

EPR-spektroskopische Untersuchung
der Solvatisierung amphiphiler Substanzen
im wässrigen Medium

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II
Chemie, Physik und Mathematik

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Herrn Johannes Hunold
geb. am 21.07.1991 in Heilbad Heiligenstadt

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dariush Hinderberger
2. Prof. Dr. Holger Frey

Tag der Verteidigung: 05.02.2020

Für
meine
Familie.

„Wer es einmal so weit gebracht hat,
daß er nicht mehr irrt,
der hat auch zu arbeiten aufgehört.“

*Max Planck (1858–1947) in seiner Antrittsrede
als Rektor der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin
am 15. Oktober 1913*

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Motivation	4
2	Theoretischer Teil	8
2.1	Multiresponsive Polymere	8
2.1.1	Arten von Stimuli.....	8
2.1.2	Mechanismen der Multiresponsivität.....	11
2.1.3	Poly(phosphoester)	13
2.2	EPR-Spektroskopie.....	15
2.2.1	Grundlagen.....	15
2.2.2	Wechselwirkungen und Spin-Hamilton-Operator	20
2.2.3	Messtechnik	25
2.2.4	Nitroxid-Radikale als Spinsonden	27
3	Experimenteller Teil	33
3.1	Materialien	33
3.2	Methoden	34
3.3	EPR-Datenverarbeitung und Simulationsprozess.....	39
4	Auswertung und Diskussion	43
4.1	Phasenseparationsverhalten von PPEs.....	43
4.2	Solvatationsverhalten von Nitroxid-Spinsonden	52
5	Zusammenfassung und Ausblick	67
6	Literaturverzeichnis	72
7	Abkürzungsverzeichnis.....	79
8	Anhang.....	84

1 Einleitung und Motivation

Wasser besitzt auch aufgrund seiner Vielzahl an außergewöhnlichen Eigenschaften (z. B. Dichteanomalie bei etwa 4 °C, sehr hohe Wärmekapazität, Verdampfungsenergie und Oberflächenspannung etc.) und seiner ausgezeichneten Solvatationsfähigkeit herausragende Bedeutung für das gesamte Leben auf der Erde. Grund für diesen einzigartigen Charakter sind die Struktur des H₂O-Moleküls und die daraus resultierenden intra- und intermolekularen Wechselwirkungen, wie z. B. Wasserstoffbrückenbindungen, elektrische Dipolkräfte oder Van-der-Waals-Wechselwirkungen, wobei gerade die dreidimensionale Verknüpfung der Wassermoleküle über H-Brückenbindungen eine entscheidende Rolle für viele Eigenschaften spielt.¹⁻⁴

Ersetzt man beispielsweise den Sauerstoff durch das nächstschwerere homologe Element der VI. Hauptgruppe, so erhält man die Verbindung Schwefelwasserstoff (H₂S), welche trotz nahezu identischer Struktur bzw. Molekülgeometrie verglichen mit Wasser fundamental andere Eigenschaften aufweist. So besitzt etwa Schwefelwasserstoff trotz seiner beinahe doppelt so großen Molmasse ($M(\text{H}_2\text{S}) = 34,08 \text{ g mol}^{-1}$ vs. $M(\text{H}_2\text{O}) = 18,02 \text{ g mol}^{-1}$) bei Raumtemperatur einen gasförmigen Aggregatzustand und weist mit einer Siedetemperatur von ca. -60 °C bei Normaldruck (d. h. ~1 bar) verglichen mit Wasser ($T_v \approx 100 \text{ °C}$) einen deutlich niedrigeren Siedepunkt auf.^{1,2,5} Ursache dafür sind die gewinkelte Struktur des H₂O-Moleküls und die damit verbundene Neigung von Wasser insbesondere im flüssigen Zustand stark vernetzte Cluster auszubilden. Diese starken intermolekularen Wechselwirkungen müssen bei jedem Phasenübergang zusätzlich überwunden werden und sind somit für die außergewöhnlich hohe Siedetemperatur von Wasser verantwortlich.^{1,3} So beträgt beispielsweise die Bindungsenergie eines Wasserdimers ca. -20 kJ mol⁻¹, wobei der Beitrag einer einzelnen H-Brücke auf etwa 12 kJ mol⁻¹ geschätzt wird.^{1,6,7} Hierbei ist das H-Brückennetzwerk nicht statisch, sondern stellt vielmehr ein äußerst dynamisches System dar, in dem ständig neue H-Brückenbindungen geknüpft bzw. getrennt werden, wobei die mittlere Lebensdauer einer intermolekularen H-Brücke im Bereich von etwa 1 ps ($\approx 10^{-12} \text{ s}$) liegt.^{1,2,8} Bei vielen anderen (niedermolekularen) Verbindungen, wie z. B. Schwefelwasserstoff, kommen solche H-Brückenwechselwirkungen hingegen nur in weitaus geringerem Maße oder auch überhaupt nicht vor.⁹ Im Falle von H₂S sind beispielsweise die im Vergleich zu Wasser deutlich kleinere Elektronegativitätsdifferenz ($\Delta\chi(\text{H}_2\text{S}) = 0,38$ vs. $\Delta\chi(\text{H}_2\text{O}) = 1,24$) der Bindungspartner und die damit verbundene geringere Bindungspolarität, als auch der etwas größere Atomradius von Schwefel und die damit einhergehende Erhöhung der Bindungslänge

($r(\text{S-H}) \approx 134 \text{ pm}$ vs. $r(\text{O-H}) \approx 99 \text{ pm}$)^{10,11} für die viel schwächeren H-Brückenbindungen verantwortlich, was sich auch entsprechend in der um rund 160 °C niedrigeren Siedetemperatur T_v von H_2S widerspiegelt.⁵

Da Wasser in der Natur stets gelöste Stoffe enthält und somit niemals in Reinform vorkommt, soll der Fokus dieser Arbeit auf der Untersuchung des Solvationsverhaltens verschiedener Substanzen im wässrigen Medium liegen. Hierbei ist gerade die Solvatisierung amphiphiler Verbindungen in wässrigen Systemen oft von großem Interesse, da sie z. B. bei medizinisch-pharmazeutischen Anwendungen den Wirkstofftransport bzw. die Arzneimittelverteilung und damit auch die pharmakologische Wirkung im (menschlichen) Organismus entscheidend beeinflusst.^{3,12} Um ein tiefergehendes, generelles Verständnis des Solvationsprozesses amphiphiler Substanzen im wässrigen Medium zu erlangen und eventuell auch allgemeingültige Tendenzen zuverlässig ableiten zu können, ist die Untersuchung möglichst vieler verschiedener Verbindungen erforderlich. Da die Hydratation nicht nur vom Grad des amphiphilen Charakters, sondern auch von der Molekülgröße entscheidend beeinflusst wird, sollen in dieser Arbeit besonders die Solvationsunterschiede zwischen niedermolekularen Substanzen und Makromolekülen im Vordergrund stehen.⁴

Gerade Polymere besitzen aufgrund ihrer großen strukturellen Vielfalt und den damit einhergehenden mannigfaltigen Eigenschaften zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten in fast allen Bereichen des täglichen Lebens.¹³⁻¹⁸ Daher haben sie sich, seit der Begründung der makromolekularen Chemie durch den deutschen Chemiker Hermann Staudinger (1881–1965) in den 1920er-Jahren,¹⁹ bis heute zu einer wichtigen und häufig untersuchten Klasse von chemischen Verbindungen entwickelt. Triebkraft für diese ziemlich rasante Entwicklung war vor allem das beständige Verlangen der Menschheit nach intelligenten Materialien (engl. smart materials), welche sich möglichst in Echtzeit mit ihren Eigenschaften an die jeweils vorliegenden Bedürfnisse anpassen sollen. In diesem Zusammenhang hat besonders die Gruppe der sog. (multi)responsiven Polymere in den letzten Jahrzehnten beträchtliches Forschungsinteresse erregt.²⁰⁻²⁸

Das wesentliche Merkmal solch responsiver Makromoleküle ist ihre einzigartige Fähigkeit auf externe Reize mit einer Veränderung ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften zu "antworten" (engl. response = Antwort, Reaktion). Hierbei wird der Charakter des Reiz-Antwort-Verhaltens hauptsächlich durch die Art der funktionellen Einheiten innerhalb der Polymerstruktur bestimmt, da diese auf unterschiedlichste Reize, wie z. B. Temperatur, pH-Wert oder Redoxaktivität reagieren.²⁸⁻³⁵ Somit erlaubt eine wohlüberlegte Kombination

mehrerer, verschiedenartig ansprechbarer Funktionalitäten in einem Makromolekül, etwa in Form von Copolymeren, die Entwicklung faszinierender multifunktionaler Materialien. Diese können in ihrem Design einerseits genau auf das gewünschte Einsatzgebiet ausgerichtet werden, sind aber andererseits auch in der Lage sich bei Einwirkung externer Stimuli mit ihren Eigenschaften an die neuen Umgebungsbedingungen in Echtzeit anzupassen. Gerade dieser Sachverhalt macht die Klasse der multiresponsiven Polymere für viele verschiedene Anwendungsbereiche, z. B. in Medizin³⁶⁻⁴⁰ und Technik,⁴¹⁻⁴³ hoch interessant.

Da solche multifunktionalen Materialien unterschiedlichsten Ursprungs sein können, stellt deren gründliche Exploration ein sehr interdisziplinäres Forschungsgebiet dar, welches die makromolekulare Chemie und ihre direkt angrenzenden Bereiche mit zahlreichen anderen Fachrichtungen, wie etwa der Physik, Biologie oder den Materialwissenschaften verbindet. Hierbei ist eine ausreichend große Anzahl systematischer Studien möglichst vieler, strukturell verschiedener, (multi)responsiver Polymersysteme unabdingbar, um allgemein gültige Regeln zuverlässig abzuleiten und ein tiefgehendes Verständnis zu erlangen.^{28,44}

Im Rahmen dieser Arbeit soll dazu ein kleiner Beitrag geleistet werden, indem responsive Polymere aus der Klasse der sog. Poly(phosphoester) (PPEs) eingehend hinsichtlich ihres Solvations- bzw. Phasenseparationsverhaltens im wässrigen Medium untersucht werden. PPEs sind Biopolymere auf Phosphorsäureesterbasis, welche in der Natur, z. B. als Träger von Erbinformationen (DNA bzw. RNA) oder in Form von Adenosintriphosphat (ATP) als universelle Energiespeicher und damit auch als wichtige Bestandteile biochemischer Stoffwechselprozesse, eine wichtige Rolle spielen.⁴⁵ Aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit und hohen Biokompatibilität, bedingt durch die biologische Abbaubarkeit und Nichttoxizität der Abbauprodukte, stehen PPEs, auch im Zuge fortschreitender Umweltprobleme, z. B. durch Plastikverschmutzung der Ozeane, bereits seit einigen Jahren zunehmend im Fokus zahlreicher Studien, auf der Suche nach (bio)abbaubaren Alternativen zu den klassischen Kunststoffen (PE, PP, PET, PS usw.).⁴⁶⁻⁴⁹ Hierbei besteht ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Polymerarchitektur (etwa der Struktur und dem sterischem Anspruch der Seitenketten) und dem Ausmaß der Wasserlöslichkeit bzw. der Geschwindigkeit des biologischen Abbauprozesses.^{50,51}

PPEs zeigen im wässrigen Medium zumeist ein sehr interessantes Solvatisierungsverhalten, welches oftmals mit einem temperaturinduzierten hydrophil-hydrophoben Phasenübergang verbunden ist, welcher auch bei vielen anderen Polymerklassen, etwa Poly(acrylamid)en,⁵² Poly(oxazolin)en,⁵³ Poly(vinylether)en⁵⁴ oder Poly(methacrylat)en,⁵⁵ beobachtet werden kann. Allerdings ist insbesondere über den Solvations- und Phasenseparationsprozess von PPEs

auf der Nanoskala bisher praktisch nichts bekannt, weshalb dies im Rahmen dieser Arbeit ausführlich untersucht und eingehend charakterisiert werden soll, da es besonders für potentielle Anwendungen, z. B. im pharmazeutischen oder biomedizinischen Bereich, von großer Bedeutung ist.

Neben diesen komplexen (responsiven) Polymersystemen, soll in dieser Arbeit aber auch das Solvationsverhalten von niedermolekularen Verbindungen in Wasser genauer erforscht werden. Aufgrund ihrer großen strukturellen Vielfalt, guten kommerziellen Verfügbarkeit und vergleichsweise stabilen chemischen Natur eignen sich besonders persistente Nitroxid-Radikale für die systematische Untersuchung von Solvatisierungsprozessen im wässrigen Medium, zumal sie heutzutage in den unterschiedlichsten Bereichen (Chemie, Biochemie, Biologie usw.) umfangreiche Verwendung finden.⁵⁶⁻⁵⁹ Bedingt durch ihren paramagnetischen Charakter (d. h. den ungepaarten Elektronenspin) erlauben Nitroxide als sog. Spinsonden mithilfe der EPR-Spektroskopie (engl. electron paramagnetic resonance) als intrinsisch lokale Messmethode einen tiefreichenden und einzigartigen Einblick in die Art und den generellen Verlauf von nanoskaligen Solvations- und Phasenseparationsprozessen. So können etwa dank dieser Spinsondentechnik (engl. spin probing) bereits bei verhältnismäßig geringem Probeneinsatz sehr detaillierte Informationen im Längenbereich von ca. 1–8 nm auf einer Zeitskala von etwa 10 ps–1 μ s gewonnen werden.^{44,60}

Darüber hinaus können diese vergleichsweise "einfachen" wässrigen Nitroxid-Lösungen in gewisser Weise auch als eine Art Referenz für komplexere makromolekulare Systeme, wie z. B. (multi)responsive Polymere, betrachtet werden. So stellt letztendlich eine tiefreichende Kenntnis des Solvatisierungsverhaltens von Nitroxid-Radikalen im wässrigen Medium auch eine unerlässliche Voraussetzung für ein vollumfängliches Verständnis der Solvations- und Phasenseparationsprozesse bei makromolekularen Verbindungen dar. Aus diesem Grund sollen auch solch grundlegende Untersuchungen an Referenzsystemen, wie z. B. Nitroxid-Spinsonden in wässriger Lösung, ebenfalls wesentlicher Bestandteil dieser Arbeit sein, wobei sich gerade die EPR-Spektroskopie als vergleichsweise schnelle, präzise, unkomplizierte und kostengünstige Magnetresonanztechnik besonders gut für diesen Zweck eignet und daher auch als Hauptuntersuchungsmethode eingesetzt werden soll.

2 Theoretischer Teil

2.1 Multiresponsive Polymere

2.1.1 Arten von Stimuli

Bevor im Kapitel 2.1.2 näher auf das anspruchsvolle Zusammenspiel der unterschiedlichen Funktionalitäten in einem multiresponsiven Polymer eingegangen wird, sollen hier zunächst die wichtigsten Reize sowie die Ursache des Reaktionsprozesses bei Anwendung eines solchen Stimulus kurz erläutert werden.

Unter allen verfügbaren Reizen ist die Temperatur wohl einer der bekanntesten und am häufigsten studierten, da sie sich ohne größeren experimentellen Aufwand vergleichsweise einfach ändern lässt.²⁸⁻³⁰ In diesem Zusammenhang spielt insbesondere ein unter dem Begriff Mischungslücke geläufiges Phänomen eine entscheidende Rolle. Hierbei handelt es sich im Wesentlichen um eine temperaturabhängige Phasenseparationserscheinung, wie sie etwa in Polymer-Lösungsmittel-Gemischen recht häufig auftritt.^{13,61} Zur besseren Veranschaulichung ist in Abbildung 2.1 ein beispielhaftes Phasendiagramm einer solch binären Mischung aus den Komponenten A und B in Abhängigkeit des Molenbruchs x_B gezeigt.

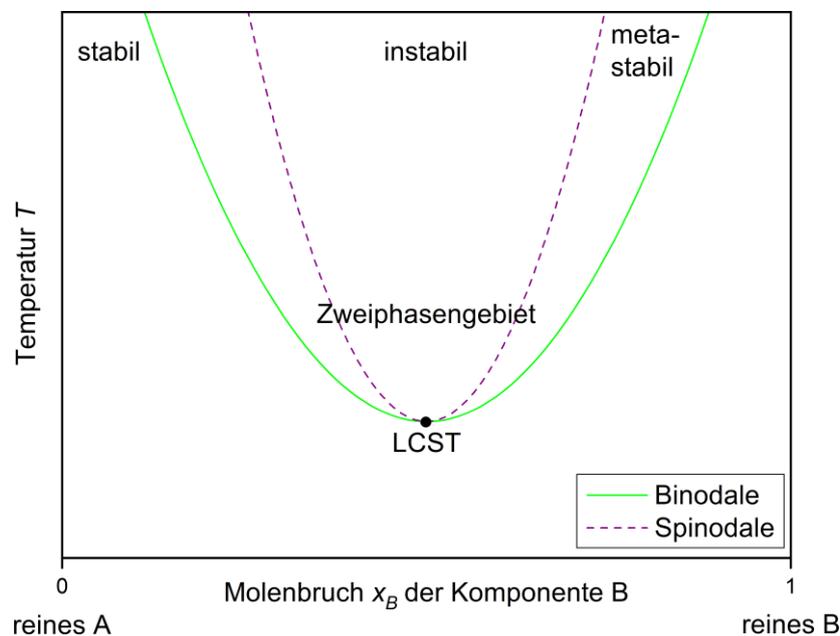


Abbildung 2.1: Exemplarisches Phasendiagramm einer binären Mischung aus den beiden Komponenten A und B mit einer unteren kritischen Lösungstemperatur (engl. lower critical solution temperature, LCST).

Die durchgezogene grüne Kurve, innerhalb derer sich das sog. Zweiphasengebiet befindet, stellt die Binodale dar, auf welcher die Gleichgewichtskonzentrationen der beiden sich bei Lösungsentmischung ausbildenden Phasen liegen. Die als Spinodale bezeichnete gestrichelte

lilafarbene Hilfslinie verbindet hingegen diejenigen Punkte miteinander, an denen die Funktion der freien Mischungsenthalpie $\Delta G_{mix} = f(x_B)$ eine Wendetangente aufweist und liefert somit ein thermodynamisches Argument, um instabile und metastabile Bereiche des Zweiphasengebiets voneinander abzugrenzen.⁶²

Das gemeinsame Minimum der Binodalen und Spinodalen markiert im Phasendiagramm die sog. untere kritische Lösungstemperatur (engl. lower critical solution temperature, LCST), bei der ein scharfer Übergang von einer stabilen einphasigen Mischung zu einem heterogenen Zweiphasensystem erfolgt. Im Falle einer wässrigen Polymerlösung bedeutet dies, dass das Polymer beim Erreichen der LCST beginnt sich vom Lösungsmittel zu separieren, was aufgrund der Lichtstreuung an den sich ausbildenden Phasengrenzen üblicherweise mit dem Einsetzen einer makroskopisch sichtbaren Trübung in der zuvor klaren Lösung einhergeht.⁶² Ursache für diese Phasenseparation ist der mit zunehmender Temperaturerhöhung mehr und mehr fortschreitende molekulare Übergang des Polymers von einer enthalpisch begünstigten, ausgedehnten Knäulgestalt (engl. random coil) hin zu einer wesentlich kompakteren, dehydratisierten, kugelförmigen Struktur, welche entropisch bevorzugt ist.⁶³ Bei diesem Prozess wird, gemäß der Gibbs-Helmholtz-Gleichung 2.1, die freie Mischungsenthalpie ΔG_{mix} des Systems minimiert, da die Mischungsentropie ΔS_{mix} bei hoher Temperatur T die Mischungsenthalpie ΔH_{mix} überkompensiert.

$$\Delta G_{mix} = \Delta H_{mix} - T \cdot \Delta S_{mix} \quad (2.1)$$

Dieses Phänomen eines temperaturinduzierten hydrophil-hydrophoben Phasenübergangs ist meist vollständig reversibel, sodass bei Abkühlung der Polymerlösung der ursprüngliche Zustand einer homogenen einphasigen Mischung wiederhergestellt werden kann. Besonders oft wird eine LCST in Polymermischungen mit stark polaren Lösungsmitteln, wie z. B. Wasser oder Alkoholen, beobachtet, weil hier die für die Solvation entscheidenden H-Brückenbindungen bei niedriger Temperatur ausreichend stark ausgeprägt sind. Erst mit T -Erhöhung werden diese Wechselwirkungen schwächer, bis schließlich irgendwann die Phasenseparation einsetzt.⁶¹ In diesem Kontext sei daraufhin gewiesen, dass die LCST von Polymer-Lösungsmittel-Gemischen oftmals auch in erheblichem Maße von strukturellen Parametern, wie etwa dem Polymerisationsgrad,⁶⁴ der Taktizität⁶⁵ oder der Art der Endgruppen,⁶⁶ beeinflusst wird.

Neben den bisher besprochenen LCST-Polymeren existieren auch solche Makromoleküle, die in ihrem Phasendiagramm eine obere kritische Lösungstemperatur (engl. upper critical

solution temperature, UCST) aufweisen und sich daher erst bei T -Erhöhung mit einem Lösungsmittel, wie z. B. Wasser, mischen. Auch für solche Polymersysteme mit UCST-Verhalten gibt es in der Literatur zahlreiche Beispiele, auf die an dieser Stelle verwiesen sei.⁶⁷⁻⁶⁹

Ein weiterer, insbesondere für medizinische und pharmazeutische Anwendungen, hoch interessanter Stimulus ist der pH-Wert.³² Voraussetzung dafür, dass ein Polymer auf den pH-Wert als externen Reiz reagieren kann, sind (schwach) saure oder basische funktionelle Gruppen (z. B. Phosphor- oder Carbonsäuregruppen bzw. tertiäre Amineinheiten) innerhalb der Polymerstruktur, wobei es unerheblich ist ob sich diese Einheiten in der Haupt- oder Seitenkette befinden.⁷⁰ Solche Gruppen besitzen die Fähigkeit Protonen bei pH-Wertveränderungen im umgebenden Medium abzugeben oder aufzunehmen. Die so generierten (zusätzlichen) Ladungen innerhalb des Polymers induzieren elektrostatische Wechselwirkungen, welche je nach pH-Wert zu einer Expansion oder zum Kollaps der Polymerketten in wässriger Lösung führen, wobei Letzteres oftmals eine Phasenseparation auslöst oder zumindest stark begünstigt.⁷¹

Bekannt Polysäuren, wie etwa Poly(acrylsäure) mit einem pK_s -Wert von rund 5,⁷² schwellen im Basischen an, da sie ihre aciden Protonen unter diesen Bedingungen abgeben. Polybasen, wie z. B. Poly(N,N -dimethylaminoethylmethacrylat) mit einem pK_s -Wert von etwa 8,⁷³ quellen hingegen im sauren Milieu auf, da in dieser Umgebung eine Protonenaufnahme stattfindet. Grund dafür sind, wie bereits erwähnt, die erzeugten negativen bzw. positiven Ladungen entlang der Polymerkette, welche bedingt durch die sog. Coulomb-Abstoßung zur Expansion des Makromoleküls führen. Solch elektrostatischen Wechselwirkungen erhöhen im Allgemeinen die LCST einer Mischung, da diese dem Kollaps der gleichartig geladenen Polymerketten und einer damit verbundenen etwaigen Phasenseparation entgegenwirken.

Elektrostatische Wechselwirkungen spielen auch beim Reiz Ionenstärke eine entscheidende Rolle, welche gemäß Lewis und Randall ein Maß für die elektrische Feldstärke in einer Lösung aufgrund der darin gelösten Ionen darstellt.⁷⁴ Berechnet wird die Ionenstärke I definitionsgemäß mithilfe von Gleichung 2.2 anhand der Stoffmengenkonzentration c_i einer Ionensorte i und deren jeweilige Ladungszahl z_i .

$$I = \frac{1}{2} \cdot \sum_i c_i \cdot z_i^2 \quad (2.2)$$

Da bei der Bestimmung der Ionenstärke I nach Gleichung 2.2 die Ionenladung z_i quadratisch in die Berechnung einfließt, liefern mehrfach geladene Ionen im Vergleich zu einwertigen, bei gleicher Konzentration, einen deutlich größeren Beitrag zur Ionenstärke. Einen Spezialfall stellen hierbei vollständig dissoziierte 1:1-Elektrolyte, wie z. B. NaCl, mit einfach geladenen Ionen dar, da bei diesen die Ionenstärke I genau der Salzkonzentration entspricht.

Sind in einem Polymer, beispielsweise aufgrund eines entsprechenden pH-Wertes in der Lösung, gleichartige Ladungen entlang der makromolekularen Kette vorhanden, so führt dies durch elektrostatische Coulomb-Abstoßung zu einer ausgedehnteren Knäuelgestalt. Diese Expansion kann allerdings durch eine Ladungskompensation, z. B. mittels entgegengesetzt geladener Ionen, verhindert werden, wobei die elektrostatische Abschirmwirkung in der Lösung mit ansteigender Ionenstärke I zunimmt. Dieser auch als Aussalzeffekt wohlbekannte Zusammenhang führt somit zu einer verstärkten Dehydratisierung der Polymerketten, da diese mit den gelösten Ionen um die Bindung des Wassers als Solvatationsmittel konkurrieren. Dies bewirkt wiederum, dass eine mögliche Phasenseparation, ausgelöst durch den Polymerkettenkollaps, begünstigt wird, sodass eine Erhöhung der Ionenstärke üblicherweise mit einer Absenkung der LCST eines Polymer-Lösungsmittel-Gemisches einhergeht.⁷⁵ Das hinsichtlich des Phasenseparationsverhaltens von Makromolekülen (z. B. Proteinen) auch die "Art" der gelösten Ionen eine wichtige Rolle spielt, wurde bereits 1888 durch den Chemiker Franz Hofmeister empirisch belegt.⁷⁶ Seine Erkenntnisse wurden in der nach ihm benannten Hofmeister-Reihe zusammengefasst, welche den unterschiedlichen Einfluss verschiedener Ionenarten auf hydrophobe Wechselwirkungen beschreibt.

2.1.2 Mechanismen der Multiresponsivität

Nachdem im Kapitel 2.1.1 einige ausgewählte Reize vorgestellt wurden, soll nun auf das durchaus komplexe Zusammenspiel mehrerer unterschiedlich ansprechbarer, funktioneller Gruppen in einem multiresponsiven Polymer näher eingegangen werden. Grundsätzlich lassen sich hierbei insgesamt drei verschiedene Wechselwirkungsmechanismen unterscheiden, die im Folgenden anhand von Beispielen dargelegt werden sollen.

Beim sog. parallelen Mechanismus reagieren die unterschiedlichen funktionellen Einheiten in einem multiresponsiven Polymer quasi unabhängig voneinander und beeinflussen sich daher in ihrer reizbedingten Reaktion gegenseitig nicht, weshalb solche Reiz-Antwort-Systeme häufig auch als orthogonal bezeichnet werden.²⁸ Ein Beispiel für ein Makromolekül mit einem solchen parallelen Wirkungsmechanismus ist ein von Jochum und Mitarbeitern synthetisiertes

Poly(*N*-isopropylacrylamid) (PNIPAM) dessen Isopropylgruppen teilweise durch photochemisch aktive Fulgimideinheiten substituiert wurden.⁷⁷ Wird dieses statistische Copolymer mit elektromagnetischer Strahlung geeigneter Wellenlänge bestrahlt, so findet aufgrund der photochromen Eigenschaften der Fulgimide zwar eine reversible Isomerisierung der Fulgimidgruppen statt, welche aber die LCST des PNIPAMs in wässriger Lösung nicht beeinflusst.

Einen weiteren Mechanismus stellt die als kausal oder ursächlich bezeichnete Wechselwirkung dar, bei der verschiedenartige funktionelle Einheiten eines Makromoleküls auf charakteristische Art und Weise miteinander interagieren. Wird bei einem solch kausalen multiresponsiven Polymer ein externer Stimulus angewendet, so reagiert die angesprochene Funktionalität entsprechend. Dabei generiert sie gleichzeitig selbst einen neuen Reiz, welcher eine weitere funktionelle Gruppe zu einer, verglichen mit der Antwort der ersten Einheit, andersartigen Reaktion anregt. Die Erzeugung eines solchen neuen Reizes kann hierbei entweder über kleinere strukturelle Änderungen, wie z. B. eine Konformationsumwandlung, oder durch eine vollständige Umgebungsveränderung innerhalb des gesamten Polymers, etwa durch einen hydrophil-hydrophoben Übergang erfolgen.²⁸

Als Beispiel für ein solch kausales Polymersystem sei auf die Arbeiten von Phillips und Gibson verwiesen, welche thermoresponsive PNIPAM-Makromonomere mittels redoxaktiver Disulfidbrücken verknüpft haben.⁷⁸ Diese können z. B. durch das Tripeptid Glutathion, einem im menschlichen Organismus in hoher Konzentration vorkommenden Antioxidationsmittel, reduktiv gespalten werden. Aufgrund der so entstehenden kleineren Polymerkettenfragmente und der vorhandenen Molekulargewichtsabhängigkeit des LCST-Verhaltens von PNIPAM, kann die typischerweise mit einer Trübung der Lösung einhergehende Phasenseparation ohne Temperaturänderung (isothermer Übergang) rückgängig gemacht werden.

Als Letztes soll auch der sog. serielle bzw. fortlaufende Wechselwirkungsmechanismus in multiresponsiven Polymeren vorgestellt werden. Bei diesem verstärkt der Einfluss einer Struktureinheit die Wirkung der durch einen äußeren Reiz stimulierten Antwort einer anderen funktionellen Gruppe. D. h., dass die Auswirkungen der angeregten Reaktion der einen Funktionalität einen additiven Effekt auf die Antwort einer anderen ausüben. In diesem Kontext spielen vor allem thermo- und pH-responsive Makromoleküle eine wichtige Rolle, da sie sich beispielsweise für pharmazeutische Anwendungen, etwa in der Krebstherapie, eignen. Grund dafür ist unter anderem die Tatsache, dass sich Tumore und gesundes Gewebe deutlich

in ihrer Temperatur, als auch im pH-Wert unterscheiden, was zur Auslösung einer autonomen Reaktion im Krebsgewebe genutzt werden kann.⁷⁹ Die typischerweise für eine solche Anwendung eingesetzten multiresponsiven System bestehen oft aus funktionellen Einheiten, wie z. B. Carbon- oder Phosphorsäuregruppen bzw. tertiäre Amineinheiten, die entweder durch Dissoziation oder Protonenaufnahme ionische Gruppen ausbilden können und meist am Rückgrat (engl. backbone) eines LCST-Polymers befestigt sind.²⁸

Neben komplexen Copolymeren existieren aber auch "einfache" Homopolymere, wie z. B. Poly(*N,N*-dimethylaminoethylmethacrylat), welche eine serielle Wechselwirkung ihrer temperatur- und pH-responsiven Funktionalitäten zeigen. Bei absinkendem pH-Wert werden durch fortschreitende Protonierung der Aminogruppen entlang der makromolekularen Kette immer mehr positive Ladungen erzeugt. Dies wirkt, selbst bei höheren Temperaturen, aufgrund der erhöhten elektrostatischen Coulomb-Abstoßung einer Polymerphasenseparation unter sauren Bedingungen effektiv entgegen.⁸⁰ Hierbei ist, wie bereits zuvor erwähnt, der genaue Wert der LCST eines Polymer-Lösungsmittel-Gemisches neben dem pH-Wert und der Ionenstärke der Lösung auch stark von strukturellen Parametern, wie z. B. dem Polymerisationsgrad⁶⁴ oder der Taktizität,⁶⁵ abhängig.

2.1.3 Poly(phosphoester)

Wie Abbildung 2.2 zeigt, lassen sich PPEs generell in vier verschiedene Kategorien einteilen.

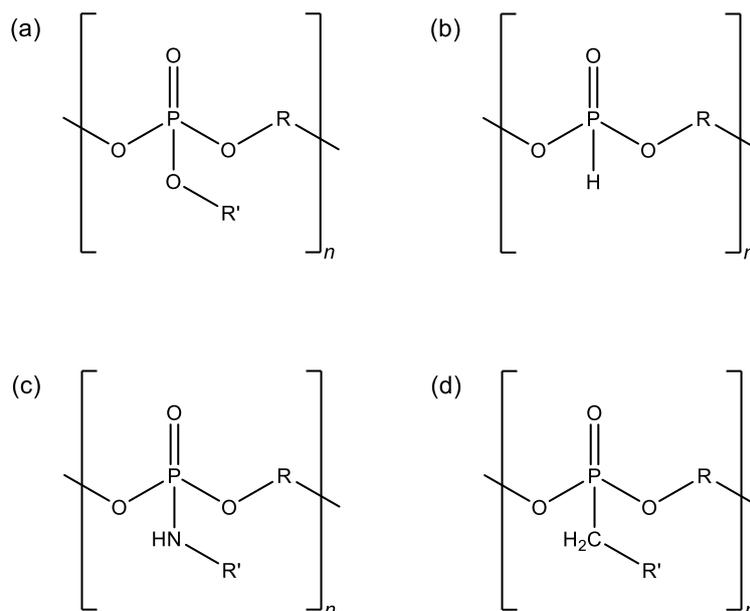


Abbildung 2.2: Allgemeine Strukturformeln der vier unterschiedlichen PPE-Polymerklassen mit den variablen Struktureinheiten R und R'. (a) Poly(phosphat)e, (b) Poly(alkylen-H-phosphonat)e, (c) Poly(phosphoamidat)e und (d) Poly(phosphonat)e.

Die von der Phosphorsäure (H_3PO_4) abstammenden sog. Poly(phosphat)e der Gruppe (a) besitzen eine charakteristische P–O-Bindung in ihrer Polymerseitenkette, wobei Phosphor in diesen Verbindungen stets die Oxidationsstufe +V aufweist. Polymere der Klasse (b), welche auch als Poly(alkylen-H-phosphonat)e bezeichnet werden, besitzen hingegen keine (kohlenstoffhaltige) Seitenkette und sind aufgrund der Oxidationsstufe +III des Phosphors eng mit der Phosphonsäure (H_3PO_3) verwandt. Die sog. Poly(phosphoamidat)e der Gruppe (c) unterscheiden sich von den Poly(phosphat)en strukturell durch ihre P–N-Bindung zur Befestigung der Polymerseitenkette, wobei Phosphor auch in diesen Verbindungen wiederum die Oxidationsstufe +V aufweist. Im Falle der Klasse (d) der sog. Poly(phosphonat)e beträgt die Oxidationsstufe des Phosphors +III, wobei die Polymerseitenkette hier über eine direkte, hydrolysestabile P–C-Bindung an das Polyestergrundgerüst (engl. backbone) gebunden ist. Dies macht die Poly(phosphonat)e chemisch vergleichsweise stabil, da auch eine thermische oder photokatalytische P–C-Bindungsspaltung nur unter äußerst drastischen Bedingungen möglich ist.^{81–83} Insofern unterscheidet sich die Gruppe der Poly(phosphonat)e diesbezüglich signifikant von den Klassen (a) und (c), da sich deren P–O- bzw. P–N-Seitenkettenbindungen, insbesondere im basischen Milieu, durch einen nukleophilen Angriff schon bei Raumtemperatur relativ leicht hydrolytisch spalten lassen.⁸⁴

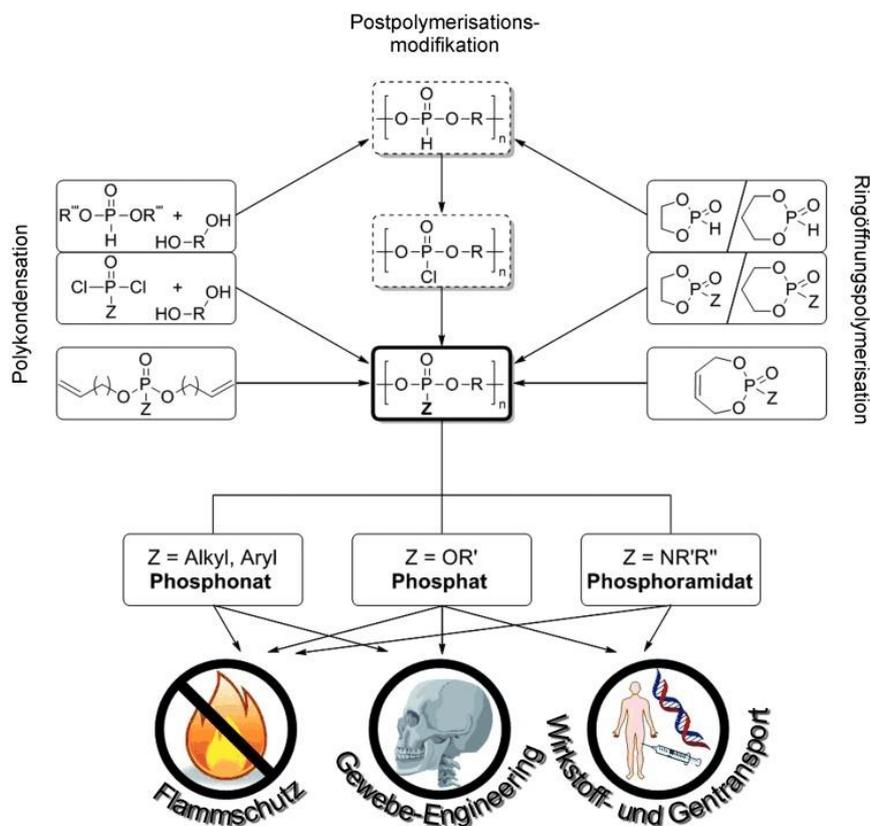


Abbildung 2.3: Übersicht verschiedener Synthesestrategien zur Herstellung von PPEs sowie deren mögliche Einsatzgebiete. Abbildung entnommen aus Referenz 45.

Synthetisch sind smarte responsive PPE-Polymersysteme über eine ganze Reihe verschiedener Polymerisationsstrategien (siehe Abbildung 2.3) zugänglich, wobei die dafür notwendigen Monomere durch eine Vielzahl bekannter chemischer Reaktionen, wie z. B. die Michaelis-Arbuzov- oder Michaelis-Becker-Reaktion,^{85,86} aus kommerziell erhältlichen Ausgangsstoffen hergestellt werden können.^{45,87,88} Neben der Polykondensation und Polyaddition als klassische Stufenwachstumsreaktionen werden heutzutage auch andere (modernere) Methoden, wie z. B. Polymerisation mittels Olefinmetathese, enzymatisch katalysierte Polymerisation, oder Ringöffnungspolymerisation (ROP) eingesetzt, wobei sich gerade für letztere fünfgliedrige Cyclomonomere aufgrund ihrer Ringspannung besonders gut eignen.^{45,89–93} Insbesondere die anionische ROP von 2-Alkyl-2-oxo-1,3,2-dioxaphospholanen mittels Organokatalysatoren, wie z. B. 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), erlaubt aufgrund ihres "lebenden" Mechanismus eine exakte Kontrolle der Polymerstruktur bei gleichzeitig enger Molmassenverteilung und gut einstellbarem Molekulargewicht.⁵¹ Des Weiteren ermöglichen lebende Polymerisationsmechanismen auch die Herstellung von wohldefinierten Copolymeren, deren Eigenschaften durch Auswahl und Kombination verschiedener Arten von Seitenketten sowie deren relativen Anteil gezielt auf die jeweils gewünschte Anwendung ausgerichtet werden können.^{94,95} Durch weitere Postpolymerisationsmodifikationen, z. B. mittels Click-Chemie, sind vielfältigste Polymerarchitekturen (linear, (hyper)verzweigt oder vernetzt) zugänglich, wobei sich etwa die Geschwindigkeit des biologischen Abbauprozesses anhand der Mikrostruktur exakt steuern lässt.^{45,51,96–98} Dies macht PPEs in Kombination mit ihrer hohen Biokompatibilität, welche durch die geringe Zytotoxizität bedingt ist, für unglaublich viele Einsatzzwecke, z. B. als nicht toxische Flammenschutzmittel,^{45,96,99–101} hoch effiziente Wirkstoffträgersysteme für die Gentransfektion^{45,102–105} oder zum Transport von Krebstherapeutika^{103,106–108} bzw. Antibiotika^{45,109} sowie anderen Biomolekülen,^{102,103,110} sehr interessant (vgl. Abbildung 2.3).

2.2 EPR-Spektroskopie

2.2.1 Grundlagen

Die EPR-Spektroskopie, welche teilweise auch als Elektronenspinresonanz (ESR) bezeichnet wird, beschäftigt sich mit der Untersuchung der Magnetisierung ungepaarter Elektronen, wie sie z. B. in Radikalen oder paramagnetischen Übergangsmetallkomplexen vorkommen. Physikalische Grundlage für diese Magnetresonanzmethode stellt der als Spin (engl. to spin = sich drehen) bezeichnete Eigendrehimpuls S des ungepaarten Elektrons dar, welcher erstmals

1922 von Stern und Gerlach experimentell nachgewiesen wurde.¹¹¹ Den Gesetzen der klassischen Physik zufolge, erzeugt jede bewegte elektrische Ladung, etwa ein rotierendes Elektron, ein Magnetfeld, weshalb auch der Spindrehimpuls S , gemäß Gleichung 2.3, mit einem magnetischen Moment μ verbunden ist.

$$\mu = -\frac{g \cdot \mu_B}{\hbar} \cdot S \quad (2.3)$$

Hierbei stellt μ_B , als Grundeinheit für atomare magnetische Momente, das sog. Bohr'sche Magneton und \hbar das durch 2π dividierte Planck'sche Wirkungsquantum h dar. Die einheitenlose Größe g , welche auch gyromagnetischer Faktor oder Landé-Faktor genannt wird, fungiert als Proportionalitätskonstante zwischen μ und S . Hierbei zeigt das negative Vorzeichen in Gleichung 2.3 an, dass das magnetische Moment eines Elektrons und sein Spinmoment stets entgegengesetzt zueinander ausgerichtet sind. Für ein freies Elektron nimmt g einen spezifischen Wert von $g_e = 2,002319\dots$ an, welcher sich bei einem gebundenen Elektron je nach Molekülgeometrie und chemischer Umgebung leicht verändert, was wiederum zu einer Verschiebung der Resonanzlinien im EPR-Spektrum führt. Somit stellt der exakte Wert des Landé-Faktors eine charakteristische Größe für das jeweilige System dar, aus welchem sich Informationen über die elektronische bzw. atomare Struktur und die Umgebung ableiten lassen, weshalb g gewissermaßen mit der chemischen Verschiebung δ in der NMR-Spektroskopie (engl. nuclear magnetic resonance) korrespondiert.¹¹²⁻¹¹⁴

Wird ein ungepaartes Elektron mit seinem Spindrehimpuls S und dem damit verbundenen magnetischen Moment μ in ein äußeres, entlang der z-Achse ausgerichtetes, statisches Magnetfeld mit der magnetischen Flussdichte B_0 eingebracht, so kann seine Komponente in Feldrichtung S_z , aufgrund der Gesetze der Quantenmechanik, gemäß Gleichung 2.4 nur Vielfache von \hbar annehmen.

$$S_z = m_S \cdot \hbar \quad (2.4)$$

Hierbei existieren für die magnetische Spinquantenzahl m_S genau zwei verschiedene Werte, sodass es lediglich die Orientierungsmöglichkeiten „Spin up \uparrow “ ($m_S = +1/2$) und „Spin down \downarrow “ ($m_S = -1/2$) für den Spindrehimpuls S_z in Richtung der z-Achse gibt. Das mit S_z verbundene, entgegengesetzt gerichtete, magnetische Moment μ_z lässt sich mithilfe von Gleichung 2.4, in Analogie zu Formel 2.3, wie folgt definieren.

$$\mu_z = -\frac{g \cdot \mu_B}{\hbar} \cdot S_z = -g \cdot \mu_B \cdot m_S \quad (2.5)$$

Da die Energie E eines magnetischen Dipols in einem Magnetfeld der Flussdichte B_0 nach Gleichung 2.6 von seinem magnetischen Moment μ_z abhängt existieren für das ungepaarte Elektron lediglich die beiden Energiezustände $E_{\uparrow} = +\frac{1}{2} \cdot g \cdot \mu_B \cdot B_0$ und $E_{\downarrow} = -\frac{1}{2} \cdot g \cdot \mu_B \cdot B_0$.

$$E = -\mu_z \cdot B_0 = m_S \cdot g \cdot \mu_B \cdot B_0 \quad (2.6)$$

Die Entartung der Energieniveaus E_{\uparrow} und E_{\downarrow} wird allerdings erst durch das Anlegen eines äußeren Magnetfelds aufgehoben, sodass es zur sog. Zeeman-Aufspaltung kommt, welche in Abbildung 2.4 gezeigt ist.

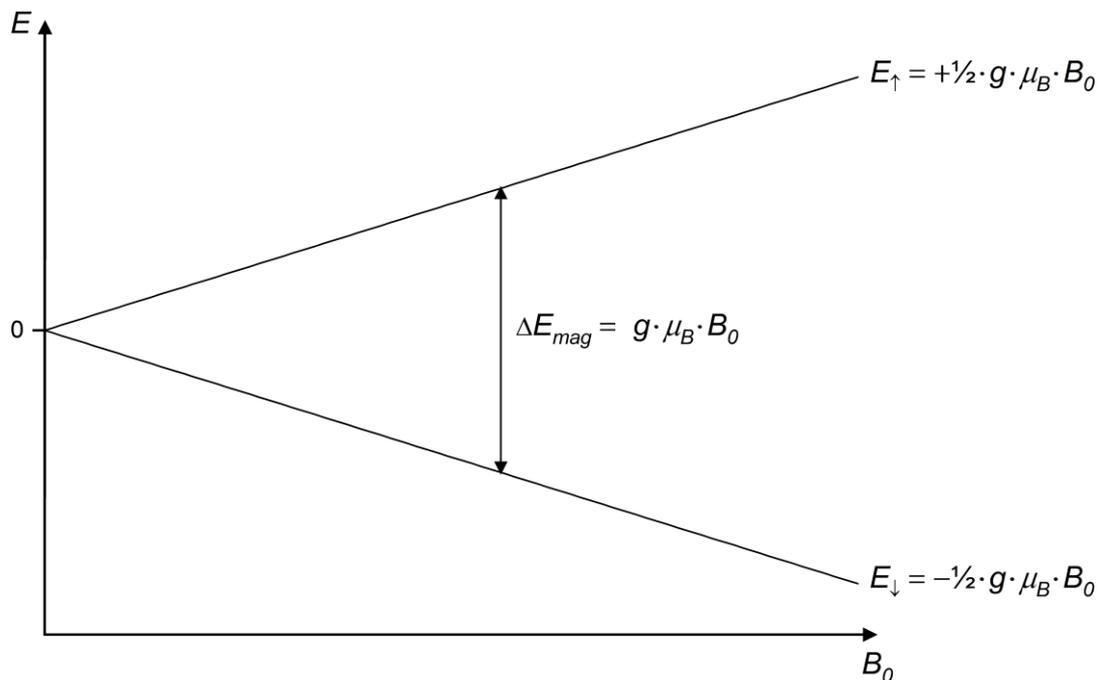


Abbildung 2.4: Zeeman-Aufspaltung eines freien Elektrons in einem externen statischen Magnetfeld der magnetischen Flussdichte B_0 mit den beiden Energieniveaus E_{\uparrow} und E_{\downarrow} , sowie der für einen Spinübergang benötigten Energiedifferenz ΔE_{mag} .

Mit der quantenmechanischen Auswahlregel $\Delta m_S = \pm 1$ für einen Spinübergang, wie er in Abbildung 2.4 angedeutet ist, ergibt sich für die Energiedifferenz ΔE_{mag} zwischen den beiden benachbarten Energiezuständen E_{\uparrow} und E_{\downarrow} der in Gleichung 2.7 dargestellte Zusammenhang.

$$\Delta E_{mag} = E_{\uparrow} - E_{\downarrow} = g \cdot \mu_B \cdot B_0 \quad (2.7)$$

Die für eine Anregung der Elektronenspins benötigte Energie ΔE_{mag} kann beispielsweise durch elektromagnetische Strahlung geeigneter Frequenz ν zugeführt werden, da diese Photonen mit der Energie ΔE_{str} beinhaltet.

$$\Delta E_{str} = h \cdot \nu \quad (2.8)$$

Eine Energieabsorption kann aber immer nur dann erfolgen, wenn die Resonanzbedingung $\Delta E_{str} = \Delta E_{mag}$ erfüllt ist, welche durch Kombination von Gleichung 2.7 und 2.8 die als Grundgleichung der Magnetresonanzspektroskopie bezeichnete Formel 2.9 liefert.¹¹²⁻¹¹⁴

$$h \cdot \nu = g \cdot \mu_B \cdot B_0 \quad (2.9)$$

Allerdings wurden bei den bisherigen Überlegungen stets nur einzelne ungepaarte Elektronen in einem äußeren Magnetfeld betrachtet, obwohl messtechnisch lediglich Teilchenensembles zugänglich sind. Da sich aber, je nach Ausgangsenergie der Elektronenspins, Absorption und Emission bei der Einstrahlung elektromagnetischer Wellen geeigneter Frequenz ν prinzipiell mit der gleichen Wahrscheinlichkeit induzieren lassen, ist bei einem solchen Spinensemble allein der Besetzungsunterschied für das detektierbare EPR-Signal ausschlaggebend.¹¹²

Unter der Voraussetzung, dass sich die Gesamtheit der betrachteten Teilchen mit ihrer Umgebung im thermodynamischen Gleichgewicht befindet, sollte gemäß der Boltzmann-Statistik die Besetzungszahl des energieärmeren Zustandes N_{\downarrow} etwas größer sein, als die des energiereicheren Niveaus N_{\uparrow} , sodass in diesem Fall die Absorption im Mittel überwiegt. Hierbei lässt sich das genaue Besetzungszahlenverhältnis $N_{\downarrow}/N_{\uparrow}$ mithilfe der absoluten Temperatur T und der Boltzmann-Konstanten k_B wie folgt berechnen.

$$\frac{N_{\downarrow}}{N_{\uparrow}} = e^{\frac{\Delta E_{mag}}{k_B \cdot T}} = e^{\frac{g \cdot \mu_B \cdot B_0}{k_B \cdot T}} = e^{\frac{h \cdot \nu}{k_B \cdot T}} \quad (2.10)$$

Aus Gleichung 2.10 geht hervor, dass die Energiedifferenz ΔE_{mag} zwischen den beiden Energiezuständen eine entscheidende Rolle für die Größe des Besetzungsunterschiedes und damit auch für die Empfindlichkeit der EPR-Messung spielt, da nur der relative Überschuss an Teilchen im energieärmeren Niveau E_{\downarrow} effektiv zum EPR-Signal beiträgt. Mit dem Ausdruck für ΔE_{mag} aus Formel 2.7 zeigt sich, dass das Besetzungszahlenverhältnis $N_{\downarrow}/N_{\uparrow}$ mit

größer werdender magnetischer Flussdichte B_0 des externen Magnetfeldes zunimmt, da die Energiedifferenz, wie in Abbildung 2.4 gezeigt, linear mit B_0 anwächst.

Mit der Grundgleichung der Magnetresonanzspektroskopie in Formel 2.9 lässt sich darüber hinaus feststellen, dass auch ein Anstieg von ν eine Erhöhung des Besetzungsunterschiedes bewirkt. Diese signifikante Vergrößerung der Besetzungszahldifferenz ist Grund dafür, warum die Messempfindlichkeit in der EPR-Spektroskopie bei höherer Frequenz ν bzw. magnetischer Flussdichte B_0 deutlich ansteigt. Prinzipiell kann nach Gleichung 2.10 auch eine Temperaturniedrigung zur Erhöhung des Besetzungszahlenverhältnis $N_{\downarrow}/N_{\uparrow}$ und damit zu einer besseren Empfindlichkeit beitragen. Dies wird jedoch in der EPR-Spektroskopie nur selten ausgenutzt, da die eingestrahlte Mikrowellenenergie zumeist eine starke Störung des thermodynamischen Gleichgewichts bewirkt, sodass der Besetzungsunterschied rasch wieder ausgeglichen wird.¹¹²

Setzt man in Gleichung 2.10 für eine EPR-Messung typische Werte von $T = 300$ K und $\nu = 10$ GHz (sog. X-Band) ein, so ergibt sich ein Besetzungszahlenverhältnis $N_{\downarrow}/N_{\uparrow}$ von rund 1,0016, was einem Besetzungsunterschied von gerade einmal 0,16 % entspricht. D. h., dass nur etwa jeder tausendste Spinzustand anregbar ist und somit nur ein sehr kleiner Teil aller in der Probe vorhandenen Elektronenspins überhaupt zum Resonanzsignal beiträgt. Vergleicht man diesen Wert jedoch mit dem eines NMR-Experiments bei gleichen Bedingungen, so stellt man fest, dass die Besetzungszahldifferenz in diesem Fall noch wesentlich geringer ausfällt und nur noch jeder millionste Kernspin angeregt werden kann. Aus diesem Grund ist die EPR- verglichen mit der NMR-Spektroskopie, allein schon bedingt durch das größere magnetische Moment eines freien Elektrons, um gut drei Größenordnungen empfindlicher. Dafür ist sie im Gegenzug aber auch auf das Vorhandensein ungepaarter Elektronenspins angewiesen. Da allerdings eine Elektronenpaarbildung, z. B. bei der chemischen Bindung, aufgrund des Pauli-Prinzips generell mit der gegenseitigen Aufhebung des Elektronenspins einhergeht, ist die EPR-Spektroskopie auf eine vergleichsweise kleine Zahl paramagnetischer Systeme beschränkt. Andererseits kann diese Tatsache bei der Untersuchung komplexer Materie auch hilfreich sein, da die seltenen paramagnetischen Spezies, anders als z. B. ^1H -Kerne in der NMR-Spektroskopie, selektiv und mit hoher Empfindlichkeit detektiert werden können.¹¹²

Nichtsdestotrotz gehören die Magnetresonanzmethoden, verglichen mit vielen anderen Spektroskopiearten, wie z. B. Fluoreszenz-, UV/VIS- oder IR-Spektroskopie, aufgrund der kleinen Besetzungsunterschiede zu den eher unempfindlicheren Messtechniken.

2.2.2 Wechselwirkungen und Spin-Hamilton-Operator

Bisher wurde nur die Wechselwirkung des Elektronenspins mit einem externen Magnetfeld betrachtet, welche zur sog. Zeeman-Aufspaltung führte (vgl. Kapitel 2.2.1). Da aber der Spin des ungepaarten Elektrons eine fundamentale quantenmechanische Größe ist, welche bei klassischer Vorstellungsweise die spezifischen Eigenschaften eines Drehmomentes aufweist, müssen bei der theoretischen Betrachtung auch Wechselwirkungen mit anderen magnetischen Momenten in der Probe berücksichtigt werden.¹¹²

Ursache für diese sog. inneren Magnetfelder können beispielsweise die Kernspins benachbarter Atomkerne oder die Spinmomente weiterer ungepaarter Elektronen sein, wobei die Bestimmung und Interpretation der charakteristischen Parameter eben dieser inneren Wechselwirkungen das eigentliche Ziel der EPR-Spektroskopie darstellt. Gemäß Gleichung 2.11 lassen sich alle Wechselwirkungen des ungepaarten Elektronenspins im sog. Spin-Hamilton-Operator \hat{H}_S zusammenfassen, welcher erstmals 1951 von Abragam und Pryce hergeleitet wurde.¹¹⁵ Dieser betrachtet die Spinwechselwirkungen isoliert von allen anderen elektronischen Übergängen, da deren Energiebeiträge wesentlich größer sind und diese aus EPR-spektroskopischer Sicht zumeist konstant bleiben.¹¹⁶

$$\hat{H}_S = \hat{H}_{EZ} + \hat{H}_{ZFS} + \hat{H}_{LS} + \hat{H}_{ee} + \hat{H}_{HF} + \hat{H}_{NZ} + \hat{H}_{NQ} \quad (2.11)$$

Die in Gleichung 2.11 enthaltenen Terme haben je nach experimenteller Situation eine unterschiedlich große Bedeutung, sodass z. B. in Lösung die Summanden \hat{H}_{ZFS} und \hat{H}_{NQ} vernachlässigt werden können, während etwa der vorletzte Term \hat{H}_{NZ} nur in Festkörpern oder bei Doppelresonanzexperimenten in Flüssigkeiten berücksichtigt werden muss.¹¹⁶ Somit lässt sich bei bestimmten Systemen der komplexe Ausdruck für den Spin-Hamilton-Operator \hat{H}_S deutlich vereinfachen, dessen einzelne Terme im Folgenden kurz vorgestellt werden sollen.

Elektronen-Zeeman-Wechselwirkung \hat{H}_{EZ} :

Der erste Summand \hat{H}_{EZ} in Formel 2.11 gibt die bereits detailliert dargelegte Wechselwirkung des Elektronenspins mit einem äußeren Magnetfeld der magnetischen Flussdichte B wieder und führt zur sog. Zeeman-Aufspaltung (vgl. Kapitel 2.2.1). Dieser Term dominiert im Normalfall alle anderen Summanden des Spin-Hamilton-Operators und lässt sich mithilfe des sog. Spinoperators \hat{S} wie folgt ausdrücken.¹¹⁴

$$\hat{H}_{EZ} = g \cdot \mu_B \cdot B \cdot \hat{S} \quad (2.12)$$

Hierbei sind sowohl der Spinoperator \hat{S} , als auch die magnetische Flussdichte B des externen Magnetfeldes in Gleichung 2.12 anisotrope (richtungsabhängige) Größen und stellen daher Vektoren dar. Somit entspricht auch der, für die Bindungssituation des ungepaarten Elektrons charakteristische, Landé-Faktor g hier einem komplexen Tensor, welcher sich zu einer symmetrischen Matrix mit den drei Hauptkomponenten g_{xx} , g_{yy} und g_{zz} entlang der drei Raumrichtungen diagonalisieren lässt. Bei ausreichend schneller isotroper Rotation, z. B. in Lösung, mitteln sich die richtungsabhängigen Wechselwirkungen gemäß Gleichung 2.13 aus, sodass der Landé-Faktor in den Skalar g_{iso} übergeht.^{116,117}

$$g_{iso} = \frac{1}{3} \cdot (g_{xx} + g_{yy} + g_{zz}) \quad (2.13)$$

Nullfeldaufspaltung \hat{H}_{ZFS} :

Der zweite Term \hat{H}_{ZFS} in Formel 2.11 beschreibt die sog. Nullfeldaufspaltung (engl. zero field splitting) und ist nur in Festkörpern bzw. bei Systemen mit einem Gesamtspin $S \geq 1$ von Bedeutung. In diesem Fall induzieren zwei oder mehr ungepaarten Elektronen in einem Atom, wie z. B. beim Mn^{2+} -Ion, ein inneres B -Feld, welches mit den Elektronenspins wechselwirkt, sodass es auch ohne äußeres Magnetfeld zur Aufspaltung der Energiezustände und damit zu magnetischen Übergängen kommt.^{114,116}

Spin-Bahn-Kopplung \hat{H}_{LS} :

\hat{H}_{LS} spiegelt als dritter Summand in Gleichung 2.11 den Einfluss der sog. Spin-Bahn-Kopplung (auch L - S -Kopplung genannt) im Spin-Hamilton-Operator wieder, welche vor allem in paramagnetischen Übergangsmetallkomplexen, z. B. von Cu^{2+} -Ionen, eine entscheidende Rolle spielt.¹¹⁶ Diese Kopplung kommt bei klassischer Betrachtungsweise dadurch zustande, dass das ungepaarte Elektron bei seiner Kreisbewegung um den Atomkern auch einen Bahndrehimpuls L erzeugt, welcher mit dem Elektronenspin S wechselwirkt. Diese Spin-Bahn-Wechselwirkung beeinflusst mit ihrer Kopplungskonstanten ζ direkt den Landé-Faktor g , indem sie zum charakteristischen Wert g_e für ein freies Elektron, mit reinem Spinmagnetismus, eine (chemische) Verschiebung δg zufügt, welche proportional zu $2 \cdot \zeta \cdot L$ ist.

$$g = g_e + \delta g \quad (2.14)$$

Somit stellt der im EPR-Experiment, gemäß Gleichung 2.14, tatsächlich gemessene g -Faktor eine Art Fingerabdruck des untersuchten Systems dar.^{114,116}

Elektronenspin-Elektronenspin-Wechselwirkung \hat{H}_{ee} :

Der vierte Term \hat{H}_{ee} in Formel 2.11 beschreibt im Gegensatz zur Nullfeldaufspaltung \hat{H}_{ZFS} nicht die Wechselwirkung mehrerer ungepaarter Elektronen in einem einzigen Atom, sondern die Interaktion von Elektronenspins in unterschiedlichen Atomen bzw. Molekülen. Hierbei kann generell zwischen zwei verschiedenen Mechanismen unterschieden werden.

Bei der sog. dipolaren Wechselwirkung durch den Raum, welche sich bei schneller isotroper Rotation ausmittelt, sind die ungepaarten Elektronen so weit voneinander entfernt, dass sie sich in der Ausrichtung ihrer Spinmomente gegenseitig nicht beeinflussen, was zu einer Linienverbreiterung im EPR-Spektrum führt. Ursache dafür ist, z. B. in Flüssigkeiten, die thermische Bewegung der Elektronenspin tragenden Atome oder Moleküle, aufgrund derer das lokale Magnetfeld über ein gewisses Gebiet in der Lösung verteilt ist. Infolgedessen wird das beobachtete Absorptionssignal (bzw. dessen 1. Ableitung), als Einhüllende aller in einem bestimmten B -Feldbereich auftretenden Resonanzlinien, verbreitert. Hierbei nimmt die Energie dieser Dipol-Dipol-Wechselwirkung mit der dritten Potenz des Abstandes d zwischen den wechselwirkenden Elektronenspins ab. Daher wird auch die Linienverbreiterung mit zunehmender diamagnetischer Verdünnung, beispielsweise durch Herabsetzung der Sondenkonzentration, geringer bis schließlich irgendwann andere Verbreiterungseffekte, wie z. B. Relaxationsphänomene, dominieren.¹¹²

Der sog. Heisenberg-Spinaustausch tritt als kurzreichweitige Wechselwirkung im Gegensatz zur zuvor erläuterten dipolaren Kopplung nur dann auf, wenn zwei Teilchen mit ungepaartem Elektron direkt miteinander kollidieren oder sich zumindest sehr nahe (d. h. $d < 1$ nm) kommen. In diesem Fall kann es, aufgrund der Elektronenpaarbildung, zu einem quantenmechanischen Austausch der Spinausrichtungen kommen, welcher auch als eine Art chemische Reaktion beschrieben werden kann. Ist diese Bindungsbildung jedoch zu stark, so sind die Elektronenspins nach dem Pauli-Prinzip strikt antiparallel ausgerichtet, sodass die Spinquantenzahl des Gesamtsystems null wird und dessen EPR-Signal verschwindet.¹¹²

Daher kann ein solcher Spinrichtungsaustausch ausschließlich dann beobachtet werden, wenn eine ausreichend schwache, aber dennoch "bindende", Wechselwirkung zwischen zwei paramagnetischen Spezies besteht. Da eine solch schwache Bindung üblicherweise nur von sehr begrenzter Reichweite ist, fällt ihre Wechselwirkungsenergie im Vergleich zur dipolaren

Kopplung durch den Raum wesentlich schneller ab, als mit d^{-3} . Bei Radikalpaaren in Lösung nimmt man beispielsweise an, dass die Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkung mit zunehmendem Abstand d der beiden Radikale näherungsweise exponentiell abfällt.^{116,118}

Hyperfeinaufspaltung \hat{H}_{HF} :

Der fünfte Summand \hat{H}_{HF} in Gleichung 2.11 gibt die sog. Hyperfeinwechselwirkung wieder, welche die Wechselwirkung des Elektronenspins S mit den Kernspins I der unmittelbar benachbarten Atomkerne beschreibt. Diese erzeugen mit ihrem Kernmoment ein zusätzliches Magnetfeld der Flussdichte B_I , welches sich gemäß Formel 2.15 zum äußeren B -Feld mit der magnetischen Flussdichte B_0 hinzuaddiert.¹¹²

$$B_{eff} = B_0 + B_I = B_0 + A \cdot m_I \quad (2.15)$$

Demzufolge spürt das ungepaarte Elektron ein um den Betrag $A \cdot m_I$ stärkeres effektives Magnetfeld der Flussdichte B_{eff} , wobei A den sog. Hyperfeinkopplungstensor und m_I die magnetische Kernspinquantenzahl darstellt. Hierbei existieren für m_I ($m_I = -I, -I + 1, \dots, I$), je nach Kernspinquantenzahl I , genau $2 \cdot I + 1$ verschiedene Werte, sodass das EPR-Absorptionssignal des ungepaarten Elektrons, gemäß dieser Spinmultiplizität und den quantenmechanischen Auswahlregeln $\Delta m_S = \pm 1$ bzw. $\Delta m_I = 0$, in entsprechend viele Linien aufgespalten wird.

Diese sog. Hyperfeinstruktur lässt unmittelbar Rückschlüsse auf die magnetische Umgebung und damit auch auf die Struktur des untersuchten Systems zu, da die Elektronenspin-Kernspin-Wechselwirkung \hat{H}_{HF} , aufgrund des im Vergleich zum Elektron wesentlich kleineren magnetischen Moments der Atomkerne, von deutlich kürzerer Reichweite ist, als die zuvor beschriebene Elektronenspin-Elektronenspin-Wechselwirkung \hat{H}_{ee} . Aus diesem Grund spielt auch die räumliche Verteilung des ungepaarten Elektrons in Kernnähe eine wichtige Rolle für die Hyperfeinkopplungskonstante A , welche ein Maß für die Stärke der Kopplung zwischen Elektronen- und Kernspin darstellt.^{113,114}

Hierbei lässt sich A prinzipiell in einen dipolaren und isotropen (richtungsunabhängigen) Anteil zerlegen, wobei Ersterer die klassische anisotrope Dipol-Dipol-Wechselwirkung des ungepaarten Elektrons mit den Kernspins der benachbarten Atomkerne im Abstand d durch den Raum beschreibt. Diese Wechselwirkung fällt allerdings, genau wie die bereits erläuterte dipolare Elektronenspin-Elektronenspin-Wechselwirkung, aufgrund ihrer d^{-3} -Abhängigkeit

mit zunehmender Entfernung des Elektrons vom Atomkern schnell ab. Daher ist sie auch nur bis zu einem Abstand von etwa 1 nm um den Elektronenspin herum wirksam.¹¹⁷

Außerdem ist dieser anisotrope Anteil zumeist nur in Festkörpern und hochviskosen Flüssigkeiten von Bedeutung, da sich ansonsten die richtungsabhängigen dipolaren Wechselwirkungen, ähnlich wie beim Landé-Faktor g (siehe Gleichung 2.13), bei ausreichend schneller isotroper Rotation in Lösung zumeist ausmitteln. In diesem Fall geht A , nach Diagonalisierung zu einer symmetrischen Matrix mit den Hauptkomponenten A_{xx} , A_{yy} und A_{zz} entlang der drei Raumrichtungen, gemäß Formel 2.16, in den Skalar a_{iso} über.^{114,116} Im aufgenommenen EPR-Spektrum ist dessen Betrag dann direkt, als Abstand zwischen den Nulldurchgängen der Resonanzsignale, zugänglich.

$$a_{iso} = \frac{1}{3} \cdot (A_{xx} + A_{yy} + A_{zz}) \quad (2.16)$$

Um den zweiten, isotropen Anteil der Hyperfeinkopplungskonstanten verstehen zu können, muss die bisher gewählte klassische Betrachtungsweise verlassen werden, da diese einen Abstand von $d = 0$, d. h. eine Berührung des Elektrons mit dem Atomkern, nicht zulässt. Das besser geeignete, allgemein gültige, quantenmechanische Bild hingegen erlaubt dies, da hier ein Elektron eine von null verschiedene Aufenthaltswahrscheinlichkeit am Ort des Atomkerns besitzen kann. Die hierbei entstehende sog. Fermi-Kontakt-Wechselwirkung ist aufgrund der kugelförmigen Gestalt des s-Orbitals des Atomkernes, in welchem sich das ungepaarte Elektron bei einem Abstand von $d = 0$ befindet, naturgemäß isotrop. Dieser Fermi-Kontakt-Anteil der Hyperfeinkopplung bleibt, bedingt durch seine Richtungsunabhängigkeit, auch in Flüssigkeiten bei schneller thermischer Bewegung der Teilchen bestehen und stellt somit eine wichtige Informationsquelle in einem EPR-Experiment dar.^{112,116}

Kern-Zeeman-Wechselwirkung \hat{H}_{NZ} :

Der vorletzte Term \hat{H}_{NZ} in Gleichung 2.11 beschreibt, in Analogie zur bereits ausführlich erläuterten Elektronen-Zeeman-Wechselwirkung \hat{H}_{EZ} , die Wirkung eines externen (äußeren) Magnetfeldes auf die Kernspins I , welche durch die Hyperfeinkopplung an den Elektronenspin S gekoppelt sind. Daher muss auch die sog. Kern-Zeeman-Wechselwirkung in die theoretische Betrachtung mit einfließen, sofern sie für den Spin-Hamilton-Operator \hat{H}_S von Bedeutung ist. Bei Flüssigkeiten ist dies im Allgemeinen nicht der Fall, wenn einmal von Doppelresonanzexperimenten abgesehen wird, bei denen ganz gezielt die Spektren der

Kernspins über die Elektronenspins detektiert werden, um beispielsweise auch kleine Hyperfeinwechselwirkungen besser auflösen zu können. Ursache dafür ist die Tatsache, dass sich bei schneller isotroper Rotation in Lösung der anisotrope Anteil von \hat{H}_{NZ} herausmittelt, wobei die Quantisierungsrichtung der Kernspins I parallel zur Richtung (z-Achse) des äußeren Magnetfeldes ausgerichtet ist. Somit kann das Verhalten der ungepaarten Elektronen auch ohne exakte Kenntnis der Verhaltensweise der Atomkerne oft hinreichend genau beschrieben werden.^{114,116}

Kern-Quadrupol-Wechselwirkung \hat{H}_{NQ} :

Der letzte Summand \hat{H}_{NQ} in Formel 2.11 gibt die sog. Kern-Quadrupol-Wechselwirkung wieder und tritt generell nur dann auf, wenn Atomkerne mit einem Kernspin $I \geq 1$ vorhanden sind. Bei solchen Kernen, wie z. B. dem ^{14}N -Stickstoff-Isotop mit $I(^{14}\text{N}) = 1$, ist die Ladungsverteilung nicht mehr kugelsymmetrisch, weshalb ein sog. Quadrupolmoment resultiert, welches mit dem elektrischen Feldgradienten am Kernort wechselwirkt. Aufgrund der bereits zuvor erwähnten Kopplung des Elektronenspins S an die umgebenden Kernspins I durch die Hyperfeinaufspaltung, muss beim Vorhandensein solcher Quadrupolkerne diese Kern-Quadrupol-Wechselwirkung im Spin-Hamilton-Operator \hat{H}_S berücksichtigt werden. Mit Ausnahme einiger Nebengruppenmetallionen, wie z. B. Cu^{2+} , ist der Beitrag von \hat{H}_{NQ} im Allgemeinen jedoch vernachlässigbar klein und spielt daher in den meisten Fällen nur eine untergeordnete Rolle.^{116,119}

2.2.3 Messtechnik

In der EPR-Spektroskopie existieren grundsätzlich zwei verschiedene Messtechniken, um von einer Probe ein Spektrum aufnehmen zu können. Dies kann entweder mithilfe der sog. CW-Methode (engl. continuous wave) durch die kontinuierliche Einstrahlung von Mikrowellen (MW) gleichbleibender Frequenz ν unter Variation des B -Feldes oder, bei konstanter magnetischer Flussdichte B des externen Magnetfeldes, über Nanosekunden kurze MW-Pulse verschiedener Frequenz erfolgen. Letztere Verfahrensweise wird auch als Puls-EPR-Spektroskopie bezeichnet, wobei diese Methode apparativ und messtechnisch wesentlich anspruchsvoller als die CW-Technik ist.^{112,116} Daher stellt auch die, im Rahmen dieser Arbeit vorwiegend verwendete, CW-EPR-Spektroskopie bis heute die Standardmethode dar, vor allem wenn eine schnelle, präzise und vergleichsweise unkomplizierte Messung von EPR-Spektren gefragt ist.⁴⁴

Der schematische Aufbau eines CW-EPR-Spektrometers ist in Abbildung 2.5 dargestellt.

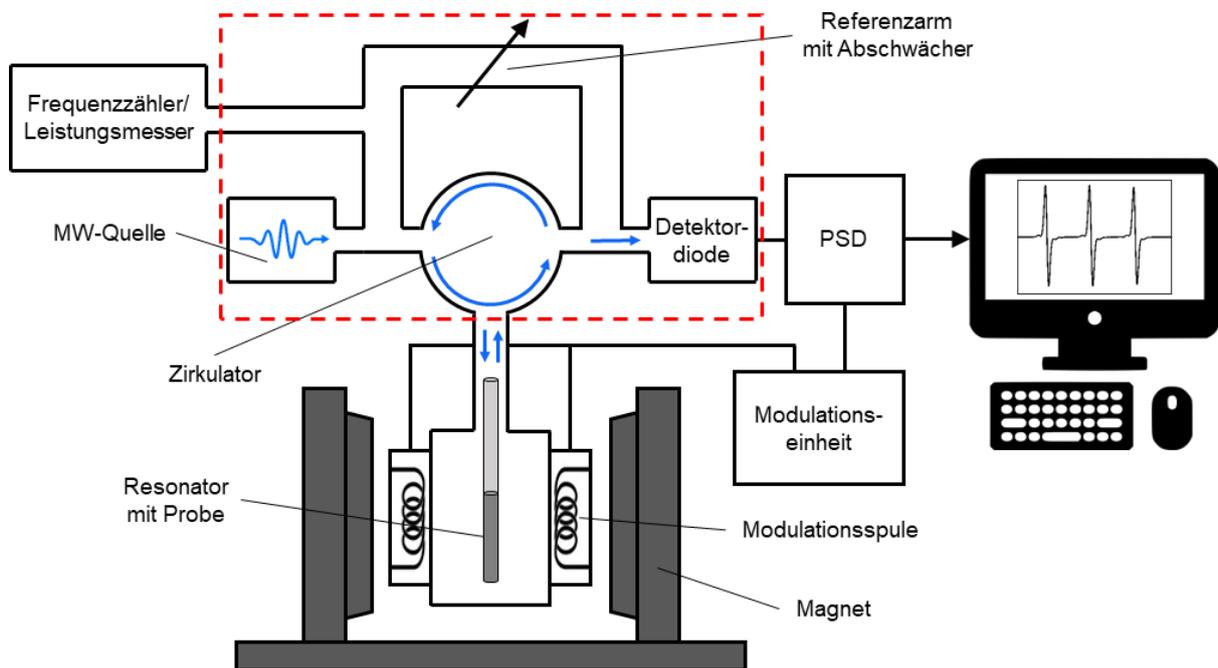


Abbildung 2.5: Schematischer Aufbau eines CW-EPR-Spektrometers mit den für eine Spektrenaufnahme unbedingt erforderlichen Bauteilen Mikrowellenquelle (MW-Quelle), Zirkulator, Probenresonator, Magnet und Detektordiode. Alle weiteren gezeigten Bestandteile sind vor allem aus messtechnischen Gründen erforderlich und dienen z. B. zur Erhöhung der Messempfindlichkeit. Das Signal aus dem phasensensitiven Detektor (PSD) gelangt zum Analog-Digital-Konverter des Steuer- bzw. Auswertecomputers, welcher auch die Koordination der einzelnen Baugruppen übernimmt. Der rot gestrichelte Kasten umrahmt die Bauteile der sog. MW-Brücke, während die blauen Pfeile den Weg der MW-Strahlung illustrieren sollen. Abbildung adaptiert aus Referenz 116.

Wird eine Probe in den Resonator, dessen Abmessungen in der Größenordnung der verwendeten MW-Strahlung (~ 3 cm im sog. X-Band) liegen, eingebracht, so wird sie entsprechend ihrer magnetischen Suszeptibilität, im (annähernd) homogenen Magnetfeld des Spektrometers, magnetisiert. Ist die Resonanzbedingung $\Delta E_{str} = \Delta E_{mag}$ erfüllt, absorbiert die eingebrachte Probe elektromagnetische Strahlung, sodass infolgedessen die Intensität der reflektierten MW-Strahlung abnimmt. Diese wird durch den Zirkulator von den eingestrahnten Mikrowellen abgetrennt, sodass von der spannungssensitiven Detektordiode nur die Änderung der vom Resonator kommenden reflektierten MW-Strahlung registriert wird.^{112,116}

Hierbei werden die MW allerdings nicht, wie bei der optischen Spektroskopie üblich, durch die Probe in Transmission hindurchgestrahlt. Stattdessen werden im Resonator stehende MW erzeugt, um den B -Feldanteil der eingestrahnten elektromagnetischen Wellen am Probenort zu maximieren und gleichzeitig den senkrecht dazu stehenden, elektrischen Feldanteil minimal zu halten. Ziel dieser speziellen Resonatorgeometrie ist es eine künstliche Probenaufheizung durch Anregung von Rotationsbewegungen möglichst vollständig zu vermeiden.¹¹²

Aufgrund der vergleichsweise geringen Besetzungszahlenunterschiede trägt in der EPR-Spektroskopie nur ein sehr kleiner Teil aller in der Probe vorhandenen ungepaarten Elektronenspins zum Absorptionssignal bei (vgl. Kapitel 2.2.1). Des Weiteren geht, bedingt durch den in Abbildung 2.5 gezeigten Messaufbau, das Hintergrundrauschen über einen sehr breiten Frequenzbereich in das vom Detektor registrierte Resonanzsignal ein. Daher nutzt man in der CW-EPR-Spektroskopie eine besondere messtechnische Anordnung, bei der mithilfe von Modulationsspulen eine zusätzliche sinusförmige B -Feldkomponente künstlich zum externen statischen Magnetfeld hinzugefügt wird. Durch diese Modulation (Überlagerung) des Resonanzsignals mit einer niederfrequenten ($\nu_{mod} = 100 \text{ kHz}$) Modulationsamplitude gelingt es, ein sich insgesamt zeitlich änderndes Magnetfeld zu kreieren. Durch diesen Messaufbau kann das Rauschen bei bestimmten, für die EPR-Messung nicht relevanten, Frequenzen durch den Einsatz eines phasensensitiven Detektors (PSD) nahezu völlig ausgeschlossen werden, wodurch insgesamt eine signifikante Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses (engl. signal-to-noise ratio, SNR) erreicht wird.^{112,116}

Neben einer erhöhten Messempfindlichkeit (Sensitivität) hat dieses Vorgehen unmittelbar zur Folge, dass nun nicht mehr das eigentliche Resonanzsignal in Abhängigkeit vom Magnetfeld, sondern dessen 1. Ableitung, detektiert wird. Allerdings kann eine zu hohe B -Feldmodulation auch zu einer künstlichen Linienverbreiterung (sog. Übermodulation) im gemessenen EPR-Spektrum führen. Da die Resonanzlinienbreite in der EPR-Spektroskopie aber ein wichtiges Charakteristikum darstellt, muss darauf geachtet werden, dass die Größe der gewählten Modulationsamplitude nicht mehr als $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ der (apparenten) Linienbreite beträgt.¹¹⁶

2.2.4 Nitroxid-Radikale als Spinsonden

Nachdem in den vorausgegangenen Abschnitten die Grundlagen der EPR-Spektroskopie, die Wechselwirkungen des ungepaarten Elektronenspins mit äußeren und inneren Magnetfeldern sowie die Messtechnik vorgestellt wurden, soll nun zum Abschluss dieses Kapitels auf die Nitroxid-Radikale, als wichtigste Kategorie von Spinsonden, näher eingegangen werden.

Wie anfangs erwähnt, untersucht die EPR-Spektroskopie die Magnetisierung ungepaarter Elektronenspins und ist daher zwingend auf das Vorhandensein paramagnetischer Spezies angewiesen (vgl. Kapitel 2.2.1). Da allerdings die Ausbildung einer chemischen Bindung im Allgemeinen mit einer Elektronenpaarbildung einhergeht und diese nach dem Pauli-Prinzip strikt zur gegenseitigen Aufhebung des Elektronenspins führt, besitzen die meisten in der

Natur vorkommenden stabilen Verbindungen diamagnetischen Charakter, weshalb sie nicht ohne weiteres mithilfe der EPR-Spektroskopie untersucht werden können. Substanzen mit ungepaarten Elektronen, die auch als Radikale bezeichnet werden, sind hingegen aufgrund ihres Paramagnetismus direkt einer EPR-spektroskopischen Untersuchung zugänglich. Jedoch sind solche paramagnetischen Verbindungen aufgrund der ungepaarten Elektronen in den meisten Fällen hoch reaktiv und treten daher oft nur als instabile kurzlebige Zwischenprodukte bei bestimmten chemischen Reaktionen in Erscheinung. Allerdings existiert auch eine Gruppe von persistenten Radikalen, zu der beispielsweise die Verbindung 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPO) und ihre Derivate zählen. Diese sog. Nitroxid-Radikale haben sich seit den 1970er-Jahren als Spinsonden in der EPR-Spektroskopie etabliert und werden heute auch in vielen anderen Bereichen der Chemie bzw. Biologie eingesetzt.⁵⁵⁻⁵⁹

Ein weiterer wesentlicher Vorteil von Nitroxid-Sonden ist auch die Tatsache, dass in verdünnter Lösung viele Terme des Spin-Hamilton-Operators \hat{H}_S in Gleichung 2.11 (vgl. Kapitel 2.2.2) vernachlässigbar klein bzw. irrelevant sind. Somit beschreiben in den meisten Fällen allein die Elektronen-Zeeman-Wechselwirkung \hat{H}_{EZ} und die Hyperfeinkopplung \hat{H}_{HF} das Spinsystem hinreichend genau.^{120,121} Für Nitroxid-Spinsonden geht somit die Grundgleichung der Magnetresonanzspektroskopie (vgl. Formel 2.9) im Speziellen in die Gleichung 2.17 über, sofern in Formel 2.15 die magnetische Flussdichte B_0 durch den Ausdruck für das tatsächlich auf den Elektronenspin wirksame effektive Magnetfeld der Flussdichte B_{eff} ersetzt wird.

$$\Delta E_{NO} = h \cdot \nu = g \cdot \mu_B \cdot B_{eff} = g \cdot \mu_B \cdot (B_0 + A \cdot m_I) \quad (2.17)$$

Die magnetische Kernspinquantenzahl m_I des ^{14}N -Isotops, mit einer natürlichen Häufigkeit von rund 99,63 %, ¹²² kann aufgrund der Kernspinquantenzahl $I(^{14}\text{N}) = 1$ die Werte -1 , 0 und $+1$ annehmen, weshalb bei schneller isotroper Rotation in Lösung im EPR-Spektrum der Nitroxid-Radikale genau drei Resonanzlinien beobachtbar sind. Hierbei zeigt das sog. Hochfeldabsorptionssignal, welches dem Übergang $m_I(^{14}\text{N}) = -1$ entspricht, im Allgemeinen die beste Auflösung, weil hier die g - und Hyperfeinanisotropie in gleicher Richtung auf die Resonanzfrequenz ν wirken. Aus diesem Grund werden auch Änderungseffekte, wie z. B. eine Veränderung der Umgebungspolarität, am besten im Hochfeldübergang der Nitroxid-Sonden sichtbar.¹²¹

Die Hauptursache für die in verdünnter Lösung bei Raumtemperatur recht hohe Stabilität von Nitroxid-Radikalen ist deren besondere Struktur, welche in Abbildung 2.6 gezeigt ist.

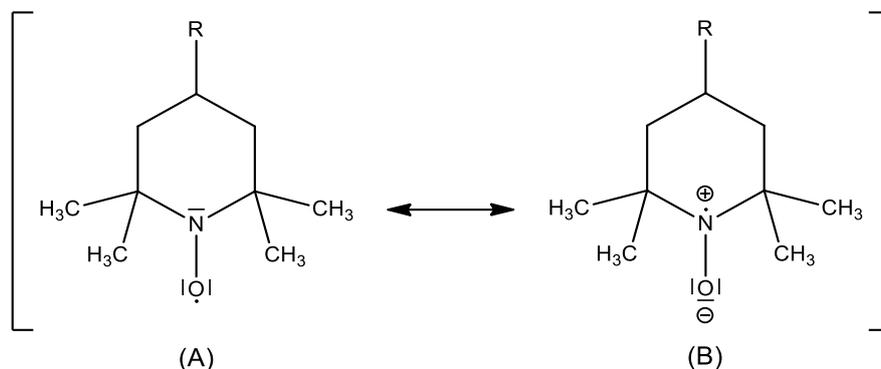


Abbildung 2.6: Allgemeine Struktur der in der EPR-Spektroskopie häufig als Spinsonden verwendeten Nitroxid-Radikale, mit dem Rest R (TEMPO, R = H). Hierbei geben die beiden dargestellten Resonanzformeln (A) und (B) die möglichen mesomeren Grenzstrukturen wieder und dienen zur Beschreibung des tatsächlichen Bindungszustandes, bei dem sich das ungepaarte Elektron in der π -Bindung zwischen Stickstoff N und Sauerstoff O befindet.

Das ungepaarte Elektron befindet sich bei den Nitroxid-Radikalen im antibindenden π^* -Orbital (SOMO, engl. singly occupied molecular orbital) der N–O-Bindung und ist durch die vier Methylgruppen an den α -Kohlenstoffatomen sterisch sehr gut abgeschirmt. Hierbei geben die in Abbildung 2.6 dargestellten Resonanzformeln (A) und (B) die möglichen mesomeren Grenzstrukturen wieder, um diesen komplexen Bindungszustand zu beschreiben, wobei je nach Polarität der Umgebung eine der beiden überwiegt. In unpolaren Lösungsmitteln ist etwa die ungeladene Resonanzformel (A) begünstigt, während in polarer Umgebung die zwitterionische Grenzstruktur (B) bevorzugt wird, da mit zunehmender Polarität die Partiaalladungen besser stabilisiert werden können. Somit wird auch die Spindichte des ungepaarten Elektrons, je nach chemischer Umgebung, entlang der N–O-Bindungsachse verschoben. Hierbei gilt grundsätzlich, dass mit steigender Polarität der Elektronenspin mehr und mehr in Richtung des Stickstoffkerns verschoben wird, sodass die Größe der ^{14}N -Hyperfeinkopplung zunimmt (vgl. Kapitel 2.2.2, Abschnitt Hyperfeinaufspaltung).^{113,116,121}

Setzt man eine schnelle isotrope Rotation der Nitroxid-Spinsonden in Lösung voraus, so geht der Hyperfeinkopplungstensor A mit seinen Hauptkomponenten A_{xx} , A_{yy} und A_{zz} entlang der drei Raumrichtungen in den Skalar a_{iso} über. Dieser ist für Nitroxid-Sonden in guter Näherung axial, d. h. $A_{xx} \approx A_{yy}$, sodass sich Gleichung 2.16 zu Formel 2.18 vereinfachen lässt.^{114,116}

$$a_{iso,NO} = \frac{1}{3} \cdot (2 \cdot A_{xx} + A_{zz}) \quad (2.18)$$

Der Größenunterschied zwischen den Hyperfeinkopplungskomponenten A_{xx} (bzw. A_{yy}) und A_{zz} , wie er auch in Abbildung 2.7 deutlich zu sehen ist, lässt sich durch eine formal größere Aufenthaltswahrscheinlichkeit des ungepaarten Elektrons im π^* -Molekülorbital entlang der z-Achse erklären. Aus diesem Grund ist auch die Hyperfeinwechselwirkung mit dem Kernspin I des ^{14}N -Atomkerns in z-Richtung besonders groß.¹²⁰

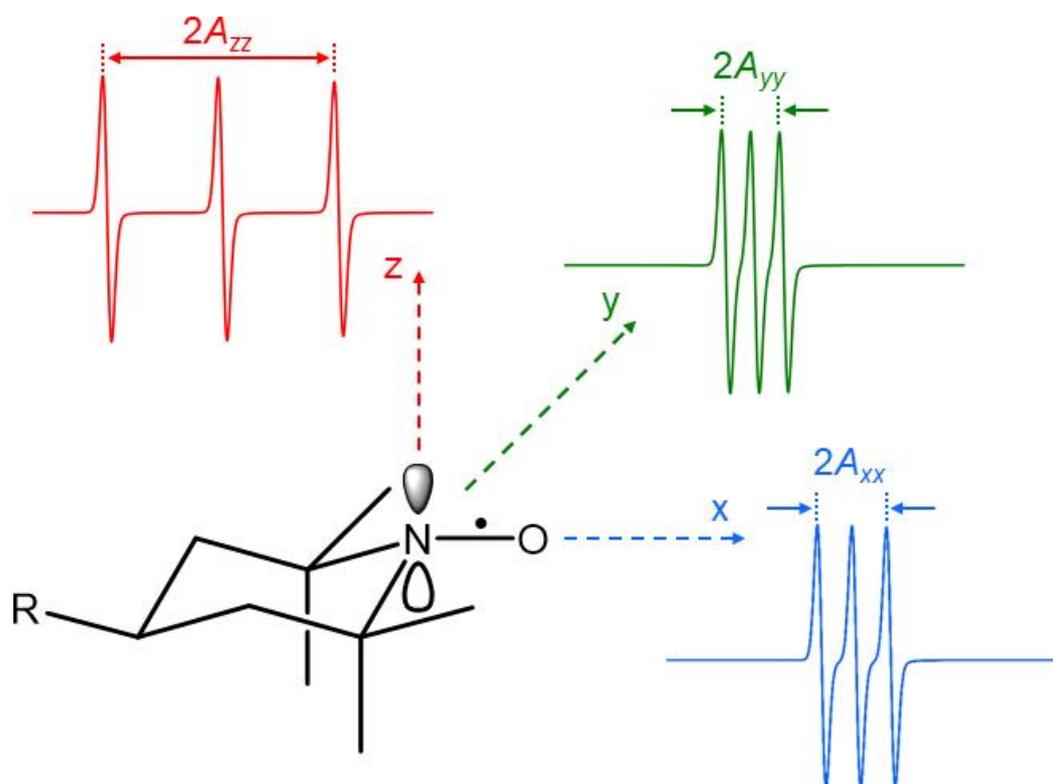


Abbildung 2.7: Darstellung der allgemeinen Struktur von Nitroxid-Radikalen (TEMPO, R = H) und deren Molekülkoordinatensystem, zusammen mit den hypothetischen CW-EPR-Spektren der jeweiligen Hyperfeinkopplungskomponenten bei Rotation der Nitroxid-Spinsonde entlang der drei Raumrichtungen. Die z-Achse ist anhand des gezeigten p_z -Orbitals des Stickstoffatoms entlang der π -Bindung ausgerichtet, während die x-Achse in Richtung der N–O- σ -Bindung weist. Die y-Achse steht senkrecht zur x-z-Ebene und vervollständigt das kartesische Koordinatensystem. Abbildung adaptiert aus Referenz 120.

Die Hyperfeinaufspaltungskomponente A_{zz} wird bei Nitroxid-Spinsonden gerade dann maximal, wenn das externe statische Magnetfeld exakt parallel zur z-Achse ausgerichtet ist. Die Hyperfeinkopplungskomponenten A_{xx} und A_{yy} in x- bzw. y-Richtung sind meist nahezu gleich groß, aber stets wesentlich kleiner als A_{zz} .¹²¹

Somit lässt sich allein schon anhand der Größe der Hyperfeinkopplung eine Aussage über die elektronische Struktur der Spinsonde und damit auch über die Umgebungspolarität treffen. Dies macht insbesondere Nitroxide als Sonden für die EPR-Spektroskopie interessant, da diese, wie Tabelle 2.1 zeigt, je nach Strukturelement R in 4-Position des Piperidinrings (siehe Abbildung 2.6) eine unterschiedliche Polarität und damit auch Hydrophobizität besitzen.

Tabelle 2.1: Charakterisierung in der EPR-Spektroskopie gängiger Nitroxid-Spinsonden anhand ihrer Hydrophobizität gemäß dem *n*-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten K_{ow} . Der angegebene Strukturrest R bezieht sich auf die in Abbildung 2.6 bzw. Abbildung 2.7 dargestellte, allgemeine Struktur.

Strukturrest R	Bezeichnung	K_{ow}^{123}	Hydrophobizität
=O	TEMPON	2,3	↓
-OH	TEMPOL	3,85	
-H	TEMPO	90	

Aus Tabelle 2.1 geht hervor, dass die Art des Strukturrestes R die Hydrophobizität der Nitroxid-Spinsonde entscheidend beeinflusst. Während polare Einheiten, wie z. B. Keto- oder Hydroxygruppe, zu einem niedrigen K_{ow} -Wert und damit zu einer erhöhten Wasserlöslichkeit führen, bewirken eher unpolare Reste (etwa -H) ein hydrophobes Verhalten. So eignet sich beispielsweise TEMPO aufgrund seines amphiphilen Charakters und seiner geringen Größe (Van-der-Waals-Radius $r_w \approx 0,31-0,35$ nm)¹²⁴ besonders gut, um selbst kleinste nanoskalige Inhomogenitäten zu detektieren, welche z. B. bei (multi)responsiven Polymeren oftmals schon vor dem Einsetzen des eigentlichen (makroskopisch sichtbaren) Phasenseparationsprozesses in Erscheinung treten. Grund dafür ist die Tatsache, dass sich die TEMPO-Spinsonden innerhalb der Probe zwischen den eher hydrophoben, kollabierten Polymerdomänen und der polaren (hydrophilen), wässrigen Umgebung entsprechend ihrem K_{ow} -Wert verteilen.⁴⁴

Generell kann also allein schon durch die chemische Struktur des gewählten Nitroxid-Radikals selektiert werden, welche Umgebungsarten innerhalb einer Probe zielgerichtet untersucht werden sollen. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass die, beispielsweise in Form einer verdünnten Lösung, in das zu untersuchende System eingebrachte freibewegliche Spinsonde sich je nach Polarität/Hydrophobizität und Größe selbstständig diejenigen Orte sucht, welche für sie die energetisch günstigsten Wechselwirkungen bietet. Dieser auch als Selbstorganisation durch nichtkovalente Wechselwirkungen (engl. self-assembly) bezeichnete Prozess ist ein großer Vorteil der freien Spinsonden gegenüber den sog. Spinlabeln (engl. label = Marke, Markierung), welche kovalent fest an die zu untersuchende Substanz (z. B. ein Protein) gebunden sind. Dies geschieht meist mittels aufwendiger chemischer Synthese und stellt somit eine deutlich größere Modifikation des zu erforschenden Systems dar, als etwa das Einbringen freier Spinsonden.

Darüber hinaus können Letztere auch als Platzhalter für andere Moleküle bzw. Substanzen, z. B. pharmazeutische Wirkstoffe, fungieren, was insbesondere hinsichtlich biomedizinischer Studien einen erheblichen Nutzen mit sich bringt. Allerdings kann es, etwa bei Abstandsmessungen, auch von Vorteil sein, gezielt Einfluss auf die genaue Radikalposition in

der Probe nehmen zu können, weshalb für solche Zwecke chemisch festgebundene Spinlabel wesentlich besser geeignet sind als freie Spinsonden.^{116,125}

Die bisherigen Ausführungen zeigen, dass die EPR-Spektroskopie eine durchaus anspruchsvolle, aber auch sehr leistungsfähige Magnetresonanzmethode darstellt. Diese kann nicht nur Informationen über die elektronische bzw. atomare Struktur und die chemische Umgebung der untersuchten Probe liefern, sondern auch zur Charakterisierung von Moleküldynamiken auf der Zeitskala von ca. 10 ps–1 μ s, sowie zur Abstandsmessung im Bereich von etwa 1–8 nm eingesetzt werden. Letzteres ist insbesondere bei der Erforschung von nanostrukturierten Materialien, (synthetischen) Makromolekülen oder anderen supramolekularen Systemen hoch interessant, wobei die Entwicklung von ortsspezifischen Spinmarkierungstechniken (engl. site-directed spin labeling technique) auch die ansonsten diamagnetischen Biomakromoleküle, wie z. B. Proteine, der EPR-Spektroskopie zugänglich gemacht hat. Dadurch sind zahlreiche neue Einsatzgebiete für die EPR-Spektroskopie in den Bereichen Biophysik, Biochemie und Biologie entstanden.^{121,126}

Da auch eine Vielzahl chemischer Reaktionen, wie z. B. Redoxreaktionen, mit der Übertragung von Elektronen verbunden sind und diese in der Natur bzw. Technik oft durch Übergangsmetallkomplexe katalysiert werden, stellt die Charakterisierung solcher Verbindungen, etwa in Form von biologisch relevanten Metalloproteinen oder synthetisch hergestellten Katalysatoren, eine weitere wichtige Anwendungsmöglichkeit der EPR-Spektroskopie dar. Darüber hinaus können auch komplexe Reaktionsmechanismen mit radikalischen Intermediaten, wie sie beispielsweise bei der Photosynthese, Polymerisationen oder degenerativen Alterungsprozessen in lebenden Organismen häufig vorkommen, mithilfe der EPR-Spektroskopie sehr detailliert untersucht werden.¹²¹

3 Experimenteller Teil

3.1 Materialien

Polymersynthese und Charakterisierung:

Die in dieser Arbeit untersuchten PPEs wurden mithilfe der anionischen ROP von Herrn Dr. Thomas Wolf aus der Arbeitsgruppe von Priv.-Doz. Dr. F. R. Wurm am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPI-P) in Mainz gemäß der Vorschrift in Referenz 127 synthetisiert. Die genaue Copolymerstruktur sowie eine Zusammenfassung der Polymercharakterisierung sind in Abbildung 3.1 und Tabelle 3.1 zu finden.

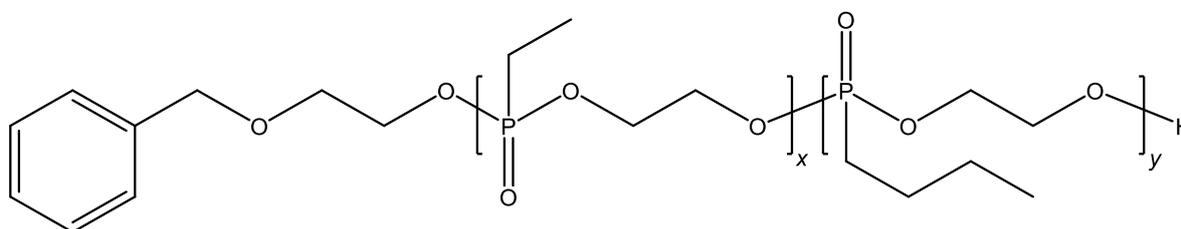


Abbildung 3.1: Allgemeine Strukturformel der untersuchten PPE-Copolymere mit $x = 33$ und $y = 76$ für $P(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ bzw. $x = 24$ und $y = 27$ für $P(\text{Et}_{24}\text{-co-}n\text{Bu}_{27})$ (vgl. Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1: Charakterisierung der in dieser Arbeit untersuchten PPE-Copolymere. x : Anzahl der Monomereinheiten mit Ethylseitenkette; y : Anzahl der Monomereinheiten mit n -Butylseitenkette; w_x : prozentualer Anteil der Monomereinheiten mit Ethylseitenkette; w_y : prozentualer Anteil der Monomereinheiten mit n -Butylseitenkette; M_n : Zahlenmittel (Polymermolmasse); \mathcal{D} : Molmassenverteilung; T_{cp} : makroskopische Trübungstemperatur; T_{EPR} : EPR-basierte Nanophasenseparationstemperatur.

Bezeichnung	x	y	$w_x / \%$	$w_y / \%$	$M_n / \text{g mol}^{-1}$	\mathcal{D}	$T_{cp} / ^\circ\text{C}$	$T_{EPR} / ^\circ\text{C}$
$P(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$	33	76	30	70	17.000	1,30	26	18
$P(\text{Et}_{24}\text{-co-}n\text{Bu}_{27})$	24	27	47	53	7.700	1,29	50	42

Chemikalien:

Für die EPR-spektroskopischen Untersuchungen der PPEs in Kapitel 4.1 wurde TEMPO (gereinigt durch Sublimation, 99 %, 426369) vom Hersteller Sigma-Aldrich verwendet. Für die Experimente ohne Polymerprobe (Kapitel 4.2) wurde auch TEMPO von Alfa Aesar (freies Radikal, 98+ %, A12733) und Fluka (>99 %, FL42442) erworben, um auszuschließen, dass insbesondere die in wässriger Lösung beobachteten Phänomene nicht auf herstellerbedingte Verunreinigungen zurückzuführen sind. Hierbei wurden alle im Kontext des Kapitels 4.2 gezeigten EPR-Spektren von TEMPO mit dem Produkt von Alfa Aesar gemessen. Die Q-Band-CW-EPR-Spektren in wässriger Lösung der anderen TEMPO-Produktchargen von den Herstellern Sigma-Aldrich und Fluka sind in Abbildung 8.28 im Anhang zu finden.

TEMPOL (4-Hydroxy-TEMPO, freies Radikal, 98+ %, A12497) wurde ebenfalls von Alfa Aesar erworben. Die Spinsonde TEMPON (4-Oxo-TEMPO, freies Radikal, 179485) sowie Dulbecco's phosphatgepufferte Salzlösung D8662 (DPBS) und Tetrahydrofuran (THF, inhibitorfrei, für HPLC, $\geq 99,9$ %, 34865) wurden von Sigma-Aldrich gekauft. 2-Methylbutan (Reagenzgrad, ≥ 99 %, M32631) wurde vom Hersteller Honeywell erworben, während Natriumchlorid ($\geq 99,5$ %, p.a., ACS, ISO, 3957) von Carl Roth bezogen wurde. Alle aufgeführten kommerziell erworbenen Chemikalien wurden direkt ohne weitere Aufreinigung verwendet. Für die Probenpräparation wurde stets nur Wasser aus dem Reinstwassersystem Milli-Q[®] Advantage A10 von der Firma Merck Millipore verwendet.

3.2 Methoden

CW-X-Band-EPR-Messungen:

CW-EPR-Spektren im X-Band ($\nu \approx 9,4$ GHz) wurden mit dem Spektrometer MiniScope MS400 mit Rechteckresonator (TE102-Geometrie) von der Firma Magnostech gemessen. Die exakte Frequenz der in den Resonator eingestrahlten MW wurde mithilfe des Frequenzzählers Microwave Counter 2101 des Herstellers Racal-Dana bzw. dem Frequency Counter FC400 von der Firma Magnostech ausgelesen. Für die Temperaturregulierung wurde der Temperature Controller TC H03, ebenfalls von der Firma Magnostech, eingesetzt, welcher eine elektronische Einstellung der Temperatur in $0,1$ °C-Schritten mit einer Genauigkeit von $\pm 0,25$ °C erlaubt. Als Kühlmedium diente flüssiger Stickstoff, wobei nach jeder Temperaturänderung eine Temperierungszeit von mindestens $1 \text{ min } ^\circ\text{C}^{-1}$ eingehalten wurde.

Das Probenmaterial wurde mittels Einmal-Mikropipetten der Firma Brand (50 μL , BLAUBRAND[®] intraMARK) über ein Führungsrohr in den Resonator eingebracht. Dazu wurden von der Probenlösung jeweils ca. 20–25 μL in die Kapillare aufgezogen und das untere Ende anschließend mit CRITOSEAL[®] von der Firma Leica verschlossen.

Für alle Messungen wurde ein *B*-Zentrumsfeld von 336 mT und eine Scanbreite von 10 mT sowie eine Scandauer von 100 s je Messdurchgang verwendet, wobei das Spektrum in insgesamt 4096 Datenpunkte aufgeteilt wurde. Die Werte der Parameter elektronische Verstärkung (engl. gain), MW-Abschwächung und Modulationsamplitude wurden je nach Probe und Temperatur jeweils so angepasst, dass Spektren mit bestmöglichem SNR detektiert werden konnten. Bei der Wahl der Modulationsamplitude ($\nu_{mod} = 100$ kHz) wurde aber stets darauf geachtet, dass deren Größe nicht mehr als $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ der Resonanzlinienbreite betrug, um künstliche Linienverzerrungen durch Übermodulation zu vermeiden.

CW-Q-Band-EPR-Messungen:

Die CW-EPR-Spektren im Q-Band ($\nu \approx 34$ GHz) wurden mit einem EMX-plus-Spektrometer von der Firma Bruker mit ER5106QT-Resonator aufgenommen. Für die Messungen bei Raumtemperatur wurde eine Scanbreite von 15 mT, eine Scanzeit von 61 s und eine MW-Leistung von rund 1 mW verwendet. Die Tieftemperaturmessungen bei 100 K wurden mit einer Scanbreite von 30 mT, einer Scanzeit von 90 s und einer MW-Leistung von ca. 0,4 mW durchgeführt. Die Modulationsamplitude und der sog. Receivergain wurden je nach Probe und Temperatur jeweils so angepasst, dass die typischerweise aus 3000 Datenpunkten bestehenden Spektren ein möglichst optimales SNR aufwiesen.

In Analogie zu den CW-X-Band-Messungen wurden ca. 10–15 μL der Probenlösung in Einmal-Mikropipetten der Firma Brand (20 μL , BLAUBRAND[®] intraMARK) aufgezogen und deren unteres Ende danach mit CRITOSEAL[®] von der Firma Leica verschlossen. Anschließend wurde die befüllte Kapillare in ein größeres Quarzröhrchen (Innendurchmesser: 2 mm) gegeben und dieses mithilfe eines Probenhalters in den Resonator eingebracht.

Die Probenvorbereitung für Raum- und Tieftemperaturmessungen verlief hierbei ähnlich. Allerdings musste vor der Aufnahme eines Tieftemperaturspektrums die flüssige Probe zuvor noch homogen eingefroren werden. Zu diesem Zweck wurde die Probenlösung zunächst für ca. 2–3 s in flüssigstickstoffgekühltes 2-Methylbutan und anschließend direkt in flüssigen Stickstoff getaucht. Nachdem dieser Einfrierprozess 2–3-mal wiederholt wurde, wurde die gefrorene Probe im Heliumgegenstrom in den bereits gekühlten Resonatorraum eingebracht.

Puls-X-Band-EPR-Messungen:

Alle Puls-EPR-Messungen wurden in Kooperation mit Frau Jana Eisermann (MLU, AG Prof. Dr. Hinderberger) mit dem Elexsys E580 EPR-Spektrometer von Bruker Biospin und einem Flexline-Spiralring-Resonator (Modell ER4118X-MS3), welcher mit $Q \approx 400$ überkoppelt wurde, durchgeführt. Die Temperatur wurde durch Kühlung mit einem Kreislauf-Kryostaten (ARS AF204, angepasst für Puls-EPR-Messungen) für alle Experimente auf 50 K eingestellt. Für die Spektrenaufnahme wurden ca. 100 μL des Probenmaterials in ein Quarzröhrchen (Innendurchmesser: 2 mm) gefüllt und die Probe anschließend, analog zum Vorgehen bei den Tieftemperatur-Q-Band-Messungen, mit 2-Methylbutan und flüssigen N_2 schockgefroren und mithilfe eines Probenhalters im Heliumgegenstrom in den gekühlten Resonator eingebracht. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass den wässrigen Proben mindestens 10 Vol.% THF zugesetzt werden mussten, um eine homogen gefrorene (glasartige) Probentextur zu erhalten, wie sie für Tieftemperatur-EPR-Messungen erforderlich ist.

Die genauen Messeinstellungen der einzelnen Puls-EPR-Experimente werden im Folgenden separat beschrieben, wobei zur besseren Vergleichbarkeit darauf geachtet wurde, dass die allgemeinen Einstellungen wie z. B. Scananzahl (abhängig von der jeweiligen Messtechnik) und Videoverstärkung (engl. video gain) bei allen Messungen stets identisch waren.

Die Elektronen-Spin-Echo (ESE) detektierten EPR-Spektren wurden bei einer 20 mT umfassenden B -Feldscanbreite mit der Hahn-Echosequenz $\pi/2-\tau-\pi-\tau-\tau$ durchgeführt.¹²⁸ Die Interpulsverzögerungszeit τ betrug 176 ns und die Pulslänge für den $\pi/2$ -Puls 16 ns bzw. 32 ns für den π -Puls.

Die 3-Puls-ESEEM-Experimente (3p-ESEEM), in denen der Zerfall des beobachteten stimulierten Echosignals durch die Elektronenspin-Gitter-Relaxationszeit und die spektrale Diffusion der Magnetisierung bestimmt wird, wurden mit einer $\pi/2-\tau-\pi/2-T_e-\pi/2-\tau$ -Echo-Pulssequenz und einem vierstufigen Standard-Phasenzzyklus durchgeführt.^{128,129} Die Pulslänge des $\pi/2$ -Pulses wurde auf 16 ns und die Interpulsverzögerungszeit τ auf 176 ns eingestellt. Die Evolutionszeit T_e hatte einen Anfangswert von 300 ns und wurde in Schritten von 16 ns erhöht.

Um Informationen über die nanoskalige Abstandsverteilung von TEMPO und TEMPON anhand der Entwicklung der dipolaren Evolutionszeit zu erhalten, wurden 4-pulsumfassende Doppel-Elektronen-Elektronen-Resonanz-Messungen (DEER) mit der Pulssequenz $\pi/2(\nu_A)-\tau_1-\pi(\nu_A)-t'-\pi(\nu_B)-(\tau_1+\tau_2-t')-\pi(\nu_A)-\tau_2$ durchgeführt.^{130,131} Die Pumpfrequenz ν_B wurde auf das Maximum des zuvor gemessenen echodetektierten Spektrums eingestellt, während die Beobachterfrequenz ν_A so erhöht wurde, dass sie mit dem jeweiligen lokalen Maximum des Tieffeldsignals übereinstimmte. Die Länge der beiden Beobachtungspulse $\pi/2$ und π wurde auf 32 ns eingestellt, wobei der jeweilige Pumpimpuls eine Länge von 12 ns aufwies. Die Protonenmodulation wurde durch Aufsummierung von acht Spuren der Variablen τ_1 , beginnend mit $\tau_1 = 200$ ns und einer Inkrementserhöhung von $\Delta\tau_1 = 8$ ns, gemittelt, wobei auch die Pumpimpulsposition mit einer Schrittweite von 8 ns justiert wurde. Die dargestellten DEER-Zeitspuren wurden schließlich mit einem konstanten Wert von $\tau_2 = 1500$ ns für insgesamt 12 h aufgezeichnet.

Trübungs- und DLS-Messungen:

Für die Trübungs- und DLS-Messungen wurde der LitesizerTM 500 der Firma Anton Paar mit einem 40 mW Halbleiterlaser ($\lambda = 658$ nm) und 50 μ L-Quarzküvetten des Herstellers Hellma Analytics verwendet. Alle Messungen wurden bei einem Winkel von 175° (Rückstreuung) und mit einer automatischen Konfiguration des Filters und Fokus der beheizbaren optischen

Bank durchgeführt. Bei den Trübungsmessungen wurde die Temperatur in Schritten von 2 °C mit einer Temperierungszeit von jeweils 2 min geändert, wohingegen die DLS-Messungen stets bei einer festen Temperatur von 20 °C durchgeführt wurden. Hierbei stellt die bei den DLS-Messungen erhaltene Autokorrelationsfunktion $g_2(t)$ das Resultat von sechs gemittelten Intensitätsspektrenmessungen mit einer Scanzeit von jeweils 30 s dar.

Die nichtlineare Anpassung und Analyse der Intensitäts-Zeit-Autokorrelationsfunktionen $g_2(t)$ wurde gemäß Gleichung 3.1 direkt mithilfe einer eingeschränkten Regularisierungsmethode innerhalb der ALV-5000/E/EPP-Software (Version 3.0.1.13) unter Verwendung des CONTIN 2DP-Programms von Provencher^{132,133} durchgeführt.

$$g_2(t) - 1 = \left(\int_{\Gamma_{\min}}^{\Gamma_{\max}} e^{-\Gamma t} G(\Gamma) d\Gamma \right)^2 \quad (3.1)$$

Hierbei bezeichnet $G(\Gamma)$ die Verteilungsfunktion der Zerfallsrate Γ , welche mit dem Diffusionskoeffizienten D_{diff} gemäß Formel 3.2 verknüpft ist.

$$\Gamma = D_{diff} q^2 \quad (3.2)$$

Der Streuvektor q wird gemäß Gleichung 3.3 aus dem Brechungsindex n_D des Lösungsmittels, der Wellenlänge λ des Lasers und dem Streuwinkel θ berechnet.

$$q = \frac{4\pi n_D}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (3.3)$$

Unter der Annahme, dass sich die streuenden Partikel wie harte Kugeln in einer verdünnten Lösung verhalten, kann ihr hydrodynamischer Radius r_h mithilfe der sog. Stokes-Einstein-Gleichung 3.4 unter Berücksichtigung der Boltzmann-Konstante k_B , der Temperatur T und der Lösungsmittelviskosität η berechnet werden.

$$r_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D_{diff}} \quad (3.4)$$

ESI-MS-Messungen:

Alle in dieser Arbeit verwendeten ESI-MS-Messungen wurden von Herrn Dr. Ralph Kluge (MLU, AG Prof. Dr. Csuk) durchgeführt. Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit dem Finnigan LCQ-Spektrometer von der Firma Thermo Fisher Scientific im positiven Ionenpolaritätsmodus mit den Lösungsmitteln Wasser oder THF bei einem Lösungsmittelfluss von $10 \mu\text{L min}^{-1}$. Für die ESI-Sprühspannung wurde ein Wert von 4,2 kV, bei einer Kapillartemperatur von 200 °C und einer Kapillarspannung von 34 V, gewählt, wobei der Tubuslinsen-Offset 10 V betrug. Als Hüllgas wurde Stickstoff (25 a.u.) und als Dämpfungs- bzw. Kollisionsgas Helium verwendet. Kollisionsinduzierte Dissoziationen (engl. collision-induced dissociations, CID) der isolierten sog. „Elternionen“ (engl. parent ions) wurden bei einer Isolationsbreite von 3 u im Bereich des Massenanalysators unter Anlegen einer Hochfrequenzspannung (850–900 mV, Peak-zu-Peak) zur Resonanzanregung durchgeführt.

pH-Wert-Messungen:

Die Bestimmung der pH-Werte erfolgte mit dem Multiparameter Tischgerät Orion Versa Star von Thermo Fisher Scientific, mithilfe einer kalibrierten pH-Elektrode, bei Raumtemperatur.

Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen:

Alle in dieser Arbeit verwendeten Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen wurden von Herrn Dr. Martin Brehm (MLU, AG Prof. Dr. Sebastiani) konzipiert, durchgeführt und ausgewertet. Die Erstellung der Ausgangskonfiguration für die Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen erfolgte mithilfe des Programms „PACKMOL“¹³⁴, indem jeweils zwei Moleküle TEMPO oder TEMPON zusammen mit 1024 Wassermolekülen zufällig in einer Simulationsbox platziert wurden. Wasser wurde durch das TIP4P-EW-Kraftfeld¹³⁵ beschrieben, während TEMPO und TEMPON mit den Kraftfeldparametern aus Referenz 136 modelliert wurden. Die Simulationen selbst wurden mit dem „LAMMPS“-Softwarepaket¹³⁷ unter Verwendung einer Lennard-Jones-Cutoff-Distanz von 0,85 nm und dem PPPM-Solver (engl. particle-particle particle-mesh) für langreichweitige Coulomb-Wechselwirkungen durchgeführt, wobei der Simulationszeitschritt auf 0,5 fs festgesetzt wurde. Die Temperatur wurde durch Verwendung eines Nosé-Hoover-Kettenthermostaten mit einer Kopplungskonstante von 100 fs konstant auf 300 K gehalten.¹³⁸ Um die Systemdichte ins Gleichgewicht zu bringen, wurden im NpT-Ensemble Rechenläufe für 10 ns mit einem Nosé-Hoover-Kettenbarostaten mit einer Kopplungskonstante von 2 ps und einem Außendruck von 1 bar durchgeführt. Die Zellgröße wurde während dieser Rechenläufe gemittelt und die erhaltene durchschnittliche

Zellgröße nach dem Ende der NpT-Läufe dem System auferlegt. Anschließend folgte eine letzte Ausgleichsperiode von 5 ns, die während der ersten 1 ns einen Langevin-Thermostaten einsetzte, um akustische Stoßwellen in der periodischen Simulationszelle zu dämpfen.

Die im Gleichgewicht befindlichen Systeme dienten schließlich als Ausgangspunkt für die Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen mit dem „COLVARS“-Softwarepaket¹³⁹ in LAMMPS. Hierbei wurde als kollektive Variable der Abstand zwischen den Stickstoffatomen der beiden Spinsondenmoleküle gewählt. Eine harmonische Wand wurde bei einem Wert von 1,5 nm platziert, sodass sich ein Bereich von 0–1,5 nm als Abtastintervall für die Metadynamik-Simulationen ergab. Alle 300 Simulationsschritte wurde ein neuer Gaußhügel mit einer Höhe von 0,0005 kcal mol⁻¹ und einer Varianz von 15 pm erzeugt. Die Rechenschritte wurden schließlich für eine physikalische Zeit von insgesamt 180 ns durchgeführt, was ausreichte, um das Metadynamikverfahren zu konvergieren. Das resultierende Bias-Potenzial wurde für den sog. Jacobian-Beitrag (auch bekannt als geometrische Entropie) korrigiert, um freie Enthalpieprofile zu erhalten, welche bei großen N–N-Abständen abflachen. Die dargestellten räumlichen Verteilungsfunktionen (engl. spatial distribution function, SDF) wurden mit dem Softwarepaket „TRAVIS“¹⁴⁰ berechnet und mithilfe des Programms „VMD“¹⁴¹ visualisiert.

3.3 EPR-Datenverarbeitung und Simulationsprozess

Die Verarbeitung und Auswertung der generierten EPR-Spektren erfolgte mit dem Programm MATLAB[®] (Version R2016a) vom Unternehmen MathWorks, mithilfe selbstgeschriebener Skripte. Die Simulationen wurden mit dem von Stoll und Schweiger entwickelten, kostenlosen Softwarepaket „EasySpin“¹⁴² (Version 5.2) durchgeführt. Hierbei wurde für alle Raumtemperatur-CW-EPR-Spektren die Simulationsfunktion „chili“ verwendet, welche basierend auf der sog. Schneider-Freed-Theorie¹⁴³ die Schrödingergleichung für langsam taumelnde Nitroxide löst.

Die Simulationsparameter selbst wurden in einem iterativen manuellen Verfahren solange angepasst, bis die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung (engl. root-mean-square deviation, RMSD) der Differenz zwischen experimentellem und simuliertem Spektrum zufriedenstellend gering war. Für den g - und A -Tensor ($g = [g_{xx} \ g_{yy} \ g_{zz}]$; $A = [A_{xx} \ A_{yy} \ A_{zz}]$) wurden entlang der drei Raumrichtungen (siehe Abbildung 2.7) diagonalisierte Matrizen verwendet. Als Ausgangswerte für g und A wurden bei den Spektralsimulationen im wässrigen Medium für TEMPO¹⁴⁴ und TEMPON¹⁴⁵ geeignete Literaturdaten verwendet, welche jeweils an das zu untersuchende System angepasst wurden. Wenn, wie z. B. im Fall

TEMPO und TEMPON in THF, in der Fachliteratur keine geeigneten Startwerte für den g - und A -Tensor gefunden werden konnten, wurden diese selbst durch Simulation eines entsprechenden Tieftemperatur-Q-Bandspektrums bestimmt (siehe Abbildung 3.2).

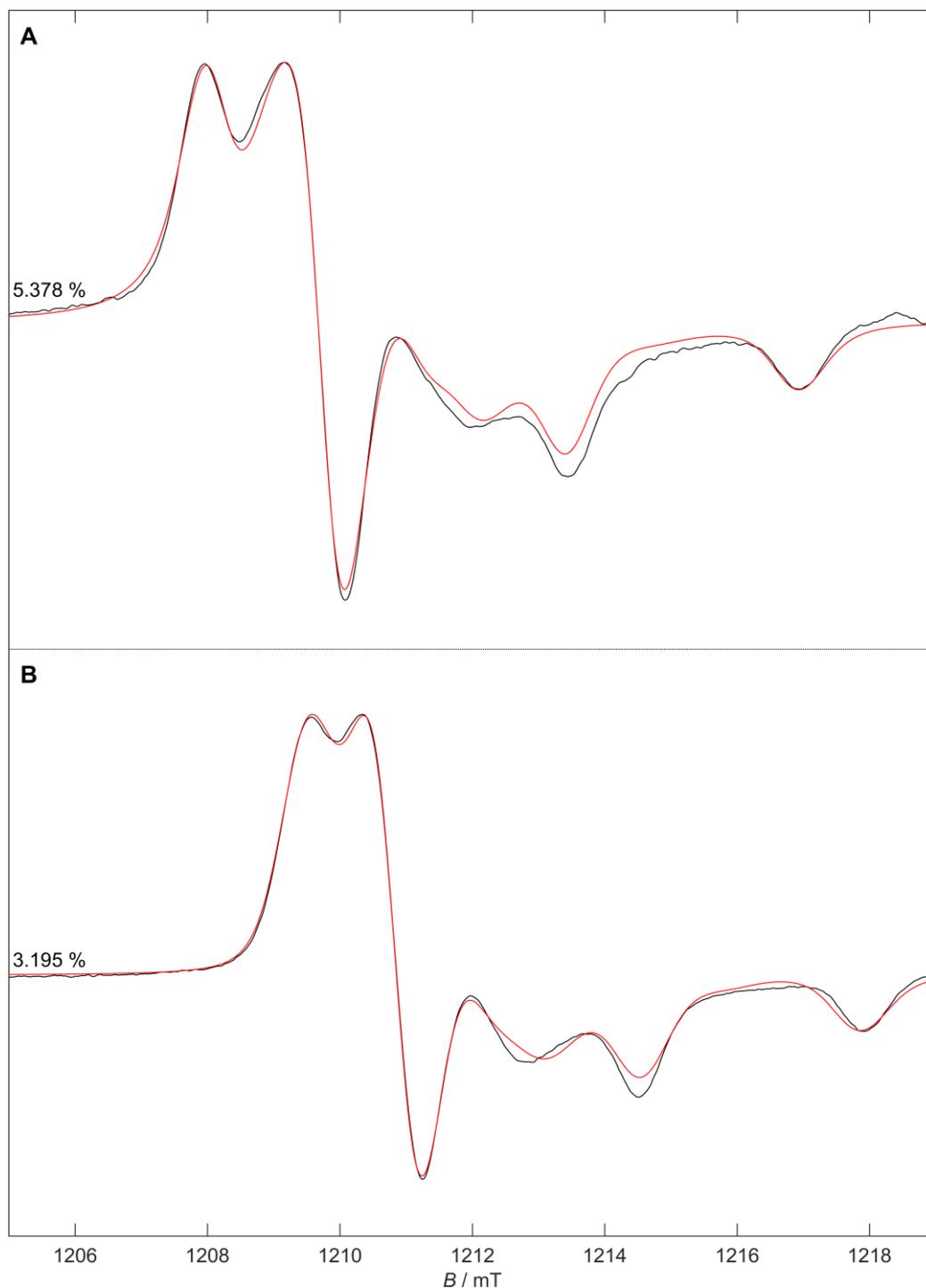


Abbildung 3.2: Experimentell im Q-Band ($\nu \approx 34$ GHz) gemessene CW-EPR-Spektren (schwarz) zusammen mit den entsprechenden Spektralsimulationen (rot) für TEMPO (A) und TEMPON (B) in THF bei einer Sondenkonzentration von 0,47 mM und einer Temperatur von 100 K. Der RMSD-Wert einer jeden Simulation ist auf der linken Seite angegeben. Die mithilfe von Simulationen bestimmten g - und A -Tensorwerte betragen für TEMPO (A): $g = [2,010168 \ 2,006566 \ 2,002409]$, $A = [23,88 \text{ MHz} \ 21,17 \text{ MHz} \ 99,11 \text{ MHz}]$ und TEMPON (B): $g = [2,009326 \ 2,006774 \ 2,002315]$, $A = [23,75 \text{ MHz} \ 20,14 \text{ MHz} \ 93,51 \text{ MHz}]$.

Die im Text und den Graphen zumeist angegebenen isotropen Werte g_{iso} und a_{iso} wurden gemäß Gleichung 2.13 bzw. Formel 2.16 anhand der simulierten Tensorwerte berechnet. Die Berechnung der Rotationskorrelationszeit τ_c anhand des simulierten Rotationsdiffusionstensor $D = [D_{xx} D_{yy} D_{zz}]$ erfolgte auf Basis eines axialen Rotationsmodells (d. h. $D_{xx} < D_{yy} \approx D_{zz}$) gemäß Gleichung 3.5.

$$\tau_c = \frac{1}{6\sqrt[3]{D_{xx}D_{yy}D_{zz}}} = \frac{1}{6\sqrt[3]{D_{xx}D_{zz}^2}} \quad (3.5)$$

Neben dem Einfluss von τ_c auf die spektrale Linienbreite wurde in den Simulationen mit EasySpin eine zusätzliche Faltungslinienverbreiterung berücksichtigt. Diese sog. heterogene Linienverbreiterung ist hauptsächlich auf unaufgelöste Hyperfeinkopplungen zwischen dem ungepaarten Elektronenspin und den sich in unmittelbarer Nähe befindlichen Kernspins (zumeist ^1H) zurückzuführen und hängt unter anderem auch stark von der chemischen Natur des Lösungsmittels und dessen Sauerstoffgehalt sowie der Spinsondenkonzentration ab. Hierbei beruht das in EasySpin implementierte Verfahren zur Einbeziehung dieser zusätzlichen Linienverbreiterung neben dem Effekt der Rotationsdynamik auf keinerlei physikalischen Modell.

Sofern die Simulation der EPR-Spektren mit mehr als einer SONDENSPEZIES erfolgte, wurde jeder Spezies ein spektraler Anteil f zugeordnet, sodass sich das simulierte Gesamtspektrum S_{ges} als Superposition durch gewichtete Addition der Einzelkomponentenspektren s ergibt. Für den Fall einer Zweikomponentensimulation gibt dies Gleichung 3.6 wieder.

$$S_{ges} = f_1s_1 + f_2s_2 = f_1s_1 + (1 - f_1)s_2 \quad (3.6)$$

Bei der Untersuchung des Solvationsverhaltens von TEMPO und TEMPON wurden im Rahmen der Spektralsimulationen die sich in direkter Umgebung des ungepaarten Elektronenspins befindlichen ^1H -Kerne (gemeint sind hier die 12 ^1H -Kerne in den vier CH_3 -Gruppen in 2- und 6-Position sowie die 4 ^1H -Kerne in 3- und 5-Position des Piperidinrings) mit in die Simulation einbezogen, um die experimentell gemessenen X- und Q-Band-EPR-Spektren mit den exakt gleichen Parametern bestmöglich simulieren zu können. Dazu wurde die Simulationsoption „PostConvNucs“ und eine isotrope Hyperfeinkopplungskonstante $a_{iso}(^1\text{H}) = 0,7 \text{ MHz}$ für die unaufgelösten ^1H -Hyperfeinkopplungen verwendet. Darüber hinaus wurden allerdings keine weiteren Austauschwechselwirkungen (z. B. Heisenberg-Spinaustausch) in die Spektralsimulationen miteinbezogen.

Für den Euler-Winkel β , welcher die Orientierung von D im molekularen Koordinatensystem des Nitroxid-Radikals (entspricht dem Koordinatensystem der magnetischen Parameter g und A ; siehe Abbildung 2.7) beschreibt, wurde stets ein Wert von 50° gewählt.

Die echodetektierten Puls-X-Band-Spektren wurden mithilfe der EasySpin-Funktion „pepper“ simuliert, wobei in diesen Simulationen neben einer Faltungslinienverbreiterung zusätzlich auch eine orientierungsabhängige Verbreiterung mittels der Option „HStrain“ miteinbezogen wurde, um auch Effekte aus ungelösten ^1H -Hyperfeinkopplungen zu berücksichtigen.

Bei der Auswertung der 3p-ESEEM-Messungen wurden die erhaltenen primären Daten zunächst hinsichtlich ihres unmodulierten Teils korrigiert. Dazu wurde eine gestreckte Exponentialfunktion angepasst und deren Anteil von den primären ESEEM-Daten subtrahiert. Anschließend wurden die Magnitudenspektren berechnet, indem ein sog. Hamming-Fenster angewendet wurde. Danach wurden die Daten auf das Vierfache ihrer ursprünglichen Länge mit Nullen aufgefüllt (engl. zero-filling) und die Fourier-Transformation vorgenommen.

Die Auswertung der DEER-Experimente erfolgte mit dem von Jeschke entwickelten MATLAB[®]-basierten Programm „DeerAnalysis“¹⁴⁶ (Version 2016). Die angegebene Anzahl von Spins n_s wurde anhand der Modulationstiefe Δ mittels Tikhonov-Regularisierung bestimmt, wobei ein konstanter Regularisierungsparameter $\alpha = 150$ verwendet wurde. Um eine bessere Vergleichbarkeit der n_s -Werte zu gewährleisten, wurden bei der Auswertung stets die gleichen Werte für die Nullzeit (135 ns), Hintergrundzeit (1035 ns) und Cutoff-Zeit (1485 ns) gewählt.

4 Auswertung und Diskussion

4.1 Phasenseparationsverhalten von PPEs

In diesem Kapitel soll das (nanoskopische) Phasenseparationsverhalten von PPEs in wässriger Lösung eingehend diskutiert werden.^{60,127} Abbildung 4.1 zeigt die CW-EPR-Spektren der beiden untersuchten Copolymere P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) im *B*-Feldbereich des Hochfeldsignals (links, A und B) sowie die Temperaturkurven des Intensitätsverhältnisses $I_R = |I_+/I_-|$ (rechts, C und D), mit I_+ als Signalintensität ober- bzw. I_- unterhalb von null. Die vollständigen EPR-Spektren der beiden PPEs und die einer TEMPO-Referenzprobe mit den entsprechenden I_R -*T*-Kurven sind in Abbildung 8.1 bis Abbildung 8.4 im Anhang zu finden.

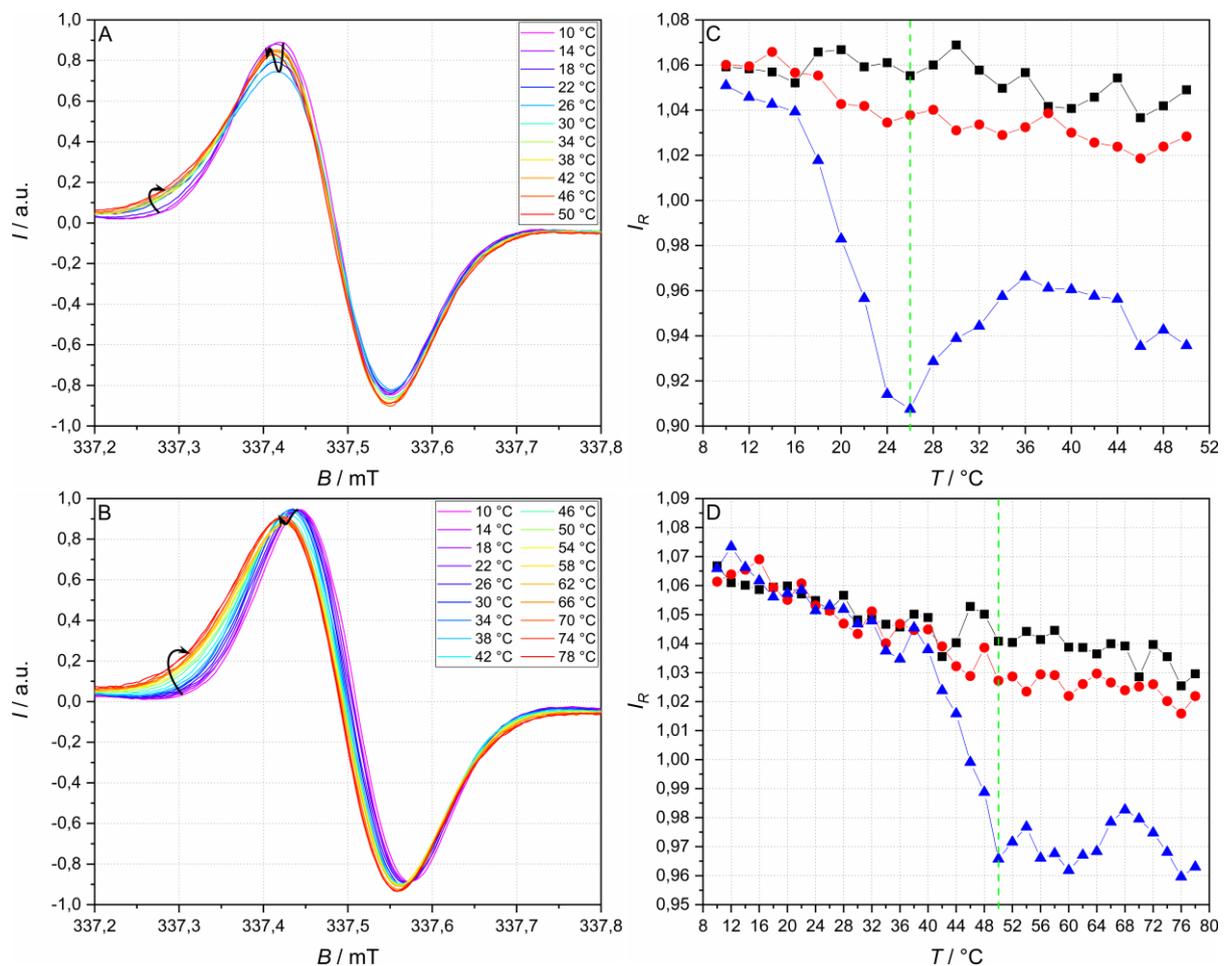


Abbildung 4.1: CW-EPR-Spektren im *B*-Feldbereich des Hochfeldsignals (A + B, links) sowie das Intensitätsverhältnis $I_R = |I_+/I_-|$ von Tiefeld- (schwarze Quadrate), Mittelfeld- (rote Kreise) und Hochfeldsignal (blaue Dreiecke) in Abhängigkeit von der Temperatur *T* (C + D, rechts) für die Polymere P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) (A + C, oben) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) (B + D, unten). Die EPR-Spektren in A und B wurden mit einer Polymerkonzentration von 15 mg mL⁻¹ in DPBS mit 0,2 mM TEMPO gemessen, wobei der besseren Übersichtlichkeit halber nur jedes zweite gemessene Spektrum gezeigt ist. Die in A und B dargestellten geschwungenen schwarzen Pfeile dienen als Orientierungshilfe für das Auge und sollen die Linienformveränderung des Hochfeldsignals veranschaulichen. Die grün gestrichelte vertikale Linie in C und D zeigt die makroskopische Trübungstemperatur T_{cp} des entsprechenden PPE-Copolymers an.⁶⁰

Betrachtet man das Temperaturprofil des in Abbildung 4.1 A und B dargestellten Hochfeldsignals, so zeigt sich, dass sich dessen Intensität und Linienform mit zunehmenden T verändern. Diese charakteristische Änderung ist keine triviale Linienverbreiterung bedingt durch eine einzige SONDENSPEZIES, sondern das Resultat eines komplexen nanoskopischen Phasenseparationsverhaltens, welches empirisch durch Linienformanalyse anhand der Darstellung des Intensitätsverhältnisses I_R gegen T verfolgt werden kann. So ist in Abbildung 4.1 C und D zu erkennen, dass sich die I_R - T -Kurve des Hochfeldsignals (blaue Dreiecke) deutlich von denen des Tieffeld- (schwarze Quadrate) und Mittelfeldsignals (rote Kreise) unterscheidet. Während die Graphen der beiden letztgenannten lediglich eine mehr oder weniger starke lineare Abnahme über den gesamten T -Bereich zeigen, weist die I_R - T -Kurve des Hochfeldsignals bei 18 °C für P(Et₃₃-CO-*n*Bu₇₆) bzw. 42 °C für P(Et₂₄-CO-*n*Bu₂₇) einen wesentlich stärkeren Abfall auf. Ausgehend von dieser EPR-basierten Temperatur der nanoskopischen Domänenbildung T_{EPR} tritt in den EPR-Spektren eine zweite SONDENSPEZIES auf, welche eine "hydrophobe" (d. h. etwas weniger hydrophile) Umgebung wahrnimmt und sowohl die Intensität, als auch Linienform des Hochfeldsignals in charakteristischer Art und Weise beeinflusst. Das (lokale) Minimum der I_R - T -Kurve des Hochfeldsignals wird allerdings erst etwa 8 °C oberhalb von T_{EPR} erreicht (grün gestrichelte Linie in Abbildung 4.1 C und D), wobei diese Temperatur exakt der mittels Trübungsmessungen bestimmten makroskopischen Trübungstemperatur T_{cp} entspricht (vgl. Tabelle 3.1).

Interessanterweise zeigen andere Spinsonden, wie z. B. TEMPOL und TEMPON, unter gleichen Bedingungen keine solch charakteristischen Temperaturänderungen in ihren CW-EPR-Spektren bzw. I_R - T -Kurven (siehe Abbildung 8.5 bis Abbildung 8.8 im Anhang). Dies legt die Schlussfolgerung nahe, dass diese Spinsonden aufgrund ihres im Vergleich zu TEMPO deutlich hydrophileren Charakters (vgl. Tabelle 2.1) sich nahezu ausschließlich in hydrophiler, wässriger Umgebung (engl. bulk water) aufhalten und die etwas hydrophoberen, polymerreichen Nanodomänen nicht wahrnehmen. Somit stellt die "richtige" Wahl der hinsichtlich Größe und amphiphilen Charakter für das zu untersuchende System geeigneten Spinsonde einen entscheidenden Faktor bei EPR-spektroskopischen Untersuchungen dar.

Über eine vergleichsweise einfache empirische I_R -Analyse hinaus, ermöglichen spektrale Simulationen einen weitaus tiefergehenden Einblick in den Nanophasenseparationsprozess und erlauben eine detaillierte, quantitative Auswertung. Die CW-EPR-Spektren zusammen mit ihren jeweiligen Simulationen bei drei ausgewählten Temperaturen (siehe Abbildung 8.9 bis Abbildung 8.11 im Anhang für einen Überblick über alle Spektralsimulationen der beiden PPE-Copolymere sowie die einer TEMPO-Referenzprobe) sind in Abbildung 4.2 dargestellt.

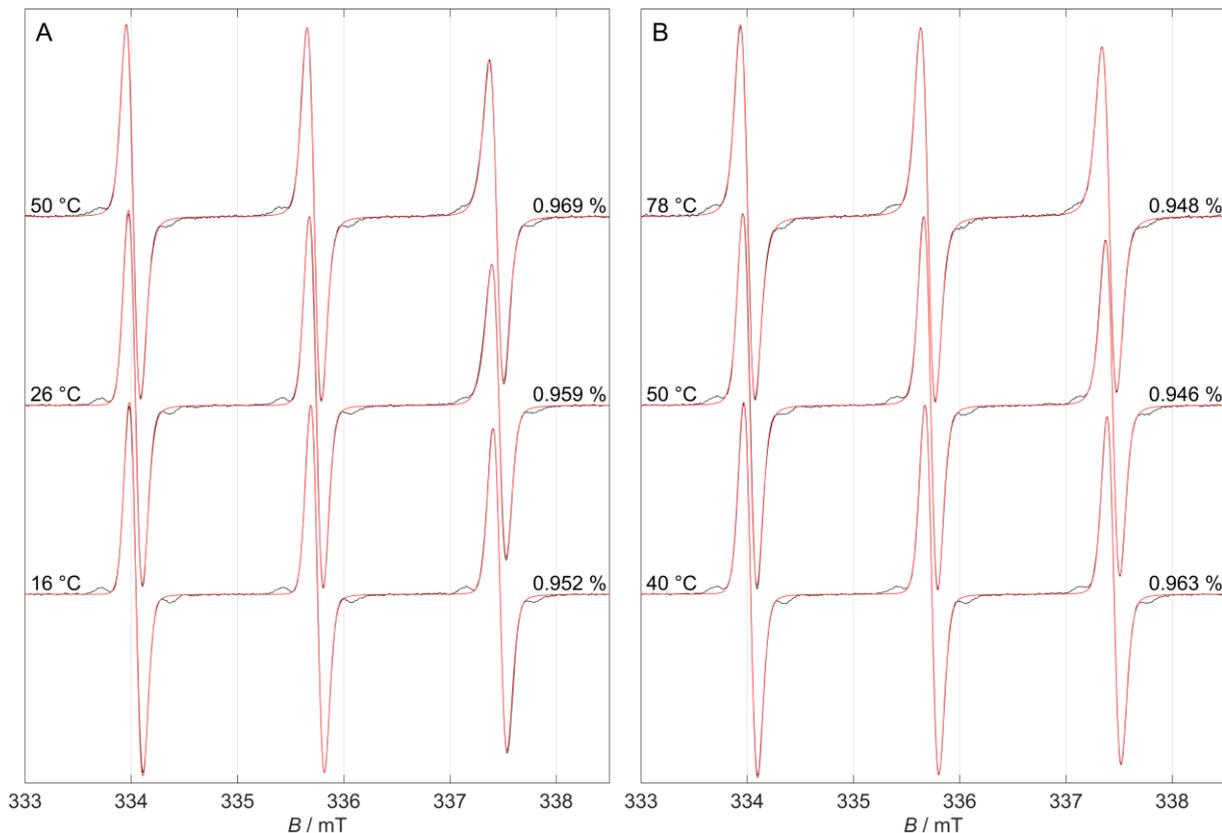


Abbildung 4.2: Gemessene CW-EPR-Spektren (schwarz) zusammen mit den jeweiligen Simulationen (rot) von P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) (A, links) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) (B, rechts), bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL⁻¹ und 0,2 mM TEMPO in DPBS-Puffer. Die Temperatur T ist links und der RMSD-Wert der Simulationen rechts angegeben.⁶⁰

Abbildung 4.2 zeigt, abgesehen von den ¹³C- und ¹⁵N-Signalen (siehe Abbildung 8.12 im Anhang für weitere Erläuterungen hinsichtlich der Berücksichtigung der ¹³C- und ¹⁵N-Isotope in den Simulationen sowie zur Qualität der angegebenen RMSD-Werte), eine ausgezeichnete Korrelation zwischen den gemessenen und simulierten EPR-Spektren, was durch die konstant niedrigen RMSD-Werte belegt wird.

Die Polarität der direkten Spinsondenumgebung (d. h. in einem Radius von ca. 1 nm) kann, wie bereits in Kapitel 2.2.2 erläutert, mithilfe der isotropen Hyperfeinkopplungskonstanten a_{iso} bestimmt werden, welche sich gemäß Gleichung 2.16 anhand der simulierten Tensorwerte A_{xx} , A_{yy} und A_{zz} berechnen lässt. Grund dafür ist, dass bei geringer Umgebungspolarität (z. B. in polymerreichen Nanodomänen) die ungeladene Resonanzstruktur (A) des Nitroxid-Radikals (siehe Abbildung 2.6) bevorzugt wird, während in Regionen mit hoher Polarität (etwa in Wasser) die zwitterionische Struktur (B) begünstigt ist. Die mithilfe von Spektralsimulationen ermittelten a_{iso} -Temperaturkurven für die beiden PPE-Copolymere sowie die einer TEMPO-Referenzprobe sind in Abbildung 4.3 dargestellt.

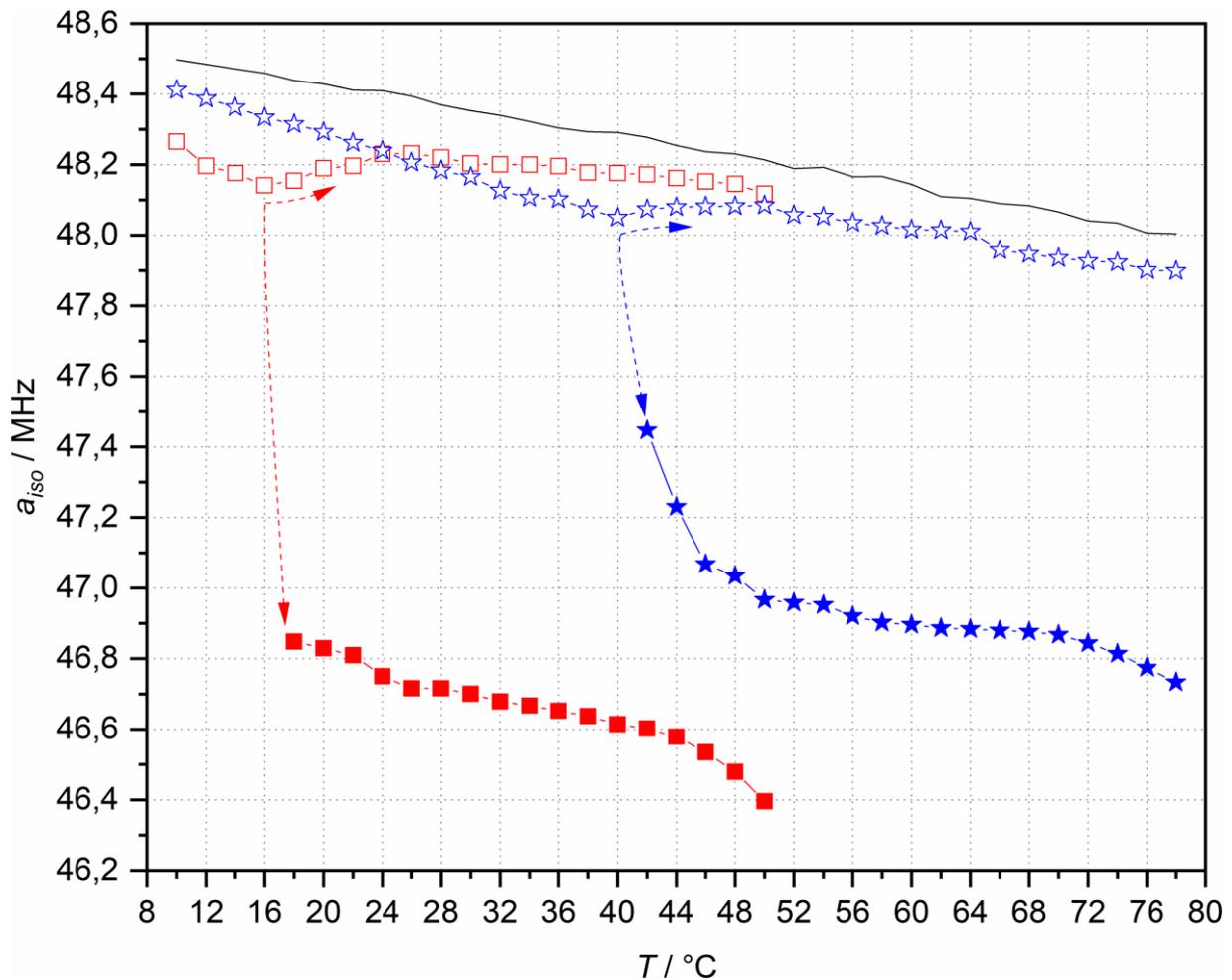


Abbildung 4.3: Isotrope Hyperfeinkopplungskonstante a_{iso} als Funktion der Temperatur T für die beiden PPE-Copolymere P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) (rote Quadrate) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) (blaue Sterne) in DPBS-Puffer mit 0,2 mM TEMPO und Polymerkonzentrationen von 15 mg mL⁻¹. Die offenen Symbole repräsentieren die hydrophile und die gefüllten Symbole die hydrophobe Sonderspezies. Die Daten einer 0,2 mM TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer sind als schwarze Linie gezeigt, wobei die rot und blau gestrichelten Pfeile als Orientierungshilfe für das Auge dienen.⁶⁰

Betrachtet man zunächst den Graph der TEMPO-Referenz (schwarze Linie in Abbildung 4.3), so wird eine lineare Abnahme von a_{iso} mit steigendem T beobachtet, was eindeutig auf eine Abnahme der Spinsondenumgebungspolarität hinweist. Dieses Phänomen ist bereits wohl bekannt und wird durch die Schwächung der H-Brückenbindungen und die Abnahme der Dielektrizitätskonstanten ϵ mit steigender Temperatur hervorgerufen.^{2,147,148} Für die beiden PPE-Copolymere P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) ist ein solch linearer Abfall der a_{iso} - T -Kurve nur bis 16 °C bzw. 40 °C zu beobachten. In beiden Fällen liegen die a_{iso} -Werte aufgrund der geringeren Polarität der wässrigen Polymerlösung stets unterhalb denen der TEMPO-Referenz. Ab Temperaturen von 18 °C bzw. 42 °C können die CW-EPR-Spektren nicht mehr mit nur einer Spinsondenart simuliert werden, da von nun an auch Sonderspezies mit niedrigeren a_{iso} -Werten in die Simulationen miteinbezogen werden müssen.

Diese "hydrophobe" Sondenspezies weist bei beiden PPE-Copolymeren geringfügig kleinere Hyperfeinkopplungen auf (insbesondere das entsprechende Hochfeldsignal erscheint bei etwas niedrigeren B -Feldwerten; siehe Abbildung 8.13 und Abbildung 8.14 im Anhang), was ihre geringere Umgebungspolarität widerspiegelt.

Verglichen mit den hydrophoben Sondenspezies in vielen anderen typischen LCST-Polymeren ($a_{iso} \approx 44\text{--}45$ MHz), besitzt diese Spezies in den eher "hydrophoben/unpolaren" Nanodomänen bemerkenswert große Hyperfeinkopplungswerte im Bereich von 46,40–47,45 MHz. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die sich ausbildenden polymerangereicherten, nanoskopischen Inhomogenitäten eine etwas weniger polare Umgebung aufweisen als das sie umgebende Wasser (a_{iso} in Bulk-Wasser bei Raumtemperatur ca. 48,0–48,6 MHz, je nach Sondenkonzentration), aber dennoch relativ stark hydratisiert sind und daher wohl eher als "weniger hydrophil", anstatt als "hydrophob", bezeichnet werden sollten.^{44,144,149–152}

Demzufolge kann oberhalb der EPR-basierten Nanophasenseparationstemperatur T_{EPR} zwischen zwei Arten von Wasser unterschieden werden. Zum einen existiert das sog. Bulk-Wasser mit den nahezu frei beweglichen (taumelnden) hydrophilen Spinsonden, welche eine vergleichsweise hohe Umgebungspolarität wahrnehmen. Andererseits existieren aber auch polymerangereicherte Nanodomänen mit polymerassoziiertem Quellwasser, welches gemeinsam mit den unmittelbar benachbarten H_2O -Molekülen die Solvathülle um die Polymerketten bildet und eine etwas "weniger hydrophile" Sondenspezies beheimatet. Die Gesamtspektralsimulation stellt daher eine gewichtete Summe dieser beiden Sondenspezies dar, bei der jede Spezies einen genau definierten spektralen Anteil f besitzt (siehe Kapitel 3.3 für mehr Details).

Abbildung 4.4 zeigt den simulierten Anteil $f_{hydrophob}$ der hydrophoben Sondenspezies als Funktion der Temperatur T , gemeinsam mit den gemessenen Trübungskurven (Θ vs. T). Eine weitere Darstellung der Trübungskurven zusammen mit dem Intensitätsverhältnis des Hochfeldsignals $I_R(hf)$ ist in Abbildung 8.15 im Anhang zu finden. Des Weiteren ist in Abbildung 8.16 im Anhang auch eine Übersicht der simulierten g_{iso} -Werte der beiden Sondenspezies als Funktion der Temperatur zu finden, wobei an dieser Stelle explizit darauf hingewiesen sei, dass die erhaltenen g -Werte lediglich qualitativen Charakter haben und keine wirkliche quantitative Bedeutung besitzen, da sie ausschließlich auf X-Band-EPR-Messungen beruhen. Für eine echte quantitative Aussage hinsichtlich der Veränderung des Landé-Faktors wären hingegen Hochfeld-EPR-Messungen, z. B. im sog. W-Band ($\nu \approx 95$ GHz), erforderlich.

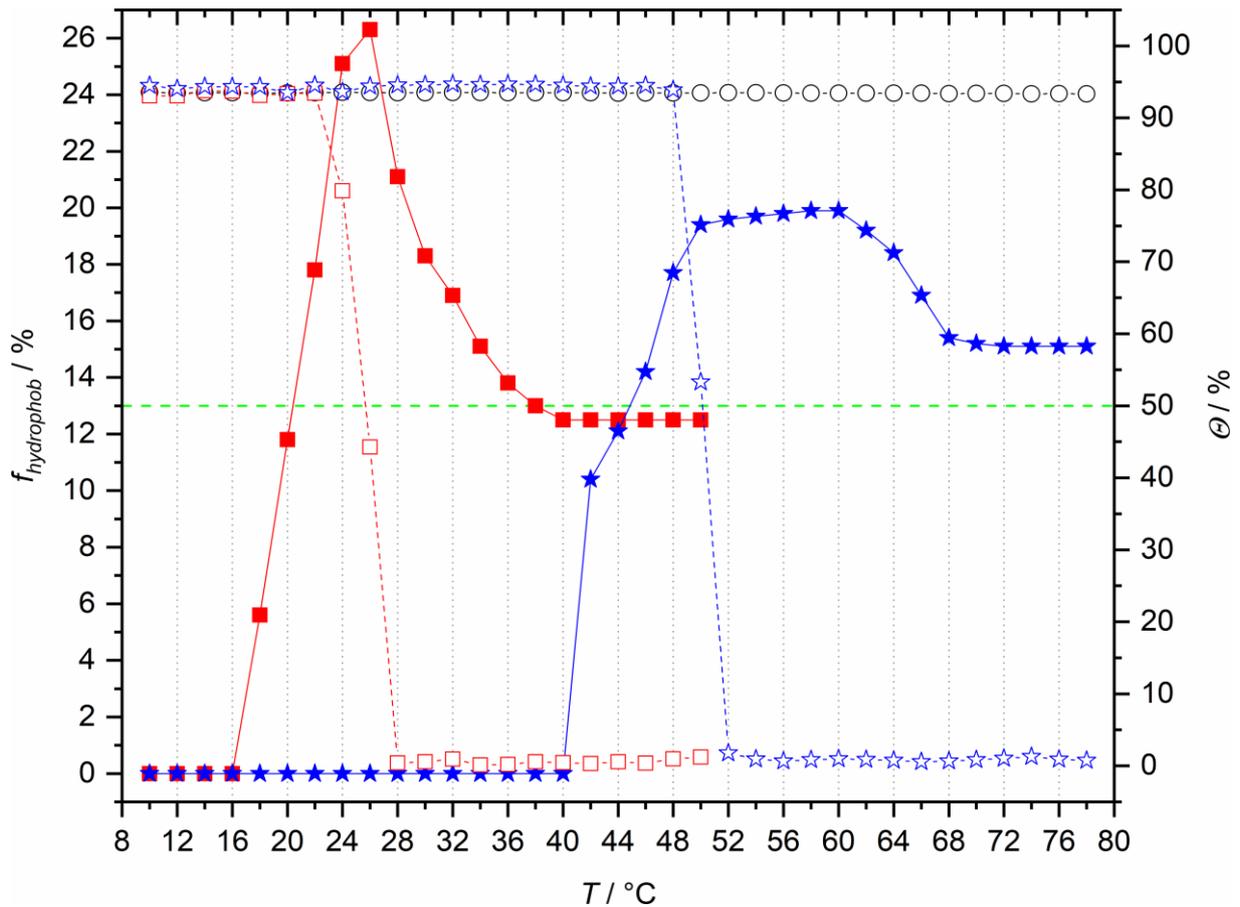


Abbildung 4.4: Anteil der hydrophoben Sondenartefakte $f_{hydrophob}$ (linke Achse) und Transmission Θ (rechte Achse) in Abhängigkeit von der Temperatur T für die beiden PPE-Copolymere P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) (rote Quadrate) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) (blaue Sterne) in DPBS-Puffer bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL⁻¹ und 0,2 mM TEMPO. Zum Vergleich ist ebenfalls der Graph einer 0,2 mM TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer (schwarze offene Kreise) gezeigt. Die gefüllten Symbole mit durchgezogener Linie gehören zur linken f -Achse, während die offenen Symbole mit gestrichelter Linie zur rechten Θ -Achse gehören. Die Schnittpunkte der Trübungskurven (offene Symbole und gestrichelte Linie) mit der grün gestrichelten Linie bei $\Theta = 50\%$ wurden zur Bestimmung der in Tabelle 3.1 angegebenen makroskopischen Trübungstemperaturen T_{cp} verwendet.⁶⁰

Abbildung 4.4 zeigt, dass bereits 7–8 °C unterhalb von T_{cp} eine hydrophobe Sondenartefakte in Erscheinung tritt, welche auf die Bildung von nanoskopischen Inhomogenitäten hinweist. Ausgehend von T_{EPR} (18 °C bzw. 42 °C) wachsen die polymerreichen Domänen auf der Nanoskala und der Anteil $f_{hydrophob}$ nimmt mit steigender Temperatur bis zum Erreichen von T_{cp} (26 °C bzw. 50 °C) kontinuierlich zu. Im gleichen T -Bereich nimmt a_{iso} (siehe Abbildung 4.3) der hydrophilen Sondenartefakte leicht zu, da sich die polymerangereicherten Nanodomänen beginnen von der Lösung zu separieren. Die a_{iso} -Werte der "hydrophoben" (d. h. weniger hydrophilen) Sondenartefakte nehmen mit zunehmendem T hingegen allmählich ab, da die Polymerketten immer stärker dehydratisiert werden.

Diese Art Verdrängung von polymerassoziiertem Wasser führt gleichzeitig zu einer rapiden Erhöhung der Rotationskorrelationszeit τ_c der weniger hydrophilen Sondenartefakte (siehe Abbildung 4.5), was auf eine Rotationsverlangsamung hinweist, wobei τ_c der hydrophilen

Spezies gleichzeitig leicht abnimmt. Dies zeigt die eingeschränkte Mobilität der in der Polymerhydratationshülle befindlichen hydrophoben Spinsonden, da ihre lokale (d. h. in einem Radius von ca. 2–3 nm um die Sonde herum) "Viskosität" während des Dehydratisierungsprozesses und der damit einhergehenden lokalen Polymeranreicherung signifikant zunimmt. Bei weiterem Temperaturanstieg über T_{cp} hinaus, nimmt a_{iso} der hydrophilen Sondenspezies wieder leicht ab und nähert sich mit steigendem T allmählich den Werten der TEMPO-Referenzprobe (schwarze Linie in Abbildung 4.3) an. Gleiches gilt für die τ_c -Werte der hydrophilen Sondenspezies (siehe Abbildung 4.5).

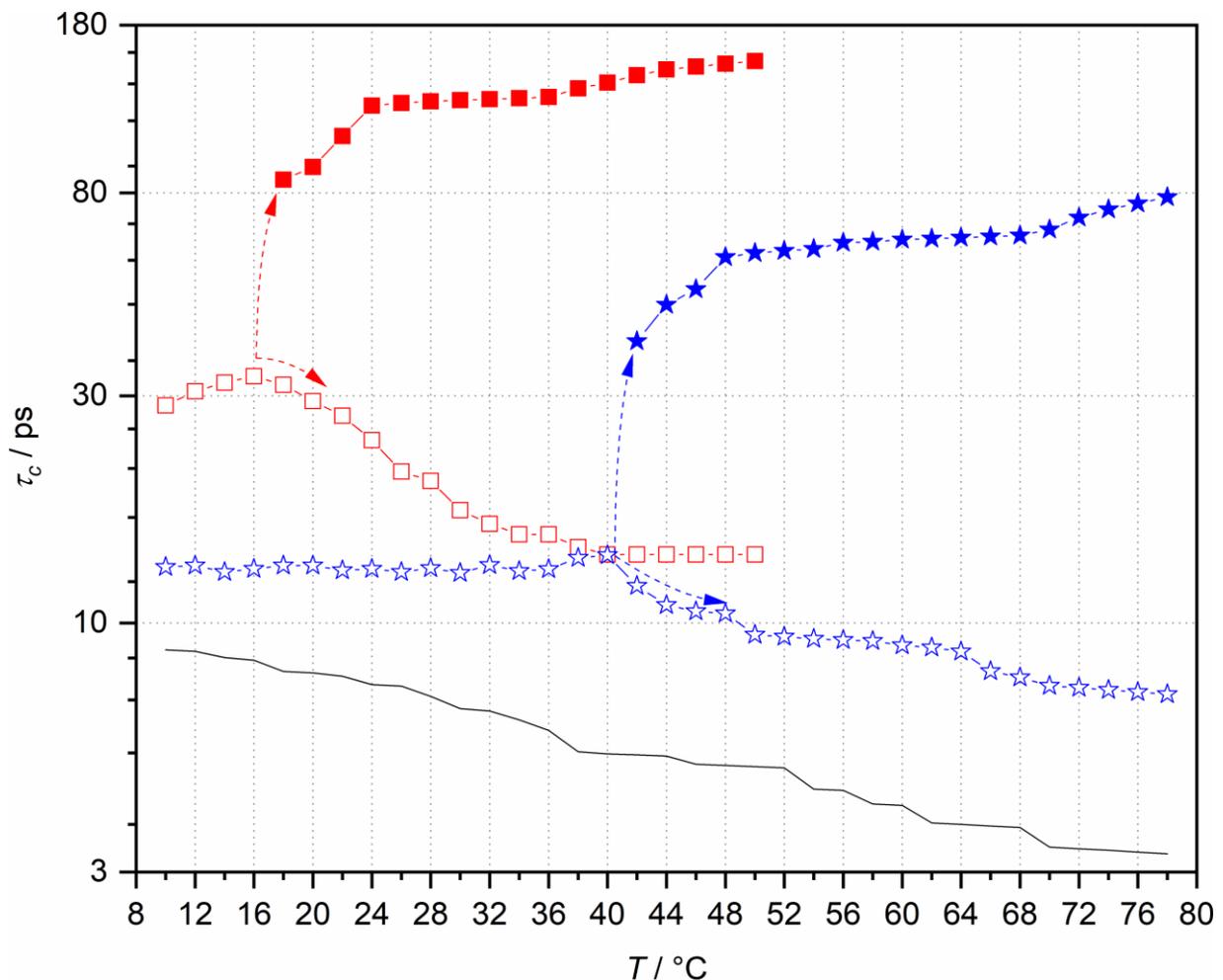


Abbildung 4.5: Rotationskorrelationszeit τ_c in Abhängigkeit von der Temperatur T für die beiden PPE-Polymere P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) (rote Quadrate) und P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) (blaue Sterne) bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL⁻¹ und 0,2 mM TEMPO in DPBS-Puffer. Die offenen Symbole repräsentieren die hydrophile Sondenspezies, während die gefüllten Symbole die hydrophobe Komponente anzeigen. Zum besseren Vergleich sind auch die Daten einer 0,2 mM TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer als schwarze Linie dargestellt. Die rot und blau gestrichelten Pfeile dienen als Orientierungshilfe für das Auge, wobei die logarithmische Skalierung der τ_c -Achse zu beachten ist.⁶⁰

Der bei Temperaturerhöhung oberhalb von T_{cp} beobachtete Abfall der a_{iso} -Werte der weniger hydrophilen Sondenspezies, weist erneut eindeutig auf eine reduzierte Umgebungspolarität in den polymerreichen, nanoskopischen Regionen hin.

Darüber hinaus zeigt sich, dass mit zunehmender Temperatur das polymerassoziierte Wasser offenbar vermehrt ausgestoßen wird, sodass die "hydrophoben" TEMPO-Sonden, welche aufgrund der T -Erhöhung nun über genügend thermische Energie verfügen, zwischen den kollabierenden, polymerreichen Nanodomänen und dem sie umgebenden Bulk-Wasser rasch austauschen. Daher nimmt auch im Falle des Copolymers P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) der Anteil $f_{hydrophob}$ bei einem Temperaturanstieg oberhalb von T_{cp} rasant ab (siehe rot gefüllte Quadrate in Abbildung 4.4). Dieses dynamische Austauschverhalten (d. h. die Abnahme von $f_{hydrophob}$ mit zunehmendem T) setzt sich bis etwa 40 °C fort. Oberhalb dieser Temperatur bleibt $f_{hydrophob}$ dann nahezu konstant, was darauf hindeutet, dass der Phasenseparationsprozess nun so weit fortgeschritten ist, dass die verbleibenden "hydrophoben" TEMPO-Sonden in den kollabierten Polymerdomänen gefangen sind (d. h. die Nanobereiche sind nun größer als ~5 nm), weshalb ein dynamischer Austausch zwischen den beiden Sondenspezies nun nicht mehr möglich ist. Gemäß Referenz 44 kann ein solches Verhalten auch als „statisch“ bezeichnet werden.

Im Vergleich zum PPE-Polymer P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) zeigt das Copolymer P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) ein Phasenseparationsverhalten, das sich in einigen Details unterscheidet. Obwohl beispielsweise auch der Anteil der "hydrophoben" Sondenspezies $f_{hydrophob}$ aufgrund der fortschreitenden Polymerphasenseparation im Bereich zwischen $T_{EPR} = 42$ °C und $T_{cp} = 50$ °C (siehe blau gefüllte Sterne in Abbildung 4.4) stark ansteigt, scheinen sich die nanoskopischen Inhomogenitäten insgesamt dennoch nur in etwas geringerem Maße auszubilden, da $f_{hydrophob}$ lediglich einen Maximalwert von ca. 20 % erreicht (zum Vergleich: $f_{hydrophob,max} \approx 26$ % bei $T_{cp} = 26$ °C beim Polymer P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆)). Im Gegensatz zum Copolymer P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆), bei welchem der Anteil der weniger hydrophilen Sondenspezies unmittelbar nach dem Erreichen des Maximums wieder abnimmt, bleibt $f_{hydrophob}$ beim Polymer P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) im T -Bereich von 50–60 °C nahezu konstant.

Gemeinsam mit den vergleichsweise hohen a_{iso} -Werten der weniger hydrophilen Sondenspezies dieses Copolymers (siehe blau gefüllte Sterne in Abbildung 4.3) deutet dies daraufhin, dass dessen gebildete polymerreichen Nanodomänen deutlich stärker hydratisiert sind, als die Inhomogenitäten des Copolymers P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆). Dies wiederum kann auch so interpretiert werden, dass sich die "hydrophoben" Spinsonden beim Polymer P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) in polymerassoziiertem Wasser mit einer höheren (lokalen) Umgebungspolarität befinden. Daher ermöglichen auch die nanoskopischen Inhomogenitäten dieses hydrophileren PPE-

Polymers ein dynamisches Sondaustauschverhalten über einen signifikant größeren Temperaturbereich, als es beim Copolymer P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) der Fall ist.

Darüber hinaus ist für die weitere Dehydratisierung der hydrophileren P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇)-Polymerketten auch deutlich mehr thermische Energie ($T > 60\text{ °C}$) erforderlich, weshalb ein statisches Verhalten ohne weiteren Sondenspeziesausaustausch mit konstantem hydrophoben Anteil $f_{hydrophob}$ erst ab 68 °C beobachtet wird, während dies beim hydrophoberen Copolymer P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) bereits ab 40 °C eintritt. Dieses unterschiedliche Phasenseparationsverhalten der beiden PPE-Polymere resultiert aus ihrer unterschiedlichen Copolymerzusammensetzung (siehe Abbildung 3.1 und Tabelle 3.1) und könnte etwa für den materialwissenschaftlichen Bereich oder für medizinisch-pharmazeutische Anwendungen von großem Interesse sein, wenn sie beispielsweise als temperaturresponsive Freisetzungssysteme (z. B. bei der chemischen Synthese bzw. bei der Arzneimittelwirkstoffabgabe oder der Herstellung von Minimalzellsystemen) eingesetzt werden.^{153,154}

Das beobachtete (nanoskopische) Phasenseparationsverhalten der beiden untersuchten PPE-Copolymere kann gemäß Referenz 44 den sog. „dynamischen Inhomogenitäten vom Typ I“ zugeordnet werden, bei denen ein dynamischer Spinsondenaustausch zwischen wasser- und polymerreichen Nanodomänen nur bei mittelhohen Temperaturen knapp oberhalb von T_{EPR} möglich ist. Eine skizzenhafte Darstellung der zuvor beschriebenen nanoskaligen Prozesse in Abhängigkeit von der Temperatur ist in Abbildung 4.6 zu finden.

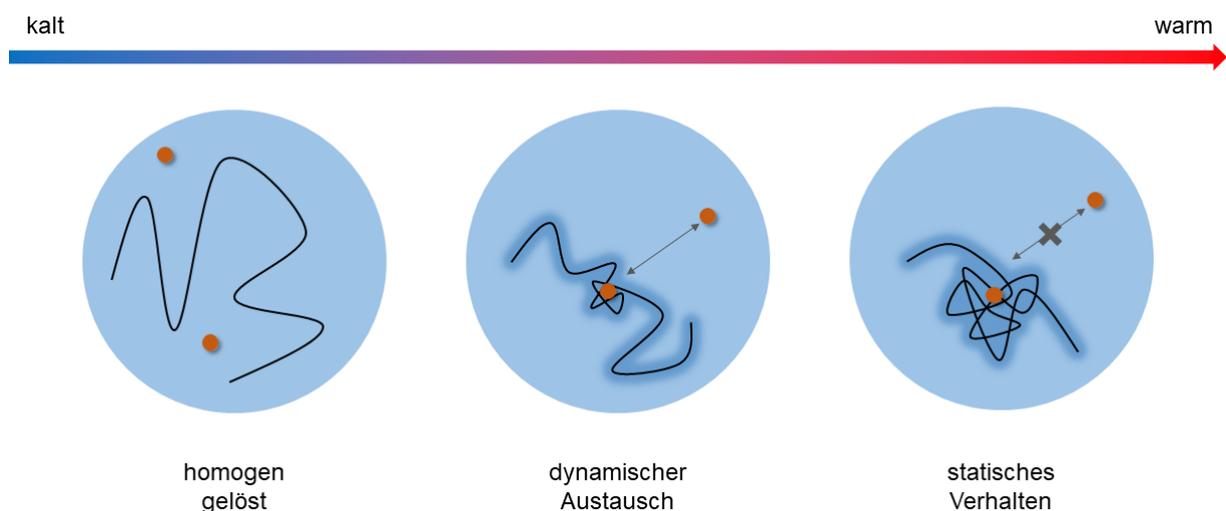


Abbildung 4.6: Schematische Darstellung der im Text für den Fall der sog. „dynamischen Inhomogenitäten vom Typ I“ beschriebenen nanoskaligen Phasenseparationsprozesse. Die orangefarbenen Punkte repräsentieren die TEMPO-Spinsonden, während die geschwungenen schwarzen Linien das PPE-Copolymer darstellen sollen.⁶⁰

An dieser Stelle sei explizit daraufhin gewiesen, dass die beobachtete Bildung von nanoskaligen Inhomogenitäten ab T_{EPR} weit über das übliche Maß an thermischen

Konzentrationsfluktuationen in (wässriger) Lösung hinausgeht. Eine "echte" makroskopische Polymer(phasen)separation mit einhergehender Trübung der zuvor klaren Lösung kann allerdings erst etwa 8 °C höher bei $T_{cp} = 26$ °C bzw. 50 °C beobachtet werden. Erstaunlicherweise ist die charakteristische und kontinuierliche Aufspaltung des Hochfeldsignals bei höheren Temperaturen, wie sie normalerweise typisch für dynamische Inhomogenitäten vom Typ I ist, bei den hier untersuchten PPE-Copolymeren nicht zu beobachten. Dies ist vor allem auf den extrem niedrigen A-Kontrast (d. h. die sehr kleine Polaritätsdifferenz) von nur 0,63–1,72 MHz zwischen den beiden Sondenspezies zurückzuführen, welcher selbst bei höheren Temperaturen maximal dem zwischen Wasser ($a_{iso} \approx 48,30$ MHz) und Essigsäure ($a_{iso} \approx 46,55$ MHz) bzw. Formamid ($a_{iso} \approx 46,38$ MHz) entspricht.^{155,156} Aus methodischer Sicht zeigt dies auch die bemerkenswerte Sensitivität gegenüber nanoskaligen Prozessen, welche eine vergleichsweise einfache Methode wie die CW-EPR-Spektroskopie in Kombination mit rigorosen Spektralsimulationen bieten kann.

4.2 Solvatationsverhalten von Nitroxid-Spinsonden

Gegenstand dieses Abschnitts soll die ausführliche Diskussion des Solvatationsverhaltens von Nitroxid-Spinsonden vor allem im wässrigen Medium sein.¹⁵⁷ Die im Q-Band ($\nu \approx 34$ GHz) gemessenen CW-EPR-Spektren von TEMPO und TEMPON in verschiedenen Lösungsmitteln sind zusammen mit den entsprechenden Simulationen in Abbildung 4.7 dargestellt. Eine Gegenüberstellung dieser Q-Band-Spektren mit den entsprechenden CW-EPR-Spektren im X-Band ($\nu \approx 9,4$ GHz) ist in Abbildung 8.17 im Anhang zu finden.

Die EPR-Spektren A und B in Abbildung 4.7 zeigen eindeutig, dass amphiphile TEMPO-Radikale in H₂O und D₂O die spektrale Signatur von zwei verschiedenen Sondenspezies aufweisen. Neben den vollständig solvatisierten TEMPO-Molekülen (blau) existiert noch eine weitere hydrophobe Spezies (magenta), deren signifikant kleineren Hyperfeinkopplungen und größere Linienbreite auf eine lokal wesentlich unpolare Umgebung bzw. auf eine deutlich verlangsamte Rotationsbewegung hinweisen. Im Folgenden soll gezeigt werden, dass diese Spektralkomponente höchstwahrscheinlich TEMPO-Sonden darstellt, die von einer (effektiv) impermeablen H₂O/D₂O-Solvatationshülle umschlossen sind, welche eine hoch unpolare, nahezu "hydrophobe" Hülle um die einzelnen TEMPO-Moleküle erzeugt. In "klassischen" organischen Lösungsmitteln, wie z. B. THF, ist eine solche zweite hydrophobe Sondenspezies hingegen nicht beobachtbar (siehe Abbildung 4.7 D).

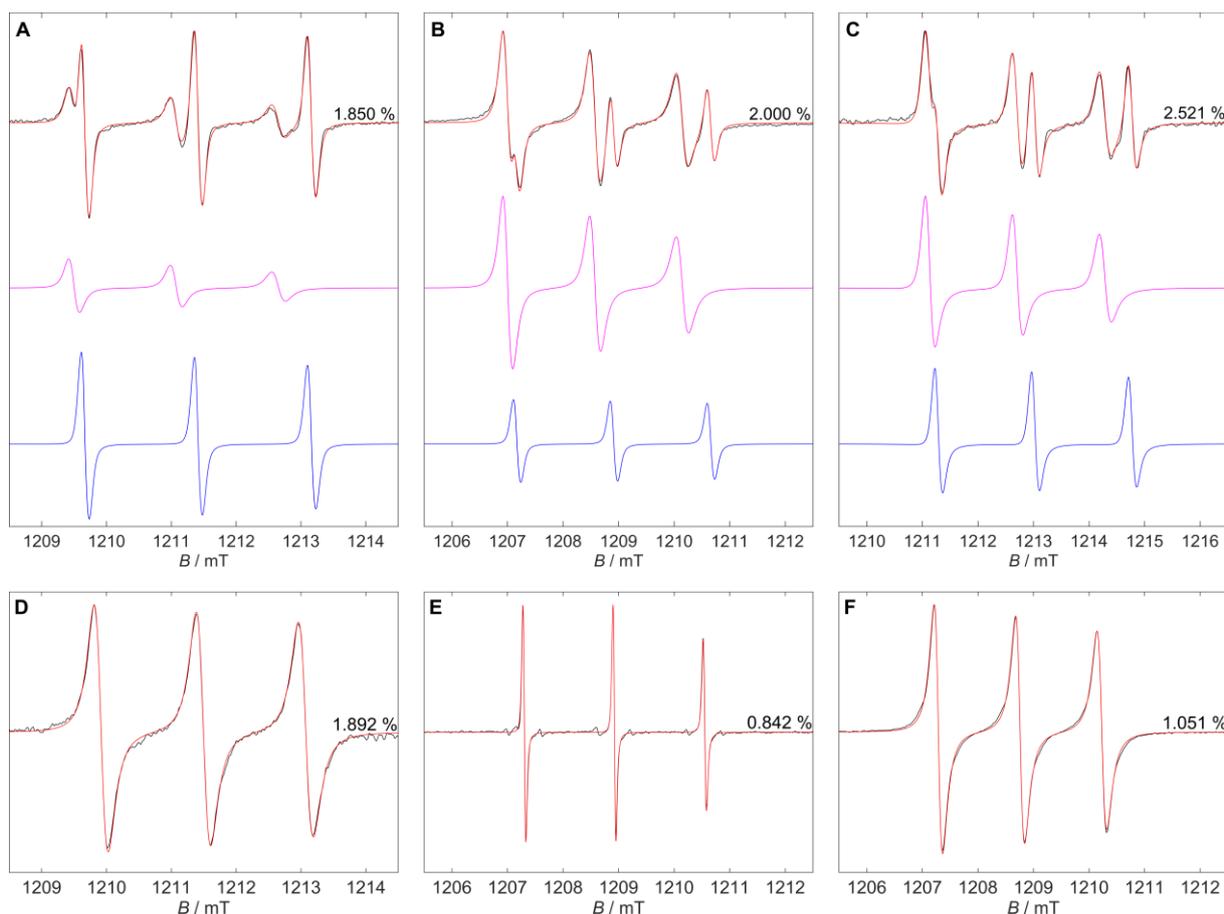


Abbildung 4.7: Experimentelle CW-EPR-Spektren (schwarz) im Q-Band ($\nu \approx 34$ GHz) zusammen mit ihren jeweiligen Simulationen (rot) gemessen bei Raumtemperatur und einer Spinsondenkonzentration von 0,47 mM. A) TEMPO in H_2O , B) TEMPO in D_2O und C) TEMPO in $\text{H}_2\text{O}/10$ Vol.% THF mit den simulierten Spektren einer hydrophoben (magenta) und hydrophilen (blau) Spezies. Die Spektren D) TEMPO in THF, E) TEMPO in H_2O und F) TEMPO in THF zeigen nur eine vollständig solvatisierte, hydrophile Sonderspezies. Der RMSD-Wert einer jeden Simulation ist jeweils rechts vom Spektrum angegeben.¹⁵⁷

In den CW-EPR-Spektren von TEMPO in wässrigen THF-Mischungen mit unterschiedlicher Zusammensetzung (siehe Abbildung 4.7 C und Abbildung 8.19 im Anhang) kann ein komplexes Verhalten zwischen den verschiedenen Sonderspezies beobachtet werden. Mit steigendem THF-Gehalt ändern sich die spektralen Anteile der beiden Sonderspezies, bis schließlich in reinem THF nur noch vollständig solvatisierte TEMPO-Radikale als alleinige Spezies verbleiben (siehe Abbildung 4.7 D). Grund für dieses Phänomen ist nicht zuletzt die Abweichung der H_2O -THF-Mischungen vom idealen Mischverhalten aufgrund eines stark negativen Exzessvolumens.¹⁵⁸ Hierbei scheint die Zugabe kleiner THF-Mengen zur wässrigen Lösung die Bildung der hydrophoben Spezies zu unterstützen (siehe Abbildung 4.7 C).

Grundsätzlich mag es spektroskopisch zunächst recht überraschend erscheinen, dass die in wässriger Lösung (d. h. in H_2O und D_2O) vorliegende hydrophobe TEMPO-Spezies auf den ersten Blick nicht in den gemessenen X-Band-EPR-Spektren auftaucht (siehe Abbildung 8.17 im Anhang) und auch noch nicht in der Literatur erwähnt wurde, obwohl sie im Q-Band

($\nu \approx 34$ GHz) einen vergleichsweise großen spektralen Kontrast zu den solvatisierten TEMPO-Radikalen aufweist. Tatsächlich wird ihr Signal im X-Band (links vom Hochfeldpeak der solvatisierten TEMPO-Sonden, siehe Abbildung 8.18 im Anhang) von den sich ebenfalls in diesem B -Feldbereich befindlichen ^{13}C - und ^{15}N -Resonanzlinien verdeckt, welche offenbar die Detektion dieser hydrophoben TEMPO-Spezies bei den standardmäßig verwendeten X-Band-Frequenzen ($\nu \approx 9,4$ GHz) bislang verhindert haben.

Gerade diese verschiedenen Messfrequenzen sind für das beobachtete unterschiedliche visuelle Erscheinungsbild der hydrophoben TEMPO-Spezies in den CW-EPR-Spektren im X- und Q-Band verantwortlich. So verbessert etwa das höhere B -Feld des Q-Bandes nicht nur die spektrale g -Tensorauflösung, sondern ermöglicht auch eine andere Sicht auf die Rotationsbewegung (wie sie z. B. durch die Rotationskorrelationszeit τ_c definiert ist) der Spinsonde, zumal sich auch der Charakter der spektralen Linienbreite und der entsprechenden Relaxationsraten mit der Frequenz verändert.^{159–161} Hierbei wird bei den meisten Nitroxid-Radikalen die apparente Linienbreite vor allem durch die unaufgelösten Hyperfeinkopplungen zwischen dem ungepaarten Elektronenspin und den ^1H -Kernspins der in unmittelbarer Umgebung zahlreich vorhandenen H-Atome (etwa in den vier CH_3 -Gruppen in α -Position) bestimmt.¹⁶² Aufgrund der ungleichen Zeitskalen im X- und Q-Band haben diese unaufgelösten Hyperfeinkopplungen einen unterschiedlichen EPR-spektroskopischen Effekt, weshalb z. B. das Spektrum einer Spinsonde im Q-Band stets etwas langsamer als im X-Band erscheint, trotz eines nominell gleichen τ_c -Wertes. Mithilfe der Software „EasySpin“ konnten die gemessenen CW-EPR-Spektren mit identischen Parametern im X- und Q-Band mit hoher Genauigkeit simuliert werden (siehe Abbildung 4.7 bzw. Abbildung 8.17 im Anhang), indem kleine unaufgelöste Hyperfeinkopplungen in einen Post-Konvolutionsansatz miteinbezogen wurden (siehe Kapitel 3.3 für weitere Details). Die erhaltenen Simulationsparameter sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Ein Blick auf die Simulationsdaten in Tabelle 4.1 zeigt, dass die g_{iso} - und a_{iso} -Werte der hydrophoben TEMPO-Sonden in wässriger Lösung im gleichen Bereich liegen, wie die Werte der vollständig solvatisierten TEMPO-Radikale in reinem THF. Da eine Reduzierung der Spinsondenumgebungspolarität zur Verschiebung der Elektronenspinpopulation entlang der N–O-Bindung in Richtung des Sauerstoffs und damit zu einer Abnahme von a_{iso} , als Maß für die Kopplungsstärke zwischen dem ungepaarten Elektronenspin und dem ^{14}N -Kernspin (vgl. Kapitel 2.2.4), führt, zeigt die Abnahme dieses Wertes um fast 5 MHz, dass die hydrophobe TEMPO-Spezies auch in einem hoch polaren Lösungsmittel wie Wasser oder D_2O eine signifikant verringerte Umgebungspolarität spürt.

Tabelle 4.1: Isotroper Landé-Faktor g_{iso} und isotrope Hyperfeinkopplungskonstante a_{iso} sowie spektraler Spinsondenanteil f bestimmt anhand der Simulation der in Abbildung 4.7 bzw. Abbildung 8.17 im Anhang gezeigten CW-EPR-Spektren.

Spektrum in Abbildung 4.7	Spinsonde (Spezies)	Lösungsmittel	g_{iso}	a_{iso} / MHz	f / %
A	TEMPO (hydrophil)	H ₂ O	2,00591	49,06	54,1
	TEMPO (hydrophob)		2,00648	44,27	45,9
B	TEMPO (hydrophil)	D ₂ O	2,00607	49,01	16,6
	TEMPO (hydrophob)		2,00663	44,13	83,4
C	TEMPO (hydrophil)	H ₂ O/ 10 Vol.% THF	2,00575	48,99	31,0
	TEMPO (hydrophob)		2,00629	44,22	69,0
D	TEMPO	THF	2,00655	44,37	100
E	TEMPON	H ₂ O	2,00580	45,61	100
F	TEMPON	THF	2,00626	41,33	100

Ein Vergleich der Daten für Wasser und Deuteriumoxid zeigt, dass der spektrale Anteil f der hydrophoben TEMPO-Spezies in D₂O signifikant erhöht ist (45,9 % in H₂O gegenüber 83,4 % in D₂O; siehe Tabelle 4.1). Grund dafür ist die höhere Kernmasse des Deuteriums, welche zu einer Frequenzreduktion (d. h. zu einem niedrigeren Nullpunktsenergielevel) der Molekülschwingungen und damit zu einer verringerten Dissoziations- und Lösefähigkeit von D₂O im Vergleich zu Wasser führt. Darüber hinaus sind auch Translations- und Rotationsbewegungen in Deuteriumoxid aufgrund des sog. dynamischen Isotopeneffekts nur in wesentlich geringerem Maße möglich, weshalb D₂O im Vergleich zu Wasser bei 25 °C eine um ca. 23 % reduzierte Selbstdiffusion aufweist.^{163–165} Die etwas höheren g_{iso} -Werte in Deuteriumoxid im Vergleich zu Wasser lassen sich durch die Abwesenheit von Wasserstoffbrückenbindungen erklären (die Verschiebung von g_{xx} durch das Fehlen einer einzelnen H-Brückenbindung wird auf $\Delta g_{xx} \approx 4 \times 10^{-4}$, d. h. $\Delta g_{iso} \approx \frac{1}{3} \Delta g_{xx}$ geschätzt; siehe Gleichung 2.13), während die nahezu identischen a_{iso} -Werte eine sehr ähnliche Spinsondenumgebungspolarität in H₂O und D₂O anzeigen.¹⁶⁶

Die bisherigen Resultate werden auch durch Doppel-Elektronen-Elektronen-Resonanz-Experimente (DEER) im X-Band bestätigt (siehe Abbildung 4.8 und Abbildung 8.20 im Anhang), welche ein Maß für die dipolare Wechselwirkung zwischen Radikalen liefern und daher häufig für nanoskalige Abstandsmessungen verwendet werden.^{167,168}

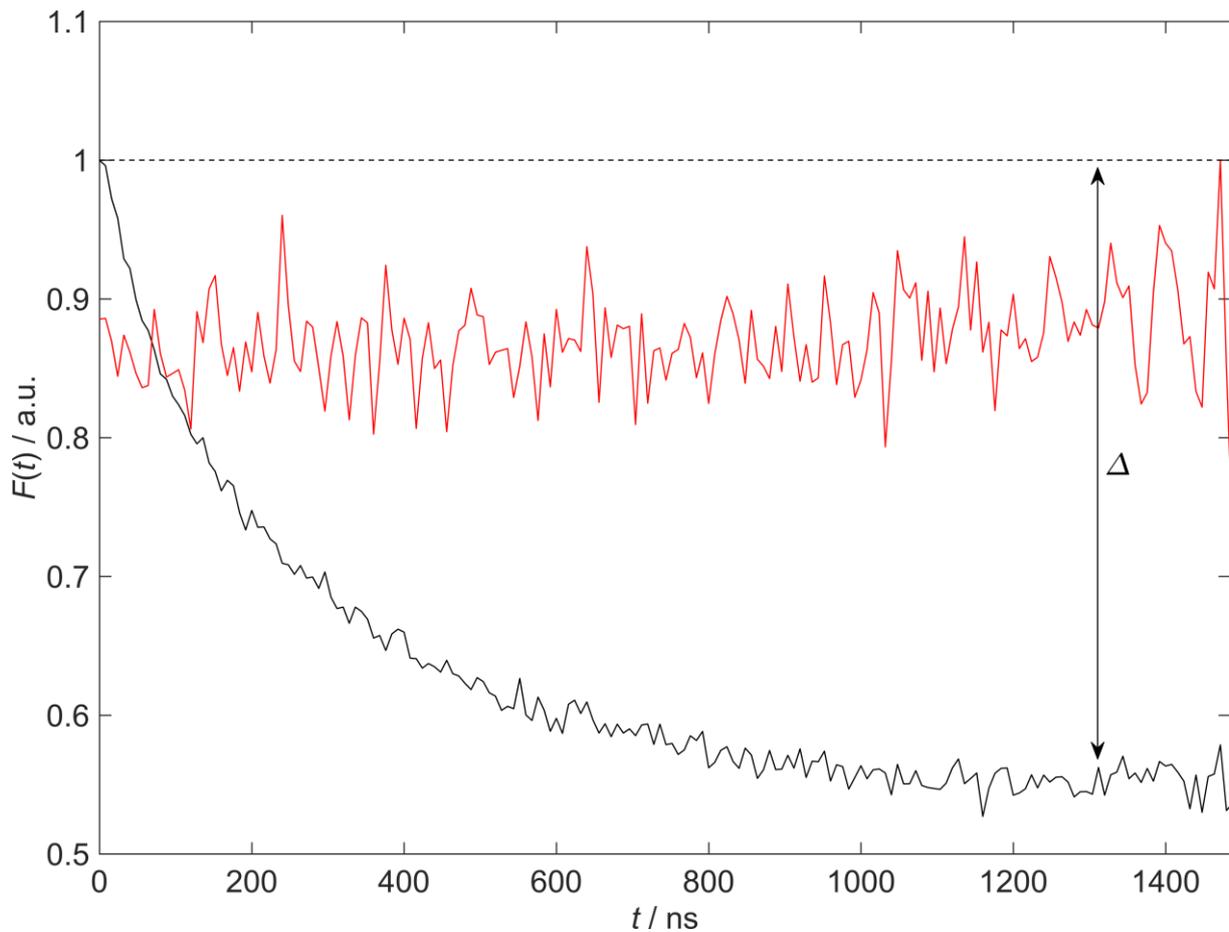


Abbildung 4.8: Hintergrundkorrigierte DEER-Zeitspuren $F(t)$ einer 0,47 mM TEMPO-Probe in $\text{H}_2\text{O}/10 \text{ Vol.}\% \text{ THF}$ (schwarz) und reinem THF (rot) gemessen im X-Band ($\nu \approx 9,4 \text{ GHz}$) bei 50 K. Für die $\text{H}_2\text{O}/10 \text{ Vol.}\% \text{ THF}$ -Probe ist zusätzlich auch die in Tabelle 4.2 angegebene Modulationstiefe Δ eingezeichnet.¹⁵⁷

Abbildung 4.8 zeigt, dass sich die hintergrundkorrigierten DEER-Zeitspuren $F(t)$ von TEMPO in der Mischung $\text{H}_2\text{O}/10 \text{ Vol.}\% \text{ THF}$ und reinem THF deutlich voneinander unterscheiden, was auf eine signifikant unterschiedliche lokale Konzentrationsverteilung der Spinsonde hinweist. Während im wässrigen Medium ein vergleichsweise starker Echoabfall mit hoher Modulationstiefe Δ beobachtet werden kann, ist dies in THF nicht der Fall (siehe Tabelle 4.2).

Tabelle 4.2: Modulationstiefe Δ und Anzahl der Spins n_s , ermittelt aus den in Abbildung 4.8 und Abbildung 8.20 im Anhang dargestellten hintergrundkorrigierten DEER-Zeitspuren $F(t)$.

Spinsonde	Lösungsmittel	Δ	n_s
TEMPO	$\text{H}_2\text{O}/10 \text{ Vol.}\% \text{ THF}$	0,440	2,08
	THF	0,003	1,28
TEMPO-N	$\text{H}_2\text{O}/10 \text{ Vol.}\% \text{ THF}$	0,173	1,46
	THF	0,058	1,32

Die Modulationstiefe von TEMPO in Wasser ($\Delta = 0,440$) entspricht hierbei dem typischen Wert eines klassischen Biradikals.^{169–172} Dies und die Tatsache, dass nach der Tikhonov-Regularisierung die Anzahl der Spins n_s etwa 2 beträgt, deutet darauf hin, dass im wässrigen Medium ein signifikanter Anteil der TEMPO-Sonden in einem Bereich von etwa 2–5 nm lokal konzentriert (z. B. in Form von Aggregaten) vorliegt, während in reinem THF eine vollständig homogene Spinsondenverteilung und damit wenig dipolare Interaktion zu beobachten ist. Dies erklärt auch, warum insbesondere in den CW-Q-Bandspektren kein Heisenberg-Spinaustausch für die hydrophoben TEMPO-Aggregate beobachtet wird, da diese kurzreichweitige Austauschwechselwirkung nur im Bereich bis etwa 1 nm wirksam ist.¹¹⁸

Kombiniert man nun die Informationen aus den CW-EPR-Spektren (hoch unpolare, aprotische Sondenumgebung mit verlangsamter Rotationsdynamik ohne Heisenberg-Spinaustausch) mit denen aus den DEER-Experimenten (stark erhöhte lokale Konzentration), so kann man an dieser Stelle berechtigterweise vermuten, dass TEMPO und seine unpolare wässrige Solvatationshülle lokal angereichert sind und dass es eine attraktive Interaktion dieser nanoskopischen TEMPO-Wasser-Objekte gibt. Auch die Simulationen der Puls-X-Band-ESE-Spektren (siehe Abbildung 8.21 und Tabelle 8.1 im Anhang) belegen das Vorhandensein einer hydrophoben TEMPO-Spezies in der Mischung H₂O/10 Vol.% THF bei 50 K und stehen daher im Einklang mit den Simulationsdaten aus den CW-EPR-Messungen bei Raumtemperatur. Ebenso zeigen auch die Kernfrequenzspektren der Fourier-transformierten 3p-ESEEM-Messungen (siehe Abbildung 8.22 und Tabelle 8.2 im Anhang) für TEMPO sowohl in reinem THF, als auch in der Mischung H₂O/10 Vol.% THF ausschließlich lösungsmittelspezifische ¹H-Frequenzen ($\nu(^1\text{H}) \approx 14$ MHz). Somit unterstützt auch das Fehlen von Stickstoffkernfrequenzen ($\nu(^{14}\text{N}) \approx 1$ MHz) die Erkenntnis, dass sich die hydrophoben TEMPO-Spezies im wässrigen Medium nicht ausreichend nahe für eine Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkung kommen.

Interessanterweise zeigt die Spinsonde TEMPON, die sich vom TEMPO-Radikal in ihrer chemischen Struktur lediglich durch die Carbonylgruppe in 4-Position unterscheidet, in ihren X- und Q-Band-EPR-Spektren in Wasser bei gleicher Konzentration keine zweite hydrophobe Spezies (siehe Abbildung 4.7 E und Abbildung 8.17 im Anhang). Außerdem weisen die CW-EPR-Spektren im Vergleich zu TEMPO in H₂O nur eine etwa halb so große Linienbreite auf und zeigen daher gut aufgelöste ¹³C- und ¹⁵N-Resonanzsignale. Grund für die geringere Spektrallinienbreite von TEMPON sind die Einschränkungen der Piperidinringkonformation durch die sp²-Hybridisierung der Carbonylbindung.^{173,174} Die bevorzugte Ringkonformation der beiden Nitroxid-Radikale TEMPO und TEMPON ist in Abbildung 4.9 dargestellt.

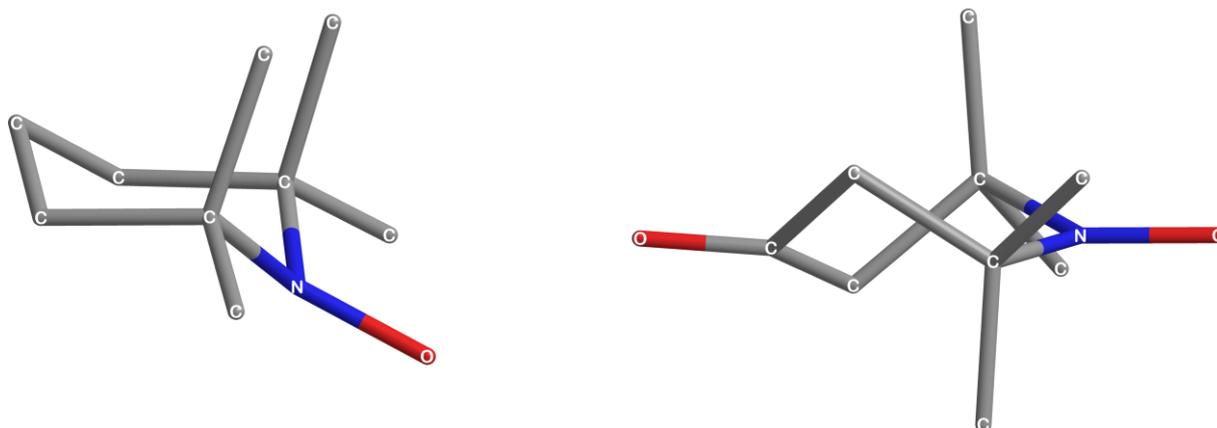


Abbildung 4.9: Strukturformeln mit bevorzugter Ringkonformation der beiden Nitroxid-Radikale TEMPO (links, Sesselkonformation) und TEMPON (rechts, verdrehte „twisted“ Ringkonformation) gemäß Röntgendaten aus Referenz 174. Der besseren Sichtbarkeit halber sind die Wasserstoffatome nicht dargestellt.¹⁵⁷

Abbildung 4.9 zeigt, dass TEMPO, wie z. B. Cyclohexan, eine Sesselkonformation mit Spiegelebensymmetrie des Piperidinrings und einem Winkel α_{NO} zwischen der N–O-Bindung und der CNC-Ebene von etwa $19,4^\circ$ aufweist. Im Gegensatz dazu besitzt TEMPON eine verdrehte (engl. „twisted“) Ringkonformation mit einer zweizähligen Drehachse entlang der N–O- und C=O-Bindung, die sich in einer Ebene mit dem Piperidinring (d. h. $\alpha_{NO} = 0^\circ$) befindet. Diese strukturelle Konformation, bei der sich die N–O- und C=O-Bindung in einer Ebene befinden, führt zu einer Art Kompensation der Einzeldipolmomente dieser beiden polaren Bindungen, weshalb das molekulare Nitroxid-Dipolmoment μ_{NO} von TEMPON ($\mu_{NO} = 1,36$ D) deutlich geringer ausfällt, als das von TEMPO ($\mu_{NO} = 3,14$ D).¹⁷⁵

Die Konformationsunterschiede und damit auch die unterschiedliche elektronische Struktur von TEMPO und TEMPON wird auch durch 3p-ESEEM-Messungen (siehe Abbildung 8.22 und Tabelle 8.2 im Anhang) belegt. Während TEMPO in den Kernfrequenzspektren sowohl in der Mischung H₂O/10 Vol.% THF als auch in reinem THF stets starke Wasserstoffsignale zeigt, weist TEMPON bei gleicher Sondenkonzentration deutlich schwächere H-Signale auf. Insbesondere in Wasser ist das ¹H-Signal von TEMPON im Vergleich zu TEMPO signifikant kleiner, was auf eine wesentlich geringere isotrope Spindichte an den 12 Methylprotonen in α -Position hinweist. Diese verringerte Spindichte erklärt auch die im Vergleich zu TEMPO deutlich geringere Spektrallinienbreite von TEMPON im wässrigen Medium, da gerade die unaufgelösten ¹H-Hyperfeinkopplungen der Methylprotonen den Hauptbeitrag zur apparenten Linienbreite liefern. Auch die unterschiedlichen longitudinalen Kernspinrelaxationszeiten T_{1n} der beiden Spinsonden (siehe Tabelle 8.2 im Anhang) bestätigen die konformellen und elektronischen Strukturunterschiede, wobei gerade TEMPON extrem empfindlich gegenüber H-Brücken zu sein scheint, da der Unterschied der T_{1n} -Werte in H₂O besonders groß ausfällt.

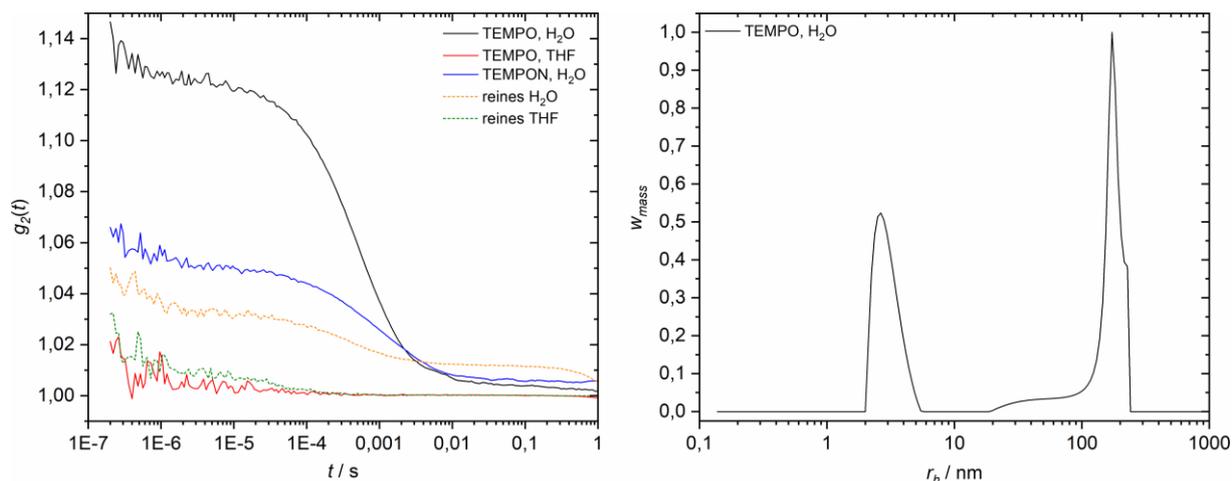


Abbildung 4.10: Autokorrelationsfunktionen $g_2(t)$ der Spinsonden TEMPO und TEMPON in H_2O und THF (durchgezogene Linien) zusammen mit denen der reinen Lösungsmittel (gestrichelte Linien) gemessen bei einer Sondenkonzentration von 0,47 mM und einer Temperatur von 20 °C (links), sowie die aus $g_2(t)$ erhaltene Partikelgrößenverteilung für TEMPO in H_2O (rechts). Aufgrund der sehr geringen Streuintensität aller anderen Proben konnten für diese keine validen Partikelgrößenverteilungen ermittelt werden.¹⁵⁷

Die bisher mittels EPR-Spektroskopie gewonnenen Erkenntnisse werden auch durch DLS- und ESI-MS-Messungen bestätigt (siehe Abbildung 4.10 und Abbildung 8.23 bis Abbildung 8.25 im Anhang).

In Abbildung 4.10 ist erkennbar, dass die Autokorrelationsfunktion $g_2(t)$ der TEMPO-Wasserprobe eine signifikant stärkere Lichtstreuung aufweist, als die $g_2(t)$ -Referenzkurve von reinem H_2O . Bei allen anderen Proben sind hingegen die Korrelationsfunktionen nahezu identisch mit denen der reinen Lösungsmittel, was erneut das unterschiedliche Verhalten von TEMPO und TEMPON in Wasser belegt. Mit Hilfe eines nichtlinearen CONTIN-Fits (siehe Kapitel 3.2 für weitere Details) kann der hydrodynamische Radius r_h (d. h. die Partikelgröße plus Solvathülle) der streuenden Partikel aus der Autokorrelationsfunktion $g_2(t)$ bestimmt werden. Für die TEMPO-Wasserprobe ergab sich eine bimodale Partikelgrößenverteilung (siehe Abbildung 4.10 rechts) mit einem Signal bei $r_h \approx 3$ nm und einem zweiten recht breiten Peak mit $r_h \approx 20$ – 228 nm (mittlere Peakposition: $r_h \approx 149$ nm).

Trotz der stark unterschiedlichen Messbedingungen (d. h. Nachweis in der ionisierten Gasphase anstatt in Lösung) belegen bemerkenswerterweise auch die ESI-MS-Messungen die Erkenntnisse über das unterschiedliche Verhalten von TEMPO und TEMPON in verschiedenen Lösungsmitteln. Während die Massenspektren im wässrigen Medium neben den vollständig solvatisierten TEMPO-Radikalen ($[M^+]$ bei m/z 156) auch größere Aggregatspezies (Dimer-Cluster $[2M^+Na^+]$ bei m/z 335) zeigen, ist dies in THF nicht der Fall (siehe Abbildung 8.23 bis Abbildung 8.25 im Anhang). Die wässrige Lösung von TEMPON zeigt hingegen ausschließlich solvatisierte Radikale ($[M^+]$ bei m/z 170) und keinerlei größeren

Aggregate, da Dimer-Cluster ($[2M+Na^+]$ erwartet bei m/z 363) in den ESI-Massenspektren nicht in Erscheinung treten.

Um einen noch tieferen thermodynamischen Einblick in das Solvationsverhalten von Nitroxid-Spinsonden in Wasser zu erlangen und insbesondere auch die schon anhand der Puls-EPR-Experimente vorgeschlagene mögliche Assoziation von TEMPO-Radikalen im wässrigen Medium zu validieren, wurden Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen durchgeführt. Dazu wurden zwei Sondenmoleküle zusammen mit 1024 Wassermolekülen zufällig in einer Simulationszelle platziert und nach Equilibrierung der Dichte eine Metadynamiksimulation in Bezug auf den Abstand der beiden Stickstoffatome durchgeführt (siehe Kapitel 3.2 für mehr Details). Das Bias-Potenzial wurde für den Jacobian-Beitrag (auch bekannt als geometrische Entropie) so korrigiert, dass die Kurve für große N–N-Abstände flach wird. Als Ergebnis wurde das freie Enthalpieprofil entlang dieser Variablen erhalten, welches in Abbildung 4.11 links dargestellt ist.

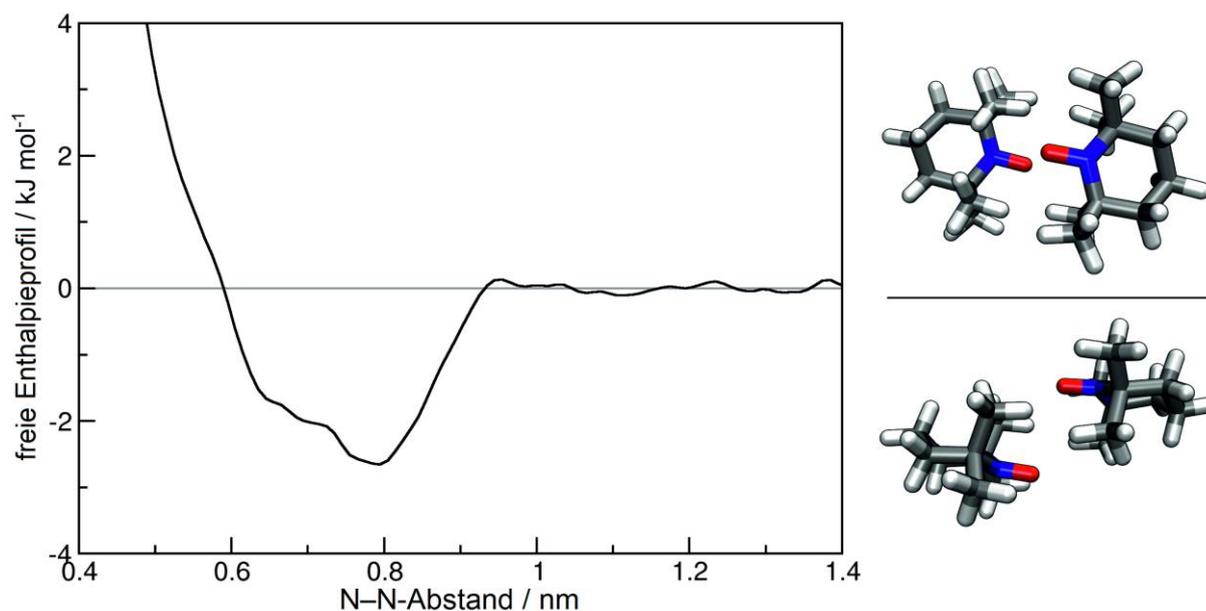


Abbildung 4.11: Berechnetes freies Enthalpieprofil der TEMPO-Dimerbildung in wässriger Lösung, gemessen am Stickstoff–Stickstoff-Abstand (links) sowie zwei verschiedene Ansichten einer aus der Simulation erhaltenen markanten TEMPO-Dimergeometrie (rechts).¹⁵⁷

Abbildung 4.11 zeigt, dass für große N–N-Distanzen die freie Enthalpie praktisch null ist, während bei einem kleineren Abstand von etwa 0,8 nm ein freie Enthalpieminimum von ca. -3 kJ mol^{-1} gefunden wird. Somit bestätigt prinzipiell auch die Kraftfeld-Metadynamik-Simulation, dass TEMPO-Spinsonden in verdünnter wässriger Lösung dazu neigen attraktiv zu interagieren, wenngleich ein freier Enthalpiegewinn von etwa 3 kJ mol^{-1} zunächst recht

gering erscheinen mag. Tatsächlich entspricht eine freie Enthalpie von ca. -3 kJ mol^{-1} jedoch bereits bei Raumtemperatur einer signifikanten Konzentration von TEMPO-Dimeraggregaten im thermodynamischen Gleichgewicht. Das entsprechende freie Enthalpieprofil für die Dimerbildung von TEMPO in wässriger Lösung (siehe Abbildung 8.27 im Anhang) weist hingegen beim gleichen N–N-Abstand einen geringeren freien Enthalpiegewinn auf.

Durch die Analyse der Abstände und Winkel zwischen den einzelnen TEMPO-Molekülen entlang der Simulationstrajektorie konnte die markanteste Dimergeometrie (siehe rechte Seite in Abbildung 4.11) bestimmt werden. Diese Darstellung sollte allerdings nicht als die die meiste Zeit vorherrschende relative Dimerkonformation missinterpretiert werden, da die Wechselwirkungen zwischen den TEMPO-Molekülen recht schwach sind und daher auch andere Dimergeometrien im Laufe der Zeit beobachtet werden können. Deutlicher wird dies in Abbildung 4.12, in der die gemittelte räumliche Verteilungsfunktion (SDF) der Atome von einem TEMPO-Molekül um das andere (fixierte) Molekül dargestellt ist.

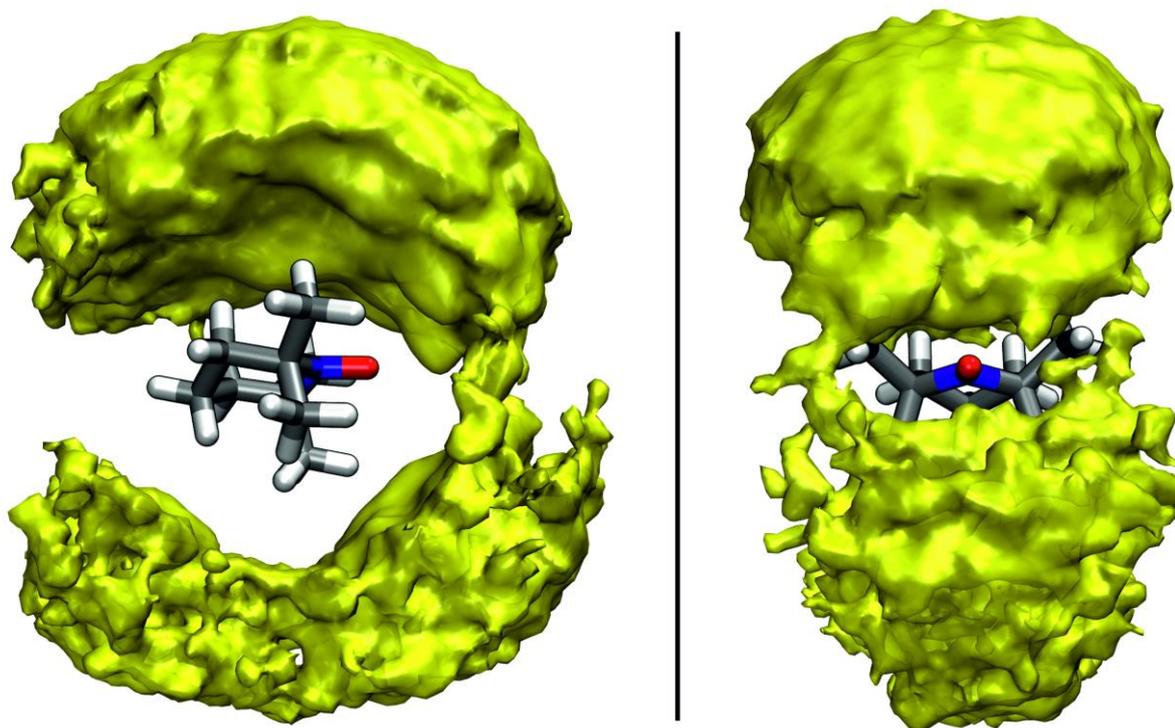


Abbildung 4.12: Zwei verschiedene Ansichten der durchschnittlichen räumlichen Verteilung der Atome eines TEMPO-Moleküls um das zweite TEMPO-Molekül herum.¹⁵⁷

Abbildung 4.12 zeigt, dass tatsächlich alle möglichen Dimerkonformationen im Laufe der Zeit eingenommen werden und dass nur eine sehr geringe Bevorzugung einiger Geometrien gegenüber anderen vorliegt. Diese Tatsache ist darauf zurückzuführen, dass keine gerichteten attraktiven Wechselwirkungen zwischen den TEMPO-Molekülen existieren, da die dipolare

Interaktion zwischen den beiden Spinsonden durch ihre Wassersolvathüllen vermittelt wird. Dies deutet wiederum darauf hin, dass der größte Teil des freien Enthalpiegewinns der TEMPO-Aggregatbildung auf den unspezifischen hydrophoben Effekt unter Einbeziehung der Solvatationshülle zurückzuführen ist. Die hydrophilere Spinsonde TEMPON bildet hingegen über ihr Carbonylsauerstoffatom starke H-Brückenbindungen mit den sie umgebenden H₂O-Molekülen aus und weist daher auch eine andere (d. h. wesentlich polarere) Hydratationshülle mit deutlich schwächerer hydrophober Wirkung auf. Somit unterstützen auch die Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen die experimentell beobachtete Assoziation von TEMPO-Wasser-Clustern im wässrigen Medium und liefern dabei gleichzeitig eine mögliche Erklärung, warum dieses Phänomen bei TEMPON (und möglicherweise auch anderen TEMPO-Derivaten) nicht gefunden wird.

Mit den bisher dargelegten Ergebnissen kann, insbesondere mithilfe der sog. Multifrequenz-EPR-Spektroskopie (X- und Q-Band) als intrinsisch lokale Messtechnik in Verbindung mit rigorosen Spektralsimulationen, erstmals gezeigt werden, dass die schon lange bekannte amphiphile Spinsonde TEMPO eine unpolare Wassersolvatationshülle aufbauen kann und so eine "hydrophobe" Spezies in wässriger Lösung ausbildet, welche allerdings nicht bei Standard-X-Band-EPR-Frequenzen beobachtet wird. In den Q-Band-CW-EPR-Spektren zeigt diese hydrophobe Spezies hingegen einen großen spektralen Kontrast zu den vollständig solvatisierten TEMPO-Radikalen (hydrophile Spezies), da sie eine stark hydrophobe/unpolare Umgebungspolarität (bestimmt durch a_{iso}) wahrnimmt, wobei sie allerdings keine Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkung zeigt. In einem "besseren", weniger polaren und aprotischen, organischen Lösungsmittel, wie beispielsweise THF, wird ein solches Verhalten von TEMPO jedoch nicht gefunden. Auch DEER-Messungen im X-Band belegen, dass TEMPO als amphiphile und im Vergleich zu TEMPON wesentlich hydrophobere Spinsonde (vgl. Tabelle 2.1) im wässrigen Medium nicht, wie z. B. in THF, homogen verteilt ist, sondern lokal (d. h. im Bereich von ca. 2–5 nm) in signifikant erhöhter Konzentration vorliegt. Diese, geschätzt um mindestens einen Faktor 10, erhöhte Lokalkonzentration deutet auf eine Art Clustering hin, welches scheinbar sogar über Dimerbildung erfolgen kann ($n_s \approx 2$, siehe Tabelle 4.2).

Des Weiteren belegen auch die DLS- und ESI-MS-Daten, welche verglichen mit der EPR-Spektroskopie auf einem wesentlich anderen Messverfahren beruhen (d. h. DLS und ESI-MS sind ensemble-mittelnde, nicht auf dem Magnetresonanzprinzip basierende Methoden), dass sich die TEMPO-Radikale im wässrigen Medium näherkommen, als es bei einer völlig

homogenen Verteilung der Fall wäre. Außerdem zeigen auch die Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen die generelle Aggregationstendenz von TEMPO mit einem thermodynamischen Energieminimum bei einem N–N-Abstand von etwa 0,8 nm, wobei diese theoretischen Berechnungen das System naturgemäß nicht vollständig realistisch abbilden können.

Dass eine lokal sehr eng erhöhte TEMPO-Konzentration in wässriger Lösung nicht zu Kontakten unterhalb von 1 nm und damit zu Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkungen führt, lässt sich nur dadurch erklären, dass die hydrophobe Umgebung der Aggregate nicht von anderen TEMPO-Spinsonden erzeugt wird (da dies zwangsläufig zu einer Austauschinteraktion führen müsste), sondern von den Wassermolekülen selbst. Anscheinend gelingt es TEMPO, die Wassermoleküle in seiner direkten Solvatationshülle so anzuordnen, dass sich ihre Dipolmomente nach innen gegenseitig kompensieren und so eine unpolare Umgebung für die Spinsonde erschaffen wird. Diese "geordneten" H₂O-Moleküle weisen eine relativ lange Kontaktzeit mit den eingeschlossenen TEMPO-Radikalen auf und bilden somit zumindest auf der EPR-Zeitskala (ns– μ s) eine Art undurchlässige Wassermembran mit einem hydrophoben Inneren. Eben diese undurchlässige Wasserschicht verhindert auch, dass sich die aggregierten TEMPO-Sonden ausreichend nahe beieinander befinden (d. h. Abstände kleiner als ~1 nm einnehmen), um Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkungen einzugehen. Somit gelingt es TEMPO, durch die Bildung einer solchen Wassermembran seinen eigenen hydrophoben Charakter auf die umgebenden H₂O-Moleküle zu übertragen.

Thermodynamische Triebkraft für diesen Membranbildungsprozess könnte das Bestreben der vergleichsweise hydrophoben TEMPO-Spinsonden ($K_{ow} = 90$, vgl. Tabelle 2.1) sein, ihre Kontaktfläche mit den sie umgebenden polaren H₂O-Molekülen zu minimieren. Dieses auch als hydrophober Effekt bezeichnete Phänomen wurde bereits bei makromolekularen Systemen, etwa elastinartigen Polypeptiden (ELPs), gefunden.^{147,176,177} Prinzipiell lässt sich ein solches Verhalten auch an jeder Wasser-Luft-Grenzfläche beobachten, wo Wasser die hydrophobe Kontaktfläche (z. B. in Form einer Kugel oder im Falle von Schwerkraft in Form eines Tropfens) mithilfe seiner hohen Oberflächenspannung minimiert. Hierbei kann die durch hydrophobe Hydratation verursachte nanoskopische Wasser-Wasser-Entmischung, mit einer lokal sehr eng begrenzten Anreicherung von wassermembranenverkapselten TEMPO-Radikalen, als Vorläufer einer makroskopischen Trennung betrachtet werden. Einen tiefergehenden Einblick in die spezifische Beschaffenheit dieser Wassermembran, auch in Bezug auf die Zeitskala des H₂O-Molekülaustauschs in der Solvathülle, könnten hierbei andere Methoden, wie z. B. die NMR, liefern.

Interessanterweise scheinen kleine Mengen an THF beim Aufbau der impermeablen Wassermembran hilfreich zu sein. Man kann vermuten, dass sich die THF-Moleküle bis zu einem gewissen Grad in die verbleibenden "Lücken" der H₂O-Membranschicht einbauen und diese dadurch stabilisieren können, was wiederum zu einem Anstieg der hydrophoben TEMPO-Spezies beiträgt (siehe Abbildung 4.7 C und Tabelle 4.1).

Gemäß der sog. Hofmeister-Reihe, welche den Einfluss verschiedener Ionen auf die hydrophobe Wirkung von z. B. Makromolekülen im wässrigen Medium klassifiziert, führt die Zugabe eines antichaotropen oder kosmotropen Salzes, wie etwa NaCl, zu einer Erhöhung des Anteils $f_{hydrophob}$ der hydrophoben Sondenpezies (siehe Abbildung 4.13).⁷⁶

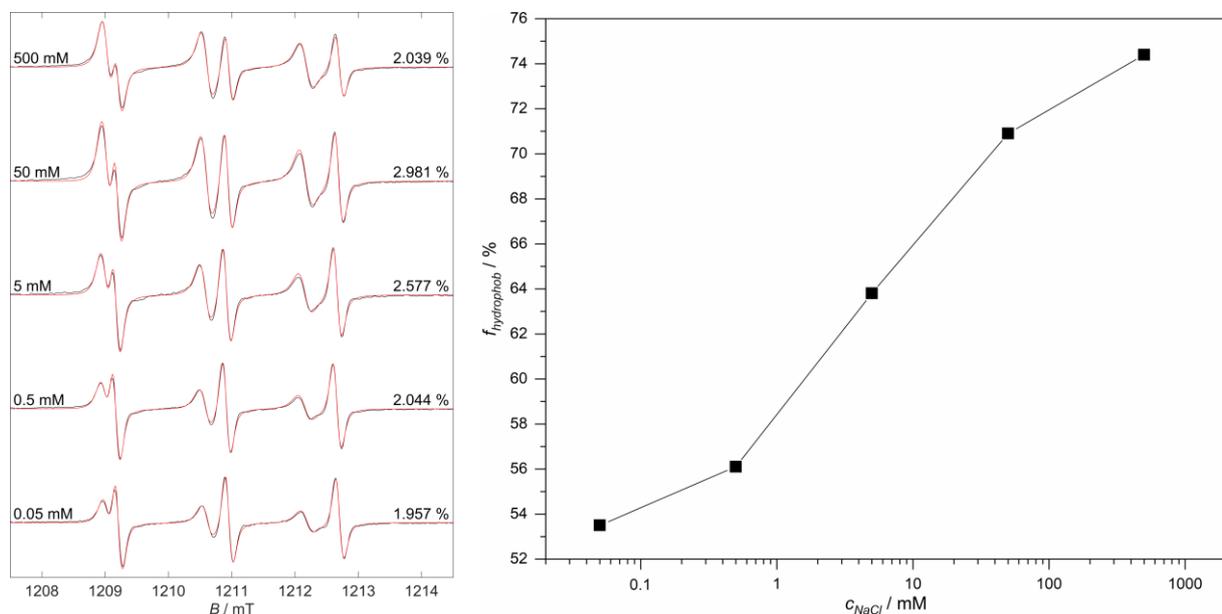


Abbildung 4.13: Experimentelle Q-Band ($\nu \approx 34$ GHz) CW-EPR-Spektren (schwarz) gemeinsam mit ihren Spektralsimulationen (rot) wässriger 0,47 mM TEMPO-Proben mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen (links), sowie der aus den Simulationen erhaltene Spektralanteil der hydrophoben TEMPO-Spezies $f_{hydrophob}$ in Abhängigkeit von c_{NaCl} . Die NaCl-Konzentration ist links und der RMSD-Wert jeder Simulation ist rechts vom entsprechenden Spektrum angegeben. Man beachte bitte die logarithmische Skalierung der c -Achse.¹⁵⁷

Der in Abbildung 4.13 ersichtliche Anstieg von $f_{hydrophob}$ bei Erhöhung von c_{NaCl} beruht darauf, dass die geladenen Na⁺- und Cl⁻-Ionen für ihrer Solvataion und Ladungsabschirmung H₂O-Moleküle benötigen und diese in Form einer Hydrathülle an sich "binden", weshalb sie anschließend nicht mehr für die Solvatisierung der TEMPO-Radikale (hydrophilen Spezies) zur Verfügung stehen. Hierbei scheint es energetisch offenbar günstiger zu sein, jene Wassermoleküle für die Ionenhydrathüllenbildung zu nutzen, welche sonst zur Solvatisierung der TEMPO-Spinsonden verwendet werden, da das Herauslösen von H₂O-Molekülen aus der undurchlässigen Wassermembran scheinbar mehr Energie benötigt. Grund dafür kann aus energetischer Sicht die Tatsache sein, dass sich die H₂O-Moleküle der Wasserhülle der

hydrophoben Spezies im Hinblick auf die ungünstigen (hydrophoben) Wechselwirkungen mit den TEMPO-Sonden bereits bestmöglich angeordnet haben, sodass der Gesamtenergiegewinn geringer wäre, wenn die Solvataion der NaCl-Ionen durch diese Wassermoleküle erfolgen würde.^{178–180}

Grundsätzlich scheint schon die Einkapselung von TEMPO-Molekülen in eine undurchlässige Wassersolvationshülle die Radikale bereits so stark voneinander abzuschirmen, dass die elektronenspintragenden NO-Gruppen nicht kollidieren oder gar miteinander koppeln können. So hat bei EPR-typischen Spinsondenkonzentrationen (d. h. $c \approx 0,1\text{--}2\text{ mM}$) die Bildung hydrophober Sonderspezies im wässrigen Medium zwar einen großen Einfluss auf die Spinsondenumgebungspolarität und damit auf die isotrope Hyperfeinkopplungskonstante a_{iso} , löst jedoch aufgrund der Wassermembranabschirmung keine kurzreichweitigen Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkungen aus, da diese nur bei Abständen unterhalb von etwa 1 nm wirksam sind.¹¹⁸ Lediglich bei für EPR-spektroskopische Untersuchungen recht hohen TEMPO-Konzentrationen (d. h. $c \gg 5\text{ mM}$) ist die Spinsondendichte groß genug, um in den CW-EPR-Spektren eine Signalverbreiterung durch Heisenberg-Austauschwechselwirkungen zu bewirken (siehe Abbildung 8.26 im Anhang).

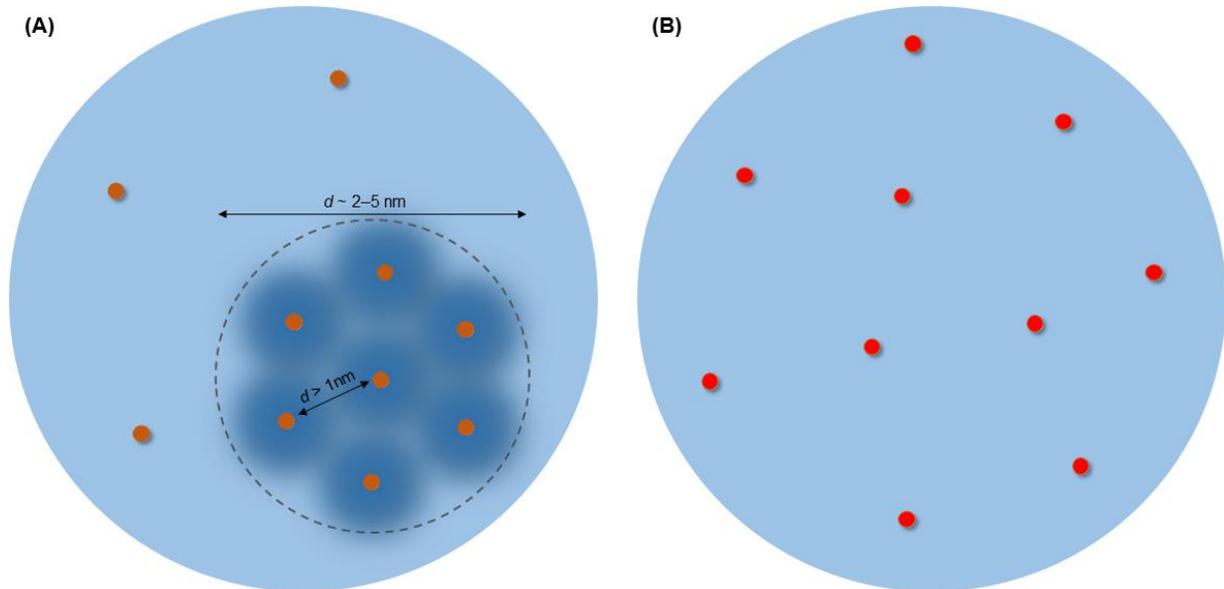


Abbildung 4.14: Schematische Darstellung des unterschiedlichen Solvationsverhaltens von TEMPO (A, orange Punkte) und TEMPON (B, rote Punkte) im wässrigen Medium. Während die TEMPON-Spinsonden in wässriger Lösung völlig homogen verteilt sind, existiert bei TEMPO neben den vollständig solvatisierten Radikalen noch eine weitere hydrophobe Sonderspezies, welche von einer auf der EPR-Zeitskala impermeablen Wassermembran umgeben ist und lokal (d. h. im Bereich von ca. 2–5 nm) in deutlich erhöhter Konzentration vorliegt. Hierbei verhindert diese "hydrophobe" Solvationshülle einen Spinsondenkontakt unterhalb von 1 nm, welcher jedoch für eine Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkung erforderlich wäre.¹⁵⁷

Unter Berücksichtigung aller bislang gewonnenen Erkenntnisse lässt sich das unterschiedliche Solvationsverhalten der beiden Spinsonden TEMPO und TEMPON im wässrigen Medium nun gut verstehen (siehe Abbildung 4.14). Die relativ kleinen ($d_{||} \approx 0,79$ nm), dynamischen (d. h. schnelle Ringinversion der Sesselkonformation) und hydrophoben ($K_{ow} = 90$) TEMPO-Radikale können aufgrund ihres hohen Dipolmoments ($\mu_{NO} = 3,14$ D) vergleichsweise leicht eine sie umgebende impermeable Wassermembran aufbauen und stabilisieren. Bei den etwas größeren ($d_{||} \approx 0,81$ nm), recht starren und viel hydrophileren ($K_{ow} = 2,3$) TEMPON-Spinsonden mit signifikant kleinerem Dipolmoment ($\mu_{NO} = 1,36$ D) ist hingegen ein solcher Abschirmungsprozess (d. h. die Ausbildung und Koordination einer undurchlässigen Wassersolvationshülle) aufgrund des hydrophoben Effekts jedoch deutlich weniger thermodynamisch begünstigt, da die TEMPON-Radikale im Vergleich zu TEMPO auch aufgrund ihrer verdrehten („twisted“) Ringkonformation sterisch wesentlich anspruchsvoller (d. h. weniger symmetrisch) sind.^{123,174,175,181}

Das mit dieser Arbeit gewonnene Verständnis des Solvationsverhaltens von Nitroxiden, insbesondere von TEMPO im wässrigen Medium, ist vor allem im Bereich der EPR-Spektroskopie von großem Interesse, da sich hier stabile Nitroxid-Radikale seit langem als Spinsonden etabliert haben und auch häufig in vielen verschiedenen Anwendungsbereichen, etwa bei der Untersuchung von nanoskaligen Inhomogenitäten in (multi)responsiven Polymeren oder zur Charakterisierung von Proteinen, eingesetzt werden.^{30,44,60,182} Darüber hinaus spielt gerade TEMPO auch bei kontrollierten radikalischen Polymerisationsverfahren (z. B. nitroxid-vermittelte Polymerisation, NMP) eine wichtige Rolle, wenngleich die meisten dieser Reaktionen heute noch in organischen Lösungsmitteln wie THF und nicht in Wasser durchgeführt werden.¹⁸³ Des Weiteren werden TEMPO-Radikale häufig auch als sog. Energietransferagenten bei Hyperpolarisationsmethoden, wie beispielsweise der dynamischen Kernpolarisation (DNP), in der NMR-Spektroskopie zur Verbesserung der Signalintensität bzw. Messempfindlichkeit eingesetzt.^{184,185} Gerade in diesem Zusammenhang, insbesondere im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen im wässrigem Medium, ist die Kenntnis des Solvationsverhaltens von TEMPO in H₂O und seine Fähigkeit eine undurchlässige und unpolare, nahezu hydrophobe Wassermembran um sich herum auszubilden, von enormer Bedeutung, da dies zu einer veränderten (d. h. inhomogenen) Radikalverteilung und damit höchstwahrscheinlich auch zu einem weniger effektiven Energietransfer führt.

5 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde das Phasenseparationsverhalten von (multi)responsiven PPEs mit identischer Seitengruppenstruktur, aber unterschiedlicher Copolymerzusammensetzung, als auch der Solvationsprozess von Nitroxid-Spinsonden vor allem im wässrigen Medium mittels EPR-Spektroskopie eingehend erforscht (siehe Abbildung 5.1).

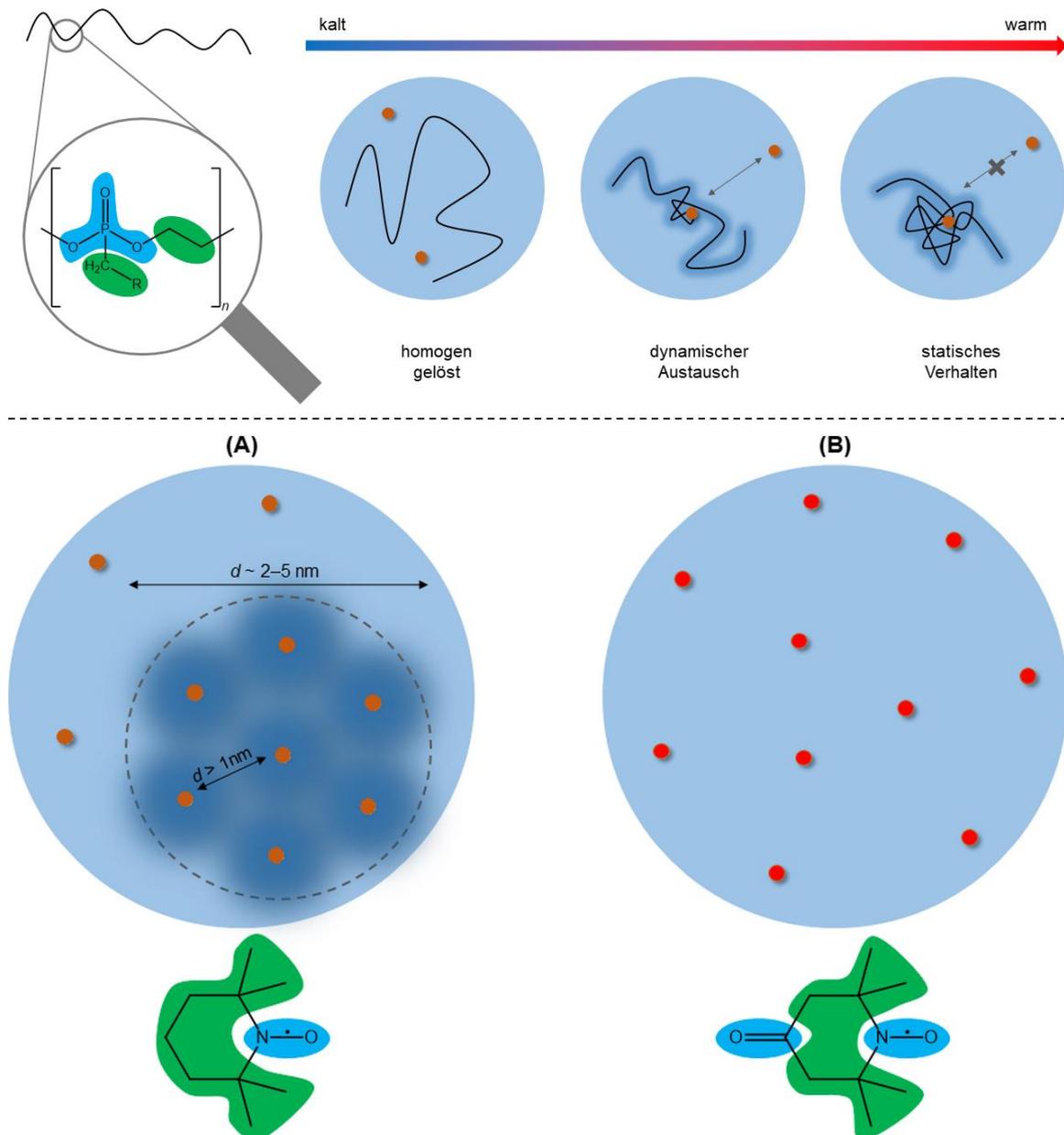


Abbildung 5.1: Zusammenfassende Graphik der in dieser Arbeit neu gewonnenen Erkenntnisse. Oben: Schematische Darstellung des nanoskopischen Phasenseparationsverhaltens mit „dynamischen Inhomogenitäten vom Typ I“ der untersuchten PPE-Copolymere ($R = \text{CH}_3$ für Monomer mit Ethylseitenkette bzw. $R = (\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ für Monomer mit *n*-Butylseitenkette). Unten: Skizzenhafte Veranschaulichung des unterschiedlichen Solvationsverhaltens von TEMPO (A, orange Punkte) und TEMPON (B, rote Punkte) im wässrigen Medium. Die in den Strukturformeln (oben + unten) blau gekennzeichneten Bereiche markieren die polaren/hydrophilen Domänen, während die grün dargestellten Regionen die unpolaren/hydrophoben Strukturbereiche anzeigen.^{60,157}

In wässriger Lösung zeigen die beiden untersuchten PPE-Copolymere ein LCST-Verhalten, bei dem bereits ca. 7–8 °C vor dem Einsetzen der makroskopischen Trübung Inhomogenitäten auf der Nanoskala (~2–3 nm) EPR-spektroskopisch detektiert werden können. Diese leicht polymerangereicherten Nanodomänen mit polymerassoziiertem Quellwasser sind stark hydratisiert und weisen daher nur einen extrem niedrigen Polaritätskontrast ($\Delta a_{iso} \approx 0,63$ – $1,72$ MHz) zur wässrigen Umgebung (engl. bulk water) auf. Das festgestellte nanoskopische Phasenseparationsverhalten der PPEs kann hierbei gemäß Referenz 44 den sog. „dynamischen Inhomogenitäten vom Typ I“ zugeordnet werden, wobei die insbesondere bei höheren Temperaturen typische kontinuierliche Aufspaltung des Hochfeldsignals aufgrund der sehr geringen Polaritätsdifferenz hier nicht beobachtet werden kann.

Die eingehende Untersuchung des Solvationsverhaltens der beiden wohlbekannten Nitroxid-Spinsonden TEMPO und TEMPON im wässrigen Medium und in THF mithilfe der sog. Multifrequenz-EPR-Spektroskopie im X- und Q-Band offenbarte erstmals das Vorhandensein einer hydrophoben TEMPO-Spezies in wässriger Lösung. Neben der EPR-Spektroskopie als intrinsisch lokale Magnetresonanztechnik belegen auch ensemble-mittelnde Methoden wie die dynamische Lichtstreuung (DLS) und die Elektrosprayionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) das unterschiedliche Verhalten von TEMPO in Wasser und "klassischen" organischen Lösungsmitteln, wie z. B. THF, in denen keine hydrophobe TEMPO-Aggregatspezies beobachtet wird. Zusammen mit den thermodynamischen Erkenntnissen aus den Kraftfeld-Metadynamik-Simulationen konnte mithilfe von Puls-EPR-Experimenten und rigorosen Spektralsimulationen gezeigt werden, dass die im wässrigen Medium detektierte hydrophobe TEMPO-Spezies schwach assoziierte TEMPO-Radikale darstellt, welche zumindest auf der EPR-Zeitskala (ns– μ s) von einer nahezu impermeablen Wassermembran umschlossen sind. Diese "hydrophobe" Solvationshülle verhindert einen für Heisenberg-Spinaustausch-Wechselwirkungen notwendigen Sondenkontakt unterhalb von etwa 1 nm und stellt darüber hinaus für die amphiphilen TEMPO-Radikale im Inneren eine hoch unpolare Umgebung bereit.

Überraschenderweise tritt die hydrophobe TEMPO-Spezies, welche bei Q-Bandfrequenzen ($\nu \approx 34$ GHz) einen ziemlich großen spektralen Kontrast zeigt, in den EPR-Spektren im X-Band ($\nu \approx 9,4$ GHz) auf den ersten Blick nicht in Erscheinung. Tatsächlich wird ihr Signal in den X-Band-CW-EPR-Spektren von den sich ebenfalls in diesem *B*-Feldbereich befindlichen ^{13}C - und ^{15}N -Resonanzlinien verdeckt, sodass diese die Detektion der hydrophoben TEMPO-Spezies bei Standard-X-Band-Frequenzen bisher scheinbar verhindert haben. Verantwortlich

für das unterschiedliche spektrale Erscheinungsbild der hydrophoben TEMPO-Spezies im X- und Q-Band sind die verschiedenen Messfrequenzen und die damit verbundene ungleiche g-Tensorauflösung, sowie der andere Blickwinkel auf Rotationsdynamiken. Hierbei wird gerade bei Nitroxid-Radikalen die (apparente) Spektrallinienbreite vor allem durch unaufgelöste ^1H -Hyperfeinkopplungen bestimmt, welche sich aufgrund der ungleichen Zeitskalen/Frequenzen im X- und Q-Band, auch bei gleicher Rotationskorrelationszeit τ_c , EPR-spektroskopisch unterschiedlich auswirken.

Im Gegensatz zu TEMPO zeigt die von der chemischen Struktur her sehr ähnliche Nitroxid-Spinsonde TEMPON allerdings kein Aggregationsverhalten im wässrigen Medium. Ursache dafür sind hauptsächlich der im Vergleich zu TEMPO wesentlich hydrophilere Charakter von TEMPON und dessen signifikant kleineres Dipolmoment, welches durch die verdrehte (engl. „twisted“) Piperidinringkonformation hervorgerufen wird. Dieser konformelle Unterschied beruht auf der sp^2 -Hybridisierung der Carbonylbindung und bedingt, verglichen mit der Sesselkonformation des TEMPO-Radikals, im Falle von TEMPON eine eher unsymmetrische bzw. sterisch anspruchsvollere und dadurch auch weniger dynamische Ringkonformation.

Aus methodischer Sicht zeigt diese Arbeit damit eindrucksvoll das außergewöhnlich große Potenzial der EPR-Spektroskopie, welche selbst bei vergleichsweise einfacher CW-Messtechnik bemerkenswert hohe Sensitivität und Präzision besitzt. Darüber hinaus veranschaulicht diese Arbeit auch in erstaunlichem Maße, wie sehr sich die Solvatisierung amphiphiler Substanzen im wässrigem Medium unterscheiden kann. Während bei responsiven Makromolekülen, wie z. B. PPEs, in wässriger Lösung bereits kleinste Polaritätsunterschiede für eine (nanoskopische) Phasenseparation ausreichen können, kann der Solvationsprozess eines vermeintlich einfachen niedermolekularen Systems, wie etwa einer wässrigen TEMPO-Lösung, selbst ohne makroskopische Phasentrennung mit extremen Polaritätsdifferenzen einhergehen. Dies zeigt in beeindruckender Weise die unglaublich große Anpassungsfähigkeit von Wasser hinsichtlich seines Solvationsverhaltens und hebt auch dessen einzigartigen Charakter hervor. So unterscheidet sich Wasser eben nicht nur aufgrund seiner Vielzahl an außergewöhnlichen Eigenschaften (z. B. Dichteanomalie bei $4\text{ }^\circ\text{C}$, hohe Wärmekapazität und Oberflächenspannung usw.) erheblich von allen anderen Lösungsmitteln, sondern auch durch seine besondere Solvationsfähigkeit und besitzt deshalb völlig zurecht herausragende Bedeutung für das gesamte Leben auf der Erde.

Um für potenzielle Anwendungen auch allgemein gültige Regeln hinsichtlich des generellen Ablaufs nanoskopischer Phasenseparationsprozesse bei Makromolekülen zuverlässig ableiten zu können, sollten in Zukunft weitere PPEs mit anderer Polymerstruktur bzw. Seitenkettengruppen und anderer Copolymerzusammensetzung EPR-spektroskopisch eingehend untersucht werden. So könnte beispielsweise der Einfluss des Seitenkettentyps (etwa des sterischen Anspruchs) im Hinblick auf die in dieser Arbeit festgestellt ca. 8 °C umfassende Temperaturdifferenz zwischen dem Beginn der Ausbildung von nanoskopischen Inhomogenitäten bei T_{EPR} und dem Einsetzen der makroskopischen Trübung bei T_{cp} besser validiert werden. Hierbei dürfte gerade die Klasse der sog. Poly(phosphoester) aufgrund ihrer synthetisch gut auf das jeweils gewünschte Einsatzgebiet ausrichtbaren Strukturvielfalt und ihrer äußerst vorteilhaften Eigenschaften, wie z. B. Wasserlöslichkeit, Nichttoxizität und biologische Abbaubarkeit, auch im Zuge zunehmender Umweltproblematiken (etwa durch Plastikverschmutzung) zukünftig eine besonders große Rolle spielen.

Um möglicherweise allgemeine Tendenzen bzw. Trends ableiten zu können, sollte zukünftig auch die Charakterisierung des Solvationsverhaltens von Nitroxid-Spinsonden vor allem im wässrigen Medium, aber auch in anderen Lösungsmitteln, auf weitere Nitroxide ausgeweitet werden. Hierbei könnten sich gerade systematische Studien des Effektes der am Piperidinring in 4-Position befindlichen Struktureinheit bei der Gruppe der TEMPO-strukturanalogen Nitroxid-Radikale, wie z. B. 4-Carboxy-TEMPO, 4-Amino-TEMPO, 4-Methoxy-TEMPO oder 4-Hydroxy-TEMPO und deren Ester, als äußerst lohnenswert erweisen. In diesem Zusammenhang wäre sicherlich auch eine EPR-spektroskopische Untersuchung bei höherer Messfrequenz, etwa im sog. W-Band ($\nu \approx 95$ GHz), hoch interessant, um festzustellen wie eine verbesserte g -Tensorauflösung das spektrale Erscheinungsbild beeinflusst bzw. wie sich die veränderte EPR-Zeitskala mit einer anders gearteten Sichtweise auf Rotationsdynamiken und Linienbreiten auswirkt.

Darüber hinaus könnte neben NaCl auch die Wirkung anderer Salze/Ionen in Abhängigkeit von deren Konzentration (bzw. Ionenstärke), als auch der Einfluss des pH-Wertes der wässrigen Lösung auf das Solvationsverhalten näher untersucht werden. Um auch den Effekt der Ringgeometrie hinsichtlich des Solvatisierungsprozesses besser evaluieren zu können, sollten neben den TEMPO-strukturanalogen Radikalen auch 5-ringgliedrige Nitroxid-Spinsonden, wie z. B. die 2,2,5,5-Tetramethylpyrrolidin-1-oxyle (sog. PROXYL-Derivate), eingehend im wässrigen Medium erforscht werden.

Schlussendlich bleibt festzustellen, dass die EPR-Spektroskopie in Kombination mit rigorosen Spektralsimulationen einen einzigartigen Einblick in Prozesse auf der Nanoskala ermöglicht und bei Auswahl einer geeigneten Spinsonde selbst kleinste Polaritätsunterschiede wahrzunehmen vermag. Hierbei ist die EPR-Spektroskopie zwar stets auf das Vorhandensein mindestens eines ungepaarten Elektronenspins angewiesen, erlaubt dadurch aber auch eine sehr selektive und sensitive Untersuchung bestimmter Bereiche, was sich gerade bei komplexeren (makromolekularen) Systemen oft als äußerst vorteilhaft erweist. Daher ist die EPR-Spektroskopie als intrinsisch lokale Messtechnik grundsätzlich auch vielen anderen ensemble-mittelnden Methoden deutlich überlegen, insbesondere dann wenn es um die Untersuchung des generellen Ablaufs nanoskaliger Prozesse oder die Charakterisierung des Inkorporationsverhaltens von Sonden bzw. amphiphilen (spingelabelten) Substanzen etwa in makromolekularen Systemen geht. Hierbei könnte sich gerade Letzteres, z. B. im Hinblick auf eine gezielte Wirkstofffreisetzung mithilfe (multi)responsiver Polymersysteme besonders bei medizinisch-pharmazeutischen Anwendungen, etwa in der Krebstherapie, in naher Zukunft als äußerst nützlich erweisen und wird daher sicherlich auch noch in den kommenden Jahren von erheblichem Forschungsinteresse sein.

6 Literaturverzeichnis

- 1 R. Ludwig, D. Paschek, *Chem. Unserer Zeit* **2005**, *39*, 164–175.
- 2 D. Eisenberg, W. Kauzmann, *The structure and properties of water*, Oxford University Press, Oxford, **1969**.
- 3 P. Ball, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 74–108.
- 4 K. Lum, D. Chandler, J. D. Weeks, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 4570–4577.
- 5 A. G. Cubitt, C. Henderson, L. A. K. Staveley, I. M. A. Fonseca, A. G. M. Ferreira, L. Q. Lobo, *J. Chem. Thermodyn.* **1987**, *19*, 703–710.
- 6 M. W. Feyereisen, D. Feller, D. A. Dixon, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 2993–2997.
- 7 H. Umeyama, K. Morokuma, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1316–1332.
- 8 A. Luzar, D. Chandler, *Nature* **1996**, *379*, 55–57.
- 9 M. L. Huggins, *Angew. Chem.* **1971**, *83*, 163–168.
- 10 G. Tarczay, A. G. Császár, M. L. Leininger, W. Klopper, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *322*, 119–128.
- 11 P. L. Silvestrelli, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 3572–3580.
- 12 C. S. Poornima, P. M. Dean, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1995**, *9*, 500–512.
- 13 S. Koltzenburg, M. Maskos, O. Nuyken, *Polymere: Synthese, Eigenschaften und Anwendungen*, Springer Spektrum, Berlin, **2014**.
- 14 F. Vidal, F. Jäkle, *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 5904–5929.
- 15 M. Scharfenberg, J. Hilf, H. Frey, *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1704302.
- 16 C. Dingels, M. Schömer, H. Frey, *Chem. Unserer Zeit* **2011**, *45*, 338–349.
- 17 A. Thomas, S. S. Müller, H. Frey, *Biomacromolecules* **2014**, *156*, 1935–1954.
- 18 B. Obermeier, F. Wurm, C. Mangold, H. Frey, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8136–8146.
- 19 H. Staudinger, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1920**, *53*, 1073–1085.
- 20 I. Y. Galaev, B. Mattiasson, *Trends Biotechnol.* **1999**, *17*, 335–340.
- 21 I. Roy, M. N. Gupta, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1161–1171.
- 22 J. Hu, S. Liu, *Macromolecules* **2010**, *43*, 8315–8330.
- 23 D. Roy, J. N. Cambre, B. S. Sumerlin, *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35*, 278–301.
- 24 G. Pasparakis, M. Vamvakaki, *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1234–1248.
- 25 J. Zhuang, M. R. Gordon, J. Ventura, L. Li, S. Thayumanavan, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 7421–7435.
- 26 P. Theato, B. S. Sumerlin, R. K. O'Reilly, T. H. Epps, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 7055–7056.
- 27 Z. Yang, S. Chen, K. Fu, X. Liu, F. Li, Y. Du, P. Zhou, Z. Cheng, *J. Appl. Polym. Sci.* **2018**, *135*, 46626.
- 28 P. Schattling, F. D. Jochum, P. Theato, *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 25–36.

- 29 J. Herzberger, D. Kurzbach, M. Werre, K. Fischer, D. Hinderberger, H. Frey, *Macromolecules* **2014**, *47*, 7679–7690.
- 30 D. Kurzbach, M. Schömer, V. S. Wilms, H. Frey, D. Hinderberger, *Macromolecules* **2012**, *45*, 7535–7548.
- 31 J. Blankenburg, M. Wagner, H. Frey, *Macromolecules* **2017**, *50*, 8885–8893.
- 32 H. Pohlit, I. Bellinghausen, M. Schömer, B. Heydenreich, J. Saloga, H. Frey, *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 3103–3111.
- 33 J. Blankenburg, M. Stark, H. Frey, *Polym. Chem.* **2019**, *10*, 1569–1574.
- 34 J. Herzberger, K. Fischer, D. Leibig, M. Bros, R. Thiermann, H. Frey, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 9212–9223.
- 35 A. Alkan, R. Klein, S. I. Shylin, U. Kemmer-Jonas, H. Frey, F. R. Wurm, *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 7112–7118.
- 36 Z. Mozaffari, M. Hatamzadeh, B. Massoumi, M. Jaymand, *J. Appl. Polym. Sci.* **2018**, *135*, 46657.
- 37 A. K. Iyer, A. Singh, S. Ganta, M. M. Amiji, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2013**, *65*, 1784–1802.
- 38 Y. Li, K. Xiao, W. Zhu, W. Denga, K. S. Lama, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014**, *66*, 58–73.
- 39 D. Schmaljohann, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, *58*, 1655–1670.
- 40 C. de las Heras Alarcón, S. Pennadam, C. Alexander, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 276–285.
- 41 X.-Y. Liu, F. Cheng, Y. Liu, H.-J. Liu, Y. Chen, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 360–368.
- 42 P. Schattling, F. D. Jochum, P. Theato, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 8859–8861.
- 43 S. Uchiyama, N. Kawai, A. P. de Silva, K. Iwai, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3032–3033.
- 44 D. Kurzbach, M. J. N. Junk, D. Hinderberger, *Macromol. Rapid Commun.* **2013**, *34*, 119–134.
- 45 T. Steinbach, F. R. Wurm, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 6196–6207.
- 46 T. P. Haider, C. Völker, J. Kramm, K. Landfester, F. R. Wurm, *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 50–63.
- 47 T. Haider, O. Shyshov, O. Suraeva, I. Lieberwirth, M. von Delius, F. R. Wurm, *Macromolecules* **2019**, *52*, 2411–2420.
- 48 F. Marsico, M. Wagner, K. Landfester, F. R. Wurm, *Macromolecules* **2012**, *45*, 8511–8518.
- 49 K. D. Troev, *Polyphosphoesters: Chemistry and Application*, Elsevier, London, **2012**.
- 50 K. N. Bauer, L. Liu, M. Wagner, D. Andrienko, F. R. Wurm, *Eur. Polym. J.* **2018**, *108*, 286–294.
- 51 T. Wolf, T. Steinbach, F. R. Wurm, *Macromolecules* **2015**, *48*, 3853–3863.
- 52 T. Baltes, F. Garret-Flaudy, R. Freitag, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **1999**, *37*, 2977–2989.

- 53 M. M. Bloksma, D. J. Bakker, C. Weber, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 724–728.
- 54 O. Confortini, F. E. Du Prez, *Macromol. Chem. Phys.* **2007**, *208*, 1871–1882.
- 55 A. Kelarakis, T. Tang, V. Havredaki, K. Viras, I. W. Hamley, *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *320*, 70–73.
- 56 A. Dijkstra, A. Marino-Gonzalez, A. M. I. Payeras, I. Arends, R. A. Sheldon, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6826–6833.
- 57 G. Sorin, R. M. Mallorquin, Y. Contie, A. Baralle, M. Malacria, J.-P. Goddard, L. Fensterbank, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8721–8723.
- 58 M. Z. Zhao, J. Li, E. Mano, Z. G. Song, D. M. Tschaen, E. J. J. Grabowski, P. J. Reider, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2564–2566.
- 59 P. J. Wright, A. M. English, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8655–8665.
- 60 J. Hunold, T. Wolf, F. R. Wurm, D. Hinderberger, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 3414–3417.
- 61 M. D. Lechner, K. Gehrke, E. H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie*, Springer Spektrum, Berlin, **2014**.
- 62 P. W. Atkins, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2013**.
- 63 Y. Okada, F. Tanaka, *Macromolecules* **2005**, *38*, 4465–4471.
- 64 K. N. Plunkett, X. Zhu, J. S. Moore, D. E. Leckband, *Langmuir* **2006**, *22*, 4259–4266.
- 65 Y. Katsumoto, N. Kubosaki, *Macromolecules* **2008**, *41*, 5955–5956.
- 66 P. J. Roth, F. D. Jochum, F. R. Forst, R. Zentel, P. Theato, *Macromolecules* **2010**, *43*, 4638–4645.
- 67 J. Seuring, S. Agarwal, *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 1898–1920.
- 68 Q. Zhang, P. Schattling, P. Theato, R. Hoogenboom, *Polym. Chem.* **2012**, *3*, 1418–1426.
- 69 Q. Zhang, R. Hoogenboom, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 70–73.
- 70 V. K. Thakur, M. K. Thakur, *Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies: Biodegradable Polymers (Volume 3)*, Wiley, Hoboken (New Jersey), **2015**.
- 71 S. Dai, P. Ravi, K. C. Tam, *Soft Matter* **2008**, *4*, 435–449.
- 72 G. Li, S. Song, L. Guo, S. Ma, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 5028–5035.
- 73 Y. Merle, *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 3092–3098.
- 74 G. N. Lewis, M. Randall, *J. Am. Chem. Soc.* **1921**, *43*, 1112–1154.
- 75 W. Xu, P. A. Ledin, Z. Iatridi, C. Tsitsilianis, V. V. Tsukruk, *Macromolecules* **2015**, *48*, 3344–3353.
- 76 F. Hofmeister, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **1888**, *24*, 247–260.
- 77 F. D. Jochum, F. R. Forst, P. Theato, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1456–1461.
- 78 D. J. Phillips, M. I. Gibson, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 3200–3208.
- 79 F. C. Giacomelli, P. Stepánek, C. Giacomelli, V. Schmidt, E. Jäger, A. Jäger, K. Ulbrich, *Soft Matter* **2011**, *7*, 9316–9325.
- 80 V. Bütün, S. P. Armes, N. C. Billingham, *Polymer* **2001**, *42*, 5993–6008.

- 81 J. W. McGrath, J. P. Chin, J. P. Quinn, *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 412–419.
- 82 S. J. Kelly, D. E. Dardinger, L. G. Butler, *Biochemistry* **1975**, *14*, 4983–4988.
- 83 Y. Okamoto, N. Iwamoto, S. Takamuku, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 1516–1517.
- 84 J. Baran, S. Penczek, *Macromolecules* **1995**, *28*, 5167–5176.
- 85 B. A. Arbuzov, *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 307–336.
- 86 A. Michaelis, R. Kaehne, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1898**, *31*, 1048–1055.
- 87 D. Meziane, J. Hardouin, A. Elias, E. Guenin, M. Lecouvey, *Heteroatom. Chem.* **2009**, *20*, 369–377.
- 88 G. G. Rajeshwaran, M. Nandakumar, R. Sureshbabu, A. K. Mohanakrishnan, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1270–1273.
- 89 A. Cankaya, M. Steinmann, Y. Bülbül, I. Lieberwirth, F. R. Wurm, *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 5004–5010.
- 90 M. Steinmann, J. Markwart, F. R. Wurm, *Macromolecules* **2014**, *47*, 8506–8513.
- 91 T. Steinbach, E. M. Alexandrino, C. Wahlen, K. Landfester, F. R. Wurm, *Macromolecules* **2014**, *47*, 4884–4893.
- 92 F. Marsico, A. Turshatov, R. Pekoz, Y. Avlasevich, M. Wagner, K. Weber, D. Donadio, K. Landfester, S. Balushev, F. R. Wurm, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 11057–11064.
- 93 T. Steinbach, E. M. Alexandrino, F. R. Wurm, *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 3800–3806.
- 94 T. Wolf, J. Naß, F. R. Wurm, *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 2934–2937.
- 95 L. K. Müller, T. Steinbach, F. R. Wurm, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 42881–42888.
- 96 J. C. Markwart, A. Battig, L. Zimmermann, M. Wagner, J. Fischer, B. Schartel, F. R. Wurm, *ACS Appl. Polym. Mater.* **2019**, *15*, 1118–1128.
- 97 T. Steinbach, S. Ritz, F. R. Wurm, *ACS Macro Lett.* **2014**, *3*, 244–248.
- 98 J. Wang, H.-Q. Mao, K. W. Leong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9480–9481.
- 99 A. Battig, J. C. Markwart, F. R. Wurm, B. Schartel, *Polym. Chem.* **2019**, *10*, 4346–4358.
- 100 K. Täuber, F. Marsico, F. R. Wurm, B. Schartel, *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 7042–7053.
- 101 S. Y. Lu, I. Hamerton, *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 1661–1712.
- 102 S.-W. Huang, R.-X. Zhuo, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2008**, *183*, 340–348.
- 103 Z. Zhao, J. Wang, H.-Q. Mao, K. W. Leong, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, *55*, 483–499.
- 104 J. Wen, H.-Q. Mao, W. Li, K. Y. Lin, K. W. Leong, *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 2142–2157.
- 105 J. Wang, H.-Q. Mao, K. W. Leong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9480–9481.
- 106 E. M. Alexandrino, S. Ritz, F. Marsico, G. Baier, V. Mailander, K. Landfester, F. R. Wurm, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 1298–1306.
- 107 S. Zhang, H. Wang, Y. Shen, F. Zhang, K. Seetho, J. Zou, J.-S. A. Taylor, A. P. Dove, K. L. Wooley, *Macromolecules* **2013**, *46*, 5141–5149.
- 108 D. K. Armstrong, G. F. Fleming, M. Markman, H. H. Bailey, *Gynecol. Oncol.* **2006**, *103*, 391–396.

- 109 M.-H. Xiong, Y. Bao, X.-Z. Yang, Y.-C. Wang, B. Sun, J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4355–4362.
- 110 J. He, M. Zhang, P. Ni, *Soft Matter* **2012**, *8*, 6033–6038.
- 111 W. Gerlach, O. Stern, *Z. Phys.* **1922**, *9*, 349–352.
- 112 F. Schneider, M. Plato, *Elektronenspin-Resonanz: Experimentelle Technik*, Karl Thiemig, München, **1971**.
- 113 N. M. Atherton, *Principles of Electron Spin Resonance*, Ellis Horwood, New York, **1993**.
- 114 R. Kirmse, J. Stach, *ESR-Spektroskopie: Anwendungen in der Chemie*, Akademie-Verlag, Berlin, **1985**.
- 115 A. Abragam, M. H. L. Pryce, *Proc. Roy. Soc. Lond. A* **1951**, *205*, 135–153.
- 116 G. Jeschke, *Einführung in die ESR-Spektroskopie*, Vorlesungsskript Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, **1998**.
- 117 D. Hinderberger, *Polyelectrolytes and Their Counterions Studied by EPR Spectroscopy*, Dissertation Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, **2004**.
- 118 Y. N. Molin, K. M. Salikhov, K. I. Zamaraev, *Spin Exchange: Principles and Applications in Chemistry and Biology*, Springer, Berlin, **1980**.
- 119 C. P. Slichter, *Principles of Magnetic Resonance*, Springer, Berlin, **1992**.
- 120 M. J. N. Junk, *Assessing the Functional Structure of Molecular Transporters by EPR Spectroscopy*, Dissertation Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, **2010**.
- 121 G. Jeschke, *Kurze Einführung in die elektronenparamagnetische Resonanzspektroskopie*, Vorlesungsskript Universität Konstanz, **2008**.
- 122 M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme, Stuttgart, **2016**.
- 123 L. J. Kirschenbaum, P. Riesz, *Ultrason. Sonochem.* **2012**, *19*, 1114–1119.
- 124 V. Bercu, M. Martinelli, C. A. Massa, L. A. Pardi, D. Leporini, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 174906.
- 125 N. Kocherginsky, H. M. Swartz, *Nitroxide Spin Labels: Reactions in Biology and Chemistry*, CRC Press, Boca Raton, **1995**.
- 126 W. L. Hubbell, D. S. Cafiso, C. Altenbach, *Nat. Struct. Biol.* **2000**, *7*, 735–739.
- 127 T. Wolf, J. Hunold, J. Simon, C. Rosenauer, D. Hinderberger, F. R. Wurm, *Polym. Chem.* **2018**, *9*, 490–498.
- 128 A. Schweiger, G. Jeschke, *Principles of Pulse Electron Paramagnetic Resonance*, Oxford University Press, Oxford, **2001**.
- 129 J. Harmer, G. Mitrikas, A. Schweiger, *High Resolution EPR: Applications to Metalloenzymes and Metals in Medicine*, Springer Science, New York, **2009**.
- 130 M. Pannier, S. Veit, A. Godt, G. Jeschke, H. W. Spiess, *J. Magn. Reson.* **2000**, *142*, 331–340.
- 131 G. Jeschke, H. Zimmermann, A. Godt, *J. Magn. Reson.* **2006**, *180*, 137–146.
- 132 S. W. Provencher, *Comput. Phys. Commun.* **1982**, *27*, 213–227.
- 133 S. W. Provencher, *Comput. Phys. Commun.* **1982**, *27*, 229–242.

- 134 L. Martínez, R. Andrade, E. G. Birgin, J. M. Martínez, *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2157–2164.
- 135 C. Vega, J. L. F. Abascal, I. Nezbeda, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 034503.
- 136 E. Stendardo, A. Pedone, P. Cimino, M. C. Menziani, O. Crescenzi, V. Barone, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 11697–11709.
- 137 S. Plimpton, *J. Comput. Phys.* **1995**, *117*, 1–19.
- 138 G. J. Martyna, M. L. Klein, M. Tuckerman, *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 2635–2643.
- 139 G. Fiorin, M. L. Klein, J. Hémin, *Mol. Phys.* **2013**, *111*, 3345–3362.
- 140 M. Brehm, B. Kirchner, *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51*, 2007–2023.
- 141 W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *J. Mol. Graphics* **1996**, *14*, 33–38.
- 142 S. Stoll, A. Schweiger, *J. Magn. Reson.* **2006**, *178*, 42–55.
- 143 D. J. Schneider, J. H. Freed, *Calculating Slow Motional Magnetic Resonance Spectra*, Plenum Press, New York, **1989**.
- 144 V. P. Timofeev, A. Yu. Misharin, Ya. V. Tkachev, *Biophysics* **2011**, *56*, 407–417.
- 145 W. Snipes, J. Cupp, G. Cohn, A. Keith, *Biophys. J.* **1974**, *14*, 20–32.
- 146 G. Jeschke, V. Chechik, P. Ionita, A. Godt, H. Zimmermann, J. Banham, C. R. Timmel, D. Hilger, H. Jung, *Appl. Magn. Reson.* **2006**, *30*, 473–498.
- 147 N. Islam, M. Flint, S. W. Rick, *J. Chem. Phys.* **2019**, *150*, 014502.
- 148 N. N. Mafy, T. Afrin, M. M. Rahman, M. Y. A. Mollah, M. A. B. H. Susan, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 59263–59272.
- 149 M. J. N. Junk, W. Li, A. D. Schlüter, G. Wegner, H. W. Spiess, A. Zhang, D. Hinderberger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5683–5687.
- 150 D. Kurzbach, M. N. Reh, D. Hinderberger, *ChemPhysChem* **2011**, *12*, 3566–3572.
- 151 M. J. N. Junk, W. Li, A. D. Schlüter, G. Wegner, H. W. Spiess, A. Zhang, D. Hinderberger, *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 1229–1235.
- 152 M. M. Ayhan, G. Casano, H. Karoui, A. Rockenbauer, V. Monnier, M. Hardym, P. Tordo, D. Bardelang, O. Ouari, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16404–16410.
- 153 E. Rideau, F. R. Wurm, K. Landfester, *Polym. Chem.* **2018**, *9*, 5385–5394.
- 154 E. Rideau, R. Dimova, P. Schwille, F. R. Wurm, K. Landfester, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 8572–8610.
- 155 Y.-Y. Chien, E.-G. Kim, W. F. Bleam, *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 3204–3208.
- 156 Z. Kecki, B. Lyczkowski, W. Kolodziejewski, *J. Solution Chem.* **1986**, *15*, 413–422.
- 157 J. Hunold, J. Eisermann, M. Brehm, D. Hinderberger, „Water Forms Stable Non-Polar Solvation Shells around Amphiphilic TEMPO Radicals and Leads to Weak Association in Aqueous Solution“, eingereicht.
- 158 J. N. Nayak, M. I. Aralaguppi, B. V. K. Naidu, T. M. Aminabhavi, *J. Chem. Eng. Data* **2004**, *49*, 468–474.
- 159 B. H. Robinson, A. W. Reese, E. Gibbons, C. Mailer, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 5881–5894.
- 160 B. H. Robinson, C. Mailer, A. W. Reese, *J. Magn. Reson.* **1999**, *138*, 199–209.

- 161 B. H. Robinson, C. Mailer, A. W. Reese, *J. Magn. Reson.* **1999**, *138*, 210–219.
- 162 R. Chiarelli, A. Rassat, *Tetrahedron* **1973**, *29*, 3639–3647.
- 163 E. H. Hardy, A. Zygar, M. D. Zeidler, M. Holz, F. D. Sacher, *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 3174–3181.
- 164 I. M. Svishchev, P. G. Kusalik, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 728–733.
- 165 M. Holz, X. Mao, D. Seiferling, A. Sacco, *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 669–679.
- 166 Y. Akdogan, J. Heller, H. Zimmermann, D. Hinderberger, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 7874–7882.
- 167 G. Jeschke, *ChemPhysChem* **2002**, *3*, 927–932.
- 168 G. Jeschke, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2012**, *63*, 419–446.
- 169 M. J. N. Junk, H. W. Spiess, D. Hinderberger, *J. Magn. Reson.* **2011**, *210*, 210–217.
- 170 B. E. Bode, D. Margraf, J. Plackmeyer, G. Dürner, T. F. Prisner, O. Schiemann, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6736–6745.
- 171 Y. Polyhach, E. Bordignon, R. Tschaggelar, S. Gandra, A. Godt, G. Jeschke, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 10762–10773.
- 172 Y. Polyhach, A. Godt, C. Bauer, G. Jeschke, *J. Magn. Reson.* **2007**, *185*, 118–129.
- 173 S. R. Burks, M. A. Makowsky, Z. A. Yaffe, C. Hoggie, P. Tsai, S. Muralidharan, M. K. Bowman, J. P. Y. Kao, G. M. Rosen, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 4737–4741.
- 174 J. Lajzerowicz-Bonneteau, *Spin Labeling: Theory and Applications*, Academic Press, New York, **1976**.
- 175 E. G. Rozantsev, *Free Nitroxyl Radicals*, Plenum Press, New York, **1970**.
- 176 K. Laaß, F. G. Quiroz, J. Hunold, A. Chilkoti, D. Hinderberger, „Nanoscopic characterisation of temperature hysteresis, hydration and dehydration processes of temperature-responsive peptide polymers“, eingereicht.
- 177 D. Kurzbach, W. Hassouneh, J. R. McDaniel, E. A. Jaumann, A. Chilkoti, D. Hinderberger, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 11299–11308.
- 178 Y. Zhang, P. S. Cremer, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 658–663.
- 179 M. Andreev, J. J. de Pablo, A. Chremos, J. F. Douglas, *J. Phys. Chem. B* **2018**, *122*, 4029–4034.
- 180 A. M. Hyde, S. L. Zultanski, J. H. Waldman, Y.-L. Zhong, M. Shevlin, F. Peng, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 1355–1370.
- 181 M. M. Ayhan, G. Casano, H. Karoui, A. Rockenbauer, V. Monnier, M. Hardy, P. Tordo, D. Bardelang, O. Ouari, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16404–16410.
- 182 L. Song, Z. Liu, P. Kaur, J. M. Esquiaqui, R. I. Hunter, S. Hill, G. M. Smith, G. E. Fanucci, *J. Magn. Reson.* **2016**, *265*, 188–196.
- 183 W. A. Braunecker, K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 93–146.
- 184 J. Hu, N. Whiting, P. Bhattacharya, *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122*, 10575–10581.
- 185 M. Cavailles, A. Bornet, X. Jaurand, B. Vuichoud, D. Baudouin, M. Baudin, L. Veyre, G. Bodenhausen, J.-N. Dumez, S. Jannin, C. Copéret, C. Thieuleux, *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 7575–7579.

7 Abkürzungsverzeichnis

3p-ESEEM	3-Puls-Elektronen-Spin-Echo-Hüllkurvenmodulation (engl. 3-pulse electron-spin-echo envelope modulation)
A	Hyperfeinkopplungstensor
A_{xx}, A_{yy}, A_{zz}	Hauptkomponenten des Hyperfeinkopplungstensors entlang der drei Raumrichtungen x, y und z
ATP	Adenosintriphosphat
a_{iso}	isotrope Hyperfeinkopplungskonstante
$a_{iso,NO}$	isotrope Hyperfeinkopplungskonstante bei Nitroxid-Spinsonden
a.u.	willkürliche Einheit (engl. arbitrary unit)
B, B_0	magnetische Flussdichte eines äußeren, statischen Magnetfeldes
$B(t)$	Hintergrundfaktor der DEER-Zeitspur (engl. background function)
B_{eff}	effektiv auf den Elektronenspin wirksame magnetische Flussdichte
B_I	magnetische Flussdichte eines von den Kernspins der Atomkerne induzierten Magnetfeldes
CID	kollisionsinduzierte Dissoziation (engl. collision-induced dissociation)
CW	kontinuierliche Welle (engl. continous wave), eine spezielle Messmethode in der EPR-Spektroskopie
c	Stoffmengenkonzentration
c_i, c_{NaCl}	Stoffmengenkonzentration der Ionensorte i bzw. von Natriumchlorid
D	Rotationsdiffusionstensor
D_{diff}	Diffusionskoeffizient
D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}	Hauptkomponenten des Rotationsdiffusionstensors entlang der drei Raumrichtungen x, y und z
\mathcal{D}	Molmassenverteilung
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DEER	Doppel-Elektronen-Elektronen-Resonanz-Experiment
DLS	dynamische Lichtstreuung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNP	dynamische Kernpolarisation (engl. dynamic nuclear polarization)
DPBS	Dulbecco's phosphatgepufferte Salzlösung (engl. Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline)
d	Abstand (Distanz)
$d_{ }$	Partikeldurchmesser parallel zur N–O-Bindungsachse
E	Energie
$E_{\uparrow}, E_{\downarrow}$	Energie des Niveaus mit Elektronenspin im Zustand „Spin up \uparrow “ bzw. „Spin down \downarrow “
ELP	elastinartiges Polypeptid (engl. elastin-like polypeptide)

EPR	elektronenparamagnetische Resonanz
ESE	Elektronen-Spin-Echo
ESI-MS	Elektrosprayionisations-Massenspektrometrie
ESR	Elektronenspinresonanz
$F(t)$	Formfaktor der DEER-Zeitspur $F(t) = V(t)/B(t)$
f	spektraler Anteil einer bestimmten Sondenpezies am Gesamtspektrum
$f_{hydrophob}$	spektraler Anteil der hydrophoben Sondenpezies am Gesamtspektrum
$f(\dots)$	Funktion einer bestimmten Variablen
$G(\Gamma)$	Verteilungsfunktion der Zerfallsrate Γ
g	Landé-Faktor (Tensor)
$g_2(t)$	Autokorrelationsfunktion
g_e	Landé-Faktor für ein freies Elektron ($g_e = 2,002319\dots$)
g_{iso}	isotroper Landé-Faktor
g_{xx}, g_{yy}, g_{zz}	Hauptkomponenten des Landé-Faktors entlang der drei Raumrichtungen x, y und z
\hat{H}_{EZ}	Hamilton-Operator der Elektronen-Zeeman-Wechselwirkung
\hat{H}_{ee}	Hamilton-Operator der Elektronenspin-Elektronenspin-Wechselwirkung
\hat{H}_{HF}	Hamilton-Operator der Hyperfeinaufspaltung
\hat{H}_{LS}	Hamilton-Operator der Spin-Bahn-Kopplung (L - S -Kopplung)
\hat{H}_{NQ}	Hamilton-Operator der Kern-Quadrupol-Wechselwirkung
\hat{H}_{NZ}	Hamilton-Operator der Kern-Zeeman-Wechselwirkung
\hat{H}_S	Spin-Hamilton-Operator, enthält alle Wechselwirkungen der Elektronenspins mit äußeren und inneren Magnetfeldern
\hat{H}_{ZFS}	Hamilton-Operator der Nullfeldaufspaltung (engl. zero field splitting)
h, \hbar	Planck'sches Wirkungsquantum bzw. durch 2π dividiertes Planck'sches Wirkungsquantum
I	Ionenstärke, Kernspinquantenzahl oder im Zusammenhang mit Spektren Signalintensität
IR	Infrarot(strahlung)
I_R	Intensitätsverhältnis in den CW-EPR-Spektren
I_+	Signalintensität oberhalb der Nulllinie
I_-	Signalintensität unterhalb der Nulllinie
K_{ow}	n -Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
k_B	Boltzmann-Konstante
L	Bahndrehimpuls(quantenzahl)
LCST	untere kritische Lösungstemperatur (engl. lower critical solution temperature)
M	molare Masse
M_n	Zahlenmittel (Polymermolmasse)

MS	Massenspektrometrie
MW	Mikrowellen
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
m_l	magnetische Kernspinquantenzahl
m_s	magnetische Spinquantenzahl
$N_{\uparrow}, N_{\downarrow}$	Besetzungszahl des energiereicheren Niveaus mit Elektronenspin im Zustand „Spin up \uparrow “ bzw. des energieärmeren Niveaus mit Elektronenspin im Zustand „Spin down \downarrow “
NMR	Kernspinresonanz (engl. nuclear magnetic resonance)
NMP	nitroxid-vermittelte (engl. nitroxide-mediated) Polymerisation
n	Anzahl von Monomereinheiten in einem Polymer
n_D	Brechungsindex
n_s	Anzahl von Spins
PE	Poly(ethylen)
PET	Poly(ethylenterephthalat)
PNIPAM	Poly(<i>N</i> -isopropylacrylamid)
PP	Poly(propylen)
PPE	Poly(phosphoester)
PROXYL	2,2,5,5-Tetramethylpyrrolidin-1-oxyl
PS	Poly(styrol)
PSD	phasensensitiver Detektor
pK_s	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstanten K_s
Q	Qualitätsfaktor des Resonators ($Q = \nu_{res}/\Delta\nu$)
q	Streuvektor
R, R', R'', R'''	variabler (organischer) Strukturrest
RMSD	Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung (engl. root-mean-square deviation)
RNA	Ribonukleinsäure
ROP	Ringöffnungspolymerisation
r	Bindungslänge
r_h	hydrodynamischer Radius
r_w	Van-der-Waals-Radius
S	Spindrehimpuls(quantenzahl) bzw. Elektronenspin
\hat{S}	Spinoperator
S_{ges}	simuliertes Gesamtspektrum
S_z	Komponente des Spindrehimpuls in z-Richtung (Magnetfeldrichtung)
SDF	räumliche Verteilungsfunktion (engl. spatial distribution function)
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis (engl. signal-to-noise ratio)
SOMO	einfach besetztes Molekülorbital (engl. singly occupied molecular orbital)

s	simuliertes Einzelkomponentenspektrum
T	Temperatur
T_{In}	longitudinale Kernspinrelaxationszeit
T_{EPR}	EPR-basierte Nanophasenseparationstemperatur
T_{cp}	makroskopische Trübungstemperatur (engl. cloud point temperature)
T_e	Evolutionszeit bei Puls-EPR-Experimenten
T_v	Siedetemperatur (bei Normaldruck von ~ 1 bar)
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl
TEMPOL	4-Hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (4-Hydroxy-TEMPO)
TEMPOX	4-Oxo-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (4-Oxo-TEMPO)
THF	Tetrahydrofuran
t	Zeit
t'	Totzeit nach einem Puls im DEER-Experiment
UCST	obere kritische Lösungstemperatur (engl. upper critical solution temperature)
UV/VIS	ultraviolett/sichtbar (engl. visible)
$V(t)$	zeitabhängiger Echoabfall im DEER-Experiment
w_{mass}	massengewichteter Anteil in der DLS
w_x, w_y	Prozentanteil der Monomereinheiten mit Ethyl- bzw. n -Butylseitenkette
x	Anzahl der Monomereinheiten mit Ethylseitenkette
x_B	Molenbruch der Mischungskomponente B
x_s	Streckungsfaktor
y	Anzahl der Monomereinheiten mit n -Butylseitenkette
z_i	Ladungszahl der Ionensorte i (Ionenladung)
α	Regularisierungsparameter der Tikhonov-Regularisierung
α_{NO}	Bindungswinkel zwischen N–O-Bindung und CNC-Ebene bei Nitroxiden
β	Euler-Winkel zur Beschreibung der Lage des Rotationsdiffusionstensors D im molekularen Koordinatensystem eines Nitroxid-Radikals
Γ	Zerfallsrate
Δ	Modulationstiefe
ΔE_{NO}	benötigte Energie für einen magnetischen Übergang der Elektronenspins bei Nitroxid-Sonden
ΔE_{mag}	Energiedifferenz zwischen den beiden Energieniveaus E_{\uparrow} und E_{\downarrow}
ΔE_{str}	Energie eines eingestrahnten Lichtquants
ΔG_{mix}	freie Mischungsenthalpie
ΔH_{mix}	Mischungsenthalpie
ΔS_{mix}	Mischungsentropie
Δa_{iso}	Polaritätsdifferenz anhand der isotropen Hyperfeinkopplungskonstanten

Δm_l	quantenmechanische Auswahlregel für die Änderung der magnetischen Kernspinquantenzahl bei einem Elektronenspinübergang
Δm_s	quantenmechanische Auswahlregel für die Änderung der magnetischen Spinquantenzahl bei einem Elektronenspinübergang
$\Delta\nu$	Breite auf halber Höhe der Resonanzlinie
$\Delta\chi$	Elektronegativitätsdifferenz
δ	chemische Verschiebung in der NMR-Spektroskopie
δg	Verschiebung des Landé-Faktors aufgrund einer Spin-Bahn-Kopplung
ϵ	Dielektrizitätskonstante
ζ	Kopplungskonstante der Spin-Bahn-Kopplung (<i>L-S-Kopplung</i>)
η	Viskosität
Θ	Transmission
θ	Streuwinkel
λ	Wellenlänge
μ	magnetisches Moment
μ_B	Bohr'sches Magneton (Grundeinheit für atomare magnetische Momente)
μ_{NO}	Dipolmoment eines Nitroxid-Radikals
μ_z	magnetisches Moment in Richtung der z-Achse (Magnetfeldrichtung)
ν	Frequenz
ν_A, ν_B	Beobachter- bzw. Pumpfrequenz bei DEER-Messungen
ν_{mod}	Modulationsfrequenz eines CW-EPR-Spektrometers
ν_{res}	Resonanzfrequenz des Resonators
π	Kreiszahl ($\pi = 3,1415926\dots$)
τ	Interpulsverzögerungszeit
τ_1	Zeit zwischen $\pi/2$ - und π -Puls in der Beobachterfrequenz ν_A
τ_2	Zeitspanne nach τ_1 und vor dem nächsten π -Puls in der Beobachterfrequenz ν_A
τ_c	Rotationskorrelationszeit

8 Anhang

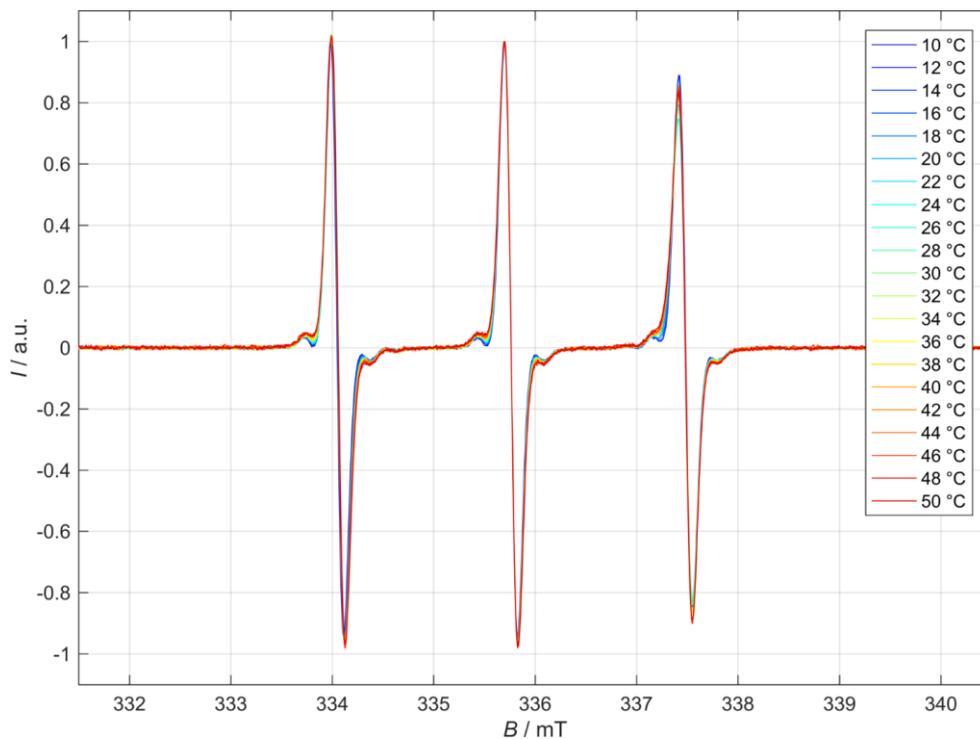


Abbildung 8.1: CW-EPR-Spektren einer Probe mit 15 mg mL⁻¹ P(Et₃₃-co-*n*Bu₇₆) und 0,2 mM TEMPO in DPBS-Puffer bei Temperaturen T zwischen 10 °C und 50 °C. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren in Bezug auf Polaritätsänderungen (d. h. Änderungen von a_{iso}) und Linienformveränderungen wurden diese auf den Nulldurchgang des Mittelfeldsignals zentriert.⁶⁰

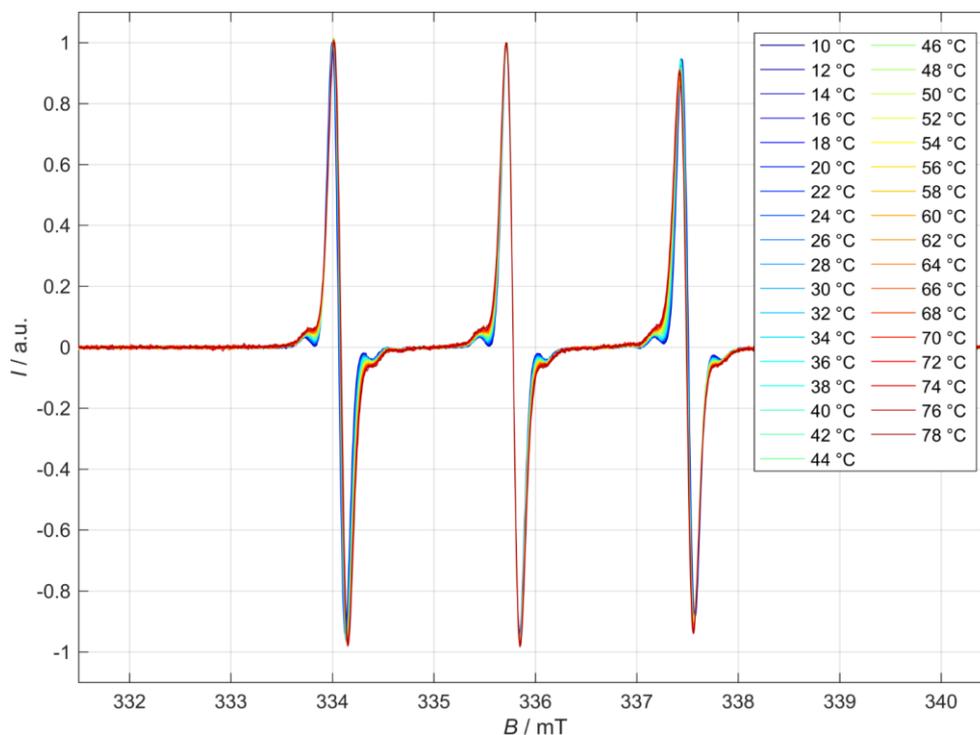


Abbildung 8.2: CW-EPR-Spektren einer Probe mit 15 mg mL⁻¹ P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) und 0,2 mM TEMPO in DPBS-Puffer bei Temperaturen T zwischen 10 °C und 78 °C. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren wurden diese auf den Nulldurchgang des Mittelfeldsignals zentriert.⁶⁰

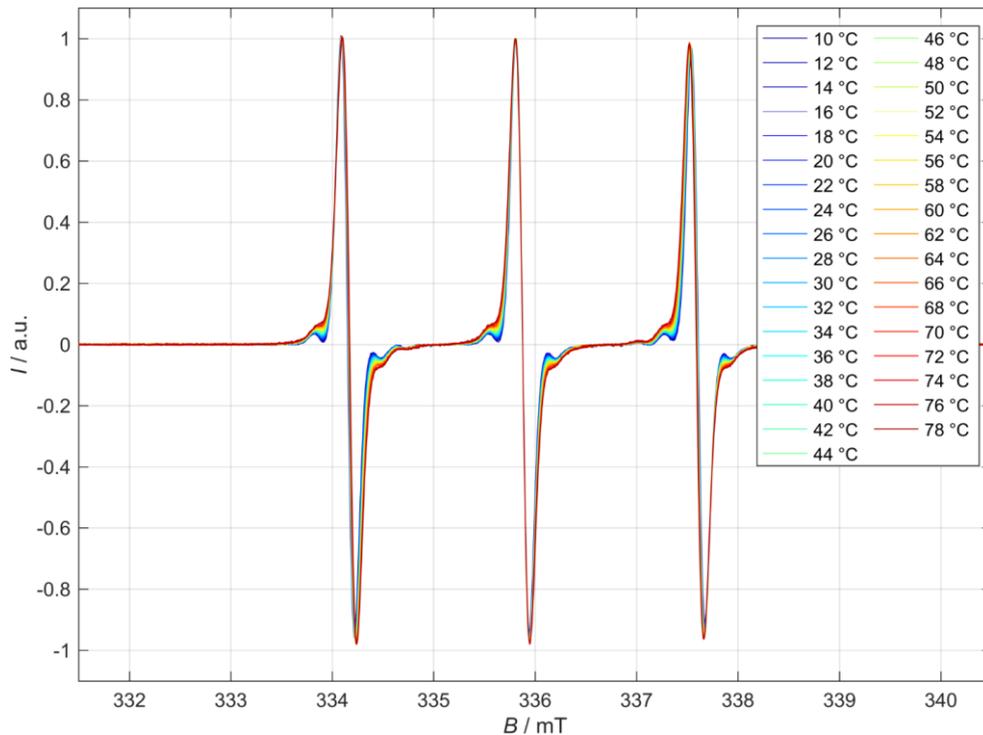


Abbildung 8.3: CW-EPR-Spektren einer 0,2 mM TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer bei Temperaturen T zwischen 10 °C und 78 °C. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren wurden diese auf den Nulldurchgang des Mittelfeldsignals zentriert.⁶⁰

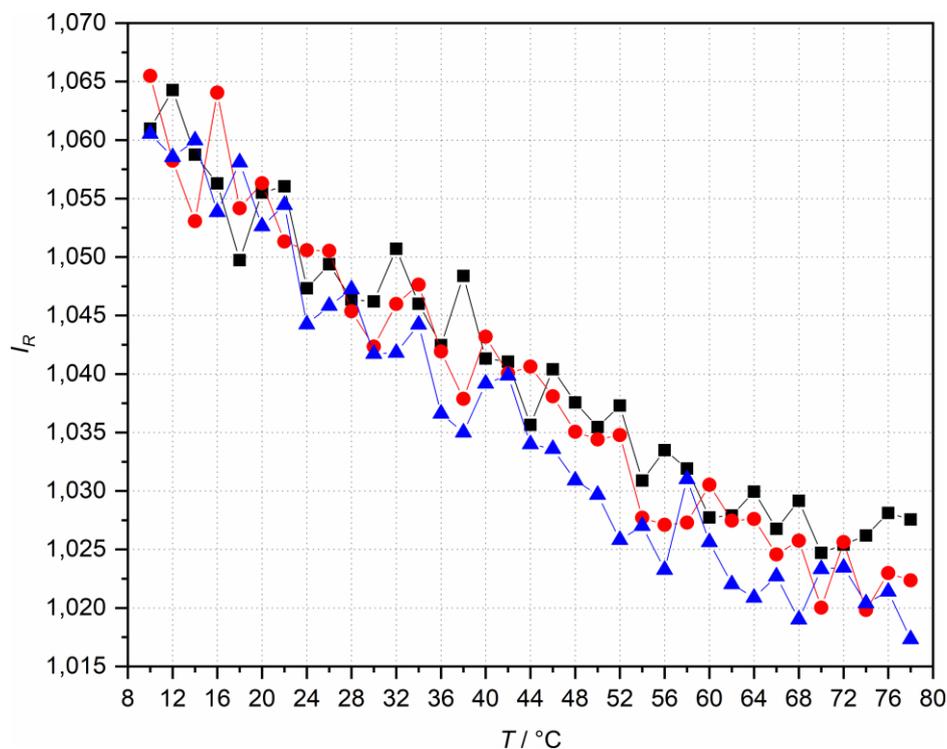


Abbildung 8.4: Intensitätsverhältnis $I_R = |I_+ / I_-|$ von Tieffeld- (schwarze Quadrate), Mittelfeld- (rote Kreise) und Hochfeldsignal (blaue Dreiecke) als Funktion der Temperatur T einer 0,2 mM TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer (vgl. CW-EPR-Spektren in Abbildung 8.3). Die nahezu lineare Abnahme von I_R mit zunehmendem T für alle drei Signale zeigt den zunehmend isotropen Charakter der CW-EPR-Spektren, da sich die TEMPO-Spinsonden bei höheren Temperaturen schneller (d. h. gleichmäßiger bzw. isotroper) bewegen. Hierbei würde ein Wert von $I_R = 1$ einer perfekten Signalsymmetrie entsprechen, da dann die Intensität oberhalb (I_+) und unterhalb (I_-) der Nulllinie exakt gleich groß wäre.⁶⁰

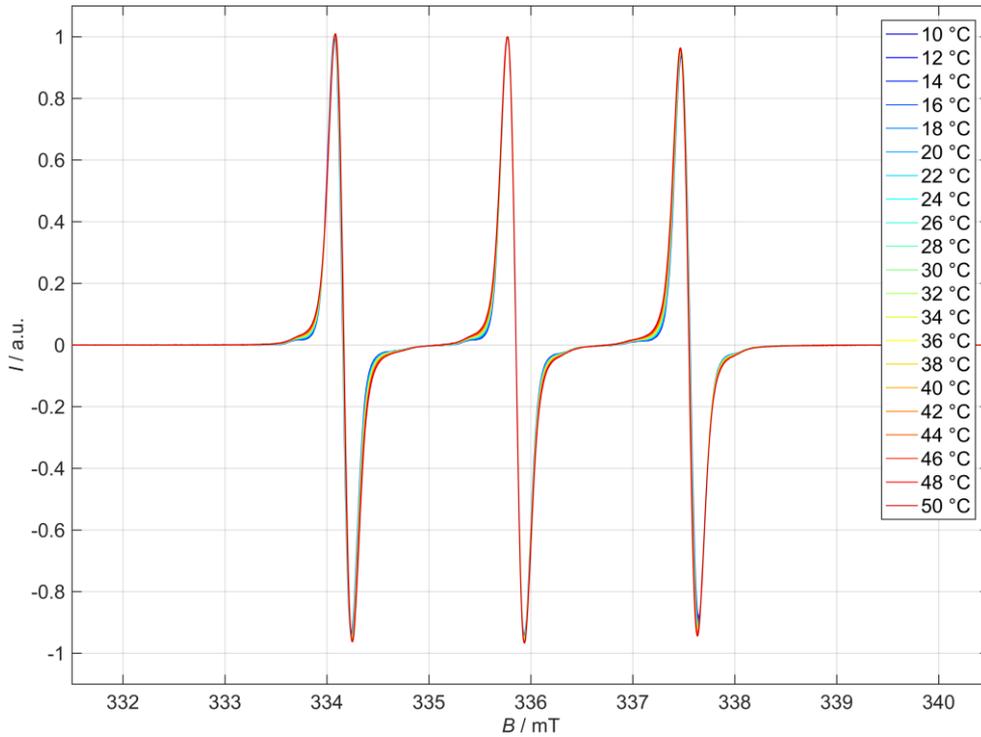


Abbildung 8.5: CW-EPR-Spektren einer Probe mit 15 mg mL^{-1} $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ und $0,2 \text{ mM}$ TEMPOL in DPBS-Puffer bei Temperaturen T zwischen $10 \text{ }^\circ\text{C}$ und $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren wurden diese auf den Nulldurchgang des Mittelfeldsignals zentriert.

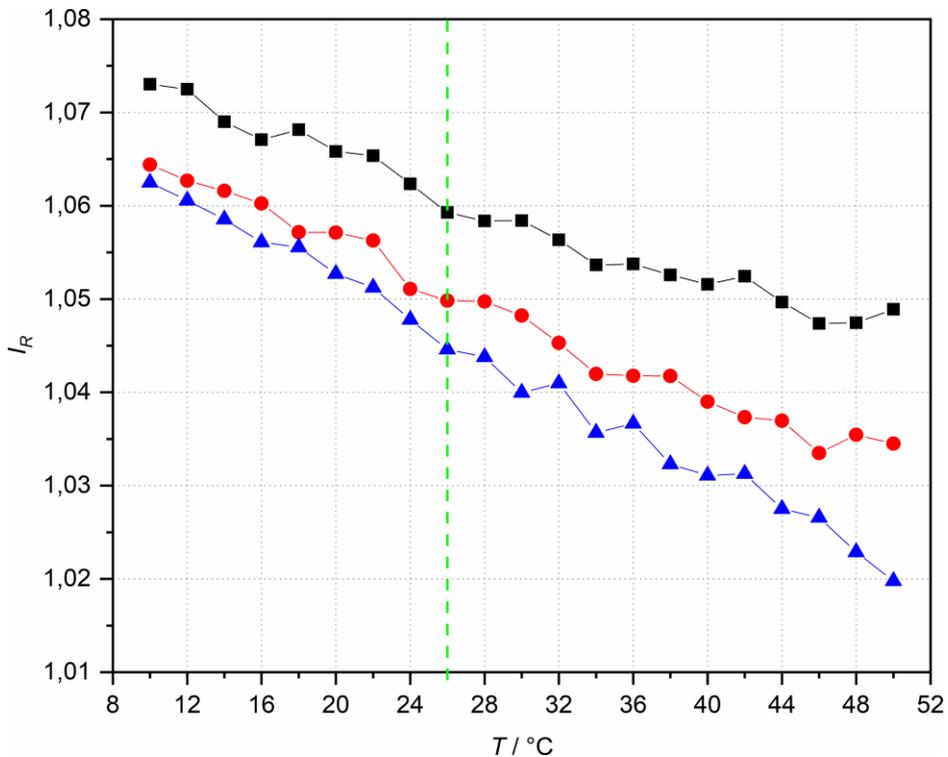


Abbildung 8.6: Intensitätsverhältnis $I_R = |I_+ / I_-|$ von Tieffeld- (schwarze Quadrate), Mittelfeld- (rote Kreise) und Hochfeldsignal (blaue Dreiecke) als Funktion der Temperatur T bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL^{-1} $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ und $0,2 \text{ mM}$ TEMPOL in DPBS-Puffer (vgl. CW-EPR-Spektren in Abbildung 8.5). Die grün gestrichelte vertikale Linie zeigt die makroskopische Trübungstemperatur T_{cp} des PPE-Copolymers an.

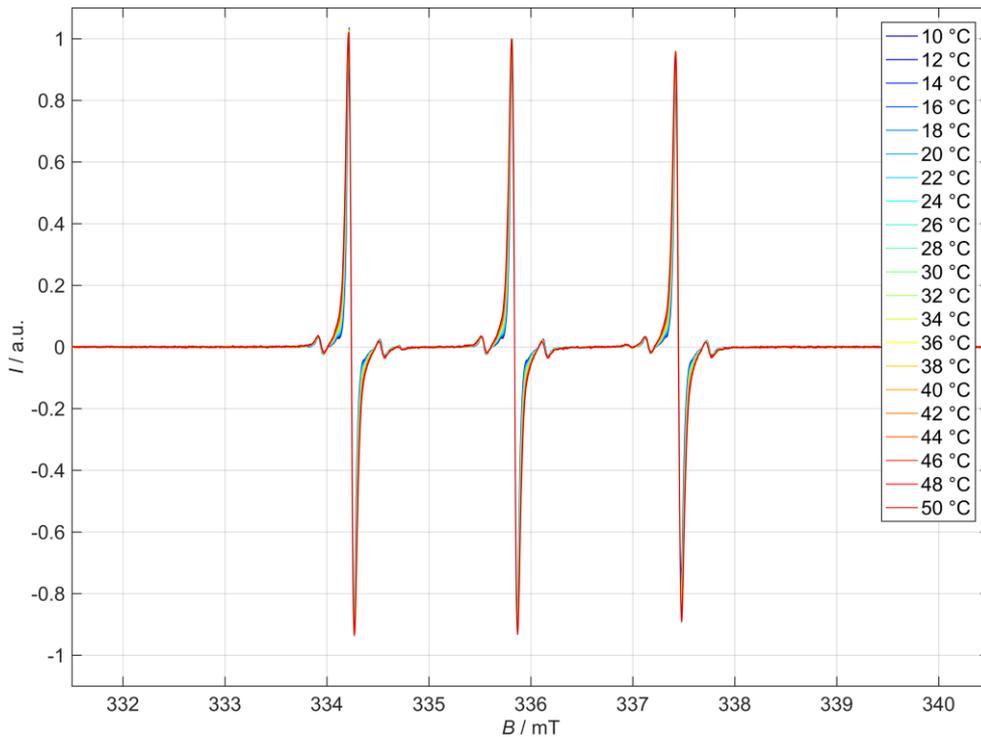


Abbildung 8.7: CW-EPR-Spektren einer Probe mit 15 mg mL^{-1} $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ und $0,2 \text{ mM}$ TEMPN in DPBS-Puffer bei Temperaturen T zwischen $10 \text{ }^\circ\text{C}$ und $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren wurden diese auf den Nulldurchgang des Mittelfeldsignals zentriert.

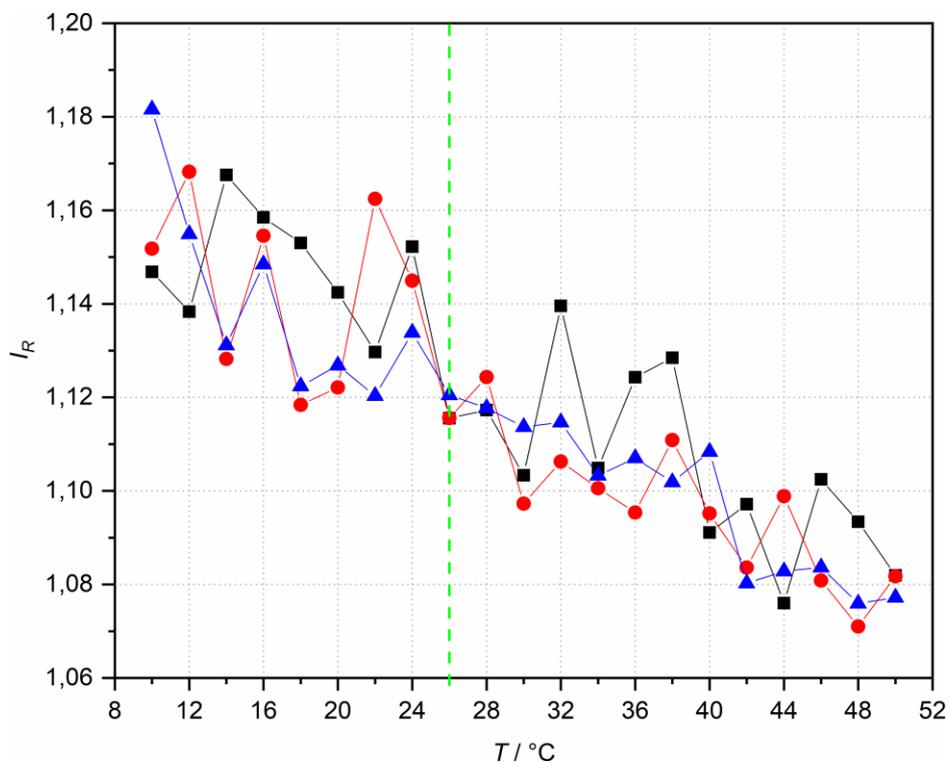


Abbildung 8.8: Intensitätsverhältnis $I_R = |I_+ / I_-|$ von Tiefeld- (schwarze Quadrate), Mittelfeld- (rote Kreise) und Hochfeldsignal (blaue Dreiecke) als Funktion der Temperatur T bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL^{-1} $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ und $0,2 \text{ mM}$ TEMPN in DPBS-Puffer (vgl. CW-EPR-Spektren in Abbildung 8.7). Die grün gestrichelte vertikale Linie zeigt die makroskopische Trübungstemperatur T_{cp} des PPE-Copolymers an.



Abbildung 8.9: Experimentell gemessene CW-EPR-Spektren (schwarz) zusammen mit ihren jeweiligen Simulationen (rot) bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL^{-1} $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ und $0,2 \text{ mM}$ TEMPO in DPBS-Puffer mit den zugehörigen Temperaturen (links) und RMSD-Werten (rechts).⁶⁰

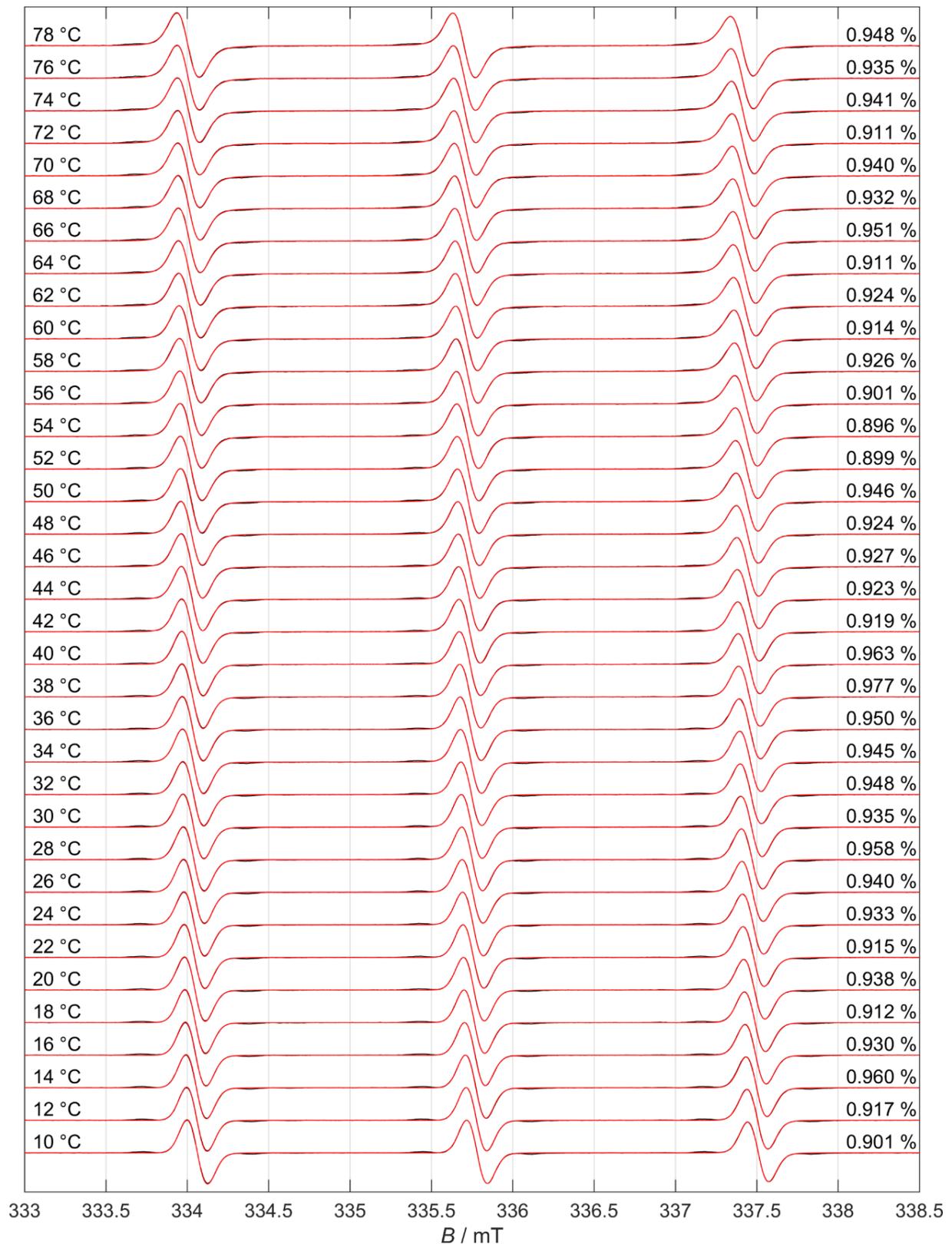


Abbildung 8.10: Experimentell gemessene CW-EPR-Spektren (schwarz) zusammen mit ihren jeweiligen Simulationen (rot) bei einer Polymerkonzentration von 15 mg mL^{-1} P(Et₂₄-co-*n*Bu₂₇) und 0,2 mM TEMPO in DPBS-Puffer mit den zugehörigen Temperaturen (links) und RMSD-Werten (rechts).⁶⁰

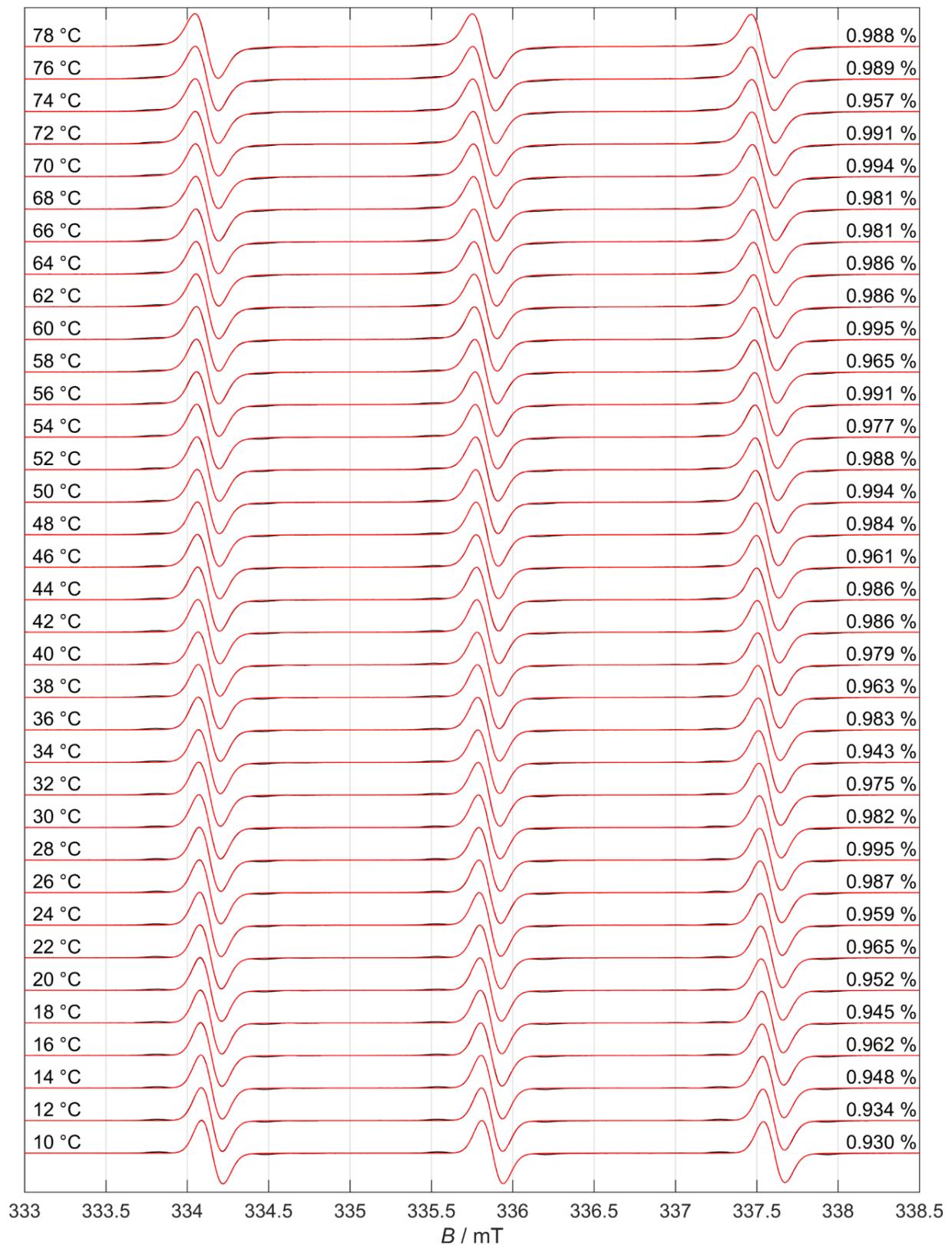


Abbildung 8.11: Experimentell gemessene CW-EPR-Spektren (schwarz) zusammen mit ihren jeweiligen Simulationen (rot) einer 0,2 mM TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer mit den zugehörigen Temperaturen (links) und RMSD-Werten (rechts).⁶⁰

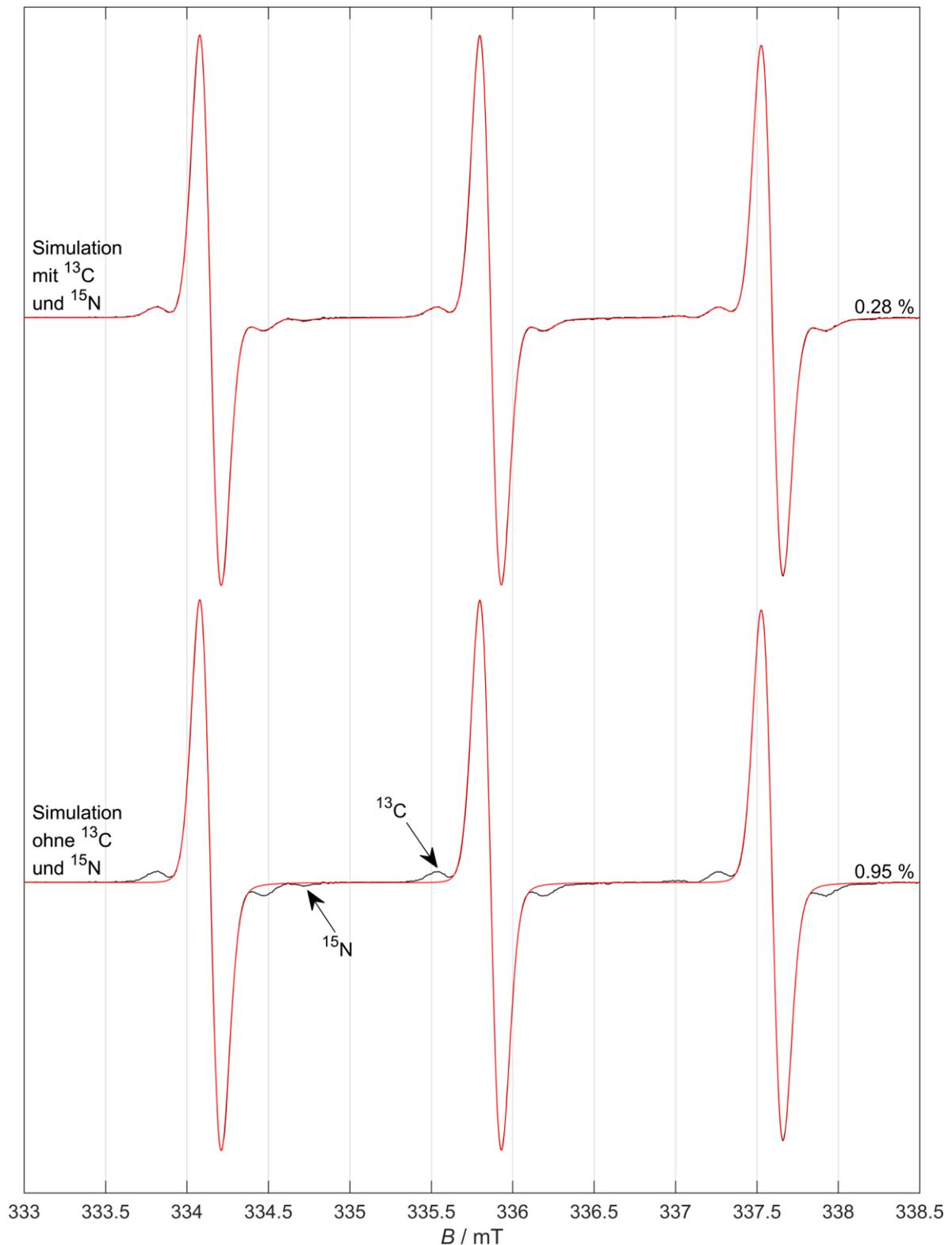


Abbildung 8.12: Experimentell gemessene CW-EPR-Spektren (schwarz) einer 0,2 mM TEMPO-Probe in DPBS-Puffer bei 20 °C, mit (oben) und ohne (unten) Berücksichtigung der ^{13}C - und ^{15}N -Isotope in den Simulationen (rot) gemeinsam mit den zugehörigen RMSD-Werten (rechts). Es zeigt sich, dass durch Einbeziehung der ^{13}C - (natürliche Häufigkeit $\approx 1,11$ %) und ^{15}N -Isotope (natürliche Häufigkeit $\approx 0,36$ %) in den Simulationsansatz die RMSD-Werte mindestens um den Faktor 3 reduziert werden können. Da jedoch die Nichtberücksichtigung der ^{13}C - und ^{15}N -Kerne die Simulationsergebnisse in ihrer Aussagekraft hinsichtlich des Polymerphasenseparationsprozesses nicht negativ beeinflusst und darüber hinaus auch zu einer signifikanten Verkürzung der Simulationsrechenzeit führt, wurden diese Isotope in allen anderen in dieser Arbeit gezeigten Simulationen vernachlässigt.⁶⁰

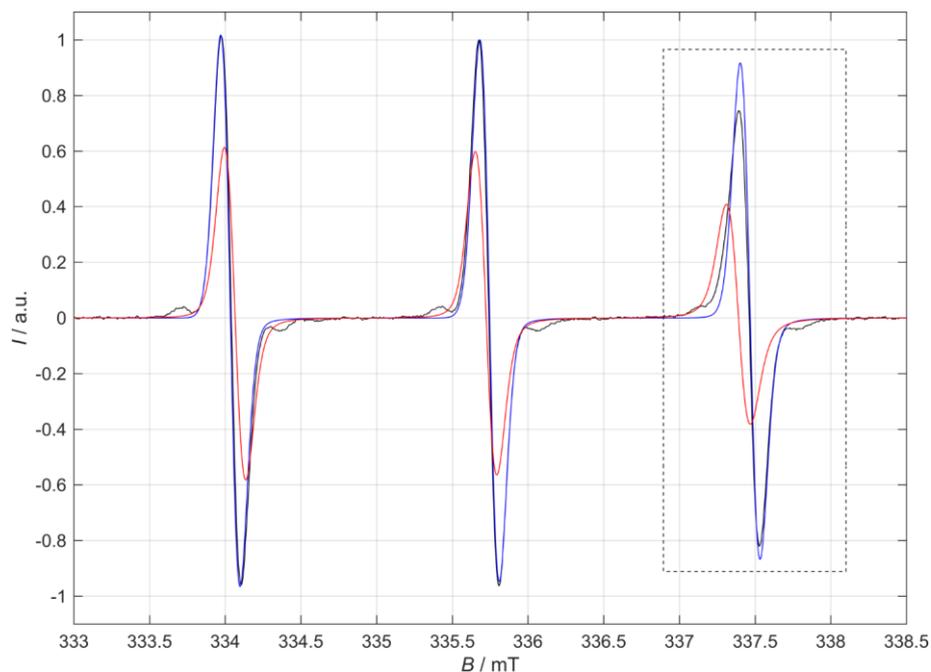


Abbildung 8.13: Gemessenes EPR-Spektrum (schwarz) einer Polymerprobe mit 15 mg mL^{-1} $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ und $0,2 \text{ mM}$ TEMPO in DPBS-Puffer bei $26 \text{ }^\circ\text{C}$, zusammen mit den simulierten Spektren der hydrophilen (blau) und hydrophoben (rot) Sonderspezies. Die Signalintensität I der hydrophoben Komponente (rote Kurve) wurde der besseren Sichtbarkeit wegen mit dem Faktor 50 multipliziert. Der von einem gestrichelten Kasten umrahmte B -Feldbereich des Hochfeldsignals ist in Abbildung 8.14 vergrößert dargestellt.⁶⁰

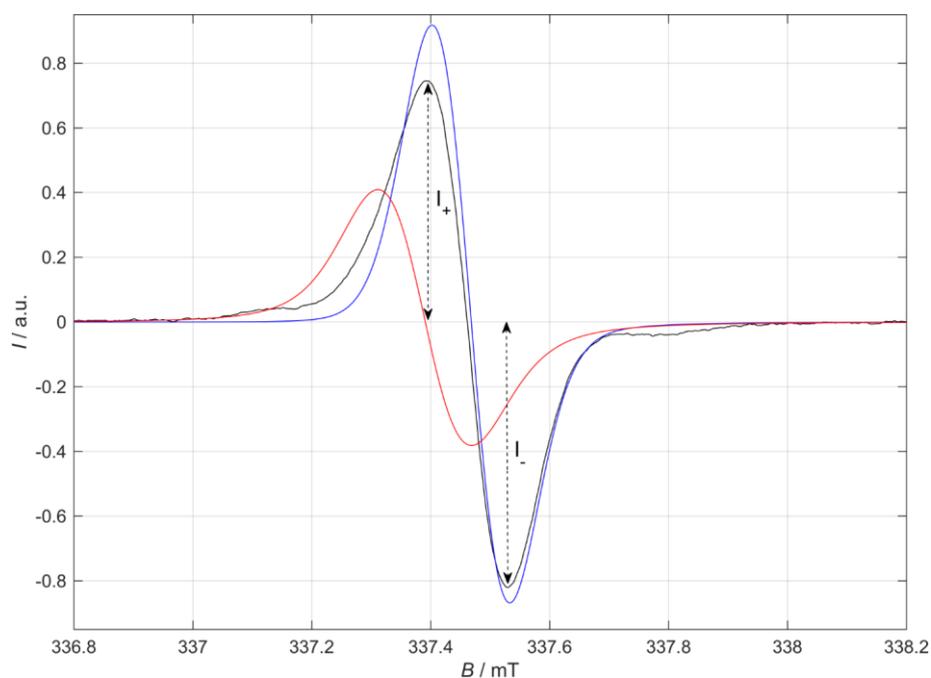


Abbildung 8.14: Vergrößerter B -Feldbereich des Hochfeldsignals aus Abbildung 8.13 (gestrichelter Kasten) mit dem gemessenen EPR-Spektrum (schwarz) sowie der simulierten hydrophilen (blau) und hydrophoben (rot) Sonderspezies. Die gestrichelten schwarzen Doppelpfeile zeigen die Intensität ober- (I_+) und unterhalb (I_-) der Nulllinie an, welche zur Berechnung des Intensitätsverhältnisses $I_R = |I_+/I_-|$ benötigt werden. Aufgrund der etwas geringeren Umgebungspolarität und des damit verbundenen geringeren a_{iso} -Wertes der hydrophoben Sonderspezies (rote Kurve) verschiebt sich deren Hochfeldsignalminimum unter das Hochfeldsignalmaximum der hydrophilen Spezies (blaue Kurve). Die daraus resultierende stärkere Abnahme von I_+ gegenüber I_- führt in Summe zu einer Abnahme des Intensitätsverhältnisses I_R des gemessenen EPR-Spektrums (schwarze Kurve), welches eine gewichtete Superposition der einzelnen simulierten Spektren (blaue und rote Kurve) darstellt.⁶⁰

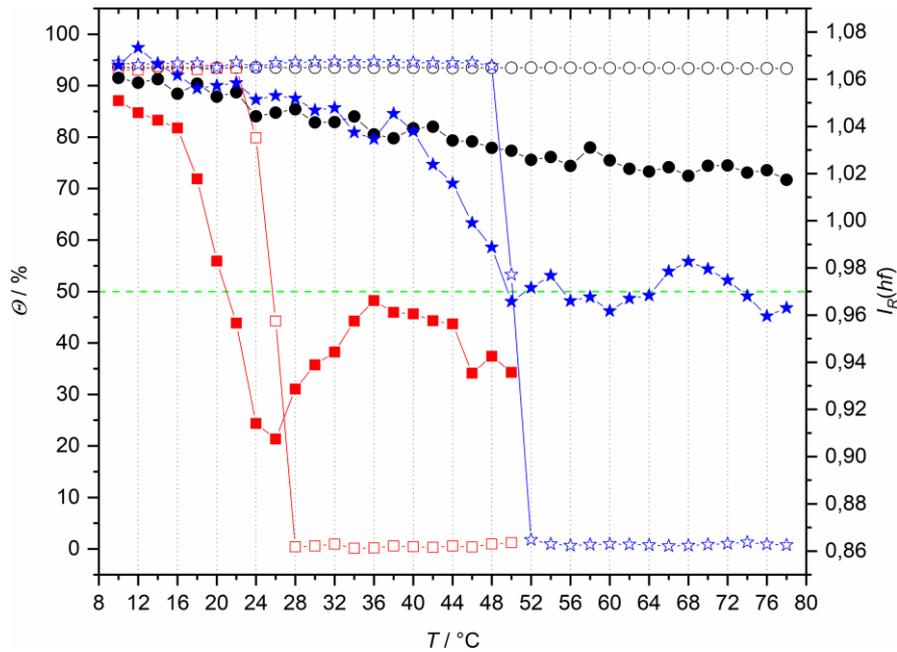


Abbildung 8.15: Transmission Θ (linke Achse) und Intensitätsverhältnis des Hochfeldsignals $I_R(hf)$ (rechte Achse) in Abhängigkeit von der Temperatur T für die beiden Copolymere $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ (rote Quadrate) und $\text{P}(\text{Et}_{24}\text{-co-}n\text{Bu}_{27})$ (blaue Sterne) bei Polymerkonzentrationen von 15 mg mL^{-1} und $0,2 \text{ mM}$ TEMPO in DPBS-Puffer. Zur besseren Vergleichbarkeit sind darüber hinaus auch die Daten einer $0,2 \text{ mM}$ TEMPO-Referenzprobe (schwarze Kreise) in DPBS-Puffer angegeben. Die offenen Symbole mit gestrichelter Linie gehören zur linken Θ -Achse, während die gefüllten Symbole mit durchgezogener Linie zur rechten $I_R(hf)$ -Achse gehören. Die Schnittpunkte der Trübungskurven (offene Symbole mit gestrichelter Linie) mit der grün gestrichelten Linie bei $\Theta = 50 \%$ wurden zur Bestimmung der angegebenen makroskopischen Trübungstemperaturen T_{cp} verwendet.⁶⁰

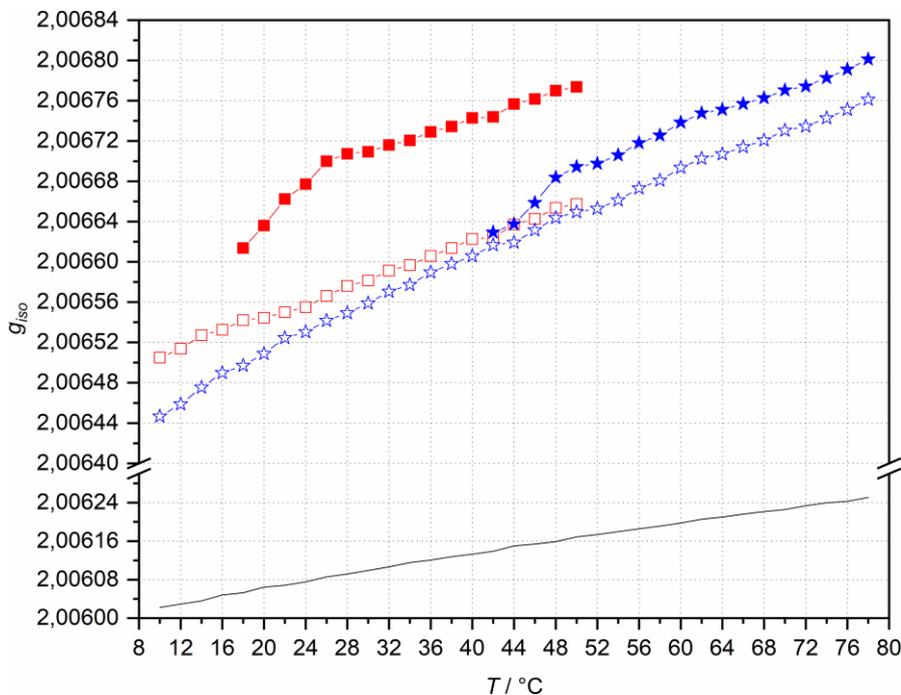


Abbildung 8.16: Isotroper Landé-Faktor g_{iso} als Funktion der Temperatur T für die beiden PPE-Copolymere $\text{P}(\text{Et}_{33}\text{-co-}n\text{Bu}_{76})$ (rote Quadrate) und $\text{P}(\text{Et}_{24}\text{-co-}n\text{Bu}_{27})$ (blaue Sterne), bei Polymerkonzentrationen von 15 mg mL^{-1} und $0,2 \text{ mM}$ TEMPO in DPBS-Puffer. Die offenen Symbole zeigen die hydrophile Komponente an, während die gefüllten Symbole die hydrophobe SONDENSPEZIES darstellen. Der besseren Vergleichbarkeit halber sind auch die Daten einer $0,2 \text{ mM}$ TEMPO-Referenzprobe in DPBS-Puffer als schwarze Linie gezeigt, wobei auch die Unterbrechung der g_{iso} -Achse zu beachten ist.⁶⁰

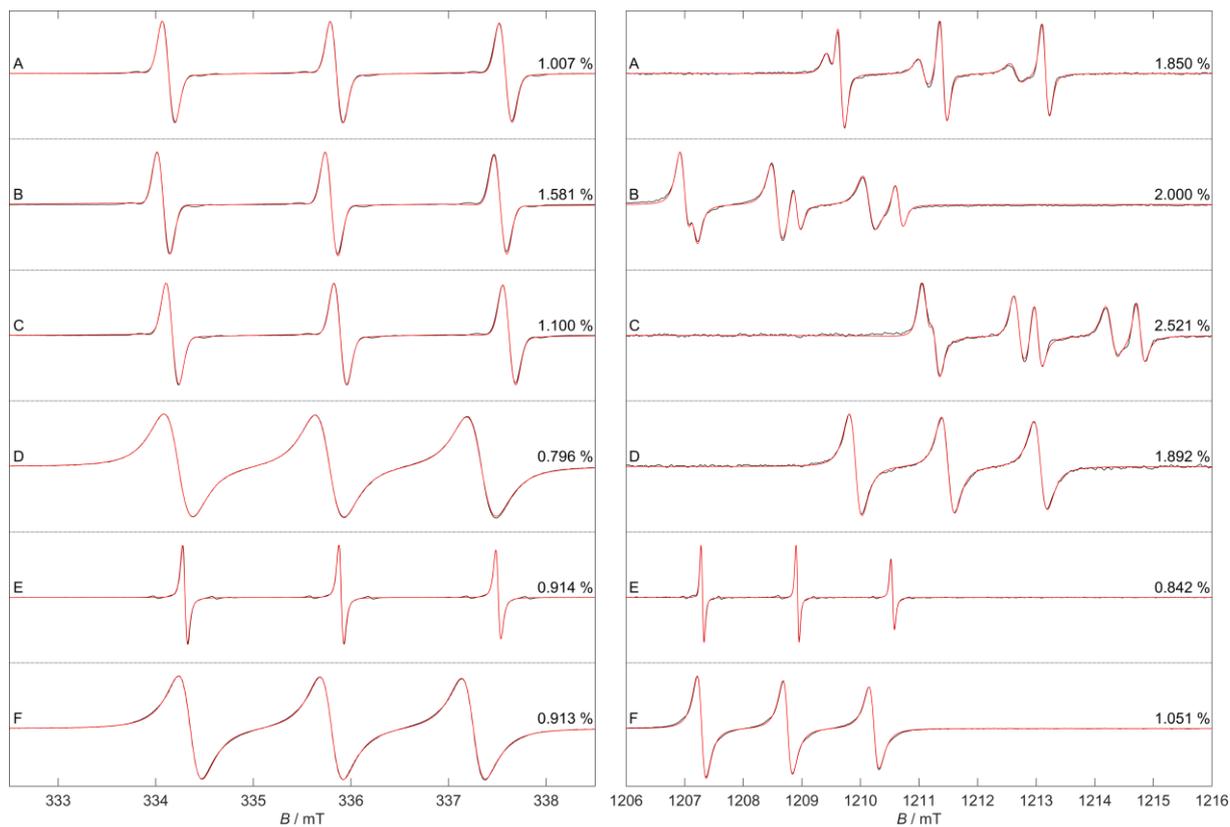


Abbildung 8.17: Experimentelle CW-EPR-Spektren (schwarz) gemessen bei einer Spinsondenkonzentration von 0,47 mM zusammen mit ihren Simulationen (rot) im X-Band (links) und Q-Band (rechts). Die Spektren gehören zu den folgenden Proben: A) TEMPO in H₂O, B) TEMPO in D₂O, C) TEMPO in H₂O/10 Vol.% THF, D) TEMPO in THF, E) TEMPON in H₂O und F) TEMPON in THF. Der RMSD-Wert jeder Simulation ist jeweils rechts vom Spektrum angegeben. Eine vergrößerte Darstellung des CW-EPR-Spektrums von TEMPO in Wasser im X-Band (Spektrum A, links) ist in Abbildung 8.18 zu finden. Hinweis: Die *B*-Feldverschiebungen, insbesondere in den Q-Band-Spektren (rechts), sind hauptsächlich auf leicht unterschiedliche Messfrequenzen zurückzuführen ($\nu \approx 34$ GHz im Q-Band).¹⁵⁷

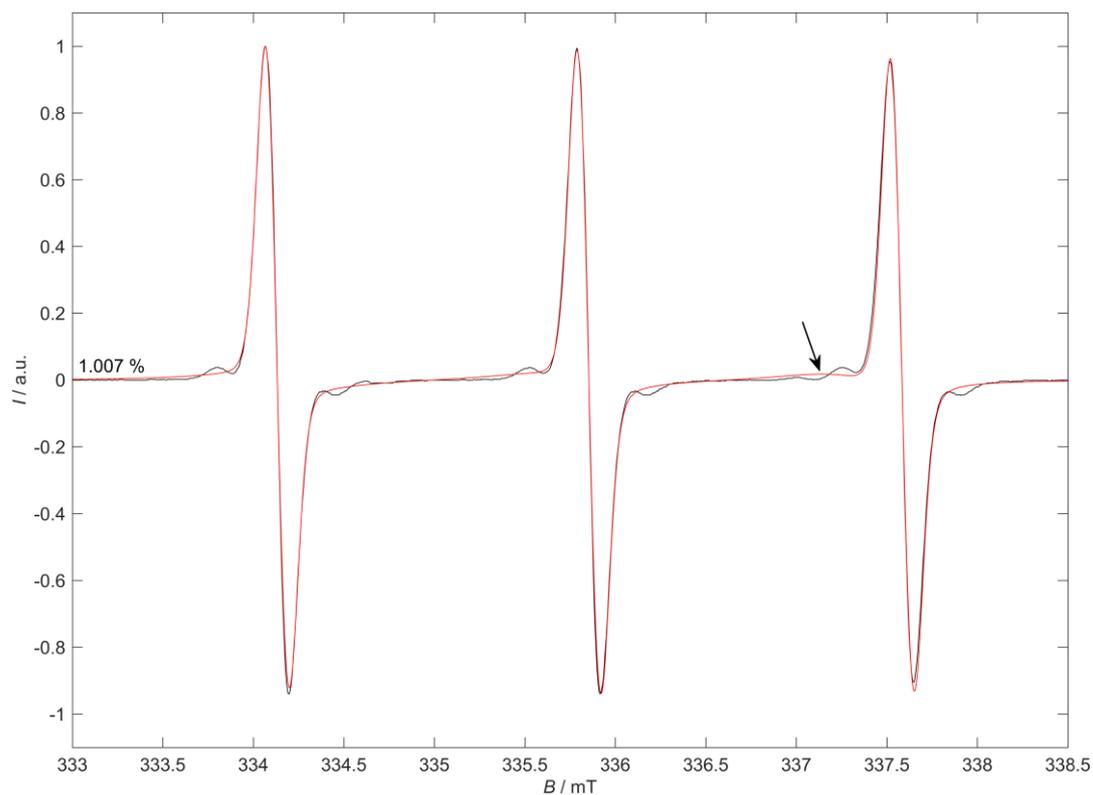


Abbildung 8.18: Experimentelles X-Band-CW-EPR-Spektrum (schwarz) einer 0,47 mM TEMPO-Probe in H₂O bei einer Temperatur von 20 °C zusammen mit der entsprechenden Simulation (rot) und dem zugehörigen RMSD-Wert auf der linken Seite. Der schwarze Pfeil zeigt auf das recht breite Signal der hydrophoben TEMPO-Spezies in der roten Simulationskurve. Im gemessenen EPR-Spektrum wird dieses Signal durch die ¹³C- und ¹⁵N-Resonanzlinien maskiert, welche im Simulationsansatz nicht berücksichtigt wurden.¹⁵⁷

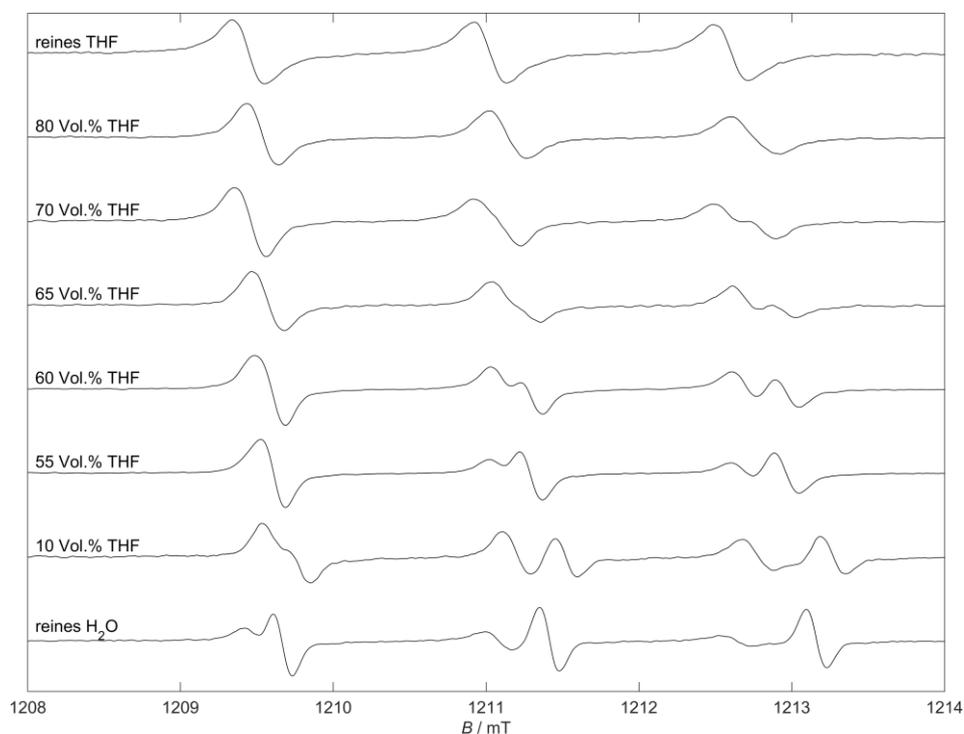


Abbildung 8.19: CW-EPR-Spektren im Q-Band von 0,47 mM TEMPO-Proben in verschiedenen H₂O-THF-Mischungen gemessen bei Raumtemperatur. Der Volumenanteil von THF steigt von unten (reines Wasser) nach oben (reines THF) an. Hinweis: Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren wurden in dieser Darstellung die auf leicht unterschiedlichen Messfrequenzen beruhenden *B*-Feldverschiebungen nachträglich korrigiert.¹⁵⁷

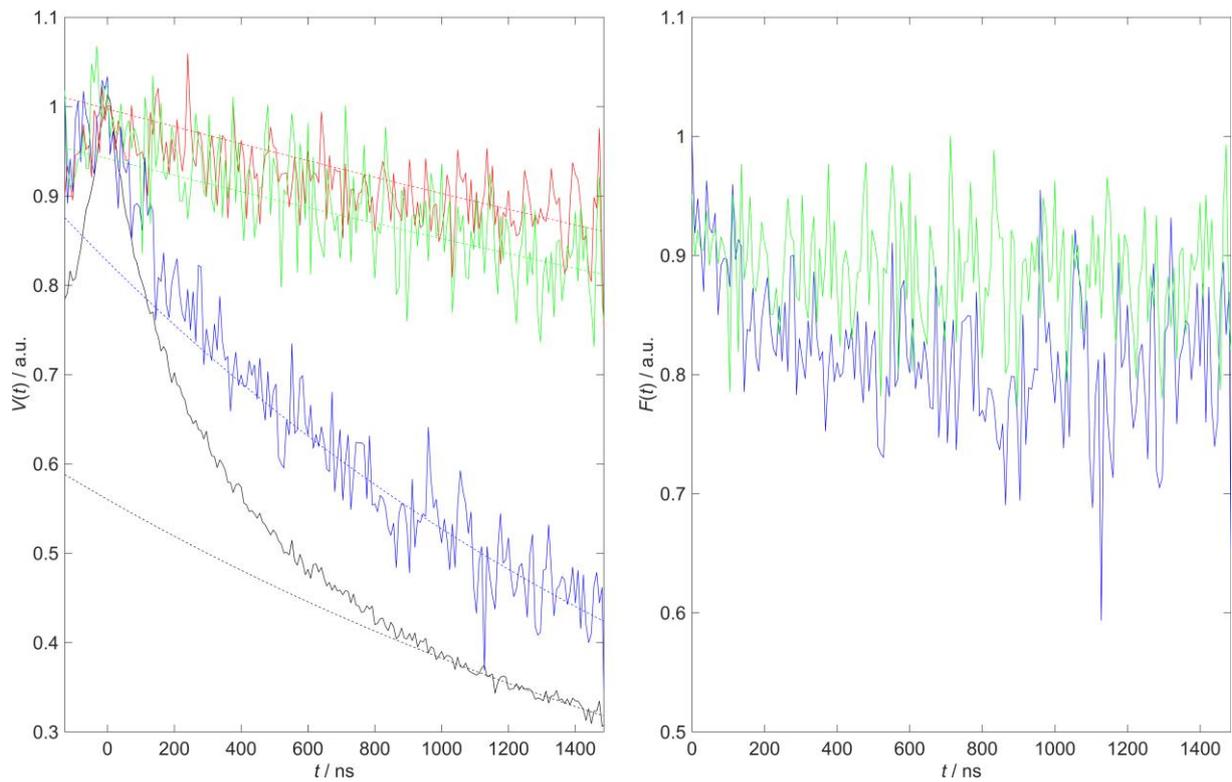


Abbildung 8.20: Experimentelle DEER-Zeitspuren $V(t)$ (durchgezogene Linien) im X-Band ($\nu \approx 9,4$ GHz) zusammen mit ihren Hintergrundkorrekturkurven $B(t)$ (gestrichelte Linien) (links), sowie die hintergrundkorrigierten DEER-Zeitspuren $F(t)$ der Spinsonde TEMPON (rechts) gemessen bei einer Temperatur von 50 K und einer Sondenkonzentration von 0,47 mM. Die Graphen gehören zu den folgenden Proben: TEMPO in H₂O/10 Vol.% THF (schwarz), TEMPO in H₂O/10 Vol.% THF (blau), TEMPO in reinem THF (rot) und TEMPO in reinem THF (grün).¹⁵⁷

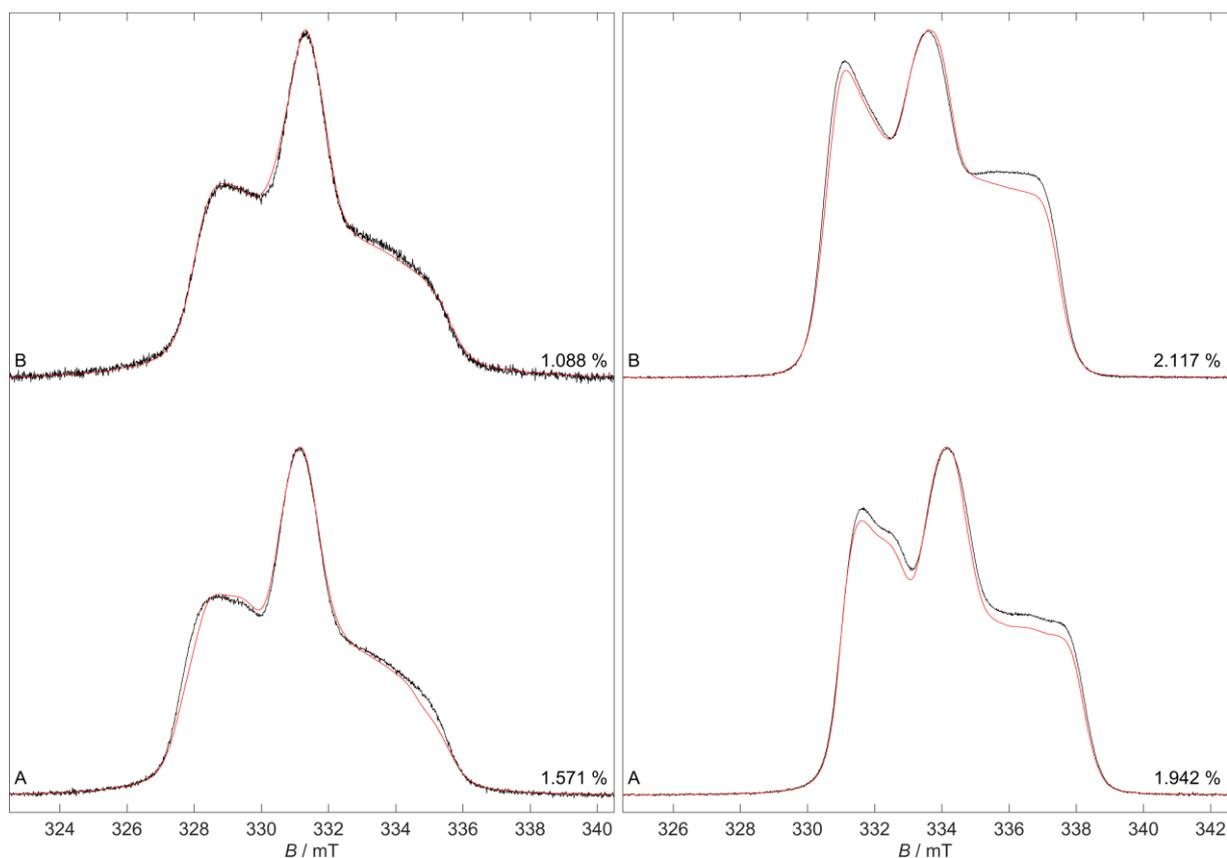


Abbildung 8.21: Echodetektierete Puls-X-Band-ESE-Spektren (schwarz) zusammen mit den entsprechenden Simulationen (rot) von TEMPO (A) und TEMPON (B) in H₂O/10 Vol.% THF (links) und reinem THF (rechts) gemessen bei einer Sondenkonzentration von 0,47 mM und einer Temperatur von 50 K. Der RMSD-Wert einer jeden Simulation ist jeweils rechts vom Spektrum angegeben.¹⁵⁷

Tabelle 8.1: Isotroper Landé-Faktor g_{iso} und isotrope Hyperfeinkopplungskonstante a_{iso} , sowie spektraler Spinsonenanteil f bestimmt anhand der Simulation der in Abbildung 8.21 gezeigten echodetektiereten Puls-X-Band-EPR-Spektren.

Spinsonde (Spezies)	Lösungsmittel	g_{iso}	a_{iso} / MHz	$f / \%$
TEMPO (hydrophil)	H ₂ O/10 Vol.% THF	2,005535	53,1924	33,02
TEMPO (hydrophob)		2,006079	48,0041	66,98
TEMPON		2,005489	50,5786	100
TEMPO	THF	2,006337	48,1697	100
TEMPON		2,006054	45,8934	100

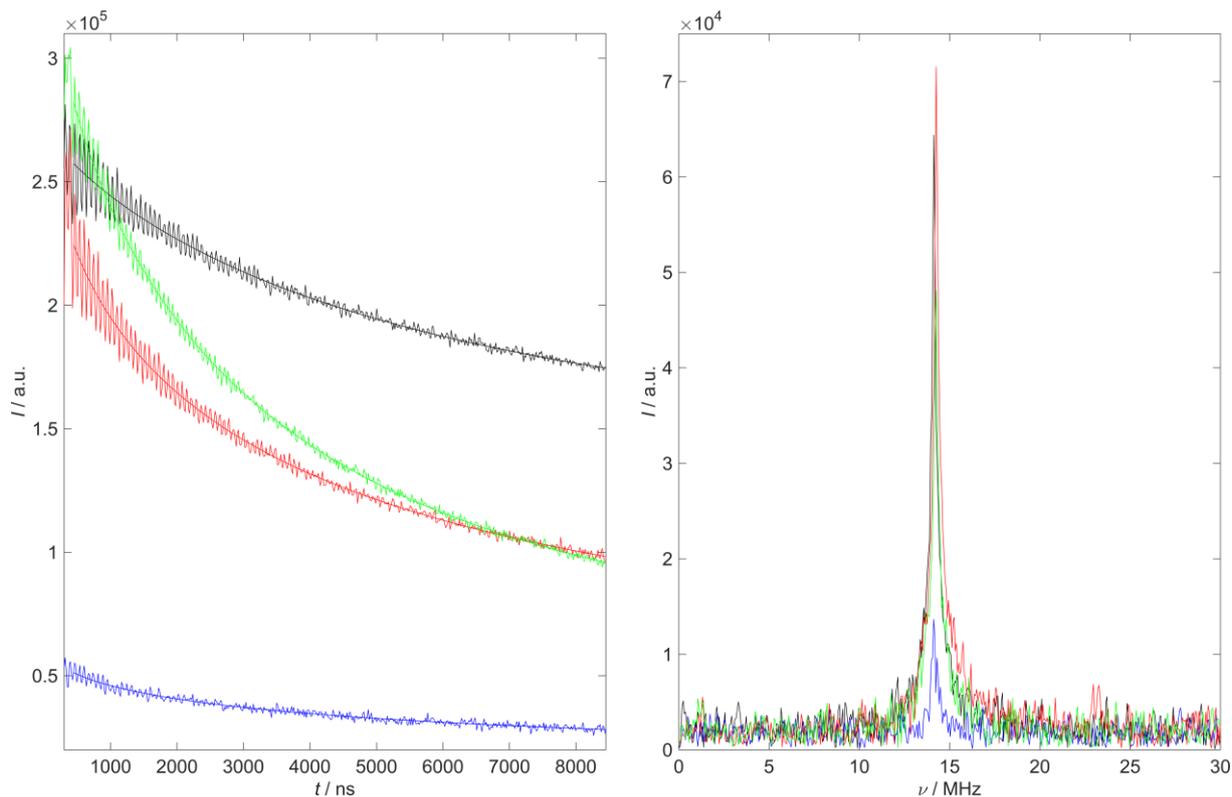


Abbildung 8.22: Experimentelle 3-Puls-ESEEM-Zeitspuren zusammen mit ihren angepassten gestreckten Exponentialfunktionen (siehe Tabelle 8.2) gemessen bei einer Spinsondenkonzentration von 0,47 mM und einer Temperatur von 50 K (links), sowie die entsprechenden Fourier-transformierten Kernfrequenzspektren (rechts). Die Graphen gehören zu den folgenden Proben: TEMPO in H₂O/10 Vol.% THF (schwarz), TEMPON in H₂O/10 Vol.% THF (blau), TEMPO in reinem THF (rot) und TEMPON in reinem THF (grün). Man beachte auch die unterschiedlichen Intensitäten I in den Kernfrequenzspektren, obwohl die Sondenkonzentration und Probenmenge (d. h. der Füllstand des Probengefäßes) stets konstant waren.¹⁵⁷

Tabelle 8.2: Longitudinale Kernspinrelaxationszeit T_{1n} und Streckungsfaktor x_s , erhalten durch exponentielle Anpassung der in Abbildung 8.22 dargestellten 3-Puls-ESEEM-Zeitspuren.

Spinsonde	Lösungsmittel	Graphenfarbe in Abbildung 8.22	T_{1n} / ns	x_s
TEMPO	H ₂ O/10 Vol.% THF	schwarz	5384,2	0,8149
TEMPON		blau	4169,7	0,4871
TEMPO	THF	rot	3195,8	0,5312
TEMPON		grün	2850,3	0,6550

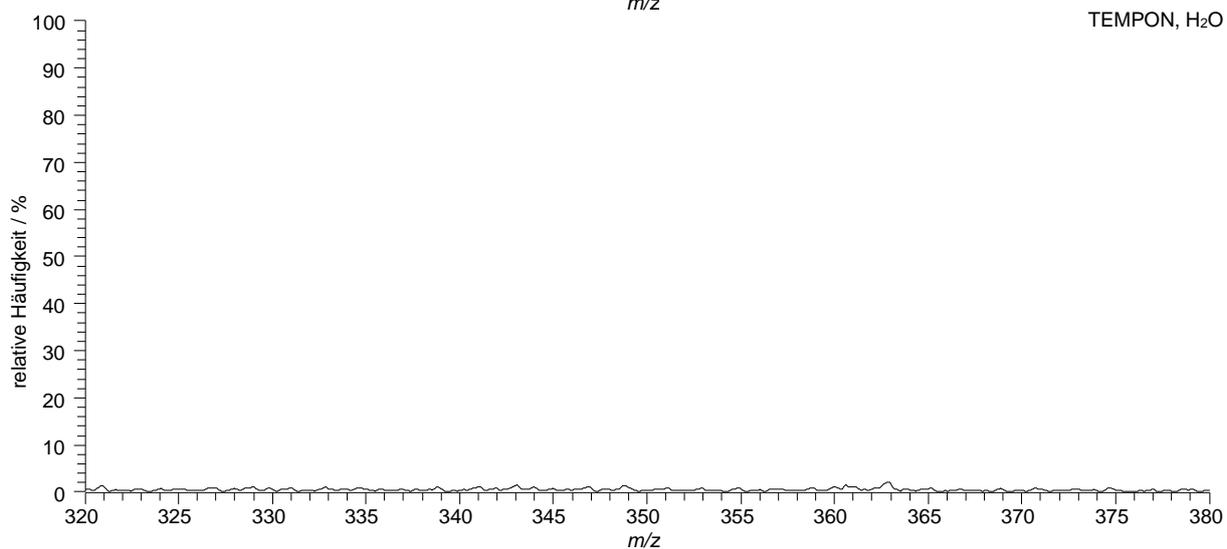
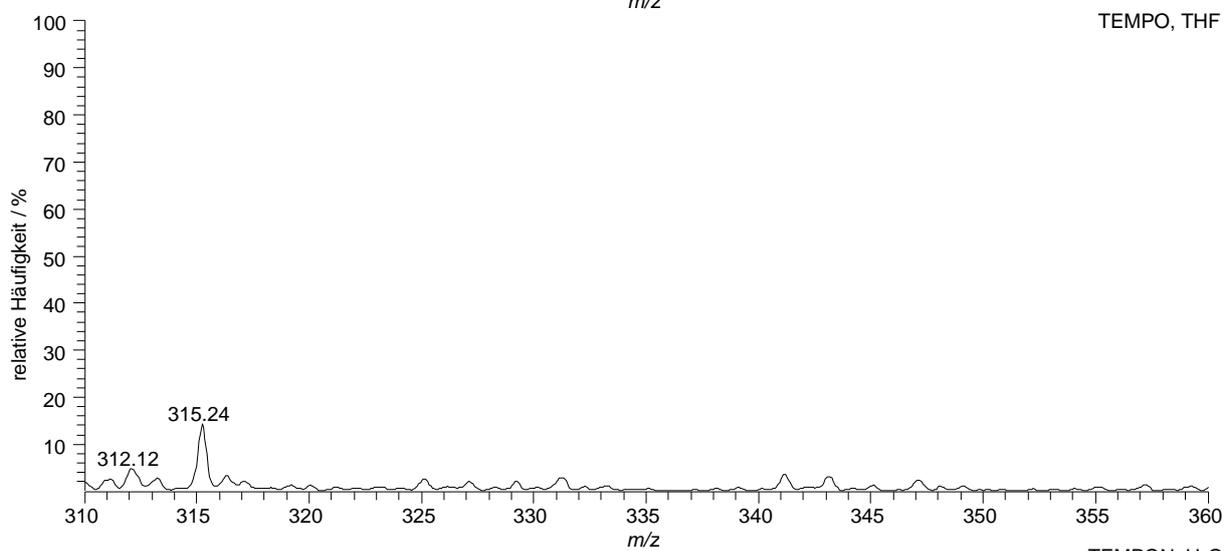
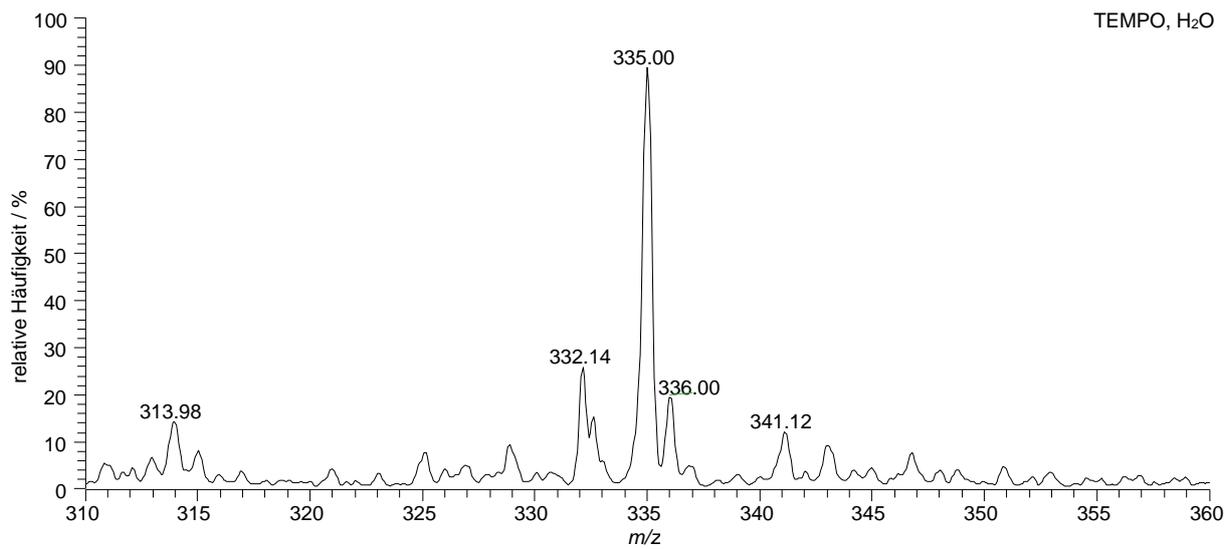


Abbildung 8.23: ESI-Massenspektren von 200 μM Nitroxid-Radikalproben in H₂O und THF. Dargestellt ist das Masse-zu-Ladung-Verhältnis m/z im Bereich des erwarteten $[2M+\text{Na}^+]$ -Ions bei m/z 335 für TEMPO bzw. m/z 363 für TEMPON.¹⁵⁷

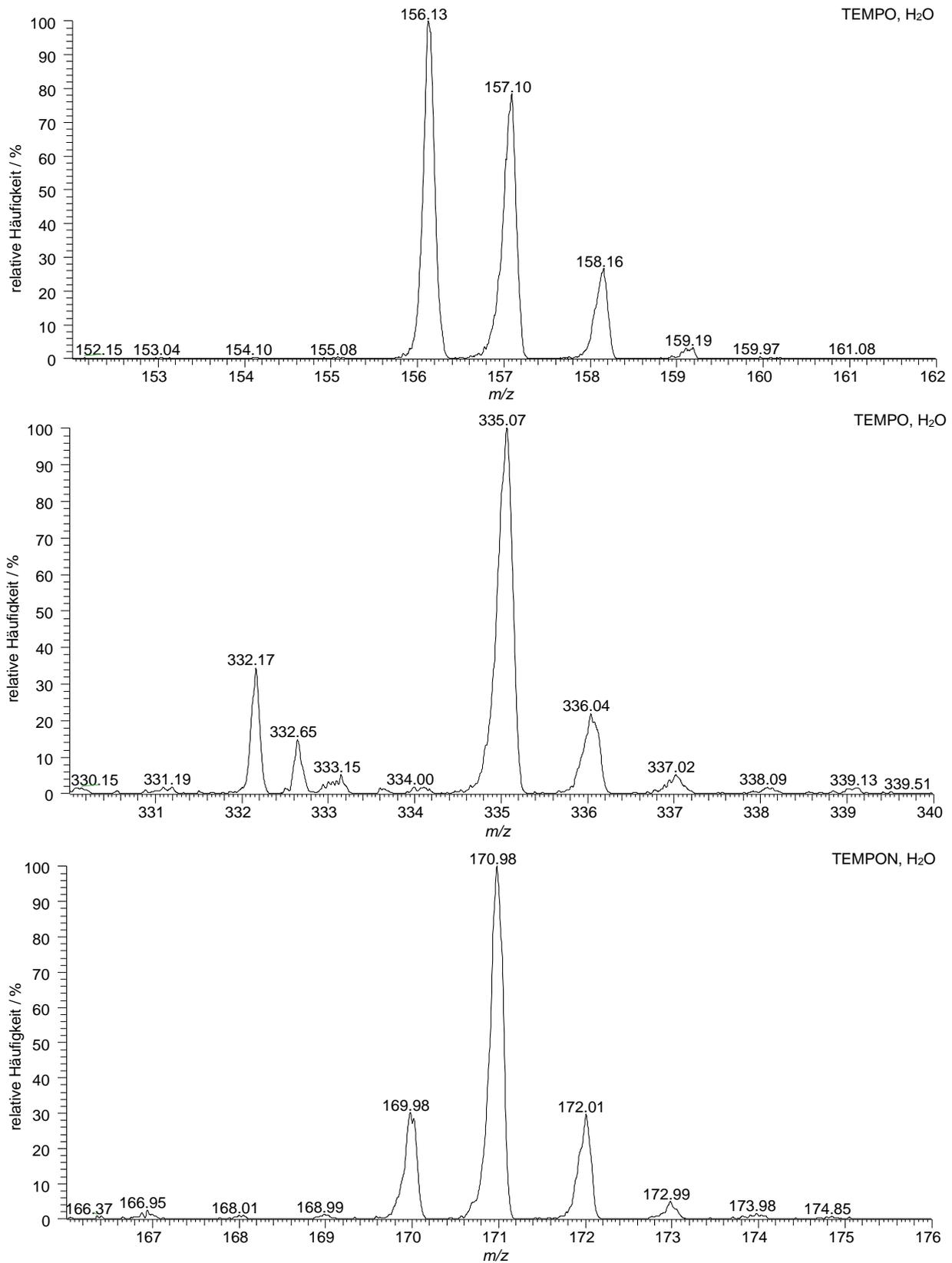


Abbildung 8.24: Gezoomte ESI-Massenspektren im m/z -Bereich der molekularen Ionen [M^+] und [$2M^+Na^+$] einer wässrigen 200 μ M TEMPO- und TEMPON-Probe.¹⁵⁷

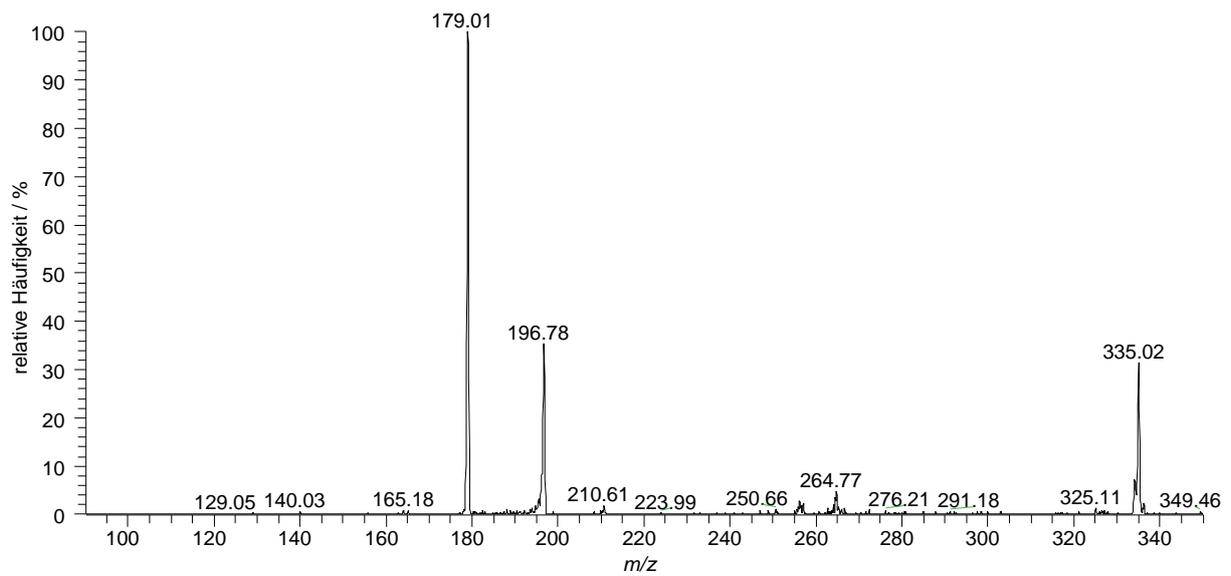


Abbildung 8.25: CID-Massenspektrum des Ions $[2M+Na^+]$ bei m/z 335 aus der ESI-MS-Analyse einer $200 \mu\text{M}$ TEMPO-Probe in H_2O .¹⁵⁷

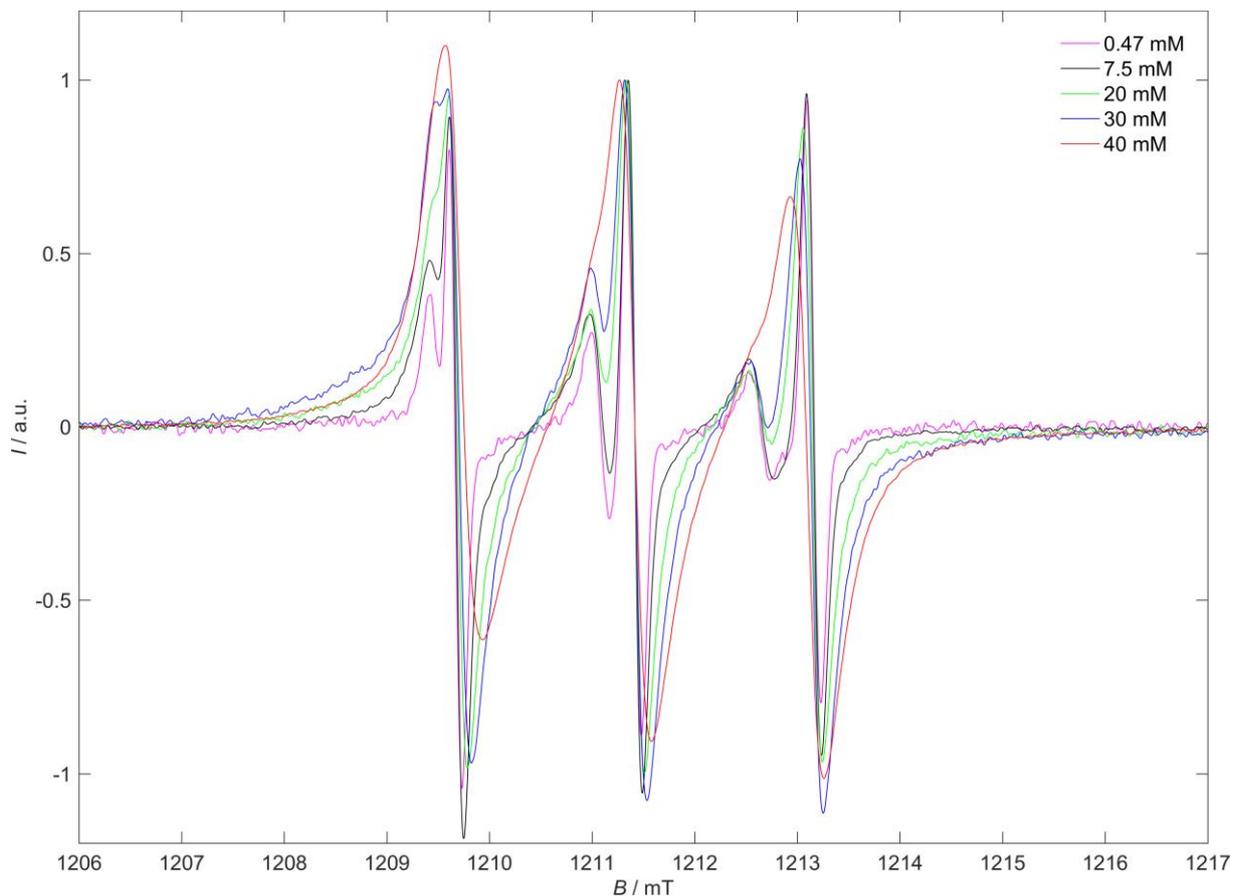


Abbildung 8.26: Experimentelle CW-EPR-Spektren im Q-Band ($\nu \approx 34 \text{ GHz}$) von wässrigen TEMPO-Proben mit unterschiedlicher Spinsondenkonzentration bei Raumtemperatur. Hinweis: Aufgrund leicht unterschiedlicher Messfrequenzen wurden alle Spektren in dieser Abbildung auf den Nulldurchgang des Mittelfeldsignals zentriert, um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten.¹⁵⁷

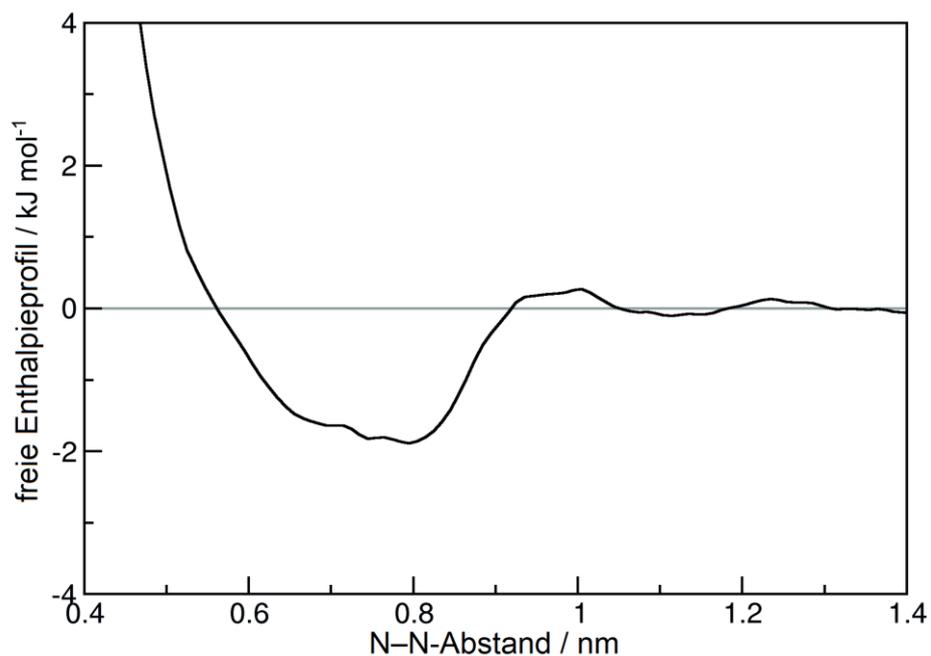


Abbildung 8.27: Berechnetes freies Enthalpieprofil für eine TEMPON-Dimerbildung im wässrigen Medium anhand des Stickstoff-Stickstoff-Abstandes.¹⁵⁷

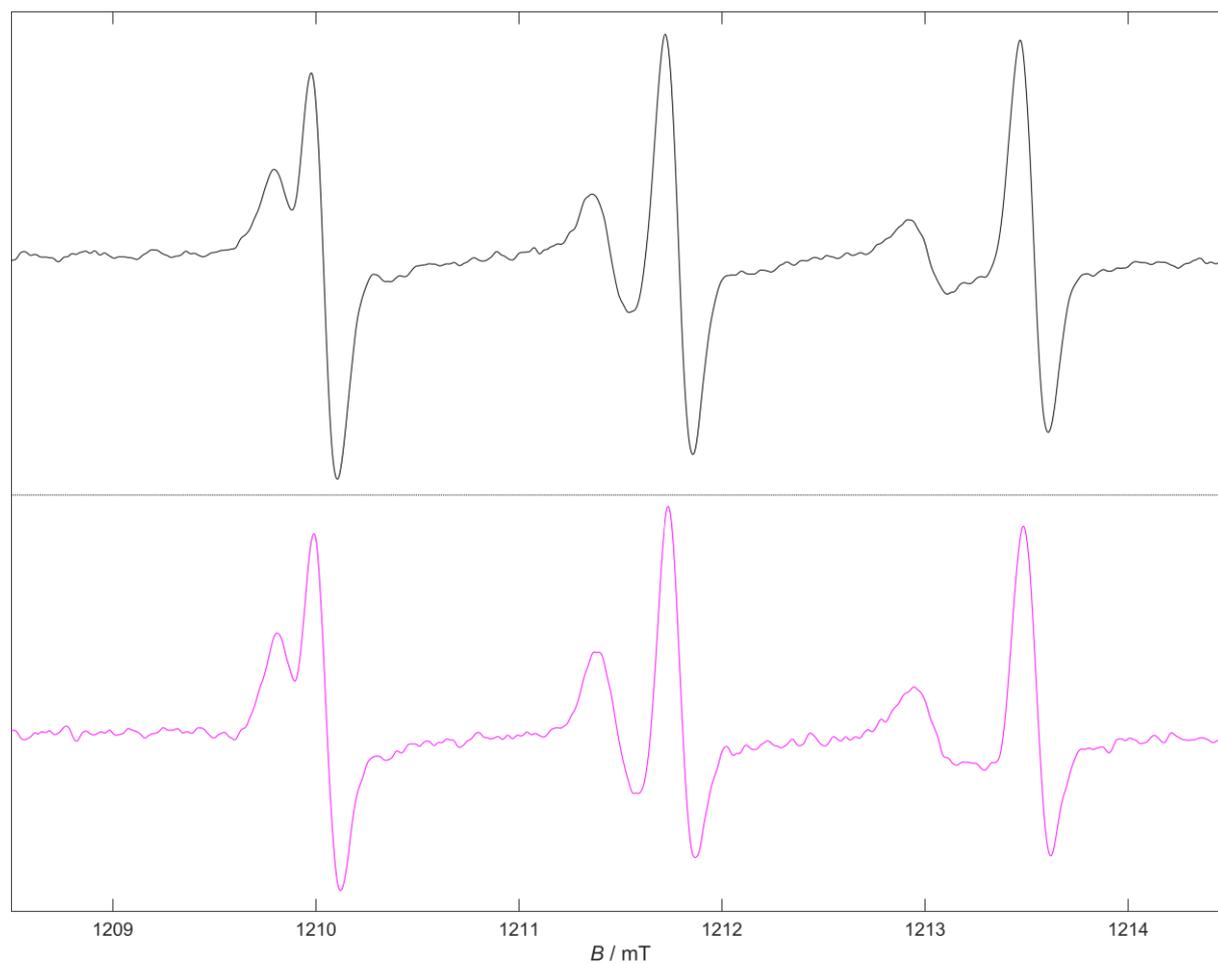


Abbildung 8.28: CW-EPR-Spektren im Q-Band ($\nu \approx 34$ GHz) 0,47 mM TEMPO-Proben in wässriger Lösung gemessen bei Raumtemperatur mit Produktchargen der Hersteller Sigma-Aldrich (schwarz, oben) und Fluka (magenta, unten). Hinweis: Die geringfügig unterschiedlichen Spektralintensitäten sind ausschließlich auf leicht verschiedene Phaseneinstellungen während der Messung zurückzuführen.¹⁵⁷

Danksagung

Am Ende dieser Arbeit möchte ich gerne die Gelegenheit nutzen, um mich für die während meiner Promotion vielfach erhaltene Unterstützung zu bedanken.

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. Dariush Hinderberger, meinem Betreuer und akademischen Mentor, für die Überlassung dieses hoch interessanten und spannenden Themas sowie die Gewährung eines großen Ausgestaltungsfreiraumes bei dessen Umsetzung recht herzlich bedanken. Darüber hinaus danke ich auch für die vielen hilfreichen Hinweise und Ratschläge sowie die stets anregenden und offenen Diskussionen.

Prof. Dr. Holger Frey danke ich herzlichst für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Der Stiftung Stipendien-Fonds des Verbandes der Chemischen Industrie (VCI), als auch dem SFB-TRR 102 der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) danke ich recht herzlich für ihre Förderung und die großzügige finanzielle Unterstützung während meiner Promotion.

Priv.-Doz. Dr. Frederik R. Wurm und seiner Arbeitsgruppe am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz danke ich für die Synthese und Bereitstellung der in dieser Arbeit untersuchten Poly(phosphoester) sowie für die stets gute und konstruktive Zusammenarbeit.

Allen aktuellen und auch ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Hinderberger möchte ich für ihre stetige Hilfsbereitschaft, das äußerst angenehme Arbeitsklima und die unzähligen fachlichen Diskussionen ebenfalls danken.

Meinem Bürokollegen und inzwischen guten Freund Daniel Heinz (AG Prof. Dr. Kreßler) danke ich für die sehr angenehme Bürogemeinschaft, die zahlreichen Diskussionen, Hinweise und Ratschläge sowie sein offenes Ohr und die stets warmen unterstützenden Worte.

Zum Schluss gilt ein ganz besonderer Dank natürlich auch meiner wunderbaren Familie, ohne deren großartige Unterstützung, ermutigenden Worte und unglaublichen Rückhalt in all den Jahren ich die gestellten Aufgaben und Herausforderungen wohl niemals hätte so erfolgreich meistern können. Danke, dass ihr immer für mich da seid und dass ich mich auch in Zukunft uneingeschränkt auf euch verlassen kann!

Lebenslauf

1. Persönliche Daten

Name: Johannes Hunold
Geburtsdatum: 21.07.1991
Geburtsort: Heilbad Heiligenstadt

2. Ausbildung

wissenschaftlicher Werdegang:
seit Oktober 2016

Doktorand im Arbeitskreis von Prof. Dr. D. Hinderberger im Fachbereich Physikalische Chemie am Institut für Chemie der Naturwissenschaftlichen Fakultät II der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle

Titel der Doktorarbeit:
EPR-spektroskopische Untersuchung der Solvatisierung amphiphiler Substanzen im wässrigen Medium

Studium:

Oktober 2014 – September 2016

Master-Studium im Studiengang Chemie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle mit dem Abschluss „Master of Science“

Titel der Masterarbeit:
EPR-spektroskopische Untersuchungen am multiresponsiven Polymer
Poly(*N,N*-dimethylaminoethylmethacrylat)

Oktober 2011 – September 2014

Bachelor-Studium im Studiengang Chemie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle mit dem Abschluss „Bachelor of Science“

Titel der Bachelorarbeit:
Charakterisierung des Aggregationsverhaltens von hydrophob-modifizierten Poly(ethylenoxid)en in Wasser

Übergangsphase:

Juli 2011 – September 2011

Vorbereitung des Studiums und Immatrikulation an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle zum Wintersemester 2011/2012

Schule:

August 2008 – Juni 2011

Besuch des Johann Georg Lingemann Gymnasiums in Heilbad Heiligenstadt zum Erlangen der allgemeinen Hochschulreife

August 2002 – Juli 2008

Besuch der Tilman-Riemenschneider-Schule in Heilbad Heiligenstadt zum Erwerb des Realschulabschlusses

3. Publikationen

- J. Hunold, J. Eisermann, M. Brehm, D. Hinderberger, „Water forms stable non-polar solvation shells around amphiphilic TEMPO radicals that lead to weak association in aqueous solution“, eingereicht.
- K. Laaß, F. G. Quiroz, J. Hunold, A. Chilkoti, D. Hinderberger, „Nanosopic characterisation of temperature hysteresis, hydration and dehydration processes of temperature-responsive peptide polymers“, eingereicht.
- J. Hunold, T. Wolf, F. R. Wurm, D. Hinderberger, „Nanosopic hydrophilic/hydrophilic phase-separation well below the LCST of polyphosphoesters“, *Chem. Commun.* **2019**, 55, 3414–3417.
- T. Wolf, J. Hunold, J. Simon, C. Rosenauer, D. Hinderberger, F. R. Wurm, „Temperature-responsive poly(phosphonate) copolymers: from single chains to macroscopic coacervates“, *Polym. Chem.* **2018**, 9, 490–498.

Halle (Saale), den 23. Oktober 2019

.....

Johannes Hunold

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den verwendeten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche eindeutig kenntlich gemacht habe.

Darüber hinaus erkläre ich, dass ich bisher an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung einen Promotionsversuch unternommen habe und dass ich die vorliegende Dissertation bei keiner anderen Fakultät zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht habe.

Halle (Saale), den 23. Oktober 2019

.....

Johannes Hunold