

**UNTERSUCHUNGEN ZUR
AGGREGATION MESOSKOPISCHER
SYSTEME MITTELS ZEITAUFGEÖSTER,
STATISCHER LICHTSTREUUNG**

Von der Fakultät für Naturwissenschaften
der Universität Paderborn
genehmigte

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
— Dr. rer. nat. —
von Diplom-Chemiker

Thomas Witte

aus Paderborn

Paderborn 2005

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von August 2001 bis Dezember 2005 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Klaus Huber im Fachgebiet Physikalische Chemie der Fakultät für Naturwissenschaften der Universität Paderborn.

1. Gutachter: Prof. Dr. Klaus Huber
2. Gutachter: Prof. Dr. Heinz-Siegfried Kitzerow

Die Arbeit wurde eingereicht am: 22.12.2005
Tag der mündlichen Prüfung: 27.01.2006

*Der gebräuchlichen Redeweise nach gibt es Farbe, Süßes, Bitteres, in Wahrheit
aber nur Atome und Leeres.*

Demokrit (Fragm. 125)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Klaus Huber für die interessante Themenstellung, die intensive Betreuung und sein großes Interesse am Fortgang dieser Arbeit. Sein Engagement und die zahlreichen anregenden Diskussionen haben grundlegenden Anteil an dieser Arbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. Heinz-Siegfried Kitzerow bedanke ich mich für die bereitwillige Übernahme des Korreferates.

Desweiteren danke ich den Herren Prof. Dr. Gregor Fels, Dr. Edgar Luttmann und Dipl. Chem. Lars Haller für die sehr gute und angenehme Kooperation auf dem Gebiet der Amyloidaggregation, sowie für die Hilfe bei computertechnischen Problemen aller Art. Herrn Prof. Dr. Jochen Mattay danke ich für die Synthese und Bereitstellung der Calixaren- und Naphtyridin-Derivate. Herrn PD Dr. Uwe Beginn danke ich für die Durchführung und Diskussion der AFM-Messungen.

Ein Dank gilt den jetzigen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises Huber, namentlich Herrn Dr. Thomas Kramer, Herrn Dipl. Chem. Sebastian Lages, Herrn Dipl. Chem. Carsten Hillmann und Herrn Dr. Ralf Schweins für die stete Bereitschaft zu Diskussionen und Hilfe bei allen größeren und kleineren Problemen im (wissenschaftlichen) Alltag.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Physikalischen Chemie danke ich für das hervorragende Arbeitsklima und die freundschaftliche Atmosphäre. Der mechanischen Werkstatt danke ich für ihre professionelle und vor allen Dingen schnelle Hilfe bei der Herstellung von Komponenten zum Aufbau der Meßapparatur.

Meinen Eltern danke ich für ihre in jeder Hinsicht große Unterstützung während des gesamten Studiums und der Promotion. Ohne Sie wäre dies alles nicht möglich gewesen. Meiner Frau danke ich für ihr Verständnis und ihre große Geduld.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Thematik	1
1.1.1	Struktur der Arbeit	3
2	Grundlagen	5
2.1	Theoretische Grundlagen	5
2.1.1	RAYLEIGH-Streuung	5
2.1.2	Streuung in Lösung	7
2.1.3	Streuung an großen Teilchen	8
2.2	Experimentelle Grundlagen	13
2.2.1	Apparativer Aufbau	13
2.2.2	Meßdatenerfassung	15
2.2.3	Durchführung einer Lichtstreuungsmessung	16
3	Calixaren-Naphthyridin-Aggregation	19
3.1	Einführende Bemerkungen	19
3.2	Experimentelle Ergebnisse der Calixaren-Naphthyridin-Aggregation	21
3.2.1	Präparation der Proben	21
3.2.2	Meßparameter	22
3.2.3	Auswertung und Ergebnisse der zeitaufgelösten Lichtstreuungsmessungen	23
3.2.3.1	Auswertungsprozedur	23
3.2.3.2	1:4 Stöchiometrie	26
3.2.3.3	1:3 Stöchiometrie	26
3.2.3.4	1:3 / 1:4 / 1:5 Stöchiometrie	29
3.3	Diskussion der Calixaren-Naphthyridin-Aggregation	31
3.3.1	Auswertung und Diskussion der experimentellen Daten	31
3.3.2	Berechnung einer 1:4 Komplex-Struktur	51
3.3.3	Rasterkraftmikroskopie einer 1:4 Stöchiometrie	56

3.3.3.1	Ergebnisse und Diskussion der rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen	56
4	β-Amyloid-Aggregation	61
4.1	Einführende Bemerkungen	61
4.1.1	ALZHEIMERSche Krankheit	61
4.1.2	Amyloid-Hypothese	64
4.2	Experimentelle Ergebnisse der β -Amyloid-Aggregation	65
4.2.1	Präparation der Proben	65
4.2.2	Meßparameter	68
4.2.3	Auswertung und Ergebnisse der zeitaufgelösten Lichtstreuemessungen	68
4.2.3.1	Auswertungsprozedur	68
4.2.3.2	Zeitaufgelöste Messungen variierender β -Amyloid-Konzentrationen unter physiologischen Bedingungen	73
4.2.3.3	Zeitaufgelöste Messungen mit variierenden NaCl-Konzentrationen bei konstanter β -Amyloid-Konzentration	75
4.3	Diskussion der β -Amyloid Aggregation	79
4.3.1	Diskussion der experimentellen Daten der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl	79
4.3.2	Diskussion der β -Amyloid-Aggregationen der Konzentrationsreihe	88
4.3.3	Diskussion der β -Amyloid-Aggregationen der Salzreihen	93
4.3.4	Kinetisches Modell der β -Amyloid-Aggregation	107
5	Einordnung und Gegenüberstellung der untersuchten Systeme	115
6	Zusammenfassung und Ausblick	117
A	Anhang	121
A.1	Berechnung von $R_{g,z}$ vs. M_w	121
A.1.1	Ableitung der Halbierung des Exponenten	121
A.1.2	Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregate, monodisperser Fall	122
A.1.3	Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregate, polydisperser Fall	124
A.2	Berechnung von $L_w/R_{g,z}$ in Funktion von z	125
A.3	Abschätzung der A_2 -Werte der $A\beta$ -Aggregate	126
A.4	Berechnung des Formfaktors einer KRATKY-POROD-Kette unter Berücksichtigung der Polydispersität	127

A.4.1	Anpassung einer experimentellen Kurve mit Hilfe des polydispersen Formfaktors einer KRATKY-POROD-Kette	128
A.5	Simulation der β -Amyloid-Kinetik	128
A.6	Formfaktoren einiger Polymerstrukturen	130
B	Anhang	133
B.1	Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie	133
C	Anhang	137
C.1	Abkürzungsverzeichnis	137
C.1.1	Untersuchungsmethoden	137
C.1.2	Chemikalien	137
C.1.3	Ausgewählte Formelzeichen	138
	Literaturverzeichnis	139

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Thematik

War das 20. Jahrhundert auch durch physikalische Erkenntnisse im ganz Großen und im ganz Kleinen geprägt, haben sich zusätzlich auf scheinbar völlig anderen Gebieten der Physik neue, und häufig nicht weniger bahnbrechende Einsichten ergeben. Führt zum Beispiel die Annahme der Existenz hochmolekularer, kovalent verknüpfter Moleküle in den 1920er Jahren noch zu schärfsten Auseinandersetzungen [1], so ging bereits 1953 der Nobelpreis für Chemie an HERMANN STAUDINGER „for his discoveries in the field of macromolecular chemistry“ [2]. Die rasche Entwicklung auf dem Gebiet der Polymeren im weitesten Sinne, führte zu Entdeckungen wie der Struktur der DNS durch WATSON und CRICK ebenfalls im Jahre 1953 (Nobelpreis für Medizin 1962) [3] sowie zu den vielfältigsten industriellen Anwendungen, wo hier stellvertretend die Polymerisation nach ZIEGLER und NATTA (Nobelpreis für Chemie 1963) [4] genannt sein soll. Gleichmaßen wuchs auf diesem Gebiet auch das Verständnis physikalischer Gesetzmäßigkeiten, so daß in vielen Fällen ein übergreifendes Verstehen wie es durch das Konzept der Kettenstatistik von Makromolekülen nach PAUL FLORY (Nobelpreis für Chemie 1974) [5] oder durch die Skalierungsgesetze für Polymere nach PIERRE-GILLES DE GENNES [6] ermöglicht wird.

Seit den 1980er Jahren hat sich ein „neues“ naturwissenschaftliches Gebiet etabliert, daß die Polymerphysik und -chemie als ein zentrales Element beinhaltet. Dieser Zweig der Naturwissenschaften ist nicht hinsichtlich der thematischen Abgrenzung, sondern vielmehr aufgrund einer neuen Einordnung und Sichtweise von bereits bekannten Phänomenen „neu“. Die inzwischen gebräuchliche Bezeichnung für dieses Gebiet lautet „*Weiche Materie*“ (engl. „Soft Matter“). Grundlage für diese Neuordnung und Zusammenfassung von bis dato so verschiedenen Gebieten wie das der Polymere, der Kolloide und der amphiphilen Systeme ist die Tatsache, daß die-

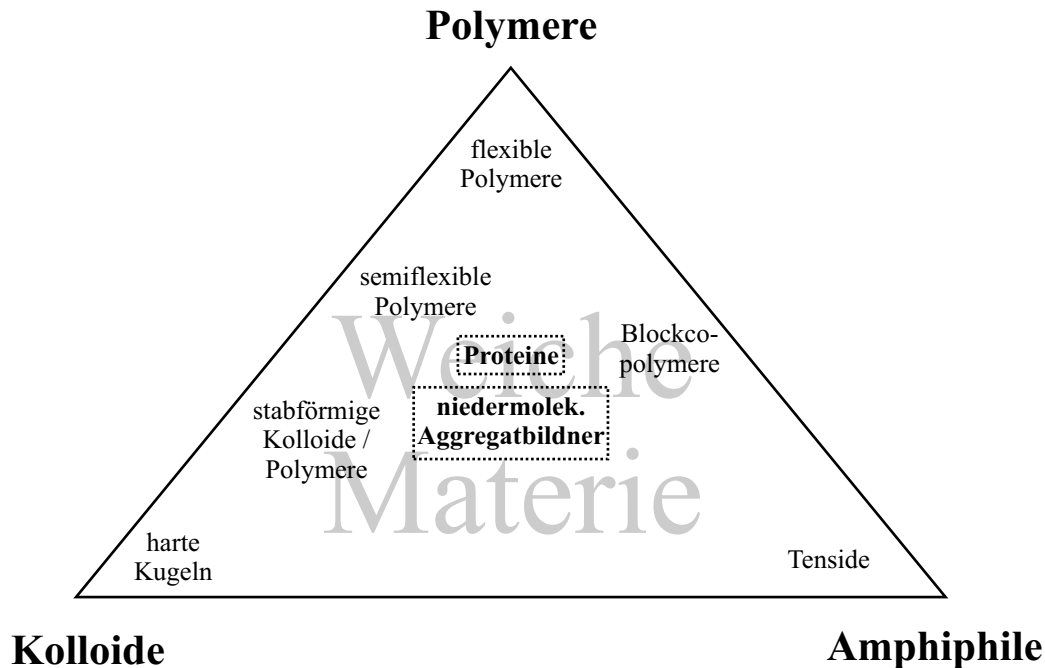


Abbildung 1.1: Unter dem Begriff „Weiche Materie“ werden die zuvor separat betrachteten klassischen Gebiete der Polymere, Kolloide und amphiphilen Systeme zusammengefaßt. Zur Orientierung sind die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Substanzen eingezeichnet. (Abbildung entnommen aus [7]).

se Gebiete aus weichen Materialien im wahrsten Sinne des Wortes gebildet werden und den Übergang zwischen Flüssigkeiten und Festkörpern darstellen. Abbildung 1.1 zeigt die Weiche Materie in Form eines ternären Diagramms. Es wird deutlich, daß die zuvor getrennt behandelten klassischen Gebiete fließende Übergänge besitzen.

Aufgrund ihrer mesoskopischen Größe, unterliegen die elementaren Bausteine der Weichen Materie - dies können Moleküle oder Kolloide sein - dem Einfluß thermaler Fluktuationen in der Größenordnung von kT . Dies führt zu Phänomenen, die häufig eine gemeinsame physikalische Grundlage besitzen. So ist die Microphasenseparation einer Diblockcopolymer-Schmelze, ebenso wie die irreversible Aggregation von Kolloiden zu einem Cluster, durch subtile entropische und energetische Wechselwirkungen der Teilchen begründet [8]. Ein weiteres, besonders beeindruckendes Beispiel ist die fraktale Geometrie [9]. Sie findet sich in der Struktur einer Polymerkette ebenso wie in Tensidschäumen oder der Anordnung aggregierender Kolloide.

Gerade die Selbstorganisation stellt ein Charakteristikum der Weichen Materie dar. Die dabei entstehenden Strukturen zeichnen sich im Gegensatz zu den klassischen Polymeren durch schwache, nichtkovalente Wechselwirkungen aus. Dieser Punkt

ist bereits in den 1940er Jahren durch G. SCHEIBE im Fall der Aggregation des kationischen Farbstoffes Pseudoisocyaninchlorid richtig erkannt und in Form einer physikalischen Polymerisation beschrieben worden [10, 11]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird die Selbstorganisation eines synthetischen und eines biologischen Systems untersucht. Die Interpretation der Aggregationen erfolgt dabei im Rahmen der eingangs skizzierten Polymerphysik und -chemie, die hierfür einen breiten Fundus an etablierten Modellen und Theorien zur Verfügung stellen. Indem diese Modelle und Theorien (erfolgreich) auf Gebiete übertragen werden, für die sie ursprünglich gar nicht entwickelt wurden, zeigt sich erneut eine gewisse Universalität der physikalischen Gesetzmäßigkeiten auf dem Gebiet der Weichen Materie.

Für die experimentellen Untersuchungen wird mit der statischen Lichtstreuung eine Technik eingesetzt, die schon früh in den Polymer- und Kolloidwissenschaften Anwendung gefunden hat. Das Vorhandensein zeitabhängiger Prozesse macht es allerdings notwendig, diese Methode in einer zeitaufgelösten Variante zu betreiben, die in dieser Form nur von wenigen Arbeitsgruppen genutzt wird [12, 13, 14]. Im Gegensatz zu vielen anderen Untersuchungstechniken bietet die Lichtstreuung den großen Vorteil der Nichtinvasivität, so daß auch Prozesse wie die Aggregation von mesoskopischen Teilchen ohne äußere Störungen experimentell zugänglich gemacht werden können.

1.1.1 Struktur der Arbeit

Die Arbeit untergliedert sich wie folgt:

Kapitel 2

gibt die wesentlichen Grundlagen zur Theorie der Streuung und zur statischen Lichtstreuung wieder.

Kapitel 3

widmet sich der Aggregation des synthetischen Systems Calix[4]aren-Naphthyridin in 1,2-Dichlorbenzol. Es werden die experimentellen Ergebnisse vorgestellt und im Rahmen bereits bekannter Modelle der Polymerphysik und -chemie ausgewertet und diskutiert. Zusätzlich werden Ergebnisse aus mikroskopischen Untersuchungen und Berechnungen der Aggregatbausteine, sowie ein Modell der Aggregatstruktur vorgestellt.

Kapitel 4

beschäftigt sich mit der Selbstorganisation des biologischen Systems β -Amyloid in

wässriger Lösung. Die Auswertung und Diskussion erfolgt erneut unter Anwendung eines in der Polymerphysik seit langem bekannten und etablierten Modells.

Kapitel 5

vergleicht die in Kapitel 3 und 4 vorgestellten Systeme und ordnet sie im Hinblick auf die gewonnenen Ergebnisse ein.

Kapitel 6

liefert eine Zusammenfassung und bietet einen Ausblick.

Im Anhang

finden sich Ableitungen sowie Details zu Rechnungen, physikalischen Modellen und experimentellen Vorgehensweisen.

Kapitel 2

Grundlagen

Streuexperimente gehören heute in den vielfältigsten Bereichen der Chemie und Physik zu den Standardverfahren, um Strukturen und Wechselwirkungen innerhalb der Materie aufzuklären. Im folgenden Kapitel werden nur die grundlegenden Zusammenhänge im Hinblick auf die statische Lichtstreuung dargestellt. Für eine detaillierte Ausführung sowohl im allgemeinen als auch im speziellen sei auf die große Zahl einschlägiger Literatur verwiesen. [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22]

2.1 Theoretische Grundlagen

2.1.1 RAYLEIGH-Streuung

Die Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit Materie kann in zwei unterschiedlichen Formen auftreten. Im ersten Fall wird die Strahlung absorbiert und die thermische Energie der absorbierenden Teilchen erhöht, oder in Form von Fluoreszenz oder Phosphoreszenz wieder abgegeben. Im zweiten Fall wird die einfallende Strahlung gestreut. Dies soll im Folgenden knapp erläutert werden. Zur Vereinfachung wird zunächst die RAYLEIGH-Streuung beschrieben, welche für unabhängige Teilchen im Vakuum gilt.

Der Betrag des Vektors des E -Feldes einer sich in x -Richtung ausbreitenden elektromagnetischen Welle im Vakuum ist gegeben durch

$$|\vec{E}| = E_0 \sin(kx - \omega t) \quad (2.1)$$

Trifft das E -Feld auf Materie, so induziert es dort ein Dipolmoment. Unter der Annahme, daß der Teilchendurchmesser d viel kleiner ist als die Wellenlänge der einfallenden Strahlung λ_0 , $d \ll \lambda_0$, schwingen die Elektronen in Phase und die Polarisation P der Teilchen ist gegeben durch

$$P = \alpha |\vec{E}| = \alpha E_0 \sin(kx - \omega t) \quad (2.2)$$

Hierbei spielt die Polarisierbarkeit α eine wichtige Rolle, da für $\alpha = 0$ keine Polarisation vorliegt. Im Falle $\alpha \neq 0$ senden die oszillierenden Elektronen als beschleunigte Ladungen ihrerseits eine Strahlung aus, das heißt, das einfallende E -Feld E_0 ist an der Elektronenhülle gestreut worden. Für den Betrag des Vektors des gestreuten E -Feldes $|\vec{E}_s|$ folgt unter Verwendung eines vertikal (in z -Richtung) polarisierten einfallenden E -Feldes

$$|\vec{E}_s| = \frac{1}{\epsilon_0 c_0^2} \frac{d^2 P}{dt^2} \frac{\sin(\theta_z)}{r} \quad (2.3)$$

Einsetzen von Gleichung 2.2 liefert schließlich

$$|\vec{E}_s| = \frac{\alpha \omega^2}{\epsilon_0 c_0^2} E_0 \frac{\sin(\theta_z)}{r} \sin(kx - \omega t) \quad (2.4)$$

Das gestreute E -Feld besitzt also die gleiche Frequenz wie das einfallende Feld. Die Amplitude hängt sowohl vom Beobachtungswinkel θ_z , als auch vom Abstand r ab. Allgemein gilt nach dem POYNTING-Theorem für die Intensität I

$$I \propto E^2 \int_0^{\frac{2\pi}{\omega}} \sin^2(kx - \omega t) dt \quad (2.5)$$

Daraus folgt für die Intensität der gestreuten Strahlung I_s

$$I_s = \frac{\alpha^2 \omega^4}{c_0^4 \epsilon_0^2} \left(\frac{\sin(\theta_z)}{r} \right)^2 I_0 = \frac{16\pi^4 \alpha^2}{\lambda_0^4 \epsilon_0^2} \frac{\sin^2(\theta_z)}{r^2} I_0 \quad (2.6)$$

mit I_0 als Intensität der einfallenden Strahlung. Diese Gleichung wurde erstmals 1871 von Lord RAYLEIGH abgeleitet. Die Art der Streuung wird daher als RAYLEIGH-Streuung bezeichnet. Demnach ist I_s invers proportional zur vierten Potenz von λ_0 . Diese Eigenschaft erklärt die blaue Farbe der Atmosphäre, da das kurzwellige blaue Licht stärker gestreut wird als die restlichen Wellenlängen des Sonnenlichtes. Zusätzlich ist I_s für den betrachteten Fall vertikal polarisierter Primärstrahlung proportional zum Quadrat des Sinus des Beobachtungswinkels θ_z . Orthogonal zur Polarisationsrichtung (in x -Richtung) ist die Intensität bei gleichbleibendem Beobachtungsabstand r also am größten.

Gleichung 2.6 gilt für den Fall, daß die gesamte Streustrahlung als Summe der Beiträge der einzelnen Streuzentren betrachtet werden kann, in erster Näherung folglich für ein verdünntes Gas.

2.1.2 Streuung in Lösung

Die RAYLEIGH-Streuung an verdünnten Gasen bildet die Grundlage für die Streuung von verdünnten Lösungen, welche von SMOLUCHOWSKY [23], EINSTEIN [24] und DEBYE [25] ausgearbeitet wurde. Prinzipiell wird die Lösung analog zu einem verdünnten Gas beschrieben, wobei das Vakuum durch das Lösungsmittel ersetzt wird und die gelösten Teilchen den Gasteilchen entsprechen. Die exakte Behandlung der Streuung in Lösung berücksichtigt allerdings noch das Vorhandensein von Dichte- und Konzentrationsschwankungen in der Lösung. Dies führt letztlich zu der Gleichung

$$\Delta I_s = \frac{4\pi^2}{N_A \lambda_0^4} \frac{\sin^2(\theta_z)}{r^2} I_0 n_{LM}^2 \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \frac{c}{\frac{1}{M} + 2A_2c + 3A_3c^2 + \dots} \quad (2.7)$$

mit n_{LM} als Brechungsindex des Lösungsmittels, $\frac{dn}{dc}$ als Brechungsindexinkrement, welches die Konzentrationsabhängigkeit des Brechungsindex wiedergibt, sowie der molaren Masse M und der Konzentration c der streuenden Teilchen. Abweichungen von der Idealität, in Form von Wechselwirkungen der gelösten Teilchen bei höheren Konzentrationen, werden durch die sogenannten Virialkoeffizienten des chemischen Potentials des Lösungsmittels $A_2, A_3 \dots$ berücksichtigt. Die Verwendung von ΔI_s anstelle von I_s wie in Gleichung 2.6 ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß neben den gelösten Teilchen auch das Lösungsmittel eine Streuung der Primärstrahlung liefert. In Gleichung 2.7 ist dies berücksichtigt und nur der Streuanteil der gelösten Teilchen beschrieben, also die *Differenz* von Gesamtstreuung und Streuung des reinen Lösungsmittels.

Die Einführung des RAYLEIGH-Verhältnisses ΔR_θ ¹

$$\Delta R_\theta = \frac{\Delta I_s r^2}{I_0 \sin^2(\theta_z)} \quad (2.8)$$

und des Kontrastfaktors K

$$K = \frac{4\pi^2}{N_A \lambda_0^4} n_{LM}^2 \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (2.9)$$

¹Wie noch in 2.1.3 ausgeführt wird, handelt es sich bei θ um den Streuwinkel in der x - y -Ebene.

liefert die Beziehung

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M} + 2A_2c + 3A_3c^2 + \dots \quad (2.10)$$

Für den Fall $c \rightarrow 0$ geht Gleichung 2.10 über in

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M} \quad (2.11)$$

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß in den meisten Fällen eine polydisperse Verteilung der Masse der streuenden Partikel vorliegt, wird eine mittlere Masse gemessen. Es muß daher die Summe der Streubeiträge aller Polymerisationsgrade betrachtet werden. Hierfür gilt

$$\frac{\Delta R_\theta}{Kc} = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} \frac{\Delta R_{\theta,i}}{K}}{\sum_{i=1}^{\infty} c_i} = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} c_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} c_i} = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} = M_w \quad (2.12)$$

wobei der Ausdruck $\Delta R_{\theta,i}/K = c_i M_i$ verwendet wurde. Es liegt somit die sogenannte gewichtsmittlere (*weight averaged*) Molmasse M_w vor.

2.1.3 Streuung an großen Teilchen

Das bisher Besprochene gilt für Teilchen, die im Vergleich zur verwendeten Wellenlänge λ_0 klein sind. Für Teilchen in der Größenordnung von λ_0 , in der Praxis spricht man von Teilchendurchmessern $d > \frac{\lambda_0}{20}$, kann die Annahme, daß die durch das einfallende E -Feld induzierte Oszillation der Elektronen in Phase ist, nicht mehr aufrecht erhalten werden. Es wird ein zusätzlicher Parameter notwendig, der die Auswirkung der intramolekularen Interferenzen auf das gestreute Licht berücksichtigt. Abbildung 2.1 zeigt die Streuung einer elektromagnetischen Welle an zwei Streuzentren i und j eines großen Teilchens in der x - y -Ebene. Bei einem Streuwinkel von $\theta = 0^\circ$ (Vorwärtsstreuung) ist das gestreute Licht in der Referenzebene A noch in Phase, da die Strecken $\overline{O_iA}$ und $\overline{O_jA}$ gleich groß sind. Im Falle von $\theta = 180^\circ$ (Rückwärtsstreuung) sind die Strecken $\overline{O_iO}$ und $\overline{O_jO}$ unterschiedlich groß, so daß die gestreuten Wellen in der Referenzebene O nicht mehr in Phase sind und durch destruktive Interferenz eine Abschwächung der Streuintensität erfolgt. Für die Winkel $0^\circ < \theta < 180^\circ$ wird daher eine zunehmende Abschwächung der Streuintensität durch destruktive Interferenz in den entsprechenden Referenzebenen detektiert. Um diese Winkelabhängigkeit der Streuintensität zu berücksichtigen, wird der sogenannte Formfaktor $P(\theta)$ eingeführt

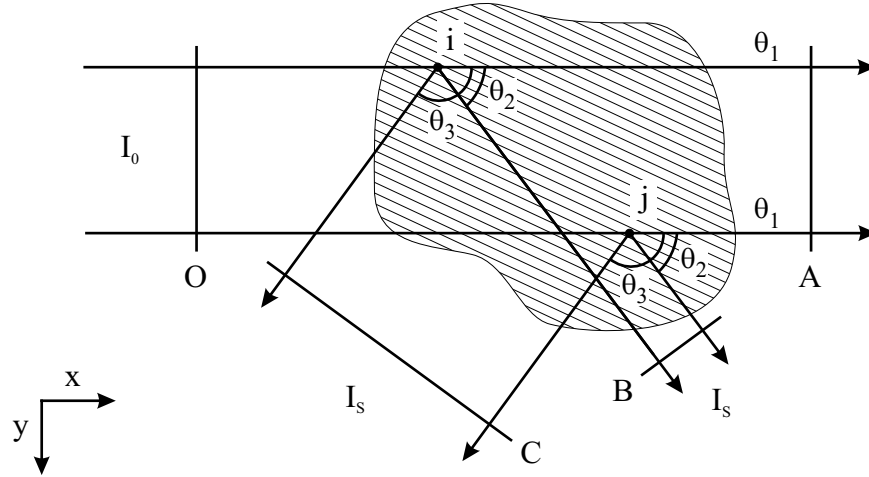


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der intramolekularen Interferenz an großen Teilchen.

$$P(\theta) = \frac{\Delta R_\theta}{\Delta R_0} \quad (2.13)$$

wobei ΔR_θ das RAYLEIGH-Verhältnis für den Winkel θ und ΔR_0 das RAYLEIGH-Verhältnis für den Winkel $\theta = 0^\circ$ darstellt. Über die winkelabhängige Intensitätsverteilung des Streulichtes, welche durch den Formfaktor beschrieben wird, liefert das Streuexperiment also neben der Masse als weitere Information eine Aussage über die Struktur der streuenden Teilchen. Wie in Abbildung 2.1 gezeigt, resultiert der Formfaktor letztlich aus der Überlagerung der von den Streuzentren ausgehenden E -Felder. Diese besitzen aufgrund der räumlichen Anordnung der Streuzentren eine Phasendifferenz, die von der Geometrie des Teilchens abhängt. Damit kann der Formfaktor wie folgt dargestellt werden

$$P(\vec{q}) = \frac{1}{N^2} \sum_i^N \sum_j^N \exp(-i \vec{q} \cdot \vec{r}_{ij}) \quad (2.14)$$

wobei $\vec{r}_{ij}$ der Abstandsvektor zweier Massenpunkte i und j und $\vec{q}$ der sogenannte Streuvektor ist. Letzterer ist für jedes Streuexperiment von zentraler Bedeutung und ergibt sich als Differenz des Wellenvektors der einfallenden Strahlung $\vec{k}_i$ und des Wellenvektors der gestreuten Strahlung $\vec{k}_s$

$$\vec{q} = \vec{k}_i - \vec{k}_s \quad (2.15)$$

DEBYE [26] konnte zeigen, daß allgemein gilt

$$P(q) = \frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{\sin(qr_{ij})}{qr_{ij}} \quad (2.16)$$

mit

$$q = \frac{4\pi n_{LM}}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.17)$$

als Betrag des Streuvektors. Im allgemeinen zeigt $P(q)$ eine komplexe Abhängigkeit von q . Im Falle des Stabes und des statistischen Knäuels zeigen sich jedoch für große q -Werte einfache Zusammenhänge der Form

$$P(q) \propto q^{-1} \quad (\text{Stab}) \quad (2.18)$$

$$P(q) \propto q^{-2} \quad (\text{Knäuel}) \quad (2.19)$$

Durch Auftragung von $qP(q)$ vs. q bzw. $q^2P(q)$ vs. q erhält man also im entsprechenden Fall ein Plateau und somit bereits wichtige Information über die Geometrie der streuenden Teilchen. Ihren Entdeckern nach werden diese Art der Auftragungen als HOLTZER- [27] und KRATKY-Plot [28] bezeichnet.

Der Zusammenhang zwischen der Struktur der Teilchen und dem winkelabhängigen Intensitätsverlauf ist vereinfacht in Abbildung 2.2 dargestellt. Das Streuexperiment geht von der Struktur aus und liefert eine Intensitätsverteilung,

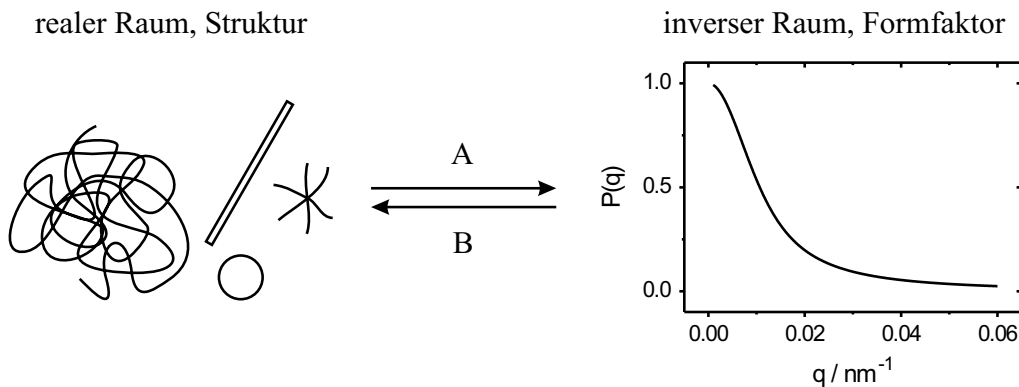


Abbildung 2.2: Zusammenhang zwischen Struktur und Formfaktor. Weg A entspricht dem Experiment, wohingegen Weg B die Interpretation der Streudaten wiedergibt. Weg B wird als *Lösung des inversen Streuproblems* bezeichnet. Die Berechnung eines Formfaktors aus der Struktur, also Weg A, ist die *Lösung des Streuproblems*.

welche durch den Formfaktor beschrieben wird (A). Der Rückweg (B) entspricht dann der Dateninterpretation. Es wird dabei ausgehend von der experimentellen Streukurve auf die Struktur der zugrundeliegenden Teilchen geschlossen. Die Berechnung der Intensitätsverteilung wird als *Lösung des Streuproblems* bezeichnet, wohingegen die Dateninterpretation die *Lösung des inversen Streuproblems* darstellt [29].

Die Beziehung zwischen der Anordnung der streuenden Teilchen und des Formfaktors $P(q)$ ist durch eine Fouriertransformation der Dichte-Dichte-Korrelation der streuenden Teilchen gegeben [29, 30, 31, 32]. Demnach gilt

$$P(q) \propto \int_V \langle \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) \rangle \exp(-i \vec{q} \vec{r}) d\vec{r} = \mathcal{F} [\langle \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) \rangle] \quad (2.20)$$

Die Dichte-Dichte-Korrelation ist durch das dreidimensionale Faltungsquadrat der Dichte der Streuzentren als Funktion des Ortes, $\rho(\vec{r})$, gegeben

$$\langle \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) \rangle = \int_V \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) d\vec{r} \quad (2.21)$$

Aus der Anordnung der Teilchen kann also mit Hilfe von Gleichung 2.20 der Verlauf der Intensität der gestreuten Strahlung und damit der Formfaktor berechnet werden (Weg A in Abbildung 2.2). Gleichsam kann durch eine inverse Fouriertransformation aus dem Formfaktor die Dichte-Dichte-Korrelation der streuenden Teilchen berechnet werden

$$\langle \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) \rangle \propto \int_V P(q) \exp(i \vec{q} \vec{r}) d\vec{r} = \mathcal{F}^{-1} [P(q)] \quad (2.22)$$

Diese liefert eine Aussage über die Anordnung der streuenden Teilchen und damit über die Struktur (Weg B in Abbildung 2.2). Die Berechnung der Dichte-Dichte-Korrelation nach Gleichung 2.21 liefert die Wahrscheinlichkeit dafür, im Abstand $\vec{r}$ eines Teilchens wieder ein entsprechendes Teilchen zu finden. Bei Anwendung von Gleichung 2.21 geht also ein Teil der strukturellen Information verloren. Für die Berechnung des Formfaktors nach Gleichung 2.20 ist dieser Verlust irrelevant, da die Zuordnung Struktur $\rightarrow$ Dichte-Dichte-Korrelation $\rightarrow$ Formfaktor nach wie vor eindeutig ist (Weg A, Lösung des Streuproblems). Hingegen ist die Bestimmung der vollständigen Struktur aus der Dichte-Dichte-Korrelation nicht mehr eindeutig, da die Struktur einen höheren Informationsgehalt besitzt, welcher durch die Korrelation vermindert wurde. Damit kann aber auch die Zuordnung Formfaktor $\rightarrow$ Struktur nicht mehr eindeutig sein (Weg B, Lösung des inversen Streuproblems). Ein Streuexperiment kann also nicht die vollständige strukturelle Information lie-

fern. Dieser Aspekt wird in der Auswertung der vorliegenden experimentellen Daten eine Rolle spielen. Abbildung 2.3 zeigt die Situation etwas vereinfacht an einem Beispiel.

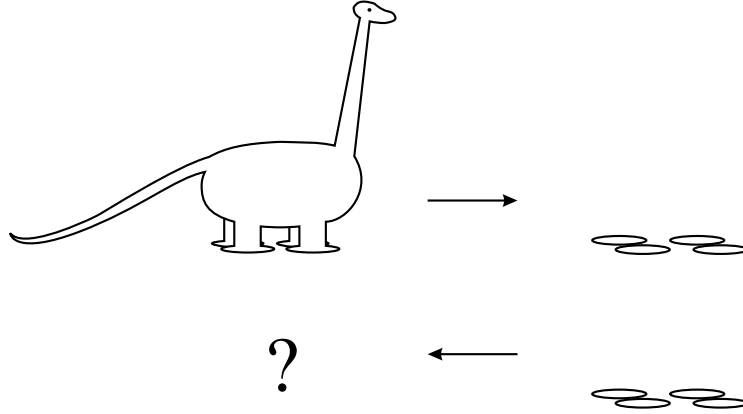


Abbildung 2.3: Die (inverse) Streuproblematik an einem vereinfachten Beispiel.

Nach ZIMM [33] ergibt sich unter Berücksichtigung des Formfaktors für die Streuung von Licht an großen Teilchen in Lösung die Gleichung

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w P(\theta)} + 2A_2c \quad (2.23)$$

Entwickelt man für kleine q den invertierten Ausdruck von Gleichung 2.16 in eine Reihe, so gilt

$$\frac{1}{P(\theta)} = 1 + \frac{q^2}{3!N^2} \sum_i^N \sum_j^N r_{ij}^2 + \frac{q^4}{5!N^2} \sum_i^N \sum_j^N r_{ij}^4 + \frac{q^6}{7!N^2} \sum_i^N \sum_j^N r_{ij}^6 + \dots \quad (2.24)$$

Hierbei ist der zweite Term dieser Reihe proportional zum Quadrat des sogenannten Trägheitsradius R_g

$$R_g^2 = \frac{1}{2N^2} \sum_i^N \sum_j^N r_{ij}^2 = \frac{1}{N} \sum_i^N r_i^2 \quad (2.25)$$

der anschaulich den mittleren quadratischen Abstand r_i^2 aller Teilchensegmente vom Teilchenschwerpunkt wiedergibt. Ähnlich wie die Masse M bei polydispersen Proben in eine gewichtsmittlere Masse M_w übergeht, liegt ein gemittelter Trägheitsradius vor. Hierbei handelt es sich um das zentrifugenmittlere Trägheitsradienquadrat

$$R_{g,z}^2 = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2 R_{g,i}^2}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2} \quad (2.26)$$

Daraus folgt für Gleichung 2.23 unter Vernachlässigung höherer Glieder der Reihenentwicklung die endgültige Form

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{\left(1 + \frac{q^2 R_{g,z}^2}{3}\right)}{M_w} + 2A_2c = \frac{1}{M_w} + \frac{q^2 R_{g,z}^2}{3M_w} + 2A_2c \quad (2.27)$$

2.2 Experimentelle Grundlagen

2.2.1 Apparativer Aufbau

In Abbildung 2.4 ist der schematische Aufbau der verwendeten Lichtstreuapparatur gezeigt. Als Lichtquelle dient ein vertikal polarisierter Helium-Neon Laser (Coherent, 31-2140) mit einer Wellenlänge von $\lambda_0 = 632,8 \text{ nm}$ und einer Ausgangsleistung von 35 mW . Der Strahlengang wird über zwei Silberspiegel S (Newport, 10D20ER.2) mit einer Reflektivität $R > 96\%$ um 180° umgelenkt, und mit Hilfe zweier Irisblenden B (Newport, ID-0.5) justiert. Um ein möglichst kleines Streuvolumen zu erhalten, wird der Strahl durch eine achromatische Dublettlinse A

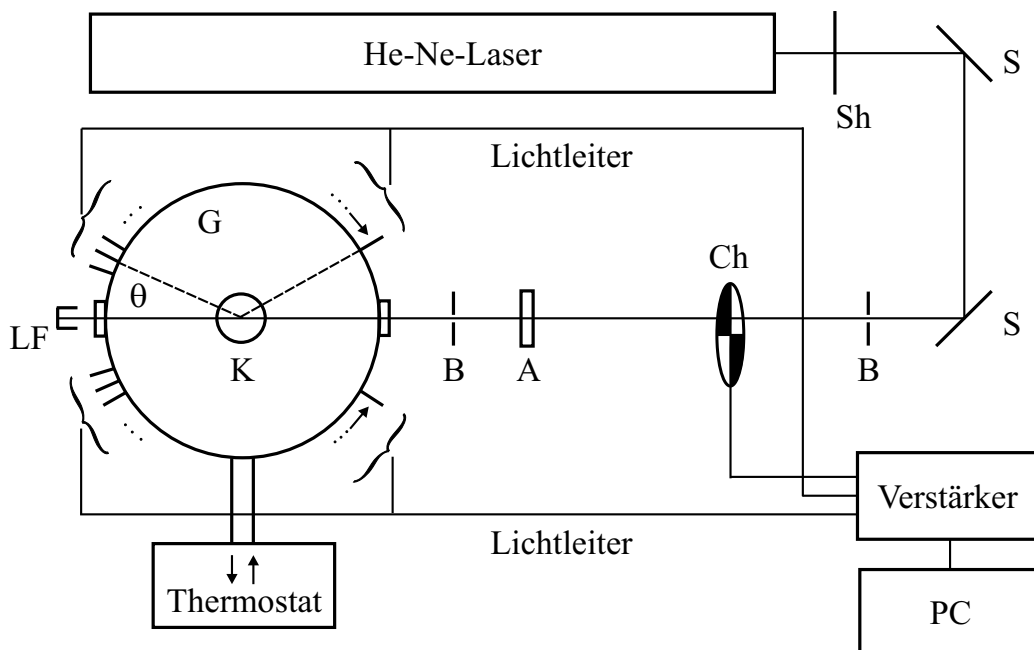


Abbildung 2.4: Schema der zeitaufgelöst messenden Lichtstreuapparatur. Sh: Shutter, S: Spiegel, B: Blende, Ch: Chopper, A: achromatische Dublettlinse, G: Goniometer, K: Küvette, LF: Lichtfalle

(Newport, PAC082) mit einer Transmission $T > 95\%$ und einer Brennweite von $f = 300\text{ mm}$ in das Zentrum des Goniometers G fokussiert, in der sich die zylindrische Küvette (Helma, 10, 20 und 25 mm Durchmesser, Quarzglas) mit der zu untersuchenden Lösung befindet. Das gestreute Licht wird winkelabhängig mit 38 Lichtleitern auf jeweils eine Photodiode geleitet. Diese liefern einen intensitätsabhängigen Strom, der nach einer Verstärkung als Meßsignal vorliegt [34].

Abbildung 2.5 zeigt das von BECKER und SCHMIDT [34] entwickelte Goniometer in der Detailansicht. Es besteht aus dem eigentlichen Zellgehäuse ZG mit einem Eintrittsfenster EF für die Primärstrahlung mit der Intensität I_0 und einem um 180° versetzten Austrittsfenster AF für die transmittierte Primärstrahlung (reine Vorwärtsstreuung) mit der Intensität I . Zwischen dem Ein- und Austrittsfenster

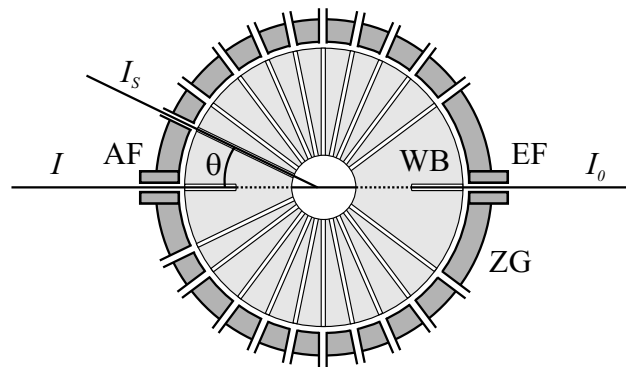


Abbildung 2.5: Das Goniometer in Detailansicht. Der Übersicht wegen ist nur jeder zweite Winkel eingezeichnet.

liegen mit einer linearen Aufteilung in $\sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)$, das heißt $\sin^2\left(\frac{\theta_n}{2}\right) = n \cdot 0,05$ mit $n = 1, 2, 3, \dots, 18$, achsensymmetrisch jeweils 18 Winkel. Damit wird ein Winkelbereich von $25,84^\circ$ bis $143,13^\circ$ abgedeckt. Zusätzlich existiert ein weiterer Winkel bei $\sin^2\left(\frac{\theta_n}{2}\right) = 0,075 = 31,79^\circ$ mit $n = 1\frac{1}{2}$. Insgesamt liegen damit achsensymmetrisch zweimal 19, also 38 Winkel vor. Die einzelnen Winkel werden mit Hilfe eines Winkelbegrenzers WB selektiert, so daß die an den entsprechenden Positionen im Zellgehäuse installierten Lichtleiter nur den jeweiligen Winkelbereich tatsächlich detektieren können. Der Durchmesser der Lichtleiter beträgt 1 mm , so daß eine vertikale Auflösung von ca. $\pm 0,8^\circ$ gegeben ist. Der Primärstrahl wird mit Hilfe der achromatischen Dublettlinse in das Zentrum des Goniometers und der Küvette fokussiert, wodurch sich Streuvolumina in der Größenordnung von 10^{-2} mm^3 ergeben. Das gesamte Goniometer ist mit Toluol gefüllt, um einen störenden Brechungsindexsprung Luft-Küvette zu verhindern und gleichzeitig die Temperierung der Lösung zu gewährleisten. Der zugängliche Temperaturbereich liegt aufgrund technischer Gegebenheiten der Goniometerkonstruktion wie z. B.

Dichtungen der Fenster etc. bei $10^\circ\text{C} < T < 40^\circ\text{C}$ und wird mittels eines Wasserumlaufthermostaten (Haake, FK2P, $\pm 0,5^\circ\text{C}$) eingestellt.

Das winkelabhängig detektierte Streulicht I_s wird durch Photodioden in einen intensitätsabhängigen Strom umgewandelt, welcher durch einen Vorverstärker in ein Spannungssignal transformiert und mittels eines Lock-In-Verstärkers verstärkt wird. Ein mechanischer Chopper mit 490 Hz wird für die Modulation des Laserstrahls benutzt. Die Verwendung eines Multiplexers in Kombination mit einem A/D-Wandler ermöglicht es, das Signal aller 38 Photodioden durch einen Microcontroller innerhalb von 2 ms sequentiell auszulesen (siehe Abbildung 2.6). Für detailliertere Angaben in Bezug auf die mechanische und elektronische Konstruktion sei an dieser Stelle auf BECKER und SCHMIDT [34] verwiesen.

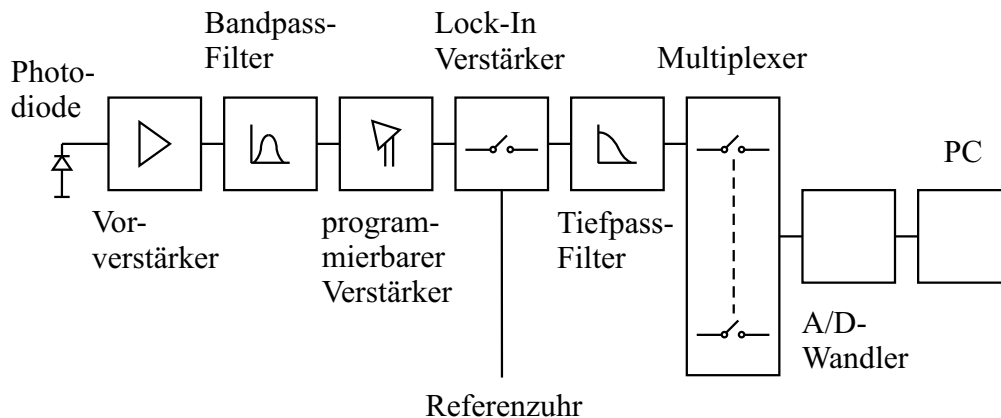


Abbildung 2.6: Blockdiagramm der Signalverarbeitung und -verstärkung.

2.2.2 Meßdatenerfassung

Die gesamte Konstruktion ist für eine zeitaufgelöste Erfassung von Meßdaten konzipiert. Mit Hilfe der oben skizzierten elektronischen Datenverarbeitung werden alle 38 Photodioden innerhalb von 2 ms ausgelesen. Um die statistische Genauigkeit einer Messung zu verbessern, wird über mehrere Datensätze gemittelt. Erfahrungsgemäß liefert eine Mittelung von 1000 Streukurven, das entspricht einer Meßdauer von 2 s , bei Signalstärken ab dem zwei- bis dreifachen des Signals von reinem Toluol, ein ausreichend gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N). Um jeweils eine optimale Anpassung von Signalstärke und Zeitauflösung zu erreichen, können prinzipiell eine bis maximal 4000 Streukurven für die Mittelung verwendet werden. Für zeitlich unveränderliche Systeme (vgl. Abschnitt 2.2.3) werden 4000 Streukurven (ca. 8 s Meßdauer) gemittelt. Die obigen Zeiten der Meßwerterfassung werden allerdings durch Be- und Verarbeitungsprozesse der Meßelektronik und

Meßsoftware um bis zu 10 s vergrößert, so daß z. B. Messungen mit 1000 Mittelungen tatsächlich in einem Intervall von 15 s durchgeführt werden.

2.2.3 Durchführung einer Lichtstreuungsmessung

Sämtliche Messungen in dieser Arbeit wurden in Lösung durchgeführt. Da das Lösungsmittel aufgrund von Dichtefluktuationen ebenfalls Streulicht aussendet, ergeben sich als interessierende Größen die in Abschnitt 2.1.2 bereits eingeführte Nettostreuintensität $\Delta I_{s\theta}$ bzw. das RAYLEIGH-Verhältnis ΔR_θ , die nur noch das von den gelösten Teilchen ausgesendete Streulicht berücksichtigen. In der praktischen Durchführung wird zunächst das reine Lösungsmittel vermessen und im Anschluß daran die Lösung. Die Nettostreuintensität der gelösten Teilchen wird dann durch Differenzbildung ermittelt. Für das RAYLEIGH-Verhältnis ΔR_θ gilt dann

$$\Delta R_\theta = \frac{\Delta I_{s\theta} r^2}{I_0 \sin^2(\theta_z)} = (I_{s\theta,ges} - I_{s\theta,LM}) \frac{r^2}{I_0 \sin^2(\theta_z)} \quad (2.28)$$

mit $I_{s\theta,ges}$ und $I_{s\theta,LM}$ als Streulichtintensitäten der gesamten Lösung und des reinen Lösungsmittels für den Streuwinkel θ . Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß die Einheit von ΔR_θ eine inverse Länge ist, da $I_{s\theta,ges}$ und $I_{s\theta,LM}$ die *Intensität des Streulichtes pro Einheitsvolumen* der gesamten Lösung bzw. des reinen Lösungsmittels darstellen und I_0 lediglich die *Intensität* der Primärstrahlung ist.

Der für Gleichung 2.28 benötigte Ausdruck $\frac{r^2}{I_0 \sin^2(\theta_z)}$ enthält rein gerätespezifische Parameter. Er wird durch eine Standardmessung mit Toluol bestimmt. Dafür wird das literaturbekannte RAYLEIGH-Verhältnis von Toluol R_{Tol} durch die Intensität des Streulichtes von reinem Toluol $I_{s\theta,Tol}$ dividiert

$$\frac{r^2}{I_0 \sin^2(\theta_z)} = \frac{R_{Tol}}{I_{s\theta,Tol}} \quad (2.29)$$

Daraus folgt für Gleichung 2.28

$$\Delta R_\theta = \frac{I_{s\theta,ges} - I_{s\theta,LM}}{I_{s\theta,Tol}} R_{Tol} \quad (2.30)$$

Der Kontrastfaktor K in Gleichung 2.27 wird aufgrund der Verwendung von zylindrischen Streuküvetten durch einen Korrekturfaktor [35] modifiziert

$$K = \frac{4\pi^2}{N_A \lambda_o^4} n_{LM}^2 \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \underbrace{\left(\frac{n_{Bad}}{n_{LM}} \right)^2}_{\text{Korrekturfaktor}} = \frac{4\pi^2}{N_A \lambda_o^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 n_{Bad}^2 \quad (2.31)$$

Dabei ist n_{Bad} der Brechungsindex des Bades (hier Toluol), das die Küvette umgibt.

Eine Messung erfolgt damit in drei Schritten:

1. Messung des Standards (in der vorliegenden Arbeit Toluol)
2. Messung des Lösemittels
3. (zeitaufgelöste) Messung der zu untersuchenden Lösung.

Vor der Vermessung des Standards wird der Dunkelstrom der Apparatur bestimmt und im weiteren Verlauf von allen Messdaten abgezogen. Hierbei handelt es sich um das von den Photodioden und der Elektronik gelieferte Signal bei geschlossenem Strahlengang.

In Abhängigkeit der vorliegenden Streuintensitäten von Standard, Lösungsmittel und Lösung kann mittels eines Verstärkungsfaktors G ein optimales Signal-zu-Rausch-Verhältnis eingestellt werden. Aus Gleichung 2.30 wird dann

$$\Delta R_\theta = \frac{I_{s\theta,ges} \frac{G_{Tol}}{G_{ges}} - I_{s\theta,LM} \frac{G_{Tol}}{G_{LM}}}{I_{s\theta,Tol}} R_{Tol} \quad (2.32)$$

mit G_{Tol} , G_{LM} und G_{ges} als Verstärkungsfaktoren der Standard-, Lösemittel- und Lösungsmessung, die unabhängig voneinander gewählt werden können. Tabelle 2.1 zeigt die G -Faktoren und die entsprechenden Verstärkungen des Eingangssignals.

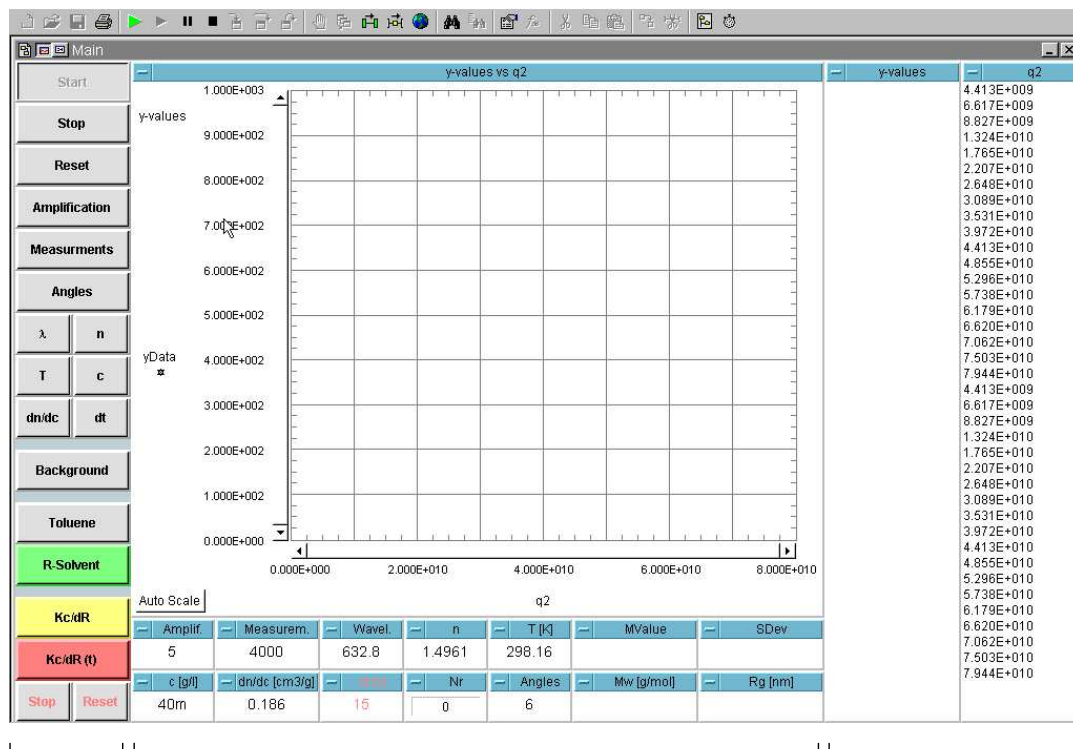
Tabelle 2.1: Verstärkungsfaktor G und die entsprechende Verstärkung des Eingangssignals

G	Verstärkung	G	Verstärkung	G	Verstärkung
1	1	4	50	7	1000
2	5	5	100		
3	10	6	500		

Die Steuerung der Apparatur und die erste Verarbeitung der gesammelten Meßdaten erfolgt mit einer eigens geschriebenen Software auf Basis einer graphischen Programmiersprache (HP VEE 5.0). Diese liefert sowohl die Einstellung sämtlicher Pa-

2. GRUNDLAGEN

parameter wie K , c , Zeitauflösung, Mittelungen und Temperatur, als auch die Berechnung von ΔR_θ und allen dazugehörigen Größen, sowie eine Online-Auswertung nach Gleichung 2.27. Alle Meßdaten werden in Form von $\frac{Kc}{\Delta R_\theta}$ jeweils in einer Spalte mit 38 Einträgen abgespeichert. Für zeitabhängige Messungen werden die Datenblöcke, durch Semikolon getrennt, ebenfalls in einer Spalte gespeichert.



Einstellung von Parametern und Steuerung der Messung

eingestellte Parameter, aktuelle Messung und Auswertung nach ZIMM

Daten der aktuellen Messung in Form von $Kc/\Delta R$ und q^2

Abbildung 2.7: Benutzeroberfläche zur Steuerung der Lichtstreuanlage.

Kapitel 3

Calixaren-Naphthyridin-Aggregation

In diesem und dem folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Aggregation von 2,6,8,12,14,18,20,24-Octahydroxy-4,10,16,24-tetra-*n*-undecylpyridin[4]aren (**1**) und 2-Amino-*N*³-(*n*-undecyl)-1,8-naphthyridin-3-carboxamid (**2**) in 1,2-Dichlorbenzol als Lösungsmittel dargestellt und diskutiert.

3.1 Einführende Bemerkungen

Die Verbindung **1** gehört zu den sogenannten Calix[*n*]arenen. Hierbei handelt es sich um organische Verbindungen, welche aus *n* Arenen aufgebaut sind, die in einer Anordnung stehen, welche an einen Kelch oder Blütenkelch (Calyx [gr.-lat] *der*: Blütenkelch) erinnert. Im vorliegenden Fall sind vier 2,6-Dihydroxypyridin-Einheiten in der meta-Position über undecylsubstituierte Methylengruppen verknüpft (**1**). In Abbildung 3.2 ist das Calix[4]aren (**1**) in zwei möglichen Konformationen *rccc* (**A**) und *rctt* (**B**) schematisch dargestellt. Nach der Synthese von MATTAY [36] wird ausschließlich das *rccc*-Konformer erhalten. Zusätzlich zeigt die ¹³C-NMR Spektro-

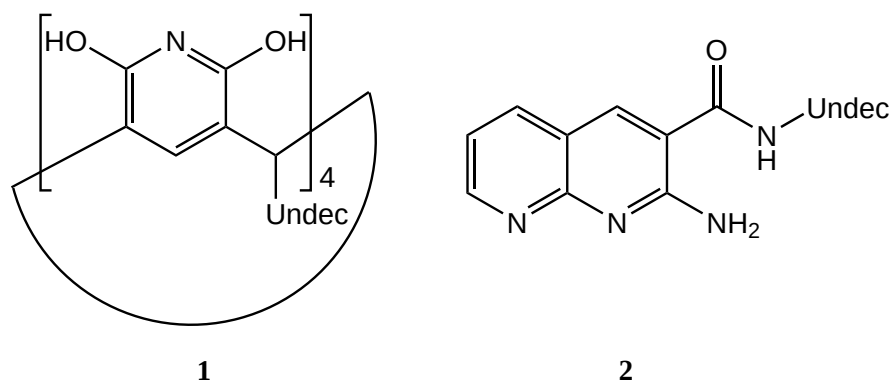


Abbildung 3.1: 2,6,8,12,14,18,20,24-Octahydroxy-4,10,16,24-tetra-*n*-undecylpyridin[4]aren (**1**) und 2-Amino-*N*³-(*n*-undecyl)-1,8-naphthyridin-3-carboxamid (**2**)

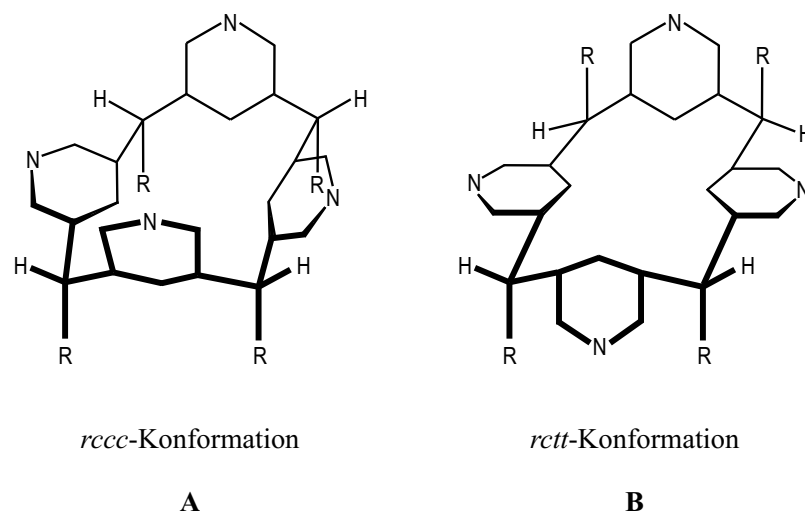


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des verwendeten Calix[4]arens in zwei möglichen Konformationen. Doppelbindungen, Hydroxygruppen und freie Elektronenpaare sind nicht eingezeichnet. $R = -(\text{CH}_2)_{10} - \text{CH}_3$ (Undecyl)

skopie, daß in Lösung neben dem Dihydropyridin auch noch die Pyridonform vorliegt. Die Umwandlung von einer Konformation in die andere erfolgt dabei analog zu einer Keto-Enol-Tautomerie [36]. Damit ergeben sich die in Abbildung 3.3 gezeigten Wechselwirkungsmöglichkeiten der beiden Komponenten in Form multivalenter Wasserstoffbrückenbindungen. Beide Komponenten weisen sowohl Donor- (D) als auch Akzeptorgruppen (A) auf, so daß sich das Naphthyridin (2) als eine AAD-Einheit [37] komplementär zur DDA-Einheit des Calix[4]arens verhält. Demnach sind zur vollständigen Absättigung des Calix[4]arens vier Naphthyridin-Moleküle notwendig [38].

Die *gerichteten* Wechselwirkungen auf molekularer Ebene sind sowohl im allgemeinen [39, 40] als auch im speziellen [41, 42, 43, 44] für eine Aggregation der „Monomere“ von entscheidender Bedeutung. In der klassischen Polymerchemie [39] wird diese Gerichtetheit durch funktionelle Gruppen erzielt, die im Zuge der Polymerisation kovalente Bindungen zwischen den Monomeren ausbilden. In der Supramolekularen Chemie [40, 45, 46] und besonders in der belebten Natur [47] sind diese kovalenten Bindungen vielfach durch „schwache“ elektrostatische Wechselwirkungen ersetzt. Diese Bindungen zeigen als Folge ihrer „Schwäche“ ein gewisses Maß an Reversibilität, die in vielfältigen Bereichen der belebten Natur von Bedeutung ist. Als prominentes Beispiel dafür kann die Desoxyribonucleinsäure (DNS) angesehen werden. Hier sind ebenfalls die komplementären, multivalenten Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Adenin-Thymin (2 H-Brücken) und Guanin-Cytosin (3 H-Brücken) sowohl für den Zusammenhalt, als auch für das reversible Öffnen und Schließen der DNS verantwortlich.

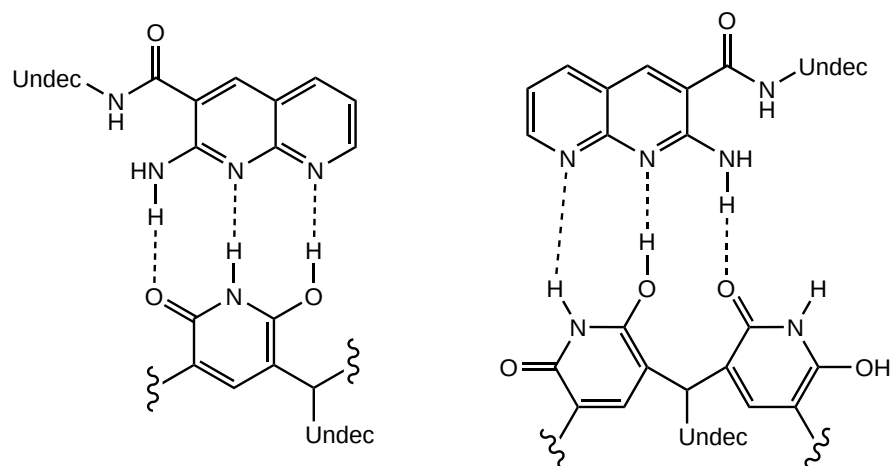


Abbildung 3.3: Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Calix[4]aren und Naphthyridin.

Um ein besseres Verständnis der experimentell beobachteten Aggregationen zu gewinnen, wird daher in Abschnitt 3.3.2 noch einmal auf die Wechselwirkungen zwischen dem Calix[4]aren und dem Naphthyridin eingegangen.

3.2 Experimentelle Ergebnisse der Calixaren-Naphthyridin-Aggregation

3.2.1 Präparation der Proben

2,6,8,12,14,18,20,24-Octahydroxy-4,10,16,24-tetra-*n*-undecylpyridin[4]aren (**1**, Calix[4]aren) und 2-Amino-*N*³-(*n*-undecyl)-1,8-naphthyridin-3-carboxamid (**2**, Naphthyridin) wurden von Prof. Dr. Jochen Mattay (Universität Bielefeld) zur Verfügung gestellt. Die Darstellung ist in [36] und [38] beschrieben. 1,2-Dichlorbenzol (pa, Merck) dient in allen Streumessungen als Lösungsmittel. Die Auswahl der für die Lichtstreuung verwendeten Konzentrationen ist durch zwei systeminhärente Grenzen vorgegeben:

1. Die Konzentration muß so groß sein, daß ein detektierbares Signal vorliegt, dessen Signal-zu-Rausch-Verhältnis eine Interpretation der Meßdaten zuläßt.
2. Die Konzentration darf einen bestimmten Wert nicht überschreiten, da sonst die Aggregation der Teilchen zu schnell verläuft und die Zeitauflösung der Apparatur zu grob ist. In diesem Fall können bis zu dem Zeitpunkt, ab dem das Signal so groß wird, daß es nicht mehr verarbeitet werden kann, nicht genügend Streukurven detektiert werden.

Der Konzentrationsbereich, welcher eine möglichst große Bandbreite abdeckt, wurde empirisch ermittelt. Tabelle 3.1 gibt eine Übersicht über die tatsächlich für die Lichtstreuungsmessungen eingesetzten Konzentrationen. Im Hinblick auf das stöchiometrisch optimale Verhältnis von Calix[4]aren/Naphthyridin = 1/4, wurden zusätzlich Mischungen mit molaren Verhältnissen von 1/3 und 1/5 angesetzt, um den Einfluß auf die Aggregation zu untersuchen.

Tabelle 3.1: Die verwendeten Konzentrationen der Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation. (Calix[4]aren **1**, Naphthyridin **2**)

Stöchiometrie 1:3			Stöchiometrie 1:4			Stöchiometrie 1:5		
1 [10 ⁻³ M]	2 [10 ⁻³ M]	<i>c</i> [g/L]	1 [10 ⁻³ M]	2 [10 ⁻³ M]	<i>c</i> [g/L]	1 [10 ⁻³ M]	2 [10 ⁻³ M]	<i>c</i> [g/L]
5,0	15,0	5,44	5,0	20,0	6,34	-	-	-
5,5	16,5	5,99	5,5	22,0	6,97	-	-	-
6,0	18,0	6,54	6,0	24,0	7,61	6,0	30,0	8,68

Die Komponenten werden zunächst einzeln in mit Schraubdeckeln verschließbaren Glasfläschchen in 5 mL 1,2-Dichlorbenzol bei 100 °C gelöst. Um eine Oxidation der Substanzen zu verhindern, erfolgt der Lösevorgang unter einer Argonatmosphäre. Nach ca. 40 – 50 min liegen dann zwei klare Lösungen vor. Diese werden anschließend heiß in eine 20 mL Kunststoffspritze aufgezogen und durch einen 0,2 µm PTFE-Filter (Macherey und Nagel) in die bereits eingesetzte Streuküvette filtriert. Der Filter wird zuvor mit ca. 5 mL der Meßlösung konditioniert.

3.2.2 Meßparameter

Sämtliche Messungen werden in zylindrischen Quarzglasküvetten (Hellma) mit 25 mm Durchmesser durchgeführt. Aufgrund des gewählten Konzentrationsbereiches wird mit einer Mittelung von 1000 Streukurven (entspricht einer Meßzeit von 2 s) bei einem Meßintervall von 15 s gearbeitet. Die Temperatur des Goniometers beträgt in allen Fällen 25 °C.

Für das Brechungsindexinkrement $\frac{dn}{dc}$ wird ein Wert von 0,1 mL/g angenommen, da keine Daten hierfür vorliegen. Die aus den Streukurven ermittelten Molmassen stellen daher keine absoluten, sondern nur relative Massen dar. Der Brechungsindex des 1,2-Dichlorbenzols beträgt 1,551 bei 25 °C [48].

3.2.3 Auswertung und Ergebnisse der zeitaufgelösten Lichtstreuemessungen

3.2.3.1 Auswertungsprozedur

In Abbildung 3.4a ist exemplarisch eine Streukurve aus einer zeitaufgelösten Lichtstreuemessung gezeigt (1:4 Stöchiometrie, $c = 7,61 \text{ g/L}$, $t = 45 \text{ min}$). Aufgrund der starken Abweichung von einem linearen Verhalten ist eine Auswertung nach ZIMM,

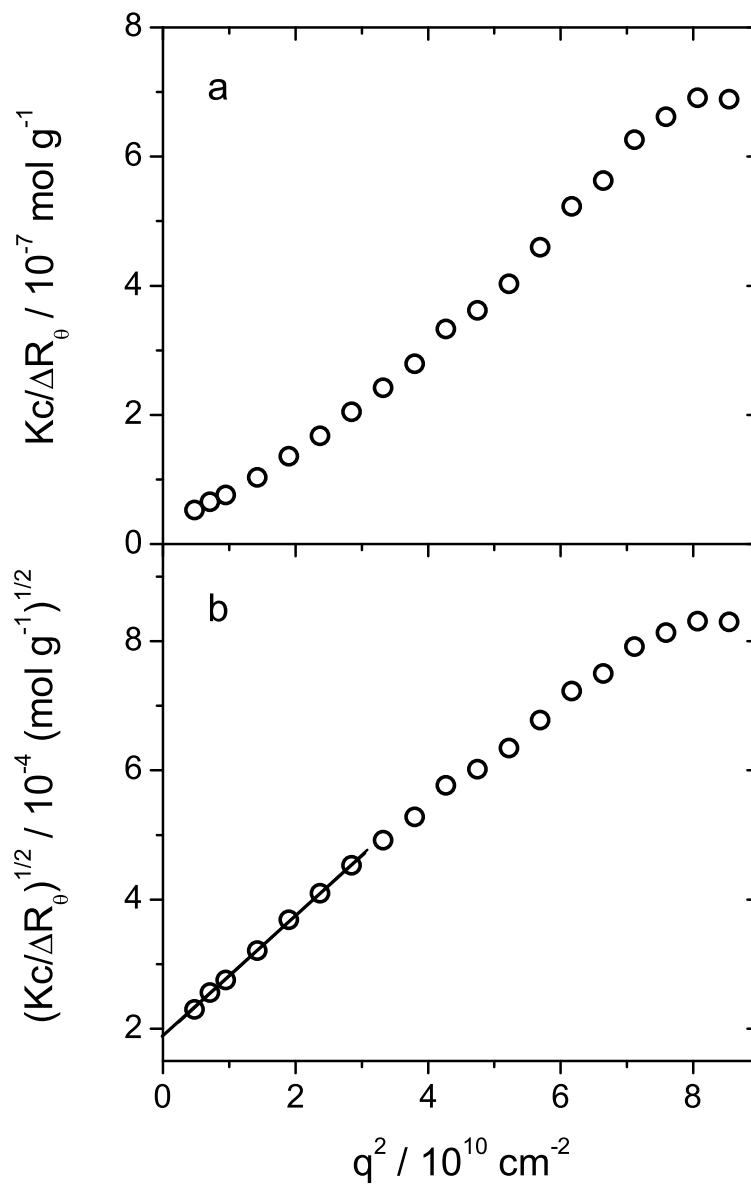


Abbildung 3.4: ZIMM-Plot (a) und BERRY-Plot (b) einer Streukurve.

das heißt die Anwendung der linearen Gleichung 2.27 zur Bestimmung der Molmasse und des Trägheitsradius, nicht möglich. In diesem Fall kann eine Linearisierung dadurch erzielt werden, daß nach BERRY [49] die Wurzel des Quotienten $\frac{Kc}{\Delta R_\theta}$ gegen q^2 aufgetragen wird. Das Ergebnis ist in Abbildung 3.4b dargestellt. Die nach BERRY modifizierte Gleichung 2.27 lautet dann

$$\left(\frac{Kc}{\Delta R_\theta} \right)^{\frac{1}{2}} = \left(\frac{1}{M_w} + \frac{q^2 R_{g,z}^2}{3M_w} + 2A_2c \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3.1)$$

Allgemein muß zur Bestimmung der Molmasse und des Trägheitsradius aus der Geradengleichung 3.1 das Grenzverhalten der Gleichung für $c \rightarrow 0$ und $q \rightarrow 0$ betrachtet werden [33], [49]

$$\lim_{\substack{q \rightarrow 0 \\ c \rightarrow 0}} \left(\frac{Kc}{\Delta R_\theta} \right)^{\frac{1}{2}} = \left(\frac{1}{M_w} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3.2)$$

$$\lim_{\substack{q \rightarrow 0 \\ c \rightarrow 0}} \left(\frac{\partial \left(\frac{Kc}{\Delta R_\theta} \right)}{\partial q^2} \right)^{\frac{1}{2}} = \frac{R_{g,z}^2}{6M_w^{\frac{1}{2}}} \quad (3.3)$$

Für ein sich mit der Zeit änderndes System kann die Extrapolation $c \rightarrow 0$ nicht durchgeführt werden, so daß die erhaltenen Molmassen nur apparente Werte darstellen. Hinzu kommt die numerische Unsicherheit des Brechungsindexinkrements für das vorliegende System, so daß bereits im Vorfeld keine absoluten Molmassen erhalten werden können. Die ermittelten Trägheitsradien hingegen stellen Absolutwerte dar, da sich hier die numerische Unsicherheit bei der Bestimmung herauskürzt. Eine vollständige Linearisierung der Meßkurve über den gesamten q -Bereich ist nicht möglich, da der Formfaktor $P(q)$ der zugrundeliegenden Teilchen durch einen relativ komplexen mathematischen Sachverhalt wiedergegeben wird. In den meisten Fällen ist daher für größere q -Werte immer eine Abweichung vom linearen Verlauf vorhanden (vgl. Abbildung 3.4b). Aus diesem Grund wird für die Auswertung der Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation in 1,2-Dichlorbenzol als Lösungsmittel ein q -Bereich von $8,433 \cdot 10^{-3} \text{ nm}^{-1} \leq q \leq 1,687 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$, das entspricht dem zweiten bis siebten Winkel der Apparatur, verwendet. Der lineare Fit dieses Bereiches mit einer Extrapolation auf $q = 0$ ist in Abbildung 3.4b eingezeichnet. Nach Gleichung 3.2 und 3.3 wird hieraus die Masse und die Größe der aggregierenden Teilchen zu dem entsprechenden Zeitpunkt bestimmt. Der vollständige zeitliche Verlauf der zu Abbildung 3.4 gehörenden Aggregation ist in Abbildung 3.5 gezeigt.

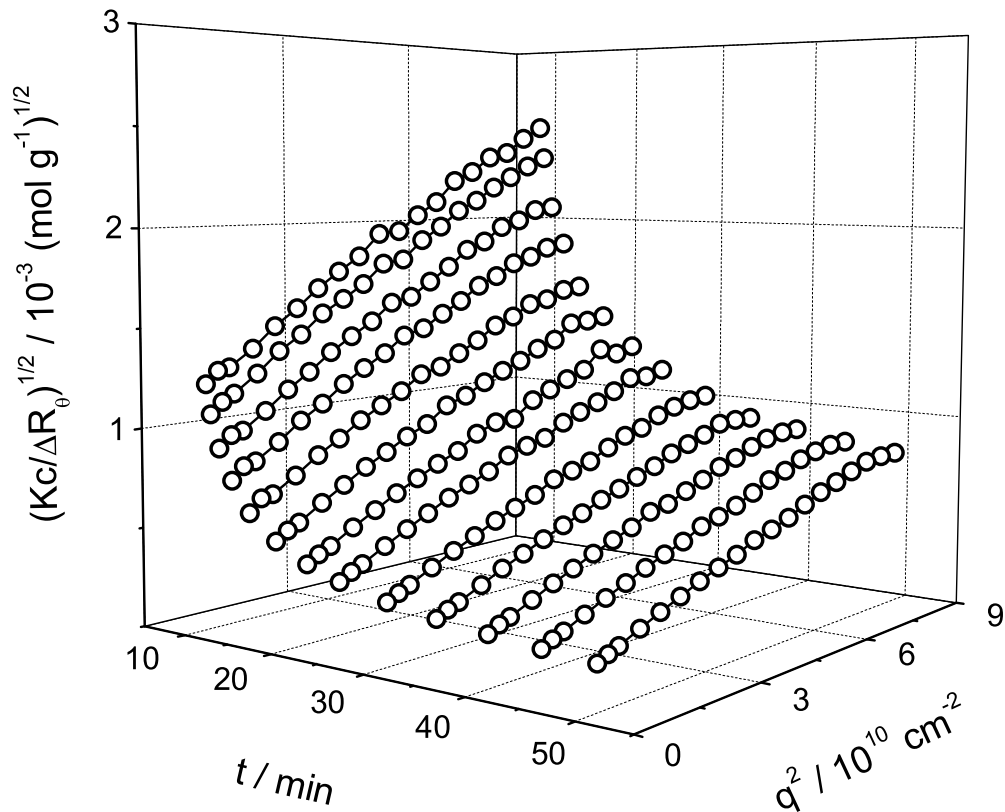


Abbildung 3.5: Zeitabhängige Darstellung der Streukurven einer Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation bei einer 1:4 Stöchiometrie und $c = 7,61 \text{ g/L}$ (Auftragung der Meßkurven nach BERRY [49]). Der Übersicht wegen sind nicht alle Streukurven eingezeichnet.

Für sehr kleine Teilchen, wie sie zu Beginn einer Aggregation vorliegen, ist das S/N-Verhältnis relativ schlecht, so daß eine Extrapolation über einen begrenzten Winkelbereich einen sehr großen Fehler liefern würde. Aus diesem Grund weicht die Auswertung der frühen Kinetik von der oben skizzierten ab und wird folgendermaßen durchgeführt:

- Im Falle von „Kurven“ ohne erkennbare Winkelabhängigkeit wird aus den $38 \frac{Kc}{\Delta R_\theta}$ -Werten ein Mittelwert gebildet und somit die relative Molmasse der Teilchen bestimmt. Da die Steigung null ist, liegt kein Trägheitsradius vor.
- Liegt hingegen eine schwache Winkelabhängigkeit der Meßpunkte vor, so wird der gesamte q -Bereich zur linearen Regression genutzt und daraus die relative Molmasse sowie der Trägheitsradius bestimmt. Als untere Meßgrenze des Trägheitsradius kann ein Wert von ca. 20 nm angegeben werden.

In den beiden folgenden Abschnitten sind die auf diese Weise ermittelten Molmassen und Trägheitsradien in Abhängigkeit von der Aggregationszeit t aufgetragen. Um die entsprechenden Aggregationskinetiken miteinander vergleichen zu können ist die Definition eines Startpunktes t_0 notwendig. Hierfür wurde jeweils der Zeitpunkt gewählt, zu welchem die getrennt angesetzten Lösungen zusammengeführt wurden (vgl. Abschnitt 3.2.1). Für Zeiten $t > 60 \text{ min}$ setzt bei den höheren Konzentrationen eine nicht mehr zu vernachlässigende Trübung der Lösung ein, so daß bis ca. $t = 50 \text{ min}$ in allen Fällen eine klare Lösung vorliegt und keine Mehrfachstreuung die Ergebnisse beeinflußt.

3.2.3.2 1:4 Stöchiometrie

Abbildung 3.6 zeigt die Aggregation von drei 1:4 Stöchiometrien mit unterschiedlichen Konzentrationen (siehe Tabelle 3.1). Aufgetragen ist in 3.6a der nach Gleichung 3.3 ermittelte Trägheitsradius $R_{g,z}$ in Abhängigkeit von der Zeit t . Abbildung 3.6b zeigt bei gleicher Zeitachse die nach Gleichung 3.2 bestimmten Molmassen M_w . Alle drei Konzentrationen zeigen in der doppellogarithmischen Auftragung sowohl für $R_{g,z}$ als auch für M_w nach einer Lagphase von ca. $6 - 7 \text{ min}$ eine ansteigende Kurve, die im weiteren Verlauf ein von der Konzentration abhängiges Abknicken zeigt. Mit steigender Konzentration werden sowohl die Trägheitsradien, als auch die Molmassen größer. Nach ca. 50 min werden Teilchengrößen von 125 bis 175 nm erreicht. Die entsprechenden relativen Molmassen liegen in einem Bereich von $8,7 \cdot 10^6$ bis $3,3 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$. In der Lagphase werden relative Molmassen von 5000 g/mol ermittelt, wobei die Trägheitsradien unterhalb der Meßgrenze von ca. 25 nm liegen.

3.2.3.3 1:3 Stöchiometrie

In Abbildung 3.7 ist die Aggregation von drei 1:3 Stöchiometrien mit unterschiedlichen Konzentrationen (siehe Tabelle 3.1) dargestellt. Es ist wiederum der nach Gleichung 3.3 ermittelte Trägheitsradius $R_{g,z}$ und die nach Gleichung 3.2 ermittelte relative Molmasse M_w in Abhängigkeit von der Zeit t aufgetragen. Alle drei Konzentrationen zeigen in der doppellogarithmischen Auftragung sowohl für $R_{g,z}$ als auch für M_w ein analoges Verhalten zur 1:4 Stöchiometrie. Nach ca. 50 min werden Teilchengrößen von 90 bis 140 nm und relative Molmassen von $2,0 \cdot 10^6$ bis $1,0 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$ erreicht. In der Lagphase von ca. $7 - 10 \text{ min}$ werden relative Molmassen zwischen 5000 und 8000 g/mol ermittelt. Die Trägheitsradien liegen unterhalb der Meßgrenze von ca. 25 nm .

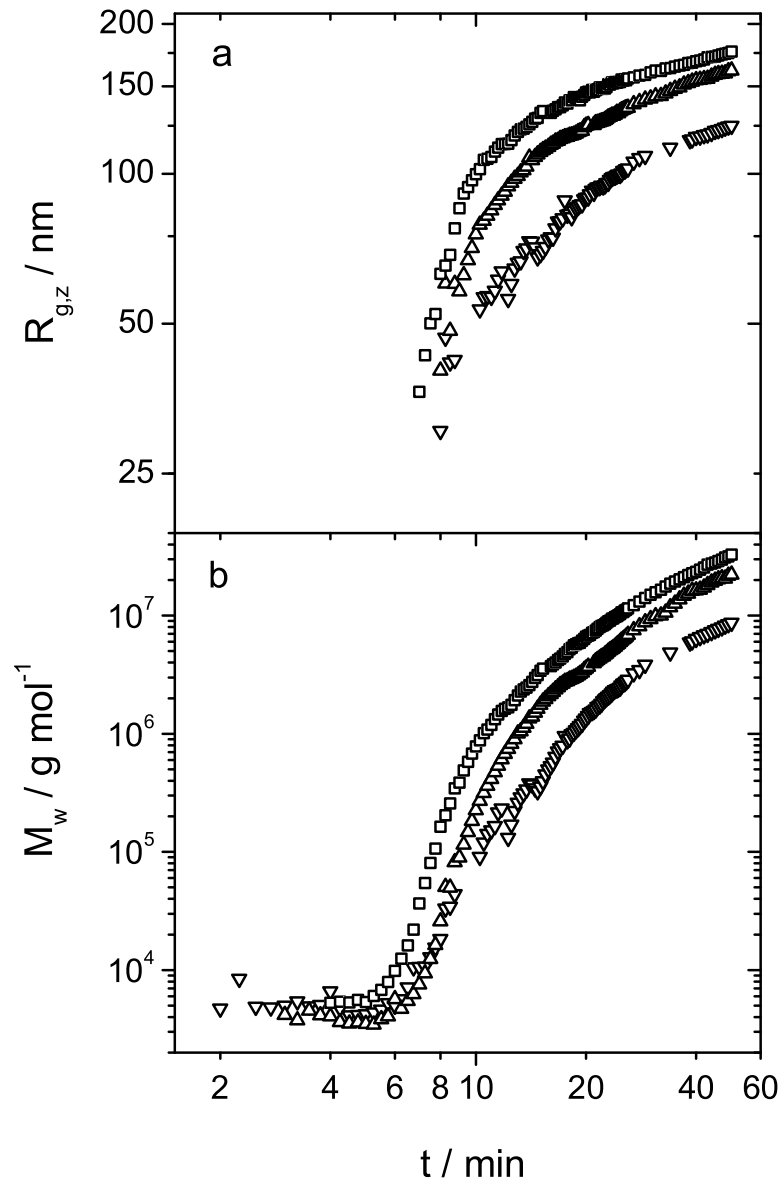


Abbildung 3.6: Aggregation dreier 1:4 Stöchiometrien in 1,2-Dichlorbenzol mit Gesamtkonzentrationen von 7,61 g/L ($\square$), 6,97 g/L ($\triangle$) und 6,34 g/L (∇). Alle Messungen wurden bei 25 °C durchgeführt.

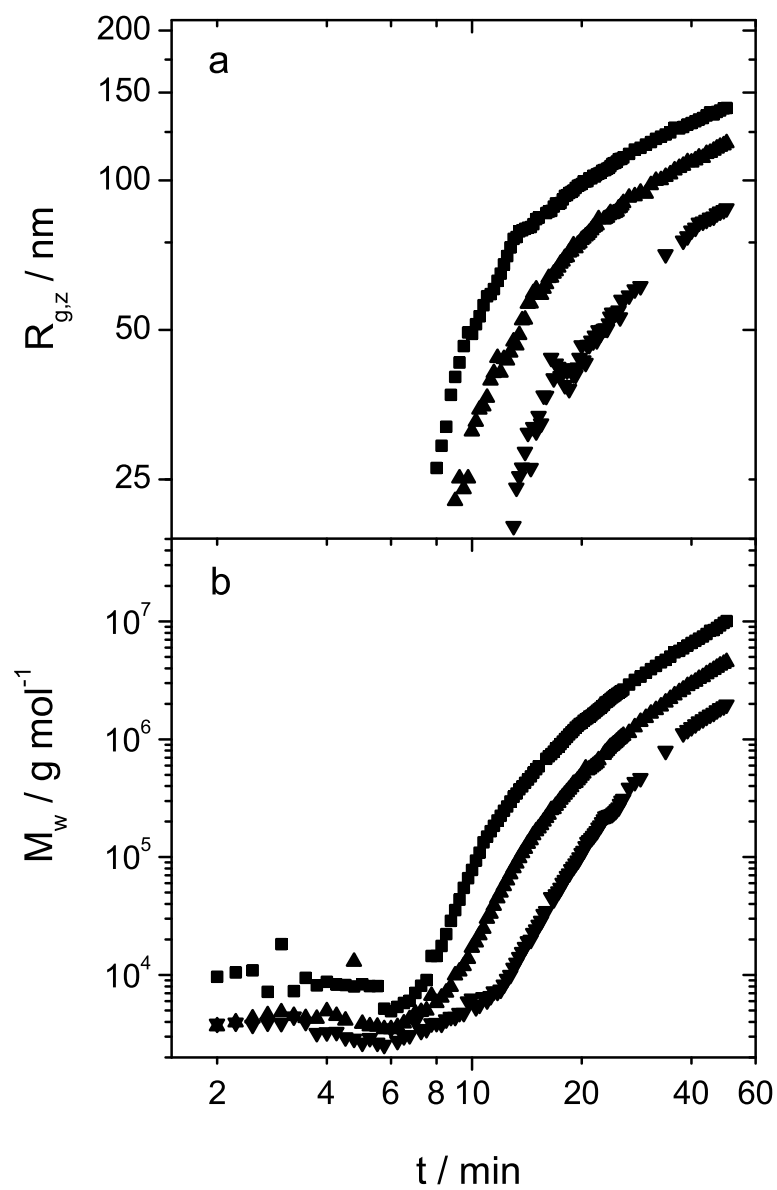


Abbildung 3.7: Aggregation dreier 1:3 Stöchiometrien in 1,2-Dichlorbenzol mit Gesamtkonzentrationen von 6,53 g/L (■), 6,00 g/L (▲) und 5,45 g/L (▼). Alle Messungen wurden bei 25 °C durchgeführt.

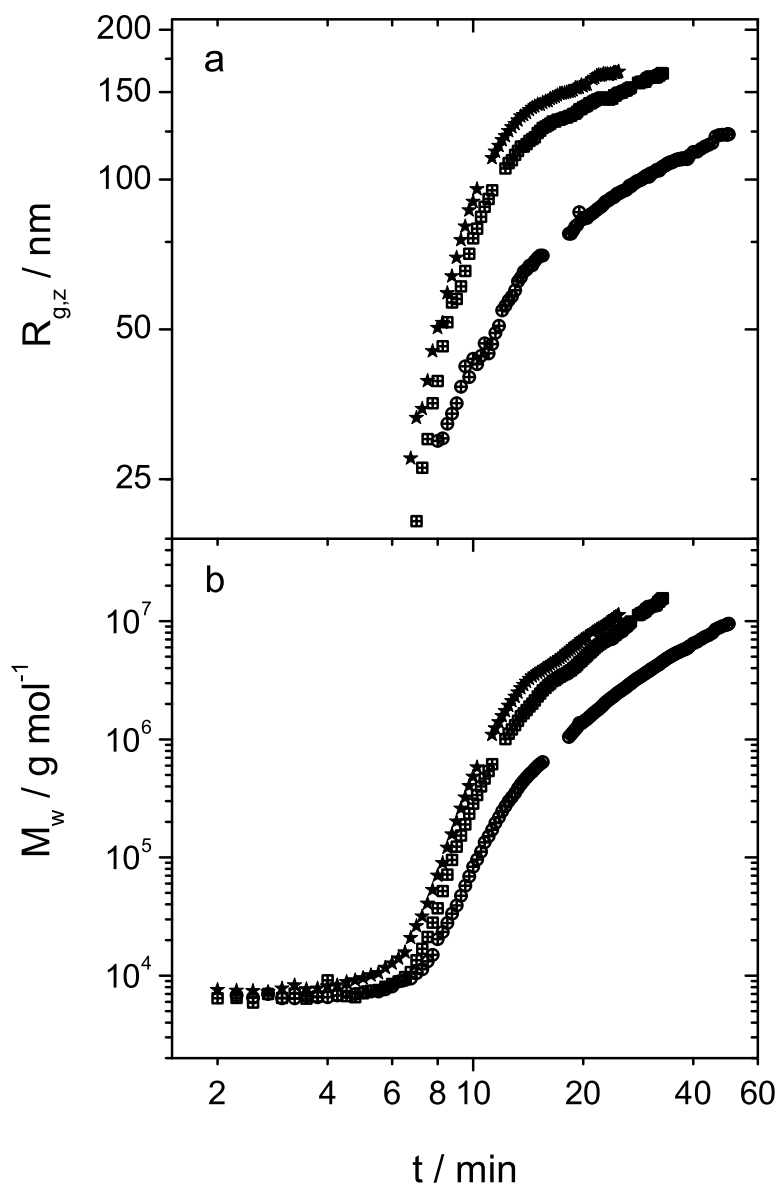


Abbildung 3.8: Aggregation einer 1:3, 1:4 und 1:5 Stöchiometrie in 1,2-Dichlorbenzol mit Gesamtkonzentrationen von 6,54 g/L ($\oplus$), 7,61 g/L ($\boxplus$) und 8,68 g/L ($\star$). Alle Messungen wurden bei 25 °C durchgeführt.

3.2.3.4 1:3/1:4/1:5 Stöchiometrie

Abbildung 3.8 zeigt die Aggregation bei drei unterschiedlichen Stöchiometrien in 1,2-Dichlorbenzol bei 25 °C mit gleichbleibender Calix[4]aren-Konzentration (siehe Tabelle 3.1). Der nach Gleichung 3.3 ermittelte Trägheitsradius $R_{g,z}$, und die nach Gleichung 3.2 ermittelte relative Molmasse M_w , sind in Abhängigkeit von der Zeit

t aufgetragen. Alle drei Stöchiometrien, sowohl die Reproduktionen der 1:3 und 1:4 Stöchiometrien, als auch die 1:5 Stöchiometrie, zeigen in der doppellogarithmischen Auftragung für $R_{g,z}$ und M_w das aus den vorherigen Messungen (Abbildungen 3.6 und 3.7) bereits bekannte Verhalten. Die 1:5 Mischung weist dabei eine deutlich kleinere Abweichung (Beschleunigung der Kinetik) von der 1:4 Stöchiometrie auf als die 1:3 Mischung (Verlangsamung der Kinetik).

3.3 Diskussion der Calixaren-Naphthyridin-Aggregation

3.3.1 Auswertung und Diskussion der experimentellen Daten

Aufgrund der zeitaufgelösten Messung von $R_{g,z}$ und M_w können zunächst die Einflüsse der Stöchiometrie und der Konzentrationen auf den kinetischen Verlauf bestimmt werden. In den Abbildungen 3.9a und b zeigt sich zunächst für die 1:4 und 1:3 Stöchiometrie, daß mit zunehmender Konzentration im gleichen Zeitraum größere Teilchen und Massen erreicht werden, die Aggregation also im untersuchten Zeitfenster mit steigender Konzentration schneller abläuft. Der Vergleich der Stöchiometrien in Abbildung 3.9c liefert für die 1:4 und 1:5 Mischungen die größeren Teilchen und Massen im Vergleich zur 1:3 Mischung. Auffallend ist hierbei, daß zwischen der 1:4 und 1:5 Stöchiometrie praktisch nur ein geringer Unterschied im Einsetzen der Kinetik besteht, Größe und Masse der Teilchen aber nahezu identisch sind ¹. Da die Konzentration der Calix[4]aren-Komponente in allen Fällen gleich groß ist (vgl. Tabelle 3.1), können die entsprechenden Kurven direkt miteinander verglichen werden.

Eine quantitativere Betrachtung und ein Vergleich mit zwei weit verbreiteten Aggregationsmodellen, nämlich der diffusions- und reaktionskontrollierten Clusteraggregation, kann für die doppellogarithmische Auftragung von $R_{g,z}$ vs. t durchgeführt werden. In Abbildung 3.9 sind die untersuchten Stöchiometrien dargestellt. Hier zeigt sich für das Anfangs- und Endstadium im betrachteten Zeitfenster ein linearer Zusammenhang in der doppellogarithmischen Darstellung, der durch ein Exponentialgesetz der Form

$$R_{g,z} \propto t^\tau \quad (3.4)$$

beschrieben werden kann. Die einzelnen Exponenten sind in Tabelle 3.2 zusammengefaßt. Es lassen sich folgende Trends feststellen:

1. Die Anfangssteigung nimmt mit steigender Konzentration zu.
2. Die Steigung für $t \geq 40 \text{ min}$ nimmt mit steigender Konzentration ab.
3. Die 1:4 und 1:5 Stöchiometrie zeigen praktisch einen identischen kinetischen Verlauf.

¹Für die Messungen in Abbildung 3.9c ist im Vergleich zu den restlichen Messungen eine andere Naphthyridin-Charge eingesetzt worden.

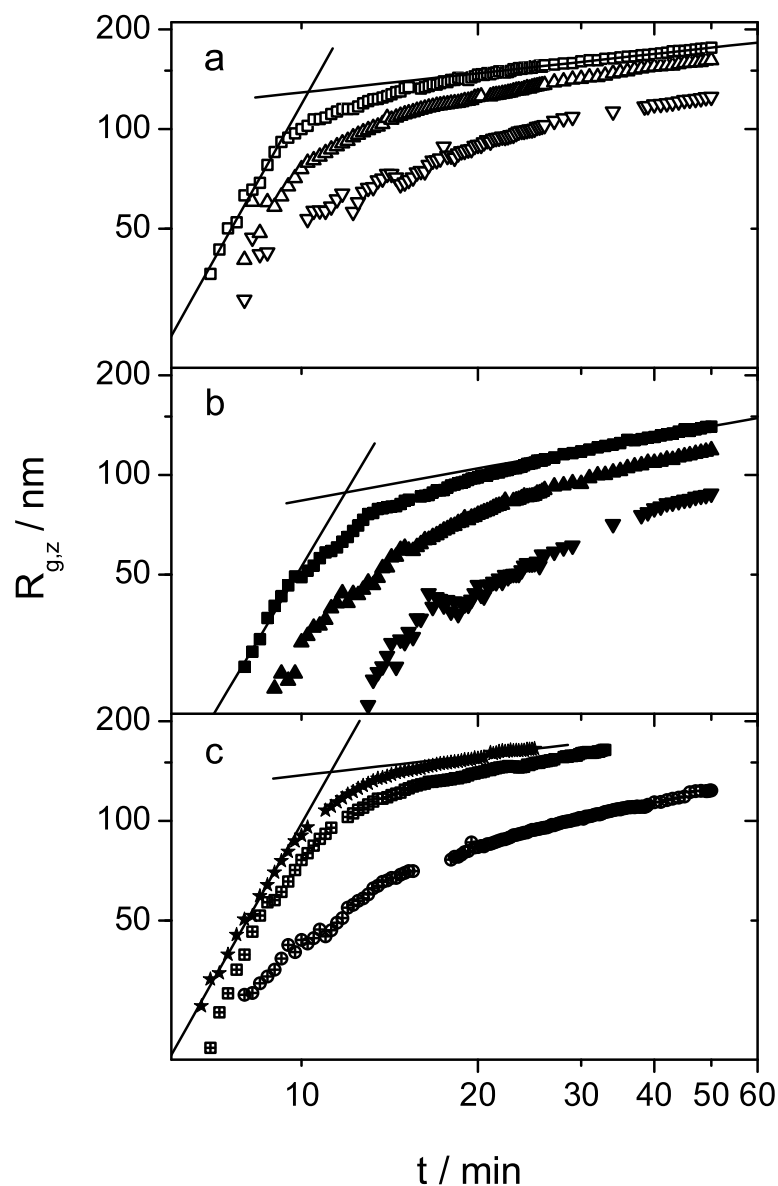


Abbildung 3.9: a: 1:4 Stöchiometrien mit 7,61 g/L($\square$), 6,97 g/L($\triangle$) und 6,34 g/L(∇) Gesamtkonzentration; b: 1:3 Stöchiometrien mit 6,53 g/L($\blacksquare$), 6,00 g/L($\blacktriangle$) und 5,45 g/L($\blacktriangledown$) Gesamtkonzentration; c: Unterschiedliche Stöchiometrien mit 1:5 / 8,68 g/L($\star$), 1:4 / 7,61 g/L($\boxplus$) und 1:3 / 5,45 g/L($\oplus$) (Konzentrationen ebenfalls als Gesamtkonzentration). Für die höchste Konzentration ist jeweils die Anfangs- und Endsteigung eingezeichnet.

Diese Grenzfälle lassen sich anhand ihres exponentiellen Verhaltens direkt mit der bereits erwähnten diffusioskontrollierten Clusteraggregation (*diffusion limited cluster aggregation*, DLCA) vergleichen. Bei der DLCA können nicht nur Monomere, sondern, wie der Name schon sagt, auch Cluster mit unterschiedlicher Anzahl

Tabelle 3.2: Exponenten der Auftragung $R_{g,z}$ vs. t für die untersuchten Stöchiometrien und Konzentrationen in der Anfangs- und Endphase der Aggregation.

Stöchiometrie 1:4			Stöchiometrie 1:3			Stöchiometrie 1:5		
c [g/L]	τ_{Anfang}	$\tau_{t \geq 40 \text{ min}}$	c [g/L]	τ_{Anfang}	$\tau_{t \geq 40 \text{ min}}$	c [g/L]	τ_{Anfang}	$\tau_{t \geq 40 \text{ min}}$
7,61	3,16	0,19	6,53	2,98	0,32			
6,97	2,84	0,21	6,00	2,37	0,40			
6,34	0,93	0,25	5,45	2,14	0,44			
7,61	3,46	0,22 ⁽¹⁾	6,54	1,91	0,41	8,68	3,14	0,20 ⁽²⁾

(1) $\tau_{t \geq 30 \text{ min}}$, (2) $\tau_{t \geq 20 \text{ min}}$

von Monomeren aggregieren. Dabei ist allein die Diffusion der Teilchen für den Aggregationsprozess ausschlaggebend, da jeder Kontakt zu einer Clusterbildung führt. Für den Exponenten wird hier ein Wert von $\tau = 1/1,8 = 0,56$ gefunden [50, 51]. Es handelt sich hierbei um die inverse fraktale Dimension des Clusters. Ein Vergleich mit den experimentellen Werten in Tabelle 3.2 zeigt, daß weder zu Beginn, noch zum Ende der Aggregation eine Übereinstimmung mit dem DLCA-Modell gefunden wird. Innerhalb der ersten Minuten sind die experimentellen Werte deutlich größer als 0,56, wohingegen in der Endphase signifikant kleinere Werte vorliegen. Das DLCA-Modell läßt sich also auf die Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation für die untersuchten Stöchiometrien und Konzentrationen nicht anwenden. Bei der reaktionskontrollierten Clusteraggregation (*reaction limited cluster aggregation*, RLCA) führt nicht jeder Kontakt von Teilchen zu einer Ausbildung von Clustern. Für diesen Fall findet man ein Exponentialgesetz der Form [51, 52]

$$R_{g,z} \propto e^{const \cdot t} \quad (3.5)$$

was ebenfalls nicht beobachtet wird. Damit kann auch dieses Aggregationsmodell nicht auf den vorliegenden Fall übertragen werden.

Lassen sich die beobachteten Kinetiken auch nicht direkt einem bestimmten Mechanismus oder Modell zuordnen, so kann doch aufgrund des in allen Fällen gleichen Verlaufs eine Aussage über die entstehenden Teilchen gemacht werden. Am Anfang bilden sich relativ schnell große Teilchen aus, wobei dann allerdings in allen Fällen ein starke Verlangsamung der Radienzunahme eintritt. Dies läßt sich damit erklären, daß die am Anfang entstandenen Strukturen kompakter werden, z. B. durch Einbau von Monomeren im „Inneren“ der entstehenden Aggregate, und dadurch im

weiteren Verlauf langsamer an Größe zunehmen. Weitere Informationen über den Wachstumsmechanismus und die Struktur der entstehenden Teilchen selbst können aus einer Auftragung des Trägheitsradius gegen die entsprechende Molmasse ermittelt werden. Für selbstähnliche Systeme gilt das folgende Exponentialgesetz

$$R_{g,z} \propto M_w^\alpha \quad (3.6)$$

Die bekanntesten Beispiele sind hier Stäbchen mit $\alpha = 1,0$, Knäule mit $\alpha = 0,5 - 0,6$ [39] und Kugeln mit $\alpha = 0,33$. Cluster nach DLCA und RLCA besitzen ein α von 0,57 [50, 51] und 0,48 [51, 52]. In den Abbildungen 3.10, 3.11 und 3.12 sind die entsprechenden Auftragungen für die untersuchten Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregationen dargestellt. Ein durchgängiges Exponentialverhalten kann lediglich für die kleinste Konzentration sowohl bei der 1:4 als auch bei der 1:3 Stöchiometrie mit $\alpha = 0,19$ und $\alpha = 0,23$ festgestellt werden. Alle anderen Konzentrationen weisen zwei Bereiche mit unterschiedlichen Exponenten auf. Die 1:4 Mischungen liefern Exponenten zwischen 0,12 und 0,36. Im Fall der 1:3 Mischungen wird ein Bereich von 0,18 bis 0,42 abgedeckt. Die 1:5 Stöchiometrie liefert Exponenten von 0,14 und 0,37. In Tabelle 3.3 sind alle Werte aufgelistet. Demnach sind die experimentellen Exponenten für die Endphase der Aggregation deutlich kleiner, als man es für die oben genannten Systeme erwarten würde. Lediglich für die Anfangsphase können mit Exponenten zwischen 0,29 und 0,42, und hier auch nur für die höheren Konzentrationen, Werte im Bereich für Kugeln erreicht werden.

DLCA und RLCA können also auch von dieser Seite aus als mögliche Modelle der Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation ausgeschlossen werden. Die Diskussion der anderen selbstähnlichen Modelle muß allerdings etwas vorsichtiger gehandhabt werden. Generell ist in Betracht zu ziehen, daß das Wachstum bereits vorhandener

Tabelle 3.3: Exponenten der Auftragung $R_{g,z}$ vs. M_w für die untersuchten Stöchiometrien und Konzentrationen.

Stöchiometrie 1:4			Stöchiometrie 1:3			Stöchiometrie 1:5		
c [g/L]	α		c [g/L]	α		c [g/L]	α	
7,61	0,33	0,12	6,53	0,42	0,18			
6,97	0,29	0,14	6,00	0,38	0,19			
6,34	0,19		5,45	0,23				
7,61	0,36	0,14	6,54	0,33	0,20	8,68	0,37	0,14

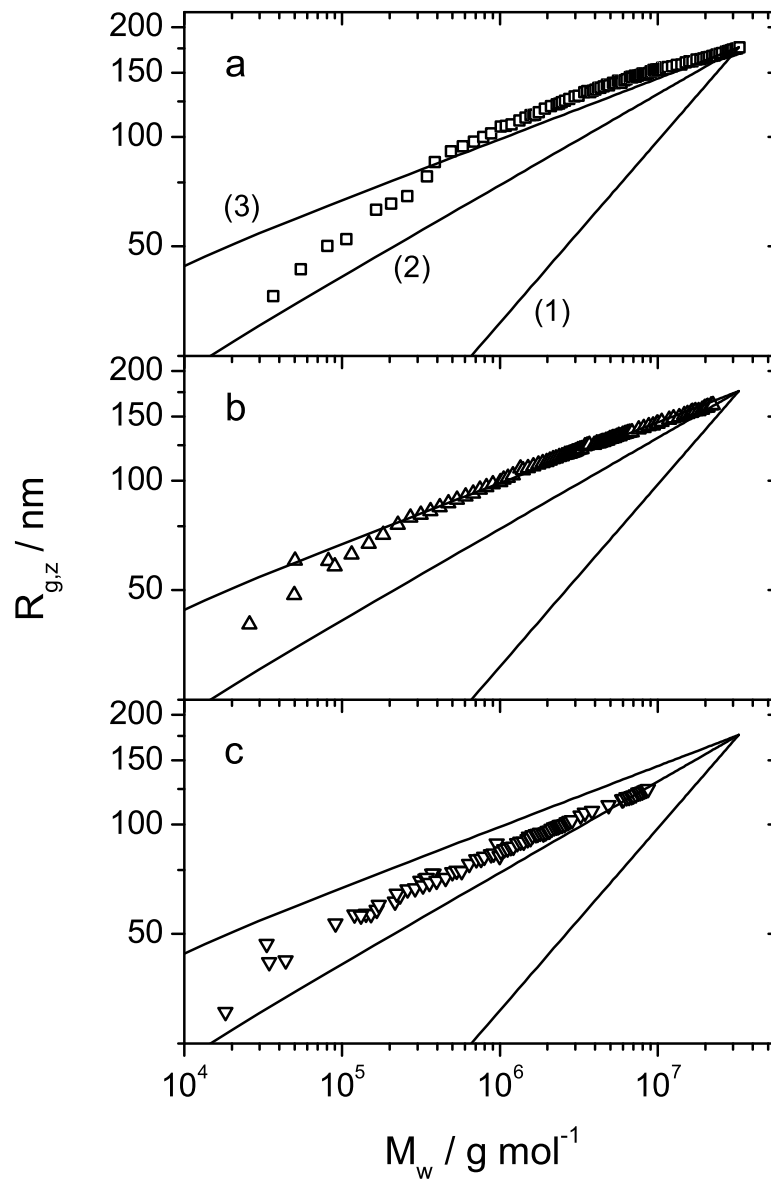


Abbildung 3.10: Auftragung der Trägheitsradien in Funktion der Molmasse für die 1:4 Stöchiometrien mit Gesamtkonzentrationen von 7,61 g/L (□), 6,97 g/L (Δ) und 6,34 g/L (▽). Die eingezeichneten Geraden stellen Exponentialgesetze für Monomer-Aggregatgemische von Stab (1), Knäuel (2) und Kugel (3) dar.

Aggregate durch Verbrauch von Monomeren erfolgt. Demnach liegt in Abhängigkeit von der Zeit eine Mischung aus Monomeren und bereits gebildeten Aggregaten vor.

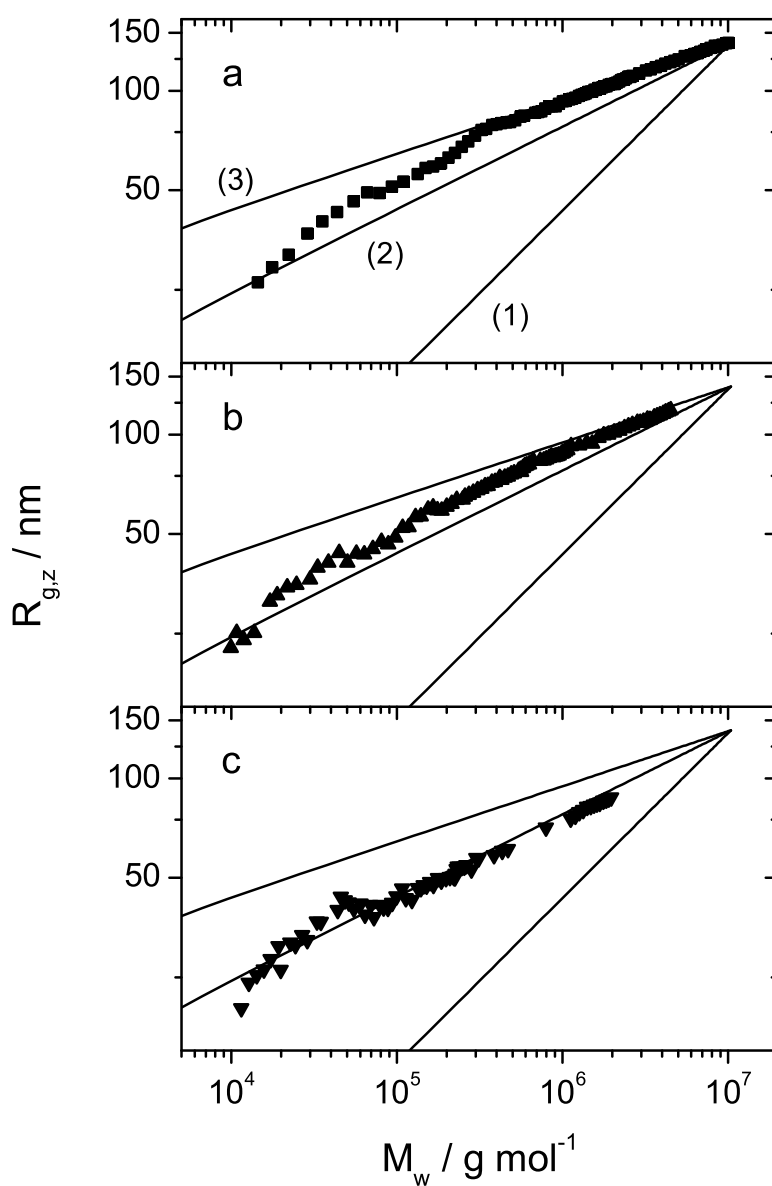


Abbildung 3.11: Auftragung der Trägheitsradien in Funktion der Molmasse für die 1:3 Stöchiometrien mit Gesamtkonzentrationen von 6,53 g/L (■), 6,00 g/L (▲) und 5,45 g/L (▼). Die eingezeichneten Geraden stellen Exponentialgesetze für Monomer-Aggregatgemische von Stab (1), Knäuel (2) und Kugel (3) dar.

Im vorliegenden Fall ist nur die Gesamtkonzentration c bekannt, die sowohl Monomer als auch Aggregat beinhaltet (also die gesamte Einwaage). Gleichung 3.2 liefert folglich die gewichtsmittlere Molmasse M_w des Gemisches aus den noch vorhandenen Monomeren und den bereits gebildeten Aggregaten. Da die

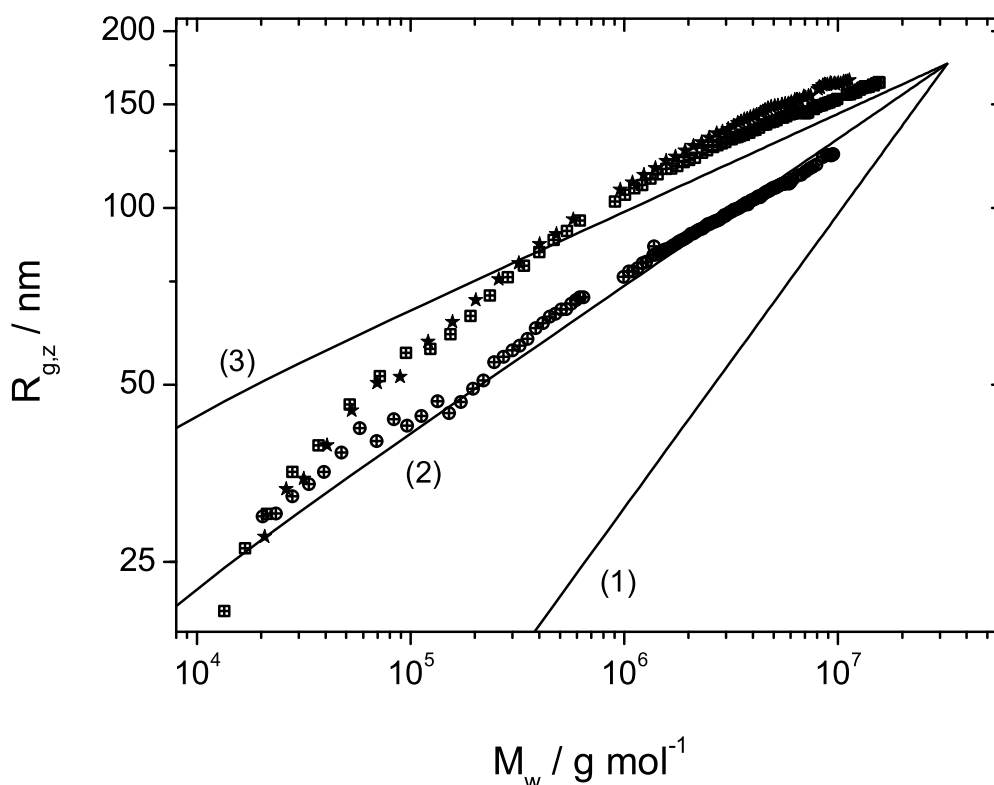


Abbildung 3.12: Auftragung der Trägheitsradien in Funktion der Molmasse für unterschiedliche Stöchiometrien mit 1:5 / 8,68 g/L ($\star$), 1:4 / 7,61 g/L ($\boxplus$) und 1:3 / 5,45 g/L ($\oplus$) (Konzentrationen ebenfalls als Gesamtkonzentration). Die eingezeichneten Geraden stellen Exponentialgestze für Monomer-Aggregatgemische von Stab (1), Knäuel (2) und Kugel (3) dar.

Exponentialgesetze für die obigen selbstähnlichen Modelle Stab, Knäuel und Kugel sich aber nur auf reine Aggregate beziehen, wären demnach für einen direkten Vergleich die separaten Konzentrationen von Monomer und Aggregat zu jedem Zeitpunkt notwendig [53], welche aber nicht zur Verfügung stehen.

Um den Einfluß der Monomeren zu quantifizieren, wurden für die Modellsysteme Stab, Knäuel und Kugel jeweils $R_{g,z}$ - und M_w -Werte zu verschiedenen Aggregationszeiten berechnet. Dabei wurde ein Monomeradditionsmechanismus zugrunde gelegt, das heißt das Aggregat wächst ausschließlich durch Addition von Monomereinheiten. In Abbildung 3.13 sind die Ergebnisse der Simulation für den monodispersen Fall von Stab, Knäuel und Kugel, sowie die entsprechenden Linearfits ab einem Umsatz von 10 % dargestellt. Die Exponenten entsprechen hier-

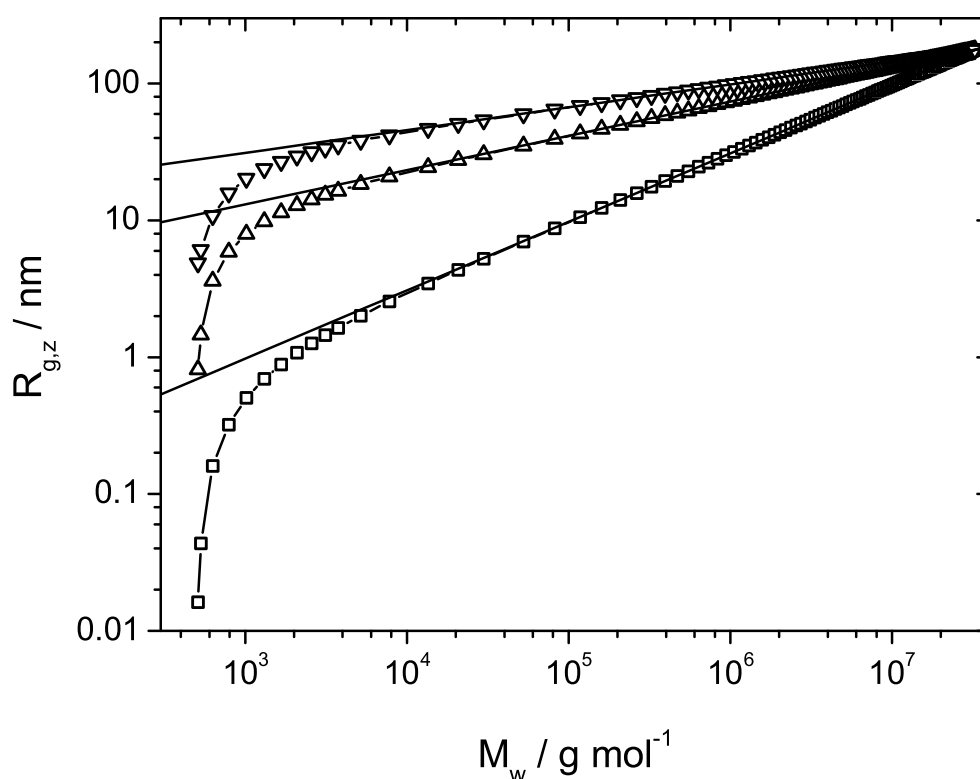


Abbildung 3.13: Theoretische Abhängigkeit der Trägheitsradien von der Molmasse unter Berücksichtigung des Monomeranteils für monodisperse Aggregate. Die eingezeichneten Geraden entsprechen Linearfits für einen Bereich von 10 bis 100 % Umsatz. Polydispersität führt zu einer Parallelverschiebung der Kurven. Stab ($\square$), Knäuel ($\triangle$), Kugel (∇).

bei der Hälfte derjenigen, welche für reine Aggregate vorliegen. Dies gilt ebenso für den polydispersen Fall, der ebenfalls berechnet wurde. Allerdings liegt hier ein Parallelversatz der Kurven zu größeren Trägheitsradien vor, der für die Exponenten unerheblich ist und somit für die weitere Diskussion nicht berücksichtigt werden muß. Für eine detaillierte Beschreibung der Simulation sei auf den Anhang verwiesen. Tabelle 3.4 gibt eine Übersicht über die ermittelten Exponenten mit und ohne Berücksichtigung der Monomeren. Zum besseren Vergleich von experimentellen und simulierten Steigungen sind in den Abbildungen 3.10, 3.11 und 3.12 auch die berechneten Kurven der Monomer-Aggregatgemische eingezeichnet. Es zeigt sich deutlich, daß selbst unter Berücksichtigung des Monomeranteils die Exponenten der Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation nicht richtig wiedergegeben werden können. Für das Stabmodell sind alle experimentellen Werte zu klein. Im Fall des Knäuelmodells liegt lediglich für die kleinste Konzentration der 1:3 Stöchiometrie

Tabelle 3.4: Exponent α für reine Aggregate und Monomer-Aggregatgemische.

Stab		Knäuel		Kugel	
$\alpha_{Aggr.}$	$\alpha_{Aggr.+Monom.}$	$\alpha_{Aggr.}$	$\alpha_{Aggr.+Monom.}$	$\alpha_{Aggr.}$	$\alpha_{Aggr.+Monom.}$
1,0	0,50	0,60 - 0,50	0,30 - 0,25	0,33	0,17

mit $\alpha = 0,23$ eine relativ gute Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie vor. Die restlichen experimentellen Kurven decken mit $0,12 < \alpha < 0,20$ einen Bereich ab, in dem sich auch das Kugel-Monomermodell befindet. Allerdings läßt die große Spanne von 0,12 bis 0,20 keine eindeutige Zuordnung zu letzterem Modell zu. Vielmehr kann an dieser Stelle nur die Aussage getroffen werden, daß aufgrund der kleinen Exponenten zum Ende des beobachteten Zeitfensters relativ kompakte Strukturen entstehen.

Weitere Informationen über die Struktur der im Laufe der Aggregation entstehenden Teilchen können aus den entsprechenden Formfaktoren gewonnen werden (siehe Abschnitt 2.1.3). Um die Vergleichbarkeit zwischen Theorie und Experiment zu vereinfachen, wird in allen Darstellungen des Formfaktors eine Auftragung gegen die dimensionslose Variable u mit

$$u = q \cdot R_{g,z} \quad (3.7)$$

gewählt. Da bei der Aggregation der Trägheitsradius wächst, werden dementsprechend mit der Zeit auch größere u -Werte erreicht. Der q -Bereich bleibt natürlich konstant. Für selbstähnliche Systeme wie z. B. Stab, Knäuel oder Kugel fallen die Kurven bei unterschiedlichen Trägheitsradien zu einer Gesamtkurve zusammen. Abbildung 3.14a zeigt dies für die oben genannten selbstähnlichen Systeme, sowie für drei experimentelle Kurven in Form der KRATKY-Auftragung u^2P vs. u (siehe Abschnitt 2.1.3). Letztere sind der höchsten Konzentration der 1:4 Stöchiometrie zu verschiedenen Zeiten entnommen. Keines der selbstähnlichen Modelle Stab (1), Knäuel (2) und Kugel (3) gibt den experimentellen Verlauf korrekt wieder. Weiterhin bilden die experimentellen Kurven bis zu einem q -Wert von $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ eine „Masterkurve“ mit einem Maximum bei $u \approx 2,5$ aus. Für $q > 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ zeigt sich jeweils ein Aufknicken der Streukurven.

Vor der weiteren Strukturanalyse soll an dieser Stelle noch auf einen möglichen Einfluß des Ausgeschlossenen Volumens also des A_2 -Wertes auf die Streukurven

eingegangen werden. Prinzipiell kann nur gesagt werden, daß aufgrund des unbekannten Umsatzes der Einfluß des A_2 -Wertes sehr schlecht abzuschätzen ist. Allerdings sollte er aufgrund der Tatsache, daß eine Aggregation vorliegt, ohnehin nur einen geringen Einfluß haben. Der A_2 -Wert wird daher im Folgenden nicht weiter berücksichtigt.

Das in Abbildung 3.14a beobachtete Maximum liefert weitere Hinweise zur Struktur der Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregate. Nach BURCHARD [54] wird ein solches Maximum durch verzweigte Strukturen begründet. In [55] ist eine Übersicht über verschiedene Möglichkeiten der Verzweigung und deren Einfluß auf das Streuverhalten der Teilchen gegeben. Folgende Modelle lassen sich hierbei diskutieren:

- Sterne mit f Armen und einer monodispersen Armlängenverteilung [56, 57],
- Sterne mit f Armen und einer polydispersen Armlängenverteilung [58],
- statistisch verzweigte f -funktionelle Polykondensate (A_f -Typ) [59],
- nicht-statistisch verzweigte Polykondensate (ABC - und ABB -Typ) [54, 60],
- dendritisch verzweigte Microgele (Soft-Sphere) [61].

Die Unterscheidung der obigen Verzweigungstypen ist nach BURCHARD [54, 55] durch eine KRATKY-Darstellung des Formfaktors möglich. Demnach besitzen sowohl sternförmig verzweigte Teilchen als auch solche vom Typ der nicht-statistisch verzweigten Polykondensate und dendritisch verzweigten Microgele im KRATKY-Plot ein Maximum. Die Position des Maximums hängt dabei vom Modell und vom Verzweigungsgrad ab.

Teilchen vom Typ der statistisch verzweigten Polykondensate zeigen im KRATKY-Plot kein Maximum, da die durch die Verzweigung bedingte Ausbildung eines Maximums durch die hohe Polydispersität der Molmassenverteilung vollständig kompensiert wird [55, 62]. Die Streukurve von Sternen mit monodispersen Armen und einer Armzahl von $f = 3$ zeigt zwar eine korrekte Beschreibung bis ca. $u = 2,6$, liefert aber noch kein Maximum. Erst für größere Armzahlen bildet sich ein Maximum aus, welches allerdings bei signifikant kleineren u - und $u^2P(u)$ -Werten auftritt als das der experimentellen Kurven. Gleiches gilt für den Kurvenverlauf dendritischer Microgele. Teilchen mit einer Generation besitzen den gleichen Kurvenverlauf wie monodisperse Sterne mit $f = 3$. Für größere Generationszahlen bildet sich relativ zu den Meßwerten ein zu tiefes Maximum aus. Die beiden zuletzt diskutierten Modelle sind in Abbildung 3.14b eingezeichnet (Kurve (1)).

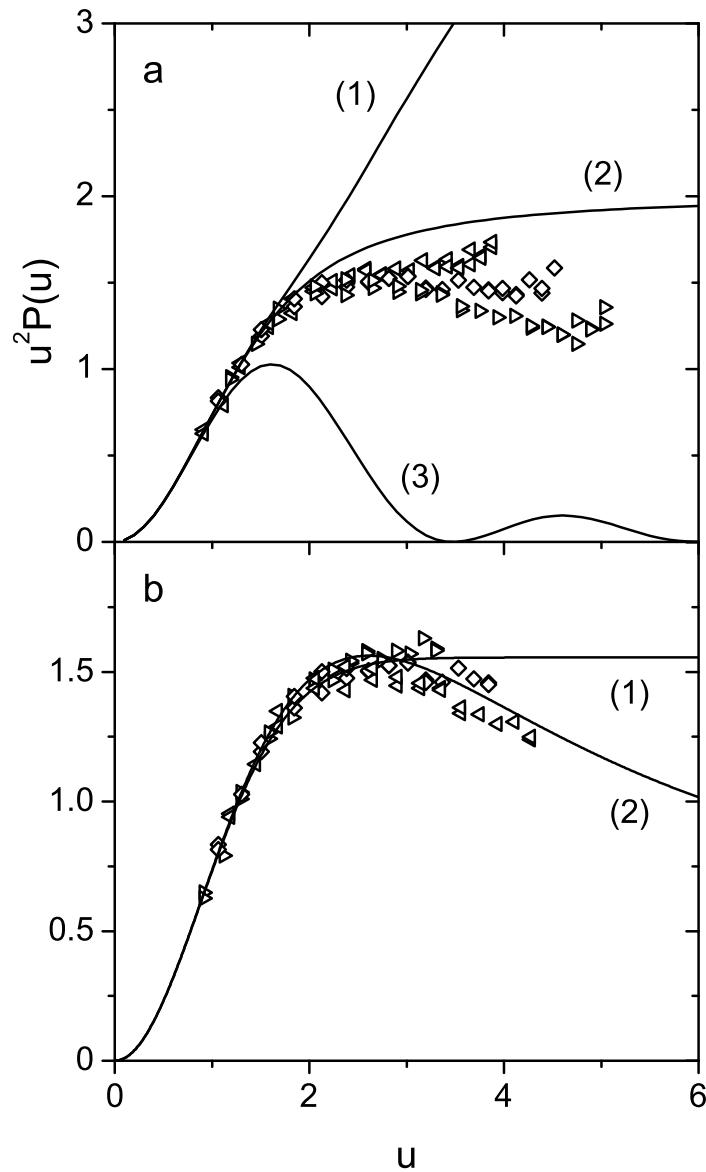


Abbildung 3.14: (a) KRATKY-Plot dreier Streukurven der 1:4 Stöchiometrie mit $c = 7,61 \text{ g/L}$ zu drei unterschiedlichen Aggregationszeiten $t = 15$ ($\triangleleft$), 25 ($\diamond$) und 45 min ($\triangleright$). Alle Kurven zeigen für $q > 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ ein Aufknicken. Als Vergleich sind die theoretischen Kurven für Stab (1), Knäuel (2) und Kugel (3) eingezeichnet. (b) Gleiche Abbildung wie unter (a), allerdings nur für $q < 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$. Eingezeichnet sind die theoretischen Kurven für monodisperse Sterne mit einer Armzahl $f = 3$ (identisch mit dendritischem Microgel mit einer Generation) (1), sowie polydisperse Sterne mit einer Armzahl von $f = 25$ (2).

Betrachtet man Sterne mit einer polydispersen Armlängenverteilung, so zeigt sich ab einer bestimmten Armzahl eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment. Der Formfaktor berechnet sich nach dem Ausdruck

$$P(u) = \frac{1 + u^2/(3f)}{[1 + (f+1)u^2/(6f)]^2} \quad (3.8)$$

und ist in Abbildung 3.14b Kurve (2) dargestellt. Damit die experimentellen Daten so gut beschrieben werden können, müssen allerdings zwei sehr unwahrscheinliche Annahmen für dieses Modell im vorliegenden Fall gemacht werden. Zunächst ist eine hohe Armzahl von $f = 25$ notwendig, um die Position des beobachteten Maximums richtig zu beschreiben. Daß sich solche Strukturen in einem Aggregationsprozess ausbilden, kann schon für sich genommen als sehr unwahrscheinlich erachtet werden. Als zweites müssen alle Arme noch einen gemeinsamen Ursprung haben, daß heißt, sich im Zentrum des Sterns treffen (sonst wäre es kein Stern mit 25 Armen). Letzteres ist gerade bei dieser hohen Armzahl als sehr unwahrscheinlich anzusehen.

Mathematisch betrachtet ist der Formfaktor von Sternen mit polydisperser Armlängenverteilung identisch mit dem Formfaktor der sogenannten nicht-statistisch verzweigenden Polykondensate, dem letzten Modell in der obigen Aufzählung. Ersetzt man die Armzahl f durch die Beziehung $1/\Gamma$, so erhält man folgenden Ausdruck

$$P(u) = \frac{1 + \Gamma u^2/3}{[1 + (1 + \Gamma)u^2/6]^2} \quad (3.9)$$

der einen identischen Verlauf hat wie Gleichung 3.8. Das physikalische Modell welches diesem Formfaktor zugrunde liegt, ist jedoch ein völlig anderes als das der Sterne mit polydisperser Armlängenverteilung. Das bereits in Abschnitt 2.1.3 eingeführte inverse Streuproblem läßt sich an dieser Stelle nochmals veranschaulichen. Die Interpretation der experimentellen Streukurven beziehungsweise der Formfaktoren ist aufgrund des Informationsverlustes der Dichte-Dichte-Korrelation nicht eindeutig. Prinzipiell können die experimentellen Daten mit Hilfe eines Sterns mit polydisperser Armlängenverteilung oder mit einem nicht-statistisch verzweigenden Polykondensat beschrieben werden. Eine Skizze des letzteren Modells ist in Abbildung 3.15 gezeigt. Es zeichnet sich im allgemeinsten Fall durch Monomereinheiten mit drei funktionellen Gruppen A , B und C aus. Dabei kann nur A mit B oder mit C reagieren, alle anderen Reaktionen sind ausgeschlossen. Sind die Reaktivität β der B -Gruppe und die Reaktivität γ der C -Gruppe unterschiedlich, so entsteht die in Abbildung 3.15 skizzierte Struktur. Dieses ABC -Polykondensat ist bei der Interpretation der experimentellen Streukurven gegenüber dem Sternmodell vorzuziehen, da es bedeutend einfacher ist und keine physikalisch unwahrscheinlichen Annahmen voraussetzt. Ein Beispiel für das ABC -Polykondensat ist das Glykogen, welches aus α -D-Glucopyranose als Monomereinheit aufgebaut ist.

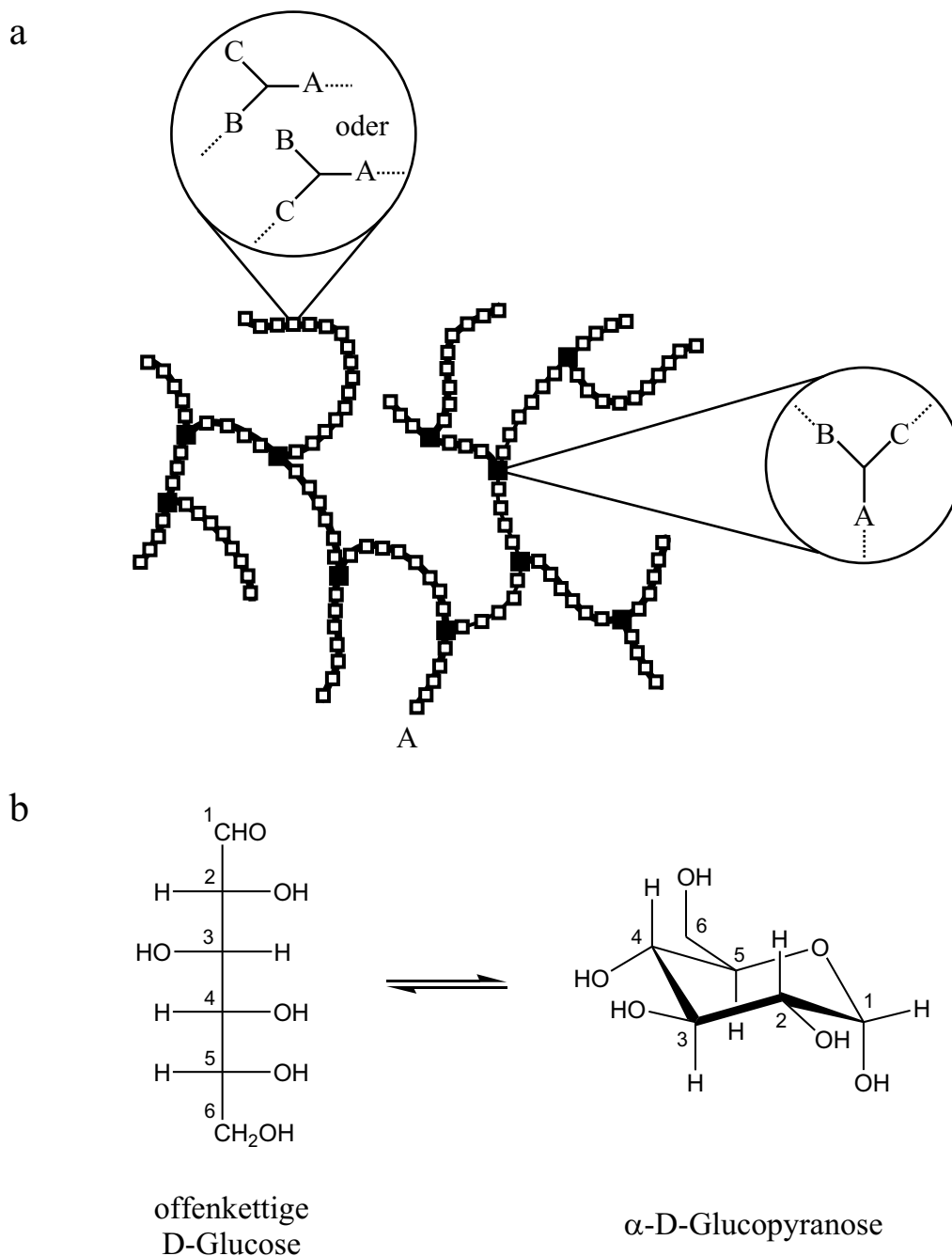


Abbildung 3.15: a: Skizze eines nicht-statistisch verzweigten Polykondensats vom ABC-Typ mit einer unterschiedlichen Reaktivität von B- und C-Gruppen [54]. Verzweigungspunkte enthalten Monomere, in denen alle drei funktionellen Gruppen reagiert haben. In den linearen Segmenten sind nur zwei funktionelle Gruppen eine Reaktion eingegangen. b: Die α -D-Glucopyranose als Beispiel für ein ABC-Monomer. Die Hydroxygruppen in den Positionen C1, C4 und C6 haben unterschiedliche Reaktivitäten. Aus α -D-Glucopyranose aufgebaute Polysaccharide wie Glukose zeigen daher die unter a dargestellte verzweigte Struktur, wobei lineare Segmente aus C1-C4 Verknüpfungen und Verzweigungen durch zusätzliche C1-C6 Verknüpfungen aufgebaut werden.

Die Hydroxy-Gruppen an C1, C4 und C6 entsprechen der A-, B- und C-Gruppe. Die unterschiedliche Aktivität der funktionellen Gruppen wird sowohl durch die chemische Unterscheidung in alkoholische (an C4 und C6) und aldehydische (an C1) OH-Gruppen, als auch durch eine enzymatisch katalysierte Polymerisation der α -D-Glucopyranose bedingt.

Im Modell läßt sich der Grad der Verzweigung durch den Parameter Γ beschreiben

$$\Gamma = \left[\beta + \gamma + \frac{2\beta\gamma}{1 - \beta - \gamma} \right]^{-1} (\beta^2 + \gamma^2) \quad (3.10)$$

Für $\Gamma = 1$ liegt eine lineare Kette vor, während für $\Gamma < 1$ Verzweigungen ausgebildet werden, bis mit $\Gamma = 0$ eine maximale Verzweigung der ABC-Polykondensate erreicht ist. In Abbildung 3.16 ist der nach Gleichung 3.9 berechnete Formfaktor im KRATKY-Plot dargestellt. Die Streukurven der Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregate lassen sich in dem Bereich $q < 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ mit einem Γ von 0 bis 0,1 relativ gut beschreiben. Anstieg, Maximum und Abklingen der Kurve werden korrekt wiedergegeben. Es sei an dieser Stelle aber betont, daß zwischen den Monomeren der tatsächlich existierenden Aggregate und den trifunktionellen Monomeren des ABC-Polykondensat-Modells keinesfalls eine phänomenologische Übereinstimmung vorliegen muß.

Zusammenfassend ergibt sich bisher folgendes Bild der entstehenden Strukturen: Die im Verlauf der Aggregation entstehenden Teilchen zeigen im KRATKY-Plot Formfaktoren mit einem Maximum, welches durch eine Verzweigung hervorgerufen wird. Der Verlauf der Formfaktoren und die Position des Maximums erlauben einen Vergleich mit bereits bekannten verzweigenden Strukturen. Demnach können die Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregate wie trifunktionelle Polykondensate vom ABC-Typ behandelt werden. Polykondensate dieses Typs bilden eine Struktur aus, wie sie in Abbildung 3.20 dargestellt ist. Die Verzweigungspunkte werden hierbei durch flexible lineare Segmente verknüpft.

Der für die Diskussion des Formfaktors nicht berücksichtigte q -Bereich von $q > 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ zeigt im KRATKY-Plot 3.14a ein Aufknicken der einzelnen Formfaktoren. Dieses Aufknicken wird in ein Plateau umgewandelt, wenn die experimentellen Daten in einem sogenannten HOLTZER-Plot, $uP(u)$ vs. u , dargestellt werden (vgl. Abbildung 3.17). Einem $uP(u)$ -Plateau liegt ein q^{-1} -Verhalten der streuenden Teilchen zugrunde, wie es für stäbchenartige [27] und semiflexible Strukturen [63] der Fall ist. Aus der Höhe des Plateaus der ursprünglichen Streukurven in einer

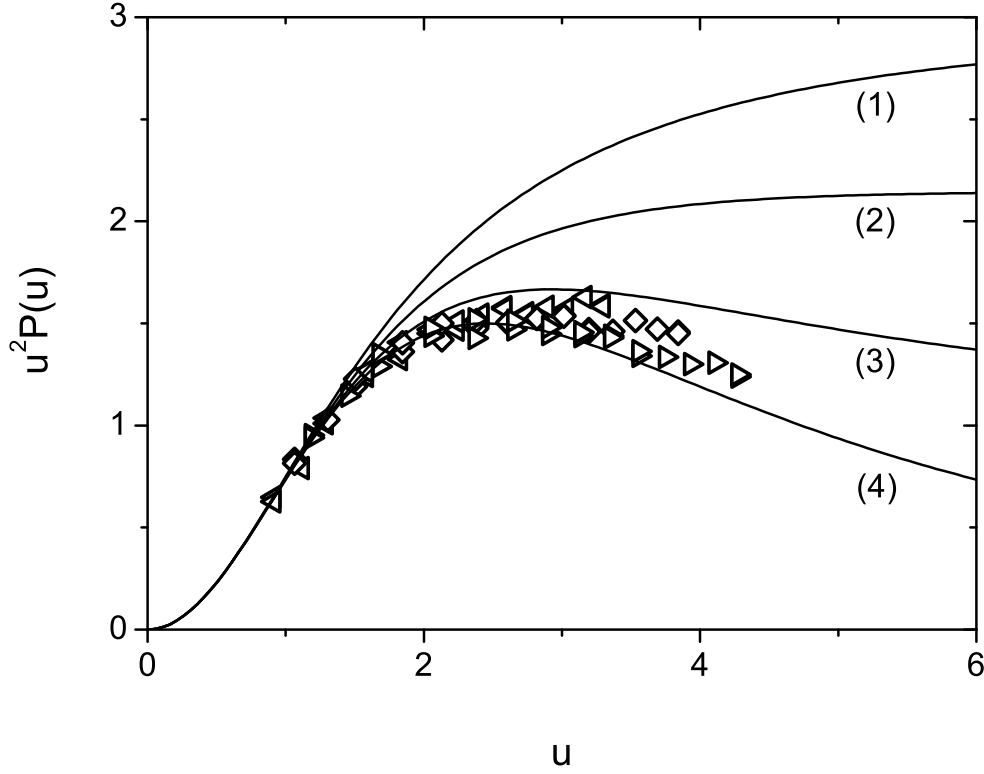


Abbildung 3.16: Gleicher Datensatz wie in Abbildung 3.14b. Eingezeichnet sind die theoretischen Kurvenverläufe für das ABC-Polykondensatmodell mit von (1) nach (4) zunehmender Verzweigung: $\Gamma = 1$ (1) (lineare Kette), $\Gamma = 0,3$ (2), $\Gamma = 0,1$ (3) und $\Gamma = 0$ (4). Der q -Bereich ist wiederum auf $q < 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ beschränkt, was einem u -Bereich von $u < 3,33$, $u < 3,94$ und $u < 4,37$ entspricht.

(nicht normierten) $qP(q)$ vs. q Auftragung kann dann nach HOLTZER [27] mit Hilfe der Gleichung

$$q \frac{\Delta R_\theta}{Kc} = \pi M_L = \pi \frac{M_w}{L_w} \quad (3.11)$$

die mittlere Massenbelegung oder Masse pro Einheitslänge M_L und daraus bei bekanntem M_w die gewichtsmittlere Konturlänge L_w berechnet werden. Für die vorliegenden Aggregationen wird bei der Auswertung der q -Bereich von $2,75 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1} < q < 2,92 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ berücksichtigt.

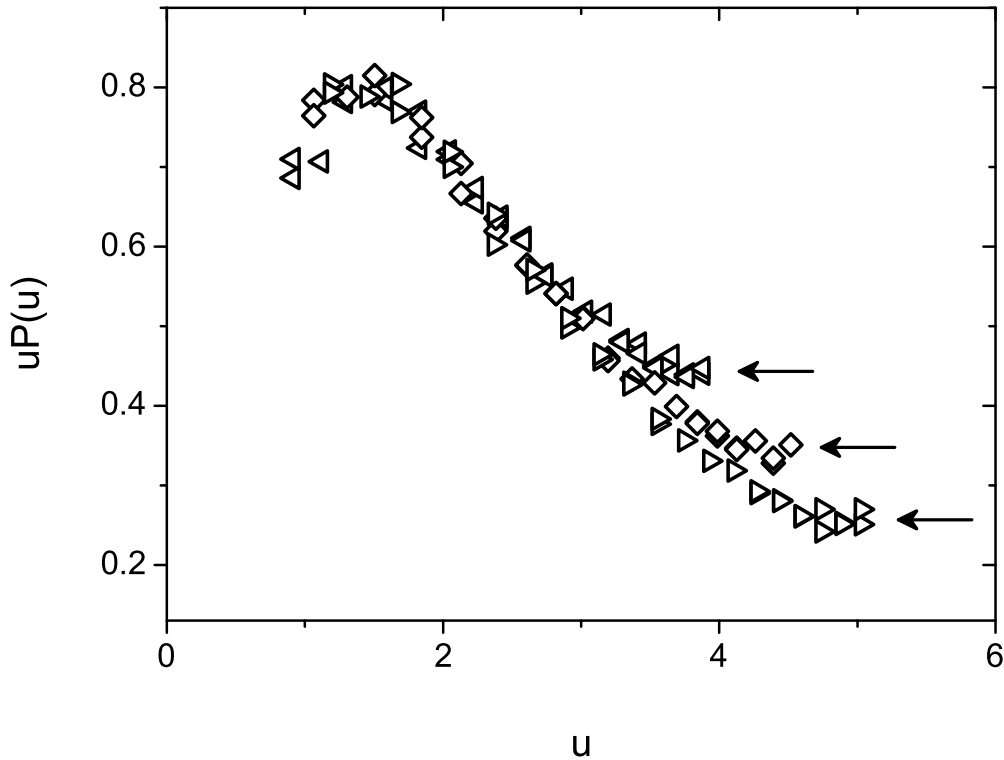


Abbildung 3.17: HOLTZER-Auftragung der Daten aus Abbildung 3.14a. Die Pfeile zeigen Bereiche mit einem q^{-1} -Verhalten an, welches sich in dieser Darstellung als Plateau zeigt.

Theoretisch wird das q^{-1} -Verhalten für monodisperse Stäbe ab $u > 1$ und für polydisperse Stäbe ab $u > 2$ erreicht. Dies bedeutet aber, daß bei gegebenem q -Bereich erst ab einer bestimmten Größe der streuenden Stäbchen ein Plateau im HOLTZER-Plot ausgebildet wird. Anhand des q -Wertes, ab dem das Plateau auftritt, kann die minimale Größe der zugrundeliegenden Stäbchen berechnet werden. Nach $u = qR_{g,z} = 2$ ergibt sich damit für den polydispersen Fall ein Trägheitsradius vom $R_{g,z} \approx 80 \text{ nm}$ und unter Verwendung von Gleichung A.11 eine Konturlänge von $L_w \approx 280 \text{ nm}$. Die Anwendung von Gleichung 3.11 wird für die Auswertung daher auf Streukurven mit $R_{g,z} > 100 \text{ nm}$ beschränkt. (Tatsächlich wird auch erst für diese Streukurven ein q^{-1} -Verhalten beobachtet.) Im Fall von $c = 5,45 \text{ g/L}$ der 1:3 Stöchiometrie werden keine Teilchen mit $R_{g,z} > 100 \text{ nm}$ im beobachteten Zeitfenster detektiert (siehe Abbildung 3.7) und somit wird diese Aggregation für die Auswertung nicht berücksichtigt.

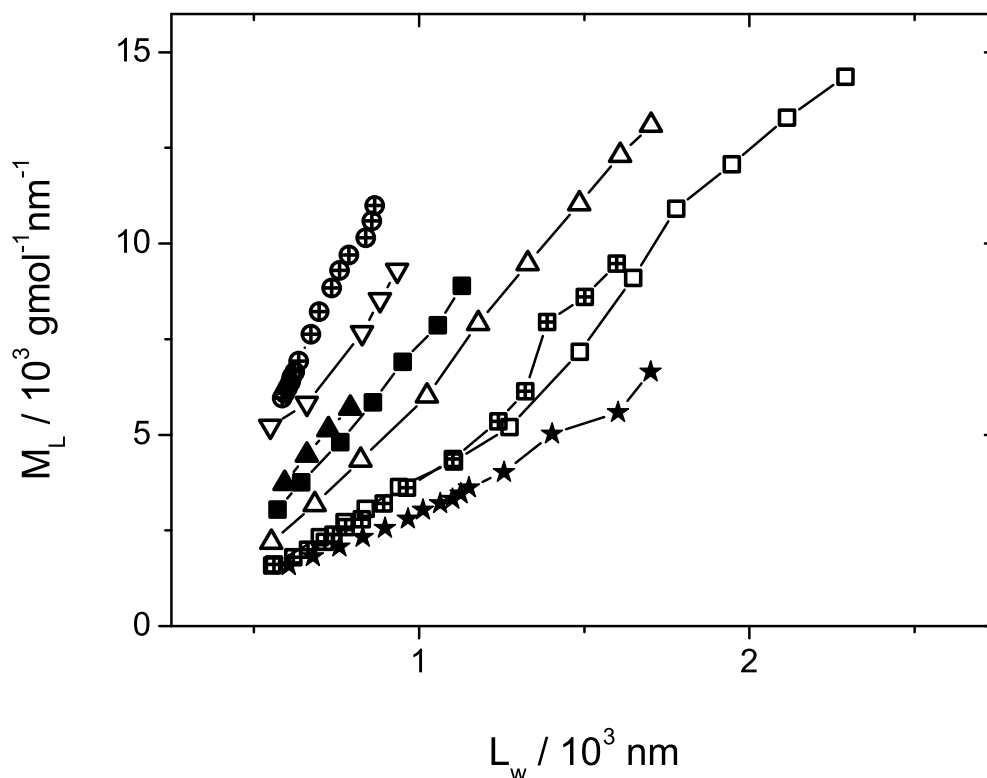


Abbildung 3.18: Die Masse pro Einheitslänge M_L gegen die gewichtsmittlere Konturlänge L_w für 1:4 Stöchiometrien mit Konzentrationen von 7,61 g/L ($\square$), 6,97 g/L ($\triangle$) und 6,34 g/L (∇), für 1:3 Stöchiometrien mit Konzentrationen von 6,53 g/L ($\blacksquare$), 6,00 g/L ($\blacktriangle$), sowie für unterschiedliche Stöchiometrien mit 1:5 / 8,68 g/L ($\star$), 1:4 / 7,61 g/L ($\boxplus$) und 1:3 / 5,45 g/L ($\oplus$). Die 1:3 Stöchiometrie mit 5,45 g/L kann aufgrund zu kleiner Trägheitsradien nicht ausgewertet werden.

In Abbildung 3.18 sind die nach Gleichung 3.11 berechneten Massen pro Einheitslänge M_L und die daraus unter Verwendung der entsprechenden Molmassen ermittelten Konturlängen L_w gegeneinander aufgetragen. (Nach wie vor handelt es sich bei allen Massen um relative Massen.) In allen Fällen zeigt sich eine Zunahme von M_L mit L_w . Dieses Verhalten läßt sich auf zwei Weisen interpretieren [53]. Dabei gilt es zu beachten, daß nach HUBER [64] die Ermittlung der Konturlänge durch eine zunehmende Verzweigung nicht beeinflusst wird, da alle linearen Segmente zu L_w beitragen. Einerseits erhöhen die zugrundeliegenden Teilchen mit fortschreitender Aggregation durch ein Lateralwachstum ihren Querschnitt. Andererseits ist das Lateralwachstum nur ein Artefakt [53], das wie folgt entsteht:

Während der Aggregation bildet sich eine immer größere Anzahl von linearen Segmenten mit einer großen Streukraft aus. Demgegenüber nimmt die Zahl an Monomeren, die praktisch kaum zur detektierten Streuung beitragen, ständig ab. In Gleichung 3.1 wird jedoch die Gesamtkonzentration c eingesetzt, welche die Gesamteinwaage beinhaltet und nicht die Konzentration an streuenden Partikeln. Unter einer ständig zunehmenden Anzahl an Aggregaten entspricht dann die für die Auswertung eingesetzte Konzentration c erst bei vollständigem Umsatz, wenn also keine Monomere mehr vorhanden sind, der Konzentration, welche in signifikant streuenden und damit „ M_L -besitzenden“ Teilchen vorliegt. Vorher ist diese Konzentration signifikant streuender Teilchen kleiner. Somit basiert die Berechnung von M_L in Gleichung 3.11 auf einer zu großen Konzentration und ist daher kleiner als es tatsächlich der Fall ist. Im weiteren Verlauf steigt die Konzentration der streuenden Teilchen und nähert sich der Gesamtkonzentration c an (c wird also immer weniger „zu groß“), so daß M_L steigt. Ob das beobachtete Lateralwachstum nur ein Artefakt ist oder dieses Artefakt zusätzlich von einem echten Dickenwachstum überlagert wird, kann anhand der vorliegenden Streukurven nicht entschieden werden.

Die einzelnen Kurven in Abbildung 3.18 zeigen entsprechend ihrer Konzentration einen Trend. Innerhalb einer bestimmten Stöchiometrie ist für ein gegebenes L_w die Masse pro Länge umso größer, je kleiner die zugehörige Konzentration ist und damit auch je langsamer die Aggregation verläuft. Ebenso läßt sich für die Variation der Stöchiometrie ein Trend erkennen. Je geringer der Naphthyridin-Anteil bei gleichbleibender Calix[4]aren-Konzentration ist, desto größer ist die mittlere Massenbelegung. Dabei ist der Unterschied zwischen einer 1:3 und 1:4 Stöchiometrie deutlich größer als der zwischen einer 1:4 und 1:5 Stöchiometrie.

Der Masse pro Einheitslänge kann eine Dicke der Filamente zugeordnet werden. Nimmt man eine Dichte von 1 g/mL und ein zylindrisch geformtes Filament an, so ergibt sich für die beobachtete mittlere Massenbelegung von $1500\text{ g/(mol nm)} < M_L < 15000\text{ g/(mol nm)}$ ein Querschnitt D von $1,8\text{ nm} < D < 5,6\text{ nm}$.

Die aus mittlerer Massenbelegung und Molmasse berechnete Konturlänge L_w kann in einem weiteren Schritt in Relation zum Trägheitsradius gesetzt werden. In Analogie zur Auftragung von $R_{g,z}$ vs. M_w (Abbildung 3.10 und 3.11) wird $R_{g,z}$ gegen L_w aufgetragen. Letzteres besitzt jedoch den Vorteil, daß L_w im Gegensatz zu Gleichung 3.1 von c unbeeinflusst bleibt, da sich die Einflüsse von c herauskürzen [64]. Abweichungen vom tatsächlichen Wert von L_w können nur durch Nichtberücksichtigung des ausgeschlossenen Volumens zustande kommen, welches im

vorliegenden Fall als vernachlässigbar angenommen wird.

Das Ergebnis der Auftragung von $R_{g,z}$ vs. L_w ist in Abbildung 3.19a dargestellt. Im Gegensatz zu den Abbildungen 3.10, 3.11 und 3.12 bildet sich unabhängig von der Konzentration und der Stöchiometrie eine einzige Kurve aus. Da nur eine „Masterkurve“ existiert, darf daraus der Schluß gezogen werden, daß in allen Fällen die entstehenden Aggregate die gleichen topologischen Eigenschaften besitzen. Diese Tatsache kann als Bestätigung für das q^{-1} -Verhalten im Bereich von $2,75 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1} < q < 2,92 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$ und als Rechtfertigung für die Anwendung der Gleichung 3.11 angesehen werden. Die Stabgeometrie kann noch von anderer Seite bestätigt werden. Für monodisperse Partikel mit einer Stabgeometrie gilt der Zusammenhang $R_g = L/\sqrt{12}$ bzw. $L/R_g = \sqrt{12} = 3,464$ [22]. Eine Erhöhung der Polydispersität führt zu einer kontinuierlichen Absenkung auf $L_w/R_{g,z} = 2$ im Falle von $z = 1$ (most probable distribution, SCHULZ-FLORY Verteilung [65]). Die Details der Berechnung sind in Anhang A.2 gegeben. In Abbildung 3.19b ist eine entsprechende Auftragung der Daten aus Abbildung 3.19a dargestellt. Wiederum liegen alle Punkte auf einer gemeinsamen Geraden. Daß die Gerade nicht horizontal verläuft, kann auf die Verzweigung zurückgeführt werden, da bei gleichbleibender Konturlänge der Trägheitsradius des verzweigten Teilchens kleiner ist als der des unverzweigten Teilchens und daher $L_w/R_{g,z} > 3,464$ ist. Unter der Annahme einer von den jeweiligen Aggregationsbedingungen unabhängigen Verzweigungsrate ergibt sich damit in der Auftragung $L_w/R_{g,z}$ vs. L_w eine Gerade mit positiver Steigung. Die Extrapolation auf $L_w \rightarrow 0$ liefert einen Achsenabschnitt von 3,20, was nach Anhang A.2 einem $z = 17$ entspricht. Das bedeutet, daß die stabförmigen Verbindungen zwischen zwei Verzweigungspunkten eher mono- als polydispers sind. Warum dies so gefunden wird, ist noch nicht völlig klar. Der Schnittpunkt der extrapolierten Geraden mit den Werten für die unverzweigten Stäbe ergibt eine Aussage über den Beginn der Verzweigung. Im vorliegenden Fall existieren demnach stabförmige Teilchen, die jedoch praktisch von Beginn an verzweigen.

Kombiniert man die Ergebnisse der strukturellen Untersuchungen, so ergibt sich folgendes Bild der Teilchen der Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation: Zu Beginn der Aggregation bilden sich stabförmige Aggregate aus, die im weiteren zeitlichen Verlauf verzweigen. Diese Verzweigung ist für kleine q -Werte von $q < 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$, und damit auf großer Längenskala, zu erkennen. Sie läßt sich in der Terminologie trifunktioneller Polykondensate beschreiben. Für große q -Werte von $q > 2,75 \cdot 10^{-2} \text{ nm}^{-1}$, und damit auf kleiner Längenskala, zeigt sich allerdings ein Stabcharakter der Struktur, welcher den Segmenten zwischen zwei Verzweigungspunkten entspricht. Damit liegt ein Widerspruch zu dem bisher angenommenen Verzweigungsmodell der ABC-Polykondensate vor, welches flexible

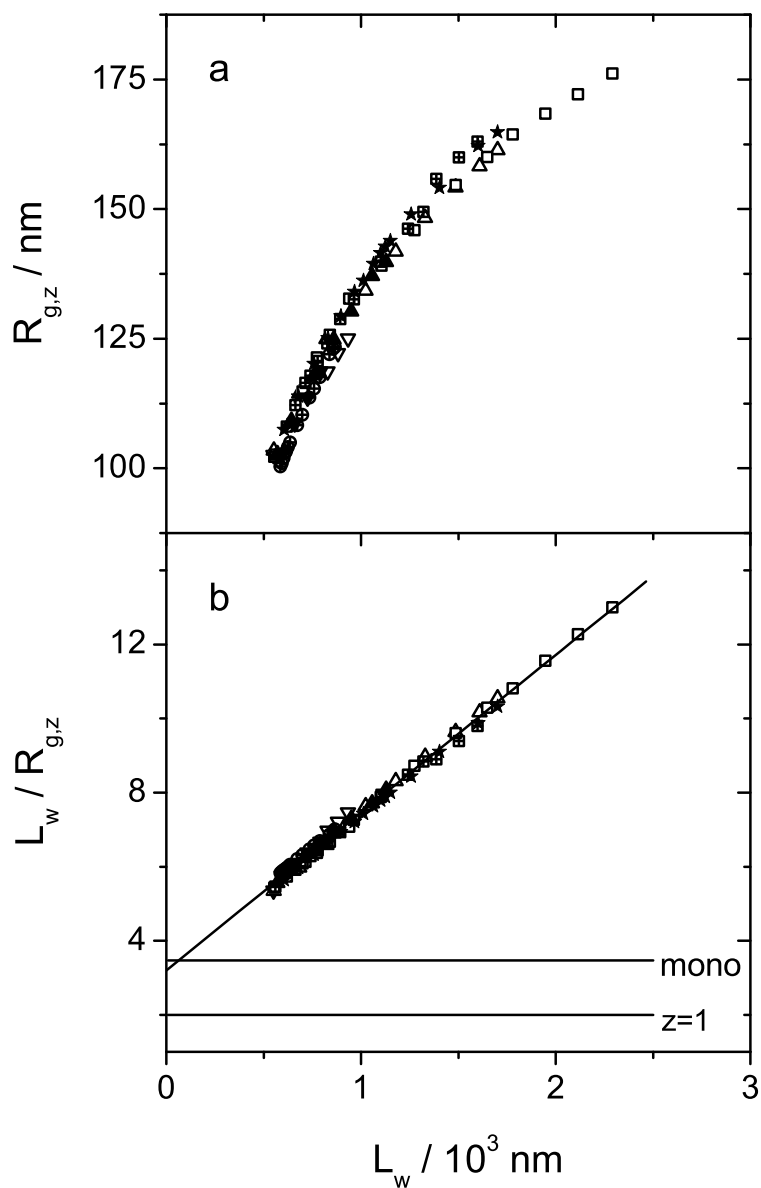


Abbildung 3.19: (a) Trägheitsradius $R_{g,z}$ als Funktion der gewichtsmittleren Konturlänge L_w für 1:4 Stöchiometrien mit Konzentrationen von 7,61 g/L ($\square$), 6,97 g/L ($\triangle$) und 6,34 g/L (∇), für 1:3 Stöchiometrien mit Konzentrationen von 6,53 g/L ($\blacksquare$), 6,00 g/L ($\blacktriangle$), sowie für unterschiedliche Stöchiometrien mit 1:5 / 8,68 g/L ($\star$), 1:4 / 7,61 g/L ($\boxplus$) und 1:3 / 5,45 g/L ($\oplus$). (b) Gleicher Datensatz wie unter (a), allerdings in Form von $L_w / R_{g,z}$ vs. L_w . Der lineare Fit liefert einen Achsenabschnitt von 3,20, was auf stabförmige Strukturen hinweist.

Segmente zwischen den Verzweigungspunkten voraussetzt. Bisher ist jedoch kein Formfaktor bekannt, der die beobachteten Strukturen über den gesamten q -Bereich

richtig wiedergibt, so daß mit einer Unterteilung in „nicht-statistische Verzweigung“ und „Stab“ in Abhängigkeit vom q -Bereich eine konsistente Beschreibung der Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregate möglich ist. Abbildung 3.20 zeigt sowohl das ABC-Polykondensatmodell wie in Abbildung 3.15, als auch das zur Beschreibung des Experimentes modifizierte Modell mit Stäben zwischen zwei Verzweigungspunkten.

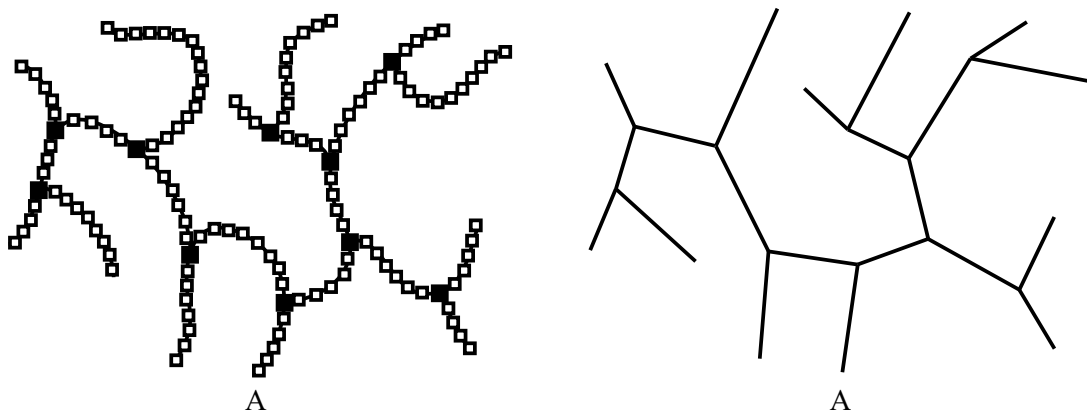


Abbildung 3.20: Modell des ABC-Polykondensats nach [54] mit flexiblen Segmenten zwischen zwei Verzweigungspunkten, sowie das modifizierte Modell mit Stäben zur Verbindung zweier Verzweigungspunkte.

3.3.2 Berechnung einer 1:4 Komplex-Struktur

Um eine Vorstellung über die Struktur der Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregate zu erhalten, werden Kraftfeldrechnungen mit dem Programmpaket MOE durchgeführt [66]. Bei der Kraftfeldmethode handelt es sich um ein Rechenverfahren, welches von den NEWTONschen Bewegungsgleichungen für Punktmassen ausgeht und für das Molekül ein (lokales) Energieminimum berechnet, indem es die einzelnen Atompositionen so variiert, daß die resultierende Kraft auf die einzelnen Atome minimiert wird. Die Kraft $\vec{F}(\vec{r})$ ist allgemein als negativer Gradient der potentiellen Energie $V(\vec{r})$ definiert

$$\vec{F}(\vec{r}) = -\nabla V(\vec{r}) = -\frac{\partial V(\vec{r})}{\partial r_i} \quad (3.12)$$

Für die skalare Funktion $V(\vec{r})$ wird dabei der folgende Ansatz gemacht

$$V(\vec{r}) = \underbrace{\sum V_{Bindung} + \sum V_{Winkel} + \sum V_{Torsion}}_{\text{gebunden}} + \underbrace{\sum V_{Coulomb} + \sum V_{vanderWaals}}_{\text{nicht-gebunden}} \quad (3.13)$$

welcher sowohl intra- als auch intermolekulare Wechselwirkungen beinhaltet. Die einzelnen Potentiale führen zu einem bestimmten Kraftfeld, in dem das zu untersuchende Molekül vorliegt. Die Auswahl der Potentialterme richtet sich sowohl nach den vorliegenden molekularen Gegebenheiten wie Molekülgröße, -konformation und -konfiguration, als auch nach den vorliegenden Elementen, wodurch eine Vielzahl von Kraftfeldern existiert [67, 68, 69, 70, 71]. Für die Berechnung der Calix[4]aren-Naphthyridin Komplexe ist ausschließlich das Merck Molecular Force Field 94x (MMFF94x) [69, 70, 71] mit einem Gradient von 10^{-5} eingesetzt worden.

In Abbildung 3.21 ist ein einzelner Komplex von Calix[4]aren und vier Naphthyridin-Molekülen gezeigt, wobei der Wechselwirkungsbereich zwischen Calix[4]aren und Naphthyridinen vergrößert dargestellt ist und daher die Undecylreste nicht vollständig zu sehen sind. Bereits ohne die vier Naphthyridin-Moleküle liegt das Calix[4]aren in der Pyridonform in einer *rccc*-Konformation vor, die durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Carbonyl- und Hydroxygruppen

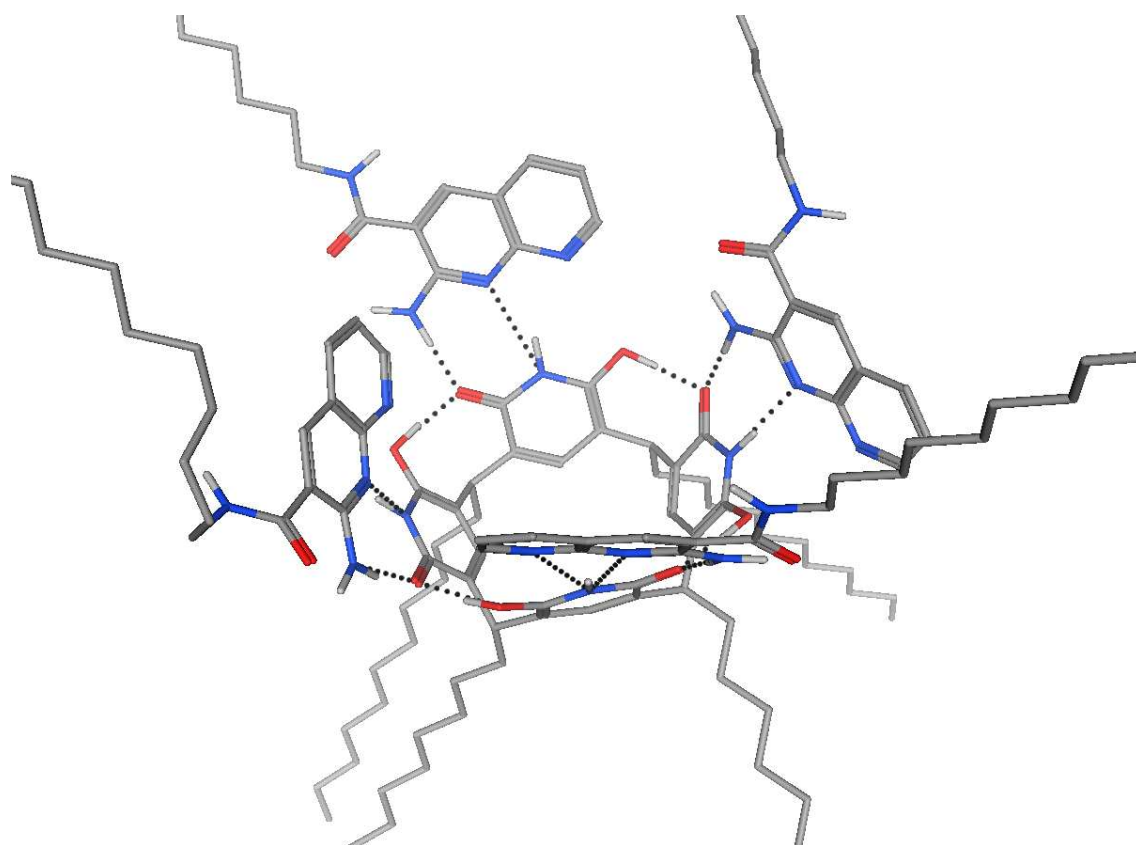


Abbildung 3.21: Struktur eines 1:4 Komplexes nach Berechnung mit dem MMFF94x Kraftfeld. Es bilden sich hauptsächlich jeweils zwei Wasserstoffbrückenbindungen zwischen einem Naphthyridin-Molekül und der Calix[4]aren-Krone aus.

stabilisiert wird. Dies deckt sich mit den Ergebnissen aus ^{13}C -NMR Messungen [36]. Bringt man entsprechend der ersten in Abbildung 3.3 dargestellten Wechselwirkung vier Naphthyridin-Moleküle oberhalb der Krone des Calix[4]arens an, so liefert eine Energieminimierung die in Abbildung 3.21 gezeigte Struktur. Hierbei gilt es zu beachten, daß sich zwischen Carbonyl- und Aminogruppe, sowie zwischen Amin- und Naphthyridinstickstoff, Wasserstoffbrückenbindungen vom Donor- und Akzeptortyp ausbilden und dadurch eine Sechsringstruktur entsteht. Eine dritte Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Hydroxygruppe und dem verbleibenden Naphthyridinstickstoff wird vom Programm nicht mehr angezeigt. Vermutlich liegt aber auch hier eine Wechselwirkung vor, die jedoch durch die Carbonylgruppe der nächsten Pyridoneinheit stark abgeschwächt wird.

In Abbildung 3.22 ist der gleiche Molkülausschnitt wie in Abbildung 3.21 dargestellt, jedoch die Oberfläche der Calix[4]aren-Krone eingezeichnet und in Abhängigkeit der Polarität von grün (unpolar) über türkis bis violett (polar) eingefärbt. Es ist ein relativ schmaler polarer Bereich zu sehen, welcher sich ohne Unterbrechung ringförmig über die gesamte Calix[4]aren-Krone zieht. Innerhalb

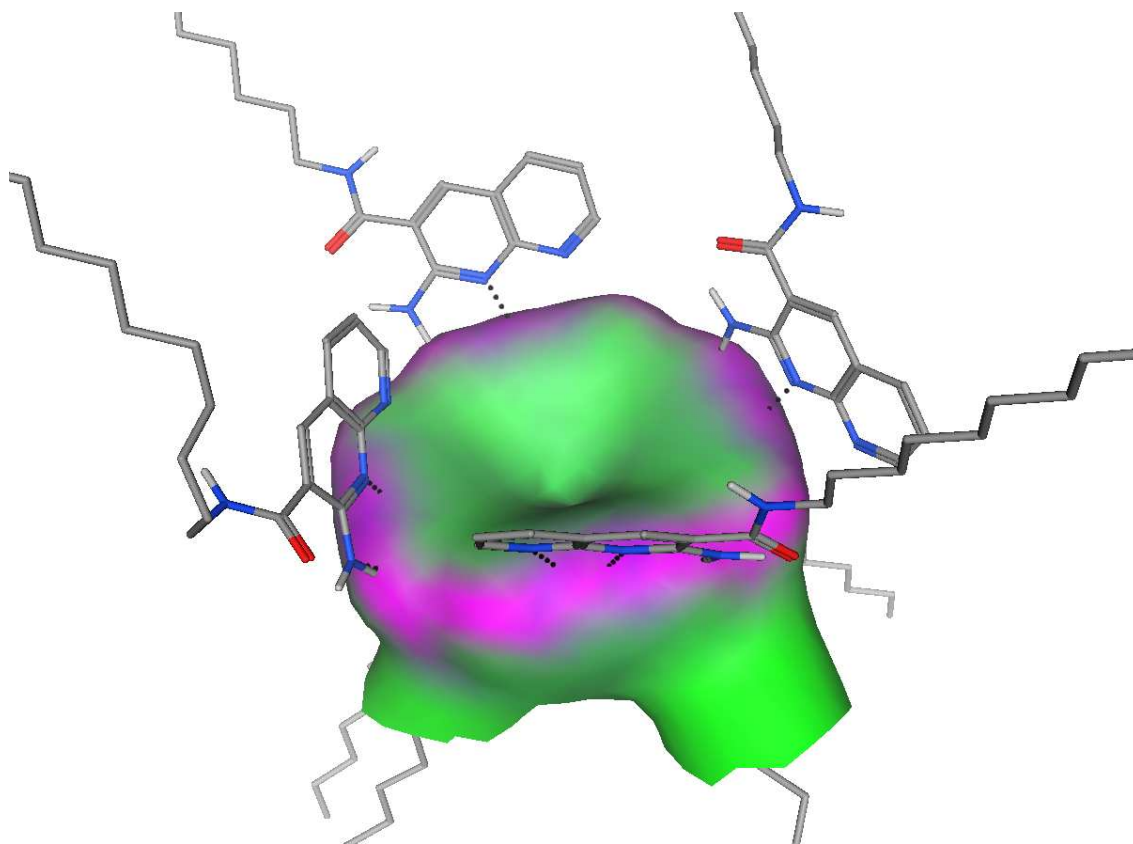


Abbildung 3.22: Gleicher Ausschnitt wie in Abbildung 3.21, jedoch mit der Oberfläche der Calix[4]aren-Krone in Abhängigkeit ihrer Polarität dargestellt. grün=unpolar, violett=polar

dieses Bandes dürften sich auch andere denkbare Wechselwirkungen, wie zum Beispiel die zweite in Abbildung 3.3, abspielen. Inwiefern sich diese relativ zu der berechneten Wechselwirkung verhält und vielleicht ein tieferes Energieminimum liefert, soll an dieser Stelle nicht weiter verfolgt werden. Hierfür sind ausführlichere Rechnungen auf einem höheren Niveau (ab initio Verfahren) notwendig, die den gesteckten Rahmen bei weitem sprengen würden. Allerdings bietet das vorliegende Modell der Wechselwirkungen zwischen Calix[4]aren und Naphthyridin bereits einen Erklärungsansatz für die Entstehung von Aggregaten und für die beobachtete Abhängigkeit der entstehenden Teilchen von der Stöchiometrie.

In Abbildung 3.23 ist der 1:4 Komplex mit vollständigen Undecylresten dargestellt. Deutlich ist in der Mitte der polare Wechselwirkungsbereich zu erkennen, der beidseitig von jeweils vier aliphatischen Resten eingeschlossen wird. Legt man die Ergebnisse der Lichtstreuung zugrunde, so könnte der Aggregationsmechanismus wie folgt aussehen:

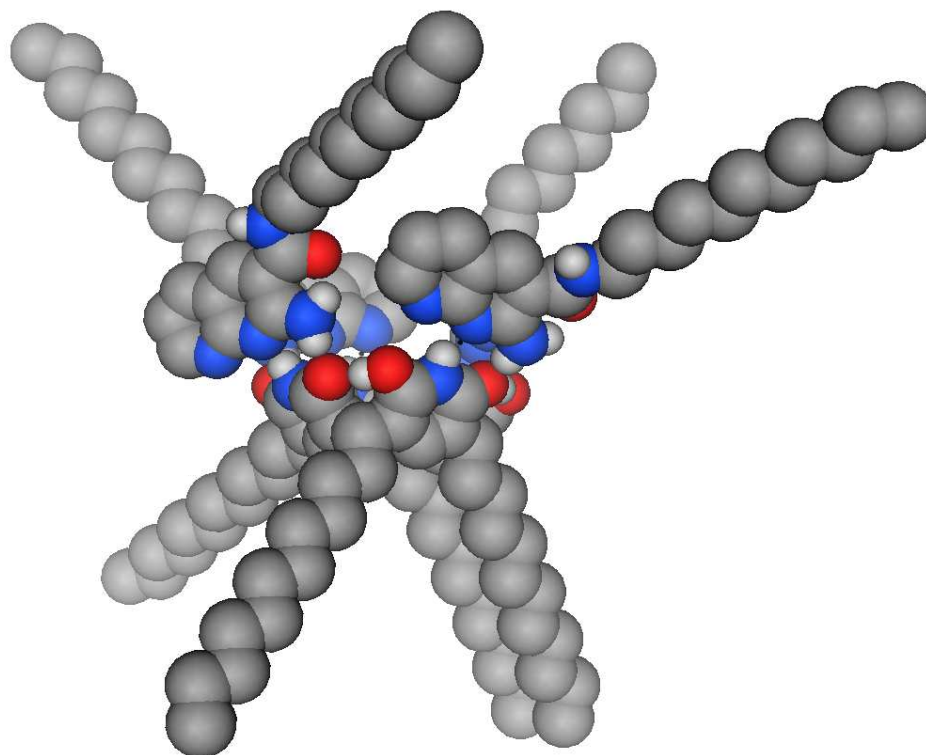


Abbildung 3.23: Vollständige Darstellung eines 1:4 Komplexes. Ober- und unterhalb einer polaren Zwischenschicht liegen jeweils vier Undecylreste des Calix[4]aren-Moleküls und der Naphthyridin-Moleküle.

- Durch intermolekulare Wechselwirkungen der Undecylreste kommt es zu einem Longitudinalwachstum.
- Intermolekulare Coulomb-Wechselwirkungen der polaren Bereiche können zu einem Lateralwachstum führen.

Dieses Modell ist in Abbildung 3.24 skizziert und kann zwei weitere experimentelle Beobachtungen wiedergeben. Zunächst ist es möglich, daß durch Aufbrechen zweier benachbarter Filamente ein Verzweigungspunkt entsteht, an dem sich weitere Komplexe nach dem obigen Mechanismus anlagern. Weiterhin läßt sich die Abhängigkeit der Aggregation von der Stöchiometrie erklären. Unter der Annahme, daß das Naphthyridin weiterhin Positionen an der Calix[4]aren-Krone besetzt, entsteht bei Verringerung des Naphthyridin-Anteils eine geringere intermolekulare Wechselwirkung der Komplexe, was zu einem herabgesetzten Longitudinalwachstum führt. Im Gegensatz dazu liefert eine Erhöhung des Naphthyridin-Anteils praktisch keinen Effekt, da die maximale Wechselwirkung der Komplexe bereits mit einer 1:4 Stöchiometrie erreicht ist.

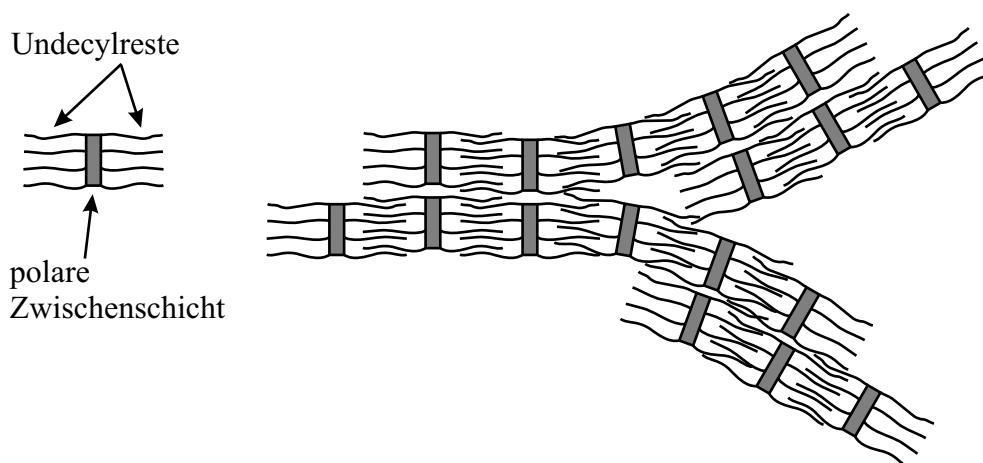


Abbildung 3.24: Aggregationsmodell der Calix[4]aren-Naphthyridin Komplexe.

Legt man den oben skizzierten Mechanismus zugrunde, so kann man unter Berücksichtigung des auf Seite 48 ermittelten Querschnitts D und bei Kenntnis der geometrischen Abmessungen eines Calix[4]aren-Naphthyridin Komplexes die Anzahl der Monomerstränge pro Filament abschätzen. Aufgrund der Flexibilität der Undecylreste wird als wichtige Größe der Durchmesser der Calix[4]aren-Krone bestimmt, da dieser Bereich als relativ rigide angesehen werden darf. Das Programmpaket MOE liefert hierfür einen Wert von ca. $0,86 \text{ nm}$. Unter Verwendung eines Querschnitts von $1,8 \text{ nm} < D < 5,6 \text{ nm}$ aus den Lichtstreuungsmessungen können demnach 2 – 6 Monomerstänge nebeneinander angeordnet sein.

3.3.3 Rasterkraftmikroskopie einer 1:4 Stöchiometrie

3.3.3.1 Ergebnisse und Diskussion der rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen

Für die Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie sei auf den Anhang B.1 verwiesen.

Die hier dargestellten Ergebnisse der rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen an Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregaten basieren auf einer 1:4 Stöchiometrie mit $c = 25,4 \text{ g/L}$. Die Präparation der Meßlösung erfolgt nach der in Abschnitt 3.2.1 aufgeführten Methodik. Die fertige Lösung wird über Nacht unter einer Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur gelagert und im Anschluß auf Siliziumsubstrate aufgeschleudert. Das verwendete Mikroskop ist ein Gerät vom Typ Nanoscope 3 (Digital Imaging). Der Cantilever ist ein NCH-Cantilever (NanoWorld) mit einer Kraftkonstante von 21 N/m und einer Resonanzfrequenz von 250 Hz . Alle Messungen werden im Tapping-Modus (250 Hz) durchgeführt.

In Abbildung 3.25 ist das Ergebnis einer Übersichtsmessung dargestellt. Das linke Bild gibt die gemessene Topographie, das rechte Bild das Phasensignal wieder. Die Kantenlänge beträgt jeweils $3 \mu\text{m}$. Sowohl in der Topographie, als auch in dem Phasensignal zeigt die Probenoberfläche drei verschiedene Bereiche. Im äußeren rechten Bildbereich ist weder in der Topographie, noch im Phasensignal eine Strukturierung zu erkennen. Der Übergang zum mittleren Bildausschnitt ist durch eine starke Änderung der Phase und die Ausbildung einer Topographie gekennzeichnet. Geht man weiter in den mittleren Bereich vor, so erkennt man stab-

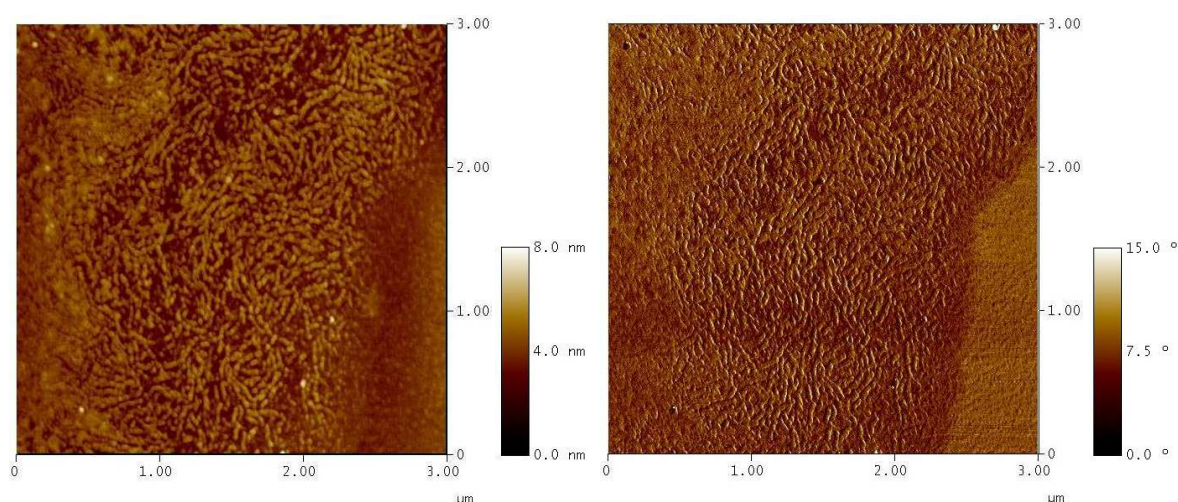


Abbildung 3.25: Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen einer 1:4 Calix[4]aren-Naphthyridin Mischung mit $c = 25,4 \text{ g/L}$ im Tapping-Modus (250 Hz); links: Topographie, rechts: Phasensignal; Kantenlänge jeweils $3 \mu\text{m}$.

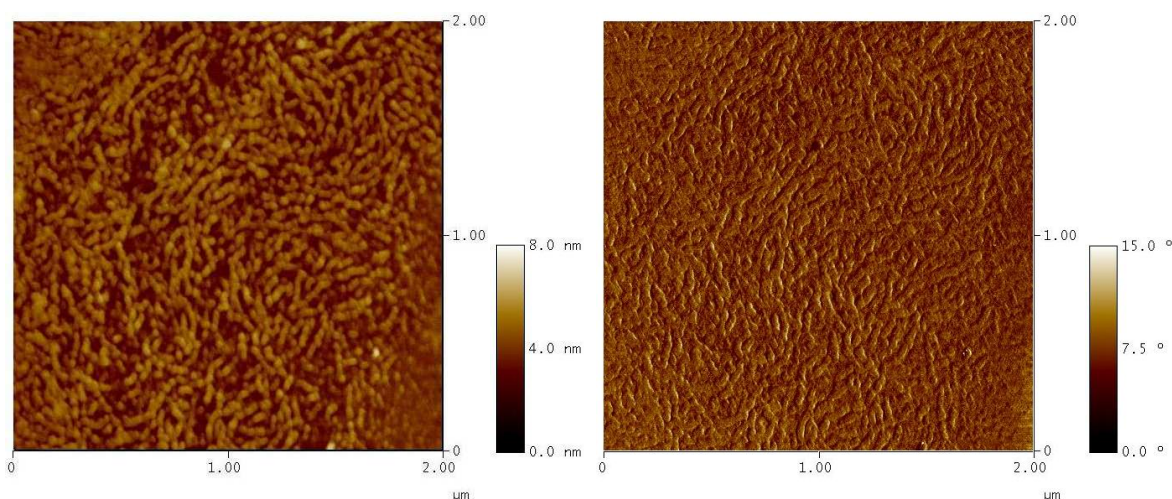


Abbildung 3.26: Vergrößerung des mittleren Bildbereichs aus Abbildung 3.25; links: Topographie, rechts: Phasensignal; Kantenlänge jeweils $2\text{ }\mu\text{m}$.

und wurmartige Strukturen, die sich zum Teil im Phasensignal widerspiegeln. Im äußeren linken Bildbereich findet sich nur eine geringfügige Änderung der Phase, sowie in der Topographie eine „Verschmierung“ der vorher beschriebenen Strukturen.

Eine vergrößerte Darstellung des mittleren Bildbereiches aus Abbildung 3.25 ist in Abbildung 3.26 mit einer Kantenlänge von $2\text{ }\mu\text{m}$ wiedergegeben. In der oberen linken und der unteren rechten Ecke sind jeweils noch die Übergänge zu den beiden äußeren Bereichen aus Abbildung 3.25 zu erkennen. Durch die vergrößerte Darstellung lassen sich eindeutig stab- bis wurmartige Strukturen erkennen, die zum Teil eine Verzweigung aufweisen. Weiterhin ist jetzt wesentlich besser die Korrelation zwischen Topographie und Phasensignal zu erkennen. Eine weitere Vergrößerung, wie sie in Abbildung 3.27 dargestellt ist, führt zu keinen neuen Erkenntnissen. Die vorher bestimmten Strukturen lassen sich jedoch besser erkennen. Deutlich ist die Korrelation zwischen Topographie und Phasensignal zu sehen.

Um die wurmartigen Strukturen näher zu bestimmen wird mit Hilfe der Meßsoftware ein Schnitt durch die Probe gelegt und das Höhenprofil bestimmt. In Abbildung 3.28 ist das Ergebnis für eine Messung an Abbildung 3.27 dargestellt. Wie zu erwarten liegt eine unregelmäßige Modulation vor, die aber nahezu über den gesamten Bereich die gleichen Maximalwerte liefert. Für die markierten Stellen ergibt sich eine Höhendifferenz von $2,3\text{ nm}$. Die entsprechenden Punkte im Bild sind ebenfalls markiert. Für den aus den Lichtstreuungsmessungen abgeschätzten Querschnitt D der Filamente von $1,8\text{ nm} < D < 5,6\text{ nm}$ ergibt sich ebenfalls eine gute Übereinstimmung mit den Mikroskopieergebnissen. Setzt man einen kreisförmigen

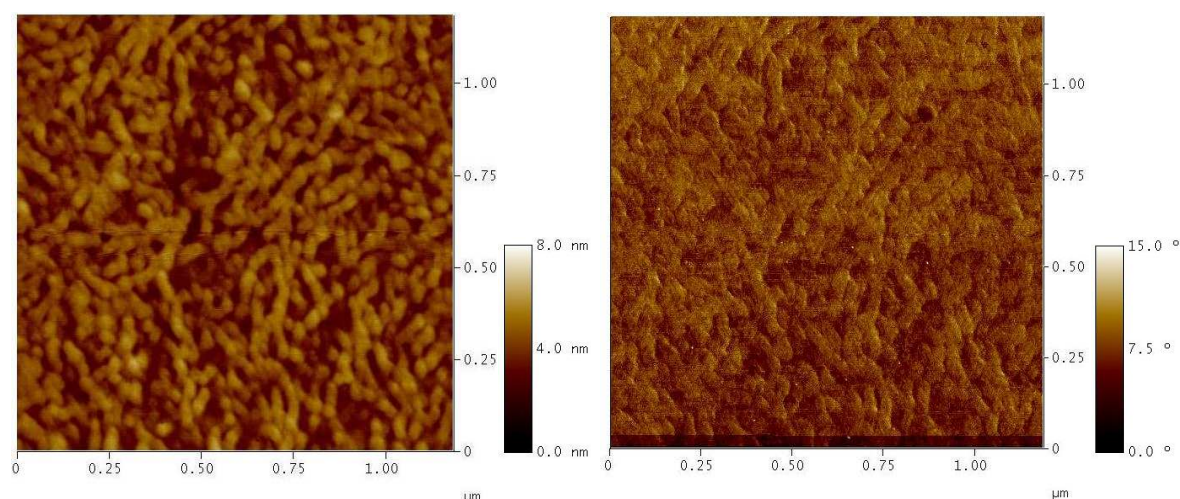


Abbildung 3.27: Vergrößerung des mittleren Bildausschnitts aus Abbildung 3.26; links: Topographie, rechts: Phasensignal; Kantenlänge jeweils $1,2\ \mu\text{m}$.

Querschnitt voraus und betrachtet die im Mikroskop beobachteten Strukturen als Teil einer Monolage, so kann der aus dem Höhenprofil bestimmte Wert von $2,3\ \text{nm}$ als Wert für den Querschnitt der Strukturen angesehen werden. Mit Hilfe des in Abschnitt 3.3.2 vorgestellten Mechanismus und einem Durchmesser der Calix[4]aren-Krone von ca. $0,86\ \text{nm}$ können dann 2 – 3 Monomerstränge im Filament nebeneinander angeordnet sein.

Die im Rasterkraftmikroskop beobachtbaren Strukturen können mit sehr großer Wahrscheinlichkeit den Calix[4]aren-Naphthyridin Aggregaten zugeordnet wer-

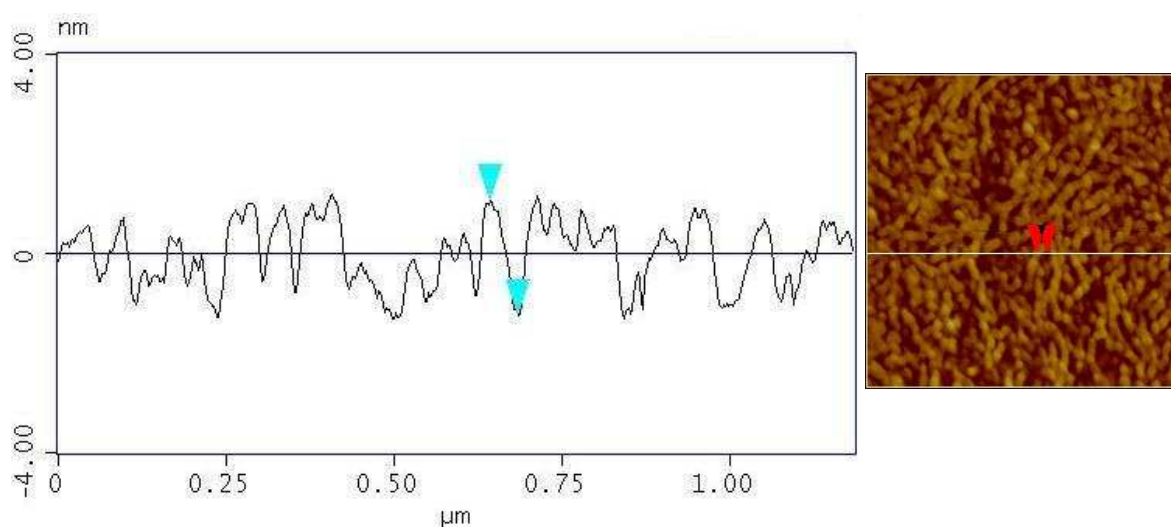


Abbildung 3.28: Schnitt durch Abbildung 3.27 mit dem entsprechenden Höhenprofil. Die Höhendifferenz der markierten Punkte beträgt $2,3\ \text{nm}$.

den. Allerdings kann das aus den Streuexperimenten abgeleitete Modell des trifunktionellen *ABC*-Polykondensates nicht bewiesen werden. Keine der Aufnahmen liefert eine entsprechende Struktur wie sie in Abbildung 3.15 vorgestellt wurde. Vielmehr sind in den rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen stab- bis wurmartige Gebilde zu sehen, die in einigen Fällen einen Verzweigungspunkt erkennen lassen. Bleibt man im Modell der *ABC*-Polykondensate, so können die stab- und wurmartigen Strukturen als die Substruktur des postulierten Modells, also als die Abschnitte zwischen zwei Verzweigungspunkten beziehungsweise als die Verzweigungspunkte selbst, identifiziert werden. Eine Erklärung für das Fehlen der entsprechenden Aggregate kann in der Präparation der Proben gesehen werden. Im Prozeß des Aufschleuderns entstehen Kräfte in der Lösung, die möglicherweise bereits gebildete verzweigte Strukturen zerstören und nur entsprechende Fragmente in Form von linearen und verzweigten Segmenten zurücklassen. Aufgrund der rein physikalischen Wechselwirkungen ist die mechanische Stabilität größerer Aggregate einfach zu gering, als daß sie diesen Prozeß völlig unbeschadet durchlaufen könnten.

Wie bereits im Vorfeld angesprochen liefert das Streuexperiment keine eindeutige Aussage zur Struktur der streuenden Teilchen. Im vorliegenden Fall können die Formfaktoren durch einen 25-Arm Stern mit polydispenser Armlängenverteilung, oder durch ein *ABC*-Polykondensat beschrieben werden. Liefern die rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen auch keinen unmittelbaren Beweis für die Polykondensatstruktur, so kann der 25-Arm Stern aber ausgeschlossen werden. Keine der gefundenen Strukturen deutet auf Verzweigungen mit mehr als drei „Armen“ hin. Selbst unter Berücksichtigung der präparativen Einflüsse ist das Fehlen dieser Strukturen ein weiteres Indiz für die Polykondensatstruktur.

Kapitel 4

β -Amyloid-Aggregation

4.1 Einführende Bemerkungen

4.1.1 ALZHEIMERSche Krankheit

In Deutschland leben zur Zeit etwa eine Million Demenzerkrankte. Sie leiden an einer schwerwiegenden Beeinträchtigung der geistigen Leistungsfähigkeit, von der vor allem Gedächtnis, Sprache, Orientierungs- und Urteilsvermögen betroffen sind. In Abbildung 4.1 ist sowohl die mittlere Prävalenz, also die Anzahl der Kranken in der Bevölkerung zu einem bestimmten Zeitpunkt, als auch die mittlere Inzidenz, also die Anzahl der zuvor gesunden Patienten, die im Laufe eines Jahres erkranken, für die Bevölkerung ab dem 65. Lebensjahr dargestellt. Prävalenz- und Inzidenzrate steigen steil mit dem Alter an und haben sich jeweils im Abstand von ca. fünf

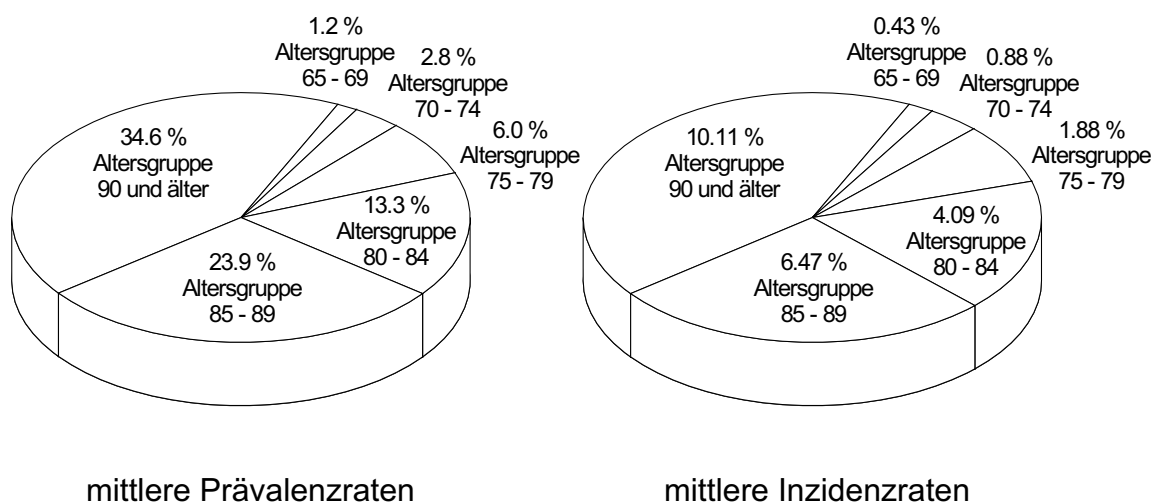


Abbildung 4.1: Gegenwärtige Epidemiologie der Demenzerkrankungen in Deutschland [72, 73].

Jahren verdoppelt. Unter Berücksichtigung der demografischen Entwicklung und einer jährlichen Zuwachsrates von ca. 20000 Krankheitsfällen, werden im Jahr 2030 ungefähr eineinhalb Millionen und im Jahr 2050 bis zu zwei Millionen Menschen an einer Demenz leiden [72, 74].

Zur Zeit sind in Deutschland zwei Drittel der Demenzerkrankungen auf die ALZHEIMERSche Krankheit zurückzuführen. Diese Form der Demenz ist nach ihrem Entdecker, dem Arzt ALOIS ALZHEIMER [75] benannt, der sie erstmals in einer Veröffentlichung im Jahr 1907 beschrieb [76]:

„Eine Frau von 51 Jahren zeigte als erste auffällige Krankheitserscheinung ... eine rasch zunehmende Gedächtnisschwäche ...; sie fand sich in ihrer Wohnung nicht mehr zurecht ... Sie ist zeitlich und örtlich desorientiert. Gelegentlich macht sie Äußerungen, daß sie alles nicht verstehe, sich nicht auskenne ... Zeitweilig ist sie völlig delirant ... und scheint Gehörshalluzinationen zu haben. Oft schreit sie viele Stunden lang mit gräßlicher Stimme. Ihre Merkfähigkeit ist aufs schwerste gestört. Zeigt man ihr Gegenstände, so benennt sie dieselben meist richtig, gleich darauf hat sie alles wieder vergessen ... Beim Sprechen gebraucht sie häufig Verlegenheitsphrasen, einzelne paraphrasische Ausdrücke ... Den Gebrauch einzelner Gegenstände scheint sie nicht mehr zu wissen ... Nach 4½jähriger Krankheitsdauer tritt der Tod ein. Die Kranke war schließlich völlig stumpf, mit angezogenen Beinen zu Bett gelegen ...“

ALZHEIMERS mikroskopische Untersuchung des Gehirns der Patientin lieferte ein bis dahin unbekanntes Krankheitsbild. Anatomisch war es durch eine massive Atropie des cerebralen Kortex, sowie durch zwei histopathologische Charakteristika in Form von Fibrillenbildung innerhalb der Nervenzellen und Ablagerungen von Stoffwechselprodukten in Form von Plaques innerhalb des gesamten cerebralen Kortex gekennzeichnet [76]. (Beide Befunde werden heute noch zur post-mortem-Diagnose der ALZHEIMERSchen Krankheit angewandt.)

Im PSCHYREMBEL aus dem Jahr 1955 liest man dann [77]:

präsenile, meist im 6. Jahrzehnt schleichend entstehende starke Verblödung mit völligem Zerfall der Sprache, Logoklonie, Schmerzen in den Beinen und meist vereinzelt epileptischen Anfällen, bei leidlich erhaltener Gemütsregbarkeit
Pathologisch anatomisch: Entartung und Zerfall der Nervenfibrillen im Gehirn.

Prinzipiell hat sich bis heute nichts an den obigen Aussagen geändert, doch ist das Verständnis auf dem Gebiet der Ursachen enorm gewachsen. Demnach besteht praktisch kein Zweifel mehr daran, daß eine Verminderung von synaptischer Ak-

tivität und der Anzahl der Synapsen vorliegt [78]. Der damit verbundene Verlust an kognitiven Fähigkeiten führt schließlich zu den beobachteten Symptomen. Im wesentlichen werden zwei Prozesse diskutiert, die zum Verlust der Nervenzellen führen:

- **Tau-Theorie** [79, 80]: In der Tau-Theorie spielt das sogenannte Tau-Protein, welches zur Klasse der mikrotubulus-assoziierten Proteine gehört, eine zentrale Rolle. Unter normalen Umständen ist es ein Bestandteil des Cytoskeletts. Im Fall der ALZHEIMERSchen Erkrankung kommt es allerdings zu einer Hyperphosphorylierung, so daß das Tau-Protein seine normalen Aufgaben nicht mehr erfüllen kann und letztlich zu intramolekularen *neurofibrillary tangles* aggregiert, die bereits ALOIS ALZHEIMER in Form von Fibrillen beobachtete. Die Nervenzelle wird destabilisiert und stirbt ab.
- **Amyloid-Hypothese** [79, 81]: In der Amyloid-Hypothese führen extrazelluläre Ablagerungen des sogenannten A β -Proteins zu neuronalen Plaques, die schließlich ebenfalls zum Absterben der Neuronen führen. Auch sie wurden schon von ALOIS ALZHEIMER beobachtet. Im dem nachfolgenden Unterkapitel wird auf die Amyloid-Hypothese detaillierter eingegangen.

Das Absterben der Neuronen hat eine Volumenreduktion des Gehirns um bis zu 20 % zur Folge [82]. Sie kann in mittleren und fortgeschrittenen Krankheitsstadien durch bildgebende Verfahren wie Computertomographie oder Magnetresonanztomographie und post-mortem durch anatomische Untersuchungen sichtbar gemacht werden (Abbildung 4.2).

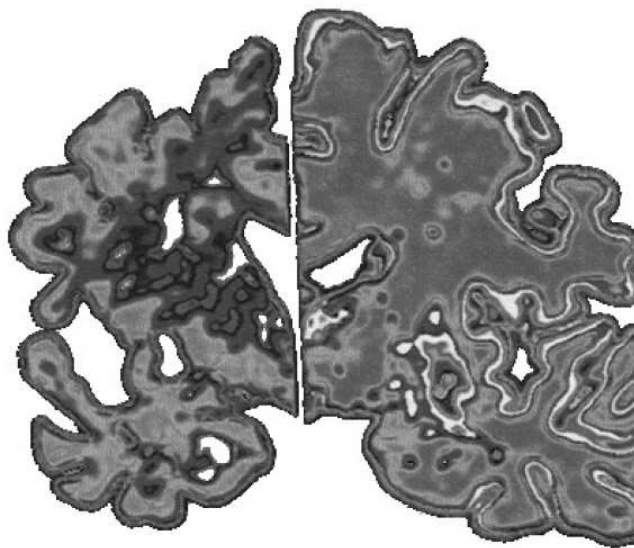


Abbildung 4.2: Hirnschnitt eines an der ALZHEIMERSchen Krankheit gestorbenen Patienten (links), und eines gesunden Menschen (rechts).

4.1.2 Amyloid-Hypothese

Die Amyloid-Hypothese schreibt den β -Amyloid Proteinen eine fundamentale Rolle bei der Entstehung und dem Verlauf der ALZHEIMERSchen Krankheit zu. Diese Proteine bewirken in ihrer pathologischen Form das Absterben von Neuronen. Sie sind Fragmente eines größeren Membranproteins, des sogenannten Amyloid-Precursor-Proteins (APP), welches aus 770 Aminosäuren besteht (siehe Abbildung 4.3) [83].

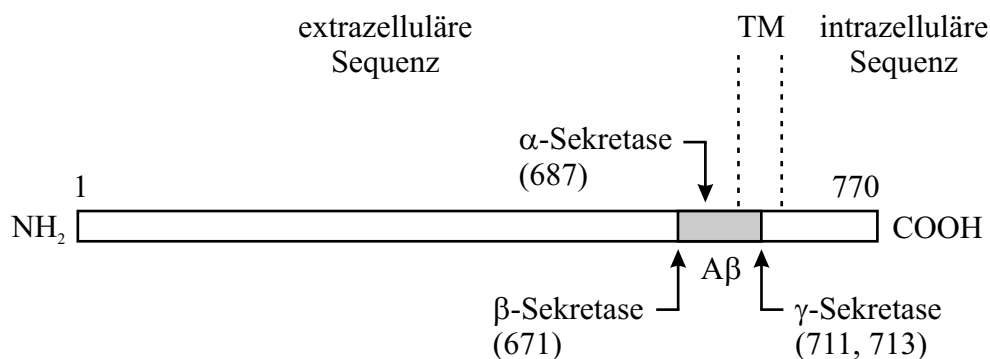


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung des Amyloid-Precursor-Proteins (APP). Durch die Einwirkung der eingezeichneten Sekretasen entsteht ein Fragment von bis zu 42 Aminosäuren, das A β -Protein. TM bezeichnet den transmembranen Teil des APP.

Durch die Einwirkung spezieller Sekretasen, insbesondere der β - und γ -Sekretase, entstehen β -Amyloide mit bis zu 42 Aminosäuren. Die für die ALZHEIMERSche Demenz wichtigen Fragmente sind das A β (1-40) und A β (1-42) mit jeweils 40 und 42 Aminosäuren, von denen im nativen Zustand als Teil des APP ungefähr die letzten 10, beziehungsweise 12, Aminosäuren im transmembranen Teil liegen [81]. In der vorliegenden Arbeit wird ausschließlich mit A β (1-40) gearbeitet, dessen Aminosäuresequenz in Abbildung 4.4 dargestellt ist [84]. Die Sequenz 1-28 beinhaltet überwiegend polare Aminosäuren, während der verbleibende Abschnitt 29-40 ausschließlich unpolare Aminosäuren aufweist. Letzteres ist verständlich, da dieser Bereich in den transmembranen Teil des APP fällt. Bei pH 7,4 liegen

Asp¹ - Ala - Glu - Phe - Arg - His - Asp - Ser - Gly - Tyr -
 Glu¹¹ - Val - His - His - Gln - Lys - Leu - Val - Phe - Phe -
 Ala²¹ - Glu - Asp - Val - Gly - Ser - Asn - Lys - Gly - Ala -
 Ile³¹ - Ile - Gly - Leu - Met - Val - Gly - Gly - Val - Val⁴⁰

Abbildung 4.4: Aminosäuresequenz des A β (1-40).

insgesamt sechs negative Ladungen (an Asp und Glu) vor [85].

Die β -Amyloide können in Abhängigkeit von äußeren Parametern [86, 87] über Zwischenstufen wie Oligomere [88], Micellen [84, 89] und/oder sogenannte Protofibrillen [90, 91] zu Fibrillen aggregieren [92, 93], wobei bisher noch nicht vollständig geklärt ist, in welcher Form die β -Amyloide ihre pathologische Wirkung entfalten [81]. Das Verständnis der β -Amyloid-Aggregation ist jedoch von grundlegender Bedeutung für die Entwicklung neuer Medikamente und neuer therapeutischer Ansätze [81, 94, 95].

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, mit Hilfe der zeitaufgelösten statischen Lichtstreuung einen Einblick in die Aggregation des $A\beta(1-40)$ zu erhalten und Informationen über die Struktur der entstehenden Teilchen sowie der dazugehörigen Kinetik zu gewinnen, und mit bestehenden Untersuchungen zu vergleichen. Die Lichtstreuung eignet sich dazu in ausgezeichneter Weise, da sie als eine nichtinvasive Technik das System im Gegensatz zu mikroskopischen Verfahren praktisch nicht beeinflusst. Biologische Systeme wie Proteine können also in ihrer nativen Form untersucht werden.

4.2 Experimentelle Ergebnisse der β -Amyloid-Aggregation

4.2.1 Präparation der Proben

Der Präparation der Proben kommt in diesem Fall ein besonderes Gewicht zu. Im Gegensatz zu niedermolekularen organischen Molekülen stellen Proteine eine komplexe Struktur dar. Durch ihren Aufbau in Form eines definierten Rückgrats mit variierenden Seitenketten erhalten sie in Lösung zusätzlich zu der die Reihenfolge der Aminosäuren charakterisierenden Primärstruktur eine Sekundär- und Tertiärstruktur. Die Sekundärstruktur wird durch intramolekulare Wasserstoffbrücken vom Typ $N-H \cdots O=C$ entlang des Proteinrückgrats aufgebaut. Als

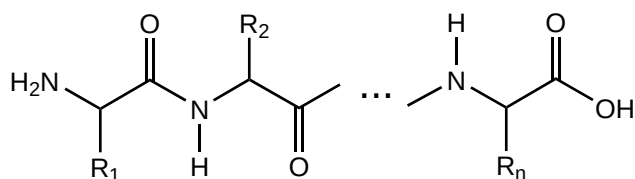


Abbildung 4.5: Allgemeine Strukturformel eines Polypeptids mit den Aminosäureseitenresten R_1 bis R_n .

wichtigste Strukturen sind die α -Helix und die β -Faltblattstruktur zu nennen. Unter der Tertiärstruktur versteht man die räumliche Anordnung der Peptidkette und der Aminosäureseitenreste. Diese Form der Anordnung wird durch Disulfidbrücken, Wasserstoffbrückenbindungen, ionische und hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den Seitenketten, also ebenfalls intramolekular, stabilisiert und aufgebaut. Der Vollständigkeit halber sei noch die Quartärstruktur erwähnt. Hiervon spricht man, wenn ein Protein aus mehreren Polypeptiden besteht, die durch intermolekulare Wechselwirkungen zusammengehalten werden. Ein Beispiel ist das Hämoglobin, welches aus vier Polypeptiden aufgebaut ist [85, 96].

Verliert ein Protein durch chemische oder physikalische Einwirkung diese strukturellen Merkmale, so kann es seine biologische Aufgabe nicht mehr erfüllen. Für in vitro Experimente mit Proteinen ist es daher von grundlegender Bedeutung, daß sie in ihrer nativen Form vorliegen. Überträgt man dies auf die Aggregation von $A\beta(1-40)$, so gilt dies in besonderem Maße, da hier die Wechselwirkungen der $A\beta$ -Moleküle untereinander entscheidend durch deren räumliche Struktur beeinflußt werden und dies wiederum die Aggregation beeinflußt.

Die Tabelle 4.1 gibt eine Übersicht über die für die zeitaufgelösten Lichtstreuungen verwendeten Konzentrationen des $A\beta(1-40)$ (AnaSpec Inc. San Jose CA). Prinzipiell gelten wieder die bereits in Abschnitt 3.2.1 aufgezählten Bedingungen für die Auswahl des Konzentrationsbereiches. Neben der Konzentrationsabhängigkeit der Amyloid-Aggregation soll zusätzlich bei einer definierten Amyloid-Konzentration die Abhängigkeit von der Salzkonzentration untersucht werden.

Die oben angesprochene Struktur von Proteinen in Lösung hat zur Folge, daß der Lösungsprozeß und die Lösungsbedingungen einen entscheidenden Einfluß auf die resultierende Konformation des Polypeptids haben. Unterschiedliche

Tabelle 4.1: Die verwendeten Konzentrationen der Amyloid-Aggregation.

NaCl	$A\beta(1-40)$			
$c [10^{-3} M]$	$c [g/L] ([10^{-6} M])$			
150	0,0118 (2,73)	0,0196 (4,53)	0,0314 (7,25)	0,0392 (9,05)
100		0,0196 (4,53)		0,0392 (9,05)
50		0,0196 (4,53)		0,0392 (9,05)
0				0,0392 (9,05)

Vorgehensweisen haben in vielen Fällen unterschiedliche Resultate erzielt und dadurch ein übergreifendes Verständnis erschwert [86, 97, 98, 99, 100]. Erst in den letzten Jahren hat sich ein Verfahren herauskristallisiert, das von vielen Arbeitsgruppen übernommen wurde [84, 86, 90, 101, 102]. Im Prinzip basiert es auf zwei Lösungsschritten. Zunächst wird das in lyophilisierter Form vorliegende Protein in Hexafluoroisopropanol (HFIP) aufgenommen. Aufgrund der sehr guten Lösungseigenschaften liegt das Amyloid dann in molekular gelöster Form vor [86]. Da HFIP denaturierend wirkt, überführt es das Protein dabei in eine random coil Konformation. Nachdem das HFIP entfernt ist, wird im zweiten Schritt der resultierende Peptidfilm mit Dimethylsulfoxid (DMSO) aufgenommen und diese DMSO-A β (1-40) Lösung zu einer wässrigen Pufferlösung gegeben, so daß der DMSO-Anteil nur noch 2 % beträgt. Erst in dieser wässrigen Umgebung kann das Protein wieder seine vollständige Überstruktur ausbilden. Durch diese Vorgehensweise ist für alle Untersuchungen das random coil als Konformationsstartpunkt gegeben, was bei den unbehandelten lyophilisierten Proteinen nicht gewährleistet werden kann. Eine direkte Zugabe des lyophilisierten Polypeptids zu DMSO oder in den wässrigen Puffer führt zu einem unvollständigen Lösungsprozeß, in dem größere Aggregate entstehen oder vorliegen. Gleiches gilt für die direkte Aufnahme des mit HFIP vorbehandelten Peptidfilms mit wässriger Pufferlösung oder reinem Wasser [86].

Das A β (1-40) wird in 1 mg Portionen vom Hersteller bezogen und bei -20°C gelagert. Allerdings benötigt eine Lichtstreuungsmessung nur 0,036 bis 0,12 mg Protein. Da die Handhabung so kleiner Mengen mittels Wägung unpraktikabel ist, wird folgendes Verfahren zur Portionierung der Ursubstanz angewandt:

1. Temperieren des lyophilisierten A β (1-40) bei Raumtemperatur für 15 – 20 min
2. Lösen des A β (1-40) in 833 μL HFIP (99+ %, Lancaster) für 120 min
3. Aufteilen der HFIP-Stammlösung in unterschiedliche Portionen von $4 \times 100 \mu\text{L}$ ($=4 \times 0,120 \text{ mg}$), $2 \times 80 \mu\text{L}$ ($=2 \times 0,096 \text{ mg}$), $4 \times 50 \mu\text{L}$ ($=4 \times 0,060 \text{ mg}$) und $2 \times 30 \mu\text{L}$ ($=2 \times 0,036 \text{ mg}$)
4. Abdampfen des HFIP und anschließend Trocknen des entstandenen Peptidfilms bei Raumtemperatur und 30 – 60 mbar für 30 min
5. Lagern der A β -Portionen bei -20°C .

Dieses Vorgehen ermöglicht eine ausreichend genaue Handhabung der Proteinmengen und liefert zudem lösemittelfreie Amyloidportionen. Dies ist im Hinblick auf die Lagerung wichtig, da nach dem vollständigen Lösungsverfahren A β (1-40)

in DMSO vorliegt und hier Aggregate ausbilden kann [86].

Für die Durchführung einer Lichtstreuungsmessung wird die entsprechende Amyloidportion wie folgt behandelt:

1. Temperieren der $A\beta(1-40)$ Portion bei Raumtemperatur für 15 – 20 *min*
2. Lösen des $A\beta(1-40)$ in 100 μL HFIP für 60 *min*
3. Schnelles Abdampfen des HFIP unter Argon für 5 *min*
4. Trocknen des entstandenen Peptidfilms bei 30 – 60 *mbar* für 30 *min*
5. Lösen des Peptidfilms in 60 μL Dimethylsulfoxid (DMSO, destilliert über 3 Å Molekularsieb) für 30 *min*
6. Ultraschall der DMSO- $A\beta(1-40)$ Lösung für 2 *min*.

Zum Starten der Aggregation wird die DMSO- $A\beta(1-40)$ Lösung mit Hilfe einer Glas-Mikroliterspritze unter Rühren zu 3 *mL* einer im Rollrandgläschen vorgelegten wässrigen 0,01 *M* Tris-HCl Pufferlösung (Tris-hydroxymethyl-aminomethanhydrochlorid, pH 7,4, Ultra für Molekularbiologie, Fluka) mit bis zu 150 *mM* NaCl gegeben. Sofort im Anschluß erfolgt die Aufnahme mit einer Glasspritze und die Filtration durch einen 0,2 μm PTFE-Filter (Millipore SLLG013SL, hydrophil, geringe Proteinanhaftung) in eine Streuküvette.

4.2.2 Meßparameter

Alle Messungen werden in zylindrischen Quarzglasküvetten (Hellma) mit 20 *mm* Durchmesser durchgeführt. Aufgrund des gewählten Konzentrationsbereiches wird mit einer Mittelung von 1000 Streukurven (entspricht einer Meßzeit von 2 *s*) bei einem 15 *s* Meßintervall gearbeitet. Die Temperatur des Goniometers beträgt in allen Fällen 37 °C. Für das Brechungsindexinkrement $\frac{dn}{dc}$ wird ein Wert von 0,186 *mL/g* eingesetzt [92, 103]. Der Brechungsindex des wässrigen Puffers wird mit 1,333 von reinem Wasser approximiert [48].

4.2.3 Auswertung und Ergebnisse der zeitaufgelösten Lichtstreuungsmessungen

4.2.3.1 Auswertungsprozedur

Die Auswertung der Lichtstreuukurven der β -Amyloid-Aggregate erfolgt in Abhängigkeit von der Größe der entstehenden Teilchen nach zwei unterschiedlichen

Verfahren.

Die erste Methode paßt einen modellspezifischen Formfaktor anhand seiner frei wählbaren Parameter über den gesamten q -Bereich an die experimentellen Daten in Form von $\frac{\Delta R_\theta}{Kc}$ an. Wie in Abschnitt 4.3 noch näher diskutiert wird, erweist sich hier das Modell des kontinuierlich gekrümmten Fadens von KRATKY und POROD [104] (im weiteren Verlauf als KRATKY-POROD-Kette abgekürzt) als besonders geeignet. Für die Auswertung wird der nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER [105, 106] berechnete Formfaktor der KRATKY-POROD-Kette verwendet. Als Fitparameter dienen hierbei die gewichtsmittlere Molmasse M_w , die gewichtsmittlere Konturlänge L_w und die sogenannte Persistenzlänge a , welche ein Maß für die Steifigkeit der Teilchen darstellt. In Abbildung 4.6a sind exemplarisch eine Messung mit einer $A\beta$ -Konzentration von $c = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl sowie der optimale Fit nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER dargestellt. Aus der gewichtsmittleren Konturlänge ergibt sich unter Annahme einer SCHULZ-ZIMM-Verteilung [107] (vgl. Gleichung A.16) der Trägheitsradius $R_{g,z}$ nach OBERTHÜR [108] zu

$$R_{g,z} = \frac{(z+2)aL_w}{(z+1)3} - a^2 + \frac{2a^3}{L_w} - \frac{2a^4(z+1)}{zL_w^2} \left[1 - \left(\frac{(z+1)a}{(z+1)a + L_w} \right)^z \right] \quad (4.1)$$

Das Verfahren der Formfaktoranpassung läßt sich allerdings nur auf Teilchen mit einem Trägheitsradius größer als 100 nm anwenden, da erst ab dieser Größe struktursensitive Formfaktorverläufe vorliegen.

Die zweite Methode dient dazu, Streukurven von Partikeln mit einem Trägheitsradius kleiner als 100 nm nach einem modifizierten ZIMM-Verfahren auszuwerten. Dazu wird Gleichung 2.27 unter Vernachlässigung des Terms $2A_2c$ für die interpartikulären Wechselwirkungen nach

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = a_1 + a_2 q^2 - a_3 q^4 \quad (4.2)$$

für q^2 in eine Reihe entwickelt [109], so daß gilt [110]

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left[1 + \frac{\langle S^2 \rangle_z}{3!} q^2 - \left(\frac{\langle S^4 \rangle_z}{5!} - \left(\frac{\langle S^2 \rangle_z}{3!} \right)^2 \right) q^4 \right] \quad (4.3)$$

wobei $\langle S^2 \rangle_z$ und $\langle S^4 \rangle_z$ jeweils das z -mittlere zweite und vierte Moment der Massenverteilung innerhalb der Teilchen ist und in Form von

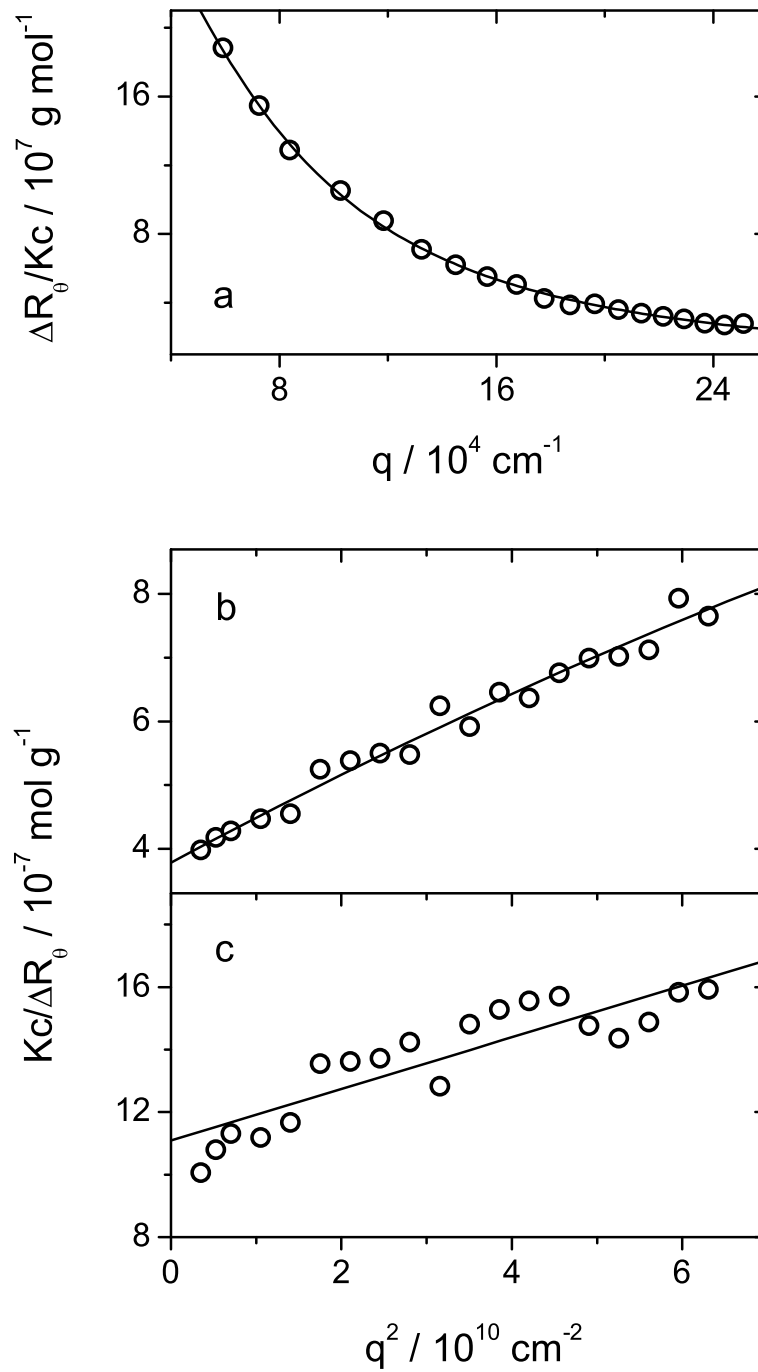


Abbildung 4.6: Auswerteverfahren für die Amyloid-Aggregation. (a) Anpassung der Streukurve mit dem Formfaktor für eine KRATKY-POROD-Kette nach der Formel von PEDERSEN und SCHURTENBERGER oder (b) Auswertung der Streukurve nach ZIMM mit quadratischem oder (c) linearem Fit über den gesamten q -Bereich.

$$\frac{\langle S^2 \rangle_z}{2} = R_{g,z}^2 \quad (4.4)$$

der Zusammenhang mit dem Trägheitsradius gegeben ist (vgl. Gleichung 2.25). Der q^4 -Term beschreibt die Krümmung der Kurve in der Auftragung $\frac{Kc}{\Delta R_\theta}$ vs. q^2 . Wird er nicht berücksichtigt, geht Gleichung 4.3 in

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left[1 + \frac{\langle S^2 \rangle_z}{3!} q^2 \right] \quad (4.5)$$

über. Gleichung 4.5 entspricht damit dem Ausdruck 2.27 für $A_2 = 0$ und liefert in der Auftragung $\frac{Kc}{\Delta R_\theta}$ vs. q^2 eine Gerade. Durch die quadratische oder lineare Anpassung werden daraus Werte für die gewichtsmittlere Molmasse und den z-mittleren Trägheitsradius erhalten. Ob das lineare oder das quadratische Auswerteverfahren gewählt wird, hängt nur von der Güte, also dem S/N-Verhältnis, der zugehörigen Streukurven ab. Abbildung 4.6b und 4.6c zeigt beispielhaft zwei Meßkurven mit unterschiedlichem S/N-Verhältnis. Für die Auswertung der Kurve in Abbildung 4.6b wird der quadratische Fit bevorzugt, da dieser im Gegensatz zur linearen Anpassung eine deutlich bessere Korrelation liefert. Dies trifft auch auf die Streukurve in Abbildung 4.6c zu, jedoch ruft das schlechtere S/N-Verhältnis eine Überbewertung der Krümmung hervor. In diesem Fall ist der lineare Fit vorzuziehen.

Wie in Abschnitt 2.1.3 und 3.2.3.1 bereits näher erläutert, kann der Verlauf einer Streukurve aufgrund des meist sehr komplexen Formfaktors in der Regel nicht durch einen einfachen linearen oder quadratischen Zusammenhang über den experimentell zugänglichen q -Bereich wiedergegeben werden, so daß die Anpassung häufig auf den Anfangsbereich der Streukurven begrenzt ist. Wird das S/N-Verhältnis jedoch zu schlecht, induziert der eingeschränkte Fitbereich einen größeren Fehler, als die unzureichende Wiedergabe der Streukurve durch eine lineare oder quadratische Anpassung über den gesamten q -Bereich (vgl. Abschnitt 3.2.3.1, Seite 25). Um dies für den vorliegenden Fall zu quantifizieren, wird innerhalb des relevanten Größenbereiches an theoretischen Streukurven von KRATKY-POROD-Ketten der Fehler für die Trägheitsradien bei linearem und quadratischem Fit bestimmt. In Abbildung 4.7 sind die Parameter der verwendeten KRATKY-POROD-Ketten und die dazugehörigen Fehler bei linearer und quadratischer Anpassung eingetragen, wenn der gesamte q -Bereich von $5,9 \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1} < q < 2,5 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}$ angepasst wird. Für eine lineare Regression ist deutlich eine Korrelation zwischen der Abweichung vom tatsächlichen Trägheitsradius und den gewählten Parame-

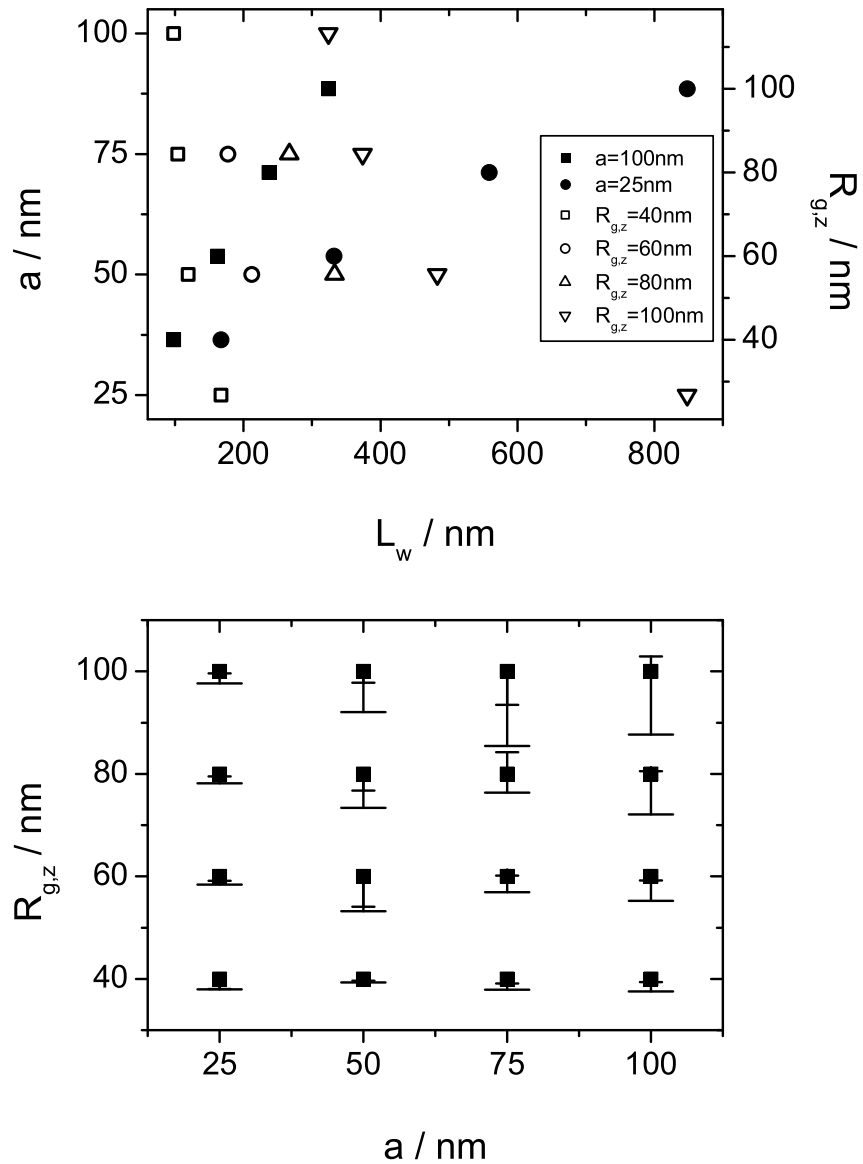


Abbildung 4.7: Oben: Parameter der nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER berechneten KRATKY-POROD-Ketten, zur Quantifizierung des Fitfehlers bei linearer oder quadratischer Regression. Kurven mit konstanter Persistenzlänge a : geschlossene Symbole; Kurven mit konstantem Trägheitsradius $R_{g,z}$: offene Symbole. Unten: Prozentuale Fehler der linearen (breiter Fehlerbalken) und quadratischen Regression (schmaler Fehlerbalken) der theoretischen KRATKY-POROD-Ketten über den gesamten q -Bereich.

tern der KRATKY-POROD-Kette zu erkennen. Demnach ist eine lineare Auswertung der Streukurven im Fall $R_{g,z}/a = 100/75$ mit bis zu $-14,6\%$ behaftet, wohingegen die quadratische Anpassung einen Fehler von $-6,5\%$ liefert. Im Falle kleiner Persistenzlängen ($a < 50$ nm) und kleiner Trägheitsradien ($R_{g,z} < 60$ nm) sind beide Auswerteverfahren nahezu identisch und erreichen einen maximalen Fehler von

–5,2 % für eine KRATKY-POROD-Kette mit $R_{g,z}/a = 40/25$. Die Auswertung einer $A\beta$ -Aggregation gliedert sich damit wie folgt:

- Zu Beginn der Aggregation sind die Teilchen noch relativ klein, und daraus folgend das S/N-Verhältnis relativ schlecht, so daß mit Hilfe einer linearen Anpassung M_w und $R_{g,z}$ bestimmt werden.
- Verbessert sich das S/N-Verhältnis im Verlauf der Aggregation ausreichend, so erfolgt die Anpassung mit Hilfe einer quadratischen Gleichung, welche eine erste Krümmung der Streukurven berücksichtigt. Als Ergebnis erhält man wiederum M_w und $R_{g,z}$.
- Für Teilchen mit $R_{g,z} > 100 \text{ nm}$ erfolgt eine Anpassung der Streukurven mit dem Modell einer KRATKY-POROD-Kette nach der Formel von PEDERSEN und SCHURTENBERGER. Als Ergebnis erhält man M_w , L_w , a und $R_{g,z}$.

4.2.3.2 Zeitaufgelöste Messungen variierender β -Amyloid-Konzentrationen unter physiologischen Bedingungen

Abbildung 4.9 zeigt die Aggregationskinetiken von vier unterschiedlichen $A\beta$ -Amyloid-Konzentrationen (siehe Tabelle 4.1 und Abbildung 4.8) bei konstanter

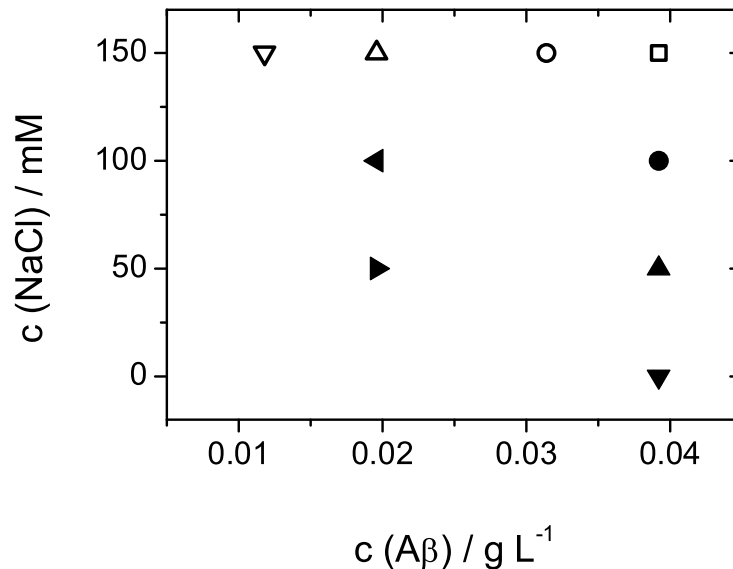


Abbildung 4.8: Graphische Darstellung der verwendeten β -Amyloid- und NaCl-Konzentrationen aus Tabelle 4.1. Die jeweiligen Symbole gelten für alle nachfolgenden Darstellungen.

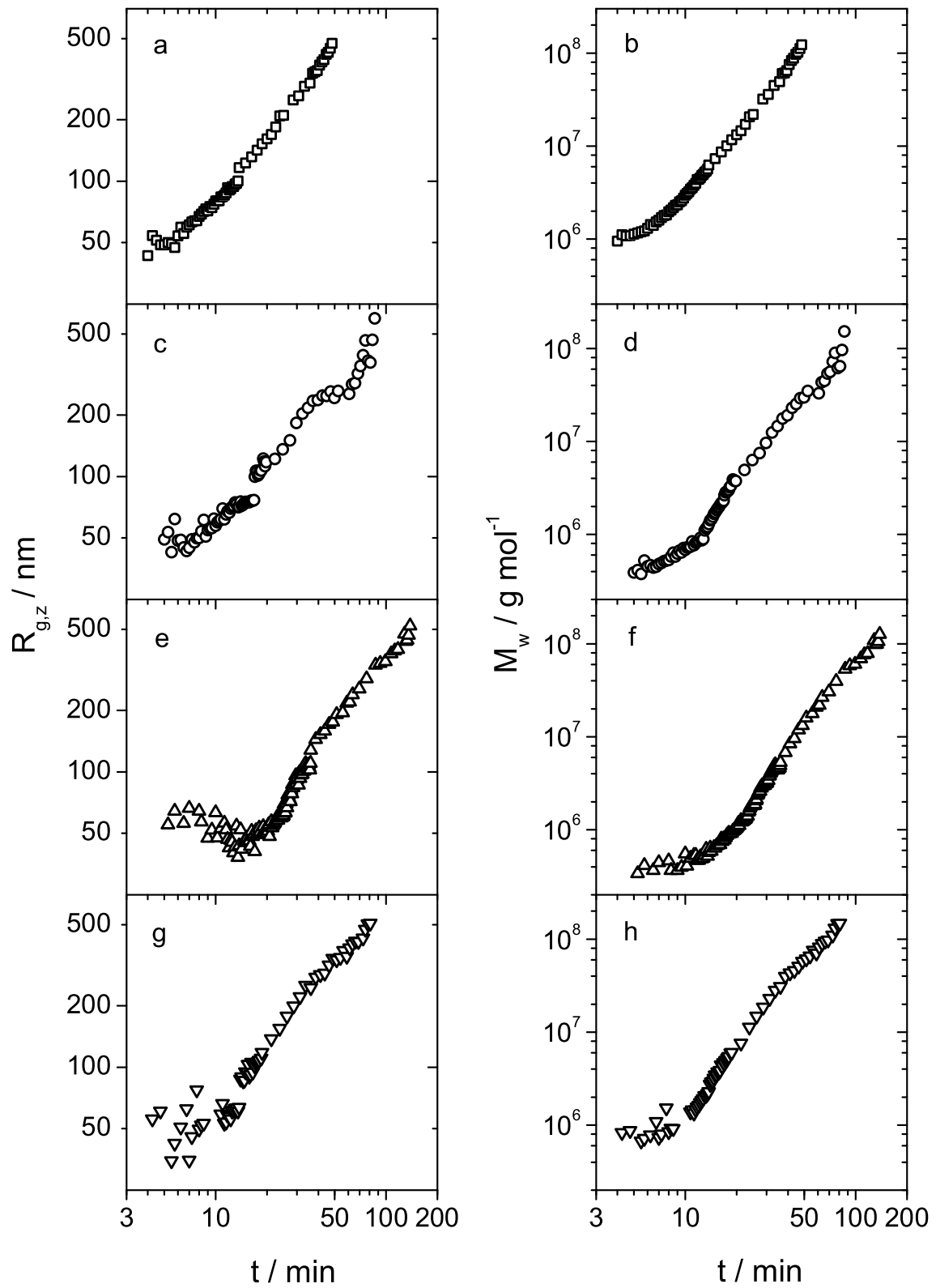


Abbildung 4.9: Aggregation vier unterschiedlicher $A\beta$ -Konzentrationen mit $0,0392 \text{ g/L}$ (a, b, $\square$), $0,0314 \text{ g/L}$ (c, d, $\circ$), $0,0196 \text{ g/L}$ (e, f, $\triangle$) und $0,0118 \text{ g/L}$ (g, h, ∇) aber konstanter NaCl-Konzentration von 150 mM . Alle Messungen wurden bei 37°C durchgeführt.

NaCl-Konzentration von 150 mM. Da alle Messungen bei 37 °C erfolgen, können die vorliegenden Bedingungen als annähernd physiologisch betrachtet werden. In den Abbildungen 4.9a-4.9h sind die nach dem in 4.2.3.1 beschriebenen Verfahren ermittelten Trägheitsradien $R_{g,z}$ und gewichtsmittleren Molmassen M_w in Abhängigkeit von der Zeit t aufgetragen. Die Zeit bis zum Beginn des Wachstums wird im Folgenden als Anfangsphase bezeichnet. Ist sie im Falle der höchsten Konzentration nur schwach angedeutet, zeigt sich mit abnehmender Konzentration eine Verlängerung der Anfangsphase auf bis zu 15 min bei $c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$. Während dieser Zeit bleiben die Radien und Massen innerhalb eines größeren Fehlers praktisch konstant. In allen Fällen liegt ein Radius von ca. 50 nm vor, wohingegen die Massen einen Bereich von $4 \cdot 10^5 \text{ g/mol}$ bis $1 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$ abdecken. In der doppellogarithmischen Darstellung zeigt sich nach der Anfangsphase ein lineares Wachstum für $R_{g,z}$ und M_w , das bei einer Größe von ca. $R_{g,z} = 50 \text{ nm}$ einsetzt. Um mit der Interpretation der Streukurven im Rahmen der hier vorgestellten Theorie der Lichtstreuung zu bleiben, wird die Auswertung bei einem Trägheitsradius von $R_{g,z} = 500 \text{ nm}$ abgebrochen. In allen Fällen geht das Signalwachstum jedoch noch weiter. Die Aggregationskinetik der geringsten Konzentration liefert, verglichen mit dem Trend der übrigen Messungen, eine kürzere Anfangsphase mit größeren Molmassen.

4.2.3.3 Zeitaufgelöste Messungen mit variierenden NaCl-Konzentrationen bei konstanter β -Amyloid-Konzentration

In Abbildung 4.10 sind vier Aggregationskinetiken bei konstanter β -Amyloid-Konzentration von 0,0392 g/L aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen in einem Bereich von 0 bis 150 mM NaCl dargestellt. Die oberste Messung mit 150 mM NaCl ist aus der Konzentrationsreihe entnommen (vgl. Abbildung 4.9a und 4.9b). Die Aggregation mit 100 mM NaCl zeigt praktisch den gleichen Verlauf wie für die Messung mit 150 mM NaCl. Im Fall der Messung mit 50 mM NaCl gibt es insofern eine Abweichung von den vorherigen Messungen, als daß der Radius von anfänglich 80 nm auf einen konstanten Wert zwischen 60 bis 70 nm abfällt und die Molmasse lediglich von $1 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$ auf $2 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$ steigt. Die verbleibende Aggregation ohne NaCl ähnelt wieder den bekannten Verläufen bei 150 und 100 mM NaCl, allerdings mit einem deutlich flacheren Anstieg und damit langsameren Wachstum. Weiterhin ist die Zeit bis zum Eintritt dieses Wachstums für den Trägheitsradius mit ca. 30 min wesentlich länger als für die Molmassen mit ca. 10 min.

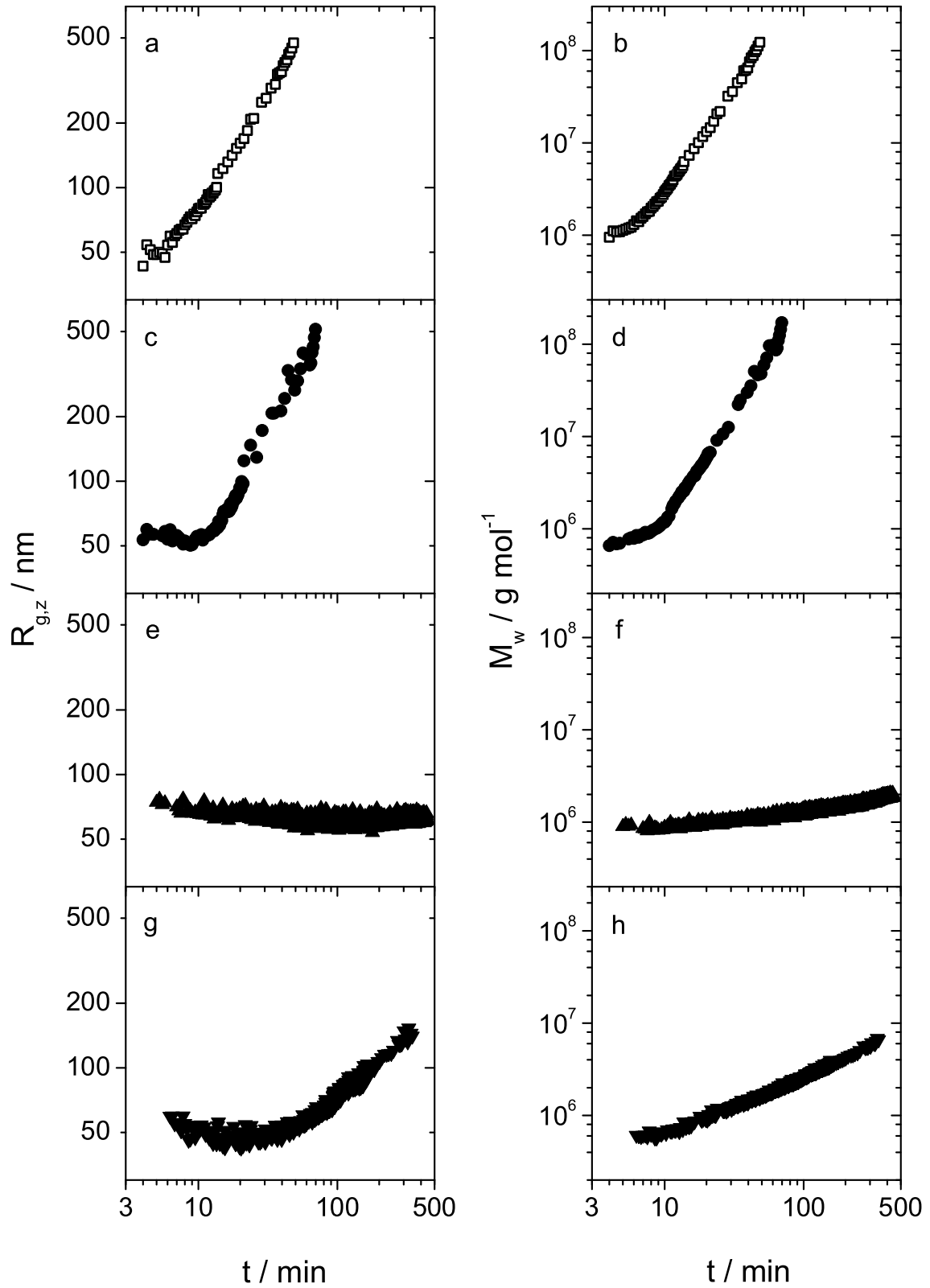


Abbildung 4.10: Aggregation bei konstanter $A\beta$ -Konzentration von $0,0392 \text{ g/L}$ aber vier unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, b, $\square$), 100 mM NaCl (c, d, $\bullet$), 50 mM NaCl (e, f, $\blacktriangle$) und 0 mM NaCl (g, h, $\blacktriangledown$). Alle Messungen erfolgten bei 37°C .

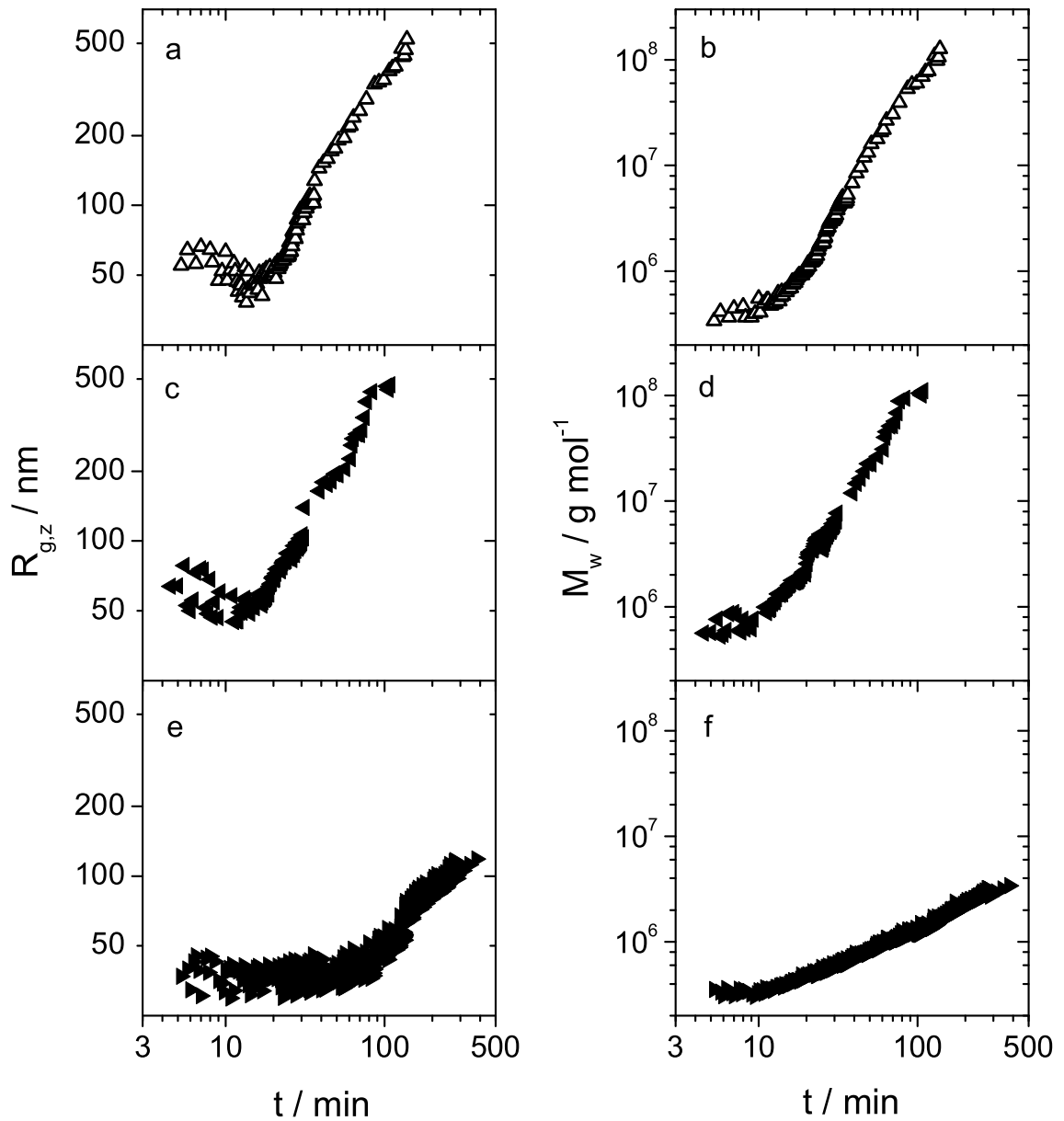


Abbildung 4.11: Aggregation bei konstanter $A\beta$ -Konzentration von $0,0196 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, b, $\triangle$), 100 mM NaCl (c, d, $\blacktriangle$) und 50 mM NaCl (e, f, $\blacktriangledown$). Alle Messungen wurden bei 37°C durchgeführt.

Abbildung 4.11 zeigt drei Kinetiken, bei einer konstanten β -Amyloid-Konzentration von nur $0,0196 \text{ g/L}$ aber wiederum verschiedenen NaCl-Konzentrationen von 50 , 100 und 150 mM NaCl. Die Messung mit einem Salzgehalt von 150 mM NaCl ist aus der Konzentrationsreihe entnommen (vgl. Abbildung 4.9e und 4.9f). Für die Aggregation mit 100 mM NaCl existiert eine große Ähnlichkeit mit der Messung

bei 150 *mM* NaCl. Die Dauer der Anfangsphase beträgt für den Trägheitsradius und die Molmasse ca. 15 *min*. Innerhalb dieser Zeit liegen im Mittel Teilchengrößen von 50 *nm* und Teilchenmassen von $6 \cdot 10^5$ *g/mol* vor. Die Kinetik mit 50 *mM* NaCl ist eher mit der Aggregation ohne NaCl und einer β -Amyloid-Konzentration von 0,0392 *g/L* vergleichbar (vgl. Abbildung 4.10g und Abbildung 4.10h). Die Anfangsphase für Radius und Masse ist unterschiedlich lang. Setzt das Wachstum von $R_{g,z}$ nach ca. 50 *min* ein, so beginnt es für M_w bereits nach 10 *min*. Mit $R_{g,z} = 30$ bis 40 *nm* und $M_w = 3 \cdot 10^5$ *g/mol* sind die Absolutwerte für Radien und Massen der Anfangsphase kleiner als in den vorangehend beschriebenen Messungen.

4.3 Diskussion der β -Amyloid Aggregation

Um ein möglichst großes Maß an Übersicht zu gewährleisten, wird die Diskussion der β -Amyloid-Aggregation geteilt: Zunächst erfolgt eine ausführliche Diskussion anhand *einer* Messung. Es werden sowohl die Kinetik und die globalen Dimensionen, als auch die strukturellen Parameter aus der Analyse der zeitabhängigen Formfaktoren betrachtet. Im Anschluß daran folgt die Besprechung *aller* experimentellen Daten in Form einer Konzentrationsreihe (vgl. Abbildung 4.9) sowie zweier Salzreihen (vgl. Abbildung 4.10 und 4.11).

4.3.1 Diskussion der experimentellen Daten der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl

In Abbildung 4.12a ist der Trägheitsradius $R_{g,z}$ der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl gegen die Zeit t aufgetragen ¹. Innerhalb der ersten sechs Minuten liegt ein konstanter Radius von 50 nm vor. Für den Zeitraum $t \geq 10 \text{ min}$ findet sich in der vorliegenden doppellogarithmischen Darstellung ein linearer Zusammenhang, der durch ein Exponentialgesetz der Form

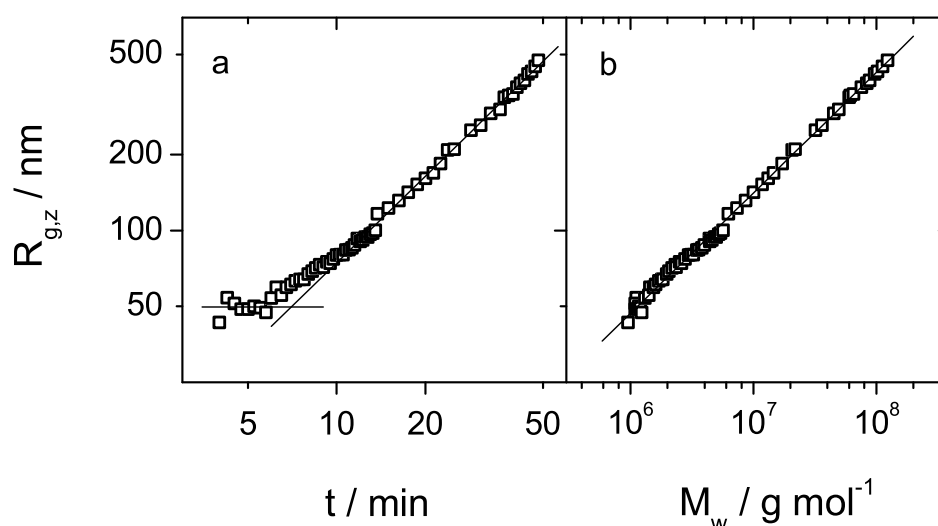


Abbildung 4.12: Auftragung des Trägheitsradius $R_{g,z}$ gegen die Zeit t und die gewichtsmittlere Molmasse M_w für die β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl .

¹Die Trägheitsradien größer als 100 nm und die dazugehörigen Molmassen sind das Ergebnis der Formfaktoranpassung. Siehe Abschnitt 4.2.3.1 und die folgenden Seiten.

$$R_{g,z} \propto t^\tau \quad (4.6)$$

beschrieben werden kann. Die daraus ermittelte Konstante τ kann direkt mit dem bereits in Abschnitt 3.3.1 eingeführten Modell der diffusionskontrollierten Cluster-Aggregation (*diffusion limited cluster aggregation*, DLCA) verglichen werden. So ergibt sich nach linearer Regression der Werte für $t \geq 10 \text{ min}$ eine Steigung von 1,14. Dieser Wert ist nahezu doppelt so groß, wie er für die DLCA mit $\tau = 1/1,8 = 0,56$ gefunden wird [50, 51]. Das Modell steht daher als mögliche Erklärung der A β -Aggregation nicht zur Verfügung. Als weiteres Aggregationsmodell wurde zusätzlich die reaktionskontrollierte Cluster-Aggregation (*reaction limited cluster aggregation*, RLCA) eingeführt. In diesem Fall findet man ein Exponentialgesetz der Form [51, 52]

$$R_{g,z} \propto e^{\text{const} \cdot t} \quad (4.7)$$

was ebenfalls nicht beobachtet wird, so daß auch dieses Modell nicht auf die A β -Aggregation übertragen werden kann. Da sich die Kinetiken weder dem DLCA- noch dem RLCA-Mechanismus zuordnen lassen, kann nur eine qualitative Aussage bezüglich des Wachstums der entstehenden Teilchen gemacht werden. Die zu Beginn auffällige Konstanz der Radien kann dadurch erklärt werden, daß sich auf Kosten der Monomere Aggregate gleicher Größe bilden [53]. Hierauf aufbauend bildet sich im weiteren Verlauf ein Wachstum aus, in dem relativ schnell größere Teilchen entstehen. Zudem ist mit $\tau = 1,14$ ein gegenüber der DLCA deutlich größerer Exponent vorhanden, der ein Hinweis auf wenig kompakt gebaute Teilchen ist.

Durch eine Auftragung von $R_{g,z}$ vs. M_w können weitere Informationen über den Wachstumsmechanismus und die Struktur der entstehenden Teilchen erhalten werden. Das der Auftragung zugrunde liegende Exponentialgesetz lautet

$$R_{g,z} \propto M_w^\alpha \quad (4.8)$$

In Abbildung 4.12b ist die entsprechende Darstellung für den vorliegenden Fall der A β -Aggregation gezeigt. Es ist ein durchgängiges Exponentialverhalten mit einer Steigung von $\alpha = 0,48$ vorhanden. Dieser Wert stimmt mit dem Exponenten des DLCA-Modells überein [51, 52]. Allerdings gibt dieses Modell den kinetischen Verlauf nicht wieder, so daß eine andere Erklärung in Betracht gezogen werden muß. Für stabförmige Teilchen erhält man unter Berücksichtigung des Monomeranteils

(vgl. Abschnitt 3.3.1) einen Wert von $\alpha = 0,5$. Auch dieser Wert ist im Rahmen des experimentellen Fehlers noch akzeptabel. Unter Vorgriff auf die Ergebnisse der Untersuchung der Formfaktoren, kann dieses Modell aber ebenfalls nicht zutreffen, da den streuenden Teilchen eindeutig keine Stabgeometrie zugrunde liegt. Immerhin bestehen die längsten Fibrillen aus mehr als 200 Persistenzlängen.

Weitere Informationen über die Struktur der im Laufe der Aggregation entstehenden Teilchen können aus der Analyse der entsprechenden Formfaktoren gewonnen werden (siehe Abschnitt 2.1.3). Die Darstellung erfolgt gegen die dimensionlose Variable u mit

$$u = q \cdot R_{g,z} \quad (4.9)$$

In Abbildung 4.13 sind exemplarisch der Formfaktor der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl zum Zeitpunkt $t = 23,75 \text{ min}$, sowie die theoretischen Verläufe eines Stabes, eines Knäuels und einer Kugel in Form der HOLTZER-Auftragung $uP(u)$ vs. u sowie der KRATKY-Auftragung $u^2P(u)$ vs. u dargestellt. Es zeigt sich, daß keines der selbstähnlichen Systeme den experimentellen Verlauf richtig wiedergibt. Eine verzweigte Struktur kann für die entstehenden Teilchen ebenfalls weitgehend ausgeschlossen werden, da sich im KRATKY-Plot kein Maximum erkennen läßt [54]. Betrachtet man jedoch die Lage der experimentellen Daten, so fällt auf, daß sie zwischen den Verläufen für Stab und Knäuel liegen. Unter Einbeziehung der vorherigen Überlegungen kann also die begründete Annahme gemacht werden, daß es sich um eine lineare, semiflexible Struktur handelt. Das physikalische Modell, welches eine solche Struktur beschreibt, ist das des kontinuierlich gekrümmten Fadens von KRAKTKY und POROD (KRAKTKY-POROD-Kette) [104]. Eine Interpretation der β -Amyloid-Aggregate in Form einer KRAKTKY-POROD-Kette würde sich zudem in hervorragender Weise mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen [86, 101] decken.

Vor Auswahl einer geeigneten Formel zur Beschreibung einer KRAKTKY-POROD-Kette soll an dieser Stelle noch auf einen möglichen Einfluß des Ausgeschlossenen Volumens also des A_2 -Wertes auf die Streukurven eingegangen werden. Zur Abschätzung der Größenordnung des A_2 -Wertes werden Rechnungen für Stab, Knäuel und Kugel durchgeführt [111] und der prozentuale Einfluß bei der Molmassenbestimmung ermittelt (siehe Anhang). Abbildung 4.14a zeigt die entsprechenden Auftragungen. Unter Berücksichtigung der Interpretation der β -Amyloid-Aggregate mit Hilfe einer KRAKTKY-POROD-Kette, muß der A_2 -Wert von einer Größenordnung sein, der zwischen den A_2 -Werten für Stab und Knäuel liegt.

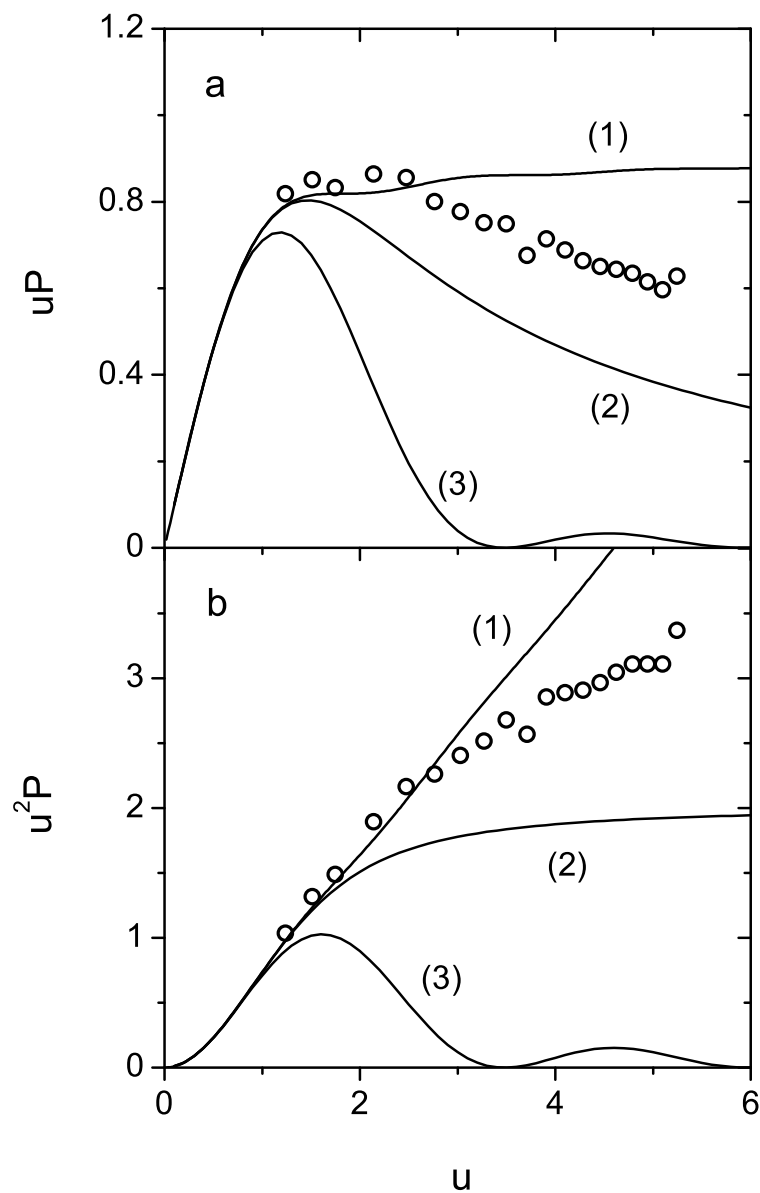


Abbildung 4.13: (a) HOLTZER-Auftragung des Formfaktors der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl zum Zeitpunkt $t = 23,75 \text{ min}$ ($\circ$). Als Vergleich sind die theoretischen Verläufe eines Stabes (1), eines Knäuels (2) und einer Kugel (3) eingezeichnet. (b) Gleicher Datensatz wie unter (a) jedoch in Form einer KRATKY-Auftragung.

In dem betrachteten Molmassenbereich befindet sich der Einfluß demnach in einem Bereich von unter 1 % bis hin zu 18 %. Da somit lediglich für die größten Aggregate mit einem signifikanten Einfluß gerechnet werden könnte, wird im weiteren Verlauf

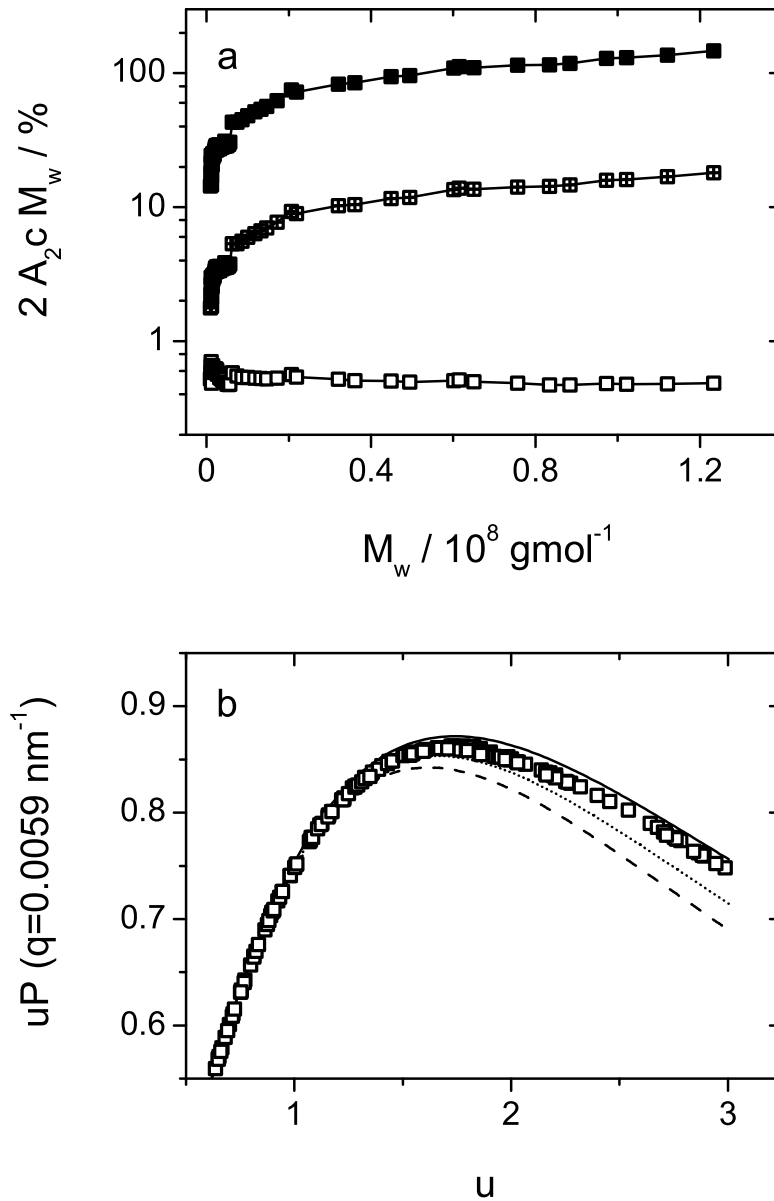


Abbildung 4.14: (a) Abschätzung der Größenordnung des Fehlers bei Vernachlässigung des A_2 -Wertes für Stab ($\square$), Knäuel ($\boxplus$) und Kugel ($\blacksquare$). (b) Normierte HOLTZER-Auftragung der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl für den gesamten in Abbildung 4.12 betrachteten Zeitraum bei nur einem q -Wert von $0,0059 \text{ nm}^{-1}$. Als Vergleich sind drei theoretische Kurven für $z = 1$ (—), $z = 2$ (⋯) und $z = 3$ (---) eingezeichnet. Die experimentellen Punkte bilden einen Verlauf, der zwischen den theoretischen Kurven für $z = 1$ und $z = 2$ liegt.

der Auswertung das Ausgeschlossene Volumen nicht berücksichtigt.

Für die Anpassung der Formfaktoren ist neben der eigentlichen Struktur und dem Ausgeschlossenen Volumen die Polydispersität der zu betrachtenden Teilchen von Bedeutung. Prinzipiell ist eine polydisperse Verteilung der Teilchengrößen zu erwarten, so daß dies bei der Berechnung des Formfaktors berücksichtigt werden muß (Details der Berechnung siehe Anhang). Zur Bestimmung der Polydispersität sind in Abbildung 4.14b die Formfaktoren der relevanten Steukurven bei nur einen q -Wert von $q = 5,9 \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1}$, sowie entsprechende theoretische Kurven für $z = 1$, $z = 2$ und $z = 3$ in Form einer normierten HOLTZER-Darstellung aufgetragen. Die theoretischen Verläufe werden hierbei mit Hilfe des Formfaktors nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER ohne Berücksichtigung des ausgeschlossenen Volumens berechnet, welcher im folgenden Abschnitt noch eingeführt wird. Der für die Rechnungen notwendigen Parameter der Persistenzlänge a ergibt sich als Mittelwert der Grenzwerte der Persistenzlängen aus Abbildung 4.15 zu $a = 45 \text{ nm}$. Die Trägheitsradien und Molmassen zur Berechnung von u und u^P sind mittels einer modellunabhängigen Auswertung der zugehörigen Streukurven nach der ZIMM-Methode bestimmt worden. Hierbei wird über einen q -Bereich von $5,9 \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1} < q < 1,6 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}$, was den ersten acht Winkeln der Apparatur entspricht, eine quadratische Anpassung durchgeführt. Vergleicht man die entstehende Kurve mit den theoretischen Verläufen bei unterschiedlichen z -Werten, so decken sich die experimentellen Punkte nahezu mit dem Verlauf für $z = 1$. Die Auswertung der Streukurven erfolgt daraufhin für alle Messungen durch polydisperse Formfaktoren mit $z = 1$.²

Aufgrund der bisherigen Überlegungen findet für die Berechnung der Formfaktoren der KRAKTKY-POROD-Ketten die Formel nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER ohne Berücksichtigung des ausgeschlossenen Volumens Anwendung (siehe Tabelle A.7 im Anhang) [105, 106]. Andere Ansätze zur Berechnung einer KRAKTKY-POROD-Kette wie zum Beispiel nach KOYAMA [63], KHOLODENKO [112] oder SHARP und BLOOMFIELD [113] weisen entweder einen eingeschränkten u -Bereich, numerische Berechnungen oder eine auf eine bestimmte Persistenz beschränkte Gültigkeit auf. Als Fitgrößen dienen bei der Anpassung mit dem Ansatz nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER die gewichtsmittlere Molmasse M_w , die gewichtsmittlere Konturlänge L_w und die Persistenzlänge a . Mit Hilfe dieser Strukturparameter können weitere Informationen über das Wachstum und den Aufbau der β -Amyloid-Aggregate, zum Beispiel in Bezug auf die lineare Massenbelegung der Aggregate, gewonnen und mit literaturbekannten Modellen

²Das hier dargestellte Verfahren ist ein iterativer Prozess. Zu Beginn wird mit einer physikalisch sinnvollen Wahl von $z = 1$ gestartet und dann die weiteren Schritte der Auswertung durchgeführt. Da in Abbildung 4.14 die experimentellen Daten mit dem theoretischen Verlauf von $z = 1$ nahezu identisch sind, kann die Auswertung als konsistent betrachtet werden.

und Daten verglichen werden.

Abbildung 4.15a zeigt die aus der Anpassung der vorliegende A β -Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl ermittelten Persistenzlängen a in Abhängigkeit von der Konturlänge L_w . Deutlich ist eine Abnahme der Persistenz mit zunehmender Konturlänge zu erkennen. Dies ist zunächst unverständlich und könnte an dieser Stelle entweder als tatsächliche Abnahme der Flexibilität oder durch eine im Laufe der Zeit zunehmende Verzweigung erklärt werden [64]. Beide Begründungen sind nicht zufriedenstellend, da die Flexibilität als inherente Größe der entstehenden Teilchen konstant sein sollte und die Formfaktoren keinen Hinweis auf eine Verzweigung liefern. Eine Erklärung dieses Verhaltens ist erst unter Berücksichtigung aller potentiell in der Lösung vorkommenden Spezies möglich und wird in Abschnitt 4.3.4 in Zusammenhang mit der Entwicklung eines kinetischen Modells der β -Amyloid-Aggregation gegeben. Betrachtet man die absoluten Werte der Persistenz, so können alle A β -Aggregate als flexible KRATKY-POROD-Ketten beschrieben werden, da gilt $\frac{L}{2a} > 2$. Die Teilchen ähneln damit eher einer Gauß-Kette als einem starren Stäbchen.

Als direkte Folge der Abnahme der Persistenzlänge entsprechen die nach Gleichung 4.1 berechneten Trägheitsradien nicht dem theoretischen Verlauf wie er für eine konstante Persistenzlänge zu erwarten ist. Vielmehr durchlaufen die Trägheitsradien einen Bereich von Persistenzlängen. Abbildung 4.15b zeigt dieses Verhalten für den vorliegenden Fall. Die beiden durchgezogenen Linien entsprechen den theoretischen Verläufen, wie sie mit den in Abbildung 4.15a eingezeichneten Grenzwerten berechnet werden.

Durch die Bestimmung der gewichtsmittleren Molmasse M_w und der gewichtsmittleren Konturlänge L_w ist es möglich, die Masse pro Einheitslänge oder auch lineare Massenbelegung M_L der entstehenden Teilchen zu bestimmen. Abbildung 4.16 zeigt das Ergebnis für die vorliegende Aggregation in Abhängigkeit von der Konturlänge. Wie bereits bei der Persistenzlänge zeigt sich auch für M_L eine Abnahme mit zunehmendem L_w . In einer einfachen Betrachtungsweise nimmt damit die Dicke der A β -Aggregate im Verlauf der Zeit um ca. 25 % ab. Um diese Interpretation zu stützen, müßte die lineare Massenbelegung bereits entstandener Fibrillen wieder abnehmen oder im Laufe der Zeit sich dünnere Teilchen ausbilden. Beide Annahmen sind aus physikalischer Sicht nicht sinnvoll. Eine einfache Erklärung für die Abnahme von M_L ergibt sich wieder, wenn alle potentiell in der Lösung vorkommenden Spezies berücksichtigt werden und wird in Abschnitt 4.3.4 bei der Entwicklung eines kinetischen Modells der β -Amyloid-Aggregation

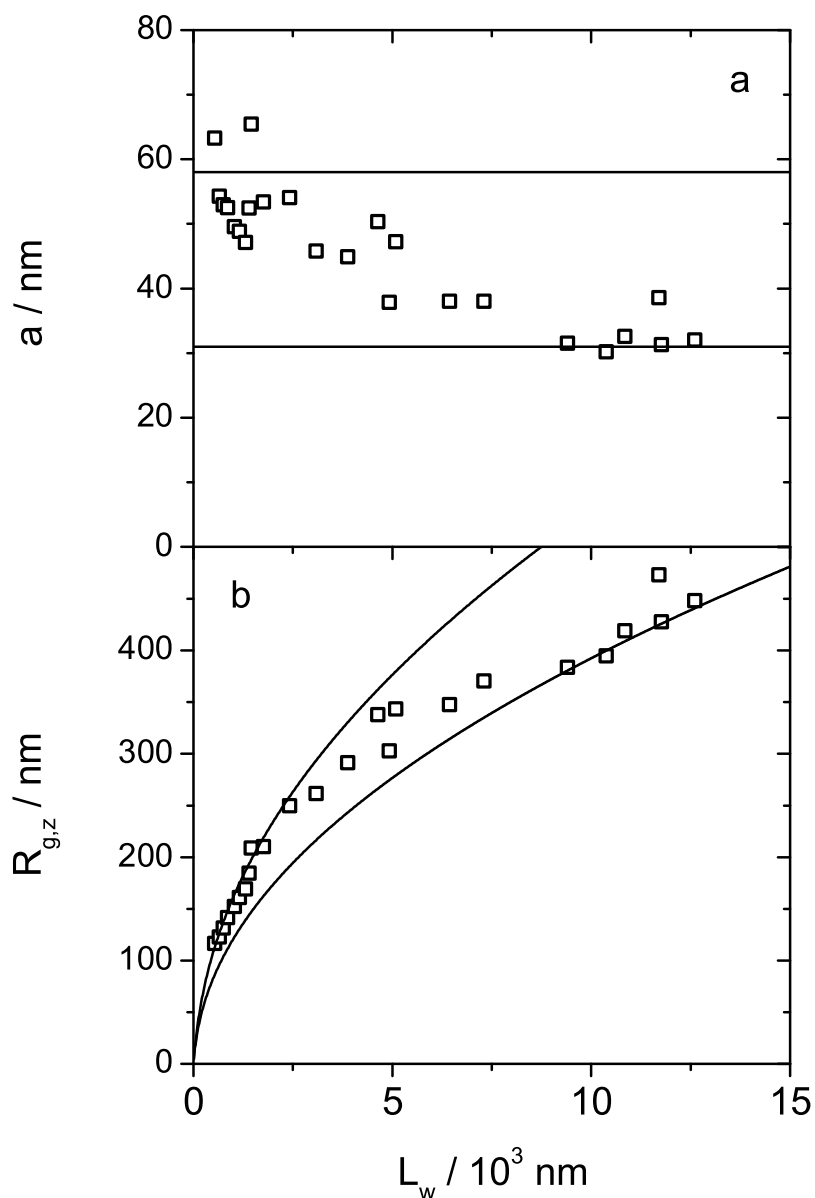


Abbildung 4.15: Persistenz und Trägheitsradius in Abhängigkeit von der gewichtsmittleren Konturlänge. Das betrachtete Intervall entspricht dem Aggregationbereich von 13,75 – 48,25 min der β -Amyloid-Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl. Die durchgezogenen Linien entsprechen mit 58 und 31 nm den Grenzwerten der Persistenzlänge (a) beziehungsweise den hieraus berechneten Trägheitsradien (b).

gegeben.

Trotz dieser noch offenen Fragestellung, können zumindest die asymptotischen Werte von a und M_L diskutiert und gegebenenfalls mit literaturbekannten Daten

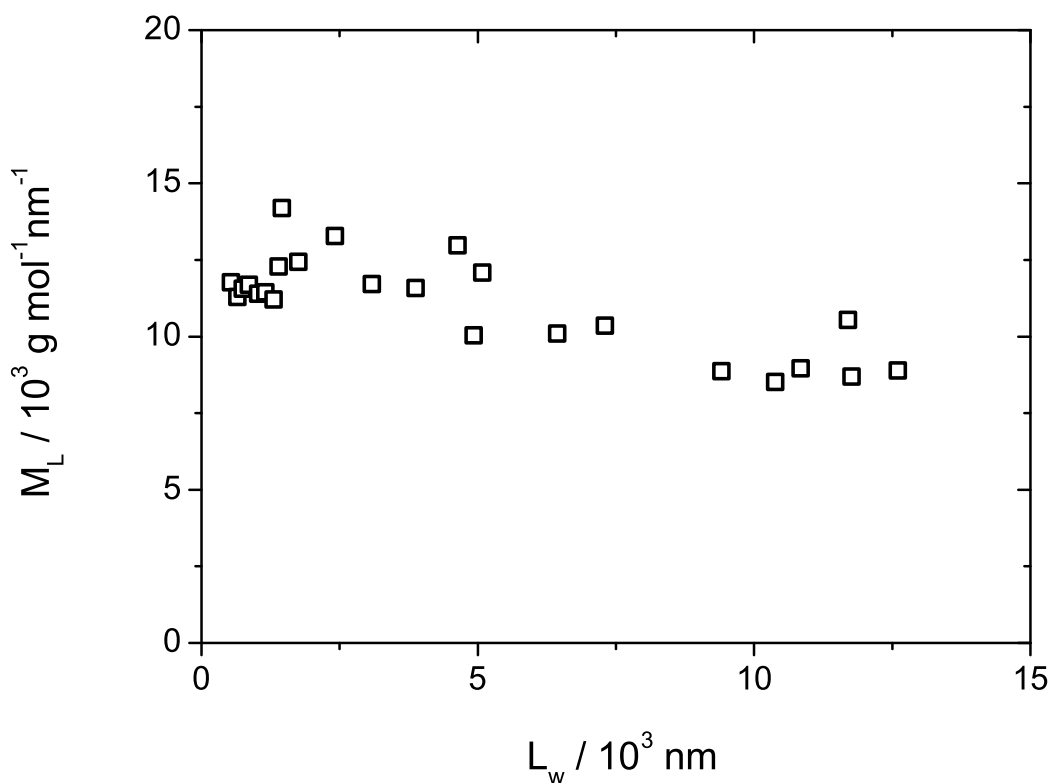


Abbildung 4.16: Lineare Massenbelegung M_L in Abhängigkeit der Konturlänge L_w für den gleichen Datensatz wie in Abbildung 4.15

verglichen werden. So findet GOLDSBURY et al. [101] mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen unter gleichen präparativen Bedingungen aber einer $A\beta$ -Konzentration von $100 \mu\text{M}$ und einem NaCl-Gehalt von 120 mM , innerhalb eines Tages Fibrillen mit einer linearen Massenbelegung von $1,9 \cdot 10^4 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$. Das Ergebnis deckt sich unter Berücksichtigung der experimentellen Fehler erstaunlich gut mit den Ergebnissen der Lichtstreuungsmessungen in Abbildung 4.16. Allerdings ist nicht ersichtlich, zu welchem Zeitpunkt die mikroskopischen Untersuchungen durchgeführt worden sind, so daß weitere Prozesse, die die lineare Massenbelegung beeinflussen, nicht ausgeschlossen werden können und einen direkten Vergleich erschweren. Neben den elektronenmikroskopischen Untersuchungen liefern Festkörper-NMR-Untersuchungen von TYCKO [114, 115] ein Modell der $A\beta$ -Fibrillen mit einer linearen Massenbelegung von ca. $1,8 \cdot 10^4 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$, und damit eine weitere Bestätigung der Ergebnisse der Lichtstreuungsmessungen.

Aufgrund der bisherigen Diskussion der β -Amyloid-Aggregation ergibt sich folgendes Bild:

- Die Kinetik kann weder mit dem DLCA- noch mit dem RLCA-Modell beschrieben werden.
- Die globalen Dimensionen der entstehenden Teilchen lassen keine eindeutige Zuordnung der Geometrie zu, liefern aber Hinweise auf eher linear gebaute Strukturen.
- Diese Hypothese wird durch die Anpassung der Aggregate mit Hilfe einer polydispersen KRATKY-POROD-Kette bestätigt, die auf eine lineare, semiflexible Struktur der Teilchen schließen läßt.
- Durch die Anpassung der Streukurven können zusätzliche strukturelevante Parameter wie Persistenz und lineare Massenbelegung bestimmt werden. Der konturlängenabhängige Verlauf dieser Größen ist bis jetzt noch nicht zu verstehen.
- Die Grenzwerte für lange Ketten weisen mit $a \approx 30 \text{ nm}$ auf relativ flexible Fibrillen hin. Der entsprechende Plateauwert für die lineare Massenbelegung ist mit $M_L \approx 9000 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ unter Berücksichtigung des experimentellen Fehlers in Einklang mit Abschätzungen aus der Literatur [101, 114, 115].

Im nächsten Abschnitt sollen die an einer Einzelmessung gewonnenen Erkenntnisse im Hinblick auf die noch ausstehenden Messungen in Form einer Konzentrationsreihe und zweier Salzreihen diskutiert werden. Um die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Aggregationen zu gewährleisten, werden die bereits in der Diskussion der Einzelmessung vorgestellten Verfahren in allen noch ausstehenden Fällen wiederholt und deren Ergebnisse untereinander verglichen.

4.3.2 Diskussion der β -Amyloid-Aggregationen der Konzentrationsreihe

Innerhalb der Konzentrationsreihe (vgl. Tabelle 4.1 und Abbildung 4.8) liegt bei konstantem Salzgehalt von 150 mM eine Variation der $A\beta$ -Konzentration von $0,0118 \text{ g/L}$ bis $0,0392 \text{ g/L}$ vor. In Abbildung 4.17 sind die Aggregationskinetiken in Abhängigkeit von der Zeit in einer Übersicht aufgetragen. Deutlich ist mit abnehmender β -Amyloidkonzentration eine Verlangsamung der Aggregation zu erkennen. Die Kurve mit $c_{A\beta} = 0,0118 \text{ g/L}$ weicht von diesem Trend ab. Allerdings kann an dieser Stelle noch nicht von einer Trendumkehr gesprochen werden, da eine Vielzahl von potentiellen Fehlerquellen die Kinetik beeinflussen können. Als

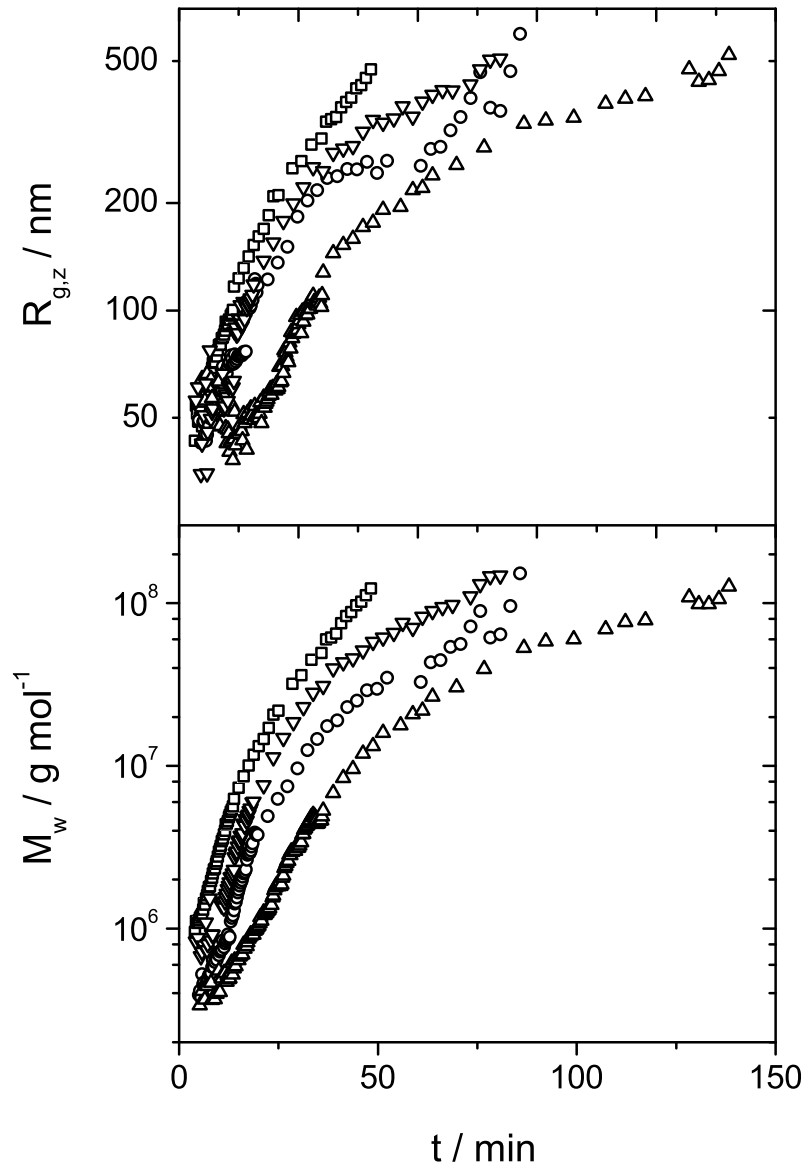


Abbildung 4.17: Aggregationskinetiken vier unterschiedlicher $A\beta$ -Konzentrationen mit $0,0392 \text{ g/L}$ (a, $\square$), $0,0314 \text{ g/L}$ (b, $\circ$), $0,0196 \text{ g/L}$ (c, $\triangle$) und $0,0118 \text{ g/L}$ (d, ∇) bei konstanter NaCl-Konzentration von 150 mM .

wichtigste Fehlerquellen sind Wägefehlern und gegenüber den anderen Messungen nicht reproduzierte Ausgangsbedingungen zu nennen. Die weitere Diskussion richtet sich nach dem bereits bei der Einzelmessung verwendeten Schema.

Zunächst erfolgt die Bestimmung der Exponenten aus den Auftragungen von $R_{g,z}$ vs. t und $R_{g,z}$ vs. M_w (siehe Abbildungen 4.9 und 4.18). Die durch lineare Regression

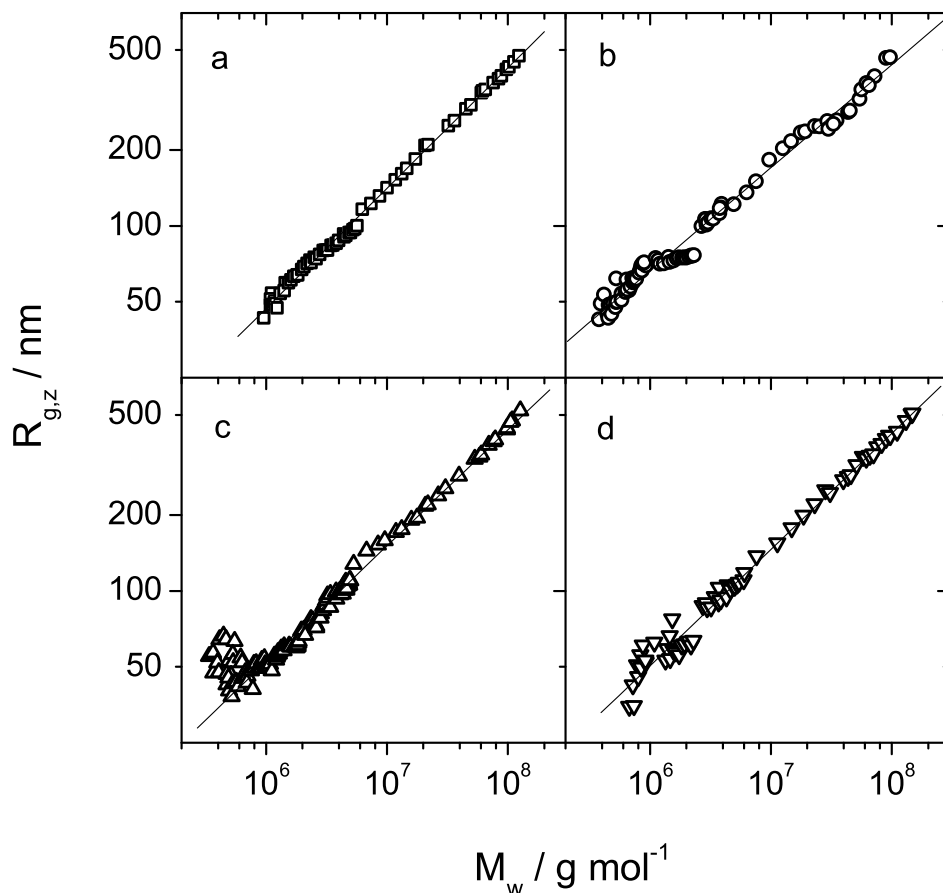


Abbildung 4.18: Aggregation vier unterschiedlicher A β -Konzentrationen mit 0,0392 g/L (a, $\square$), 0,0314 g/L (b, $\circ$), 0,0196 g/L (c, $\triangle$) und 0,0118 g/L (d, ∇) bei konstanter NaCl-Konzentration von 150 mM.

ermittelten Exponenten sind in Tabelle 4.2 dargestellt. In allen Fällen liegt praktisch ein konstanter Wert sowohl für τ , als auch für α vor. Innerhalb der vorliegenden Konzentrationsreihe kann für diese Werte demnach kein Trend festgestellt werden. Die Untersuchung der Streukurven unter Verwendung des Modells der KRATKY-POROD-Kette nach der Formel von PEDERSEN und SCHURTENBERGER liefert die Persistenzlänge a , die gewichtsmittlere Konturlänge L_w und die gewichtsmittlere Molmasse M_w . Abbildung 4.19 zeigt die Auftragung a vs. L_w . In allen Fällen ist zunächst das gleiche relative Verhalten zu beobachten. Mit einer zunehmenden Konturlänge nimmt die Persistenzlänge ab. Für große L_w ergibt sich aber in allen Fällen ein Plateauwert für a . Diese Plateauwerte gehen bei den Konzentrationen $c = 0,0392$ g/L und $c = 0,0196$ g/L auf Werte von ca. 30 nm zurück, während die Konzentrationen $c = 0,0314$ g/L und $c = 0,0118$ g/L Plateauwerte von ca. 60 nm

Tabelle 4.2: Exponenten der Auftragung $R_{g,z}$ vs. t und $R_{g,z}$ vs. M_w für die Konzentrationsreihe. Die Indizes geben die Aggregationszeit an, ab welcher eine lineare Regression durchgeführt wurde.

$c_{A\beta}$ [g/L]	τ	α
0,0392	1, 14 ≥ 10 min	0,48
0,0314	0, 97 ≥ 10 min	0,41
0,0196	1, 18 ≥ 15 min	0,46
0,0118	1, 12 ≥ 10 min	0,46

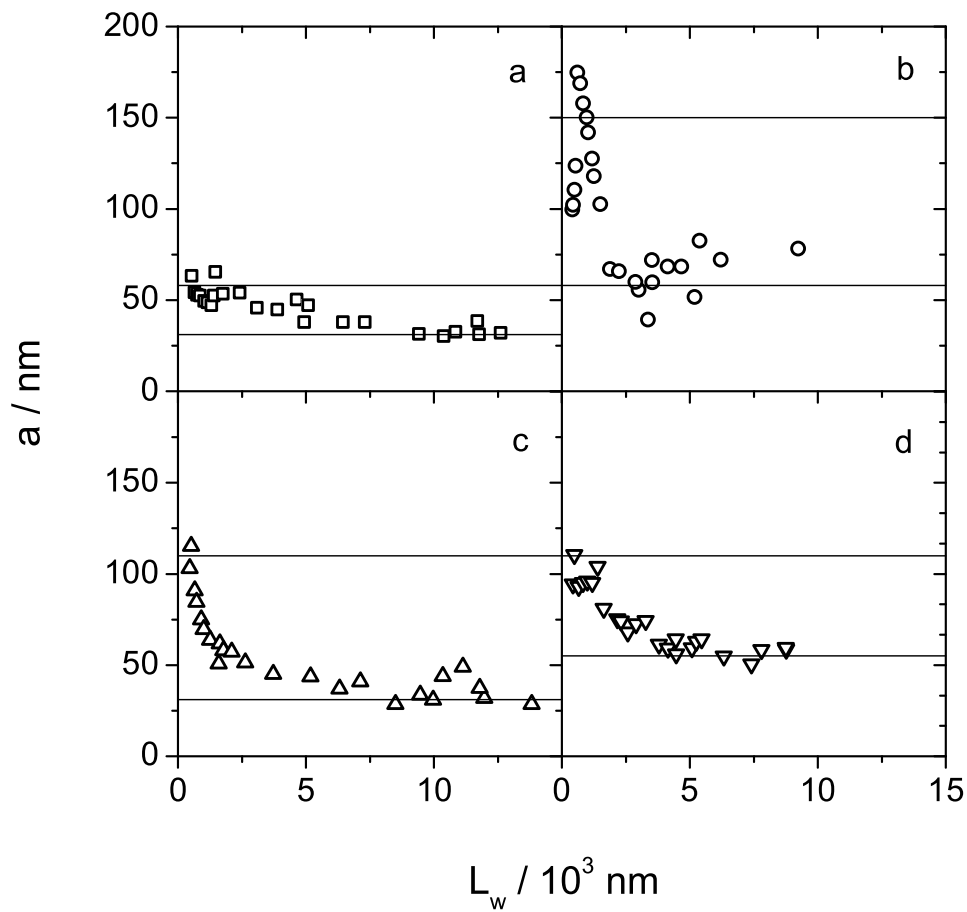


Abbildung 4.19: Verhalten der Persistenzlänge während der Aggregation der vier $A\beta$ -Konzentrationen mit 0,0392 g/L (a, $\square$), 0,0314 g/L (b, $\circ$), 0,0196 g/L (c, $\triangle$) und 0,0118 g/L (d, ∇) in Abhängigkeit von der Konturlänge. Die NaCl-Konzentration beträgt in allen Fällen 150 mM. Die Grenzwerte zur Berechnung der Trägheitsradien sind mit 58 und 31 nm (a), 150 und 55 nm (b), 110 und 31 nm (c) sowie 110 und 55 nm (d) eingezeichnet.

liefern. Betrachtet man ausschließlich diese Werte, liegt zwar eine große Schwankung vor, allerdings kann kein Trend in Abhängigkeit von der Konzentration des β -Amyloids gefunden werden.

Die zugehörigen Trägheitsradien $R_{g,z}$ sind in der Abbildung 4.20 in einer Auftragung gegen die Konturlänge L_w gezeigt. Zum Vergleich beinhaltet jede Auftragung die theoretischen Verläufe, wie sie sich unter Verwendung der in den vorherigen Abbildungen 4.19a bis 4.19d eingezeichneten Grenzpersistenzlängen ergeben. In keinem Fall können die experimentellen Verläufe mit nur einer konstanten Persistenzlänge beschrieben werden. Vielmehr durchlaufen die Trägheitsradien einen Bereich, der durch die Grenzpersistenzlängen vorgegeben ist. Die Messungen bei $c = 0,0392 \text{ g/L}$ und $c = 0,0196 \text{ g/L}$ zeigen gegenüber denen bei $c = 0,0314 \text{ g/L}$ und $c = 0,0118 \text{ g/L}$ eine geringere Zunahme der Trägheitsradien, jedoch kann im Hinblick auf die β -Amyloid-Konzentration kein Trend festgestellt werden.

Die Auftragung der linearen Massenbelegung M_L als Funktion der Konturlänge L_w ist in Abbildung 4.21 dargestellt. Ähnlich wie bei den Persistenzlängen a in Abbildung 4.19 ist auch hier eine Abnahme von M_L bei zunehmendem L_w zu erkennen. Zusätzlich weisen die Messungen bei $c = 0,0314 \text{ g/L}$ und $c = 0,0118 \text{ g/L}$ am Anfang einen Anstieg auf. In allen Fällen können für große Konturlängen Plateauwerte bestimmt werden. Diese liegen für die Konzentrationen $c = 0,0392 \text{ g/L}$ und $c = 0,0196 \text{ g/L}$ um $9 \cdot 10^3 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$. Dies entspricht bei einer Molmasse von 4330 g/mol für ein β -Amyloid-Molekül einer Belegung von 2 Proteinen pro nm . Die verbleibenden Konzentrationen $c = 0,0314 \text{ g/L}$ und $c = 0,0118 \text{ g/L}$ zeigen mit einem Plateauwert von ca. $16 \cdot 10^3 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ eine etwas größere lineare Massenbelegung. Dies entspricht ungefähr $3,5 \beta$ -Amyloiden pro nm . Für die lineare Massenbelegung zeigen sich somit relativ große Schwankungen, jedoch kann kein Trend in Abhängigkeit von der β -Amyloid-Konzentration aufgezeigt werden.

An dieser Stelle ist ein Vergleich mit dem aus Festkörper-NMR- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen abgeleiteten Modell des Aufbaus einer Amyloid-Fibrille nach TYCKO [114, 115] interessant. Es liefert für die lineare Massenbelegung einen Wert von ca. $1,8 \cdot 10^4 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$. Die β -Amyloide sind dabei in Form zweier gegenüberliegender Angelhaken wie in Abbildung 4.22 gezeigt angeordnet. Unter Berücksichtigung des experimentellen Fehlers liegen die linearen Massenbelegungen aus den Lichtstreuuntersuchungen damit etwas niedriger, doch kann dies immer noch als eine Bestätigung der vorliegenden experimentellen Daten aufgefaßt werden. Im Umkehrschluß können die aus dem Fibrillenmodell abgeleiteten Merkmale im Rahmen der vorliegenden Diskussion zumindest als Arbeitshypothese Verwendung finden.

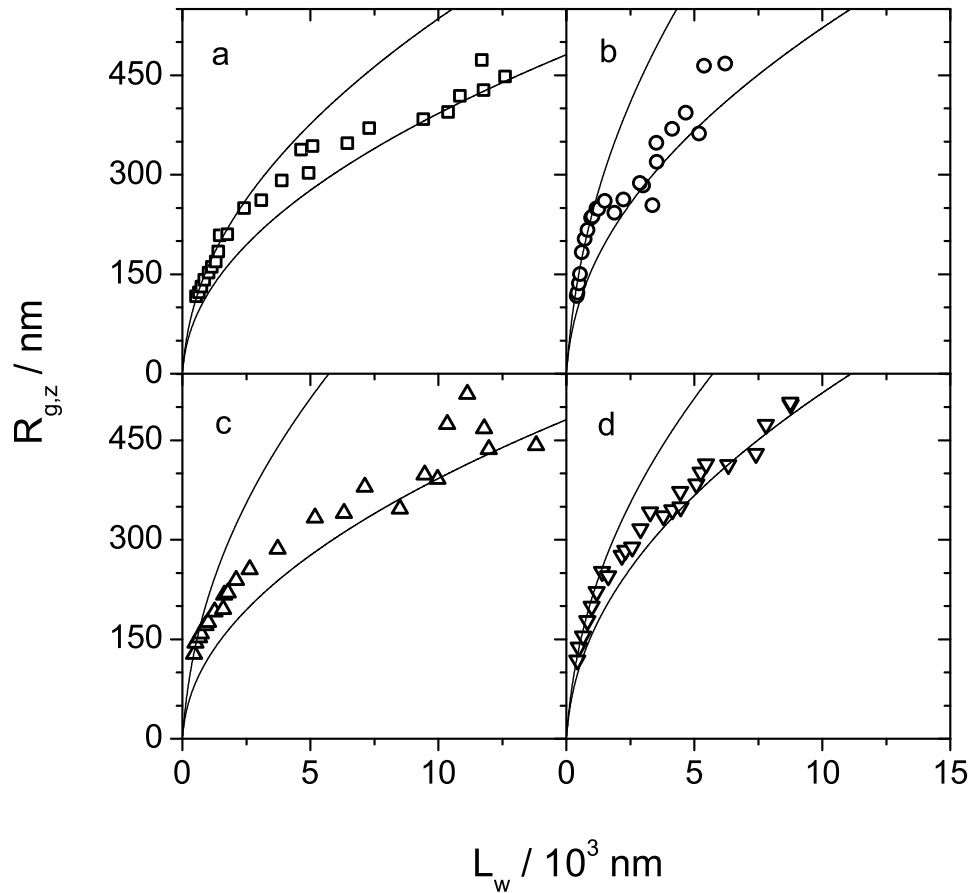


Abbildung 4.20: Wachstum der Trägheitsradien während der Aggregation der vier $A\beta$ -Konzentrationen mit $0,0392 \text{ g/L}$ (a, $\square$), $0,0314 \text{ g/L}$ (b, $\circ$), $0,0196 \text{ g/L}$ (c, $\triangle$) und $0,0118 \text{ g/L}$ (d, ∇) in Abhängigkeit von der Konturlänge. Die NaCl-Konzentration beträgt in allen Fällen 150 mM . Die theoretischen Trägheitsradien berechnen sich nach Gleichung 4.1 und den Grenzwerten der Persistenzlängen aus Abbildung 4.19.

4.3.3 Diskussion der β -Amyloid-Aggregationen der Salzreihen

Die Salzreihen decken bei einer β -Amyloid-Konzentration von $0,0196 \text{ g/L}$ und $0,0392 \text{ g/L}$ jeweils einen Konzentrationsbereich von $50 - 150 \text{ mM}$ beziehungsweise $0 - 150 \text{ mM}$ NaCl ab. In den Abbildungen 4.23 und 4.24 sind die jeweiligen Aggregationskinetiken in Abhängigkeit von der Zeit in einer Übersicht aufgetragen. Deutlich ist mit abnehmender Salzkonzentration eine Verlangsamung der Aggregation zu erkennen. Die Kurve mit $c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$ und 50 mM NaCl zeigt praktisch gar keine Aggregation. Vermutlich ist es hier durch einen präparativen Fehler zu einer Verminderung der $A\beta$ -Konzentration gekommen, so daß die Aggregation nicht mehr stattfinden konnte. In beiden Salzreihen fällt die große Ähnlichkeit im

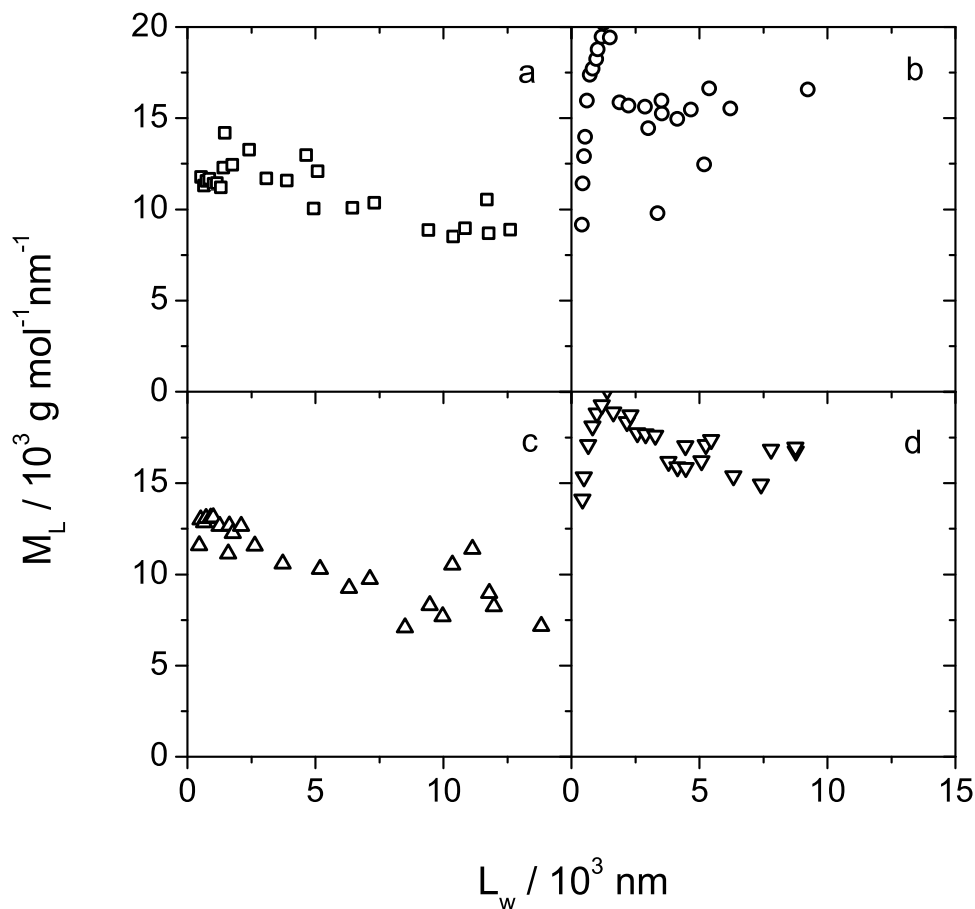


Abbildung 4.21: Entwicklung der linearen Massenbelegung während der Aggregation der vier $A\beta$ -Konzentrationen mit 0,0392 g/L (a, $\square$), 0,0314 g/L (b, $\circ$), 0,0196 g/L (c, $\triangle$) und 0,0118 g/L (d, ∇) in Abhängigkeit von der Konturlänge. Die NaCl-Konzentration beträgt in allen Fällen 150 mM.

Verlauf der Aggregationen bei 150 und 100 mM NaCl auf.

Die Einzelauftragungen $R_{g,z}$ vs. t und $R_{g,z}$ vs. M_w sind in den Abbildungen 4.25 und 4.26 dargestellt. Tabelle 4.3 beinhaltet die entsprechenden Exponenten der jeweiligen Auftragung. Der Exponent τ scheint zumindest für die beiden höchsten Salzkonzentrationen innerhalb des experimentellen Fehlers mit durchschnittlich 1,19 konstant zu sein. Unterhalb von 100 mM NaCl liegen jedoch signifikant kleinere Werte von 0,75 und 0,53 vor. Damit zeigt sich ein Einfluß der Salzkonzentration auf die Kinetik in Form einer Verlangsamung des Wachstums der Teilchen. Diese Beobachtung wird durch die Tatsache ergänzt, daß unterhalb von 100 mM NaCl eine deutliche Verlängerung der Anfangsphase, also der Zeit bis zum Eintreten des

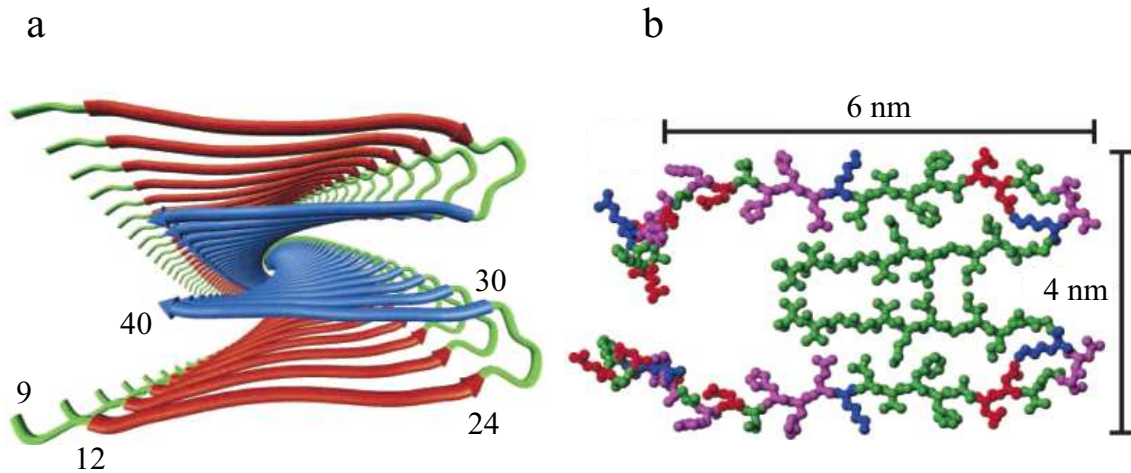


Abbildung 4.22: Fibrillensubstruktur nach TYCKO. (a) Schematische Darstellung der Wechselwirkung zweier $A\beta(1-40)$ -Moleküle für die Aminosäuren 9 bis 40. Rote und blaue Bereiche stellen β -Faltblattstrukturen dar. Die Wachstumsrichtung der Fibrille ist senkrecht zur Papierebene. (b) Vollständige Aminosäuresequenz zweier wechselwirkender $A\beta(1-40)$ -Moleküle. Farbkennzeichnung der Aminosäuren: hydrophob=grün, polar=magenta, positive Ladung=blau, negative Ladung=rot. Der Kern der Fibrille besteht ausschließlich aus hydrophoben Aminosäuren. Sie bilden den transmembranen Teil des APP-Moleküls (vgl. Abbildung 4.3). Die Abbildungen sind aus einer Arbeit von TYCKO [115] entnommen.

Wachstums, auftritt (vgl. Abbildungen 4.10 und 4.11).

Ein umgekehrtes Verhalten findet man für α . Hier ist mit abnehmender Salzkonzentration ein Anstieg der Exponenten auf bis zu $\alpha = 0,93$ festzustellen. Wie in Abschnitt 3.3.1 bereits erläutert, führt die Berücksichtigung von Monomeren bei der Auftragung von $R_{g,z}$ vs. M_w zu einer Halbierung der Exponenten; α_{Stab} : $1 \rightarrow 0,5$, $\alpha_{Knäuel}$: $0,5 \rightarrow 0,25$ und α_{Kugel} : $0,33 \rightarrow 0,166$. Demnach gibt es kein physikalisches Modell, was einen solchen Exponenten beschreiben kann. Das nächste Kapitel

Tabelle 4.3: Exponenten der Auftragung $R_{g,z}$ vs. t und $R_{g,z}$ vs. M_w für die Salzreihen. Die Indizes geben die Aggregationszeit an, ab welcher eine lineare Regression durchgeführt wurde.

$c_{A\beta} = 0,0392 \text{ g/L}$			$c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$		
$c_{NaCl} [mM]$	τ	α	$c_{NaCl} [mM]$	τ	α
150	$1,14 \geq 10 \text{ min}$	0,48	150	$1,18 \geq 15 \text{ min}$	0,46
100	$1,26 \geq 15 \text{ min}$	0,51	100	$1,18 \geq 15 \text{ min}$	0,50
50	-	-	50	$0,75 \geq 100 \text{ min}$	0,93
0	$0,53 \geq 60 \text{ min}$	0,72			

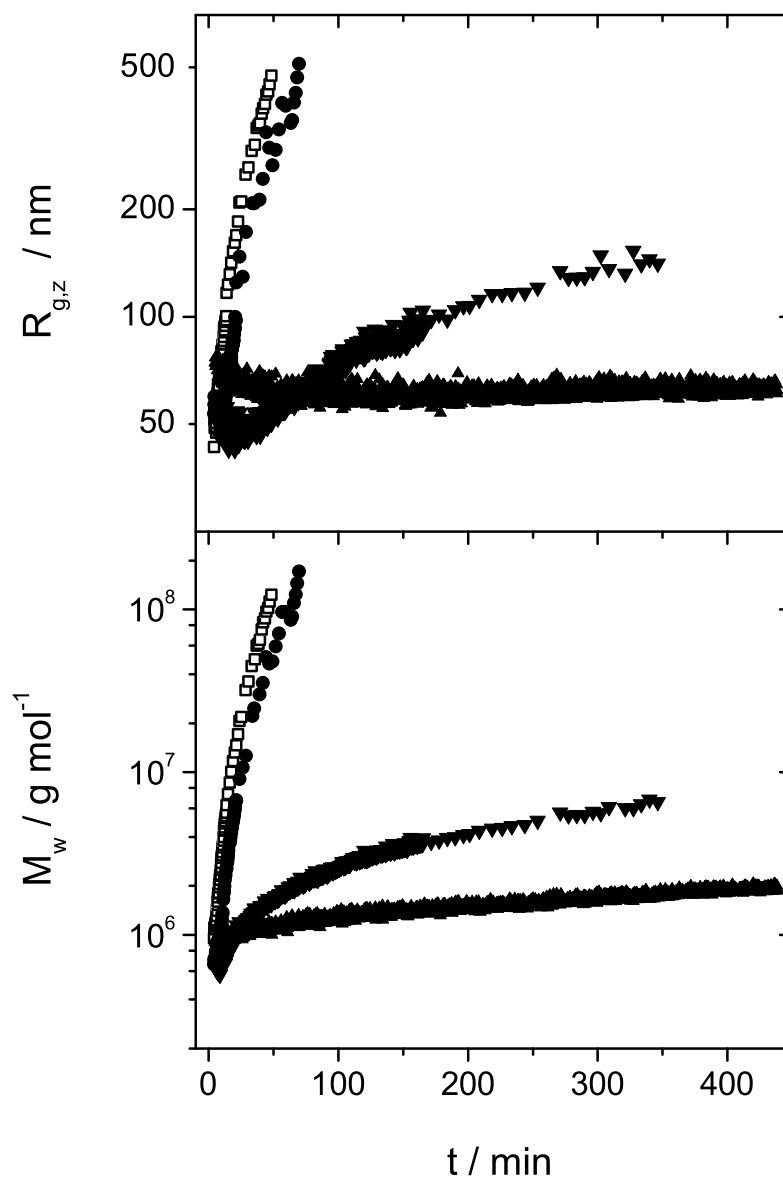


Abbildung 4.23: Aggregationskinetiken bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0392 \text{ g/L}$ und unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\square$), 100 mM NaCl (b, $\bullet$), 50 mM NaCl (c, $\blacktriangle$) und 0 mM NaCl (d, $\blacktriangledown$).

liefert hierfür jedoch im Rahmen der Entwicklung eines kinetischen Modells der β -Amyloid-Aggregation eine erste qualitative Erklärung.

In den nachfolgenden Abbildungen 4.27 bis 4.32 sind die Persistenzlängen a , die $R_{g,z}$ mit den theoretischen Kurven der Grenzpersistenzlängen und die linearen Mas-

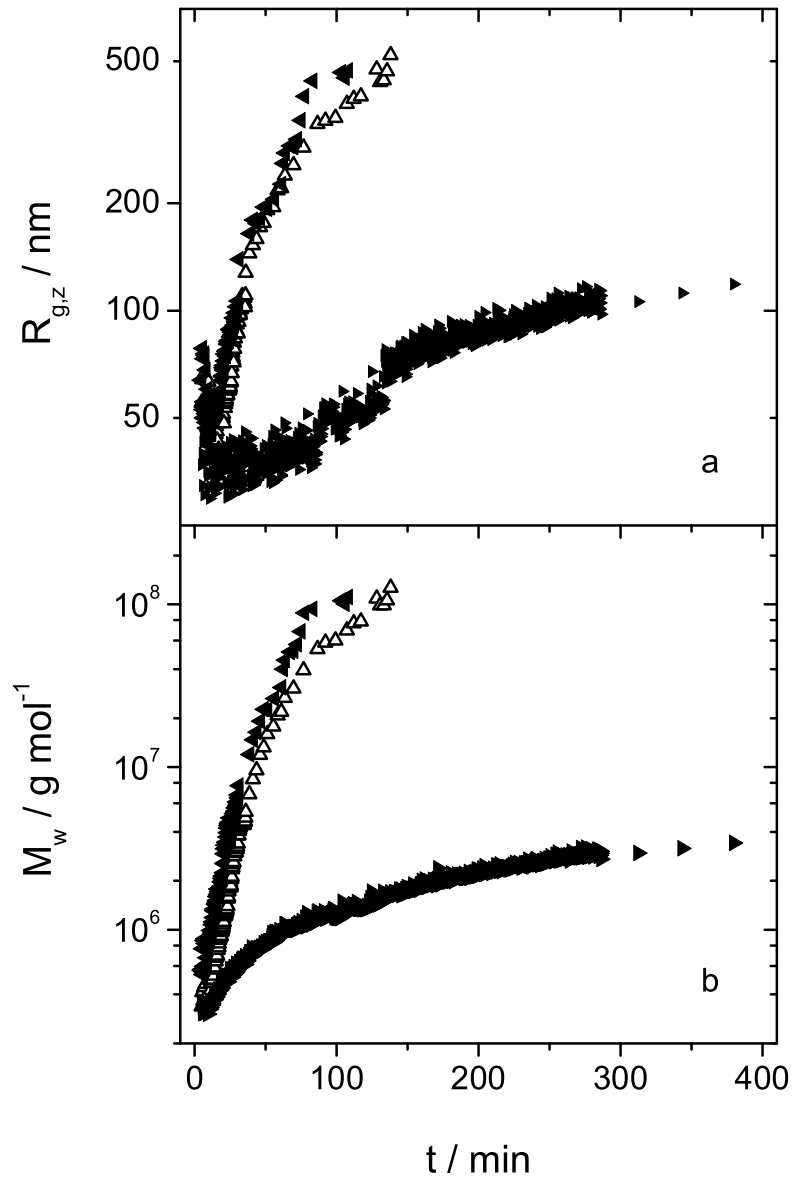


Abbildung 4.24: Aggregationskinetiken bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0196 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\triangle$), 100 mM NaCl (b, $\blacktriangle$) und 50 mM NaCl (c, $\blacktriangleright$).

senbelegungen M_L als Funktion der Konturlänge L_w für beide Salzkonzentrationen dargestellt. Generell setzen sich die bereits aus der Konzentrationsabhängigkeit bekannten Verläufe fort. So zeigt sich für a und M_L eine Abnahme mit zunehmender Konturlänge. Das Grenzverhalten von a und M_L weist keine signifikante Abhängigkeit von der Salzkonzentration auf. Die extreme Verlangsamung der Ki-

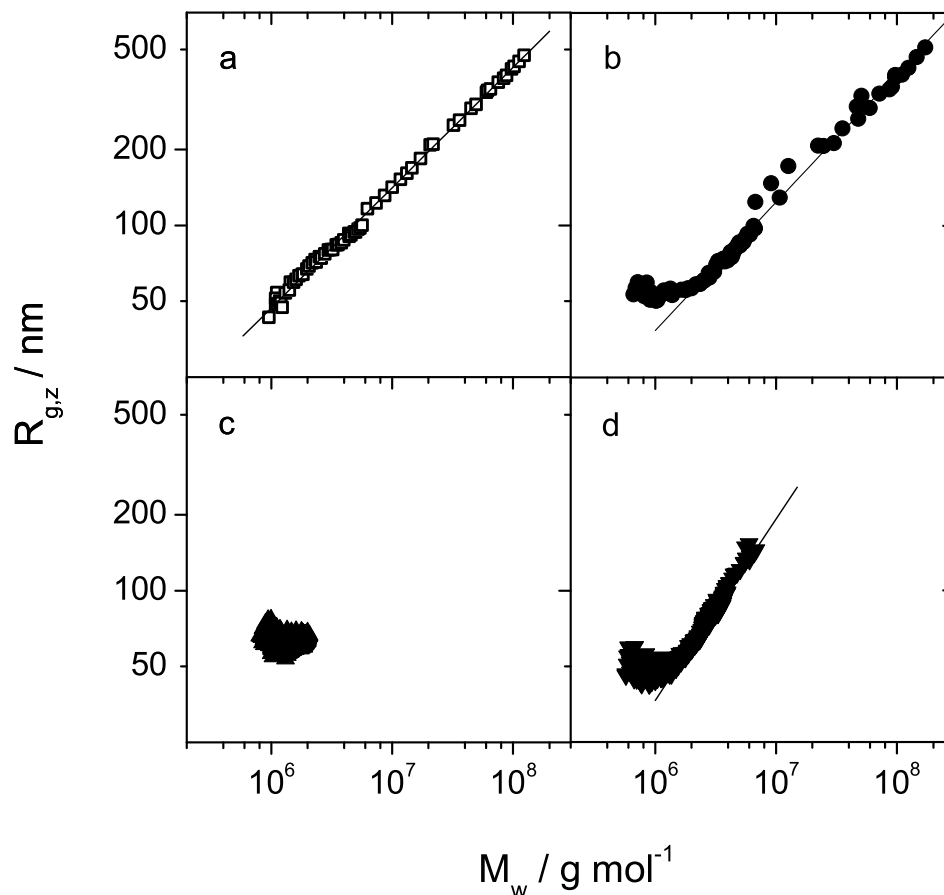


Abbildung 4.25: Aggregation bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0392 \text{ g/L}$ und unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\square$), 100 mM NaCl (b, $\bullet$), 50 mM NaCl (c, $\blacktriangle$) und 0 mM NaCl (d, $\blacktriangledown$).

netik bei 50 und 0 mM NaCl-Gehalt läßt einen direkten Vergleich mit den höheren Salzkonzentrationen nur für kleine Konturlängen zu. Hier liegt im experimentellen Rahmen eine gute Übereinstimmung mit den entsprechenden Werten bei 100 und 150 mM NaCl vor. Für die lineare Massenbelegung zeigt sich in beiden Salzreihen beim Übergang von 150 auf 100 mM NaCl eine Zunahme von M_L . Aufgrund der begrenzten Datenlage und Schwankungen ähnlichen Ausmaßes wie in der Konzentrationsabhängigkeit (vgl. Abbildung 4.21) kann aber noch nicht von einer signifikanten Zunahme der linearen Massenbelegung mit abnehmender Salzkonzentration gesprochen werden.

Zum jetzigen Stand der Diskussion existiert damit folgendes Bild der β -Amyloid-Aggregation:

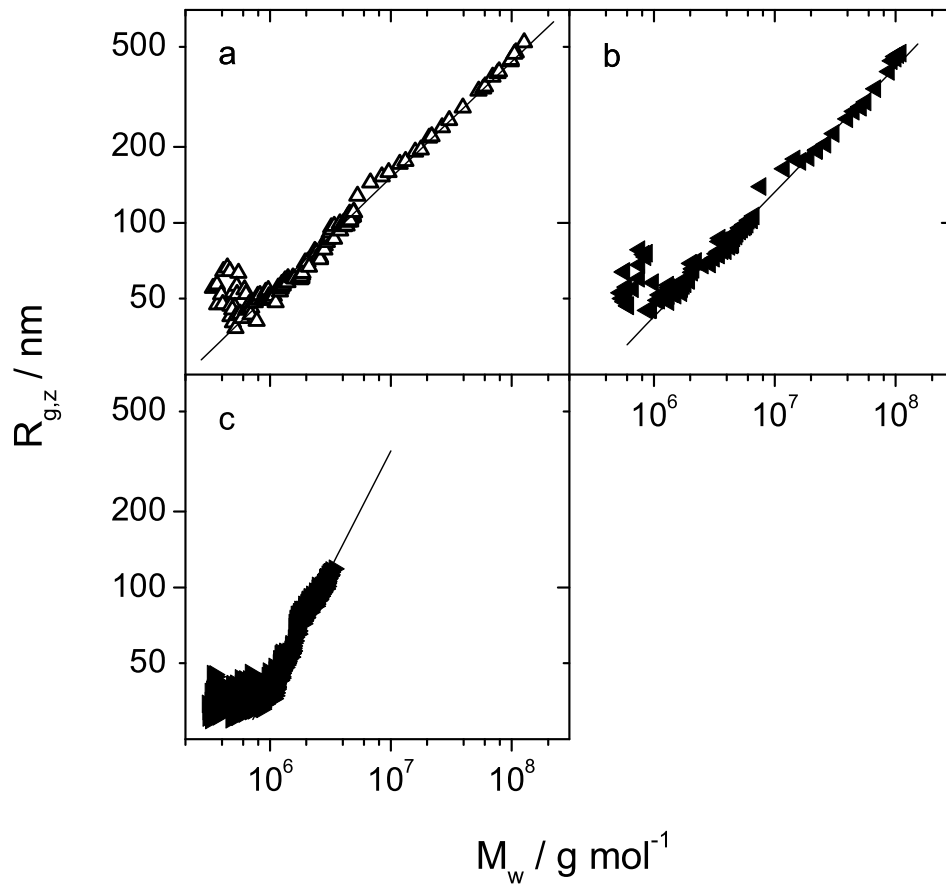


Abbildung 4.26: Aggregation bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0196 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\triangle$), 100 mM NaCl (b, $\blacktriangleleft$) und 50 mM NaCl (c, $\blacktriangleright$).

- Mit Hilfe des vorgestellten präparativen Vorgehens ist es möglich, reproduzierbare Aggregationsbedingungen einzustellen.
- Bei einem Salzgehalt von 150 mM NaCl verläuft die Aggregation am schnellsten.
- Demgegenüber führt die Verringerung der NaCl-Konzentration zu einer signifikanten Verlangsamung der Kinetiken.
- Bei einer konstanten Salzkonzentration von 150 mM kann im Rahmen der vorliegenden Messungen eine Abhängigkeit von der Konzentration des β -Amyloids festgestellt werden.

- Unter allen Bedingungen liegen Streukurven vor die mit Hilfe einer flexiblen KRATKY-POROD-Kette beschrieben werden können. Die hieraus abgeleiteten strukturellen Parameter a und M_L zeigen eine leichte Abnahme mit zunehmender Konturlänge. Ihr Grenzverhalten bei großen L_w ist innerhalb des experimentellen Fehlers konstant und deckt sich mit Ergebnissen aus der Literatur. Für die Persistenzlängen finden sich Plateauwerte von $30 < a < 60 \text{ nm}$, während die lineare Massenbelegung für große Konturlängen einen Bereich von $9000 < M_L < 16000 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ abdeckt.
- Es existiert ein Widerspruch zwischen der Anpassung der Streukurven mittels einer flexiblen KRATKY-POROD-Kette, und den aus der Auftragung von $R_{g,z}$ vs. M_w ermittelten Exponenten von $\alpha \approx 0,5$ wie er für stabförmige Teilchen unter Berücksichtigung des Monomeranteils vorliegt. Exponenten von $\alpha = 0,72$ oder sogar $\alpha = 0,93$ können im Rahmen der bisherigen Diskussion nicht erklärt werden.

Im nächsten Abschnitt soll anhand der vorliegenden Ergebnisse ein kinetisches Modell entwickelt werden, daß mit den $R_{g,z}$ vs. M_w Daten und den dort auftretenden Exponenten $\alpha \approx 0,5$ konsistent ist und gleichzeitig die Abnahme der Persistenzlänge a und der linearen Massenbelegung M_L im Verlauf einer Aggregation erklären kann.

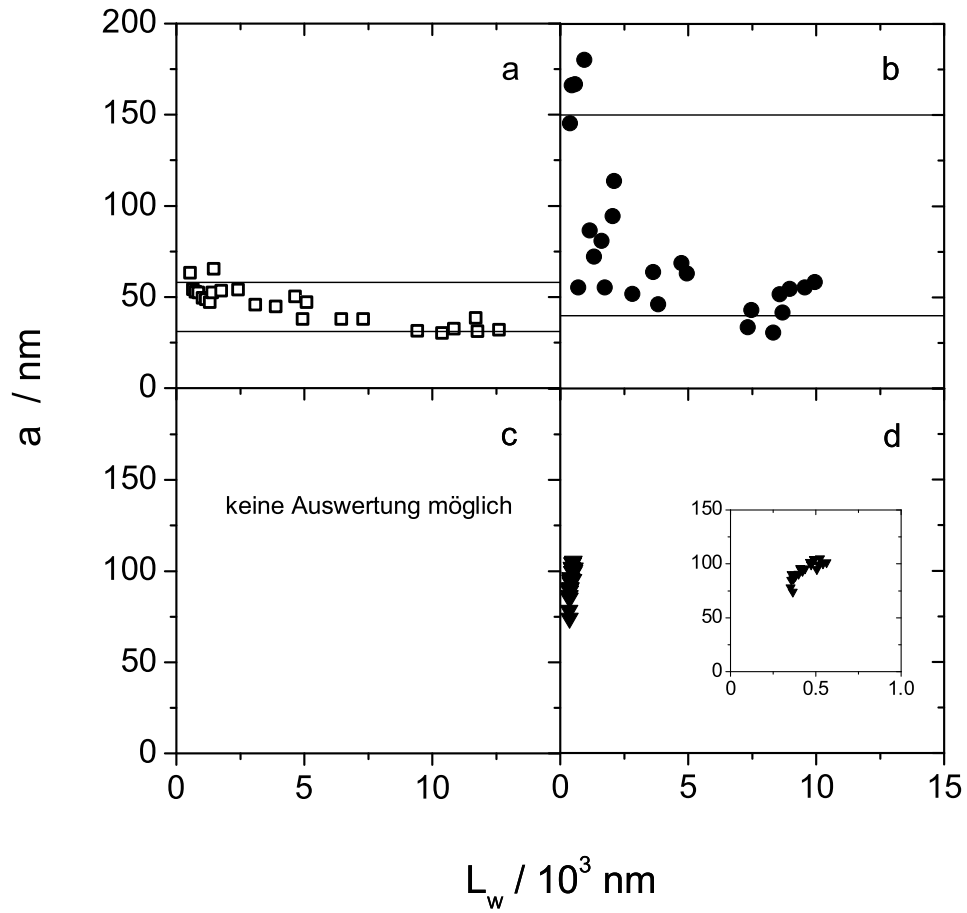


Abbildung 4.27: Persistenzlängen der Aggregationen bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0392 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\square$), 100 mM NaCl (b, $\bullet$), 50 mM NaCl (c, $\blacktriangle$) und 0 mM NaCl (d, $\blacktriangledown$). Die Grenzwerte zur Berechnung der Trägheitsradien sind mit 58 und 31 nm (a) sowie 150 und 40 nm (b) eingezeichnet. Für die Messung mit 50 mM NaCl konnten keine Formfaktoren ausgewertet werden und somit keine Persistenzlängen ermittelt werden. Die zusätzliche Auftragung in (d) stellt eine Ausschnittsvergrößerung dar.

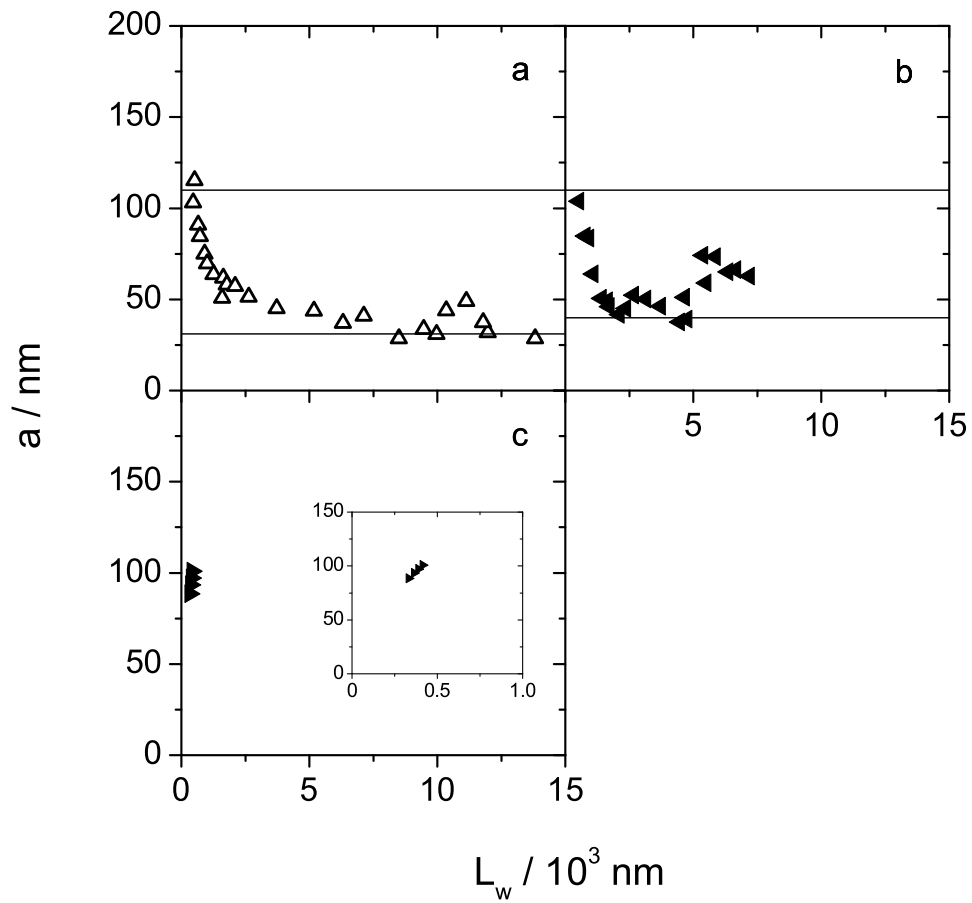


Abbildung 4.28: Persistenzlängen der Aggregationen bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0196 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\triangle$), 100 mM NaCl (b, $\blacktriangleleft$) und 50 mM NaCl (c, $\blacktriangleright$). Die Grenzwerte zur Berechnung der Trägheitsradien sind mit 110 und 31 nm (a) sowie 110 und 40 nm (b) eingezeichnet. Die zusätzliche Auftragung in (c) stellt eine Ausschnittsvergrößerung dar.

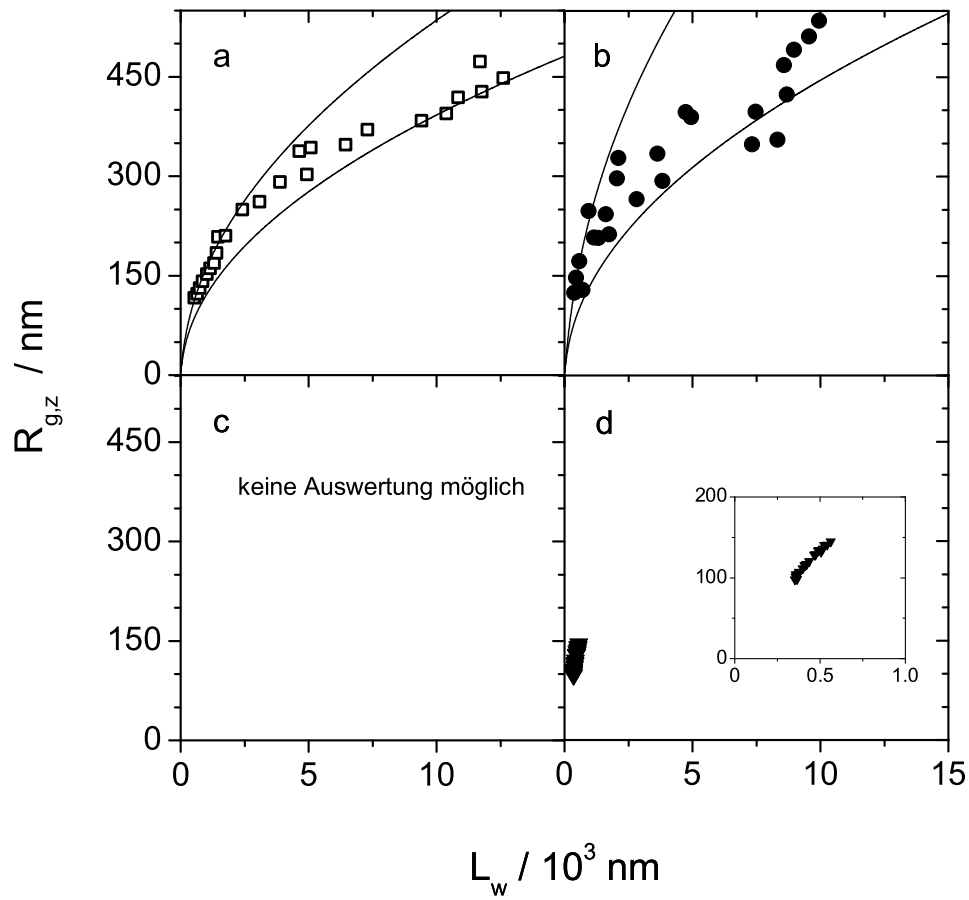


Abbildung 4.29: Trägheitsradien der Aggregationen bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0392 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl -Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\square$), 100 mM NaCl (b, $\bullet$), 50 mM NaCl (c, $\blacktriangle$) und 0 mM NaCl (d, $\blacktriangledown$). Die theoretischen Trägheitsradien berechnen sich nach Gleichung 4.1 und den Grenzwerten der Persistenzlängen aus Abbildung 4.27. Für die Messung mit 50 mM NaCl konnten keine Formfaktoren und somit keine Trägheitsradien ermittelt werden. Die zusätzliche Auftragung in (d) stellt eine Ausschnittsvergrößerung dar.

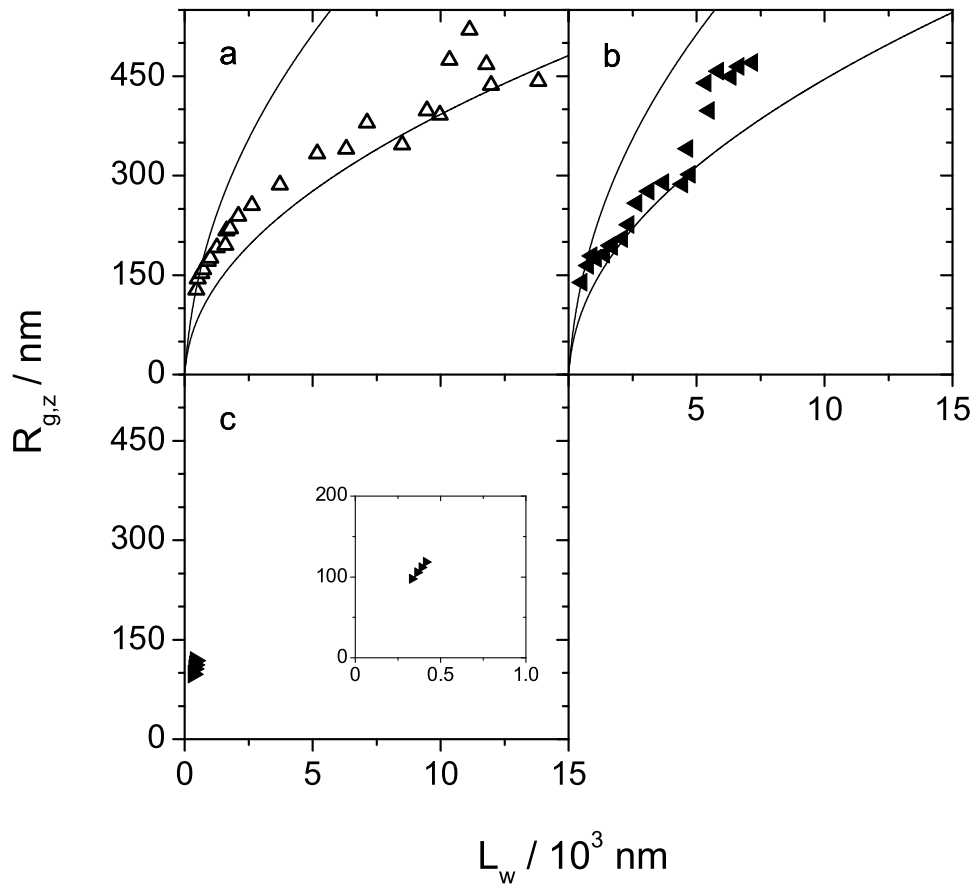


Abbildung 4.30: Trägheitsradien der Aggregationen bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von 0,0196 g/L aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, Δ), 100 mM NaCl (b, $\blacktriangleleft$) und 50 mM NaCl (c, $\blacktriangleright$). Die theoretischen Trägheitsradien berechnen sich nach Gleichung 4.1 und den Grenzwerten der Persistenzlängen aus Abbildung 4.28. Die zusätzliche Auftragung in (c) stellt eine Ausschnittsvergrößerung dar.

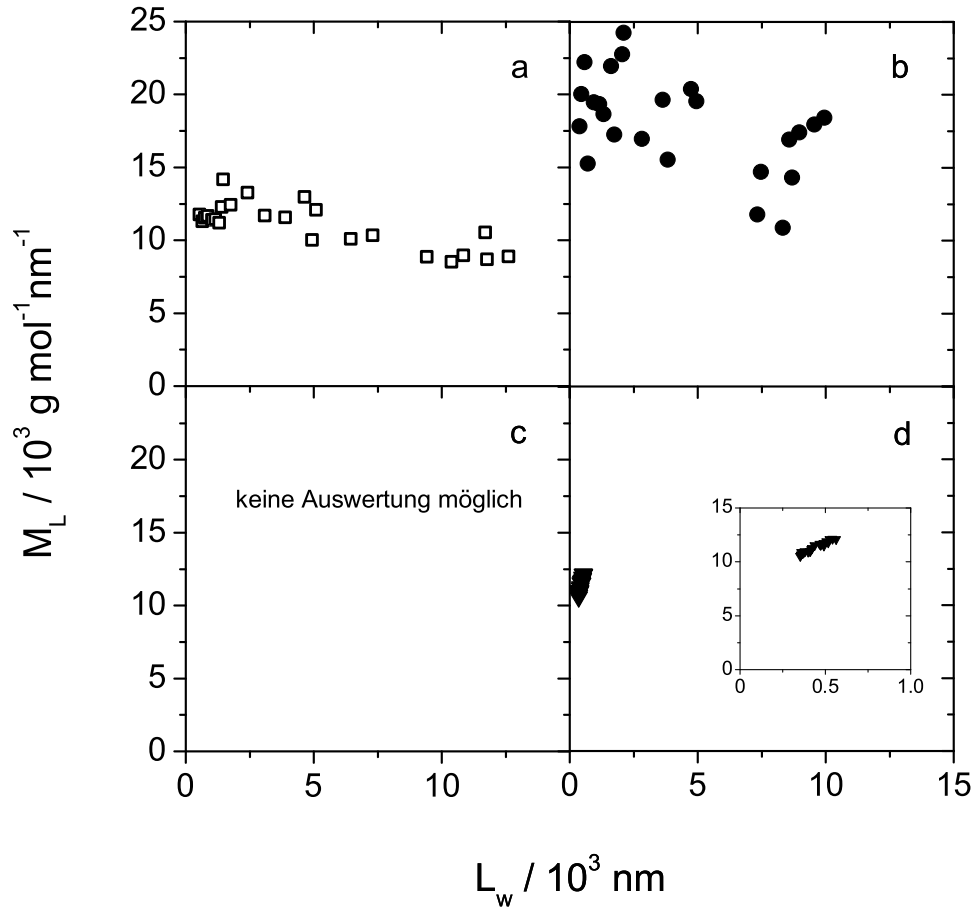


Abbildung 4.31: Lineare Massenbelegung der Aggregationen bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0392 \text{ g/L}$ und unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\square$), 100 mM NaCl (b, $\bullet$), 50 mM NaCl (c, $\blacktriangle$) und 0 mM NaCl (d, $\blacktriangledown$). Für die Messung mit 50 mM NaCl konnten keine Formfaktoren und somit keine Massen pro Einheitslänge ermittelt werden. Die zusätzliche Auftragung in (d) stellt eine Ausschnittsvergrößerung dar.

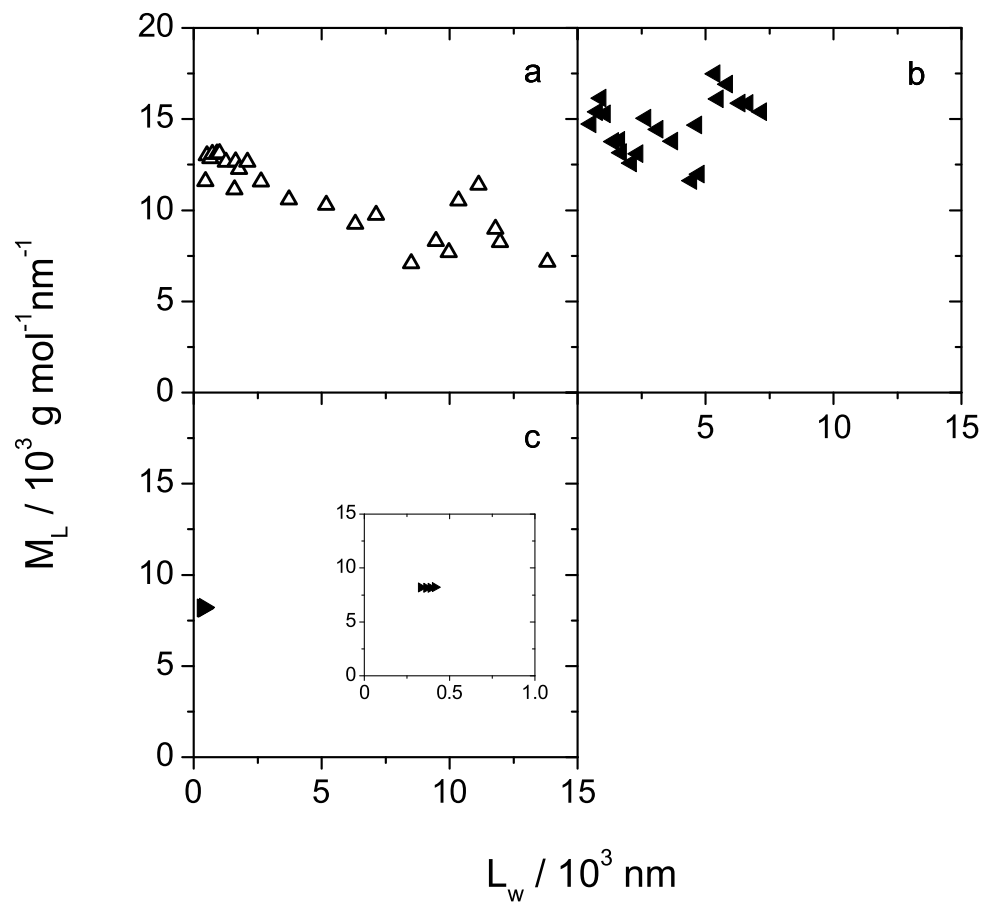


Abbildung 4.32: Lineare Massenbelegung der Aggregationen bei einer konstanten $A\beta$ -Konzentration von $0,0196 \text{ g/L}$ aber unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen von 150 mM NaCl (a, $\triangle$), 100 mM NaCl (b, $\blacktriangleleft$) und 50 mM NaCl (c, $\blacktriangleright$). Die zusätzliche Auftragung in (c) stellt eine Ausschnittsvergrößerung dar.

4.3.4 Kinetisches Modell der β -Amyloid-Aggregation

Die bisherige Diskussion der β -Amyloid-Aggregation weist noch offene Fragestellungen auf. Zunächst existiert ein Widerspruch zwischen Exponenten von $\alpha \geq 0,5$ in der Auftragung von $R_{g,z}$ vs. M_w und dem Fibrillenmodell aus der Anpassung der zugehörigen Streukurven mittels einer KRATKY-POROD-Kette. Nach Abschnitt 3.3.1 entspricht ein $\alpha \approx 0,5$ bei Mitberücksichtigung noch nicht abreagierter Monomere einer Stabgeometrie, während die KRATKY-POROD-Kette flachere Verläufe als $\alpha \approx 0,5$ aufweisen sollte. Im Hinblick auf die im Vergleich zur Konturlänge kleinen Persistenzlängen wäre sogar der für ein Knäuel typische Exponent von $\alpha \approx 0,25$ zu erwarten. Diese Inkonsistenz läßt sich auflösen, wenn man noch andere Teilchenspezies außer Fibrillen und Monomer zuläßt.

Die Kinetiken zeigen für die ersten Minuten in fast allen Fällen einen konstanten Trägheitsradius von ca. $R_{g,z} = 50 \text{ nm}$, wobei die gewichtsmittlere Molmasse bereits eine Zunahme aufweist. Ein solches Verhalten liegt nach HUBER dann vor, wenn sich auf Kosten der Monomere sequentiell Aggregate gleicher Größe bilden [53]. Demnach existieren zu Beginn der eigentlichen β -Amyloid-Aggregation Monomere und Teilchen einer bestimmten Größe. Eine indirekte Bestätigung dieser Annahme erfolgte durch das Auffinden von $A\beta$ -Mizellen und damit verbunden einer kritischen Mizellbildungskonzentration (critical micellar concentration, cmc) durch ESTELRICH [84]. Demnach bilden sich oberhalb einer Konzentration von $c_{A\beta} = 17,6 \mu\text{M}$ Mizellen aus. Diese Konzentration ist im Vergleich zu den 2,73 bis $9,05 \mu\text{M}$ in der vorliegenden Arbeit jedoch deutlich größer, was allerdings in der Bestimmung der cmc ohne NaCl-Zusatz in [84] begründet sein kann, da erwartet wird, daß NaCl-Zusatz die cmc absenkt. Unter Verwendung von Monomeren, Mizellen³ sowie Fibrillen läßt sich eine Aggregation simulieren, die den Verlauf $R_{g,z}$ vs. M_w richtig wiedergibt und zusätzlich die experimentell beobachtete Abnahme der Persistenzlänge und der linearen Massenbelegung erklärt.

Eine ausführliche Beschreibung der Simulation findet sich im Anhang. Im Folgenden wird repräsentativ die Messung mit $c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl in der Auftragung von $R_{g,z}$ vs. M_w simuliert und mit dem zugehörigen experimentellen Verlauf verglichen. Die für die Simulation notwendigen strukturellen Parameter werden aus dem zugehörigen Experiment entnommen. Im vorliegenden Fall ist das die Messung mit $c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl. Dabei finden im Fall der Persistenzlänge a und der linearen Massenbelegung M_L die Grenzwerte bei großen Konturlängen Verwendung. Im einzelnen gehen die

³Der Begriff der Mizellen wird im weiteren Verlauf beibehalten, obwohl durch die experimentellen Ergebnisse generell keine Aussage zu deren Gestalt gemacht werden kann, sondern lediglich ihre Größe bekannt ist.

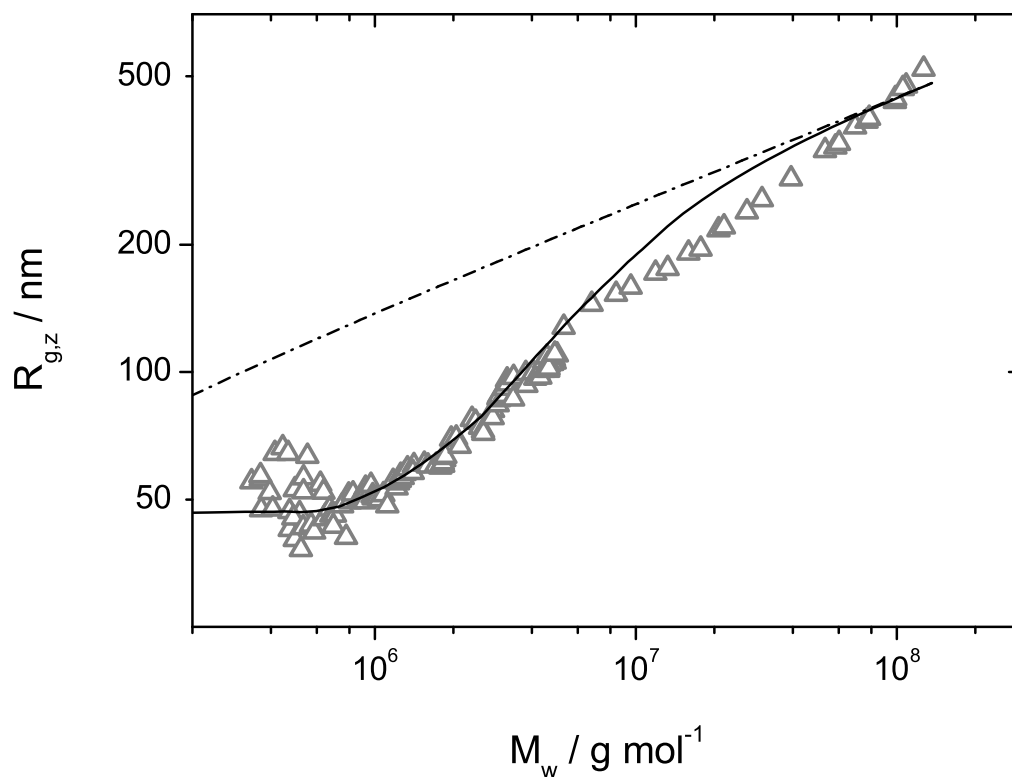


Abbildung 4.33: Vergleich zwischen Experiment und Theorie. Aufgetragen ist der experimentelle Kurvenverlauf für $c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl (Δ) sowie die Simulation der Kinetik unter Berücksichtigung von Monomeren, Mizellen und Fibrillen (—). Zum Vergleich ist die Simulation unter Beibehaltung der strukturellen Parameter aber ohne Mizellen eingezeichnet ($- \cdot - \cdot -$).

folgenden Parameter in die Simulation ein: Persistenzlänge der Fibrillen $a = 31 \text{ nm}$, lineare Massenbelegung der Fibrillen $M_L = 9100 \text{ g mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$, Polydispersität der Fibrillen $z = 1$, Trägheitsradius der Mizellen $R_g = 47 \text{ nm}$, Molmasse der Mizellen $M = 4,5 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$, monodisperse Verteilung der Mizellen, Molmasse der Monomeren $M = 4330 \text{ g/mol}$, Trägheitsradius der Monomeren $0,5 \text{ nm}$. Die Molmasse der Mizellen ist in dieser Aufzählung die einzige, experimentell nicht bestimmte Größe. Sie wird empirisch angepaßt. In Abbildung 4.33 ist das Ergebnis der Simulation im Vergleich zum Experiment in der Auftragung $R_{g,z}$ vs. M_w dargestellt. Um den Einfluß der Mizellen zu verdeutlichen, ist zusätzlich unter Beibehalt aller Parameter das Ergebnis der Berechnung ohne Mizellen eingezeichnet. Letztere besitzt - wie für ein Gemisch aus Monomeren und flexiblen KRATKY-POROD-Ketten zu erwarten - einen Exponenten von $\alpha = 0,25$. Hingegen führt die Berücksichtigung der Mizellen

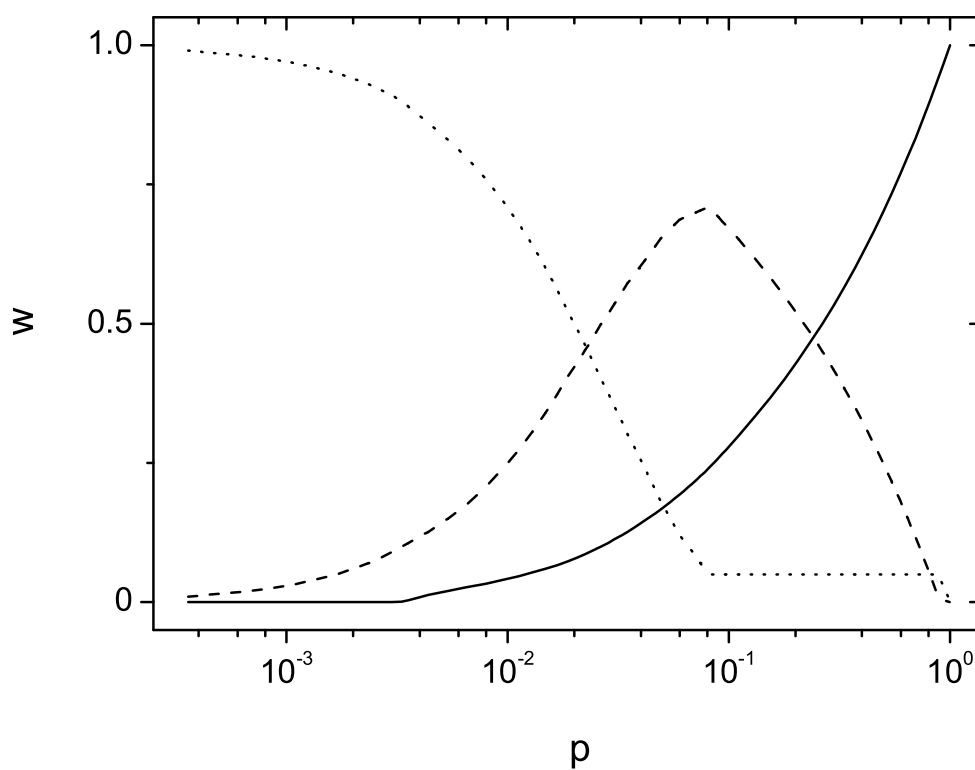


Abbildung 4.34: Dem theoretischen Verlauf in Abbildung 4.33 zugrundeliegendes kinetisches Verhalten der Monomeren ($\cdots$), Mizellen ($---$) und Fibrillen ($—$). Aufgetragen ist der Massenbruch $w = m/m_{ges}$ gegen den Umsatz $p = M_w/M_{w,max}$.

zu einer qualitativ guten Beschreibung des experimentellen Verlaufs. Sowohl die anfängliche Konstanz der Kurve, als auch das sich anschließende Wachstum werden durch die Annahme von Mizellen richtig wiedergeben. Für Molmassen zwischen $2 \cdot 10^7$ und $5 \cdot 10^7$ g/mol werden der theoretischen Kurve nach größere Trägheitsradien erwartet.

Das dem theoretischen Verlauf zugrundeliegende kinetische Verhalten der einzelnen Komponenten ist in Abbildung 4.34 dargestellt. Diese Verläufe werden unter Verwendung der oben aufgezählten strukturellen Parameter so gewählt, daß sie das Experiment in Abbildung 4.33 möglichst gut wiedergeben. Zu Beginn liegen praktisch nur Monomere vor, die in einem ersten Schritt in Mizellen eingebaut werden. Ab einem Umsatz von ca. $p = 0,003$ setzt das Wachstum der Fibrillen ein, so daß bis zu $p = 0,08$ die Anzahl der Mizellen und die Größe der Fibrillen auf Kosten der Monomerkonzentration wächst. Darüber hinaus nimmt auch die Anzahl der Mizel-

len wieder ab, so daß nur noch Fibrillen wachsen. Während des gesamten Vorgangs fällt die Monomerkonzentration nicht auf null ab, sondern wird ab etwa $p = 0,08$ auf einem konstanten Niveau gehalten. Mit Hilfe des kinetischen Verlaufes der Einzelkomponenten kann folgender Aggregationsmechanismus skizziert werden:

1. Startphase: Zu Beginn bilden sich Mizellen definierter Größe aus, deren Anzahl auf Kosten von Monomeren zunimmt. Dies führt zu einem Anwachsen der gewichtsmittleren Molmassen bei konstantem z-mittleren Trägheitsradius.
2. Wachstumsphase: Ab einem gewissen Zeitpunkt setzt das Fibrillenwachstum ein, so daß von da an auch die Trägheitsradien zunehmen. Gleichzeitig wächst die Anzahl der Mizellen weiterhin an.
3. Endphase: Die Monomerkonzentration bleibt konstant. Daraus folgend reduziert sich die Anzahl der Mizellen um ein Wachstum der Fibrillen zu ermöglichen.

Dieses Modell der β -Amyloid-Aggregation läßt allerdings noch einige Fragen unbeantwortet. So ist nicht ersichtlich, wie und warum das Fibrillenwachstum startet. Nach der Nukleationstheorie [116] sind hierfür Keime notwendig, die jedoch aufgrund ihrer geringen Größe von einigen Nanometern [92] mit Hilfe der statischen Lichtstreuung nur schwer detektiert werden können. Inwiefern hier Mizellen als Nukleationskeime fungieren können ist aufgrund der vorliegenden Messungen nicht entscheidbar, und ebenso wenig die Überlegung, daß wachsende Fibrillen Mizellen direkt einbauen. Letzteres ist aber als eher unwahrscheinlich anzusehen. An dieser Stelle bietet sich vielmehr eine Interpretation in Form des Mizell-Nukleus-Fibrill-Modells von ESTELRICH [102] an. Hier liegt keine direkte

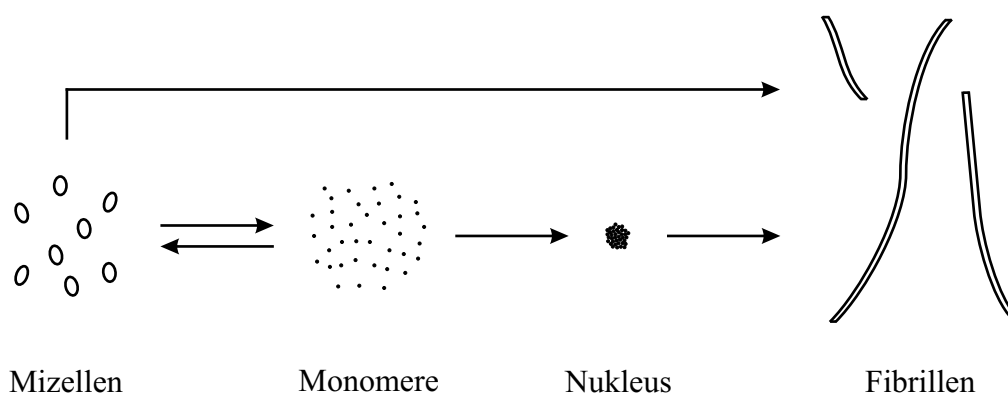


Abbildung 4.35: Mit dem Experiment kompatibles Schema der β -Amyloid-Aggregation. Die Nukleationskeime sind nach [102] und [116] für die Bildung der Fibrillen notwendig, können aber, ebenso wie der direkte Einbau von Mizellen in die Fibrillen, durch die vorliegenden Experimente weder bestätigt noch widerlegt werden.

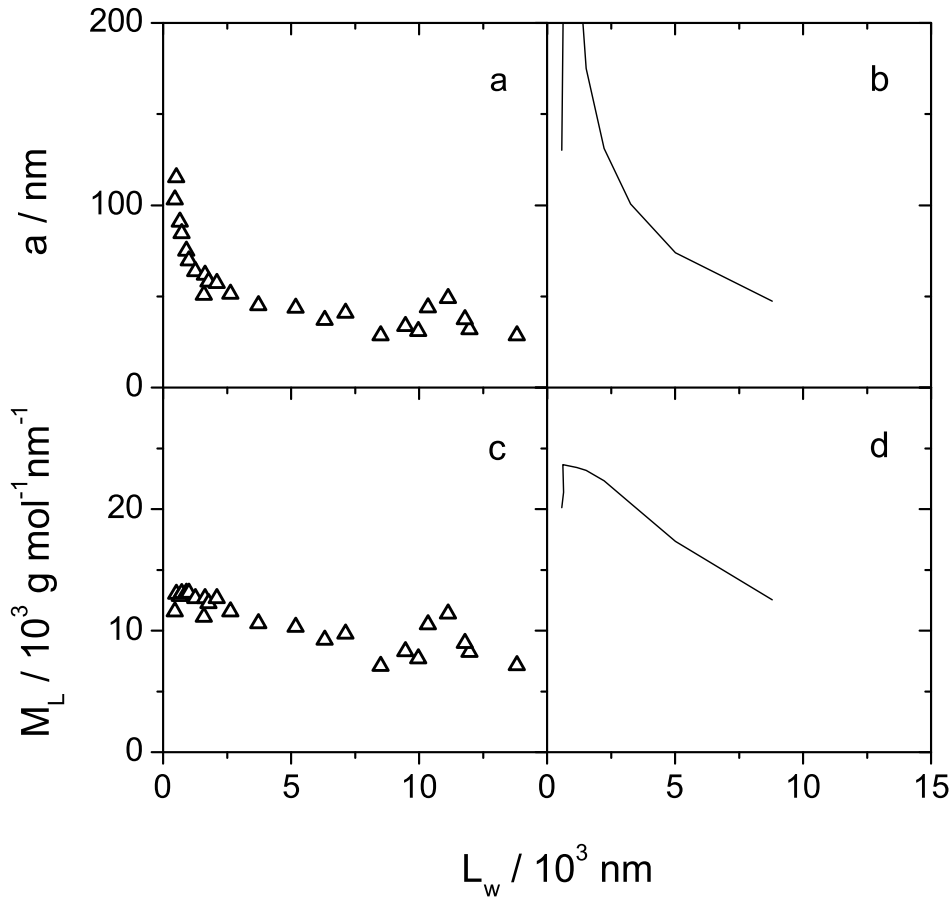


Abbildung 4.36: (a)/(c) Experimentelle Verläufe der Persistenzlänge a und der linearen Massenbelegung M_L in Funktion der gewichtsmittleren Konturlänge L_w für $c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl ($\triangle$). (b)/(d) Die entsprechenden Ergebnisse aus der Anpassung theoretischer Streukurven auf Grundlage der Parameter der Simulation aus Abbildung 4.33 und 4.34 (—). Die Anpassung erfolgt nach dem gleichen Verfahren, wie die Anpassung an experimentelle Streukurven, die zu den hier und in Abbildung 4.33 gezeigten experimentellen Daten führt.

Verbindung zwischen Mizellen und Nukleationskeimen beziehungsweise Fibrillen vor. Die Mizellen dienen lediglich als Monomerreservoir. Abbildung 4.35 gibt einen mit den vorliegenden Experimenten kompatiblen Mechanismus der β -Amyloid-Aggregation.

Unter der Annahme der Existenz zusätzlicher Mizellen ist es möglich, die bisher ungeklärte Abnahme der Persistenzlänge und der linearen Massenbelegung in Abhängigkeit von der Konturlänge qualitativ zu verstehen. Hierfür werden theoretische Streukurven für Fibrill/Mizell/Monomer-Gemische erzeugt (siehe

Anhang), die auf genau den Parametern basieren, die auch in der oben vorgestellten Simulation verwendet wurden. Dies schließt die Massenbrüche der einzelnen Komponenten mit ein. Die so generierten Streukurven werden in Analogie zum Experiment durch KRATKY-POROD-Ketten nach dem Ansatz von PEDERSEN und SCHURTENBERGER ausgewertet (vgl. Abschnitt 4.2.3.1). Es ist das gleiche Verfahren, mit dem auch die experimentellen Daten wie sie Abbildung 4.33 zeigt, ermittelt wurden. Abbildung 4.37 stellt das Ergebnis im Vergleich zu den entsprechenden experimentellen Daten für die Aggregation mit $c_{A\beta} = 0,0196 \text{ g/L}$ und 150 mM NaCl dar. Sowohl die Persistenzlänge als auch die lineare Massenbelegung zeigen in der Auftragung gegen die Konturlänge eine Abnahme. Rein qualitativ entspricht sie den experimentellen Verläufen, jedoch ist ein Versatz zu größeren Werten für a und M_L zu erkennen. Die Abweichungen können verschiedene Ursachen haben. Zunächst ist das Modell sicherlich nur eine Näherung. Weiterhin gehen eine

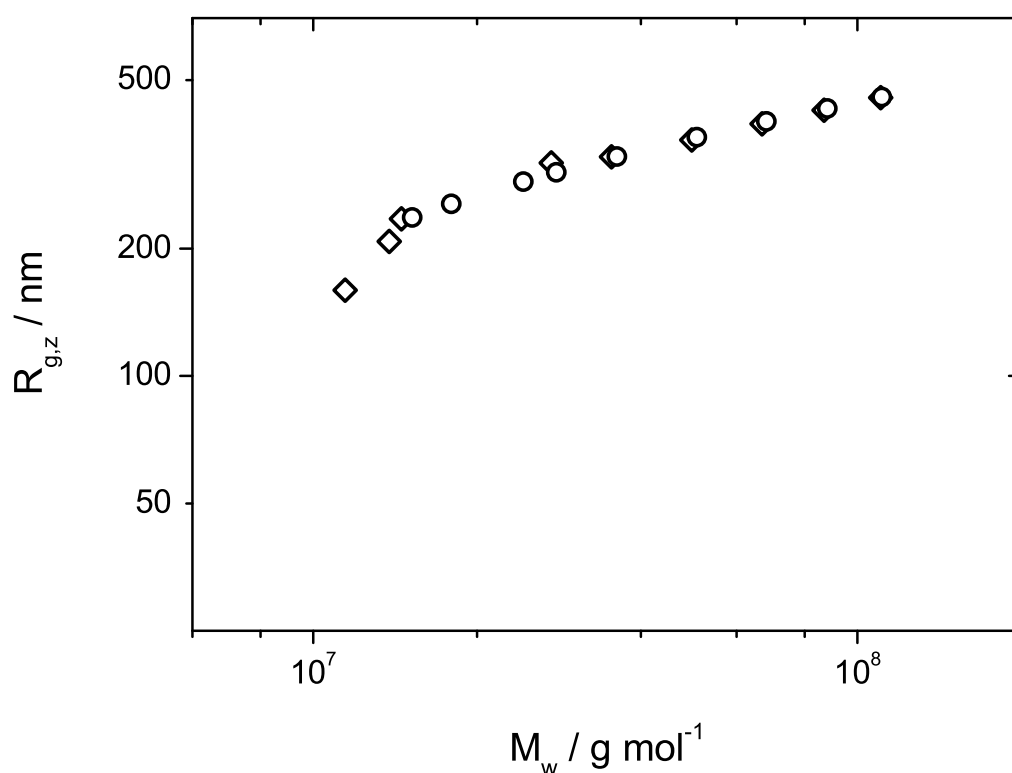


Abbildung 4.37: Vergleich der Daten aus den Anpassungen ($\diamond$) der theoretischen Streukurven und den Werten wie sie sich aus der Definition der gewichtsmittleren Molmasse und des z-mittleren Trägheitsradius ergeben ($\circ$). Über den vorliegenden Bereich ergibt sich eine gute Übereinstimmung.

konstante Polydispersität der Fibrillen von $z = 1$ und eine monodisperse Verteilung der Mizellen während der Aggregation in die Berechnungen der Streukurven ein.

Ein Fehler seitens der Formfaktoranpassung der theoretischen Kurven mit der Formel von PEDERSEN und SCHURTENBERGER kann allerdings ausgeschlossen werden. Wie Abbildung 4.37 zeigt, ist das Ergebnis der Anpassung nahezu identisch mit den über die Definitionsgleichungen berechneten Werten für $R_{g,z}$ und M_w . Die Abnahme von a und M_L geht also nicht auf ein Artefakt der Auswertung zurück, sondern auf den Einfluß der Mizellen auf die Streukurven.

Kapitel 5

Einordnung und Gegenüberstellung der untersuchten Systeme

Das in Kapitel 1 beschriebene Gebiet der Weichen Materie zeichnet sich dadurch aus, daß die zugehörigen Systeme in der Tat eine wörtlich zu nehmende Weichheit besitzen. Diese Weichheit ist in Bezug auf die Selbstorganisation von mesoskopischen Systemen, wie bei den in der Arbeit behandelten, anschaulich gut zu verstehen. Die beim Aufbau der Aggregate beteiligten Bausteine unterliegen keiner irreversiblen kovalenten Bindung, sondern reversiblen physikalischen Wechselwirkungen. Eine Tatsache, die zum Beispiel in tierischen und auch pflanzlichen Zellen eine zentrale Rolle bei einer Vielzahl von Prozessen spielt. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Systeme Calix[4]aren-Naphthyridin und β -Amyloid zeigen einmal mehr, wie breit die Selbstorganisation auf dem Gebiet der Weichen Materie vertreten ist.

Ein offensichtlicher Unterschied zwischen dem Calix[4]aren-Naphthyridin und dem β -Amyloid besteht darin, daß ersteres ein synthetisches Zweikomponenten- und letzteres ein biologisches Einkomponentensystem darstellt. Bestehen die

Tabelle 5.1: Gegenüberstellung einiger Aspekte der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Systeme.

Aspekt	Calix[4]aren-Naphthyridin	β -Amyloid
System	synthetisch, zwei Komponenten	biologisch, eine Komponente
„Monomer“	niedermolekulare Einheiten	Protein aus 40 Aminosäuren
Aggregatstruktur	verzweigt	linear
Modell	(modifizierte) trifunktionelle Polykondensate des ABC-Typs	KRATKY-POROD-Kette

„Monomere“ beim Calix[4]aren-Naphthyridin aus niedermolekularen Einheiten, so ist das β -Amyloid bereits ein Makromolekül aus 40 Aminosäuren. Das synthetische System bildet verzweigte Strukturen aus, die mit Hilfe des Modells der trifunktionalen Polykondensate des *ABC*-Typs beschrieben werden können. Im Falle der biologischen Aggregate liegen lineare Fibrillen mit einer gewissen Flexibilität vor, die sich sehr gut durch eine KRATKY-POROD-Kette beschreiben lassen. Obwohl die beiden theoretischen Modelle für Polymere mit kovalent verknüpften Monomeren wie Ethylen oder Styrol entwickelt wurden, lassen sich damit auch die vorliegenden Aggregatstrukturen gut beschreiben. Es ist bemerkenswert, wie grundlegende theoretische Modelle und Zusammenhänge, die für einen speziellen Fall entwickelt oder entdeckt wurden, auf andere, scheinbar völlig verschiedenartige Systeme übertragen werden können.

Die fehlenden kovalenten Bindungen zwischen den „Monomeren“ müssen allerdings bei Aggregaten durch andere, nichtkovalente aber doch gerichtete Bindungen ersetzt werden. Ein einfaches amorphes Wachstum oder eine Denaturierung reichen als Erklärung für die beobachteten Strukturen nicht aus. Als wirksame Kräfte zwischen den Bausteinen kommen damit physikalische Wechselwirkungen wie hydrophobe Effekte, Wasserstoffbrückenbindungen oder die Interaktion polarer Gruppen in Betracht. Das setzt jedoch einen bestimmten Aufbau der entsprechenden Teilchen voraus. Die Abbildungen 3.22, 3.24 und 4.22 zeigen die vorgeschlagenen Wechselwirkungen mit den daraus resultierenden Strukturen der jeweiligen Aggregate. Auf molekularer Ebene sind damit im Fall des Calix[4]aren-Naphthyridins und des β -Amyloids für den Aufbau der „Monomere“ und der daraus resultierenden Strukturen prinzipiell die gleichen Mechanismen wie zum Beispiel bei der Ausbildung einer Doppelhelix aus zwei DNS-Einzelsträngen verantwortlich. Dennoch bilden sich letztlich völlig verschiedene Aggregate aus, deren Struktur wahrscheinlich durch den Aufbau der zugehörigen „Monomere“ bestimmt wird.

Kapitel 6

Zusammenfassung und Ausblick

Für zeitabhängige Systeme auf dem Gebiet der Weichen Materie erweist sich die zeitaufgelöste statische Lichtstreuung als die Methode der Wahl. Besonders in Kombination mit anderen Verfahren wie zum Beispiel der Kleinwinkelstreuung und Elektronenmikroskopie kann ein thematisch breites Spektrum an Fragestellungen abgedeckt werden. So ist es im Rahmen der vorliegenden Arbeit gelungen, zwei unterschiedliche Systeme aus dem Gebiet der Weichen Materie mit Hilfe der zeitaufgelösten statischen Lichtstreuung näher zu untersuchen. Die dazu notwendige Apparatur und Steuerungssoftware wurde zum Teil selbst aufgebaut beziehungsweise geschrieben.

Bei der Interpretation der experimentellen Streukurven kann im wesentlichen auf die etablierten Modelle der Polymerphysik zurückgegriffen werden. Dennoch müssen einige Aspekte wie zum Beispiel der Einfluß des Monomergehalts auf die logarithmische Auftragung des Trägheitsradius gegen die Molmasse besonders bedacht werden. Grundsätzlich sind in einem aggregierenden System mindestens zwei Komponenten enthalten, das Aggregat selbst und die Teilchen, die im Begriff sind es aufzubauen. Die Situation kann dabei durch Intermediate beliebig verkompliziert werden, und dadurch die Auswertung der Streudaten zusätzlich erschweren. Dieser Sachverhalt wurde bei der Interpretation der vorliegenden experimentellen Streukurven herausgearbeitet und berücksichtigt.

Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation:

Bei der Untersuchung des synthetischen Zweikomponentensystems Calix[4]aren-Naphthyridin stand die Aufklärung der Struktur der entstehenden Aggregate bei verschiedenen Mischungsverhältnissen im Mittelpunkt. Mit Hilfe eines modifizierten Strukturmodells der trifunktionellen Polykondensate aus der Makro-

molekularen Chemie, konnte eine konsistente Auswertung der Streudaten erfolgen und ein potentieller Aggregationsmechanismus vorgeschlagen werden. Ergänzende elektronenmikroskopische Messungen liefern ein komplementäres Gegenstück zu den Streumessungen, und bestätigen das entwickelte Strukturmodell.

β -Amyloid-Aggregation:

Die Untersuchung des biologischen Einkomponentensystems β -Amyloid hatte neben der Etablierung einer Präparationsvorschrift, die reproduzierbare Ergebnisse liefert, auch die Analyse der Struktur und Kinetik der entstehenden Teilchen zum Ziel. Dabei zeigte sich, daß die Struktur in Übereinstimmung mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen aus der Literatur sehr gut durch das Modell der KRATKY-POROD-Kette beschrieben werden kann. Die hieraus gewonnenen strukturellen Parameter der Persistenzlänge und der linearen Massenbelegung geben einen Einblick in den Aufbau der Aggregate. Durch eine gezielte Variation der β -Amyloid-Konzentration und des Salzgehaltes des Lösungsmittels konnte deren Einfluß auf die Aggregationskinetik untersucht werden. Im Rahmen der vorliegenden Messungen zeigt sich hier eine Abhängigkeit der Aggregationskinetik sowohl von der Konzentration des β -Amyloids, als auch von der Konzentration des NaCl. Durch die Simulation einer β -Amyloid-Aggregation war es möglich, ein kinetisches Modell zu entwerfen, welches eine Deutung der Trends der Persistenzlängen und der Massenbelegung in Funktion der Fibrillenlänge zuläßt. Abweichungen beider Größen vom Grenzverhalten für große Konturlängen erweisen sich als Einfluß von Mizellen auf die Streukurven, deren Existenz neben Monomeren und Aggregaten angenommen werden muß, um eine sinnvolle Interpretation der Daten zu ermöglichen. Die Annahme der Existenz von Mizellen deckt sich mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen.

Anhand der gewonnenen Erkenntnisse ergeben sich neue Fragestellungen, die durch die folgenden Untersuchungen beantwortet werden können und dadurch ein tieferes Verständnis ermöglichen.

Im Falle der Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregate ist die theoretische Beschreibung der experimentellen Streukurven noch unvollständig. Wünschenswert wäre hier eine Berechnung des Formfaktors des modifizierten Modells der trifunktionellen Polykondensate, um die vorliegende Struktur auch von theoretischer Seite her vollständig beschreiben zu können. Aus experimenteller Sicht ist die Variation der chemischen Struktur der Monomere von großem Interesse. Durch gezielte Veränderungen wie zum Beispiel der Substitution der Undecylreste durch

kürzere aliphatische Reste, könnten hier weitere Informationen über den Aggregationsmechanismus und die zugrundeliegenden Wechselwirkungen zwischen den Komponenten erhalten werden oder gezielt Verzweigungspunkte eingebaut werden.

Auf dem Gebiet der β -Amyloid-Aggregation ergeben sich vielfältige experimentelle Erweiterungen. So kann durch die Verwendung einer GPC (Gelpermeationschromatographie) eine Abtrennung von bereits vorhandenen Mizellen, Fibrillen oder sonstigem unvollständig gelösten β -Amyloid erzielt werden. Dies hätte eine Verbesserung der Ausgangsbedingungen und damit der Reproduzierbarkeit der Kinetik zur Folge. Die Beeinflussung und gegebenenfalls Verhinderung der A β -Aggregation ist sicherlich ein zentrales Thema zukünftiger Arbeiten. So stellt die Entwicklung neuer Wirkstoffe auf diesem Gebiet durch Molecular Modelling in Kombination mit der zeitaufgelösten statischen Lichtstreuung einen effizienten Ansatz dar. Mit Hilfe der daraus gewonnenen Daten sollte es möglich sein, das kinetische Modell der Aggregation zu verbessern.

Anhang A

Berechnungen

A.1 Berechnung von $R_{g,z}$ vs. M_w

A.1.1 Ableitung der Halbierung des Exponenten

Im Folgenden wird die Halbierung des Exponenten α durch die Berücksichtigung der sich verbrauchenden Monomeren allgemein hergeleitet [117].

Zunächst gilt das Exponentialgesetz

$$R_{g,z} \propto M_w^\alpha \quad (\text{A.1})$$

Aufgrund von $P_w = M_w / M_M$ mit M_M als Monomermasse und P_w als gewichtsmittleren Polymerisationsgrad, wird A.1 zu

$$R_{g,z} \propto P_w^\alpha \quad (\text{A.2})$$

Aus der Definition der gewichtsmittleren Molmasse M_w und des z-mittleren Trägheitsradius $R_{g,z}$, ergibt sich für ein Monomer-Aggregatgemisch

$$\begin{aligned} M_w &= \frac{\sum_i^\infty N_i M_i^2}{\sum_i^\infty N_i M_i} = \frac{(n_M - P)M_M^2 + M_P^2}{(n_M - P)M_M + M_P} \\ &= \frac{(n_M - P) + P^2}{(n_M - P) + P} \\ &= \frac{(n_M - P) + P^2}{n_M} \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

sowie

$$\begin{aligned}
 R_{g,z}^2 &= \frac{\sum_i^\infty N_i M_i^2 R_{g,i}^2}{\sum_i^\infty N_i M_i^2} = \frac{(n_M - P) M_M^2 R_{g,M}^2 + M_P^2 R_{g,P}^2}{(n_M - P) M_M^2 + M_P^2} \\
 &= \frac{(n_M - P) R_{g,M}^2 + P^2 R_{g,P}^2}{(n_M - P) + P^2}
 \end{aligned} \tag{A.4}$$

mit

n_M : Anzahl der Monomere vor der Aggregation

P : Anzahl der Monomere aus denen das Aggregat aufgebaut ist

$n_M - P$: Anzahl der noch verbleibenden Monomere

M_M : Molmasse eines Monomeren

M_P : Molmasse des Aggregates

Für genügend große Umsätze gilt

$$\lim_{P \rightarrow n_M} M_w = \frac{P^2}{n_M} \propto P^2 \tag{A.5}$$

beziehungsweise

$$\lim_{P \rightarrow n_M} R_{g,z}^2 = R_{g,P}^2 \tag{A.6}$$

Unter Verwendung der Gleichungen A.1 und A.2 folgt somit

$$R_{g,z} \propto M_w^{\alpha/2} \tag{A.7}$$

A.1.2 Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregate, monodisperser Fall

Für die Berechnung der Trägheitsradien in Funktion der Molmassen für den Verlauf einer monodispersen Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation, wird eine Gesamtzahl $N = 65000$ Monomere mit einer Monomermolmasse von $M_M = 500 \text{ g/mol}$ für die 1:4 und 1:5 Stöchiometrie sowie $M_M = 160 \text{ g/mol}$ für die 1:3 Stöchiometrie

angesetzt. Die entsprechend der Stöchiometrie gewählten geometrischen Dimensionen Monomerlänge l_M für Stab und Knäuel sowie Monomerradius r_M für die Kugel sind in Tabelle A.1 aufgeführt.

Tabelle A.1: Länge l_M und Radius r_M der für die Rechnung verwendeten Monomere.

Modell	Stöchiometrie 1:4 / 1:5		Stöchiometrie 1:3	
	l_M [nm]	r_M [nm]	l_M [nm]	r_M [nm]
Stab	$9,38 \cdot 10^{-3}$		$7,47 \cdot 10^{-3}$	
Knäuel	1,69		1,35	
Kugel		5,65		4,50

Im Fall der Kugel erhöhen Monomere das Kugelvolumen in Abhängigkeit des Polymerisationsgrades P um

$$V_{Kugel} = V_M P = \frac{4}{3} \pi r_M^3 P \quad (\text{A.8})$$

Für den vorliegenden Fall monodisperser Aggregate, wird zur Berechnung des z-mittleren Trägheitsradius und der gewichtsmittleren Molmasse nur ein einzelnes Aggregat gebildet. Dieses wächst unter Verbrauch von Monomeren, bis bei vollständigem Umsatz ($p = 1$) nur noch das Aggregat übrig bleibt. Die Gleichungen 2.12 und 2.26 gehen dann über in

$$M_w = \frac{N_M M_M^2 + N_A M_A^2}{N_M M_M + N_A M_A} \quad (\text{A.9})$$

$$R_{g,z}^2 = \frac{N_M M_M^2 R_{g,M}^2 + N_A M_A^2 R_{g,A}^2}{N_M M_M^2 + N_A M_A^2} \quad (\text{A.10})$$

Der entsprechende Trägheitsradius wird dabei wie folgt berechnet [22]

$$R_{g,Stab}^2 = \frac{L^2}{12} = \frac{P^2 l_M^2}{12} \quad (\text{A.11})$$

für einen Stab mit der Länge $L = P l_M$ und einem vernachlässigbaren Durchmesser,

$$R_{g,Knäuel}^2 = \frac{1}{6} P l_M^2 \quad (\text{A.12})$$

für ein Knäuel bestehend aus P Monomeren der Länge l_M und

$$R_{g,Kugel}^2 = \frac{3}{5} R^2 = \frac{3}{5} \left(V_{Kugel} \frac{3}{4\pi} \right)^{\frac{2}{3}} \quad (\text{A.13})$$

für eine Kugel mit dem Außenradius R .

Mit Hilfe der obigen Parameter M_M , l_M und r_M ergibt sich bei vollständigem Umsatz ein $R_{g,z} = 176 \text{ nm}$ und $M_w = 3,25 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$ für die 1:4 Stöchiometrien sowie ein $R_{g,z} = 140 \text{ nm}$ und $M_w = 1,04 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$ für die 1:3 Stöchiometrien.

Ein linearer Fit ab 10 % Umsatz (siehe Abbildung 3.13) liefert dann die in Tabelle 3.4 für die jeweiligen Monomer-Aggregatgemische aufgeführten Exponenten.

A.1.3 Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregate, polydisperser Fall

Im Fall der polydispersen Calix[4]aren-Naphthyridin-Aggregation wird folgendermaßen vorgegangen:

Zur Bestimmung des z -mittleren Trägheitsradius $R_{g,z}$ gilt

$$R_{g,z} = \frac{\int_0^\infty w(P) P R_g dP}{\int_0^\infty w(P) P dP} \quad (\text{A.14})$$

wobei z über den gewichtsmittleren und zahlenmittleren Polymerisationsgrad als

$$z = \frac{1}{\frac{P_w}{P_n} - 1} \quad (\text{A.15})$$

definiert ist. $w(P)$ ist die Wahrscheinlichkeitsdichte des Polymerisationsgrades P , und wird durch eine SCHULZ-ZIMM Verteilungsfunktion [107] der Form

$$w(P) = \frac{\left(\frac{z+1}{P_w}\right)^{z+1} P^z \exp\left(-\frac{(z+1)P}{P_w}\right)}{\Gamma(z+1)} \quad (\text{A.16})$$

mit der Gammafunktion

$$\Gamma(z+1) = \int_0^\infty e^{-t} t^z dt \quad \text{für } \Re z > -1 \quad (\text{A.17})$$

beschrieben. In Abhängigkeit von der Teilchengometrie werden für R_g die Gleichungen A.11, A.12 und A.13 verwendet.

Die gewichtsmittleren Molmassen berechnen sich nach

$$M_w = \frac{\int_0^\infty w(P) M dP}{\int_0^\infty w(P) dP} = \int_0^\infty w(P) M dP \quad (\text{A.18})$$

mit $M = P M_M$

A.2 Berechnung von $L_w/R_{g,z}$ in Funktion von z

Die Berechnung von $L_w/R_{g,z}$ für Stäbe in Abhängigkeit von der Polydispersität geschieht nach folgende Grundgleichungen.

Konturlänge L eines Stabes bestehend aus P Monomeren der Länge l_M

$$L = P l_M \quad (\text{A.19})$$

Trägheitsradius R_g eines Stabes mit der Konturlänge L und vernachlässigbarem Durchmesser

$$R_g = \left(\frac{L^2}{12} \right)^{1/2} \quad (\text{A.20})$$

Zur Bestimmung des z -mittleren Trägheitsradius $R_{g,z}$ gilt

$$R_{g,z} = \frac{\int_0^\infty w(L) L R_g dL}{\int_0^\infty w(L) L dL} \quad (\text{A.21})$$

$w(L)$ ist die Wahrscheinlichkeitsdichte der Konturlänge L , und ist in Analogie zu A.16 definiert.

Die Abhängigkeit von $L_w/R_{g,z}$ von der Polydispersität ist in Abbildung A.1 dargestellt.

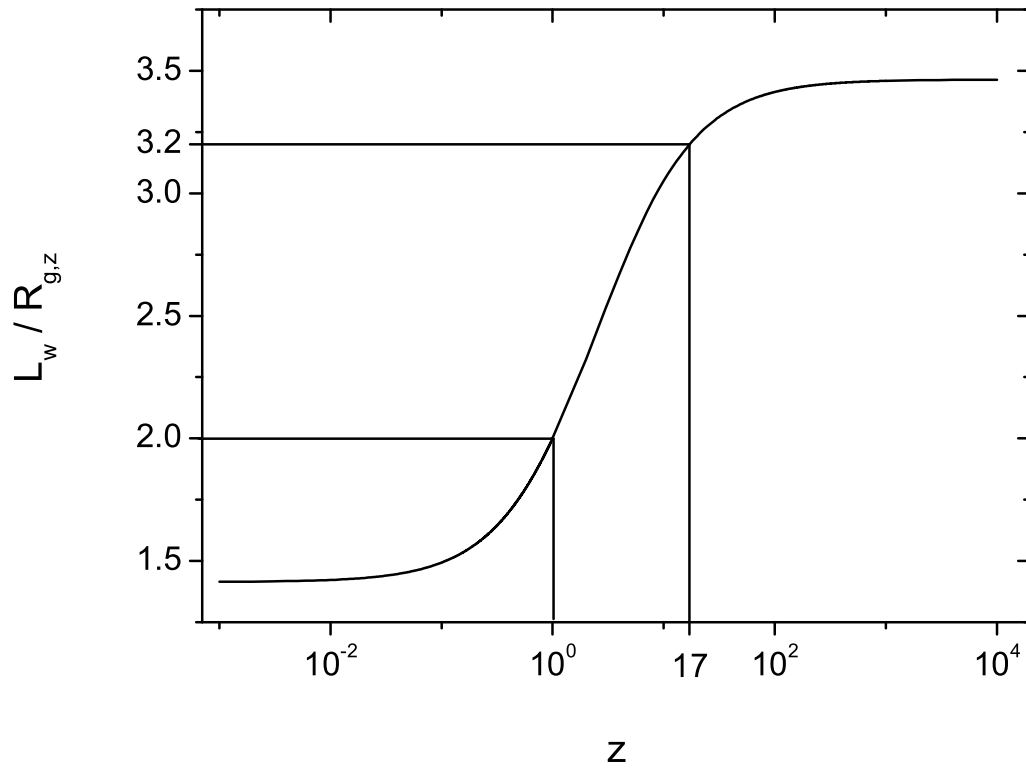


Abbildung A.1: Verlauf von $L_w/R_{g,z}$ für Stäbe in Abhängigkeit von der Polydispersität z .

A.3 Abschätzung der A_2 -Werte der $A\beta$ -Aggregate

Zur Abschätzung der Größenordnung des A_2 -Wertes im Fall der β -Amyloid-Aggregate werden Rechnungen für Stab, Knäuel und Kugel durchgeführt. Es gelten die folgenden Zusammenhänge [111] für einen Stab mit der Molmasse M , dem Durchmesser d und der Länge l

$$A_{2,Stab} = \pi N_A \frac{d l^2}{4M^2} \quad (A.22)$$

für ein Knäuel mit dem Trägheitsradius R_g , der Molmasse M sowie dem Parameter Ψ der nach KURATA [118] einen Wert von 0,2 annimmt

$$A_{2,Knäuel} = 4\pi^{\frac{3}{2}} N_A \frac{R_g^3}{M^2} \Psi \quad (A.23)$$

und für eine Kugel mit dem Volumen V und der Molmasse M

$$A_{2,Kugel} = 4N_A \frac{V}{M^2} \quad (A.24)$$

Sämtliche Parameter wie Trägheitsradius, Molmasse, Länge und Volumen stammen aus den experimentellen Daten oder werden aus diesen abgeleitet. Im Fall des Durchmesser wird nach TYCKO [115] ein Wert von $d = 6 \text{ nm}$ verwendet (vgl. Abbildung 4.22). N_A ist die Avogadro-Konstante.

Der Einfluß des A_2 -Wertes auf die Molmassenbestimmung kann aus Gleichung 2.27 abgeleitet werden. Für $q \rightarrow 0$ gilt hierbei

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_{w,app}} = \frac{1}{M_{w,wahr}} + 2A_2c \quad (A.25)$$

wobei $M_{w,app}$ die apparente und $M_{w,wahr}$ die tatsächliche gewichtsmittlere Molmasse der Aggregate darstellt. Aus Gleichung A.25 folgt durch Umformung

$$M_{w,wahr} - M_{w,app} = 2 A_2c M_{w,wahr} M_{w,app} \quad (A.26)$$

Mit $\Delta M = M_{w,wahr} - M_{w,app}$ ergibt sich der prozentuale Einfluß des A_2 -Wertes bei der Molmassenbestimmung zu

$$\frac{\Delta M}{M_{w,wahr}} \cdot 100 \% = 2 A_2c M_{w,app} \cdot 100 \% \quad (A.27)$$

A.4 Berechnung des Formfaktors einer KRATKY-POROD-Kette unter Berücksichtigung der Polydispersität

Für die Berechnung des Formfaktors einer KRATKY-POROD-Kette unter Berücksichtigung der Polydispersität gilt

$$P_q = \frac{\int_0^\infty w(L) L P_{Pedersen/Schurtenberger}(L) dL}{\int_0^\infty w(L) L dL} \quad (A.28)$$

beziehungsweise in diskreter Form

$$P_q = \frac{\sum_L w(L) L P_{\text{Pedersen/Schurtenberger}}(L)}{\sum_L w(L) L} \quad (\text{A.29})$$

$w(L)$ ist die Wahrscheinlichkeitsdichte der Konturlänge L , und ist in Analogie zu A.16 definiert mit L anstelle des Polymerisationsgrades P . Für den Formfaktor einer KRATKY-POROD-Kette nach PEDERSEN und SCHURTENBERGER gilt der Ausdruck in Tabelle A.7.

A.4.1 Anpassung einer experimentellen Kurve mit Hilfe des polydispersen Formfaktors einer KRATKY-POROD-Kette

Die Anpassung der experimentellen Streukurven der β -Amyloid-Aggregate erfolgt unter Verwendung des Ausdrucks A.29. Mit Hilfe eines nichtlinearen Least-Square-Fits werden die experimentellen Verläufe über die frei wählbaren Parameter Persistenzlänge a , gewichtsmittlere Konturlänge L_w und gewichtsmittlere Molmasse M_w angepaßt. Es gilt

$$\frac{\Delta R_\theta}{Kc} = P_z M_w \quad (\text{A.30})$$

Um einen akzeptablen Rechenaufwand zu gewährleisten, wird die Summe in A.29 über 100 Stützstellen berechnet, die so gesetzt sind, daß 99,9% der Verteilung berücksichtigt werden.

A.5 Simulation der β -Amyloid-Kinetik

Die Simulation der β -Amyloid-Kinetik basiert auf den Berechnungen der gewichtsmittleren Molmasse

$$M_w = \sum_i w_i M_i \quad (\text{A.31})$$

und des z-mittleren Trägheitsradius

$$R_{g,z} = \left(\frac{\sum_i w_i M_i R_{r,i}^2}{\sum_i w_i M_i} \right)^{0,5} \quad (\text{A.32})$$

in Abhängigkeit von den vorgegebenen strukturellen Parametern und der Gewichtung der beteiligten Komponenten. Folgende strukturelle Parameter werden in der Simulation verwendet:

Tabelle A.2: In der Simulation der β -Amyloid-Kinetik verwendete strukturelle Parameter.

Komponente	R_g [nm]	M [g/mol]	a [nm]	L_{max} [nm]	M_L [g/(mol nm)]
Monomer	0,5	4330			
Mizelle	47	$4,5 \cdot 10^6$			
Fibrille			31	$1,5 \cdot 10^4$	9100

Die Gewichtung der Einzelkomponenten erfolgt mit Hilfe der jeweiligen Massenbrüche w_i . Es gelten die folgenden Zusammenhänge

$$w_{Fibrille} = L_w / L_{max} \quad (A.33)$$

sowie

$$w_{Mizelle} = 1 - w_{Fibrille} - w_{Monomer} \quad (A.34)$$

wobei die gewichtsmittleren Konturlänge L_w und der Massenbruch $w_{Monomer}$ frei zur Anpassung an den experimentellen Verlauf gewählt werden können. Die letztlich interessierenden Größen $R_{g,z,gesamt}$ und $M_{w,gesamt}$ ergeben sich dann aus den Gleichungen A.31 und A.32. Für die dabei wachsenden polydispersen Fibrillen gilt unter Vorgabe der gewichtsmittleren Konturlänge L_w , der linearen Massenbelegung M_L und der Persistenzlänge a

$$M_w = M_L L_w \quad (A.35)$$

und nach OBERTHÜR [108]

$$R_{g,z} = \frac{(z+2)aL_w}{(z+1)3} - a^2 + \frac{2a^3}{L_w} - \frac{2a^4(z+1)}{zL_w^2} \left[1 - \left(\frac{(z+1)a}{(z+1)a + L_w} \right)^z \right] \quad (A.36)$$

A.6 Formfaktoren einiger Polymerstrukturen

Tabelle A.3: Formfaktoren $P(u)$ der elementaren Geometrien Stab, Knäuel und Kugel.
($u = q \cdot R_{g,z}$, siehe Gleichung 3.7)

Stab [119]

$$P(u) = \frac{2}{qL} \int_0^{qL} \frac{\sin(t)}{t} dt - \left(\frac{\sin(qL/2)}{(qL/2)} \right)^2 \quad \text{L: Stablänge}$$

Knäuel [120]

$$P(u) = \frac{2}{u^4} [\exp(-u^2) - (1 - u^2)]$$

Kugel [121]

$$P(u) = \frac{9}{\left[\left(\frac{5}{3}\right)^{0,5} u\right]^6} \left[\sin \left(\left(\frac{5}{3}\right)^{0,5} u \right) - \left(\frac{5}{3}\right)^{0,5} u \cos \left(\left(\frac{5}{3}\right)^{0,5} u \right) \right]^2$$

Tabelle A.4: Formfaktoren $P(u)$ sternförmiger Strukturen. ($u = q \cdot R_{g,z}$, siehe Gleichung 3.7)

Stern mit monodisperser Armlängenverteilung [56, 57]

$$P(u) = \frac{2}{Vf^2} \left[V - (1 - \exp(-V)) + \frac{f-1}{2} (1 - \exp(-V))^2 \right] \quad f: \text{Armzahl}$$

$$V = \frac{f}{3f-2} u^2$$

Stern mit polydispenser Armlängenverteilung [58]

$$P(u) = \frac{1+u^2/(3f)}{[1+u^2(f+1)/(6f)]^2} \quad f: \text{Armzahl}$$

Tabelle A.5: Formfaktoren $P(u)$ verzweigter Polykondensate. ($u = q \cdot R_{g,z}$, siehe Gleichung 3.7)

statistisch verzweigte f -funktionelle Polykondensate vom A_f -Typ [59]

$$P(u) = \frac{1}{1+u^2/3}$$

nicht-statistisch verzweigte Polykondensate vom AB_f -Typ [54]

$$P(u) = \frac{1}{[1+u^2/6]^2}$$

nicht-statistisch verzweigte Polykondensate vom ABC -Typ [60]

$$P(u) = \frac{1+\Gamma u^2/3}{[1+(1+\Gamma)u^2/6]^2} \quad \Gamma: \text{Verzweigungsparameter}$$

$$\Gamma = \left[\beta + \gamma + \frac{2\beta\gamma}{1-\beta-\gamma} \right]^{-1} (\beta^2 + \gamma^2) \quad \beta, \gamma: \text{Reaktivitäten der B- und C-Gruppe}$$

Tabelle A.6: Formfaktor $P(q)$ eines dendritischen Mikrogels (Soft-Sphere Modell).

Dendritisches Mikrogel / Soft-Sphere Modell [61]

$$P(q) = S(q)/N^2$$

$$S(q) = 1 + 6P_1P_2 + 6[xP_0 + (P_1P_2)^2] + 3P_1^2P_6[3x - P_2 + (x+1)(P_5P_2 - P_3P_4)]$$

$$P_0 = y^{-4}[my^2 - (1 - \phi^m)]$$

$$P_1 = \phi(1 - \phi^m)/(1 - \phi)$$

$$P_2 = [1 - (2\phi^m)^n]/(1 - 2\phi^m)$$

$$P_3 = (1 - \phi^{2mn})/(1 - \phi^m)$$

$$P_4 = (1 - \phi^{2mn})/(1 - 2\phi^{2m})$$

$$P_5 = \phi^{m(n+1)}/(1 - 2\phi^{2m})$$

$$P_6 = 1/(1 - 2\phi^m)$$

$$\phi = \exp(-y^2)$$

$$y^2 = b^2q^2/6$$

$$m = (N - 1)/3x \quad \text{Zahl der Monomereinheiten des linearen Spacers} \\ \text{zwischen zwei Verzweigungsgenerationen}$$

$$x = 2^n - 1 \quad \text{Zahl der Verzweigungspunkte der } n\text{-ten Generation}$$

$$n \quad \text{Zahl der Verzweigungsgenerationen}$$

$$N \quad \text{Polymerisationsgrad}$$

Tabelle A.7: Formfaktor $P(q)$ des Modells des kontinuierlich gekrümmten Fadens (KRATKY-POROD-Kette).

flexible KRATKY-POROD-Kette mit $\frac{L}{b} > 2$ [105, 106]

$$P(q, L, b) = P_{Sharp/Bloomfield} \exp \left[- \left(\frac{qb}{5,53} \right)^{5,33} \right] + P_{loc} \left(1 - \exp \left[- \left(\frac{qb}{5,53} \right)^{5,33} \right] \right)$$

$$y = q^2 \cdot R_{g,z}^2 = q^2 \cdot \frac{Lb}{6}$$

$$P_{Debye} = \frac{2}{y^2} [\exp(-y) + y - 1]$$

$$P_{Sharp/Bloomfield} = P_{Debye} + \frac{b}{L} \left[\frac{4}{15} + \frac{7}{15y} - \left(\frac{11}{15} + \frac{7}{15y} \right) \exp(-y) \right] \quad [113]$$

$$P_{loc} = \frac{1}{Lbq^2} + \frac{\pi}{Lq}$$

$$L \quad \text{Konturlänge}$$

$$b \quad \text{KUHN-Länge}$$

Anhang B

Weitere experimentelle Grundlagen

B.1 Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

Neben den indirekten Methoden wie Streuexperimenten oder spektroskopischen Untersuchungen, liefert die direkte Methode in Form von mikroskopischen Untersuchungen einen weiteren wichtigen Zugang zum Verständnis der Materie. Letztere haben den großen Vorteil, daß sie sofort eine Abbildung der Struktur liefern. Zu den ältesten mikroskopischen Verfahren gehört die Lichtmikroskopie. Das Auflösungsvermögen dieser Methode ist allerdings durch die Wellennatur des Lichts und den damit verbundenen Phänomenen der Interferenz und Beugung begrenzt, so daß diese Art der Mikroskopie zur Untersuchung von Strukturen im Mikrometerbereich genutzt werden kann. Um in den Submikrometer- und Nanometerbereich vorzudringen, ist eine deutliche höhere Auflösung erforderlich, wie sie durch Rastersondenverfahren erreicht wird. Diese ermöglichen es die Proben teilweise mit atomarer Auflösung, ohne aufwendige Vorbehandlung und unter atmosphärischen Bedingungen zu untersuchen [122].

Rastersondenverfahren erfassen mit Hilfe einer Sonde seriell die lokalen Eigenschaften einer Probe. Dazu wird die Probe zeilenweise mit der Sonde abgefahren, so daß ein Bild der gemessenen Eigenschaft entsteht. Im Falle der sogenannten

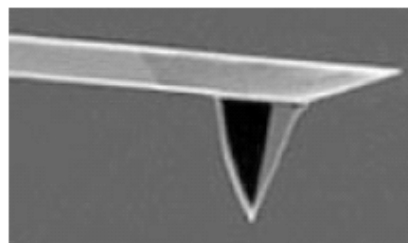


Abbildung B.1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Cantilevers [123]

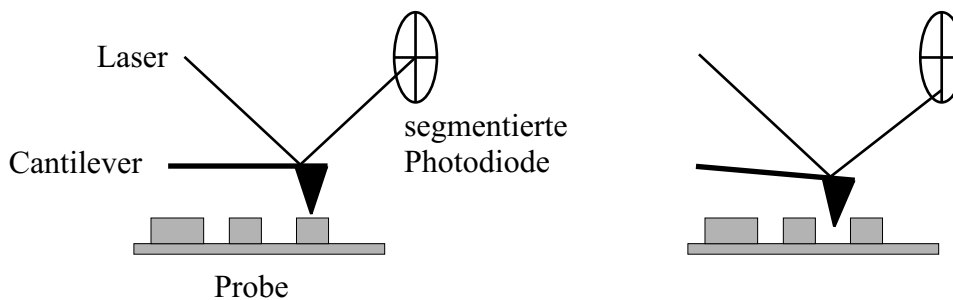


Abbildung B.2: Detektion der Verbiegung des Cantilevers mit Hilfe des Lichtzeigerprinzips.

Rasterkraftmikroskopie (engl. Scanning Force Microscopy SFM, Atomic Force Microscopy AFM) wird die Kraft zwischen der Probenoberfläche und der Sonde gemessen. Bei der Sonde handelt es sich um eine Blattfeder (engl. cantilever) an der eine sehr feine Spitze angebracht ist (siehe Abbildung B.1). Die Spitze selbst hat häufig eine pyramidale Form mit einer Höhe von nur ca. $10 - 15 \mu\text{m}$. Die Dicke des Cantilevers beträgt nur $3 - 5 \mu\text{m}$, so daß er sich unter Einwirkung einer Kraft auf die Spitze verbiegt. Diese Verbiegung wird detektiert und ausgewertet. Eines der am häufigsten eingesetzten Verfahren zur Messung der Krümmung des Cantilevers ist das Lichtzeigerprinzip (vgl. Abbildung B.2). Hierbei wird ein Laserstrahl auf die Oberseite des Cantilevers fokussiert und die Position des reflektierten Strahls mit einer segmentierten Photodiode gemessen. Das Differenzsignal zweier Segmente ist dabei proportional zur Verbiegung des Cantilevers. Letztlich wird damit eine um mehrere Zehnerpotenzen vergrößerte Abbildung der Durchbiegung bewirkt [124].

In Abhängigkeit von der Beschaffenheit der zu untersuchenden Probe und der zu beantwortenden Fragestellung, stehen unterschiedliche Betriebsmodi in der Rasterkraftmikroskopie zur Verfügung.

- **Kontakt-Modus:** Hier steht die Spitze über repulsive Kräfte in ständigem Kontakt zur Probe. Die Kraftkonstante des Cantilevers als ein Maß für dessen „Härte“ sollte geringer sein als die Kraftkonstante zwischen zwei Atomen der Probe, da diese sonst irreversibel geschädigt wird. Der Modus eignet sich damit für harte Substanzen wie Silizium oder Glas, nicht jedoch zum Beispiel für Polymere. Wird die Messung unter einer konstanten Kraft zwischen Probe und Spitze durchgeführt, so bildet die Spitze bei der Rasterung die Oberfläche ab.
- **Tapping-Modus:** Im Tapping-Modus wird der Cantilever mechanisch zum Schwingen bei seiner Resonanzfrequenz angeregt. Nähert sich der schwingende Cantilever der Probe, so kommt es ab einer bestimmten Entfernung zu ei-

nem zeitweiligen Kontakt zwischen der Oberfläche und der Spitze. Es ändern sich dadurch sowohl Amplitude, Frequenz und Phase der Schwingung. Jede dieser Größen kann als Meßparameter detektiert werden. Bildet die Amplitude die Oberfläche ab, so spiegelt eine sich ändernde Phase die unterschiedlichen Materialeigenschaften der Probe wieder. Dadurch, daß nur geringe Kräfte auf die Probe einwirken, kommt es zu keiner Verformung der Oberfläche, beziehungsweise zu elastischen Verformungen, so daß eine Relaxation in den ursprünglichen Zustand möglich ist. Dieser Modus ist daher für die Untersuchung von Polymeren oder Biomolekülen geeignet [125].

- Non-Kontakt-Modus: Hier schwingt der Cantilever weiterhin mit seiner Resonanzfrequenz, jedoch ist er soweit von der Probe entfernt, daß es zu keiner Berührung der Oberfläche durch die Spitze kommt. Es wirken daher nur sehr schwache attraktive Kräfte auf den Cantilever, der damit einen sehr hohen Gütefaktor, das heißt eine geringe Dissipation aufweisen muß. Der Betrieb dieses Modus ist daher nur im Hochvakuum realisierbar. Als Meßgrößen liegen wieder Amplitude, Frequenz und Phase vor.
- Pulsed-Force-Modus: Im Pulsed-Force-Modus wird der Cantilever mit einer Frequenz von $100\text{ Hz} - 2\text{ kHz}$ relativ zur Probe bewegt. Diese Modulationsfrequenz liegt weit unterhalb der Resonanzfrequenz des Cantilevers, so daß sich dieser in Phase zur angelegten Modulation bewegen kann. Zu Beginn besteht kein Kontakt zwischen Spitze und Oberfläche. Erst bei hinreichender Annäherung wirken attraktive Kräfte auf die Spitze ein, bis sie in Kontakt zur Oberfläche springt. Durch weiterer Annäherung gehen die attraktive in repulsive Kräfte über. Entfernt man die Spitze wieder, so kehren sich die Verhältnisse um, bis daß in einem bestimmten Abstand der Cantilever von der Probe „abreißt“ und frei ausschwingt. Danach beginnt der Zyklus von vorn. Innerhalb einer Periode wird demnach eine komplette Kraft-Abstands-Kurve durchlaufen. Dieser Modus liefert neben dem Abbild der Oberfläche noch zusätzliche Informationen über Adhäsion und Steifigkeit der Probe.

Anhang C

C.1 Abkürzungsverzeichnis

C.1.1 Untersuchungsmethoden

LS	Lichtstreuung
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
SANS	Small Angle Neutron Scattering (Neutronenkleinwinkelstreuung)
SLS	Statische Lichtstreuung
AFM	Atomic Force Microscopy (Rasterkraftmikroskopie)
UV/VIS	optische Spektroskopie im ultravioletten und sichtbaren Bereich elektromagnetischer Strahlung

C.1.2 Chemikalien

Calix[4]aren	2,6,8,12,14,18,20,24-Octahydroxy-4,10,16,24-tetra- <i>n</i> -undecyl-pyridin[4]aren
Naphthyridin	2-Amino- <i>N</i> ³ -(<i>n</i> -undecyl)-1,8-naphtyridin-3-carboxamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
HFIP	Hexafluoroisopropanol
Tris-HCl	Tris-hydroxymethyl-aminomethan-hydrochlorid
A β (1-40)	β -Amyloid(1-40)

C.1.3 Ausgewählte Formelzeichen

A_2	zweiter osmotischer Virialkoeffizient	mol mL g^{-2}
α	Polsrisierbarkeit	$\text{C}^2 \text{ m}^2 \text{ J}^{-1}$
c	Konzentration	g L^{-1}
c_0	Lichtgeschwindigkeit im Vakuum	$2,9979 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$
I_0	Intensität der Primärstrahlung	$\text{J m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
ΔI_s	Nettostreuintensität	$\text{kg m}^{-3} \text{ s}^{-3}$
ϵ_0	elektrische Feldkonstante	$\text{C V}^{-1} \text{ m}^{-1}$
k_B	BOLTZMANN-Konstante	J K^{-1}
K	Kontrastfaktor	$\text{mol L}^{-1} \text{ g}^{-1}$
λ	Wellenlänge	nm
M_n	zahlenmittleres Molekulargewicht	g mol^{-1}
M_w	massenmittleres Molekulargewicht	g mol^{-1}
n	Brechungsindex	—
N_A	AVOGADRO-Zahl	mol^{-1}
(dn/dc)	Brechungsindexinkrement (Streukontrast)	mL g^{-1}
P	Polarisation	C m^{-2}
$P(q)$	Formfaktor	—
q	Streuvektor	cm^{-1}
ΔR_θ	Nettostreuintensität	cm^{-1}
R	allgemeine Gaskonstante	$\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
$R_{g,z}$	Trägheitsradius	nm
R_{Tol}	RAYLEIGH-Verhältnis des Standards Toluol	$1,3675 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ ($T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 632,8 \text{ nm}$)
ρ	Dichte	g mL^{-1}
T	Temperatur	$^\circ\text{C}$ oder K
θ	Streuwinkel	Grad
u	$u = qR_g$	—

Literaturverzeichnis

- [1] H. Staudinger. *Arbeitserinnerungen*. Hüthig, Heidelberg (1961)
- [2] www.nobel.se/chemistry/laureates/1953/press.html. Website der Nobel-Stiftung
- [3] www.nobel.se/chemistry/laureates/1962/press.html. Website der Nobel-Stiftung
- [4] www.nobel.se/chemistry/laureates/1963/press.html. Website der Nobel-Stiftung
- [5] www.nobel.se/chemistry/laureates/1972/press.html. Website der Nobel-Stiftung
- [6] P. G. deGennes. *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell University Press, Ithaca-London (1979)
- [7] *Soft Matter, Complex Materials on Mesoscopic Scales*, Band 10 von *Schriften des Forschungszentrums Jülich, Reihe Materie und Material*. Forschungszentrum Jülich, Institut für Festkörperforschung, Jülich (2002). Hrsg.: J. K. G. Dhont, G. Gompper und D. Richter
- [8] T. A. Witten. *Rev. Mod. Phys.*, **71**, (1999), 367
- [9] B. B. Mandelbrot. *Die fraktale Geometrie der Natur*. Birkhäuser, Basel-Boston (1987)
- [10] G. Scheibe. *Kolloid-Z.*, **82**, (1938), 1
- [11] G. Scheibe. *Ber. Bunsen-Ges.*, **52**, (1948), 283
- [12] S. Kozempel, K. Tauer und G. Rother. *Polymer*, **46**, (2005), 1169
- [13] S. Bernocco, F. Ferri, A. Profumo, C. Cuniberti und M. Rocco. *Biophys. J.*, **79**, (2000), 561
- [14] E. Lai und J. H. van Zanten. *Biophys. J.*, **80**, (2001), 864
- [15] M. Kerker. *The Scattering of Light and other Electromagnetic Radiation*. Academic Press, New York-San Francisco-London (1969)

- [16] T. Fließbach. *Elektrodynamik*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg-Berlin (2000)
- [17] *Light Scattering from Dilute Polymer Solutions*. International Science Review Series. Gordon and Breach (1964). Hrsg.: D. McIntyre und F. Gornick
- [18] P. Kratochvil. *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*. Elsevier, Amsterdam (1987)
- [19] A. Guinier und G. Fournet. *Small Angle Scattering of X-Rays*. Wiley-VCH, New York (1955)
- [20] *Light Scattering: Principles and Development*, Band 14 von *Monographs on the Physics and Chemistry of Materials*. Clarendon Press, Oxford (1996). Hrsg.: W. Brown
- [21] *Light Scattering from Polymer Solutions*, Band 27 von *Physical Chemistry, A Series of Monographs*. Academic Press, London (1972). Hrsg.: M. B. Huglin
- [22] J. Higgins und H. C. Benoit. *Polymers and Neutron Scattering*. Clarendon Press, Oxford (1994)
- [23] M. Smoluchowski. *Ann. Physik*, **25**, (1908), 205
- [24] A. Einstein. *Ann. Physik*, **33**, (1910), 1275
- [25] P. Debye. *J. Appl. Phys.*, **15**, (1944), 338
- [26] P. Debye. *Ann. Physik*, **46**, (1915), 809
- [27] A. Holtzer. *J. Polym. Sci.*, **17**, (1955), 432
- [28] O. Kratky und G. Porod. *J. Colloid. Sci.*, **4**, (1949), 35
- [29] O. Glatter. *The Inverse Scattering Problem in Small-Angle Scattering*. in *Neutrons, X-rays and Light: Scattering Methods Applied to Soft Condensed Matter*. Elsevier, Amsterdam (2002). Hrsg.: P. Lindner und Th. Zemb
- [30] I. Teraoka. *Polymer Solutions - An Introduction to Physical Properties*. Wiley, New York (2002)
- [31] G. Strobl. *Physik kondensierter Materie*. Springer, Berlin-Heidelberg (2002)
- [32] G. Porod. *General Theory*. in *Small Angle X-ray Scattering*. Academic Press, London (1982). Hrsg.: O. Glatter und O. Kratky
- [33] B. H. Zimm. *J. Chem. Phys.*, **16**, (1948), 1093

- [34] A. Becker und M. Schmidt. *Macromol. Chem. Macromol. Symp.*, **50**, (1991), 249
- [35] Y. Herman und X. Levinson. *J. Opt. Soc. Am.*, **41**, (1951), 460
- [36] T. Gerkenmeier, J. Mattay und C. Näther. *Chem. Eur. J.*, **7**, (2001), 465
- [37] W. L. Jorgensen und J. Pranata. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, (1990), 2008
- [38] T. Gerkenmeier, B. Decker, M. Schwertfeger, W. Buchheim und J. Mattay. *Eur. J. Org. Chem.*, (2002), 2120
- [39] P. J. Flory. *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press, Ithaca-London (1953)
- [40] L. Brunsveld, B. J. B. Former, E. W. Meijer und R. P. Sijbesma. *Chem. Rev.*, **101**, (2001), 4071
- [41] T. R. Kelly, G. J. Bridger und C. Zhao. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, (1990), 8024
- [42] S. C. Zimmerman und B. F. Duerr. *J. Org. Chem.*, **57**, (1992), 2215
- [43] T. J. Murray und S. C. Zimmerman. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, (1992), 4010
- [44] S. Brammer, U. Lüning und C. Köhl. *Eur. J. Org. Chem.*, (2002), 4054
- [45] J. M. Lehn. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*. VCH, Weinheim (1995)
- [46] J. M. Lehn. *Supramolecular Science: Where It Is and Where It Is Going*. Kluwer, Dordrecht (1999). Hrsg.: Ungaro, R. und Dalcanale, E.
- [47] B. Alberst, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts und J. D. Watson. *The Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishers Inc., New York-London, 3. Auflage (1994)
- [48] D. R. Lide. *Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press, Boca Raton, 74. Auflage (1993-1994)
- [49] G. C. Berry. *J. Chem. Phys.*, **44**, (1966), 4550
- [50] D. A. Weitz, J. S. Huang, M. Y. Lin und J. Sung. *Phys. Rev. Lett.*, **53**, (1984), 1657
- [51] D. A. Weitz, J. S. Huang, M. Y. Lin und J. Sung. *Phys. Rev. Lett.*, **54**, (1985), 1416
- [52] M. Y. Lin, H. M. Lindsay, D. A. Weitz, R. C. Ball, R. Klein und P. Meakin. *Phys. Rev. A*, **41**, (1990), 2005
- [53] B. Herzog, K. Huber und H. Stegemeyer. *Langmuir*, **19**, (2003), 5223

- [54] W. Burchard. *Macromolecules*, **10**, (1977), 919
- [55] W. Burchard. *Light Scattering from Polymers*, Band 48 von *Advances in Polymer Science*. Springer, Berlin-Heidelberg (1983)
- [56] H. Benoit. *J. Polym. Sci.*, **11**, (1953), 507
- [57] W. Burchard. *Macromolecules*, **7**, (1974), 841
- [58] W. Burchard. *Macromolecules*, **7**, (1974), 835
- [59] K. Kajiwara, W. Burchard und M. Gordon. *Br. Polym. J.*, **2**, (1970), 110
- [60] W. Burchard. *Macromolecules*, **5**, (1972), 604
- [61] W. Burchard, K. Kajiwara und D. J. Nерger. *J. Polym. Sci. Part B; Polym. Phys.*, **20**, (1982), 157
- [62] W. Burchard. *Solution Properties of Branched Macromolecules*, Band 143 von *Advances in Polymer Science*. Springer, Berlin-Heidelberg (1999)
- [63] R. Koyama. *J. Phys. Soc. Japan.*, **34**, (1973), 1029
- [64] A. Katzenstein und K. Huber. *Langmuir*, **18**, (2002), 7049
- [65] H.-G. Elias. *Makromoleküle*, Band 1. Hüthing und Wepf, Basel-Heidelberg-New York, 5 Auflage (1990)
- [66] *Molecular Operating Environment (MOE)*. Chemical Computing Group Inc., Montreal, Quebec, Canada (2005)
- [67] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell und P. A. Kollmann. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, (1995), 5179
- [68] B. R. Brooks, R. E. Brüssoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan und M. Karplus. *J. Comp. Chem.*, **4**, (1983), 187
- [69] S. H. Rotstein und M. A. Murcko. *J. Med. Chem.*, (1993), 1700
- [70] J. B. Moon und W. J. Howe. *Proteins*, **11**, (1991), 314
- [71] R. S. Bohacek und C. McMartin. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1994), 5560
- [72] H. Bickel. *Informationsblätter der Deutschen Alzheimer Gesellschaft*. Deutschen Alzheimer Gesellschaft, Berlin (2002). 1. Informationsblatt
- [73] H. Bickel. *Das Gesundheitswesen*, **62**, (2000), 211

- [74] H. Bickel. *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie*, **34**, (2001), 108
- [75] A. Eckert. *Pharmazie in unserer Zeit*, **31**, (2002), 356
- [76] A. Alzheimer. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin*, **64**, (1907), 146
- [77] W. Pschyrembel. *Klinisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter, Berlin, 107.-116. Auflage (1955)
- [78] D. J. Selkoe. *Science*, **298**, (2002), 789
- [79] D. G. Munoz und H. Feldman. *Can. Med. Assoc. J.*, **162**, (2000), 65
- [80] M. A. Smith, L. D. Kelly, N. A., A. Takeda, K. Hirai, X. Zhu, C. S. Atwood, A. K. Raina, C. A. Rottkamp, L. M. Sayre, R. P. Friedland und G. Perry. *Neurochem. Int.*, **40**, (2002), 527
- [81] J. Hardy und D. J. Selkoe. *Science*, **297**, (2002), 353
- [82] T. Arendt. *Informationsblätter der Deutschen Alzheimer Gesellschaft*. Deutschen Alzheimer Gesellschaft, Berlin (1999). 2. Informationsblatt
- [83] D. J. Selkoe. *Nature*, **399**, (1999), 23
- [84] R. Sabate und J. Estelrich. *J. Phys. Chem. B*, **109**, (2005), 11027
- [85] J. Koolman und K. Röhm. *Taschenatlas der Biochemie*. Thieme, Stuttgart-New York (1994)
- [86] W. B. Stine, K. N. Dahlgren, G. A. Krafft und M. J. LaDu. *J. Biol. Chem.*, **278**, (2003), 11612
- [87] Y. Kusumoto, A. Lomakin, D. B. Teplow und G. B. Benedek. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, (1998), 12277
- [88] G. Bitan, A. Lomakin und D. B. Teplow. *J. Biol. Chem.*, **276**, (2001), 35176
- [89] W. Yong, A. Lomakin, M. D. Kirkitadze, D. B. Teplow, S.-H. Chen und G. B. Benedek. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, (2002), 150
- [90] D. M. Walsh, A. Lomakin, G. B. Benedek, M. M. Condrón und D. B. Teplow. *J. Biol. Chem.*, **272**, (1997), 22364
- [91] D. M. Walsh, D. M. Hartley, Y. Kusumoto, Y. Fezoui, M. M. Condrón, A. Lomakin, G. B. Benedek, D. J. Selkoe und D. B. Teplow. *J. Biol. Chem.*, **274**, (1999), 25945

- [92] A. Lomakin, D. S. Chung, G. B. Benedek, A. Kirschner und D. B. Teplow. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, (1996), 1125
- [93] D. B. Teplow. *Amyloid: Int. J. Exp. Clin. Invest.*, **5**, (1998), 121
- [94] E. Luttmann. *Molecular-Modelling Untersuchungen auf dem Weg zum Verständnis der Alzheimerschen Krankheit*. Dissertation, Universität Paderborn (2004)
- [95] L. A. Haller. *Molecular-Modelling Untersuchungen der APL-Bindungsstelle des Acetylcholinrezeptors*. Diplomarbeit, Universität Paderborn (2005)
- [96] *CD Römpp Chemielexikon*. Thieme, Stuttgart-New York (1995). Version 1.0
- [97] Y. Fezoui, D. M. Hartley, J. D. Harper, R. Khurana, D. M. Walsh, D. J. Selkoe, P. T. Lansbury, A. L. Fink und D. B. Teplow. *Amyloid: Int. J. Exp. Clin. Invest.*, **7**, (2000), 166
- [98] S. W. Snyder, U. S. Lador, W. S. Wade, G. T. Wang, L. W. Barrett, E. D. Matayoshi, H. J. Huffaker, G. A. Krafft und T. F. Holzman. *Biophys. J.*, **67**, (1994), 1216
- [99] C.-L. Shen, M. C. Fitzgerald und R. M. Murphy. *Biophys. J.*, **67**, (1994), 1238
- [100] C.-L. Shen und R. M. Murphy. *Biophys. J.*, **69**, (1995), 640
- [101] C. S. Goldsbury, S. Wirtz, S. A. Müller, S. Sunderji, P. Wicki, U. Aepli und P. Frey. *J. Struct. Biol.*, **130**, (2000), 217
- [102] R. Sabate, M. Gallardo und J. Estelrich. *Biopolymers*, **71**, (2003), 190
- [103] M. R. Nichols, M. A. Moss, D. K. Reed, W.-L. Lin, R. Mukhopadhyay, J. H. Hoh und T. L. Rosenberry. *Biochemistry*, **41**, (2002), 6115
- [104] O. Kratky und G. Porod. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **68**, (1949), 1106
- [105] J. S. Pedersen und P. Schurtenberger. *Macromolecules*, **29**, (1996), 7602
- [106] D. Pötschke, P. Hickl, M. Ballauff, P. O. Astrand und J. S. Pedersen. *Macromol. Theory Simul.*, **9**, (2000), 345
- [107] B. H. Zimm. *J. Chem. Phys.*, **16**, (1948), 1099
- [108] R. C. Oberthür. *Makromol. Chem.*, **179**, (1978), 2693
- [109] E. P. Geiduschek und A. Holtzer. Band VI von *Advances in Biological and Medical Physics*. Academic Press, New-York (1958). Hrsg.: C. A. Tobias und J. H. Lawrence

- [110] S. E. Ingles, A. Katzenstein, W. Schlenker und K. Huber. *Langmuir*, **16**, (2000), 3010
- [111] H. Yamakawa. *Modern Theorie of Polymer Solutions*. Harper and Row, New York (1971)
- [112] R. Kholodenko. *Macromolecules*, **26**, (1993), 4179
- [113] P. Sharp und V. A. Bloomfield. *Biopolymers*, **6**, (1968), 1201
- [114] A. T. Petkova, Y. Ishii, J. J. Balbach, O. N. Antzutkin, R. D. Leapman, F. Delaglio und R. Tycko. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, (2002), 16742
- [115] R. Tycko. *Biochemistry*, **42**, (2003), 3151
- [116] J. T. Jarrett und P. T. Lansbury. *Cell*, **73**, (1993), 1055
- [117] K. Huber. Persönliche Mitteilung
- [118] M. Kurata, M. Fukatsu, H. Sotobayashi und H. Yamakawa. *J. Chem. Phys.*, **41**, (1964), 139
- [119] T. Neugebauer. *Ann. Physik*, **42**, (1943), 509
- [120] P. Debye. *J. Chem. Phys.*, **14**, (1946), 636
- [121] L. Rayleigh. *Proc. R. Soc.*, **A90**, (1914), 219
- [122] S. N. Magonov und M.-H. Whangbo. *Surface Analysis with STM and AFM*. VCH, Weinheim (1996)
- [123] www.nanoandmore.de. Budgetsensors
- [124] G. Meyer und N. M. Amer. *Appl. Phys. Lett.*, **57**, (1990), 2098
- [125] H. G. Hansma, R. L. Sinsheimer, J. Groppe, T. C. Bruice, V. Elings, G. Gurley, M. Bezanilla, I. A. Mastrangelo, P. V. C. Hough und P. K. Hansma. *Scanning*, **15**, (1993), 296

Veröffentlichungen

Folgender Artikel wurde in einer Fachzeitschrift veröffentlicht:

- Thomas Witte, Björn Decker, Jochen Mattay and Klaus Huber
Formation of Branched Calixarene Aggregates – A Time-Resolved Static Light Scattering Study

J. Am. Chem. Soc., **126**, (2004), 9276

Abstract: Mixtures of a calix[4]arene and a naphthyridin derivative dissolved in 1,2-dichlorobenzene form thermoreversible aggregates. The aggregation process was followed by means of time-resolved multiangle light scattering at two different mixing ratios, 1:3 and 1:4, yielding a detailed record of the relative mass, the radius of gyration, and the particle scattering function of the growing aggregates. On the basis of these data, a conclusive model of the structure is presented for the developing aggregates: monomers aggregate to wormlike filaments which form branching points. Formation of branching points proceeds in a frequency and distribution which is similar to the polycondensation of *ABC* monomers toward non-randomly branched macromolecules (Burchard, W. *Macromolecules*, **10**, (1977), 919). Thus, aggregation results in hyperbranched particles with striking analogies to the polymerisation of glucose to amylopectin.

Posterbeiträge:

- Makromolekulares Kolloquium Freiburg, 26. - 28. Februar 2004

