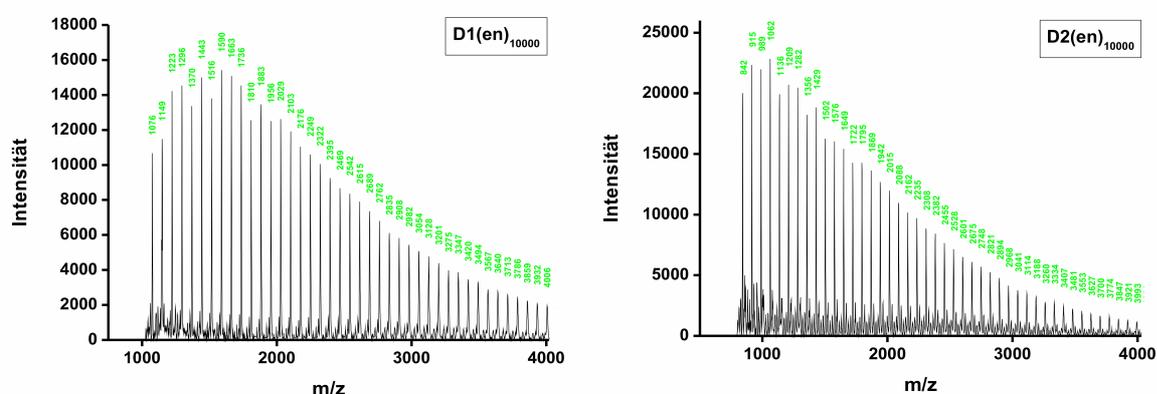


Abb. 45: MALDI-TOF-Spektren der Dendrimere **D1(en)**₁₀₀₀₀ und **D2(en)**₁₀₀₀₀.

Beide Spektren zeigen die Molmassenverteilung des jeweiligen Dendrimers. Der Abstand zwischen zwei Signalen beträgt jeweils $m/z = 74$, was der molaren Masse von Glycidol entspricht ($M_{\text{Glycidol}} = 74.08 \text{ g/mol}$). Molare Massen deutlich unterhalb von 1000 g/mol konnten mit dem verwendeten Spektrometer nicht registriert werden. Das Fehlen der Signale von unfunktionalisierendem PG deutet daher darauf hin, dass die mittlere Molmasse des Nebenprodukts signifikant unterhalb von 1000 g/mol lag und somit nicht erfasst wurde.

Die für beide Dendrimere angestrebte Molmasse von 10000 g/mol wurde in beiden Fällen bei weitem nicht erreicht. Sie lag bei dem Dendrimer der Klasse **D1(en)** bei $\bar{M}_n = 2225 \text{ g/mol}$ und bei dem Vertreter der Klasse **D2(en)** bei $\bar{M}_n = 1773 \text{ g/mol}$. Die höhere mittlere Molmasse des **D1(en)**-Dendrimers ist vermutlich auf das bei dieser Substanzklasse durchgeführte Umfällen zurückzuführen. Hierdurch wurde ein Teil der Moleküle mit geringerem Molekulargewicht aus dem Gemisch entfernt. Ein deutlich abweichendes Bild bezüglich ihrer Molmassenverteilung zeigten die Dendri-

mere der Klasse **D3(en)**. Exemplarisch für diese Verbindungsklasse ist das MALDI-TOF-Spektrum der Verbindung **D3(en)**₄₀₀₀ in Abb. 46 dargestellt.

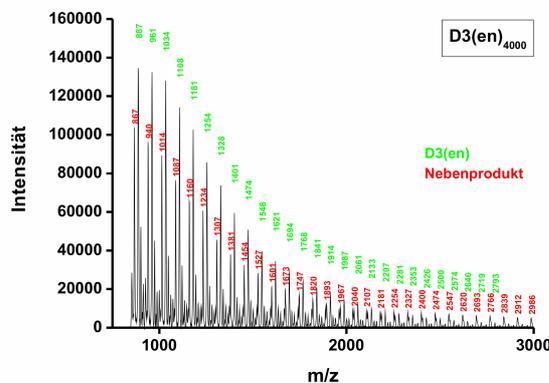
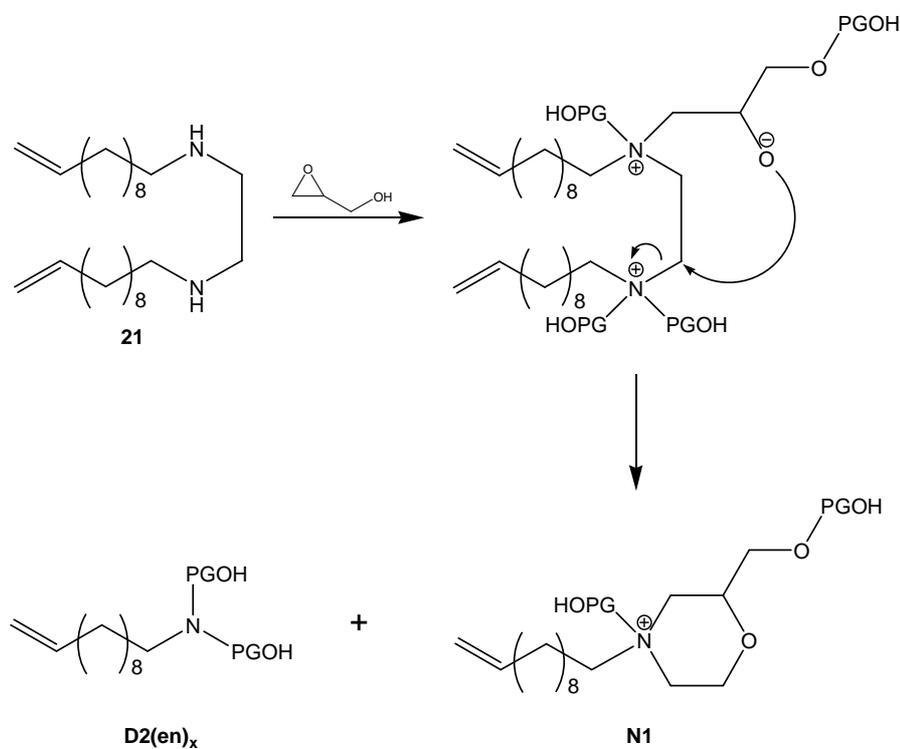


Abb. 46: MALDI-TOF-Spektrum des Dendrimers **D3(en)**₄₀₀₀.

Die Molmassenverteilung von **D3(en)**₄₀₀₀ ist im Vergleich zu den Verteilungen der beiden vorherigen Beispiele deutlich in den Bereich geringeren Molekulargewichts verschoben. Dies kann damit zusammenhängen, dass die angestrebte mittlere Molmasse des betrachteten Produkts mit 4000 g/mol geringer war und somit ein proportional geringeres Wachstum der Dendrimermoleküle stattgefunden hat. Andererseits fand das Wachstum bei dieser Dendrimerkategorie an zwei Stellen im Molekül statt, was im Vergleich zur Polymerisation mit Monoaminen zu höheren mittleren Molmassen des Produkts führen sollte. Weiterhin auffällig ist die deutlich engere Molmassenverteilung bei Dendrimer **D3(en)**₄₀₀₀.

Bei genauer Betrachtung des MALDI-TOF-Spektrums in Abb. 46 wird zudem deutlich, dass zwei einander überlagerte Molmassenverteilungen vorliegen. Das Produkt **D3(en)**₄₀₀₀ weist daher neben dem erwarteten Dendrimer (grün) ein weiteres PG-haltiges Polymer (rot) auf. Eine Analyse der Molmassen des Nebenprodukts legt eine während der Polymerisationsreaktion auftretende Spaltung des Diamins in Moleküle mit jeweils einer Aminofunktion nahe. Ein MALDI-TOF-Spektrum, das nach *N*-Methylierung von **D3(en)**₄₀₀₀ aufgenommen wurde, spricht ebenfalls für das Vorliegen solcher Verbindungen (siehe Abb. 47 in Abschnitt 4.6.2.2). Einer der Gründe für das Entstehen dieses Nebenprodukts könnte die relativ hohe Temperatur von 130 °C sein, bei der die Polymerisation der **D3(en)**-Dendrimere durchgeführt wurde. Möglicherweise führte dies zu einer Quarternierung des Amin-Stickstoffs durch die Reaktion

mit Glycidol, und einer angeschlossenen Spaltung des Diamin-Grundkörpers durch nukleophilen Angriff von Alkoholat-Funktionen (Schema 24).

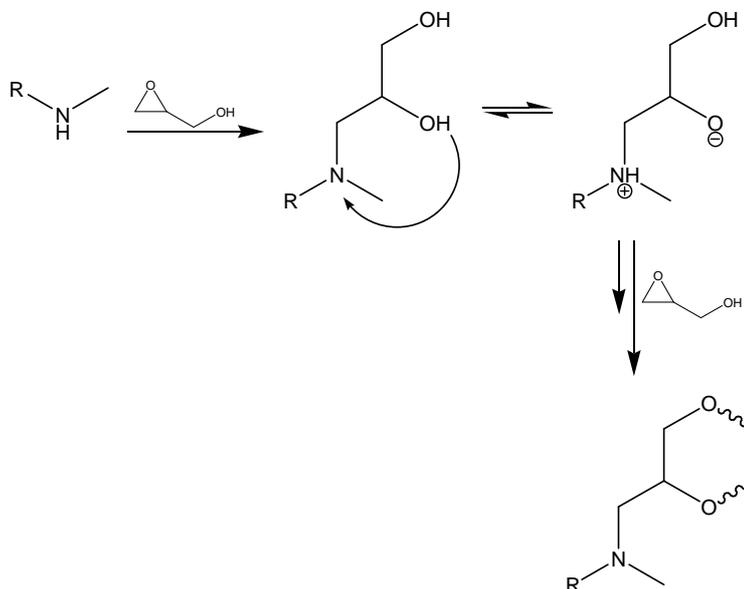


Schema 24: Möglicher Mechanismus der Spaltung des Diamin-Grundkörpers während der Polymerisation.

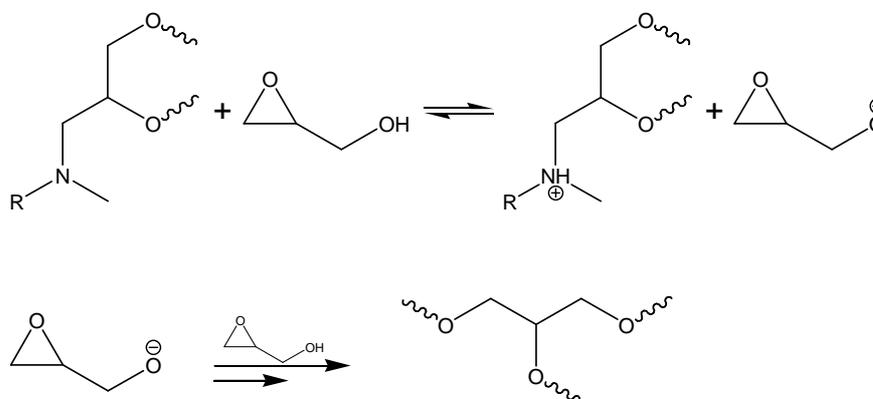
Die hierdurch gebildete Spezies **N1** würde den zusätzlichen Signalsatz im Spektrum erklären. Das zweite Molekül, das aus dieser Spaltungsreaktion hervorgehen würde, wäre ein Vertreter der Dendrimerklasse **D2(en)**. Signale dieser Spezies tauchen im Spektrum jedoch nicht auf. Es ist daher möglich, dass der Zerfall des Diamin-Grundkörpers nach einem anderen Mechanismus unter Bildung von Molekülen erfolgte, die zu Spezies **N1** analoge Summenformeln aufwiesen. Weiterhin denkbar ist aber auch, dass die intermediär gebildeten Vertreter der Dendrimerklasse **D2(en)** durch Folgereaktionen weiter fragmentierten und deshalb im betrachteten Massenbereich nicht auftauchten.

Den MALDI-TOF-Spektren der Polymerisationsprodukte aller drei Dendrimerklassen ist gemeinsam, dass im betrachteten Massenbereich kein Signalsatz für das als Nebenprodukt vermutete unsubstituierte PG zu erkennen ist. Dieser Umstand legt nahe, dass das gebildete PG deutlich niedermolekularer war als die Dendrimere. Als Grund für die beobachtete Molmassenverteilung und die Zusammensetzung des

Reaktionsprodukts kann der Einfluss des basischen Amin-Stickstoffs angenommen werden. In Schema 26 und Schema 26 ist der vermutete Reaktionsverlauf skizziert.



Schema 25: Dendrimerbildung durch Polymerisation von Glycidol an der Aminogruppe.



Schema 26: Einfluss des Amin-Stickstoffs auf die PG-Bildung.

Die Basizität des Stickstoffs ist groß genug, um alkoholische Hydroxylgruppen zu deprotonieren. Dies geschieht sowohl bei den OH-Gruppen des *N*-gebundenen PG als auch bei noch nicht umgesetzten Glycidolmolekülen. Durch diese Wirkung katalysiert der Amin-Stickstoff zunächst hauptsächlich das Dendrimerwachstum, da zugefügtes Glycidol schnell mit dem deprotonierten Dendrimer reagiert. Mit zunehmender Größe des Dendrimers wächst der Abstand der OH-Gruppen zum zentralen Stickstoffatom. Der begünstigende Einfluss des Amin-Stickstoffs auf die Geschwindigkeit des Dendrimerwachstums nimmt dadurch ab. Dies hat zur Folge, dass die

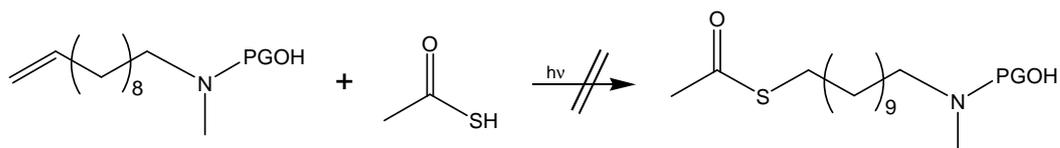
Konzentration an Glycidol im Reaktionsgemisch steigt und dessen Deprotonierung durch das Stickstoffatom an Bedeutung gewinnt. Hierdurch wird die Bildung des unsubstituierten Nebenprodukts stark beschleunigt. Das Stickstoffatom generiert auf diese Weise permanent neue Starter-Moleküle, was zu einer geringen mittleren Molmasse des Nebenprodukts führt.

4.6.2 Polyglycerol-terminierte Undecylthioacetate

Damit eine Bindung an Gold-Substrate erfolgen konnte, sollten terminale Thioacetat-Funktionen in die PG-terminierten Undec-10-ene der Klassen **D1(en)**, **D2(en)** und **D3(en)** eingeführt werden. Hierzu war die UV-induzierte radikalische Addition von Thioessigsäure an die terminalen Doppelbindungen vorgesehen.⁹⁶

4.6.2.1 Voruntersuchungen zur Thioacetylierung von Aminoalkenen

Die anfänglich geplante direkte Thioacetylierung PG-substituierter Aminoalkene führte nicht zum Erfolg. Die versuchte Umsetzung eines Vertreters der Dendri-merklasse **D1(en)** mit Thioessigsäure ist in Schema 27 wiedergegeben.

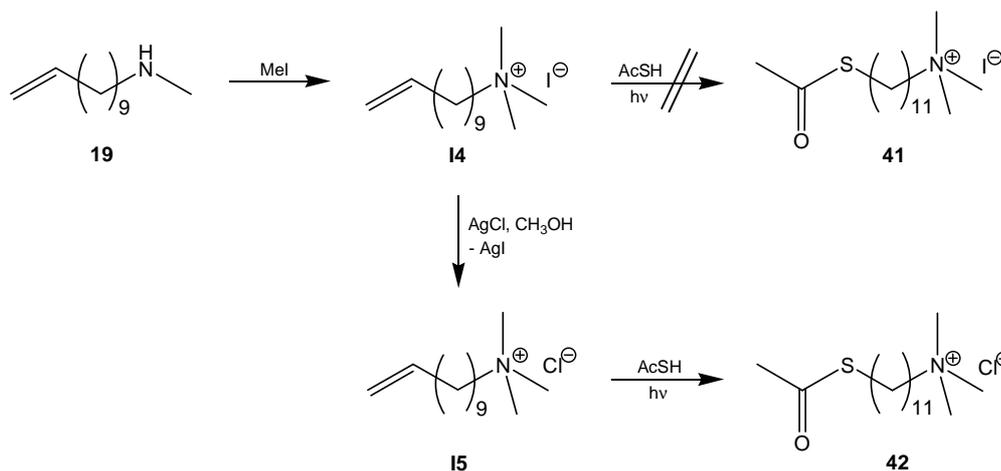


Schema 27: Reaktion eines Alkens der Klasse D1(en) mit Thioessigsäure.

Anstatt mit der Thioessigsäure zu reagieren, ging das Alken unverändert aus der Reaktion wieder hervor. Auch nach längerer Reaktionszeit konnte keine Thioacetat-Bildung beobachtet werden. Vermutlich wirkte die im Molekül enthaltene tertiäre Aminogruppe mit ihrem freien Elektronenpaar sehr effizient als Radikalfänger und verhinderte so die radikalische Additionsreaktion der Thioessigsäure an die Alken-Gruppierung. Für eine Reihe unterschiedlicher Amine ist eine solche Aktivität bekannt.³⁵²⁻³⁵⁴ Eine Quarternierung des Stickstoffatoms durch Alkylierung könnte

diesen Effekt jedoch aufheben und die Thioacetylierung ermöglichen, da ein Ammoniumion ohne freies Elektronenpaar gebildet wird.

Zur Klärung dieses Sachverhalts wurden zunächst Untersuchungen mit *N*-Methylundec-10-enylamin **19** durchgeführt (Schema 28).

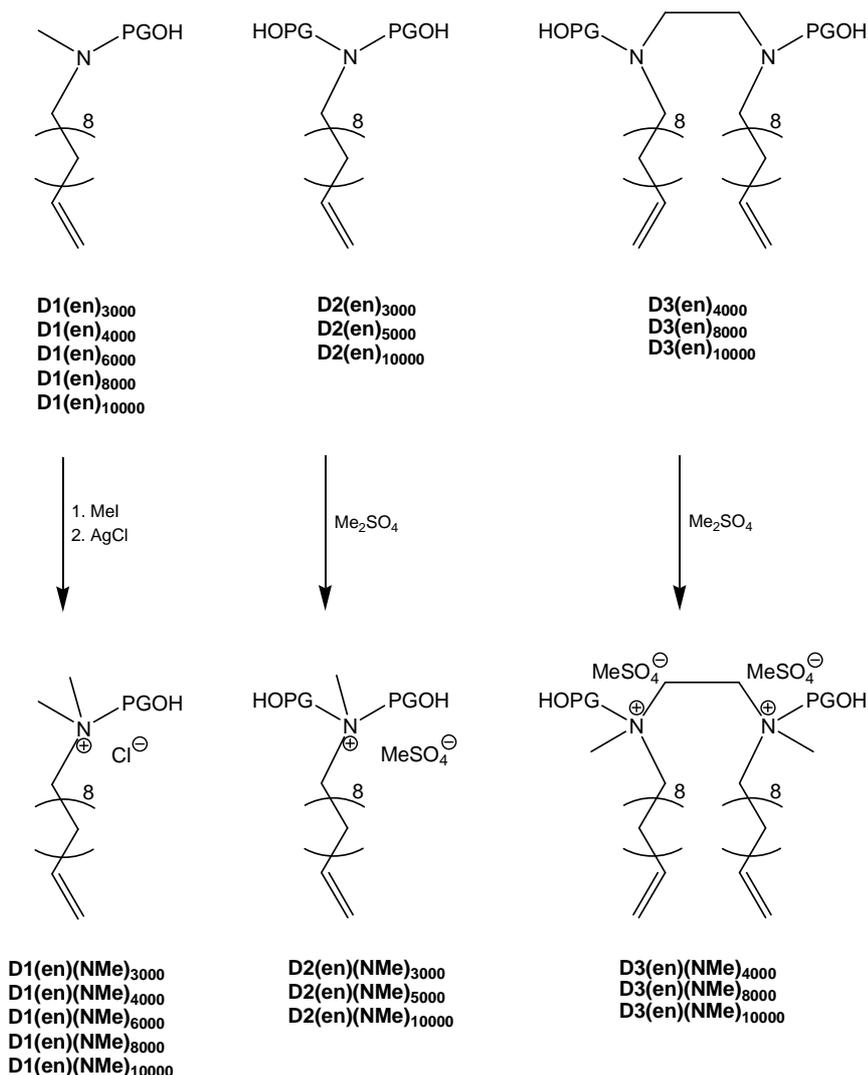


Schema 28: Thioacetylierung ungesättigter Tetraalkylammonium-Verbindungen mit Iodid-Anionen und Chlorid-Anionen.

Die Quarternierung des Amins konnte problemlos durch die Reaktion mit Methyljodid erreicht werden. In der angeschlossenen Thioacetylierungsreaktion zeigte sich die Ammonium-Verbindung **14** allerdings ebenfalls als unreaktiv. Als Grund hierfür wurden die Iodid-Anionen in Verbindung **14** vermutet, da Iod sowie Iodidionen dafür bekannt sind, radikalische Reaktionen stören zu können.^{355,356} Zur Entfernung des störenden Iodid-Anions wurde Verbindung **14** daher durch Umsetzung mit Silberchlorid in das Chlorid **15** überführt. Verbindung **15** ließ sich dann problemlos mit Thioessigsäure zum Thioacetat **42** umsetzen.

4.6.2.2 *N*-Methylierung PG-substituierter Undecene

Zur Thioacetylierung der ungesättigten Dendrimere wurde nun die gleiche Strategie verfolgt. Die Dendrimere der Klassen **D1(en)**, **D2(en)** und **D3(en)** wurden zunächst zu den entsprechenden Ammoniumverbindungen **D1(en)(NMe)**, **D2(en)(NMe)** und **D3(en)(NMe)** methyliert (Schema 29).



Schema 29: Quarternierung des Amin-Stickstoffs der PG-Dendrimere durch Methylierung.

Die Synthese der Dendrimere der Klasse **D1(en)(NMe)** erfolgte hierbei analog zur Darstellung von Verbindung **I5** durch Umsetzung mit Methyljodid und anschließendem Halogenid-Austausch mit Silberchlorid. Um den Reaktionsschritt des Halogenid-Austauschs einzusparen, wurde zur Darstellung der Dendrimere der Klassen **D2(en)(NMe)** und **D3(en)(NMe)** anstelle von Methyljodid Dimethylsulfat als Methylierungsmittel benutzt. Dies war möglich, da sich gezeigt hatte, dass das Methylsulfat-Anion die Thioacetylierungsreaktion nicht stört. ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchungen sowie MALDI-TOF-Messungen bestätigten die Bildung der *N*-methylierten Verbindungen. In Abb. 47 sind exemplarisch die MALDI-TOF-Spektren der Dendrimere **D1(en)(NM3)₁₀₀₀₀**, **D2(en)(NMe)₁₀₀₀₀** und **D3(en)(NMe)₄₀₀₀** dargestellt.

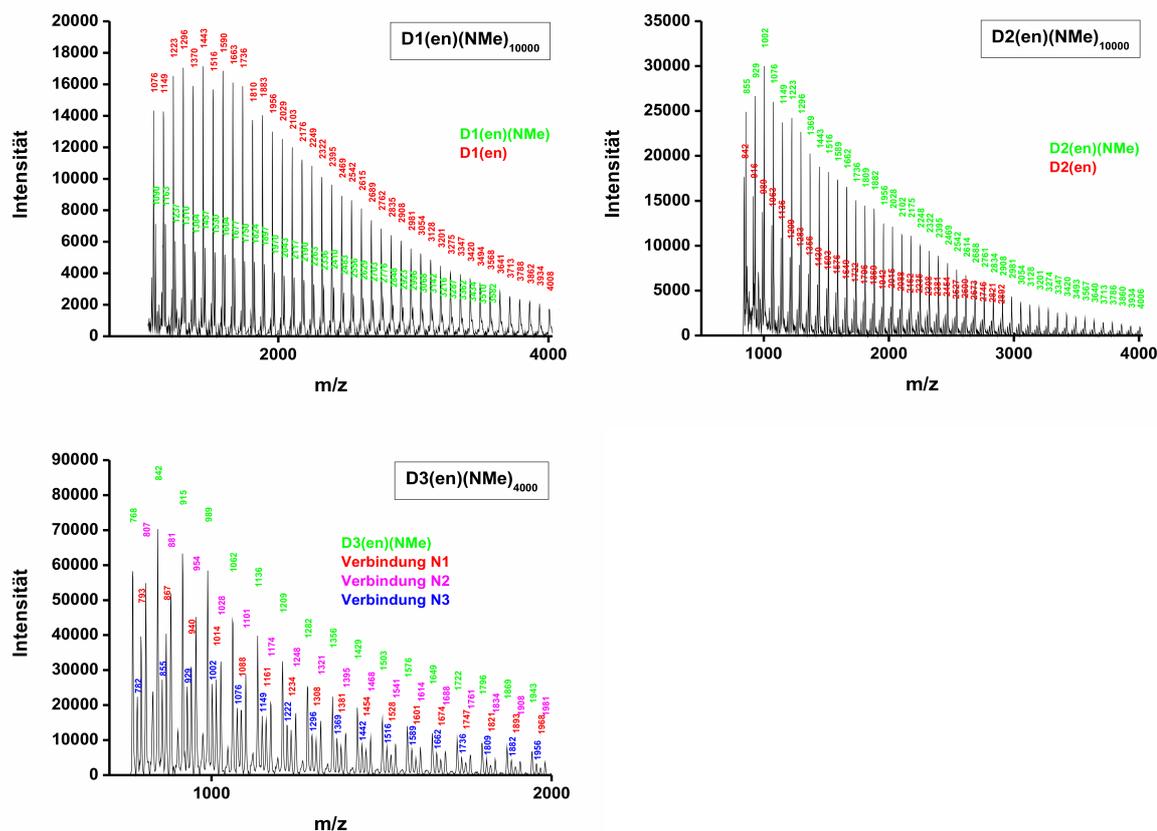
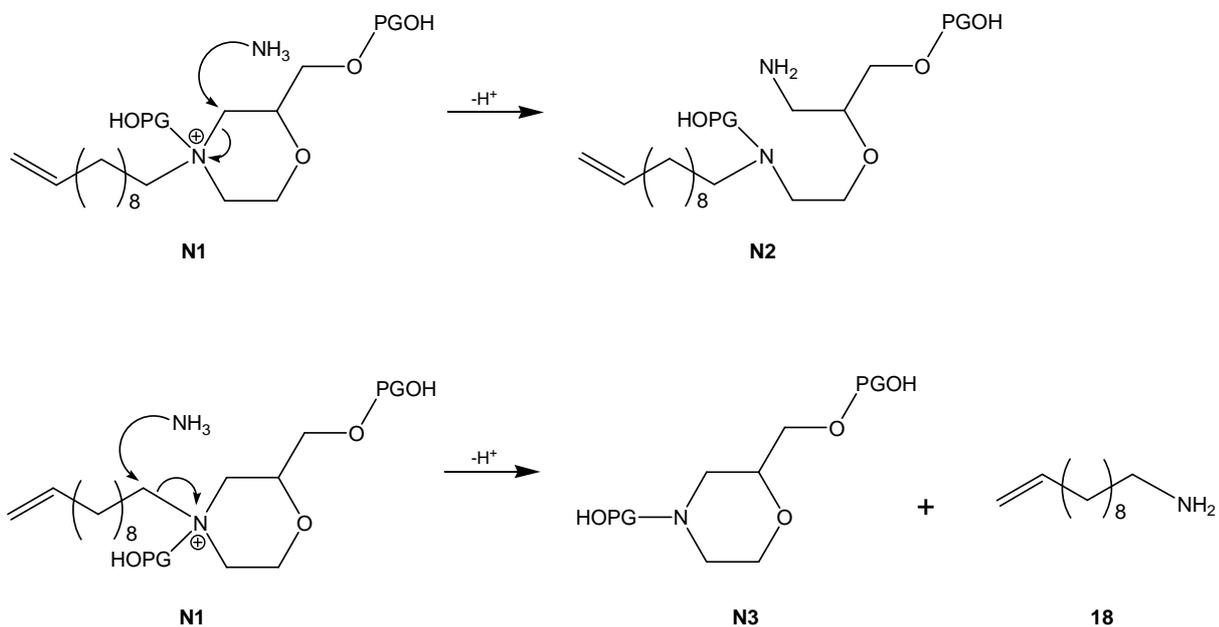


Abb. 47: MALDI-TOF-Spektren der *N*-methylierten Dendrimere $D1(en)(NMe)_{10000}$, $D2(en)(NMe)_{10000}$ und $D3(en)(NMe)_{4000}$.

Die in Abb. 47 dargestellten Spektren zeigen, dass es sich bei den Reaktionsprodukten $D1(en)(NMe)_{10000}$ und $D2(en)(NMe)_{10000}$ um Mischungen handelte, die neben dem gewünschten Produkt (grün) noch große Mengen an nicht umgesetztem Edukt (rot) enthielten. Im Fall der Substanz $D1(en)(NMe)_{10000}$ schien das nicht methylierte Dendrimere sogar die Hauptkomponente zu sein. Dies stand jedoch im Widerspruch zu den Ergebnissen 1H -NMR-spektroskopischer Untersuchungen, die eine vollständige Umsetzung zu den *N*-methylierten Produkten anzeigten. Vermutlich ist das Ergebnis der MALDI-TOF-Messungen auf die leichtere Matrix-Desorption der nicht methylierten Dendrimere im Vergleich zu den methylierten zurückzuführen. Durch diesen Effekt bewirken bereits geringe Edukt-Überreste im Reaktionsprodukt ein deutliches Signal im Spektrum. Das Intensitätsverhältnis von Produkt- zu Edukt-Signalen spiegelt in diesem Fall jedoch nicht die wahre Zusammensetzung des untersuchten Gemischs wider. Ein konkreter Hinweis auf das Wirken eines solchen Effekts waren in diesem Fall die beobachteten Signalintensitäten. Diese fielen bei

den Spektren der methylierten Substanzen deutlich niedriger aus als bei den Spektren der Edukte, obwohl die verwendeten Substanzmengen identisch waren. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass es sich bei den Reaktionsprodukten im wesentlichen um die *N*-methylierten Substanzen handelte, die noch geringe Mengen nicht umgesetztes Edukt enthielten.

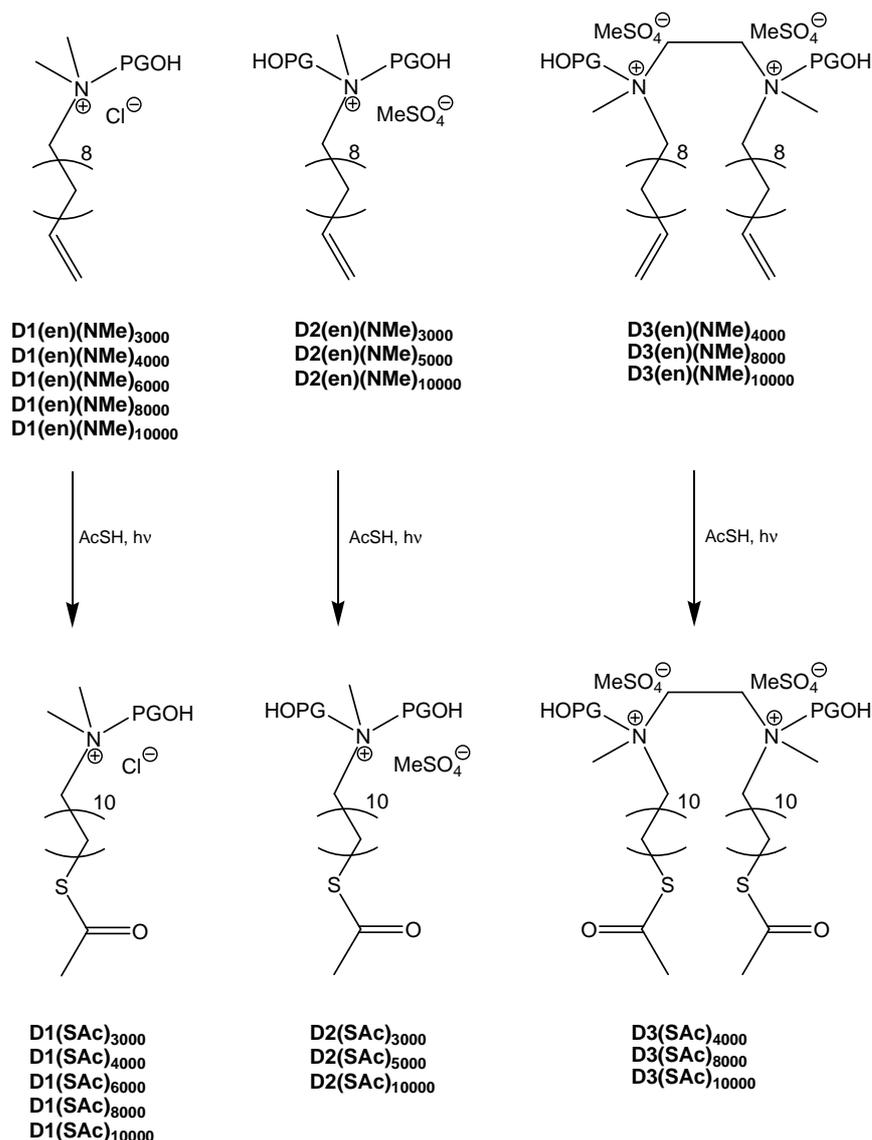
Das Spektrum der Verbindung **D3(en)(NMe)₄₀₀₀** (Abb. 47) zeigte neben dem Signalsatz für das *N,N'*-dimethylierte Dendrimer (grün) zusätzlich noch die Signale drei weiterer PG-Verbindungen. Einer dieser Signalsätze (rot) konnte der vermuteten Komponente **N1** zugeordnet werden, die auch im Edukt **D3(en)₄₀₀₀** festgestellt wurde. Ein weiterer Hinweis für die Existenz von **N1** war das Auftreten von Signalen im Spektrum von **D3(en)(NMe)₄₀₀₀**, die auf die aminierten Spezies **N2** (pink) und **N3** (blau) hindeuteten. Die Bildung der Komponenten **N2** und **N3** kann durch die Reaktion der Verbindung **N1** mit Ammoniak stattgefunden haben, welches dem Reaktionsgemisch nach der *N*-Methylierung zur Zerstörung von überschüssigem Dimethylsulfat zugesetzt wurde (Schema 30).



Schema 30: Möglicher Reaktionsweg zu den Verbindungen N2 und N3.

4.6.2.3 Thioacetylierung der *N*-methylierten Verbindungen

Die *N*-methylierten Dendrimere wurden ohne weitere Aufreinigung mit Thioessigsäure umgesetzt und es konnten die entsprechenden Thioacetate der Klassen **D1(SAc)**, **D2(SAc)** und **D3(SAc)** erhalten werden (Schema 31).



Schema 31: Thioacetylierung der *N*-methylierten Dendrimere.

Die erfolgreiche Umsetzung der Alkene wurde sowohl durch ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchungen als auch durch MALDI-TOF-Spektren bestätigt. Die Reinigung der Zielverbindungen erfolgte durch Dialyse. Zu diesem Zweck wurde ein Dialyseschlauch mit einem *Molecular Weight Cut Off* (MWCO) von 1000 g/mol verwendet. Hierdurch ließen sich niedermolekulare Komponenten wie überschüssige

Thioessigsäure, aber auch PG- und Dendrimermoleküle mit geringem Molekulargewicht aus dem Reaktionsprodukt entfernen. Die Produkte wiesen deshalb nach der Dialyse zu höheren Massen verschobene Molmassenverteilungen und damit auch höhere mittlere Molmassen auf. In Abb. 48 sind hierzu exemplarisch für die drei Dendrimerklassen die MALDI-TOF-Spektren der Vertreter **D1(SAc)₁₀₀₀₀**, **D2(SAc)₁₀₀₀₀** und **D3(SAc)₁₀₀₀₀** dargestellt.

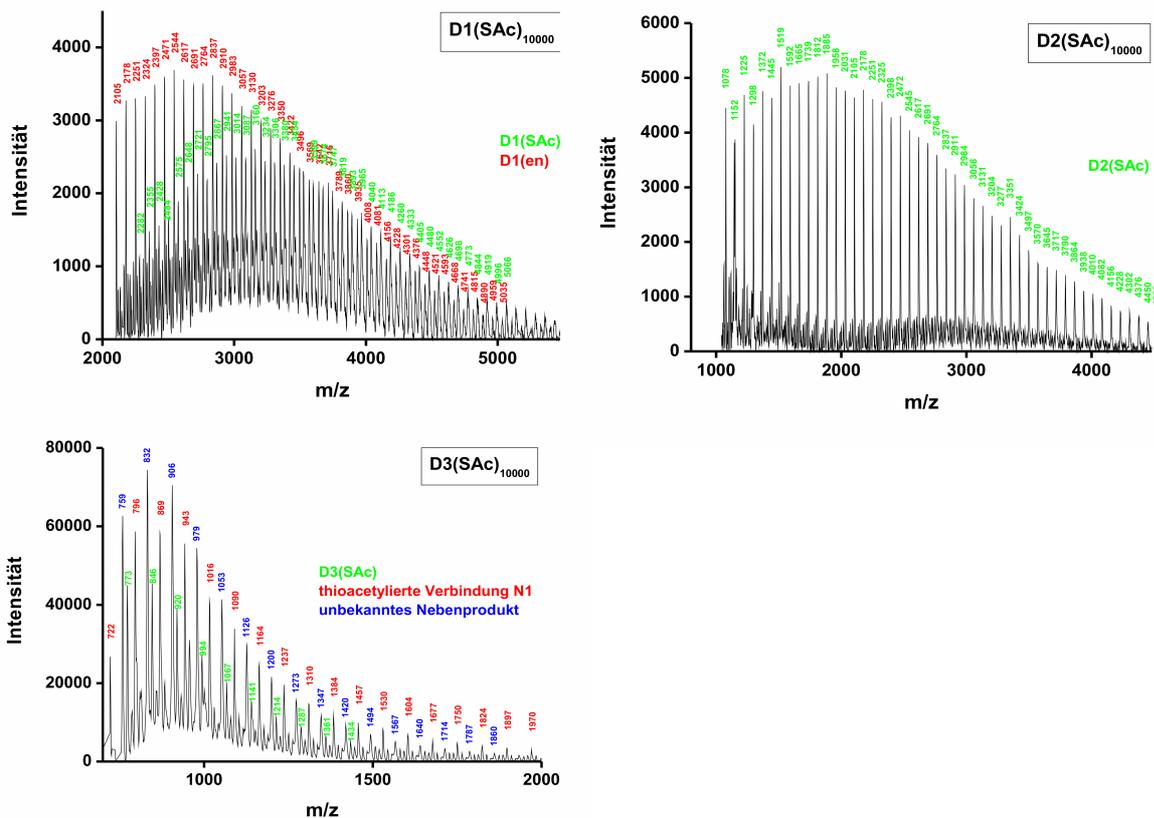


Abb. 48: MALDI-TOF-Spektren der thioacetylierten Dendrimere nach der Dialyse.

Im Vergleich zum Spektrum der Substanz **D2(SAc)₁₀₀₀₀**, das nur Signale des thioacetylierten Reaktionsprodukts aufweist, sind im Spektrum von Substanz **D1(SAc)₁₀₀₀₀** zusätzlich noch Signale (rot) der unmethylierten Ausgangssubstanz **D1(en)₁₀₀₀₀** zu erkennen. Die Intensitäten der Edukt-Signale sind deutlich höher als die der Produktsignale. Dies ist, wie bereits im Abschnitt 4.6.2.2 für Verbindung **D1(en)(NMe)₁₀₀₀₀** diskutiert, jedoch nicht auf einen hohen Gehalt an Edukt im Reaktionsprodukt zurückzuführen, sondern auf eine geringere Desorptionsrate des Thioacetats aus der

Matrix. Hierfür sprechen auch $^1\text{H-NMR}$ -Daten, die die Anwesenheit signifikanter Edukt-Mengen im Reaktionsprodukt ausschließen.

Weiterhin fällt bei Betrachtung des Spektrums von Substanz **D1(SAc)**₁₀₀₀₀ auf, dass die Molmassenverteilung des Edukts im Vergleich zu der des Produkts zu geringeren Massen verschoben ist. Dies impliziert, dass, zumindest für die Substanz **D1(en)**₁₀₀₀₀, eine bevorzugte Desorption von Molekülen geringerer Molmasse stattgefunden hat und das Spektrum nicht die korrekte Molmassenverteilung des Polymers widerspiegelt. Es ist anzunehmen, dass dieser Effekt mehr oder weniger stark bei allen untersuchten PG-Verbindungen auftrat und die aus den MALDI-TOF-Spektren berechneten mittleren Molmassen etwas geringer ausfallen als die wahren Werte. Vermutlich handelt es sich wie in diesem Fall um Fehler im Bereich von ca. 500 Masseneinheiten.

Das Spektrum der Substanz **D3(SAc)**₁₀₀₀₀ zeigt neben den Signalen (grün) des erwarteten Reaktionsprodukts noch zwei weitere Signalsätze, von denen einer (rot) dem thioacetylierten Monoalken **N1** zuzuordnen ist. Durch dieses Ergebnis wird die Annahme einer Spaltung des für die Polymerisation eingesetzten Diamins **21** in zwei Aminoalken-Fragmente zusätzlich bekräftigt. Der dritte Signalsatz (blau) im Spektrum konnte keiner Spezies zugeordnet werden. Der beobachteten Molmassenverteilung konnte entnommen werden, dass es sich um eine PG-Verbindung handelte. Eine genauere Charakterisierung gelang jedoch nicht.

Zusammenfassend kann an dieser Stelle gesagt werden, dass die Darstellung von PG-substituierten Undecylthioacetaten über die hier entwickelte Route in befriedigenden Ausbeuten möglich ist. Saubere Produkte konnten allerdings nur durch den Einsatz der ungesättigten Monoamine **18** und **19** als Polymerisationsstarter erhalten werden. Die Verwendung des Diamins **21** führte hingegen zur Bildung überwiegend unbekannter Nebenprodukte und erwies sich daher als suboptimal. Die hier verwendete Methode der Dialyse zur Produktreinigung hat sich als ausgesprochen praktikabel und effizient herausgestellt. Durch sie ließ sich nicht nur eine Reinigung der Reaktionsgemische erzielen, sondern auch die Entfernung von niedermolekularen Bestandteilen, was zu einer Erhöhung der mittleren Molmasse der Produkte führte.

Bezüglich der dargestellten Thioacetate der Klassen **D1(SAc)**, **D2(SAc)** und **D3(SAc)** muss festgehalten werden, dass es sich um Verbindungen mit geladenen Tetraalkylammonium-Gruppen handelte. Die für biorepulsiv wirksame Moleküle

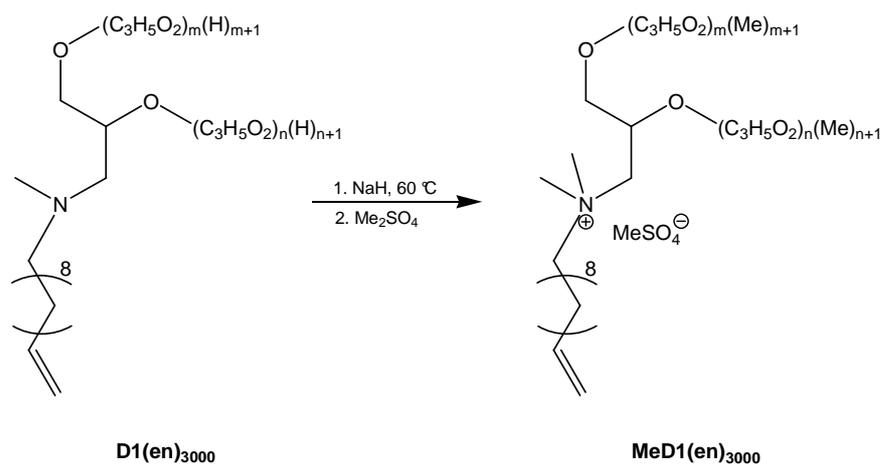
geforderte elektrische Neutralität der Kopfgruppe ist bei diesen Molekülen nicht gegeben. Allerdings befindet sich die Ladung im Bereich der ersten Dendrimer-Generation. Daher sollte die Stärke des elektrischen Feldes im äußeren Bereich des PG-Dendrimers, wo der Kontakt mit Proteinen stattfindet, äußerst gering sein. Eine elektrostatische Anziehungskraft zwischen Ammoniumion und Protein sollte deshalb zu vernachlässigen sein.

4.6.3 Polyglycerol-terminierte Undecyl(thio)phosphonsäuren

Zur Modifikation von oxidischen Metalloberflächen sollten PG-substituierte Undecylphosphonsäuren und –thiophosphonsäuren dargestellt werden. Schlüsselschritte der Synthese dieser Verbindungen waren Hydrophosphorylierungsreaktionen an permethylierten PG-substituierten Undecenen. Die Verwendung permethylierter Dendrimere war aus zwei Gründen notwendig: Zum einen wurden hierdurch Veresterungsreaktionen der gebildeten Säuren mit Hydroxylgruppen des PG-Teils der Moleküle verhindert. Zum anderen erforderten einige Reaktionsschritte zur Thiophosphonsäure aprotische Bedingungen.

4.6.3.1 Permethylierung von PG-substituierten Undecenen

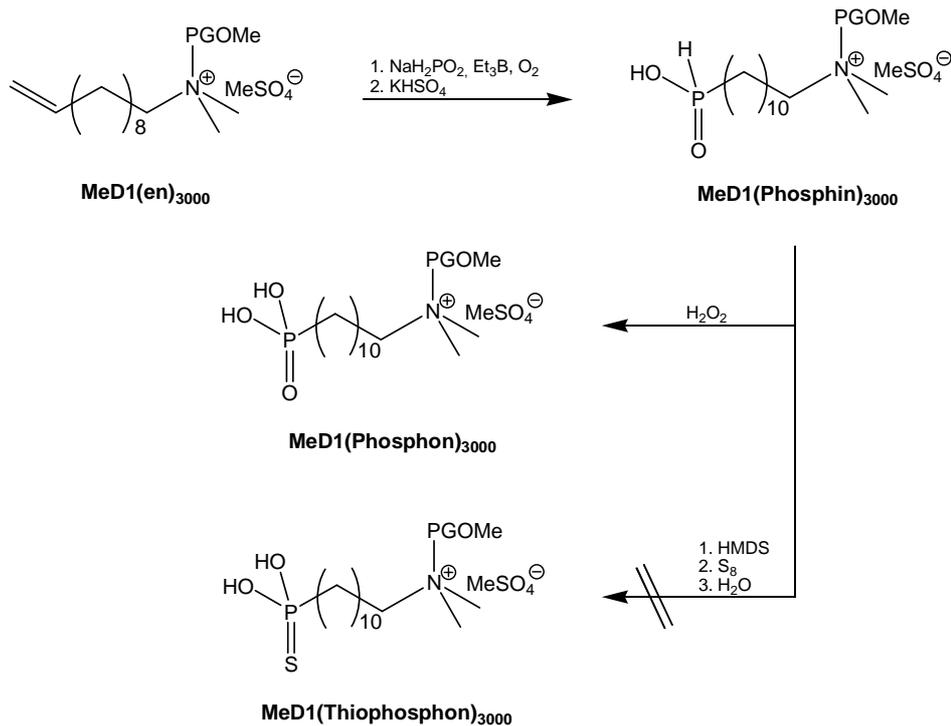
Die Synthese des permethylierten Dendrimers **MeD1(en)₃₀₀₀** ist in Schema 32 dargestellt. Die Hydroxylgruppen der PG-Kopfgruppe wurden mit Natriumhydrid deprotoniert und dann mit Dimethylsulfat umgesetzt. Neben den Hydroxylgruppen wurde in dieser Reaktion auch der Amin-Stickstoff zum Ammoniumion alkyliert. Es war darauf zu achten, die Reaktion bei erhöhter Temperatur durchzuführen, um einen verzögerten Reaktionsstart und damit verbunden einen unkontrollierten Reaktionsverlauf zu vermeiden.



Schema 32: Permethylierung von D1(en)_{3000} .

4.6.3.2 Hydrophosphorylierung von permethylierten PG-substituierten Undecen

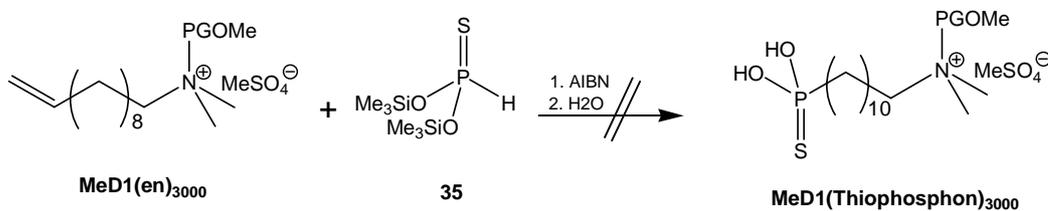
MePG-substituierte Undecylphosphonsäure und –thiophosphonsäure sollten analog zu den in Abschnitt 4.3.3 beschriebenen Verfahren zur Synthese der entsprechenden MeOEG-terminierten Verbindungen dargestellt werden. Durch eine Hydrophosphorylierungsreaktion von Alken MeD1(en)_{3000} mit Natriumhypophosphit wurde daher zunächst die Phosphinsäure $\text{MeD1(Phosphin)}_{3000}$ synthetisiert (Schema 33). Die so gewonnene Phosphinsäure konnte dann nachfolgend durch die Oxidation mit Wasserstoffperoxid erfolgreich in die Phosphonsäure $\text{MeD1(Phospon)}_{3000}$ überführt werden. Die Reinigung der Phosphonsäure erfolgte wie bei den thioacetylierten PG-Verbindungen über Dialyse. MALDI-TOF-Spektren der Substanz konnten leider nicht erhalten werden, da keine Matrix-Desorption erreicht werden konnte. Mit Hilfe der ^{31}P - und ^1H -NMR-Spektroskopie konnte die Verbindung aber eindeutig nachgewiesen werden.



Schema 33: Synthese der Phosphonsäure und Thiophosphonsäure über **MePG(Phosphin)₃₀₀₀**.

Der Versuch, die Thiophosphonsäure **MeD1(Thiophosphon)₃₀₀₀** aus der Phosphinsäure zu erhalten, führte nicht zum gewünschten Produkt. Als Grund hierfür lässt sich die fehlende Löslichkeit der eingesetzten Phosphinsäure im Reaktionsmedium anführen. Die Substanz zeigte nur Löslichkeit in protischen Lösungsmitteln, die für diese Reaktion jedoch nicht verwendet werden konnten.

Alternativ wurde versucht, die Thiophosphonsäure durch direkte Hydrophosphorylierung des Alkens **MeD1(en)₃₀₀₀** mit Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester **35** zu erhalten (Schema 34).



Schema 34: Versuchte Hydrophosphorylierung des Alkens **MeD1(en)₃₀₀₀** zum Thiophosphonsäureester.

Das Alken war zwar bedingt in dem verwendeten Lösungsmittel löslich, jedoch fand selbst nach langen Reaktionszeiten und mehrfachem Zufügen von Radikalstarter

keine Umsetzung statt. Möglicherweise ist das Ausbleiben der Reaktion auf eine Abschirmung der Alken-Gruppierung durch die PG-Substituenten zurückzuführen. Denkbar ist aber auch, dass die radikalische Additionsreaktion durch bestimmte Gruppierungen im Molekül unterbunden wurde. Diese Sachverhalte konnten nicht abschließend geklärt werden und bedürfen daher weiterer Untersuchungen.

5 Modifizierung von SAMs durch Click-Chemie

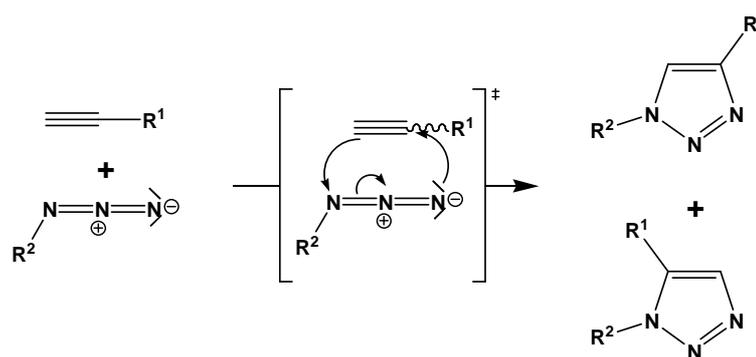
In der Biosensorik ist ein einfacher Zugang zu SAMs mit biologisch aktiven Kopfgruppen von großem Interesse. Eine Möglichkeit zur Darstellung dieser Systeme besteht in der Einführung sensorischer Gruppen in bereits ausgebildete Monoschichten unter Verwendung geeigneter Reaktionen. Diese Vorgehensweise besitzt gegenüber der Bildung von SAMs mit schon vollständig funktionalisierten Molekülen einige Vorteile. Ein wichtiger Punkt ist, dass die Kopfgruppen ohne großen synthetischen Aufwand in die vorgebildete Schicht eingeführt werden können. Hierdurch entfallen Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte, die bei einem vollständigen Aufbau der Moleküle vor der Schichtbildung unumgänglich sind. Ein weiterer Vorteil dieser Verfahrensweise ist die höhere Ordnung der Monoschicht und damit verbunden eine höhere Stabilität des resultierenden Systems. Grund hierfür ist, dass das Anknüpfen der oft voluminösen Kopfgruppen die geordnete Struktur der vorgebildeten Monoschicht kaum vermindert. Die Schichtbildung mit Molekülen, die die sterisch anspruchsvollen Kopfgruppen bereits tragen, führt hingegen zu weniger dicht gepackten SAMs geringerer Stabilität.^{279,357,358}

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Eignung der 1,3-dipolaren Cycloadditionsreaktion zwischen organischen Aziden und Alkinen (Click-Reaktion) zur Einführung biologisch aktiver Gruppen in vorgebildete SAMs untersucht. Diese Reaktion war von besonderem Interesse, da sie unter sehr milden Bedingungen verläuft und tolerant gegenüber einer Vielzahl funktioneller Gruppen ist. Hierdurch wird sie zu einem viel versprechenden Werkzeug zur Herstellung von Biosensoren.

5.1 Mechanismus der Click-Reaktion

Die Aktivierungsenergie von 1,3-dipolaren Cycloadditionsreaktionen hängt vom elektronischen Einfluss der Substituenten am 1,3-Dipol und am Dipolarophil ab. Ein mit Elektronendonoren substituierter Dipol zeigt die höchste Reaktivität gegenüber Elektronenakzeptor-substituierten Dipolarophilen. Bei Elektronenakzeptor-substituierten Dipolen hingegen wird eine hohe Reaktivität gegenüber elektronenreichen Dipol-

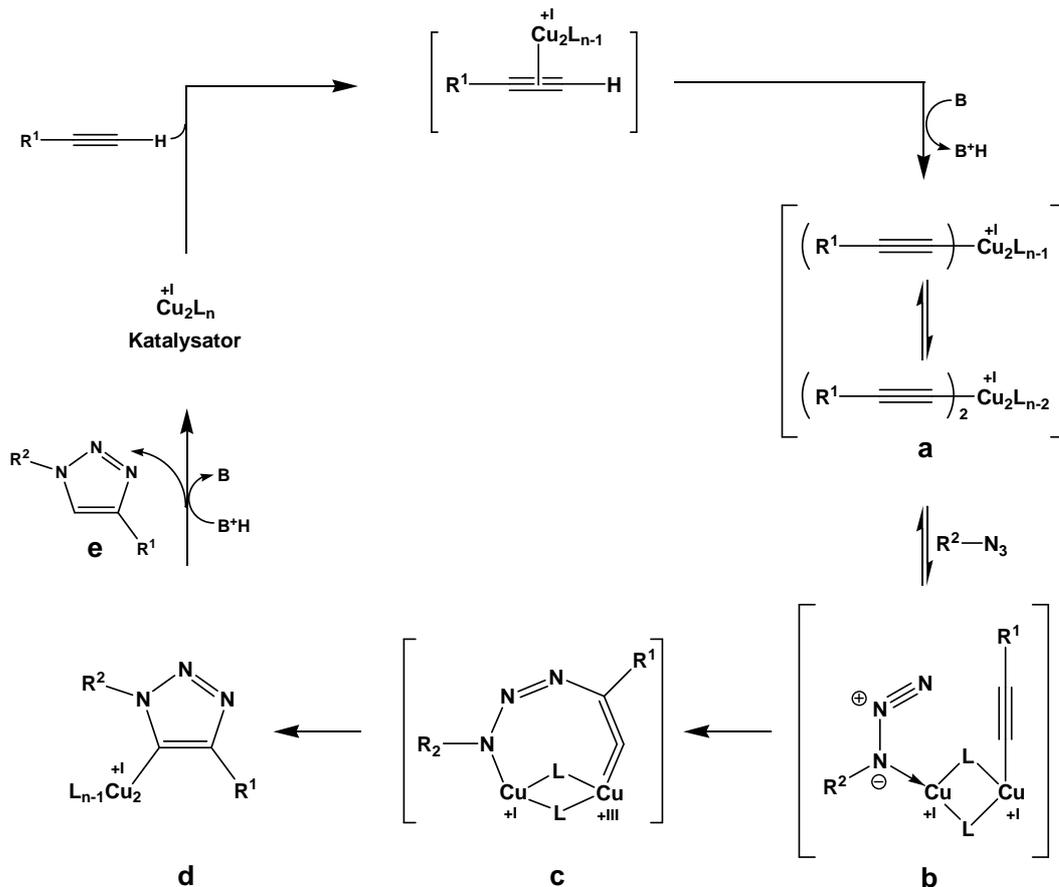
larophilen beobachtet. Reaktionen zwischen derart aktivierten Reaktionspartnern weisen geringe Aktivierungsenergien auf und verlaufen ohne Zusatz eines Katalysators. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von thermisch aktivierten Reaktionen. In Schema 35 ist die thermisch aktivierte Click-Reaktion zwischen einem Elektronendonord-substituierten organischen Azid (1,3-Dipol) und einem Akzeptor-substituierten Alkin (Dipolarophil) dargestellt.



Schema 35: Mechanismus der thermisch aktivierten Click-Reaktion.

Die Reaktion verläuft nach einem konzertierten Mechanismus stereospezifisch *syn* und liefert Gemische des 1,4- und 1,5-disubstituierten 1,2,3-Triazols.³⁵⁹ Das Auftreten beider Triazole im Reaktionsprodukt ist auf eine schwach ausgeprägte oder teilweise ganz fehlende Regioselektivität der Reaktion zurückzuführen.

Die selektive Bildung des 1,4-disubstituierten Triazols kann durch die Zugabe katalytischer Mengen von Cu(I)-Verbindungen zum Reaktionsmedium erreicht werden. Zusätzlich wirkt die Kupferverbindung als Katalysator und ermöglicht die schonende Umsetzung nicht aktivierter Edukte zu den entsprechenden 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolen. Der Mechanismus der Reaktion ist in Schema 36 dargestellt.³⁶⁰⁻³⁶²



Schema 36: Cu(I)-katalysierte Click-Reaktion.

Im Gegensatz zur thermischen Reaktion handelt es sich bei der katalysierten Variante nicht um einen konzertierten, sondern einen mehrstufigen Prozess. Zu Anfang der Reaktion findet unter Durchlaufen eines π -Komplexes die Bildung des zweikernigen Kupferacetylids **a** statt. Diese Reaktion wird durch die Anwesenheit einer Base begünstigt. Das organische Azid bindet dann mit seinem terminalen Stickstoffatom an eines der beiden Cu-Zentren, wodurch der gemischte Komplex **b** gebildet wird. Durch diese Fixierung beider Reaktionspartner ist die exklusive Bildung des 1,4-Regioisomers durch die Reaktion erklärbar. Aus **b** bildet sich nachfolgend der Metallazyklus **c**, wobei eines der beiden Cu-Zentren seine Oxidationsstufe von +I zu +III ändert. Es folgt eine reduktive Eliminierung unter Ausbildung des Triazolrings. Das oxidierte Cu-Zentrum geht wieder in seine ursprüngliche Oxidationsstufe über und es bildet sich intermediär das Acetylid **d**, welches durch Protonierung in den eingesetzten Cu(I)-Katalysator und das Triazol **e** zerfällt.

5.2 Click-Reaktionen auf SAMs: Darstellung von Biosensoren

Ein Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe der Click-Reaktion SAM-basierte ConA-spezifische Biosensoren zu entwickeln. ConA ist ein Protein aus der Familie der Lektine, das eine spezifische, reversible Wechselwirkung mit dem Monosaccharid Mannose eingeht. Es wurde erstmals 1919 von *J. B. Sumner* aus der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*) isoliert.³⁶³ Über die Aufgabe, die das Lektin in der Pflanze übernimmt, besteht noch Unklarheit. Die Kristallstruktur des ConA-Tetramers wurde 1972 aufgeklärt und ist in Abb. 49 dargestellt.³⁶⁴

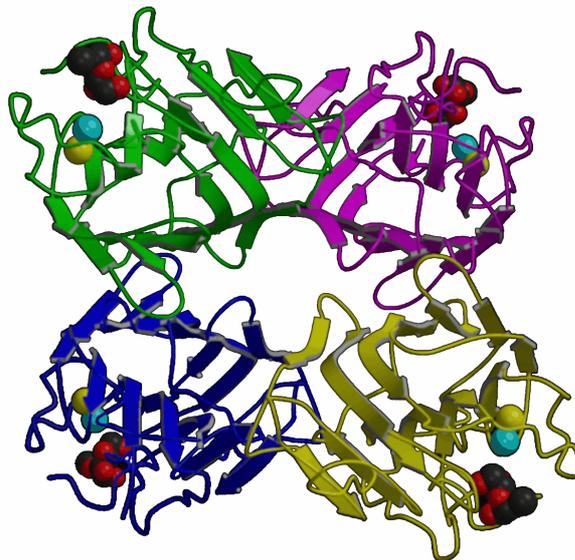


Abb. 49: Concanavalin A (ConA)-Tetramer mit vier gebundenen Mannose-Molekülen.

Pro Untereinheit kann ein Molekül Mannose gebunden werden. Hierzu werden je ein Äquivalent Ca^{2+} - (gelb) und Mn^{2+} -Ionen (blau) benötigt. Die Metallionen koordinieren an bestimmten Stellen des Proteins und verändern dessen Struktur, wodurch es für die Wechselwirkung mit dem Kohlenhydrat aktiviert wird.

ConA-spezifische Sensoren besitzen als aktives Element biorepulsive Monoschichten, die sensorisch aktive Mannosyl-Gruppen exponieren. Um solche Schichten mit Hilfe der Click-Reaktion durch Funktionalisierung vorgebildeter SAMs zu erhalten, wurden zwei Strategien verfolgt und untersucht.

Die erste Strategie sah das gemischte Anknüpfen eines OEG-haltigen Azids und eines Mannosyl-terminierten OEG-haltigen Azids an Alkin-terminierte Monoschichten vor (Abb. 50).

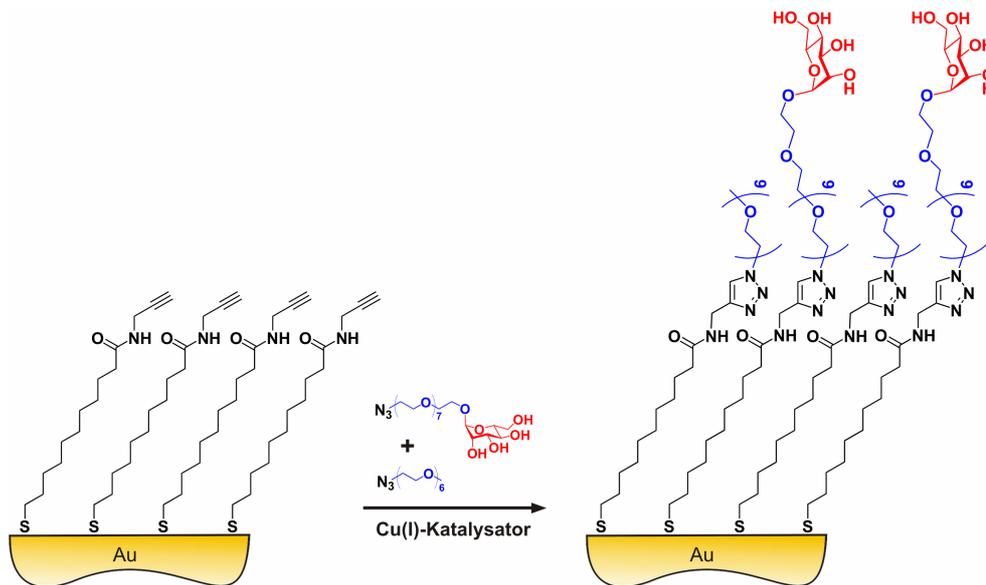


Abb. 50: Gemischtes Anbinden von biorepulsiver und sensorisch aktiver Komponente an Alkin-terminierte SAMs.

Alternativ hierzu sollte das Anbinden eines Azid-substituierten Mannose-Derivats an biorepulsive, teilweise Alkin-terminierte SAMs untersucht werden (Abb. 51).

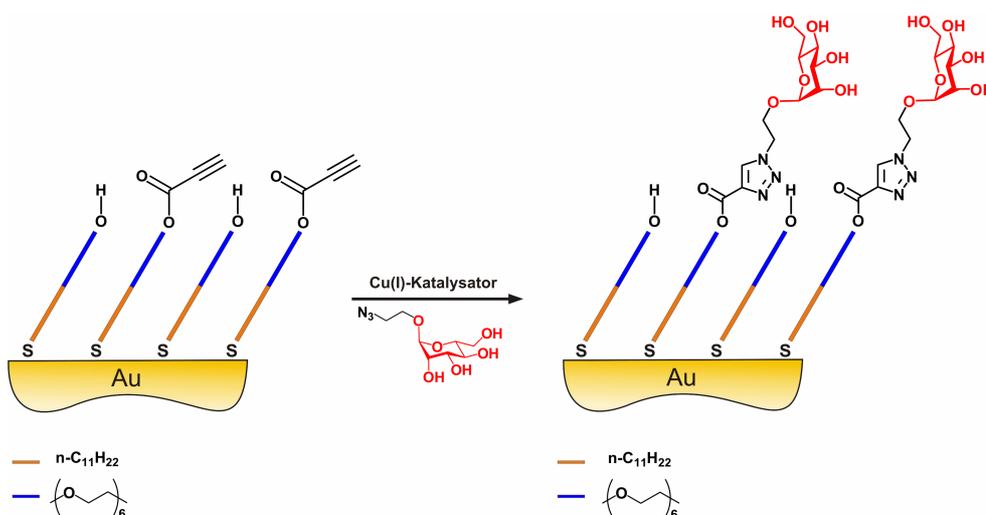


Abb. 51: Funktionalisierung biorepulsiver Alkin-terminierter SAMs durch die Click-Reaktion.

5.2.1 Click-Reaktionen in polaren organischen Lösungsmitteln

Click-Reaktionen auf Monoschichten werden häufig in Alkohol / Wasser-Mischungen als Reaktionsmedium durchgeführt.^{226,230,235,237} Die Verwendung von wässrigem Ethanol oder *tert.*-Butanol als Lösungsmittel bietet neben toxikologischer Unbedenklichkeit eine Reihe weiterer Vorteile. So kann z. B. der Cu(I)-Katalysator *in situ* durch die Reduktion von Cu(II)-Salzen mit Natriumascorbat erzeugt werden. Das Ascorbat wird hierbei in großem Überschuss verwendet, weshalb die Reaktion nicht unter Schutzgas durchgeführt werden muss. Der durch den Luftsauerstoff oxidierte Katalysator wird kontinuierlich durch das Ascorbat wieder reduziert. Weiterhin ist bekannt, dass Wasser-Liganden die Aktivität des Cu(I)-Katalysators erhöhen.^{208,209}

Eine Voraussetzung für das Gelingen der Click-Reaktion an SAMs ist die Löslichkeit der an die Schicht zu bindenden Komponente im Reaktionsmedium. Diese Löslichkeit ist in stark wasserhaltigen, protischen Systemen jedoch nicht immer gegeben. Es besteht daher auch ein Interesse, die Reaktion in aprotischen Lösungsmitteln durchzuführen.

Hierdurch motiviert wurde ein Acetonitril-basiertes System zur Funktionalisierung Alkin-terminierter SAMs entwickelt. Im Vordergrund stand dabei die Einführung biorepulsiver OEG- sowie ConA-sensorischer Mannosylgruppen in die Schicht.³⁶⁵ Das für wässrige Systeme geeignete Katalysatorsystem Cu(II)-Salz / Natriumascorbat konnte wegen der fehlenden Löslichkeit des Ascorbats in Acetonitril nicht verwendet werden. Alternativ wurde daher Kupfer(I)-iodid als Katalysator benutzt. Diese Kupferverbindung bietet den Vorteil, sich in Acetonitril unter Bildung von Tetrakis(acetonitril)iodidokupfer(I) zu lösen, wodurch eine homogene Katalyse ermöglicht wird. Als basischer Cokatalysator diente Diisopropylethylamin (DIPEA). Die Aktivität dieses Lösungsmittel / Katalysator / Cokatalysator-Systems wurde bereits in analogen, homogen geführten Reaktionen belegt.^{366,367}

5.2.1.1 Optimierung der Click-Reaktion in Acetonitril

Es wurde festgestellt, dass sich das verwendete Reaktionssystem nur für die Anbindung von organischen Aziden auf Alkin-terminierten SAMs eignete. Der Versuch, Azid-terminierte SAMs zu verwenden und an ihnen eine Click-Reaktion mit Alkinen

durchzuführen, schlug hingegen fehl. Grund hierfür war die Bildung von schwerlöslichen Kupfer(I)-Acetyliden, die als Feststoff ausfielen, wodurch dem Reaktionsmedium der benötigte Katalysator entzogen wurde. Bei allen im Folgenden beschriebenen Click-Reaktionen handelte es sich daher um die Reaktion von Aziden mit Alkin-terminierten Monoschichten.

Zunächst wurde die Reaktion von Azidohexaethylglycolmonomethylether **32** mit Alkin-terminierten SAMs untersucht und bezüglich Reaktionstemperatur und Reaktionszeit optimiert (Abb. 52).

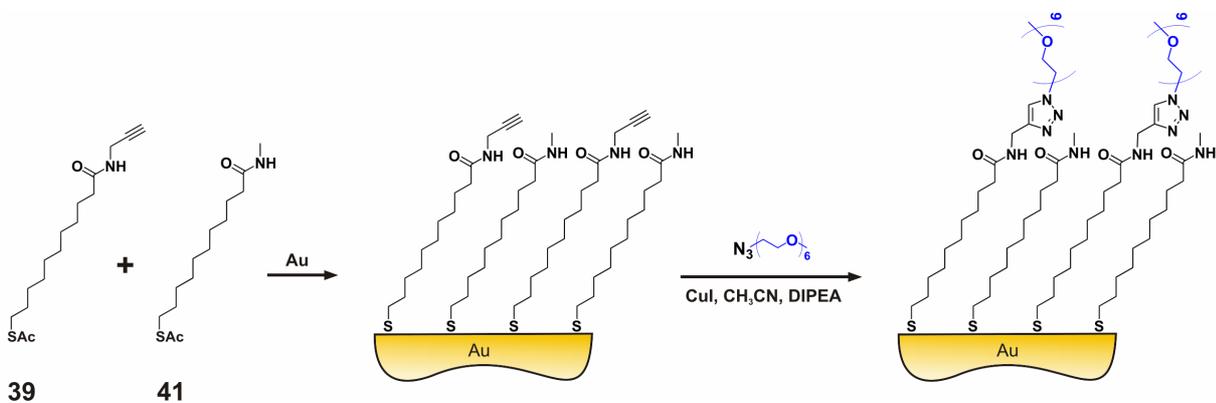


Abb. 52: Anbindung von MeEG₆N₃ auf verdünnte, Alkin-terminierte Thiolat-SAMs.

Es wurden gemischte SAMs mit unterschiedlichen Oberflächenkonzentrationen an Alkingruppen verwendet, die durch das gemeinsame Immobilisieren der Ethinyl- bzw. Methyl-terminierten Thioacetate **39** und **41** auf Gold erhalten wurden. Hierbei wurde davon ausgegangen, dass die Zusammensetzung der sich bildenden Monoschicht mit dem Mischungsverhältnis der Substanzen in der Abscheidungslösung identisch war.

Die Schichtdicken der untersuchten Monoschichten, sowie deren Veränderung durch die Click-Reaktion (Δd_{Click}) wurden durch ellipsometrische Messungen quantifiziert. Zu Vergleichszwecken wurden unter Annahme einer *all-trans*-Konformation aller schichtbildenden Moleküle bzw. Molekülteile für die verschiedenen SAMs theoretische, maximale Schichtdicken berechnet (d^{calc}).

Die mit dem Azido-OEG modifizierten Schichten wurden nach der Click-Reaktion auf ihre Biorepulsivität überprüft. Hierzu wurde die Fähigkeit der SAMs untersucht, die Adsorption des Test-Proteins *bovines Serumalbumin* (BSA) auf den Substraten zu

unterbinden. Die Proteinadsorption, bzw. die damit verbundene Veränderung der Schichtdicke Δd_{BSA} , wurde wiederum mit Hilfe der Ellipsometrie festgestellt. Die ermittelten Werte wurden mit Schichtdicken verglichen, die nach der BSA-Adsorption auf unbeschichteten Goldsubstraten gemessen wurden. Diese lagen typischerweise im Bereich um 20 Å.

Bei allen ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken handelte es sich um optische Schichtdicken, die direkt proportional zur Menge der im Messbereich vorhandenen Materie sind.

Anfangs bei Raumtemperatur durchgeführte Experimente an unverdünnten Alkin-terminierten SAMs zeigten, dass der durch die Click-Reaktion stattgefundene Zuwachs der Schichtdicke deutlich geringer ausfiel als erwartet. Ausgehend von einer Schichtdicke von 20.3 Å, die gut mit dem berechneten Wert (18.8 Å) für den unmodifizierten SAM übereinstimmte, kam es durch die Reaktion mit dem Azid nicht zu der erwarteten Schichtdickenzunahme von 18.6 Å (Tabelle 1).

Verhältnis 39:41^a	d_{SAM} [Å]	$d_{\text{SAM}}^{\text{calc}}$ [Å]	$\Delta d_{\text{click}}^{\text{b}}$ [Å]	$\Delta d_{\text{click}}^{\text{calc}}$ [Å]	Δd_{BSA} [Å]
1:0	20.3 ± 0.8	18.8	11.4 ± 1.0	18.6	4.9 ± 0.8
1:3	20.3 ± 0.6	17.2	9.2 ± 0.7	4.7	8.3 ± 0.5
1:4	18.9 ± 0.9	17.0	7.0 ± 1.1	3.7	11.2 ± 0.8
0:1	16.0 ± 2.4	16.6	-0.6 ± 1.0	0	nicht bestimmt

^a Verhältnis in der Abscheidungslösung ^b Reaktion über Nacht (t=15-16h)

Tabelle 1: Click-Reaktion mit Azid 32 an verdünnten Alkin-terminierten SAMs und BSA-Adsorption auf den modifizierten Schichten.

Im Vergleich zu unbeschichteten Goldsubstraten zeigten die hier erhaltenen SAMs mit 4.9 Å adsorbiertem Protein zwar eine signifikant verminderte Adsorption, jedoch keine vollständige Resistenz.

Zunächst wurde überprüft, ob das beobachtete Verhalten der modifizierten Schichten auf eine zu hohe Oberflächenkonzentration von Alkin-Funktionen zurückzuführen

war. Bei zu geringem Abstand zwischen zwei benachbarten Reaktionszentren kann es zu ungünstigen sterischen Wechselwirkungen zwischen den Reaktanden kommen. Dies kann zu einer unvollständigen Umsetzung der an der Oberfläche angebotenen Alkin-Funktionen zum Triazol führen und damit zu einer geringeren Dichte von OEG-Gruppen an der Oberfläche. Hieraus würden eine verminderte optische Schichtdicke und die unvollständige Proteinrepulsivität resultieren. Ein derartiges Verhalten wurde für analoge Reaktionen auf Azid-terminierten SAMs beobachtet.²²⁵ Hier wurden durch die Click-Reaktion nur Oberflächenbelegungen von ca. 50 % erreicht. Um eine zu hohe Dichte von Alkingruppen an der Oberfläche und die hieraus resultierenden störenden sterischen Effekte zu vermeiden, wurde die Reaktion unter den gleichen Bedingungen mit verdünnten Alkin-terminierten SAMs wiederholt. Die durch die Reaktion auftretenden Schichtdicken-Zuwächse waren jedoch wider Erwarten höher als die theoretischen Werte.

Da eine mögliche Nebenreaktion des Azids mit dem Verdünnungsmolekül ausgeschlossen werden konnte, war es während der SAM-Bildung wahrscheinlich zu einer Anreicherung der Alkin-terminierten Spezies in der Monoschicht gekommen. Hierdurch wäre erklärbar, dass mehr Azid als erwartet gebunden wurde. Die Annahme einer gleichen Verteilung der schichtbildenden Moleküle in Abscheidungslösung und resultierender Monoschicht war offensichtlich nicht korrekt. Es war daher nicht möglich, verdünnte SAMs definierter Zusammensetzung durch simultanes Abscheiden der Verbindungen **39** und **41** zu erhalten. Auch konnte nicht geklärt werden, ob beide Moleküle wirklich statistisch gemischt in der Schicht vorlagen, oder ob Domänenbildung aufgetreten ist. Bei der Domänenbildung handelt es sich um die Segregation beider Schichtkomponenten, die zu einer Entmischung des SAMs führt.^{368,369}

Verglichen mit den modifizierten unverdünnten SAMs fiel die BSA-Resistenz der verdünnten Systeme deutlich geringer aus. Dies deutete darauf hin, dass die Oberflächenkonzentration an OEG-Gruppen bei den verdünnten SAMs trotz des zu hohen Werts für Δd_{Click} insgesamt zu niedrig war, um die Anbindung des Proteins wirksam zu unterdrücken. Hieraus wurde geschlossen, dass die Verdünnung des Alkin-SAMs generell dazu führt, dass die modifizierten Schichten zu wenige OEG-Kopfgruppen tragen, um proteinrepulsives Verhalten zu zeigen. Aus diesem Grund und um eventuelle Effekte einer Domänenbildung auf die Reaktion auszuschließen, wurden alle weiteren Untersuchungen an unverdünnten, definiert zusammengesetzten Alkin-terminierten SAMs aus Verbindung **39** durchgeführt. Die Reaktion auf unverdünnten

SAMs sollte gleichzeitig Information über die maximal erreichbare Schichtdickenerhöhung geben.

Als nächstes wurde überprüft, ob ein Anheben der Reaktionstemperatur zu einer Erhöhung der Oberflächenbelegung mit OEG-Gruppen führt und ob hierdurch eine Verbesserung der proteinrepulsiven Eigenschaften der resultierenden Filme erzielt werden kann. Nachdem geklärt wurde, dass die Alkin-terminierten SAMs in Acetonitril selbst bei einer Temperatur von 80 °C keine signifikante Desorption zeigen,³⁶⁵ wurde die Click-Reaktion bei erhöhten Temperaturen durchgeführt. Wie Tabelle 2 zu entnehmen ist, hat die Reaktionstemperatur nur einen geringen Einfluss auf die auftretende Zunahme der Schichtdicke.

Temperatur [°C]	d_{SAM} [Å]	Δd_{Click} [Å]	Δd_{BSA} [Å]	t_{Reaktion} [h]
25	20.3 ± 0.8	11.4 ± 1.0	4.9 ± 0.8	15
40	19.2 ± 0.6	11.5 ± 0.9	2.0 ± 0.9	15
50	17.8 ± 0.7	14.9 ± 1.6	0.5 ± 2.6	16
60	16.3 ± 1.2	13.1 ± 1.9	-1.0 ± 2.2	15

Tabelle 2: Einfluss der Reaktionstemperatur auf die Click-Reaktion an SAMs aus Verbindung 39 und die BSA-Resistenz der resultierenden Schichten.

Selbst bei den höchsten Temperaturen entspricht der gemessene Zuwachs nur etwa 70 % des berechneten Maximalwerts von 18.8 Å. Dies bedeutet, dass 70 % der angebotenen Alkingruppen an der Reaktion teilgenommen haben. Anders verhält es sich mit der Repulsivität der SAMs gegenüber BSA. Hier ist ein deutlicher Trend zu verminderter Adsorption bei höheren Reaktionstemperaturen zu erkennen. Die Diskrepanz zwischen der sich kaum verändernden Schichtdicke Δd_{Click} und der steigenden BSA-Repulsivität legt nahe, dass es während der Reaktion zu einer Veränderung der Struktur der angebundenen OEG-Schicht kommt. Offensichtlich findet die Anbindung des Azids an den SAM schon bei geringen Temperaturen statt. Möglicherweise liegt hier eine den Intermediaten **b** oder **c** in Schema 36 entsprechende Zwischenstufe vor, die erst bei erhöhter Temperatur zum Triazol reagiert. Da die Biorepulsivität eines SAMs entscheidend von der Struktur der OEG-Schicht

beeinflusst wird, kann davon ausgegangen werden, dass auch die mit diesem Prozess verbundene Umstrukturierung des OEG-Bereichs Auswirkungen auf die BSA-Adsorption hat. Es kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, dass das Protein an die Metall-Zentren solcher kupferhaltigen Intermediate bindet und so auf der Oberfläche immobilisiert wird. Kupferverbindungen sind dafür bekannt, Proteine unter Denaturierung zu binden, was für einen solchen Vorgang spricht.^{370,371}

Da eine vollständige Repulsivität der Schichten ab einer Reaktionstemperatur von 50 °C beobachtet wurde, wurden alle nachfolgenden Reaktionen bei 50 °C durchgeführt.

Nach Optimierung der Reaktionstemperatur wurde die optimale Reaktionszeit für die Click-Reaktion ermittelt. Hierzu wurden eine Reihe von Versuchen mit unterschiedlichen Beschichtungsdauern durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 53 dargestellt.

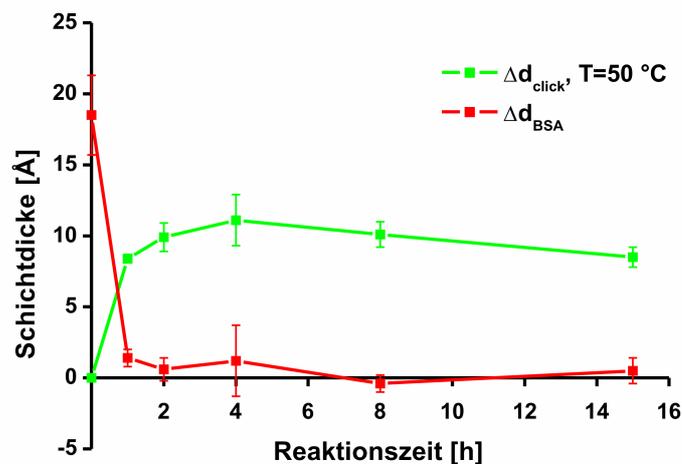


Abb. 53: Einfluss der Reaktionszeit auf die Schichtdicke und die BSA-Repulsivität.

Es ist zu erkennen, dass sich die Schichtdickenzunahme im Rahmen der Messgenauigkeit nach circa zwei Stunden nicht mehr signifikant veränderte. Vollständige Repulsivität gegenüber BSA zeigten die Proben allerdings erst nach einer Reaktionszeit von etwa acht Stunden. Vermutlich ist dieses Phänomen auf den gleichen Struktur-Effekt zurückzuführen, der oben für die temperaturabhängigen Messungen diskutiert wurde. Um einen möglichst vollständigen Abschluss der Click-Reaktion auf

den Alkin-terminierten SAMs zu gewährleisten, wurde als optimale Reaktionszeit eine Dauer von 16 h festgelegt.

Schichten, die durch das Immobilisieren von Molekülen mit OEG-Kopfgruppen gebildet wurden, zeigten, verglichen mit den über die Click-Methode funktionalisierten SAMs, eine signifikant niedrigere OEG-Oberflächendichte und keine vollständige BSA-Repulsivität.³⁶⁵ Die Hypothese einer höheren Packungsdichte der Schicht und damit verbunden einer höheren Oberflächenkonzentration aktiver Kopfgruppen bei nachträglich funktionalisierten Monoschichten konnte daher bestätigt werden.

5.2.1.2 Click-Reaktion in Acetonitril unter optimierten Bedingungen

Im vorherigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass mit der Click-Reaktion das Anbinden von OEG-Gruppen und damit die Einführung biorepulsiver Eigenschaften in Monoschichten möglich ist. Es wurde nun überprüft, ob sich die Reaktion auch zur Einführung der sensorisch aktiven Mannosylgruppen eignet.³⁶⁵ Hierzu wurde die Reaktion unter den optimierten Bedingungen mit dem azidhaltigen Mannose-Derivat **42** auf SAMs aus Verbindung **39** durchgeführt. Ellipsometrie und Kontaktwinkelmessungen zeigten, dass die Anbindung des Mannose-Derivats an die Schicht stattgefunden hatte.³⁶⁵ Unerwarteter Weise war die gemessene Zunahme der Schichtdicke um 10.8 Å deutlich höher als der berechnete Maximalwert von 6.5 Å. Eine mögliche Ursache hierfür könnte das Vorhandensein von physisorbiertem Material in der gebildeten Schicht sein. Auch das Auftreten einer unbekanntenen Nebenreaktion konnte nicht ausgeschlossen werden.

Die Kontaktwinkelmessungen zeigten das Vorliegen einer deutlich hydrophilen Oberfläche an. Allerdings lag der bestimmte *advancing* Kontaktwinkel mit 34 ° deutlich über dem für Hydroxyl-terminierte Oberflächen typischen Wert von 10 °-15 °.^{372,373} Dieser Umstand und die relativ große Kontaktwinkel-Hysterese von 17 ° deuteten auf eine gewisse Unordnung in der Schicht hin. Mit Hilfe von SPR-Messungen konnte jedoch eindeutig nachgewiesen werden, dass die Mannosyl-terminierten Schichten eine starke Affinität gegenüber dem Zielmolekül ConA aufwiesen und somit sensorische Aktivität zeigten. In Abb. 54 ist das SPR-Sensogramm dargestellt. Im Vergleich zu dem unmodifizierten Alkin-terminierten SAM, auf dem in

geringfügigem Umfang unspezifische Adsorption des Lektins stattfand, wurde auf der Mannosyl-funktionalisierten Schicht mehr als die achtfache Menge ConA gebunden. Dies folgt aus den Resonanzwinkelverschiebungen $\Delta\Theta_R$, die direkt proportional zur gebundenen Menge des Lektins sind.

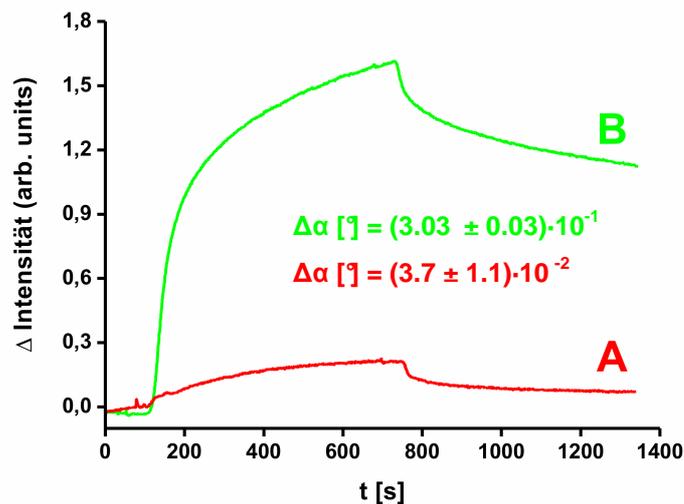


Abb. 54: SPR-Sensogramm für die Bindung von ConA an (A) Alkin- und (B) Mannosyl-terminierte SAMs.

Wie durch *Wang et al* gezeigt wurde, ist auch das gemischte Anbinden von OEG-Aziden und Kohlenhydrat-terminierten OEG-Aziden auf Alkin-terminierten SAMs möglich.²³⁷ Auf diese Weise konnten unterschiedliche Lektin-spezifische Biosensoren in einstufigen Prozessen erzeugt werden. Auf eine Wiederholung des bereits veröffentlichten Experiments wurde daher an dieser Stelle verzichtet.

Nachdem die Anbindung von organischen Aziden an SAMs aus Verbindung **39** gelungen war, sollte die Reaktion, wie in Abb. 51 dargestellt, an gemischten OEG-haltigen Monoschichten durchgeführt werden. Hierzu wurden SAMs durch gemeinsames Immobilisieren des Verdünnungsmoleküls **25** und des Alkins **40** auf Gold hergestellt. Das Mischungsverhältnis der beiden Moleküle wurde dabei so gewählt, dass die resultierenden Schichten Resistenz gegenüber BSA aufwiesen.³⁶⁵ Zunächst wurde die Anbindung des OEG-Azids **32** unter den optimierten Reaktionsbedingungen untersucht. Unerwarteter Weise kam es durch die Reaktion jedoch nicht zu einer Erhöhung der Schichtdicke, sondern zu einer dramatischen Abnahme von circa 12 Å,

die sich nur durch eine massive Desorption von Molekülen aus der Monoschicht erklären ließ. Auch zeigten die Schichten nach der Reaktion keine vollständige BSA-Repulsivität mehr. In allen Fällen wurde ein Proteinfilm von etwa 3 Å ermittelt.

Es wurde vermutet, dass die Desorption durch das Zusammenspiel von polarem Lösungsmittel und dem darin gelösten Cu(I)-Katalysator verursacht wurde. Diese Hypothese gründete sich auf folgende Annahmen. Zum einen weisen EG-haltige SAMs eine gegenüber Alkanthiolat-Monoschichten deutlich verminderte Packungsdichte auf.^{374,375} Daher ist die Schicht nicht optimal durch Van der Waals-Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten stabilisiert, wodurch eine Desorption erleichtert wird. Da die EG-haltigen Moleküle recht polar sind, sollte dieser Vorgang durch ein polares Lösungsmittel zusätzlich begünstigt werden. Die in Lösung vorliegende Cu(I)-Spezies könnte nun die desorbierten Moleküle über deren Thiolat-Funktion fest an sich binden und so eine zusätzliche Verschiebung des Adsorptions / Desorptions-Gleichgewichts in Richtung der Desorption bewirken. Der vermutete Ablauf der Desorption ist schematisch in Abb. 55 dargestellt.

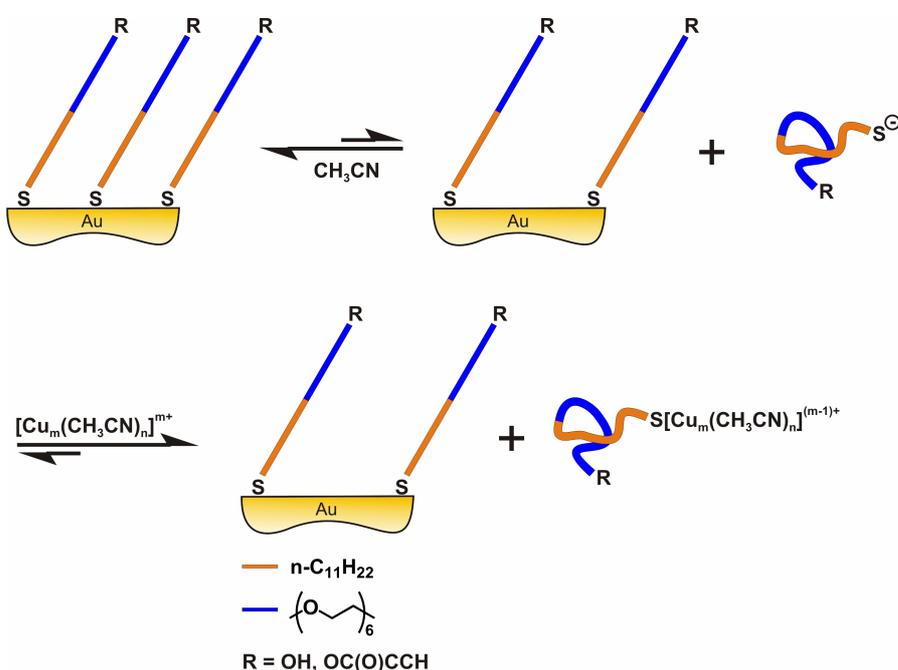


Abb. 55: Cu(I)-unterstützte Desorption eines EG-haltigen SAMs.

Zur Klärung dieses Sachverhalts wurden Desorptionsversuche mit gemischten SAMs und SAMs aus Verdünnungsmolekül **25** durchgeführt. Hierzu wurden die entsprechend beschichteten Substrate unter den optimierten Bedingungen mit Lösungen

von CuI und DIPEA in Acetonitril behandelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Verhältnis 25:40^a	d_{SAM} (vor) ^b [Å]	d_{SAM} (nach) ^c [Å]	Δd [Å]
1:1 ^d	20.9 ± 0.3	24.1 ± 0.7	3.2 ± 0.8
1:1	25.7 ± 0.1	18.2 ± 0.4	-7.5 ± 0.4
1:0	24.1 ± 0.6	14.1 ± 0.5	-10.0 ± 0.8

^a Verhältnis in der Abscheidungslösung, ^b vor Desorptionstest

^c nach Desorptionstest, ^d ohne CuI bzw. DIPEA-Zusatz

Tabelle 3: Cu(I)-vermittelte Desorption von OEG-haltigen SAMs.

Sowohl bei dem gemischten SAM als auch bei dem SAM aus Verdünnungsmolekül **25** kam es bei Verwendung von CuI und DIEPA in Acetonitril zu einer ausgeprägten Schichtdesorption. In einem Gegenversuch, bei dem nur Acetonitril verwendet wurde, konnte hingegen keine Desorption beobachtet werden. Hier kam es im Gegenteil zu einer leichten Erhöhung der Schichtdicke, die eventuell durch in die Schicht eingelagertes Acetonitril hervorgerufen wurde. Ein Mitwirken des Cu(I)-Katalysators bei der Schicht-Desorption konnte daher eindeutig nachgewiesen werden.

5.2.2 Click-Reaktion in unpolaren organischen Lösungsmitteln

Neben dem stark polaren Acetonitril-basierten System wurden auch unpolare Reaktionsmedien für die Click-Reaktion auf SAMs entwickelt. Primäre Motivation hierfür war, die Reaktion zur Modifizierung EG-haltiger Monoschichten nutzbar zu machen. Unpolare Lösungsmittel sollten die in Abb. 55 dargestellte initiale Desorption der recht polaren Schichtmoleküle zurückzudrängen und eine starke Verschiebung des Desorptionsgleichgewichts zugunsten der Adsorption bewirken. Hierdurch würde der gesamte Schichtabbau verlangsamt und eine Stabilisierung des SAMs erreicht werden.

Daneben erweitert der Einsatz unpolarer Lösungsmittel den Anwendungsbereich der Click-Reaktion deutlich. So können auch unpolare Reagenzien zur SAM-Funktionalisierung verwendet werden, da eine ausreichende Löslichkeit im Reaktionsmedium gewährleistet wird.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ein Toluol- und ein n-Hexan-basiertes Reaktionssystem entwickelt. Die Wahl fiel auf diese Lösungsmittel, da sie beide als unpolar einzustufen sind, sich in ihrer Polarität jedoch signifikant voneinander unterscheiden. So ist die aliphatische Verbindung n-Hexan als rein unpolar einzustufen, wogegen Toluol als aromatische Substanz eine deutlich höhere Polarität aufweist.

Die wesentliche Aufgabe, die es zu lösen galt, um Click-Reaktionen in diesen Lösungsmitteln durchführen zu können, bestand in dem Auffinden eines geeigneten Katalysator / Cokatalysator-Systems. Im Unterschied zu Acetonitril handelt es sich bei Toluol und n-Hexan um nur schwach bzw. nicht koordinierende Lösungsmittel. Kupfer(I)-Iodid, das sich in den Reaktionen mit Acetonitril als Katalysator bewährt hatte, zeigte deshalb in den unpolaren Reaktionsmedien keine Löslichkeit. Dieses Problem sollte durch Komplexierung des Cu(I)-Katalysators mit alkylsubstituierten Liganden gelöst werden. Durch das Anbringen eines unpolaren Ligandensystems am Metallzentrum sind effiziente Van der Waals-Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel möglich, wodurch die Löslichkeit des Komplexes im Vergleich zur unkomplexierten Verbindung stark erhöht sein sollte.

Es gibt eine Reihe von Liganden, die in der Lage sind, stabile Komplexe mit Kupfer(I)-Salzen zu bilden. Vor allem Triphenylphosphan- und aromatische Stickstoffliganden wie Pyridin, Pyrimidin oder Phenanthrolin sind dafür bekannt, stark an das Cu(I)-Zentrum zu koordinieren, ohne die katalytische Aktivität negativ zu beeinflussen.^{376,377}

Click-Reaktionen, homogen katalysiert durch Komplexe dieser Art, werden jedoch fast ausschließlich in koordinierenden, polaren Lösungsmitteln wie Acetonitril, DMSO oder THF durchgeführt. Homogen katalysierte Click-Reaktionen in unpolaren Lösungsmitteln sind hingegen wenig untersucht. Zu nennen wäre in diesem Zusammenhang die Bildung von in Toluol löslichen, katalytisch aktiven Cu(I)-Komplexen, die durch den Einsatz von Pyridylmethanimin-Liganden erhalten werden können.³⁷⁶

Im Gegensatz zu den aromatischen Stickstoffliganden ist die Eignung entsprechender nichtaromatischer Verbindungen, wie Aminen, zur Komplexierung des Cu(I)-Katalysators nur sehr wenig untersucht. Tertiäre Amine wie DIPEA oder Triethylamin

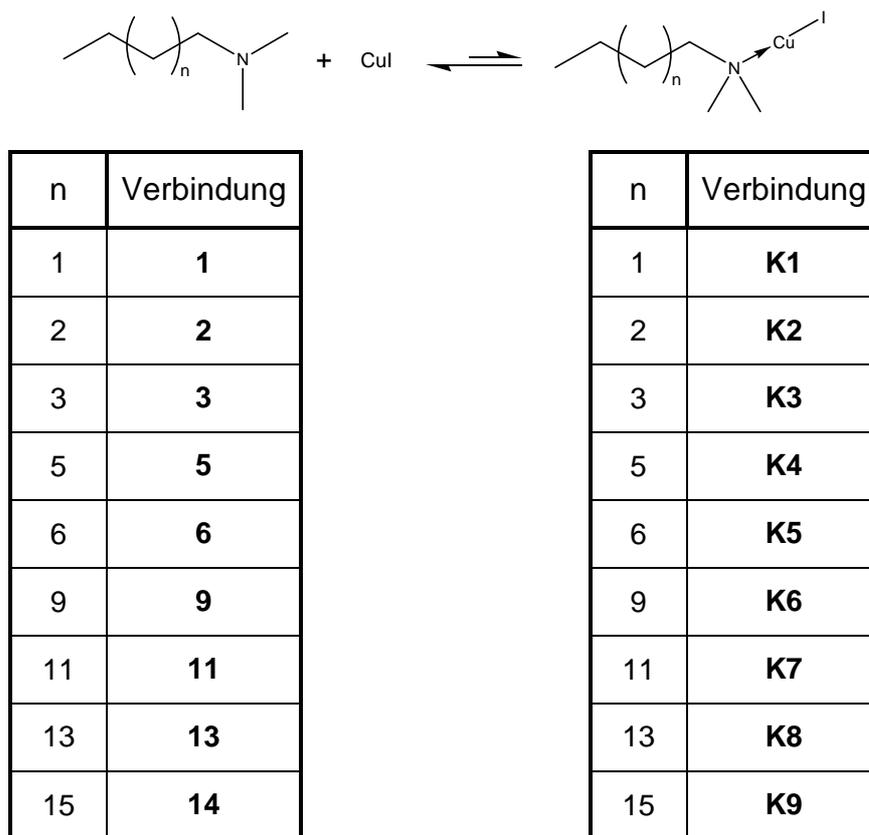
werden zwar als basische Cokatalysatoren in der Click-Reaktion eingesetzt,³⁷⁸ jedoch ist unbekannt, ob Verbindungen dieses Typs zur Bildung katalytisch aktiver, in unpolaren Lösungsmitteln löslicher Komplexen geeignet sind.

Die Verwendung tertiärer Alkylamine zur Komplexierung des Katalysators würde gegenüber anderen Liganden eine Reihe von Vorteilen bieten. Zum einen könnte über die Länge der Alkylkette die Wechselwirkungsstärke mit dem unpolaren Lösungsmittel variiert werden. Weiterhin würde das verwendete Amin sowohl als Komplexligand als auch als basischer Cokatalysator fungieren, wodurch auf die Zugabe einer zusätzlichen Base zum System verzichtet werden könnte. Zudem ist bekannt, dass die Anwesenheit überstöchiometrischer Mengen tertiärer Amine die Oxidationsempfindlichkeit von Cu(I)-Zentren deutlich vermindert.³⁷⁹ Amin-Liganden sollten daher die Sauerstoffempfindlichkeit der katalytisch aktiven Cu(I)-Spezies herabsetzen.

Aufgrund der hier beschriebenen Vorteile tertiärer Amine gegenüber anderen Liganden sollte untersucht werden, ob sich langkettige *N,N*-Dimethylalkylamine dazu eignen, mit Kupfer(I)-iodid katalytisch aktive Komplexe zu bilden, die in unpolaren Lösungsmitteln löslich sind.

5.2.2.1 *N,N*-Dimethylalkylaminiodidkupfer(I)-Komplexe als Click-Katalysatoren

Aus der Literatur ist bekannt, dass tertiäre Amine wie Triethylamin und Trimethylamin mit Kupfer(I)-Halogeniden 1:1-Addukte bilden.³⁸⁰ Zunächst wurde daher überprüft, ob *N,N*-Dimethylalkylamine mit Kupfer(I)-iodid in analoger Weise reagieren und inwieweit die Komplexierung die Löslichkeitseigenschaften des Katalysators verändert. Hierzu wurde Kupfer(I)-iodid in *n*-Hexan beziehungsweise in Toluol suspendiert und unter Erwärmen langsam mit dem entsprechenden *N,N*-Dimethylalkylamin versetzt (Schema 35).



Schema 37: Herstellung der Katalysatorlösungen in n-Hexan und Toluol.

Durch die Zugabe mehrerer Äquivalente Amin konnte der Feststoff vollständig gelöst werden. Demnach hatte eine Komplexbildung stattgefunden, durch die die Löslichkeit der Kupferverbindung, wie erhofft, erhöht wurde. Auffällig war, dass die erforderlichen Mengen an Amin mit der Länge des Alkylrestes abnahmen. So wurden in beiden Lösungsmitteln, bezogen auf das eingesetzte CuI, etwa zehn Äquivalente des Amins **1** zur Darstellung der Katalysatorlösung **K1** benötigt. Zur Präparation entsprechender Lösungen von **K9** waren dagegen nur etwa vier Äquivalente **14** notwendig. Die relativ hohen Amin-Konzentrationen, die für die vollständige Komplexbildung des Kupfer(I)-iodids notwendig waren, sprechen für eine verhältnismäßig kleine Komplexbildungskonstante des Katalysator-Komplexes. Thermodynamische Untersuchungen der Reaktion von Kupfer(I)-iodid mit Triethylamin zu Triethylamin-iodidokupfer(I) unterstützen diese Annahme. Für die Freie Reaktionsenthalpie dieser Reaktion wurde ein Wert von $\Delta G_R = -1.42 \text{ kcal/mol}$ gefunden.³⁸⁰ Dieser Wert spricht für eine schwache Bindung des Amin-Stickstoffs an das Cu-Zentrum und damit für eine kleine Komplexbildungskonstante.

Nachdem die Darstellung von in unpolaren Lösungsmitteln löslichen Kupfer(I)-Komplexen gelungen war, mussten die Verbindungen auf ihre katalytische Aktivität überprüft werden. Zu diesem Zweck wurde die Click-Reaktion des MeOEG-Azids **32** mit 1-Octin unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Stellvertretend für alle Komplexe wurde hier *N,N*-Dimethyldodecylaminiodidokupfer(I) auf katalytische Aktivität überprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt. Die dort aufgeführten Reaktionsumsätze wurden mit Hilfe von $^1\text{H-NMR}$ -Spektren berechnet, die nach den jeweiligen Reaktionen aufgenommen wurden.

Lösungsmittel	Katalystor-System	Temperatur [°C]	Umsatz ^a [%]
Toluol	CuI	25	0
Toluol	CuI	60	2
Toluol	CuI	80	2
Toluol	CuI / C ₁₂ NMe ₂	60	95
n-Hexan	CuI / C ₁₂ NMe ₂	25	95
n-Hexan	CuI / C ₁₂ NMe ₂	60	97

^a Reaktion von Azid **32** mit 1-Octin

Tabelle 4: Überprüfung der katalytischen Aktivität von *N,N*-Dimethyldodecylaminiodidokupfer(I).

Wie Tabelle 4 entnommen werden kann, fand die Reaktion in beiden Lösungsmitteln nur dann in nennenswertem Umfang statt, wenn der Katalysator im Reaktionsmedium gelöst vorlag. Alle Reaktionen, denen nur Kupfer(I)-iodid zugesetzt wurde, zeigten selbst bei hohen Temperaturen keinen nennenswerten Umsatz. Bei Verwendung des löslichen Kupfer(I)-Komplexes als Katalysator wurden hingegen schon bei Raumtemperatur quantitative Umsätze beobachtet. Auch bei erhöhten Reaktions-temperaturen, die aus bereits erwähnten Gründen für die Click-Reaktion auf SAMs notwendig sind, verlief die katalysierte Reaktion glatt und ohne die Bildung von Nebenprodukten.

5.2.2.2 Click-Reaktionen auf Alkin-terminierten Monoschichten mit Toluol und n-Hexan als Lösungsmittel

Nachdem ein aktives Katalysator / Cokatalysator-System für die Click-Reaktion in unpolaren Lösungsmitteln gefunden war, wurde dessen Eignung zur Modifikation Alkin-terminierter SAMs untersucht. Als Testreaktion diente wieder die Reaktion des MeOEG-Azids **32** mit SAMs von Alkin **39** auf Gold. Die Reaktion wurde sowohl in n-Hexan als auch in Toluol als Lösungsmittel durchgeführt. Als Katalysatoren dienten die Kupfer(I)-Komplexe **K1-K9**.

Die durch die Click-Reaktion verursachten Veränderungen der SAM-Schichtdicke sowie die BSA-repulsiven Eigenschaften der modifizierten Monoschichten wurden durch ellipsometrische Messungen quantifiziert.

Click-Reaktion in Toluol

Zunächst wurde die Click-Reaktion unter Verwendung der verschiedenen Katalysatoren in Toluol als Lösungsmittel durchgeführt. Die durch die Click-Reaktion hervorgerufenen Schichtdickenzuwächse Δd_{Click} sowie die Ergebnisse der BSA-Adsorption auf den modifizierten SAMs sind in Abb. 56 zusammengefasst.

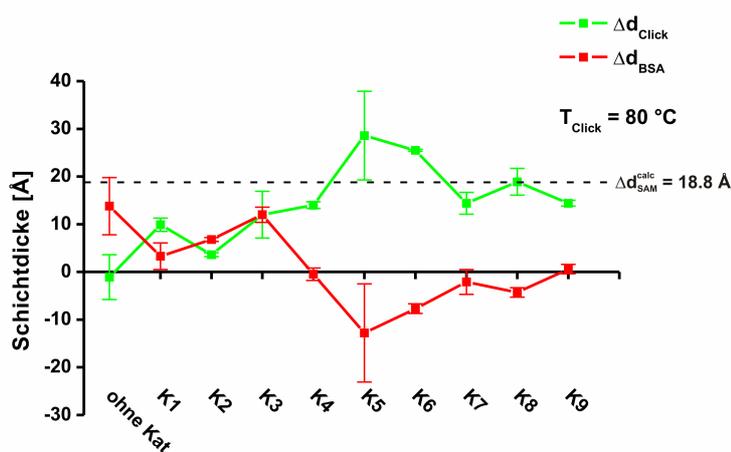


Abb. 56: Schichtdickenzunahme durch die Click-Reaktion in Toluol bzw. BSA-Adsorption auf den modifizierten SAMs, $c_{\text{Cu(I)}} = 50 \text{ mM}$.

Der Einsatz aller Katalysatoren führte zu einer deutlichen Erhöhung der Schichtdicke. Dieser Schichtdickenzuwachs konnte auf die Anbindung von MeEG₆-Gruppen an die Monoschicht zurückgeführt werden. Hierfür sprach die deutlich verminderte, in manchen Fällen sogar völlig unterdrückte Proteinadsorption.

Bei den Reaktionen in Toluol erhöhte sich sowohl die Schichtdickenzunahme Δd_{Click} als auch die BSA-Repulsivität der modifizierten Schichten mit steigender Kettenlänge des Amins. Dies deutete darauf hin, dass die Oberflächendichte der durch die Click-Reaktion in den SAM eingeführten MeEG₆-Gruppen mit der Länge des Alkylrests im Liganden zunahm. Ab einer Kettenlänge von acht Kohlenstoffatomen in der Alkylkette des Amins konnte vollständige Repulsivität beobachtet werden.

Einige der Messwerte für die Schichtdicke des adsorbierten Proteins waren negativ. Dies kann durch eine beim BSA-Adsorptionsexperiment aufgetretene Desorption von locker gebundenem Material aus dem SAM erklärt werden. Vermutlich sind während der Reaktion Lösungsmittel- beziehungsweise Katalysatormoleküle in die Monoschicht interkaliert. Diese können dann während der Behandlung des SAMs mit der Proteinlösung aus der Schicht ausgewaschen worden sein und so zu einer Verminderung der ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken geführt haben. Dieses Phänomen trat immer dann auf, wenn der Schichtdickenzuwachs durch die Click-Reaktion Werte von circa 13 Å überstieg. Eine Erhöhung der Schichtdicke um etwa 13 Å wurde auch bei den Reaktionen in Acetonitril beobachtet. Dieser Wert scheint daher die maximal erreichbaren Schichtdickenzunahme wiederzuspiegeln. Die hier bestimmten höheren Schichtdicken deuteten daher auf das Vorliegen von physisorbiertem Material im modifizierten SAM hin. Hierfür sprach auch, dass der während der BSA-Adsorption auftretende Schichtdickenverlust in etwa mit der positiven Abweichung der gemessenen Click-Schichtdicken von diesen 13 Å korrelierte. Wodurch die unterschiedlich starke Physisorption von Molekülen aus dem Reaktionsmedium verursacht wurde, konnte nicht geklärt werden. Auch schien kein systematischer Zusammenhang zwischen der Kettenlänge des Amin-Liganden und dem Auftreten dieses Phänomens zu bestehen. Der Effekt erreichte im Fall der Nonyl-Verbindung ein Maximum und schwächte sich dann mit steigender Kettenlänge des Liganden wieder ab.

Click-Reaktion in n-Hexan

Analog zu den Versuchen in Toluol wurde die Click-Reaktion unter Verwendung der Katalysatoren **K1-K9** in n-Hexan als Lösungsmittel durchgeführt. In Abb. 57 sind die Schichtdickenzunahme Δd_{Click} der verschiedenen Systeme und die Ergebnisse der BSA-Adsorption auf den modifizierten SAMs dargestellt.

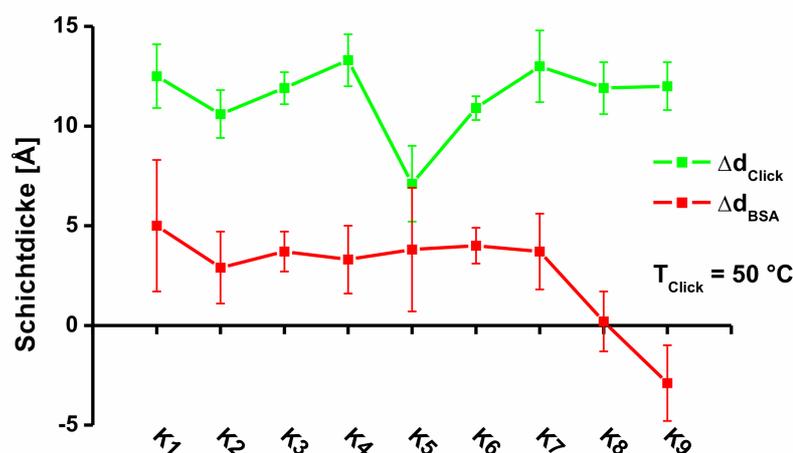


Abb. 57: Schichtdickenzunahme durch die Click-Reaktion in n-Hexan bzw. BSA-Adsorption auf den modifizierten SAMs, $c_{\text{Cu(I)}} = 10 \text{ mM}$, $d_{\text{SAM}}^{\text{calc}} = 18.8 \text{ \AA}$.

Die auf die Click-Reaktion zurückzuführende Zunahme der Schichtdicke zeigte im Rahmen der Messgenauigkeit keine Abhängigkeit vom verwendeten Katalysator. Im Gegensatz zu den in Toluol durchgeführten Reaktionen wurde fast immer ein Wert um 13 \AA gemessen. Einzige Ausnahme bildete die Reaktion, die durch Komplex **K5** katalysiert wurde. Hier lag die Schichtdickenzunahme Δd_{Click} mit circa 7 \AA deutlich niedriger. Anscheinend nimmt das Katalysator / Cokatalysator-System **K5 / 6** eine Sonderstellung ein, denn sowohl in Toluol als auch in Hexan wurden hier reproduzierbar stark von den übrigen Reaktionen abweichende Ergebnisse erhalten. Der Grund für dieses Verhalten konnte nicht geklärt werden. In der folgenden Diskussion werden die für dieses System ermittelten Werte daher nicht berücksichtigt.

Obwohl Δd_{Click} in allen Fällen vergleichbare Werte aufwies, führte die Verwendung der Katalysatoren **K1 – K7** zu unvollständig BSA-repulsiven SAMs. Im Vergleich zu unbehandeltem Gold war die Adsorption auf diesen Proben zwar um circa 80 %

vermindert, die Anbindung von Proteinfilmern einer Dicke zwischen 3 Å und 5 Å konnte jedoch nicht unterbunden werden. Möglicherweise kann dieses teilrepulsive Verhalten, wie bereits an früherer Stelle für das Acetonitril-basierte System diskutiert, auf eine unvollständige Reaktion und das Vorliegen von kupferhaltigen Reaktionsintermediaten (**b**, **c** in Schema 36) auf der Monoschicht zurückgeführt werden. Die genauen Zusammenhänge sind jedoch auch in diesem Fall unklar.

Monoschichten, die durch Einsatz der Katalysatoren **K8** und **K9** funktionalisiert wurden, wiesen hingegen bei vergleichbarer Schichtdickenzunahme durch die Click-Reaktion vollständige BSA-Repulsivität auf. Bei Verwendung von Katalysator **K9** zeigten die modifizierten SAMs während der Proteinadsorption allerdings Desorptionserscheinungen. Dies deutete auf das Vorliegen von physisorbiertem Material hin und drückte sich in negativen Werten der Schichtdicke des adsorbierten Proteinfilms aus.

Der Grund für die höhere Proteinrepulsivität, die bei der Verwendung der Katalysatoren **K8** und **K9** erzielt wurde, konnte nicht geklärt werden. Ein massiver Einfluss der Kettenlänge des Liganden auf die Katalysatoreigenschaften ist unwahrscheinlich, da davon ausgegangen werden kann, dass die Größe des Alkylrests einen nur unwesentlichen elektronischen Einfluss auf das Zentralatom ausübt. Aus sterischen Gründen wäre eher eine mit steigender Länge der Alkylkette abnehmende Aktivität zu erwarten. Im Experiment wurde jedoch ein genau entgegengesetztes Verhalten beobachtet, was auf den Einfluss eines oder mehrerer weiterer Faktoren auf die Reaktion hinwies.

Um das beobachtete Verhalten zu erklären, wurde untersucht, ob eventuell eine empfindliche Abhängigkeit der Reaktion von der Katalysatorkonzentration bestand. In so einem Fall könnten bereits kleine Schwankungen des Cu(I)-Gehalts der Katalysatorlösung einen großen Einfluss auf den Reaktionsverlauf haben. Es wurde daher eine Reihe von Reaktionen mit stark unterschiedlichen Konzentrationen des Katalysators **K9** durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 58 dargestellt.

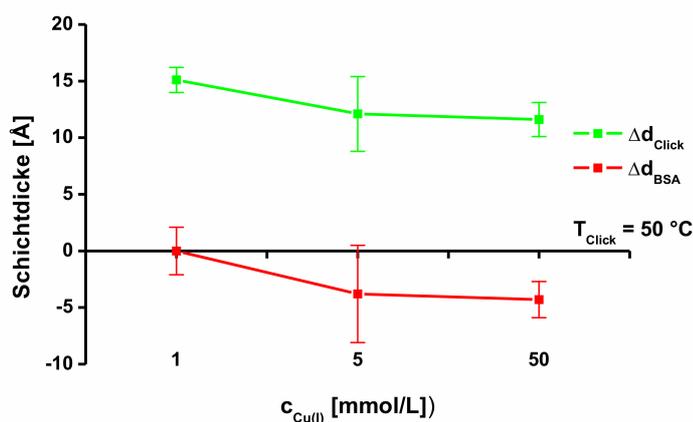


Abb. 58: Abhängigkeit der Click-Reaktion von der Cu(I)-Konzentration der Reaktionslösung, $d_{\text{SAM}}^{\text{calc}} = 18.8 \text{ \AA}$.

Im Bereich von Katalysatorkonzentrationen von $c_{\text{Cu(I)}} = 1 \text{ mM} - 50 \text{ mM}$ konnte keine signifikante Beeinflussung von Δd_{Click} durch den Kupfergehalt festgestellt werden. Gleiches galt für die BSA-repulsiven Eigenschaften der modifizierten SAMs. Allerdings schien die Menge von physisorbierten Material auf den Proben mit steigendem Cu(I)-Gehalt der Reaktionslösung zuzunehmen. Im Rahmen der Messgenauigkeit war jedoch kein eindeutiger Trend erkennbar. Diese Ergebnisse machten deutlich, dass Schwankungen des Cu(I)-Gehalts der verwendeten Reaktionslösungen nicht für die beobachteten Phänomene verantwortlich gewesen sein konnten.

Ein Vergleich der Daten aus Abb. 58 mit den entsprechenden Einträgen für den Katalysator **K6** ($\text{C}_{12}\text{NMe}_2$) in Abb. 57 zeigt jedoch, dass die Reaktionen, obwohl sie unter gleichen Bedingungen stattfanden, zu deutlich unterschiedlichen Ergebnissen bezüglich der BSA-Repulsivität führten. Dieses Phänomen wurde auch in anschließenden Untersuchungen oft beobachtet. Die Schichtdickenzunahme Δd_{Click} war in allen Versuchen vergleichbar und lag bei circa 13 \AA . Die BSA-Repulsivität schwankte jedoch stark. Manche Proben zeigten völlige Repulsivität wogegen die Adsorption auf anderen nur teilweise unterdrückt wurde. Der Grund hierfür konnte nicht geklärt werden. Eventuell wird die Reaktion durch weitere, bereits in Spuren katalytisch aktive Spezies beeinflusst, die bei manchen Versuchen zugegen waren, bei anderen wiederum nicht. Zur Klärung dieses Sachverhalts bedarf es jedoch noch weiterer Untersuchungen.

Ein Vergleich der Ergebnisse der Reaktionen, die in Toluol beziehungsweise in n-Hexan durchgeführt wurden, zeigte zwei wesentliche Unterschiede. In Hexan führte die Click-Reaktion unabhängig vom verwendeten Katalysator zu Schichten überwiegend einheitlicher Dicke, die im erwarteten Bereich von 13 Å lagen. In Toluol hingegen waren die ermittelten Schichtdicken von System zu System stark verschieden ohne einem erkennbaren Trend zu folgen. Dieser Umstand ist vermutlich nicht auf einen unterschiedlichen Einfluss des verwendeten Lösungsmittels auf die Katalysator-Aktivität zurückzuführen, sondern eher auf die verschiedenen Reaktionstemperaturen. Die Reaktionen in Toluol wurden bei einer Temperatur von 80 °C durchgeführt, wogegen die Click-Reaktionen in Hexan bei 50 °C verliefen. Es wäre denkbar, dass die höhere Temperatur im Toluol-basierten System, im Zusammenspiel mit den im Reaktionsmedium anwesenden Aminen, für die uneinheitlichen Ergebnisse verantwortlich war. Möglicherweise fand in Abhängigkeit vom verwendeten Amin eine unterschiedlich starke SAM-Desorption, beziehungsweise eine unterschiedlich starke Interkalation von Molekülen in die Schicht statt. Hierdurch wären sowohl die teilweise sehr dünnen als auch die deutlich zu hohen, auf physisorbiertes Material zurückzuführenden Schichtdicken erklärbar.

Ein weiterer Unterschied bestand in der Proteinrepulsivität der modifizierten SAMs. Beim Toluol-basierten System wurde generell öfter vollständig repulsives Verhalten beobachtet als beim Hexan-basierten. Vermutlich spielte auch hier die höhere Reaktionstemperatur eine Rolle, die sich positiv auf die proteinrepulsiven Eigenschaften der Schicht ausgewirkt haben könnte.

ConA-spezifische Sensoren konnten mit den Toluol- und Hexan-basierten Systemen nicht hergestellt werden. Der Grund hierfür war, dass sich das Azid-modifizierte Mannosederivat **42** aufgrund seiner hohen Polarität in den Reaktionsmedien nicht löste. Der Beleg für die Eignung dieser Systeme zur Erzeugung von Biosensoren steht daher noch aus. Als problematisch ist in diesem Zusammenhang die nicht immer gegebene Biorepulsivität der modifizierten Schichten zu nennen, da hierdurch unspezifische Wechselwirkungen mit dem Analyten nicht ausgeschlossen werden können.

5.2.2.3 Click-Reaktion auf Alkin-terminierten OEG-haltigen SAMs in n-Hexan

Die unpolaren Reaktionssysteme wurden primär mit dem Ziel entwickelt, die Desorption OEG-haltiger SAMs während der Click-Reaktion zu vermindern. Um zu untersuchen, ob der Einsatz eines unpolaren Lösungsmittels den Grad der Schichtdesorption wirklich reduziert, wurde Azid **32** mit SAMs aus Alkin **40** in Hexan umgesetzt. Hierfür wurde repräsentativ das Katalysator / Cokatalysator-System **K6 / 9** verwendet.

In Tabelle 5 sind die Veränderungen der Schichtdicke durch die Click-Reaktion und die Resultate der Proteinadsorption dargestellt. Unter Eintrag 1 sind die Ergebnisse für einen mit der Click-Reaktion modifizierten SAM angegeben. Eintrag 2 gibt zu Vergleichszwecken die BSA-Adsorption auf einem SAM aus Alkin **40** an, der nicht der Click-Reaktion unterworfen wurde.

Eintrag	d_{SAM} [Å]	$\Delta d_{\text{Click}}^{\text{a}}$ [Å]	$\Delta d_{\text{BSA}}^{\text{b}}$ [Å]
1	25.6 ± 0.4	-5.6 ± 2.7	13.0 ± 3.1
2	24.9 ± 0.6	keine Click-Reaktion	4.5 ± 1.5

^a $T_{\text{Click}} = 55 \text{ }^{\circ}\text{C}$, ^b Au-Referenz: $\Delta d_{\text{BSA}} = (20.1 \pm 0.9) \text{ Å}$

Tabelle 5: Click-Reaktion von Azid 32 auf SAMs aus dem EG₆-haltigen Alkin 40 in n-Hexan.

Die Ergebnisse in Tabelle 5 (Eintrag 1) machen deutlich, dass auch durch die Verwendung von Hexan als Lösungsmittel die Schichtdesorption während der Click-Reaktion nicht vollständig unterdrückt werden konnte. Beobachtet wurde eine Schichtdickenabnahme von etwa 6 Å. Im Vergleich zum Acetonitril-basierten System fiel die Schichtdickenverminderung jedoch deutlich geringer aus, was auf den gewünschten Einfluss des unpolaren Lösungsmittels schließen ließ. An dieser Stelle sei erwähnt, dass die durch die Click-Reaktion bewirkte Abnahme der Schichtdicke nur bedingt Rückschlüsse auf den Umfang der Desorption zulässt. Grund hierfür ist, dass die durch Schichtabbau hervorgerufene Erniedrigung der Schichtdicke mit der durch die Triazol-Bildung bewirkten Erhöhung überlagert. Da aber, wie weiter oben diskutiert, davon ausgegangen werden kann, dass die Reaktion in beiden Systemen zu

einem vergleichbaren Anstieg der Schichtdicke führt, ist ein qualitativer Vergleich zulässig.

Obwohl die finale Schichtdicke der in Hexan modifizierten Proben mit 20 Å höher war als die der im Acetonitril-basierten System funktionalisierten SAMs ($d = 18.2 \text{ Å}$), zeigten sie eine wesentlich stärkere Proteinadsorption ($\Delta d_{\text{BSA,Hexan}} = 13 \text{ Å}$, $\Delta d_{\text{BSA,Acetonitril}} = 3 \text{ Å}$). Die höhere Repulsivität der in Acetonitril funktionalisierten SAMs war jedoch zu erwarten, da hier gemischte Monoschichten eingesetzt wurden, die einen hohen Anteil an Verdünnungsmolekülen mit proteinrepulsiver EG_6OH -Kopfgruppe aufwiesen. Auch nach teilweisem Abbau der Schicht reichte die Oberflächenkonzentration dieser Gruppen noch aus, um die BSA-Adsorption signifikant zu vermindern.

Auf den in Hexan modifizierten Proben fand allerdings auch eine deutlich stärkere BSA-Adsorption statt als auf den unbehandelten Alkin-SAMs. Die beiden Einträge in Tabelle 5 machen deutlich, dass die Menge an gebundenem Protein auf den modifizierten SAMs im Vergleich zu den unbehandelten Alkin-SAMs um fast 300 % erhöht war. Die reaktionsbedingte Schichtdesorption war zu gering, um als wesentliche Ursache für die verstärkte Proteinadsorption in Frage zu kommen. Daher musste der Verlust an proteinrepulsivem Verhalten maßgeblich durch andere Faktoren verursacht worden sein. Als wahrscheinlichste Ursache kommen an der SAM-Oberfläche gebundene oder in die Schicht eingelagerte Kupferverbindungen in Frage. Diese können Proteine unter Denaturierung gebunden und so zu der beobachteten Schichtverdickung geführt haben.³⁷⁰ Diese Hypothese wird durch Untersuchungen gestützt, die belegen, dass flexible Oligo- und Poly-Alkine sehr stabile Kupfer(I)-Komplexe bilden.³⁸¹ SAMs aus Verbindung **40** erfüllen ebenfalls die Kriterien eines flexiblen Poly-Alkins: Aufgrund der Größe der Alkin-terminierten Moleküle sind die Schichten eher locker gepackt, was zu einer recht hohen Beweglichkeit der einzelnen Ketten führt. Daher ist anzunehmen, dass die Alkin-Funktionen der Schichtmoleküle mit dem Kupfer(I)-Katalysator stabile Kupfer-Alkin-Chelatkomplexe gebildet haben, die zur Denaturierung des BSA auf der Monoschicht geführt haben.

5.3 Zusammenfassung des Kapitels Click-Chemie

Es wurden verschiedene Reaktionssysteme für die Click-Reaktion organischer Azide mit Alkin-terminierten SAMs entwickelt. Hierzu zählen ein polares Acetonitril-basiertes sowie zwei unpolare Toluol- beziehungsweise n-Hexan-basierte Systeme.

Im Acetonitril-basierten System wurde Tetrakis(acetonitril)iodidokupfer(I) als Katalysator eingesetzt. Die Reaktion wurde bezüglich Reaktionstemperatur sowie Reaktionszeit optimiert und eignete sich ausgezeichnet zur Einführung biorepulsiver MeEG₆- und ConA-spezifischer Mannosyl-Kopfgruppen in Alkin-terminierte Alkyl-SAMs. Es wurde ein ConA-Sensor hergestellt, der gegenüber dem unmodifizierten Alkin-SAM eine um den Faktor acht höhere Affinität zum Analyten zeigte.

Zur Funktionalisierung von OEG-haltigen Alkin-terminierten SAMs eignete sich die Reaktion in Acetonitril allerdings nicht. Hier kam es während der Click-Reaktion zu massiver Schichtdesorption, die auf die Kombination von polarem Lösungsmittel und dem Kupfer(I)-Katalysator zurückgeführt werden konnte.

Die beiden unpolaren Reaktionssysteme wurden entwickelt, um die im polaren Lösungsmittel stattfindende Schichtdesorption zu vermindern. Zu diesem Zweck wurde eine Reihe von Katalysatoren entwickelt, die sowohl in Toluol als auch in n-Hexan löslich waren. Bei diesen Verbindungen handelte es sich um *N,N*-Dimethylalkylaminioididokupfer(I)-Komplexe mit 4 bis 18 Kohlenstoffatomen im Alkylteil. Die Komplexe zeigten sich in beiden Reaktionssystemen als aktiv und ermöglichten die Einführung biorepulsiver MeEG₆-Kopfgruppen in Alkin-terminierte Alkyl-SAMs.

Die in Toluol modifizierten Proben zeigten sowohl hinsichtlich der Schichtdickenzunahme durch die Click-Reaktion, als auch in Bezug auf die Biorepulsivität eine höhere Uneinheitlichkeit als Proben, die in Hexan funktionalisiert wurden. Oft fand auf den SAMs während der Reaktion eine erhebliche Physisorption von Substanzen aus der Reaktionslösung statt. Bei den Proteinadsorptionsexperimenten trat bei diesen Proben Desorption des zuvor physisorbierten Materials auf, wodurch die ermittelte Menge an gebundenem Protein stark verfälscht wurde.

Die im Hexan-basierten System funktionalisierten SAMs wiesen in Bezug auf die Schichtdickenerhöhung durch die Click-Reaktion ein deutlich einheitlicheres Verhalten auf. Die Proteinrepulsivität der modifizierten SAMs variierte allerdings von Expe-

riment zu Experiment stark und ließ sich schlecht reproduzieren. Oft wurden nur teilrepulsive Schichten erhalten.

Der Grund für die schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in den unpolaren Reaktionssystemen blieb ungeklärt. Vermutet wird zum einen, dass bei den Reaktionen, die zu vollständig repulsiven Schichten führten, eine katalytisch aktive Verunreinigung im Reaktionsmedium vorlag. Zum anderen können aber auch auf dem SAM verbliebene Katalysatorreste für die teilweise beobachtete Proteinadsorption verantwortlich gewesen sein.

Zur Funktionalisierung von OEG-haltigen SAMs erwiesen sich die unpolaren Reaktionssysteme ebenfalls als ungeeignet. Zwar konnte die Schichtdesorption während der Click-Reaktion durch die Verwendung eines unpolaren Lösungsmittels signifikant vermindert werden, doch zeigten die modifizierten SAMs starke Proteinadsorption. Im Fall der EG-haltigen Monoschichten war dieses Verhalten mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen von Kupfer-Alkin-Chelatkomplexen an der Oberfläche zurückzuführen, die eine Denaturierung des Proteins bewirkten.

Sowohl im Acetonitril-basierten als auch im Hexan-basierten System können Alkin-terminierte Alkyl-SAMs mit Hilfe der Click-Reaktion modifiziert werden. Insgesamt verläuft die Reaktion in Acetonitril jedoch zuverlässiger und liefert reproduzierbare Ergebnisse. In Hinblick auf die Erzeugung biosensorischer Monoschichten ist sie dem Hexan-basierten System daher vorzuziehen.

6 Biorepulsive Polyglycerol-Kopfgruppen

Neben den bewährten Oligo- und Polyethylenglycolderivaten werden seit einiger Zeit zunehmend polyglycerolhaltige Verbindungen zur Erzeugung biorepulsiver Oberflächen eingesetzt.^{116,347} Obwohl Polyglycerole (PG) eine Polyethylenglycol-Leitstruktur aufweisen, unterscheiden sie sich in ihrem chemischen und physikalischen Verhalten teilweise stark von den Glycol-basierten Verbindungen. Vor allem die höhere thermische Stabilität und die geringere Empfindlichkeit gegen biologischen Abbau machen die Verwendung von Polyglycerol als biorepulsive Kopfgruppe attraktiv.^{119,124} Zudem ist durch die stark verzweigte Struktur des Polyglycerols mit einer Verstärkung der sterischen Repulsion zu rechnen, die zu einer Erhöhung der Biorepulsivität führen sollte.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, Polyglycerol-terminierte Schichten auf Gold und Siliciumdioxid zu erzeugen und die modifizierten Oberflächen auf ihre proteinrepulsiven Eigenschaften zu untersuchen. PG-terminierte SAMs auf Gold wurden durch Immobilisieren entsprechend funktionalisierter Thioacetate dargestellt. PG-Filme auf Siliciumdioxid wurden durch Polymerisation von Glycidol auf Amin-terminierten Siloxan-SAMs oder durch direkte Polymerisation auf dem SiO₂-Substrat erzeugt.

Die Proteinadsorption auf den modifizierten Proben wurde mit Hilfe der Ellipsometrie quantifiziert. Im Fall der modifizierten Goldsubstrate wurden zusätzlich SPR-Messungen durchgeführt.

Als Testproteine dienten neben BSA γ -Globulin und Fibrinogen. Wie beim BSA handelt es sich auch bei den anderen beiden Proteinen um Serumproteine, die in hohen Konzentrationen im Blut vorliegen. Sie wurden vor allem wegen ihrer Funktion im Organismus ausgewählt. γ -Globuline werden auch als Immunglobuline bezeichnet und spielen als Antikörper bei Immunreaktionen des Körpers eine bedeutende Rolle.³⁸²⁻³⁸⁴ Das Protein Fibrinogen hingegen ist maßgeblich an der Blutgerinnung beteiligt.^{385,386} Die Repulsivität einer Oberfläche gegenüber Proteinen dieser Art ist vor allem bei medizinischen Implantaten erwünscht, um Abstoßungsreaktionen des Körpers sowie Thrombosen durch Blutgerinnung zu verhindern.

6.1 Polyglycerol-terminierte Monoschichten auf Gold

Es wurden drei Klassen von PG-terminierten Dendrimeren mit Thioacetat-Ankergruppe hergestellt (Abb. 59) und auf Gold immobilisiert.

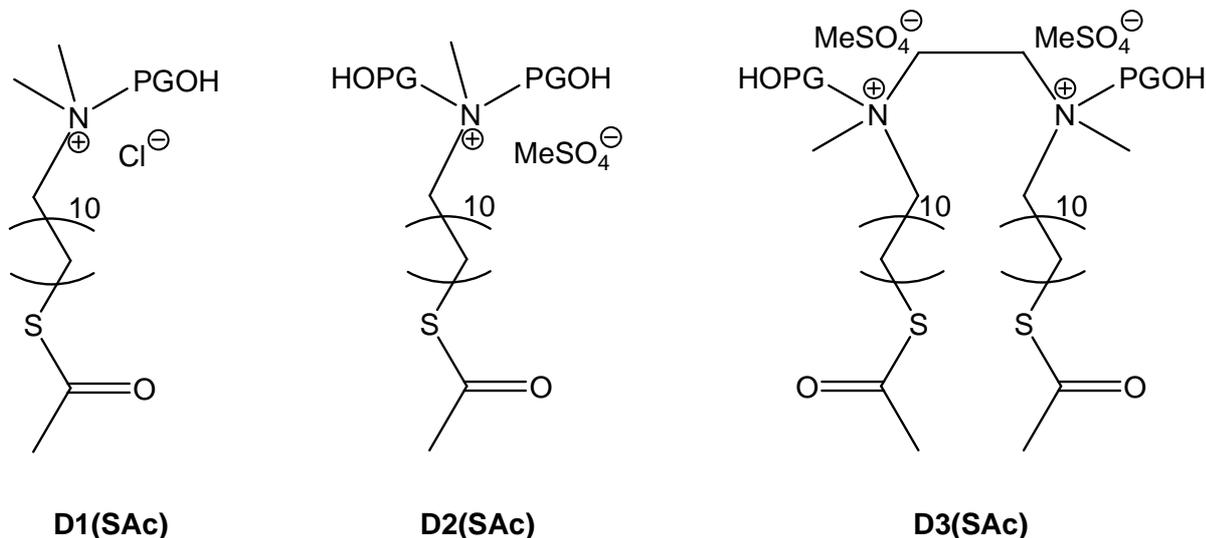


Abb. 59: Untersuchte Dendrimer-Klassen.

Die Moleküle der Klassen **D1(SAc)** und **D2(SAc)** besaßen jeweils eine Thioacetatgruppe, über die eine monovalente Bindung an das Gold erfolgen sollte. Der wesentliche Unterschied zwischen den Vertretern beider Substanzklassen bestand in der Anzahl der PG-Substituenten im Molekül. Die Dendrimere der Klasse **D3(SAc)** wiesen dagegen zwei Thioacetat-Anker auf, die eine bivalente Bindung der Moleküle an die Goldoberfläche ermöglichen sollten.

Ziel der Untersuchungen war es, mögliche Zusammenhänge zwischen der Struktur der schichtbildenden Moleküle und den proteinrepulsiven Eigenschaften der resultierenden Monoschichten aufzudecken.

Weiterhin war geplant festzustellen, ob die Proteinrepulsivität der Monoschichten durch den Polymerisationsgrad der verwendeten Moleküle beeinflusst wird. Hierzu sollten innerhalb der drei Substanzklassen Moleküle mit unterschiedlicher Molmasse untersucht werden.

Bei der PG-Kopfgruppe handelt es sich um einen sehr voluminösen Substituenten. Es war daher davon auszugehen, dass die Dendrimer-SAMs deutlich geringere

Packungsdichten und Schichtordnungen aufweisen als OEG-terminierte Alkanthiolat-SAMs (Abb. 60).

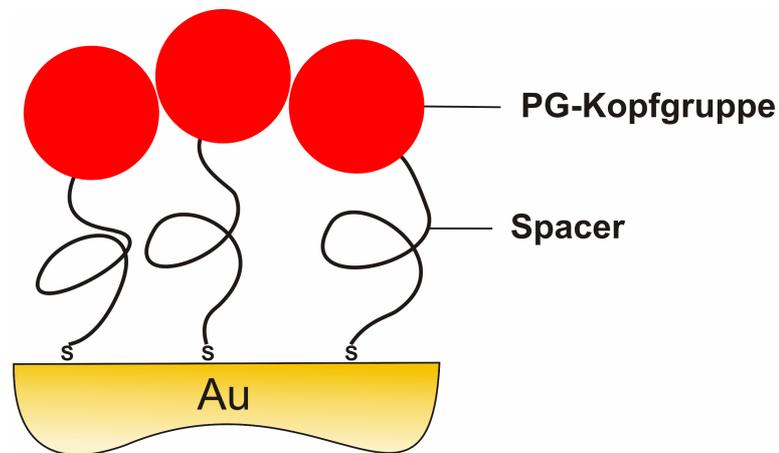


Abb. 60: Angenommene Struktur eines PG-terminierten Thiolat-SAMs auf Gold.

Bedingt durch die Größe der PG-Reste sollte aber trotz verminderter Packungsdichte der Schicht eine völlige Abdeckung des Substrats mit repulsiven Kopfgruppen gewährleistet sein. Auch sollte die lockere Packung zu einer höheren konformativen Freiheit der Spacer und damit zu einem zusätzlichen Beitrag zur sterischen Repulsion führen. Anstatt einer Verminderung der Biorepulsivität wurde daher vielmehr eine Verstärkung des Effekts durch die geringere Packungsdichte erwartet.

6.1.1 Untersuchung von PG-terminierten SAMs mit Hilfe von Ellipsometrie und Kontaktwinkelmessungen

Geplant war die Synthese und Untersuchung von Dendrimeren mit Molmassen zwischen 3000 g/mol und 10000 g/mol. Es konnten jedoch keine Produkte erhalten werden, deren mittlere Molmasse deutlich über 3400 g/mol lag (vgl. Kapitel 4). In einigen Fällen wurden sogar Werte unterhalb um 1000 g/mol ermittelt. Im Folgenden bezieht sich die Zahl im Index der Substanzbezeichnung daher auf die angestrebte Molmasse der jeweiligen Verbindung und nicht das reale Molekulargewicht. Gleiches gilt für die in Graphiken und Tabellen verwendeten Bezeichnungen. Die realen Molmassen der Substanzen sind an entsprechender Stelle im Experimentellen Teil aufgeführt.

Zunächst wurden mit den Dendrimern der Klassen **D1(SAc)**, **D2(SAc)** und **D3(SAc)** SAMs gebildet, die bezüglich ihrer Benetzbarkeit, ihrer Oberflächenrauigkeit und ihrer Schichtdicke charakterisiert wurden. In Abb. 61 sind die Ergebnisse der durchgeführten Kontaktwinkelmessungen dargestellt.

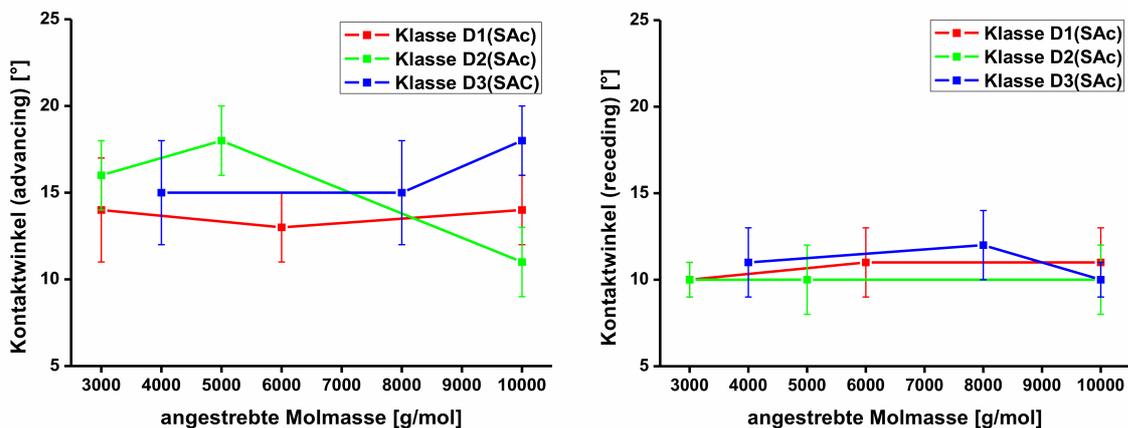


Abb. 61: *Advancing*- und *receding*-Kontaktwinkel der Dendrimer-SAMs auf Gold.

Im Rahmen der Messgenauigkeit unterschieden sich die *advancing*-Kontaktwinkel der verschiedenen SAMs sowohl innerhalb einer Dendrimerklasse als auch unter den Klassen nicht signifikant voneinander. Es wurden Werte zwischen 18° und 11° gemessen, die für das Vorliegen von Hydroxyl-terminierten, polaren Oberflächen sprachen.^{372,373} Ein analoges Bild ergab sich für die *receding*-Kontaktwinkel. Auch hier wichen die ermittelten Werte nicht oder nur kaum voneinander ab. Die Kontaktwinkel-Hysterese, deren Größe ein Maß für die Uneinheitlichkeit der untersuchten Oberfläche darstellt, war für die **D1(SAc)**-Dendrimere mit einem durchschnittlichen Wert von 3° am kleinsten. Für die **D2(SAc)**-Dendrimere betrug sie durchschnittlich 6° und die Vertreter der Klasse **D3(SAc)** zeigten eine Hysterese von durchschnittlich 5° . SAMs, die mit **D1(SAc)**-Dendrimern gebildet wurden, schienen daher eine einheitlichere, glattere Oberfläche zu besitzen als Schichten, die durch Immobilisierung von Vertretern der anderen beiden Klassen erhalten wurden. Die Größe der Kontaktwinkel-Hysteresen wies aber in allen Fällen auf das Vorliegen recht einheitlicher Oberflächen hin.

Durch die Kontaktwinkelmessungen konnte bestätigt werden, dass die untersuchten Dendrimere auf Goldoberflächen einheitliche, PG-terminierte Schichten bilden. Die Charakterisierung der Monoschichten bezüglich ihrer Schichtdicke beziehungsweise ihrer BSA-Resistenz erfolgte durch ellipsometrische Messungen. Die Ergebnisse der Schichtdickenmessungen sind in Abb. 62 dargestellt.

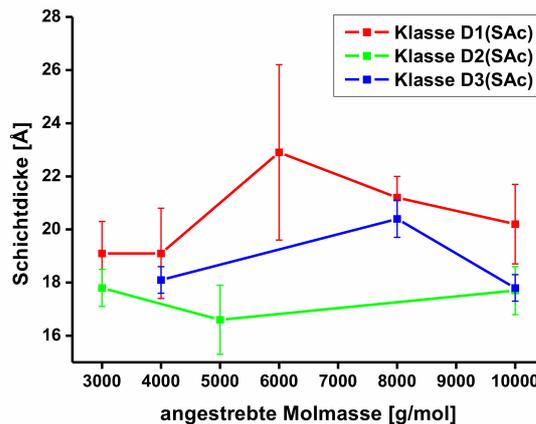


Abb. 62: Ellipsometrische Schichtdicken der Dendrimer-SAMs.

Innerhalb einer Klasse unterschieden sich die Schichtdicken der SAMs im Rahmen der Messgenauigkeit nicht. Ein Vergleich der Klassen untereinander zeigt, dass die ellipsometrischen Schichtdicken der SAMs für die Klasse **D1(SAc)** mit Werten zwischen 19 Å und 23 Å am höchsten ausfielen. Die Schichten der Klasse **D3(SAc)** lagen mit Dicken zwischen 18 Å und 20 Å knapp darunter, obwohl innerhalb der Fehlergrenzen kaum eine Unterscheidung möglich war. Etwas niedriger zeigten sich hingegen die Schichtdicken der **D2(SAc)**-SAMs, die mit 17 Å bis 18 Å signifikant unterhalb der Werte lagen, die für die **D1(SAc)**-Reihe ermittelt wurden.

Wie bereits in vorherigen Kapiteln erwähnt, handelt es sich bei ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken um so genannte optische Schichtdicken, die mit der Menge an organischer Materie im Messbereich korrelieren. Die zur Schichtbildung eingesetzten Dendrimer-Moleküle bestanden im Wesentlichen aus Polyglycerol. Die ermittelten Schichtdicken konnten daher als Maß für die Menge an oberflächengebundenem PG betrachtet werden, die für die drei Dendrimerklassen in der Reihenfolge **D1(SAc) > D3(SAc) > D2(SAc)** abnahm.

Ein Vergleich der ellipsometrischen Schichtdicken der Dendrimer-SAMs mit denen EG₆-terminierter Monoschichten (etwa 25 Å) zeigt einen deutlichen Einfluss der Größe der Kopfgruppe auf die Packungsdichte im SAM. Wie erwartet, wird die Packungsdichte der Schicht durch die voluminöse PG-Kopfgruppe vermindert. Im Fall der EG₆-terminierten Monoschichten wurde eine Schichtdicke von etwa 24 Å gemessen. Dieser Wert ist vergleichbar mit den Schichtdicken, die für **D1(SAc)**-SAMs bestimmt wurden. In beiden Fällen lag daher eine vergleichbare Menge organischer Materie am Messpunkt vor. Da die Dendrimer-Molekülen jedoch deutlich größer waren, muss deren Anzahl am Messpunkt geringer gewesen sein, was mit einer verminderten Packungsdichte korreliert. Zudem spricht die vergleichbare ellipsometrische Schichtdicke bei vermindelter Packungsdichte für eine hohe Oberflächenkonzentration an PG.

Das proteinrepulsive Verhalten der Dendrimer-SAMs wurde zunächst durch Adsorptionsversuche mit BSA bestimmt. Die Menge des gebundenen Proteins wurde ellipsometrisch bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 63 dargestellt.

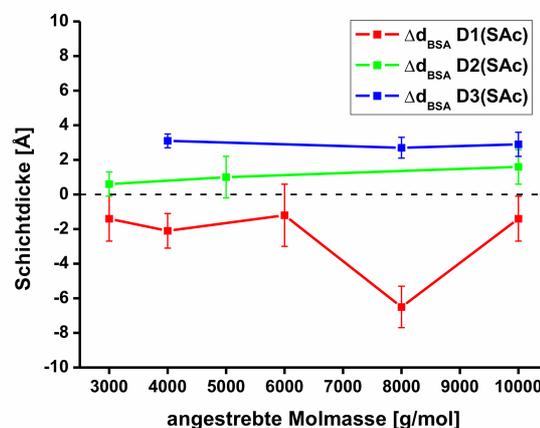


Abb. 63: BSA-Adsorption auf Dendrimer-SAMs.

Wie Abb. 63 entnommen werden kann, zeigten die SAMs der drei Dendrimer-Klassen ein deutlich verschiedenes BSA-repulsives Verhalten. Die **D1(SAc)**-SAMs zeigten durchgängig vollständige Repulsivität gegenüber dem Protein. Allerdings war es während des Adsorptionsexperiments in allen Fällen zu einer Desorption von Material aus der Schicht gekommen. Dies führte zu negativen Messwerten für die

Schichtdicke. Bei den **D2(SAc)**-SAMs führte die Behandlung mit BSA zu einer leichten Erhöhung der Schichtdicke, was die Adsorption geringer Proteinmengen anzeigte. Im Rahmen der Messgenauigkeit zeigten sich aber auch diese Schichten überwiegend repulsiv. Die **D3(SAc)**-SAMs erwiesen sich hingegen als nicht vollständig repulsiv. Hier wurde in allen Fällen eine Schichtdickenerhöhung von etwa 3 Å beobachtet. Im Vergleich zur BSA-Adsorption auf unbeschichtetem Gold, die zu einer Erhöhung der Schichtdicke um circa 20 Å führt, entspricht dies dennoch einer um etwa 85 % verringerten Bindung des Proteins.

Die ellipsometrischen Daten eignen sich nur bedingt zur Beurteilung der Proteinadsorption auf den untersuchten Proben. Problematisch sind in diesem Zusammenhang Desorptionereignisse, die während des Adsorptionsexperiments auftreten und mit Adsorptionsprozessen überlagern können. Daraus resultieren Messwerte für die adsorbierte Proteinmenge, die nicht den realen Verhältnissen entsprechen.

Bei den **D1(SAc)**-SAMs wurden Desorptionereignisse während der Proteinbehandlung klar nachgewiesen und auch für die anderen beiden Dendrimer-Klassen konnten derartige Prozesse nicht ausgeschlossen werden. Ob und in welchem Umfang eine Überlagerung zwischen Desorption und Proteinadsorption stattgefunden hat, kann anhand der ellipsometrischen Daten nicht beurteilt werden.

Um diesen Sachverhalt zu klären und um den Vorgang der Proteinadsorption genauer zu untersuchen, wurden die Adsorptionsexperimente SPR-spektroskopisch verfolgt.

6.1.2 SPR-spektroskopische Untersuchung der Proteinadsorption

Mit Hilfe der SPR-Spektroskopie wurde die Adsorption der Proteine BSA, γ -Globulin und Fibrinogen auf den Dendrimer-SAMs bestimmt. Über die Verschiebungen des resonanten Einfallswinkels $\Delta\theta_{E,R}$ konnten Aussagen über die relativen Mengen an gebundenem Protein und die optischen Dicken der adsorbierten Proteinfilme gemacht werden.

Am Beispiel der Messkurve in Abb. 64 soll der Ablauf einer solchen Messung kurz veranschaulicht werden.

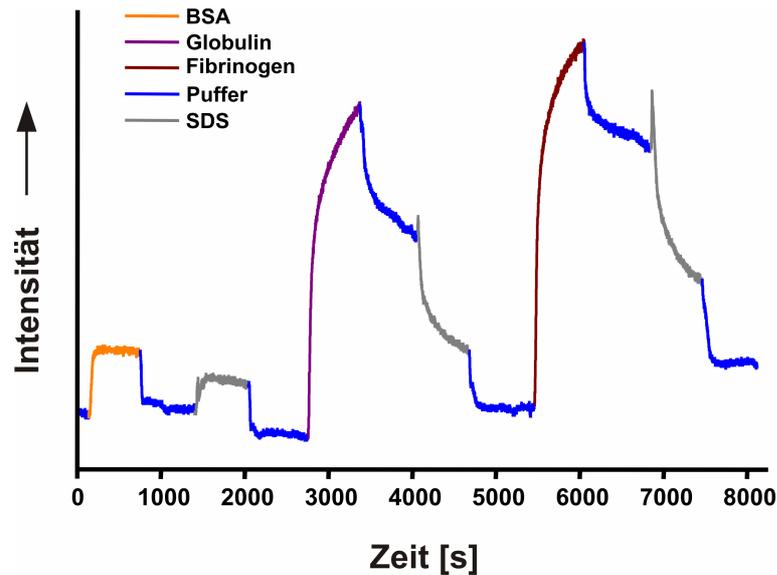


Abb. 64: SPR-Sensogramm für die Proteinadsorption auf einem D3(SAc)₈₀₀₀-SAM.

Zu Anfang einer Messung wurde solange Puffer über das Substrat geleitet, bis eine stabile Grundlinie erhalten wurde. Hierdurch wurde gewährleistet, dass sich kein physisorbiertes Material mehr in der Schicht befand. Dem Spülschritt folgte das erste Proteinadsorptionsexperiment. Hierzu wurde BSA-Lösung über die Probe geleitet. Nach beendeter BSA-Adsorption wurde das Substrat erneut mit Puffer gespült, um nicht adsorbiertes Protein zu entfernen. Dem Puffer-Spülschritt schloss sich dann ein Spülschritt mit SDS-Lösung an, um zuvor adsorbiertes Protein vom SAM zu lösen. Dies war notwendig, um die Probe für weitere Proteinadsorptionsexperimente zu regenerieren. Abschließend wurde das Substrat wieder mit Puffer gespült, um das SDS von der Monoschicht zu entfernen. Nach dem hier beschriebenen Messprotokoll wurde dann auf der gleichen Probe sowohl die Adsorption von Globulin als auch die von Fibrinogen bestimmt.

Trat im Sensogramm zwischen den Puffer-Signalen nach und vor dem Adsorptionsexperiment eine positive Differenz auf, hatte eine Bindung des jeweiligen Proteins an die Oberfläche stattgefunden. Je größer die Signaldifferenz war, desto mehr adsorbiertes Protein lag vor. Mit dem für diese Untersuchungen verwendeten SPR-Spektrometer war es nicht möglich, die Signaldifferenz in den SPR-Sensogrammen quantitativ mit der Menge an gebundenem Protein zu korrelieren. Diese Information wurde aus der adsorptionsbedingten Verschiebung des Resonanzminimums erhalten.

6.1.2.1 Untersuchung der Dendrimere der Klasse D1(SAc)

Die SPR-Sensogramme der verschiedenen Adsorptionsexperimente sind in Abb. 65 dargestellt. Ebenfalls aufgeführt sind die Verschiebungen des resonanten Einfallswinkels $\Delta\theta_{E,R}$ und die berechneten Schichtdicken der Proteinfilme.

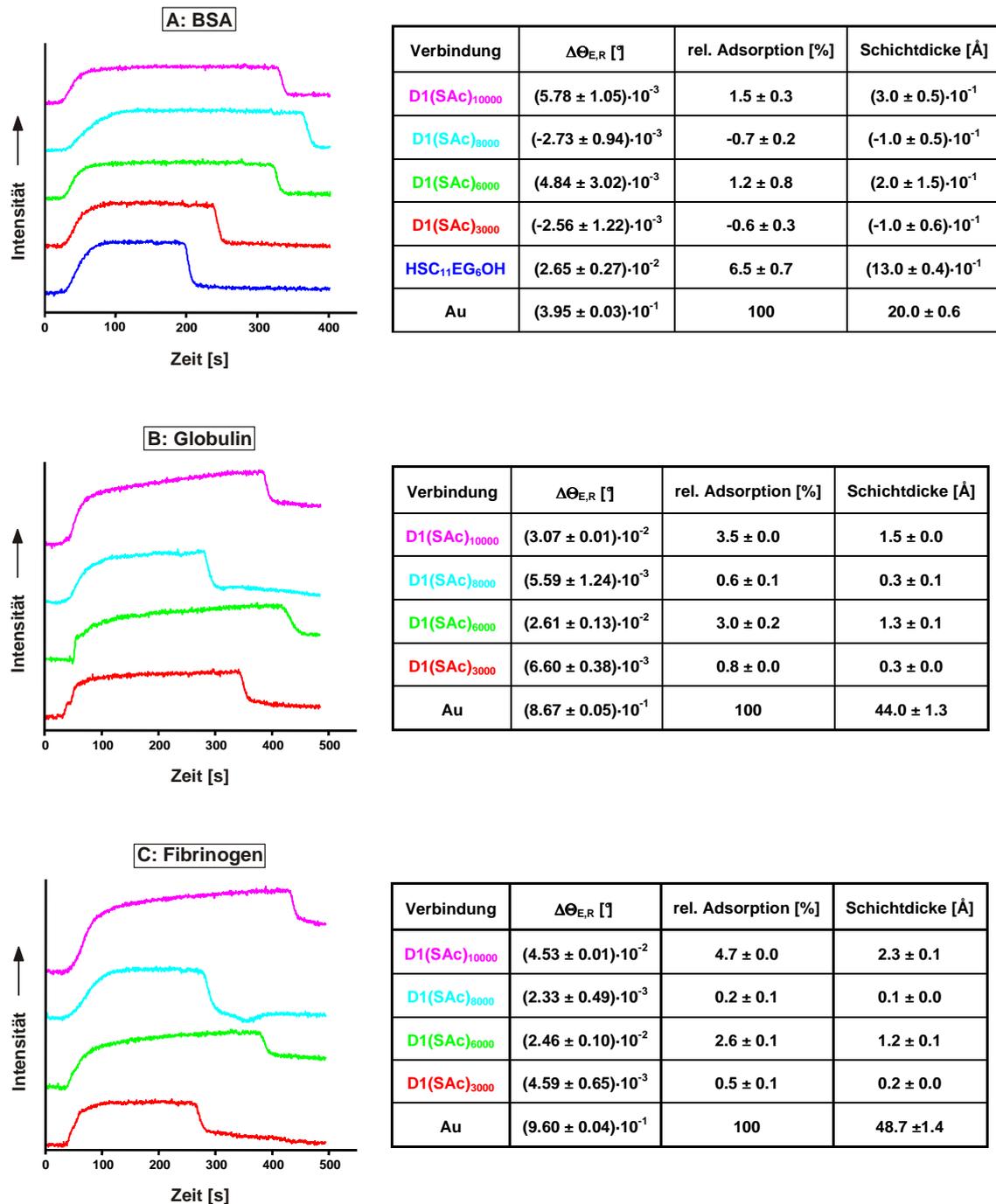


Abb. 65: SPR-Sensogramme und Resonanzwinkelverschiebungen der (A) BSA-, (B) γ -Globulin- und (C) Fibrinogen-Adsorptionsexperimente auf D1(SAc)-SAMs.

Die Proteinlösungen wurden in der Regel zehn Minuten über die Proben geleitet. In einigen Fällen war bereits vor Ablauf dieser Zeit ein konstantes Signal im Sensogramm zu beobachten gewesen. Hier wurde das Adsorptionsexperiment früher beendet. Gleiches gilt für die Spülschritte nach der Adsorption. Bei den in Abb. 65 dargestellten Sensogrammen wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit auf die Abbildung des gesamten Spülschritts verzichtet.

Aus Abb. 65 geht hervor, dass die untersuchten SAMs die Adsorption der drei Test-Proteine stark reduzierten und oft sogar ganz unterdrückten. Besonders gegenüber BSA zeigten alle SAMs stark repulsives Verhalten. Bei den Schichten aus den Dendrimeren **D1(SAc)₃₀₀₀** und **D1(SAc)₈₀₀₀** trat während der BSA-Adsorption geringfügige Desorption auf. Eine Bindung des Proteins auf den Schichten war nicht erkennbar. Die aus den Verbindungen **D1(SAc)₆₀₀₀** und **D1(SAc)₁₀₀₀₀** erhaltenen SAMs reduzierten die BSA-Adsorption um nahezu 99 % und waren damit auch als repulsiv einzustufen.

Verglichen mit den EG₆-terminierten Monoschichten zeigten die Dendrimer-SAMs eine deutlich geringere BSA-Adsorption, was für einen stärkeren repulsiven Effekt der PG-Kopfgruppe spricht.

Die **D1(SAc)₃₀₀₀**- und **D1(SAc)₈₀₀₀**-SAMs zeigten sich auch gegenüber γ -Globulin und Fibrinogen weitestgehend resistent. Gegenüber beiden Proteinen wurde eine über 99 prozentige Repulsivität festgestellt. Auf den **D1(SAc)₆₀₀₀**- und **D1(SAc)₁₀₀₀₀**-SAMs fand hingegen in beiden Fällen eine geringfügige Adsorption statt. Die Verminderung der Proteinbindung betrug aber auch für diese Schichten über 95 %.

Warum sich einige der **D1(SAc)**-SAMs in ihrer proteinrepulsiven Wirkung voneinander unterschieden, konnte nicht geklärt werden. Dieses Ergebnis war unerwartet, da aufgrund der sehr ähnlichen mittleren molaren Massen der Thioacetate von einem weitgehend identischen Schichtbildungsverhalten ausgegangen wurde. Ein systematischer Zusammenhang zwischen Repulsivität und angestrebter Molmasse war nicht erkennbar. Auf den mit der angestrebten Molmasse steigenden Gehalt an unfunctionalisiertem PG im Dendrimer (vgl. Schema 25 in Abschnitt 4.6.1.3) konnte der Effekt daher nicht zurückgeführt werden. Vermutlich waren aus der Synthese stammende schwefelhaltige Nebenprodukte für dieses Phänomen verantwortlich, indem sie die Schichtbildung und Struktur des resultierenden SAMs ungünstig beeinflussen haben.

6.1.2.2 Untersuchung der Dendrimere der Klasse D2(SAc)

Die Ergebnisse der SPR-spektroskopischen Untersuchungen der Proteinadsorption auf **D2(SAc)**-Monoschichten sind in Abb. 66 dargestellt.

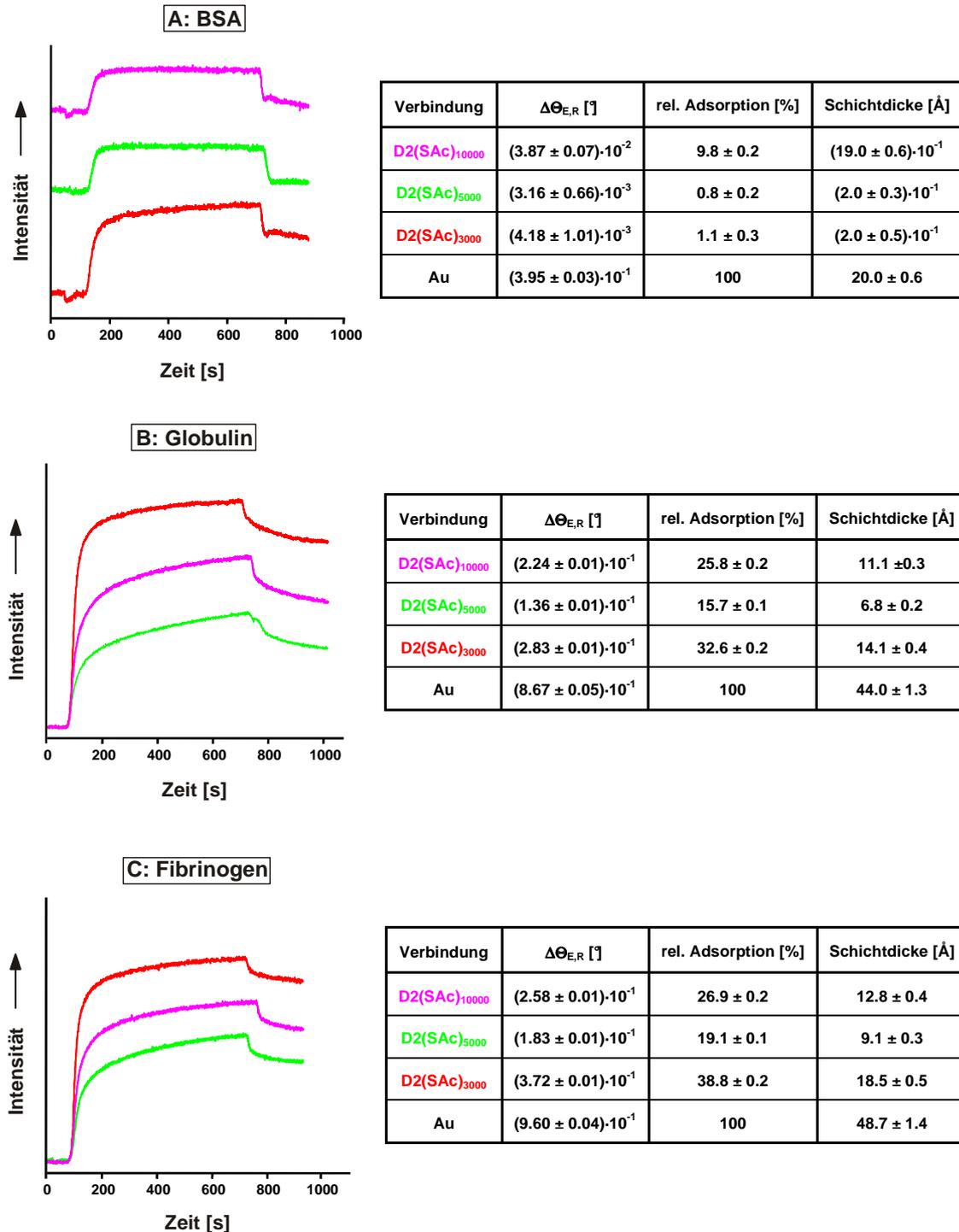


Abb. 66: SPR-Sensogramme und Resonanzwinkelverschiebungen der (A) BSA-, (B) γ -Globulin- und (C) Fibrinogen-Adsorptionsexperimente auf D2(SAc)-SAMs.

Gegenüber BSA zeigten SAMs der Vertreter **D2(SAc)₃₀₀₀** und **D2(SAc)₅₀₀₀** einen deutlichen Effekt. Beide Substanzen verminderten die Adsorption des Proteins um circa 99 % und waren als resistent einzustufen. Demgegenüber erwies sich die BSA-Repulsivität des **D2(SAc)₁₀₀₀₀**-SAMs als weniger stark ausgeprägt. Dennoch fand auch hier eine etwa 90 prozentige Inhibierung statt.

Im Gegensatz zu BSA zeigten die Testproteine γ -Globulin und Fibrinogen auf allen untersuchten Proben deutliche Adsorption. In beiden Fällen schnitten die **D2(SAc)₅₀₀₀**-Schichten mit um 84 % beziehungsweise 81 % verminderter Proteinbindung gegenüber der Goldreferenz am besten ab. Die **D2(SAc)₁₀₀₀₀**-SAMs zeigten mit Inhibierungen zwischen 73 % und 74 % bereits einen deutlich geringeren Effekt. Schlusslicht bildeten die **D2(SAc)₃₀₀₀**-Schichten. Hier konnten für γ -Globulin und Fibrinogen nur noch um 67 % beziehungsweise 61 % reduzierte Adsorptionen festgestellt werden.

Wie bei den Dendrimeren der Klasse **D1(SAc)** unterschieden sich auch die Verbindungen der Klasse **D2(SAc)** nur unwesentlich in ihrer mittleren molaren Masse. Trotzdem hingen auch hier die proteinrepulsiven Eigenschaften der SAMs von dem zur Schichtbildung eingesetzten Dendrimer ab.

Ein systematischer Zusammenhang zwischen dem repulsiven Verhalten der SAMs und der angestrebten Molmasse der Dendrimere trat auch für die **D2(SAc)**-Reihe nicht auf. Eine Beeinflussung der SAM-Bildung durch unfunktionalisiertes PG in den schichtbildenden Substanzen konnte daher auch hier ausgeschlossen werden. Im Vergleich zu den SAMs der **D1(SAc)**-Klasse zeigten die **D2(SAc)**-Schichten eine starke Variation in der Proteinrepulsivität. Dies deutete auf das Vorliegen von deutlich verschiedenen Schichtstrukturen innerhalb der Klasse der **D2(SAc)**-SAMs hin, die vermutlich wieder durch schwefelhaltige Nebenprodukte in den zur SAM-Bildung eingesetzten Substanzen verursacht wurden.

Bemerkenswert war in diesem Zusammenhang auch, dass die Resistenz einer Schicht gegen ein Testprotein keine Aussagen über die Repulsivität des Systems gegenüber anderen Proteinen zuließ. So zeigten sich **D2(SAc)₃₀₀₀**-SAMs als vollständig BSA-resistent, wogegen sie gegenüber der Adsorption von γ -Globulin und Fibrinogen die geringste Wirksamkeit aller getesteten **D2(SAc)**-Schichten aufwiesen. An diesem Beispiel wird die unterschiedlich starke Adsorptionsfähigkeit der verschiedenen Proteine deutlich. Gegen das relativ kleine BSA-Molekül zeigten sich die

D2(SAc)₃₀₀₀-SAMs noch resistent. Die größeren Proteine γ -Globulin und Fibrinogen zeigten hingegen eine wesentlich größere Tendenz zur Bindung an die Dendrimer-modifizierten Oberflächen.

Untersuchungen bezüglich der Bindungsfähigkeit der verwendeten Testproteine auf Methyl- und Hydroxyl-terminierten SAMs haben eine in der Reihenfolge Fibrinogen > BSA > γ -Globulin abnehmende Adhäsionsstärke ergeben.^{387,388} Es ist jedoch bekannt, dass die jeweilige Bindungsaffinität stark von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der betrachteten Oberfläche beeinflusst wird.^{387,388} Für die hier untersuchten PG-terminierten **D2(SAc)**-SAMs wurde eine in der Reihenfolge Fibrinogen \approx γ -Globulin > BSA abnehmende Adhäsionsstärke bestimmt.

Verglichen mit SAMs der Dendrimerklasse **D1(SAc)** zeigten die **D2(SAc)**-Schichten generell eine geringer ausfallende Repulsivität. Dies deutete auf einen grundsätzlichen strukturellen Unterschied zwischen SAMs der Klassen **D1(SAc)** und **D2(SAc)** hin, der zu verschieden stark ausgeprägtem proteinrepulsivem Verhalten führte.

6.1.2.3 Untersuchung der Dendrimere der Klasse D3(SAc)

SAMs von drei Vertretern der Klasse **D3(SAc)** wurden mit Hilfe der SPR-Spektroskopie bezüglich ihrer proteinrepulsiven Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse der BSA-Adsorptionsexperimente sind in Abb. 67 dargestellt.

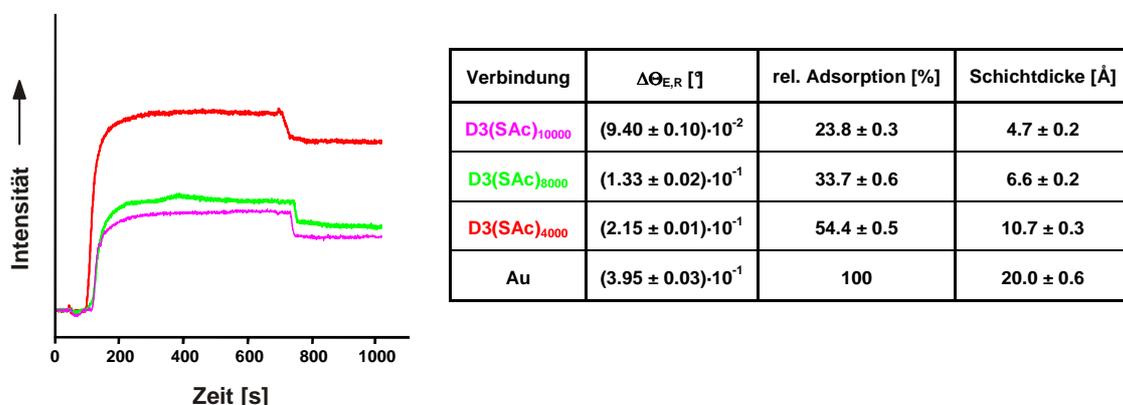


Abb. 67: SPR-Sensogramme und Resonanzwinkerverschiebungen für die BSA-Adsorption auf D3(SAc)-SAMs.

Die BSA-Adsorption wurde durch die **D3(SAc)**-SAMs zwar vermindert, fand jedoch noch in ausgeprägtem Maße statt. Die höchste Inhibierung von 76 % wurde für die **D3(SAc)₁₀₀₀₀**-SAMs beobachtet, gefolgt von den **D3(SAc)₈₀₀₀**-Schichten mit einer um 66 % verminderten Adsorption. Die **D3(SAc)₃₀₀₀**-SAMs zeigten mit einer nur 46 prozentigen Reduzierung der Proteinbindung die geringste Wirksamkeit.

Wie auch bei den Dendrimerklassen **D2(SAc)** und **D3(SAc)** unterschieden sich die verschiedenen Vertreter der **D3(SAc)**-Klasse in ihrer realen mittleren molaren Masse kaum voneinander. Der beobachtete Trend einer Erhöhung der BSA-Repulsivität mit steigender angestrebter Molmasse war demnach nicht mit den wirklichen Molekulargewichten der Substanzen korrelierbar. Für die beobachteten Unterschiede waren vermutlich wieder Nebenprodukte in den schichtbildenden Substanzen verantwortlich.

Unter allen untersuchten PG-terminierten Monoschichten zeigten die **D3(SAc)**-SAMs die am schwächsten ausgeprägte BSA-Repulsivität. Dies deutet auf eine im Vergleich zu den SAMs der anderen Dendrimerklassen verschiedene Struktur der **D3(SAc)**-Schichten hin. Es ist aber auch denkbar, dass die Anwesenheit der zwei kationischen Zentren in den **D3(SAc)**-Molekülen für die geringe Proteinrepulsivität der SAMs verantwortlich war. Eventuell kam es hierdurch zu attraktiven elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen der Monoschicht und den Testproteinen, die beim pH-Wert des verwendeten Puffers (pH = 7.0) negativ geladen sind.³⁸⁹⁻³⁹¹ In diesem Zusammenhang kann sich auch die geringe mittlere Molmasse der Dendri- mere ungünstig ausgewirkt haben: Ein zu kleiner dendritischer Molekülteil hätte den Abstand zwischen Ammonium-Stickstoff und Protein verkleinern und zu signifikanter elektrostatischer Anziehung führen können.

Die Ergebnisse der γ -Globulin- und Fibrinogen-Adsorptionsexperimente sind in den Abb. 68 und Abb. 69 dargestellt.

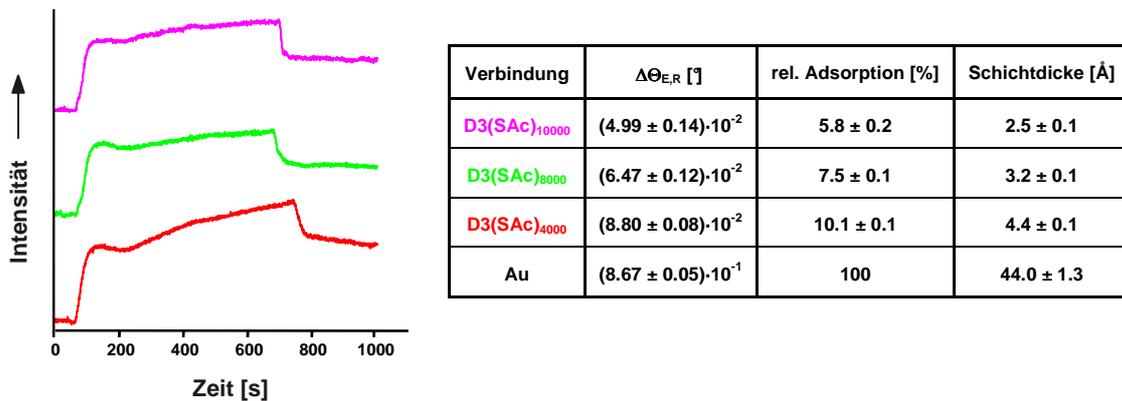


Abb. 68: SPR-Sensogramme und Resonanzwinkelverschiebungen für die γ -Globulin-Adsorption auf D3(SAc)-SAMs.

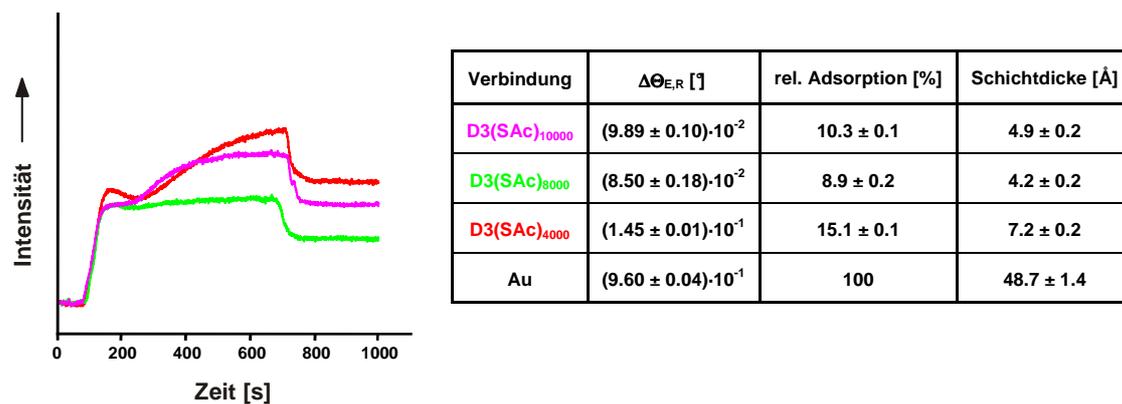


Abb. 69: SPR-Sensogramme und Resonanzwinkelverschiebungen für die Fibrinogen-Adsorption auf D3(SAc)-SAMs.

Die Mengen von adsorbiertem Protein fielen für γ -Globulin und Fibrinogen wesentlich geringer aus als für BSA. Dieses Phänomen war allerdings nicht auf eine stärker ausgeprägte Repulsivität der **D3(SAc)**-SAMs gegenüber diesen Proteinen zurückzuführen. Vielmehr war der Grund für dieses Verhalten, dass die zuvor eingesetzten Testproteine nach der Adsorption durch Spülen mit SDS-Lösung nur unvollständig von der untersuchten Monoschicht entfernt werden konnten. Die auf den Oberflächen zurückgebliebenen Proteinreste bewirkten dann eine Abnahme der unspezifischen Proteinadsorption in angeschlossenen Experimenten. Dass adsorbierte Proteinfilme in den meisten Fällen keine unspezifische Wechselwirkungen mit anderen Proteinen eingehen, ist bekannt und konnte auch experimentell nachgewiesen werden.^{387,392-396}

Bei Betrachtung der SPR-Sensogramme in Abb. 68 und Abb. 69 wird weiterhin deutlich, dass zu Anfang der γ -Globulin- und Fibrinogen-Adsorption Desorptionsergebnisse stattfanden. Diese führten zur Ausbildung eines Plateaus oder eines Minimums im vorderen Teil der Adsorptionskurven. Dieses Phänomen wurde auch bei der Proteinadsorption auf anderen SAMs beobachtet und kann auf eine Relaxation der Proteinmoleküle auf der Oberfläche zurückgeführt werden.^{60,,398} Im ersten Schritt der Adsorption werden die Proteinmoleküle in ihrer nativen Form reversibel auf der Oberfläche gebunden. Dieser Vorgang verläuft zu Anfang sehr schnell und verlangsamt sich mit steigendem Bedeckungsgrad des Substrats. Die gebundenen Proteinmoleküle beginnen dann zu relaxieren, um ihre Wechselwirkung mit der Oberfläche zu maximieren. Die Relaxation umfasst sowohl Reorientierungsprozesse, bei denen die native Form erhalten bleibt als, auch die Denaturierung, bei der sich das Protein entfaltet. In jedem Fall steigt durch die Relaxation der Platzbedarf des Proteins. Daher ist mit diesem Prozess immer das Besetzen benachbarter Adsorptionsplätze verbunden. Sind die umgebenden Adsorptionsplätze mit nativem Protein belegt, findet dessen Desorption statt. Die Geschwindigkeit der Relaxation und damit auch die Geschwindigkeit der durch sie verursachten Desorption werden durch die Oberflächenkonzentration von nativem Protein bestimmt. Sie ist daher zu Beginn des Adsorptionsprozesses am höchsten und nimmt dann ab. Tritt der Fall ein, dass die Desorptionsgeschwindigkeit höher als die momentane Adsorptionsgeschwindigkeit wird, kommt es zu einer temporären Verminderung des Bedeckungsgrades. Nach Verlangsamung der Relaxation wird der Adsorptionsprozess wieder durch die Adsorption dominiert und die Adsorptionskurve kehrt zu ihrer gewohnten Gestalt zurück.

Im Fall der γ -Globulin- und Fibrinogen-Adsorption auf den **D3(SAc)**-SAMs kann davon ausgegangen werden, dass die aufgetretene Relaxation maßgeblich auf eine Denaturierung der Proteine zurückzuführen war. Hierfür spricht, dass die festgestellte Menge an irreversibel adsorbiertem Protein mit der Stärke des beschriebenen Effekts korrelierte.

Neben der Menge an gebundenem Protein ist das Relaxationsverhalten von adsorbiertem γ -Globulin und Fibrinogen die entscheidende Eigenschaft, durch die sich die **D3(SAc)**-Schichten voneinander unterscheiden. Die **D3(SAc)₃₀₀₀**-SAMs zeigen sowohl im γ -Globulin- als auch im Fibrinogen-Adsorptionsexperiment eine sehr

schnelle anfänglich Relaxation. Bei den **D3(SAc)**₈₀₀₀- und **D3(SAc)**₁₀₀₀₀-SAMs ist der Effekt in etwa gleich stark ausgeprägt, insgesamt jedoch geringer.

Das ungewöhnliche Relaxationsverhalten der **D3(SAc)**-SAMs ist vermutlich auf Besonderheiten in der Struktur der Schichten zurückzuführen. Eine Beeinflussung des Phänomens durch die Proteinrückstände auf den Schichten konnte jedoch ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

6.1.3 Vergleich der ellipsometrischen und SPR-spektroskopischen Ergebnisse für die Proteinadsorption

Mit Hilfe der SPR-spektroskopischen Daten sollte geklärt werden, ob die ellipsometrisch bestimmte Proteinadsorption für die Dendrimere-SAMs durch Schichtdesorption verfälscht wurden. Die Ergebnisse beider Untersuchungen sind in Abb. 70 zusammengefasst. Die Adsorption ist relativ zur Schichtdickendifferenz Δd beziehungsweise zur Verschiebung des resonanten Einfallswinkels $\Delta\Theta_{E,R}$ angegeben, die für die BSA-Adsorption auf unbehandelten Goldsubstraten ermittelt wurden.

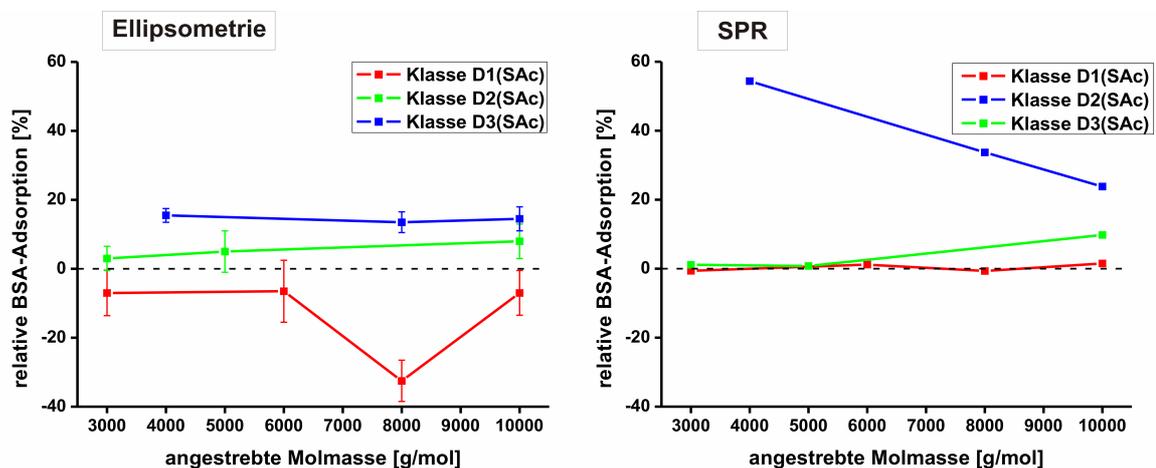


Abb. 70: Ellipsometrisch und SPR-spektroskopisch bestimmte BSA-Adsorption auf PG-terminierten SAMs, $\Delta d(\text{BSA})_{\text{Au}} = 20 \text{ \AA} = 100 \%$, $\Delta\Theta_{E,R}(\text{BSA})_{\text{Au}} = 0.395^\circ = 100 \%$.

Wie den ellipsometrischen Daten in Abb. 70 entnommen werden kann, trat bei den **D1(SAc)**-Schichten während des Adsorptionsexperiments durchgängig eine leichte bis mittelstarke Schichtdesorption auf. Hieraus ergaben sich negative Werte für die

relative Adsorption. Im Rahmen der Messgenauigkeit stimmten die ellipsometrischen Ergebnisse aber weitgehend mit der SPR-spektroskopisch ermittelten BSA-Resistenz der SAMs überein. Die einzige Ausnahme bildeten die **D1(SAc)₈₀₀₀**-SAMs. Hier kam es zu größeren Abweichungen.

Für die **D2(SAc)**-Schichten stimmten die Ergebnisse beider Verfahren sehr gut überein. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die ellipsometrisch bestimmten Werte nicht durch Desorptionsereignisse während der BSA-Adsorption verfälscht wurden.

Im Fall der **D3(SAc)**-Monoschichten lieferten die beiden Methoden jedoch deutlich unterschiedliche Resultate. Die ellipsometrischen Messungen sprachen bei allen SAMs für eine moderate BSA-Adsorption im Bereich von 15 % bis 20 %. SPR-spektroskopisch wurden jedoch viel höhere Adsorptionen festgestellt. Zudem variierten die hier festgestellten BSA-Mengen auf den verschiedenen **D3(SAc)**-SAMs stark. Für die **D3(SAc)₄₀₀₀**-Schichten war die Adsorption mit rund 54 % am stärksten ausgeprägt und für die **D3(SAc)₁₀₀₀₀**-SAMs mit 24 % am schwächsten. Die **D3(SAc)₈₀₀₀**-SAMs zeigten eine dazwischen liegende Adsorption.

Die deutlich höheren SPR-spektroskopisch bestimmten Werte für die BSA-Adsorption deuten darauf hin, dass es bei der ellipsometrischen Methode zu teilweise starker Schichtdesorption gekommen war. Die Überlagerung einer solchen Desorption mit der BSA-Adsorption führt zu falschen, deutlich zu kleinen ellipsometrischen Schichtdicken, aus denen zu geringe relative Adsorptionen resultieren. Die Stärke des Effekts nahm in der Reihenfolge **D3(SAc)₄₀₀₀ > D3(SAc)₈₀₀₀ > D3(SAc)₁₀₀₀₀** ab, wogegen die BSA-Repulsivität in dieser Reihenfolge zunahm.

Die Ergebnisse der Untersuchung machen deutlich, dass die ellipsometrische Bestimmung der Proteinadsorption zu falschen Ergebnissen führen kann. Eine Verifizierung der ellipsometrischen Daten durch eine andere Methode ist daher anzuraten.

6.2 Polymerisation von Glycidol auf Oberflächen

Zur Erzeugung biorepulsiver Oberflächen wurde neben der Bildung von SAMs auch das Aufpolymerisieren von Glycidol auf Hydroxyl- und Amino-terminierte Substrate untersucht. Ein direktes Aufbringen der PG-Schicht auf die Oberflächen würde

auf die Schichteigenschaften. Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen sind in Abb. 71 dargestellt.

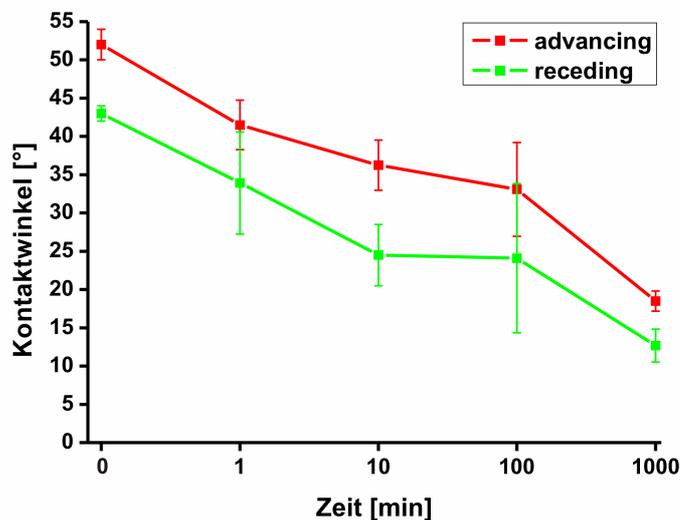


Abb. 71: Zeitabhängige Messung der *advancing*- und *receding*-Kontaktwinkel der PG-Filme auf APTMS-SAMs.

Mit steigender Beschichtungsdauer war ein stetiger Abfall des *advancing*-Kontaktwinkels zu beobachten, was für einen zunehmend hydrophilen Charakter der Oberflächen sprach. Werte, die für überwiegend Hydroxyl-terminierte Oberflächen sprachen, traten aber erst bei Beschichtungsdauern von 1000 Minuten auf. Die Kontaktwinkel-Hysterese nahm mit der Beschichtungsdauer zunächst leicht zu und dann wieder ab. Ihr Verlauf kann wie folgt interpretiert werden: Zu Anfang der Filmbildung wurde die Polymerisation an mehreren Stellen auf der Oberfläche gestartet. Hierdurch bildeten sich PG-Inseln auf dem SAM und die Rauigkeit der Oberfläche nahm zu. Mit fortschreitender Polymerisation wuchsen die Inseln dann zusammen, wodurch sich die Oberflächenrauigkeit verminderte, was zu einer Absenkung der Kontaktwinkel-Hysterese führte.

Verglichen mit den Kontaktwinkeln der PG-terminierten Dendrimer-SAMs waren sowohl der *advancing*-Kontaktwinkel als auch die Kontaktwinkel-Hysterese der PG-Filme nach 1000-minütiger Beschichtung deutlich erhöht. Dies sprach für eine stärker uneinheitliche Struktur der aufgewachsenen Schicht. Neben Hydroxylgruppen wurden vermutlich auch CH-O- und CH₂-O-Funktionalitäten exponiert, wodurch der

Kontaktwinkel stieg. Hervorgerufen wurde die Uneinheitlichkeit der PG-Schichten wahrscheinlich durch die Struktur der Siloxan-SAMs. Die vor der Beschichtung gemessenen Kontaktwinkel deuteten auf eine ungeordnete Struktur der APTMS-Schichten hin (Einträge für $t = 0$ min in Abb. 71). Amino-terminierte Oberflächen zeigen üblicherweise *advancing*-Kontaktwinkel von circa 20° .⁴⁰⁰ Die mit APTMS beschichteten Substrate wiesen dagegen deutlich höhere Werte von 52° auf. Auch wurde eine Kontaktwinkel-Hysterese von 9° festgestellt. Beides wies auf eine ungeordnete Oberfläche hin, die nicht rein Amino-terminiert war.

Die ellipsometrische Untersuchung der APTMS-SAMs sprach ebenfalls gegen eine wohl definierte Schichtstruktur. Mit circa 16 \AA lag die direkt nach der Beschichtung ermittelte Schichtdicke deutlich über dem berechneten Maximalwert von 7.7 \AA . Erst eine angeschlossene Behandlung der Substrate mit Wasser und Ultraschall führte zu Schichtdicken, die mit etwa 9 \AA in der Nähe des erwarteten Werts lagen.

Es ist bekannt, dass die Beschichtung von Siliciumdioxid mit APTMS und ähnlichen Amino-terminierten Silanen oft nicht zu definierten Monoschichten führt, sondern dass die Bildung von Multilagen auftritt.^{399,401} Die Multilagen exponieren neben Aminogruppen auch Teile der Alkylketten, was zu *advancing*-Kontaktwinkeln zwischen 50° und 70° führt.^{400,401} Zudem sind die Oberflächen der Schichten recht uneinheitlich und zeigen eine ausgeprägte Kontaktwinkel-Hysterese.

Es kann daher davon ausgegangen werden, dass auch bei der Beschichtung der Substrate mit APTMS die Bildung von Multilagen stattgefunden hat, was zu einer ungeordneten Schichtstruktur und zu hohen Schichtdicken führte. Diese Defekte wurden offensichtlich in die Struktur des aufwachsenden PG-Films übertragen.

Die Ermittlung der Schichtdicke der PG-Filme und die Bestimmung der BSA-Repulsivität erfolgte über ellipsometrische Messungen. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Abb. 72 wiedergegeben.

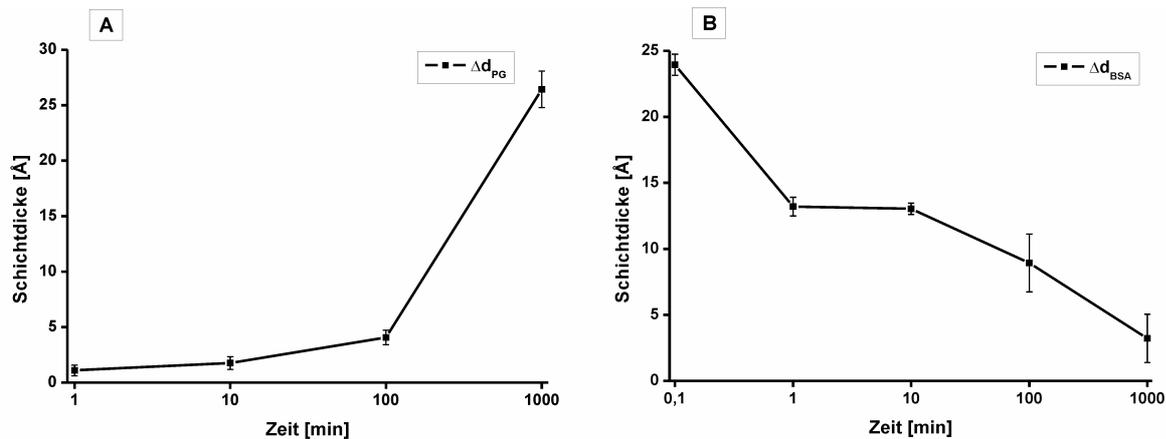


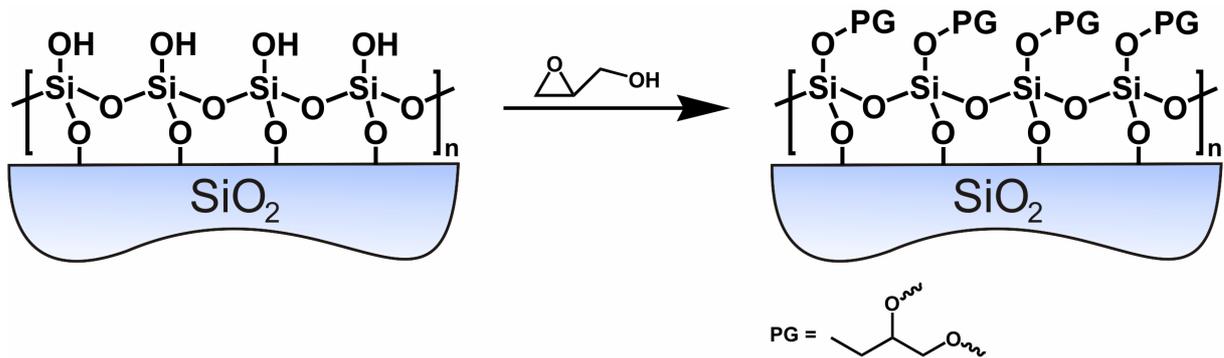
Abb. 72: Ellipsometrisch bestimmte PG-Schichtdicke (A) und BSA-Adsorption (B).

Das Schichtdickenwachstum der PG-Filme erfolgte langsam und erst nach einer Beschichtungszeit von 1000 Minuten wurden PG-Schichtdicken von mehr als 25 Å erhalten. Der Verlauf des Schichtwachstums korrelierte mit der Abnahme des *advancing*-Kontaktwinkels. Auch die BSA-Adsorption verringerte sich mit steigender Beschichtungsdauer kontinuierlich. Nach einer Polymerisationszeit von 1000 Minuten zeigten die Proben eine um 84 % verringerte Bindung des Proteins. Vollständige Repulsivität wurde aber nicht erreicht. Das beobachtete teilrepulsive Verhalten der PG-Schichten war vermutlich auf einen ungünstigen Einfluss des APTMS-SAMs auf die Struktur der PG-Schicht zurückzuführen. Diese Annahme liegt nahe, da bei einer Schichtdicke von über 25 Å der Kontakt zwischen Protein und Substrat ausgeschlossen werden kann.

Die hier vorgestellten Ergebnisse bestätigen, dass die Polymerisation von Glycidol auf Amino-terminierten APTMS-SAMs stattfindet. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die gebildeten PG-Filme fest an das Substrat gebunden sind und die BSA-Adsorption signifikant vermindern.

6.2.2 Polymerisation von Glycidol auf Siliciumdioxid

Die Polymerisation von Glycidol auf Siliciumdioxid ist in Schema 39 dargestellt. Die Hydroxylgruppen, mit denen die Oxidschicht terminiert ist, greifen das Glycidol nukleophil an und wirken als Polymerisationsstarter.



Schema 39: Bildung eines PG-Films auf Siliciumdioxid.

Der zeitliche Verlauf der Filmbildung wurde mit Hilfe von Kontaktwinkelmessungen verfolgt. Die Ergebnisse sind in Abb. 73 aufgeführt. Die Kontaktwinkel der unbeschichteten Siliciumdioxid-Oberflächen waren sehr klein, und konnten mit der *sessile drop*-Methode nicht bestimmt werden. Daher sind sie nicht angegeben.

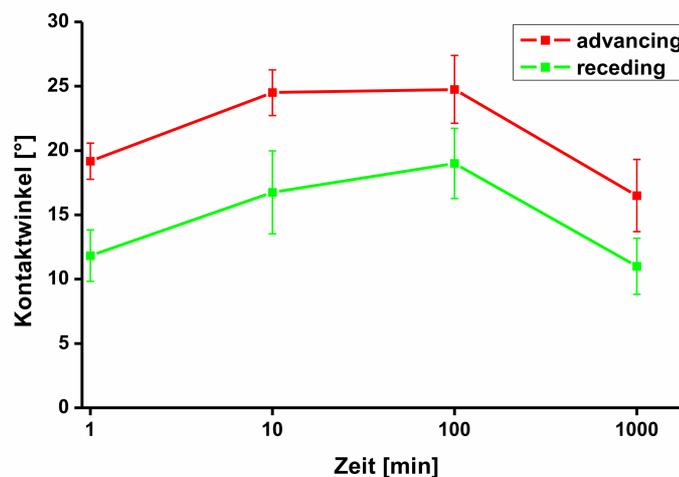


Abb. 73: Zeitabhängige Messung der *advancing*- und *receding*-Kontaktwinkel der PG-Filme auf Siliciumdioxid.

Der *advancing*-Kontaktwinkel stieg zu höheren Beschichtungszeiten hin zunächst an. Er erreichte bei etwa 24 ° ein Maximum und fiel dann wieder ab, bis nach einer Reaktionszeit von 1000 Minuten der Endwert von circa 16 ° erreicht wurde. Das anfängliche Ansteigen des Kontaktwinkels ist auf die Bedeckung der stark polaren Siliciumdioxid-Oberfläche mit PG zurückzuführen. Zuerst bilden sich PG-Inseln auf dem Substrat, die Hydroxylgruppen sowie CH-O- und CH₂-O-Gruppen exponieren.

Mit fortschreitender Polymerisation wachsen die Inseln zusammen und exponieren hauptsächlich Hydroxylgruppen. Hierdurch nimmt die Polarität der Oberfläche zu und der Kontaktwinkel fällt ab. Der Kontaktwinkel von 16° ist charakteristisch für eine Hydroxyl-terminierte organische Schicht und spricht für einen geschlossenen PG-Film auf der Oberfläche. Der zeitliche Verlauf der Kontaktwinkel-Hysterese stützt diese Annahme. Zu Anfang der Reaktion ist die Hysterese mit etwa 7° am größten, da durch das Inselwachstum die Uneinheitlichkeit der Oberfläche zunimmt. Mit dem Zusammenwachsen der Inseln nimmt die Oberflächenrauigkeit wieder ab und die Kontaktwinkel-Hysterese sinkt.

Die Ergebnisse der ellipsometrischen Schichtdickenbestimmung der PG-Filme und der BSA-Adsorption sind in Abb. 74 zusammengefasst.

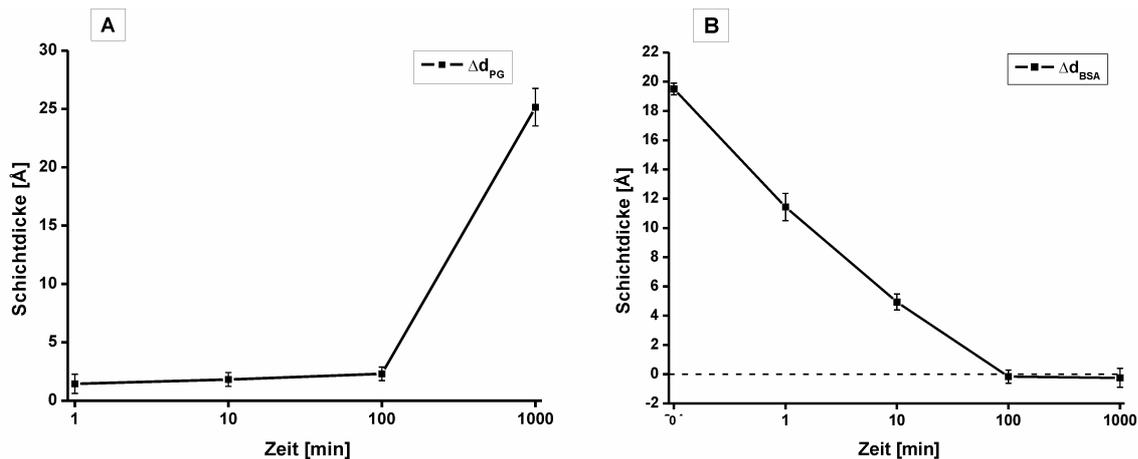


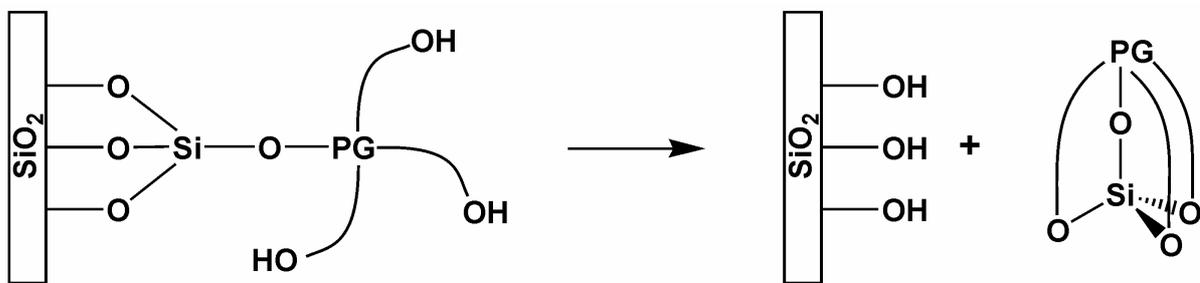
Abb. 74: Ellipsometrisch bestimmte Schichtdicke (A) und BSA-Adsorption (B).

Wie im Fall der Filmbildung auf den APTMS-SAMs war auch hier ein sehr langsames Schichtdickenwachstum zu beobachten. Bis zu einer Beschichtungszeit von 100 Minuten schien näherungsweise keine Filmbildung stattgefunden zu haben. Bei Reaktionszeiten von 1000 Minuten wurden aber auch auf Siliciumdioxid PG-Schichten mit einer Dicke von etwa 25 \AA gebildet.

Vor dem Hintergrund des sehr langsamen Wachstums der PG-Schicht war es verwunderlich, dass die BSA-Adsorption auf den Proben schon nach kurzen Beschichtungszeiten stark vermindert war. Nach einer Reaktionszeit von 100 Minuten trat sogar völlige Resistenz auf. Die gemessene Schichtdicke des PG-Films betrug nach dieser Beschichtungszeit jedoch nur 2.5 \AA , was etwa einer halben Monolage oberflä-

chengebundenem Glycerol entspräche. Eine solche Schicht dürfte keine proteinrepulsiven Eigenschaften aufweisen. Die wirklichen Dicken der PG-Schichten müssen demnach deutlich größer gewesen sein als die ellipsometrisch bestimmten. Erklärbar wird das Phänomen unter der Annahme, dass es während der Polymerisationsreaktion zu einem Abbau der nativen Siliciumdioxid-Schicht gekommen ist. Diese war im Mittel 22 Å dick. Bei einem vollständigen Abbau würde eine gemessene PG-Schichtdicke von 2.5 Å einer wahren Filmdicke von 24.5 Å entsprechen. Durch PG-Filme dieser Dicke ließe sich die beobachtete BSA-Resistenz erklären.

Ein möglicher Mechanismus für den Abbau der Siliciumdioxid-Schicht ist in Schema 40 dargestellt.



Schema 40: Möglicher Mechanismus zum Abbau der nativen SiO₂-Schicht.

Am Beispiel der Reaktion von Siliciumdioxid mit Ethylenglycol-Derivaten konnte die Bildung analoger zyklischer Silicate nachgewiesen werden.⁴⁰²

Ob der Abbau der Siliciumdioxid-Schicht vor der Bildung des PG-Films stattgefunden hatte, oder Teile des bereits ausgebildeten Films mit der Schicht abgelöst wurden, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die Bildung biorepulsiver PG-Filme auf Siliciumsubstraten möglich ist. Durch die Reaktion kommt es allerdings zu einem Abbau der nativen Oxidschicht. Ob sich dieses Verfahren zur Erzeugung von PG-Filmen auf Glas eignet, ist daher fraglich. Eine Anwendung auf Keramiken und Metallen scheint aber viel versprechend.

6.3 Zusammenfassung des Kapitels Biorepulsive Polyglycerol-Filme

Zur Ausstattung von Oberflächen mit biorepulsiven PG-Filmen wurden zwei unterschiedliche Verfahren entwickelt und untersucht. Hierbei handelte es sich zum Einen um die Bildung von PG-terminierten SAMs auf Gold. Bei dem zweiten Verfahren wurden PG-Filme direkt auf Amino- und Hydroxyl-terminierte Oberflächen polymerisiert.

Für die Bildung der SAMs auf Gold wurden drei verschiedene Klassen von PG-terminierten Undecylthioacetaten verwendet. Durch ellipsometrische Messungen und Bestimmung des Kontaktwinkels konnte für alle Substanzklassen die Ausbildung geordneter Monoschichten bestätigt werden. Die Repulsivität der SAMs gegenüber den Testproteinen BSA, γ -Globulin und Fibrinogen wurde mit Hilfe der SPR-Spektroskopie ermittelt. In diesen Untersuchungen zeigten sämtliche Schichten eine starke Verminderung der Adsorption aller drei Testproteine. Die Stärke des repulsiven Verhaltens hing in erster Linie von der Struktur der zur Schichtbildung eingesetzten Verbindungen ab. Die Substanzklasse **D1(SAc)** erwies sich in diesem Zusammenhang als besonders aktiv und lieferte vollständig resistente Monoschichten.

Neben der SPR-Spektroskopie wurde auch die Ellipsometrie zur Bestimmung der Proteinadsorption auf den PG-terminierten SAMs eingesetzt. Ein Vergleich der ellipsometrisch und SPR-spektroskopisch ermittelten Daten zeigte jedoch, dass die Ellipsometrie teilweise zu fehlerhaften Ergebnissen führte und deshalb nur bedingt zur Beurteilung der Proteinadsorption geeignet war.

Die Bildung von PG-Filmen auf Amino-terminierten Oberflächen wurde durch die Polymerisation von Glycidol auf 3-Aminopropylsiloxan-SAMs erreicht. Ellipsometrische Messungen und Bestimmung des Kontaktwinkels bestätigten das Wachstum des PG-Films. Es bildeten sich Schichten, die die Adsorption von BSA um 84 % verringerten. Eine vollständige Repulsivität konnte aber nicht erreicht werden. Als Grund hierfür wurden Inhomogenitäten im PG-Film vermutet. Hierauf deuteten die gemessenen Kontaktwinkel und vor allem eine stark ausgeprägte Kontaktwinkel-Hysterese hin.

Analog wurden PG-Filme durch die Polymerisation von Glycidol auf der nativen Oxidschicht von Silicium erhalten. Kontaktwinkelmessungen und Ellipsometrie zeig-

ten die Bildung von homogenen PG-Filmen an, die BSA-Resistenz aufwiesen. Es wurde festgestellt, dass während der Polymerisation ein vermutlich vollständiger Abbau der Siliciumdioxid-Schicht auftrat. Daher ist anzunehmen, dass der PG-Film nicht an die Oxidschicht, sondern an das darunter liegende Silicium gebunden vorlag.

7 Proteinresistenzgradienten

Um Oberflächengradienten zu erzeugen, müssen Substrate generiert werden, die mindestens zwei verschiedene Funktionalitäten exponieren. Weiterhin darf die Mischung beider Funktionalitäten auf dem Substrat nicht einheitlich sein, sondern muss einem Konzentrationsprofil folgen.

In diesem Zusammenhang ist die IPER-Methode entwickelt worden, die eine genaue Einstellung der lokalen molekularen Zusammensetzung von selbstanordnenden Monoschichten erlaubt (vgl. Abschnitt 1.5.2). Neben der Einführung elektrochemisch aktiver Gruppen in SAMs²⁷⁴ wurde dieser Prozess bereits zur Erzeugung von Polaritätsgradienten im Zentimetermaßstab verwendet.^{272,273}

Unter Verwendung der IPER-Methode wurden Biorepulsivitäts-Gradienten im Mikrometermaßstab dargestellt.⁴⁰³

Neben der Entwicklung und Untersuchung des Erzeugungsprozesses war in diesem Zusammenhang vor allem die Charakterisierung der Gradienten bezüglich ihres Protein-Adsorptionsverhaltens von Interesse. Als Testproteine dienten hier BSA, Fibrinogen und γ -Globulin.

Im Folgenden werden die verschiedenen Stufen des Entwicklungsprozesses der Gradienten vorgestellt und diskutiert.

Als biorepulsives Molekül diente bei allen Untersuchungen das EG₇-terminierte Molekül **28** (EG7UT), das durch den IPER-Prozess in eine Dodecanthiolat (DDT)-Monoschicht eingebaut wurde (Abb. 75).

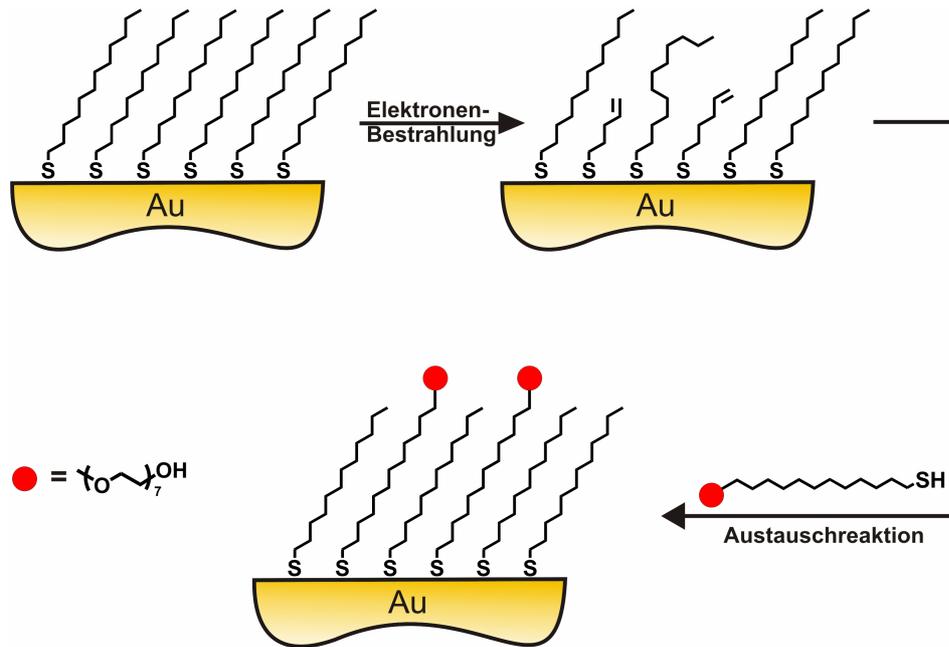


Abb. 75: IPER-vermittelter Einbau des Thiols 28 in einen DDT-SAM.

7.1 Untersuchung des IPER-Prozesses

Vor der Erzeugung der Gradienten wurden in Kontrollexperimenten alle Teilschritte des Verfahrens untersucht. Dies geschah durch spektroskopische Charakterisierung der aus den einzelnen Teilschritten hervorgehenden Monoschichten. Um den Einfluss der verwendeten Strahlendosis auf den Austauschprozess zu ermitteln, wurden DDT-SAMs mit Dosen zwischen 0 mC/cm^2 und 1.0 mC/cm^2 behandelt. Mit Hilfe von XPS- und NEXAFS-Messungen wurden die strahlungsinduzierten Veränderungen im DDT-SAM sowie die Zusammensetzung der Schicht nach der Austauschreaktion analysiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 76 dargestellt.

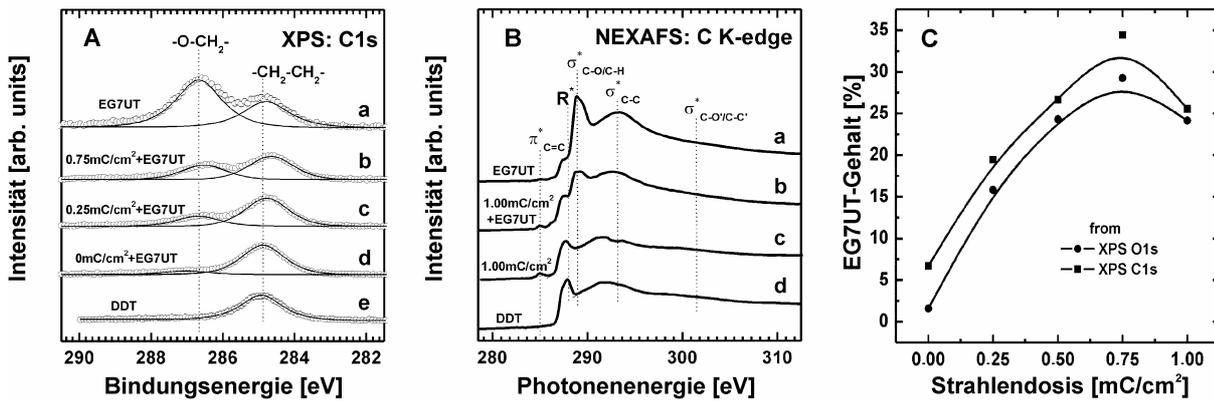


Abb. 76: (A) C1s XP-Spektren, (B) C K-Kanten NEXAFS-Spektren und (C) relative Zusammensetzung von DDT-SAMs nach Bestrahlung und Austausch mit Verbindung 28, berechnet aus C1s XPS- und O1s XPS-Daten⁴⁰³.

In den XP-Spektren (Abb. 76 A) unterscheiden sich die C1s-Emissionen der Kohlenstoffatome der Alkylketten ($-\text{CH}_2\text{-C}$, 284.9 eV) deutlich von den Signalen der Kohlenstoffatome des EG-Teils ($-\text{CH}_2\text{-O}$, 286.6 eV). Über das Verhältnis der Intensitäten beider Signale zueinander ließen sich Rückschlüsse auf die aktuelle Zusammensetzung der Monoschicht ziehen. Das Fortschreiten der Austauschreaktion konnte daher sehr gut XP-spektroskopisch verfolgt werden. Kurve a in Abb. 76A entspricht einem EG₇-terminierten SAM und Kurve e einem reinen DDT-SAM. Erst bei Bestrahlung des DDT-SAMs mit Elektronen fand eine detektierbare Austauschreaktion im angeschlossenen Immersionsschritt statt (Kurven b-d). Erkennbar war dies durch das Auftauchen von Signalen bei 286.6 eV, die nur im Fall der bestrahlten Proben erschienen. Der Gehalt der Schicht an EG₇-terminierten Molekülen nahm mit steigender Strahlendosis kontinuierlich zu und erreichte bei 0.75 mC/cm² mit etwa 30 % ein Maximum (Abb. 76C). Zu höheren Strahlendosen hin fiel der EG₇-Anteil der Schichten wieder ab, was auf das Auftreten einer Hemmung der Austauschreaktion hindeutete.

Auch die in Abb. 76B dargestellten NEXAFS-Spektren gaben Hinweise auf einen solchen Effekt. Das Spektrum d repräsentiert wieder die reine DDT-Monoschicht und Spektrum a den EG7UT-SAM. Bei der unbestrahlten DDT-Schicht traten die typischen Signale eines Alkyl-SAMs auf: eine stark ausgeprägte Adsorptionsresonanz bei 287.6 eV (R^* , Übergang in $\sigma^*_{\text{C-H}}$ -Orbitale) und zwei breitere Signale bei 293.2 eV (Übergang in $\sigma^*_{\text{C-C}}$ -Orbitale) und 301.6 eV ($\sigma^*_{\text{C-C}}$, Übergang in antibindende C-C-Orbitale).⁴⁰⁴ Die EG-haltige Monoschicht zeigte neben den Signalen der Alkyl-

ketten eine starke Resonanz bei 289.0 eV, die Übergängen in die $\sigma^*_{\text{C-O}}$ - und $\sigma^*_{\text{C-H}}$ -Orbitale der EG-Gruppen zugeordnet werden konnte.⁴⁰³ Die Bestrahlung des DDT-SAMs mit einer Dosis von 1.0 mC/cm² (Spektrum c) führte zu einer deutlichen Veränderung des Spektrums. Bei 285.1 eV trat eine π^* -Resonanz auf (Übergang in $\pi^*_{\text{C=C}}$ -Orbitale), die auf die Bildung von Doppelbindungen hinwies. Bei einer ebenfalls mit 1.0 mC/cm² bestrahlten Probe waren die Doppelbindungssignale nach durchgeführter Austauschreaktion immer noch vorhanden (Spektrum b). Hierdurch konnte belegt werden, dass bei Strahlendosen von 1.0 mC/cm² und darüber der Austausch von geschädigten Molekülen des DDT-SAMs gegen EG7UT-Moleküle nur noch sehr unvollständig verläuft.

Die Ergebnisse der XPS- und NEXAFS-Messungen gaben darüber hinaus einen Hinweis auf die Vorgänge, die dem IPER-Prozess zugrunde liegen: Durch die Bestrahlung des DDT-SAMs mit Elektronen finden C-H-, C-C-, und S-Au-Bindungsbrüche statt. Es kommt zu einem teilweisen Abbau der Schicht und zur Ausbildung von Doppelbindungen.^{272,273,405} Resultat dieser Vorgänge ist eine geschwächte Substratanbindung der Moleküle und eine verminderte Ordnung im SAM. Beides verringert die Bindungsstärke der Moleküle in den geschädigten Bereichen und erleichtert somit die Austauschreaktion.

Diesem Prozess ist vermutlich ein zweiter, kinetisch langsamerer Vorgang überlagert, der erst bei höheren Strahlendosen deutlich in Erscheinung tritt. Hier scheint es vermehrt zu C-C-Verknüpfungsreaktionen und damit zu einer Vernetzung der geschädigten Moleküle zu kommen. Die hierbei entstehenden Makromoleküle sind im Gegensatz zu den unvernetzten Spezies über mehrere Thiolatgruppen multivalent an das Substrat gebunden und werden daher während der Austauschreaktion nicht substituiert.

Die Veränderung der SAM-Struktur und der Verlauf der Austauschreaktion für unterschiedliche Strahlendosen sind in Abb. 77 schematisch dargestellt.

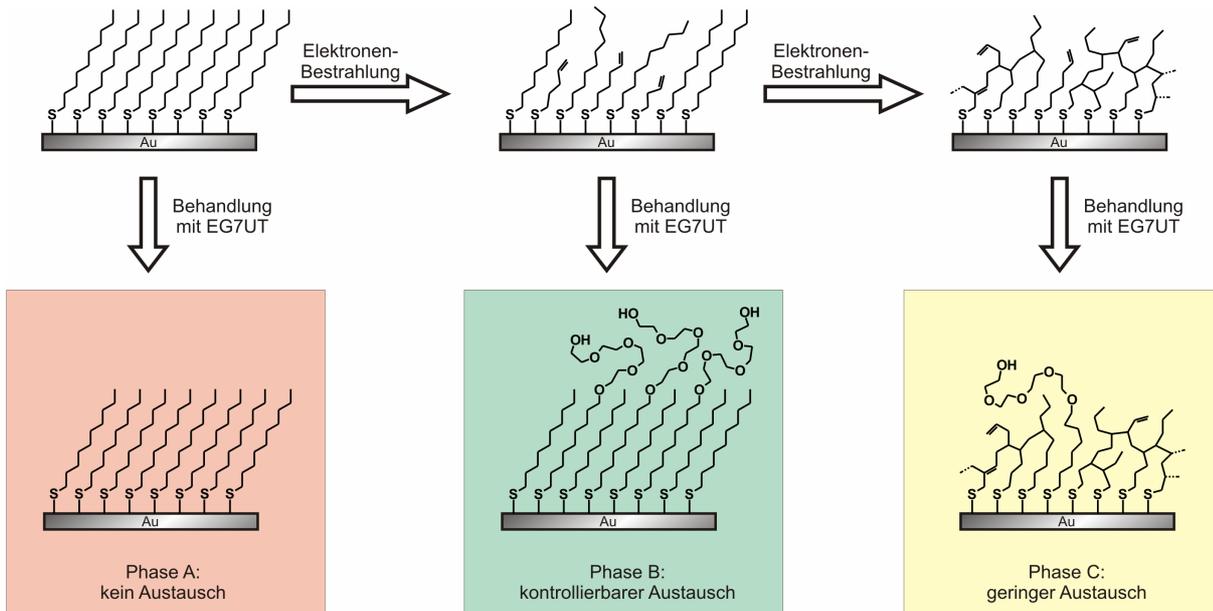


Abb. 77: Austauschreaktion bei verschiedenen Strahlendosen.

Bei keiner Bestrahlung oder sehr geringer Dosis fand kein messbarer Austausch von Molekülen des DDT-SAMs gegen EG7UT statt. Die resultierende Schicht wird im Folgenden als Phase A bezeichnet und ist in Abb. 77 rot unterlegt. Die Bestrahlung des DDT-SAMs mit Dosen bis 0.75 mC/cm^2 führte hingegen zu einer starken Begünstigung der Austauschreaktion. Zudem war die Stärke des Austauschs in diesem Bereich durch die verwendete Dosis steuerbar (Phase B, grün). Bei Verwendung von Dosen oberhalb 0.75 mC/cm^2 überwog die Quervernetzung und die Austauschreaktion wurde gehemmt (Phase C, gelb).

7.2 Proteinadsorption auf mit IPER erzeugten EG₇-haltigen SAMs

Der Austausch von Molekülen des DDT-SAMs gegen EG7UT sollte die Repulsivität der Schichten gegenüber Proteinadsorption erhöhen. Um dies zu untersuchen, wurde zuerst der Bestrahlungs / Austausch-Prozess mit Dosen zwischen 0 mC/cm^2 und 1.0 mC/cm^2 durchgeführt und dann die Proteinadsorption auf den modifizierten Schichten bestimmt. Als Testproteine dienten BSA, γ -Globulin und Fibrinogen. Die Bestimmung der gebundenen Proteinmengen erfolgte durch ellipsometrische Messungen. In Abb. 78 sind die Ergebnisse der Adsorptionsversuche dargestellt.

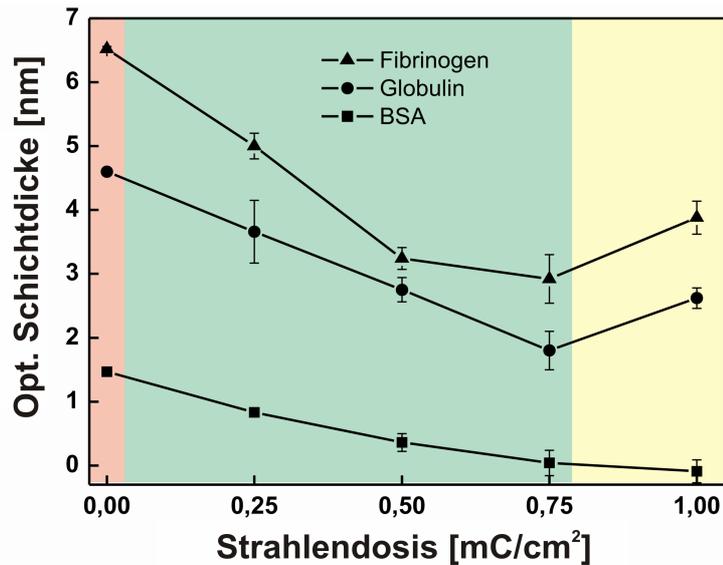


Abb. 78: Proteinadsorption in Abhängigkeit von der für den IPER-Prozess verwendeten Strahlendosis.

Wie zu erwarten, korrelierte die Proteinadsorption mit dem Anteil von EG7UT-Molekülen in der Schicht. Im Bereich von 0 mC/cm² bis 0,75 mC/cm² (Phase B) stieg die Repulsivität daher mit der Strahlendosis an und nahm dann zu höheren Dosen hin wieder deutlich ab (Phase C).

Aus Abb. 78 geht weiterhin hervor, dass eine vollständige Repulsivität nur gegenüber BSA erreicht wurde. Für γ -Globulin und Fibrinogen wurde eine um etwa 45 Prozent reduzierte Adsorption festgestellt. Dieser Wert stimmt sehr gut mit Ergebnissen überein, die für die Fibrinogenadsorption auf gemischten SAMs mit einem EG6UT-Gehalt von 30 % erhalten wurden.⁹⁶

Die hier beobachtete stärkere Adhäsivität von γ -Globulin und Fibrinogen im Vergleich zu BSA deckt sich mit den Ergebnissen, die für die Adsorption dieser Proteine auf PG-terminierten SAMs erhalten wurden (vgl. Kapitel 4).

7.3 Verwendung von IPER zur Erzeugung eines Biorepulsivitätsgradienten

Bisher wurden einzelne Proben mit unterschiedlichen Gehalten an EG7UT hergestellt und untersucht. Ziel war es jedoch, einheitliche Gradienten ohne Stufen im

Konzentrationsprofil zu erzeugen. Um dies zu realisieren, wurde der IPER-Prozess mit der Elektronenstrahl-Lithographie kombiniert. Bei der Elektronenstrahl-Lithographie handelt es sich um eine Methode, die vornehmlich in der Halbleiterindustrie zur Nano- und Mikrostrukturierung von Oberflächen eingesetzt wird. Die Strukturierung erfolgt mit einem fokussierten Elektronenstrahl, weshalb das Verfahren mit IPER gekoppelt werden kann. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, den IPER-Prozess im Mikrometerbereich durchführen zu können und Gradienten mit sehr steilem Konzentrationsprofil zu erzeugen.

Mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops, das mit einem *pattern generator* ausgestattet war, wurden Linien in einen DDT-SAM geschrieben. Die Energie des verwendeten Elektronenstrahls betrug 1 keV. Die auf den SAM wirkende Strahlendosis wurde über die Geschwindigkeit gesteuert, mit der der Elektronenstrahl über das Substrat bewegt wurde. Ein Geschwindigkeitsgradient sorgte dabei für ein lineares Dosis-Profil entlang der bestrahlten Strecke.

Unter Verwendung unterschiedlicher Dosis-Profile wurden drei Gradienten von je 3 μm Breite und circa 25 μm Länge in den DDT-SAM geschrieben. Nach Durchführung der Austauschreaktion durch Immersion der bestrahlten Probe in EG7UT-Lösung erfolgte ein Proteinadsorptionsexperiment mit Fibrinogen-Lösung. Die Proteinadsorption auf den modifizierten Bereichen wurde mit Hilfe von AFM-Aufnahmen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 79 dargestellt.

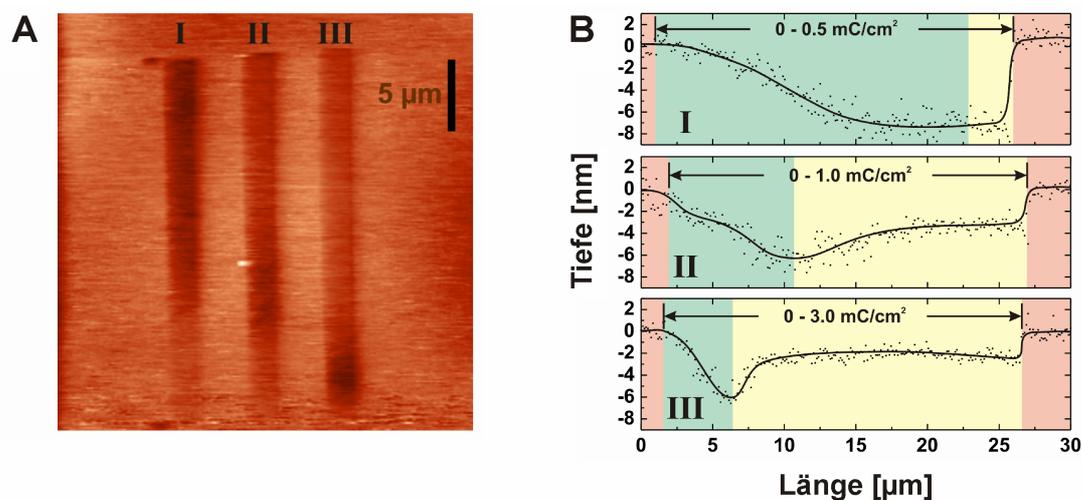


Abb. 79: (a) AFM-Aufnahme der modifizierten Bereiche, verwendete Strahlendosen: 0-0.5 mC/cm² (I), 0-1.0 mC/cm² (II), 0-3.0 mC/cm² (III), (b) Höhenprofile entlang der Gradienten.

Die AFM-Aufnahme (Abb. 79a) zeigt die geschriebenen Linien deutlich als Furchen in einer ansonsten vollständig mit Protein bedeckten Oberfläche. Auffallend ist, dass die Bereiche minimaler Proteinadsorption je nach verwendeter Strahlendosis an unterschiedlichen Stellen der Furchen auftraten und unterschiedlich weit ausgedehnt waren. Aus dem Höhenprofil (Abb. 79b) geht weiterhin hervor, dass die minimale Proteinadsorption in allen drei Fällen bei Strahlendosis von etwa 0.4 mC/cm^2 erreicht wurde. Dieser Wert war um den Faktor 2.5 geringer als die optimale Dosis, die in den vorhergehenden Experimenten ermittelt wurde.

Der Grund für diese Abweichung ist die höhere primäre Energie der eingesetzten Elektronen. Die Schädigung des bestrahlten SAMs wird durch primäre und sekundäre Elektronen verursacht.²⁴¹ Elektronen einer Energie von 1 keV erzeugen deutlich mehr Sekundärelektronen als Elektronen mit einer Primärenergie von 10 eV. Die Schädigung des SAMs war bei der lithographischen Methode deshalb bei gleicher Dosis wesentlich stärker ausgeprägt.

Allen drei Gradienten war gemeinsam, dass sich ausgehend vom unbestrahlten SAM (Phase A, rot) mit zunehmender Strahlendosis die Proteinadsorption zunächst verringerte (Phase B, grün) und ab einem bestimmten Grenzwert wieder erhöhte (Phase C, gelb). Dieses Resultat war aufgrund der Ergebnisse aus den Voruntersuchungen zu erwarten gewesen. Mit steigender Strahlendosis jenseits des optimalen Werts von 0.3 mC/cm^2 fand jedoch kein kontinuierliches Abfallen der Proteinrepulsivität statt, sondern der Effekt lief einem Grenzwert entgegen (Kurven II und III in Abb. 79b). Das Plateau in Phase C ist vermutlich auf ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Austausch-hemmender Quervernetzung und Austausch-verstärkender Schädigung der Schicht zurückzuführen. An Kurve III ist erkennbar, dass bei Strahlendosen über 2.0 mC/cm^2 die Proteinrepulsivität wieder leicht zunahm. Bei diesen sehr hohen Dosen scheint der SAM so stark geschädigt zu werden, dass die Austauschreaktion wieder zunimmt. Grund hierfür könnte ein strahlungsinduzierter Abbau der quervernetzten Schicht sein, der sich in einer verstärkten Austauschreaktion mit EG7UT bemerkbar macht.

Bei Anwendung der hier beschriebenen Methode zur Erzeugung von Gradienten sollten Strahlendosen zwischen 0 mC/cm^2 und 0.4 mC/cm^2 verwendet werden. In diesem Bereich korreliert die Austauschreaktion und damit der erzeugte biorepulsive Effekt positiv mit der Strahlendosis und kann exakt variiert werden. Andererseits

ermöglicht die Verwendung höherer Dosen Zugang zu parabolischen Konzentrationsprofilen.

Die mit diesem Verfahren hergestellten Gradienten weisen ein steiles Konzentrationsprofil auf und sollten daher dazu geeignet sein, haptotaxische Prozesse an Zellen zu untersuchen.

7.4 Zusammenfassung des Oberflächengradienten Kapitels

Es konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus IPER und Elektronenstrahl-Lithographie ein geeignetes Werkzeug zur Erzeugung von Proteingradienten im Mikrometermaßstab darstellt. XPS- und NEXAFS-Untersuchungen haben bestätigt, dass es während des IPER-Prozesses zu einer strahlungsinduzierten Schädigung des SAMs kommt und die Moleküle im bestrahlten Bereich leicht durch andere ersetzt werden können. Dies konnte anhand von Austauschreaktionen mit EG7UT an bestrahlten DDT-SAMs gezeigt werden. Weiterhin wurde gezeigt, dass die Stärke der Austauschreaktion und damit die Zusammensetzung des resultierenden SAMs innerhalb niedriger Dosis-Bereiche präzise über die verwendete Strahlendosis gesteuert werden können. Hohe Strahlendosen sind für den Prozess hingegen weitgehend ungeeignet, da sie zu einer Quervernetzung der Moleküle im bestrahlten Bereich führen und die Austauschreaktion hemmen.

8 Experimenteller Teil

8.1 Lösungsmittel

Die verwendeten absoluten Lösungsmittel wurden durch mehrtägiges Rühren über den angegebenen Trockenmitteln und anschließendes Destillieren unter Stickstoffatmosphäre erhalten. Die Trocknung erfolgte dabei unter Sieden (*) oder bei Raumtemperatur (**).

Lösungsmittel	Trockenmittel
Dichlormethan	CaH ₂ (**)
Chloroform	CaH ₂ (**)
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	CaH ₂ (**)
Acetonitril	P ₄ O ₁₀ (*)
Tetrahydrofuran	Na/K-Legierung (*)
Diethylether	Na/K-Legierung (*)
n-Hexan	Na/K-Legierung (*)
Dimethoxyethan	Na/K-Legierung (*)
1,4-Dioxan	Na (*)
Toluol	Na (*)
Methanol	Mg (*)
Ethanol	Mg (*)

8.2 Verwendete Meßgeräte

NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden mit einem 200 MHz Multikern-Spektrometer „Varian Gemini 2000BB“ der Firma Varian sowie einem 400 MHz Multikern-Spektrometer

„Bruker Avance 400“ der Firma Bruker mittels Puls-FT-Technik aufgenommen. Alle Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

MALDI-TOF-Spektroskopie

Die MALDI-TOF-Spektren wurden mit einem „M@ldi L“ der Firma Micromass Ltd. (jetzt Waters) aufgenommen. Das Gerät war mit einem Stickstofflaser ($\lambda = 337 \text{ nm}$) ausgerüstet. Die Messungen wurden bei einer *Source Voltage* von 15 kV und einer *Pulse Voltage* von 2 kV durchgeführt. Für die Erfassung der Messwerte wurde das Programm MassLynx™ 4.0 der Firma Waters verwendet.

Als Matrixsubstanz diente für alle Messungen 4-Hydroxy- α -cyanozimtsäure. Als Lösungsmittel wurde eine Mischung aus wässriger Trifluoressigsäure ($c = 1 \text{ \% v/v}$) und Acetonitril im Volumenverhältnis 1:1 eingesetzt.

AFM-Messungen

Die AFM-Messungen wurden mit einem „Solver Pro“ der Firma NT-MDT unter Verwendung von goldbeschichteten CSG01-*Cantilevers* der Firma NT-MDT durchgeführt. Alle Messungen erfolgten im Kontaktmodus bei einer Scan-Geschwindigkeit von 0.5 Hz. Die Bildgröße betrug $30.2 \times 30.2 \text{ }\mu\text{m}$ bei einer Auflösung von 265×265 Punkten. Zur Datenaufnahme und Bildbearbeitung wurde eine geräteinterne Software benutzt.

IR-Spektroskopie

Alle IR-Spektren wurden mit einem FT-IR-Spektrometer „VERTEX 70“ der Firma Bruker aufgenommen und mit dem Programm Opus 6.5 der Firma Bruker ausgewertet.

Zur Aufnahme der Spektren für die Dendrimere wurde eine ATR-Zelle vom Typ „Golden Gate Single Reflection ATR“ der Firma Specac benutzt.

Kontaktwinkelmessung

Die Kontaktwinkelbestimmungen wurden mit einem „Multiskop“ der Firma Optrel vorgenommen. Als Fluid wurde Wasser verwendet.

Ellipsometrie

Für die ellipsometrischen Messungen wurde ein „SE 400“ der Firma Sentech Instruments verwendet. Für alle organischen Filme wurde näherungsweise ein Realteil des Brechungsindex von $n = 1.45$ und ein Imaginärkoeffizient von $k = 0$ angenommen.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Schmelzpunktbestimmungsapparatur der Firma Büchi nach Dr. Tottoli bestimmt.

SPR-Spektroskopie

Die SPR-spektroskopischen Untersuchungen wurden mit einem umgebauten „Multiskop“ der Firma Optrel durchgeführt. Als Lichtquelle diente ein NIR-Laser ($\lambda = 785 \text{ nm}$, Leistung = 15 mW), der von der Firma Laser 2000 bezogen wurde. Die verwendeten 90 ° und Halbzylinder-Prismen bestanden aus BK7-Glas.

Für Messungen wurden selbst hergestellte PDMS-Flußkammern ($V = 36 \mu\text{L}$) und zwei Spritzenpumpen der Firma Braun (Modell Perfusor Secura) verwendet. Der Flüssigkeitstransport erfolgte durch Teflonschläuche ($\varnothing_{\text{innen}} = 1 \text{ mm}$).

8.3 Bestimmung von Brechungsindices durch Messung des Brewster-Winkels

Zur Bestimmung des Brewster-Winkels wurde ein „Multiskop“ der Firma Optrel verwendet. Da die Messung p-polarisiertes Licht erfordert, wurde bei einer Polarisator- und Analysatoreinstellung von jeweils 0° gearbeitet.

Flüssige Medien

Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde in eine Kunststoff-Petrischale gegeben und mit Hilfe des Probenstischs in den Strahlengang gebracht. Dann wurde durch Variation des Einfallswinkels mit dem Goniometer die Reflexionskurve aufgenommen. Bei Erreichen des Brewster-Winkels fiel die reflektierte Lichtintensität auf null ab. Die Größe konnte daher direkt aus der Reflexionskurve ermittelt werden.

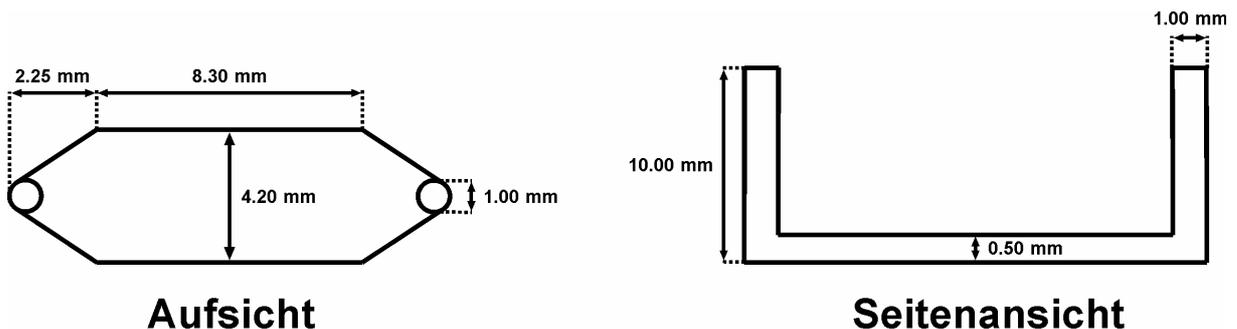
Bei durch Gebäudeschwingungen verwaschten Reflexionskurven hat es sich bewährt, die Petrischale hängend in den Strahlengang zu bringen. Dies kann durch die Befestigung der Schale mit Band (z. B. Garn) an der höhenverstellbaren Spritzen-Halterung des Kontaktwinkel-Aufbaus erreicht werden.

Proteinfilme

Zur Bestimmung des Brechungsindex von Proteinen war es notwendig, die Substanzen in Form von Filmen auf eine nichtreflektierende Oberfläche aufzubringen. Hierzu wurden Mikroskop-Objektträger verwendet, deren Oberfläche durch Sandstrahlen stumpf gemacht wurde. Der Film wurde durch mehrmaliges Auftragen und trocknen lassen einer konzentrierten wässrigen Proteinlösung erzeugt. Hierbei war darauf zu achten, dass der Proteinfilm fest am Untergrund haftete und sich kein Luftfilm zwischen Protein und Objektträger bildete. Die Bestimmung des Brewster-Winkels erfolgte dann analog zu der für flüssige Medien beschriebenen Weise.

8.4 Herstellung der PDMS-Flusskammern für die SPR-spektroskopischen Messungen

Die Herstellung der Flusskammern erfolgte ausgehend von folgenden Formkörpern aus Edelstahl.



Skizze der für die Herstellung der Flusszellen verwendeten Formkörper aus Edelstahl.

Die Formkörper wurden in eine Kunststoff-Petrischale gestellt und mit einer Mischung aus PDMS-Harz (Sylgard 184[®], Dow Corning) und dem dazugehörigen Härter (Dow Corning) im Gewichtsverhältnis 10:1 abgegossen. Die Mischung wurde für 1 h bei 100 °C im Trockenschrank polymerisiert. Danach konnten die Flusskammern mit einem Messer voneinander getrennt und vom Formkörper befreit werden.

8.5 Verwendete Substrate

Goldsubstrate

Au(111)-beschichtete Substrate für ellipsometrische Messungen wurden erhalten, indem mit Hilfe eines Elektronenstrahlverdampfers zuerst 1.5 nm Cr als Haftvermittler und dann 200 nm Au auf Silicium(100) Wafern der Firma Wacker Siltronic AG aufgedampft wurden.

Au(111)-beschichtete Substrate für SPR-Messungen wurden auf gleiche Weise durch das Bedampfen von Mikroskop-Objektträgern (Soda-Glas) mit 1.5 nm Cr und 50 nm Au erhalten.

SiO₂-Substrate

Als SiO₂-Substrate wurden Silicium(100) Wafer mit nativer SiO₂-Schicht der Firma Wacker Siltronic AG verwendet.

8.6 Bildung von selbstanordnenden Monoschichten (SAMs)

Die Bildung der SAMs wurde grundsätzlich unter Stickstoff als Schutzgas und unter Verwendung absoluter Lösungsmittel durchgeführt.

Thiolat-SAMs auf Goldsubstraten

Au(111)-Substrate wurden durch eine zweiminütige Behandlung mit Methanol im Ultraschallbad von gröberen Verunreinigungen befreit. Danach erfolgte eine einminütige Reinigung mit H₂-Plasma. Hierzu wurde ein Plasma Cleaner/Sterilizer Modell PDG-32G der Firma Harrick benutzt.

Thiolat-SAMs wurden erhalten, indem die gereinigten Substrate über Nacht im Belegungskolben mit einer ethanolischen Lösung des betreffenden Thiols ($c = 1 \text{ mmol/L}$) oder Thioacetats ($c = 5 \text{ mmol/L}$) behandelt wurden. Für die Bildung von Polyglycerol-SAMs wurde Methanol als Lösungsmittel verwendet. Nach der Bildung des SAMs wurden die Substrate in das für die Beschichtung verwendete Lösungsmittel gelegt, mit diesem gründlich abgespült und im Stickstoffstrom getrocknet.

3-Aminopropylsiloxan-SAMs (APTMS-SAMs) auf SiO₂-Substraten

Zur Entfernung organischer Verunreinigungen wurden Silicium-Substrate mit nativer Oxidschicht für 30 min mit einer frisch hergestellten Mischung (7:3 v/v) von konz. Schwefelsäure und H₂O₂-Lösung (30 % in H₂O) behandelt. Nach der Reinigung wurden die Substrate mit Wasser säurefrei gewaschen und im Stickstoffstrom getrocknet.

APTMS-SAMs wurden erhalten, indem die gereinigten Substrate im Belegungskolben für 4 min bei 60 °C mit einer Lösung von 3-Aminopropyltrimethoxysilan in Toluol ($w_{\text{APTMS}} = 0.01$) behandelt wurden. Nach der Beschichtung wurden die Substrate gründlich mit Toluol gespült und zur Entfernung von anhaftendem polymerem Material für 2 min mit Wasser im Ultraschallbad behandelt.

8.7 Modifizierung von Thiolat-Monoschichten auf Gold mit

IPER^{272-274,403}

Die untersuchten Proben mit EG₇-Gradienten wurden an der Universität Heidelberg in der Gruppe von Prof. Dr. M. Zharnikov durch N. Ballav hergestellt. Durch N. Ballav erfolgte auch die Charakterisierung der Monoschichten durch XPS- und NEXAFS-Messungen.

Der IPER-Prozess umfasste zwei Schritte. Zuerst wurden Dodecanthiolat-SAMs durch Elektronenbeschuss geschädigt und anschließend mit einer ethanolischen Lösung von HOEG₇C₁₁SH (**28**) behandelt. Hierdurch fand ein Austausch von geschädigten Schichtmolekülen gegen EG₇-terminierte Thiolmoleküle statt.

8.7.1 Darstellung uniformer, gemischter SAMs durch Bestrahlung von Dodecanthiolat-SAMs mit Elektronen

Die Bestrahlung der Monoschichten erfolgte mit Elektronen einer Energie von 10 eV. Die Elektronenquelle befand sich hierbei in einem Abstand von 15 cm vom Substrat. Die Stärke der Schädigung der SAMs wurde durch die verwendete Strahlendosis gesteuert. Die jeweilige Strahlendosis konnte durch Multiplikation der Stromdichte (ca. 19 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$) mit der Bestrahlungszeit abgeschätzt werden.

Austauschreaktion am geschädigten SAM

Der Austauschreaktion wurde unter Argon durchgeführt. Hierzu erfolgte eine zwei-stündige Behandlung der geschädigten Monoschichten mit Lösungen von

HOEG₇C₁₁SH in absolutem Ethanol ($c = 1 \text{ mM}$). Nach beendetem Austausch wurden die Substrate gründlich mit Ethanol gespült und im Ar-Strom getrocknet.

Die so hergestellten Proben wurden dann umgehend spektroskopisch untersucht bzw. auf ihre Proteinrepulsivität überprüft.

8.7.2 Darstellung von Gradienten durch Kopplung von IPER mit Elektronenstrahl-Lithographie

Dodecanthiolat-SAMs wurden entlang einer $3 \mu\text{m}$ breiten und $25 \mu\text{m}$ langen Strecke mit Elektronen einer Energie von 1 keV bestrahlt. Hierzu diente der fokussierte Elektronenstrahl eines Rasterelektronenmikroskops. Das Mikroskop war mit einem *pattern generator* ausgestattet, wodurch die auf den SAM wirkende Strahlendosis entlang der bestrahlten Strecke variiert werden konnte. Nach der Bestrahlung wurde wie unter Punkt 8.5.2 beschrieben die Austauschreaktion mit dem EG₇-terminierten Thiol **28** durchgeführt.

8.8 Bildung von Polyglycerol-Filmen auf 3-Aminopropylsiloxan-SAMs

APTMS-beschichtete Substrate wurden zum Aufbringen des Polyglycerol-Films über Nacht bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Lösung von Glycidol in Xylol ($w_{\text{Glycidol}} = 0.1$) behandelt. Hierzu wurden die Proben mit der Glycidol-Lösung überschichtet und in einen entsprechend vorgeheizten Trockenschrank gestellt. Nach erfolgter Filmbildung wurden die Substrate mit Xylol abgespült und im N₂-Strom getrocknet. Zur vollständigen Entfernung von physisorbiertem Material erfolgte zusätzlich eine dreiminütige Reinigung der Proben mit Wasser im Ultraschallbad. Die gereinigten Substrate wurden dann im N₂-Strom getrocknet.

Die Bildung des Polyglycerol-Films erfolgte nicht unter Stickstoff.

8.9 Bildung von Polyglycerol-Filmen auf SiO₂

Die Bildung der Polyglycerol-Filme auf SiO₂ erfolgte analog zur Filmbildung auf den Amino-terminierten SAMs. Als Substrate dienten hier gereinigte Silicium-Wafer mit nativer SiO₂-Schicht.

8.10 Überprüfung der Aktivität von Katalysatoren für die Click-Reaktion

Stellvertretend für alle *N,N*-Dimethylalkylidokupfer(I)-Komplexe wurde die katalytische Aktivität des mit *N,N*-Dimethyldodecylamin erhaltenen Komplexes in der 1,3-dipolaren Cycloaddition von Alkinen und organischen Aziden untersucht.

Zu 10 ml absolutem *n*-Hexan oder Toluol wurden 38 mg (0.2 mmol, 0.02 Äquivalente) festes CuI gegeben. Nach Zugabe von 0.80 g (3.8 mmol, 0.37 Äquivalente) *N,N*-Dimethyldodecylamin wurde die Mischung solange unter Rückfluss gerührt, bis alles CuI in Lösung gegangen war. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden dann 16 mg (5.0 mmol, 1 Äquivalent) MeEG₆N₃ **32** sowie 1.1 g (10 mmol, 2 Äquivalente) 1-Octin zugefügt. Die Ansätze wurden dann bei verschiedenen Temperaturen über Nacht gerührt und anschließend eingeeengt. Der Umsatz der Edukte zum entsprechenden Triazol **A** wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie festgestellt.

Ein Beispielspektrum ist in Abb. 80 dargestellt. Das Singulett bei $\delta = 3.32$ ppm ist den Protonen der Methoxygruppen im Reaktionsprodukt und im Edukt **32** zuzuordnen.

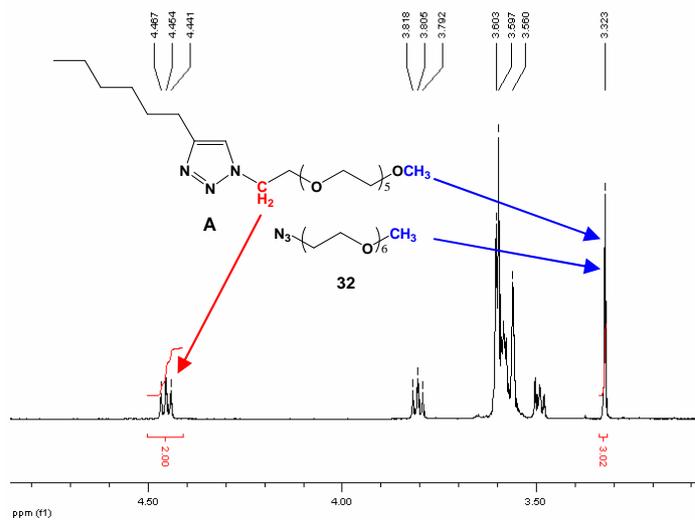


Abb. 80: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nach der Reaktion von 1-Octin mit MeEG_6N_3 .

Das Triplet bei $\delta = 4.45$ ppm hingegen ist auf zwei produktspezifische Protonen zurückzuführen. Über die Integrale beider Signale konnte nach folgender Gleichung der Reaktionsumsatz U berechnet werden.

$$U [\%] = \frac{3 \int \text{NCH}_2}{2 \int \text{OCH}_3} \cdot 100$$

Gleichung zur Berechnung des Reaktionsumsatzes U .

8.11 Click-Reaktion auf Alkin-terminierten SAMs

Alle Click-Reaktionen wurden unter Stickstoff als Schutzgas und mit absoluten Lösungsmitteln durchgeführt.

Reaktion in Hexan und Toluol

Herstellung der Katalysatorlösung

n-Hexan oder Toluol wurden vorgelegt und mit CuI versetzt ($c_{\text{CuI}} = 1 - 10$ mmol/L). Unter Rühren wurde nun in kleinen Portionen soviel *N,N*-Dimethylalkylamin zugefügt, bis alles CuI in Lösung gegangen war. Dann wurde die Lösung kurz bis zum Sieden

erwärmt. Wenn hierbei wieder etwas CuI ausfiel, wurde erneut Amin zugefügt, bis die Trübung verschwand.

Click-Reaktion

In einem Belegungskolben wurden 10 mL der Katalysatorlösung mit der jeweiligen Azid-Komponente ($c_{\text{Azid}} = 5 \text{ mmol/L}$) versetzt. In diese Reaktionslösung wurden nun Goldsubstrate gestellt, auf denen zuvor eine Alkin-terminierte Monoschicht abgeschieden wurde. Der Belegungskolben wurde verschlossen und mit einem Ölbad temperiert (n-Hexan: $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$, Toluol: $T = 80 \text{ }^\circ\text{C}$). Nach einer Reaktionszeit von mindestens 15 h wurde das Ölbad entfernt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Substrate aus der Reaktionslösung entfernt, in eine Lösung von TMEDA in dem für die Reaktion verwendeten Lösungsmittel ($c = 0.5 \text{ mol/L}$) gelegt, gründlich mit dieser Lösung abgespült und im Stickstoffstrom getrocknet. Zum Entfernen von physisorbiertem Material und Katalysatorresten wurden die belegten Proben dann für 1 h in eine Lösung von TMEDA in Wasser ($c = 0.5 \text{ mol/L}$) und danach für 1 h in Wasser gelegt.

Reaktion in Acetonitril

Herstellung der Katalysatorlösung

Die Katalysatorlösung wurde hergestellt, indem CuI ($c = 5.0 \text{ mmol/L}$) und DIPEA ($c = 6.3 \text{ mmol/L}$) unter Rühren in Acetonitril gelöst wurden.

Click-Reaktion

Reaktion und Substratreinigung wurden analog zur Reaktion in Hexan/Toluol durchgeführt. Abweichend wurde hier bei einer Reaktionstemperatur von $50 \text{ }^\circ\text{C}$ gearbeitet. Nach erfolgter Reaktion wurden die Substrate mit reinem Acetonitril gespült.

8.12 Ellipsometrische Bestimmung der Proteinadsorption

Zur Bestimmung der Proteinadsorption wurden jeweils zwei Substrate für 2 h in eine Lösung des jeweiligen Proteins ($c = 1 \text{ mg/mL}$) in konserviertem Phosphatpuffer ($10 \text{ mM H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, $\text{pH} = 7.0$, 0.1 \% NaN_3) gelegt. Danach wurden die Proben

gründlich mit demineralisiertem Wasser abgewaschen (100 mL pro Probe), im Stickstoffstrom getrocknet und ellipsometrisch vermessen. Die Schichtdicke des adsorbierten Proteins ergab sich aus dem ermittelten Wert, von dem gegebenenfalls die Schichtdicke einer vorhandenen Monoschicht bzw. SiO_2 -Schicht abgezogen wurde. Es wurden jeweils sechs Messwerte aufgenommen (drei pro Substrat), über die ein Mittelwert mit Standardabweichung berechnet wurde.

8.13 SPR-spektroskopische Messungen

Alle verwendeten Lösungen und Lösungsmittel wurden vor der Benutzung im Vakuum entgast.

Unspezifische Proteinadsorption

Für die Proteinadsorption wurde $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ -Puffer mit einer Phosphatkonzentration von 10 mmol/L und einem pH-Wert von $\text{pH} = 7.0$ verwendet. Zur Konservierung enthielt der Puffer 0.1 % NaN_3 . Bei den verwendeten Proteinlösungen handelte es sich um Lösungen des jeweiligen Testproteins ($c = 1 \text{ mg/mL}$) in Phosphatpuffer. Als Testproteine dienten BSA, Fibrinogen (bovin) und γ -Globulin (bovin). Um nach einem abgeschlossenen Adsorptionsexperiment das nächste Protein auf demselben Substrat vermessen zu können, wurde durch zehnteiliges Überleiten von SDS-Lösung ($c = 10 \text{ mmol/L}$, 0.1% NaN_3), gefolgt von zehnteiligem Spülen mit Puffer regeneriert.

Messungen mit dem Multiskop

Zu Beginn einer Messung wurde die Hintergrund-Kurve des Substrats aufgenommen. Dies geschah durch Messung der Reflexionskurve an Luft, also vor dem Füllen der Flusskammer mit Puffer. Nach Aufnahme der Hintergrund-Kurve wurde Phosphatpuffer über das Substrat geleitet. Zur späteren Bestimmung des SPR-Minimums vor der Adsorption wurde nun dreimal direkt hintereinander die Reflexionskurve gemessen. Hiernach wurde mit dem jeweiligen Adsorptionsexperiment begonnen.

Dazu wurde die Pufferlösung durch eine Proteinlösung ersetzt, welche für 10 min über das Substrat geleitet wurde. Abschließend wurde für 10 min mit Pufferlösung gespült, um physisorbiertes Material zu entfernen. Der Verlauf der Adsorption wurde durch eine Intensitäts-Zeit-Messung verfolgt, bei der die Reflektivität bei einer festen Einfallswinkel-Einstellung (0.5° neben dem Minimum zu niedrigeren Winkeln) gemessen wurde. Um das SPR-Minimum nach der Proteinadsorption bestimmen zu können, erfolgte nach dem Spülen mit Pufferlösung erneut eine dreimalige Bestimmung der Reflexionskurve. Alle Lösungen wurden mit einer Flussgeschwindigkeit von $v_{\text{Fluß}} = 30 \text{ mL/h}$ über das Substrat geleitet.

Die vor und nach dem Adsorptionsexperiment aufgenommenen Reflexionskurven wurden durch Division mit der Hintergrundkurve korrigiert und normiert. Dann wurden die resonanten Einfallswinkel aus den Kurven bestimmt. Hierzu wurde jeweils der Kurvenbereich in der Nähe des Minimums mit einer kubischen Funktion angefitet. Durch Ermittlung der Nullstelle der ersten Ableitung des Fits konnte dann der jeweilige resonante Einfallswinkel mit großer Genauigkeit bestimmt werden.

Der Winkel vor der Adsorption ($\Theta_{\text{E,R(I)}}$) und derjenige nach der Adsorption ($\Theta_{\text{E,R(II)}}$) ergaben sich jeweils als Mittelwert aus den drei Einzelmessungen. Die Verschiebung des resonanten Einfallswinkels $\Delta\Theta_{\text{E,R}}$ folgte dann als die Differenz $\Delta\Theta_{\text{E,R}} = \Theta_{\text{E,R(II)}} - \Theta_{\text{E,R(I)}}$.

Spezifische ConA - Mannose-Wechselwirkung

Die Untersuchungen zur spezifischen Bindung von *Concanavalin A* an mannosylterminierte Monoschichten wurden mit dem Multiskop durchgeführt. Der Ablauf der Messung erfolgte analog zu der für die Proteinadsorption beschriebenen Verfahrensweise. Als Pufferlösung wurde eine mit NaHEPES gepufferte ($c = 10 \text{ mmol/L}$, $\text{pH} = 7.5$) 0.15 M NaCl-Lösung verwendet, die 0.005% (v/v) Tween 20 enthielt. Zur Aktivierung des Con A waren der Lösung jeweils 1 mM Ca^{2+} - bzw. Mn^{2+} -Ionen in Form von $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ zugesetzt. Als Analytlösung diente eine $10 \mu\text{M}$ ConA-Lösung (bezogen auf das Tetramer) in Puffer.

8.14 Substanzen aus anderen Arbeitsgruppen

Folgende Substanzen wurden nicht selbst synthetisiert, sondern von Dr. Mike Klei-
nert aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Lindhorst in Kiel zur Verfügung gestellt:

1. 11-Thioacetylundecyl-*N*-methyramid (**41**)
2. 2-Azidoethyl- α -D-mannopyranosid (**42**)

8.15 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

Wenn nicht anders vermerkt, wurden alle Synthesen unter Stickstoff als Schutzgas durchgeführt.

8.15.1 Darstellung von *N,N*-Dimethylalkylaminen (AAV 1)

Die Reaktionen wurden nicht unter Schutzgas durchgeführt.

1,0 mol des jeweiligen primären Amins wurde unter Eiskühlung langsam mit 2,8 mol Ameisensäure ($w = 99\%$) versetzt. Danach erfolgte, ebenfalls unter Kühlung, die Zugabe von 3,0 mol Formaldehyd (wässrige Lösung, $w = 36\%$). Das Reaktionsgefäß wurde mit einem Rückflußkühler versehen und die Mischung über Nacht bei einer Heizbadtemperatur von $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung mit einem Eiswasserbad gekühlt und vorsichtig unter Rühren mit einer Lösung von 3 mol NaOH in 150 mL Wasser versetzt. Die wässrige Phase wurde dann dreimal mit je 300 mL Et_2O extrahiert. Die vereinigten etherischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der Rückstand wurde durch eine Destillation unter vermindertem Druck gereinigt.

8.15.2 Darstellung von HOEG_nC₁₁-1-en (AAV 2)

1 mmol Oligoethylenglycol wurden mit 2.5 mmol KOH (als 50 %ige wässrige Lösung) versetzt und für 1 h bei $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Dann wurde n 1.1 mmol 11-Bromundec-1-en

zugegeben. Die Mischung wurde über Nacht bei 100 °C gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde mittels DC festgestellt. Bei unvollständiger Reaktion wurden weitere 0.1 mmol 11-Bromundec-1-en zugefügt und der Ansatz erneut für mehrere Stunden bei 100 °C gerührt. Nach abgeschlossener Reaktion wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Et₂O / Methanol (Gradient: 9:1 – 8:2) gereinigt und im Vakuum getrocknet.

8.15.3 Thioacetylierung von HOEG_nC₁₁-1-en (AAV 3)

1 mmol des jeweiligen Alkens wurde in 10 mL absolutem CH₂Cl₂ gelöst, mit 4 mmol Thioessigsäure versetzt und in einem wassergekühlten Schlenkrohr für 2 h mit einer 150 W Quecksilberdampf UV-Lampe bestrahlt. Danach wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Um überschüssige Thioessigsäure zu entfernen, wurde der Rückstand dreimal in je 10 mL Toluol gelöst, das dann am Rotationsverdampfer abdestilliert wurde. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Et₂O / Methanol (Gradient: 9:1 – 8:2) gereinigt und im Vakuum getrocknet.

8.15.4 Entschützung der Thioacetate zu HOEG_nC₁₁SH (AAV 4)

1 mmol des jeweiligen Thioacetats wurden in 10 mL absolutem Ethanol gelöst. Dieser Lösung wurden 25 mmol NaOH zugesetzt. Die Mischung wurde für mindestens 3 h unter Rückfluß erhitzt und dann nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit sauerstofffreier halbkonzentrierter Salzsäure angesäuert (pH ≈ 2). Das Gemisch wurde im Vakuum eingeengt und säulenchromatographisch an Kieselgel mit Et₂O / Methanol (Gradient: 9:1 – 8:2) gereinigt.

8.15.5 Umsetzung von 10-Undecensäurechlorid zu 10-Undecensäureamiden (AAV 5)

Die Reaktionen wurden nicht unter Schutzgas durchgeführt.

10 mmol 10-Undecensäurechlorid wurden tropfenweise und unter Rühren zu 10 mL eisgekühlter, konzentrierter Ammoniak- bzw. Methylamin-Lösung gegeben. Nach der Zugabe wurde die Mischung für weitere 10 min gerührt. Das jeweilige Carbonsäureamid fiel als weißer Feststoff aus, der abfiltriert wurde. Der Filterkuchen wurde dreimal mit je 10 mL Wasser gewaschen und zuerst an der Luft, dann im Vakuum getrocknet.

8.15.6 Reduktion von Carbonsäureamiden zu Aminen (AAV 6)

20 mmol LiAlH_4 wurden in 35 mL absolutem Et_2O vorgelegt. Zu dieser Mischung wurden unter Rühren (KPG-Rührer) portionsweise 10 mmol des jeweiligen Carbonsäureamids gegeben. Die Zugabe des Amids erfolgte so, daß die H_2 -Entwicklung kontrollierbar war und der Ether gelinde siedete. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionsmischung für 1 h unter Rückfluß erhitzt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zu der gut gerührten Reaktionsmischung wurde dann vorsichtig, zuerst tropfenweise, soviel 40 %ige wässrige NaOH-Lösung gegeben, bis sich alle Aluminiumsalze in der wässrigen Phase gelöst hatten (ca. 30 mL). Die etherische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 30 mL Et_2O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden am Rotationsverdampfer eingengt und das Rohprodukt durch Destillation oder Umkristallisieren gereinigt.

8.15.7 Hydrophosphorylierung von Alkenen zu Alkylphosphinsäuren (AAV 7)

Die Reaktionen wurden nicht unter Schutzgas durchgeführt.

10 mmol des betreffenden Alkens und 25 mmol $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ wurden in 50 mL Methanol gelöst. Unter N_2 -Gegenstrom wurden 11 mmol Et_3B zugefügt. Der N_2 -Gegenstrom verhindert an dieser Stelle ein Entzünden des Et_3B und eine damit verbundene Entzündung des Methanols. Nach erfolgter Et_3B -Zugabe wurde der N_2 -Gegenstrom abgestellt und das Gemisch im offenen Kolben für 2 h stark gerührt (O_2 -Kontakt für die Reaktion erforderlich). Danach wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 150 mL 1M KHSO_4 -Lösung und 150

mL EtOAc aufgenommen. Die organische Phase wurde isoliert und die wässrige Phase dreimal mit je 150 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 300 mL Wasser gewaschen und am Rotationsverdampfer eingengt. Das zurückbleibende Produkt wurde im Vakuum getrocknet

8.15.8 Hydrophosphorylierung von Alkenen zu Alkylphosphonsäureestern (AAV 8)

1.0 mmol des Alkens wurden in 20 mL absolutem Dioxan gelöst. Nach der Zugabe von 1.3 mmol Phospon- oder Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester und 0.25 mmol AIBN wurde die Mischung für 3 h bei 65 °C gerührt. Nach Zugabe weiterer 0.25 mmol AIBN wurde bei 65 °C über Nacht gerührt. Dann wurden das Lösungsmittel und überschüssiger Edukt-Ester im Vakuum entfernt.

8.15.9 Umsetzung von Alkylphosphinsäuren zu Alkylphosphonsäuren (AAV 9)

10 mmol Alkylphosphinsäure wurden in 70 mL absolutem DME gelöst, mit einer katalytischen Menge elementarem Iod sowie mit 20 mmol Wasserstoffperoxid (30 %ig in H₂O) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 12 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und das Reaktionsprodukt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.15.10 Umsetzung von Alkylphosphinsäuren zu Alkylthiophosphonsäuren (AAV 10)

10 mmol der betreffenden Alkylphosphinsäure wurden mit 100 mmol Hexamethyldisilazan versetzt und für 17 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Durch die Reaktion beider Substanzen bildete sich der Alkylphosphonigsäuredi(trimethylsilyl)ester, welcher, ohne isoliert zu werden, mit 1.9 mmol S₈ für zwei Stunden bei 40 °C gerührt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde der nicht umgesetzte Schwefel abfiltriert und

das überschüssige Hexamethyldisilazan im Vakuum entfernt. Der entstandene Alkylthiophosphonsäuredi(trimethylsilyl)ester wurde anschließend mit 1.5 mol Wasser versetzt und über Nacht bei 65 °C gerührt. Das überschüssige Wasser, und das durch die Hydrolyse gebildete Trimethylsilanol wurden im Vakuum abdestilliert. Das Reaktionsprodukt wurde dann im Vakuum getrocknet.

8.15.11 Darstellung von Polyglycerol-Dendrimern (AAV 11)

Eine von der angestrebten Molmasse des Dendrimers abhängige Menge des jeweiligen Amins wurde vorgelegt und unter Rühren (KPG-Rührer) auf 95 °C erwärmt. Unter Rühren wurden dann mit Hilfe einer Spritzenpumpe innerhalb von 12 h 27 g (0.36 mol) 2,3-Epoxypropan-1-ol (Glycidol) zugetropft. Nach beendeter Reaktion und Abkühlen auf Raumtemperatur konnte das hochviskose, honigartige Produkt entnommen werden.

8.15.12 N-Methylierung der Polyglycerol-Dendrimere (AAV 12)

Die Reaktionen wurden nicht unter Schutzgas durchgeführt.

1 mmol des jeweiligen unmethylierten Dendrimers wurde in 50 mL Methanol gelöst, mit 4 Äquivalenten (bezogen auf Amin-Stickstoff) Methyljodid oder Dimethylsulfat versetzt und über Nacht gerührt. Bei Verwendung von Methyljodid wurden anschließend Methanol sowie überschüssiges Methyljodid im Vakuum entfernt. Bei Verwendung von Dimethylsulfat wurde das überschüssige Methylierungsmittel vor dem Einengen durch Zugabe von 30 mL 25 %iger NH₃-Lösung deaktiviert. Das Produkt wurde dann im Vakuum getrocknet.

8.15.13 Thioacetylierung der N-methylierten Polyglycerol-Dendrimere (AAV 13)

Halogenaustausch

Der Halogenaustausch wurde nicht unter Schutzgas durchgeführt.

Bei Verwendung von Methyljodid zur *N*-Methylierung (AAV 12) musste vor der Thioacetylierung ein Austausch des Iodid-Gegenions gegen Chlorid vorgenommen werden. Hierzu wurde 1 mmol des *N*-methylierten Dendrimers in 40 mL Methanol gelöst und mit 3 mmol AgCl versetzt. Die Mischung wurde unter Lichtausschluss über Nacht gerührt. Nach Absetzen der Silbersalze wurde die überstehende Lösung mit einer Spritze entnommen und zur vollständigen Abtrennung der Silberverbindungen durch einen Spritzenfilter filtriert. Das Methanol wurde dann im Vakuum entfernt.

Thioacetylierung

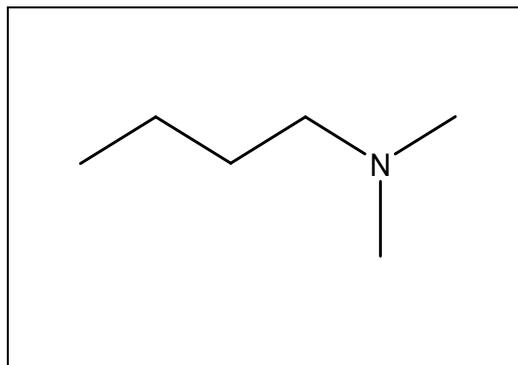
1 mmol des *N*-methylierten Dendrimers wurden in 50 mL absolutem Methanol gelöst. Nach der Zugabe von 4 mmol Thioessigsäure wurde das Gemisch in einem wassergekühlten Schlenk-Rohr für 2 h mit einer 150 W Quecksilberdampf UV-Lampe bestrahlt. Danach wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde zur Entfernung von überschüssiger Thioessigsäure dreimal in je 50 mL Wasser gelöst, welches dann am Rotationsverdampfer abdestilliert wurde. Das Rohprodukt wurde in 10-20 mL Wasser gelöst, in einen Dialyseschlauch (*cut off* 1000 Da) gefüllt und über 16 h mit dreimal je 2 L Wasser dialysiert. Danach wurde der Inhalt des Schlauches spritzenfiltriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Produkt wurde nachfolgend im Vakuum getrocknet.

8.16 Durchgeführte Synthesen

8.16.1 Darstellung von *N,N*-Dimethylbutylamin (1)

14.00 g (191.4 mmol) *n*-Butylamin wurden nach AAV 1 mit 24.85 g (539.8 mmol) Ameisensäure und 47.89 g Formaldehydlösung (36 %, 17.24 g, 574.0 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₆H₁₅N
Molmasse	101.19 g/mol
Ausbeute	7.54 g (74.5 mmol), 39 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	65 °C (50 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 2.24-2.17 (m, 2H, H1), 2.17 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.45-1.35 (m, 2H, H2), 1.35-1.21 (m, 2H, H3), 0.87 (t, 3H, H4, ³J₄₋₃ = 7.3 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.59 (C1), 45.47 (N(CH₃)₂), 29.91 (C2), 20.57 (C3), 13.99 (C4).

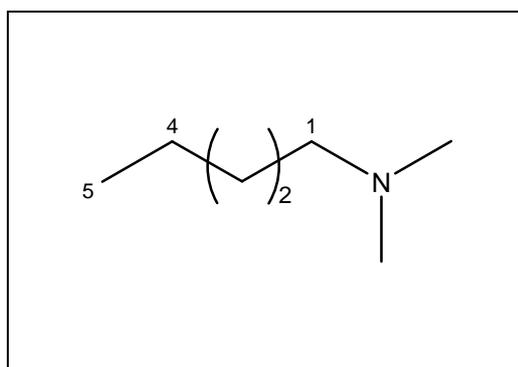
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2960 (ν_{C-H}, CH₃), 2937 (ν_{C-H}, CH₂), 2862 (ν_{C-H}, CH₃), 2814 (ν_{C-H}, CH₂), 2764 (ν_{C-H}, NCH₃), 1461 (δ_{C-H}, CH₂, CH₃), 1379 (δ_{C-H}, CH₃), 1042 (ν_{C-N}, CNMe₂).

8.16.2 Darstellung von N,N-Dimethylpentylamin (2)

25.17 g (288.8 mmol) *n*-Pentylamin wurden nach AAV 1 mit 37.03 g (804.5 mmol) Ameisensäure und 73.57 g Formaldehydlösung (36 %, 26.49 g, 882.0 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₇H₁₇N
Molmasse	115.22 g/mol
Ausbeute	19.12 g (165.9 mmol), 57 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	115-121 °C (1013 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 2.25-2.17 (m, 2H, H1), 2.18 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.50-1.37 (m, 2H, H2), 1.34-1.18 (m, 4H, H3, H4), 0.85 (t, 3H, H5, ³J₄₋₅ = 7.0 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.80 (C1), 45.43 (N(CH₃)₂), 29.59 (C3), 27.28 (C2), 22.55 (C4), 13.94 (C5).

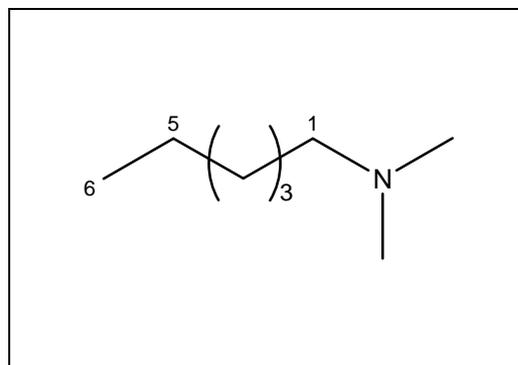
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958 (ν_{C-H}, CH₃), 2935 (ν_{C-H}, CH₂), 2859 (ν_{C-H}, CH₃), 2814 (ν_{C-H}, CH₂), 2764 (ν_{C-H}, NCH₃), 1461 (δ_{C-H}, CH₂, CH₃), 1379 (δ_{C-H}, CH₃), 1042 (ν_{C-N}, CNMe₂).

8.16.3 Darstellung von *N,N*-Dimethylhexylamin (3)

25.06 g (247.7 mmol) *n*-Hexylamin wurden nach AAV 1 mit 32.36 g (703.0 mmol) Ameisensäure und 62.25 g Formaldehydlösung (36 %, 22.41 g, 746.3 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₈H₁₉N
Molmasse	129.24 g/mol
Ausbeute	21.08 g (163.1 mmol), 66 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	40-41 °C (18 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.23-2.15 (m, 2H, H1), 2.16 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.50-1.33 (m, 2H, H2), 1.32-1.14 (m, 6H, H3-H5), 0.82 (t, 3H, H6, ³J₅₋₆ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.86 (C1), 45.36 (N(CH₃)₂), 31.75 (C4), 27.61 (C2), 27.13 (C3), 22.53 (C5), 13.95 (C6).

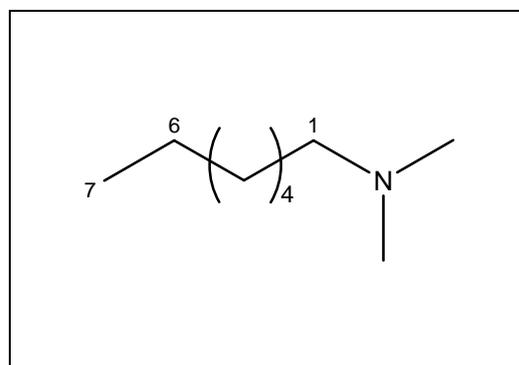
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2957 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_3), 2933 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 2858 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_3), 2814 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 2763 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH_3), 1464 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2 , CH_3), 1379 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_3), 1043 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe_2).

8.16.4 Darstellung von *N,N*-Dimethylheptylamin (4)

24.73 g (214.6 mmol) *n*-Heptylamin wurden nach AAV 1 mit 28.44 g (617.9 mmol) Ameisensäure und 56.19 g Formaldehydlösung (36 %, 20.23 g, 673.6 mmol) umgesetzt.

Summenformel	$\text{C}_9\text{H}_{21}\text{N}$
Molmasse	143.27 g/mol
Ausbeute	20.17 g (140.8 mmol), 66 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	59-60 °C (18 mbar)

 **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)**

δ [ppm]: 2.25-2.20 (m, 2H, H1), 2.19 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.50-1.36 (m, 2H, H2), 1.33-1.15 (m, 8H, H3-H6), 0.84 (t, 3H, H7, $^3J_{6-7} = 6.9$ Hz).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 59.85 (C1), 45.36 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 31.76 (C5), 29.22 (C4), 27.62 (C3), 27.39 (C2), 22.55 (C6), 14.00 (C7).

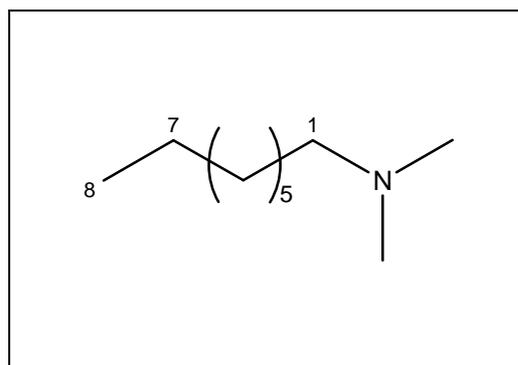
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2931 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 2857 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_3), 2814 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 2763 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH_3), 1460 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2 , CH_3), 1378 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_3), 1043 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe_2).

8.16.5 Darstellung von *N,N*-Dimethyloctylamin (5)

25.07 g (194.0 mmol) *n*-Octylamin wurden nach AAV 1 mit 26.11 g (567.2 mmol) Ameisensäure und 49.10 g Formaldehydlösung (36 %, 17.68 g, 588.6 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₀H₂₃N
Molmasse	157.30 g/mol
Ausbeute	20.75 g (131.9 mmol), 68 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	74-75 °C (15 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.26-2.18 (m, 2H, H1), 2.19 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.51-1.35 (m, 2H, H2), 1.33-1.13 (m, 10H, H3-H7), 0.84 (t, 3H, H8, ³J₇₋₈ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.86 (C1), 45.36 (N(CH₃)₂), 31.78 (C6), 29.51 (C5), 29.21 (C4), 27.62 (C3), 27.43 (C2), 22.59 (C7), 14.02 (C8).

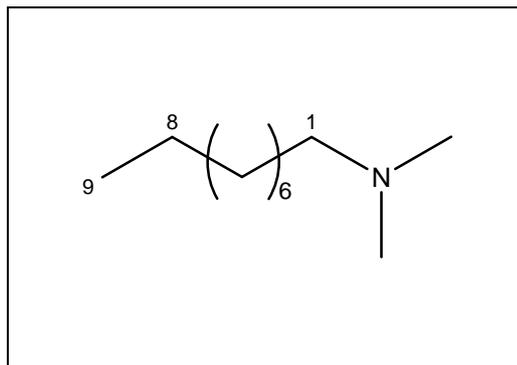
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2929 (ν_{C-H} , CH₂, CH₃), 2856 (ν_{C-H} , CH₃), 2814 (ν_{C-H} , CH₂), 2763 (ν_{C-H} , NCH₃), 1465 (δ_{C-H} , CH₂, CH₃), 1379 (δ_{C-H} , CH₃), 1042 (ν_{C-N} , CNMe₂).

8.16.6 Darstellung von *N,N*-Dimethylnonylamin (6)

24.72 g (172.5 mmol) *n*-Nonylamin wurden nach AAV 1 mit 23.44 g (509.2 mmol) Ameisensäure und 45.21 g Formaldehydlösung (36 %, 16.28 g, 542.0 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₁H₂₅N
Molmasse	171.33 g/mol
Ausbeute	22.19 g (141.1 mmol), 82 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	90-95 °C (18 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 2.27-2.19 (m, 2H, H1), 2.21 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.53-1.36 (m, 2H, H2), 1.34-1.10 (m, 12H, H3-H8), 0.84 (t, 3H, H9, ³J₈₋₉ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.84 (C1), 45.34 (N(CH₃)₂), 31.83 (C7), 29.56 (C5), 29.51 (C6), 29.24 (C4), 27.59 (C3), 27.43 (C2), 22.62 (C8), 14.04 (C9).

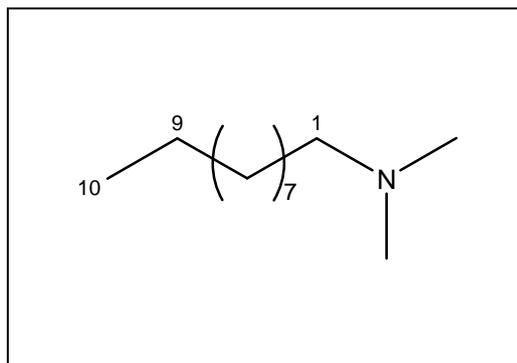
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2927 (ν_{C-H}, CH₂, CH₃), 2855 (ν_{C-H}, CH₃), 2814 (ν_{C-H}, CH₂), 2763 (ν_{C-H}, NCH₃), 1464 (δ_{C-H}, CH₂, CH₃), 1379 (δ_{C-H}, CH₃), 1042 (ν_{C-N}, CNMe₂).

8.16.7 Darstellung von N,N-Dimethyldecylamin (7)

25.69 g (163.3 mmol) *n*-Decylamin wurden nach AAV 1 mit 24.03 g (522.1 mmol) Ameisensäure und 42.63 g Formaldehydlösung (36 %, 15.35 g, 511.0 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₂H₂₇N
Molmasse	185.36 g/mol
Ausbeute	23.36 g (126.0 mmol), 77 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	105-110 °C (16 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 2.26-2.19 (m, 2H, H1), 2.20 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.52-1.35 (m, 2H, H2), 1.34-1.10 (m, 14H, H3-H9), 0.84 (t, 3H, H10, ³J₉₋₁₀ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.85 (C1), 45.35 (N(CH₃)₂), 31.84 (C8), 29.56, 29.53 (C5-C7), 29.27 (C4), 27.61 (C3), 27.43 (C2), 22.62 (C9), 14.04 (C10).

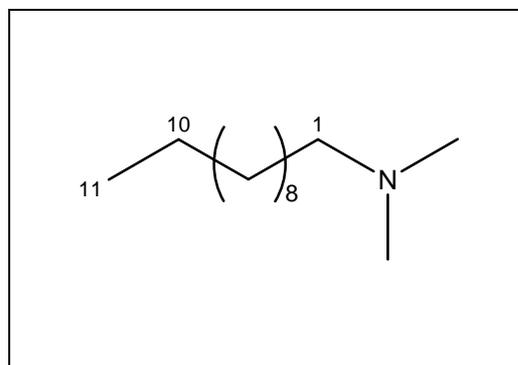
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2927 (ν_{C-H}, CH₂, CH₃), 2855 (ν_{C-H}, CH₃), 2814 (ν_{C-H}, CH₂), 2763 (ν_{C-H}, NCH₃), 1465 (δ_{C-H}, CH₂, CH₃), 1378 (δ_{C-H}, CH₃), 1042 (ν_{C-N}, CNMe₂).

8.16.8 Darstellung von *N,N*-Dimethylundecylamin (8)

8.35 g (48.7 mmol) *n*-Undecylamin wurden nach AAV 1 mit 8.16 g (177 mmol) Ameisensäure und 21.71 g Formaldehydlösung (36 %, 7.82 g, 260 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₃H₂₉N
Molmasse	199.38 g/mol
Ausbeute	7.43 g (37.3 mmol), 76 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	78-79 °C (1.1 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.26-2.21 (m, 2H, H1), 2.20 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.50-1.36 (m, 2H, H2), 1.33-1.12 (m, 16H, H3-H10), 0.84 (t, 3H, H11, ³J₁₀₋₁₁ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.85 (C1), 45.35 (N(CH₃)₂), 31.86 (C9), 29.58, 29.56 (C5-C8), 29.29 (C4), 27.61 (C3), 27.44 (C2), 22.63 (C10), 14.05 (C11).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2926 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 2855 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₃), 2814 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2763 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH₃), 1465 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 1378 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₃), 1042 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe₂).

8.16.9 Darstellung von *N,N*-Dimethyldodecylamin (9)

53.67 g (289.6 mmol) *n*-Dodecylamin wurden nach AAV 1 mit 37.85 g (822.3 mmol) Ameisensäure und 77.29 g Formaldehydlösung (36 %, 27.82 g, 926.6 mmol) umgesetzt.

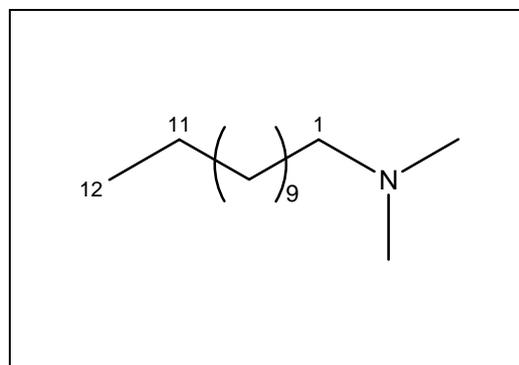
Summenformel C₁₄H₃₁N

Molmasse 213.41 g/mol

Ausbeute 41.58 g (194.8 mmol), 67 %

Aussehen farblose Flüssigkeit

Siedepunkt 125 °C (1.0 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.30 (t, 2H, H1, ³J₁₋₂ = 7.0), 2.23 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.58 (quint, 2H, H2, ³J₂₋₃ = 7.2), 1.50-1.32 (m, 18H, H3-H11), 1.02 (t, 3H, H12, ³J₁₁₋₁₂ = 6.8 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.94 (C1), 45.38 (N(CH₃)₂), 31.89 (C10), 29.65, 29.61, 29.60 (C5-C9), 29.33 (C4), 27.76 (C3), 27.49 (C2), 22.66 (C11), 14.09 (C12).

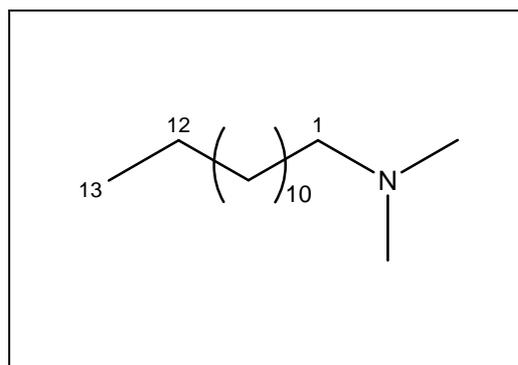
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2926 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 2854 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₃), 2814 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2762 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH₃), 1465 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 1378 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₃), 1042 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe₂).

8.16.10 Darstellung von *N,N*-Dimethyltridecylamin (10)

25.39 g (127.3 mmol) *n*-Tridecylamin wurden nach AAV 1 mit 18.17 g (394.7 mmol) Ameisensäure und 44.68 g Formaldehydlösung (36 %, 16.08 g, 535.6 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₅H₃₃N
Molmasse	227.44 g/mol
Ausbeute	23.19 g (102.0 mmol), 80 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	86-88 °C (1.0 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.27-2.22 (m, 2H, H1), 2.21 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.51-1.38 (m, 2H, H2), 1.33-1.12 (m, 20H, H3-H12), 0.85 (t, 3H, H13, ³J₁₂₋₁₃ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.85 (C1), 45.33 (N(CH₃)₂), 31.88 (C11), 29.65, 29.63, 29.61, 29.59, 29.57 (C5-C10), 29.32 (C4), 27.58 (C3), 27.44 (C2), 22.65 (C12), 14.07 (C13).

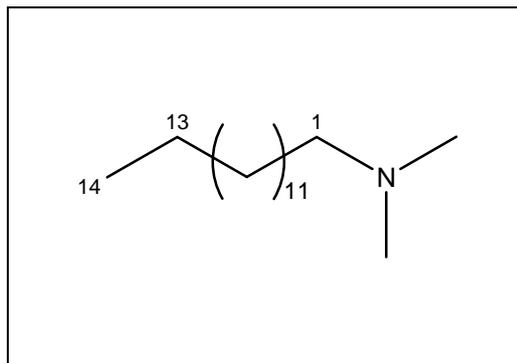
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2925 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 2854 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₃), 2813 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2763 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH₃), 1465 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 1378 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₃), 1042 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe₂).

8.16.11 Darstellung von *N,N*-Dimethyltetradecylamin (11)

25.61 g (120.0 mmol) *n*-Tetradecylamin wurden nach AAV 1 mit 16.55 g (359.5 mmol) Ameisensäure und 42.25 g Formaldehydlösung (36 %, 15.21 g, 506.5 mmol) umgesetzt. Der Mischung wurden wegen starker Schaumbildung während der Reaktion 100 mL Wasser zugesetzt.

Summenformel	C₁₆H₃₅N
Molmasse	241.46 g/mol
Ausbeute	22.9 g (94.8 mmol), 79 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	110-114 °C (1.1 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 2.29-2.23 (m, 2H, H1), 2.23 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.52-1.38 (m, 2H, H2), 1.34-1.12 (m, 22H, H3-H13), 0.85 (t, 3H, H14, ³J₁₃₋₁₄ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.82 (C1), 45.30 (N(CH₃)₂), 31.89 (C12), 29.66, 29.64, 29.63, 29.61, 29.58, 29.56 (C5-C11), 29.32 (C4), 27.53 (C3), 27.43 (C2), 22.65 (C13), 14.07 (C14).

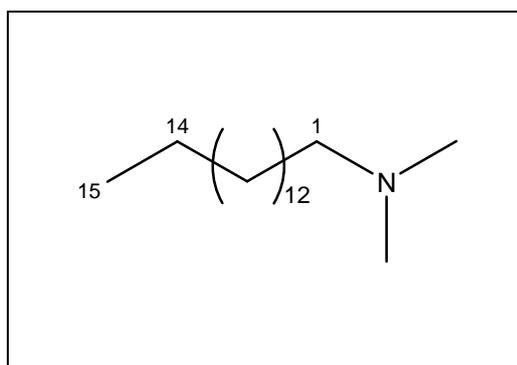
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2925 (ν_{C-H}, CH₂, CH₃), 2854 (ν_{C-H}, CH₃), 2813 (ν_{C-H}, CH₂), 2762 (ν_{C-H}, NCH₃), 1465 (δ_{C-H}, CH₂, CH₃), 1378 (δ_{C-H}, CH₃), 1042 (ν_{C-N}, CNMe₂).

8.16.12 Darstellung von N,N-Dimethylpentadecylamin (12)

9.94 g (43.7 mmol) *n*-Pentadecylamin wurden nach AAV 1 mit 8.64 g (188 mmol) Ameisensäure und 12.57 g Formaldehydlösung (36 %, 4.53 g, 151 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₇H₃₇N
Molmasse	255.49 g/mol
Ausbeute	9.55 g (37.4 mmol), 86 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	107-109 °C (0.74 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 2.29-2.23 (m, 2H, H1), 2.22 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.52-1.39 (m, 2H, H2), 1.35-1.12 (m, 24H, H3-H14), 0.85 (t, 3H, H15, ³J₁₄₋₁₅ = 7.0 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.82 (C1), 45.30 (N(CH₃)₂), 31.89 (C13), 29.66, 29.65, 29.62, 29.59, 29.56 (C5-C12), 29.33 (C4), 27.53 (C3), 27.43 (C2), 22.65 (C14), 14.07 (C15).

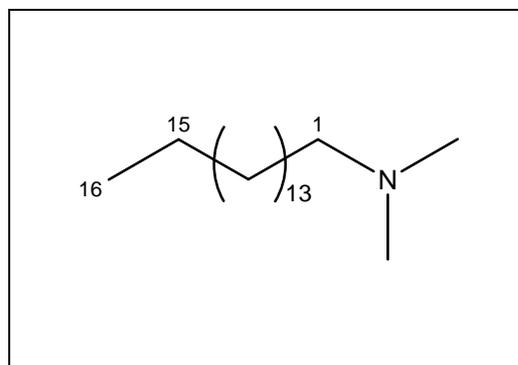
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2926 (ν_{C-H}, CH₂, CH₃), 2854 (ν_{C-H}, CH₃), 2813 (ν_{C-H}, CH₂), 2763 (ν_{C-H}, NCH₃), 1466 (δ_{C-H}, CH₂, CH₃), 1378 (δ_{C-H}, CH₃), 1042 (ν_{C-N}, CNMe₂).

8.16.13 Darstellung von *N,N*-Dimethylhexadecylamin (13)

2.08 g (8.61 mmol) *n*-Hexadecylamin wurden nach AAV 1 mit 0.81 g (18 mmol) Ameisensäure und 1.66 g Formaldehydlösung (36 %, 0.60 g, 20 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₈H₃₉N
Molmasse	269.52 g/mol
Ausbeute	1.57 g (6.15 mmol), 71 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	160 °C (1.1 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.50-2.18 (m, 2H, H1), 2.19 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.49-1.37 (m, 2H, H2), 1.35-1.11 (m, 26H, H3-H15), 0.86 (t, 3H, H16, ³J₁₅₋₁₆ = 6.9 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.96 (C1), 45.50 (N(CH₃)₂), 31.91 (C14), 29.67, 29.65, 29.62, 29.60 (C5-C13), 29.35 (C4), 27.79 (C3), 27.50 (C2), 22.68 (C15), 14.09 (C16).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2924 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 2854 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₃), 2814 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2763 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH₃), 1465 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 1378 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₃), 1043 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe₂).

8.16.14 Darstellung von *N,N*-Dimethyloctadecylamin (14)

25.94 g (91.49 mmol) *N*-Methyloctadecan-1-amin wurden nach AAV 1 mit 7.42 g (161 mmol) Ameisensäure und 13.95 g Formaldehydlösung (36 %, 5.02 g, 167 mmol) umgesetzt.

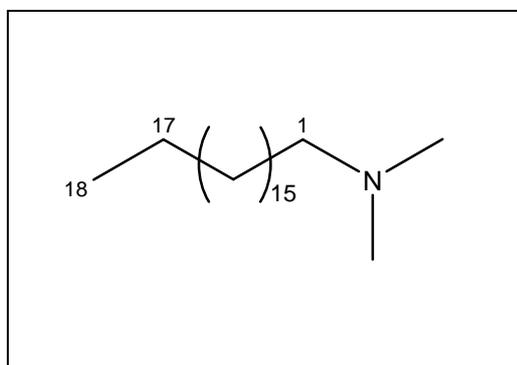
Summenformel C₂₀H₄₃N

Molmasse 297.57 g/mol

Ausbeute 26.39 g (88.69 mmol), 97 %

Aussehen farbloser Feststoff

Schmelzpunkt 26 °C

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 2.34-2.19 (m, 2H, H1), 2.23 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.62-1.36 (m, 2H, H2), 1.36-1.09 (m, 30H, H3-H17), 0.85 (t, 3H, H18, ³J₁₇₋₁₈ = 6.8 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 59.83 (C1), 45.32 (N(CH₃)₂), 31.92 (C16), 29.69, 29.61 (C5-C15), 29.35 (C4), 27.56 (C3), 27.47 (C2), 22.69 (C17), 14.12 (C18).

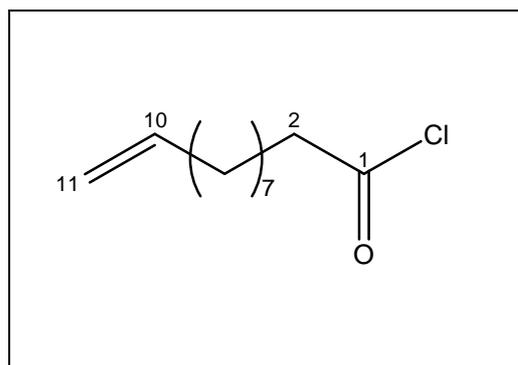
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2924 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 2853 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₃), 2813 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2762 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH₃), 1466 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂, CH₃), 1378 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₃), 1042 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNMe₂).

8.16.15 Darstellung von Undec-10-ensäurechlorid (15)

91.5 g (497 mmol) 10-Undecensäure wurden langsam zu 119.2 g (1.002 mol) Thionylchlorid getropft. Die Mischung wurde dann für 2 h unter Rückfluß erhitzt. Eine fraktionierte Destillation des Reaktionsgemisches lieferte die Titelverbindung.

Summenformel	C₁₁H₁₉ClO
Molmasse	202.72 g/mol
Ausbeute	89.3 g (441 mmol), 89 %
Aussehen	gelbliche Flüssigkeit
Siedepunkt	80 °C (0.1 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 5.81 (ddt, 1H, H10, $^3J_{10-11Z} = 10.3$ Hz, $^3J_{10-11E} = 16.9$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.6$ Hz), 4.99 (ddt, 1H, H11_E, $^2J_{11E-11Z} = 3.4$ Hz), 4.93 (ddt, 1H, H11_Z, $^4J_{11Z-9} = 2.1$ Hz), 2.87 (t, 2H, H2, $^3J_{2-3} = 7.3$ Hz), 2.08-1.97 (m, 2H, H9), 1.71 (quin, 2H, H3, $^3J_{3-4} = 7.3$ Hz), 1.43-1.17 (m, 10H, H4-H8).

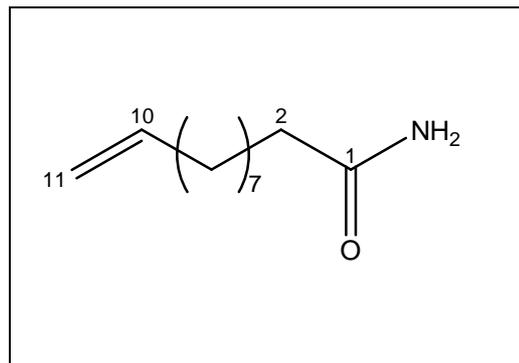
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 173.79 (C1), 139.05 (C10), 114.19 (C11), 47.08 (C2), 33.73 (C9), 29.13, 28.99, 28.95, 28.82 (C5-C8), 28.38 (C4), 25.03 (C3).

8.16.16 Darstellung von Undec-10-enamid (16)

30.5 g (150 mmol) 10-Undecensäurechlorid wurden nach AAV 5 mit 200 mL 25 %iger NH₃-Lösung (45.5 g, 2.67 mol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₁H₂₁NO
Molmasse	183.29 g/mol
Ausbeute	27.0 g (147 mmol), 98 %
Aussehen	farbloser Feststoff
Schmelzpunkt	83 °C



¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.80 (ddt, 1H, H10, ³J_{10-11Z} = 10.3 Hz, ³J_{10-11E} = 16.9 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 4.98 (ddt, 1H, H11_E, ²J_{11E-11Z} = 3.7 Hz), 4.94-4.87 (m, 1H, H11_Z, ⁴J_{11Z-9} = 2.1 Hz), 2.20 (t, 2H, H2, ³J₂₋₃ = 7.5 Hz), 2.09-2.00 (m, 2H, H9), 1.60 (quin, 2H, H3, ³J₃₋₄ = 7.3 Hz), 1.44-1.25 (m, 10H, H4-H8).

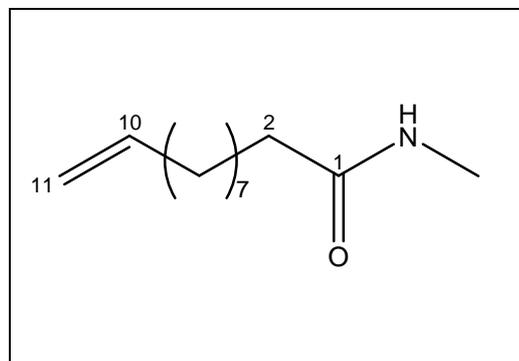
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 179.36 (C1), 140.16 (C10), 114.75 (C11), 36.57 (C2), 34.93 (C9), 30.50, 30.44, 30.34, 30.20, 30.14 (C4-C8), 26.94 (C3).

8.16.17 Darstellung von N-Methylundec-10-enamid (17)

31.0 g (153 mmol) 10-Undecensäurechlorid wurden nach AAV 5 mit 53.8 g 40 %iger Methylaminlösung (21.5 g, 693 mmol) umgesetzt.

Summenformel	C₁₂H₂₃NO
Molmasse	197.32 g/mol
Ausbeute	28.5 g (144 mmol), 94 %
Aussehen	farbloser Feststoff
Schmelzpunkt	49 °C



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 5.85 (s, 1H, NH), 5.77 (ddt, 1H, H10, ³J_{10-11Z} = 10.3 Hz, ³J_{10-11E} = 17.0 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 4.95 (ddt, 1H, H11_E, ²J_{11E-11Z} = 3.7 Hz), 4.89 (ddt, 1H, H11_Z, ⁴J_{11Z-9} = 2.3 Hz), 2.77 (d, 3H, NCH₃, ³J_{NH-CH₃} = 4.8 Hz), 2.14 (t, 2H, H2, ³J₂₋₃ = 7.7 Hz), 2.04-1.95 (m, 2H, H9), 1.59 (quin, 2H, H3, ³J₃₋₄ = 7.4 Hz), 1.39-1.15 (m, 10H, H4-H8).

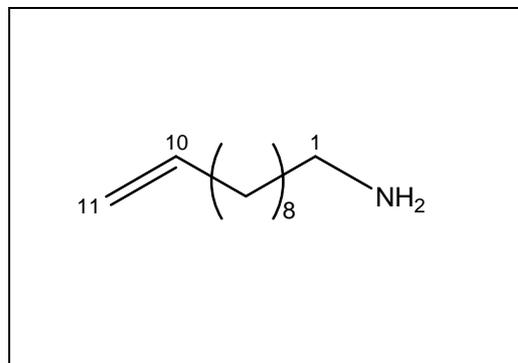
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 173.96 (C1), 139.07 (C10), 114.05 (C11), 36.58 (C2), 33.69 (C9), 29.24, 29.23, 28.98, 28.80 (C4-C8), 26.17 (C3), 25.72 (NCH₃).

8.16.18 Darstellung von Undec-10-enylamin (18)

11.1 g (60.6 mmol) 10-Undecenamid wurden mit 9.20 g (242 mmol) LiAlH₄ nach AAV 6 umgesetzt.

Summenformel	C₁₁H₂₃N
Molmasse	169.31 g/mol
Ausbeute	8.12 g (48.0 mmol), 79 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	50 °C (0.1 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)**

δ [ppm]: 5.81 (ddt, 1H, H10, ³J_{10-11Z} = 10.3 Hz, ³J_{10-11E} = 17.0 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 4.98 (ddt, 1H, H11_E, ²J_{11E-11Z} = 3.7 Hz, ⁴J_{11E-9} = 2.1 Hz), 4.89 (ddt, 1H, H11_Z, ⁴J_{11Z-9} = 2.2 Hz), 2.61 (t, 2H, H1, ³J₁₋₂ = 7.2 Hz), 2.10-2.00 (m, 2H, H9), 1.51-1.21 (m, 14H, H2-H8).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 140.16 (C10), 114.79 (C11), 47.70 (C1), 34.98 (C2), 34.07 (C9), 30.77, 30.72, 30.65, 30.30, 30.20 (C4-C8), 28.14 (C3).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3369, 3294 ($\nu_{\text{N-H}}$, CNH_2), 3077, 2976 ($\nu_{\text{C-H}}$, $=\text{CH}$, $=\text{CH}_2$), 2926, 2854 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 1611 ($\delta_{\text{N-H}}$, CNH_2), 1465 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1389 ($\delta_{\text{C-H}}$, $=\text{CH}$, $=\text{CH}_2$), 1072 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNH_2), 993, 910 ($\delta_{\text{C-H}}$, $=\text{CH}_2$).

8.16.19 Darstellung von N-Methylundec-10-enylamin (19)

28.5 g (143 mmol) *N*-Methyl-10-undecenamid wurden mit 11.1 g (292 mmol) LiAlH_4 nach AAV 6 umgesetzt. Abweichend wurde die Reaktion in THF anstelle von Et_2O als Lösungsmittel durchgeführt. Die angeschlossene Extraktion wurde wieder entsprechend AAV 6 mit Et_2O durchgeführt.

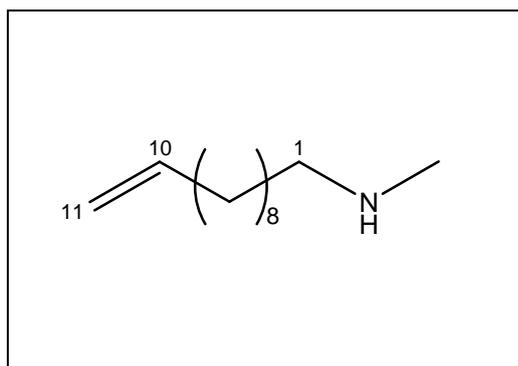
Summenformel $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}$

Molmasse 183.33 g/mol

Ausbeute 24.71 g (135 mmol), 94 %

Aussehen farblose Flüssigkeit

Siedepunkt 60 °C (0.09 mbar)

 **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)**

δ [ppm]: 5.77 (ddt, 1H, H10, $^3J_{10-11Z} = 10.3$ Hz, $^3J_{10-11E} = 16.9$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.7$ Hz), 4.95 (ddt, 1H, H11_E, $^2J_{11E-11Z} = 3.7$ Hz), 4.89 (ddt, 1H, H11_Z, $^4J_{11Z-9} = 2.3$ Hz), 2.52 (t, 2H, H1, $^3J_{1-2} = 7.2$ Hz), 2.39 (s, 3H, NCH_3), 2.04-1.95 (m, 2H, H9), 1.44 (quin, 2H, H2, $^3J_{2-3} = 7.1$ Hz), 1.38-1.15 (m, 12H, H3-H8).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 139.10 (C10), 114.00 (C11), 52.17 (C1), 36.49 (NCH_3), 33.73 (C9), 29.89, 29.50, 29.37, 29.05, 28.85 (C2, C4-C8), 27.28 (C3).

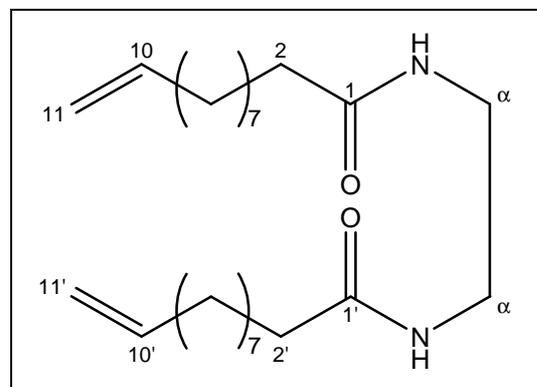
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3294 ($\nu_{\text{N-H}}$, CNHC), 3077 ($\nu_{\text{C-H}}$, =CH, =CH₂), 2926, 2854 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2790 ($\nu_{\text{C-H}}$, NCH₃), 1641 ($\nu_{\text{C=C}}$, CH=CH₂), 1467 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1370 ($\delta_{\text{C-H}}$, =CH, =CH₂), 1124 ($\nu_{\text{C-N}}$, CNHC), 993, 909 ($\delta_{\text{C-H}}$, =CH₂).

8.16.20 Darstellung von *N,N'*-Bis(ethan-1,2-diyl)diundec-10-enamid (20)

69.7 g (378 mmol) 10-Undecensäure wurden mit 10.7 g (178 mmol) Ethylendiamin versetzt und für 5 h mit Hilfe eines Metallbades auf 200 °C erwärmt. Während des Erwärmens wurde ein leichter Stickstoffstrom durch den Kolben geleitet, um eine sauerstoffbedingte Zersetzung des Gemisches zu verhindern. Zur Reinigung wurde das Reaktionsprodukt mit 200 mL siedendem Ethanol digeriert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der zurückbleibende Feststoff abfiltriert und zweimal mit je 50 mL Ethanol gewaschen. Das Produkt wurde zuerst an der Luft und anschließend im Vakuum getrocknet.

Summenformel	C₂₄H₄₄N₂O₂
Molmasse	392.62 g/mol
Ausbeute	46.1 g (117 mmol), 94 %
Aussehen	farbloser Feststoff
Schmelzpunkt	129 °C

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 6.98 (s, 2H, NH), 5.78 (ddt, 2H, H₁₀, H_{10'}, ³J_{10-11Z} = 10.3 Hz, ³J_{10-11E} = 16.9 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 4.97 (ddt, 2H, H_{11E}, H_{11E'}, ²J_{11E-11Z} = 3.7 Hz, ⁴J_{11E-9} = 2.1 Hz), 4.91 (ddt, 2H, H_{11Z}, H_{11Z'}, ⁴J_{11Z-9} = 2.2 Hz), 3.37 (s, 4H, H_α), 2.20 (t, 4H, H₂, H_{2'}, ³J₂₋₃ = 7.7 Hz), 2.07-1.95 (m, 4H, H₉, H_{9'}), 1.59 (quin, 4H, H₃, H_{3'}, ³J₃₋₄ = 7.0 Hz), 1.41-1.15 (m, 20H, H₄-H₈, H_{4'}-H_{8'}).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 174.97 (C1, C1'), 139.96 (C10, C10'), 114.10 (C11, C11'), 40.08 ($\text{C}\alpha$), 36.41 (C2, C2'), 33.73 (C9, C9'), 29.30, 29.26, 29.23, 29.04, 28.85 (C4-C8, C4'-C8'), 25.73 (C3, C3').

IR (KBr)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3298 ($\nu_{\text{N-H}}$, C(O)NH), 3085, 2981 ($\nu_{\text{C-H}}$, =CH, =CH₂), 2920, 2850 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 1638 ($\nu_{\text{C=C}}$, $\nu_{\text{C=O}}$, CH=CH₂, C(O)NH), 1564 ($\delta_{\text{N-H}}$, C(O)NH), 1470 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1380 ($\delta_{\text{C-H}}$, =CH, =CH₂), 1261, 1249 ($\nu_{\text{C-N}}$, C(O)NH), 994, 916 ($\delta_{\text{C-H}}$, =CH₂).

Elementaranalyse [%]

	C	H	N
Berechnet	73.42	11.30	7.14
Gefunden	73.36	11.38	7.09

8.16.21 Darstellung von *N,N'*-Bis(undec-10-enyl)ethan-1,2-diamin (21)

17.2 g (112 mmol) *N,N'*-Bis(ethan-1,2-diyl)di-10-undecenamid und 12.2 g (453 mmol) LiAlH_4 wurden nach AAV 6 umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus Ethanol gereinigt.

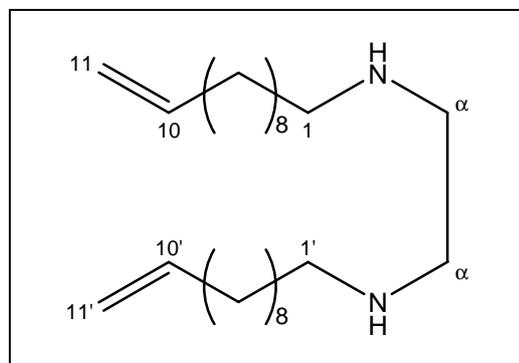
Summenformel $\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{N}_2$

Molmasse 364.65 g/mol

Ausbeute 36.6 g (100 mmol), 90 %

Aussehen farbloser Feststoff

Schmelzpunkt 41 °C



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 5.77 (ddt, 2H, H10, H10', $^3J_{10-11Z} = 10.3$ Hz, $^3J_{10-11E} = 16.9$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.7$ Hz), 4.95 (ddt, 2H, H11_E, H11_{E'}, $^2J_{11E-11Z} = 3.6$ Hz), 4.89 (ddt, 2H, H11_Z, H11_{Z'}, $^4J_{11Z-9} = 2.3$ Hz), 2.71 (s, 4H, H α), 2.57 (t, 4H, H1, H1', $^3J_{1-2} = 7.3$ Hz), 2.05-1.90 (m, 6H, H9, H9', NH), 1.46 (quin, 4H, H2, H2', $^3J_{2-3} = 7.1$ Hz), 1.38-1.15 (m, 24H, H3-H8, H3'-H8').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 139.10 (C10, C10'), 114.02 (C11, C11'), 49.89 (C α), 49.23 (C1, C1), 33.73 (C9, C9'), 29.95, 29.47, 29.37, 29.05, 28.85 (C2, C2', C4-C8, C4'-C8'), 27.28 (C3, C3').

IR (KBr)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3238 (ν_{N-H} , CNHC), 3079 (ν_{C-H} , =CH, =CH₂), 2920, 2847, 2806 (ν_{C-H} , CH₂), 1644 ($\nu_{C=C}$, CH=CH₂), 1503 (δ_{N-H} , CNHC), 1465 (δ_{C-H} , CH₂), 1300 (δ_{C-H} , =CH, =CH₂), 1132 (ν_{C-N} , CNHC), 992, 915 (δ_{C-H} , =CH₂).

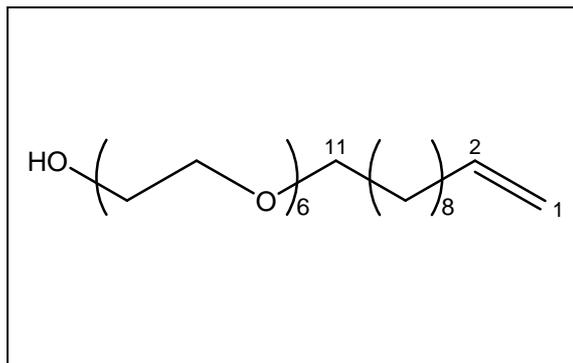
Elementaranalyse [%]

	C	H	N
Berechnet	79.05	13.27	7.68
Gefunden	78.25	13.21	7.59

8.16.22 Darstellung von HOEG₆C₁₁-1-en (22)

54.2 g (192 mmol) Hexaethylenglycol, 28.1 g (500 mmol) KOH und 50.1 g (215 mmol) 11-Brom-1-undecen wurden nach AAV 2 umgesetzt.

Summenformel	C₂₃H₄₆O₇
Molmasse	434.61 g/mol
Ausbeute	25.1 g (57.6 mmol), 30 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.42 (Et₂O/MeOH 9:1)



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 5.78 (ddt, 1H, H₂, ³J_{2-1Z} = 10.3 Hz, ³J_{2-1E} = 16.9 Hz, ³J₂₋₃ = 6.7 Hz), 4.99 (ddt, 1H, H_{1E}, ²J_{1E-1Z} = 3.8 Hz, ⁴J_{1E-3} = 2.1 Hz), 4.93 (ddt, 1H, H_{1Z}, ⁴J_{1Z-3} = 2.3 Hz), 4.58 (t, 1H, OH, ³J_{OH-CH₂} = 5.5 Hz), 3.60-3.30 (m, 24H, OCH₂), 3.35 (t, 2H, H₁₁, ³J₁₁₋₁₀ = 6.6 Hz), 2.08-1.90 (m, 2H, H₃), 1.47 (quin, 2H, H₁₀, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 1.38-1.05 (m, 12H, H₄-H₉).

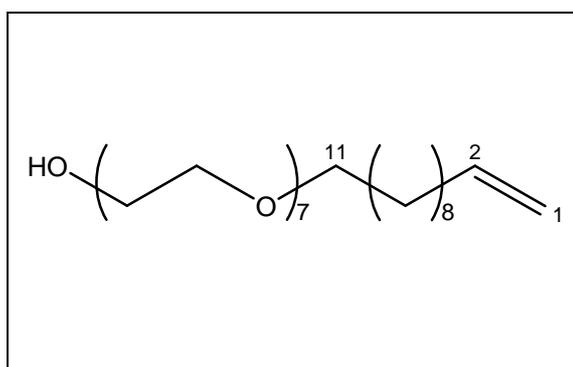
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 138.73 (C₂), 114.53 (C₁), 72.29 (CH₂CH₂OH), 70.24 (C₁₁), 69.75, 69.73, 69.71, 69.42 (OCH₂), 60.13 (CH₂OH), 33.14 (C₃), 29.16, 28.95, 28.81, 28.78, 28.46, 28.22 (C₄-C₈,C₁₀), 25.59 (C₉).

8.16.23 Darstellung von HOEG₇C₁₁-1-en (23)

20.0 g (61.3 mmol) Heptaethylenglycol, 8.64 g (154 mmol) KOH und 14.3 g (61.3 mmol) 11-Brom-1-undecen wurden nach AAV 2 umgesetzt.

Summenformel	C₂₅H₅₀O₈
Molmasse	478.66 g/mol
Ausbeute	6.60 g (13.8 mmol), 22 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.41 (Et₂O/MeOH 9:1)



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 5.78 (ddt, 1H, H₂, ³J_{2-1Z} = 10.3 Hz, ³J_{2-1E} = 17.0 Hz, ³J₂₋₃ = 6.7 Hz), 4.99 (ddt, 1H, H_{1E}, ²J_{1E-1Z} = 3.7 Hz, ⁴J_{1E-3} = 2.2 Hz), 4.93 (ddt, 1H, H_{1Z}, ⁴J_{1Z-3} = 2.3 Hz), 4.56 (t, 1H, OH, ³J_{OH-CH₂} = 5.5 Hz), 3.60-3.26 (m, 28H, OCH₂), 3.36 (t, 2H, H₁₁, ³J₁₁₋₁₀ = 6.6 Hz), 2.05-1.95 (m, 2H, H₃), 1.47 (quin, 2H, H₁₀, ³J₁₀₋₉ = 6.6 Hz), 1.39-1.15 (m, 12H, H₄-H₉).

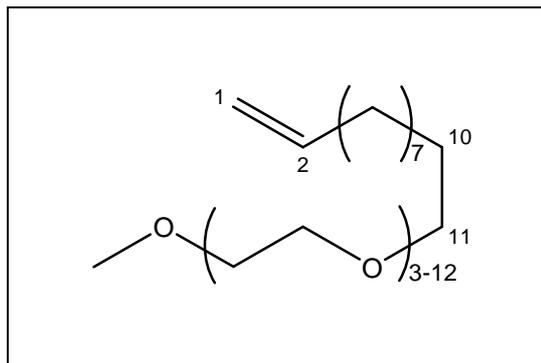
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 138.71 (C₂), 114.51 (C₁), 72.27 (CH₂CH₂OH), 70.22 (C₁₁), 69.74, 69.71, 69.69, 69.40 (OCH₂), 60.13 (CH₂OH), 33.11 (C₃), 29.13, 28.92, 28.78, 28.75, 28.44, 28.20 (C₄-C₈, C₁₀), 25.69 (C₉).

8.16.24 Darstellung von MeOEG₍₃₋₁₂₎C₁₁-1-en (24)

6.17 g (257 mmol) NaH wurden in 500 mL absolutem THF suspendiert und dann tropfenweise mit 44.22 g (126.3 mmol) Polyethylenglycolmonomethylether (M_{mitt.} = 350 g/mol) versetzt. Nach beendeter H₂-Entwicklung wurden langsam 32.88 g (141.0 mmol) 11-Brom-1-undecen zugegeben. Das Gemisch wurde über Nacht gerührt und dann zur Desaktivierung von überschüssigem NaH mit 40 mL (31 g, 0.69 mol) Ethanol versetzt. Das Lösungsmittel wurde dann am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 300 mL Wasser und 300 mL CH₂Cl₂ aufgenommen. Die organische Phase wurde isoliert und die wässrige Phase dreimal mit je 300 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 400 mL Wasser gewaschen und am Rotationsverdampfer eingedunstet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₂Cl₂ / Methanol (Gradient: 9.5:0.5-8:2) gereinigt.

Mittl. Molmasse	502.27 g/mol
Ausbeute	51.62 g (102.8 mmol), 81 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl



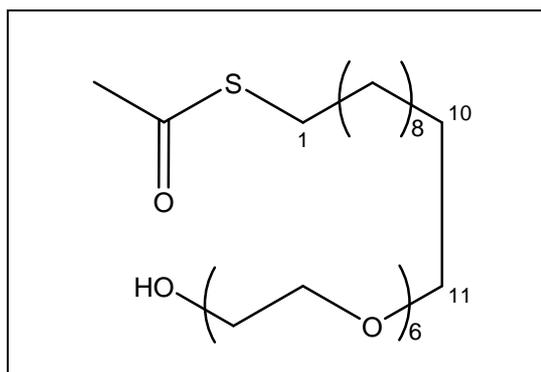
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 5.78 (ddt, 1H, H₂, ³J_{2-1Z} = 10.3 Hz, ³J_{2-1E} = 17.0 Hz, ³J₂₋₃ = 6.7 Hz), 4.96 (ddt, 1H, H_{1E}, ²J_{1E-1Z} = 3.7 Hz), 4.89 (ddt, 1H, H_{1Z}, ⁴J_{1Z-3} = 2.3 Hz), 3.75-3.28 (m, 40H, OCH₂), 3.41 (t, 2H, H₁₁, ³J₁₁₋₁₀ = 6.8 Hz), 3.35 (s, 3H OCH₃), 2.07-1.95 (m, 2H, H₃), 1.54 (quin, 2H, H₁₀, ³J₁₀₋₉ = 7.1 Hz), 1.41-1.15 (m, 12H, H₄-H₉).

8.16.25 Darstellung von HOEG₆-C₁₁-SAc (25)

6.13 g (14.1 mmol) HOEG₆-C₁₁-1-en und 4.46 g (58.6 mmol) Thioessigsäure wurden nach AAV 3 umgesetzt.

Summenformel	C₂₅H₅₀O₈S
Molmasse	510.72 g/mol
Ausbeute	5.82 g (11.4 mmol), 81 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.42 (Et₂O/MeOH 9:1)



¹H-NMR (200 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 4.57 (t, 1H, OH, ³J_{OH-CH₂} = 5.5 Hz), 3.62-3.22 (m, 26H, OCH₂, H₁₁), 2.81 (t, 2H, H₁, ³J₁₋₂ = 7.1 Hz), 2.31 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.60-1.10 (m, 18H, H₂-H₁₀).

^{13}C -NMR (50 MHz, DMSO- D_6)

δ [ppm]: 195.01 (SC(O)CH₃), 72.25 (CH₂CH₂OH), 70.21 (C11), 69.70, 69.38 (OCH₂), 60.11 (CH₂OH), 30.45 (SC(O)CH₃), 29.14, 29.04, 28.93, 28.87, 28.81, 28.42, 28.25, 28.05 (C1-C8, C10), 25.58 (C9).

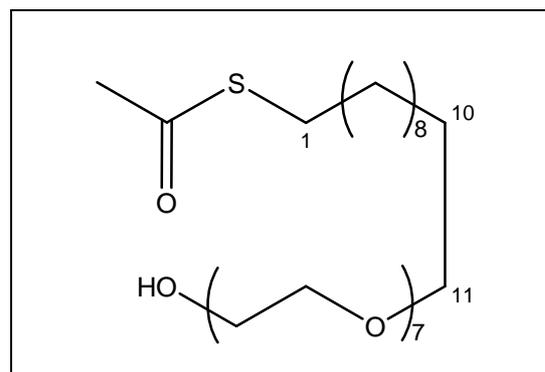
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3461 ($\nu_{\text{O-H}}$, COH), 2926, 2856 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 1692 ($\nu_{\text{C=O}}$, SC(O)CH₃), 1459 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1116 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ether).

8.16.26 Darstellung von HOEG₇-C₁₁-SAC (26)

6.26 g (13.1 mmol) HOEG₇-C₁₁-1-en und 4.07 g (53.5 mmol) Thioessigsäure wurden nach AAV 3 umgesetzt.

Summenformel	C₂₇H₅₄O₉S
Molmasse	554.78 g/mol
Ausbeute	5.13 g (9.25 mmol), 71 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.42 (Et₂O/MeOH 9:1)

 **^1H -NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 3.80-3.50 (m, 29H, OCH₂, OH), 3.39 (t, 2H, H11, $^3J_{10-11} = 6.8$ Hz), 2.80 (t, 2H, H1, $^3J_{1-2} = 7.3$ Hz), 2.27 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.60-1.45 (m, 4H, H2, H10), 1.37-1.15 (m, 14H, H3-H9).

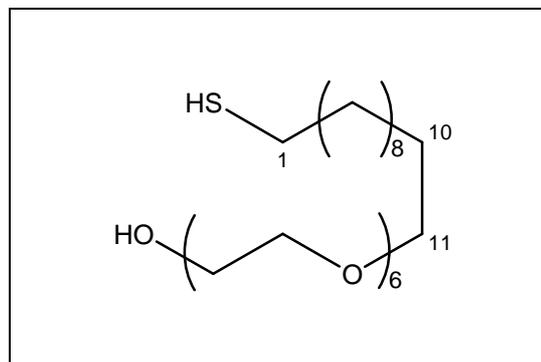
 ^{13}C -NMR (200 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 195.92 (SC(O)CH₃), 72.44 (CH₂CH₂OH), 70.40 (C11), 70.47, 70.45, 70.44, 70.40, 70.18, 69.91 (OCH₂), 61.57 (CH₂OH), 30.52 (SC(O)CH₃), 29.50, 29.42, 29.37, 29.34, 29.32, 29.02, 28.97 (C2-C8, C10), 28.68 (C1), 25.95 (C9).

8.16.27 Darstellung von HOEG₆C₁₁SH (27)

2.84 g (5.56 mmol) AcSC₁₁EG₆OH wurden mit 5.73 g (143 mmol) NaOH nach AAV 4 umgesetzt.

Summenformel	C₂₃H₄₈O₇S
Molmasse	468.69 g/mol
Ausbeute	1.85 g (3.95 mmol), 71 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.40 (Et₂O/MeOH 9:1)

**¹H-NMR (400 MHz, DMSO-D₆)**

δ [ppm]: 4.58 (t, 1H, OH, $^3J_{\text{OH-CH}_2} = 5.3$ Hz), 3.66-3.10 (m, 26H, OCH₂, H11), 2.54-2.36 (m, 2H, H1), 2.27-2.13 (m, 1H, SH), 1.64-1.05 (m, 18H, H2-H10).

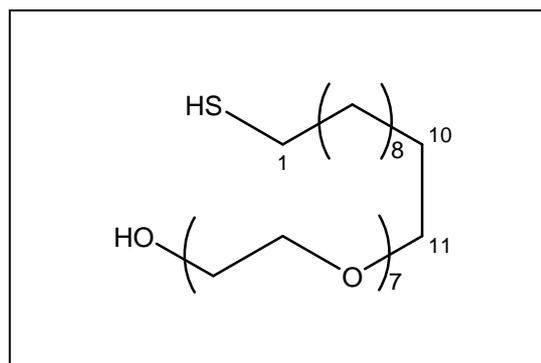
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3448 ($\nu_{\text{O-H}}$, COH), 2925, 2856 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2557 ($\nu_{\text{S-H}}$, CSH), 1459 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1117 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ether).

8.16.28 Darstellung von HOEG₇C₁₁SH (28)

5.13 g (9.25 mmol) HOEG₇C₁₁SAc wurden mit 2.13 g (53.3 mmol) NaOH nach AAV 4 umgesetzt.

Summenformel	C₂₅H₅₂O₈S
Molmasse	512.74 g/mol
Ausbeute	2.67 g (5.21 mmol), 56 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.41 (Et₂O/MeOH 9:1)



¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 3.81-3.35 (m, 28H, OCH₂), 3.39 (t, 2H, H11, ³J_{H11-10} = 6.8 Hz), 2.47 (q, 2H, H1, ³J_{H1-2} = 7.4 Hz), 1.61-1.47 (m, 4H, H2,H10), 1.40-1.13 (m, 14H, H3-H9), 1.28 (t, 1H, SH, ³J_{SH-1} = 7.7 Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 72.48 (CH₂CH₂OH), 71.37 (C11), 70.45, 70.43, 70.41, 70.40, 70.38, 70.35, 70.11, 69.90 (OCH₂), 61.50 (CH₂OH), 33.89 (C2), 29.47, 29.40, 29.36, 29.34, 29.31 (C5-C8, C10), 28.91 (C4), 28.22 (C3), 25.92 (C9), 24.50 (C1).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3436 (ν_{O-H}, COH), 2925, 2856 (ν_{C-H}, CH₂), 2557 (ν_{C=O}, SC(O)CH₃), 1459 (δ_{C-H}, CH₂), 1114 (ν_{O-C-O}, Ether).

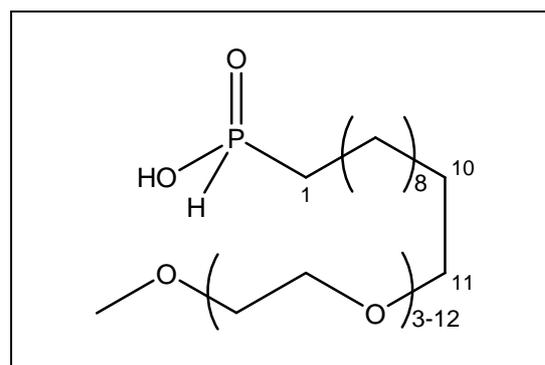
8.16.29 Darstellung von MeOEG₍₃₋₁₂₎C₁₁P(H)(O)(OH) (29)

40.2 g (80.1 mmol) MeOEG₍₃₋₁₂₎C₁₁-1-en, 23.3 g (220 mmol) NaH₂PO₂·H₂O und 8.43 g (86.0 mmol) Triethylboran wurden gemäß AAV 7 umgesetzt.

Mittl. Molmasse 568.27 g/mol

Ausbeute 38.6 g (67.9 mmol), 85 %

Aussehen leicht gelbliches Öl

**¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)**

δ [ppm]: 10.22 (s, 1H, P-OH), 7.05 (dt, P-H, ¹J_{P-H} = 541 Hz, ³J_{P-H-1} = 2.0 Hz), 3.82-3.26 (m, OCH₂), 3.40 (t, 2H, H11, ³J_{H11-10} = 6.8 Hz), 3.34 (s, 3H, OCH₃), 1.80-1.62 (m, 2H, H1), 1.60-1.46 (m, 4H, H2,H10), 1.42-1.14 (m, 14H, H3-H9).

³¹P-NMR (160 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 38.6.

Ein Signal bei δ = 10.7 ppm im ³¹P-NMR-Spektrum wies darauf hin, dass im Produkt geringe Mengen von H₃PO₂ enthalten waren.

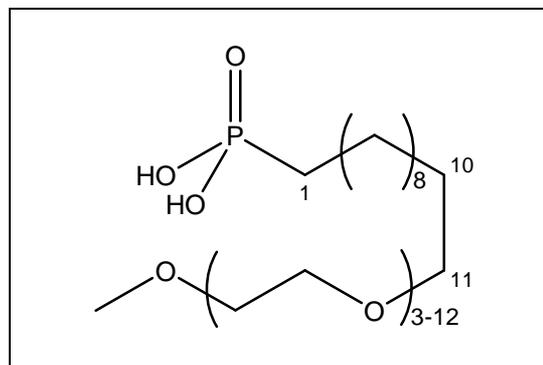
8.16.30 Darstellung von MeOEG₍₃₋₁₂₎C₁₁P(O)(OH)₂ (30)

20.9 g (36.8 mmol) MeOEG₍₃₋₁₂₎C₁₁P(H)(O)(OH) wurden mit 8.4 g (74 mmol) 30 %iger H₂O₂-Lösung gemäß AAV 9 umgesetzt.

Mittl. Molmasse 584.27 g/mol

Ausbeute 22.9 g (39.3 mmol), 107 %*

Aussehen bräunliches Wachs



* Produkt enthielt noch Lösungsmittelreste

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 9.46 (s, 2H, P-OH), 4.10-3.00 (m, OCH₂), 3.42 (t, 2H, H11, ³J₁₁₋₁₀ = 6.8 Hz), 3.35 (s, 3H, OCH₃), 1.80-1.05 (m, 20H, H1-H10).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 71.80 (CH₂OCH₃), 71.44 (C11), 70.43, 69.91 (OCH₂), 58.93 (OCH₃), 31.41 (d, C3 ³J_{P-C} = 17.4 Hz), 29.48, 29.43, 29.39, 29.35, 29.25, 28.99 (C4-C8, C10), 25.97 (C9), 25.85 (d, C1 ¹J_{P-C} = 143 Hz), 22.13 (d, C2, ²J_{P-C} = 5.0 Hz).

³¹P-NMR (100 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 33.3.

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2926, 2857 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 2345 ($\nu_{\text{O-H}}$, P(O)OH), 1459 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1110 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ether).

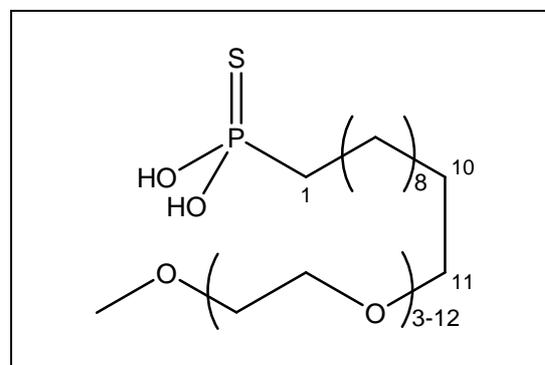
8.16.31 Darstellung von $\text{MeOEG}_{(3-12)}\text{C}_{11}\text{P(S)(OH)}_2$ (31)

17.6 g (31.3 mmol) $\text{MeOEG}_{(3-12)}\text{C}_{11}\text{P(H)(O)(OH)}$, 9.0 g (56 mmol) Hexamethyldisilazan, 1.69 g (6.59 mmol) S_8 und 10.0 g (555 mmol) Wasser wurden nach AAV 10 umgesetzt.

Mittl. Molmasse 600.34 g/mol

Ausbeute 18.0 g (30.0 mmol), 96 %

Aussehen gelbliches, viskoses Öl

 **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)**

δ [ppm]: 7.99 (s, 2H, P-OH), 3.88-3.30 (m, 30H, OCH_2), 3.45 (t, 2H, H11, $^3J_{11-10} = 6.8$ Hz), 3.37 (s, 3H, OCH_3), 1.98-1.82 (m, 2H, H1), 1.74-1.48 (m, 4H, H2, H10), 1.44-1.06 (m, 14H, H3-H9).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 71.75 (CH_2OCH_3), 71.43 (C11), 70.32, 70.19, 69.85 (OCH_2), 58.89 (OCH_3), 34.98 (d, C1, $^1J_{\text{P-C}} = 109$ Hz), 30.17 (d, C3, $^3J_{\text{P-C}} = 18.3$ Hz), 29.33, 29.27, 29.23, 29.13, 28.99 (C4-C8, C10), 25.85 (C9), 23.08 (d, C2, $^2J_{\text{P-C}} = 3.5$ Hz).

 $^{31}\text{P-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 89.1.

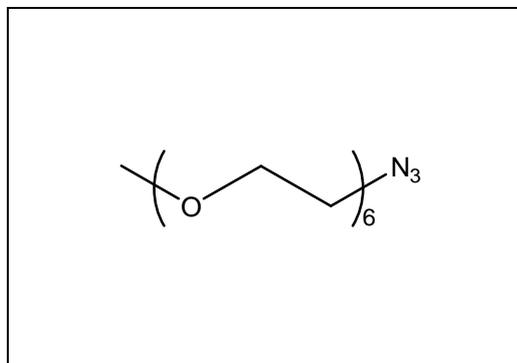
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2925, 2857 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2267 ($\nu_{\text{O-H}}$, P(S)OH), 1459 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1109 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ether).

8.16.32 Darstellung von MeOEG₆N₃ (32)

6.94 g (68.6 mmol) Triethylamin und 10.1 g (33.9 mmol) Hexaethylenglycolmonomethylether wurden in 150 mL absolutem CH₂Cl₂ gelöst. Das Gemisch wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und langsam mit 5.79 g (50.6 mmol) Methansulfonsäurechlorid versetzt. Die Mischung wurde für weitere 2 h bei 0 °C gerührt und dann in 150 mL eiskalte 1 M Salzsäure gegossen. Die organische Phase wurde isoliert und die wässrige Phase dreimal mit je 150 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 150 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet und ohne weitere Aufreinigung in 120 mL absolutem DMF gelöst. Nach Zugabe von 4.50 g (69.2 mmol) NaN₃ wurde das Gemisch über Nacht bei 50 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das DMF im Vakuum entfernt und der Rückstand in 500 mL CH₂Cl₂ und 100 mL Wasser aufgenommen. Die organische Phase wurde isoliert und die wässrige Phase dreimal mit je 200 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit je 100 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Et₂O / Methanol (9:1) gereinigt.

Summenformel	C₁₃H₂₇N₃O₆
Molmasse	321.37 g/mol
Ausbeute	9.74 g (30.3 mmol), 89 %
Aussehen	leicht gelbliches Öl
R_f-Wert	0.45 (Et₂O/MeOH 9:1)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 3.67-3.54 (m, 20H, OCH_2), 3.52-3.48 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3.37-3.32 (m, 2H, CH_2N_3), 3.33 (s, 3H, OCH_3).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 71.78 (CH_2OCH_3), 70.55, 70.53, 70.49, 70.46, 70.44, 70.42, 70.37 (OCH_2), 69.88 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 58.87 (OCH_3), 50.53 (CH_2N_3).

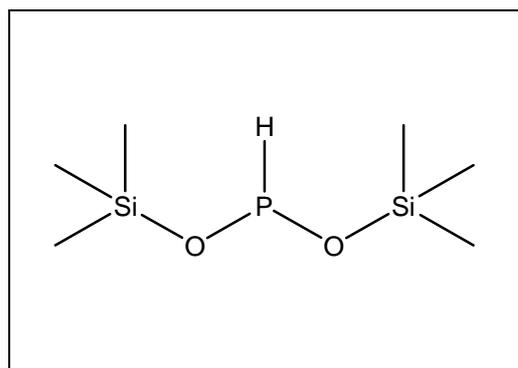
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2872 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2 , CH_3), 2107 ($\nu_{\text{C-N}}$, CN_3), 1453 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1112 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ether).

8.16.33 Darstellung von Bis(trimethylsilyl)hypophosphit (33)

Zu 82.7 g (996 mmol) $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_2$ wurden 160.0 g (923 mmol) Hexamethyldisilazan gegeben. Die Mischung wurde unter Rühren auf 100 °C erwärmt, wobei sich NH_3 entwickelte. Nach Rühren über Nacht bei dieser Temperatur war die Gasentwicklung beendet. Das Rohprodukt wurde durch fraktionierte Destillation bei vermindertem Druck (16 mbar) gereinigt. Die Substanz ist pyrophor.

Summenformel	$\text{C}_6\text{H}_{19}\text{O}_7\text{PSi}_2$
Molmasse	210.36 g/mol
Ausbeute	162 g (770 mmol), 83 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	48 °C (16 mbar)

 **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6)**

δ [ppm]: 7.68 (d, 1H, P-H, $^1J_{\text{P-H}} = 176$ Hz), 0.16 (s, 18H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C_6D_6)

δ [ppm]: 0.29 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

³¹P-NMR (160 MHz, C₆D₆)

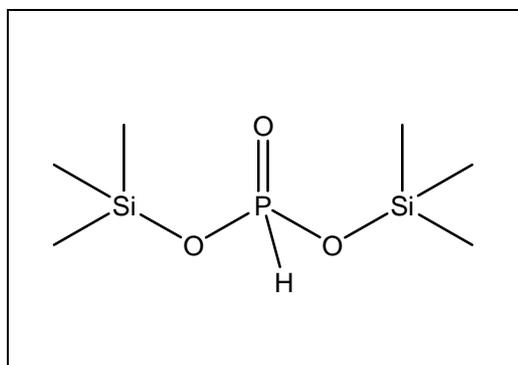
δ [ppm]: 143.3.

Das ³¹P-NMR-Spektrum wies darauf hin, dass im Produkt geringe Mengen des Oxidationsprodukts Phosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester enthalten waren.

8.16.34 Darstellung von Phosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester (34)

9.35 g (44.4 mmol) Bis(trimethylsilyl)hypophosphit wurden in 20 mL absolutem Hexan gelöst. Die Lösung wurde mit einem Eisbad gekühlt und es wurde unter Rühren über Blaugel getrocknete Luft eingeleitet. Der Luftstrom wurde so reguliert, daß die Temperatur der Reaktionsmischung nicht über 18 °C stieg. Nach 45 min war die Reaktion beendet (keine weitere Erwärmung der Mischung). Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt unter verminderten Druck fraktioniert destilliert.

Summenformel	C₆H₁₉O₈PSi₂
Molmasse	226.36 g/mol
Ausbeute	6.62 g (29.2 mmol), 66 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	85 °C (17 mbar)

**¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆)**

δ [ppm]: 6.85 (d, 1H, P-H, ¹J_{P-H} = 691 Hz), 0.17 (s, 18H, Si(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆)

δ [ppm]: 0.29 (Si(CH₃)₃).

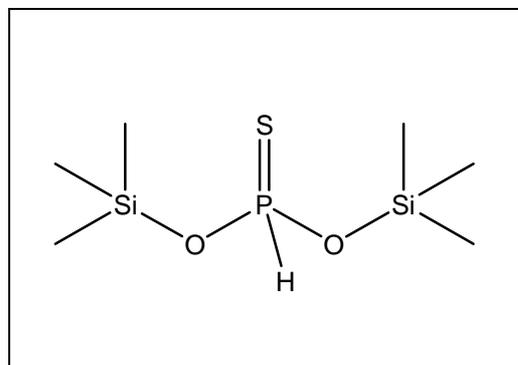
³¹P-NMR (160 MHz, C₆D₆)

δ [ppm]: -11.9.

8.16.35 Darstellung von Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester (35)

15.4 g (60.0 mmol) S₈ wurden in 100 mL absolutem Dioxan suspendiert und tropfenweise mit 101.8 g (484 mmol) Bis(trimethylsilyl)hypophosphit versetzt. Die Zugabe erfolgte so, daß die Temperatur der Reaktionsmischung 60 °C nicht überstieg. Nach beendeter Zugabe wurde die Mischung für 1 h bei 60 °C gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt bei vermindertem Druck (16 mbar) fraktioniert destilliert.

Summenformel	C₆H₁₉O₇PSSi₂
Molmasse	242.42 g/mol
Ausbeute	96.5 g (398 mmol), 82 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit
Siedepunkt	101 °C (17 mbar)



¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆)

δ [ppm]: 7.92 (d, 1H, P-H, ¹J_{P-H} = 644 Hz), 0.19 (s, 18H, Si(CH₃)₃). **¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆)**

δ [ppm]: 0.30 (Si(CH₃)₃).

³¹P-NMR (160 MHz, C₆D₆)

δ [ppm]: 42.7.

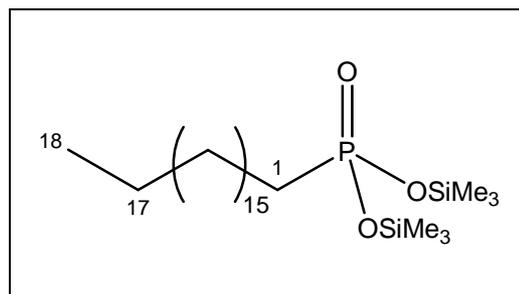
Das ³¹P-NMR-Spektrum wies darauf hin, dass im Produkt geringe Mengen an Phosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester enthalten waren.

8.16.36 Versuchte Darstellung von Octadecylphosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester (36)

0.26 g (1.0 mmol) 1-Octadecen, 0.47 g (2.1 mmol) Phosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester und 0.11 g (0.66 mmol) AIBN wurden nach AAV 8 umgesetzt. Aus der Reaktion gingen die Edukte unverändert hervor.

Summenformel $C_{24}H_{55}O_3PSi_2$

Molmasse 478.84 g/mol



8.16.37 Darstellung von Octadecylthiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester (37)

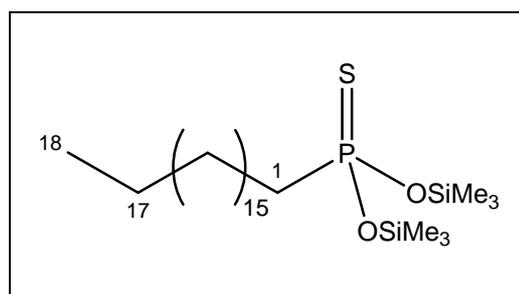
0.25 g (1.0 mmol) 1-Octadecen, 0.31 g (1.3 mmol) Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester sowie 0.092 g (0.56 mmol) AIBN wurden nach AAV 8 umgesetzt. Abweichend wurde hier Dioxan statt THF als Lösungsmittel verwendet.

Summenformel $C_{24}H_{55}O_2PSSi_2$

Molmasse 494.90 g/mol

Ausbeute 0.28 g (0.80 mmol), 80 %

Aussehen farbloser Feststoff



¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆)

δ [ppm]: 2.10-1.66 (m, 4H, H₁,H₂), 1.60-1.11 (m, 30H, H₃-H₁₇), 0.93 (t, 3H, H₁₈, ³J₁₈₋₁₇ = 6.8 Hz), 0.31 (s, 18H, Si(CH₃)₃).

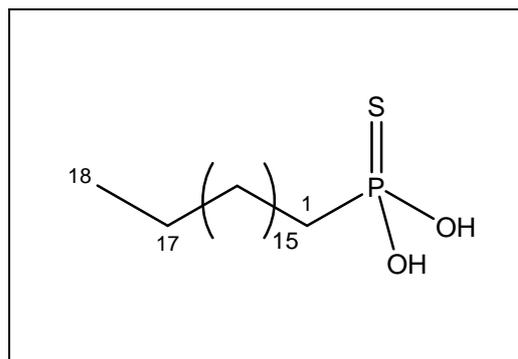
³¹P-NMR (160 MHz, C₆D₆)

δ [ppm]: 75.6.

8.16.38 Darstellung von Octadecylthiophosphonsäure (38)

0.82 g (1.7 mmol) Octadecylthiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester wurden mit 10.0 g (555 mmol) Wasser versetzt und bei 60 °C für 2 h gerührt. Danach wurden überschüssiges Wasser und gebildetes Trimethylsilanol im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus n-Hexan gereinigt.

Summenformel	C₁₈H₃₉O₂PS
Molmasse	350.54 g/mol
Ausbeute	0.55 g (1.6 mmol), 95 %
Aussehen	farbloser Feststoff
Schmelzpunkt	75 °C

**¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)**

δ [ppm]: 1.95-1.78 (m, 2H, H1), 1.75-1.55 (m, 2H, H2), 1.55-1.15 (m, 30H, H3-H17), 0.89 (t, 3H, H18, $^3J_{17-18} = 6.8$ Hz).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 37.05 (d, C1, $^1J_{P-C} = 107$ Hz), 33.09 (C16), 31.53 (d, C3, $^3J_{P-C} = 18$ Hz), 30.81, 30.60, 30.41 (C4-C15), 24.54 (d, C2, $^2J_{P-C} = 4$ Hz), 23.75 (C17), 14.49 (C18).

³¹P-NMR (80 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 87.3.

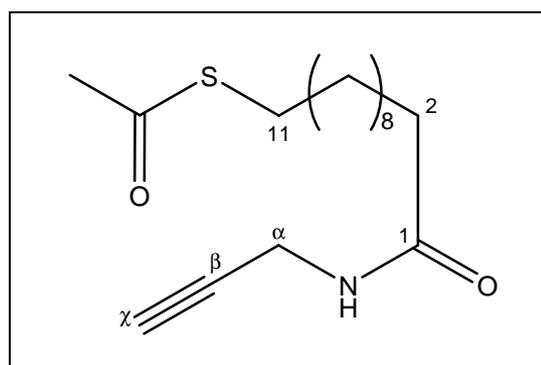
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3181 (ν_{O-H} , OH), 2927 (ν_{C-H} , CH₂, CH₃), 2849 (ν_{C-H} , CH₃), 2817 (ν_{C-H} , CH₂), 1470 (δ_{C-H} , CH₂, CH₃), 1405 (δ_{C-H} , CH₃), 802 ($\nu_{P=S}$, CP(S)(OH)₂).

8.16.39 Darstellung von S-11-Oxo-11-(prop-2-ynylamino)undecylthioacetat (39)

7.63 g (34.0 mmol) DCC wurden in 50 mL absolutem CH_2Cl_2 gelöst. Die Lösung wurde auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt und es wurden 8.75 g (33.6 mmol) S-10-Carboxyundecylthioacetat zugegeben. Die Mischung wurde für 1 h bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt und dann tropfenweise mit einer Lösung von 1.85 g (33.6 mmol) Propargylamin in 30 mL absolutem CH_2Cl_2 versetzt. Es wurde noch 1 h bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ und dann 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde filtriert, um ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff abzutrennen. Das Filtrat wurde dann am Rotationsverdampfer eingedunstet. Um den im Rohprodukt noch vorhandenen Dicyclohexylharnstoff zu entfernen, wurde der Rückstand zunächst in 50 mL CHCl_3 gelöst. Das Produkt wurde dann unter Rühren durch langsame Zugabe von 300 mL n-Hexan ausgefällt.

Summenformel	$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_2\text{S}$
Molmasse	297.46 g/mol
Ausbeute	6.90 g (23.2 mmol), 69 %
Aussehen	farbloser Feststoff
Schmelzpunkt	$70\text{ }^\circ\text{C}$



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 5.97 (s, 1H, NH), 4.02 (dd, 2H, H_α , $^3J_{\text{NH}-\alpha} = 5.2\text{ Hz}$, $^4J_{\alpha-\chi} = 2.6\text{ Hz}$), 2.82 (t, 2H, H_{11} , $^3J_{10-11} = 7.4\text{ Hz}$), 2.29 (s, 3H, SC(O)CH_3), 2.20 (t, 1H, H_χ), 2.17 (t, 2H, H_2 , $^3J_{2-3} = 7.7\text{ Hz}$), 1.65-1.46 (m, 4H, $\text{H}_3, \text{H}_{10}$), 1.37-1.06 (m, 12H, $\text{H}_4\text{-H}_9$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3)

δ [ppm]: 196.12 (SC(O)CH_3), 172.82 (C1), 79.72 (C_β), 71.41 (C_χ), 36.42 (C2), 30.68 (SC(O)CH_3), 29.48, 29.35, 29.22, 29.14, 29.05, 28.77 ($\text{C}_4\text{-C}_{11}$, C_α), 25.57 (C3).

IR (KBr)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3306 ($\nu_{\text{N-H}}$, $\nu_{\text{C-H}}$, CNHC, $\equiv\text{CH}$), 2920, 2851 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1692 ($\nu_{\text{C=O}}$, SC(O)CH₃), 1635 ($\nu_{\text{C=O}}$, OC(O)C), 1536 ($\delta_{\text{N-H}}$, C(O)NH), 1471, 1419 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1358 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_3), 1141 ($\nu_{\text{C-N}}$, C(O)NH).

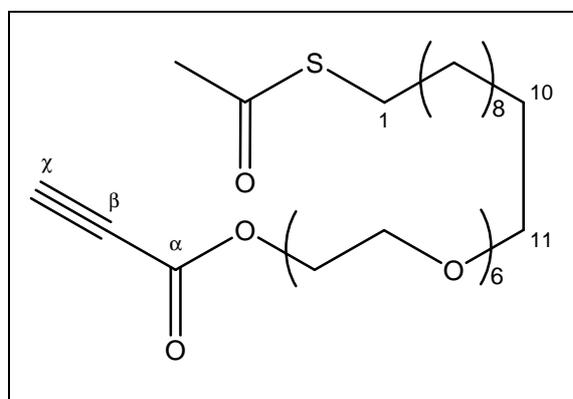
Elementaranalyse [%]

	C	H	N	S
Berechnet	64.60	9.15	4.71	10.78
Gefunden	64.64	9.12	4.93	11.01

8.16.40 Darstellung von AcSC₁₁EG₆OC(O)C \equiv CH (40)

5.82 g (11.4 mmol AcSC₁₁EG₆OH wurden in 35 mL absolutem Dichlormethan gelöst und mit 0.86 g (12 mmol) Propiolsäure versetzt. Nach dem Abkühlen der Lösung auf -20 °C wurden 2.47 g (12.0 mmol) DCC und 0.16 g (1.3 mmol) 4-Dimethylaminopyridin zugefügt. Die Mischung färbte sich orange. Die Kühlung wurde entfernt und die Mischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann filtriert, um ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff abzutrennen. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer bis auf wenige Milliliter eingeeengt und unter Rühren in 100 mL n-Hexan gegeben. Hierbei fiel weiterer Dicyclohexylharnstoff aus, der abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde eingeeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Et₂O / EtOAc (9.5:0.5) gereinigt.

Summenformel	C₂₈H₅₀O₉S
Molmasse	562.76 g/mol
Ausbeute	3.09 g (5.49 mmol), 48 %
Aussehen	gelbliches Öl
R_f-Wert	0.41 (Et₂O/EtOAc 19:1)



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 4.57 (s, 1H, H χ), 4.28-4.23 (m, 2H, CH₂OC(O)), 3.66-3.60 (m, 2H, CH₂CH₂OC(O)), 3.60-3.25 (m, 20H, CH₂O), 3.36 (t, 2H, H11, ³J₁₁₋₁₀ = 6.6 Hz), 2.81 (t, 2H, H1, ³J₁₋₂ = 7.2 Hz), 2.31 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.55-1.40 (m, 4H, H2,H10), 1.35-1.14 (m, 14H, H3-H9).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-D₆)

δ [ppm]: 195.08 (SC(O)CH₃), 152.09 (C α), 79.01 (C χ), 74.53 (C β), 70.22 (C11), 69.70, 69.69, 69.64, 69.39 (CH₂O), 67.68 (CH₂CH₂OC(O)), 65.02 (CH₂OC(O)), 30.42 (SC(O)CH₃), 29.12, 29.02, 28.91, 28.83, 28.78, 28.40, 28.22, 28.03 (C1-C8,C10), 25.55 (C9).

IR (KBr)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3441 ($\nu_{\text{C-H}}$, $\equiv\text{CH}$), 2927, 2857 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 2114 ($\nu_{\text{C=C}}$, C $\equiv\text{CH}$), 1718 ($\nu_{\text{C=O}}$, OC(O)C), 1692 ($\nu_{\text{C=O}}$, SC(O)CH₃), 1457 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1353 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₃), 1228 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ester), 1113 ($\nu_{\text{O-C-O}}$, Ether).

Elementaranalyse [%]

	C	H	S
Berechnet	59.76	8.96	5.70
Gefunden	60.02	8.81	5.24

8.16.41 Darstellung von Triethylboran

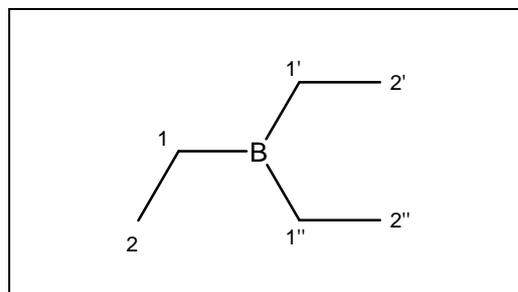
Zu 90.8 g (3.74 mol) Magnesiumspänen in 250 mL absolutem Et₂O wurde langsam und unter Rühren (KPG-Rührer) eine Lösung von 363.7 g (3.338 mol) Ethylbromid in 250 mL absolutem Et₂O getropft. Nach beendeter Reaktion wurde das Gemisch für 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Grignard-Lösung von unumgesetztem Magnesium abdekantiert und langsam zu einer Lösung von 141.8 g (999.2 mmol) BF₃·OEt₂ in 400 mL absolutem Et₂O getropft. Da die Reaktion sehr exotherm war, wurde das Reaktionsgefäß mit einem Wasserbad gekühlt. Nach beendeter Zugabe der Grignard-Lösung wurde die Mischung für 1 h

unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgte die Zugabe von 500 mL sauerstofffreiem Dibutylether. Die Mischung wurde für 10 min gerührt. Dann wurde die organische Phase von ausgefallenen Magnesiumsalzen abdekantiert. Der anorganische Rückstand wurde mit 500 mL sauerstofffreiem Et₂O gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden dann über eine Vigreux-Kolonnen fraktioniert destilliert. Als Produktfraktion wurde bei 90 °C – 120 °C ein Gemisch aufgefangen, das sich wie folgt zusammensetzte:

Verbindung	molarer Anteil [%]	w [%]
Et ₃ B	53	50
Et ₂ O	18	13
Bu ₂ O	29	37

Das Gemisch ist pyrophor.

Summenformel	C₆H₁₅B
Molmasse	97.99 g/mol
Ausbeute	40.3 g (412 mmol), 41 %
Aussehen	farblose Flüssigkeit



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm]: 1.28-1.09 (m, 6H, H1, H1', H1''), 1.00-0.80 (m 9H, H2, H2', H2'').

weiterhin traten folgende Signale auf:

δ [ppm]: 3.40 (t), 1.64-1.28 (m), 1.00-0.80 (m). Dibutylether

δ [ppm]: 3.48 (q), 1.20 (t). Diethylether

8.16.42 Vorbemerkung zu den dargestellten Polyglycerol-Dendrimern

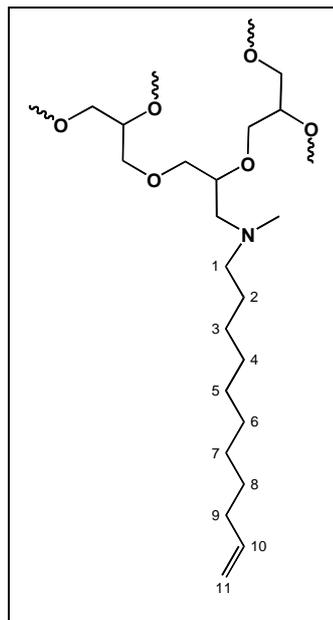
Neben der gewünschten Polymerisationsreaktion, bei der ein funktionalisiertes Amin als Polymerisationsstarter wirkte, war eine Konkurrenzreaktion, bei der das Monomer Glycidol selbst als Starter fungierte, nicht zu unterdrücken. Dies führte zur Bildung unfunktionalisierter Polyglycerol-Dendrimere sowie zur Bildung von zyklischen Polyglycerol-Verbindungen. Diese Verbindungen konnten nicht vom Reaktionsprodukt abgetrennt werden. Auch war NMR-spektroskopisch keine Unterscheidung von Produkt- und Nebenprodukt-Signalen möglich. Dieser Umstand und die Tatsache, daß verwendete Lösungsmittel nicht vollständig aus den hochviskosen Reaktionsprodukten entfernt werden konnten, machten es unmöglich, prozentuale Ausbeuten anzugeben. Als Ausbeute wird daher immer nur die erhaltene Masse an Reaktionsprodukt angegeben. Das Vorhandensein von Lösungsmitteln im Reaktionsprodukt wird jeweils an entsprechender Stelle vermerkt. Für die Berechnung der Massen und Stoffmengen der Reagenzien, mit denen die Dendrimere umgesetzt wurden, wurde davon ausgegangen, daß die Polymere als Reinsubstanzen vorlagen.

8.16.43 Darstellung der Dendrimere der Klasse D1(en)

Nach AAV 11 wurden x g (x' mmol) *N*-Methylundec-10-en-1-amin mit y g (y' mmol) Glycidol umgesetzt. Nach der Polymerisation wurde das Rohprodukt in 50 mL Methanol gelöst und in 400 mL Aceton gefällt. Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt. Das erhaltene Produkt wurde dann für mehrere Stunden im Vakuum getrocknet.

$M_{\text{angestrebt}}$ [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
3000	1.29	7.04	18.90	255.1
4000	0.93	5.1	19.10	257.8
6000	0.61	3.3	19.41	262.0
8000	0.46	2.5	19.54	263.8
10000	0.37	2.0	19.63	265.0

Allgemeine Struktur



8.16.43.1 D1(en)₃₀₀₀

Ausbeute **15.19 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.93 (ddt, 1H, H10, $^3J_{11Z-10} = 10.3$ Hz, $^3J_{11E-10} = 17,1$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.6$ Hz), 5.14-4.96 (m, 2H, H11), 4.86-4.66 (m, 66H, OH), 4.50-3.00 (m, 265H, PG-Rückgrat, NCH₂, NCH₃), 2.16-1.98 (m, 2H, H9), 1.96-1.10 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3352 (ν_{O-H} , OH), 2918, 2870 (ν_{C-H} , CH₂), 1456 (δ_{C-H} , CH₂), 1327 (δ_{O-H} , OH), 1065 (ν_{C-O} , ν_{O-C-O} , Alkohole, Ether).

8.16.43.2 D1(en)₄₀₀₀

Ausbeute **15.88 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92 (ddt, 1H, H10, $^3J_{11Z-10} = 10.3$ Hz, $^3J_{11E-10} = 17.1$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.7$ Hz), 5.12-4.94 (m, 2H, H11), 4.85-4.65 (m, 61H, OH), 4.20-3.10 (m, 265H, PG-Rückgrat, NCH₂, NCH₃), 2.15-2.00 (m, 2H, H9), 1.93-1.15 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3360 (ν_{O-H} , OH), 2872 (ν_{C-H} , CH₂), 1456 (δ_{C-H} , CH₂), 1327 (δ_{O-H} , OH), 1064 (ν_{C-O} , ν_{O-C-O} , Alkohole, Ether).

8.16.43.3 D1(en)₆₀₀₀

Ausbeute **16.64 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.91 (ddt, 1H, H10, $^3J_{11Z-10} = 10.3$ Hz, $^3J_{11E-10} = 17,1$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.7$ Hz), 5.13-4.94 (m, 2H, H11), 4.93-4.65 (m, 115H, OH), 4.25-3.10 (m, 289H, PG-Rückgrat, NCH₂, NCH₃), 2.16-2.00 (m, 2H, H9), 1.95-1.15 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3356 (ν_{O-H} , OH), 2871 (ν_{C-H} , CH₂), 1457 (δ_{C-H} , CH₂), 1328 (δ_{O-H} , OH), 1071 (ν_{C-O} , ν_{O-C-O} , Alkohole, Ether).

8.16.43.4 D1(en)₈₀₀₀

Ausbeute **16.73 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92 (ddt, 1H, H10, $^3J_{11Z-10} = 10.6$ Hz, $^3J_{11E-10} = 17,1$ Hz, $^3J_{10-9} = 6.6$ Hz), 5.12-4.96 (m, 2H, H11), 4.95-4.65 (m, 126H, OH), 4.30-3.10 (m, 428H, PG-Rückgrat, NCH₂, NCH₃), 2.15-2.02 (m, 2H, H9), 1.90-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1950$, $\bar{M}_w = 2228$, $Q = 1.14$

berechnet: $\bar{M}_n = 8000$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3364 (ν_{O-H} , OH), 2871 (ν_{C-H} , CH₂), 1456 (δ_{C-H} , CH₂), 1328 (δ_{O-H} , OH), 1063 (ν_{C-O} , ν_{O-C-O} , Alkohole, Ether).

8.16.43.5 D1(en)₁₀₀₀₀**Ausbeute** **15.41 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92-5.72 (m, 1H, H10), 5.12-4.70 (m, 191H, H11, OH), 4.40-3.00 (m, 693H, PG-Rückgrat, NCH₂, NCH₃), 2.18-2.00 (m, 2H, H9), 1.99-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 140.1 (C10), 114.6 (C11), 81.6, 81.4, 80.2, 79.9, 75.0, 73.9, 72.9, 72.6, 72.5, 72.4, 72.3, 72.2, 71.2, 70.9, 70.7, 65.5, 64.4, 62.8, 62.6 (PG-Rückgrat), 34.6 (C9), 30.4, 27.3 (CH₂-Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 2225$, $\bar{M}_w = 2586$, $Q = 1.16$ berechnet: $\bar{M}_n = 10000$ **IR (Film)**

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3353 (ν_{O-H}, OH), 2871 (ν_{C-H}, CH₂), 1456 (δ_{C-H}, CH₂), 1327, 1257 (δ_{O-H}, OH), 1068 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.44 Versuch der Polymerisation von Glycidol mit Undec-10-en-1-olat als Starter

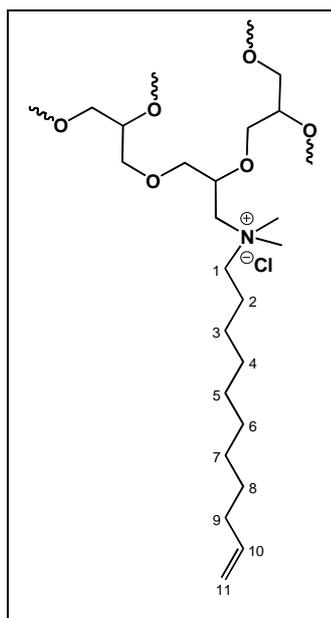
0.173 g (1.02 mmol) Undec-10-en-1-ol, das zu 10 % mit Kalium deprotoniert war, wurde analog zu AAV 11 mit 29.52 g (398.5 mmol) Glycidol umgesetzt. Das eingesetzte Glycidol bildete Polyglycidol und das Undec-10-en-1-ol ging unverändert aus der Reaktion wieder hervor. Aufgrund dieses Ergebnisses wurde auf die Durchführung weiterer Polymerisationsversuche mit Undec-10-en-1-ol als Starter verzichtet.

8.16.45 Darstellung der N-methylierten Dendrimere der Klasse D1(en)(NMe)

Nach AAV 12 wurden x g des jeweiligen Dendrimers (entsprache x' mmol Reinsubstanz) D1(en) mit y g (y' mmol) Methyljodid umgesetzt. Zum Halogenaustausch wurden z g (z' mmol) AgCl verwendet.

M _{angestrebt} [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]	z [g]	z' [mmol]
3000	18.70	6.233	2.84	20.0	2.86	20.0
4000	15.78	3.945	2.26	15.9	1.71	11.9
6000	16.43	2.738	1.55	10.9	1.18	8.23
8000	16.51	2.064	1.57	11.1	1.18	8.23
10000	15.19	1.519	0.87	6.1	0.65	4.5

Allgemeine Struktur



8.16.45.1 D1(en)(NMe)₃₀₀₀**Ausbeute** **10.40 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.99 (ddt, 1H, H10, ³J_{11Z-10} = 10.3 Hz, ³J_{11E-10} = 17,1 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.6 Hz), 5.20-5.03 (m, 2H, H11), 4.95-4.73 (m, 46H, OH), 4.50-3.00 (m, 221H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.22-2.08 (m, 2H, H9), 2.00-1.24 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3349 (ν_{O-H}, OH), 2871 (ν_{C-H}, CH₂), 1456 (δ_{C-H}, CH₂), 1327 (δ_{O-H}, OH), 1065 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.45.2 D1(en)(NMe)₄₀₀₀**Ausbeute** **14.97 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.91 (ddt, 1H, H10, ³J_{11Z-10} = 10.3 Hz, ³J_{11E-10} = 17,1 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.6 Hz), 5.12-4.95 (m, 2H, H11), 4.95-4.53 (m, 73H, OH), 4.30-3.10 (m, 260H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.14-2.01 (m, 2H, H9), 1.93-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3351 (ν_{O-H}, OH), 2871 (ν_{C-H}, CH₂), 1460 (δ_{C-H}, CH₂), 1327 (δ_{O-H}, OH), 1070 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.45.3 D1(en)(NMe)₆₀₀₀**Ausbeute** **15.89 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92 (ddt, 1H, H10, ³J_{11Z-10} = 10.3 Hz, ³J_{11E-10} = 17,1 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 5.13-4.95 (m, 2H, H11), 4.94-4.62 (m, 98H, OH), 4.31-3.10 (m, 353H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.15-2.01 (m, 2H, H9), 1.93-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3350 (ν_{O-H}, OH), 2919, 2872 (ν_{C-H}, CH₂), 1457 (δ_{C-H}, CH₂), 1327, 1257 (δ_{O-H}, OH), 1066 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.45.4 D1(en)(NMe)₈₀₀₀**Ausbeute** **17.05 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92 (ddt, 1H, H10, ³J_{11Z-10} = 10.3 Hz, ³J_{11E-10} = 17,0 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.7 Hz), 5.20-4.55 (m, 118H, H11, OH), 4.24-3.07 (m, 442H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.15-2.00 (m, 2H, H9), 1.93-1.21 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 2214$, $\bar{M}_w = 2460$, Q = 1.11berechnet: $\bar{M}_n = 8050$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3350 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2872 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1327, 1256 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1069 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.45.5 D1(en)(NMe)₁₀₀₀₀

Ausbeute **14.71 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92-5.73 (m, 1H, H10), 5.10-4.55 (m, 2H, H11, OH), 4.40-3.10 (m, 531H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.14-2.00 (m, 2H, H9), 1.98-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 140.1 (C10), 114.7 (C11), 81.6, 81.4, 81.3, 80.2, 79.8, 73.9, 72.9, 72.6, 72.5, 72.4, 72.3, 72.2, 70.9, 70.7, 64.5, 64.4, 62.8, 62.6 (PG-Rückgrat, N⁺CH₂), 34.7 (C9), 30.1, 27.4, 23.3 (CH₂-Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1946$, $\bar{M}_w = 2166$, Q = 1.11

berechnet: $\bar{M}_n = 10050$

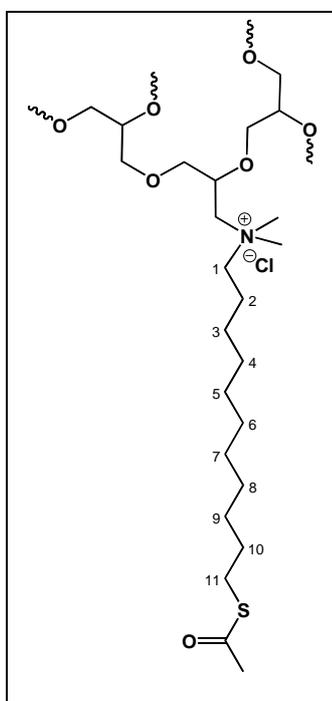
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3360 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2871 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1326, 1256 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1067 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.46 Darstellung der Thioacetate der Klasse D1(SAc)

Nach AAV 13 wurden x g des jeweiligen Dendrimers (entspräche x' mmol Reinsubstanz) D1(en)(NMe) mit y g (y' mmol) Thioessigsäure umgesetzt.

M _{angestreb} [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
3000	4.05	1.35	0.72	9.5
4000	4.00	1.00	0.30	3.9
6000	3.99	0.665	0.20	2.6
8000	4.00	0.500	0.15	2.0
10000	3.49	0.349	0.14	1.8

Allgemeine Struktur

8.16.46.1 D1(SAc)₃₀₀₀**Ausbeute** **1.86 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.83-4.70 (m, 149H, OH), 4.20-3.10 (m, 371H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.93-2.84 (m, 2H, H11), 2.36 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.90-1.20 (m, 18H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 2450$, $\bar{M}_w = 2636$, Q = 1.08berechnet: $\bar{M}_n = 2995$ **IR (Film)**

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3359 (ν_{O-H}, OH), 2873 (ν_{C-H}, CH₂), 1456 (δ_{C-H}, CH₂), 1327, 1253 (δ_{O-H}, OH), 1064 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.46.2 D1(SAc)₄₀₀₀**Ausbeute** **2.08 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.90-4.60 (m, 187H, OH), 4.20-3.08 (m, 421H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.97-2.78 (m, 2H, H11), 2.36 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.90-1.10 (m, 18H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 3308$, $\bar{M}_w = 3448$, $Q = 1.04$

berechnet: $\bar{M}_n = 4054$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3354 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2873 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1328, 1258 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1066 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.46.3 D1(SAc)₆₀₀₀

Ausbeute **2.10 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.95-4.55 (m, 231H, OH), 4.45-3.00 (m, 640H, PG-Rückgrat, N^+CH_2 , N^+CH_3), 2.95-2.80 (m, 2H, H11), 2.36 (s, 3H, SC(O)CH_3), 1.90-1.20 (m, 18H, CH_2 Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 3110$, $\bar{M}_w = 3206$, $Q = 1.03$

berechnet: $\bar{M}_n = 6193$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3352 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2872 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1457 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1328, 1256 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1071 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.46.4 D1(SAc)₈₀₀₀**Ausbeute** **2.46 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.95-4.55 (m, 282H, OH), 4.40-3.00 (m, 624H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.93-2.80 (m, 2H, H11), 2.36 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.90-1.20 (m, 18H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 3153$, $\bar{M}_w = 3276$, Q = 1.04berechnet: $\bar{M}_n = 8127$ **IR (Film)**

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3349 (ν_{O-H}, OH), 2873 (ν_{C-H}, CH₂), 1456 (δ_{C-H}, CH₂), 1330 (δ_{O-H}, OH), 1073 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.46.5 D1(SAc)₁₀₀₀₀**Ausbeute** **2.92 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Das Produkt enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.95-4.75 (m, 426H, OH), 4.65-4.50 (m, 21H, OH), 4.20-3.12 (m, 1345H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.87 (t, 2H, H11, ³J₁₁₋₁₀ = 6.4 Hz), 2.32 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.64-1.14 (m, 18H, CH₂ Alkylkette).

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD)

δ [ppm]: 81.6, 81.4, 81.3, 80.2, 80.1, 79.9, 73.9, 72.9, 72.6, 72.5, 72.4, 72.2, 72.1, 71.2, 70.9, 70.8, 70.7, 64.5, 64.4, 62.8, 62.7, 62.6 (PG-Rückgrat, N^+CH_2), 30.5 (SC(O)CH_3), 30.4, 30.2 (CH_2 -Alkylkette), 29.7 (C11).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 3431$, $\bar{M}_w = 3572$, $Q = 1.04$

berechnet: $\bar{M}_n = 10127$

IR (Film)

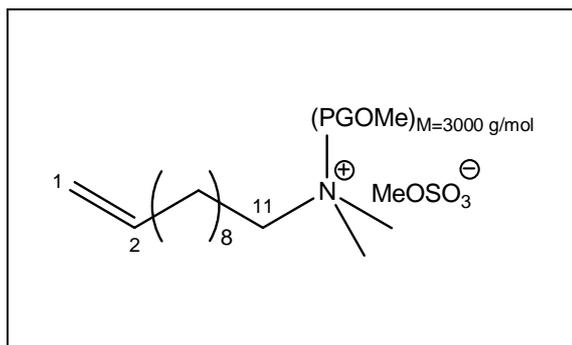
$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3350 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2872 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1457 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1328 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1076 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.47 Darstellung von MeD1(en)₃₀₀₀

6.70 g NaH (279 mmol) wurden in 100 mL absolutem DMF suspendiert. Die Mischung wurde auf 60 °C erwärmt und dann tropfenweise mit einer Lösung von 20.00 g D1(en)₃₀₀₀ (erhalten durch die Polymerisation von 184.9 mmol Glycidol nach AAV 11) und 29.80 g (236.3 mmol) Dimethylsulfat in 50 mL absolutem DMF versetzt. Nach abgeschlossener Zugabe wurde die Mischung für 2 h bei 60 °C und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Zur Desaktivierung von überschüssigen NaH wurden vorsichtig 20.3 g (441 mmol) Ethanol zugegeben. Dann wurden der Mischung 100 g NH_3 -Lösung (25 % in Wasser) zugefügt und für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Gemisch im Vakuum eingeeengt und der Rückstand mit 300 mL CH_2Cl_2 digeriert. Es wurde filtriert und das zurückbleibende Natriummonomethylsulfat zweimal mit je 100 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten CH_2Cl_2 -Phasen wurden am Rotationsverdampfer eingeeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Ausbeute **18.42 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose**
Substanz



Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser und Ethanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 6.08-5.90 (m, 1H, H2), 5.24-5.00 (m, 2H, H1), 4.55-2.80 (m, 421H, PG-Rückgrat, C11, OCH₃), 2.20-2.09 (m, 2H, H3), 2.00-1.70 (m, 2H, H10), 1.56-1.26 (m, 12H, H4-H9).

Weitere Signale:

δ [ppm]: 8.35-8.18 (m), 5.98-5.92 (m), 2.78-2.76 (m): unbekannte Verunreinigungen

δ [ppm]: 4.96-4.70 (br): Wasser

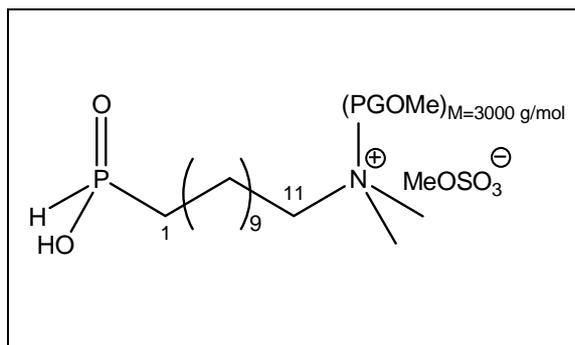
Desweiteren waren Signale unbekannter Verunreinigungen im Bereich des PG-Rückgrats zu erkennen.

8.16.48 Darstellung der Phosphinsäure MeD1(Phosphin)₃₀₀₀

Es wurden 6.90 g (entspräche 3 mmol Reinsubstanz) MeD1(en)₃₀₀₀ mit 0.78 g (7.4 mmol) NaH₂PO₂·H₂O und 0.79 g (4.0 mmol) Et₃B (w=0.5) nach AAV 7 umgesetzt. Das Reaktionsprodukt wurde durch eine 16-stündige Dialyse mit dreimal 2 L Wasser gereinigt. Die dialysierte wässrige Produktlösung wurde am Rotationsverdampfer eingedunstet und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute **5.43 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose**
Substanz



Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 7.02 (d, 1H, P-H, $^1J_{P-H} = 535$ Hz), 5.15-2.85 (m, 263H, PG-Rückgrat, C11, OCH₃), 2.00-1.10 (m, 20H, CH₂-Alkylkette).

Weitere Signale:

δ [ppm]: 6.12-5.90 (m), 2.75-2.70 (m), 1.00-0.80 (m): unbekannte Verunreinigungen

δ [ppm]: 8.10 (s) DMF

δ [ppm]: 4.93-4.78 (br): Wasser

δ [ppm]: 2.10 (s): Aceton

Desweiteren waren Signale unbekannter Verunreinigungen im Bereich des PG-Rückgrats zu erkennen.

³¹P-NMR (160 MHz, CD₃OD)

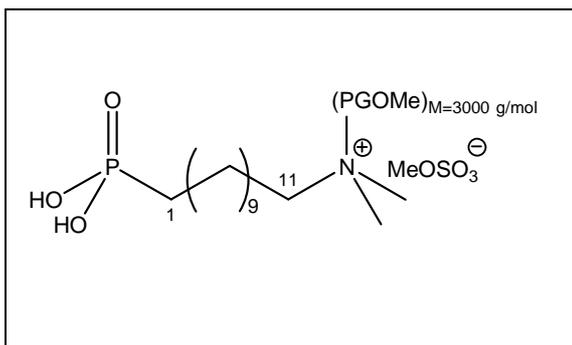
δ [ppm]: 36.0.

8.16.49 Darstellung der Phosphonsäure MeD1(Phosphon)₃₀₀₀

2.02 g (entspräche 0.67 mmol Reinsubstanz) MeD1(Phosphin)₃₀₀₀ wurden nach AAV 9 mit 0.60 g (5.29 mmol) 30 %iger H₂O₂-Lösung umgesetzt. Das Reaktionsprodukt wurde durch eine 16-stündige Dialyse mit dreimal 2 L Wasser gereinigt. Die wässrige Produktlösung wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute **1.97 g**

Aussehen **grünliche, hochviskose**
Substanz



Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.50-2.50 (m, 427H, C11, PG-Rückgrat, OCH₃), 2.00-1.00 (m, 20H, H1-H10).

Weitere Signale:

δ [ppm]: 8.25-8.00 (m), 2.15-2.14 (m), 0.92-0.82 (m): unbekannte Verunreinigungen

δ [ppm]: 4.83-4.73 (m): Wasser

Desweiteren waren Signale unbekannter Verunreinigungen im Bereich des PG-Rückgrats zu erkennen.

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 81.4, 79.8, 75.2, 74.0, 72.5, 71.0, 70.7, 64.5, 64.4, 62.8 (PG-Rückgrat), 30.4, 27.1, 23.9, 23.2 (CH₂-Alkylkette).

Weitere Signale:

δ [ppm]: 94.0, 93.4, 45.3, 34.9: unbekannte Verunreinigungen

³¹P-NMR (160 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 30.2.

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2873 (ν_{C-H} , CH₂), 1457 (δ_{C-H} , CH₂), 1067 (ν_{O-C-O} , Ether).

8.16.50 Versuchte Darstellung der Thiophosphonsäure

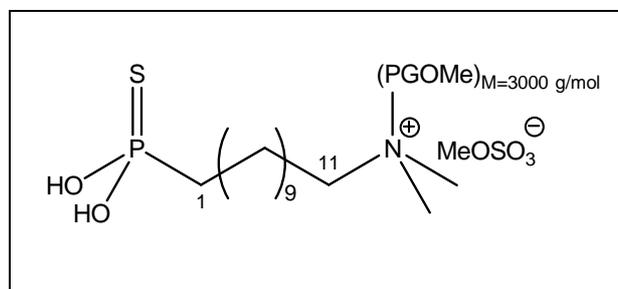
MeD1(Thiophospon)₃₀₀₀

A: Darstellung über die Phosphinsäure

1.09 g (entspräche 0.363 mmol Reinsubstanz) MeD1(Phosphin)₃₀₀₀, 1.55 g (9.60 mmol) HMDS, 0.14 g (0.55 mmol) S₈ und 1.50 g (8.33 mmol) Wasser wurden nach AAV 10 umgesetzt. Eine ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchung der Reaktionsmischung zeigte, daß die Zielverbindung nicht gebildet wurde.

B: Direkte Darstellung aus dem Alken

1.26 g (entspräche 0.420 mmol Reinsubstanz) MeD1(en)₃₀₀₀ wurden mit 1,2-Dichlor-ethan azeotrop getrocknet und mit 0.24 g (0.99 mmol) Thiophosphonsäure-bis(trimethylsilyl)ester sowie insgesamt 0.023 g (0.20 mmol) AIBN nach AAV 8 umgesetzt. Anstelle von Dioxan wurde absolutes Chloroform als Lösungsmittel verwendet. Eine ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchung des Reaktionsgemisches zeigte, dass keine Umsetzung zum gewünschten Produkt stattgefunden hatte.

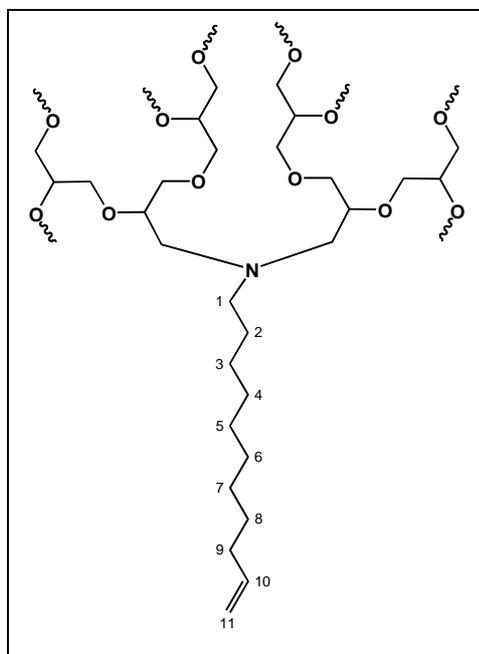


8.16.51 Darstellung der Dendrimere der Klasse D2(en)

Nach AAV 11 wurden x g (x' mmol) Undec-10-en-1-amin mit y g (y' mmol) Glycidol umgesetzt. Abweichend von AAV 11 wurde jeweils ein Äquivalent Glycidol bei 50 °C zu dem Amin getropft. Die Reaktionstemperatur wurde dann auf 130 °C erhöht und es erfolgte die Zugabe des restlichen Glycidols.

$M_{\text{angestrebt}}$ [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
3000	1.64	9.69	29.63	400.0
5000	1.02	6.00	29.76	401.7
10000	0.50	3.0	29.95	404.3

Allgemeine Struktur



8.16.51.1 D2(en)₃₀₀₀

Ausbeute 31.2 g

Aussehen gelbliche, hochviskose Substanz

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.93-5.74 (m, 1H, H10), 5.19-4.67 (m, 149H, H11, OH), 4.40-3.10 (m, 613H, PG-Rückgrat), 2.75-2.36 (m, 6H, NCH₂), 2.16-2.00 (m, 2H, H9), 1.98-1.10 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3361 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2870 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1326, 1254 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1041 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.51.2 D2(en)₅₀₀₀

Ausbeute **30.7 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92-5.73 (m, 1H, H10), 5.05-4.70 (m, 94H, H11, OH), 4.04-3.02 (m, 351H, PG-Rückgrat), 2.75-2.36 (m, 6H, NCH₂), 2.20-1.99 (m, 2H, H9), 1.77-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3365 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2871 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1327, 1253 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1067 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.51.3 D2(en)₁₀₀₀₀

Ausbeute **30.4 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.95-5.72 (m, 1H, H10), 5.30-4.41 (m, 144H, H11, OH), 4.35-2.90 (m, 634H, PG-Rückgrat), 2.80-2.25 (m, 6H, NCH₂), 2.16-2.00 (m, 2H, H9), 1.98-1.10 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD)

δ [ppm]: 139.9 (C10), 114.4 (C11), 81.6, 81.4, 81.3, 80.2, 80.1, 79.9, 73.9, 72.9, 72.7, 72.6, 72.5, 72.4, 72.3, 72.2, 72.1, 70.7, 64.5, 64.4, 63.0, 62.9, 62.8, 62.7 (PG-Rückgrat), 57.3, 56.7 (NCH_2), 34.6 (C9), 33.3, 29.8 (CH_2 -Alkylkette), 28.3 (C4), 27.2 (C2).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1773$, $\bar{M}_w = 2090$, $Q = 1.18$

berechnet: $\bar{M}_n = 10150$

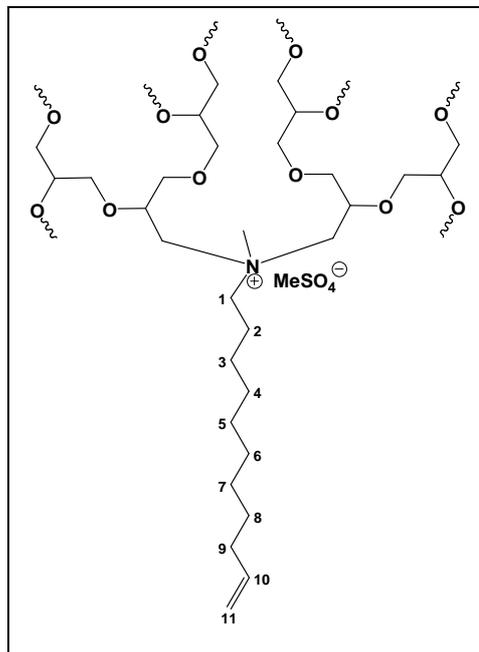
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3372 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2870 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1455 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1326, 1246 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1040 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.52 Darstellung der N-methylierten Dendrimere der Klasse D2(en)(NMe)

Nach AAV 12 wurden x g des jeweiligen Dendrimers (entsprache x' mmol Reinsubstanz) D2(en) mit y g (y' mmol) Dimethylsulfat umgesetzt.

$M_{\text{angestrebt}}$ [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
3000	30.72	10.24	1.86	14.7
5000	29.75	5.950	3.43	27.2
10000	29.49	2.949	1.77	14.0

Allgemeine Struktur**8.16.52.1 D2(en)(NMe)₃₀₀₀****Ausbeute** **38.02 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.89-5.71 (m, 1H, H10), 5.27-4.46 (m, 96H, H11, OH), 4.25-3.05 (m, 226H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.15-1.97 (m, 2H, H9), 1.96-1.10 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3375 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2921, 2876 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 1461 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1346, 1248, 1217 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1059, 1005 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.52.2 D2(en)(NMe)₅₀₀₀**Ausbeute** **36.61 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.89-5.72 (m, 1H, H10), 5.10-4.52 (m, 140H, H11, OH), 4.12-3.10 (m, 341H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.13-1.98 (m, 2H, H9), 1.97-1.22 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3367 (ν_{O-H}, OH), 2875 (ν_{C-H}, CH₂), 1459 (δ_{C-H}, CH₂), 1331, 1249, 1219 (δ_{O-H}, OH), 1065 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.52.3 D2(en)(NMe)₁₀₀₀₀**Ausbeute** **37.15 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.92-5.72 (m, 1H, H10), 5.24-4.60 (m, 168H, H11, OH), 4.30-2.99 (m, 644H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.16-1.98 (m, 2H, H9), 1.98-1.20 (m, 14H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 114.4 (C11), 81.3, 81.5, 79.8, 73.9, 72.9, 72.8, 72.6, 72.5, 72.4, 72.2, 70.9, 70.8, 70.7, 70.6, 64.4, 62.7 (PG-Rückgrat, N⁺CH₂), 34.7 (C9), 29.2, 26.1 (CH₂-Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1720$, $\bar{M}_w = 2018$, $Q = 1.17$

berechnet: $\bar{M}_n = 10200$

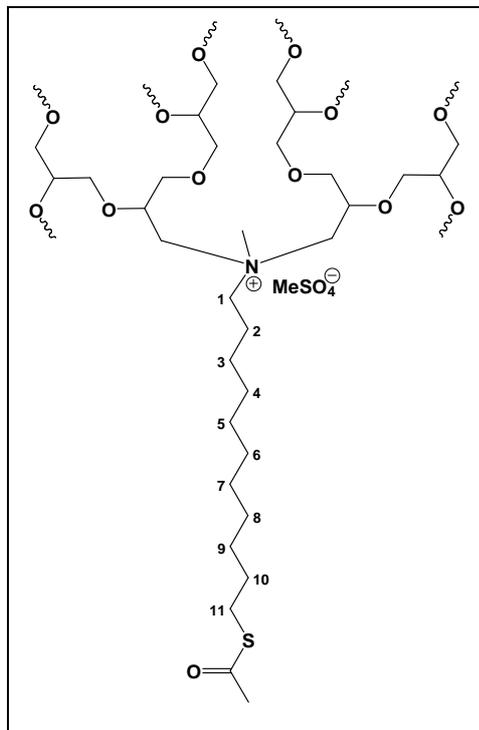
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3360 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2874 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1459 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1331, 1250 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1066, 1008 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.53 Darstellung der Thioacetate der Klasse D2(SAc)

Nach AAV 13 wurden x g des jeweiligen Dendrimers (entspreche x' mmol Reinsubstanz) D2(en)(NMe) mit y g (y' mmol) Thioessigsäure umgesetzt.

$M_{\text{angestrebt}}$ [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
3000	10.42	3.473	1.39	18.3
5000	8.30	1.66	0.74	9.7
10000	10.00	1.000	0.39	5.1

Allgemeine Struktur**8.16.53.1 D2(SAc)₃₀₀₀****Ausbeute** **3.12 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.00-4.70 (m, 150H, OH), 4.70-4.45 (m, 26H, OH), 4.15-3.10 (m, 347H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.85 (t, 2H, H11, ³J₁₁₋₁₀ = 7.2 Hz), 2.30 (s, 3H, SC(O)CH₃), 1.99-1.15 (m, 18H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 1836$, $\bar{M}_w = 2036$, Q = 1.11berechnet: $\bar{M}_n = 3354$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3365 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2872 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1327, 1251 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1061 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.53.2 D2(SAc)₅₀₀₀

Ausbeute **3.36 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.98-4.75 (m, 280H, OH), 4.70-4.46 (m, 31H, OH), 4.15-3.12 (m, 661H, PG-Rückgrat, N^+CH_2 , N^+CH_3), 2.86 (t, 2H, H11, $^3J_{11-10} = 7.1$ Hz), 2.30 (s, 3H, SC(O)CH_3), 1.99-1.20 (m, 18H, CH_2 Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 2189$, $\bar{M}_w = 2486$, $Q = 1.14$

berechnet: $\bar{M}_n = 5257$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3360 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2874 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1457 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1329, 1256 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1073 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.53.3 D2(SAc)₁₀₀₀₀

Ausbeute **5.63 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.96-4.74 (m, 361H, OH), 4.66-4.48 (m, 25H, OH), 4.28-3.20 (m, 983H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.87 (t, 2H, H11, ³J₁₁₋₁₀ = 7.3 Hz), 2.32 (s, 3H, SC(O)CH₃), 2.00-1.24 (m, 18H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 81.7, 81.6, 81.4, 80.2, 79.9, 74.0, 72.9, 72.6, 72.5, 72.2, 71.0, 70.7, 64.5, 64.4, 62.8 (PG-Rückgrat, N⁺CH₂), 30.5 (C11), 29.4, 29.0, 30.4, 30.7 (CH₂-Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 2379$, $\bar{M}_w = 2732$, Q = 1.15

berechnet: $\bar{M}_n = 10277$

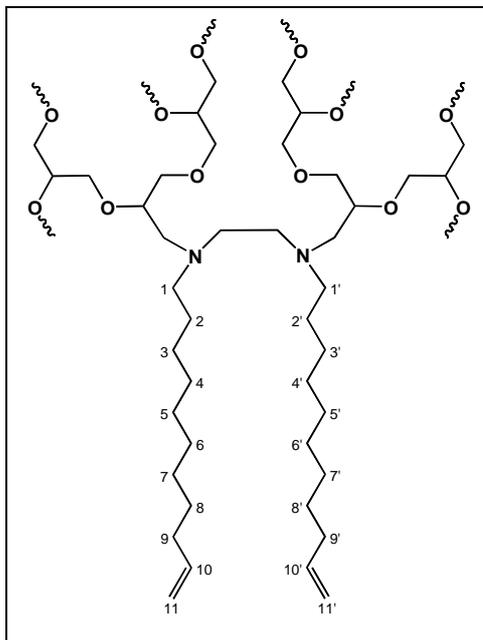
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3352 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2873 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 1457 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1329, 1256 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1074 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.54 Darstellung der Dendrimere der Klasse D3(en)

Nach AAV 11 wurden x g (x' mmol) *N,N*-Bis(undec-10-enyl)ethan-1,2-diamin mit y g (y' mmol) Glycidol umgesetzt. Abweichend von AAV 11 wurde die Reaktion bei 130 °C durchgeführt.

M _{angestrebt} [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
4000	3.61	9.90	36.4	491
8000	1.80	4.94	38.5	520
10000	1.43	3.92	38.8	524

Allgemeine Struktur**8.16.54.1 D3(en)₄₀₀₀****Ausbeute** **40.0 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz****¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)**

δ [ppm]: 5.89-5.71 (m, 2H, H10, H10'), 5.03-4.70 (m, 60H, H11, H11', OH), 4.05-3.20 (m, 255H, PG-Rückgrat), 2.80-2.35 (m, 12H, NCH₂), 2.13-1.97 (m, 4H, H9, H9'), 1.55-1.20 (m, 28H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1287$, $\bar{M}_w = 1398$, Q = 1.09

berechnet: $\bar{M}_n = 4041$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3358 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2871 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1327, 1257 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1067 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.54.2 D3(en)₈₀₀₀**Ausbeute** **40.2 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz****¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)**

δ [ppm]: 5.90-5.73 (m, 2H, H10, H10'), 5.44-4.44 (m, 111H, H11, H11', OH), 4.35-3.10 (m, 506H, PG-Rückgrat), 2.85-2.30 (m, 12H, NCH₂), 2.15-1.97 (m, 4H, H9, H9'), 1.70-1.10 (m, 28H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3359 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2872 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH₂), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH₂), 1327 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1071 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.54.3 D3(en)₁₀₀₀₀**Ausbeute** **40.2 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz****¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)**

δ [ppm]: 5.92-5.72 (m, 2H, H10, H10'), 5.20-4.48 (m, 238H, H11, H11', OH), 4.20-3.20 (m, 920H, PG-Rückgrat), 2.82-2.30 (m, 12H, NCH₂), 2.14-1.98 (m, 4H, H9, H9'), 1.60-1.10 (m, 28H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 140.2 (C10, C10'), 114.8 (C11, C11'), 81.6, 81.4, 81.3, 80.2, 79.9, 74.0, 72.9, 72.8, 72.6, 72.5, 72.4, 72.3, 72.2, 71.1, 70.9, 70.7, 64.5, 64.4, 62.8 (PG-Rückgrat), 56.6 (NCH₂), 34.6 (C-9, C9'), 30.4, 30.0, 28.2, 27.9 (CH₂-Alkylkette).

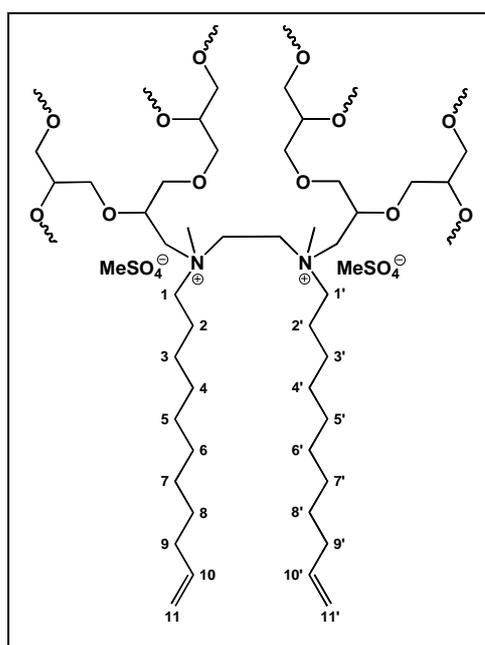
IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3362 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2871 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1456 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1326 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1066 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.55 Darstellung der N-methylierten Dendrimere der Klasse D3(en)(NMe)

Nach AAV 12 wurden x g (entsprache x' mmol Reinsubstanz) des jeweiligen Dendrimers D3(en) mit y g (y' mmol) Dimethylsulfat umgesetzt.

$M_{\text{angestrebt}}$ [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
3000	13.43	3.358	3.50	27.8
8000	9.26	1.16	1.20	9.51
10000	8.33	0.833	0.98	7.8

Allgemeine Struktur

8.16.55.1 D3(en)(NMe)₄₀₀₀**Ausbeute** **16.23 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.79 (ddt, 2H, H₁₀, H_{10'}, ³J_{11z-10} = 10.2 Hz, ³J_{11E-10} = 17,0 Hz, ³J₁₀₋₉ = 6.8 Hz), 5.05-4.64 (m, 101H, H₁₁, H_{11'}, OH), 4.64-4.39 (m, 21H, OH), 4.25-3.10 (m, 285H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.13-1.96 (m, 4H, H₉, H_{9'}), 1.94-1.10 (m, 28H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 1206$, $\bar{M}_w = 1365$, Q = 1.13berechnet: $\bar{M}_n = 4142$ **IR (Film)**

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3387 (ν_{O-H}, OH), 2924 (ν_{C-H}, CH₂), 1461 (δ_{C-H}, CH₂), 1219 (δ_{O-H}, OH), 1061, 1006 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.55.2 D3(en)(NMe)₈₀₀₀**Ausbeute** **12.05 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.90-5.72 (m, 2H, H₁₀, H_{10'}), 5.07-4.71 (m, 307H, H₁₁, H_{11'}, OH), 4.71-4.37 (m, 99H, OH), 4.20-3.10 (m, 568H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.11-1.96 (m, 4H, H₉, H_{9'}), 1.95-1.15 (m, 28H, CH₂ Alkylkette).

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3369 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2876 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1458 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1218 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1061, 1007 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.55.3 D3(en)(NMe)₁₀₀₀₀

Ausbeute **11.41 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Methanol.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.79 (ddt, 2H, H10, H10', $^3J_{\text{H1z-10}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{H1E-10}} = 17.0$ Hz, $^3J_{\text{H10-9}} = 6.8$ Hz), 5.05-4.64 (m, 101H, H11, H11', OH), 4.64-4.39 (m, 21H, OH), 4.25-3.10 (m, 285H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.13-1.96 (m, 4H, H9, H9'), 1.94-1.10 (m, 28H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 140.1 (C10, C10'), 114.7 (C11, C11'), 81.4, 80.2, 79.6, 77.4, 77.2, 75.8, 75.7, 73.9, 72.7, 72.4, 72.3, 72.1, 70.7, 70.6, 70.5, 64.4, 62.6 (PG-Rückgrat, N⁺CH₂), 55.2 (N⁺CH₃), 34.9 (C-9, C9'), 30.4, 30.1, 28.3, 28.0 (CH₂-Alkylkette).

IR (Film)

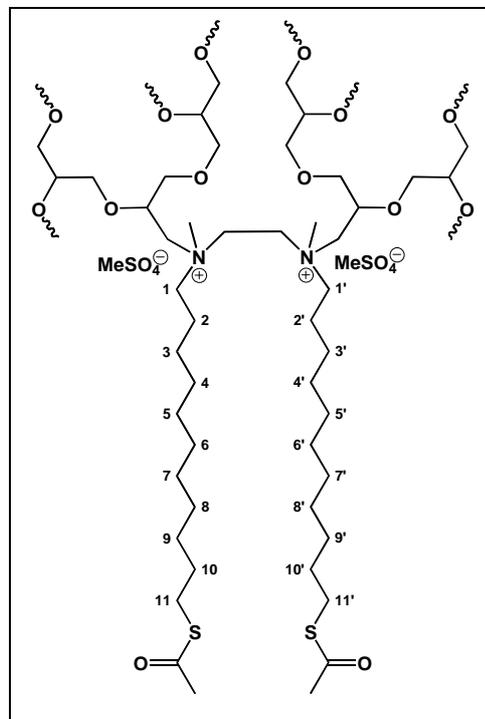
$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3370 ($\nu_{\text{O-H}}$, OH), 2878 ($\nu_{\text{C-H}}$, CH_2), 1459 ($\delta_{\text{C-H}}$, CH_2), 1250 ($\delta_{\text{O-H}}$, OH), 1064 ($\nu_{\text{C-O}}$, $\nu_{\text{O-C-O}}$, Alkohole, Ether).

8.16.56 Darstellung der Thioacetate der Klasse D3(SAc)

Nach AAV 13 wurden x g (entspreche x' mmol Reinsubstanz) des jeweiligen Dendrimers D3(en)(NMe) mit y g (y' mmol) Thioessigsäure umgesetzt.

M _{angestrebt} [g/mol]	x [g]	x' [mmol]	y [g]	y' [mmol]
4000	16.23	4.058	1.42	18.7
8000	12.05	1.506	1.35	17.7
10000	11.41	1.141	1.35	17.7

Allgemeine Struktur



8.16.56.1 D3(SAc)₄₀₀₀

Ausbeute 5.63 g

Aussehen gelbliche, hochviskose Substanz

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 5.10-4.40 (m, 118H, OH), 4.23-3.10 (m, 286H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.85 (t, 4H, H11, H11', ³J₁₁₋₁₀ = 7.4 Hz), 2.30 (s, 6H, SC(O)CH₃), 1.97-1.20 (m, 36H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1040$, $\bar{M}_w = 1097$, Q = 1.05

berechnet: $\bar{M}_n = 4295$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3361 (ν_{O-H}, OH), 2921, 2870 (ν_{C-H}, CH₂), 1458 (δ_{C-H}, CH₂), 1327, 1251 (δ_{O-H}, OH), 1065 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.56.2 D3(SAc)₈₀₀₀

Ausbeute **4.49 g**

Aussehen **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.91-4.75 (m, 186H, OH), 4.36-4.50 (m, 11H, OH), 4.20-3.10 (m, 577H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.86 (t, 4H, H11, H11', ³J₁₁₋₁₀ = 7.2 Hz), 2.30 (s, 6H, SC(O)CH₃), 1.99-1.10 (m, 36H, CH₂ Alkylkette).

MaldiTOF (CHZS, m/z)

gefunden: $\bar{M}_n = 1365$, $\bar{M}_w = 1548$, Q = 1.13

berechnet: $\bar{M}_n = 8411$

IR (Film)

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3360 (ν_{O-H}, OH), 2872 (ν_{C-H}, CH₂), 1456 (δ_{C-H}, CH₂), 1328, 1253 (δ_{O-H}, OH), 1067 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

8.16.56.3 D3(SAc)₁₀₀₀₀**Ausbeute** **4.20 g****Aussehen** **gelbliche, hochviskose Substanz**

Die Substanz enthielt noch größere Mengen Wasser.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 4.90-4.72 (m, 198H, OH), 4.62-4.48, (m, 8H, OH), 4.20-3.12 (m, 755H, PG-Rückgrat, N⁺CH₂, N⁺CH₃), 2.86 (t, 4H, H₁₁, H₁₁', ³J₁₁₋₁₀ = 6.5 Hz), 2.31 (s, 6H, SC(O)CH₃), 1.98-1.23 (m, 36H, CH₂ Alkylkette).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD)

δ [ppm]: 81.6, 81.4, 80.2, 79.9, 74.0, 72.9, 72.7, 72.6, 72.5, 72.4, 72.2, 70.9, 70.7, 64.5, 64.4, 62.8 (PG-Rückgrat, N⁺CH₂), 55.2 (N⁺CH₃), 30.8, 30.7, 30.6 (CH₂-Alkylkette 34.9 (C-9, C9'), 30.4, 30.1, 28.3, 28.0 (CH₂-Alkylkette), 30.5 (SC(O)CH₃), 30.3, 30.2 (CH₂-Alkylkette), 29.9 (C₁₁, C₁₁').

MaldiTOF (CHZS, m/z)gefunden: $\bar{M}_n = 1053$, $\bar{M}_w = 1126$, Q = 1.07berechnet: $\bar{M}_n = 10516$ **IR (Film)**

$\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3362 (ν_{O-H}, OH), 2872 (ν_{C-H}, CH₂), 1456 (δ_{C-H}, CH₂), 1328, 1254 (δ_{O-H}, OH), 1063 (ν_{C-O}, ν_{O-C-O}, Alkohole, Ether).

9 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden neuartige Methoden zur Darstellung biorepulsiver und biosensorischer selbstanordnender Monoschichten (SAMs) entwickelt, sowie ein Verfahren zur Erzeugung von Proteingradienten auf SAMs etabliert. Weiterhin wurde ein SPR-spektroskopischer Messaufbau zur Untersuchung von Adsorptionsvorgängen an SAMs auf Gold bzw. unmodifizierten Goldoberflächen realisiert.

Der erste Teil der Arbeit befasste sich mit der Funktionalisierung Alkin-terminierter Thiolat-SAMs auf Gold mit organischen Aziden durch die Kupfer(I)-katalysierte *Huisgen-Reaktion* (Click-Reaktion). Die Click-Reaktion wurde benutzt, um biorepulsive Hexaethylenglycolmonomethylether (MeEG₆)-Kopfgruppen und spezifisch an das Lektin *Concanavalin A* (ConA) bindende Mannosyl-Kopfgruppen in den SAM einzuführen (Abb. I).

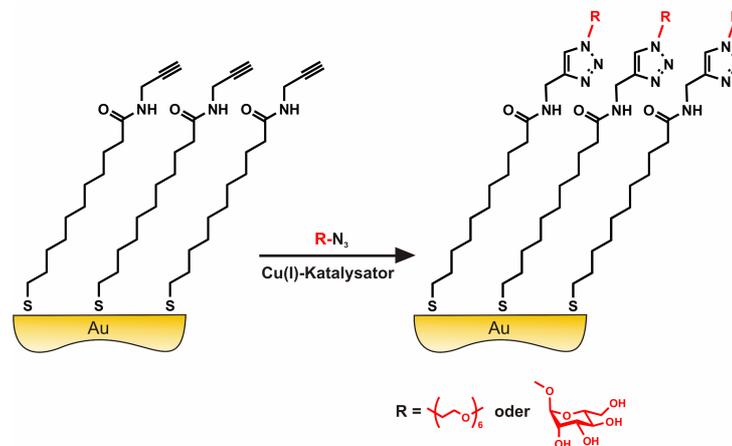


Abb. I: Anbindung von MeEG₆- und Mannosyl-Gruppen an Alkin-terminierte SAMs.

Es wurden ein polares Acetonitril-basiertes und zwei unpolare Toluol- bzw. n-Hexan-basierte Reaktionssysteme entwickelt. Im Acetonitril-basierten System diente Tetraakis(acetonitril)iodidokupfer(I) als Katalysator. Für die Katalyse in den unpolaren Systemen wurden dagegen Dimethylalkylaminiodidokupfer(I)-Katalysatoren mit 4 bis 18 Kohlenstoffatomen im Alkylteil entwickelt.

Das Acetonitril-basierte System erwies sich als gut geeignet, MeEG₆- und Mannosyl-Kopfgruppen in Alkin-terminierte SAMs einzuführen und die Schichten mit proteinrepulsiven bzw. ConA-sensorischen Eigenschaften auszustatten. Dies wurde durch

ellipsometrische und SPR-spektroskopische Messungen bestätigt.¹ Zur Charakterisierung der Proteinrepulsivität diente bovines Serumalbumin (BSA) als Testprotein.

Auch mit den unpolaren Reaktionssystemen konnte die Anbindung von MeEG₆-Gruppen an Alkin-terminierte SAMs erreicht werden. Allerdings zeigten sich die funktionalisierten Schichten meist nur teilweise proteinrepulsiv. Zudem ließ sich die Proteinadsorption auf den modifizierten SAMs nur schlecht reproduzieren. Dies galt insbesondere für das Toluol-basierte System.

Eine Abhängigkeit der Katalysator-Aktivität vom Alkylrest des Amino-Liganden konnte in keinem der beiden unpolaren Systeme festgestellt werden.

Weiterhin wurde gezeigt, dass unabhängig von der Polarität des Reaktionsmediums nur die Funktionalisierung unpolarer Alkin-terminierter SAMs möglich war. Bei Monoschichten mit polaren Spacers oder Kopfgruppen trat während der Click-Reaktion eine ausgeprägte Schichtdesorption auf.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden Polyglycerol (PG)-Beschichtungen hinsichtlich ihrer biorepulsiven Eigenschaften untersucht. Von Interesse waren zunächst SAMs, die durch die Bindung von Thioacetaten der Typen **D1**, **D2** und **D3** (Abb. II) auf Gold erhalten wurden.

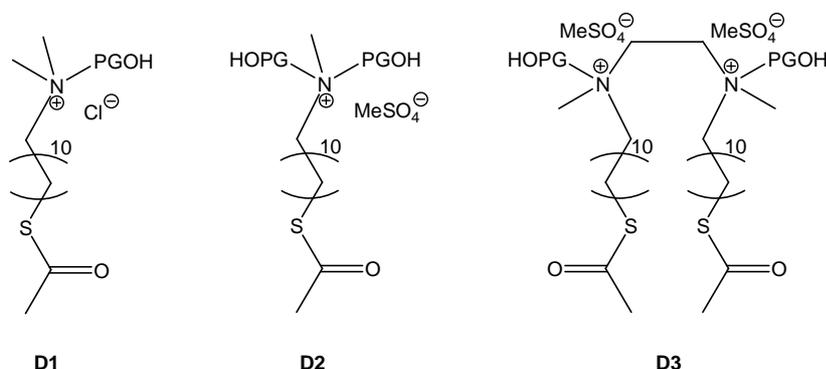


Abb. II: Untersuchte PG-terminierte Thioacetate zur SAM-Bildung auf Gold.

Ellipsometrie und Kontaktwinkelmessungen bestätigten in allen drei Fällen die Bildung einheitlicher, Hydroxyl-terminierter Schichten. Die SPR-spektroskopische Bestimmung der Proteinadsorption zeigte jedoch deutliche Unterschiede im proteinrepulsiven Charakter der SAMs. Als Testproteine dienten BSA, γ -Globulin und Fibrinogen. Völlige Repulsivität gegenüber allen Testproteinen wurde nur bei SAMs der Klasse **D1** beobachtet. Schichten der Klasse **D2** wiesen dagegen moderate und die der Klasse **D3** deutlich ausgeprägte Proteinadsorption auf.

Weiterhin wurden PG-Filme untersucht, die durch Polymerisation von Glycidol auf Amino-terminierten Siloxan-SAMs bzw. Siliciumdioxid erhalten wurden. Kontaktwinkelmessungen und Ellipsometrie zeigten, dass auf den Amino-terminierten SAMs PG-filme gebildet wurden, die die BSA-Adsorption signifikant verminderten. Im Vergleich hierzu wiesen die auf dem Siliciumdioxid gebildeten PG-Filme jedoch eine höhere Schichtordnung und vollständige BSA-Repulsivität auf. Weiterhin wurde festgestellt, dass es bei der Bildung des PG-Films zu einem Abbau der Siliciumdioxid-Schicht kam.

Der dritte Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Entwicklung eines neuen Verfahrens zur Erzeugung von Proteinrepulsivitätsgradienten auf Thiolat-SAMs auf Gold. Das Prinzip der Methode beruhte auf dem gesteuerten Austausch von Molekülen eines nicht proteinrepulsiven Dodecanthiolat (DDT)-SAMs gegen Undecanthiol-Moleküle mit repulsiver Heptaethylglycol-Kopfgruppe (EG7UT). Hierzu wurde die bereits etablierte *Irradiation Promoted Exchange Reaction* (IPER) mit der Elektronenstrahl-Lithographie kombiniert.¹¹ Mit der kombinierten Methode war es möglich, über die verwendete Strahlendosis den lokalen Einbau von EG7UT in den DDT-SAM genau zu steuern und stufenlose Proteinrepulsivitätsgradienten im Mikrometermaßstab zu erzeugen (Abb. III).

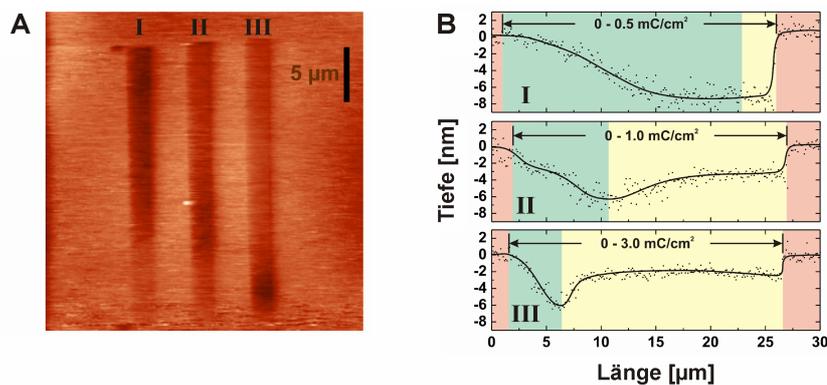


Abb. III: (A) AFM-Aufnahme der modifizierten Bereiche, verwendete Strahlendosen: 0-0.5 mC/cm² (I), 0-1.0 mC/cm² (II), 0-3.0 mC/cm² (III), (B) Höhenprofile entlang der Gradienten.

¹ M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, 6, **2008**, 2118-2132.

¹¹ T. Winkler, N. Ballav, H. Thomas, M. Zharnikov, A. Terfort, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, **2008**, 7238-7241.

10 Summary

In this work, new methods for the fabrication of biorepulsive and biosensoric self-assembled monolayers (SAMs) as well as a process for the generation of protein gradients on SAMs were developed. Furthermore, in order to study protein adsorption events on gold surfaces and on thiolate SAMs on gold, an SPR spectroscopic setup was realized.

In the first part of this work, the functionalization of alkyne-terminated thiolate SAMs on gold with organic azides *via* the copper(I) catalyzed *Huisgen reaction* (click reaction) was investigated. The click reaction was used to attach to the SAM both biorepulsive hexaethylene glycol monomethylether (MeEG₆) head groups as well as mannosyl head groups that specifically bind to the lectine *concanavalin A* (ConA) (Fig I).

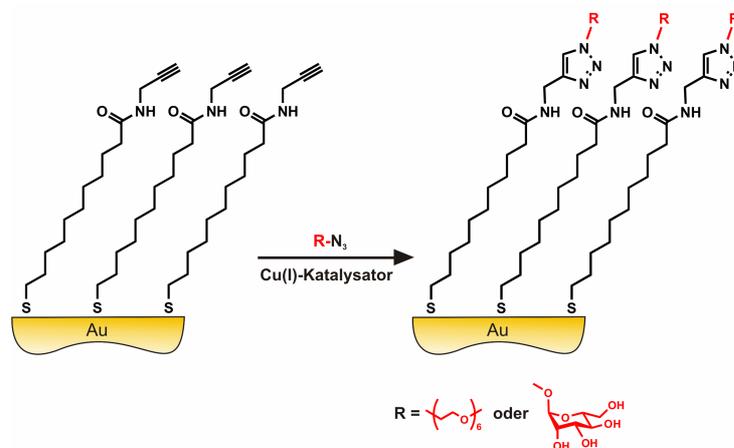


Fig. I: Attachment of MeEG₆ and mannosyl head groups to alkyne-terminated SAMs.

In this context a polar acetonitrile-based and two non-polar toluene- resp. n-hexane-based reaction systems were developed. The reactions in acetonitrile were catalyzed by tetrakis(acetonitrile)copper(I). For the non-polar systems a number of dimethylalkylamineiodidocopper(I) catalysts with alkyl moieties containing 4 to 18 carbon atoms were developed.

The acetonitrile-based system proved to be suitable to introduce MeEG₆ and ConA head groups to alkyne-terminated SAMs and to equip the monolayers with protein repulsive resp. ConA-sensing properties. This was confirmed by ellipsometric and

SPR-spectroscopic measurements.¹ To characterize the protein repulsive behavior of the monolayers, *Bovine serum albumin* (BSA) was used as test protein.

Also the non-polar reaction systems were found to be suitable to bind MeEG₆ head groups to alkyne-terminated SAMs. Nevertheless in most cases the modified monolayers exhibited only partial protein resistance. Moreover the protein adsorption to the functionalized SAMs showed low reproducibility, in particular in the case of the toluene-based system.

A relationship between the catalyst activity and the length of the alkyl chain of the amino ligand was not observed.

Furthermore it was shown that independently of the polarity of the reaction medium only non-polar alkyne-terminated SAMs could be functionalized. For monolayers exhibiting polar spacers or polar head groups, massive layer desorption during the click reaction was observed.

In the second part of this work, the biorepulsive properties of polyglycerol (PG) coatings were investigated. One objective was the generation of protein repulsive PG-terminated SAMs by immobilizing thioacetates of the type **D1**, **D2** and **D3** on gold surfaces (Fig. II).

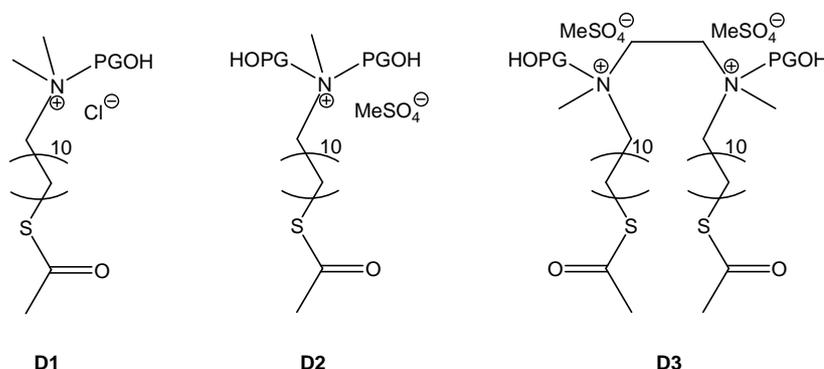


Fig. II: PG-terminated thioacetates used for this investigation for the SAM formation on gold.

Ellipsometry and contact angle measurements confirmed for all three substance classes the formation of uniform, hydroxyl-terminated layers. However, the protein adsorption determined by SPR spectroscopy indicated significant differences in the repulsive behavior of the SAMs. The adsorption studies were performed using BSA, γ -globulin, and fibrinogen as test proteins. Only the SAMs of the class **D1** were found to be fully resistant against the adsorption of all three test proteins. Layers of the

class **D2** on the other hand showed only moderate and films of the class **D3** even lower protein repulsion.

Furthermore PG films obtained by polymerization of glycidol on amino-terminated siloxane SAMs resp. silicon dioxide were studied. Contact angles and ellipsometry showed that the formation of PG took place on both substrates. The PG films on the amino-terminated SAMs reduced the adsorption of BSA significantly, whereas those formed on silicon dioxide exhibited a more ordered structure and full BSA resistance.

In the third part of this thesis a method for generating protein resistance gradients on thiolate SAMs on gold was developed. The basic principle of the process was the replacement of molecules from a non protein-repulsive dodecanethiolate (DDT) SAM with undecanethiolate molecules bearing repulsive heptaethylene glycol head groups (EG7UT). For this purpose the already established *Irradiation Promoted Exchange Reaction* (IPER) was combined with electron beam lithography.^{II} The combined method allowed the exact control of the local amount of EG7UT in the irradiated DDT SAM by varying the irradiation dose, and thus made it possible to produce protein resistance gradients on the micrometer scale (Fig. III).

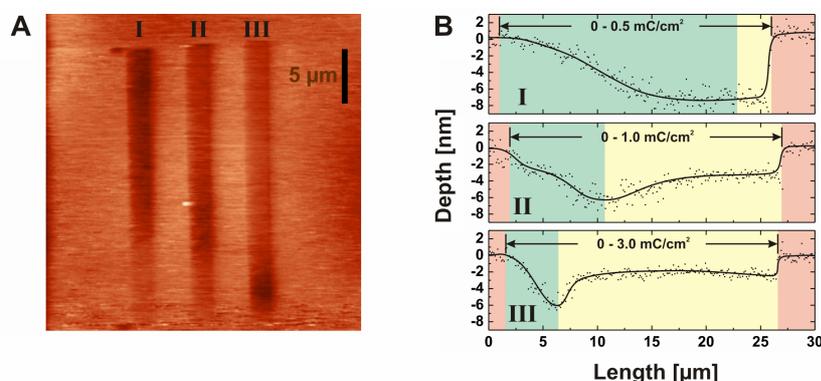


Fig. III: (A) AFM image of three fibrinogen gradients, used irradiation doses: 0-0.5 mC/cm² (I), 0-1.0 mC/cm² (II), 0-3.0 mC/cm² (III), (B) height profiles along the gradients.

^I M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, 6, **2008**, 2118-2132.

^{II} T. Winkler, N. Ballav, H. Thomas, M. Zharnikov, A. Terfort, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, **2008**, 7238-7241.

11 Gefährdungspotentiale besonders relevanter Gefahrstoffe⁴⁰⁶

Chloroform	R: 22-38-40-48/20/22 S: 36/37	X _n
Dichlormethan	R: 40 S: 23-24/25-36/37	X _n
Diethylether	R: 12-19-22-66-67 S: 9-16-29-33	F ⁺ , X _n
Dimethylsulfat	R: 45-25-26-34-43-68 S: 53-45	T ⁺
Glycidol	R: 45-60-21/22-23-36/37/38-68 S: 53-45	T
Kalium	R: 14/15-34 S: 8-43-45	F, C
Methanol	R: 11-23/24/25-39/23/24/25 S: 7-16-36/37-45	F, T
Methyliodid	R: 21-23/25-37/38-40 S: 36/37-38-45	T
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	R: 61-20/21-36 S: 53-45	T
Natrium	R: 14/15-34 S: 8-43-45	F, C
Natriumazid	R: 28-32-50/53 S: 28-45-60-61	T ⁺ , N
Schwefelsäure (96 %)	R: 35 S: 26-30-45	C
Triethylboran	R: 17-34 S: 7-23-26-36/37/39-43-45	F, C

12 Literatur

- ¹ M. O'Toole, K. T. Lau, R. Shepherd, C. Slater, D. Diamond, *Anal. Chim. Acta*, 597, **2007**, 290-294.
- ² F. G. Barth, J. A. C. Humphrey, T. W. Secomb, *Sensors and Sensing in Biology and Engineering*, Springer, Wien, **2003**.
- ³ Z. Gao, F. Chao, Z. Chao, G. Li, *Sens. Actuators B*, 66, **2000**, 193-196.
- ⁴ I. Willner, B. Willner, *Pure Appl. Chem.*, 74, **2002**, 1773-1783.
- ⁵ A. Ulman, *Chem. Rev.*, 96, **1996**, 1533-1554.
- ⁶ J. Rickert, T. Weiss, W. Gopel, *Sens. Actuators B*, 31, **1996**, 45-50.
- ⁷ C. Boozer, J. Ladd, C. Shengfu, Y. Qiuming, J. Homola, J. Shaoyi, *Anal. Chem.*, 76, **2004**, 6967-6972.
- ⁸ I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.*, 39, **1917**, 1848-1906.
- ⁹ K. B. Blodgett, *J. Am. Chem. Soc.*, 57, **1935**, 1007-1022.
- ¹⁰ R. G. Nuzzo, D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.*, 105, **1983**, 4481-4483.
- ¹¹ C. D. Bain, E. B. Troughton, Y.-T. Tao, J. Evall, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, **1989**, 321-335.
- ¹² N. L. Jeon, P. G. Clem, R. G. Nuzzo, D. A. Payne, *J. Mater. Res.*, 10, **1995**, 2996-2999.
- ¹³ A. Glaser, J. Foisner, H. Hoffman, G. Friedbacher, *Langmuir*, 20, **2004**, 5599-4604.
- ¹⁴ S. Song, S. Ren, J. Wang, S. Yang, J. Zhang, *Langmuir*, 22, **2006**, 6010-6015.
- ¹⁵ C. Yee, G. Kataby, A. Ulman, T. Prozorov, H. White, A. King, M. Rafailovich, J. Sokolov, A. Gedanken, *Langmuir*, 15, **1999**, 7111-7115.
- ¹⁶ B. Adolphi, E. Jähne, G. Busch, X. Cai, *Anal. Bioanal. Chem.*, 379, **2004**, 646-652.
- ¹⁷ A. Raman, M. Dubey, I. Gouzman, E. S. Gawalt, *Langmuir*, 22, **2006**, 6469-6472.
- ¹⁸ U. Harm, R. Bügler, W. Fürbeth, *Macromol. Symp.*, 187, **2002**, 1-11.
- ¹⁹ J. G. Van Alsten, *Langmuir*, 15, **1999**, 7605-7614.
- ²⁰ A. Ulman, *An Introduction to Ultrathin Organic Films*, Academic Press, San Diego, **1991**.

-
- ²¹ J. C. Vuong, R. C. Newman, M. R. Alexander, *Proc. Electrochem. Soc.*, **2003**, 2002-2024.
- ²² K. Feldman, G. Hähner, N. D. Spencer, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, **1999**, 10134-10141.
- ²³ S.-W. Lee, P. E. Laibinis, *Biomaterials*, 19, **1998**, 1669-1675.
- ²⁴ Y. Takebe, Y. Shirota, T. Ohtake, *Mat. Res. Jpn.*, 15A, **1994**, 611-614.
- ²⁵ L. M. Bonanno, L. A. DeLouise, *Langmuir*, 23, **2007**, 5817-5823.
- ²⁶ A. Ulman, *Characterization of Organic Thin Films*, Butterworth-Heinemann, Boston, **1995**.
- ²⁷ T. Imae, H. Torii, *J. Phys. Chem. B*, 104, **2000**, 9218-9224.
- ²⁸ K. Raiber, *Dissertation*, Universität Hamburg, **2005**.
- ²⁹ C. Kodama, T. Hayashi, H. Nozoye, *Appl. Surf. Sci.*, 169, **2001**, 264-267.
- ³⁰ T. Shibue, T. Nakanishi, T. Matsuda, T. Asahi, T. Osaka, *Langmuir*, 18, **2002**, 1528-1534.
- ³¹ G. E. Poirier, M. J. Tarlov, *Langmuir*, 10, **1994**, 2853-2856.
- ³² F. Schreiber, *Prog. Surf. Sci.*, 65, **2000**, 151-256.
- ³³ E. Delamarche, B. Michel, Ch. Gerber, D. Anselmetti, H.-J. Güntherodt, H. Wolf, H. Ringsdorf, *Langmuir*, 10, **1994**, 2869-2871.
- ³⁴ A. Terfort, *Habilitationsschrift*, Universität Hamburg, **2003**.
- ³⁵ P. E. Laibinis, G. M. Whitesides, D. L. Allara, Y.-T. Tao, A. N. Parikh, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, **1991**, 7152-7167.
- ³⁶ K. D. Truong, P. A. Rowntree, *J. Phys. Chem.*, 100, **1996**, 19917-19926.
- ³⁷ C.A. Alves, E. A. Smith, M. D. Porter, *J. Am. Chem. Soc.*, 114, **1992**, 1222-1227.
- ³⁸ M. D. Porter, T. B. Bright, D. L. Allara, C. E. D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.*, 109, **1987**, 3559-3568.
- ³⁹ S.-W. Tam-Chang, H. A. Biebuyck, G. M. Whitesides, N. Jeon, R. G. Nuzzo, *Langmuir*, 11, **1995**, 4371-4382.
- ⁴⁰ J. Sagiv, *J. Am. Chem. Soc.*, 102, **1980**, 92-98.
- ⁴¹ M. M. Sung, C. Carraro, O. W. Yauw, *J. Phys. Chem. B*, 104, **2000**, 1556-1559.
- ⁴² R. Baustia, N. Hartmann, E. Hasselbrink, *Langmuir*, 19, **2003**, 6590-6593.
- ⁴³ M. E. McGovern, K. M. Kallury, M. Thompson, *Langmuir*, 10, **1994**, 3607-3614.
- ⁴⁴ K. Bierbaum, M. Kinzler, Ch. Wöll, *Langmuir*, 11, **1995**, 512-518.
- ⁴⁵ S. Pawsey, K. Yach, L. Reven, *Langmuir*, 18, **2002**, 5205-5212.

- ⁴⁶ R. G. Snyder, H. L. Strauss, H. L. Elliger, *J. Phys. Chem. B*, 86, **1982**, 5145-5150.
- ⁴⁷ M. J. Pellerite, T. D. Dunbar, L. D. Boardman, *J. Phys. Chem. B*, 107, **2003**, 11726-11736.
- ⁴⁸ Ch. Bram., Ch. Jung, M. Stratmann, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 358, **1997**, 108-111.
- ⁴⁹ M. Textor, L. Ruiz, R. Hofer, A. Rossi, K. Feldman, G. Hähner, N. D. Spencer, *Langmuir*, 16, **2000**, 3257-3271.
- ⁵⁰ G. Guerrero, P. H. Mutin, A. Vioux, *Chem. Mater.*, 13, **2001**, 4367-4373.
- ⁵¹ W. Gao, L. Dickinson, C. Grozinger, *Langmuir*, 12, **1996**, 6429-6435.
- ⁵² R. D. Ramsier, P. N. Henriksen, A. N. Gent, *Surf. Sci.*, 203, **1988**, 72-88.
- ⁵³ J. D. Anrade, V. Hlady, *Adv. Polym. Sci.*, 79, **1986**, 1-63.
- ⁵⁴ F. MacRitchie, *Adv. Protein Chem.*, 32, **1978**, 283-310.
- ⁵⁵ A. Sadana, *Chem. Rev.*, 92, **1992**, 1799-1818.
- ⁵⁶ M. Wahlgren, T. Arnebrant, *Trends Biotechnol.*, 9, **1991**, 201-208.
- ⁵⁷ S. Vutukuru, S. R. Bethi, R. S. Kane, *Langmuir*, 22, **2006**, 10152-10156.
- ⁵⁸ E. A. Vogler, *Water in Biomaterials Surface Science*, Wiley, New York, **2001**, 269-290.
- ⁵⁹ E. A. Vogler, *Interfacial Chemistry in Biomaterials Science*, New York, **1993**, 184-250.
- ⁶⁰ G. B. Sigal, M. Mrksich, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, **1998**, 3464-3473.
- ⁶¹ A. Krishnan, P. Cha, Y.-H. Liu, D. Allara, E. A. Vogler, *Biomaterials*, 27, **2006**, 3187-3194.
- ⁶² R. A. Latour, Jr., C. J. Rini, *J. Biomed. Mater. Res.*, 60, **2002**, 564-577.
- ⁶³ J. Israelachvilli, *Intermolecular and Surface Forces*, 2ed. Edition, Academic Press, London, **1992**, 122-136.
- ⁶⁴ E. A. Vogler, *Langmuir*, 8, **1992**, 2005-2012.
- ⁶⁵ E. A. Vogler, *Langmuir*, 8, **1992**, 2013-2020.
- ⁶⁶ S. Margel, E. A. Vogler, L. Firment, T. Watt, S. Haynie, D. Y. Sogah, *J. Biomed. Mater. Res.*, 27, **1993**, 1463-1476.
- ⁶⁷ M C. L. Martins, B. D. Ratner, M. A. Barbosa, *J. Biomed. Mater. Res.*, 67A, **2003**, 158-171.

- ⁶⁸ S. N. Rodrigues, I. C. Gonçalves, M.C.L. Martins, M. A. Barbosa, B. D. Ratner, *Biomaterials*, 27, **2006**, 5357-5367.
- ⁶⁹ P. Roach, N. J. Shirtcliffe, D. Farrar, C. C. Perry, *J. Phys. Chem. B*, 110, **2006**, 20572-20579.
- ⁷⁰ Y. Arima, H. Iwata, *Biomaterials*, 28, **2007**, 3074-3082.
- ⁷¹ C. C. Barrias, M. C. L. Martins, M. C. Sá Miranda, M. A. Barbosa, *Biomaterials*, 26, **2005**, 2695-2704.
- ⁷² R. R. Seigel, P. Harder, R. Dahint, M. Grunze, *Anal. Chem.*, 69, **1997**, 3321-3328.
- ⁷³ C. F. Wertz, M. M. Santore, *Langmuir*, 15, **1999**, 8884-8894.
- ⁷⁴ D. Shen, M. Huang, L.-M. Chow, M. Yang, *Sens. Actuators B*, 77, **2001**, 644-670.
- ⁷⁵ E. J. Choi, M. D. Foster, S. Daly, R. Tilton, T. Przybycien, C. F. Majkrzak, P. Witte, H. Menzel, *Langmuir*, 19, **2003**, 5464-5474.
- ⁷⁶ C. F. Wertz, M. M. Santore, *Langmuir*, 17, **2001**, 3006-3016.
- ⁷⁷ C. F. Wertz, M. M. Santore, *Langmuir*, 18, **2002**, 706-715.
- ⁷⁸ K. E. Michael, V. N. Vernekar, B. G. Keselowsky, J. C. Meredith, R. A. Latour, A. J. García, *Langmuir*, 19, **2003**, 8033-8040.
- ⁷⁹ M. Habash, G. Reid, *J. Clin. Pharmacol.*, 39, **1999**, 887-898.
- ⁸⁰ P. Francois, P. Vaudaux, T. J. Foster, D. P. Lew, *Infect. Control Hosp. Epid.*, 17, **1996**, 514-520.
- ⁸¹ D. J. Stickler, R. J. C. McLean, *Cells Mat.*, 5, **1995**, 167-182.
- ⁸² S. E. Cramton, C. Gerk, N. F. Schnell, W. W. Nichols, F. Gotz, *Infect. Immun.*, 67, **1999**, 5427-5433.
- ⁸³ B. D. Hoyle, J. W. Costerton, *Prog. Drug Res.*, 37, **1991**, 41-53.
- ⁸⁴ A. Razatos, Y.-L. Ong, F. Boulay, D. L. Elbert, J. A. Hubbell, M. M. Sharma, G. Georgiou, *Langmuir*, 16, **2000**, 9155-9158.
- ⁸⁵ C. R. Jenney, J. M. Anderson, *J. Biomed. Mater. Res.*, 44, **1999**, 206-216.
- ⁸⁶ C. R. Deible, P. Petrasko, P. C. Johnson, E. J. Beckman, A. J. Russell, W. R. Wagner, *Biomaterials*, 19, **1998**, 1885-1893.
- ⁸⁷ Y. C. Tseng, K. Park, *J. Biomater. Res.*, 26, **1992**, 373-392.
- ⁸⁸ L. G. Harris, R. G. Richards, *J. Mater. Sci. – Mater. Med.*, 15, **2004**, 311-314.
- ⁸⁹ D. Cunliffe, C. A. Smart, E. N. Vulfson, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, **1999**, 4995-5002.
- ⁹⁰ R. S. Dubey, S. N. Upadhyay, *Ind. J. Chem. Technol.*, 6, **1999**, 207-218.

- ⁹¹ R. G. Chapman, E. Ostuni, M. N. Liang, G. Meluleni, E. Kim, L. Yan, G. Pier, H. S. Warren, G. M. Whitesides, *Langmuir*, 17, **2001**, 1225-1233.
- ⁹² S. Nogaoka, Y. Mori, H. Takiuchi, K. Yokota, H. Tanizawa, S. Nishiumi, *Polymers as Biomaterials*, Plenum Press, New York, **1984**, 361-374.
- ⁹³ N. P. Desai, J. A. Hubbel, *Biomaterials*, 12, **1991**, 144-153.
- ⁹⁴ D. J. Vanderah, G. Valincius, C. W. Meuse, *Langmuir*, 18, **2002**, 4674-4680.
- ⁹⁵ C. Pale-Grosdemange, E. S. Simon, K. L. Prime, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, **1991**, 12-20.
- ⁹⁶ K. L. Prime, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, **1993**, 10714-10721.
- ⁹⁷ T. L. Clare, B. H. Clare, B. M. Nichols, N. L. Abbott, R. J. Hamers, *Langmuir*, 21, **2005**, 6344-6355.
- ⁹⁸ F. Cecchet, B. De Meersman, S. Demoustier-Champagne, B. Nysten, A. M. Jonas, *Langmuir*, 22, **2006**, 1173-1181.
- ⁹⁹ N. Xia, Y. Hu, D. W. Grainger, D. G. Castner, *Langmuir*, 18, **2002**, 3255-3262.
- ¹⁰⁰ Y. Zhou, B. Liedberg, N. Gorochovceva, R. Makuska, A. Dedinaite, P. M. Claesson, *J. Colloid Interface Sci.*, 305, **2007**, 62-71.
- ¹⁰¹ S. Jon, J. Seong, A. Khademhosseini, T.-N. T. Tran, P. E. Laibinis, R. Langer, *Langmuir*, 19, **2003**, 9990-9993.
- ¹⁰² J. L. Dalsin, L. Lin, S. Tosatti, J. Vörös, M. Textor, P. B. Messersmith, *Langmuir*, 21, **2005**, 640-646.
- ¹⁰³ V. Zoulalian, S. Monge, S. Zürcher, M. Textor, J. J. Robin, S. Tosatti, *J. Phys. Chem. B*, 110, **2006**, 25603-25605.
- ¹⁰⁴ S. Pasche, S. M. De Paul, J. Vörös, N. D. Spencer, M. Textor, *Langmuir*, 19, **2003**, 9216-9225.
- ¹⁰⁵ M. S. Wagner, S. Pasche, D. G. Castner, M. Textor, *Anal. Chem.*, 76, **2004**, 1483-1492.
- ¹⁰⁶ M. Beyer, T. Felgenhauer, F. R. Bischoff, F. Breitling, V. Stadler, *Biomaterials*, 27, **2006**, 3505-3514.
- ¹⁰⁷ H. Ma, M. Wells, T. P. Beebe, Jr., A. Chilkoti, *Adv. Funct. Mater.*, 16, **2006**, 640-648.
- ¹⁰⁸ S. Chen, L. Liu, S. Jiang, *Langmuir*, 22, **2006**, 2418-2421.
- ¹⁰⁹ V. A. Tegoulia, W. Rao, A. T. Kalambur, J. F. Rabolt, S. L. Cooper, *Langmuir*, 17, **2001**, 4396-4404.

- ¹¹⁰ S. Chen, J. Zheng, L. Li, S. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.*, 127, **2005**, 14473-14478.
- ¹¹¹ Z. Zhang, S. Chen, S. Jiang, *Biomacromolecules*, 7, **2006**, 3311-3315.
- ¹¹² Y. Chang, S. Chen, Z. Zhang, S. Jiang, *Langmuir*, 22, **2006**, 2222-2226.
- ¹¹³ W. K. Cho, B. Kong, I. S. Choi, *Langmuir*, 23, **2007**, 5678-5682.
- ¹¹⁴ Z. Zhang, S. Chen, Y. Chang, S. Jiang, *J. Phys. Chem. B*, 110, **2006**, 10799-10804.
- ¹¹⁵ L. Deng, M. Mrksich, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, **1996**, 5136-5137.
- ¹¹⁶ C. Siegers, M. Biesalski, R. Haag, *Chem. Eur. J.*, 10, **2004**, 2831-2838.
- ¹¹⁷ M. Heder, P. Konradsson, B. Liedberg, *Langmuir*, 21, **2005**, 2971-2980.
- ¹¹⁸ Y.-Y. Luk, M. Kato, M. Mrksich, *Langmuir*, 16, **2000**, 9604-9608.
- ¹¹⁹ C. Crouzet, C. Decker, J. Marchal, *Macromol. Chem.* 177, **1976**, 145-157.
- ¹²⁰ R. Hamburger, E. Azaz, M. Donbrow, *Pharm. Acta Helv.*, 50, **1975**, 10-17.
- ¹²¹ W. Gerhardt, C. Martens, *Z. Chem.*, 25, **1985**, 143.
- ¹²² T. Talarico, A. Swank, C. Privalle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 250, **1998**, 354-358.
- ¹²³ D. A. Herold, K. Keil, D. E. Bruns, *Biochem. Pharm.*, 38, **1989**, 73-76.
- ¹²⁴ N. I. Gordienok, B. G. Freidin, L. S. Proskurina, *Russ. J. Appl. Chem.*, 59, **1986**, 1441-1445.
- ¹²⁵ S. Herrwerth, W. Eck, S. Reinhardt, M. Grunze, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, **2003**, 9359-9366.
- ¹²⁶ C. D. Hahn, A. Tinazli, M. Hölzl, C. Leitner, F. Frederix, B. Lackner, N. Müller, C. Klampfl, R. Tampé, H. J. Gruber, *Monatsh. Chem.*, 138, **2007**, 245-252.
- ¹²⁷ L. Li, S. Chen, J. Zheng, B. D. Ratner, S. Jiang, *J. Phys. Chem. B*, 109, **2005**, 2934-2941.
- ¹²⁸ S. I. Jeon, L. H. Lee, J. D. Anrade, P. G. de Gennes, *J. Colloid Interface Sci.*, 142, **1991**, 149-158.
- ¹²⁹ S. I. Jeon, J. D. Anrade, *J. Colloid Interface Sci.*, 142, **1991**, 159-165.
- ¹³⁰ J. Fick, R. Steitz, V. Leiner, S. Tokumitsu, M. Himmelhaus, M. Grunze, *Langmuir*, 20, **2004**, 3848-3853.
- ¹³¹ T. McPherson, A. Kidane, I. Szleifer, *Langmuir*, 14, **1998**, 176-186.
- ¹³² I. Szleifer, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, 2, **1997**, 337-344.
- ¹³³ I. Szleifer, *Physica A*, 244, **1997**, 370-388.

- ¹³⁴ R. S. Kane, P. Deschatelets, G. M. Whitesides, *Langmuir*, 19, **2003**, 2388-2391.
- ¹³⁵ S. Moelbert, B. Normand, P. De Los Rios, *Biophys. Chem.*, 112, **2004**, 45-57.
- ¹³⁶ Y. Miyazaki, H. Matsuura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 64, **1991**, 288-290.
- ¹³⁷ M. Zwahlen, S. Herrwerth, W. Eck, M. Grunze, G. Hähner, *Langmuir*, 19, **2003**, 9305-9310.
- ¹³⁸ A. J. Pertsin, M. Grunze, I. A. Garbuzova, *J. Phys. Chem. B*, 102, 4918-4926.
- ¹³⁹ R. L. C. Wang and H. J. Kreuzer, M. Grunze, *J. Phys. Chem. B*, 101, **1997**, 9767-9773.
- ¹⁴⁰ P. Harder, M. Grunze, R. Dahint, G. M. Whitesides, P. E. Laibinis, *J. Phys. Chem. B*, 102, **1998**, 426-436.
- ¹⁴¹ J. Zheng, L. Li, H.-K. Tsao, Y.-J. Sheng, S. Chen, S. Jiang, *Biophys. J.*, 89, **2005**, 158-166.
- ¹⁴² R. L. C. Wang, H. J. Kreuzer, M. Grunze, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2, **2000**, 3613-3622.
- ¹⁴³ A. J. Pertsin, M. Grunze, *Langmuir*, 16, **2000**, 8829-8841.
- ¹⁴⁴ A. J. Pertsin, T. Hayashi, M. Grunze, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 3, **2001**, 1598-1601.
- ¹⁴⁵ J. Zheng, L. Li, S. Chen, S. Jiang, *Langmuir*, 20, **2004**, 8931-8938.
- ¹⁴⁶ M. Zolk, F. Eisert, J. Pipper, S. Herrwerth, W. Eck, M. Buck, M. Grunze, *Langmuir*, 16, **2000**, 5849-5852.
- ¹⁴⁷ R. Y. Wang, M. Himmelhaus, J. Fick, S. Herrwerth, W. Eck, M. Grunze, *J. Chem. Phys.*, 122, **2005**, 1647021-1647025.
- ¹⁴⁸ D. Schwendel, T. Hayashi, R. Dahint, A. Pertsin, M. Grunze, R. Steitz, F. Schreiber, *Langmuir*, 19, **2003**, 2284-2293.
- ¹⁴⁹ A. J. Pertsin, T. Hayashi, M. Grunze, *J. Phys. Chem. B*, 106, **2002**, 12274-12281.
- ¹⁵⁰ A. E. Ismail, G. S. Grest, M. J. Stevens, *Langmuir*, 23, **2007**, 8508-8514.
- ¹⁵¹ P. N. Mashazi, K. I. Ozoemena, T. Nyokong, *Electrochim. Acta*, 52, **2006**, 177-186.
- ¹⁵² R. S. Freire, L. T. Kubota, *Electrochim. Acta*, 49, **2004**, 3795-3800.
- ¹⁵³ C. Bamdad, *Biophys. J.*, 75, **1998**, 1997-2003.
- ¹⁵⁴ F. Xu, G. Zhen, M. Textor, W. Knoll, *Biointerphases*, 1, **2006**, 73-81.
- ¹⁵⁵ Schlereth, R. P. H. Kooyman, *J. Electroanal. Chem.*, 431, **1997**, 285-295.
- ¹⁵⁶ E. Lojou, P. Bianco, *Bioelectrochemistry*, 69, **2006**, 237-247.

- ¹⁵⁷ K. Bonroy, J.-M. Friedt, F. Frederix, W. Laureyn, S. Langerock, A. Campitelli, M. Sára, G. Borghs, B. Goddeeris, P. Declerck, *Anal. Chem.*, **76**, **2004**, 4299-4306.
- ¹⁵⁸ E. D. Kaufman, J. Belyea, M. C. Johnson, Z. M. Nicholson, J. L. Ricks, P. K. Shah, M. Bayless, T. Pettersson, Z. Feldotö, E. Blomberg, P. Claesson, S. Franzen, *Langmuir*, **23**, **2007**, 6053-6062.
- ¹⁵⁹ M. Farré, E. Martínez, J. Ramón, A. Navarro, J. Radjenovic, E. Mauriz, L. Lechuga, M. P. Marco, D. Barceló, *Anal. Bioanal. Chem.*, **388**, **2007**, 207-214.
- ¹⁶⁰ S. K. Arya, A. K. Prusty, S. P. Singh, P. R. Solanki, M. K. Pandey, M. Datta, B. D. Malhotra, *Anal. Biochem.*, **363**, **2007**, 210-218.
- ¹⁶¹ A. K. M. Kafi, D.-Y. Lee, S.-H. Park, Y.-S. Kwon, *Microchem. J.*, **85**, **2007**, 308-313.
- ¹⁶² S. Hong, T. Kang, J. Moon, S. Oh, J. Yi, *Colloids Surf. A*, **292**, **2007**, 264-270.
- ¹⁶³ K. E. Nelson, L. Gamble, L. S. Jung, M. S. Boeckl, E. Naeemi, S. L. Golledge, T. Sasaki, D. G. Castner, C. T. Campbell, P. S. Stayton, *Langmuir*, **17**, **2001**, 2807-2816.
- ¹⁶⁴ D.-J. Kim, K.-K. Koo, *J. Ind. Eng. Chem.*, **10**, **2004**, 920-926.
- ¹⁶⁵ M. Schäferling, M. Riepl, P. Pavlickova, H. Paul, D. Kambhampati, B. Liedberg, *Microchim. Acta*, **142**, **2003**, 193-203.
- ¹⁶⁶ V. H. Pérez-Luna, M. J. O'Brien, K. A. Opperman, P. D. Hampton, G. P. López, L. A. Klumb, P. S. Stayton, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, **1999**, 6469-6478.
- ¹⁶⁷ K. Uchida, H. Otsuka, M. Kaneko, K. Kataoka, Y. Nagasaki, *Anal. Chem.*, **77**, **2005**, 1075-1080.
- ¹⁶⁸ J. Lahiri, L. Isaacs, B. Grzybowski, J. D. Carbeck, G. M. Whitesides, *Langmuir*, **15**, **1999**, 7186-7198.
- ¹⁶⁹ M. Mrksich, J. R. Grunwell, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, **1995**, 12009-12010.
- ¹⁷⁰ H.-C. Kim, S.-K. Lee, Y.-S. Sohn, H.-K. Ryu, S. W. Jeong, *Macromol. Symp.*, **249-250**, **2007**, 71-75.
- ¹⁷¹ B. Bonanni, A. R. Bizzarri, S. Cannistraro, *J. Phys. Chem. B*, **110**, **2006**, 14574-14580.
- ¹⁷² Y. Kwon, Z. Han, E. Karatan, M. Mrksich, B. K. Kay, *Anal. Chem.*, **76**, **2004**, 5713-5720.

- ¹⁷³ S. Herrwerth, T. Rosendahl, C. Feng, J. Fick, W. Eck, M. Himmelhaus, R. Dahint, M. Grunze, *Langmuir*, 19, **2003**, 1880-1887.
- ¹⁷⁴ R. Dahint, M. Grunze, F. Josse, J. Renken, *Anal. Chem.*, 66, **1995**, 2888-2892.
- ¹⁷⁵ G. B. Sigal, C. Bamdad, A. Barberis, J. Strominger, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, 68, **1996**, 490-497.
- ¹⁷⁶ R. E. Baltus, K. S. Carmon, L. A. Luck, *Langmuir*, 23, **2007**, 3880-3885.
- ¹⁷⁷ Ó. A. Loaiza, S. Campuzano, M. López-Berlanga, M. Pedrero, J. M. Pingarrón, *Sensors*, 5, **2005**, 344-363.
- ¹⁷⁸ R. Y. Lai, D. S. Seferos, A. J. Heeger, G. C. Bazan, K. W. Plaxco, *Langmuir*, 22, **2006**, 10796-10800.
- ¹⁷⁹ C.-Y. Lee, L. J. Gamble, D. W. Grainger, D. G. Castner, *Biointerphases*, 1, **2006**, 82-92.
- ¹⁸⁰ J. Niu, W. Knoll, *Anal. Chem.*, 79, **2007**, 2695-2702.
- ¹⁸¹ Z.-I. Zhi, A. K. Powell, J. E. Turnbull, *Anal. Chem.*, 78, **2006**, 4786-4793.
- ¹⁸² N. Shirahata, T. Yonezawa, Y. Miura, K. Kobayashi, K. Koumoto, *Langmuir*, 19, **2003**, 9107-9109.
- ¹⁸³ B. T. Houseman, M. Mrksich, *Chem. Bio.*, 9, **2002**, 443-454.
- ¹⁸⁴ A. Varki, *Glycobiology*, 3, **1993**, 97-130.
- ¹⁸⁵ R. Kunagi, *Glycoconj. J.*, 14, **1997**, 577-584.
- ¹⁸⁶ J. C. Sacchettini, L. G. Baum, C. F. Brewer, *Biochemistry*, 40, **2001**, 3009-3015.
- ¹⁸⁷ L. L. Kiessling, L. E. Strong, J. E. Gestwicki, *Annu. Rep. Med. Chem.*, 35, **2000**, 321-330.
- ¹⁸⁸ B. B. Finlay, P. Cossart, *Science*, 276, **1997**, 718-725.
- ¹⁸⁹ L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 4, **2000**, 696-703.
- ¹⁹⁰ K. A. Karlsson, *Curr. Opi. Struct. Biol.*, 5, **1995**, 622-635.
- ¹⁹¹ D. C. Hone, A. H. Haines, D. A. Russell, *Langmuir*, 19, **2003**, 7141-7144.
- ¹⁹² D. A. Mann, M. Kanai, D. J. Maly, L. L. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, **1998**, 10575-10582.
- ¹⁹³ E. A. Smith, W. D. Thomas, L. L. Kiessling, R. M. Corn, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, **2003**, 6140-6148.
- ¹⁹⁴ C. R. Yonzon, E. Jeoung, S. Zou, G. C. Schatz, M. Mrksich, R. P. Van Duyne, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, **2004**, 12669-12676.

- ¹⁹⁵ H. Lis, N. Sharon, *Annu. Rev. Biochem.*, 55, **1986**, 35-67.
- ¹⁹⁶ R. L. Buchanan, M. P. Doyle, *Food Technol.*, 51, **1997**, 69-76.
- ¹⁹⁷ M. S. Donnenberg, *Nature*, 406, **2000**, 768-774.
- ¹⁹⁸ Z. Shen, M. Huang, C. Xiao, Y. Zhang, X. Zeng, P. G. Wang, *Anal. Chem.*, 79, **2007**, 2312-2319.
- ¹⁹⁹ X. Qian, S. J. Metallo, I. S. Choi, H. Wu, M. N. Liang, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, 74, **2002**, 1805-1810.
- ²⁰⁰ R. G. Chapman, E. Ostuni, L. Yan, G. M. Whitesides, *Langmuir*, 16, **2000**, 6927-6936.
- ²⁰¹ Y.-C. Tyan, J.-D. Liao, S.-B. Jong, P.-C. Liao, M.-H. Yang, Y.-W. Chang, R. Klauser, M. Himmelhaus, M. Grunze, *J. Biomed. Mater. Res.*, 71A, **2004**, 90-97.
- ²⁰² J. Lahiri, L. Isaacs, J. Tien, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, 71, **1999**, 777-790.
- ²⁰³ E. Briand, M. Salmain, C. Compère, C. M. Pradier, *Colloids Surf. B*, 53, **2006**, 215-224.
- ²⁰⁴ B. T. Houseman, E. S. Gawalt, M. Mrksich, *Langmuir*, 19, **2003**, 1522-1531.
- ²⁰⁵ H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.*, 113, **2001**, 2056-2075.
- ²⁰⁶ K. V. Gothelf, K. A. Jorgensen, *Chem. Rev.*, 98, **1998**, 863-909.
- ²⁰⁷ R. Huisgen, *Pure Appl. Chem.*, 61, **1989**, 613-628.
- ²⁰⁸ J. E. Moses, A. D. Moorhouse, *Chem. Soc. Rev.*, 36, **2007**, 1249-1262.
- ²⁰⁹ F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.*, 127, **2005**, 210-216.
- ²¹⁰ J. Gierlich, G. A. Burley, P. M. E. Gramlich, D. M. Hammond, T. Carell, *Org. Lett.*, 8, **2006**, 3639-3642.
- ²¹¹ R. Franke, C. Doll, J. Eichler, *Tetrahedron Lett.*, 46, **2005**, 4479-4482.
- ²¹² Q. Wang, T. R. Chan, R. Hilgraf, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, M. G. Finn, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, **2003**, 3192-3193.
- ²¹³ L. V. Lee, M. L. Mitchell, S.-J. Huang, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, **2003**, 9588-9589.
- ²¹⁴ H. Skarpos, S. N. Osipov, D. V. Vorob'eva, I. L. Odinetz, E. Lork, G.-V. Röschen-thaler, *Org. Biomol. Chem.*, 5, **2007**, 2361-2367.
- ²¹⁵ Z. Li, Q. Zeng, Z. Li, S. Dong, Z. Zhu, Q. Li, C. Ye, C. Di, Y. Liu, J. Qin, *Macromolecules*, 39, **2006**, 8544-8546.
- ²¹⁶ J. A. Opsteen, J. C. M. van Hest, *J. Polym. Sci. A*, 45, **2007**, 2913-2924.

- ²¹⁷ D. Fournier, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.*, 36, **2007**, 1369-1380.
- ²¹⁸ B. Voit, *New J. Chem.*, 31, **2007**, 1139-1151.
- ²¹⁹ P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyun, J. M. J. Fréchet, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Angew. Chem.*, 116, **2004**, 4018-4022.
- ²²⁰ E. Fernandez-Megia, J. Correa, R. Riguera, *Biomacromolecules*, 7, **2006**, 3104-3111.
- ²²¹ T. Lummerstorfer, H. Hoffmann, *J. Phys. Chem. B*, 108, **2004**, 3963-3966.
- ²²² B. K. Yoo, S.-W. Joo, *J. Colloid Interface Sci.*, 311, **2007**, 491-496.
- ²²³ N. K. Devaraj, R. A. Decreau, W. Ebina, J. P. Collman, C. E. D. Chidsey, *J. Phys. Chem. B*, 110, **2006**, 15955-15962.
- ²²⁴ N. K. Devaraj, P. H. Dinolfo, C. E. D. Chidsey, J. P. Collman, *J. Am. Chem. Soc.*, 128, **2006**, 1794-1795.
- ²²⁵ J. P. Collman, N. K. Devaraj, T. P. A. Eberspacher, C. E. D. Chidsey, *Langmuir*, 22, **2006**, 2457-2464.
- ²²⁶ J. P. Collman, N. K. Devaraj, C. E. D. Chidsey, *Langmuir*, 20, **2004**, 1051-1053.
- ²²⁷ W. H. Binder, R. Sachsenhofer, C. J. Straif, R. Zirbs, *J. Mater. Chem.*, 17, **2007**, 2125-2132.
- ²²⁸ R. Zirbs, F. Kienberger, P. Hinterdorfer, W. H. Binder, *Langmuir*, 21, **2005**, 8414-8421.
- ²²⁹ W. H. Binder, L. Petraru, R. Sachsenhofer, R. Zirbs, *Monatsh. Chem.*, 137, **2006**, 835-841.
- ²³⁰ Z. Guo, A. Lei, X. Liang, Q. Xu, *Chem. Commun.*, **2006**, 4512-4514.
- ²³¹ Z. Guo, A. Lei, Y. Zhang, Q. Xu, X. Xue, F. Zhang, X. Liang, *Chem. Commun.*, **2007**, 2491-2493.
- ²³² R. Ranjan, W. J. Brittain, *Macromolecules*, 40, **2007**, 6217-6223.
- ²³³ D. I. Rozkiewicz, D. Jańczewski, W. Verboom, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, **2006**, 5292-5296.
- ²³⁴ N. D. Gallant, K. A. Lavery, E. J. Amis, M. L. Becker, *Adv. Mater.*, 19, **2007**, 965-969.
- ²³⁵ J. K. Lee, Y. S. Chi, I. S. Choi, *Langmuir*, 20, **2004**, 3844-3847.

- ²³⁶ N. K. Devaraj, G. P. Miller, W. Ebina, B. Kakaradov, J. P. Collman, E. T. Kool, C. E. D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.*, 127, **2005**, 8600-8601.
- ²³⁷ Y. Zhang, S. Luo, Y. Tang, L. Yu, K.-Y. Hou, J.-P. Cheng, X. Zeng, P. G. Wang, *Anal. Chem.*, 78, **2006**, 2001-2008.
- ²³⁸ M. K. Chauhury, G. M. Whitesides, *Science*, 256, **1992**, 1539-1541.
- ²³⁹ J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.*, 105, **2005**, 1103-1169.
- ²⁴⁰ I. S. Maeng, J. W. Park, *Langmuir*, 19, **2003**, 4519-4522.
- ²⁴¹ M. Steenackers, A. Küller, N. Ballav, M. Zharnikov, M. Grunze, R. Jordan, *Small*, 3, **2007**, 1764-1773.
- ²⁴² J. Adler, W. W. Tso, *Science*, 184, **1974**, 1292-1294.
- ²⁴³ S. K. W. Dertinger, X. Jiang, Z. Li, V. N. Murthy, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. U.S.A.*, 99, **2002**, 12542-12547.
- ²⁴⁴ T. E. Kennedy, H. Wang, W. Marshall, M. Tessier-Lavigne, *J. Neurosci.*, 26, **2006**, 8866-8874.
- ²⁴⁵ H. Baier, F. Bonhoeffer, *Science*, 255, **1992**, 472-475.
- ²⁴⁶ H. J. Song, M.-M. Poo, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 9, **1999**, 355-363.
- ²⁴⁷ S. E. Fraser, R. K. Hunt, *Annu. Rev. Neurosci.*, 3, **1980**, 319-352.
- ²⁴⁸ R. W. Sperry, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 50, **1963**, 703-710.
- ²⁴⁹ P. Carmeliet, *Nat. Med.*, 6, **2000**, 389-395.
- ²⁵⁰ B. K. Brandley, J. H. Shaper, R. L. Schnaar, *Dev. Biol.*, 140, **1990**, 161-171.
- ²⁵¹ S. B. Carter, *Nature*, 213, **1967**, 256-260.
- ²⁵² J. B. McCarthy, L. T. Furcht, *J. Cell Biol.*, 98, **1983**, 772-777.
- ²⁵³ C. Neumann, S. Cohen, *Bioessays*, 19 **1997**, 721-729.
- ²⁵⁴ R. T. Tranquillo, D. A. Lauffenburger, S. H. Zigmond, *J. Cell Biol.*, 106, **1988**, 303-309.
- ²⁵⁵ N. J. Snidecki, R. A. Desai, S. A. Ruiz, C. S. Chen, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 34, **2006**, 59-74.
- ²⁵⁶ S. K. W. Dertinger, D. T. Chiu, N. L. Jeon, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, 73, **2001**, 1240-1246.
- ²⁵⁷ M. Riepl, M. Östblom, I. Lundström, S. C. T. Svensson, A. W. Denier van der Gon, M. Schäferling, B. Liedberg, *Langmuir*, 21, **2005**, 1042-1050.
- ²⁵⁸ B. Liedberg, P. Tengvall, *Langmuir*, 11, **1995**, 3821-3827.

- ²⁵⁹ N. V. Venkataraman, S. Zürcher, N. D. Spencer, *Langmuir*, 22, **2006**, 4184-4189.
- ²⁶⁰ B. Zhao, *Langmuir*, 20, **2004**, 11748-11755.
- ²⁶¹ T. Kraus, R. Stutz, T. E. Balmer, H. Schmid, L. Malaquin, N. D. Spencer, H. Wolf, *Langmuir*, 21, **2005**, 7796-7804.
- ²⁶² R. H. Terrill, K. M. Balss, Y. Zhang, P. W. Bohn, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, **2000**, 988-989.
- ²⁶³ K. M. Balss, B. D. Coleman, C. H. Lansford, T. Haasch, P. W. Bohn, *J. Phys. Chem. B*, 105, **2001**, 8970-8978.
- ²⁶⁴ H. Elwing, S. Welin, A. Askendal, U. Nilsson, I. Lundström, *J. Colloid Interface Sci.*, 119, **1987**, 203-210.
- ²⁶⁵ H. Elwing, A. Askendal, I. Lundström, *J. Biomed. ;Mater. Res.*, 21, **1987**, 1023-1028.
- ²⁶⁶ X. Jiang, Q. Xu, S. K. W. Dertinger, A. D. Stroock, T.-M. Fu, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.*, 77, **2005**, 2338-2347.
- ²⁶⁷ Y. Ito, M. Heydari, A. Hashimoto, T. Konno, A. Hirasawa, S. Hori, K. Kurita, A. Nakajima, *Langmuir*, 23, **2007**, 1845-1850.
- ²⁶⁸ K. Loos, S. B. Kennedy, N. Eidelman, Y. Tai, M. Zharnikov, E. J. Amis, A. Ulman, R. A. Gross, *Langmuir*, 21, **2005**, 5237-5241.
- ²⁶⁹ P. Burgos, M. Geoghegan, G. J. Leggett, *Nano Lett.*, 7, **2007**, 3747-3752.
- ²⁷⁰ N. J. Brewer, S. Janusz, K. Critchley, S. D. Evans, G. J. Leggett, *J. Phys. Chem. B*, 109, **2005**, 11247-11256.
- ²⁷¹ C. B. Herbert, T. L. McLernon, C. L. Hypolite, D. N. Adams, L. Pikus, C.-C. Huang, G. B. Fields, P. C. Letourneau, M. D. Distefano, W.-S. Hu, *Chem. Biol.*, 4, **1997**, 731-737.
- ²⁷² N. Ballav, A. Shaporenko, A. Terfort, M. Zharnikov, *Adv. Mater.*, 19, **2007**, 998-1000.
- ²⁷³ N. Ballav, A. Shaporenko, S. Krakert, A. Terfort, M. Zharnikov, *J. Phys. Chem. C*, 111, **2007**, 7772-7782.
- ²⁷⁴ N. Ballav, T. Weidner, K. Rößler, H. Lang, M. Zharnikov, *Chem. Phys. Chem.*, 8, **2007**, 819-822.
- ²⁷⁵ H. Motschmann, *Handbuch zum Multiskop*, Optrel GBR, Berlin, **2001**.
- ²⁷⁶ C. Adam, P. Läger, G. Stark, *Physikalische Chemie und Biophysik*, Springer Verlag, Berlin, **1988**.

- ²⁷⁷ C. W. Extrand, *Langmuir*, 19, **2003**, 3793-3796.
- ²⁷⁸ K. Abe, H. Takigudie, K. Tamada, *Langmuir*, 16, **2000**, 2394-2397.
- ²⁷⁹ J. Lahann, S. Mitagori, T. N. Tran, H. Kaido, *Science*, 299, **2003**, 371-374.
- ²⁸⁰ P. Drude, *Ann. D. Phys. U. Chem.*, 36, **1889**, 865-897.
- ²⁸¹ Á. I. Csurgay, W. Porod, *Int. J. Circuit Theory Appl.*, 32, **2004**, 339-361.
- ²⁸² J. Homola, *Surface Plasmon Resonance Based Sensors*, Springer, Berlin Heidelberg, **2006**.
- ²⁸³ K.F. Giebel, C. Bechinger, S. Herminghaus, M. Riedel, P. Leiderer, U. Weiland, M. Bastmeyer, *Biophys. J.*, 76, **1999**, 509-516.
- ²⁸⁴ H. Simon, D. Mitchell, G. Watson, *Am. J. Phys.*, 43, **1975**, 630-636.
- ²⁸⁵ R. J. M. Previte, Y. Zhang, K. Aslan, C. D. Geddes, *Appl. Phys. Lett.*, 91, **2007**, 151902.
- ²⁸⁶ J. Zhao, X. Zhang, C. R. Yonzon, A. J. Haes, R. P. Van Duyne, *Nanomedicine*, 1, **2006**, 219-228.
- ²⁸⁷ C. Rhodes, S. Franzen, M. Losego, D. N. Leonard, B. Laughlin, G. Duscher, S. Weibel, *J. Appl. Phys.*, 100, **2006**, 054905.
- ²⁸⁸ T. Zacher, *Dissertation*, Technische Universität München, **2002**.
- ²⁸⁹ A. Otto, *Z. Phys.*, 216, **1968**, 398-399.
- ²⁹⁰ E. Kretschmann, H. Raether, *Z. Naturforsch.*, A23, **1968**, 2135-2136.
- ²⁹¹ W. Hickel, B. Rothenhausler, W. Knoll, *J. Appl. Phys.*, 66, **1989**, 4832-4836.
- ²⁹² E. Kretschmann, *Z. Phys.*, 241, **1971**, 313-324.
- ²⁹³ W. P. Chen, J. M. Chen, *J. Opt. Soc. Am.*, 71, **1981**, 189-191.
- ²⁹⁴ W. L. Barnes, T. W. Preist, S. C. Kitson, J. R. Sambles, *Phys. Rev. B*, 54, **1996**, 6227-6244.
- ²⁹⁵ A. N. Grigorenko, P. I. Nikitin, A. V. Kabashin, *Appl. Phys. Lett.*, 75, **1999**, 3917-3919.
- ²⁹⁶ M. G. Moharam, T. K. Gaylord, *J. Opt. Soc. Am. A*, 3, **1986**, 1780-1787.
- ²⁹⁷ L. F. Li, *J. Opt. Soc. Am. A*, 10, **1993**, 2581-2591.
- ²⁹⁸ L. I. Goray, J. F. Seely, *Appl. Opt.*, 41, **2002**, 1434-1445.
- ²⁹⁹ J. Čtyroký, J. Homola, M. Skalský, *Opt. Quant. Electron.*, 29, **1997**, 301-311.
- ³⁰⁰ F. Goos, H. Hänchen, *Ann. Phys.*, 435, **1943**, 383-392.
- ³⁰¹ F. Goos, H. Hänchen, *Ann. Phys.*, 436, **1947**, 333-346.
- ³⁰² F. Goos, H. Hänchen, *Ann. Phys.*, 440, **1949**, 251-252.

- ³⁰³ J. Jose, F. B. Segerink, J. P. Korterik, H. L. Offerhaus, *Opt. Express*, 16, **2008**, 1958-1964.
- ³⁰⁴ T. Wakamatsu, K. Aizawa, *Jap. J. Appl. Phys.*, 44, **2005**, 4272-4274.
- ³⁰⁵ B. W. Smith, Y. Fan, J. Zhou, N. Lafferty, A. Estroff, *Proc. SPIE*, **2006**, 6154.
- ³⁰⁶ L. Jung, C. T. Campbell, T. M. Chinowsky, M. N. Mar, S. S. Yee, *Langmuir*, 14, **1998**, 5636-5648.
- ³⁰⁷ F. S. Damos, R. C. S. Luz, L. T. Kubota, *Langmuir*, 21, **2005**, 602-609.
- ³⁰⁸ I. Pockrand, *Surface Sci.*, 72, **1978**, 577-588.
- ³⁰⁹ K. A. Peterlinz, R. Georgiadis, *Langmuir*, 12, **1996**, 4731-4740.
- ³¹⁰ H. E. de Bruijn, B. S. F. Altenburg, R. P. H. Kooyman, J. Greve, *Opt. Commun.*, 82, **1991**, 425-432.
- ³¹¹ K. A. Peterlinz, R. Georgiadis, *Opt. Commun.*, 130, **1996**, 260-266.
- ³¹² <http://www.mpip-mainz.mpg.de/knoll/soft/index.html>
http://www.mpip-mainz.mpg.de/knoll/soft/winspall301_free.zip.
- ³¹³ <http://www.sopra-sa.com/index2.php?goto=dl&rub=4>.
- ³¹⁴ T. Inagaki, R. N. Hamm, E. T. Arakawa, R. D. Birkhoff, *Biopolymers*, 14, **1975**, 839-847.
- ³¹⁵ E. T. Arakawa, P. S. Tuminello, B. N. Khare, M. E. Milham, *Biospectroscopy*, 3, **1997**, 73-80.
- ³¹⁶ S. J. Lee, J. M. Park, T. A. Wiener, L. L. Miller, D. W. Lynch, *Phys. Rev. B*, 64, **2001**, 125112.
- ³¹⁷ H. Amekura, Y. Takeda, N. Kishimoto, *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B*, 222, **2004**, 96-104.
- ³¹⁸ C. Sönnichsen, *Dissertation*, Universität München, **2001**.
- ³¹⁹ K. Kopitzki, *Einführung in die Festkörperphysik*, Teubner-Verlag, Stuttgart, **1993**.
- ³²⁰ P. Johnson, R. Christy, *Phys. Rev. B*, 6, **1972**, 4370-4379.
- ³²¹ W. Sellmeier, *Ann. Phys. Chem.*, 221, **1872**, 399-421.
- ³²² W. Sellmeier, *Ann. Phys. Chem.*, 223, **1872**, 386-403.
- ³²³ W. Sellmeier, *Ann. Phys. Chem.*, 221, **1872**, 520-549.
- ³²⁴ E. Ketteler, *Ann. Phys. Chem.*, 266, **1887**, 299-316.
- ³²⁵ http://www.schott.com/advanced_optics/english/download/datasheet_all_english.pdf.

- ³²⁶ S. H. Armstrong Jr., M. J. E. Budka, K. C. Morrison, M. Hasson, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, **1947**, 1747-1753.
- ³²⁷ S. Sjölander, C. Urbaniczky, *Anal. Chem.*, **63**, **1991**, 2338-2345.
- ³²⁸ J. V. Ford, B. G. Sumpter, D. W. Noid, M. D. Barnes, *Appl. Phys. Lett.*, **77**, **2000**, 2515-2517.
- ³²⁹ P. R. Cooper, *Appl. Opt.*, **22**, **1983**, 3070-3072.
- ³³⁰ P. I. Dmitriev, L. A. Dogadkina, *Zh. Prikl. Khim.*, **14**, **1941**, 110-119.
- ³³¹ J. E. Anderson, D. Casarini, A. I. Ijeh, L. Lunazzi, *Langmuir*, **119**, **1997**, 8050-8057.
- ³³² A. Leydet, H. El Hachemi, B. Boyer, G. Lamaty, J. P. Roque, D. Schols, R. Snoeck, G. Andrei, S. Ikeda, J. Neyts, D. Reymen, J. Este, M. Witvrouw, E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, **39**, **1996**, 1626-1634.
- ³³³ H. E. Baumgarten, F. A. Bower, T. T. Okamo, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, **1957**, 3145-3149.
- ³³⁴ Y.-Y. Luk, M. L. Tingey, K. A. Dickson, R. T. Raines, N. L. Abbott, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, **2004**, 9024-9032.
- ³³⁵ T. Gibson, *J. Org. Chem.*, **45**, **1980**, 1095-1098.
- ³³⁶ D. Fish, I. M. Khan, E. Wu, J. Smid, *Brit. Polym. J.*, **20**, **1988**, 281-288.
- ³³⁷ S. Deprèle, J.-L. Montchamp, *J. Chem.*, **66**, **2001**, 6745-6755.
- ³³⁸ D. H. R. Barton, R. A. Vonder Embse, *Tetrahedron*, **54**, **1998**, 12475-12496.
- ³³⁹ È. E. Nifant'ev, R. K. Magdeeva, N. P. Shchepet'eva, T. A. Mastryukova, *Zhurn. Obs. Khim.*, **50**, **1980**, 2676-2680.
- ³⁴⁰ B. Frisch, C. Boeckler, F. Schuber, *Bioconjugate Chem.*, **7**, **1996**, 180-186.
- ³⁴¹ C. M. Jessop, A. F. Parsons, A. Routledge, D. J. Irvine, *Eur. J. Org. Chem.*, **6**, **2006**, 1547-1554.
- ³⁴² K. Issleib, W. Mögelin, A. Balszuweit, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **530**, **1985**, 16-28.
- ³⁴³ C. Lopin, G. Gouhier, A. Gautier, S. R. Piettre, *J. Org. Chem.*, **68**, **2003**, 9916-9923.
- ³⁴⁴ D. M. Duckworth, S. Lee-Wong, A. M. Z. Slawin, E. H. Smith, D. J. Williams, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **8**, **1996**, 815-821.
- ³⁴⁵ A. Saito, T. Ono, Y. Hanzawa, *J. Org. Chem.*, **71**, **2006**, 6437-6443.
- ³⁴⁶ V. V. Kiseleva, V. I. Maksimov, E. D. Kaverzneva, *Russ. Chem. Bull.*, **21**, **1972**, 918-920.

- ³⁴⁷ P.-Y. J. Yeh, R. K. Kainthan, Y. Zou, M. Chiao, J. N. Kizhakkedathu, *Langmuir*, **24**, **2008**, 4907-4916.
- ³⁴⁸ A. Sunder, R. Hanselmann, H. Frey, R. Mülhaupt, *Macromolecules*, **32**, **1999**, 4240-4246.
- ³⁴⁹ R. Haag, A. Sunder, J.-F. Stumbé, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, **2000**, 2954-2955.
- ³⁵⁰ S. M. Grayson, J. M. J. Fréchet, *Chem. Rev.*, **101**, **2001**, 3819-3867.
- ³⁵¹ A. Sunder, J. Heinemann, H. Frey, *Chem. Eur. J.*, **6**, **2000**, 2499-2506.
- ³⁵² J. Pospíšil, *Angew. Makromol. Chem.*, **216**, **1994**, 135-146.
- ³⁵³ K. C. Das, H. P. Misra, *Mol. Cell. Biochem.*, **262**, **2004**, 127-133.
- ³⁵⁴ T. Itoh, M. Miyazaki, H. Maeta, Y. Matsuya, K. Nagata, A. Oshawa, *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, **2000**, 1983-1989.
- ³⁵⁵ P. Ausloos, R. E. Rebbert, S. G. Lias, *J. Photochem.*, **2**, **1977**, 267-284.
- ³⁵⁶ M. Bonifačić, M. Vlatković, *J. Phys. Chem.*, **82**, **1978**, 2149-2152.
- ³⁵⁷ B. Berron, G. K. Jennings, *Langmuir*, **22**, **2006**, 7235-7240.
- ³⁵⁸ D. J. Vanderah, M. L. Walker, M. A. Rocco, K. A. Rubinson, *Langmuir*, **24**, **2008**, 826-829.
- ³⁵⁹ R. Huisgen, G. Szeimies, L. Möbius, *Chem. Ber.*, **100**, **1967**, 2494-2507.
- ³⁶⁰ V. O. Rodionov, V. V. Fokin, M. G. Finn, *Angew. Chem.*, **44**, **2005**, 2210-2215.
- ³⁶¹ V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51-68.
- ³⁶² C. Nolte, P. Mayer, B. F. Straub, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, **2007**, 2101-2101.
- ³⁶³ J. B. Summer, *J. Biol. Chem.*, **37**, **1919**, 137-142.
- ³⁶⁴ H.-J. Gabius, H.-C. Siebert, S. André, J. Jiménez-Barbero, H. Rüdiger, *Chem. Bio. Chem.*, **5**, **2004**, 740-764.
- ³⁶⁵ M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, **6**, **2008**, 2118-2132.
- ³⁶⁶ K. M. Kacprzak, N. M. Maier, W. Lindner, *Tetrahedron Lett.*, **47**, **2006**, 8721-8726.
- ³⁶⁷ Mike Kleinert, *Dissertation*, Universität Kiel, **2005**.
- ³⁶⁸ S.J. Stranick, A. N. Parikh, Y. T. tao, D. L. Allara, P. S. Weiss, *J. Phys. Chem.*, **98**, **1994**, 7636-7646.
- ³⁶⁹ T. Auletta, F. C. J. M. van Veggel, D. N. Reinhoudt, *Langmuir*, **18**, **2002**, 1288-1293.
- ³⁷⁰ R. H. L. Marks, E. H. Cordes, F. R. N. Gurd, *J. Biol. Chem.*, **246**, **1971**, 466-474.
- ³⁷¹ N.-J. Deng, L. Yan, D. Singh, P. Cieplak, *Biophys. J.*, **90**, **2006**, 3865-3879.

- ³⁷² R. C. Sabapathy, R. M. Crooks, *Langmuir*, 16, **2000**, 1777-1782.
- ³⁷³ M. Lestelius, B. Liedberg, P. Tengvall, *Langmuir*, 13, **1997**, 5900-5908.
- ³⁷⁴ Z. Yang, J. A. Galloway, H. Yu, *Langmuir*, 15, **1999**, 8405-8411.
- ³⁷⁵ P. Hader, M. Grunze, J. H. Waite, *J. Adhes.*, 73, **2000**, 161-177.
- ³⁷⁶ G. Mantovani, V. L. Ladmiral, L. Tao, D. M. Haddleton, *Chem. Commun.*, **2005**, 2089-2091.
- ³⁷⁷ B. W. T. Gruijters, M. A. C. Broeren, F. L. van Delft, R. P. Sijbesma, P. H. H. Hermkens, F. P. J. T. Rutjes, *Org. Lett.*, 8, **2006**, 3163-3166.
- ³⁷⁸ F. Fazio, M. C. Brian, O. Blixt, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, 124, **2002**, 14397-14402.
- ³⁷⁹ I. M. Kolthoff, J. Coetzeem, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, **1957**, 1852-1858.
- ³⁸⁰ J. T. Yoke III, J. F. Weiss, G. Tollin, *Inorg. Chem.*, 2, **1963**, 1210-1216.
- ³⁸¹ E.-H. Ryu, Y. Zhao, *Org. Lett.*, 7, **2005**, 1035-1037.
- ³⁸² K. Kato, T. Sakamoto, K. Ito, *Allergology International*, 56, **2007**, 439-444.
- ³⁸³ L. Pauling, *J. Am. Chem. Soc.*, 62, **1940**, 2643-2657.
- ³⁸⁴ J. M. Newell, A. Sterling, M. F. Oxman, S. S. Burden, L. E. Krejci, *J. Allergy*, 33, **1939**, 513-520.
- ³⁸⁵ L. A. Chtcheglova, A. Haeberli, G. Dietler, *Biopolymers*, 89, **2008**, 292-301.
- ³⁸⁶ O. A. Azizova, A. V. Aseichev, A. P. Piryazev, E. V. Roitman, O. N. Shcheglovitova, *Bull. Exp. Biol. Med.*, 144, **2007**, 397-407.
- ³⁸⁷ S. Kidoaki, T. Matsuda, *Langmuir*, 15, **1999**, 7639-7646.
- ³⁸⁸ S. Kidoaki, T. Matsuda, *Colloids Surf. B*, 23, **2002**, 153-163.
- ³⁸⁹ S. H. Brewer, W. R. Glomm, M. C. Johnson, M. K. Knag, S. Franzen, *Langmuir*, 21, **2005**, 9303-9307.
- ³⁹⁰ J. R. Cann, R. A. Brown, J. G. Kirkwood, *J. Biol. Chem.*, 181, **1949**, 161-170.
- ³⁹¹ E. Sheppard, I. S. Wright, *Arch. Biochem.*, 52, **1954**, 414-425.
- ³⁹² I. D. Kalinin, E. A. Kulik, V. I. Sevast'yanov, *Biofizika*, 36, **1991**, 271-275.
- ³⁹³ K. R. Kamath, H. Park, H. S. Shim, K. Park, *Colloids Surf. B*, 2, **1994**, 471-479.
- ³⁹⁴ S. Sideman, L. Mor, J. M. Brandes, S. Lupovitch, *J. Biomed. Mater. Res.*, 17, **1983**, 91-107.
- ³⁹⁵ W. E. Hennink, S. W. Kim, J. Feijen, *J. Biomed. Mater. Res.*, 18, **1984**, 911-926.
- ³⁹⁶ K. Kurotobi, A. Yamamoto, A. Kikuta, T. Hanawa, *J. Mater. Res.*, 18, **2007**, 1175-1184.

- ³⁹⁷ M. E. Sonderquist, A. G. Walton, *J. Colloid Interface Sci.*, 75, **1980**, 386-397.
- ³⁹⁸ P. Van Dulm, W. Norde, *J. Colloid Interface Sci.*, 91, **1983**, 248-255.
- ³⁹⁹ A. Wang, H. Tang, T. Cao, S. O. Salley, K. Y. S. Ng, *J. Colloid Interface Sci.*, 291, **2005**, 438-447.
- ⁴⁰⁰ D. F. Siqueira Petri, G. Wenz, P. Schunk, T. Schimmel, *Langmuir*, 15, **1999**, 4520-4523.
- ⁴⁰¹ G. Demirel, M. O. Çağlayan, B. Garipcan, M. Duman, E. Pişkin, *Nanoscale Res. Lett.*, 2, **2007**, 350-354.
- ⁴⁰² V. Jitchum, S. Chivin, S. Wongkasemjit, H. Ishida, *Tetrahedron*, 57, **2001**, 3997-4003.
- ⁴⁰³ T. Winkler, N. Ballav, H. Thomas, M. Zharnikov, A. Terfort, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, **2008**, 7238-7241.
- ⁴⁰⁴ D. A. Outka, J. Stöhr, J. P. Rabe, J. D. Swalen, *J. Chem. Phys.*, 88, **1988**, 4076-4087.
- ⁴⁰⁵ E. Garand, P. A. Rowntree, *J. Phys. Chem. B*, 109, **2005**, 12927-12934.
- ⁴⁰⁶ http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Europe_Home/Germany.html.

Curriculum Vitae

Angaben zur Person

Geburtsdatum: 23.04.1975

Geburtsort: Hamburg

Familienstand: verheiratet

Nationalität: deutsch

Schulbildung

08.1981 – 06.1985 Grundschule in Hamburg

08.1985 – 06.1991 Realschule in Hamburg

08.1991 – 06.1995 Aufbaugymnasium in Hamburg (Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife)

Erlernte Berufe

08.1995 – 06.1997 Ausbildung zum Chemisch-Technischen Assistenten an der „Berufsfachschule G13“ in Hamburg

Studium

10.1997 – 12.2003 Studium der Chemie (Diplom) an der Universität Hamburg

● 28.01.2001 Diplomvorprüfung, Gesamtnote: sehr gut [1,2]

● 03.03.2003 Diplomhauptprüfung, Gesamtnote: sehr gut [1,0]

● 29.12.2003 Abgabe der Diplomarbeit, Note: sehr gut

Arbeitstitel: Untersuchung biorepulsiver Siloxan- und Phosphonat-SAMs auf den nativen Oxidschichten von Metallen und Silicium

03.2004 Anmeldung zur Promotion an der Universität Hamburg

Arbeitstitel: Untersuchungen zur Wechselwirkung von Biomolekülen mit selbstanordnenden Monoschichten

Stipendien

02.2004 – 01.2007 Graduiertenkolleg 611 (Design und Charakterisierung funktionalisierter Materialien)

Arbeitserfahrung

- 08.2001 – 07.2003** Studentischer Beschäftigter bei „TÜV NORD
Umweltschutz GmbH & Co. KG“
- Probenvorbereitung und –aufarbeitung im Bereich Umweltanalytik
 - Synthese von Referenzverbindungen
- 08.2003 – 01.2004** Studentischer Beschäftigter an der Universität Hamburg
- Durchführung von Polymerisationsreaktionen
 - Spektroskopische Reaktionsverfolgung
- 06.2005 – 03.2008** Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Department Chemie
der Universität Hamburg
- theoretische und praktische Ausbildung von Studenten
- 04. 2008 – 10.2008** Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Philipps-Universität
Marburg
- Bearbeitung verschiedener wissenschaftlicher Projekte

Veröffentlichungen

Publikationen

- T. Winkler, N. Ballav, H. Thomas, M. Zharnikov, A. Terfort, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, **2008**, 7238-7241.
- M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, 6, **2008**, 2118-2132.
- R. Chelmowski, S. D. Köster, A. Kerstan, A. Prekelt, C. Grunwald, T. Winkler, N. Metzler-Nolte, A. Terfort, C. Wöll, *J. Am. Chem. Soc.*, 130, **2008**, 14952-14953.

Vorträge

- *Untersuchung biorepulsiver Siloxan-und Phosphonat-SAMs auf den nativen Oxidschichten von Silicium und Metallen*, Workshop des Graduiertenkollegs 611, 15.10.2004, Papenburg.
- *Specific Interactions between Biomolecules and self-assembled Monolayers*, Workshop des Graduiertenkollegs 611, 20.10.2005, Weißenhäuser Strand.
- *Oberflächen in organischen Medien – Prinzipien und Erzeugung von Biorepulsivität*, Norddeutsches Doktorandenkolloquium, 05.10.2006, Rostock.

Poster

- T. Winkler, J. Müller, A. Terfort, *Biorepulsive Oberflächen*, Tagung der GdCh, 08.10 – 11.10 2003, München.
- T. Winkler, A. Terfort, *Specific Interactions between biomolecules and self-assembled Monolayers*, Kolloquium des Graduiertenkollegs 611, 18.01.2005, Hamburg.

- T. Winkler, N. Papukashvili, A. Terfort, *Biorepulsive self-assembled Monolayers on Gold, Stainless Steel and Aluminium*, International Bunsen-Discussion Meeting, 29.06 – 30.06.2008, Heidelberg.

