

Interpolyelektrolytkomplexe zylindrischer Bürstenpolymere

Dissertation

zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Dominic Tobias Störkle
geb. in Frankfurt am Main

Mainz, 2007

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 07.05.2007

MEINER FAMILIE

Zusammenfassung

Die elektrostatische Wechselwirkung zwischen entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten führt zur spontanen Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen. Besonders im Fokus des akademischen und biotechnologischen Interesses stehen derzeit Komplexe aus DNA und synthetischen Polykationen, da eine Anwendung dieser speziellen Interpolyelektrolytkomplexe in der nicht-viralen Gentherapie vielfältig diskutiert wird. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss von Kettensteifheit auf die Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen zu untersuchen und dabei Wege aufzuzeigen, die eine Kontrolle der Topologie von Interpolyelektrolytkomplexen ermöglichen. Neben dem topologischen Einfluss wurde untersucht, wie durch Komplexierung hochmolekularer Polyelektrolyte equilibrierbare Strukturen erhalten werden können. Als Modellsystem für diese Untersuchungen wurden zylindrische Bürstenpolymere verwendet, denen als topologischer „Kontrast“ das Komplexierungsverhalten kommerzieller PAMAM-G5-Dendrimere mit kugelförmiger Topologie gegenüber gestellt wurde.

Um den Ladungsgrad des Bürstenpolymers beliebig variieren zu können, wurden Bürstenpolymere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten synthetisiert, deren Ladungsdichte über den Protonierungsgrad einstellbar ist. Die vorliegende Arbeit zeigt, wie diese mit Hilfe der Makromonomermethode hergestellt werden konnten.

Die Komplexbildung von DNA mit semiflexiblen zylindrischen Bürstenpolymeren mit unterschiedlichen Seitenketten und Ladungsdichten in wässriger Lösung hat gezeigt, dass diese in allen untersuchten Fällen unter kinetischer Kontrolle verläuft und Nicht-Gleichgewichtsstrukturen gebildet werden. Sehr überraschend wurde festgestellt, dass die Größen der mit vorgelegter DNA gebildeten Komplexe ungeachtet des verwendeten Polykations identisch sind und DNA-Komplexe mit einem Radius von 30 bis 50 nm und einer kugelförmigen Topologie resultieren.

Diese kinetisch kontrollierte Komplexbildung konnte in nicht-wässriger Lösung durch starke Reduktion der Anzahl wechselwirkender Ladungen verhindert werden, so dass eine thermodynamische Kontrolle möglich wurde. Unter diesen Bedingungen ist es gelungen, aus hochgeladenen Poly(styrolsulfonat)-Bürsten mit modifizierten Poly(ethylenimin)-Bürsten oder PAMAM-Dendrimeren Komplexe zylindrischer Topologie herzustellen. Für letztere konnte darüber hinaus postuliert werden, dass diese Komplexe eine dichteste Packung der PAMAM-Dendrimere darstellen, für deren Bildung das Polyanion mit seiner größeren Konturlänge und seiner zylindrischen Topologie als Templat dient.

Summary

The electrostatic interaction between oppositely charged polyelectrolytes leads to the spontaneous formation of interpolyelectrolyte complexes. For both, academic and biotechnological reasons, the complexes of DNA and synthetic polycations are currently of high interest because of their potential role as non-viral gene delivery systems. The major aim of this work was to understand the influence of chain stiffness on the formation of interpolyelectrolyte complexes, in order to elucidate how the topology of interpolyelectrolyte complexes can be controlled. In addition to the influence of the topology it was investigated how equilibrium structures are accessible by the complexation of highly charged polyelectrolytes. As a model system cylindrical polymer brushes were chosen. Their complexation behaviour was studied and compared to that of commercially available PAMAM-G5 dendrimers serving as a topological “contrast”.

Polymer brushes with poly(ethylenimine) side-chains were synthesized in order to adjust the charge density by the degree of protonation. This work shows how these can be synthesized by the macromonomer method.

The complexation of DNA with semiflexible cylindrical polymer brushes with different side chain lengths and charge densities in aqueous solution showed, that the complexation is kinetically controlled, leading to non-equilibrium structures. Surprisingly, the sizes of the complexes formed with excess DNA are identical, thus having a radius of 30-50 nm and a spherical topology irrespectively of the polycation used.

This kinetically controlled formation of complexes was hindered in non-aqueous solution by a dramatic reduction of the number of interacting charges, so that a thermodynamically controlled complex formation was possible. Under these conditions the formation of cylindrically shaped complexes, formed by highly charged poly(styrenesulfonate) brushes and modified poly(ethylenimine) brushes or PAMAM dendrimers, was successful. For the complexes of the PAMAM dendrimers it was possible to postulate, that the complexes can be described as a close packing of the dendrimers. This formation is induced by the polyanion with its higher contour length and its cylindrical topology, serving as a template.

Inhaltsverzeichnis

Kapitel 1	Einleitung	1
1.1	Interpolyelektrolytkomplexe	1
1.2	Interpolyelektrolytkomplexe mit DNA und DNA-Kondensation	2
1.3	Topologie von Interpolyelektrolytkomplexen in Lösung	3
1.4	Zylindrische Bürstenpolymere	6
1.5	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	7
Kapitel 2	Synthese von Bürsten mit Seitenketten aus Poly(ethylenimin) und dessen Derivate	9
2.1	Synthese und Aufreinigung der Poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomere	11
2.2	Polymerisation der aufgereinigten Poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomere	15
2.3	Verseifung der Poly(N-benzoylethylenimin)-Bürsten	19
2.4	Lösungsverhalten der Polymakromonomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten	21
2.5	Polymakromonomere mit Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Seitenketten	28
2.6	Polymakromonomere mit Poly(ethylenimin-co-N-isopropylethylenimin)-Seitenketten	34
2.7	Zusammenfassung	35
Kapitel 3	Komplexierung von DNA in wässriger Lösung	37
3.1	Herstellung der Komplexe	39
3.2	Kondensation von DNA in hochverdünnter Lösung	41
3.3	Verkapselung von DNA in hochverdünnter Lösung	62
3.4	Variation der Konzentration	73

Inhaltsverzeichnis

3.5	Variation des pH-Werts bei der Komplexbildung	86
3.6	Zusammenfassung der Komplexbildung von DNA in wässriger Lösung	89
Kapitel 4	Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid	93
4.1	Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF	95
4.2	Komplexbildung von PSS-C12 und PAMAM-Dendrimeren in DMF	101
4.3	Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF	123
4.4	Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF – Zeitabhängiges Streuverhalten	134
4.5	Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF – Verhalten nach Ansäuern mit Salzsäure	145
4.6	Zusammenfassung	152
Kapitel 5	Schlussfolgerungen und Ausblick	155
Anhang		163
A	Grundlagen der statischen und dynamischen Lichtstreuung an Homopolymeren und Homopolymeregemischungen	163
B	Beschreibung der Synthesen	173
C	Eigenschaften und Charakterisierung der für die Komplexbildungen verwendeten Homopolymere	181
D	Zusammenfassung der Ergebnisse an PVP47 – pUC18-supercoiled-DNA – Komplexen	213
E	Auswertung der Bilder der Gelelektrophorese an den Komplexlösungen von Kapitel 3.2	218

F	Auswertung der Lichtstreuung von Kapitel 3	230
G	Verwendete Chemikalien und Geräte	262
Literaturverzeichnis		265

Kapitel 1

Einleitung

Die elektrostatische Wechselwirkung zwischen entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten führt zur spontanen Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen. Anwendungsgebiete dieser Interpolyelektrolytkomplexe sind in der großtechnischen Industrie die Verwendung als Beschichtungsmaterialien, Binde- oder Fällungsmittel. In der Biotechnologie und der Medizin sind spezielle Interpolyelektrolytkomplexe mit Proteinen oder DNA, sowie die Verkapselung weiterer biologisch relevanter Substanzen von Interesse [Thün04, Daut00, Daut03]. Besonders im Fokus des akademischen und biotechnologischen Interesses stehen derzeit Komplexe aus DNA und synthetischen Polykationen, da eine Anwendung dieser speziellen Interpolyelektrolytkomplexe als Vehikel für den Transport von genetischem Material in Zellen (nicht-virale Gentherapie) vielfältig diskutiert wird [Park06, Haag06, Vija02, Godb01, Luo00, Koch93].

1.1 Interpolyelektrolytkomplexe

Werden Lösungen entgegengesetzt geladener Polyelektrolyte kombiniert, so führt dies, wie in Abbildung 1.1 schematisch skizziert, zu spontaner Aggregation unter Freisetzung der Gegenionen. Verantwortlich für die Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen aus hochgeladenen Polymeren sind die stark attraktiven elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den entgegengesetzt geladenen Polyionen und der Gewinn an Entropie durch das Freiwerden der niedermolekularen Gegenionen [Daut00, Ou06]. Es werden stark aggregierte Systeme erhalten („scrambled-egg“-Modell), deren Bildung aufgrund der hohen Kooperativität der Komplexbildung kinetisch kontrolliert ist und auch in Gegenwart von Fremdsalz zu eingefrorenen Strukturen führt. Die Aggregationszahl ist in erster Linie von der Konzentration der Edukte abhängig, wobei sich nur unterhalb einer kritischen Konzentration lösliche Partikel kolloidaler Größe bilden. Die Untersuchung verschiedener Interpolyelektrolytkomplexe in verdünnter wässriger Lösung hinsichtlich Bildung, Stöchiometrie der ionischen Bindung und Struktur

1 - Einleitung

der gebildeten Interpolyelektrolytkomplexe kann in folgenden, allgemeinen Aussagen zusammengefasst werden [Übersichtsartikel: Thün04, Daut00]:

- Interpolyelektrolytkomplexe sind polydisperse Systeme kompakter und nahezu sphärischer Partikel mit einer Größe von zehn bis einigen hundert Nanometern.
- Die im Unterschuss vorgelegte Komponente wird vollständig komplexiert. In einigen Publikationen wird darüber hinaus berichtet, dass Teile der Überschuskomponente unkomplexiert neben Komplexen vorliegen [Kari97, Clam03, Boec04].
- Die Molmasse der gebildeten Komplexe in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis der Komponenten ist bis zu einem kritischen Wert als konstant anzunehmen, oberhalb dieses Wertes steigt sie exponentiell.
- Die gebildeten Interpolyelektrolytkomplexe weisen eine Kern-Schale-Struktur auf, die einen ladungsneutralen Kern und eine Schale aus der überschüssigen Komponente besitzt. Durch diese Architektur wird weitere Aggregation verhindert.
- Die Bildung von IPEK in salzhaltiger Lösung führt durch elektrostatische Abschirmung zu geringeren Aggregationszahlen.

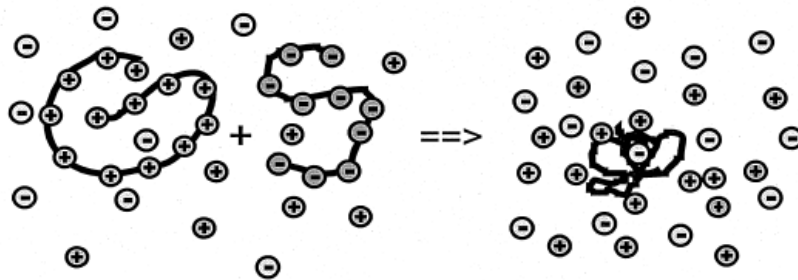


Abbildung 1.1: Reaktionsschema der Interpolyelektrolytkomplex-Bildung. Quelle: [Daut00].

1.2 Interpolyelektrolytkomplexe mit DNA und DNA-Kondensation

Die eingangs erwähnten Komplexe aus DNA und synthetischen Polykationen stellen einen Spezialfall der bisher diskutierten Interpolyelektrolytkomplexe dar, der besonders aus Sicht der biophysikalischen Grundlagenforschung und der Gentherapie interessant ist. Aufgrund der Kern-Schale-Struktur von Interpolyelektrolytkomplexen können für DNA-Komplexe zwei prinzipielle Strukturtypen unterschieden werden, für die

eine genaue Begriffsdefinition eingeführt werden soll. Wird die DNA durch die Zugabe von Polykationen in Strukturen komplexiert, die eine DNA-Schale besitzen und in denen das Polykation als Templat für die Organisation von DNA-Molekülen dienen soll, wird in Analogie zu dem Verhalten von Histonproteinen oder mehrwertigen Gegenionen von „DNA-Kondensation“ gesprochen. Sollen die gebildeten Komplexe hingegen als DNA-Transportvehikel fungieren, in denen die DNA durch eine Schale aus Polykation nach außen vollständig abgeschirmt vorliegt, wird eine „DNA-Verkapselung“ erreicht. In beiden Fällen liegen die DNA-Moleküle aufgrund der oben diskutierten Eigenschaften von Interpolyelektrolytkomplexen kompaktiert vor.

Aufgrund der DNA-Kondensation sind DNA-Moleküle in Zellen und Viren in dicht gepackten Strukturen organisiert, wie beispielweise in den Zellkernen eukariotischer Zellen, wo die DNA mit Histonproteinen das Chromatin bildet [Luge97, Zinc06, Schi03, Muhl06]. Diese DNA-Kondensation stellt ein höchst interessantes Gebiet der biophysikalischen Grundlagenforschung dar. So liegt DNA in wässriger Lösung als expandiertes, wurmkettenartiges Markomolekül vor, wenn diese kein Fremdsalz oder einwertige Kationen wie Natrium enthalten. Werden diesen Lösungen jedoch multivalente Gegenionen (bsp. $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$, Spermidin³⁺, Histonproteine oder kationische Lipide) zugesetzt, so kondensiert hochmolekulare DNA dramatisch zu kompakten und in der Regel hochgeordneten, toroidalen Strukturen [Zinc06, Bloo97, Bloo96, Bloo91, Hud97].

Die DNA-Verkapselung mit synthetischen Polykationen wird besonders aufgrund ihrer potentiellen Anwendbarkeit in der nicht-viralen Gentherapie intensiv untersucht. Aufgrund der komplexen Anforderungen für einen Einsatz als DNA-Transportvehikel sind in diesem Zusammenhang Polykationen unterschiedlichster molekularer Struktur und chemischer Zusammensetzung Gegenstand aktueller Forschung [Übersichtsartikel: Park06, Haag06, Vija02, Godb01, Luo00].

1.3 Topologie von Interpolyelektrolytkomplexen in Lösung

Ungeklärt ist bislang der Einfluss der Topologie der Ausgangskomponenten auf die Struktur der gebildeten Interpolyelektrolytkomplexen. Synthetische Komplexe mit einer definierten molekularen Struktur konnten – auch bei der Verwendung semi-flexibler Polyelektrolyte wie DNA – bislang nur in Einzelfällen beobachtet werden.

1 - Einleitung

Ein Ansatz, der zeitgleich mit der vorliegenden Arbeit von DeRouchey et al. entwickelt wurde [DeRo06], basiert darauf, dass Poly(ethylenimin-b-ethylenoxid) (PEI-b-PEO) „elektrostatisch“ an DNA-Moleküle angebunden wird (siehe Abbildung 1.2) und somit „elektrostatische“ Bürstenpolymere (siehe Kapitel 1.3) entstehen, die eine zylindrische Topologie annehmen. Diese geordneten Strukturen entstehen jedoch nur, wenn die Blocklänge des Poly(ethylenimin) (PEI) in dem Copolymer wie in Abbildung 1.2 gezeigt sehr kurz ist. Wird die Molmasse des PEI-Blocks hingegen von 2 kDa auf 10 kDa oder 25 kDa erhöht (bei identischem PEO-Block), so wird starke Aggregation beobachtet. Da der Ladungsgrad von PEI mit einer Molmasse von 2 kDa sehr gering ist (43 Ethylenimin-Wiederholungseinheiten, von denen unter den angegebenen Bedingungen von $\text{pH} = 7,6$ nur ca. 50% protoniert vorliegen), verwenden DeRouchey et al. für die Erzeugung geordneter Strukturen eine Kombination aus drastischer Senkung der Anzahl Ladungen pro Molekül und starker sterischer Abschirmung durch den im Vergleich zum PEI-Block sehr großen Poly(ethylenoxid)-Block. Da keine Experimente beschrieben sind, in denen die Anzahl Ladung pro Molekül bei konstantem Blocklängenverhältnis variiert wurde, lassen sich diese Ergebnisse nur schwer mit denen dieser Arbeit (Kapitel 4) vergleichen, wo nur die Anzahl der Ladungen pro Molekül variiert wird.



Abbildung 1.2: Schematische Darstellung der von DeRouchey diskutierten DNA-Komplexe. Der links in der Abbildung skizzierte Zylinder illustriert ein DNA-Molekül mit 250 Basenpaaren. Quelle: [DeRo06].

Bisher einzigartig sind die von Gössl diskutierten Komplexe von DNA mit dendronisierten Polykationen [Göss02a,b], die mit Hilfe von AFM untersucht wurden (Abbildung 1.3). Die verwendeten dendronisierten Polykationen bestehen aus einem Polymerrückgrat und aufgepfropften Dendriten, wobei die positiven Ladungen auf Basis primärer Amine in der Peripherie lokalisiert sind [Schl00]. Aufgrund der hohen Pfpfddichte (jede Monomereinheit des Rückgrats trägt eine dendritische Seitenkette) liegen die dendronisierten Polykationen in der Form eines molekularen Zylinders vor (Abbildung 1.4), d.h. es handelt sich um semiflexible Polymere. Durch

Konturlängenanalyse der aus den Komplexen herausstehenden DNA-Stränge (siehe Abbildung 1.5) wurde geschlossen, dass die DNA als Komponente mit der niedrigeren Ladungsdichte in den Komplexkernen (hohe Strukturen in Abbildung 1.5) helical um die dendronisierten Polykationen „gewickelt“ wird (Abbildung 1.6). Weiterhin wird diskutiert, dass die unterschiedliche Ladungsdichte der Polykationen (dendritische Seitenketten der Generation 2 und 4) zu einer unterschiedlichen Windungszahl pro nm führt.

Ausgehend von diesen Beobachtungen wurde angenommen, dass auch die im folgenden Abschnitt vorgestellten Polymerbürsten mit linearen Seitenketten zu einer vergleichbaren Komplexbildung führen.

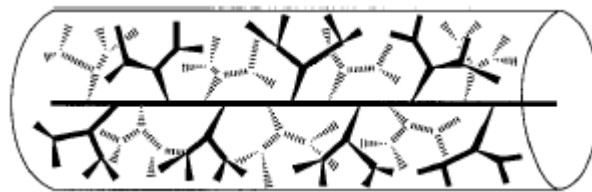


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung der dendronisierten Polykationen. Quelle: [Schl00].

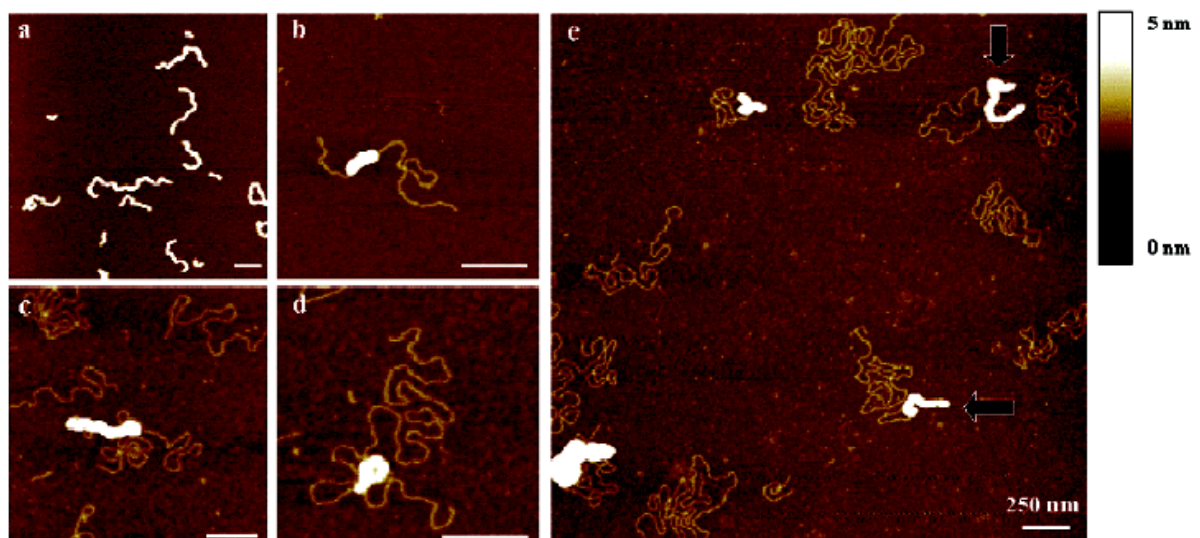


Abbildung 1.4: AFM-Bilder der Komplexe aus DNA und dendronisierten Polymeren. Quelle: [Göss02a].

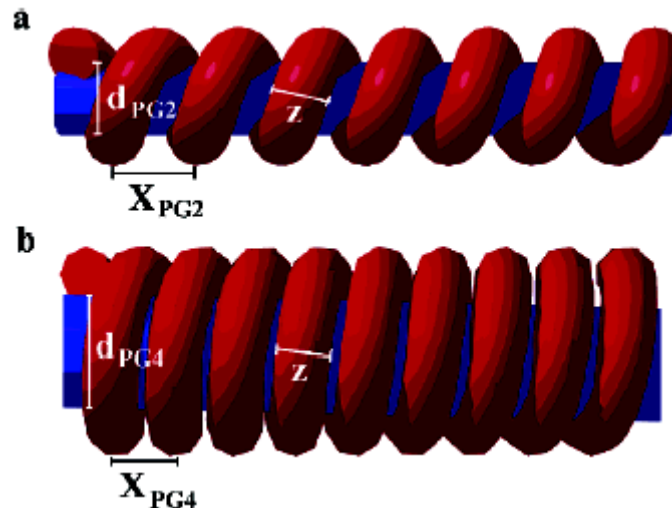


Abbildung 1.5: Von Gössl et al. diskutiertes, molekulares Modell für die Komplexe aus DNA und dendronisierten Polykationen. Quelle: [Göss02a].

1.4 Zylindrische Bürstenpolymere

Zylindrische Bürstenpolymere sind definiert als lange Kettenmoleküle, die aus einer flexiblen Hauptkette und dicht gepfropfte Seitenketten entlang dieser Hauptkette bestehen (Abbildung 1.6). Aufgrund des ausgeschlossenen Volumens können die Seitenketten nicht beliebig dicht „gepackt“ werden, wodurch eine Streckung der Hauptkette induziert wird. Durch Neutronenstreuung konnten Kuhn-Längen in der Größenordnung von 100 nm bestimmt werden [Zhan06, Zhan04], die stark von der Seitenkettenlänge [Zhan06, Zhan04] und der Pfropfdichte abhängen [Wahn06].

Für die Synthese derartiger Bürstenpolymere wurden drei verschiedene Synthesewege entwickelt, „grafting from“ [Börn01, Neug03, Zhan03], „grafting onto“ [Deff99, Wahn06] und „grafting through“ (Makromonomermethode) [Wint94, Wint96, Dzie97], deren Vor- und Nachteile in Tabelle 1.1 zusammengefasst sind.

Für das „grafting from“ wird zunächst das Bürstenrückgrat synthetisiert, dessen Monomereinheiten als Makroinitiator für eine Polymerisation der Seitenkette dienen, weshalb die Polydispersität der Seitenkette und die Pfropfdichte nur bedingt kontrollierbar sind. Eine Alternative ist die separate Synthese der Haupt- und Seitenketten, die anschließend zur zylindrischen Bürste umgesetzt werden („grafting onto“). Die Eigenschaften der einzelnen Polymere sind somit sehr gut kontrollierbar, wobei sehr hohe Pfropfdichten ebenfalls nicht erreicht werden können. Hundertprozentige Pfropfdichten sind nur durch die Homopolymerisation von Makromonomeren erzielbar, da in diesem Fall

jede Monomereinheit eine Seitenkette trägt. Nachteil dieser Methode ist die hohe Polydispersität der Hauptkette, da die Makromonomerpolymerisation in der Regel radikalisch durchgeführt wird (siehe Kapitel 2).

Tabelle 1.1: Vergleich der möglichen Synthesewege für die Herstellung zylindrischer Bürstenpolymere. Die Symbole + (sehr gut), 0 (bedingt) und – (nur sehr begrenzt) klassifizieren die Kontrollierbarkeit der einzelnen Parameter.

Syntheseweg	Polydispersität der Hauptkette	Polydispersität der Seitenkette	Pfropfdichte
Grafting onto	+	+	–
Grafting from	+	0	0
Makromonomerpolymerisation	–	+	+

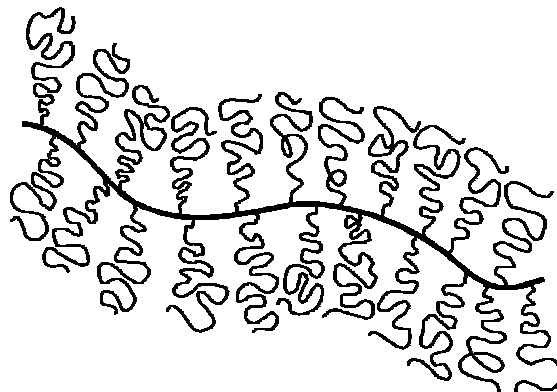


Abbildung 1.6: Schematische Darstellung einer Polymerbürste.

1.5 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Ausgehend von den Ergebnissen der Arbeit von Gössl et al. wurde angenommen, dass der semiflexible Charakter molekularer Bürstenpolymere bei der Komplexierung mit DNA als strukturgebendes Element für die Herstellung von Komplexen mit zylindrischer Topologie dienen kann. Eine entscheidende Fragestellung ist in diesem Zusammenhang, ob die von DeRouchey bei der Verwendung höhergeladener Poly(ethylenimin-co-ethylenoxide) beobachtete Aggregation im Fall der von Gössl et al. durchgeführten Experimente durch die Kettensteifheit des verwendeten Bürstenpolymers verhindert wird.

1 - Einleitung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Einfluss von Kettensteifheit auf die Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen zu untersuchen und dabei Wege aufzuzeigen, die eine Kontrolle der Topologie von Interpolyelektrolytkomplexen ermöglichen und somit bei geeigneter Wahl der Komplexpartner zu jeder gewünschten Topologie führen. Zudem sollen Möglichkeiten gefunden werden, wie durch Komplexierung hochmolekularer Polyelektrolyte equilibrierbare Strukturen erhalten werden können.

Als Modellsystem für diese Untersuchungen werden die in Kapitel 1.4 vorgestellten zylindrischen Polymerbürsten verwendet, denen als topologischer „Kontrast“ das Komplexierungsverhalten kommerzieller PAMAM-G5-Dendrimere mit kugelförmiger Topologie gegenüber gestellt wird. Um den Ladungsgrad der Polymerbürste beliebig variieren zu können und so den Einfluss der Ladungsdichte auf die gebildeten Polyelektrolytkomplexe untersuchen zu können, werden Polymerbürsten mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten synthetisiert, deren Ladungsdichte über den Protonierungsgrad gesteuert werden kann (Kapitel 2). Diese werden, zusammen mit quaternisierten Poly(2-vinylpyridin)-Bürsten, für die Untersuchung der DNA-Kondensation und der DNA-Verkapselung mit semiflexiblen Polykationen zylindrischer Topologie verwendet (Kapitel 3). Wie das Komplexierungsverhalten von hochgeladenen, zylindrischen Polyanionen mit Polyaminen kugelförmiger oder zylindrischer Topologie durch den Wechsel des Lösungsmittels von Wasser zu Dimethylformamid (DMF) beeinflusst wird, ist Gegenstand von Kapitel 4.

Kapitel 2

Synthese von Bürsten mit Seitenketten aus Poly(ethylenimin) und dessen Derivate

Die Synthese von zylindrischen Bürstenpolymeren mit Seitenketten aus Poly(ethylenimin) (PEI) ist Gegenstand dieses Kapitels. Von den in Kapitel 1.4 beschriebenen Synthesewegen soll die Makromonomermethode verwendet werden, da diese zu hundertprozentiger Pfropfdichte führt, d.h. jede Wiederholungseinheit des Rückgrats trägt eine Seitenkette, und somit die Kuhnlänge der gebildeten Bürstenpolymere bei gegebener Seitenkettenlänge maximal ist. Darüber hinaus vereinfacht diese Methode die Berechnung zahlreicher Größen der resultierenden Polymakromonomere, da die verwendeten Makromonomere sehr genau mit Hilfe von MALDI-TOF-MS charakterisiert werden können und das Massenverhältnis der Ethylenimin-Einheiten in Vergleich zur Wiederholungseinheit der Hauptkette vor und nach der Makromonomerpolymerisation identisch ist (diese Aussage gilt streng nur unter der Voraussetzung, dass das Molekulargewicht der Endgruppe bei der Polymerisation nicht verändert wird, was beispielsweise im Fall der radikalischen Polymerisation einer Styrolendgruppe gegeben ist). Es ist somit möglich, aus den Daten der MALDI-TOF-MS ohne weitere Charakterisierungen oder Annahmen entscheidende Parameter für die Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen wie Masse pro Ladung, Anzahl Ladungen pro Seitenkette, Gewichtsanteil der Gegenionen im eingewogenen Feststoff etc. (siehe Kapitel 3 und Anhang C) zu berechnen.

Die Herstellung von PEI-Bürstenpolymeren ist bisher nur mittels „Grafting from“ in der Literatur beschrieben [Saeg75], so dass die Entwicklung eines geeigneten Syntheseweges nach der Makromonomermethode Ziel dieses Kapitels ist. Poly(ethylenimin) kann aus einer großen Anzahl verschiedener Monomere hergestellt werden [Koba90], unter denen die Polymerisation von Aziridin und 2-substituierten Oxazolinen [Aoi96, Culb02, Schw87] die gängigsten Methoden darstellen. Während die Polymerisation des Aziridin zu verzweigten Poly(ethylenimin) führt, werden bei der kationisch ringöffnenden Polymerisation von 2-substituierten Oxazolinen N-substituierte Säureamide gebildet, aus denen durch anschließende Hydrolyse der Amidbindung streng lineare Poly(ethylenimine) erhalten werden. Letztere Methode eignet sich somit hervorragend für die Herstellung von Makromonomeren, wobei

die polymerisierbare Endgruppe durch Abbruch oder Initiierung der kationischen Polymerisation eingeführt werden kann. Entscheidende Bedingung an die Verknüpfung zwischen dem Poly(oxazolin) und der polymerisierbaren Endgruppe ist die Stabilität gegenüber der Hydrolyse der Säureamide.

Unter den zahlreichen, in der Literatur beschriebenen Makromonomersynthesen von 2-substituierten Oxazolinen [Koba89, Ito98] wurde die von Gross et al. [Groß96] beschriebene Herstellung auf der Basis von 2-Phenyloxazolin und N-(4-vinylbenzyl)piperazin (Abbildung 2.1) gewählt, da die beschriebenen Makromonomere obigen Bedingungen genügen und alle benötigten Chemikalien kommerziell erhältlich sind. Diese Makromonomere wurden von Gross et al. mit Methylmethacrylat copolymerisiert, der Versuch einer Homopolymerisation dieser Makromonomere ist jedoch nicht beschrieben, so dass dieser Schritt entwickelt werden muss. Ausgangspunkt dieses Kapitels ist somit die Synthese von Makromonomeren nach [Groß96], die anschließend in einem geeignetem Lösungsmittel homopolymerisiert werden und durch Hydrolyse in Polymakromonomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten überführt werden. Die durchgeführten Synthesen sind in Anhang B detailliert beschrieben.

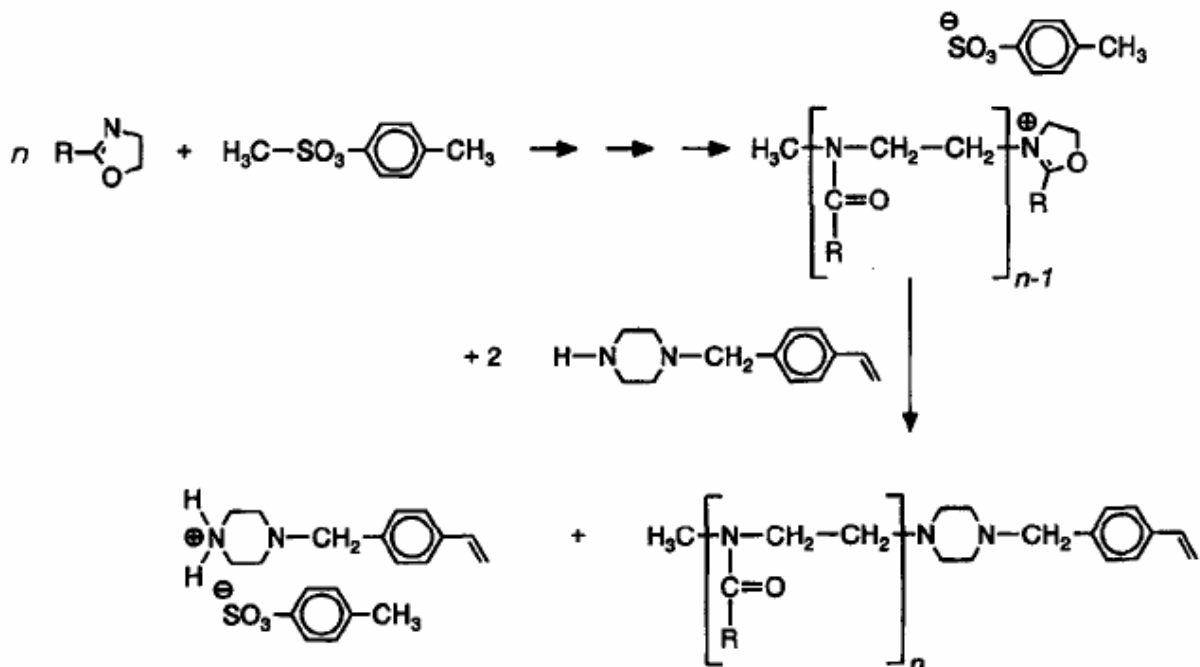


Abbildung 2.1: Kationische, ringöffnende Polymerisation von 2-Phenyloxazolin ($R = C_6H_5$). Initiierung durch p -Toluolsulfonsäuremethylester und Abbruch mit N-(4-vinylbenzyl)piperazin. Quelle: [Groß96].

2.1 Synthese und Aufreinigung der Poly(N-Benzoylethylenimin)-Makromonomere

Die kationische, ringöffnende Polymerisation von 2-Phenylloxazolin, initiiert mit p-Toluolsulfonsäuremethylester, lieferte bei Abbruch mit N-(4-vinylbenzyl)piperazin Oligomere mit polymerisierbarer Endgruppe (Abbildung 2.1). Diese, nach [Groß96] hergestellten Poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomere weisen jedoch Verunreinigungen auf, die eine erfolgreiche Homopolymerisation verhindern und somit zunächst entfernt werden müssen. Sie äußern sich in einer gelblichen Verfärbung und einem durch dynamische Lichtstreuung an dem Makromonomer-Rohprodukt gefundenen hochmolekularen Anteil der Probe.

Da die gelblichen Verunreinigungen ein ähnliches Löslichkeitsverhalten wie die Makromonomere besitzen, konnten diese nicht durch Fällung oder flüssig-flüssig-Extraktion entfernt werden. Bei dem Versuch, das Makromonomer für eine mögliche Homopolymerisation hochkonzentriert in Benzol zu lösen, wurde jedoch beobachtet, dass keine hochviskose Lösung erhalten wird, sondern ein festes (*Makromonomer*Benzol*)-Addukt gebildet wird. Da dieses Addukt im Gegensatz zum reinen Makromonomer und den gelblichen Verfärbungen nicht in THF löslich ist, konnten diese schließlich durch eine THF-Extraktion aus dem Addukt entfernt werden. Durch anschließende Zugabe von Chloroform konnten die Addukte wieder zerstört werden und es wurde ein farbloses, weißes Pulver erhalten.

Die dynamische Lichtstreuung (Abbildung 2.2) an dem Makromonomer zeigt, dass die gemessene Korrelationsfunktion eine bimodale Verteilung aufweist. Neben dem eigentlichen Makromonomer, dem der Abfall bei kleinen Korrelationszeiten mit einem hydrodynamischen Radius von ca. 1,5 nm zuzuordnen ist, enthält die untersuchte Probe hochmolekulare Verunreinigungen. Auf Basis des durchgeführten Syntheseweges ist anzunehmen, dass es sich hierbei um polymerisiertes 4-Vinylbenzylchlorid (Vorstufe des Abbruchagens) oder Poly(N-(4-vinylbenzyl)piperazin) handelt. Werden für die Probenpräparation Filter mit einer Membran aus hydrophilisiertem Teflon verwendet, so zeigt die gemessenen Korrelationsfunktion diese bimodale Verteilung nicht (Abbildung 2.3). Die gemessene Korrelationsfunktion ist in diesem Fall monomodal und es wird ein hydrodynamischer Radius von $\langle R_h^{-1} \rangle_z^{-1} = 1,56 \text{ nm}$ erhalten.

Aufgrund dieser Ergebnisse werden der Makromonomerpolymerisation zwei Aufreinigungsschritte vorgeschaltet, die präparativ (verwendete Menge: 20 g) durchgeführt werden konnten: i) durch Herstellung des (*Makromonomer*Benzol*)-Addukts und THF-Extraktion und ii) präparative Filtration unter Verwendung von Filtern mit einer Membran aus

hydrophilisiertem Teflon werden die Makromonomere präparativ von den Verunreinigungen abgetrennt. Das resultierende, aufgereinigte Makromonomer wurde mit einer Reihe analytischer Methoden charakterisiert, deren Ergebnisse im Folgenden diskutiert werden.

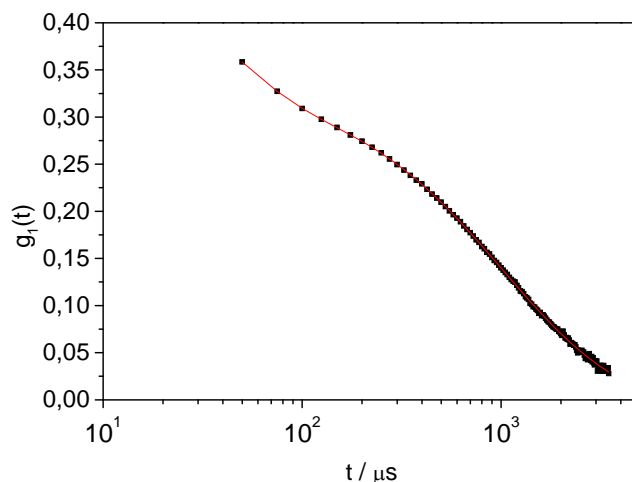


Abbildung 2.2: Korrelationsfunktion (DLS, CHCl_3) des Makromonomer-Rohprodukts nach Filtration mit Millex-FH ($0,45 \mu\text{m}$) und triexponentieller Fit (rote Linie).

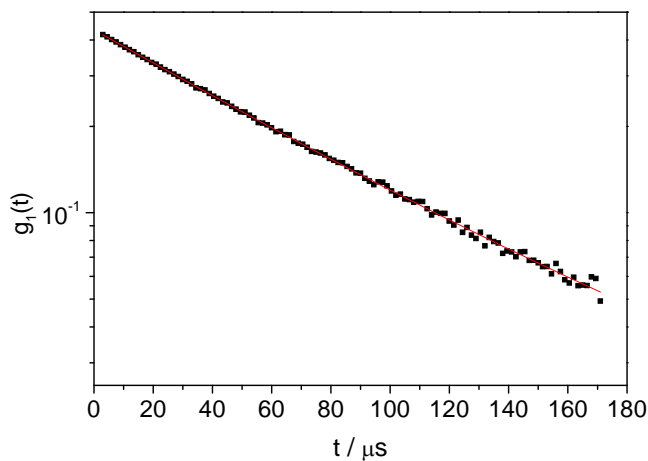


Abbildung 2.3: Korrelationsfunktion (DLS, CHCl_3) des Makromonomer-Rohprodukts (verwendeter Filter besitzt eine Membran aus hydrophilisiertem Teflon, Millex LCR) und biexponentieller Fit (rote Linie).

Das Spektrum der MALDI-TOF-MS zeigen Abb. 2.4 und 2.5. Das Spektrum enthält zwei Serien, die beide einen Peakabstand von $147,2 \text{ g/mol}$ entsprechend der Wiederholungseinheit 2-Phenyloxazolin bzw. N-Benzoylethylenimin aufweisen. Die Molmassen der Hauptserie des Spektrum entsprechen dabei den Makromonomeren mit

Methyl- und N-(4-vinylbenzyl)piperazinyl-Endgruppen. Es wird ein Zahlenmittel der Molmasse von 4294 g/mol bei einer Polydispersität von 1,036 erhalten, was einem Zahlenmittel des Polymerisationsgrades von 27,7 entspricht. Die zweite Serie, die um 12 g/mol verringerte Molmassen aufweist, entspricht Makromonomeren, die anstatt der Methyl-Endgruppe nur ein Proton tragen. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass der verwendete Initiator p-Toluolsulfonsäuremethylester Anteile von p-Toluosulfonsäure enthielt und somit auch Initiierung der kationischen Polymerisation durch Protonen auftrat. Das Auftreten dieser zweiten, um 12 g/mol verringerten Serie bei kationischen, ringöffnenden Polymerisationen von 2-Oxazolinderivaten mit p-Toluolsulfonsäuremethylester ist bereits in der Literatur beschrieben [Diab04]. Für die weiteren Auswertungen wurde nur die Hauptserie verwendet.

Aus den Ergebnissen der MALDI-TOF-MS folgt, dass durch kationische, ringöffnende Polymerisation von 2-Phenylloxazolin engverteilte Makromonomere mit polymerisierbarer Styrol-Endgruppe erhalten wurden. Der Funktionalisierungsgrad bezogen auf Styrol-Endgruppen beträgt 100%, was dem durch Peakintegration des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums ermittelten Funktionalisierungsgrad von 95% im Rahmen des Fehlers entspricht. Durch GPC mit Oligomer-spezifischem Säulensatz in THF (Abb. 2.6) und dynamische Lichtstreuung in Chloroform (Abb. 2.7) werden die schmale Molekulargewichtsverteilung und die erfolgreiche Aufreinigung der Makromonomere bestätigt: so liefert die Auswertung der GPC ein Molekulargewicht von $M_n = 2200$ g/mol bei einer Polydispersität von $PD = 1,097$ (PS-Kalibrierung). Die durch dynamische Lichtstreuung bestimmte Korrelationsfunktion zeigt ebenfalls nur eine geringe Polydispersität und darüber hinaus, dass die hochmolekularen Verunreinigungen durch die präparative Aufreinigung der Makromonomere erfolgreich entfernt wurden. Eine Übersicht der Ergebnisse der Charakterisierung des präparativ aufgereinigten Makromonomers gibt Tabelle 2.1.

Tabelle 2.1: Zusammenfassung der Ergebnisse der Charakterisierung des präparativ aufgereinigten Makromonomers mit MALDI-TOF-MS und dynamischer Lichtstreuung.

M_n	Zahlenmittel des Polymerisationsgrad	Polydispersität (MALDI-TOF-MS)	Funktionalisierungsgrad mit polymerisierbarer Styrol-Endgruppe	$\langle R_h^{-1} \rangle_z^{-1}$
4294 g/mol	27,7	1,04	100 %	1,56 nm

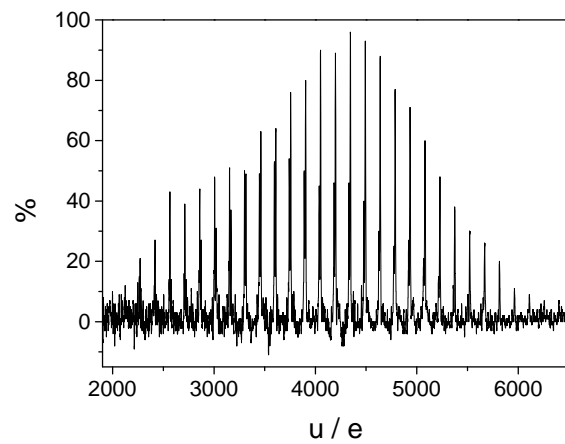


Abbildung 2.4: Spektrum der MALDI-TOF-MS des präparativ aufgereinigten Makromonomers.

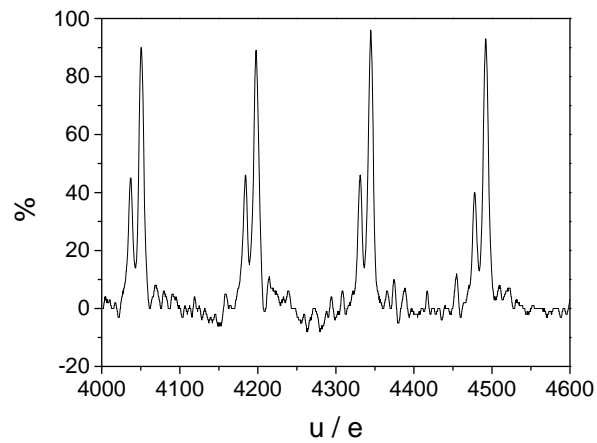


Abbildung 2.5: Vergrößerter Ausschnitt von Abbildung 2.4.

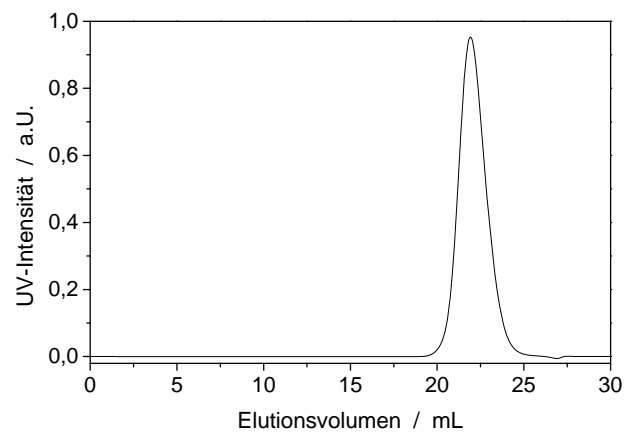


Abbildung 2.6: Oligomer-GPC des präparativ aufgereinigten Makromonomers in THF.

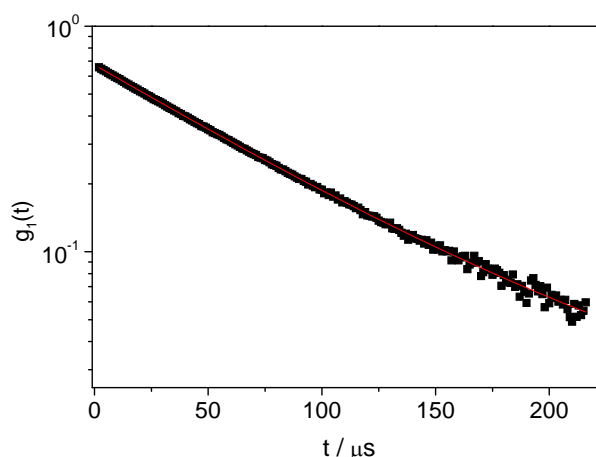


Abbildung 2.7: Korrelationsfunktion (DLS, CHCl_3) des präparativ aufgereinigten Makromonomers bei einem Streuwinkel von 30 Grad und biexponentieller Fit (rote Linie).

2.2 Polymerisation der aufgereinigten Poly(N-Benzoylethylenimin)-Makromonomere

Für die im folgenden beschriebenen Homopolymerisationsexperimente wurde ausschließlich das aufgereinigte Makromonomer verwendet. Der erste Versuch wurde ungeachtet des beobachteten Löslichkeitsverhaltens in hochkonzentrierter Benzol-Lösung durchgeführt. Abbildung 2.8 und 2.9 zeigen die GPC-Eluogramme der Polymerisationslösungen in THF und Chloroform. Die Peakmaxima entsprechen relativ zu PS-Standards 2330 g/mol und 19400 g/mol (THF) bzw. 3720 g/mol und 48000 g/mol (CHCl_3). Aus den GPC-Kurven in beiden Lösungsmitteln folgt, dass in Benzol eine Homopolymerisation der Makromonomere zu niedrigen Polymerisationsgraden möglich ist. Der Vergleich der GPC-Messungen in THF und Chloroform veranschaulicht zudem, dass sich in THF nur das Makromonomer und kurze Polymakromonomere lösen. Chloroform hingegen löst auch die höhermolekularen Anteile des Reaktionsansatzes. Die durch Homopolymerisation in Benzol erhaltene Reaktionslösung ermöglicht es somit, das Löslichkeitsverhalten des Poly- bzw. Oligomakromonomers zu untersuchen und somit ein geeignetes Lösungsmittel für die Herstellung hochmolekularer Polymakromonomere zu finden. Unter allen Lösungsmitteln, die den Polymerisationsansatz in Benzol vollständig lösen, ist nur das N-Methylpyrrolidon für radikalische Polymerisationen geeignet, so dass im Folgenden das Polymerisationsverhalten in N-Methylpyrrolidon untersucht wird.

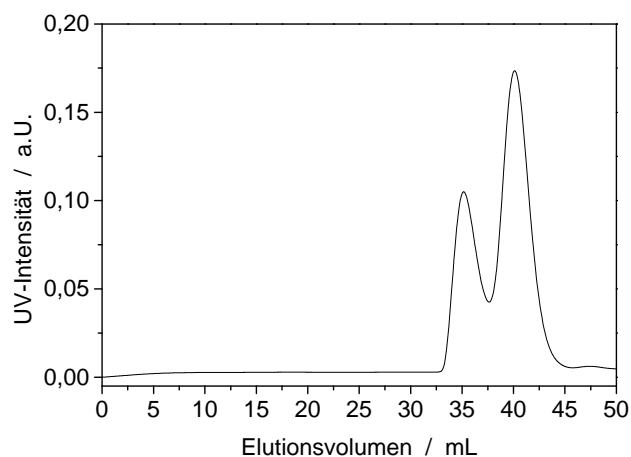


Abbildung 2.8: THF-GPC der Polymerisationslösung in Benzol.

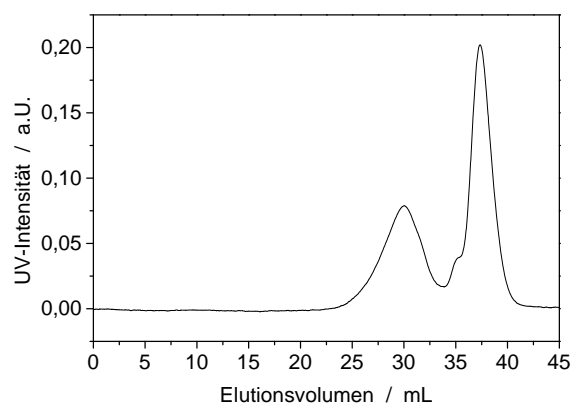


Abbildung 2.9: Chloroform-GPC der Polymerisationslösung in Benzol.

Die radikalische Homopolymerisation der Makromonomere in N-Methylpyrrolidon liefert hochmolekulare Polymakromonomere in einer Ausbeute von 60%. Die Ergebnisse der GPC-Messungen in Chloroform sind in Abbildung 2.10 und Tabelle 2.2 zusammengefasst. Durch Fest-Flüssig-Extraktion des isolierten Reaktionsansatzes mit THF konnte nicht polymerisiertes Makromonomer aus dem Reaktionsansatz entfernt werden. Aufgrund der Löslichkeit von Ketten mit geringem Polymerisationsgrad in THF werden diese dabei ebenfalls extrahiert, was eine Erhöhung der Molmasse des isolierten Polymakromonomers zur Folge hat. Die Erhöhung der Molmasse des Polymakromonomer-Anteils wird vermutlich zusätzlich durch eine Überladung der Säulen im Fall des Rohprodukts hervorgerufen, da hierbei sehr hohe Polymerkonzentrationen verwendet wurden. Der Vergleich der Polymerisationen in Benzol und in N-Methylpyrrolidon in Abbildung 2.11 verdeutlicht die erzielte, höhere Molmasse in N- Methylpyrrolidon.

Tabelle 2.2: Ergebnisse der Makromonomer-Polymerisation in N-Methylpyrrolidon (GPC in CHCl_3 , Kalibrierung mit Polystyrol-Standards).

Probe	$M_n / \text{g mol}^{-1}$	$M_w / \text{g mol}^{-1}$	PD	Anteil / gew.-%
Makromonomer	2605	3135	1,2	100
Rohprodukt	$1,94 \cdot 10^5$	$4,03 \cdot 10^5$	2,1	60
Polymakromonomer	$3,08 \cdot 10^5$	$8,31 \cdot 10^5$	2,7	99

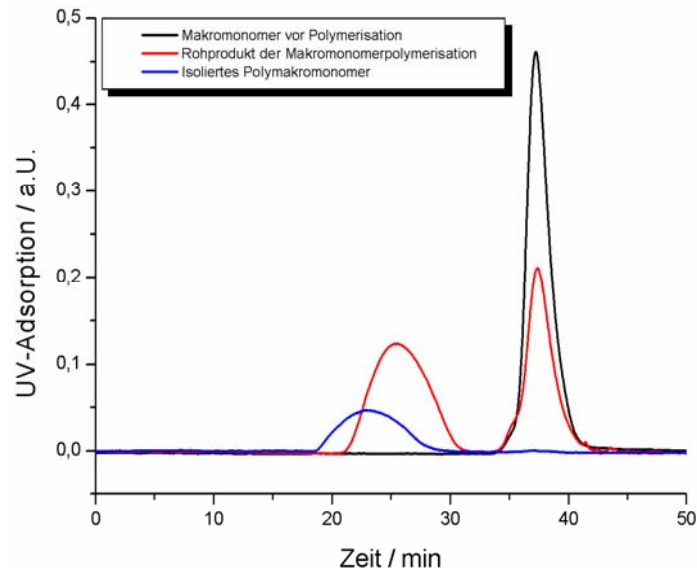


Abbildung 2.10: Vergleich der Eluogramme des Makromonomers, der Polymerisationslösung in N-Methylpyrrolidon und des isolierten Polymakromonomers (GPC in CHCl_3).

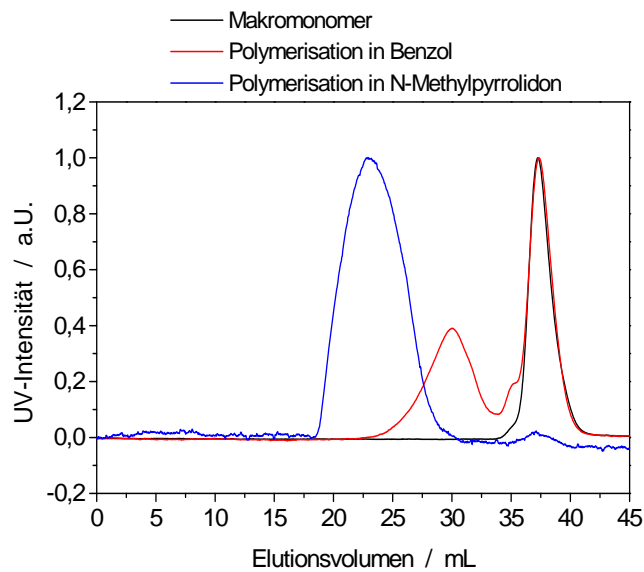


Abbildung 2.11: Vergleich der Eluogramme des Makromonomers, der Polymerisationslösung in Benzol und des isolierten Polymakromonomers aus der Polymerisation in N-Methylpyrrolidon (GPC in CHCl_3).

Den wurmkettenartigen Charakter der hergestellten Polymakromomere mit Poly(N-Benzoylethylenimin)-Seitenketten zeigen die durchgeführten AFM- (Abbildung 2.12) und Lichtstreuungsmessungen (Abbildung 2.13 und Tabelle 2.3). Die Kombination von statischer und dynamischer Lichtstreuung liefert einen Quotienten von R_g/R_h von 1,4, ein typischer Wert für Lösungen anisotroper Moleküle, die neben längeren Polymerketten auch kürzere enthalten (siehe Längenverteilung im AFM).

Mit Hilfe der statischen Lichtstreuung in Chloroform wurde zudem eine Bestimmung der Molmasse durchgeführt. Das Brechungsindexinkrement des Polymakromomomers in Chloroform wurde experimentell zu 0,14 mL/g bestimmt. Aus der Molmasse von $1,47 \cdot 10^6$ g/mol folgt ein gewichtsgemittelter Polymerisationsgrad des Polymakromomomers von 342.

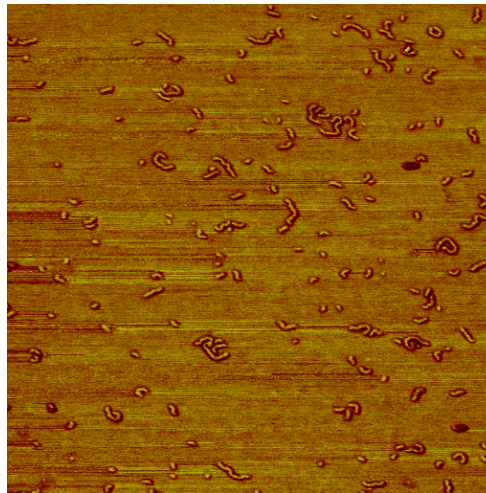


Abbildung 2.12: AFM-Phasenbild des Polymakromomomers (2x2µm), Präparation durch Spin-coating.

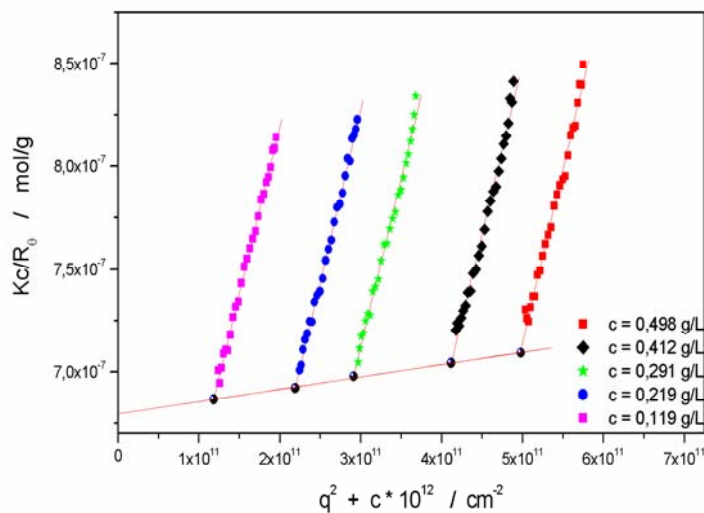


Abbildung 2.13: Zimm-Plot (statische Lichtstreuung) des Polymakromomomers in Chloroform.

Tabelle 2.3: Ergebnisse der Lichtstreuungen an dem Polymakromonomer in Chloroform.

$dn \, dc^{-1} / mL \, g^{-1}$	$M_w / g \, mol^{-1}$	$A_2 / mol \, cm^3 \, g^{-2}$	R_g / nm	R_h / nm	$R_g \, R_h^{-1}$
0,1445	$1,47 \cdot 10^6$	$3,01 \cdot 10^{-5}$	26,7	18,6	1,44

2.3 Verseifung der Poly(N-Benzoylethylenimin)-Bürsten

Die Verseifung der Polymakromonomere mit Poly(N-Benzoylethylenimin)-Seitenketten zu Poly(ethylenimin)-Bürsten wurde nach [Tana83] durchgeführt. Ein Vergleich der IR-Spektren (Abb. 2.14) zeigt das Gelingen der Verseifung. Die bestimmte Ausbeute an freiem Amin, unter Berücksichtigung des mit TGA bestimmten Wassergehalts, und an Hydrochlorid sowie die Elementaranalyse des Hydrochlorids führen zu dem Schluss, dass die Umsetzung im Rahmen des Fehlers zu einer 100%-igen Verseifung geführt hat. Dies stützen die 1H -MAS-NMR-Spektren der Polymakromonomere vor und nach der Verseifung (Abb. 2.15), da nach Verseifung keine aromatischen Protonen mehr detektierbar sind. Die aromatischen Protonen der Poly(styrol)-Hauptkette sind mit Hilfe der NMR-Spektroskopie nicht mehr detektierbar, da sie aufgrund ihrer geringen Beweglichkeit nicht mehr zum Messsignal beitragen.

Die durch Schleuderbeschichtung auf Mica aus Wasser und Methanol hergestellten AFM-Proben veranschaulichen den wurmkettenartigen Charakter der hergestellten Polymakromonomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten (Abb. 2.16 und 2.17).

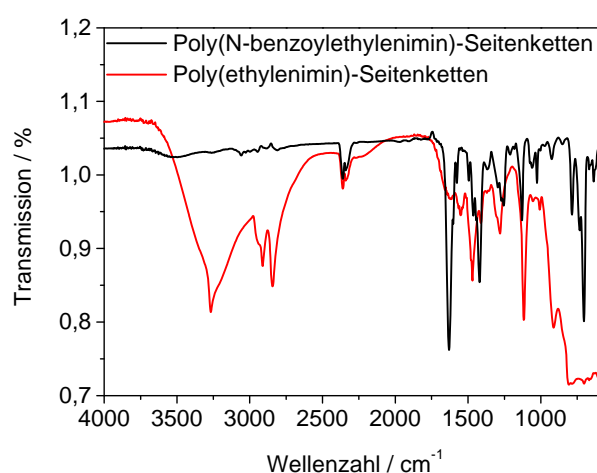


Abbildung 2.14: IR-Spektren vor und nach der Verseifung.

Synthese von Bürsten mit Seitenketten aus Poly(ethylenimin) und dessen Derivate

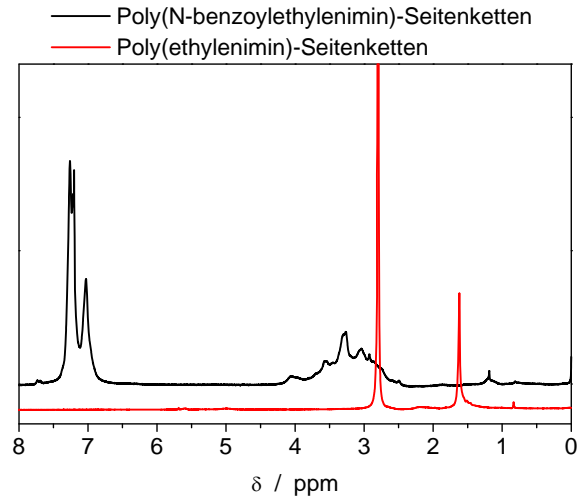


Abbildung 2.15: ^1H -MAS-NMR-Spektren vor und nach der Verseifung.

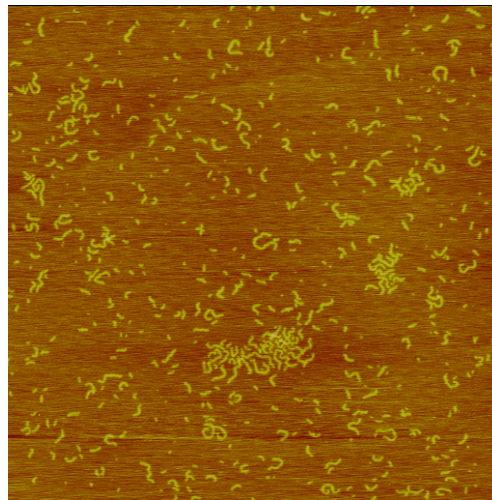


Abbildung 2.16: AFM-Höhenbild der Poly(ethylenimin)-Bürste, nach Spincoating aus Wasser auf Mica ($2 \times 2 \mu\text{m}$).

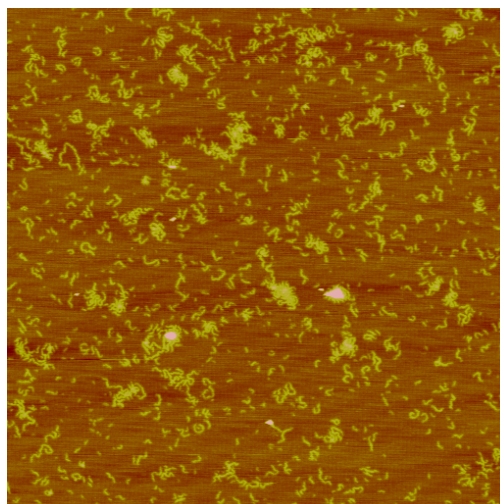


Abbildung 2.17: AFM-Höhenbild der Poly(ethylenimin)-Bürste, nach Spincoating aus Methanol auf Mica ($2 \times 2 \mu\text{m}$).

2.4 Lösungsverhalten der Polymakromomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten

Da es sich bei Poly(ethylenimin) um einen Polyelektrolyten handelt, der mit Protonen reversibel geladen werden kann (z. B. mit HCl), wird für eine Molmassenbestimmung ein Zustand mit definiertem Protonierungsgrad benötigt. Im Fall der Poly(ethylenimin)-Bürste ist die Untersuchung bei einem pH-Wert von 1 in Salzsäure aus mehreren Gründen sinnvoll (siehe Anhang C.3):

- Der Protonierungsgrad von PEI bei $\text{pH} = 1$ entspricht 100% [Smit93, Kope03, Bork97].
- Das bei $\text{pH} < 1$ isolierte Hydrochlorid der PEI-Bürste ist vollständig protoniert und enthält kein gebundenes Wasser. Die für die Lichtstreuung benötigte Einwaagekonzentration ist somit exakt bekannt und entspricht der Polymerkonzentration in Lösung.
- Die durch statische Lichtstreuung bestimmte Molmasse ist aufgrund des bekannten Protonierungsgrads ohne weitere Annahme interpretierbar.
- Für das Brechungsindexinkrement von linearem PEI in wässriger 1M NaCl wurde von Smits et al. [Smit93] ein Wert von $0,20 \pm 0,01 \text{ mL/g}$ ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$) bestimmt. Park et al. [Park96] haben für verzweigtes PEI in 1M NaCl mit $0,195 \text{ mL/g}$ ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$, $T = 35^\circ\text{C}$) im Rahmen des Fehlers den gleichen Wert erhalten. Das Brechungsindexinkrement von PEI ist somit unabhängig von der Struktur und auf die PEI-Bürste übertragbar, da der Gewichtsanteil der Endgruppen in erster Näherung vernachlässigbar ist. Zudem ist der exakte Protonierungsgrad mit HCl für das Brechungsindexinkrement irrelevant, da die Brechungsindexinkremente von HCl und PEI im Rahmen des Fehlers identisch sind (siehe Anhang C.3).

Die statischen und dynamischen Zimm-Plots der Poly(ethylenimin)-Bürste in wässriger 0,1M HCl-Lösung ($\text{pH} = 1$) zeigen die Abbildungen 2.18 und 2.19, die daraus erhaltenen Werte sind in Tabelle 2.4 zusammengefasst. Die zu $1,19 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$ bestimmte Molmasse der Poly(ethylenimin)-Bürsten ist um 40% höher als theoretisch zu erwarten. Berechnet man die Molmasse der vollständig hydrolysierten und mit HCl protonierten Poly(ethylenimin)-Bürste aus der Molmasse der geschützten Vorstufe und den Daten der Makromomere, so wird eine theoretische Molmasse von $8,28 \cdot 10^5 \text{ g/mol}$ erhalten. Im Vergleich zur geschützten Bürste nehmen zudem auch R_g von 26,7 nm auf 46,8 nm und R_h von 18,6 nm auf 26,5 nm deutlich zu. Dies bedeutet, dass die Poly(ethylenimin)-Bürsten in wässriger 0,1M HCl-Lösung aggregiert vorliegen.

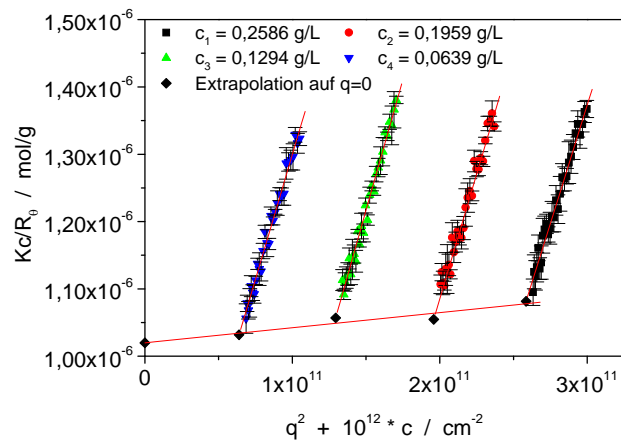


Abbildung 2.18: Statischer Zimm-Plot in 0,1M HCl.

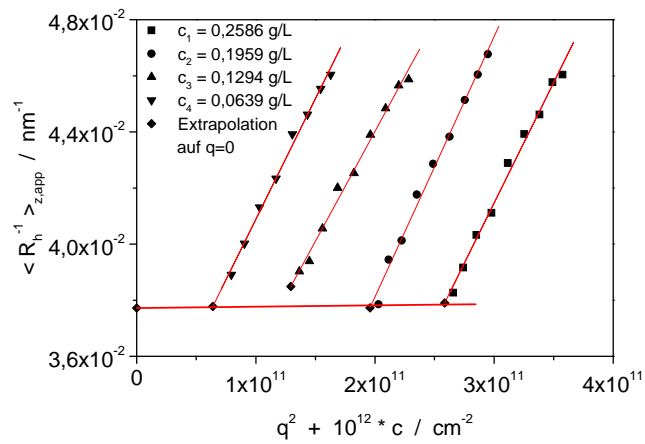


Abbildung 2.19: Dynamischer Zimm-Plot in 0,1M HCl.

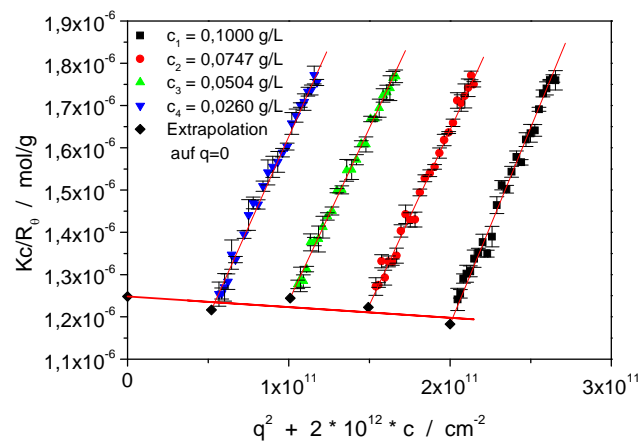


Abbildung 2.20: Statischer Zimm-Plot in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7).

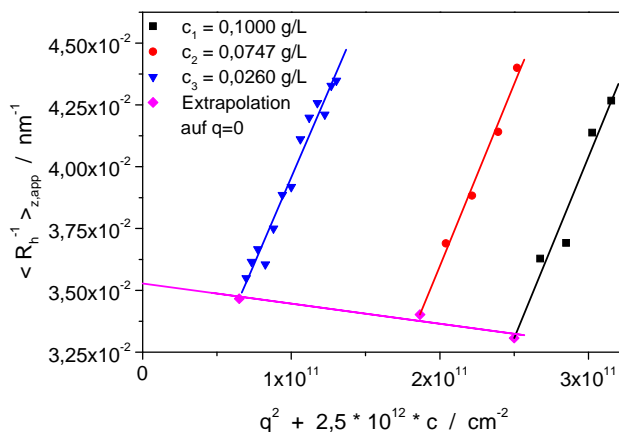


Abbildung 2.21: Dynamischer Zimm-Plot in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7).

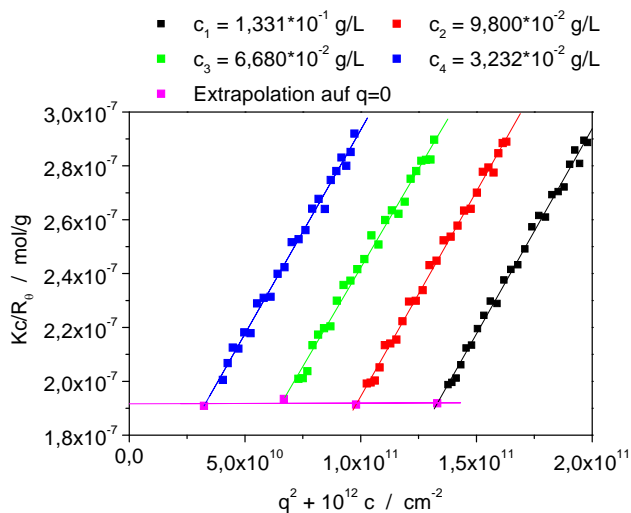


Abbildung 2.22: Statischer Zimm-Plot in 5 mM C_{16} in Methanol.

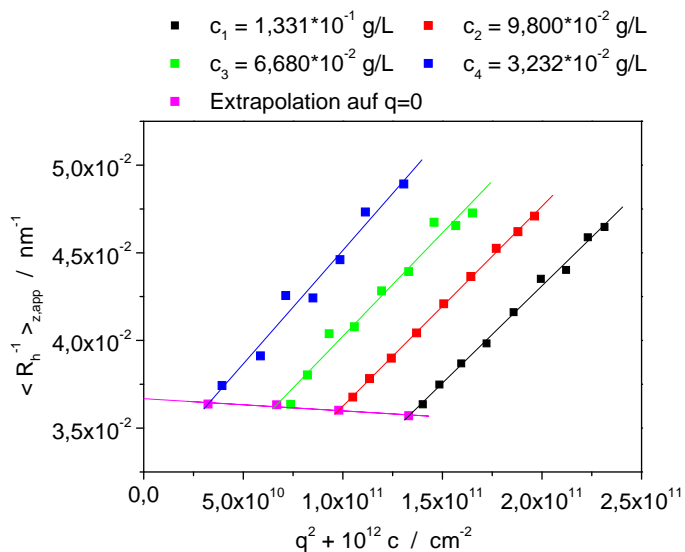


Abbildung 2.23: Dynamischer Zimm-Plot in 5 mM C_{16} in Methanol.

Um dieses Aggregationsverhalten zu verstehen wurden identische Lichtstreuexperimente in zwei weiteren Lösungsmittelsystemen durchgeführt: in wässrigem 5mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7,0 sowie in Methanol (enthält als Salz zur Abschirmung elektrostatischer Wechselwirkungen durch Protonierung des PEI auch in Methanol 5mM Hexadecyltrimethylammoniumbromid (C₁₆)). Die wässrige Puffer-Lösung wurde dabei durch Lösen des Hydrochlorids, die methanolische Lösung durch Lösen des freien Amins hergestellt. Die statischen und dynamischen Zimm-Plots in diesen Lösungsmittelsystemen zeigen die Abbildungen 2.20 bis 2.23, die daraus erhaltenen Werte sind in Tabelle 2.4 zusammengefasst. Die Molmasse der PEI-Bürste ist in diesen Lösungsmittelsystemen aufgrund der nicht bekannten Brechungsindexinkremente nicht bestimmbar. Im Fall des Puffers ist es jedoch wie in Anhang C.3 beschrieben möglich, die bestimmte Molmasse durch Gegenionenaustausch der Chlorid-Gegenionen mit den Puffer-Anionen zu erklären.

Der Vergleich der gemessenen Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien in den verschiedenen Lösungsmittelsysteme zeigt, dass diese im Rahmen des Fehlers identisch sind. Dabei ist auszuschließen, dass durch Lösen des freien Amins oder des Hydrochlorids in verschiedenen Lösungsmitteln und pH-Werten identische Aggregate in Lösung gebildet werden. Somit ist davon auszugehen, dass die Aggregate bereits vorher gebildet wurden und diese Aggregate gelöst werden. Da freies Amin und Hydrochlorid ein gleiches Aggregationsverhalten zeigen, müssen die Aggregate entweder bei der Hydrolyse in Salzsäure oder der basischen Aufarbeitung gebildet worden sein.

Tabelle 2.4: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Poly(ethylenimin)-Bürsten.

Lösungsmittel/ Salz	dn/dc / mL/g	M _w / g/mol	A ₂ / mol*mL/g ²	R _g / nm	R _h / nm	R _g /R _h
0,1 M HCl	0,20	1,19 10 ⁶	1,1 10 ⁻⁴	46,8	26,5	1,76
5 mM Natriumphosphat- Puffer (pH 7)	(3,88 10 ⁴)*		< 0	46,0	28,8	1,60
Methanol / 5mM C ₁₆	(5,21 10 ⁴)*		> 0	48,0	27,3	1,76

: aufgrund des unbekanntes Brechungsindexinkrement ist das Produkt M_w(dn/dc)² angegeben.

Die zu klärenden Fragestellungen sind somit, wodurch die Aggregation hervorgerufen wurde und ob sie chemischer oder physikalischer Natur ist, d.h. ob es sich bei den Aggregaten um irreversibel, chemisch vernetzte Aggregate handelt.

Poly(ethylenimin) ist als polymere Aminbase in der Lage Metallkationen-PEI-Koordinationsverbindungen einzugehen, wobei aufgrund der vielen Komplexbildungsstellen eine hohe Bildungskonstante (Chelat-Effekt) zu erwarten ist. Die Wechselwirkung von PEI mit Metallkationen ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und stellt eine Anwendung von PEI dar [Riva92, Koba87]. Da sowohl die für die Hydrolyse verwendete Salzsäure als auch die zur basischen Aufarbeitung verwendete Ammoniaklösung zahlreiche Metallkationen enthalten, wurde das isolierte, freie Amin einer elementspezifischen Untersuchung mittels Massenspektrometrie (ICP-MS) unterzogen. Die Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung sind in Tabelle 2.5 zusammengefasst.

Es zeigt sich, dass unter den für Koordinationsverbindungen in Frage kommenden Elementen insbesondere Eisen in signifikanten Mengen im PEI-Feststoff enthalten ist. Für die folgenden Berechnungen wird die natürliche Isotopenverteilung von Eisen (91,8 % ^{56}Fe , [xx]) aufgrund des hohen Anteils des bestimmten ^{56}Fe nicht berücksichtigt. Aus der bestimmten Eisenkonzentration folgt eine Einwaage Eisen in dem ursprünglichen Feststoff von:

$$c(\text{Fe}) = (51,6 \mu\text{g/L} * 117 * 5\text{mL}) / 55,847 \text{ g/mol} = 5,4 \cdot 10^{-7} \text{ mol Eisen}$$

Aus der Einwaage freien Amins folgt:

$$c(\text{PEI}) = 27,7 (0,662 \text{ g/L} * 5\text{mL}) / 1409,6 \text{ g/mol} = 6,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol EI-Einheiten}$$

Aus diesen Werte folgt, dass in dem durch basische Aufarbeitung erhaltenen Feststoff 1 Eisenatom pro 120 Ethylenimin-Einheiten bzw. im Gewichtsmittel (berechnet aus der durch statische Lichtstreuung an der Poly(N-benzoylthylenimin)-Bürste ermittelten Molmasse) 80 Eisenatome pro Poly(ethylenimin)-Bürste enthalten sind.

Tabelle 2.5: Ergebnisse der ICP-MS-Analyse: aufgeführt sind die Elemente mit einer ermittelten Konzentration > 10 µg/L. Verdünnung der Proben um Faktor 117, Originalkonzentration durch Lösen des basischen PEI in Salzsäure $c(\text{PEI, basisch}) = 0,662 \text{ mg/mL}$ (exklusive gebundenes Wasser). HCl entspricht Blindprobe ohne PEI, d.h. Konzentrationsbestimmung an der zum Lösen verwendeten Salzsäure nach identischer Verdünnung um Faktor 117.

Element	PEI			HCl	PEI – HCl
	Messung 1	Messung 2	Mittelwert		
Al	61,3 ± 4,5	61,8 ± 4,4	61,6 ± 3,1	46,8 ± 1,1	14,3 ± 3,3
Si	165 ± 11	162 ± 12	164 ± 8	84,3 ± 1,2	79,7 ± 8,1
Ca	96,9 ± 9,6	96,4 ± 11,7	96,7 ± 7,6	102 ± 1	---
Fe	73,0 ± 3,4	65,1 ± 6,7	69,1 ± 3,8	17,5 ± 0,7	51,6 ± 3,9
Ba	18,1 ± 1,8	18,0 ± 1,8	18,1 ± 1,3	20,5 ± 0,3	---

Werte in µg/L

Eine mögliche Erklärung des Aggregationsverhaltens der Poly(ethylenimin)-Bürste ist auf Basis dieser Ergebnisse die Koordination von Eisenatomen durch zwei Bürstenpolymere, was gleichbedeutend mit einer Verbrückung von Bürstenpolymeren ist. Um dieses Szenario zu stützen, wurde zu einer wässrigen Lösungen des basischen PEI in 5mM NaBr ($c=0,4 \text{ g/L}$ entspricht $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol EI-Einheiten}$ und $1,1 \cdot 10^{-8} \text{ mol Eisen}$) Eisen(III)-chlorid-Lösung ($1,1 \cdot 10^{-8} \text{ mol Eisenatome}$) gegeben. Der hydrodynamische Radius nahm hierbei dramatisch auf über 200 nm zu. Identische Experimente mit dem Hydrochlorid des PEI führen wie zu erwarten zu keinen Veränderungen. Dies zeigt, dass Eisen(III)-Ionen in der Lage sind basische Poly(ethylenimin)-Bürstenpolymere zu verbrücken. Auf Basis dieser Befunde ist davon auszugehen, dass die Aggregate der Poly(ethylenimin)-Bürsten durch Verbrückung mit Eisenatomen bei der basischen Ausfällung der Bürsten in Ammoniaklösung gebildet wurden. Dies ist ein plausibles Szenario, da beim Ausfällen die Abstände zwischen den bei der Hydrolyse frei in Lösung vorliegenden Poly(ethylenimin)-Bürsten minimiert und folglich die Wahrscheinlichkeit für Verbrückungen maximiert werden.

Die Fragestellung, ob die Aggregatbildung irreversibel ist, wird durch eine zeitabhängige Lichtstreuuntersuchung geklärt. Hierzu wurde eine der Lösungen des PEI*HCl in 5mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7), die für die Erstellung des statischen und dynamischen Zimm-Plots von Abbildung 2.20 und 22 verwendet wurde, in der Küvette

belassen und zweimal nach langen Zeiträumen nachgemessen. Die Ergebnisse für den Trägheitsradius und den hydrodynamischen Radius sind in Tabelle 2.6 und den Abbildungen 2.24 und 2.25 zusammengefasst. Es zeigt sich, dass in einem Zeitraum von 264 Tagen (ca. 9 Monate) die Radien der PEI-Bürste auf die Werte der N-(Benzoylethylenimin)-Bürste in Chloroform abnehmen. Dies bedeutet, dass die zunächst in der Lösung vorliegenden Aggregate mit der Zeit gelöst werden und die Lösung schließlich nur Einzelmoleküle enthält. Versuche, die Aggregation durch Zugabe von Substanzen mit hoher Eisen-Komplexbildungskonstante, wie EDTA (Salze der Ethylendiamintetraessigsäure), Brenzkatechin (1,2-Dihydroxybenzen) oder TIRON (Dinatriumsalz der 4,5-Dihydroxy-1,3-benzendisulfonsäure) zu zerstören, lieferten allesamt keine Veränderung, was zum gegenwärtigen Zeitpunkt unverständlich ist.

Tabelle 2.6: Trägheitsradius und hydrodynamischer Radius des PEI*HCl in 5mM Natriumphosphat-Puffer (pH = 7) als Funktion der Zeit.

Dauer nach Probenpräparation in Tagen	R_g / nm	R_h / nm	$R_g R_h^{-1}$
0	46,3	28,8	1,61
145	29,9	18,0	1,66
264	28,0	16,1	1,74
Vergleich: Bürste mit N- (Benzoylethylenimin)-Seitenketten	26,7	18,6	1,44

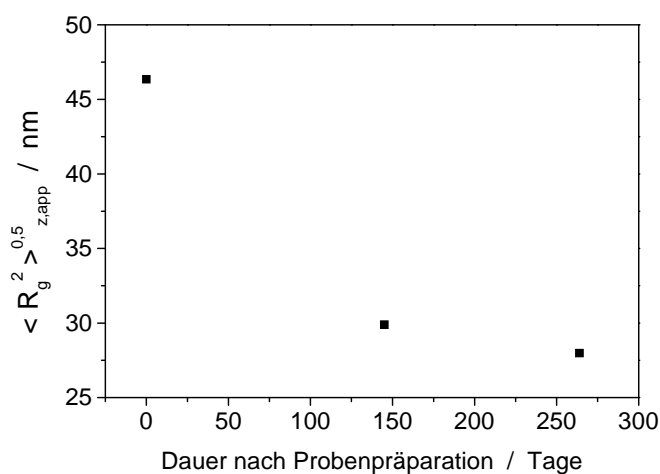


Abbildung 2.24: Trägheitsradius des PEI*HCl in 5mM Natriumphosphat-Puffer (pH = 7) als Funktion der Zeit.

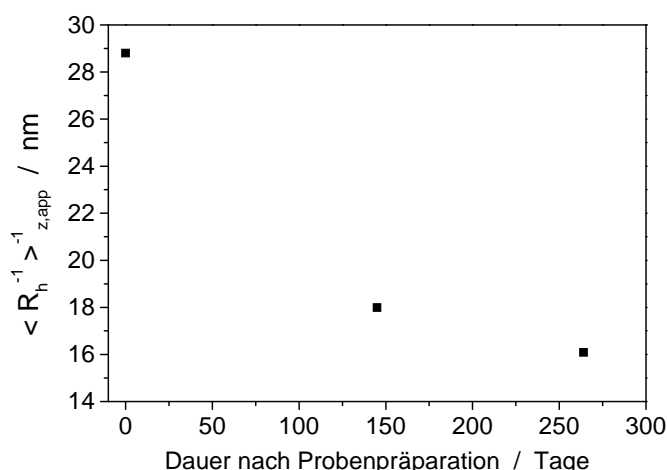


Abbildung 2.25: Hydrodynamischer Radius des PEI*HCl in 5mM Natriumphosphat-Puffer (pH = 7) als Funktion der Zeit.

In den folgenden Kapiteln soll gezeigt werden, dass die gebildeten Aggregate der Poly(ethylenimin)-Bürsten neben dem zeitlichen Zerfall auch durch chemische Modifizierung zerstört werden können und somit keine chemisch vernetzten Strukturen darstellen.

2.5 Polymakromomere mit Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Seitenketten

Durch statistisches Pfropfen von Poly(ethylenoxid)-Oligomeren auf die Seitenketten der Poly(ethylenimin)-bürsten sollen diese in organischen Lösungsmitteln löslich gemacht werden. Hierzu werden die Poly(ethylenimin)-Bürsten mit Poly(ethylenoxid)-Oligomeren umgesetzt, die eine reaktive NHS-Ester-Endgruppe tragen. Mit Hilfe von Elementaranalyse wurde die Anzahl Poly(ethylenoxid)-Oligomere pro Poly(ethylenimin)-Seitenkette zu 5,8 bestimmt.

Den wurmkettenartigen Charakter der erhaltenen Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Bürste (PEI-PEO-Bürste) auch nach der Umsetzung mit PEO-Oligomeren zeigen die AFM-Untersuchungen (Abb. 2.26) und die mit Hilfe der statischen und dynamischen Lichtstreuung in Wasser, Chloroform und DMF bestimmten Werte für R_g/R_h . Aufgrund der geringen Ausbeute wurden die Streuexperimente in hochverdünnter Lösung durchgeführt, wodurch auf konzentrationsabhängige Messungen verzichtet werden konnte. Das statische Streuverhalten in diesen drei Lösungsmitteln zeigen die Abbildungen 2.27 bis 2.29.

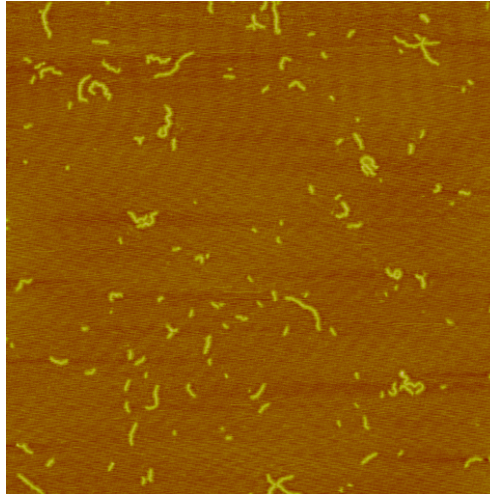


Abbildung 2.26: AFM-Höhenbild der Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Bürste, nach Spincoating aus Wasser auf Mica (1,5x1,5 µm).

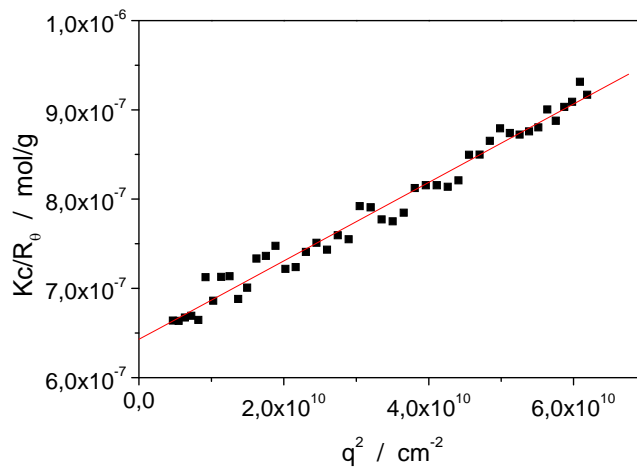


Abbildung 2.27: Streuverhalten der Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Bürste in Wasser / 7,5 mM NaBr.

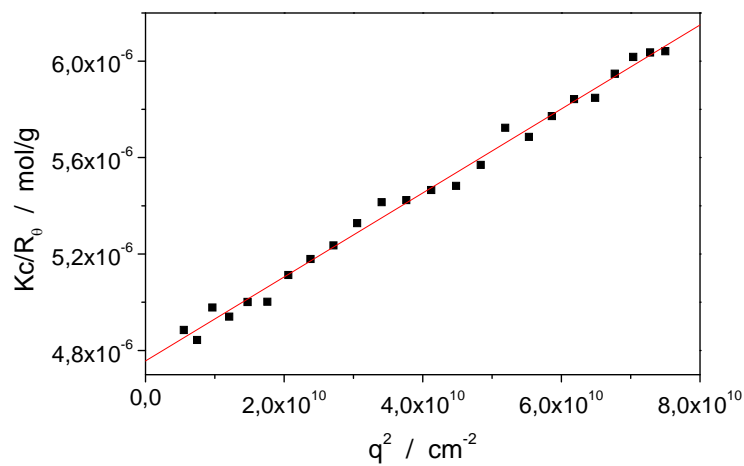


Abbildung 2.28: Streuverhalten der Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Bürste in Chloroform / 5 mM Tetrabutylammoniumbromid.

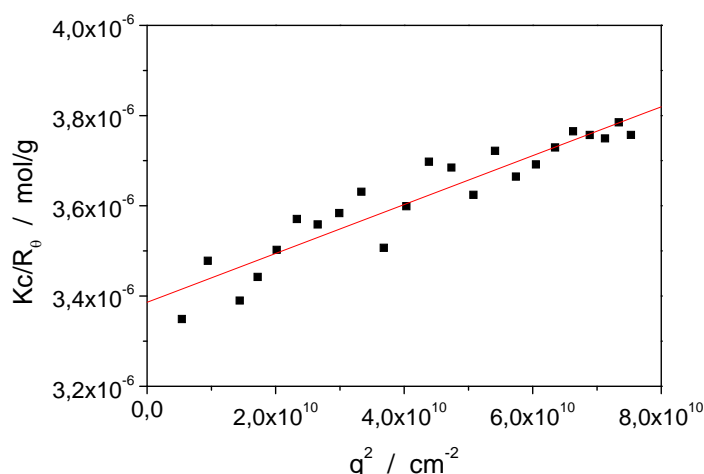


Abbildung 2.29: Streuverhalten der Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Bürste in DMF / 2 mM LiBr / 0,2 Vol.-% konz. HCl (aq) (entspricht 15 mol HCl pro 1 mol EI-Einheiten).

Sowohl der Trägheitsradius als auch der hydrodynamische Radius (Tabelle 2.7) nehmen in der Reihe DMF < Chloroform < Wasser stark zu. Diese Anhängigkeit korreliert mit der Löslichkeit der reinen PEI-Bürste in den verschiedenen Lösungsmitteln: während PEI in DMF unlöslich und in Wasser vollständig löslich ist, kann in Chloroform eine Quellung des PEI beobachtet werden, so dass davon auszugehen, dass die PEI-PEO-Bürste in den drei Lösungsmitteln in unterschiedlicher Form gelöst vorliegt. Eine Aggregation der PEI-PEO-Bürsten ist jedoch auszuschließen, da die Radien trotz der Molmassenzunahme um Faktor 6 nicht stark von denen der Poly(N-benzoyl-ethylenimin)-Bürste abweichen. Dies lässt den Schluss zu, dass die in Wasser vorliegenden PEI-Aggregate durch die Umsetzung mit PEO gelöst wurden.

Tabelle 2.7: Trägheitsradius und hydrodynamischer Radius der Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Bürste in verschiedenen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel / Salz	R_g / nm	R_h / nm	$R_g R_h^{-1}$
Wasser / 7,5 mM NaBr	45,3	31,6	1,4
Chloroform / 5mM Tetrabutylammoniumbromid	33,1	24,1	1,4
DMF / 2 mM LiBr / 0,2 Vol.-% HCl	21,8	13,5	1,6
Vergleich: Bürste mit Poly(N-benzoyl-ethylenimin)-Seitenketten in Chloroform	26,7	18,6	1,4

Die Hauptmenge der PEI-PEO-Bürste wurde für die Untersuchung der Interpolyelektrolyt-Komplexbildung von PEI-PEO-Bürsten mit PSS-C12 in DMF verwendet (siehe Kapitel 4). Isoliert wurde die PEI-PEO-Bürste durch Dialyse in Wasser bei $\text{pH} = 7$ in der Form eines weißen Pulvers, das vollständig in DMF löslich ist. Ca. 30 Minuten nach Filtration von Lösungen der PEI-PEO-Bürste in DMF wurde jedoch sehr überraschend das in Abbildung 2.30 gezeigte Streuverhalten beobachtet. Es kann auf der Basis von Assoziaten verstanden werden, die durch Scherung bei der Filtration zerstört wurden und zum Zeitpunkt der Messung wieder begonnen haben, sich zu bilden. Aus dem Minimum der Streukurve in Abbildung 2.30 kann unter der Annahme eines Kugelformfaktors für die Assoziate ein Radius von ~ 480 nm bestimmt werden, während durch dynamische Lichtstreuung an dieser Probe zwei verschiedene Diffusionsprozesse detektiert werden: der erste entspricht einem hydrodynamischen Radius von 12,9 nm und ist somit den zuvor beschriebenen, nicht assoziierten PEI-PEO-Bürsten zuzuordnen (Abbildung 2.29). Der zweite Diffusionsprozess entspricht einem hydrodynamischen Radius von ca. 260 nm. Dass hierbei nicht 500 nm erhalten werden, ist damit zu erklären, dass die Dauer des Experiments im Bereich von Stunden liegt und so die Assoziate schon während der Messung der Korrelationsfunktion sedimentieren, weshalb durch die Überlagerung von Diffusion und gerichteter Sedimentation kein hydrodynamischer Radius bestimmt werden kann. Wird diese Lösung über einen längeren Zeitraum beobachtet, so zeigt sich das in Abbildung 2.31 gezeigte Streuverhalten: innerhalb von 10 Tagen ist die Sedimentation bereits sehr stark ausgeprägt, bis sie schließlich nach 27 Tagen abgeschlossen ist. In diesem Fall wird nicht von „Aggregaten“, sondern von „Assoziaten“ gesprochen, da die Assoziation wie im Folgenden dargelegt durch Säurezugabe reversibel ist.

Wird konzentrierte Salzsäure (aq) zu dieser Lösung der PEI-PEO-Bürste gegeben (0,2 Volumen-% Salzsäure), so wird die Bürste über Nacht monomolekular gelöst (Abbildungen 2.32 und 2.33), während direkt nach der Zugabe noch keine signifikanten Veränderungen beobachtet werden können. Es zeigt sich, dass der zu 13,5 nm bestimmte hydrodynamische Radius im Rahmen des Fehlers mit dem der noch nicht assoziierten Moleküle (12,9 nm) 30 Minuten nach Filtration übereinstimmt (Abbildung 2.33). Des Weiteren stimmen im Minimum des Formfaktors der Assoziate die Streuintensitäten der Probe nach Filtration und nach Ansäuern nahezu überein (Abb. 2.32). Die geringe Abweichung rührt von den bereits, d.h. innerhalb der ca. 30 Minuten zwischen Filtration und Messung, in die Assoziate eingebauten Molekülen.

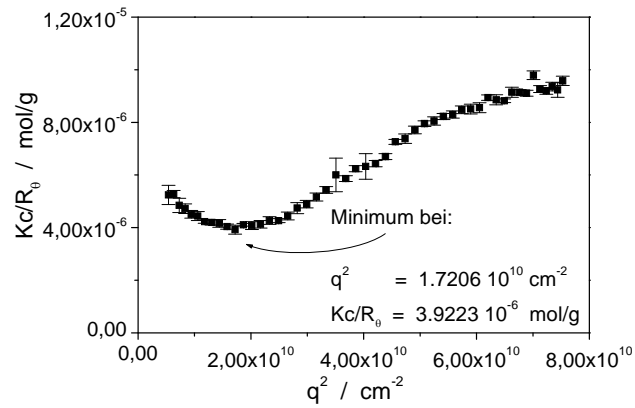


Abbildung 2.30: Streuverhalten in DMF / 2mM LiBr, 30 Minuten nach Filtration.

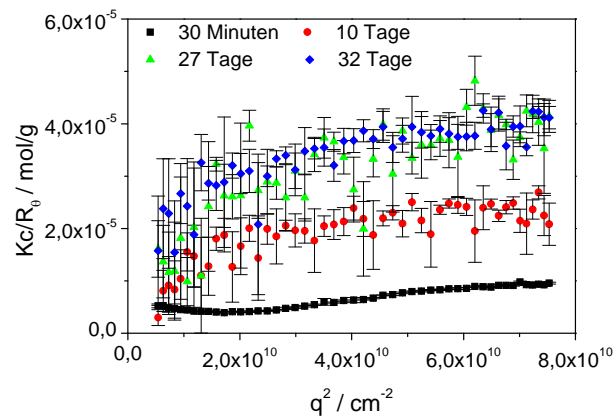


Abbildung 2.31: Streuverhalten in DMF / 2mM LiBr als Funktion der Zeit nach Filtration.

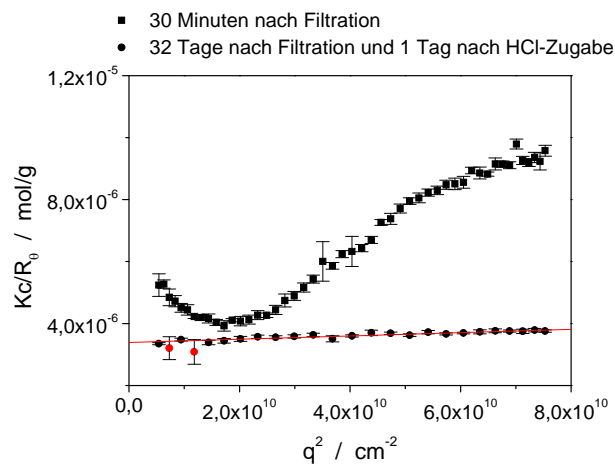


Abbildung 2.32: Streuverhalten in DMF / 2mM LiBr, 32 Tage nach Filtration + 1 Tag nach HCl-Zugabe und Vergleich mit Abbildung 2.30.

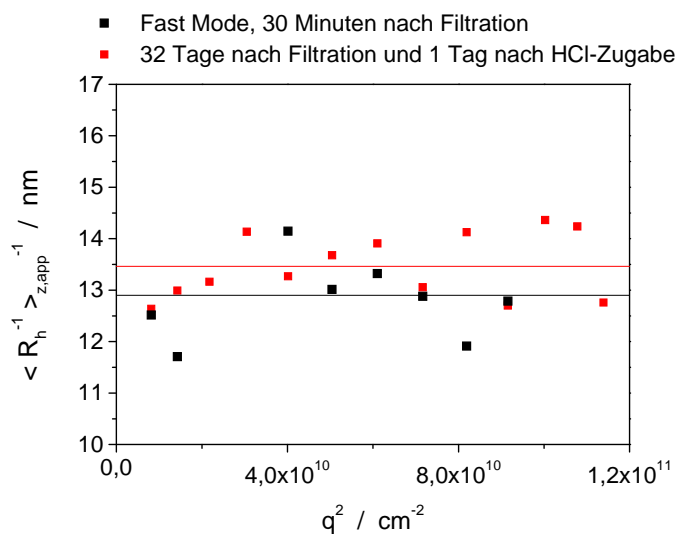


Abbildung 2.33: Winkelabhängigkeit des hydrodynamischen Radius in DMF / 2mM LiBr, 32 Tage nach Filtration + 1 Tag nach HCl-Zugabe und Vergleich mit dem schnellen Anteil 30 Minuten nach Filtration.

Statische und dynamische Lichtstreuung zeigen somit übereinstimmend, dass die niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF nach Filtration monomolekular gelöst sind und dann langsam assoziieren. Das höchst interessante Assoziationsverhalten in DMF, welches im Detail noch nicht verstanden ist, weist folgende Charakteristika auf: i) die Assoziate sind instabil gegen Scherung, ii) große Assoziate besitzen Durchmesser von ca. 500 nm, iii) die Assoziate sedimentieren, iv) Ansäuern führt zum Auflösen der Assoziate in Einzelmoleküle und v) die Assoziationskinetik ist langsam, nach einigen Tagen werden in der Lösung nur noch sedimentierte Assoziate beobachtet.

Wird die Lösung nach HCl-Zugabe wiederum als Funktion der Zeit beobachtet, so zeigt sich, dass wiederum Assoziate gebildet werden (Abbildung 2.34). Dies führt zu dem Schluss, dass die Protonierung der PEI-PEO-Bürste in DMF reversibel ist, was von entscheidender Bedeutung für das in Kapitel 4 beschriebene Verhalten bei Interpolyelektrolyt-Komplexbildung ist. Reversibel in diesem Zusammenhang bedeutet, dass die Bürste mit HCl protoniert und geladen werden kann, sie doch in der Folge durch das Lösungsmittel wieder deprotoniert wird. Eine mögliche Reaktionsgleichung, die diese Deprotonierung erklären würde, kann unter Einbeziehung von Wasserspuren in den Lösungen formuliert werden: das Dimethylformamid reagiert mit Wassermolekülen und der HCl der PEI-PEO-Bürsten zu N,N-Dimethylammoniumchlorid und Ameisensäure.

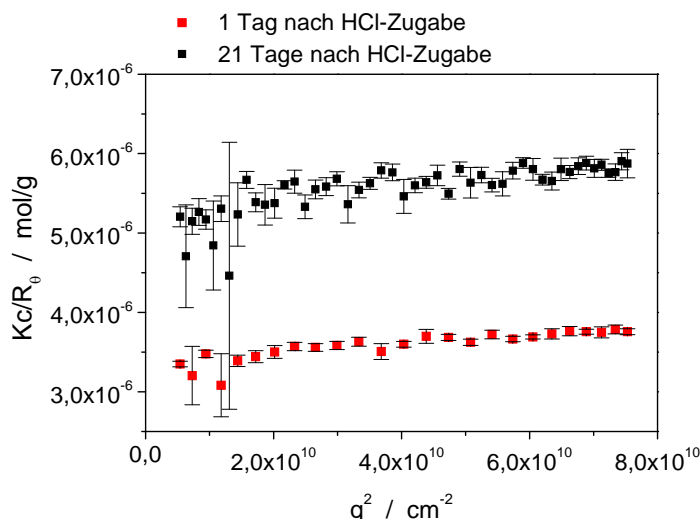


Abbildung 2.34: Streuverhalten in DMF / 2mM LiBr als Funktion der Zeit nach HCl-Zugabe.

2.6 Polymakromomere mit Poly(ethylenimin-co-N-isopropylethylenimin)-Seitenketten

Durch Umsetzung der Poly(ethylenimin)-Bürsten mit Isobuttersäurechlorid werden Polymakromomere mit Poly(ethylenimin-co-N-isopropylethylenimin)-Seitenketten erhalten, die in Chloroform löslich sind und mit Hilfe von statischer und dynamischer Lichtstreuung (Abbildung 2.35 und Tabelle 2.8) charakterisiert werden können. Dass die Radien der Bürste mit denen des Precursors mit Poly(N-benzoyl-ethylenimin)-Seitenketten in Chloroform übereinstimmen, zeigt, dass die Aggregation der Poly(ethylenimin)-Bürsten durch chemische Modifizierung zerstört werden kann.

Tabelle 2.8: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung in wässriger Lösung.

Seitenkette	R_g / nm	R_h / nm	R_g/R_h
Poly(N-benzoyl-ethylenimin)	26,7	18,6	1,44
Poly(ethylenimin-co-N-isopropylethylenimin)	25,9	16,3	1,6

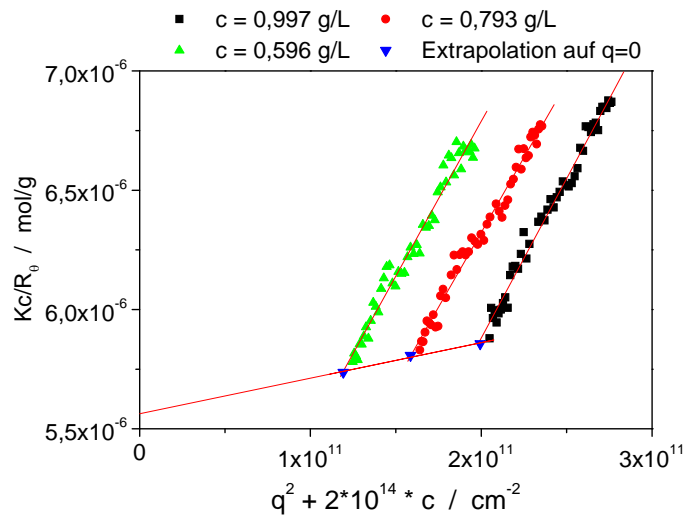


Abbildung 2.35: Statischer Zimm-Plot der Polymakromomere mit Poly(ethylenimin-co-N-isopropoylethylenimin)-Seitenketten in Chloroform.

2.7 Zusammenfassung

Um den Einfluss der Ladungsdichte auf die Bildung von Polyelektrolytkomplexen untersuchen zu können, wurden Polymerbürsten mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten synthetisiert, deren Ladungsdichte über den Protonierungsgrad gesteuert werden kann. Bei der Synthese wurde von Poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomeren mit Styrol-Endgruppe, hergestellt durch kationische, ringöffnende Polymerisation von 2-Phenyloxazolin, ausgegangen, deren Synthese bereits beschrieben war. Für eine erfolgreiche Homopolymerisation mussten diese Makromomere sorgfältig aufgereinigt und die Polymerisation in N-Methylpyrrolidon durchgeführt werden. Anschließende Hydrolyse lieferte die gewünschten Bürstenpolymeren mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten.

Die hergestellten PEI-Bürsten zeigen in verschiedenen Lösungsmitteln ein identisches Aggregationsverhalten, welches durch Eisenatome (Chelat-Effekt) bei der basischen Aufarbeitung hervorgerufen wurde und eine zeitliche Abhängigkeit aufweist, d.h. die Lösungen bestehen nach längerer Dauer aus Einzelmolekülen der PEI-Bürsten. Alternativ kann diese Aggregation durch chemische Modifikation der Seitenketten mit reaktiven Poly(ethylenoxid)-Oligomeren oder Isobuttersäurechlorid aufgehoben werden. Die Polymakromomere mit Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Seitenketten (PEI-PEO-Bürsten) zeigen darüber hinaus in DMF ein höchst interessantes Assoziationsverhalten, bei dessen

Synthese von Bürsten mit Seitenketten aus Poly(ethylenimin) und dessen Derivate

Untersuchung beobachtet wurde, dass die Ethylenimin-Gruppen reversibel protoniert werden können, wobei die Deprotonierung durch das Lösungsmittel geschieht.

Kapitel 3

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Im Rahmen dieses Kapitels wird die Wechselwirkung semiflexibler Polykationen mit pUC19-supercoiled-DNA untersucht. Die verwendeten Polykationen weisen dabei stark unterschiedliche Eigenschaften auf (Tabelle 3.1). Neben der unterschiedlichen Topologie variieren auch die Größe, die Molmasse, die Anzahl der Ladungen pro Molekül, die Anzahl der Ladungen pro nm Konturlänge und die chemische Struktur der Ladungsträger. Die unterschiedlichen Topologien und Größen der verwendeten Polyionen sind in Abbildung 3.1 und 3.2 veranschaulicht.

Ziel der folgenden Untersuchungen ist es, die Einflüsse der Eigenschaften der verwendeten Polykationen auf die gebildeten Komplexe zu untersuchen und somit ein Modell zu entwickeln, welches das Komplexbildungsverhalten in wässriger Lösung erklärt. Besonders interessant ist dabei die Fragestellung, ob die Topologie der gebildeten Komplexe durch die Topologie der verwendeten Polykationen gesteuert werden kann. Dies würde es ermöglichen, Struktur-Eigenschaftsbeziehungen von DNA-Interpolyelektrolyt-Komplexen insbesondere für deren Anwendung in der Gentherapie zu untersuchen.

Hierzu werden in den einzelnen Abschnitten dieses Kapitels folgenden Messreihen durchgeführt:

- Komplexbildung bei pH 7 und Polymerkonzentrationen von 2,5 mg/L (Kapitel 3.2 und 3.3)
- Komplexbildung bei pH 7 und erhöhten Polymerkonzentrationen am Beispiel des Systems DNA – PVP26 (Kapitel 3.4)
- Komplexbildung bei pH 13 und Polymerkonzentrationen von 2,5 mg/L am Beispiel des Systems DNA – PVP26 (Kapitel 3.5).

Kapitel 3.2 und 3.3 liefern somit Titrationskurven der gebildeten Komplexe über den gesamten Mischungsbereich für die konstanten Parameter Konzentration und pH-Wert, die folgenden Kapitel adressieren schließlich den Einfluss der konstanten Parameter. Aus der

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Komplexbildung bei pH 13 kann darüber hinaus geschlossen werden, welchen Einfluss die Sekundärstruktur der DNA (einzel- oder doppelsträngig) auf das Komplexbildungsverhalten hat. Die Charakterisierung der verwendeten Homopolymere und die für die Berechnungen herangezogenen Moleküleigenschaften sind in Anhang C zusammengefasst.

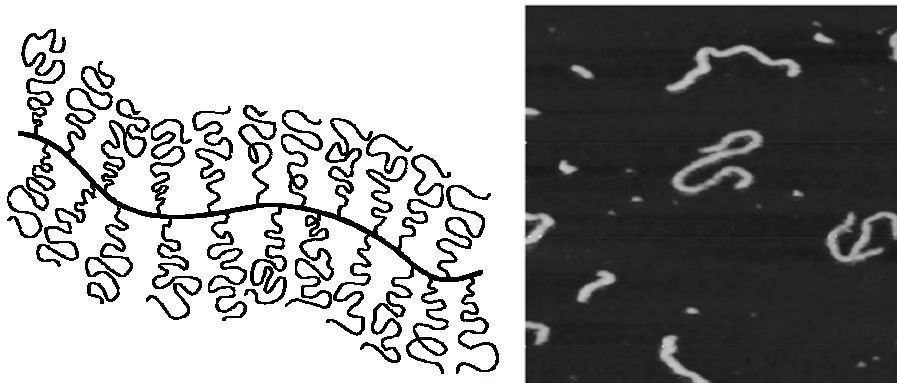


Abbildung 3.1: links) Schematische Darstellung einer Polymerbürste; rechts) AFM-Bild der PVP26-Bürste (Bildausschnitt $0,5 \mu\text{m} * 0,5 \mu\text{m}$), Quelle [Dusc03]).

Tabelle 3.1: Eigenschaften der verwendeten Polykationen und Vergleich mit der verwendeten pUC19-supercoiled-DNA

Polyion	Topologie	Molmasse	Größe ^{*2}	Zahlenmittel der Anzahl Ladungen pro Molekül
PVP26	zylindrische Polymerbürste	$1 \cdot 10^7 \text{ g/mol}$	Konturlänge 110 nm (5,3)	5500
PVP47	zylindrische Polymerbürste	$3 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$	Konturlänge 27 nm (3,9)	2800
PEI ^{*1}	zylindrische Polymerbürste	$8 \cdot 10^5 \text{ g/mol}$	Konturlänge 32 nm (2,7)	1800
PAMAM	kugelförmiges Dendrimer	$3 \cdot 10^4 \text{ g/mol}$	Radius 3,4 nm	127
DNA	ringförmige Plasmid-DNA	$2 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$	Konturlänge 930 nm	5400

^{*1} Die beobachtete Aggregation der PEI-Bürsten ist bei den angegebenen Daten nicht berücksichtigt, da davon ausgegangen wird, dass der zahlengemittelte Hauptteil der PEI-Bürsten mononolekular gelöst vorliegt.

^{*2} Im Fall der Bürstenpolymere aus der zahlengemittelten Molmasse der Bürste, der Molmasse der Seitenketten und einer Konturlänge von 0,25 nm pro Makromonomer berechnet. In Klammern ist die Polydispersität angegeben.

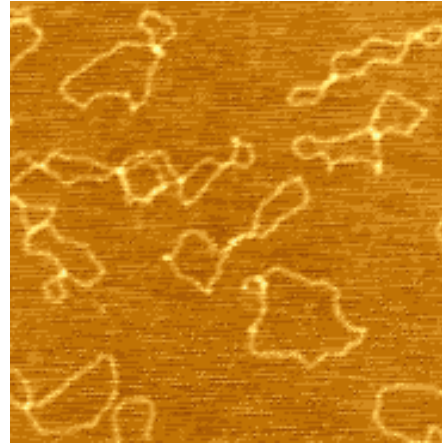
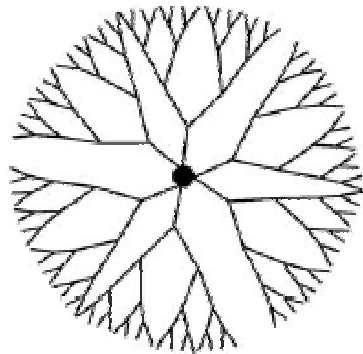


Abbildung 3.2:links) Schematische Darstellung eines Dendrimers.; rechts) AFM-Bild der verwendeten pUC19-supercoiled-DNA (Bildausschnitt $0,9 \mu\text{m} * 0,9 \mu\text{m}$)

3.1 Herstellung der Komplexe

Um zu gewährleisten, dass die Ergebnisse der unterschiedlichen Komplexierungen vergleichbar sind, wurde die Herstellung der Komplexe nach einem einheitlichen Schema durchgeführt. Das Mischungsverhältnis wird durch den Gewichtsbruch der Komponenten in Lösung ausgedrückt:

$$w(DNA) = \frac{c(DNA)}{c(DNA) + c(Polykation)} \quad \text{Gl. 3-1}$$

$$w(DNA) + w(Polykation) = 1 \quad \text{Gl. 3-2}$$

Alle in diesem Kapitel beschriebenen Komplexlösungen wurden durch Titrationsexperimente hergestellt, d.h. einer der beiden Komplexpartner wurde vorgelegt und der zweite Komplexpartner tropfenweise zugegeben. Nach jeder Zugabe (30 Sekunden nach der Zugabe, um eine einheitliche Zeitverzögerung zu gewährleisten) wird die Lösung für ca. 1 Minuten geschwenkt, um eine gleichmäßige Verteilung der gebildeten Komplexe in der Lösung zu erzielen, erst anschließend kann eine weitere Zugabe erfolgen. Längeres oder intensiveres Schütteln ergab keine messbaren Veränderungen.

Die tropfenweise Zugabe der zweiten Komponente erfolgt grundsätzlich in diskreten Schritten von $\Delta w(DNA, ges) = 0,05$. Diese Art der Komplexpräparation soll an einem Beispiel

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

verdeutlicht werden: für die Herstellung einer Komplexlösung der Zusammensetzung $w(\text{DNA}_{\text{ges}}) = 0,8$ mit DNA-vorgelegt wird die Polykation-Lösung in vier separaten Schritten zugegeben. Die Mischungsverhältnisse nach jeder Zugabe betragen: 0,95, 0,9, 0,85 und schließlich 0,8. Soll das identische Mischungsverhältnis mit vorgelegter Polykation-Lösung hergestellt werden, so muss die Zugabe in 16 separaten Schritten erfolgen (0,05, 0,1, ..., 0,75, 0,8). Abweichungen von diesen idealen Mischungsverhältnissen bei den Lichtstreuexperimenten der folgenden Kapitel werden durch Filtrationsverlust hervorgerufen (die reale Konzentration der Komplexpartner in den vorgelegten/zugetropften Homopolymerlösungen wurde nach Filtration überprüft und das Mischungsverhältnis entsprechend korrigiert, siehe unten).

Für die durchgeführten Lichtstremessungen wurden die Komplexlösungen direkt in den Lichtstreaküvetten hergestellt. Dies gewährleistet, dass die gebildeten Komplexe nicht durch Filtration verändert oder fraktioniert werden bzw. Filtrationsverlust auftritt und somit die tatsächlichen Ensemblemittelwerte der gebildeten Komplexe bestimmt werden können. Die Herstellung der Komplexe erfolgte nach folgendem Protokoll: die Lösung der vorzulegenden Komponente wurde in die Lichtstreaküvetten filtriert und das zugegebene Volumen gravimetrisch bestimmt. Nach Überprüfung der vorgelegten Komponente durch Lichtstremessung (Kontrolle der Konzentration und der Reinheit) erfolgte die tropfenweise Zugabe der zweiten Komponente. Bedingt durch das konstante Austrittsvolumen des Filters (ca. 40 bis 50 μL für den in allen Fällen verwendeten Millex-LG, 25 mm Filter) pro Tropfen wässriger Lösung war es nötig, mehrere Tropfen zuzugeben, um $\Delta w(\text{DNA}_{\text{ges}}) = 0,05$ zu erzielen. Die Zugabe wurde deshalb soweit möglich an den gleichen Punkt der vorgelegten Lösung gegeben. Die exakten Volumina der zugetropften Lösung wurden nach jeder Zugabe gravimetrisch bestimmt. Konzentration und Reinheit der zugetropften Komponente wurden mit Hilfe von Lichtstreuung kontrolliert: es wurden vor der ersten und nach der letzten Zugabe des Titrationsexperiments die Lösungen des zugetropften Homopolymers in separate Küvetten filtriert und vermessen.

Für die in Kapitel 3.2 diskutierten AFM- und Gelelektrophorese-Messungen wurden identische Komplexlösungen verwendet. Diese wurden nicht den Lichtstreaküvetten entnommen, sondern separat nach obigem Protokoll hergestellt. Auch dabei wurden die Mischungsverhältnisse grundsätzlich gravimetrisch bestimmt.

3.2 Kondensation von DNA in hochverdünnter Lösung

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der DNA-Komplexierung vorgestellt, bei denen die DNA vorgelegt und die Polykation-Lösungen zugetropft wurden. Die Komplexbildung findet in Natriumphosphat-Puffer bei einem pH-Wert 7 und in hochverdünnter Lösung statt, wobei die verwendeten Lösungen der Ausgangskomponenten eine identische Konzentration von 2,5 mg/L besitzen.

AFM-Messungen an den Komplexlösungen

Die Abbildungen 3.3-3.8 zeigen typische AFM-Bilder der Komplexe aus DNA und den vier verschiedenen Polykationen. Überraschenderweise zeigen die Komplexe in den AFM-Bildern keine signifikanten Unterschiede als Funktion des Polykations. Die Komplexe bestehen aus einem erhöhten, dichten und sphärischen/ellipsoiden Komplexkern und DNA-Strängen, die aus den Komplexen in Form von Schlaufen herausstehen. Insbesondere die Komplexkerne zeigen keine topologischen Unterschiede als Funktion des Polykations. Die aus den Komplexen herausstehenden DNA-Stränge können damit erklärt werden, dass die Komplexe eine Kern-Schale-Struktur aufweisen, bei der die Kerne den Interpolyelektrolyt-Komplex repräsentieren und die im Überschuss vorliegende DNA die Schale aufbaut. Das Vorliegen einer DNA-Schale in Gegenwart freier DNA-Moleküle verhindert das Wachstum der Komplexe. Die hier gemachten Beobachtungen entsprechen somit den in Anhang D zusammengefassten Ergebnissen der eigenen Diplomarbeit.

Des weiteren zeigen die AFM-Bilder deutlich, dass neben den gebildeten Komplexen freie DNA-Moleküle in der Lösung vorliegen, deren Anteil mit zunehmendem Polykation-Gehalt abnimmt (Abbildung 3.3-3.5, die angegebene Quantifizierung der freien DNA in Abbildung 3.3-3.8 ist ein Ergebnis der später diskutierten Gelelektrophorese).

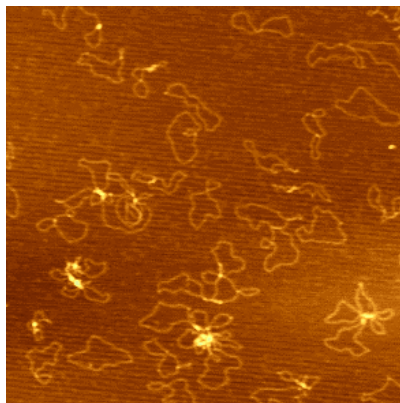


Abbildung 3.3: AFM-Bild von PAMAM-DNA-Komplexen bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{DNA, ges}) = 0,90$ (Ergebnis der Gelelektrophorese: $w(\text{DNA, frei}) = 0,68$, 25 % der DNA liegen komplexiert vor)

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

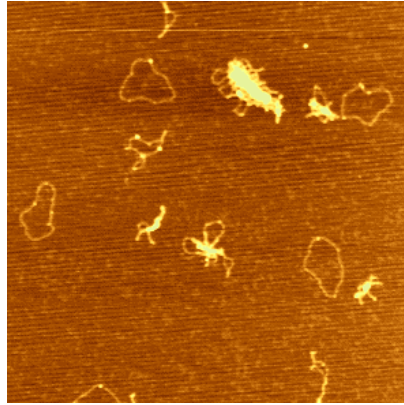


Abbildung 3.4: AFM-Bild von PAMAM-DNA-Komplexen bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{DNA,ges}) = 0,80$ (Ergebnis der Gelelektrophorese: $w(\text{DNA,frei}) = 0,40$, 50 % der DNA liegen komplexiert vor).

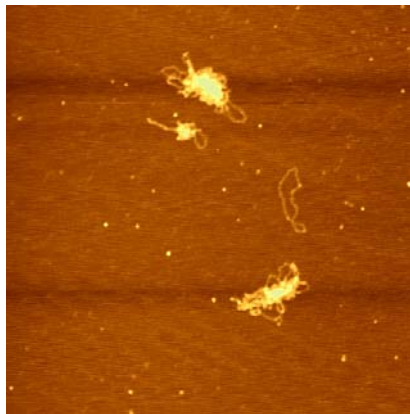


Abbildung 3.5: AFM-Bild von PAMAM-DNA-Komplexen bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{DNA,ges}) = 0,70$ $w(\text{DNA,frei}) = 0,12$ 83 % DNA komplexiert

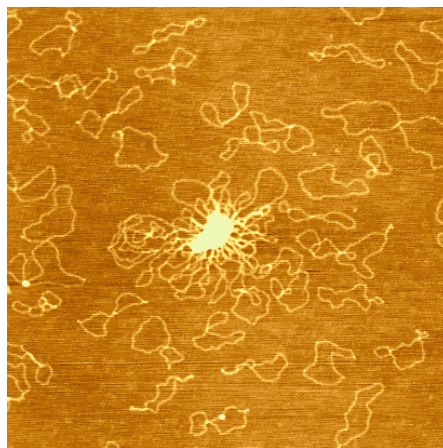


Abbildung 3.6: AFM-Bild von PVP26-DNA-Komplexen bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{DNA,ges}) = 0,80$ $w(\text{DNA,frei}) = 0,58$ 28 % DNA komplexiert

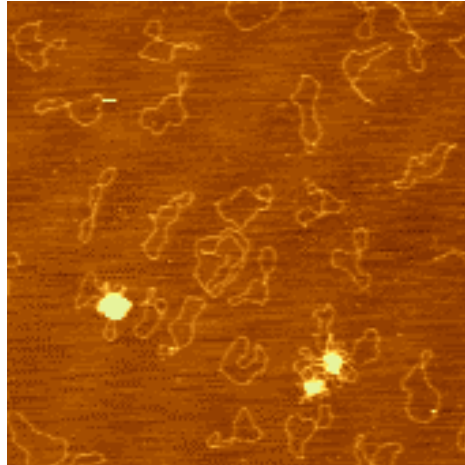


Abbildung 3.7: AFM-Bild von PEI-DNA-Komplexen bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{DNA, ges}) = 0,80$ $w(\text{DNA, frei}) = 0,40$ 49 % DNA komplexiert

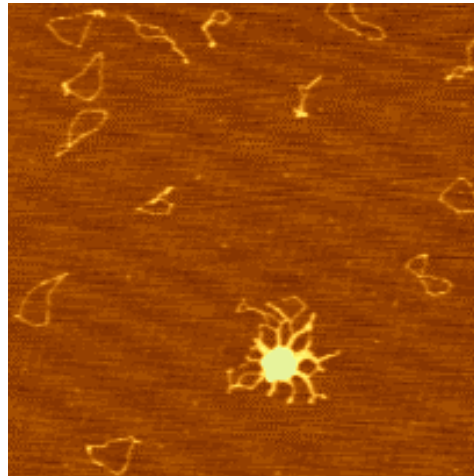


Abbildung 3.8: AFM-Bild von PVP47-DNA-Komplexen bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{DNA, ges}) = 0,75$ $w(\text{DNA, frei}) = 0,47$ 37 % DNA komplexiert

Lichtstreuung an den Komplex-Lösungen

Die aus den Streuexperimenten erhaltenen Werte für die apparenten Molmassen, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien sind in Anhang F.2 zusammengefasst und in den Abbildungen 3.9-3.11 als Funktion des Gewichtsbruchs DNA in den Lösungen aufgetragen. Für alle vier Polykationen nimmt die apparente Molmasse der Mischung als Funktion der zugegebenen Menge Polykation monoton zu (Abb. 3.9). Diese Zunahme der Molmassen ist über einen weiten Bereich von $w(\text{DNA})$ moderat (keine Änderung der Größenordnung von einer zur nächsten Zugabe), bis schließlich an einem für jedes Polykation charakteristischen Gewichtsbruch DNA ein sprunghafter Anstieg der Molmasse um eine oder mehrere Dekaden beobachtet wird. Der Vergleich mit dem hypothetischen Verlauf für eine Homopolymermischung bestehend aus DNA und Polykationen beweist, dass Komplexe entstehen (siehe Anhang F.1). Die Trägheitsradien der Komplexlösungen zeigen ein

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

komplexeres Verhalten (Abb. 3.10), wobei die Verläufe und auch die Absolutwerte für alle vier Polykationen im Rahmen des Messfehlers identisch sind. Die Verläufe der Trägheitsradien zeigen drei Bereiche: zunächst nehmen die Trägheitsradien relativ zur freien DNA ab, durchlaufen ein Minimum und steigen in der Folge, bis schließlich ein sprunghafter Anstieg beobachtet wird. Einziger Unterschied zwischen den verschiedenen Polykationen ist die Größe (in Bezug auf den Gewichtsbruch DNA) der einzelnen Bereiche. Im Fall der hydrodynamischen Radien (Abb. 3.11) wird ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den Polykationen beobachtet. Sie entsprechen im Rahmen des Fehlers bei kleinen Mengen zugegebenen Polykations dem der freien DNA, steigen bei weiterer Polykation-Zugabe und zeigen wie die Molmasse und der Trägheitsradius schließlich einen sprunghaften Anstieg.

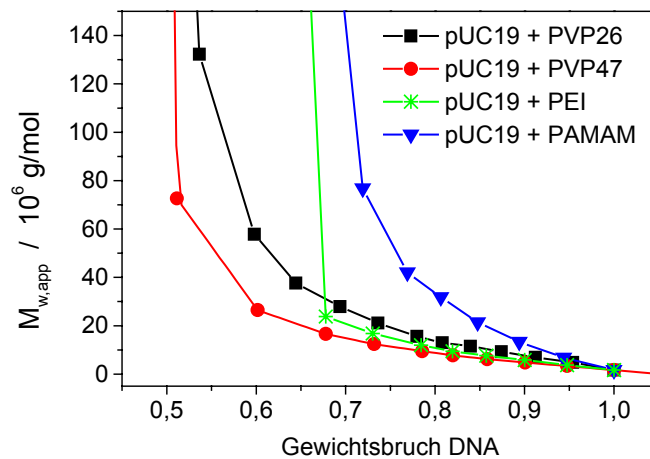


Abbildung 3.9: Apparente Molmasse der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

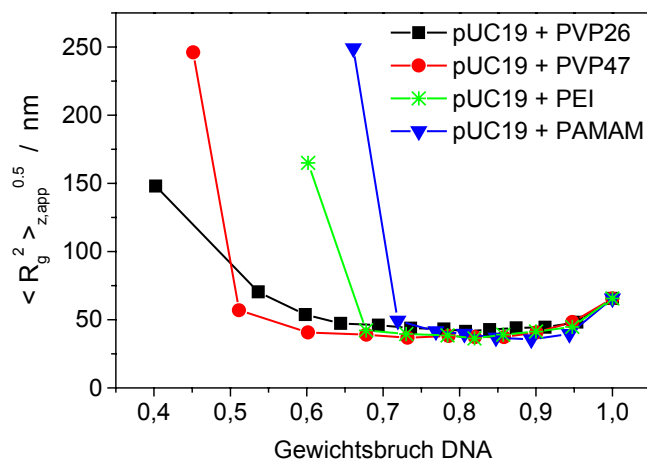


Abbildung 3.10: Apparenter Trägheitsradius der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

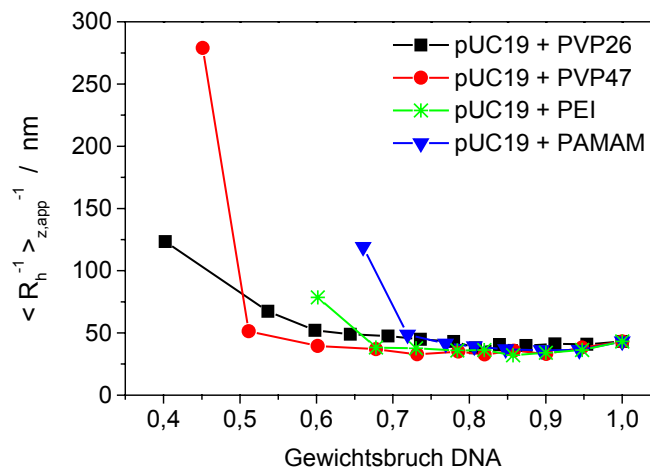


Abbildung 3.11: Apparenter hydrodynamischer Radius der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Die einheitlichen Verläufe der Messgrößen legen nahe, dass durch Auftragung gegen eine noch unbekannt Variable im Rahmen des Fehlers ein universeller Verlauf erhalten wird. Der zu dem sprunghaften Anstieg der Messgrößen korrespondierende Gewichtsbruch DNA wird im Folgenden als „Kritischer Gewichtsbruch“ $w(\text{DNA}, \text{krit.})$ bezeichnet und wie folgt phänomenologisch definiert: Der kritische Gewichtsbruch entspricht dem Mischungsverhältnis der Komplexlösungen, bei dem die Werte der Molmasse und der Radien der Mischung bei weiterer Zugabe sprunghaft steigen und / oder (partielles) Ausfallen von Komplexen aus der Lösung beobachtet wird. Die Fehlergrenzen werden durch den vorherigen und folgenden Messpunkt definiert. Eine einheitliche, mathematische Definition des kritischen Gewichtsbruchs, die auch die in Kapitel 3.3 und 3.4 untersuchten Systeme vollständig beschreibt, ist nicht möglich, da (partielles) Ausfallen keinen quantifizierbar Einfluss auf die Ergebnisse der Lichtstreuung besitzt. Die kritischen Gewichtsbrüche der hier untersuchten Systeme sind in Tabelle 3.2 zusammengefasst.

Die AFM-Untersuchungen an den Komplexlösungen haben gezeigt, dass diese aus DNA-Polykation-Komplexen und freier DNA bestehen. Daraus folgt, dass das an den Komplexlösungen gemessene Streuverhalten eine Summe dieser beiden Bestandteile darstellt. Die realen Molmassen und Radien der Komplexe können somit nur bestimmt werden, wenn der Anteil freier DNA in den Komplexlösungen bekannt ist.

Tabelle 3.2: Kritische Gewichtsbrüche der DNA-Polykation-Komplexe

Polykation	Kritischer Gewichtsbruch w(DNA,krit.)
PVP26	0,54 ± 0,14
PVP47	0,51 ± 0,09
PEI	0,68 ± 0,08
PAMAM	0,72 ± 0,06

Gelelektrophorese an den Komplexlösungen

Die Gelelektrophorese stellt eine Standardmethode der DNA-Charakterisierung dar. Sie bietet die Möglichkeit, DNA-Moleküle entsprechend ihrer Größe zu separieren und die Anteile der einzelnen Spezies quantitativ zu bestimmen. Durchgeführt wird diese Methode im Rahmen dieser Untersuchungen, um den Anteil unkomplexierter DNA in den Komplexlösungen quantitativ zu bestimmen. Hierzu werden die Komplexlösungen auf Agarosegele aufgetragen, deren Dichte (1 – 0,7 Gewichtsprozent Agarose) so groß ist, dass die Komplexe aufgrund ihrer Größe nicht in das Gel eindringen können.



Abbildung 3.12: Bild der Gelelektrophorese an DNA-PEI-Komplexen. Das Gel enthält zwei horizontale Linien mit Auftrageaschen, die Laufrichtung im Bild ist von unten nach oben.

Belegung der Banden: i.) Standard: No. 1, 5, 8, 12, 13, 17, 20, 24; ii.) unkomplexierte DNA in verschiedenen Konzentrationen: No. 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 23; iii.) Komplexlösungen (in Klammern ist das Mischungsverhältnis w(DNA,ges) angegeben): No. 2 (0,60), 3 (0,70), 4 (0,80), 6 (0,90), 7 (0,95), 9 (0,85), 10 (0,75), 11 (0,65).

Abbildung 3.12 zeigt ein typisches Bild der Gele an den Komplexlösungen am Beispiel der DNA-PEI-Komplexe (alle ausgewerteten Gel-Bilder und eine detaillierte Beschreibung der Schritte für die Auswertung sind in Anhang E zusammengefasst.). Das in Abbildung 3.12 gezeigte horizontale Gel besitzt 2 Auftragelinien für jeweils 12 Proben. In den im Bild oberen Startpunkten wurden die Komplexe aufgetragen, in den unteren reine DNA-Lösungen bekannter DNA-Konzentration für die Erstellung der Intensitäts-Konzentrations-Kalibrierung. Der in Form eines gleichmäßigen Rasters aufgetragene Standard ist eine reine DNA-Lösung mit bekannter, hoher Konzentration, die der Korrektur von Kamera- und Belichtungsfehlern dient (siehe Anhang E).

Das Gel der PEI-DNA-Komplexe zeigt, dass alle aufgetragenen Proben zwei Spezies mit unterschiedlicher Laufstrecke enthalten. Der Hauptteil der Proben ist supercoiled DNA (scDNA) mit höherer Mobilität, die Spezies mit geringerer Mobilität ist single necked DNA, die durch Einzelstrangbrüche aus der scDNA hervorgegangen ist. Da die Anteile der beiden Spezies (ca. 90% supercoiled und ca. 10% single necked, entspricht der Angabe vom Hersteller) in allen Proben gleich sind, wird nur die Bande der scDNA für die Auswertung verwendet. Die Laufstrecke in allen Komplex- und DNA-Proben ist identisch und folglich unkomplexierter DNA zuzuordnen. Somit kann bereits direkt nach dem Anfärben das Mischungsverhältnis bestimmt werden, bei welchem erstmals keine freie DNA mehr nachgewiesen werden kann. Die Tatsache, dass in den Komplexlösungen keine freie DNA und keine Spezies bei verkürzten Laufstrecken detektierbar sind, zeigt, dass die Komplexe nicht durch die Gelelektrophorese zerstört werden.

Für die quantitative Bestimmung der Menge unkomplexierter DNA in den Komplexlösungen werden die Intensitäten aller Banden ermittelt. Mit Hilfe der erstellten Intensitäts-Konzentrations-Kalibrierung wird schließlich der Gewichtsbruch unkomplexierter DNA in den Komplexlösungen bestimmt und kann gegen den Gewichtsbruch gesamter DNA in den Lösungen aufgetragen werden (Abb. 3.13, detaillierte Beschreibung siehe Anhang E). Dabei zeigt sich, dass zwischen dem Gewichtsbruch freier DNA und dem Gewichtsbruch der gesamten DNA in den Komplexlösungen für alle untersuchten Systeme ein linearer Zusammenhang besteht. Bedingt durch den Zusammenhang $w(\text{Polykation}) = 1 - w(\text{DNA, ges})$ sinkt der Gewichtsbruch unkomplexierter, freier DNA auch linear mit dem Gewichtsbruch des zugegebenen Polykations. Aus den Ergebnissen der Gelelektrophorese an den Komplexlösungen können mehrere Rückschlüsse gezogen werden, die im Folgenden diskutiert werden sollen.

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

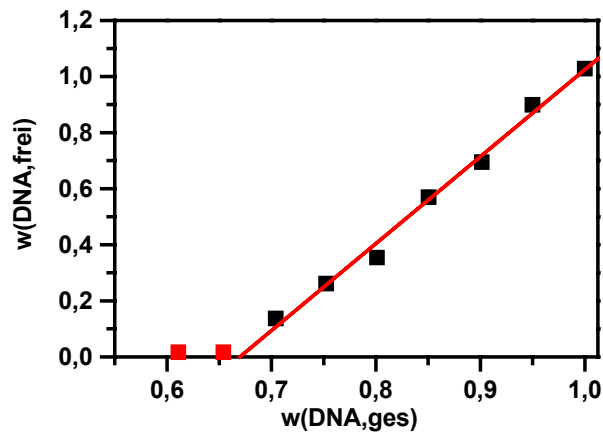


Abbildung 3.13: Gewichtsbruch unkomplexierter, freier DNA in den Komplexlösungen der DNA-PEI-Komplexe als Funktion des Gewichtsbruchs gesamter DNA

Bei einem für jedes untersuchte System charakteristischen Gewichtsbruch DNA ist keine freie DNA mehr in den Komplexlösungen vorhanden. Diese aus der linearen Extrapolation bestimmten Gewichtsbrüche, für die erstmals die Bedingung $w(\text{DNA,unkomplexiert}) = 0$ erfüllt ist, sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst und den aus den Lichtstreudaten bestimmten kritischen Gewichtsbrüchen gegenübergestellt. Dabei zeigt sich, dass beide Werte im Rahmen des Fehlers übereinstimmen. Der sprunghafte Anstieg der apparenten Molmassen und Radien tritt somit bei der Zusammensetzung auf, bei der die gesamte Menge vorgelegter DNA komplexiert wurde und in Interpolyelektrolyt-Komplexen gebunden vorliegt.

Tabelle 3.3: Zusammensetzung der Komplexlösungen (Gelelektrophorese), bei denen erstmals die Gleichung $w(\text{DNA,unkomplexiert}) = 0$ erfüllt wird, und kritische Gewichtsbrüche (Lichtstreuung) der DNA-Polykation-Komplexe

Polykation	$w_{\text{DNA,ges}}$, für das erstmals gilt: $w_{\text{DNA,unkomplexiert}} = 0$	Kritischer Gewichtsbruch $w_{\text{DNA,krit.}}$
PVP26	$0,53 \pm 0,03$	$0,54 \pm 0,14$
PVP47	$0,52 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,09$
PEI	$0,67 \pm 0,04$	$0,68 \pm 0,08$
PAMAM	$0,66 \pm 0,07$	$0,72 \pm 0,06$

Die Linearität der Abnahme von $w(\text{DNA,frei})$ als Funktion von $w(\text{Polykation})$ bedeutet, dass die Bildung von Interpolyelektrolyt-Komplexen aus DNA und den

verwendeten Polykationen regelmäßig und auf die gleiche Weise verläuft. Des weiteren folgt, dass die Gewichtsfraktion DNA in den Komplexen für jedes beliebige $w_{\text{DNA,ges}} > w_{\text{DNA,ges}}$ ($w_{\text{DNA,frei}} = 0$) identisch ist, d.h. die Stöchiometrie der Komplexe in diesem Bereich konstant ist. Aufgrund der Linearität entspricht der Schnittpunkt mit der x-Achse dem Gewichtsbruch DNA in den Komplexen. Bei genauer Betrachtung der linearen Verläufe zeigt sich, dass kurz vor Erreichen des Schnittpunkts mit der x-Achse die Werte für $w(\text{DNA,frei})$ minimal größer sind als die Regressionsgerade. Die Abweichung ist jedoch für alle vier Polykation-Systeme nicht signifikant und innerhalb der Fehlergrenzen der linearen Regression. Es ist jedoch davon auszugehen, dass diese Abweichung real ist und die Stöchiometrie der Komplexe geringfügig zu größeren Polykationgehalten verschoben wird, wenn der Hauptteil der DNA in Lösung komplexiert vorliegt.

Stöchiometrie der Komplexe

Aus den Ergebnissen der Gelelektrophorese folgt direkt die Massenstöchiometrie der Komplexe, ausgedrückt durch die relativen Gewichtsbrüche der beiden Komponenten in den Komplexen.

Tabelle 3.4: Stöchiometrie der DNA-Polykation-Komplexe

Polykation	Massenstöchiometrie	Ladungsstöchiometrie	Kettenstöchiometrie
	(*1)	(*2)	(*3)
	Gewichtsbruch w_{DNA}	(N+)/P	$n_{\text{DNA}} / (n_{\text{Polykation}})_w$
PVP26	$0,53 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,1$	$7,47 \pm 0,90$
PVP47	$0,52 \pm 0,03$	$0,94 \pm 0,1$	$2,41 \pm 0,29$
PEI	$0,67 \pm 0,04$	$0,87 \pm 0,2$	$0,978 \pm 0,177$
PAMAM	$0,66 \pm 0,07$	$0,73 \pm 0,2$	$0,0325 \pm 0,0102$

(*1) Die Massenstöchiometrie bezieht sich auf die Einwaage der Komponenten. Im Fall des PAMAM handelt es sich hierbei um das freie Amin, im Fall der PEI-Bürsten um die vollständig mit HCl protonierte Bürste. Die Freisetzung von Gegenionen bei der Interpolyelektrolyt-Komplexbildung wird deshalb bei der Massenstöchiometrie nicht berücksichtigt.

(*2) Berechnung dieser Werte für die Bürsten auf Basis der Makromonomere, für die DNA und das Dendrimer auf Basis der theoretischen Moleküleigenschaften (siehe Anhang C). Das (N+)/P-Verhältnis berücksichtigt im Fall der DNA alle Phosphat-Gruppen, im Fall der PVP-Bürsten alle quaternisierten Pyridinringe und für die PEI-Bürste und die PAMAM-Dendrimere den bei pH = 7 realen Protonierungsgrad der Amingruppen von ca. 50 % (siehe Anhang C).

(*3) Die Kettenstöchiometrie ist in diesem Fall ausgedrückt durch das Verhältnis DNA-Ketten pro Polykation-Kette und stellt einen gewichtsgemittelten Wert dar, da für die Bürsten-Polymere die gewichtsgemittelte Molmasse verwendet wurde.

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Mit Hilfe der Masse pro Ladung und der Absolutmolmasse der beteiligten Polyionen können daraus die Ladungsstöchiometrie (N+)/P und die Kettenstöchiometrie der gebildeten Komplexe berechnet werden (verwendete Daten siehe Anhang C). Für die Berechnung des (N+)/P-Verhältnisses werden nur die quaternisierten (PVP26, PVP47) bzw. protonierten (PEI, PAMAM – Protonierungsgrad beider bei pH 7 ca. 50 %) Stickstoffatome berücksichtigt, es entspricht dem molaren Verhältnis von quaternisierten bzw. protonierten Stickstoff-Atomen zu Phosphor-Atomen in den Komplexen. Die erhaltenen Werte für die Massen-, Ladungs- und Kettenstöchiometrie der Komplexe sind in Tabelle 3.4 zusammengefasst.

Die (N+)/P-Verhältnisse stimmen im Rahmen des Fehlers für alle untersuchten Komplexe überein und es wird ein Mittelwert von $0,83 \pm 0,11$ erhalten. Dies lässt den Schluss zu, dass die Bildung der Komplexe unter Ladungskontrolle stattfindet.

Molmasse, Trägheitsradius und hydrodynamischer Radius der Komplexe

Der durch Gelelektrophorese gefundene lineare Zusammenhang zwischen $w(\text{DNA, frei})$ und $w(\text{DNA, ges})$ erlaubt es, den Streubeitrag der unkomplexierten DNA von dem der Komplexlösungen zu subtrahieren und somit die realen Molmassen, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien der Komplexe zu bestimmen. In Anhang F.1 ist dieser Formalismus detailliert beschrieben und die für jedes System und jede Zusammensetzung erhaltenen Werte sind tabelliert. Da das Ausmaß der Gegenionenfreisetzung bei den vorliegenden Komplexierungen nicht bekannt ist, sind die zunächst diskutierten Molmassen der Komplexe unter der Annahme berechnet, dass bei der Komplexbildung keine Gegenionen freigesetzt werden. Auf die berechneten Radien der Komplexe hat die Gegenionenfreisetzung unabhängig von dessen Ausmaß keinen Einfluss (siehe Anhang F.1). Der Einfluss der Gegenionenfreisetzung auf die Molmasse kann durch eine Grenzfallbetrachtung abgeschätzt werden, was an späterer Stelle diskutiert wird. Entscheidend für die folgenden Diskussionen ist, dass das Ausmaß der Gegenionenfreisetzung die Molmassen ausschließlich relativ zu dem hier beschriebenen Fall verändert (Beschreibung durch einen für alle Zusammensetzungen konstanten Vorfaktor), die Verläufe aber davon unberührt bleiben.

Bereits zu Beginn wurde festgestellt, dass die Verläufe der Molmassen und Radien der Mischungen aller vier untersuchten DNA-Polykation-Systeme gleichförmig sind, so dass durch eine geeignetere Auftragung ein universeller Verlauf erhalten werden sollte. Zentrales Merkmal ist dabei der kritische Gewichtsbruch, an dem die gesamte DNA komplexiert vorliegt. Aus diesem Grund werden die Molmassen und Radien der Komplexe als Funktion des Prozentsatzes komplexierter DNA aufgetragen (Abb. 3.14-3.16).

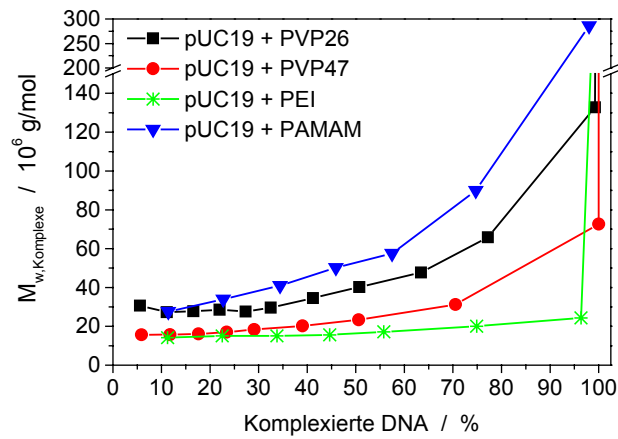


Abbildung 3.14: Molmasse der Komplexe als Funktion des Anteils komplexierter DNA

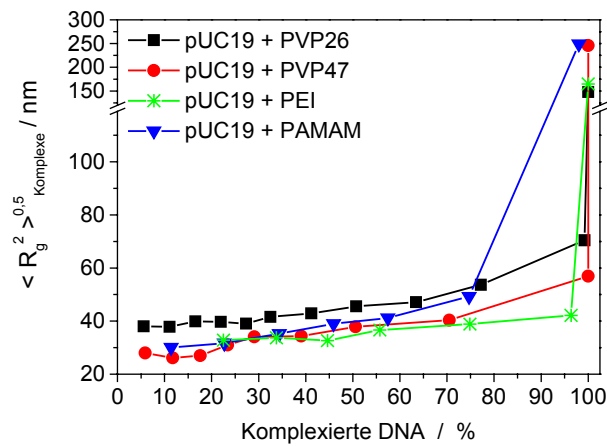


Abbildung 3.15: Trägheitsradius der Komplexe als Funktion des Anteils komplexierter DNA

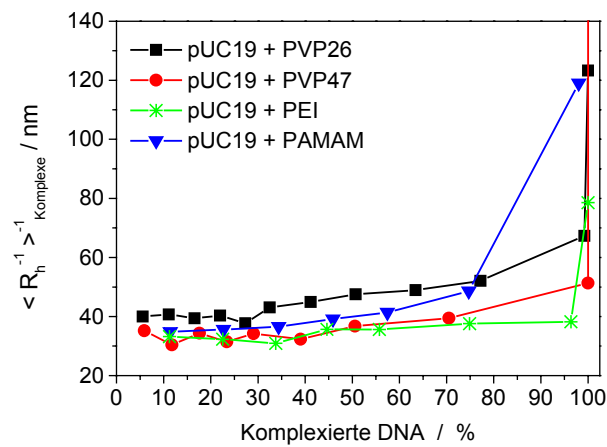


Abbildung 3.16: Hydrodynamischer Radius der Komplexe als Funktion des Anteils komplexierter DNA

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Es zeigt sich, dass die Verläufe der Komplexgrößen durch die Auftragung gegen den Prozentsatz komplexierter DNA vereinheitlicht werden. Dabei wird ein signifikanter Unterschied zwischen den Komplexen der Bürsten und denen des Dendrimers sehr deutlich.

Im Fall der DNA-Bürsten-Komplexe zeigen die Molmassen und die Radien 3 Bereiche, wie am Beispiel der Molmasse der DNA-PVP26-Komplexe in Abb. 3.17 verdeutlicht. Liegt der Hauptanteil der vorgelegten DNA unkomplexiert in der Lösung vor (Bereich I), so ist die Molmasse der bei PVP26-Zugabe gebildeten Komplexe unabhängig davon, wie viel PVP26 bereits zugegeben wurde. Überschreitet der Anteil komplexierter DNA einen bestimmten Wert (in diesem Fall ca. 40 % der gesamten DNA-Menge, Bereich II), so steigt die Molmasse der Komplexe bei PVP26-Zugabe. Ist schließlich keine unkomplexierte DNA mehr in der Lösung vorhanden (Bereich III), so „explodiert“ die Molmasse. Ein Modell, welches das Auftreten dieser drei Bereiche erklärt, wird am Ende dieses Kapitels unter Berücksichtigung auch der weiteren experimentellen Ergebnisse diskutiert. Die Mittelwerte der Molmassen und Radien der DNA-Bürsten-Komplexe im Bereich I sind in Tabelle 3.5 zusammengefasst.

Die Komplexe der Dendrimere zeigen den ersten Bereich nicht (Abb. 3.14-3.16). Ob in diesem Fall der erste Bereich kleiner ist als im Fall der Bürsten-Komplexe und somit experimentell erfasst wurde oder dieser prinzipiell nicht auftritt, ist auf Basis der durchgeführten Experimente nicht zu verifizieren. Eine mögliche Erklärung, warum im Fall der Dendrimere der erste Bereich nicht zu erwarten ist, wird an späterer Stelle diskutiert. In Tabelle 3.5 sind aufgrund des Fehlens des ersten Bereichs die Molmasse und Radien der DNA-PAMAM-Komplexe mit dem niedrigsten PAMAM-Gehalt angegeben.

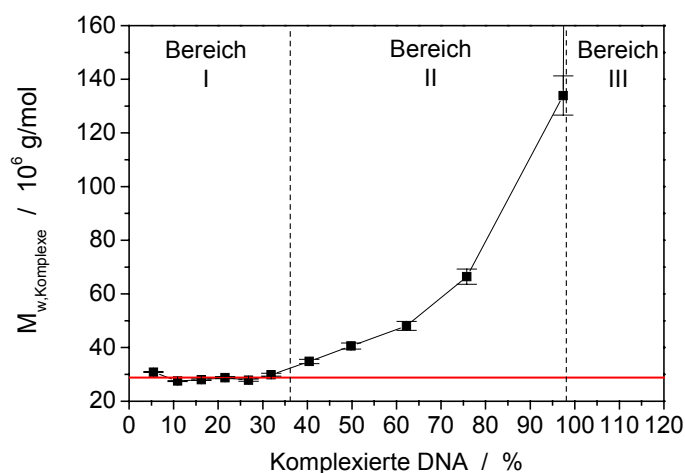


Abbildung 3.17: Molmasse der Komplexe von DNA und PVP26 als Funktion des Anteils komplexierter DNA

Tabelle 3.5: Molmassen und Radien der Komplexe in Bereich I

Polykation	$M_{w,Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$	$\langle R_g^{2,0,5} \rangle_{z,Komplexe} / \text{nm}$	$\langle R_h^{-1,-1} \rangle_{z,Komplexe} / \text{nm}$
PVP26	$28,8 \pm 1,3$	$39,4 \pm 1,4$	$39,6 \pm 1,2$
PVP47	$16,0 \pm 0,6$	$30,0 \pm 3,6$	$33,0 \pm 1,9$
PEI	$15,2 \pm 0,3$	$33,0 \pm 0,5$	$33,5 \pm 0,1$
PAMAM	$27,9 \pm 0,4 *$	$30,0 \pm 1,0 *$	$34,8 \pm 0,2 *$

* Erster Datenpunkt.

Einfluss der Gegenionenfreisetzung auf die Molmasse der Komplexe

Bei der Berechnung der Molmasse wurde bisher vereinfachend angenommen, dass bei der Komplexbildung keine Gegenionen freigesetzt werden. Für eine exakte Bestimmung der Molmasse ist es notwendig, die genaue Anzahl freigesetzter Gegenionen und deren Brechungsindexinkrement, bzw. das der in den Komplexen verbleibenden Polyionen ohne die freigesetzten Gegenionen, zu kennen. Da dies für das untersuchte System nicht bekannt ist, wird durch eine Grenzfall-Betrachtung der maximal mögliche Einfluss der Gegenionenfreisetzung bestimmt. Dabei wird nur der Einfluss der Freisetzung der Phosphat-Gegenionen des jeweiligen Polykations untersucht, da im Fall der DNA nur Protonen freigesetzt werden, deren Einfluss auf die DNA-Konzentration weniger als 0,3% ist und deren $dn/dc \sim 0$ ist. Es können somit folgende Grenzfälle unterschieden werden:

1. Bei der Komplexbildung werden keine Gegenionen freigesetzt (entspricht der bisherigen Beschreibung).
2. Bei der Komplexbildung werden alle Gegenionen freigesetzt.

Im Fall der PEI-Bürsten und der PAMAM-Dendrimere kann das Brechungsindexinkrement der Polykationen ohne Gegenionen abgeschätzt werden. Für die PEI-Bürsten entspricht dieses $0,2 \text{ mL/g}$, abgeschätzt aus der Tatsache, dass sich das dn/dc von mit HCl-protonierten PEI-Bürsten unabhängig vom Protonierungsgrad nicht ändert (HCl und PEI besitzen in Wasser in erster Näherung ein identisches dn/dc von $0,2 \text{ mL/g}$). An methanolischen Lösungen der PAMAM-Dendrimere in der Form des freien Amins (entspricht PAMAM ohne Gegenionen, da die Protonen einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Konzentration und dn/dc haben) das Brechungsindexinkrement experimentell zu $dn/dc = 0,23 \text{ mL/g}$ ermittelt.

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Für die PVP-Bürsten ist das Brechungsindexinkrement ohne Gegenionen nicht ohne weiteres abzuschätzen, so dass eine weitere Grenzfallbetrachtung durchgeführt wird: In Fall 2a) beträgt das Brechungsindexinkrement der Gegenionen entsprechend dem der PVP-Homopolymere 0,188 mL/g, in Fall 2b) ist es gleich 0. Das Brechungsindexinkrement freier Phosphorsäure in Wasser beträgt wie in Anhang C.3 beschrieben 0,09 mL/g, was durch die beschriebenen Grenzfälle 2a) und 2b) abgedeckt wird.

Die Durchführung dieser Grenzfallbetrachtung ist in Anhang F.1 detailliert beschrieben und die daraus erhaltenen Werte sind für jedes System und jede Zusammensetzung in Anhang F.2 tabelliert. Entscheidendes Ergebnis der Grenzfallbetrachtung ist, dass durch die Freisetzung der Gegenionen die Molmasse nur durch einen konstanten Faktor relativ zum Fall 1 verändert wird. Die Form der Kurve in der Auftragung der Komplexmolmasse gegen die Zusammensetzung der Lösung bleibt durch eventuelle Gegenionenfreisetzung unverändert. An dieser Stelle wird die Grenzfallbetrachtung für die in Bereich I gemittelten Werte durchgeführt und die Ergebnisse in Tabelle 3.6 zusammengefasst. Es zeigt sich, dass der Einfluss der Gegenionenfreisetzung auf die Molmasse in erster Näherung zu vernachlässigen ist.

Tabelle 3.6: Molmasse der Komplexe unter Berücksichtigung der Gegenionenfreisetzung – Ergebnisse der Grenzfallbetrachtung

Polykation	Grenzfall 1: keine Gegenionenfreisetzung	Grenzfall 2: 100 % Gegenionenfreisetzung	Abweichung von Grenzfall 1 zu Grenzfall 2
	$M_{w,Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$	$M_{w,Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$	
PVP26	$28,8 \pm 1,3$	$32,7 \pm 1,5$ (Fall 2a) $25,7 \pm 1,2$ (Fall 2b)	12 %
PVP47	$16,0 \pm 0,6$	$18,6 \pm 0,7$ (Fall 2a) $14,0 \pm 0,5$ (Fall 2b)	14 %
PEI	$15,2 \pm 0,3$	$16,9 \pm 0,3$	10 %
PAMAM	$27,9 \pm 0,4$	$27,4 \pm 0,4$	2 %

Anzahl Ketten beider Komponenten in den Komplexen

Aus der Molmasse der Komplexe kann die gewichtsgemittelte Anzahl Ketten beider Polymere pro Komplex mit Hilfe folgender Gleichungen bestimmt werden:

$$N_w(DNA) = \frac{w(DNA, Komplex) * M_{w, Komplex}}{M_{DNA}}$$

$$N_w(Polykation) = \frac{w(Polykation, Komplex) * M_{w, Komplex}}{M_{n, Polykation}}$$

Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind für jeden der 2 Grenzfälle, jedes DNA-Polykation-System und jede Zusammensetzung in Anhang F.2 tabelliert. Aus den gemittelten Molmassen (Grenzfall 1) in Bereich I ergeben sich die in Tabelle 3.7 zusammengefassten Werte. Es zeigt sich, dass die gebildeten Komplexe nicht die kleinstmögliche Anzahl Ketten beider Komplexpartner enthalten, sondern ein Vielfaches der Kettenstöchiometrie. In Bereich II steigt die Molmasse zunehmend, so dass ein immer größeres Vielfaches der Kettenstöchiometrie erhalten wird. Dies legt den Schluss nahe, dass die Molmasse der Komplexe und somit die Anzahl Ketten pro Komplex eine Funktion der Konzentration unkomplexierter DNA bzw. der relativen Konzentrationen freier DNA zu zugegebenen Polykations sind. Diese Fragestellung wird experimentell in Kapitel 3.4 adressiert.

Die Anzahl der DNA-Moleküle pro Komplex liegt für alle untersuchten Systeme zwischen 5 und 10 und somit innerhalb einer Größenordnung. Dies stützt die Annahme, dass die Konzentration der DNA einen entscheidenden Einfluss auf die Komplexgröße besitzt. Ein systematischer Einfluss des Polykations kann auf Basis der experimentellen Daten nicht gefunden werden. Die im Rahmen des Fehlers konstante Ladungstöchiometrie führt dazu, dass die Anzahl der Polykation-Moleküle pro Komplex eine Funktion der Molmasse des Polykations ist.

Tabelle 3.7: Anzahl Ketten beider Komplexpartner pro Komplex

Polykation	Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex	Anzahl Polykation-Moleküle pro Komplex
PVP26	9,2 ± 0,5	7,1 ± 0,5
PVP47	5,0 ± 0,3	9,0 ± 0,6
PEI	6,1 ± 0,4	16 ± 2
PAMAM	10 ± 1	310 ± 70

Größe und Form der Komplexe

Die DNA-Komplexe aller vier verwendeten Polykationen besitzen im Bereich von 0 bis 80 % komplexierter DNA einen Trägheitsradius und einen hydrodynamischen Radius von

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

30 bis 50 nm (Abb. 3.15 und 3.16). Aufgrund der Tatsache, dass beide Radien für alle Komplexe in der selben Größenordnung liegen, ist das Verhältnis von Trägheitsradius zu hydrodynamischem Radius im Rahmen des Fehlers immer im Bereich von 0,8 bis 1,1, ein typischer Wert für polydisperse Kugeln bzw. ellipsoide Strukturen. Die mittels AFM erhaltenen mikroskopischen Bilder der Komplexe (Abb. 3.3-3.8) bestätigen und veranschaulichen diesen Befund.

Dies ist ein überraschendes Ergebnis der durchgeführten Messungen. Ungeachtet des verwendeten Polykations, deren Molmassen um 3 Zehnerpotenzen variieren und deren Topologien sich von kugelförmigen Polykationen mit einem Durchmesser von 6 nm bis hin zu wurmkettenartigen Bürstenpolymeren mit einer mittleren Konturlänge von 200 nm erstrecken, resultieren DNA-Komplexe mit einem Radius von 30 bis 50 nm und einer kugelförmigen Topologie.

Dichte der Komplexe

Auf Basis der Gleichung

$$\rho_{\text{Komplex}} = \frac{M_{w,\text{Komplex}}}{6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} * \left(\frac{4 \pi R_{\text{Komplex}}^3}{3} \right)$$

kann eine Komplexdichte definiert werden. Ob für die Berechnung der Trägheitsradius oder der hydrodynamische Radius verwendet wird, ist aufgrund von $R_g/R_h \sim 1$ im Rahmen des Fehlers für alle Komplexe irrelevant.

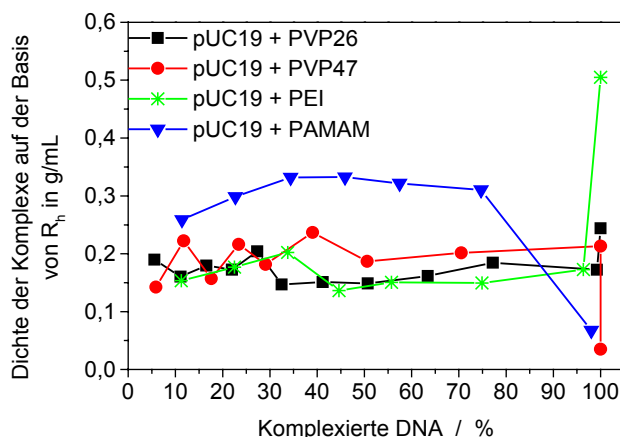


Abbildung 3.18: Dichte der Komplexe, berechnet auf der Basis des hydrodynamischen Radius und der Molmasse für den Grenzfall ohne Gegenionenfreisetzung, als Funktion des Anteils komplexierter DNA

Die Dichte der Komplexe als Funktion des Prozentsatzes komplexierter DNA zeigt Abbildung 3.18 (Verwendung der Molmasse für Grenzfall 1). Es zeigt sich, dass die Dichte der Komplexe im Vergleich zur freien, unkomplexierten DNA mit einem Wert von $8 \cdot 10^{-3} \text{ g/cm}^3$ stark erhöht ist. Sie beträgt für die Bürsten-Komplexe übereinstimmend ca. $0,2 \text{ g/cm}^3$ und für die PAMAM-Komplexe $0,35 \text{ g/cm}^3$ (Tabelle 3.8). Die Unterschiede in der Dichte können damit erklärt werden, dass das PAMAM aufgrund seiner geringeren Größe die DNA besser kompaktieren kann. Die Länge der verwendeten Bürste hat offensichtlich keinen Einfluss auf die Dichte der Komplexe.

Tabelle 3.8: Dichte der Komplexe

Polykation	$\rho_{\text{Komplex}} (R_g) / \text{g/cm}^3$	$\rho_{\text{Komplex}} (R_h) / \text{g/cm}^3$
PVP26	$0,17 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,02$
PVP47	$0,19 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,03$
PEI	$0,15 \pm 0,02$	$0,16 \pm 0,02$
PAMAM	$0,36 \pm 0,05$	$0,32 \pm 0,01$

Nachträgliche DNA-Zugabe

Zu einer Komplexlösung von DNA-PVP26-Komplexen mit $w(\text{DNA,ges}) = 0,53$ konnte durch nachträgliche Zugabe von DNA auf ein Mischungsverhältnis von $w(\text{DNA,ges}) = 0,91$ gezeigt werden, dass die gemessene Molmasse im Rahmen des Fehlers einer Homopolymermischung aus zugegebener DNA und den bereits vorher in Lösung befindlichen Komplexe entspricht. Eine Reorganisation der gebildeten Komplexe konnte auch nach Schütteln über Nacht nicht nachgewiesen werden. Die gebildeten Strukturen stellen somit eingefrorene Strukturen dar.

Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Die tropfenweise Zugabe von Lösungen der vier semiflexiblen Polykationen zu einer vorgelegten Lösung von pUC19-supercoiled-DNA führt zur Bildung von Interpolyelektrolyt-Komplexen. Wird bei dieser Zugabe ein kritisches Mischungsverhältnis überschritten, so werden die Komplexlösungen instabil und die gebildeten Komplexe wachsen stark an bzw. fallen aus. Das Auftreten der Unstetigkeit und die Irreversibilität der gebildeten Komplexe legen nahe, dass die vorliegenden Komplexe unter kinetischer Kontrolle gebildet werden und Nicht-Gleichgewichtsstrukturen darstellen.

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Für die aus allen vier Polykationen gebildeten Komplexe konnte gezeigt werden, dass diese eine Kern-Schale-Struktur besitzen, deren Kern den eigentlichen Interpolyelektrolyt-Komplex bestehend aus DNA- und Polykationmolekülen darstellt. Dieser Kern wird mit einer Schale von aus dem Komplexkern herausstehenden DNA-Strängen umgeben, wodurch die gebildeten Komplexe eine negative Oberflächenladung besitzen. Die negative Oberflächenladung der Komplexe sorgt dafür, dass sowohl zwischen den Komplexen untereinander als auch zwischen den Komplexen und unkomplexierten DNA-Molekülen in der Lösung keine attraktiven, elektrostatischen Wechselwirkungen auftreten, die zu einem Anwachsen der Komplexe führen.

Aufgrund der tropfenweisen Zugabe werden die Komplexe sukzessive gebildet. Es konnte gezeigt werden, dass die Unstetigkeit für alle untersuchten Systeme bei dem Mischungsverhältnis auftritt, bei dem alle Moleküle der vorgelegten DNA komplexiert vorliegen. Werden die globalen Komplexeigenschaften wie Molmasse, Trägheitsradius und hydrodynamischer Radius gegen die Menge komplexierter DNA aufgetragen, so wird ein vergleichbares Verhalten aller untersuchten Systeme gefunden. Der Umsatz an vorgelegter DNA hat somit entscheidenden Einfluss auf die Größe der gebildeten Komplexe.

Im Fall der Polymerbürsten zeigen die globalen Komplexeigenschaften als Funktion der Menge komplexierter DNA in den Komplexlösungen drei Bereiche: Zu Beginn der Bürstenzugabe, d.h. bei hohem DNA-Überschuss, sind alle Komplexeigenschaften (Molmasse, Trägheitsradius etc.) unabhängig vom Mischungsverhältnis (Bereich I). Verarmt der Anteil unkomplexierter DNA, so steigen die Größen monoton (Bereich II), bis schließlich beim vollständigen Verbrauch der DNA die Lösung instabil wird und die Komplexe ausfallen (Bereich III). Dieses Komplexbildungsverhalten kann damit erklärt werden, dass die Komplexe im Eintropfvolumen der Polykation-Lösung irreversibel gebildet werden. Bei der ersten Zugabe enthält die vorgelegte Lösung ausschließlich DNA-Moleküle und die Komplexbildung findet zwischen DNA-Molekülen und den zugegebenen Polykationen statt. Nach der Zugabe wird die Lösung durchmischt und die nächste Zugabe vorgenommen. Ist in Folge mehrerer Polykationzugaben eine signifikante Menge an Komplexen gebildet worden, so befinden sich auch im Eintropfvolumen Komplexe. Aufgrund ihrer DNA-Schale sind diese analog der freien DNA befähigt, mit den neu zugegebenen Polykationen in Wechselwirkung zu treten und weitere Komplexierungsreaktionen einzugehen. In Abhängigkeit vom

Konzentrationsverhältnis unkomplexierter DNA zu Komplexen im Eintropfvolumen werden somit auch bereits gebildete Komplexe wiederum in „neue“ Komplexe eingebaut.

Für eine Unterscheidung dieser Komplexarten wird folgende Terminologie verwendet: findet die Komplexbildung ausschließlich zwischen den zugegebenen Polykation und unkomplexierter DNA statt, so werden „Primärkomplexe“ gebildet. Nehmen auch bereits gebildete „Primärkomplexe“ an der Komplexbildung teil, werden „Sekundärkomplexe“ gebildet. In Bereich I der Komplexbildung werden nur Primärkomplexe gebildet, deren globale Komplexeigenschaften (Molmasse, Molmassenverteilung, Trägheitsradius etc.) unabhängig vom Mischungsverhältnis sind. Überschreitet die Konzentration gebildeter Primärkomplexe einen bestimmten Grenzwert, welcher mit einer signifikanten Konzentration im Eintropfvolumen korreliert, so werden Sekundärkomplexe gebildet. Die gewichtsgemittelte Molmasse und die z-Mittel der Radien steigen somit (Bereich II). Ist schließlich die gesamte Menge vorgelegter DNA verbraucht, so werden neu zugegebene Polykationen ausschließlich von Primär- und Sekundärkomplexen komplexiert. Die so gebildeten Strukturen wachsen unkontrolliert und fallen schließlich aus der Lösung aus (Bereich III).

Die mit PAMAM gebildeten Komplexe zeigen die Bereiche II und III, jedoch nicht den Bereich, in dem ausschließlich Primärkomplexe gebildet werden. Ob der erste Bereich kleiner ist als im Fall der Bürsten-Komplexe und somit nur experimentell nicht erfasst wurde oder dieser prinzipiell nicht auftritt, ist auf Basis der durchgeführten Experimente nicht zu verifizieren. Eine mögliche Erklärung, warum die Dendrimere Bereich I nicht zeigen können, basiert auf der Anzahl Ladungen pro Molekül. Dadurch, dass die kationischen Ladungen auf eine sehr viel größere Zahl von Molekülen verteilt sind, steigt die Wahrscheinlichkeit zur Verbrückung von Komplexen.

Dieses Modell der Komplexbildung erklärt die experimentell gefundenen Abhängigkeiten der globalen Komplexeigenschaften vom Mischungsverhältnis beider Komponenten. Es bedeutet, dass die Komplexe aller verwendeten Polykationen im Eintropfvolumen irreversibel gebildet werden.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass für alle untersuchten Systeme die Abnahme der Konzentration unkomplexierter DNA-Moleküle vom Ausgangspunkt der reinen DNA-Lösung bis zum kritischen Mischungsverhältnis linear mit dem Mischungsverhältnis verläuft. Daraus folgt, dass die Massenstöchiometrie der gebildeten Komplexe unabhängig vom Mischungsverhältnis beider Komponenten ist. Der Erhalt der Massenstöchiometrie in den

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Sekundärkomplexen kann damit erklärt werden, dass die Primär- und Sekundärkomplexe eine deutlich geringere Anzahl unkomplexierter Phosphatgruppen im Vergleich zu unkomplexierten DNA-Molekülen aufweisen. Auch für die Absättigung der Ladungen in Bereich II neu zugegebener Polykationen dienen somit bevorzugt unkomplexierte DNA-Moleküle. Aus diesem Grund bleibt die Massenstöchiometrie der Komplexe auch in den Sekundärkomplexen in erster Näherung erhalten und verändert sich erst signifikant in Bereich III, wenn keine unkomplexierten DNA-Moleküle mehr an der Komplexbildung teilnehmen können.

Bei Auswertung der Stöchiometrie der gebildeten Komplexe zeigt sich, dass sie eine identische Ladungsstöchiometrie aufweisen, unabhängig davon welches Polykation zugegeben wurde. Dies lässt den Schluss zu, dass die Stöchiometrie von Interpolyelektrolytkomplexen ladungskontrolliert ist.

Aus der Molmasse der gebildeten Primärkomplexe (bzw. des ersten vermessenen DNA-Dendrimer-Komplexes) folgt, dass diese eine in erster Näherung konstante Anzahl von 5-10 DNA-Molekülen pro Komplex enthalten. Aufgrund der konstanten Ladungsstöchiometrie wird die Anzahl Polykation-Moleküle pro Komplex direkt von der Anzahl Ladungen pro Molekül bestimmt. Für alle gebildeten Komplexe ergibt sich unabhängig vom Mischungsverhältnis und vom verwendeten Polykation, dass die Anzahl Ketten pro Komplex ein Vielfaches der Kettenstöchiometrie beträgt. Die gebildeten Komplexe stellen folglich Multi-Ketten-Komplexe dar. Die hohe Anzahl Ketten pro Komplex hat zur Folge, dass die gebildeten Komplexe eine sehr hohe Anzahl von Ionenpaaren enthalten, welche in erster Näherung unabhängig vom Polykation und dessen Anzahl Ladungen pro Molekül ist.

Die aus pUC19-supercoiled-DNA und den vier Polykationen gebildeten Komplexe weisen eine einheitliche Topologie und Größe auf: Übereinstimmend ist die Größe dieser Strukturen im Bereich I und II ca. 30-50 nm und die Topologie kugelförmig. Dass die Größe und die Topologie der Komplexe zylindrischer Bürstenpolymere mit maximalen Konturlängen von mehreren hundert Nanometern und kugelförmiger PAMAM-Dendrimere mit einem Durchmesser von 6 nm identisch sind, stellt ein sehr überraschendes Ergebnis der durchgeführten Experimente dar.

Die einheitlichen Größen und Topologien der gebildeten Komplexe legen in Verbindung mit der Tatsache, dass die gebildeten Komplexe Multi-Ketten-Komplexe

darstellen, nahe, dass die Komplexbildung auf einer sehr starken elektrostatischen Wechselwirkung der jeweiligen Komplexpartner beruht und dabei mehrere ionischen Stellen mehrerer Polymere kooperativ in Wechselwirkung treten. Da die Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex in erster Näherung konstant ist, ist anzunehmen, dass die Konzentration der wechselwirkenden Polyionen im Eintropfvolumen die Größe der Komplexe bestimmt. Diese Fragestellung wird in Kapitel 3.4 genauer untersucht. Es erklärt zudem, warum die Molmasse der Polykationen in dem hier untersuchten Bereich von 10^4 bis 10^7 g/mol irrelevant für die Größe der gebildeten Komplexe ist. Da immer die gleiche Anzahl DNA-Moleküle an der Bildung eines Komplexes beteiligt ist, ist es in dem untersuchten Bereich der Ladungen pro Molekül belanglos, ob diese Ladungen chemisch verknüpft oder in einzelnen Polykationmolekülen vorliegen.

Eine Anpassung der Topologie der Komplexe an die der Komplexpartner wird durch die starke elektrostatische Wechselwirkung verhindert. Es werden vielmehr Komplexe mit kugelförmiger Topologie gebildet, da bereits bei der Komplexbildung durch Rückfaltung die Topologie der Komplexpartner zerstört wird. In Lösung expandiert vorliegende Komplexpartner werden bei der Komplexbildung kompaktiert, wodurch die hohen Dichten der Komplexe hervorgerufen werden. Die resultierende kugelförmige Topologie zeigt, dass das Komplexwachstum in allen drei Raumrichtungen erfolgt. Dieses Wachstum verläuft bis zu dem Punkt, an dem alle positiven Ladungen der an einem Komplex beteiligten Polykation-Moleküle nach außen abgeschirmt sind. Daraus resultiert die gefundene Kern-Schale-Struktur.

Die Ergebnisse der durchgeführten Experimente haben gezeigt, dass die Anzahl der Ladungen pro Molekül in dem hier untersuchten Bereich von 10^2 (128 Ladungen pro Dendrimer bei pH 7) bis ca. 10^5 (gewichtsgemittelte Anzahl der Ladungen pro PVP26-Bürste beträgt 30'000) keinen Einfluss auf das Komplexbildungsverhalten hat. Dies gilt gleichermaßen für alle weiteren Eigenschaften der verwendeten Polykationen (Topologie, chemische Zusammensetzung, etc.). Die Anzahl Ladungen überschreitet für alle untersuchten Polykationen einen bislang unbekanntes Grenzwert, unterhalb dem eine thermodynamisch kontrollierte Komplexbildung möglich ist. Aus diesem Grund liefern alle untersuchten Polykationen ein einheitliches, kinetisch kontrolliertes Komplexbildungsverhalten, bei dem Komplexe mit einer eingefrorenen Kern-Schale-Struktur und kugelförmiger Topologie gebildet werden. Da die Aktivierungsenergie für das kooperative Lösen der Ionenpaare in einem Komplex die thermische Energie um ein Vielfaches übersteigt, stellen die gebildeten

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Komplexe bei Raumtemperatur eingefrorene Strukturen dar. Dies erklärt die gefundene Irreversibilität der Komplexbildung für alle vier Polykationen.

3.3 Verkapselung von DNA in hochverdünnter Lösung

Die tropfenweise Zugabe von DNA-Lösungen zu den im Überschuss vorgelegten Lösungen der vier verschiedenen Polykationen unterschiedlicher Molmasse und Topologie ist Gegenstand dieses Abschnitts. In Verbindung mit Kapitel 3.2 werden somit Titrationskurven der jeweiligen Systeme über den gesamten Mischungsbereich erhalten, da alle experimentellen Parameter der Komplexbildung einschließlich der Polymerkonzentrationen unverändert sind.

Das in diesem Kapitel untersuchte Komplexbildungsverhalten steht in direktem Zusammenhang zu bereits früher [Stör03] untersuchten Bürsten-DNA-Komplexen, bei denen das Bürstenpolymer vorgelegt wurde. Da an mehreren Stellen auf die Ergebnisse dieser PVP47 – pUC18-supercoiled-DNA – Komplexe eingegangen wird, sind diese in Anhang D zusammengefasst.

Lichtstreuung an den Komplexlösungen

Die Auswertung der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen führt zu den in Anhang F.2 zusammengefassten Ergebnissen. Die Auftragungen der ermittelten apparenten Molmassen, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien für alle Komplexlösungen gegen die Zusammensetzung der Lösungen, ausgedrückt durch den Gewichtsbruch DNA, zeigen die Abbildungen 3.19-3.21. Es werden den Komplexen mit DNA-Überschuss (Kapitel 3.2) und den PVP47-pUC18-Komplexen (Anhang D) vergleichbare Verläufe erhalten. Die apparente Molmasse der Mischungen steigt in allen vier Fällen monoton mit dem Anteil DNA in den Lösungen. Eine Homopolymermischung kann durch Auftragung von $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ gegen w_{DNA} und Vergleich mit dem theoretischen Verlauf einer Homopolymermischung für alle vier Polykationen ausgeschlossen werden (Auftragungen nicht gezeigt). Die Trägheitsradien der aus den Bürsten gebildeten Komplexe nehmen zunächst mit dem Gewichtsbruch DNA ab (PVP26, PEI) oder entsprechen dem der vorgelegten Homopolymerbürste (PVP47), bei weiterer Erhöhung von $w(DNA)$ steigen die Trägheitsradien monoton. Ein vergleichbares Verhalten zeigen die hydrodynamischen Radien. Bei den PAMAM-DNA-Komplexen zeigen beide Radien eine lineare Zunahme als Funktion von $w(DNA)$. Sowohl die in Kapitel 3.2 untersuchten Komplexe mit DNA-Überschuss als auch die Ergebnisse der PVP47-pUC18-Komplexierung

haben gezeigt, dass die untersuchten Komplexlösungen stets Komplexe neben freier Überschuskomponente enthalten. Es ist somit davon auszugehen, dass die in Abbildung 3.19-3.21 aufgetragenen Größen eine Summe der Streubeiträge von Komplexen und freien, unkomplexierten Polykationen darstellen.

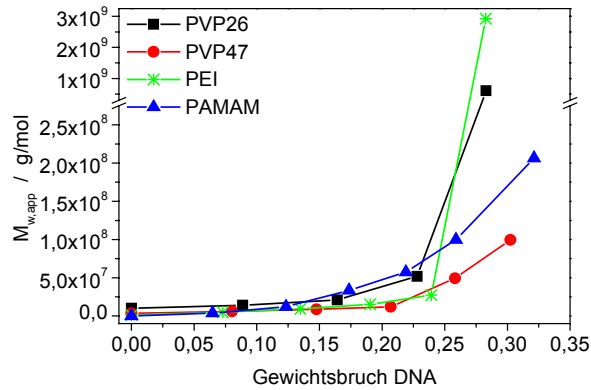


Abbildung 3.19: Apparente Molmasse der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

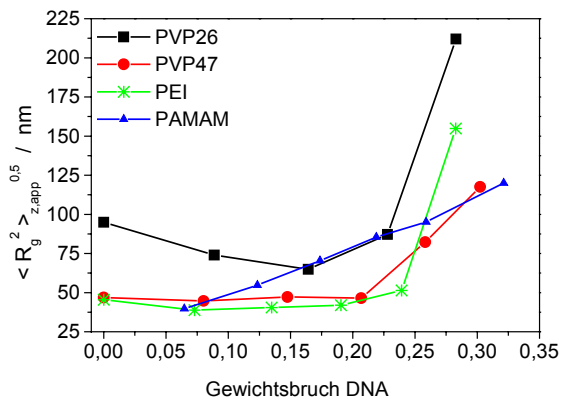


Abbildung 3.20: Apparenter Trägheitsradius der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

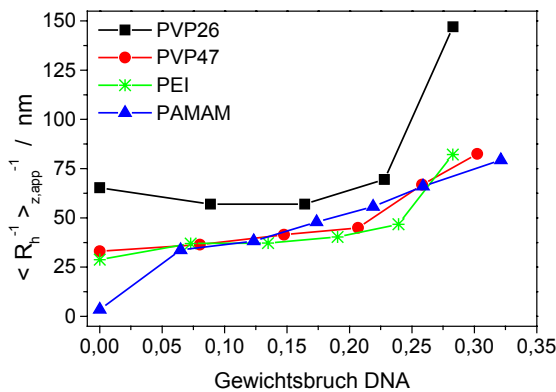


Abbildung 3.21: Apparenter hydrodynamischer Radius der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Abschätzung der Konzentration freien Polykations in den Komplexlösungen aus den Lichtstreudaten und Bestimmung der Stöchiometrie der Komplexe

Wie bei den Komplexen mit DNA-Überschuss zeigen die Lichtstreudaten der Komplexlösungen mit Polykation-Überschuss einen kritischen Gewichtsbruch, ab dem bei weiterer DNA-Zugabe die Molmassen und Radien entweder stark zunehmen (PVP26 und PEI) oder direkt das Ausfallen von Partikeln aus der Lösung beobachtet werden kann (PVP47 und PAMAM). Die für die vorliegenden Systeme bestimmten kritischen Gewichtsbrüche sind in Tabelle 3.9 zusammengefasst.

Im Fall der Komplexe mit DNA-Überschuss wurde für die Komplexe aller vier untersuchten Polykationen mit Hilfe von Gelelektrophorese gezeigt, dass in erster Näherung folgende Zusammenhänge bestehen:

1. Der kritische Gewichtsbruch ist gleichzusetzen mit dem Mischungsverhältnis, bei dem die Überschusskomponente (ÜK) vollständig verbraucht ist, d.h. es gilt die Beziehung $w(\text{DNA}, \text{krit.}) = w(\text{DNA}, c(\text{ÜK}, \text{unkomplexiert})=0)$.
2. Der Gewichtsbruch der unkomplexierten Überschusskomponente nimmt linear mit dem Gewichtsbruch DNA ab, d.h. es gilt die Beziehung $w(\text{ÜK}, \text{unkomplexiert}) \sim w(\text{DNA})$.

Unter diesen Voraussetzungen entspricht der kritische Gewichtsbruch dem Gewichtsbruch DNA in den Komplexen, $w(\text{DNA}, \text{krit.}) = w(\text{DNA}, \text{in den Komplexen})$. Ob beide Zusammenhänge auch für die hier untersuchten Komplexe bestehen, kann nicht abschließend auf der Basis der vorhandenen experimentellen Daten dieser Systeme geklärt werden. Die bisher untersuchten Systeme (Kapitel 3.2, Anhang D) legen jedoch nahe, dass sie für alle irreversibel gebildeten Interpolyelektrolyt-Komplexe bestehen.

So wurde für die PVP47-pUC18-Komplexe (Anhang D) mit Hilfe zweier unabhängiger Methoden ermittelt, dass oben genannte Zusammenhänge bestehen und bei einem Gewichtsbruch DNA von $0,33 \pm 0,04$ keine signifikanten Mengen unkomplexierter PVP47-Bürste mehr in der Lösung vorhanden sind. Dieser Gewichtsbruch entspricht im Rahmen des Fehlers dem kritischen Gewichtsbruch der PVP47-pUC19-Komplexe. Es ist somit zu prüfen, ob die verwendete DNA und die abweichende Konzentration bei der Komplexbildung einen Einfluss auf den kritischen Gewichtsbruch haben. Die in Kapitel 3.2 für die Komplexbildung mit DNA-Überschuss verwendeten Polykationen zeigen, dass eine

Vielzahl von Parametern (Molmasse, Topologie, Ort der Ladungen, Anzahl der Ladungen pro Polykation etc.) keinen Einfluss darauf haben, ob oben genannte Zusammenhänge erfüllt werden. Dies lässt den Schluss zu, dass auch die inverse Orientierung einer kurzen Sequenz der DNA (Unterschied zwischen pUC19- und pUC18-supercoiled-DNA ist die inverse Orientierung des Polylinkers; Molmasse, Anzahl Basenpaare, relative Häufigkeit der Basen und Struktur der DNA sind identisch) keinen Einfluss hat. Des Weiteren zeigen die Experimente in Kapitel 3.4, dass die Polymerkonzentration bei der Komplexbildung keinen signifikanten Einfluss auf den kritischen Gewichtsbruch hat.

Die aus der Massenstöchiometrie bestimmten (N+)/P-Verhältnis der Komplexe mit Polykation-Überschuss sind alle deutlich größer als 1, d.h. die Komplexe mit Polykation-Überschuss besitzen einen großen positiven Ladungsüberschuss (Tabelle 3.9). Für die Komplexe von PVP26, PVP47 und PAMAM beträgt dieser Ladungsüberschuss übereinstimmend das 2,5- bis 3-fache der DNA-Ladungen. Im Fall der PEI-DNA-Komplexe weicht das (N+)/P-Verhältnis signifikant von dem der anderen Komplexen ab. Der Ladungsüberschuss beträgt hierbei das 5,6-fache der DNA-Ladungen. Für ein (N+)/P-Verhältnis von 2,7 müsste der kritische Gewichtsbruch $w(\text{DNA}, \text{krit.})$ einen Wert von 0,40 annehmen, was im Rahmen der durchgeführten Messungen auszuschließen ist. Warum die Ladungsstöchiometrie der PEI-DNA-Komplexe von denen der anderen signifikant abweicht, kann auf Basis der durchgeführten Untersuchungen nicht erklärt werden. Die Ladungsstöchiometrie der Komplexe wird somit maßgeblich davon beeinflusst, welcher der beiden Polyelektrolyte bei der Komplexbildung im Überschuss vorgelegt wird. Diese Unsymmetrie bezüglich der Ladungsstöchiometrie wird zu einem späteren Zeitpunkt auf der Basis der Ladungen pro Konturlänge erklärt.

Die gefundene Ladungsstöchiometrie der PEI-Bürsten-DNA-Komplexe mit einem (N+)/P-Verhältnis von 5,6 entspricht nicht den von Boeckle et al. [Boec04] gefundenen Werten an DNA-Komplexen mit linearem oder verzweigtem PEI. Hergestellt wurden diese Komplexe bei einer globalen Zusammensetzung der Mischung mit N/P gleich 6 und 12. Der Anteil an freiem PEI konnte in diesem Fall direkt an den Komplexlösungen mit Hilfe von GPC bestimmt werden, da im Vergleich zu den im Rahmen dieses Kapitels untersuchten Komplexierungen mit 100-fach höheren Polymerkonzentrationen bei der Komplexbildung gearbeitet wurde und so GPC eine quantitative Methode zur Konzentrationsbestimmung darstellt. Für die Komplexstöchiometrie wurde unabhängig von der Zusammensetzung der

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Lösung und der Topologie des PEI ein Wert von $N/P = 2,5$ ermittelt, der bei dem verwendeten pH von 7 zu einer Ladungsstöchiometrie der Komplexe von $(N+)/P = 1,25$ führt. Diese Abweichung von der der PEI-Bürsten-DNA-Komplexe kann damit erklärt werden, dass im Fall der Bürsten die Anzahl Ladungen pro Konturlänge um ein Vielfaches erhöht ist.

Tabelle 3.9: Kritische Gewichtsbrüche und daraus bestimmte Massen- und Ladungsstöchiometrie der Komplexe

Polykation	Kritischer Gewichtsbruch $w(\text{DNA, krit.})$	$(N+)/P$-Verhältnis
PVP26	$0,23 \pm 0,05$	$3,0 \pm 0,8$
PVP47	$0,30 \pm 0,05$	$2,4 \pm 0,6$
PEI	$0,24 \pm 0,05$	$5,6 \pm 1,5$
PAMAM	$0,32 \pm 0,06$	$2,9 \pm 0,8$

Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter Polykationen von dem Streuverhalten der Komplexlösungen

Durch Subtraktion des Anteils unkomplexierter Polykationen von dem Streuverhalten der Komplexlösungen können die Molmasse, der Trägheitsradius und der hydrodynamische Radius der Komplexe bestimmt werden. Dieser Formalismus unter Verwendung der gleichen mathematischen Beziehungen entspricht dem in dem vorangegangenen Kapitel. Es sei noch einmal darauf hingewiesen, dass die im vorherigen Abschnitt diskutierten Zusammenhänge bestehen müssen, damit dieser Formalismus angewendet werden darf. Zudem darf keine Fraktionierung der Polykationen durch die Komplexbildung auftreten. Für die PVP47-pUC18-Komplexe konnte eine signifikante Fraktionierung der PVP47-Bürste durch die Komplexbildung experimentell ausgeschlossen werden (Anhang D). Die Ergebnisse der durch Subtraktion des Anteils unkomplexierter Polykationen bestimmten Molmassen und Radien der Komplexe sind in Anhang F.2 tabelliert.

Die Größe der Bürsten-Komplexe unterscheidet sich wie bei DNA-Überschuss (Kapitel 3.2) kaum von der der Dendrimer-Komplexe. Allerdings zeigen die Molmassen (Abb. 3.22) und Radien (Abb. 3.23 und 3.24) der Bürsten-Komplexe einen Anfangsbereich, in dem die Komplexgrößen im Rahmen des Fehlers konstant sind (Bereich I), während die Komplexe der Dendrimere diesen ersten Bereich wie bei DNA-Überschuss nicht zeigen. Es werden somit unabhängig davon, welcher Komplexpartner bei der Komplexierung vorgelegt wird, vergleichbare Verläufe der Komplexgrößen erhalten. Die Molmassen und Radien der gebildeten Komplexe in Bereich I bzw. des gebildeten PAMAM-Komplexes mit geringstem

DNA-Gehalt in der Lösung sind in Tabelle 3.10 zusammengefasst. Da die (N+/P)-Verhältnisse der Komplexe deutlich größer 1 sind, ist der maximale Einfluss der Gegenionenfreisetzung auf die Molmasse der Komplexe mit Polykation-Überschuss deutlich geringer als bei DNA-Überschuss und liegt in der Größenordnung $< 5\%$. Aus diesem Grund wird die Gegenionenfreisetzung in Tabelle 3.10 für die Komplexe mit Polykation-Überschuss vernachlässigt.

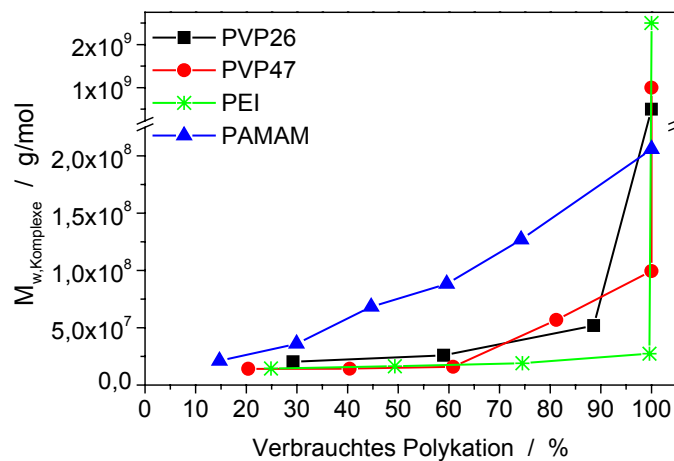


Abbildung 3.22: Molmasse der Komplexe als Funktion des Anteils komplexierten Polykations

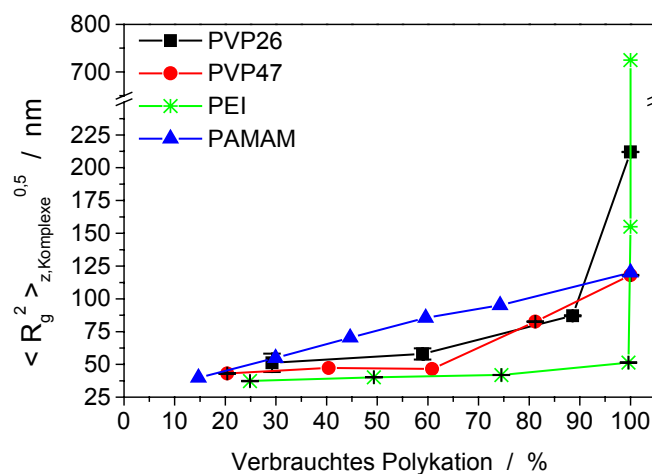


Abbildung 3.23: Trägheitsradius der Komplexe als Funktion des Anteils komplexierten Polykations

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

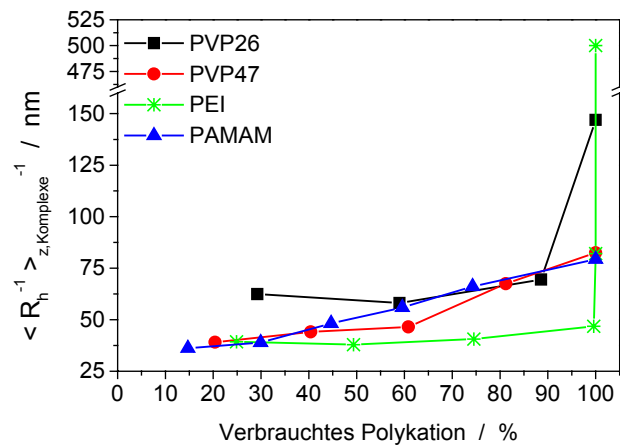


Abbildung 3.24: Hydrodynamischer Radius der Komplexe als Funktion des Anteils komplexierten Polykations

Tabelle 3.10: Molmassen und Radien der Komplexe in Bereich I

Polykation	$M_{w, \text{Komplexe}} / 10^6 \text{ g/mol}$	$\langle R_g^{2,0,5} \rangle_{z, \text{Komplexe}} / \text{nm}$	$\langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1} / \text{nm}$
PVP26	23 ± 3	55 ± 4	54 ± 3
PVP47	15 ± 1	46 ± 2	43 ± 4
PEI	17 ± 2	40 ± 2	39 ± 1
PAMAM	20 ± 4	40	36

Tabelle 3.11: Anzahl Ketten beider Komplexpartner pro Komplex

Polykation	Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex	Anzahl Polykation-Moleküle pro Komplex
PVP26	$3,2 \pm 0,4$	$9,4 \pm 1,2$
PVP47	$2,7 \pm 0,2$	12 ± 1
PEI	$2,4 \pm 0,3$	41 ± 6
PAMAM	$3,8 \pm 1,1$	460 ± 110

Aus den gemittelten Molmassen in Tabelle 3.10 kann die gewichtsgemittelte Anzahl Ketten beider Komponenten in den Komplexen berechnet werden (Tabelle 3.11). Es werden den Komplexen mit DNA-Überschuss vergleichbare Ergebnisse erhalten: i) die im Bereich I gebildeten Komplexe enthalten nicht die kleinstmögliche Anzahl Ketten beider Komplexpartner, sondern ein Vielfaches der Kettenstöchiometrie, ii) im Bereich II steigt die Molmasse monoton, so dass ein immer größeres Vielfaches der Kettenstöchiometrie erhalten wird, iii) die Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex liegt für alle untersuchten Systeme

zwischen 2,4 und 3,8 und somit innerhalb einer Größenordnung, iv) die Anzahl Polykation-Moleküle pro Komplex ist eine Funktion der Molmasse des Polykations.

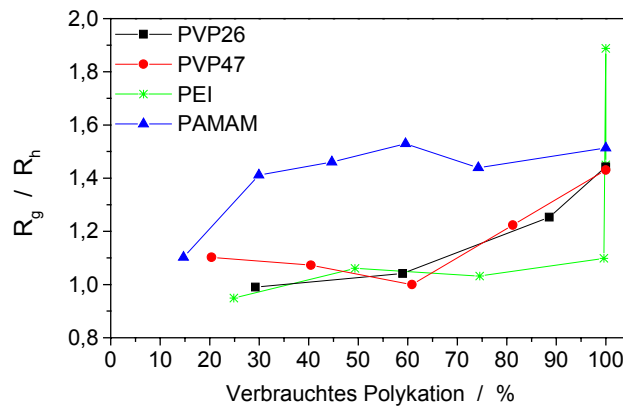


Abbildung 3.25: R_g/R_h der gebildeten Komplexe

Das Verhältnis von Trägheitsradius zu hydrodynamischem Radius der Bürsten-Komplexe nimmt im Rahmen des Fehlers einen Wert von 1,0 an (Abbildung 3.25), ein typischer Wert für polydisperse Kugeln bzw. ellipsoide Strukturen. Die Komplextopologie ist somit unabhängig davon, ob die DNA oder die Bürste vorgelegt wird. Die mikroskopischen Bilder der PVP47-pUC18-Komplexe (Anhang D) bestätigen und veranschaulichen diesen Befund. Für die Dendrimer-Komplexe wird ein signifikant erhöhtes Verhältnis von 1,4 ermittelt (Abbildung 3.25), was auf verschiedene Eigenschaften der gebildeten Komplexe zurückgeführt werden kann: i) sie sind offener (dies steht im Widerspruch zu der im weiteren Verlauf diskutierten Dichte der Komplexe), ii) sie sind deutlich polydispenser als die Komplexe der Bürsten, iii) sie sind anisotrop.

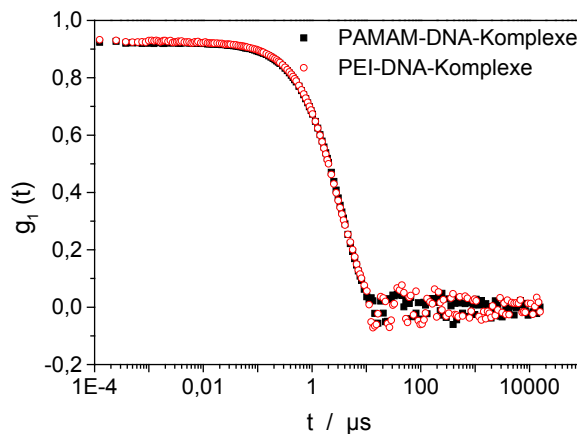


Abbildung 3.26: Vergleich der Korrelationsfunktion bei 30° für Komplexlösungen bestehend aus PAMAM-DNA- ($w(\text{DNA}) = 0,17$) und PEI-DNA-Komplexen ($w(\text{DNA}) = 0,24$).

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Abbildung 3.26 zeigt den Vergleich der Korrelationsfunktionen für Komplexlösungen bestehend aus PAMAM-DNA- ($w(\text{DNA}) = 0,17$) und PEI-DNA-Komplexen ($w(\text{DNA}) = 0,24$) bei einem Streuwinkel von 30° . Der Vergleich bei diesen Mischungsverhältnissen wurde gewählt, da die Korrelationsfunktionen beider Komplexlösungen in erster Näherung ausschließlich von den Komplexen bestimmt werden und die hydrodynamischen Radien im Rahmen des Fehlers übereinstimmen. Im Fall der PAMAM-DNA-Komplexe ist der Einfluss noch unkomplexierter PAMAM-Dendrimere ($w(\text{PAMAM, frei}) \sim 0,31$) auf die Korrelationsfunktion vernachlässigbar, da der Beitrag der unkomplexierten Dendrimere zur Gesamtstreuintensität gegenüber dem Beitrag der Komplexe vernachlässigbar ist (siehe Anhang A und Anhang F). Für die PEI-Komplexe ist der Gewichtsbruch freier PEI-Bürsten in erster Näherung gleich null. Der Vergleich der gemessenen Korrelationsfunktionen veranschaulicht sehr deutlich, dass die Polydispersitäten der gebildeten Komplexe nicht signifikant voneinander abweichen. Das signifikant erhöhte Verhältnis von Trägheitsradius zu hydrodynamischem Radius im Fall der Dendrimer-Komplexe ist folglich nur auf eine Anisotropie der gebildeten Komplexe zurückzuführen. Warum ausschließlich die Komplexierung von DNA mit im Überschuss vorgelegten, kugelförmigen Dendrimern zu anisotropen Komplexen führt, nicht jedoch mit zylindrischen Bürstenpolymeren, kann auf Basis der experimentellen Daten nicht verstanden werden.

Die Dichte der Komplexe, berechnet aus dem Trägheitsradius oder dem hydrodynamischen Radius, als Funktion des Prozentsatzes komplexierten Polykations zeigen die Abbildung 3.27 bzw. 3.28. Im Fall der Bürstenpolymere ist es aufgrund von $R_g/R_h \sim 1$ im Rahmen des Fehlers irrelevant, welcher Radius für die Berechnung der Dichte verwendet wird und es zeigt sich, dass die Dichte der Komplexe im Vergleich zu den freien, unkomplexierten Bürstenpolymeren signifikant erhöht ist. Sie beträgt für die Bürsten-Komplexe übereinstimmend ca. $0,06 - 0,1 \text{ g/cm}^3$ (Tabelle 3.12). Die Dendrimer-Komplexe weisen eine gegenüber den Bürsten-Komplexen signifikant erhöhte Dichte von $0,2 \text{ g/cm}^3$ auf, wobei aufgrund der Anisotropie nur die Dichte auf Basis von R_h aussagekräftig ist. Für die Dichten der Komplexe werden somit identische Abhängigkeiten vom verwendeten Polykation erhalten, unabhängig davon, welcher Komplexpartner vorgelegt wird. Dabei ist der Absolutwert der Dichten gegenüber den DNA-Überschusskomplexen signifikant für alle Systeme erniedrigt.

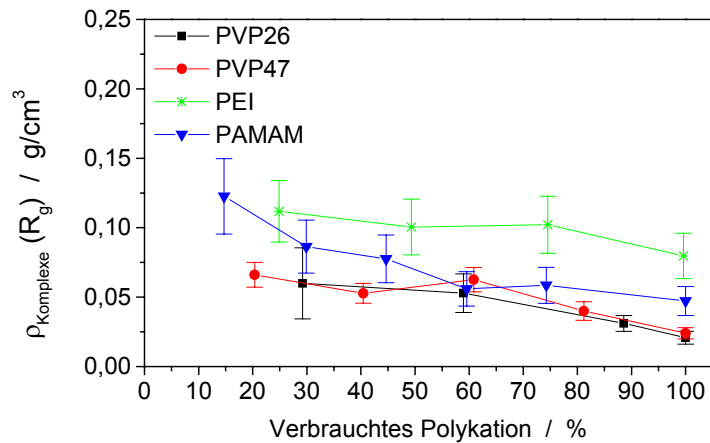


Abbildung 3.27: Dichte der Komplexe auf Basis von R_g

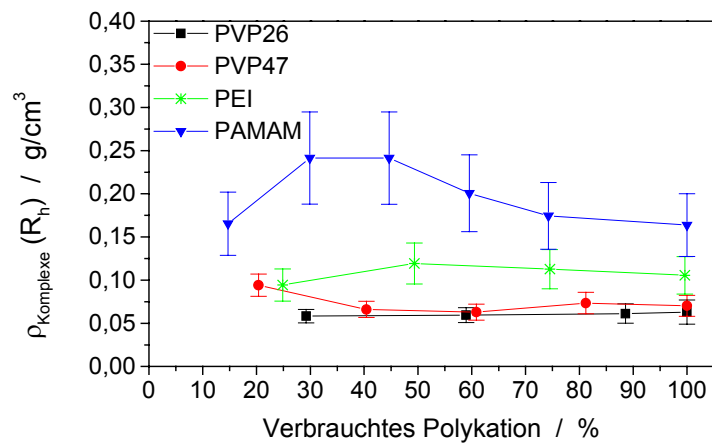


Abbildung 3.28: Dichte der Komplexe auf Basis von R_h

Tabelle 3.12: Dichte der Komplexe

Polykation	$\rho_{\text{Polykation}} (R_g) / \text{g/cm}^3$	$\rho_{\text{Komplex}} (R_g) / \text{g/cm}^3$	$\rho_{\text{Polykation}} (R_h) / \text{g/cm}^3$	$\rho_{\text{Komplex}} (R_h) / \text{g/cm}^3$
PVP26	0,005	$0,06 \pm 0,01$	0,01	$0,06 \pm 0,01$
PVP47	0,01	$0,06 \pm 0,01$	0,04	$0,07 \pm 0,01$
PEI	0,005	$0,10 \pm 0,01$	0,02	$0,11 \pm 0,01$
PAMAM	---	$0,07 \pm 0,01$	0,34	$0,21 \pm 0,03$

Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Auch die tropfenweise Zugabe einer Lösung von pUC19-supercoiled-DNA zu vorgelegten Lösungen der vier semiflexiblen Polykationen führt zur Bildung von Interpolyelektrolyt-Komplexen. Unabhängig davon, welcher Komplexpartner vorgelegt wird, werden für das Komplexierungsverhalten identische Gesetzmäßigkeiten gefunden: die Komplexe werden unter kinetischer Kontrolle gebildet und stellen Nicht-Gleichgewichtsstrukturen dar.

Besonders auffällig ist, dass die Anzahl DNA-Ketten pro Multi-Ketten-Komplex wiederum unabhängig vom verwendeten Polykation ist. Dies stützt die in Kapitel 3.2 formulierte Annahme, nach der die Konzentrationen der wechselwirkenden Polyionen im Eintropfvolumen die Größe der Komplexe bestimmen.

Neben dem im Vergleich zu Kapitel 3.2 in weiten Teilen identischen Verhalten werden jedoch vereinzelt auch Unterschiede beobachtet. Ein signifikanter Unterschied zu den mit vorgelegter DNA gebildeten Komplexen ist die gefundene Ladungsstöchiometrie. Werden die Polykationen vorgelegt, so ist der Ladungsüberschuss der vorgelegten Komponente in den resultierenden Komplexen deutlich erhöht. Eine Erklärung dieses Verhaltens ist auf Basis der Ladung pro Konturlänge der beteiligten Polyionen möglich (Tabelle 3.13). Aufgrund der im Vergleich zur DNA stark erhöhten Ladung pro Konturlänge der Polykationen ist es nicht möglich, dass alle geladenen Gruppen der Polykationen Ionenpaare mit den Phosphatgruppen der DNA bilden. Für eine vollständige Neutralisierung aller Ladungen der Polykationen müssten die DNA-Moleküle eine Vielzahl von Schlaufen bilden. Dies ist aufgrund der kinetisch kontrollierten Komplexbildung jedoch nicht möglich. Folglich liegt eine große Anzahl kationischer Gruppen noch frei in den Komplexen vor, woraus die beobachtete, stark erhöhte Ladungsstöchiometrie zugunsten positiver Ladungen folgt. Warum dieser Effekt im Fall der PEI-Bürsten nochmals erhöht ist, kann auf Basis der experimentellen Daten nicht erklärt werden.

Die Ladungsstöchiometrie der Komplexe wird somit maßgeblich davon beeinflusst, welcher der beiden Polyelektrolyte bei der Komplexbildung im Überschuss vorgelegt wird. Diese Unsymmetrie bezüglich der Ladungsstöchiometrie ist in den verschiedenen Ladungen pro Konturlänge beider Komplexpartner begründet.

Ein weiterer, sehr überraschender Unterschied ist die für die PAMAM-DNA-Komplexe gefundene Anisotropie. Dass die Komplexbildung in diesem Fall thermodynamisch kontrolliert abläuft und aus diesem Grund die topologische Information der DNA erhalten

bleibt, ist auf Basis der weiteren Ergebnisse jedoch auszuschließen: i) die Molmasse der Komplexe steigt stark mit dem Anteil DNA in der Lösung, ii) bei Erreichen des kritischen Mischungsverhältnisses fallen die gebildeten Komplexe aus, iii) die Anzahl der Ketten pro Komplex zeigt, dass Multi-Kern-Komplexe gebildet werden. Es ist somit davon auszugehen, dass bei der kinetisch kontrollierten Komplexbildung das Wachstum der Komplexe in eine Raumrichtung behindert wird. Wodurch dies hervorgerufen wird und warum ausschließlich die Komplexierung von DNA mit im Überschuss vorgelegten, kugelförmigen Dendrimeren zu anisotropen Komplexen führt, nicht jedoch mit zylindrischen Bürstenpolymeren, kann auf Basis der experimentellen Daten nicht verstanden werden.

Tabelle 3.13: Ladung pro Konturlänge der Polyionen

Polyion	Anzahl Ladungen pro nm Konturlänge
DNA ¹	5,9
PVP26 ²	48
PVP47 ²	100
PEI ²	55
PAMAM ³	19

¹Für die DNA entspricht die Länge pro Basenpaar 0,34 nm (siehe Anhang C).

²Im Fall der Bürstenpolymere wird die Anzahl Ladungen pro nm Konturlänge unter der Annahme einer Konturlänge pro Makromonomer berechnet (verwendete Daten siehe Anhang C).

³Für die PAMAM-Dendrimere ist keine Konturlänge definierbar. Zur Berechnung des angegebenen wurde die Konturlänge durch den Durchmesser der kugelförmigen Dendrimere ersetzt (Werte siehe Anhang C).

Kapitel 3.4 Variation der Konzentration

Bisher wurde die Komplexierung von DNA ausschließlich in hochverdünnter Lösung bei konstanter Gesamtkonzentration der Komponenten untersucht. Der Einfluss der Gesamtkonzentration auf das Komplexbildungsverhalten ist Gegenstand dieses Kapitels. Dabei sollen sowohl Änderungen der absoluten wie auch der relativen Konzentrationen untersucht werden. Als Modellsystem für diese Experimente dient das System DNA-PVP26. Auf Basis der in Kapitel 3.2 und 3.3 gezeigten Experimente wird zunächst die Konzentration

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

beider Komponenten um Faktor 10 erhöht, d.h. sowohl die vorgelegte wie auch die zugetropfte Lösung besitzen eine Konzentration von 25 mg/L (Änderung der absoluten Konzentration). Im zweiten Schritt wird die Konzentration der zugetropften Komponente nochmals um Faktor 4 erhöht, d.h. die vorgelegte Lösung besitzt weiterhin eine Konzentration von 25 mg/L, die zutitrierte eine Konzentration von 100 mg/L (Änderung der relativen Konzentration). Alle weiteren experimentellen Parameter entsprechen denen in Kapitel 3.2 und 3.3.

Lichtstreuung an den Komplexlösungen

Die Auswertung der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen führt zu den in Anhang F.2 zusammengefassten Ergebnissen. Die Auftragungen der ermittelten apparenten Molmassen, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien für alle Komplexlösungen gegen die Zusammensetzung der Lösungen, ausgedrückt durch den Gewichtsbruch DNA, zeigen die Abbildungen 3.29 bis 3.32.

Wie bei den bisher untersuchten Systemen (Kapitel 3.2 und 3.3) steigen die Molmassen der Mischungen mit der Menge zugegebenen Komplexpartners zunächst monoton innerhalb einer Größenordnung, bis sie am kritischen Gewichtsbruch stark zunehmen (Abb. 3.29 und 3.30). Einzige Ausnahme stellt das System „DNA (25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (100 mg/L) zugegeben“ dar, für das die Molmasse der Mischung ein Plateau durchläuft, worauf später genauer eingegangen wird. Für Mischungsverhältnisse kleiner dem kritischen Gewichtsbruch zeigen die durchgeführten Messungen übereinstimmend, dass sowohl Erhöhungen der Konzentrationen beider Komponenten wie auch nur der Konzentration des zugegebenen Polyions zu Erhöhungen der Molmassen führen, unabhängig davon, welcher Polyelektrolyt vorgelegt wird. Die Trägheitsradien und die hydrodynamischen Radien der Mischungen zeigen diese Konzentrationsabhängigkeit in gleicher Weise: für alle Mischungsverhältnisse kleiner dem kritischen Gewichtsbruch gilt streng (Abb. 3.31 und 3.32):

$$R_{g/h}(2,5 \text{ mg/L} + 2,5 \text{ mg/L}) < R_{g/h}(25 \text{ mg/L} + 25 \text{ mg/L}) < R_{g/h}(25 \text{ mg/L} + 100 \text{ mg/L}).$$

Wird der kritische Gewichtsbruch überschritten ist kein signifikanter Einfluss der Konzentration mehr zu beobachten.

Besonders stark ausgeprägt ist der Unterschied zwischen den verschiedenen Konzentrationen im Fall des Trägheitsradius der Mischungen (Abb. 3.31). Bei der niedrigsten

Konzentration (2,5 mg/L + 2,5 mg/L) nimmt der Trägheitsradius für kleine Mischungsverhältnisse zunächst ab, durchläuft ein Minimum und steigt schließlich wieder. Die bei dieser Konzentration gebildeten Komplexe sind somit kleiner als die jeweilige vorgelegte Ausgangskomponente. Wird die Konzentration beider um den Faktor 10 erhöht, so sind die Trägheitsradien zunächst in der Größenordnung der Ausgangskomponente, gefolgt von einer monotonen Zunahme. Bei Erhöhung der Konzentration des zutropften Polyelektrolyts (25 mg/L + 100 mg/L) ist der Verlauf abhängig vom System: wird die DNA vorgelegt, so steigt der Trägheitsradius direkt bei der ersten Zugabe auf ein vergleichsweise hohes Niveau und ist in der Folge unabhängig von weiteren PVP26-Zugaben. Dieses Niveau entspricht den Trägheitsradien der beiden anderen Systeme mit vorgelegter DNA nach Überschreiten des kritischen Gewichtsbruchs. Bei Zutropfen der DNA zu vorgelegtem PVP26 hingegen steigt der Trägheitsradius monoton als Funktion des Mischungsverhältnisses. Die hydrodynamischen Radien der Mischungen zeigen einen den Trägheitsradien ähnlichen Verlauf (Abb. 3.32).

Die apparenten Molmassen und die apparenten Radien der Mischungen zeigen für alle Mischungsverhältnisse kleiner dem kritischen Gewichtsbruch eine einheitliche Konzentrationsabhängigkeit: die Werte nehmen in der folgenden Reihenfolge streng zu:

$$(2,5 \text{ mg/L} + 2,5 \text{ mg/L}) < (25 \text{ mg/L} + 25 \text{ mg/L}) < (25 \text{ mg/L} + 100 \text{ mg/L}).$$

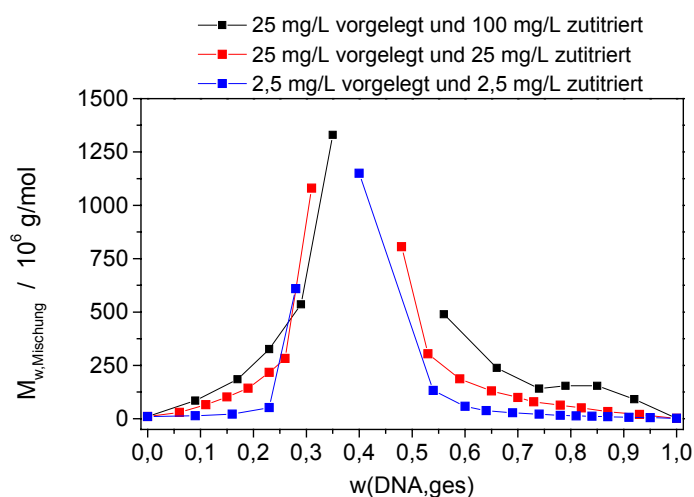


Abbildung 3.29: Apparente Molmasse der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

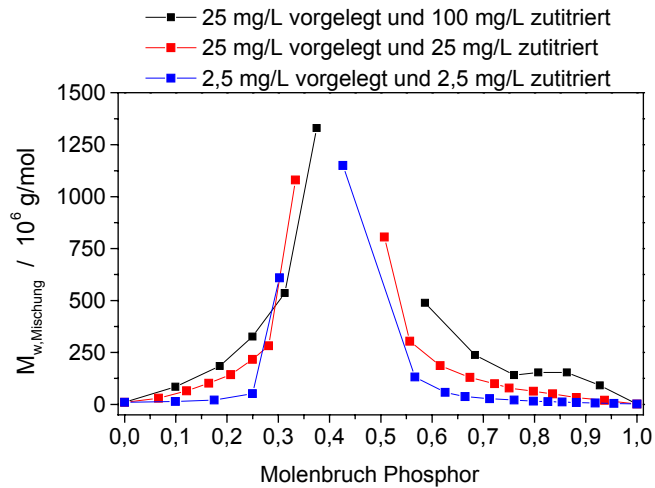


Abbildung 3.30: Apparente Molmasse der Komplexlösungen als Funktion des Molenbruchs DNA-Basen

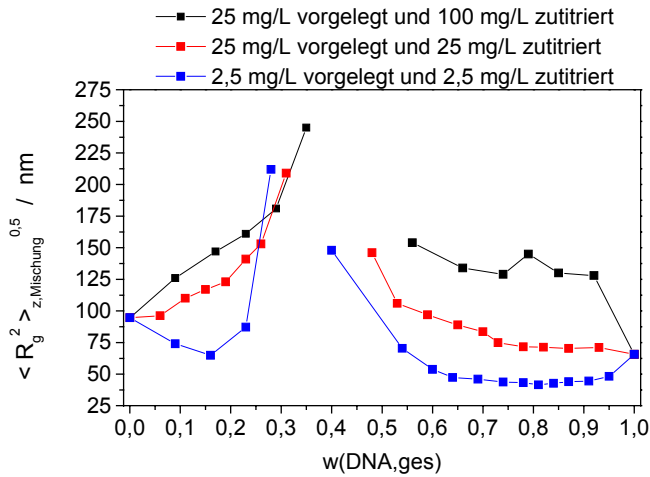


Abbildung 3.31: Apparenter Trägheitsradius der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

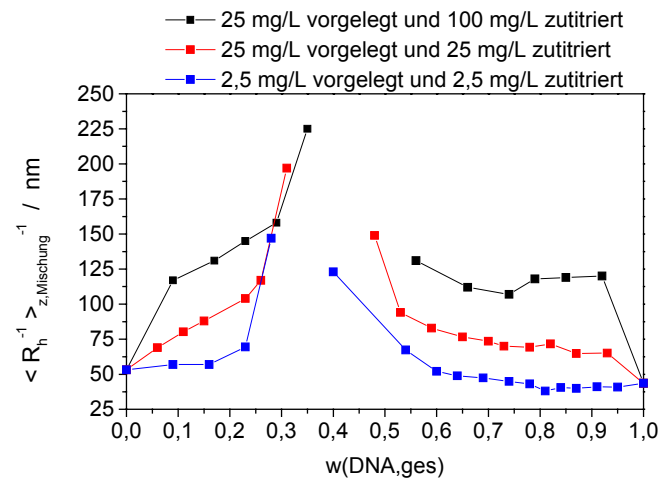


Abbildung 3.32: Apparenter hydrodynamischer Radius der Komplexlösungen als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Besonderheiten des Systems „DNA (25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (100 mg/L) zugegeben“

Für das System „DNA (25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (100 mg/L) zugegeben“ zeigt die Molmasse im Bereich $w(\text{DNA}_{\text{ges}})$ von 0,85 bis 0,75 überraschend keine Veränderung. Übereinstimmend sind die gemessenen Radien der Mischungen im Rahmen des Fehlers konstant. Die Radien sind jedoch nicht nur in diesem Bereich konstant, sondern für alle Mischungsverhältnisse dieses Systems und somit prinzipiell unabhängig von $w(\text{DNA})$. Da die Produkte $M_w \cdot R_g$ bzw. $M_w \cdot R_h$ der Komplexe das der freien, unkomplexierten DNA um Zehnerpotenzen übersteigen, entsprechen hier im Rahmen des Fehlers die Radien der Mischungen denen der Komplexe. Folglich sind die Radien der Komplexe unabhängig von der Menge zugegebenen PVP26. Zudem ist auffällig, dass diese Radien den Radien der beiden anderen DNA-PVP26-Systeme mit DNA vorgelegt entsprechen, sobald hier das Mischungsverhältnis kleiner als $w(\text{DNA}_{\text{krit.}})$ ist.

Dieses Verhalten kann damit erklärt werden, dass für das System DNA – 25 mg/L vorgelegt und PVP26 – 100 mg/L zugegeben bereits bei der ersten PVP26-Zugabe Komplexe gebildet werden, deren Größe die Maximalgröße für wasserlösliche Komplexe mit DNA-Schale darstellt. Werden diese durch neu zugegebene Polykationmoleküle verbrückt, so entstehen Komplexe, die in Wasser unlöslich sind und ausfallen. Aufgrund der hohen Streuintensitäten der Lösungen konnte kein Ausfallen experimentell durch Beobachten des Küvettenbodens im Laserstrahl nachgewiesen werden, wie es im Fall anderer Proben mit geringerer Streuintensität oder einem Ausfallen signifikanter Mengen (z. B. bei der letzten Zugabe dieser Messreihe) möglich ist. Folge des Ausfallens ist die Verringerung der Gesamtkonzentration in der Lösung. Für die Auswertung der Lichtstreuung wird somit eine zu hohe Konzentration verwendet, was zu einer um diesen Faktor zu geringen, apparenten Molmasse der Mischung führt. Die für das System DNA – 25 mg/L vorgelegt und PVP26 – 100 mg/L zugegeben bestimmten Molmassen sind in diesem Fall nicht quantitativ auswertbar.

Warum DNA-PVP26-Komplexe mit DNA-Schale eine Maximalgröße aufweisen ist auf Basis der durchgeführten Experimente nicht zu erklären.

Kritische Gewichtsbrüche

Aus den Verläufen der Lichtstreuung kann der kritische Gewichtsbruch für die jeweiligen Systeme bestimmt und der Einfluss der Konzentration auf diesen untersucht werden. Die abgeschätzten Werte sind in Tabelle 3.13 zusammengefasst. Dabei zeigt sich, dass der kritische Gewichtsbruch des jeweiligen Systems im Rahmen des Fehlers unabhängig von der Konzentration ist.

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Für diesen experimentellen Befund gibt es zwei mögliche Erklärungen. Zum einen kann dies bedeuten, dass die Stöchiometrie der Komplexe unabhängig von der Polymerkonzentration ist, bei der die Komplexbildung stattfindet. Die Stöchiometrie der Komplexe ist in diesem Fall ladungskontrolliert und die Verbrückung von Primär- und Sekundärkomplexen tritt in signifikantem Maße bei vollständigem Verbrauch der Überschusskomponente auf.

Im zweiten Fall, der exemplarisch für die DNA-Überschuss-Komplexe diskutiert werden soll, verringert sich der Gewichtsbruch DNA in den Komplexen als Funktion der Polymerkonzentration bei der Komplexbildung. Eine Erhöhung des Massenanteils DNA in den Komplexen ist prinzipiell auszuschließen, da die Verbückung von Primär- und Sekundärkomplexen ausbleiben würde, obwohl keine freie DNA mehr in der Lösung vorhanden ist.

Verringert sich der Massenanteil DNA in den Komplexen mit der Konzentration, so erhöht sich die relative Anzahl freier DNA-Moleküle pro Komplex bei vergleichbaren Mischungsverhältnissen. Da mit höherer Konzentration die Molmassen und die Radien der Komplexe stark zunehmen, ist die reale Konzentration Komplexe im Eintropfvolumen signifikant geringer. Daraus folgt, dass das Verhältnis der Anzahl freier DNA-Moleküle zu Komplexen im Eintropfvolumen stark erhöht wird. Dies sollte eine Verschiebung des kritischen Gewichtsbruchs hin zu geringeren $w(\text{DNA,ges})$ -Werten zur Folge haben, was den experimentellen Befunden widerspricht.

Die konzentrationsabhängigen Untersuchungen der Komplexbildung legen somit den Schluss nahe, dass die Stöchiometrie der Komplexe unabhängig von der Konzentration der beiden Komplexpartner ist.

Tabelle 3.13: Kritischer Gewichtsbruch $w(\text{DNA,krit.})$ für die untersuchten Systeme

Konzentration	$w(\text{DNA,krit.})$ – DNA vorgelegt	$w(\text{DNA,krit.})$ – PVP26 vorgelegt
2,5 mg/L + 2,5 mg/L	$0,54 \pm 0,14$	$0,23 \pm 0,05$
25 mg/L + 25 mg/L	$0,53 \pm 0,05$	$0,26 \pm 0,05$
25 mg/L + 100 mg/L	$0,56 \pm 0,10$	$0,29 \pm 0,06$

Molmasse und Radien der Komplexe und Anzahl Ketten beider Komponenten pro Komplex

Unter den bereits in Kapitel 3.3 diskutierten Annahmen kann mit Hilfe des kritischen Gewichtsbruchs die Konzentration unkomplexierter Überschuskomponente in den Komplexlösungen berechnet werden (für das System DNA (2,5 mg/L) vorgelegt und PVP26 (2,5 mg/L) zugegeben werden die Ergebnisse der Gelelektrophorese verwendet). Durch Subtraktion des Anteils unkomplexierter Überschuskomponente von dem Streuverhalten der Komplexlösungen können die Molmasse, der Trägheitsradius und der hydrodynamische Radius der Komplexe bestimmt werden. Die Ergebnisse dieser Subtraktion sind in Anhang F.2 zusammengefasst.

Tabelle 3.14: Molmassen und Anzahl Moleküle pro Komplex in Bereich I bzw. des ersten Messwerts

System	$M_{w,Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$	Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex	Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex
DNA (2,5 mg/L) + PVP26 (2,5 mg/L)	29 ± 1	$9,2 \pm 0,5$	$7,1 \pm 0,5$
DNA (25 mg/L) + PVP26 (25 mg/L)	110 ± 10	36 ± 2	28 ± 2
DNA (25 mg/L) + PVP26 (100 mg/L)	460 ± 10	160 ± 30	110 ± 20
PVP26 (2,5 mg/L) + DNA (2,5 mg/L)	23 ± 3	$3,2 \pm 0,4$	$9,4 \pm 1,2$
PVP26 (25 mg/L) + DNA (25 mg/L)	120 ± 30	19 ± 5	47 ± 13
PVP26 (25 mg/L) + DNA (100 mg/L)	290 ± 40	50 ± 7	110 ± 10

Für die Molmasse (Abb. 3.33 und 3.34, Tabelle 3.14) und die Radien (Abb. 3.35 bis 3.38) der Komplexe gilt übereinstimmend, dass deren Absolutwerte mit der Konzentration zunehmen. Dies gilt sowohl für die Erhöhung der Absolutkonzentration als auch die Erhöhung der relativen Konzentration der zugetropften Komponente. Die Verläufe der Molmasse als Funktion des Mischungsverhältnisses zeigen in erster Näherung keine Abhängigkeit von der Konzentration (mit Ausnahme des bereits diskutierten Systems DNA (25 mg/L) + PVP26 (100 mg/L)): es werden wie bei den niedrigsten Konzentrationen 3

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Bereiche für den Verlauf der Molmasse erhalten. Die Radien der Komplexe verhalten sich hingegen uneinheitlich: bei DNA-Überschuss werden 3 Bereiche erhalten, im Fall der PVP26-Überschusskomplexe existiert der erste Bereich für die beiden höheren Konzentrationen nicht.

Nach Erreichen des kritischen Gewichtsbruchs zeigen die Komplexe mit PVP26-Überschuss einen universellen, konzentrations-unabhängigen Verlauf. Für die DNA-Überschusskomplexe kann dies auf Basis der vorliegenden Daten weder eindeutig nachgewiesen noch ausgeschlossen werden. Die Anzahl Ketten pro Komplex in Bereich I bzw. für den ersten Messwert zeigt wie die Molmasse eine starke Abhängigkeit von der Konzentration (Tabelle 3.14). Die lokalen Konzentrationen der Komponenten an der Eintropfstelle bestimmen die Anzahl Ketten pro Komplex, d.h. je höher die relativen und/oder absoluten Konzentrationen der Komponenten an der Eintropfstelle sind, desto größer sind die gebildeten Komplexe. Daraus folgt, dass die Bildung der vorliegenden DNA-PVP26-Komplexe irreversibel und unter kinetischer Kontrolle verläuft.

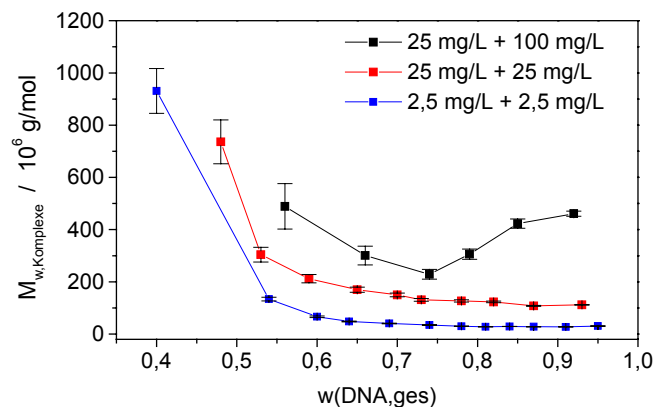


Abbildung 3.33: Molmasse der Komplexe mit DNA-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

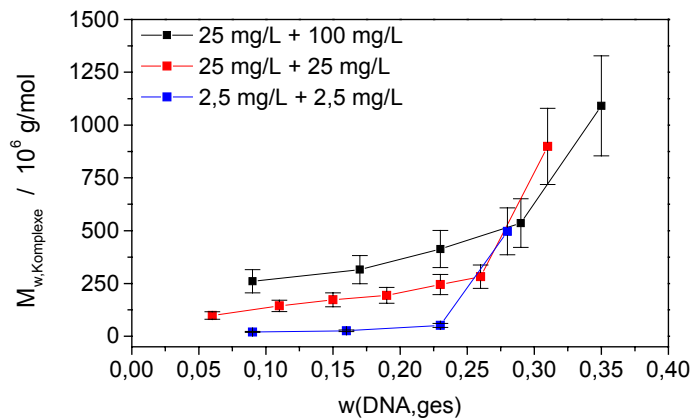


Abbildung 3.34: Molmasse der Komplexe mit PVP26-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

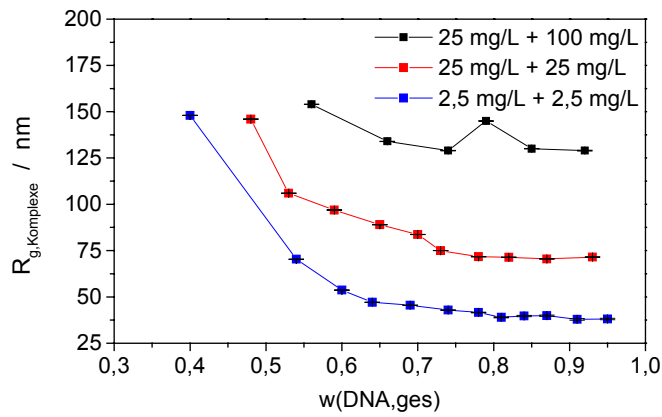


Abbildung 3.35: Trägheitsradius der Komplexe mit DNA-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

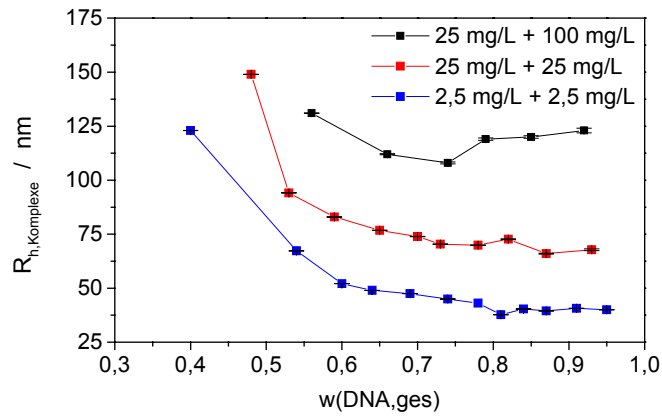


Abbildung 3.36: Hydrodynamischer Radius der Komplexe mit DNA-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

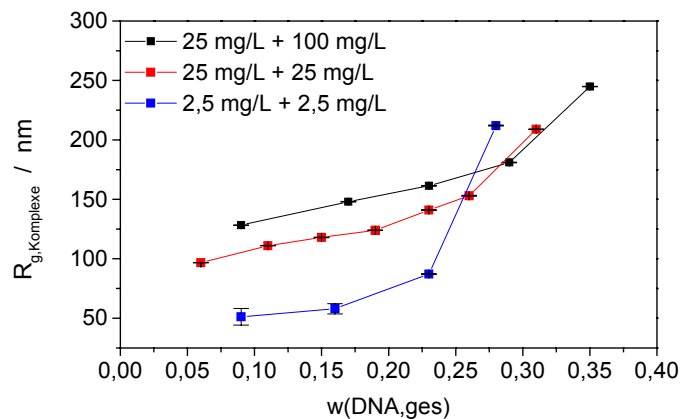


Abbildung 3.37: Trägheitsradius der Komplexe mit PVP26-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

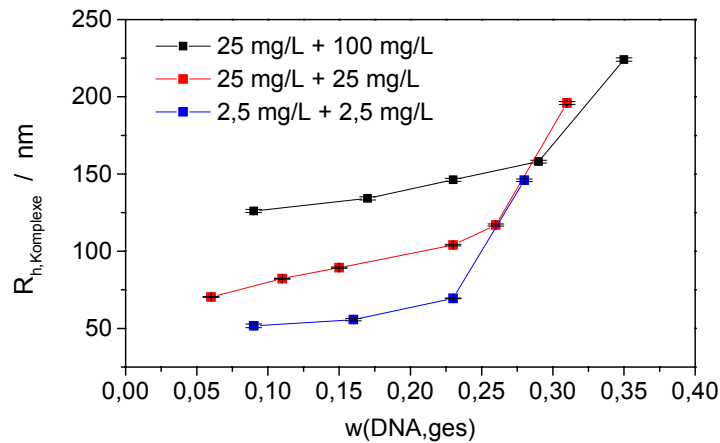


Abbildung 3.38: Hydrodynamischer Radius der Komplexe mit PVP26-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Topologie und Dichte der Komplexe

Das Verhältnis R_g/R_h der Komplexe mit vorgelegter DNA ist für alle Mischungsverhältnisse im Bereich von 0,9 bis 1,2 (Abb. 3.39). Die für höhere Konzentrationen leicht erhöhten Verhältnisse sind wahrscheinlich auf eine erhöhte Polydispersität der Komplexe zurückzuführen. Daraus folgt, dass die Topologie der Komplexe nicht von der Konzentration bei der Komplexbildung abhängt.

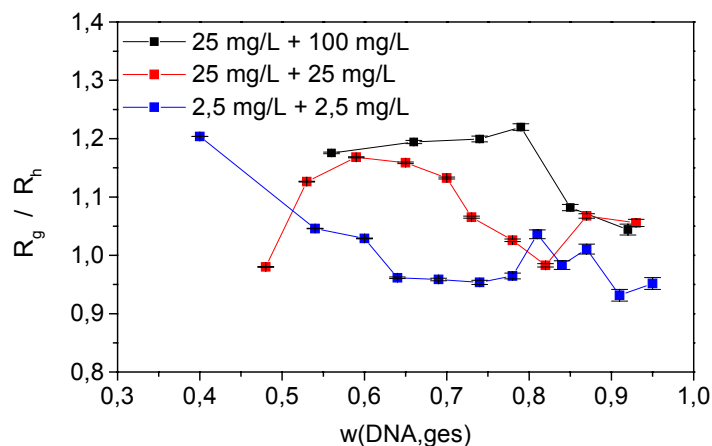


Abbildung 3.39: R_g/R_h der Komplexe mit DNA-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Entscheidenden Einfluss hat die Konzentration auf die Dichte der mit vorgelegter DNA gebildeten Komplexe (Abb. 3.40 und 3.41, Tabelle 3.15). Je geringer die

Gesamtkonzentration bei der Komplexbildung ist, desto höher ist die Dichte der gebildeten Komplexe.

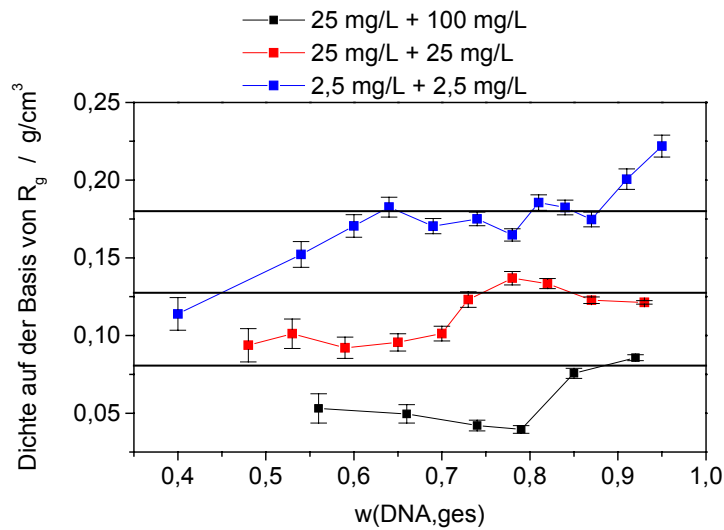


Abbildung 3.40: Dichte der Komplexe auf Basis von R_g mit DNA-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

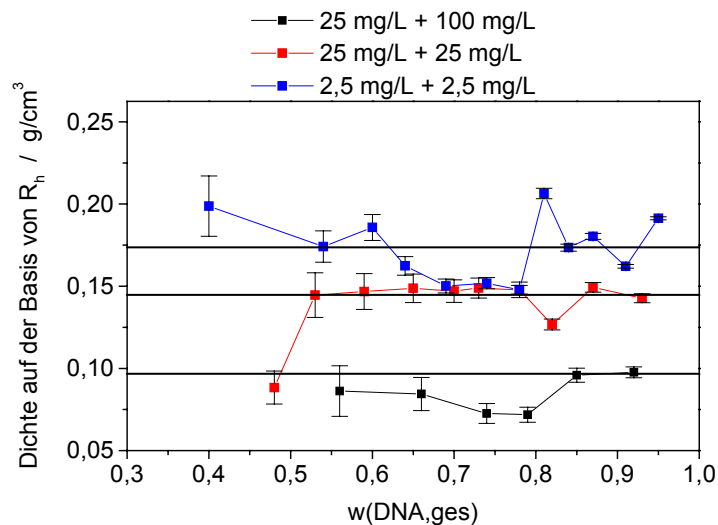


Abbildung 3.41: Dichte der Komplexe auf Basis von R_h mit DNA-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Für die Komplexe mit PVP26-vorgelegt ist das Verhalten weniger eindeutig. Für die höchste Gesamtkonzentration ist das Verhältnis R_g/R_h für alle Mischungsverhältnisse gleich 1 (Abb. 3.42). Bei der mittleren Konzentration ist dieses für kleine $w(\text{DNA})$ zunächst signifikant erhöht (1,4), fällt jedoch am kritischen Gewichtsbruch auf 1,0 ab. Ein entgegengesetzter Verlauf wird für die niedrigste Konzentration erhalten. Unter der Annahme, dass diese Erhöhungen auf das Vorliegen von Polydispersität zurückzuführen sind, folgt auch

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

für die Komplexe mit PVP26-vorgelegt eine von der Gesamtkonzentration unabhängige Topologie.

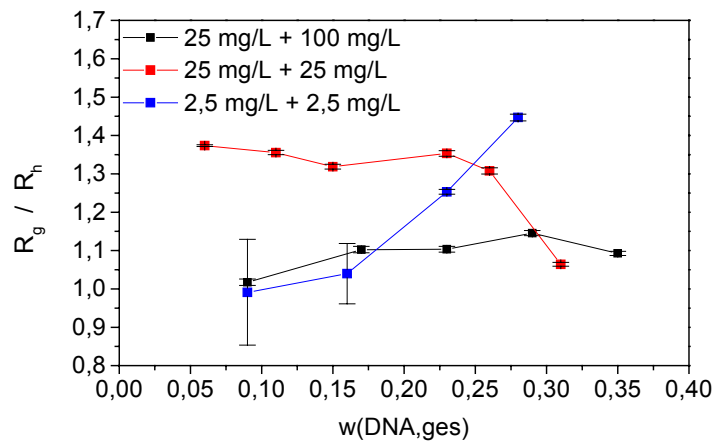


Abbildung 3.42: R_g/R_h der Komplexe mit PVP26-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Im Unterschied zu den Komplexen mit DNA-vorgelegt zeigen die Komplexe mit PVP26-vorgelegt keine Konzentrationsabhängigkeit der Dichte (Abb. 3.43 und 3.44, Tabelle 3.15)

Tabelle 3.15: Dichte der Komplexe

System	$\rho_{\text{Komplex}} (R_g) / \text{g/cm}^3$	$\rho_{\text{Komplex}} (R_h) / \text{g/cm}^3$
DNA (2,5 mg/L) + PVP26 (2,5 mg/L)	$0,17 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,02$
DNA (25 mg/L) + PVP26 (25 mg/L)	$0,13 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$
DNA (25 mg/L) + PVP26 (100 mg/L)	$0,08 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$
PVP26 (2,5 mg/L) + DNA (2,5 mg/L)	$0,06 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$
PVP26 (25 mg/L) + DNA (25 mg/L)	$0,04 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,02$
PVP26 (25 mg/L) + DNA (100 mg/L)	$0,04 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$

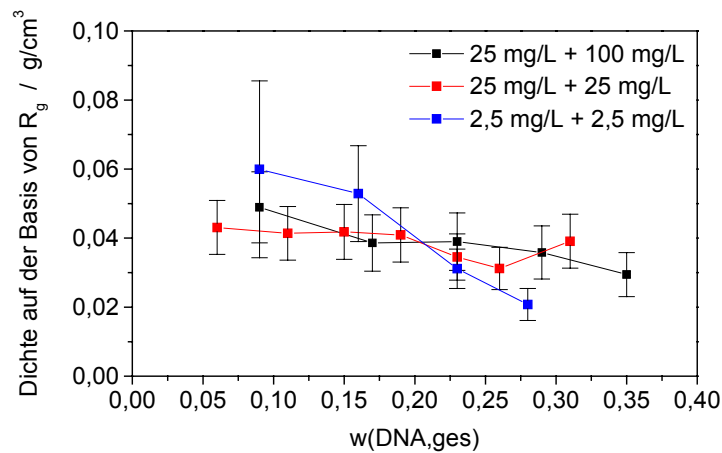


Abbildung 3.43: Dichte der Komplexe auf Basis von Rg mit PVP26-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

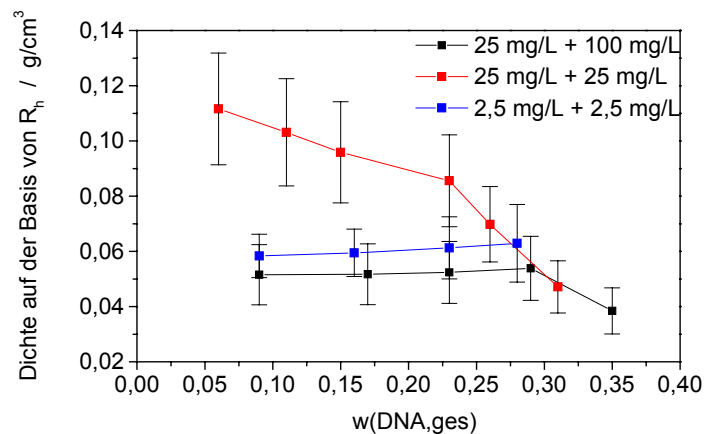


Abbildung 3.44: Dichte der Komplexe auf Basis von Rh mit PVP26-vorgelegt als Funktion des Gewichtsbruchs DNA

Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Sowohl die Erhöhung der Konzentration beider Komponenten als auch die Erhöhung der Konzentration der zugetropften Komponente bewirken, dass größere Komplexe gebildet werden. Ein Einfluss der Konzentration auf die Gesetzmäßigkeiten der Komplexbildung ist hingegen nicht zu beobachten. Die gesteigerte Größe der Komplexe geht mit einer starken Zunahme der Anzahl Ketten pro Komplex einher. Dies liefert den experimentellen Beweis der in Kapitel 3.2 formulierte Annahme, nach der die Konzentration und folglich die Anzahl der im Eintropfvolumen wechselwirkenden Polyionen die Größe der Komplexe bestimmt. Die Größe der Komplexe ist somit in erster Näherung konzentrationskontrolliert. Ein signifikanter Einfluss der Konzentration der Komplexpartner im Eintropfvolumen auf die Stöchiometrie der gebildete Komplexe kann hingegen nicht beobachtet werden. Daraus folgt, dass die

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Stöchiometrie der Komplexe in erster Näherung ladungskontrolliert ist. Durch die Veränderung der relativen Konzentration wird zusätzlich bewiesen, dass die Komplexe irreversibel im Eintropfvolumen gebildet werden und nicht erst in der nach Schütteln homogenisierten Lösung. Das globale Mischungsverhältnis ermöglicht somit bei vergleichbaren Komplexierungsreaktionen keine Aussagen über die gebildeten Komplexe, da dieses nicht dem lokalen Mischungsverhältnis am Ort der Komplexbildung entspricht. Vielmehr ist die Art und Weise des Vermischens beider Komplexpartner ausschlaggebend für die Größe der gebildeten Komplexe.

Im dem in dieser Arbeit untersuchten Konzentrationsbereich werden ausschließlich Multi-Ketten-Komplexe gebildet, deren Größe aufgrund der hohen Anzahl wechselwirkender Ketten unabhängig vom Molekulargewicht ist. Komplexe, deren Anzahl Ketten der Kettenstöchiometrie entsprechen, werden nach diesem Modell erst in einer höheren Verdünnung erhalten. In diesem Fall wird es möglich, die Wechselwirkung einzelner Polyionen zu untersuchen und unterschiedliche Komplexgrößen als Funktion der Molmasse zu erhalten.

3.5 Variation des pH-Werts bei der Komplexierung

Im Rahmen dieses Kapitels wird der pH-Wert der Lösungen auf einen Wert von 13 erhöht. Dies hat zur Folge, dass die verwendete pUC19-supercoiled-DNA nicht mehr doppelsträngig vorliegt, sondern aufgrund der Zerstörung der Wasserstoffbrückenbindungen einzelsträngig. Auf Basis dieser Experimente kann geklärt werden, welchen Einfluss die Semiflexibilität auf das Komplexbildungsverhalten hat. Als Polykation dient für diese Untersuchungen die PVP26-Bürste. Obwohl einige Seitenketten der PVP26-Bürste aufgrund der basenlabilen Methacrylat-Verknüpfung zum Rückgrat der Bürste abgespalten wurden, bleibt der anisotrope Charakter der Bürsten erhalten. Durchgeführt werden die Experimente in 0,1M NaOH. Die Charakterisierung beider Polyionen in diesem Lösungsmittelsystem mit Hilfe von statischer und dynamischer Lichtstreuung ist in Anhang C beschrieben. Alle weiteren experimentellen Parameter der Komplexbildung, insbesondere die Polymerkonzentration von ca. 2,5 mg/L, entsprechen denen der Kapitel 3.2 und 3.3.

Lichtstreuung an den Komplexlösungen

Die Ergebnisse der statischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen in 0,1M NaOH sind in Tabelle 3.16 und 3.17 zusammengefasst. Da das Brechungsindexinkrement der

PVP26-Bürste in 0,1M NaOH nicht experimentell bestimmt wurde und aufgrund unbekannter Molmasse nicht abgeschätzt werden kann, wird die statische Lichtstreuung mit Hilfe der konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisse $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ ausgewertet.

Tabelle 3.16: Ergebnisse der statischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen mit DNA vorgelegt

Gewichtsbruch DNA	Mw*dndc²	Rg / nm
1	5,10 10 ⁴	33,1
0,94	1,22 10 ⁵	45,3
0,89	1,76 10 ⁵	48,4
0,84	2,31 10 ⁵	52,9
0,8	2,67 10 ⁵	53,6
0,76	3,19 10 ⁵	54,7
0,71	4,07 10 ⁵	59,9
0,67	4,64 10 ⁵	58,0
0,61	6,23 10 ⁵	57,1
0,51	1,86 10 ⁶	101
0,49	Komplexlösung enthält zu große Mengen Niederschlag	

Tabelle 3.17: Ergebnisse der statischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen mit PVP26 vorgelegt

Gewichtsbruch DNA	Mw*dndc²	Rg / nm
0	1,39 10 ⁵	63,4
0,062	3,69 10 ⁵	58,3
0,12	7,43 10 ⁵	64,6
0,17	2,2 10 ⁶	73,1
0,21	1,5 10 ⁸	221

Das konzentrationsnormierte Rayleigh-Verhältnis verläuft monoton wachsend als Funktion des Mischungsverhältnisses und weist eine Unstetigkeit auf (Abbildung 3.47). Durch Vergleich mit dem Verlauf einer hypothetischen Homopolymermischung wird bewiesen, dass beide Polymere auch bei pH 13 Komplexe bilden. Sowohl der Verlauf des konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisses als auch der Verlauf des apparenten Trägheitsradius der Komplexlösungen (Abbildung 3.48) zeigen keinen signifikanten

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Unterschied im Vergleich zu den bei pH 7 durchgeführten Messungen. Dies legt nahe, dass die Zerstörung der DNA-Doppelstränge und der damit verbundene Verlust der Semiflexibilität keinen Einfluss auf das Komplexbildungsverhalten hat.

Aus den Daten der statischen Lichtstreuung kann analog den vorherigen Kapiteln der kritische Gewichtsbruch abgeschätzt werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3.18 zusammengefasst und mit den für pH 7 verglichen. Es zeigt sich, dass die kritischen Gewichtsbrüche im Rahmen des Fehlers nicht von der Änderung des pH-Werts der Lösung beeinflusst werden.

Der Ladungsgrad und die Masse pro Ladung beider Polyelektrolyte sind bei Änderung des pH-Wert von 7 auf 13 unverändert. Unter der Annahme, dass die kritischen Gewichtsbrüche auch in diesem Fall der Massenstöchiometrie entsprechen, bleibt somit die Ladungsstöchiometrie der gebildeten Komplexe ungeachtet der Änderung des pH-Werts konstant.

Tabelle 3.18: Abgeschätzte kritische Gewichtsbrüche des Systems pUC19-DNA / PVP26 als Funktion des pH-Werts

w(DNA,krit)	DNA vorgelegt	PVP26 vorgelegt
pH 7	0,54 ± 0,14	0,23 ± 0,05
pH 13	0,61 ± 0,10	0,17 ± 0,04

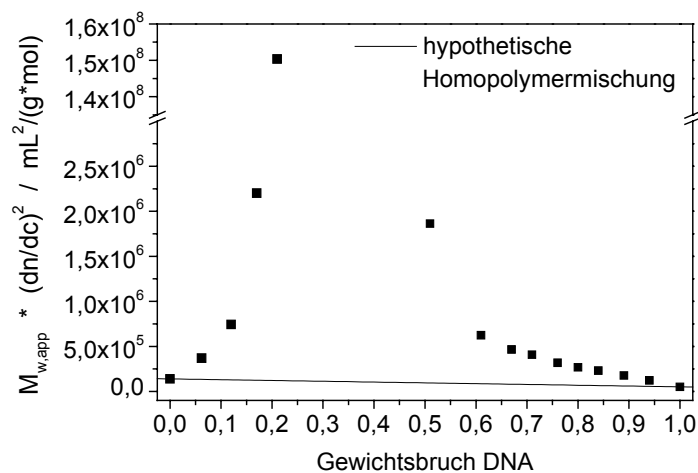


Abbildung 3.47: Verlauf des Produkts $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ der Komplexlösungen und Vergleich mit dem Verlauf einer hypothetischen Homopolymermischung

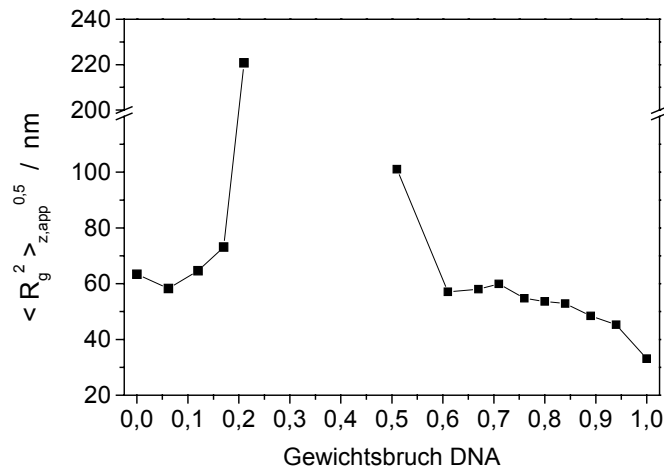


Abbildung 3.48: Verlauf des apparenten Trägheitsradius der Komplexlösungen

Zusammenfassung

Der mit einer Erhöhung des pH-Wertes auf 13 verbundene Verlust der Doppelsträngigkeit der DNA-Moleküle hat auf das Komplexierungsverhalten keinen Einfluss. Dies legt nahe, dass die Topologie und die Flexibilität der verwendeten Polyionen keinen Einfluss auf das Komplexbildungsverhalten entgegengesetzt geladener Polyelektrolyte haben.

Die abgeschätzten kritischen Gewichtsbrüche zeigen im Rahmen des Fehlers keine Veränderung durch die Erhöhung des pH-Wertes von 7 auf 13. Entspricht der kritische Gewichtsbruch auch in diesem Fall der Massenstöchiometrie beider Komponenten in den Komplexen, so ist die Ladungsstöchiometrie der gebildeten Komplexe unverändert. Dies legt nahe, dass die veränderte Topologie und Flexibilität eines Komplexpartners keinen Einfluss auf die Stöchiometrie der Komplexe hat und diese ladungskontrolliert ist.

3.6 Zusammenfassung der Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

Die Ergebnisse der durchgeführten Titrationsexperimente, bei denen die Komplexe aufgrund der tropfenweisen Zugabe sukzessive gebildet werden, zeigen eine Reihe von Gesetzmäßigkeiten, nach denen die Bildung der Interpolyelektrolyt-Komplexe in Wasser erfolgt:

Komplexierung von DNA in wässriger Lösung

- Der Ort der Komplexbildung ist das Eintropfvolumen. Das globale Mischungsverhältnis ist somit irrelevant, vielmehr ist das lokale Mischungsverhältnis im Eintropfvolumen ausschlaggebend.
- Die Bildung der Komplexe erfolgt unter kinetischer Kontrolle und liefert Nicht-Gleichgewichtsstrukturen. Aus diesem Grund besitzen die Komplexe eine Kern-Schale-Struktur, bei der die in Lösung im Überschuss vorliegende Komponente die Schale aufbaut. Dies begrenzt das Wachstum der gebildeten Interpolyelektrolytkomplexe.
- Liegen im Eintropfvolumen ausschließlich Polyionen der Überschusskomponente vor, so werden Primärkomplexe gebildet. Diese stellen für dieses System bei den gegebenen experimentellen Parametern die kleinst möglichen Komplexe dar.
- Steigt die Konzentration der bei vorherigen Zugaben gebildeten Primärkomplexe im Eintropfvolumen, so nehmen auch diese mit ihrer Schale an der Komplexbildung teil und es werden größere Komplexe gebildet (Sekundärkomplexe). Besteht die Lösung in Folge weiterer Zugaben der Unterschusskomponente ausschließlich aus Primär- und Sekundärkomplexen, so ist das Wachstum bei folgenden Zugaben unkontrolliert und die gebildeten Komplexe fallen aus.
- Die Stöchiometrie der Komplexe ist ladungskontrolliert und in erster Näherung unabhängig vom Mischungsverhältnis. Dabei spielen sowohl die Anzahl Ladungen pro Molekül als auch die Anzahl Ladungen pro Konturlänge eine Rolle. Weichen letztere stark voneinander ab, so ist die Stöchiometrie der gebildeten Komplexe stark von der Reihenfolge des Zusammengebens abhängig. Dies kann damit erklärt werden, dass die Annäherung von Ladungen aufgrund der verschiedenen Ladungsdichten entlang der Kontur stark behindert ist. Daraus folgt, dass die gebildeten Komplexe keine Ladungsstöchiometrie von 1:1 aufweisen. Für die hier untersuchten semiflexiblen Polykationen wird jedoch ungeachtet der stark unterschiedlichen Ladungseigenschaften der Polykationen eine einheitliche Stöchiometrie (Ausnahme: Komplexe mit PEI vorgelegt und DNA zutitriert, Kapitel 3.3) gefunden. Dies legt nahe, dass die Abweichung der Ladungsstöchiometrie von 1:1 als Funktion der unterschiedlichen Ladungsdichten entlang der Konturlänge nicht beliebig sein kann, sondern gegen einen Grenzwert strebt.
- Die Größe der gebildeten Komplexe ist in erster Näherung konzentrationskontrolliert. Die Konzentration beider Komponenten im Eintropfvolumen bestimmt die Anzahl der Ketten beider Polyionen im Komplex und folglich auch deren Größe und Molmasse. Auch bei den im Rahmen dieser Arbeit niedrigsten

Polymerkonzentrationen von 2,5 mg/L (übereinstimmend vorgelegtes und zutitriertes Polyion) stellen die hergestellten Komplexe Multi-Ketten-Komplexe dar, deren Anzahl Ketten pro Komplex beider Komponenten ein Vielfaches der Kettenstöchiometrie beträgt. Dies führt dazu, dass die Größe der gebildeten Komplexe in erster Näherung unabhängig vom Molekulargewicht der Komplexpartner ist.

- Die starke, elektrostatische Wechselwirkung mehrerer Ketten beider Komponenten im Eintropfvolumen führt zu einem Komplexwachstum in allen drei Raumrichtungen und einer kugelförmigen Topologie der gebildeten Komplexe (Ausnahme: Komplexe mit PAMAM vorgelegt und DNA zutitriert, Kapitel 3.3). Dieses Wachstum verläuft bis zu dem Punkt, an dem alle lokal vorhandenen Ladungen der Unterschusskomponente abgesättigt sind und die Kern-Schale-Struktur aufgebaut ist.

Die einheitlichen Gesetzmäßigkeiten der Komplexbildung zeigen, dass bei der Wechselwirkung eines stark geladenen Polyanions (5372 Ladungen pro Molekül) die zahlengemittelte Anzahl Ladungen pro Molekül des Polykations in dem hier untersuchten Bereich von 10^2 (128 Ladungen pro Dendrimer bei pH 7) bis ca. 10^5 (Gewichtsgemittelte Anzahl Ladungen pro PVP26-Bürste beträgt 30'000) keinen Einfluss auf das Komplexbildungsverhalten hat. Dies gilt gleichermaßen für alle weiteren Eigenschaften der verwendeten Polykationen, wie Topologie, chemische Zusammensetzung, etc.

Die Anzahl wechselwirkender Ladungen überschreitet für alle untersuchten Systeme einen bislang unbekanntem Grenzwert, unterhalb dem eine thermodynamisch kontrollierte Komplexbildung möglich ist. Aus diesem Grund liefern alle untersuchten Polykationen ein einheitliches, kinetisch kontrolliertes Komplexbildungsverhalten, bei dem Komplexe mit einer eingefrorenen Kern-Schale-Struktur erhalten werden und eine Kontrolle der Topologie durch den Einsatz verschiedener Polykationarchitekturen nicht möglich ist.

Kapitel 4

Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

Die Ergebnisse der DNA-Komplexierung in wässriger Lösung haben gezeigt, dass die Komplexe aufgrund der hohen Anzahl wechselwirkender Ladungen irreversibel und unter kinetischer Kontrolle gebildet werden. Ein möglicher Ansatz für eine kontrolliertere Komplexbildung könnte daher darin bestehen, die Anzahl der wechselwirkenden Ladungen stark zu reduzieren.

In zahlreichen organischen Lösungsmitteln ist die Anzahl dissoziierter Ladungen aufgrund der niedrigen Dielektrizitätskonstante ebenfalls erniedrigt [Beer96]. Somit wurde zunächst die Idee verfolgt, die Interpolyelektrolyt-Komplexbildung in organischen Lösungsmitteln anstatt in wässriger Lösung durchzuführen, wobei das Problem auftritt, dass hochgeladene Polyelektrolyte nicht in organischen Lösungsmitteln löslich sind. Werden die Gegenionen hochgeladener Polyelektrolyte jedoch gegen Tensidmoleküle ausgetauscht, so sind die entstehenden Polyelektrolyt-Tensid-Komplexe in organischen Lösungsmitteln löslich und behalten ihren Charakter als Polyelektrolyte. Die Untersuchung dieser Polyelektrolyt-Tensid-Komplexe in organischen Lösungsmitteln ist Gegenstand der zeitgleich angefertigten Dissertation von Sabrina Duschner [Dusc07]. Im Rahmen dieser Arbeit werden auch Komplexierungsexperimente zwischen zwei Tensid-Komplexen in DMF durchgeführt, bei denen die Komplexe wie in Wasser unter kinetischer Kontrolle gebildet werden (untersuchtes System: PSS-C12-Bürsten und die bereits in Kapitel 3 verwendeten PVP26-Bürsten, welche Dodecylsulfat-Gegenionen tragen). Dies lässt vermuten, dass allein die Reduzierung der effektiven Ladung durch Verwendung eines Lösungsmittels mit niedrigerer Dielektrizitätskonstante das Komplexierungsverhalten hochgeladener Polyelektrolyte nicht beeinflusst.

Eine weitere Möglichkeit zur Reduzierung der wechselwirkenden Ladungen ist die Verringerung der realen Anzahl der Ladungen pro Molekül. In diesem Zusammenhang wurde der Versuch unternommen, PEI-PEO in stark basischer, wässriger Lösung vollständig zu deprotonieren und im Anschluss mit Polyanionen Homopolymermischungen herzustellen, um durch nachträgliche Säurezugabe eine kontrollierte Komplexbildung zu initiieren. Entgegen

den Erwartung zeigten jedoch erste Versuche mit PEI-PEO- und PSS-Bürsten bei pH 13 ebenfalls Aggregatbildung, weshalb diese Möglichkeit der Komplexbildung nicht weiter verfolgt wurde.

Aus diesen Gründen wurde in der Folge in Kooperation mit Sabrina Duschner das Ziel verfolgt, beide Ansätze zu kombinieren und reversibel protonierbare Polyamine mit Polyelektrolyt-Tensid-Komplexen in organischen Lösungsmitteln zu komplexieren. Bei der in diesem Zusammenhang durchgeführten Charakterisierung der PEI-PEO-Bürsten in DMF wurde beobachtet, dass diese mit Salzsäure reversibel protoniert werden können (siehe Kapitel 2). Reversibel in diesem Zusammenhang bedeutet, dass die PEI-PEO-Bürste nach der Protonierung zeitabhängig durch das Lösungsmittel deprotoniert wird, bis schließlich wieder der Zustand vor der HCl-Zugabe erreicht wird. Daraus kann geschlossen werden, dass „potentielle“ Polyelektrolyte auf der Basis von Polyaminen in DMF bevorzugt ungeladen vorliegen und somit DMF ein sehr interessantes Lösungsmittel für die Untersuchung von Interpolyelektrolyt-Komplexen mit Polyaminen darstellen kann. Es stellt sich somit die Frage, ob es möglich ist, in DMF Homopolymermischung aus Polyaminen und Polyelektrolyt-Tensid-Komplexen hochgeladener Polyanionen herzustellen.

In diesem Kapitel sollen deshalb Mischungen aus einem Polyamin (PAMAM-G5-Dendrimere oder PEI-PEO-Bürsten) und einem Polyelektrolyt-Tensid-Komplex (Poly(styrolsulfonat)-Bürsten mit Dodecyltrimethylammoniumbromid-Gegenionen PSS-C12) in DMF untersucht werden. Die Charakterisierung der verwendeten Homopolymere und die für die Berechnungen herangezogenen Moleküleigenschaften sind in Anhang C zusammengefasst.

4.1 Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF

In diesem Abschnitt werden zunächst PEI-PEO-Bürsten für die Komplexbildung verwendet, deren Amingruppen vor der Komplexbildung protoniert wurden. Diese „hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten“ werden erhalten, indem ein 15-facher molarer Überschuss (pro Ethylenimin-Einheit) an konzentrierter Salzsäure vor der Komplexbildung zu der Lösung der PEI-PEO-Bürsten gegeben wird (siehe Kapitel 2 und Anhang C.8). In Verbindung mit den folgenden Kapiteln 4.2 bis 4.5 geben diese Experimente Aufschluss darüber, welchen Einfluss die effektive Ladung auf das Komplexierungsverhalten von Polyaminen in DMF hat.

Herstellung der Komplexe

Für die Untersuchung der Komplexbildung mit Hilfe von statischer Lichtstreuung wurden die Komplexe durch Titrationsexperimente direkt in den Lichtstreuекüvetten nach folgendem Protokoll hergestellt: Wurde das PSS-C12 vorgelegt, so wurde eine Lösung des PEI-PEO (1 g/L in DMF/2mM LiBr) tropfenweise zu der PSS-C12 Lösung (0,1 g/L in DMF/2mM LiBr) gegeben. Im anderen Fall wurde eine Lösung des PSS-C12 (1 g/L in DMF/2mM LiBr) tropfenweise zu der PEI-PEO Lösung (0,1 g/L in DMF/2mM LiBr) gegeben. Nach der Zugabe wurde die Küvette für 30 Minuten geschüttelt und im Anschluss die statische Lichtstreuung an den Komplexlösungen durchgeführt. Vor der ersten Zugabe der zweiten Komponente wurde die Konzentration der Homopolymere nach Filtration durch statische Lichtstreuung kontrolliert, wobei für beide Homopolymerlösungen kein Filtrationsverlust festgestellt werden konnte. Für die aus [Dusc07] zitierten AFM-Messungen wurden die Komplexe separat durch Mischen von Lösungen des PEI-PEO (10^{-3} g/L in DMF) und des PSS-C12 (10^{-3} g/L in DMF) hergestellt. Das Mischungsverhältnis der Komplexlösungen wird durch den Gewichtsbruch der Komponenten in Lösung ausgedrückt:

$$w(PEI - PEO) = \frac{c(PEI - PEO)}{c(PSS - C12) + c(PEI - PEO)} \quad \text{Gl. 4-1}$$

mit

$$w(PSS - C12) + w(PEI - PEO) = 1$$

Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 4.1 zeigt das Streuverhalten der Komplexlösungen aus hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten und PSS-C12-Bürsten, bei denen das PSS-C12 für die Komplexbildung vorgelegt wurde. Wird hingegen das hochgeladene PEI-PEO vorgelegt, tritt bereits bei geringer Zugabe (Gewichtsbruch $w(\text{PEI-PEO}) = 0,95$) makroskopische Ausfällung auf. Die Reihenfolge des Mischens hat analog zu Kapitel 3 einen entscheidenden Einfluss auf das Komplexierungsverhalten.

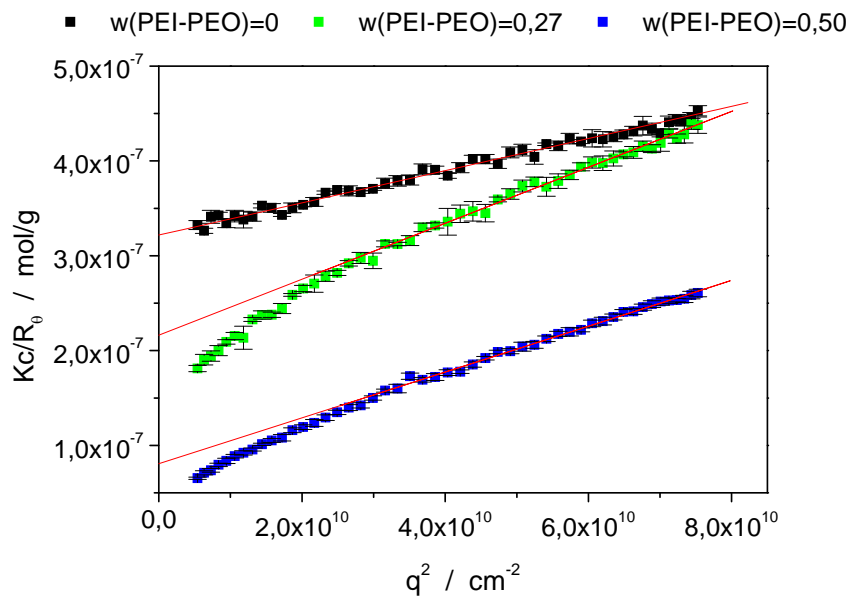


Abbildung 4.1: Streuverhalten ausgewählter Komplexlösungen mit PSS-C12 vorgelegt.

Die Lichtstreu曲ven der Komplexlösungen in der Auftragung nach Zimm weisen eine Krümmung auf, die besonders für kleine Gewichtsbrüche PEI-PEO stark ausgeprägt ist. Eine derartige Krümmung kann aus zwei Gründen auftreten: i) die gebildeten Komplexe besitzen eine große Molekulargewichts- und Trägheitsradienverteilung, oder ii) der Formfaktor der Komplexe wird durch die Auswertung nach Zimm nicht linearisiert. Da die Krümmung mit zunehmendem PEI-PEO-Gehalt wieder abnimmt, ist letzteres auszuschließen. Dies bedeutet, dass bei Zugabe von PEI-PEO zunächst Komplexe sehr uneinheitlicher Größe gebildet werden. Die Krümmung bei kleinen q ist dem Streubeitrag der großen Komplexe zuzuordnen, wobei deren Massenanteil bei kleinem PEI-PEO-Gehalt sehr gering ist. In Folge weiterer Zugabe wird die Anzahl großer Komplexe stetig erhöht, wodurch die Verteilung der Größen wieder einheitlicher wird und die Krümmung der Streukurven zurückgeht. Die

Abwärtsbiegung, also der Beitrag des geringen Anteils großer Aggregate, wird daher für die Auswertung vernachlässigt und nur die Streubeiträge der Hauptkomponenten ausgewertet, indem bei hohen q-Werten, wie in Abbildung 4.1 gezeigt, linear nach Zimm extrapoliert wurde.

Die Ergebnisse der statischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen mit PSS-C12 vorgelegt sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst. Da die Brechungsindexinkremente der Homopolymere nicht experimentell bestimmt wurden und nicht literaturbekannt sind, wird die statische Lichtstreuung mit Hilfe der konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisse $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ ausgewertet.

Tabelle 4.1: Ergebnisse der statischen Lichtstreuung an den Homopolymeren und den Komplexlösungen mit PSS-C12 vorgelegt.

w(PSS-C12)	$M_{w,app} * (dn/dc)^2 /$ mL²/(g*mol)	R_g / nm
PSS-C12	3,32 10 ⁴	40,9
0,111	3,32 10 ⁴	47,2
0,207	3,94 10 ⁴	56,4
0,271	4,63 10 ⁴	64,0
0,331	5,43 10 ⁴	71,9
0,389	6,66 10 ⁴	74,9
0,440	7,85 10 ⁴	81,0
0,481	1,02 10 ⁵	90,5
0,502	1,24 10 ⁵	94,8
PEI-PEO	3,00 10 ³	21,8

Das konzentrationsnormierte Rayleigh-Verhältnis, gleichbedeutend mit dem Produkt aus apparater Molmasse und Brechungsindexinkrement $M_{w,app} * (dn/dc)^2$, verläuft monoton wachsend als Funktion des Mischungsverhältnisses (Abbildung 4.2). Wie Abbildung 4.3 zeigt, nimmt auch der Trägheitsradius mit zunehmendem Anteil an hochgeladenem PEI-PEO deutlich zu. Beide Abbildungen enthalten zum Vergleich den hypothetischen Verlauf für eine Homopolymermischung bestehend aus der PSS-C12-Bürste und der hochgeladenen PEI-PEO-Bürste. Die ansteigenden Verläufe des konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisses und des Trägheitsradius mit steigendem Gewichtsbruch an hochgeladenem PEI-PEO belegen gleichermaßen die Bildung von Komplexen in DMF.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

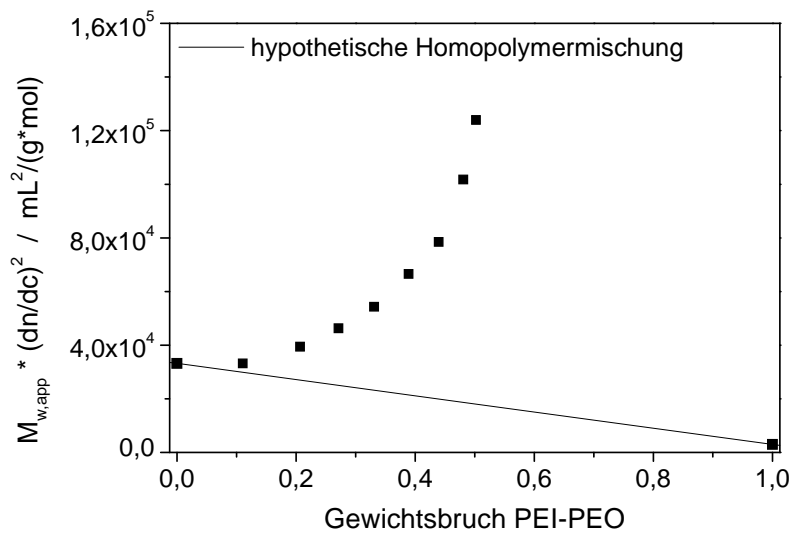


Abbildung 4.2: Konzentrationsnormiertes Rayleigh-Verhältnis der Komplexlösungen mit PSS-C12 vorgelegt als Funktion des Mischungsverhältnisses.

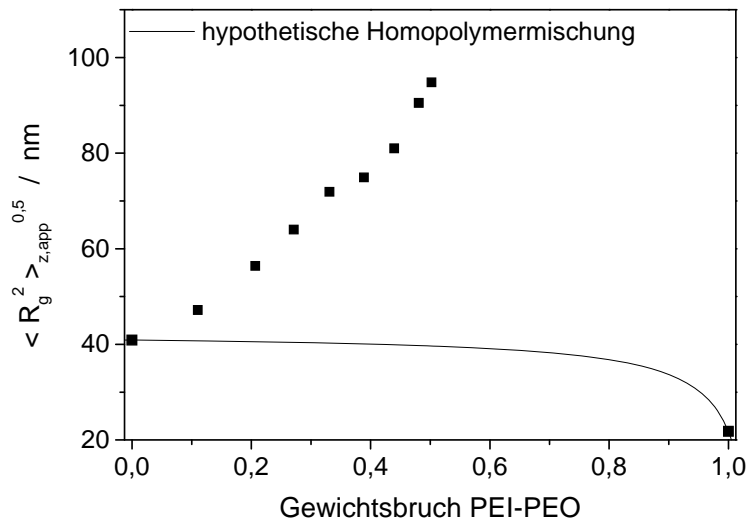


Abbildung 4.3: Apparenter Trägheitsradius der Komplexlösungen mit PSS-C12 vorgelegt als Funktion des Mischungsverhältnisses.

Die gefundenen Verläufe für das konzentrationsnormierte Rayleigh-Verhältnis und den Trägheitsradius sind den Verläufen in Kapitel 3 vergleichbar. Sie weisen für einen bestimmten Mischungsbereich eine Unstetigkeit auf, in dem die gebildeten Komplexe aus der Lösung ausfallen. Folglich kann wie in Kapitel 3 ein kritischer Gewichtsbruch definiert werden. Die experimentellen Befunde lassen somit den Schluss zu, dass das vorliegende System aus PSS-C12-Bürsten und hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF ein den in

Kapitel 3 untersuchten Komplexierungen vergleichbares Komplexbildungsverhalten aufweist. Weitere Komplexierungsversuche mit der PSS-Bürste und der PEI-Bürste in wässriger Lösung bestätigen ein vergleichbares Komplexbildungsverhalten beider Bürsten in Wasser [Dusc07].

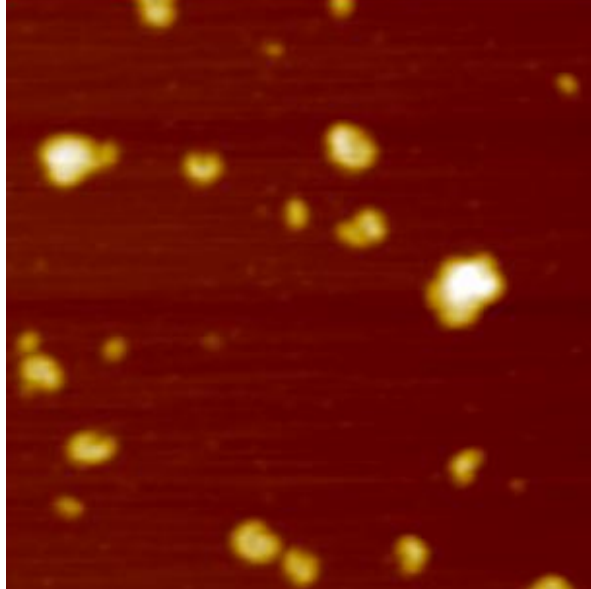


Abbildung 4.4: $w(\text{PEI-PEO}) = 0,1$, PSS-C12 vorgelegt, (AFM-Höhenbild, $0,5 \times 0,5 \mu\text{m}^2$). Quelle: [Dusc07].

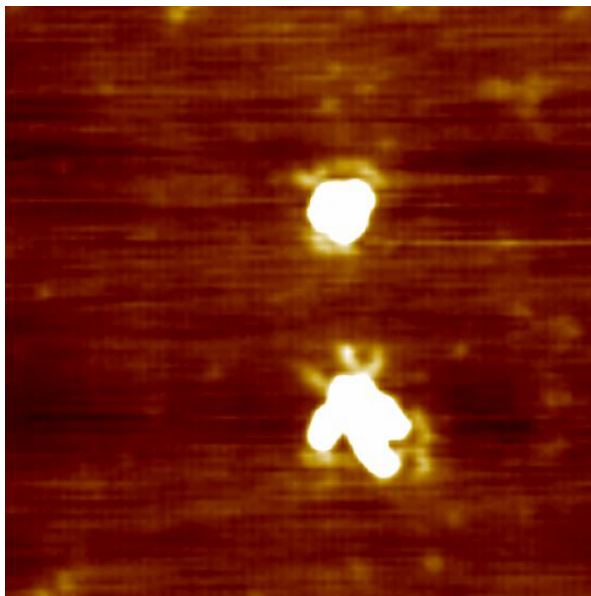


Abbildung 4.5: $w(\text{PEI-PEO}) = 0,5$, PEI-PEO vorgelegt, (AFM-Höhenbild, $0,5 \times 0,5 \mu\text{m}^2$). Quelle: [Dusc07].

Die von Sabrina Duschner an den Komplexen durchgeführten AFM-Messungen bestätigen dieses Ergebnis (Abbildung 4.4 und 4.5) [Dusc07]. Es werden ausschließlich sphärische Komplexe gefunden. Diese haben einen Durchmesser von 30 – 150 nm und weisen eine abhängig vom Gewichtsanteil PEI-PEO erkennbare Kern-Schale Struktur auf. Bei

höherem Gewichtsbruch PEI-PEO wird der kompakte Kern der Aggregate von einer Schale aus PMMPEI-PEO umgeben. Dies zeigt wiederum, dass die Reihenfolge des Zusammengebens entscheidenden Einfluss auf die gebildeten Komplexe hat. Ein detaillierter Vergleich der AFM- und der Lichtstreuexperimente ist aufgrund der Tatsache, dass die untersuchten Komplexlösungen separat und bei unterschiedlicher Polymerkonzentration hergestellt wurden, nicht möglich.

Zusammenfassung

Die untersuchten Komplexe aus PSS-C12-Bürsten und hochgeladenem PEI-PEO in DMF zeigen ein den in Wasser (Kapitel 3) durchgeführten Komplexierungen vergleichbares Komplexbildungsverhalten: Die Reihenfolge des Zusammengebens hat entscheidenden Einfluss auf die gebildeten Komplexe und für einen bestimmten Mischungsbereich werden unlösliche Komplexe erhalten. Auch die Topologie der Komplexpartner hat keinen Einfluss auf die Topologie der gebildeten Komplexe. Es werden vielmehr wiederum sphärische Komplexe erhalten.

4.2 Komplexbildung von PSS-C12 und PAMAM-Dendrimeren in DMF

Herstellung der Komplexe

Für die Komplexbildung wurden ca. 2 mL DMF / 2mM LiBr in den Lichtstreu Küvetten vorgelegt und dann jeweils höher konzentrierte Lösungen der Homopolymere in DMF ($c(\text{PSS}) = 0,5 \text{ g/L}$, $c(\text{PAMAM}) = 2,5 \text{ g/L}$) in der in Tabelle 4.2 angegebenen Reihenfolge zugegeben. Vor Zugabe der zweiten Komponente wurde die Konzentration der Homopolymere nach Filtration durch statische Lichtstreuung kontrolliert, wobei für beide Homopolymerlösungen kein Filtrationsverlust festgestellt werden konnte. Die Mischungsverhältnisse und Polymergesamtkonzentrationen der einzelnen Komplexlösungen sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst. Für die AFM-Messungen wurden Proben direkt aus den Lichtstreu Küvetten entnommen, so dass die identischen Komplexlösungen vermessen wurden.

In diesem Kapitel wird das Mischungsverhältnis der Komplexlösungen durch den Gewichtsbruch der Komponenten in Lösung ausgedrückt:

$$w(\text{PSS} - \text{C12}) = \frac{c(\text{PSS} - \text{C12})}{c(\text{PSS} - \text{C12}) + c(\text{Dendrimer})} \quad \text{Gl. 4-2}$$

mit

$$w(\text{PSS} - \text{C12}) + w(\text{PAMAM}) = 1$$

Tabelle 4.2: Hergestellte Komplexlösungen

w(PSS-C12)	vorgelegtes Polymer	c(ges) / g/L
0,89241	PSS-C12	0,10493
0,67413	PSS-C12	0,10259
0,46812	PSS-C12	0,10713
0,43954	PAMAM	0,10158
0,29434	PAMAM	0,11675
0,06169	PAMAM	0,11696

Statische und dynamische Lichtstreuung an den Komplexlösungen

Die Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen sind in Tabelle 4.3 zusammengefasst, die einzelnen aus der statischen Lichtstreuung erhaltenen Streukurven sowie die Extrapolationen der hydrodynamischen Radien auf $q=0$ zeigen die

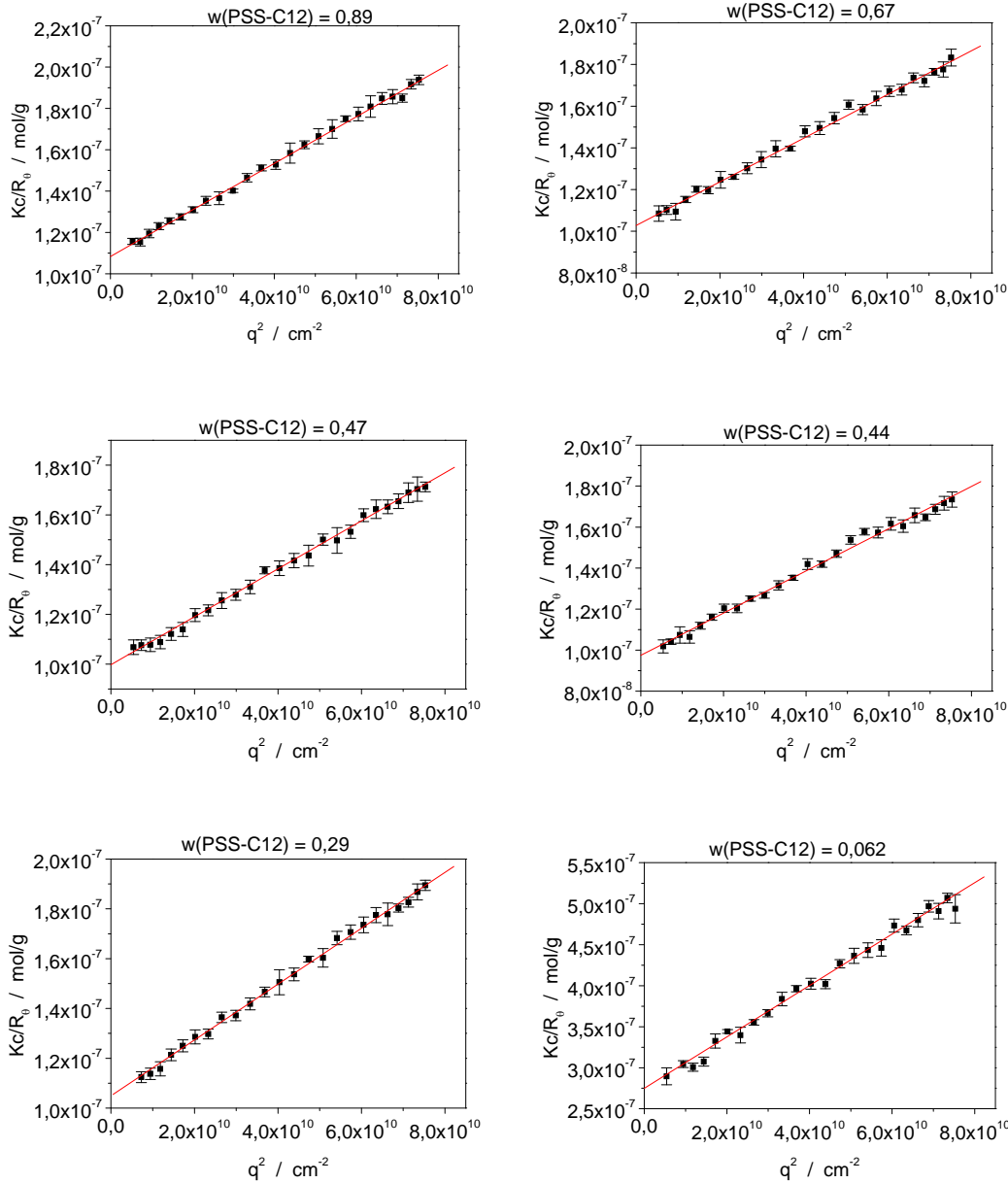


Abbildung 4.6a: Streuverhalten der Komplexlösungen in der Auftragung nach Zimm (für die Auftragungen wurde ein Brechungsindexinkrement von $dn/dc = 0,1 \text{ mL/g}$ verwendet).

Abbildungen 4.6a und 4.6b. Da die Brechungsindexinkremente der Homopolymere nicht experimentell bestimmt wurden und nicht literaturbekannt sind, wird die statische Lichtstreuung zunächst mit Hilfe der konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisse $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ ausgewertet.

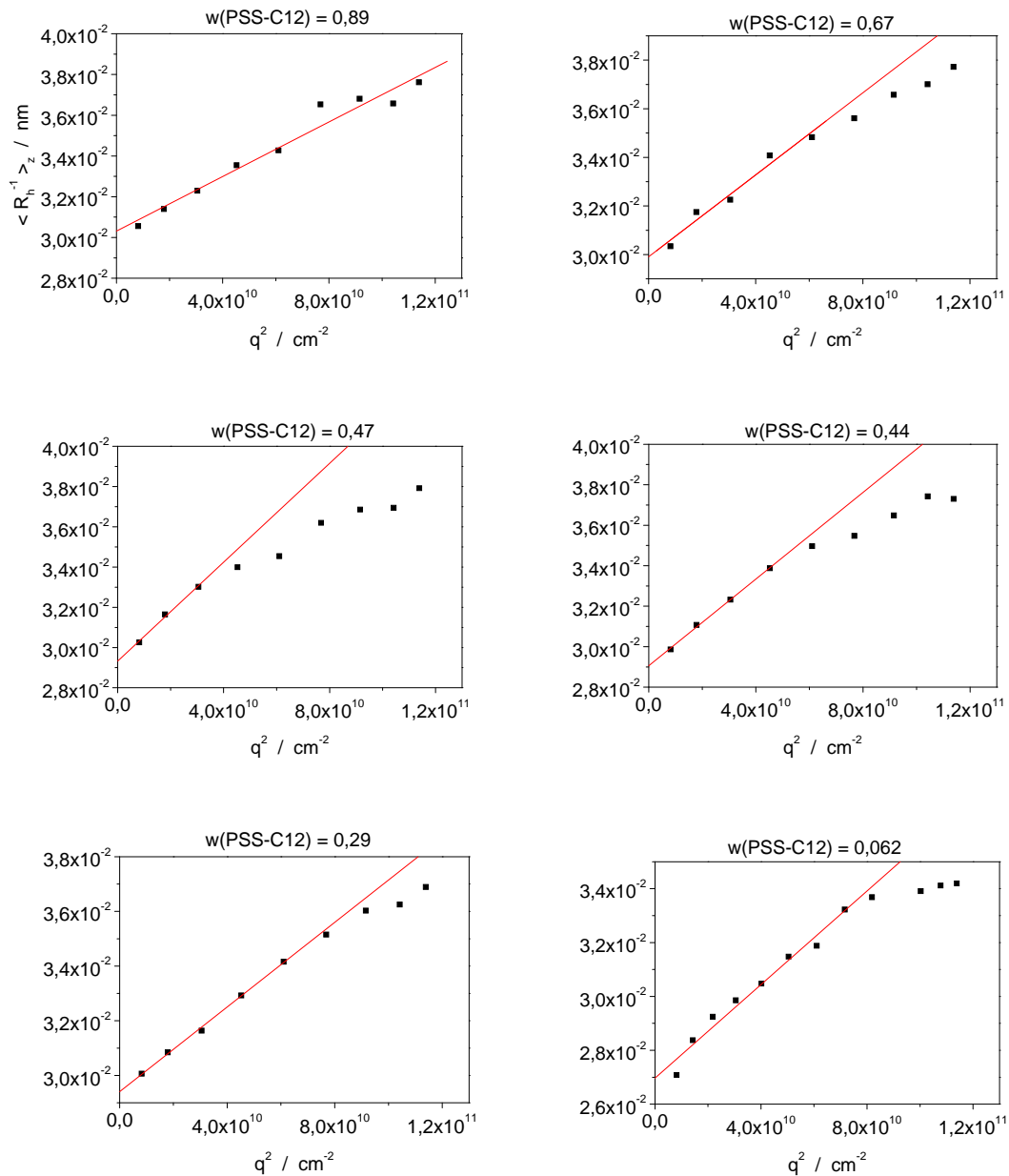


Abbildung 4.6b: Winkelabhängigkeit des hydrodynamischen Radius.

Tabelle 4.3: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung an Homopolymeren und den Komplexlösungen.

w(PSS-C12)	vorgelegtes Polymer	$M_{w,app} * (dn/dc)^2$ / mL ² /(g*mol)	Rg / nm	Rh / nm	Rg / Rh
PSS-C12	---	8,59 e4	55,6	30	1,85
0,89	PSS-C12	9,23 E4	55,8	33,0	1,69
0,67	PSS-C12	9,73 E4	55,2	33,4	1,65
0,47	PSS-C12	1,00 E5	53,9	34,1	1,58
0,44	PAMAM	1,03 E5	56,3	34,4	1,64
0,29	PAMAM	9,53 E4	56,6	34,0	1,66
0,062	PAMAM	3,64 E4	58,5	37,1	1,58
PAMAM	---	1,18 e2	---	3,40	---

Das konzentrationsnormierte Rayleigh-Verhältnis, gleichbedeutend mit dem Produkt aus apparenter Molmasse und Brechungsindexinkrement $M_{w,app} * (dn/dc)^2$, verläuft stetig als Funktion des Mischungsverhältnisses und durchläuft ein Maximum (Abbildung 4.7). Dass Komplexe gebildet werden, beweist der Vergleich mit dem hypothetischen Verlauf für eine Homopolymermischung aus PSS-C12 und dem Dendrimer. Die Abweichung von diesem hypothetischen Verlauf, ausgedrückt durch den Quotienten aus gemessenem und hypothetischem $M_{w,app} * (dn/dc)^2$, ist ein Maß für die Molmasse der gebildeten Komplexe. Es zeigt sich, dass die Molmasse der Komplexe mit dem Anteil Dendrimer in der Lösung monoton zunimmt (Abbildung 4.8).

Der gemessene Trägheitsradius der Komplexlösungen entspricht im Rahmen des Messfehlers für alle Komplexlösungen mit $w(\text{PSS-C12}) > 0,062$ dem Trägheitsradius der unkomplexierten PSS-C12-Bürste (Abbildung 4.9). Für $w(\text{PSS-C12}) = 0,062$ wird eine geringfügige Erhöhung des Trägheitsradius um 5 % gegenüber der PSS-C12-Bürste gefunden, worauf später genauer eingegangen wird. Für den hydrodynamischen Radius wird ausgehend vom PSS-C12-Homopolymer eine geringfügige, monotone Zunahme von 33,0 nm auf 37,1 nm (Zunahme um 12 %) als Funktion des Gewichtsbruchs PAMAM-Dendrimere erhalten (Abbildung 4.10). Daraus folgt, dass der Quotient aus Trägheitsradius und hydrodynamischem Radius der Komplexlösungen gegenüber der PSS-C12-Bürste geringfügig verringert ist (Abbildung 4.11). Für die verschiedenen Komplexlösungen liegt der Quotient im Rahmen des Fehlers übereinstimmend zwischen 1,69 und 1,58.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

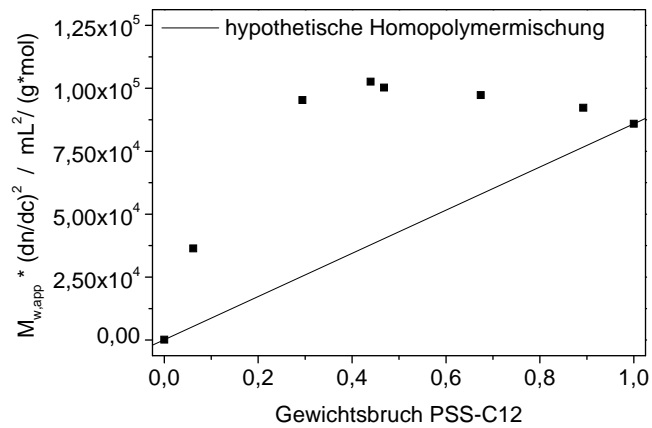


Abbildung 4.7: Konzentrationsnormierte Rayleigh-Verhältnisse der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

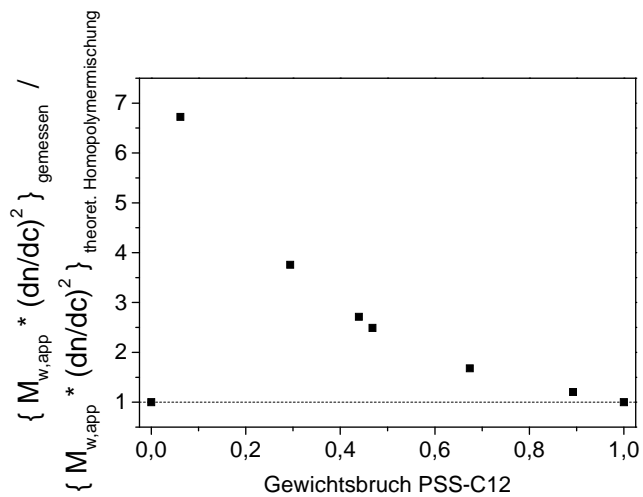


Abbildung 4.8: Normierung der gemessenen Streuintensität auf die Streuintensität der hypothetischen Homopolymermischung.

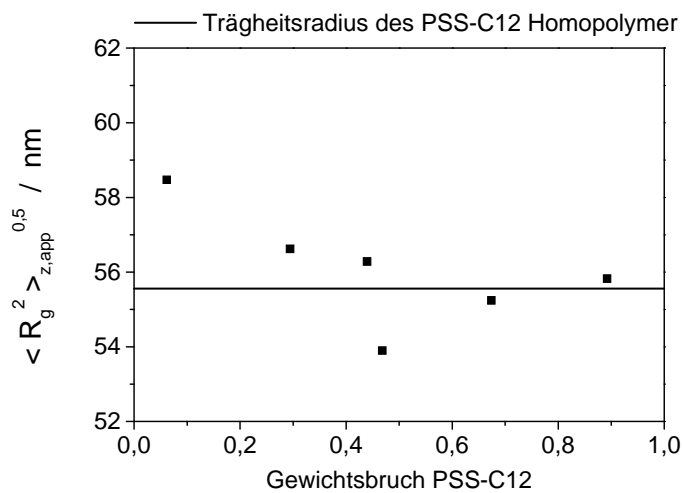


Abbildung 4.9: Apparenter Trägheitsradius der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

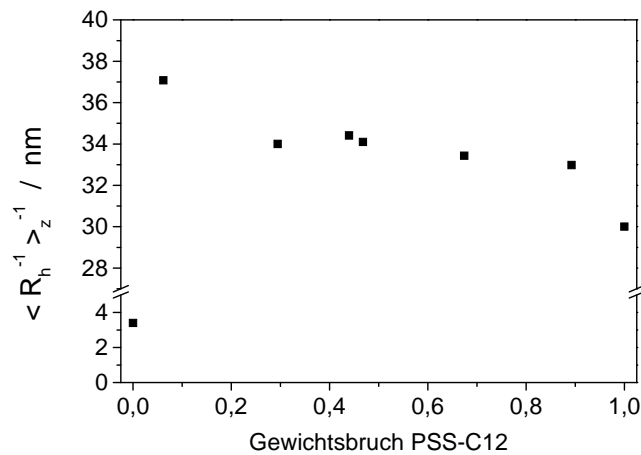


Abbildung 4.10: Apparenter hydrodynamischer Radius der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

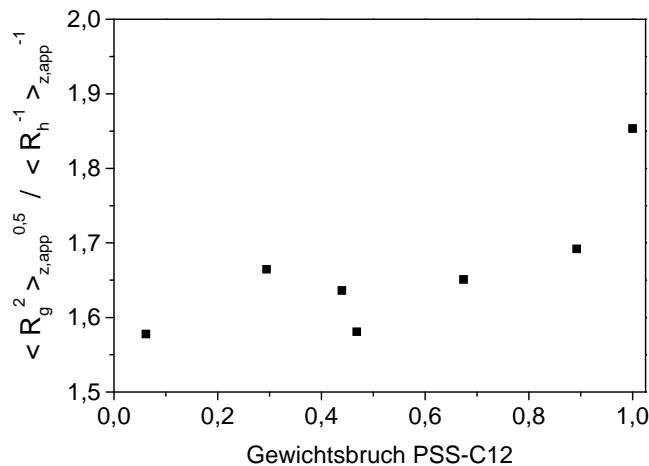


Abbildung 4.11: Quotient der apparente Radien der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

Im Vergleich zu den in Kapitel 2 und 3 beobachteten Verläufen fallen zwei Besonderheiten in den Verläufen der Komplexlösungen aus PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimeren auf. Zum einen weisen sie keine Unstetigkeiten auf. Ein wie in den Kapitel 2 und 3 beobachteter kritischer Gewichtsbruch kann somit in diesem Fall nicht definiert werden. Des weiteren werden für die Komplexlösungen bei einem Mischungsverhältnis von $w(\text{PSS-C12})$ ca. 0,45 im Rahmen des Fehlers identische $M_{w,app} * (dn/dc)^2$, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien gemessen, unabhängig davon welches Polymer vorgelegt wurde. Die Reihenfolge des Zusammengebens ist somit für die gebildeten Komplexe irrelevant. Diese beiden experimentellen Befunde lassen den Schluss zu, dass das vorliegende System aus PSS-C12 und PAMAM-Dendrimeren in DMF keine Aggregationsgrenzen

aufweist. Es wird somit im Vergleich zu den in Kapitel 2 und 3 untersuchten Komplexierungen ein neues Komplexbildungsverhalten gefunden.

Aus den Quotienten aus Trägheitsradius und hydrodynamischem Radius der Komplexlösungen kann geschlossen werden, dass die aus PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimern gebildeten Interpolyelektrolytkomplexe die zylindrische Topologie der PSS-C12-Bürste aufweisen. Dass auch die Radien der gebildeten Komplexe nur geringfügig von denen der PSS-C12-Bürste abweichen, stützt diesen Befund. Die Ergebnisse der Lichtstreuung an den Komplexlösungen legen somit nahe, dass die PAMAM-Dendrimere unter Erhalt der zylindrischen Topologie an PSS-C12-Bürsten angelagert werden. Dabei enthält jeder Komplex exakt eine PSS-C12-Bürste, deren „Beladungsgrad“ mit PAMAM-Dendrimern vom Mischungsverhältnis bestimmt wird.

Mit Hilfe dieses Modells können die Verläufe aller Messgrößen vollständig erklärt werden: Die Molmasse der Komplexe steigt mit der Menge PAMAM-Dendrimere pro Bürsten-Molekül und somit dem möglichen Beladungsgrad. Auch der hydrodynamische Radius steigt monoton mit dem Anteil angelagerter PAMAM-Dendrimere, da dieser bereits bei geringen Zunahmen der Dicke einer zylindrischen Bürste steigt. Der Trägheitsradius hingegen bleibt bei geringen Dickenänderungen unverändert. Nur für das Mischungsverhältnis mit dem höchsten PAMAM-Anteil steigt der Trägheitsradius, was jedoch nicht auf die Dickenzunahme, sondern eine Streckung der Hauptkette durch die Beladung zurückzuführen ist. Folge ist die beobachtete, geringe Abnahme des Quotienten beider Radien.

AFM an den Komplexlösungen [Dusc07]

Die identischen, in der Lichtstreuung untersuchten Komplexlösungen wurden von Sabrina Duschner im Rahmen ihrer Dissertation mit der mikroskopischen Methoden AFM untersucht. Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

- Die gebildeten Komplexe weisen, unabhängig von der Zusammensetzung, eine zylindrische Struktur auf.
- Mit steigendem Anteil PAMAM-Dendrimern werden größere Höhen immer stärker populiert.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

- Als Maximalhöhe werden $(8,5 \pm 0,5)$ nm detektiert, größere Werte wurden nicht beobachtet.
- Die Auftragung der mittleren Höhe der Moleküle über einem Schwellenwert von 2 nm gegen die Zusammensetzung (beschrieben über den Gewichtsbruch einer Komponente) ergibt einen linearen Zusammenhang.

Die AFM-Experimente legen somit nahe, dass die PAMAM-Dendrimere unter Erhalt der zylindrischen Topologie an PSS-C12-Bürsten angelagert werden. Aus der linearen Abhängigkeit der mittleren Höhen vom Mischungsverhältnis kann zudem geschlossen werden, dass die Komplexbildung sehr kontrolliert verläuft.

Bestimmung der Zusammensetzung der Komplexlösung und der Komplexe aus der statischen Lichtstreuung – Annahmen für die Auswertung

Auf Basis der bisherigen Ergebnisse von AFM und Lichtstreuung können die gemessenen konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisse weiterführend ausgewertet werden. Der in der Folge beschriebenen Herleitung werden folgende Annahmen zu Grunde gelegt:

1. Jeder Komplex enthält exakt 1 PSS-C12-Bürste.
2. Die bei verschiedenen Mischungsverhältnissen gebildeten Komplexe weisen unterschiedliche Komplexzusammensetzungen auf.
3. Bei einem bestimmten Mischungsverhältnis gebildete Komplexe besitzen alle die gleiche Zusammensetzung.
4. Die Komplexlösungen bestehen ausschließlich aus PSS-C12-Dendrimer-Komplexen und freiem, unkomplexiertem Dendrimer. PSS-C12-Bürsten, die keine Dendrimere tragen, liegen in keiner der untersuchten Komplexlösungen vor.
5. Die PAMAM-Dendrimere liegen monodispers vor.
6. Bei der Komplexierung werden keine Gegenionen freigesetzt.
7. Die Brechungsindexinkremente beider Homopolymere und der Komplexe sind identisch und der numerische Wert bekannt.

Die Annahmen sind nummeriert und bei der folgenden Herleitung wird bei jeder Gleichung angegeben, welche Annahmen für die Gleichung erfüllt sein müssen. Zunächst

sollen die einzelnen Annahmen auf Basis der vorliegenden experimentellen Ergebnisse zusammenfassend begründet werden.

Annahme 1:

Die AFM-Messungen zeigen, dass alle gebildeten Komplexe ausschließlich eine PSS-C12-Bürste enthalten. Auch die aus der statischen und dynamischen Lichtstreuung erhaltenen Radien widersprechen der Verbrückung mehrerer PSS-C12-Bürsten und stützen somit diesen Befund. Annahme 1 folgt aus experimentellen Ergebnissen und wird somit erfüllt.

Annahme 2:

Die statistische Auswertung der Höhen aus den AFM-Bildern ergibt, dass die einzelnen Höhenintervalle sukzessive populiert werden. Daraus folgt, dass bei geringem Dendrimeranteil gebildete Komplexe geringere Höhen und somit geringere Molmassen aufweisen als bei höheren Dendrimeranteilen gebildete. Annahme 2 folgt somit aus den AFM-Ergebnissen.

Annahme 3:

Diese Annahme kann auf Basis der vorliegenden experimentellen Daten nicht bewiesen werden. Die Tatsache, dass die Reihenfolge des Zusammengebens für die gebildeten Komplexlösungen irrelevant ist, legt jedoch nahe, dass die gebildeten Komplexe keine kinetisch gefangenen Strukturen darstellen. Zudem folgt aus der Begründung von Annahme 2, dass die Molmasse der gebildeten Komplexe mit den jeweiligen Gewichtsanteilen in der Komplexlösung skalieren.

Für die verwendeten Bürsten gilt, dass sie keine unterschiedlichen chemischen Zusammensetzungen aufweisen (hervorgerufen durch bsp. unterschiedliche Sulfonierungsgrade) und Endgruppeneffekte aufgrund der großen Länge vernachlässigbar sind. Sie unterscheiden sich somit ausschließlich hinsichtlich ihrer Längen (Längenpolydispersität), welche wiederum die Dendrimerdurchmesser um ein Vielfaches übersteigen.

Aus der Summe dieser experimentellen Befunde folgt, dass eine statistische Verteilung der Dendrimere über alle Bürsten in der Komplexlösung zu erwarten ist.

Annahme 4:

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

Den AFM-Bildern kann entnommen werden, dass die Komplexlösungen mit hohem Dendrimer-Anteil freie, unkomplexierte PAMAM-Dendrimere neben Komplexen enthalten. Dass keine unkomplexierten PSS-C12-Bürsten neben Komplexen vorliegen folgt bereits aus Annahme 3 unter der Voraussetzung, dass das Mischungsverhältnis groß genug ist, dass mindestens 1 Dendrimer pro Bürste in der Lösung vorhanden ist. Kettenstöchiometrie, d.h. 1 Dendrimer pro 1 Bürste entspricht einem Mischungsverhältnis von 0,997. Die Komplexlösung ($w(\text{PSS-C12})=0,892$), welche den niedrigsten Dendrimergehalt aufweist, enthält 47 Dendrimere pro Bürstenpolymer.

Annahme 5:

Die Polydispersität der Dendrimere kann zu $M_w/M_n \sim 1,1$ abgeschätzt werden (siehe Anhang C.6). Für die vorliegende Auswertung hat eine derartig geringe Polydispersität keine signifikanten Einfluss, so dass vereinfachend monodisperse Dendrimere angenommen werden können.

Annahme 6:

Dass bei der Komplexierung keine Gegenionen freigesetzt werden, kann nicht auf Basis experimenteller Daten geschlossen werden. Die in Kapitel 4.1 untersuchten Komplexe aus PSS-C12 und hochgeladenem PEI-PEO zeigen jedoch, dass bei ausreichend hohem Ladungsgrad des Polykations auch in DMF das in Wasser beobachtete Komplexierungsverhalten gefunden wird. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die hier verwendeten Dendrimere nur wenige Ladungen tragen. Daraus folgt, dass der Gewichtsbruch freigesetzter Gegenionen:

$$w_{\text{Dendrimer, unkomplexiert}} + w_{\text{Komplexe}} + w_{\text{Gegenionen}} = 1 \quad \text{Gl. 4-3}$$

gegenüber denen der beiden anderen Komponenten vernachlässigbar ist und somit Annahme 6 in erster Näherung erfüllt wird.

Annahme 7:

Die dynamische Lichtstreuung an dem PAMAM-Dendrimer in DMF und Methanol zeigt, dass die Radien in beiden Lösungsmitteln übereinstimmen. Eine Aggregation der Dendrimere in DMF ist somit auszuschließen, so dass auch die Molmasse in beiden Lösungsmitteln übereinstimmen muss. Aus der in Methanol zu $2,80 \cdot 10^4$ g/mol bestimmten

Molmasse folgt für das Brechungsindexinkrement der Dendrimere in DMF / 2mM LiBr $(dn/dc)_{Dendrimer} = 0,065 \text{ mL/g}$.

Bei der Synthese der PSS-C12-Bürsten lieferten sowohl die Sulfonierungsreaktion als auch der Gegenionenaustausch 100% Umsatz [Dusc07] (siehe Experimenteller Teil). Aus der Absolutmolmasse der Poly(styrol)-Bürste und der Seitenkettenmolmasse (siehe Experimenteller Teil) kann somit die theoretische Molmasse der PSS-C12-Bürste berechnet werden: $M_{w,PSS-C12} \text{ (theoretisch)} = 16,3 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$. Das Brechungsindexinkrement der PSS-C12-Bürste in DMF / 2mM LiBr kann daraus zu $(dn/dc)_{PSS-C12} = 0,073 \text{ mL/g}$ abgeschätzt werden.

Die Brechungsindexinkremente beider Homopolymere in DMF weichen nur um $\pm 5 \%$ vom arithmetischen Mittelwert beider von $0,069 \text{ mL/g}$ ab. Für obige Abschätzung kann keine höhere Genauigkeit angenommen werden, so dass in der Folge dieses mittlere dn/dc für alle Komponenten angenommen wird:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{PAMAM-Dendrimere} = \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PSS-C12} = 0,069 \text{ mL/g} \quad \text{Gl. 4-4}$$

Bestimmung der Zusammensetzung der Komplexlösung und der Komplexe aus der statischen Lichtstreuung – Herleitung der mathematischen Zusammenhänge

Auf Basis dieser Annahmen sollen Zusammenhänge abgeleitet werden, welche die an den Komplexlösungen gemessene Molmasse mit der Molmasse der Komplexe und der Zusammensetzung der Komplexlösung in Verbindung setzt. Aus den Annahmen 4, 6 und 7 folgt für die gemessene Molmasse:

$$M_{w,gem} = w_{Dendrimer,unkomplexiert} \cdot M_{w,Dendrimer} + w_{Komplexe} \cdot M_{w,Komplexe} \quad \text{Gl. 4-5}$$

mit $w_{Dendrimer,unkomplexiert} + w_{Komplexe} = 1 \quad \text{Gl. 4-6}$
Ann. 4,6,7

Enthält jeder Komplex nur 1 PSS-C12-Bürste und besitzen alle Komplexe die gleiche Zusammensetzung, so folgt für die Molmasse der Komplexe:

$$\frac{W_{PSS \text{ in den Komplexen}}^* \cdot M_{w,Komplexe}}{M_{w,PSS}} = 1 \quad \text{Gl. 4-7}$$

Ann. 1,3,5

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

mit:
$$W_{PSS \text{ in den Komplexen}}^* = \frac{m_{PSS \text{ in den Komplexen}}}{m_{PSS \text{ in den Komplexen}} + m_{Dendrimere \text{ in den Komplexen}}$$
 Gl. 4-8

$$W_{PSS \text{ in den Komplexen}}^* + W_{Dendrimere \text{ in den Komplexen}}^* = 1$$
 Gl. 4-9

Gleichung 4-7 gilt streng nur unter der Annahme, dass die Dendrimere statistisch pro PSS-C12-Bürste bzw. pro PSS-C12-Seitenkette eingebaut werden und selbst keine Polydispersität aufweisen. Die Herleitung ist in diesem Fall gleichbedeutend mit:

$$M_{w, \text{Komplexe}} = M_{w, PSS} \left(\frac{M_{n, \text{Seitenkette}} + n \cdot M_{Dendrimere}}{M_{n, \text{Seitenkette}}} \right)$$
 Gl. 4-10
Ann. 1,3,5

mit: $n :=$ Anzahl Dendrimere pro Seitenkette

$$\frac{M_{n, \text{Seitenkette}} + n \cdot M_{Dendrimere}}{M_{n, \text{Seitenkette}}} = \frac{1}{W_{PSS \text{ in den Komplexen}}^*}$$
 Gl. 4-11

Gleichung 4-10 verdeutlicht, dass bei diesem Ansatz für eine bestimmtes Mischungsverhältnis die Dendrimere pro Seitenkette konstant für alle Bürsten ist. Die Polydispersität der gebildeten Komplexe entspricht in diesem Fall der Polydispersität der PSS-C12-Bürste. In diesem Fall ist es gleichbedeutend, ob in Gleichung 4-7 die gewichtsgemittelten oder zahlengemittelten Molmassen der Komplexe bzw. der PSS-C12-Bürste verwendet werden.

Der Gewichtsbruch PSS in den Komplexen ist unter der Voraussetzung, dass alle PSS-C12-Bürsten in Komplexe eingebaut vorliegen, mit dem Gewichtsbruch PSS in der Komplexlösung verknüpft über folgende Beziehung:

$$W_{PSS \text{ in den Komplexen}}^* = \frac{W_{PSS \text{ in der Komplexlösung}}}{W_{\text{Komplexe}}}$$
 Gl. 4-12
Ann. 4

Einsetzen der Gleichungen 4-6, 4-7 und 4-12 in Gleichung 4-5 liefert schließlich folgende quadratische Gleichung:

$$M_{w,gem} = (1 - w_{Komplexe}) \cdot M_{w,Dendrimer} + w_{Komplexe}^2 \cdot \frac{M_{w,PSS}}{W_{PSS \text{ in der Komplexlösung}}} \quad \text{Gl. 4-13}$$

Ann. 1-7

Gleichung 4-13 enthält neben den experimentell bestimmten Größen Molmasse der Komplexlösung, Molmasse der Homopolymere und dem Mischungsverhältnis ausgedrückt durch $w(PSS)$ nur eine unbekannte, nicht experimentell bestimmbare Größe: den Gewichtsbruch Komplexe in den Komplexlösungen.

Mit Hilfe dieser Gleichung kann somit für jede Komplexlösung der Anteil Komplexe und freier, unkomplexierter Dendrimere bestimmt werden. Aus den Gleichungen 4-5, 4-6, 4-8 und 4-12 folgen schließlich die Molmassen der Komplexe und die Massenstöchiometrien der Komplexe bei den verschiedenen Mischungsverhältnissen.

Ist die Massenstöchiometrie der gebildeten Komplexe bekannt, so kann die zahlengemittelte Anzahl Dendrimere pro Komplex bestimmt werden:

$$\left(n_{Dendrimere \text{ pro Komplex}} \right)_n = \frac{W_{Dendrimere \text{ in den Komplexen}}^* \cdot M_{n,Komplexe}}{M_{w,Dendrimere}} \quad \text{Gl. 4-14}$$

mit: $\frac{M_{w,Komplexe}}{M_{n,Komplexe}} = \frac{M_{w,PSS}}{M_{n,PSS}} = 1,5 \quad \text{Gl. 4-15}$

$$\frac{M_{w,Dendrimere}}{M_{n,Dendrimere}} \approx 1 \quad \text{Gl. 4-16}$$

Bestimmung der Zusammensetzung der Komplexlösung und der Komplexe aus der statischen Lichtstreuung – Auswertung der Lichtstreuungsmessung mit den hergeleiteten Beziehungen

Die mit Hilfe der hergeleiteten Gleichungen berechneten Größen der Komplexlösungen und der Komplexe sind in den Tabelle 4.4a bis 4.4c zusammengefasst.

Ein bemerkenswertes Ergebnis dieser Berechnungen ist, dass der Gewichtsbruch unkomplexierter PAMAM-Dendrimere für kein Mischungsverhältnis gleich null ist. Selbst in

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

Tabelle 4.4a: Zusammensetzung der Komplexlösungen.

$M_{w,app}$ / g / mol	Gewichtsbrüche in den Komplexlösungen		
	w(PSS-C12)	w(Komplexe)	w(Dendrimere, unkompl.)
7,70 E6	0,0617	0,161	0,839
2,02 E7	0,294	0,571	0,429
2,17 E7	0,440	0,724	0,276
2,12 E7	0,468	0,739	0,261
2,06 E7	0,674	0,874	0,126
1,95 E7	0,892	0,979	0,0209

Tabelle 4.4b: Molmasse und Massenstöchiometrie der gebildeten Komplexe.

w(PSS-C12) in den Komplexlösungen	$M_{w,Komplexe}$ / g / mol	Gewichtsbruch im Komplex	
		W^* PSS in den Komplexen	W^* Dendrimere in den Komplexen
0,0617	4,75 E7	0,382	0,618
0,294	3,53 E7	0,515	0,485
0,440	3,00 E7	0,607	0,393
0,468	2,87 E7	0,633	0,367
0,674	2,36 E7	0,772	0,228
0,892	1,99 E7	0,911	0,0885

Tabelle 4.4c: Kettenstöchiometrie der gebildeten Komplexe.

w(PSS-C12) in den Komplexlösungen	Zahlgemittelte Anzahl Ketten pro Komplex		Anzahl Dendrimere pro Seitenkette der Bürste
	PSS-C12	Dendrimer	
0,0617	1	784	1,27
0,294	1	457	0,739
0,440	1	315	0,509
0,468	1	281	0,455
0,674	1	144	0,233
0,892	1	47,1	0,0763

großem Überschuss PSS-C12-Bürsten liegen nicht alle Dendrimere komplexiert vor. Dies legt nahe, dass die Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-Dendrimern in DMF unter thermodynamischer Kontrolle verläuft und die gebildeten Komplexe Gleichgewichtsstrukturen darstellen. Im Vergleich zu den in Kapitel 2 untersuchten Komplexen ist in diesem Fall die Beziehung $w(\text{Dendrimer,unkomplexiert}) \sim w(\text{Dendrimer,ges.})$ nicht erfüllt (Abbildung 4.12). In erster Näherung hingegen kann der Verlauf in diesem Fall mit Hilfe eines Polynoms zweiten Grades angenähert werden.

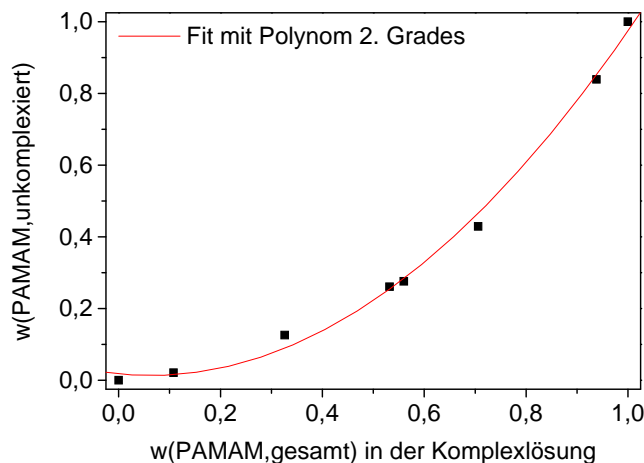


Abbildung C.12: Gewichtsbruch unkomplexierter PAMAM-Dendrimere in den Komplexlösungen als Funktion der Gesamtkonzentration des PAMAM.

Die Gewichtsbrüche beider Komponenten in den Komplexen zeigen eine lineare Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis beider Komponenten, ausgedrückt durch den Gewichtsbruch einer der beiden Komponenten in der Lösung (Abbildung 4.13). Daraus folgt für die Molmasse der gebildeten Komplexe, dass sie sowohl in der Auftragung gegen den Gewichtsbruch Dendrimere in der Komplexlösung (Abbildung 4.14) als auch in der Auftragung gegen den Gewichtsbruch Dendrimere in den Komplexen (Abbildung 4.15) mit einem Polynom zweiten Grades angenähert werden können. Die Molmasse der gebildeten Komplexe als Funktion des Mischungsverhältnisses weist keine Sättigung auf. Dies legt nahe, dass die gebildeten Komplexe bei endlichen Mischungsverhältnissen nicht den maximalen Beladungsgrad PAMAM-Dendrimere pro Bürste aufweisen. Vielmehr wird erst bei unendlich hoher Dendrimer-Konzentration pro Bürste die maximale Beladung erhalten. Alle bei endlichen Mischungsverhältnissen hergestellten Komplexe entsprechen Zwischenstufen zwischen freier und vollständig komplexierter Bürste. Ein derartiges Verhalten kann

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

ausschließlich mit im thermodynamischen Gleichgewicht gebildeten Komplexen interpretiert werden.

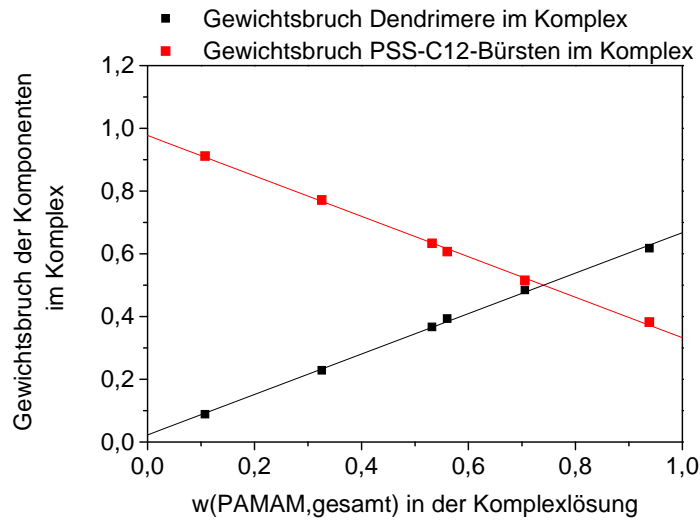


Abbildung C.13: Zusammensetzung der Komplexe als Funktion des Mischungsverhältnisses.

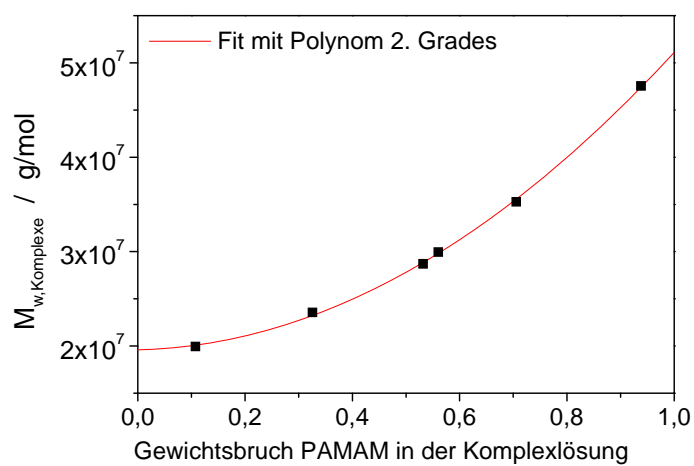


Abbildung C.14: Molmasse der gebildeten Komplexe als Funktion der Zusammensetzung der Komplexlösungen.

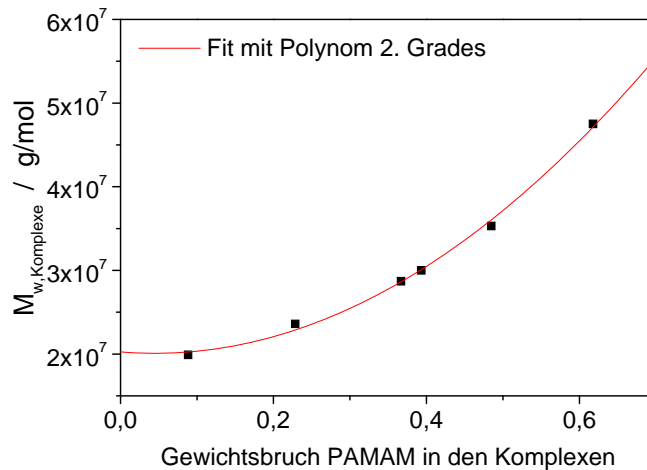


Abbildung C.15: Molmasse der gebildeten Komplexe als Funktion der Zusammensetzung der Komplexe.

Die quadratische Abhängigkeit der Größen in den Abbildungen 4.14-4.16 bedeutet, dass das Wachstum der gebildeten Komplexe 2-dimensional und eine Funktion des Massenbruchs PAMAM in der Lösung ist. Ein 2-dimensionales Wachstum senkrecht zur Hauptkette der PSS-C12-Bürste führt dazu, dass der Radius der Komplexe linear mit dem Gewichtsbruch PAMAM in der Lösung skaliert. Dies erklärt, dass die im AFM detektierte mittlere Höhe der Komplexe (über Schwellenwert) linear mit dem Mischungsverhältnis zunimmt, da im AFM das Wachstum in nur einer Dimension detektiert wird. Die folgenden Zusammenhänge der Messgrößen aus Lichtstreuung und AFM

$$M_{w,Komplexe,LS} \sim (w_{PAMAM,Komplexe})^2 \sim (w_{PAMAM,ges})^2 \sim (h_{Komplexe,AFM})^2 \quad \text{Gl. 4-17}$$

liefern somit ein 2-dimensionales Komplexwachstum senkrecht zur Hauptkette der PSS-C12-Bürste.

Wird die zahlengemittelte Anzahl Dendrimere pro Komplex gegen das Mischungsverhältnis aufgetragen, so wird erwartungsgemäß ebenfalls ein quadratischer Verlauf erhalten (Abbildung 4.16). Durch Extrapolation auf $w(PAMAM,ges) = 1$ kann die maximale Anzahl Dendrimere pro PSS-C12-Bürste abgeschätzt werden. Es wird ein Wert von 880 ± 65 Dendrimere pro Komplex erhalten, welcher $1,4 \pm 0,1$ Dendrimere pro Bürsten-

Seitenkette entspricht. Dieser Wert entspricht dem von Sabrina Duschner aus den AFM-Höhen abgeschätzten Wert von 1,5 Dendrimern pro Bürsten-Seitenkette [Dusc07].

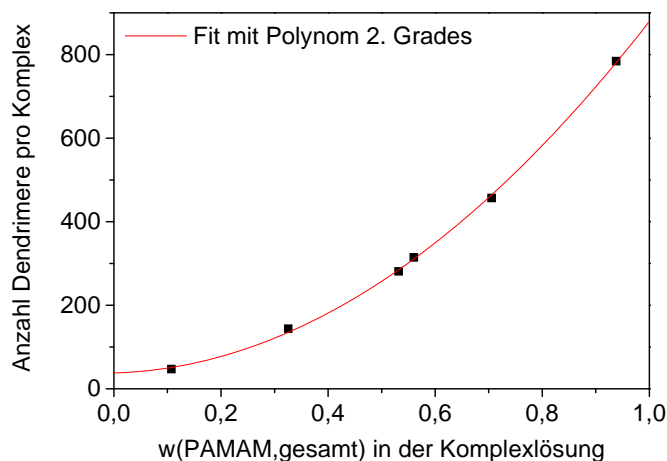


Abbildung C.16: Anzahl Dendrimere pro Komplex als Funktion des Mischungsverhältnisses.

Die Ensemble-Methode statische Lichtstreuung und die Einzelmolekül-Methode AFM liefern somit unabhängig ein übereinstimmendes Ergebnis für die maximale Beladung der PSS-C12-Bürste mit PAMAM-G5-Dendrimern von ca. 1,5 Dendrimern pro Bürsten-Seitenkette. Die übereinstimmenden Ergebnisse beider Methoden legen nahe, dass die für die Auswertung der Lichtstreuung zu Grunde gelegten Annahmen im Rahmen des Messfehlers erfüllt werden.

Interpretation der Komplexstöchiometrie

AFM und Lichtstreuung liefern übereinstimmend für die Extrapolation auf $w(\text{PAMAM}) = 1$ eine maximale Beladung der PSS-C12-Bürste von $(1,5 \pm 0,1)$ Dendrimern pro Seitenkette. An dieser Stelle sei noch einmal darauf hingewiesen, dass für die Berechnung dieses Wertes aus den Messdaten der statischen Lichtstreuung einige Annahmen gemacht werden mussten, die noch nicht experimentell verifiziert wurden (Diskussion der Annahmen: siehe S. 108; Diskussion der AFM-Ergebnisse: siehe [Dusc07]).

Aus dem Grenzwert für maximale Beladung soll ein Modell für die gebildeten Komplexe erstellt werden, dem folgende Eigenschaften zu Grunde gelegt werden sollen:

- Die bei maximaler Beladung gebildeten Komplexe besitzen eine zylindrische Topologie, deren Länge durch die Konturlänge der PSS-C12-Bürste gegeben ist.
- Die Konturlänge der Bürste beträgt 0,25 nm pro Makromonomer.
- Das Volumen der Komplexe ist gegeben durch das Volumen der Dendrimere im Komplex. Die Bürste füllt in diesem Modell die Zwischenräume der Dendrimere aus.
- Die Dichte der Dendrimere bleibt bei der Komplexbildung unverändert.
- Das Volumen eines Dendrimers beträgt $V_{Dendrimer} = \frac{4 * \pi * (2,85 \text{ nm})^3}{3} = 97 \text{ nm}^3$. Für diese Berechnung wurde ein Radius von 2,85 nm zugrunde gelegt, berechnet aus dem Trägheitsradius von PAMAM-G5-Dendrimern in Methanol und Methanol/Aceton-Mischungen von $22,1 \pm 0,2 \text{ \AA}$ [Topp99]. Die verwendeten PAMAM-G5-Dendrimere weisen, vermutlich durch Verunreinigungen, die auch die Krümmung der Korrelationsfunktion hervorrufen, gegenüber [Topp99] unabhängig vom verwendeten Lösungsmittel einen leicht erhöhten hydrodynamischen Radius auf $\langle R_h^{-1} \rangle_z^{-1} = 3,4 \text{ nm}$, siehe Anhang C.6).

Wird das Volumen der zylindrischen Komplexe vollständig von Dendrimern ausgefüllt (kontinuierliche Dichte der Komplexe für alle Raumelemente), so beträgt der Radius der zylindrischen Komplexe für $w(\text{PAMAM}) \rightarrow 1$:

$$R_{\text{kontinuierlich}} = \sqrt{\frac{1,5 * 97 \text{ nm}^3}{\pi * 0,25 \text{ nm}}} = 13,6 \text{ nm}$$

Dieser Radius ist jedoch nicht sehr realistisch, da die kugelförmigen Dendrimere nicht beliebig verformbar sind. Wird hingegen angenommen, dass die Dendrimere in einer dichtesten Packung (hexagonal-dichteste Packung oder kubisch-dichteste Packung) vorliegen, so beträgt die Raumauffüllung 74 % [Ried90] und die resultierende Zylinderstruktur besitzt einen Radius für $w(\text{PAMAM}) \rightarrow 1$ von:

$$R_{\text{dichteste Packung}} = \sqrt{\frac{1,5 * 97 \text{ nm}^3}{\pi * 0,25 \text{ nm} * 0,74}} = 15,8 \text{ nm}$$

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

Für den Grenzwert vollständiger Beladung wird die äußerste Schale der Komplexe von Dendrimeren aufgebaut, deren minimaler Abstand vom Rückgrat der Bürste $15,8\text{nm} - 2 * 2,85\text{nm} = 10,1\text{nm}$ beträgt. Die maximale Konturlänge der Seitenkette mit 43 Styrolsulfonat-Wiederholungseinheiten beträgt 10,75 nm. Für die Bildung eines Ionenpaars zwischen den Dendrimeren der äußersten Schale und der am weitesten vom Bürstenrückgrat entfernten Styrolsulfonat-Gruppe muss das Verhältnis Konturlänge zu maximaler Konturlänge der Seitenketten

$$\frac{l_{c,\text{Seitenkette}}}{l_{c,\text{max}}} = \frac{10,1\text{nm}}{10,75\text{nm}} = 0,94$$

betragen. Für diese Berechnungen wurden jedoch einige Sachverhalte nicht berücksichtigt: i.) Es kann davon ausgegangen werden, dass die Dichte der Dendrimere in den Komplexen erhöht ist. ii.) Eine Verformung der Dendrimere ist wahrscheinlich, da sie keine harten Kugeln darstellen. iii.) Unter Berücksichtigung der Bjerrum-Länge (entspricht dem Abstand zweier Ladungen, bei der die elektrostatische Anziehung der thermischen Energie entspricht) in DMF (1,5 nm) kann die Koordination der äußersten Dendrimer-Schale in diesem Abstand von der Seitenkette geschehen. Die Berücksichtigung dieser Faktoren führt übereinstimmend zu einer Verringerung des Radius der zylindrischen Struktur. Obiges Verhältnis der Konturlängen stellt folglich einen Maximalwert dar.

Das Querschnitts-Dichte-Profil von Polymerbürsten mit Poly(styrol)-Seitenketten ($P_n(\text{Seitenkette}) = 33$, Bestimmung mit Kleinwinkel-Neutronenstreuung (SANS), [Zhan06]) zeigt, dass eine signifikante Segmentdichte bis zu einem Abstand von ca. 7 nm gemessen wird, die den Endgruppen der Seitenkette zuzuordnen ist. Das Verhältnis Konturlänge zu maximaler Konturlänge beträgt in diesem Fall 0,85. Analog wurde für Polymerbürsten mit Dodecylsulfat-Poly(2-(N-ethyl)-vinylpyridinium)₂₆-Seitenketten ein Verhältnis von $6,0\text{nm} / 6,5\text{nm} = 0,92$ bestimmt [Dusc07]. Eine signifikant Streckung der Seitenketten in den Komplexen im Vergleich zu der unkomplexierten PSS-C12-Bürste wird somit nicht beobachtet.

Die Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-G5-Dendrimeren führt somit im Grenzfall $w(\text{PAMAM}) \rightarrow 1$ zu zylindrischen Komplexen, die eine dichteste

Kugelpackung von PAMAM-G5-Dendrimern darstellen. In den Zwischenräumen der Kugelpackung befinden sich die PSS-C12-Bürsten, welche die Bildung der Struktur hervorrufen. Der Radius der zylindrischen Strukturen wächst dabei von ca. 10 nm (unkomplexierte PSS-C12-Bürste) auf ca. 16 nm (vollständige Beladung der PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-G5-Dendrimern) an, wodurch die gemessene Zunahme des hydrodynamischen Radius als Funktion des Massenanteils PAMAM in der Komplexlösung erklärt wird. Für eine experimentelle Bestätigung des auf Basis der AFM- und Lichtstreuungsergebnisse beschriebenen Komplex-Modells können SANS-Messungen durchgeführt werden. Diese führen zu einer experimentellen Bestimmung der radialen Dichteverteilung und der Dickenzunahme.

Zusammenfassung

Die vorgestellten Komplexe aus PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimern in DMF zeigen ein grundlegend neues Komplexierungsverhalten. In Vergleich zu den bisher untersuchten Komplexierungen hat die Reihenfolge der Präparation keinen Einfluss auf die Komplexierung und die Verläufe zeigen keine Unstetigkeiten. Durch AFM und Lichtstreuung konnte übereinstimmend gezeigt werden, dass die zylindrische Topologie des PSS-C12 in den Komplexen erhalten bleibt.

Die Ergebnisse der AFM- und Lichtstremessungen an den gebildeten Komplexen legen nahe, dass die Dendrimere in die Korona der PSS-C12-Bürste eingelagert werden (Beladung der PSS-C12-Bürste) und das Komplexwachstum ausschließlich senkrecht zur Hauptkette der PSS-C12-Bürste stattfindet. Durch Erhöhung der Konzentration PAMAM in der Lösung wird auch die Beladung erhöht, bis schließlich für unendliche Konzentration PAMAM ein maximaler Beladungsgrad erreicht wird. Bemerkenswert ist, dass der Gewichtsbruch unkomplexierter PAMAM-Dendrimere für kein Mischungsverhältnis gleich null ist. Selbst in großem Überschuss PSS-C12-Bürsten liegen nicht alle Dendrimere komplexiert vor. Dies legt nahe, dass die Komplexierung von PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-Dendrimern in DMF unter thermodynamischer Kontrolle verläuft und die gebildeten Komplexe Gleichgewichtsstrukturen darstellen.

Für den Grenzfall maximaler Beladung ($w(\text{PAMAM}) \rightarrow 1$) kann postuliert werden, dass die Komplexbildung zu zylindrischen Strukturen führt, die eine dichteste Kugelpackung

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

von PAMAM-G5-Dendrimeren darstellen. In den Zwischenräume der Kugelpackung befinden sich die PSS-C12-Bürsten, welche die Bildung der Struktur hervorrufen. Der Radius der zylindrischen Strukturen wächst dabei von ca. 10 nm (unkomplexierte PSS-C12-Bürste) auf ca. 16 nm (vollständige Beladung der PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-G5-Dendrimeren) an.

Ob diese Art der kontrollierten Komplexbildung auch auf die in Kapitel 4.1 verwendeten PEI-PEO-Bürsten mit einer deutlich erhöhten Anzahl protonierbarer Gruppen übertragen werden kann, soll im folgenden Kapitel untersucht werden.

4.3 Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF

Die in diesem Kapitel verwendeten PSS-C12- und PEI-PEO-Bürsten sind identisch mit den von Kapitel 4.1 (Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten mit hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF). Einziger Unterschied der beiden Messreihen ist, dass für die folgenden Experimente der PEI-PEO-Lösung vor der Komplexbildung keine Salzsäure zugegeben wurde.

Herstellung der Komplexe

Für die Komplexbildung wurden ca. 1,6 mL DMF/2,5mM LiBr in den Lichtstreu Küvetten vorgelegt und dann jeweils höher konzentrierte Lösungen der Homopolymere in DMF ($c(\text{PSS-C12}) = 1,0 \text{ g/L}$, $c(\text{PEI-PEO}) = 1,0 \text{ g/L}$) in der in Tabelle 4.5 angegebenen Reihenfolge zugegeben. Die Mischungsverhältnisse und Polymergesamt Konzentrationen der einzelnen Komplexlösungen sind in Tabelle 4.5 zusammengefasst. Nach der Komplexbildung wurden die Küvette für ca. 30 Minuten geschüttelt und im Anschluss die statischen und dynamischen Lichtstreuungsmessung an den Komplexlösungen durchgeführt. Ausschließlich diese Lichtstreuungsmessungen direkt nach Komplexbildung sind Gegenstand dieses Kapitels, das zeitabhängige Verhalten der Komplexlösungen wird im folgenden Kapitel diskutiert.

Aufgrund des zeitabhängigen Assoziationsverhaltens der niedriggeladenen PEI-PEO-Bürste (Kapitel 2) wurden die Komplexe bei definierten Zuständen gebildet: Bei der Komplexbildung mit PSS-C12 vorgelegt wurden die Komplexe mit PEI-PEO-Einzelmolekülen gebildet, da beim Mischen der Komponenten das PEI-PEO direkt in die Lichtstreu Küvetten filtriert wurde (siehe Punkt i der Charakteristika der Assoziate (Kapitel 2), die Assoziate sind instabil gegen Scherung). Wurde das PEI-PEO vorgelegt, so wurde nach Filtration der PEI-PEO-Lösung so lange gewartet, bis nur noch sedimentierte Assoziate in der Lösung beobachtet wurden. Erst dann wurde die PSS-C12-Lösung zugegeben. Im Fall der Komplexbildung mit PEI-PEO vorgelegt wurden die Komplexe somit mit PEI-PEO-Assoziaten gebildet.

In Zusammenhang mit den im folgenden Kapitel beschriebenen zeitabhängigen Effekten sei darauf hingewiesen, dass die PSS-C12-Lösung für die Komplexbildung kein Lithiumbromid enthielt. Die für die Komplexbildung verwendete PSS-C12-Lösung war somit für alle gebildeten Komplexe identisch.

Für die aus [Dusc07] zitierten AFM-Messungen wurden sowohl Proben direkt aus den Lichtstreuküvetten entnommen, so dass die identischen Komplexlösungen vermessen wurden, als auch Komplexe separat durch Mischen von Lösungen des PEI-PEO (10^{-3} g/L in DMF) und des PSS-C12 (10^{-3} g/L in DMF) hergestellt.

In diesem Kapitel wird das Mischungsverhältnis der Komplexlösungen durch den Gewichtsbruch der Komponenten in Lösung ausgedrückt:

$$w(\text{PEI} - \text{PEO}) = \frac{c(\text{PEI} - \text{PEO})}{c(\text{PSS} - \text{C12}) + c(\text{PEI} - \text{PEO})} \quad \text{Gl. 4-1}$$

$$w(\text{PSS} - \text{C12}) + w(\text{PEI} - \text{PEO}) = 1 \quad \text{Gl. 4-2}$$

Tabelle 4.5: Hergestellte Komplexlösungen

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	c(ges) / g/L
0,13	PSS-C12	0,2111
0,33	PSS-C12	0,2098
0,48	PSS-C12	0,1949
0,48	PEI-PEO	0,1962
0,70	PEI-PEO	0,1926
0,89	PEI-PEO	0,2068

Statische und dynamische Lichtstreuung an den Komplexlösungen

Das Streuverhalten von Komplexlösungen aus niedriggeladenem PEI-PEO und PSS-C12 zeigt Abbildung 4.24. Die Auswertung der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen aus niedriggeladenem PEI-PEO und PSS-C12 ist in Tabelle 4.6 zusammengefasst. Da die Brechungsindexinkremente der Homopolymere nicht experimentell bestimmt wurden und nicht literaturbekannt sind, wird die statische Lichtstreuung mit Hilfe der konzentrationsnormierten Rayleigh-Verhältnisse $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ ausgewertet. Bei der Auswertung wird zunächst davon ausgegangen, dass eventuell in der Lösung vorhandene, unkomplexierte PEI-PEO-Bürsten monomolekular gelöst vorliegen und keine Assoziate bilden. Für Molmasse, Trägheitsradius und hydrodynamischen Radius der unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten werden die Größen der hochgeladenen Spezies aus Tabelle 4.5 verwendet.

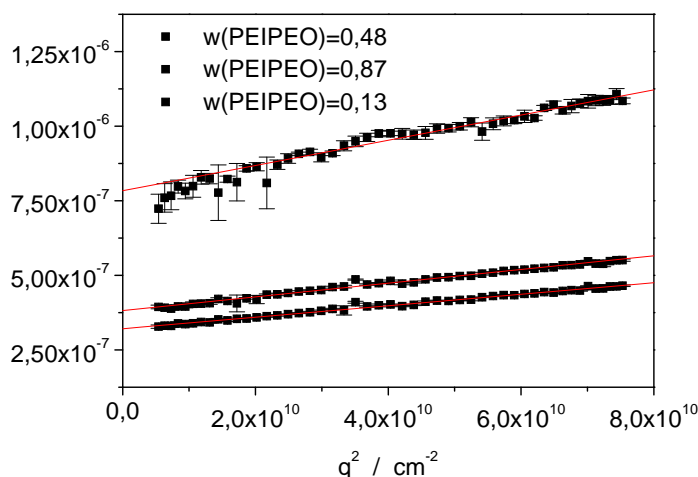


Abbildung 4.24: Streuverhalten ausgewählter Komplexlösungen.

Die Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung in Tabelle 4.6 zeigen ein der Komplexbildung von PAMAM-Dendrimern mit PSS-C12-Bürsten in DMF im vorstehenden Kapitel vergleichbares Verhalten. Man erkennt deutlich, dass das konzentrationsnormierte Rayleigh-Verhältnis der Komplexlösungen über dem der jeweiligen Homopolymersmischung liegt und mit zunehmendem PEI-PEO-Anteil ansteigt, was eine Zunahme des Molekulargewichts bedeutet (Abbildung 4.25). Das Vorliegen einer Mischung aus Homopolymeren ist daher auszuschließen, die Bildung von Komplexen wird bestätigt. Für den Fall, dass die Komplexlösungen noch freie PEI-PEO-Bürsten enthalten und diese assoziiert vorliegen, wird die reale Molmassenzunahme in Abbildung 4.25 unterschätzt. Dies folgt aus der in diesem Fall überschätzten Polymergesamtkonzentration in Lösung.

Der Trägheitsradius der Komplexlösungen ist unabhängig von den Anteilen der beiden Polymere und entspricht dem des PSS-C12 Homopolymers (Abbildung 4.26). Für den hydrodynamischen Radius wird ausgehend vom PSS-C12-Homopolymer eine geringfügige, monotone Zunahme gefunden (Abbildung 4.27). Folglich nimmt der Quotient beider Radien geringfügig ab, entspricht jedoch davon unberührt dem anisotroper Partikel (Abbildung 4.28). Die Radien der Komplexlösungen unterscheiden sich nicht signifikant von denen der PSS-C12-Bürste, obwohl die Molmasse stark zunimmt. Daraus kann geschlossen werden, dass die gebildeten Komplexe lediglich ein PSS-C12-Molekül enthalten, an das PEI-PEO angelagert wird. Bei Beteiligung mehrerer PSS-C12-Moleküle an der Komplexbildung wäre die relative Molekulargewichtszunahme mit einer deutlichen Erhöhung von R_g verbunden.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

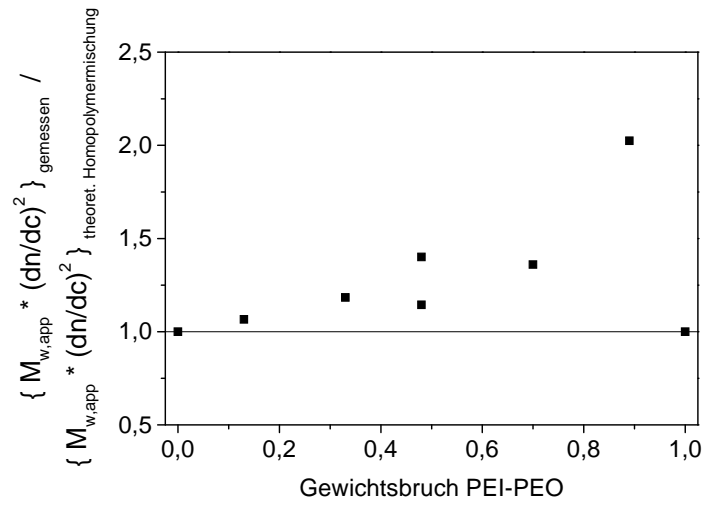


Abbildung 4.25: Normierung der gemessenen Streuintensität auf die Streuintensität der hypothetischen Homopolymermischung.

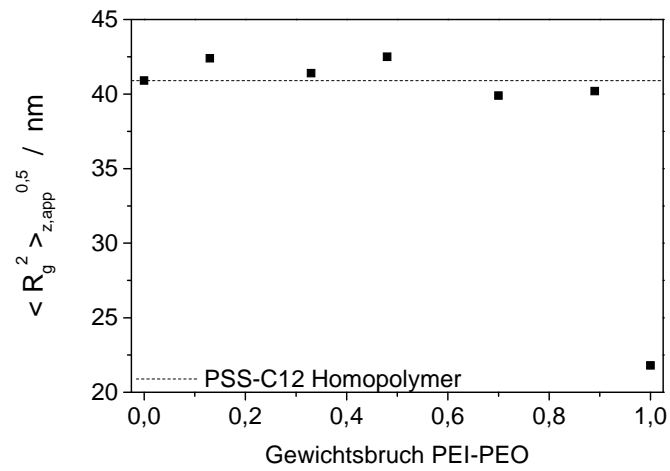


Abbildung 4.26: Apparenter Trägheitsradius der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

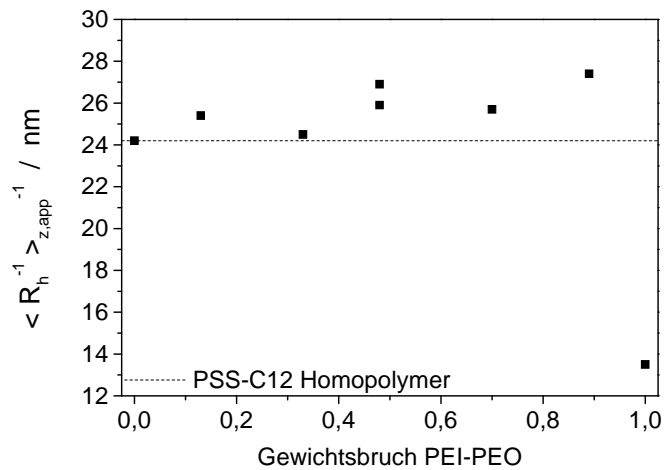


Abbildung 4.27: Apparenter hydrodynamischer Radius der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

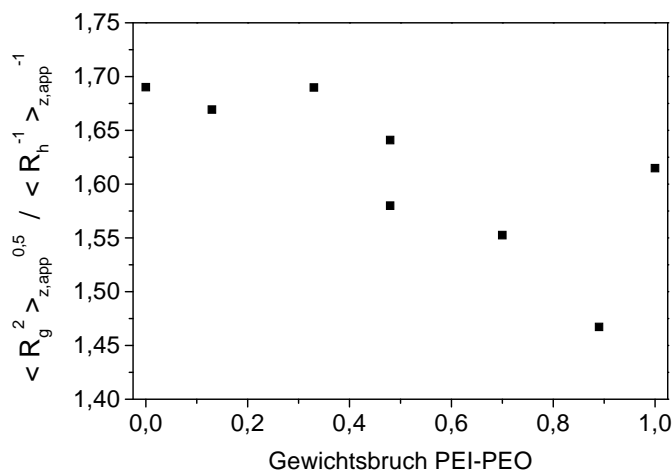


Abbildung 4.28: Quotient der apparente Radien der Komplexlösungen als Funktion des Mischungsverhältnisses.

Wie im Fall der Komplexlösungen von PSS-C12 mit PAMAM-Dendrimeren (Kapitel 4.2) weisen auch die Verläufe der an den Komplexlösungen mit niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten gemessenen Größen keine Unstetigkeiten auf (Abbildung 4.25-4.28). Für die gemessenen Radien der Komplexlösungen ist analog zu Kapitel 4.2 die Reihenfolge der Präparation irrelevant. Auch das Assoziationsverhalten des PEI-PEO hat keinen Einfluss auf die Radien der Komplexlösungen. Für das Produkt aus Molmasse und Brechungsindexinkrement gelten die beiden letzten Beobachtungen nur in erster Näherung (Abbildung 4.25), worauf in den Anmerkungen am Ende dieses Kapitels genauer eingegangen wird. Ungeachtet dessen werden aufgrund der identischen Radien Komplexe identischer

Topologie erhalten. Dies legt nahe, dass die Reihenfolge der Präparation und das Assoziationsverhalten des PEI-PEO keinen Einfluss auf das Komplexierungsverhalten haben.

Die Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung lassen den Schluss zu, dass die niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten unter Erhalt der zylindrischen Topologie an die PSS-C12-Bürsten angelagert werden. Das Komplexierungsverhalten unterscheidet sich somit grundlegend von dem in Kapitel 4.1, bei dem die PSS-C12-Bürsten mit hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten komplexiert wurden. Im Gegensatz dazu wird ein den Komplexen aus PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimern in DMF aus Kapitel 4.2 vergleichbares Verhalten gefunden.

Tabelle 4.6: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	$M_{w,app} * (dn/dc)^2 / mL^2/(g * mol)$	R_g / nm	R_h / nm	R_g / R_h
PSS-C12	---	$3,32 \cdot 10^4$	40,9	24,2	1,7
0,13	PSS-C12	$3,12 \cdot 10^4$	42,4	25,4	1,67
0,33	PSS-C12	$2,75 \cdot 10^4$	41,4	24,5	1,69
0,48	PSS-C12	$2,62 \cdot 10^4$	42,5	26,9	1,58
0,48	PEI-PEO	$2,14 \cdot 10^4$	42,5	25,9	1,64
0,70	PEI-PEO	$1,64 \cdot 10^4$	39,9	25,7	1,55
0,89	PEI-PEO	$1,28 \cdot 10^4$	40,2	27,4	1,47
<i>(PEI-PEO)*</i>	---	<i>($3,00 \cdot 10^3$)*</i>	<i>(21,8)*</i>	<i>(13,5)*</i>	<i>(1,6)*</i>

* Da die niedriggeladene PEI-PEO-Bürste in DMF/2 mM LiBr zeitabhängig assoziiert und sedimentiert, können aus den Lichtstremessungen keine apparenten Molmassen und Radien bestimmt werden. Angegeben sind hier die Werte der hochgeladenen PEI-PEO-Bürste in DMF/2mM LiBr (siehe Kapitel 2 und 4.1).

AFM an den Komplexlösungen [2]

Exemplarisch sind in Abbildung 4.29 AFM-Bilder der Komplexe bei verschiedenen Zusammensetzungen gezeigt. Die gebildeten Komplexe weisen unabhängig von der Zusammensetzung eine zylindrische Struktur auf. Sie unterscheiden sich somit grundlegend von den in Kapitel 4.1 gezeigten kugelförmigen Komplexen, die mit hochgeladenem PEI-PEO erhalten wurden. Neben den Bildern sind die statistisch aus den Bilddaten ermittelten

Höhenverteilungen aufgetragen. Diese zeigen deutlich, dass mit steigendem Anteil PEI-PEO größere Höhen immer stärker populiert werden. Als Maximalhöhe werden 10 nm detektiert, größere Werte wurden nicht beobachtet. Trägt man die mittlere Höhe der Moleküle gegen die Zusammensetzung auf, so wird eine lineare Abhängigkeit von dem Gewichtsbruch $w(\text{PEI-PEO})$ festgestellt (Abbildung 4.30).

Eine bemerkenswerte Eigenschaft des Komplexbildungsverhaltens von PSS-C12 mit niedriggeladenem PEI-PEO ist die Unabhängigkeit der gebildeten Strukturen von der Gesamtkonzentration. So konnte bei der statistischen Auswertung der AFM-Bilder kein Unterschied festgestellt werden, ob die Komplexe bei Polymerkonzentrationen von 10^{-3} g/L oder 0.2 g/L hergestellt wurden. Gleiches gilt für die Reihenfolge, in welcher die Polymerlösungen miteinander kombiniert werden.

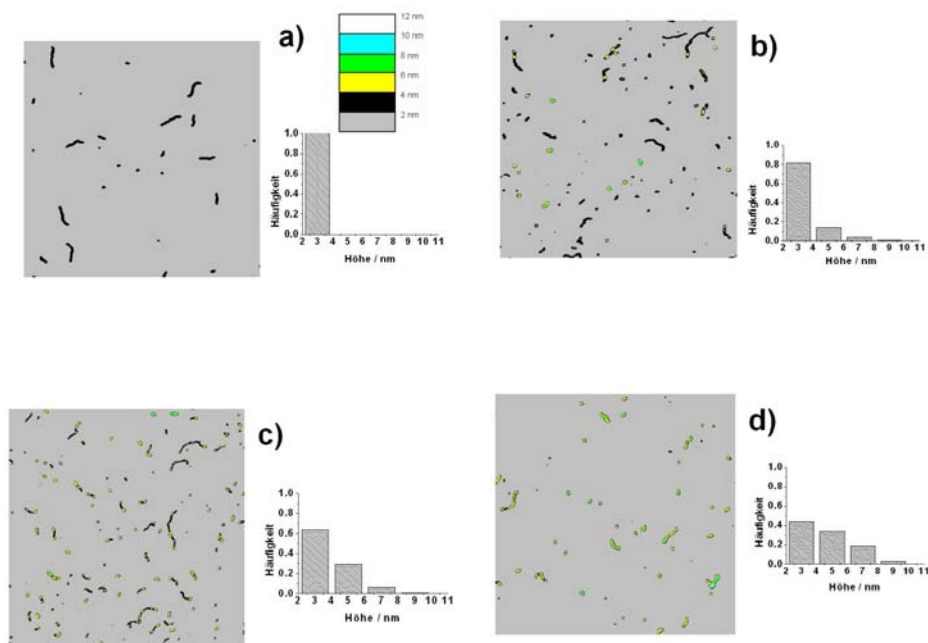


Abbildung 4.29: AFM-Aufnahmen (Höhenbilder, jeweils links) der Komplexe aus PSS-C12 und niedriggeladenem PEI-PEO, sowie daraus erhaltene Höhenverteilung (jeweils rechts). a) $w(\text{PEI-PEO}) = 0$; b) $w(\text{PEI-PEO}) = 0,33$; c) $w(\text{PEI-PEO}) = 0,70$; d) $w(\text{PEI-PEO}) = 0,87$, Bildausschnitt $1,5 \mu\text{m}^2$; oben rechts in Abbildung a): Höhenskala.
Quelle: [Dusc07].

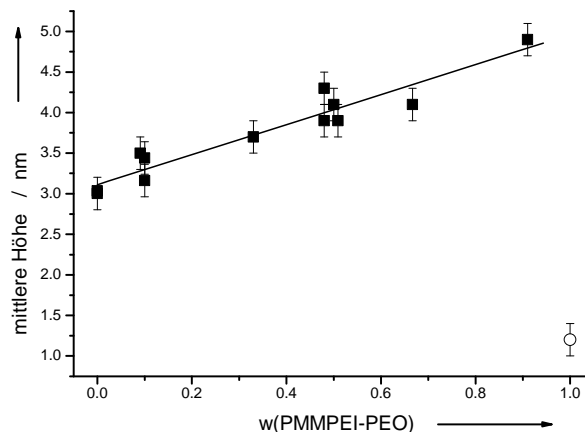


Abbildung 4.30: (■) Mittlere Höhe der Komplexe, bestimmt über einem Schwellenwert von 2nm; (○) gemittelte Maximalhöhe des PEI. Quelle: [Dusc07].

Die AFM-Experimente legen somit nahe, dass das niedriggeladene PEI-PEO unter Erhalt der zylindrischen Topologie an das PSS-C12 angelagert wird. Es kann ausgeschlossen werden, dass diese Anlagerung erst im Laufe der Adsorption auf der Oberfläche stattfindet, da bei aufeinander folgender Adsorption beide Polyelektrolyte nebeneinander co-adsorbieren. Aus der durch die statistische Analyse der AFM Bilder ermittelten linearen Abhängigkeit der mittleren Höhen vom Mischungsverhältnis kann zudem geschlossen werden, dass die Komplexbildung sehr kontrolliert verläuft. Die Unabhängigkeit der gebildeten Komplexe von Gesamtkonzentration und Reihenfolge des Mischens stützen diesen Befund.

Zusammenfassung

Durch AFM und Lichtstreuung konnte übereinstimmend gezeigt werden, dass die zylindrische Topologie in den Komplexen aus PSS-C12 und niedriggeladenem PEI-PEO erhalten bleibt. Keinen Einfluss auf die Komplexierung haben die Reihenfolge der Präparation, die Konzentration der Polyelektrolyte und die Form, in der das PEI-PEO in Lösung vorliegt. Das Komplexierungsverhalten unterscheidet sich somit grundlegend von dem in Kapitel 4.1, bei dem die PSS-C12-Bürsten mit hochgeladenen PEI-PEO-Bürsten komplexiert wurden. Im Gegensatz dazu wird ein den Komplexen aus PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimeren in DMF aus Kapitel 4.2 vergleichbares Verhalten gefunden.

Anmerkungen

In einzelnen Fällen weisen die Streukurven der Komplexlösungen aus niedriggeladenem PEI-PEO und PSS-C12 eine Abwärtsbiegung bei kleinen q auf (siehe Kapitel 4.4). Ein analoges Verhalten zeigen die Extrapolationen des hydrodynamischen Radius für diese Komplexlösungen. Die Diskussion dieser Abwärtsbiegung in Kapitel 4.4 legt nahe, dass sie von Aggregaten mit hohen Molmassen hervorgerufen werden, deren Massenanteil vernachlässigbar gering ist. Diese Abwärtsbiegungen treten statistisch auf und hängen nicht von dem Mischungsverhältnis der Komponenten ab. Zudem konnte beobachtet werden, dass die Abwärtsbiegungen zeitlich abnehmen und schließlich verschwinden (siehe Kapitel 4.4). Dabei bleibt der Trägheitsradius der Komplexlösung zeitlich konstant, wenn die Abwärtsbiegung bei kleinen q für die Auswertung vernachlässigt wird. Aus diesem Grund werden die Abwärtsbiegungen zunächst nicht berücksichtigt und die Streukurven bei hohen q linear auf $q=0$ extrapoliert. So wird nur der Hauptteil der Komplexlösungen (in Bezug auf Teilchenzahl und Massenkonzentration) bei der Auswertung der Lichtstreuemessungen berücksichtigt.

Für das Produkt aus Molmasse und Brechungsindexinkrement sind die Reihenfolge der Präparation bzw. das Assoziationsverhalten nur in erster Näherung irrelevant (Abbildung 4.25). Wird das PSS-C12 vorgelegt, so ist das Produkt größer als wenn das PEI-PEO vorgelegt wird. Dieses Verhalten kann auf mindestens zwei Ursachen zurückgeführt werden.

Eine mögliche Erklärung kann dadurch begründet sein, dass die Komplexlösungen analog Kapitel 4.2 neben den gebildeten Komplexen freie, unkomplexierte PEI-PEO-Bürsten enthalten. Einen experimentellen Beweis, dass die hier vorliegenden Komplexlösungen unkomplexierte PEI-PEO-Bürsten neben Komplexen enthalten, liefern die Experimente in Kapitel 4.5. Im Fall der Komplexlösungen mit PEI-PEO-Bürsten vorgelegt wurde die PSS-C12-Lösung erst zu dem Zeitpunkt zugegeben, an dem bereits alle PEI-PEO-Bürsten assoziiert vorliegen. Wird hingegen das PSS-C12 vorgelegt, so liegen die PEI-PEO-Bürsten in dem Moment, in dem Komplexlösungen vermessen wurden, noch monomolekular gelöst vor bzw. es beginnt gerade die Assoziation (die Zeitdauer der Assoziation beträgt mehrere Tage, im Vergleich dazu erfolgte die Lichtstreuung ca. 30 Minuten nach Zugabe des gescherten PEI-PEO). Die gemessene Molmasse ist in diesem Fall erhöht, da die PEI-PEO-Bürsten und deren eventuell schon gebildeten Assoziate noch zur Streuintensität beitragen. Daraus folgen die erhöhte Streuintensität und die erhöhte apparente Molmasse, wenn das PSS-C12 vorgelegt wurde. Der Einfluss auf die Radien ist aufgrund des im Vergleich zu den Komplexen um

Zehnerpotenzen geringeren Produkts von $w_{\text{PEI-PEO}} * M_{w,\text{PEI-PEO}} * (dn/dc)_{\text{PEI-PEO}}^2$ vernachlässigbar. Eine experimentelle Verifizierung der zeitabhängigen Assoziation in den Komplexlösungen ist nicht möglich, da neben der Assoziation der PEI-PEO-Bürsten Überlagerungen mit weiteren zeitabhängigen Effekten beobachtet werden (siehe Kapitel 4.4). Eine weitere mögliche Erklärung ist, dass PEI-PEO-Bürsten geringerer Molmasse schneller aus den Assoziaten freigesetzt werden und somit bevorzugt komplexiert werden, wenn das PSS-C12 zu Lösungen der Assoziate gegeben wird. Wird das PEI-PEO nach Scherung zugegeben, so tritt hingegen keine Fraktionierung der PEI-PEO-Bürsten auf. Beide vorgestellten Erklärungsversuche entsprechen allen vorhandenen, experimentellen Befunden in gleichem Maße. Eine Entscheidung, welche Erklärung dem tatsächlichen Verhalten entspricht, kann somit nicht getroffen werden.

Eine Kapitel 4.2 analoge Bestimmung der Zusammensetzung der Komplexlösungen und der Komplexe aus der statischen Lichtstreuung ist im hier vorliegenden Fall nicht möglich. Entscheidende Annahmen bei der Herleitung der verwendeten Gleichungen sind, dass alle PSS-C12-Bürsten in den Komplexlösungen komplexiert vorliegen, dass die Polydispersität der Komplexe der ursprünglichen PSS-C12-Bürste entspricht und dass die PAMAM-Dendrimere in erster Näherung monodisperse Molmassen aufweisen. Letzteres ist für das vorliegende System grundsätzlich nicht erfüllt. Für das vorliegende System aus PEI-PEO-Bürsten und PSS-C12-Bürsten ergibt sich die in Tabelle 4.7 zusammengefasste Kettenstöchiometrie der Komplexlösungen (bestimmt aus der zahlengemittelten Molmasse der Homopolymere und dem Gewichtsbruch in den Komplexlösungen). Daraus folgt, dass keine der Annahmen von den Komplexlösungen aus niedriggeladenem PEI-PEO und PSS-C12 erfüllt werden können. Insbesondere die geringe Anzahl PEI-PEO-Bürsten pro PSS-C12-Bürste sorgt dafür, dass die Molmassenverteilung multimodal sein muss. Die Annahme, dass Polydispersität der Komplexe der ursprünglichen PSS-C12-Bürste entspricht, kann somit von keiner der vorliegenden Komplexlösungen erfüllt werden.

Tabelle 4.7: Kettenstöchiometrie der Komplexlösungen (die angegebenen Werte entsprechen nicht der Stöchiometrie der gebildeten Komplexe, sondern nur der Stöchiometrie beider Komponenten in der Lösung).

w(PEI-PEO)	Anzahl PSS-C12-Bürsten pro PEI-PEO-Bürste	Anzahl PEI-PEO-Bürsten pro PSS-C12-Bürste
0,13	4,2	0,24
0,33	1,3	0,79
0,48	0,68	1,5
0,70	0,27	3,7
0,89	0,078	13

4.4 Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF – Zeitabhängiges Streuverhalten

Die in Kapitel 4.3 untersuchten Komplexlösungen aus PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten wurden nach der Komplexbildung in den Lichtstreuküvetten belassen und zeitabhängig wiederholt vermessen.

Auftreten der Abwärtsbiegung bei kleinen Streuwinkeln

In einzelnen Fällen weisen die Streukurven der Komplexlösungen aus niedriggeladenem PEI-PEO und PSS-C12 eine Abwärtsbiegung bei kleinen q auf. Ein analoges Verhalten zeigen die Extrapolationen des hydrodynamischen Radius für diese Komplexlösungen. Dieses Verhalten zeigen die Abbildungen 4.31–4.34 für die Komplexlösungen, bei denen die Abwärtsbiegung stark ausgeprägt auftrat. Es handelt sich hierbei um die Proben $w(\text{PEI-PEO})=0,33$ – PSS-C12 vorgelegt und $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ – PEI-PEO vorgelegt. Die Abwärtsbiegungen treten somit statistisch auf und hängen nicht von dem Mischungsverhältnis der Komponenten ab (siehe auch Abbildung 4.24, Kapitel 4.3).

Eine derartige Abwärtsbiegung kann aus zwei Gründen auftreten: i) die gebildeten Komplexe besitzen in bei den oben genannten Mischungsverhältnissen eine große Molekulargewichts- und Trägheitsradienverteilung, oder ii) neben den in allen Komplexlösungen gebildeten Komplexen mit einem Trägheitsradius von ca. 41 nm enthalten einzelne Komplexlösungen statistisch zusätzlich sehr große Aggregate, die aufgrund ihres stark winkelabhängigen Formfaktors nur bei kleinen q zum Streuverhalten beitragen. Diese tragen dann bei großen q nicht mehr zum Streuverhalten bei und es wird unabhängig vom Mischungsverhältnis ein Trägheitsradius von ca. 41 nm bei Vernachlässigung der Abwärtsbiegung für die Extrapolation auf $q=0$ erhalten

Die in Kapitel 4.3 vorgestellten AFM-Messungen schließen Möglichkeit i) aus. In Fall ii) vorhandene große Aggregate, die aufgrund ihrer hohen Molmasse nur in sehr geringer Konzentration vorhanden sein können, sind im AFM nicht detektierbar.

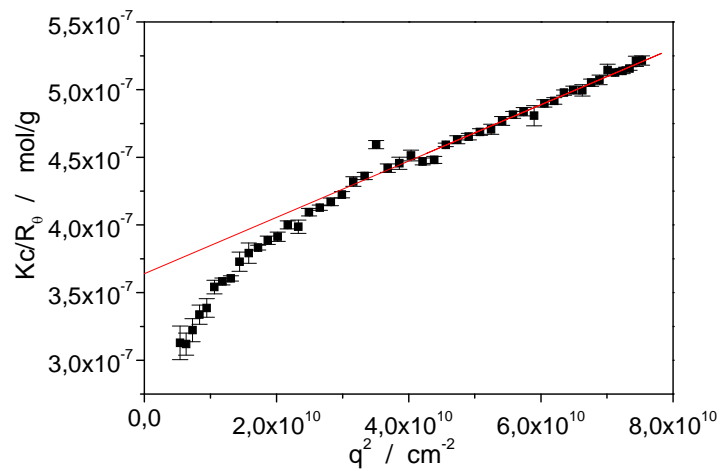


Abbildung 4.31: Streuverhalten der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,33$ (PSS-C12 vorgelegt) direkt nach der Komplexbildung.

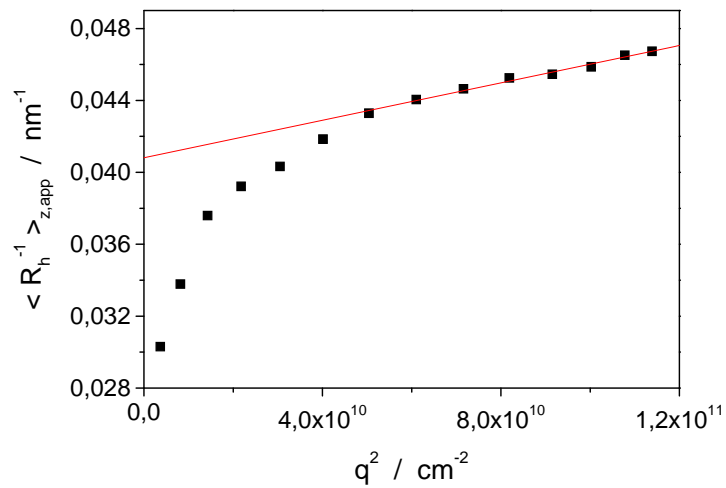


Abbildung 4.32: Winkelabhängigkeit des hydrodynamischen Radius der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,33$ (PSS-C12 vorgelegt) direkt nach der Komplexbildung.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

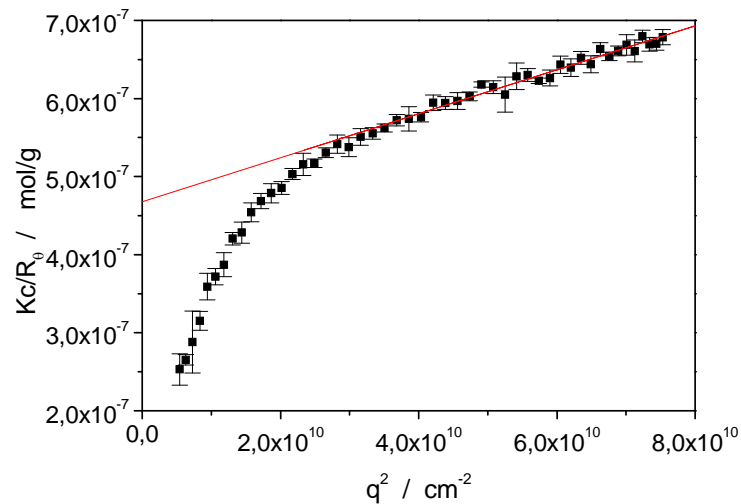


Abbildung 4.33: Streuverhalten der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) direkt nach der Komplexbildung.

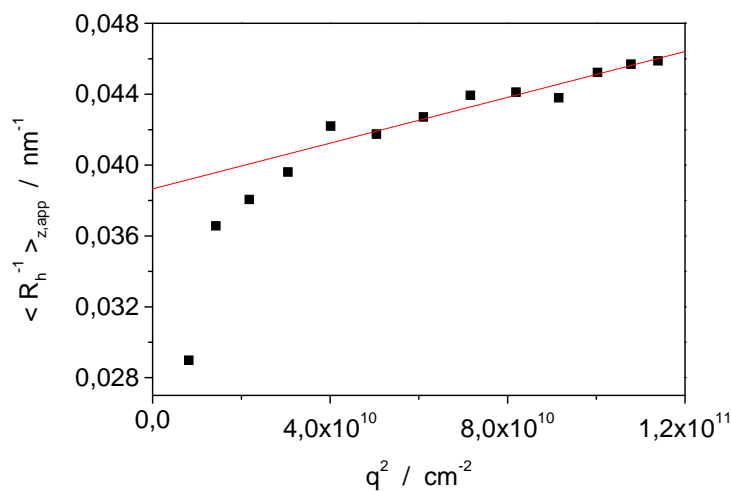


Abbildung 4.34: Winkelabhängigkeit des hydrodynamischen Radius der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) direkt nach der Komplexbildung.

Auch die dynamische Lichtstreuung stützt diesen Befund, wie am Beispiel der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ – PEI-PEO vorgelegt gezeigt: Die Korrelationsfunktionen der Komplexlösung bei Streuvektoren von $q^2 < 3 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$, für die statische und dynamische Lichtstreuung eine Abwärtsbiegung aufweisen, müssen mit Hilfe einer Summe von drei Exponentialfunktionen angepasst werden (Abbildung 4.35). Bei Darstellung der Korrelationsfunktion in einem log-lin-Plot wird deutlich, dass der zusätzliche Abfall durch einen in erster Näherung monoexponentiellen Slow-mode hervorgerufen wird (Abbildung 4.36) und nicht durch eine kontinuierliche, breite Verteilung von

Diffusionskoeffizienten. Die monoexponentielle Anpassung liefert einen hydrodynamischen Radius ~ 230 nm für diesen slow-mode. Wird dieser Abfall von der ursprünglichen Korrelationsfunktion subtrahiert, so resultiert der in Abbildung 4.37 gezeigte, polydisperse Abfall. Eine biexponentielle Anpassung dieses polydispersen Abfalls liefert einen hydrodynamischen Radius von 25,2 nm (blauer Punkt in Abbildung 4.38). Abbildung 4.38 verdeutlicht, dass nach Subtraktion des Slow-modes ein hydrodynamischer Radius bestimmt wird, der der Extrapolation unter Vernachlässigung der Abwärtsbiegung entspricht.

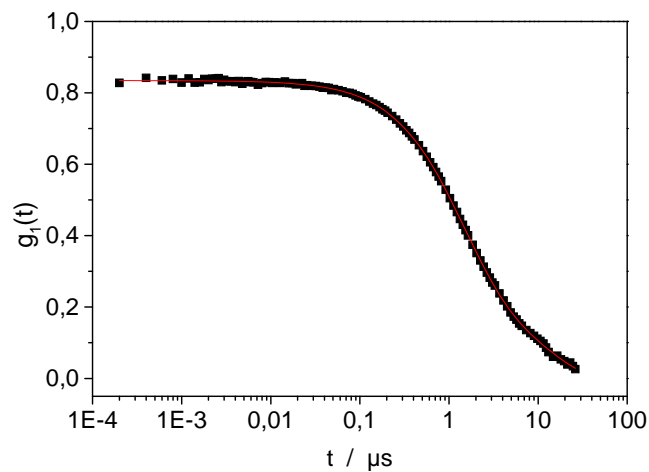


Abbildung 4.35: Korrelationsfunktion der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) direkt nach der Komplexierung. Rote Linie: Triexponentieller Fit.

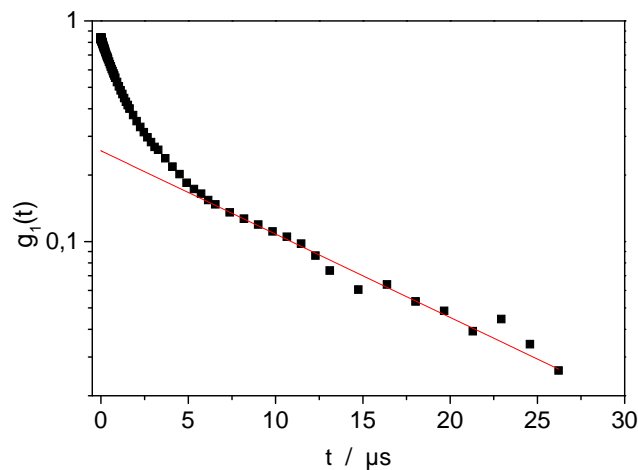


Abbildung 4.36: Korrelationsfunktion der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) direkt nach der Komplexierung. Rote Linie: Monoexponentieller Fit (siehe Text).

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

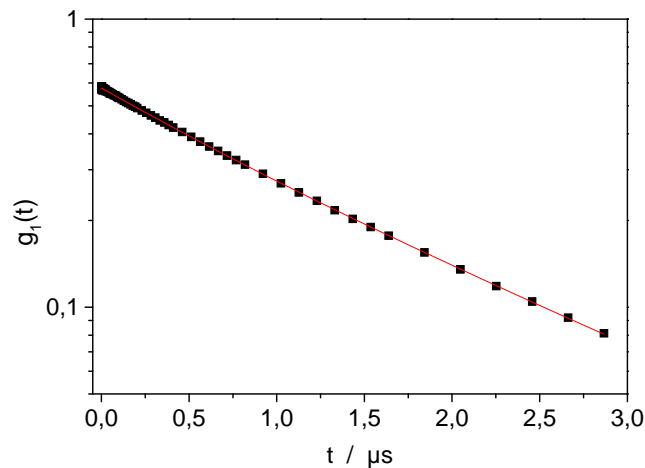


Abbildung 4.37: Korrelationsfunktion der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) direkt nach der Komplexierung nach Subtraktion des monoexponentiellen Fit in Abb. 4.38. Rote Linie: Biexponentieller Fit.

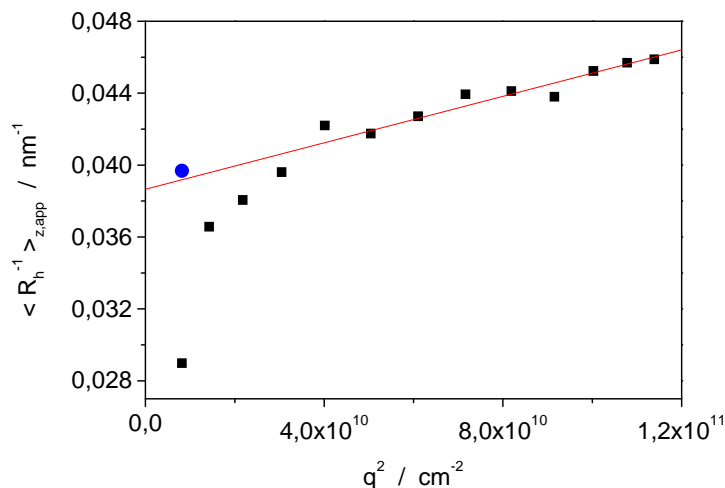


Abbildung 4.38: Schwarze Punkte: Winkelabhängigkeit des hydrodynamischen Radius der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) direkt nach der Komplexierung. Blauer Punkt: Aus Fit in Abb. 4.37 ermittelter hydrodynamischer Radius.

Aus diesen Gründen legen die AFM- und Lichtstreuungsmessungen nahe, dass die Komplexlösungen bei $w(\text{PEI-PEO})=0,33$ – PSS-C12 vorgelegt und $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ – PEI-PEO vorgelegt neben den Komplexen mit einem Trägheitsradius von ca. 41 nm große Aggregate enthalten, welche die Abwärtsbiegung der Streukurven hervorrufen. Da diese Aggregate sehr große hydrodynamische Radien und folglich auch sehr große Molmassen aufweisen, muss deren Massenanteil sehr gering sein. Die Vernachlässigung der Abwärtsbiegung in Kapitel 4.3 bedeutet, dass nur der Hauptanteil der Komplexlösungen (in

Bezug auf Teilchenzahl und Masse) bei der Auswertung der Lichtstremessungen berücksichtigt wurde. Aus diesem Grund sind die Auswertungen der Lichtstreu- und AFM-Messungen vergleichbar und liefern übereinstimmende Resultate.

Zeitabhängigkeit der Abwärtsbiegung bei kleinen Streuwinkeln

Wurden die Komplexlösungen nach einiger Zeit erneut vermessen, so zeigt sich das in Abbildung 4.39 ($w(\text{PEI-PEO})=0,33$ – PSS-C12 vorgelegt) und Abbildung 4.40 ($w(\text{PEI-PEO})=0,48$ – PEI-PEO) gezeigte Verhalten. Die Abwärtsbiegungen nehmen zeitlich ab und verschwinden schließlich. Dabei bleibt der Trägheitsradius der Komplexlösungen zeitlich konstant, wenn die Abwärtsbiegung bei kleinen q für die Auswertung vernachlässigt wird (Tabelle 4.8). Dies zeigt, dass die zunächst vorhandenen Aggregate mit der Zeit aufgelöst werden. Eine Sedimentation der Aggregate ist aufgrund der großen Zeitabstände und aufgrund der Tatsache, dass am Küvettenboden keine sedimentierten Partikel nachgewiesen werden konnten, auszuschließen.

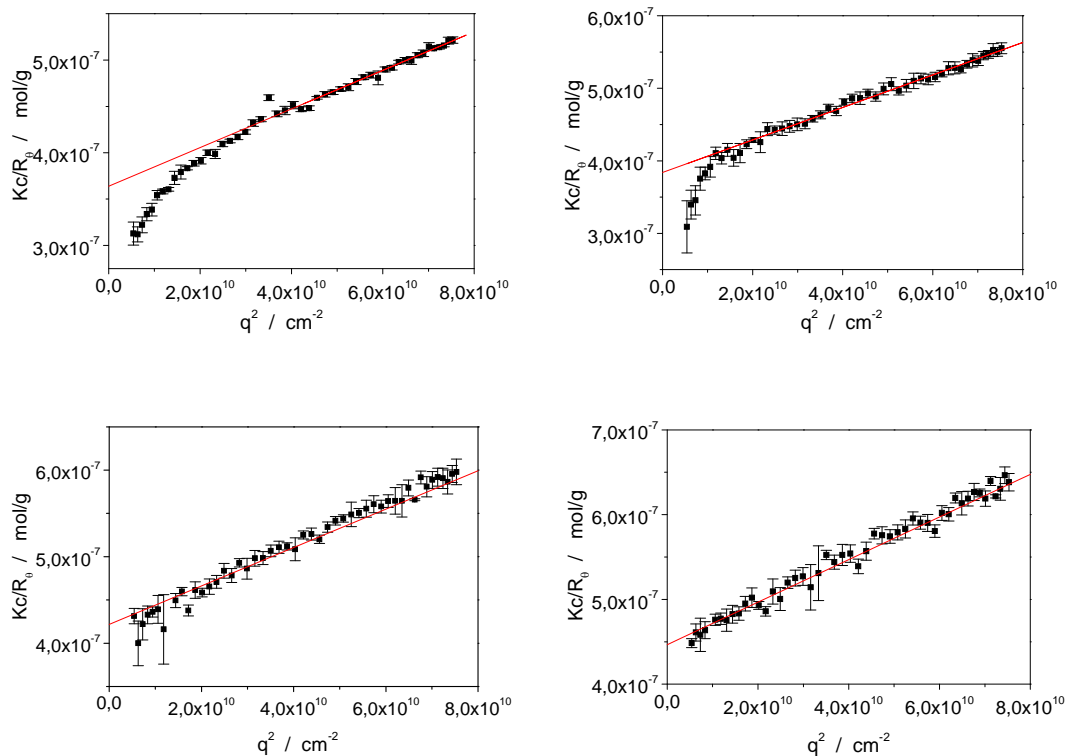


Abbildung 4.39: Streuverhalten der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,33$ (PSS-C12 vorgelegt) als Funktion der Zeit direkt nach der Komplexbildung; *links oben*) direkt nach der Komplexbildung, *rechts oben*) 6 Tage, *links unten*) 27 Tage und *rechts unten*) 75 Tage nach der Komplexbildung.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

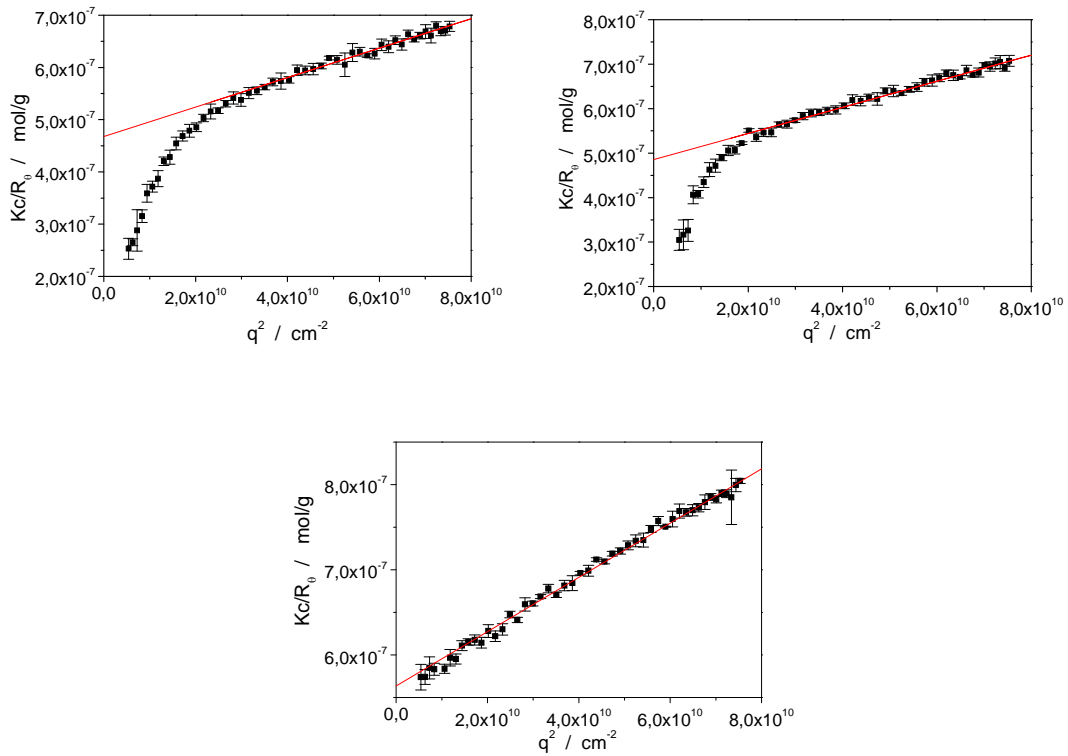


Abbildung 4.40: Streuverhalten der Komplexlösung mit mit $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ (PEI-PEO vorgelegt) als Funktion der Zeit direkt nach der Komplexbildung: *links oben*) direkt nach der Komplexbildung, *rechts oben*) 8 Tage und *unten*) 225 Tage nach der Komplexbildung.

Zudem konnte beobachtet werden, dass eine Abwärtsbiegung auch zu einem späteren Zeitpunkt erstmals auftreten kann, wie am Beispiel der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,13$ – PSS-C12 vorgelegt gezeigt (Abbildung 4.41). Direkt nach der Komplexbildung zeigt das Streuverhalten keine Abwärtsbiegung bei kleinen q . Nach 7 Tagen hingegen tritt diese erstmals auf und verschwindet zeitabhängig wiederum. Auch in diesem Fall bleibt der Trägheitsradius der Komplexlösungen zeitlich konstant, wenn die Abwärtsbiegung bei kleinen q für die Auswertung vernachlässigt wird.

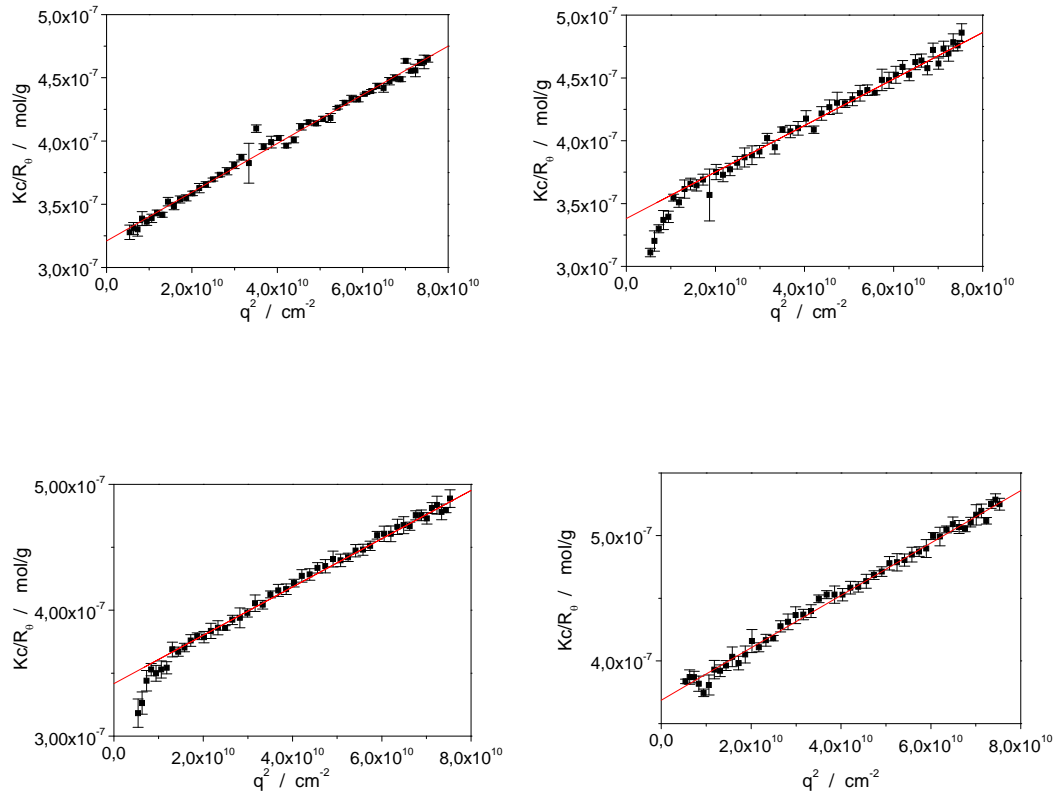


Abbildung 4.41: Streuverhalten der Komplexlösung mit $w(\text{PEI-PEO})=0,13$ (PSS-C12 vorgelegt) als Funktion der Zeit direkt nach der Komplexbildung: *links oben*) direkt nach der Komplexbildung, *rechts oben*) 7 Tage, *links unten*) 13 Tage und *rechts unten*) 85 Tage nach der Komplexbildung

Das zeitabhängige Verhalten der Streukurven legt nahe, dass die gebildeten zylindrischen Komplexe in der Lage sind zu equilibrieren. In einigen Fällen werden beim Mischen der Komponenten größere Komplexe gebildet, die mit der Zeit wieder zerfallen. Es ist aber auch möglich, dass größere Komplexe erst nach einiger Zeit gebildet werden. Hervorgerufen werden diese größeren Komplexe durch das Verbrücken mehrerer PSS-C12-Bürsten. Mit Hilfe des in Kapitel 3 beschriebenen Komplexierungsverhaltens, bei dem die Komplexe irreversibel und unter kinetischer Kontrolle gebildet werden, kann das vorliegende zeitabhängige Verhalten der Streukurven nicht erklärt werden. Es lässt vielmehr den Schluss zu, dass die vorliegenden Komplexlösungen aus PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten Komplexe neben unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten enthalten, analog dem Komplexierungsverhalten von PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimern in DMF (Kapitel 4.2). Die unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten stehen dabei mit den Komplexen im thermodynamischen Gleichgewicht und beim Rearrangieren von Komplexen treten in

einzelnen Fällen zufällige Verbrückungen von PSS-C12-Bürsten auf, wodurch die Abwärtsbiegungen bei kleinen q hervorgerufen werden.

Tabelle 4.8: Trägheitsradien der Komplexlösungen bei $w(\text{PEI-PEO})=0,33$ – PSS-C12 vorgelegt und $w(\text{PEI-PEO})=0,48$ – PEI-PEO vorgelegt unter Vernachlässigung der Abwärtsbiegung bei kleinen q als Funktion der Zeit

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	Tage nach Komplexbildung	R_g / nm
0,33	PSS-C12	0	41,4
		6	41,8
		27	39,2
		75	41,1
0,48	PEI-PEO	0	42,5
		8	42,5
		225	41,2

Zeitabhängigkeit des Streuverhaltens bei hohen Streuwinkeln

Während der Trägheitsradius der Komplexlösungen zeitlich konstant bleibt, wenn die Abwärtsbiegung bei kleinen q für die Auswertung vernachlässigt wird (Tabelle 4.8 enthält alle zeitabhängig untersuchten Komplexlösungen), so zeigt das auf $q=0$ extrapolierte Produkt aus Molmasse und Brechungsindexinkrement $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ eine kontinuierliche Abnahme mit der Zeit (Tabelle 4.9). Wie Tabelle 4.9 zu entnehmen ist, zeigt die unkomplexierte PSS-C12-Bürste in DMF / 2mM LiBr ein analoges Verhalten.

Durch Nachwiegen der Küvetten im selben Zeitraum wurde festgestellt, dass die Masse der Küvetten ebenfalls zunimmt. Diese Massenzunahme beträgt übereinstimmend für die Lösung der unkomplexierten PSS-C12-Bürste und die Komplexlösungen über einen Zeitraum von 217 Tagen ca. 2-3 % der Masse der Lösung bei Herstellung. Es ist anzunehmen, dass diese Massenzunahme durch das Eindringen von Luftfeuchtigkeit in die DMF-Lösungen hervorgerufen wird.

Da die Komplexlösungen und die unkomplexierte PSS-C12-Bürste ein analoges Verhalten zeigen ist davon auszugehen, dass die zeitlichen Molmassenveränderungen in erster Näherung auf eine Eigenschaft des PSS-C12-Tensidkomplexes und nicht der Interpolyelektrolytkomplexe zurückzuführen sind. Eine detaillierte Untersuchung ist

Gegenstand einer zu diesem Zeitpunkt begonnenen Diplomarbeit [Kroh07]. Auf Basis der vorliegenden Ergebnisse ist keine weitere Interpretation dieser experimentellen Daten möglich.

Zusammenfassung

Die in einzelnen Fällen gefundenen Abwärtsbiegungen sind darauf zurückzuführen, dass die Komplexlösungen neben den Komplexen mit einem Trägheitsradius von ca. 41 nm große Aggregate enthalten, deren Massenanteil sehr gering ist. Diese Abwärtsbiegungen können sowohl bei der Herstellung der Komplexe als auch zu einem späteren Zeitpunkt erstmals auftreten. In allen Fällen treten die Abwärtsbiegungen statistisch auf und hängen nicht von dem Mischungsverhältnis der Komponenten ab. Zudem konnte beobachtet werden, dass sie zeitlich abnehmen und schließlich verschwinden.

Dieses Komplexierungsverhalten kann nicht mit den in Kapitel 3 gefundenen Eigenschaften erklärt werden, bei dem die Komplexe irreversibel und unter kinetischer Kontrolle gebildet werden. Das zeitabhängige Verhalten der Streukurven legt vielmehr nahe, dass die gebildeten zylindrischen Komplexe in der Lage sind zu equilibrieren. Es lässt den Schluss zu, dass die vorliegenden Komplexlösungen aus PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten Komplexe neben unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten enthalten, analog dem Komplexierungsverhalten von PSS-C12-Bürsten und PAMAM-Dendrimeren in DMF (Kapitel 4.2). Die unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten stehen dabei mit den Komplexen im thermodynamischen Gleichgewicht und beim Reorganisieren von Komplexen treten in einzelnen Fällen zufällige Verbrückungen von PSS-C12-Bürsten auf, wodurch die Abwärtsbiegungen bei kleinen q hervorgerufen werden.

Während der Trägheitsradius der Komplexlösungen zeitlich konstant bleibt, wenn die Abwärtsbiegung bei kleinen q für die Auswertung vernachlässigt wird, so zeigt das auf $q=0$ extrapolierte Produkt aus Molmasse und Brechungsindexinkrement $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ eine kontinuierliche Abnahme mit der Zeit. Da jedoch die Komplexlösungen und die unkomplexierte PSS-C12-Bürste ein analoges Verhalten zeigen ist davon auszugehen, dass diese Zeitabhängigkeit in erster Näherung auf eine Eigenschaft des PSS-C12-Tensidkomplexes und nicht der Interpolyelektrolytkomplexe zurückzuführen ist.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

Tabelle 4.9: Zeitabhängigkeit des Streuverhaltens der Komplexlösungen unter Vernachlässigung der Abwärtsbiegung bei kleinen q

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	Tage nach Komplexbildung	$M_{w,app} * (dn/dc)^2$ / mL ² /(g*mol)	Rg / nm
0	---	0	3,32 10 ⁴	40,9
		12	3,21 10 ⁴	41,5
		28	3,11 10 ⁴	40,9
		245	2,85 10 ⁴	41,6
0,13	PSS-C12	0	3,12 10 ⁴	42,4
		7	2,96 10 ⁴	40,5
		12	2,90 10 ⁴	41,0
		13	2,93 10 ⁴	41,1
		27	2,89 10 ⁴	42,3
		85	2,71 10 ⁴	41,3
		90	2,75 10 ⁴	43,0
0,33	PSS-C12	0	2,75 10 ⁴	41,4
		6	2,60 10 ⁴	41,8
		27	2,36 10 ⁴	39,2
		75	2,24 10 ⁴	41,1
0,48	PSS-C12	0	2,62 10 ⁴	42,5
		5	2,48 10 ⁴	43,0
		6	2,45 10 ⁴	42,2
0,48	PEI-PEO	0	2,14 10 ⁴	42,5
		8	2,06 10 ⁴	42,5
		225	1,77 10 ⁴	41,2
0,70	PEI-PEO	0	1,64 10 ⁴	39,9
		8	1,67 10 ⁴	40,4
		225	1,43 10 ⁴	40,1
0,87	PEI-PEO	0	1,28 10 ⁴	40,2
		8	1,28 10 ⁴	39,5
		225	0,995 10 ⁴	37,1

4.5 Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF – Verhalten nach Ansäuern mit Salzsäure

Die in Kapitel 4.3 und 4.4 untersuchten Komplexe aus PSS-C12-Bürsten und niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten wurden nach der Komplexbildung und der Untersuchung des zeitabhängigen Verhaltens durch Zugabe eines kleinen Volumens konzentrierter, wässriger Salzsäure angesäuert. Die PEI-PEO-Bürste wird hierdurch protoniert und geht dabei in die in Kapitel 4.1 verwendete, hochgeladene PEI-PEO-Bürste über.

HCl-Zugabe

Die in Kapitel 4.3 hergestellten und in Kapitel 4.4 ohne Veränderung über einen längeren Zeitraum zeitabhängig untersuchten Komplexlösungen wurden nach diesem Zeitraum durch Zugabe von 10 μL konzentrierter, wässriger Salzsäure angesäuert (ca. 0,5 Volumen-% konz. HCl in den Komplexlösungen). Daraus resultiert ein mehr als 20-facher molarer Überschuss an HCl pro Ethylenimin-Einheit für die Komplexlösung mit dem höchsten PEI-PEO-Anteil, für die weiteren Komplexlösungen ist der Überschuss entsprechend der geringeren PEI-PEO-Konzentration höher. Die HCl-Konzentrationen entsprechen somit der in Kapitel 4.1 verwendeten. Als Blindversuch wurde die identische HCl-Menge auch zu der Lösung der unkomplexierten PSS-C12-Bürste gegeben, die bereits 245 Tage zeitabhängig untersucht wurde. Die hergestellten Proben sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst.

Tabelle 4.10: Übersicht über die Komplexlösungen, zu denen HCl gegeben wurde und Ergebnisse der Auswertung der statischen Lichtstreuung.

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	Zustand der Komplexlösung	$M_{w,app} * (dn/dc)^2$ / $\text{mL}^2/(\text{g} * \text{mol})$	R_g / nm
0	---	0 Tage nach Präparation	$3,32 \cdot 10^4$	40,9
		vor HCl-Zugabe (245 Tage n. Pröp.)	$2,85 \cdot 10^4$	41,6
		nach HCl-Zugabe	$2,21 \cdot 10^4$	38,1
0,13	PSS-C12	0 Tage nach Präparation	$3,12 \cdot 10^4$	42,4
		vor HCl-Zugabe (90 Tage n. Pröp.)	$2,75 \cdot 10^4$	43,0
		nach HCl-Zugabe	$2,28 \cdot 10^4$	37,5
0,33	PSS-C12	0 Tage nach Präparation	$2,75 \cdot 10^4$	41,4

		vor HCl-Zugabe (75 Tage n. Pröp.)	$2,24 \cdot 10^4$	41,1
		nach HCl-Zugabe	$2,01 \cdot 10^4$	35,4
0,48	PEI-PEO	0 Tage nach Präparation	$2,14 \cdot 10^4$	42,5
		vor HCl-Zugabe (225 Tage n. Pröp.)	$1,77 \cdot 10^4$	41,2
		nach HCl-Zugabe	$1,98 \cdot 10^4$	36,4
0,70	PEI-PEO	0 Tage nach Präparation	$1,64 \cdot 10^4$	39,9
		vor HCl-Zugabe (225 Tage n. Pröp.)	$1,43 \cdot 10^4$	40,1
		nach HCl-Zugabe	$4,94 \cdot 10^4$	47,8
0,87	PEI-PEO	0 Tage nach Präparation	$1,28 \cdot 10^4$	40,2
		vor HCl-Zugabe (225 Tage n. Pröp.)	$0,995 \cdot 10^4$	37,1
		nach HCl-Zugabe	Ausgefallen	

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der statischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen nach HCl-Zugabe sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst. Tabelle 4.10 enthält zum Vergleich zusätzlich die Ergebnisse direkt nach der Komplexbildung und direkt vor der HCl-Zugabe, entnommen aus den vorausgehenden Kapiteln. Keine Streukurve der Komplexlösungen nach HCl-Zugabe weist eine Abwärtsbiegung auf. Zudem sind alle Lösungen außer bei einem Mischungsverhältnis von $w(\text{PEI-PEO})=0,87$ auch nach der HCl-Zugabe homogen und es können keine Niederschläge am Küvettenboden nachgewiesen werden.

Für die folgende Auswertung wird zunächst die relative Veränderung durch die HCl-Zugabe bestimmt. Durch Normieren auf die relative Veränderung der unkomplexierten PSS-C12-Bürste wird in erster Näherung die reale Veränderung der Komplexlösung erhalten (Tabelle 4.11 und 4.12).

Tabelle 4.11: Veränderung des Produkts $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ nach der HCl-Zugabe

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	nach HCl-Zugabe / vor HCl-Zugabe	nach HCl-Zugabe / vor HCl-Zugabe, normiert auf PSS-C12
0	---	0,775	1
0,13	PSS-C12	0,829	1,07
0,33	PSS-C12	0,897	1,16
0,48	PEI-PEO	1,12	1,44
0,7	PEI-PEO	3,45	4,45
0,87	PEI-PEO	Ausgefallen	

Tabelle 4.12: Veränderung des Trägheitsradius nach der HCl-Zugabe

w(PEI-PEO)	vorgelegtes Polymer	nach HCl-Zugabe / vor HCl-Zugabe	nach HCl-Zugabe / vor HCl-Zugabe, normiert auf PSS-C12
0	---	0,916	1
0,13	PSS-C12	0,872	0,952
0,33	PSS-C12	0,861	0,940
0,48	PEI-PEO	0,883	0,965
0,7	PEI-PEO	1,19	1,30
0,87	PEI-PEO	Ausgefallen	

Abbildung 4.42 zeigt die relative Veränderung des Produkts $M_{w,app} * (dn/dc)^2$ nach der HCl-Zugabe, normiert auf die Veränderung der PSS-C12-Bürste. Es zeigt sich, dass das Produkt der Komplexlösungen relativ zu dem der unkomplexierten PSS-C12-Tensidkomplexe zunimmt. Da in den Komplexen die Anzahl freier PSS-C12-Gruppen durch die Komplexierung erniedrigt ist, kann durch das Normieren die reale Zunahme nur unterschätzt werden, nicht jedoch überschätzt. Unter der Annahme, dass das Brechungsindexinkrement der Komplexe durch das Ansäuern nicht signifikant erhöht wird, folgt, dass bei Zugabe von Salzsäure die Molmasse der gebildeten Komplexe steigt. Diese Molmassenzunahme ist umso ausgeprägter, je höher der Gewichtsanteil PEI-PEO in der Lösung ist. Bei $w(\text{PEI-PEO})=0,87$ wird die Komplexlösung instabil und die Komplexe fallen aus.

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

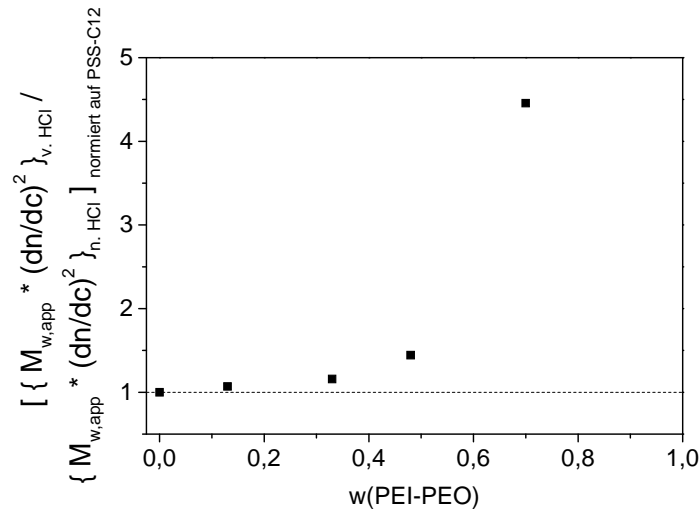


Abbildung 4.42: Normierte Änderung der Streuintensität nach Ansäuern (siehe Text).

Einen ähnlichen Verlauf zeigt die normierte Veränderung des Trägheitsradius (Abbildung 4.43): für die Komplexlösungen mit $w(\text{PEI-PEO}) < 0,70$ nimmt der Trägheitsradius übereinstimmend um ca. 5% ab, bei $w(\text{PEI-PEO}) = 0,70$ ist der Trägheitsradius signifikant erhöht.

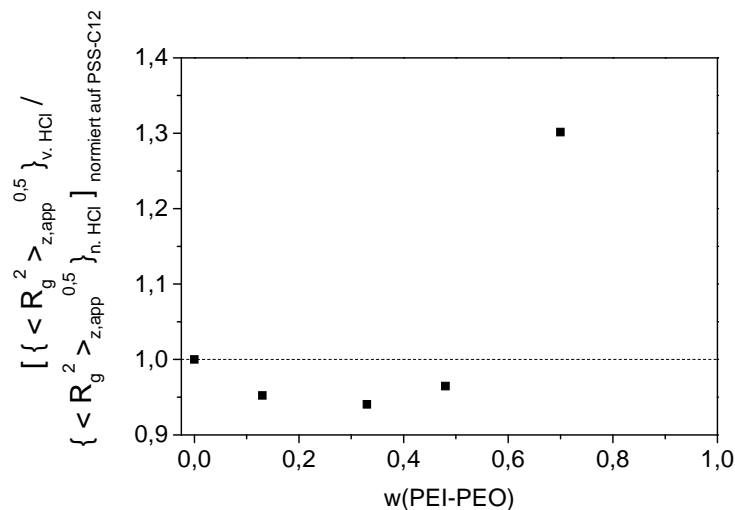


Abbildung 4.43: Normierte Änderung des Trägheitsradius nach Ansäuern (siehe Text).

Dieses Verhalten der Komplexlösungen nach Zugabe von konzentrierter Salzsäure, welche hochgeladene PEI-PEO-Bürsten erzeugt, entspricht nicht dem zunächst erwarteten. Unter der Annahme, dass die Protonierung der PEI-PEO-Bürsten instantan erfolgt, sind folgende Szenarien denkbar:

1. Liegen alle PEI-PEO-Bürsten in den Komplexen vor und ist die Schale der Komplexe vollständig abgeschlossen, d.h. entweder ausschließlich aus PEI-PEO- oder PSS-C12-Ketten aufgebaut, so ist keine Veränderung bei HCl-Zugabe zu erwarten.
2. Liegen alle PEI-PEO-Bürsten in den Komplexen vor und ist die Schale der Komplexe aus Ketten beider Komponenten aufgebaut, sog. „gefleckte Zylinder“, so muss signifikante bzw. vollständige Aggregation auftreten.
3. Enthalten die Komplexlösungen noch freie PEI-PEO-Bürsten neben Komplexen mit einer abgeschlossenen PEI-PEO-Schale, so ist wiederum keine Veränderung zu erwarten.
4. Enthalten die Komplexlösungen noch freie PEI-PEO-Bürsten neben Komplexen mit einer abgeschlossenen PSS-C12-Schale oder gemischter Schale („gefleckte Zylinder“), so ist wiederum signifikante bzw. vollständige Aggregation zu erwarten.

Keines dieser Szenarien kann das Verhalten nach HCl-Zugabe erklären. Eine entscheidende Beobachtung, die bei der Charakterisierung der niedriggeladenen PEI-PEO-Bürste in DMF (Kapitel 2) gemacht wurde, ist, dass die Lösung der niedriggeladenen PEI-PEO-Bürste nach HCl-Zugabe über Nacht geschüttelt werden musste, bis die Assoziate wieder aufgelöst wurden und eine homogene Lösung vorlag. Direkt (ca. 30 Minuten) nach Zugabe war die Lösung noch stark inhomogen und es konnten nur geringfügige Änderungen im Streuverhalten zur vollständig sedimentierten PEI-PEO-Bürste festgestellt werden. Daraus folgt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der Protonierung von PEI-PEO-Bürsten in DMF sehr langsam ist.

Auch unter der Berücksichtigung, dass die Protonierung der PEI-PEO-Bürste in DMF durch nachträgliche HCl-Zugabe nur langsam abläuft, sind die Szenarien 1 und 2 auf Basis der experimentellen Daten weiterhin auszuschließen. Somit beweisen die durchgeführten Experimente, dass die Komplexlösungen neben Komplexen unkomplexierte PEI-PEO-Bürsten enthalten.

Da Szenario 3 ebenfalls auszuschließen ist, kann Szenario 4 zu folgendem Modell erweitert werden, welches auch die Ergebnisse der vorstehenden Kapitel mit einbezieht:

4 - Komplexbildung mit Polyaminen in Dimethylformamid

- Alle untersuchten Komplexlösungen enthalten vor der HCl-Zugabe Komplexe neben unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten. Ob die unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten assoziiert oder in Form von Einzelmolekülen vorliegen ist für dieses Modell irrelevant.
- Des weiteren liegen die Komplexlösungen im thermodynamischen Gleichgewicht vor.
- Durch die HCl-Zugabe werden die PEI-PEO-Bürsten „langsam“ protoniert. Dabei ist die Reaktionsgeschwindigkeit der Komplexbildung um mehrere Zehnerpotenzen höher als die der Protonierung. Dies kann daraus geschlossen werden, dass die Komplexbildung von Kapitel 4.1 - 4.3 instantan erfolgt, die Protonierung hingegen erst nach Stunden.
- Bedingt durch die „langsame“ Protonierung der PEI-PEO-Bürsten wird das Gleichgewicht in den Komplexlösungen kontinuierlich zugunsten einer höheren Anzahl PEI-PEO-Bürsten pro Komplex und einer geringeren Konzentration freier PEI-PEO-Bürsten verschoben.

Mit Hilfe dieses Modells können die experimentellen Befunde vollständig erklärt werden. Bei $w(\text{PEI-PEO}) < 0,48$ ist der maximal mögliche Beladungsgrad noch nicht erreicht, selbst wenn alle PEI-PEO-Bürsten in der Lösung von den PSS-C12 Bürsten komplexiert werden. Bedingt durch das langsame Verschieben des Gleichgewichts findet keine kinetisch kontrollierte Komplexbildung statt. Es resultieren Komplexe, deren Schale aus PSS-C12-Gruppen aufgebaut ist und die somit nicht zu Strukturen aggregieren, die mehrere PSS-C12-Moleküle enthalten. Deshalb steigt die Molmasse und der Trägheitsradius bleibt konstant bzw. verringert sich leicht. Die vollständige Protonierung der PEI-PEO-Bürsten zur in Kapitel 4.1 verwendeten hochgeladenen Spezies wird erst erreicht, wenn schon alle in der Lösung vorhandenen PEI-PEO-Bürsten in den Komplexen bzw. in der Korona der PSS-C12-Bürsten vorliegen.

Für $w(\text{PEI-PEO}) = 0,7$ ist das Mischungsverhältnis nahe der Beladungsgrenze der PSS-C12-Bürsten. Zunächst findet ein analoges Szenario wie bei den geringeren Mischungsverhältnissen statt. Dann jedoch ist Aktivierungsenergie für das Rearrangieren der Komplexe und das Einbauen weiterer PEI-PEO-Bürsten in die Korona der PSS-C12-Bürsten so hoch, dass keine kontrollierte Anlagerung mehr möglich ist. Der Protonierungsgrad der noch unkomplexierten PEI-PEO-Bürsten steigt aber weiterhin, wodurch kinetisch dominierte,

irreversible Komplexbildung möglich wird. Aus diesem Grund treten bei $w(\text{PEI-PEO}) = 0,7$ bereits geringfügige Verbrückung von Komplexen.

Bei $w(\text{PEI-PEO}) = 0,87$ ist die Beladungsgrenze der PSS-C12-Bürsten überschritten. Es ist davon auszugehen, dass die bei geringer Gleichgewichtsverschiebung gebildeten Komplexe keine optimale Beladung in Bezug auf die maximale Raumausfüllung besitzen und somit nicht alle PSS-C12-Gruppen vollständig abgeschirmt werden. Enthält diese Lösung nun hochgeladenes PEI-PEO, so tritt der Verbrückung dieser „gefleckten Zylinder“ auf. Resultat ist das beobachtete Ausfallen aus der Lösung.

Zusammenfassung

Wird zu einer Lösung des niedriggeladenen PEI-PEO in DMF ein kleines Volumen konzentrierter Salzsäure gegeben, so wird es in die hochgeladene Spezies überführt (Kapitel 2). Diese bildet mit dem PSS-C12 Komplexe unter kinetischer Kontrolle, wie in Kapitel 4.1 untersucht.

Eine analoge Zugabe von konzentrierter Salzsäure zu den in Kapitel 4.3 und 4.4 untersuchten Komplexlösungen resultiert in einem Ansteigen der apparenten Molmasse. Diese Zunahme ist umso stärker ausgeprägt, je höher der Gewichtsbruch PEI-PEO in der Lösung ist. Bei einem Gewichtsbruch von $w(\text{PEI-PEO}) = 0,87$ wird die Komplexlösung instabil und die Komplexe fallen aus. Ein Anstieg des Trägheitsradius hingegen wird erst ab einem Mischungsverhältnis von $w(\text{PEI-PEO}) = 0,70$ beobachtet, was durch das Auftreten von Sekundäraggregation erklärt werden kann.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass alle untersuchten Komplexlösungen neben Komplexen unkomplexierte PEI-PEO-Bürsten enthalten. Sie legen zudem nahe, dass die Komplexlösungen im thermodynamischen Gleichgewicht vorliegen. Durch die HCl-Zugabe werden die PEI-PEO-Bürsten „langsam“ protoniert, wobei die Reaktionsgeschwindigkeit der Komplexbildung um mehrere Zehnerpotenzen höher ist als die der Protonierung. Bedingt durch die „langsame“ Protonierung der PEI-PEO-Bürsten wird das Gleichgewicht in den Komplexlösungen kontinuierlich zugunsten einer höheren Anzahl PEI-PEO-Bürsten pro Komplex und einer geringeren Konzentration freier PEI-PEO-Bürsten verschoben. Erst wenn die Beladungsgrenze der PSS-C12-Bürsten erreicht ist bzw. überschritten wird, tritt

signifikant Sekundäraggregation der gebildeten Komplexe auf ($w(\text{PEI-PEO}) = 0,70$), welche schließlich im Ausfallen der Komplexe resultiert ($w(\text{PEI-PEO}) = 0,87$).

4.6 Zusammenfassung

Werden PSS-C12-Bürsten und hochgeladenes PEI-PEO in DMF komplexiert, so zeigt sich ein Komplexbildungsverhalten, das dem in Wasser (Kapitel 3) vergleichbar ist: die Reihenfolge des Zusammengebens hat einen entscheidenden Einfluss auf die gebildeten Komplexe und für einen bestimmten Mischungsbereich werden unlösliche Komplexe erhalten. Es werden wiederum sphärische Komplexe gebildet, d.h. die Topologie der Komplexpartner hat keinen Einfluss auf die Topologie der gebildeten Komplexe. Dies zeigt, dass allein die Reduzierung der effektiven Ladung durch Verwendung eines Lösungsmittels mit niedrigerer Dielektrizitätskonstante keine Auswirkungen auf das Komplexierungsverhalten hat.

Die vorgestellten Komplexe der PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-Dendrimeren oder niedriggeladenem PEI-PEO in DMF zeigen hingegen ein grundlegend neues Komplexierungsverhalten. In Vergleich zu den bisher untersuchten Komplexierungen hat die Reihenfolge der Präparation keinen Einfluss auf die Komplexierung und die Verläufe zeigen keine Unstetigkeiten. Durch AFM und Lichtstreuung konnte übereinstimmend gezeigt werden, dass die zylindrische Topologie des PSS-C12 in den Komplexen erhalten bleibt.

Für beide Komplexbildungen zeigt die Auswertung der AFM-Bilder eine lineare Abhängigkeit der mittleren Höhen der gebildeten Komplexe von der Zusammensetzung der Mischung (ausgedrückt durch den Gewichtsbruch einer der beiden Komponenten) und es kann eine Maximalhöhe detektiert werden. Übereinstimmend wird aus der Lichtstreuung erhalten, dass die absolute Streuintensität quadratisch mit dem Gewichtsbruch skaliert und keine Unstetigkeit aufweist. Zudem schließen beide Messmethoden aus, dass die gebildeten Komplexe mehrere, verbrückte PSS-C12-Bürste enthalten. Die Ergebnisse der AFM- und Lichtstremessungen an den gebildeten Komplexen legen somit nahe, dass die Polyamine in die Korona der PSS-C12-Bürste eingelagert werden (Beladung der PSS-C12-Bürste) und das Komplexwachstum ausschließlich senkrecht zur Hauptkette der PSS-C12-Bürste stattfindet. Durch Erhöhung der Konzentration des Polyamins in der Lösung wird auch die Beladung

erhöht, bis schließlich für unendliche Konzentrationen des Polyamins ein maximaler Beladungsgrad erreicht wird.

Aufgrund der definierten Struktur und Topologie der Dendrimere konnte für deren Komplexe der Grenzfall maximaler Beladung ($w(\text{PAMAM}) \rightarrow 1$) genauer untersucht werden. Unter Berücksichtigung aller vorliegenden Ergebnissen kann postuliert werden, dass die Komplexbildung in genanntem Grenzfall zu zylindrischen Strukturen führt, die eine dichteste Kugelpackung von PAMAM-G5-Dendrimeren darstellen. In den Zwischenräume der Kugelpackung befinden sich die PSS-C12-Bürsten, welche die Bildung der Struktur hervorrufen (Templat-Effekt der PSS-C12-Bürste). Der Radius der zylindrischen Strukturen wächst dabei von ca. 10 nm (unkomplexierte PSS-C12-Bürste) auf ca. 16 nm (vollständige Beladung der PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-G5-Dendrimeren) an.

Für die Komplexe der Dendrimere konnte des weiteren berechnet werden, dass der Gewichtsbruch unkomplexierter PAMAM-Dendrimere für kein Mischungsverhältnis gleich null ist. Selbst in großem Überschuss von PSS-C12-Bürsten liegen nicht alle Dendrimere komplexiert vor. Ein vergleichbares Verhalten der Komplexe der niedriggeladenen PEI-PEO-Bürste kann aus den zeitabhängigen Untersuchungen und besonders aus dem Verhalten nach Ansäuern geschlossen werden. Dies legt nahe, dass die Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-Dendrimeren oder niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF unter thermodynamischer Kontrolle verläuft und die gebildeten Komplexe Gleichgewichtsstrukturen darstellen.

Die Ergebnisse dieses Kapitels zeigen, dass in DMF die Komplexbildung zweier „Polyelektrolyte“ zwischen den möglichen Grenzfällen von thermodynamischer oder kinetischer Kontrolle ablaufen kann, wenn als „Polykation“ ein Polyamin verwendet wird. Überraschend und bislang unverstanden ist, warum die untersuchten Polyamine in DMF exakt den „richtigen“ Protonierungsgrad aufweisen, der nicht zu einer kinetisch kontrollierten Komplexbildung führt, aber dennoch ausreichend für die Bildung von Komplexen sein muss.

Kapitel 5

Schlussfolgerungen und Ausblick

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss von Kettensteifheit auf die Bildung von Interpolyelektrolytkomplexen zu untersuchen und dabei Wege aufzuzeigen, die eine Kontrolle der Topologie von Interpolyelektrolytkomplexen ermöglichen, und somit bei geeigneter Wahl der Komplexpartner jede gewünschte Topologie erzielt werden kann. Neben dem topologischen Einfluss der Ausgangskomponenten auf die Struktur der gebildeten Komplexe sollten Möglichkeiten gefunden werden, wie durch Komplexierung hochmolekularer Polyelektrolyte equilibrierbare Strukturen erhalten werden können. Als Modellsystem für diese Untersuchungen wurden die in Kapitel 1.4 vorgestellten, zylindrischen Polymerbürsten verwendet, denen als topologischer „Kontrast“ das Komplexierungsverhalten kommerzieller PAMAM-G5-Dendrimere mit kugelförmiger Topologie gegenüber gestellt wurde.

Um den Einfluss der Ladungsdichte der kationischen Komponente auf die gebildeten Polyelektrolytkomplexe untersuchen zu können, wurden Polymerbürsten mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten synthetisiert, deren Ladungsdichte über den Protonierungsgrad gesteuert werden kann. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, wie diese mit Hilfe der Makromonomermethode hergestellt werden können und so eine hundertprozentige Pfropfdichte erzielt wird, d.h. jede Wiederholungseinheit des Rückgrats trägt eine Seitenkette, so dass die Kuhnlänge der gebildeten Bürstenpolymere bei gegebener Seitenkettenlänge maximal ist (Kapitel 2).

Die in den Kapiteln 3 und 4 durchgeführten Komplexierungen können mit Hilfe der beiden Grenzfälle kinetisch (Gr. I) bzw. thermodynamisch (Gr. II) kontrollierter Komplexbildung klassifiziert werden, deren wesentlichen Charakteristika in Abbildung 5.1 und Tabelle 5.1 gegenübergestellt sind.

Für die in wässriger Lösung gebildeten DNA-Komplexe (Kapitel 3) konnte ohne Ausnahme und in Einklang mit der in der Einleitung vorgestellten Literatur geschlossen werden, dass diese dem ersten Grenzfall zuzuordnen sind. Es konnte gezeigt werden, dass

5- Schlussfolgerungen und Ausblick

Tabelle 5.1: Klassifizierung der Komplezierungen

Eigenschaften der Komplexe/Einflüsse verschiedener Größen	Kinetisch kontrollierte Komplexbildung (Gr. I)	Thermodynamisch kontrollierte Komplexbildung (Gr. II)
Starke Aggregation und Ausfallen aus der Lösung	Funktion der Konzentration freier ÜK ¹	wird nicht beobachtet
Topologie der Komplexe	in der Regel kugelförmig	bestimmt durch die Topologie der Komponente mit größerer Konturlänge
Struktur der Komplexe	Kern-Schale-Struktur, bei der die ÜK ¹ die Schale bildet	Postulat: dichteste Packung d. Polyamins, Templateffekt d. Polyanions ³
Größe der Komplexe	Funktion vieler Faktoren	gegeben durch die Größe des Polyanions
Reihenfolge des Mischens	Eigenschaften der Komplexe stark beeinflusst	kein Einfluss beobachtet
Konzentration der Komplexpartner	Größe stark beeinflusst	kein Einfluss beobachtet
Salzkonzentration	bekannte Ergebnisse [bsp. Daut00] zeigen eine starke Salzabhängigkeit	nicht eindeutig geklärt.
Reorganisation gebildeter Komplexe	wird nicht beobachtet	wird beobachtet
Zusammensetzung der Komplexlösungen	ÜK ² vollst. komplexiert, ÜK ¹ teilw. unkomplexiert	freie Polyamine neben Komplexen
Anzahl Ketten pro Komplex	Funktion der Konzentration im Eintropfvolumen	Anzahl Polyamine Funktion des Mischungsverhältnisses, Anzahl Anionen gleich 1
Stöchiometrie der gebildeten Komplexe	unabhängig vom Mischungsverhältnis ⁴ , abhängig von: Reihenfolge des Mischens, Ladungsdichte der Komponenten	abhängig vom Mischungsverhältnis

¹ÜK: vorgelegte Überschusskomponente

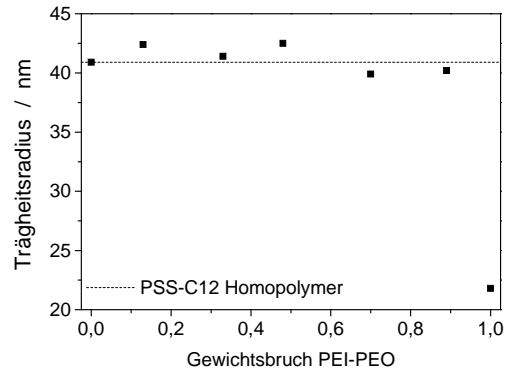
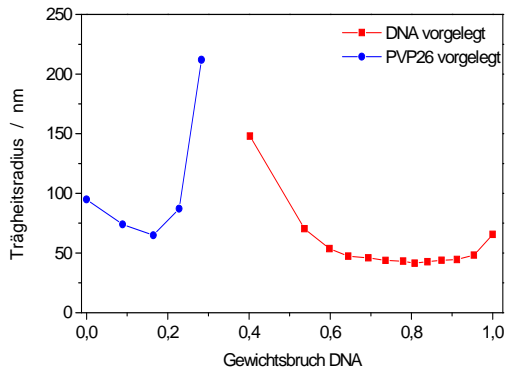
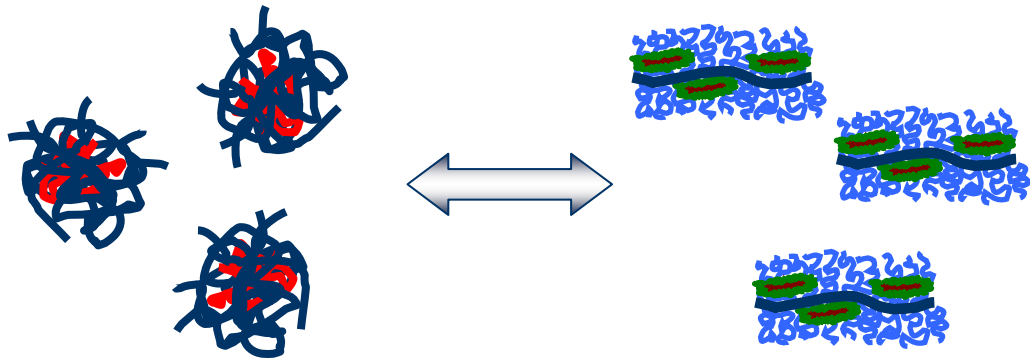
²ÜK: zutropfte Unterschusskomponente

³Für die untersuchten Komplexe gilt übereinstimmend, dass die Konturlänge des Polyanions die des Polyamins um ein Vielfaches übersteigt.

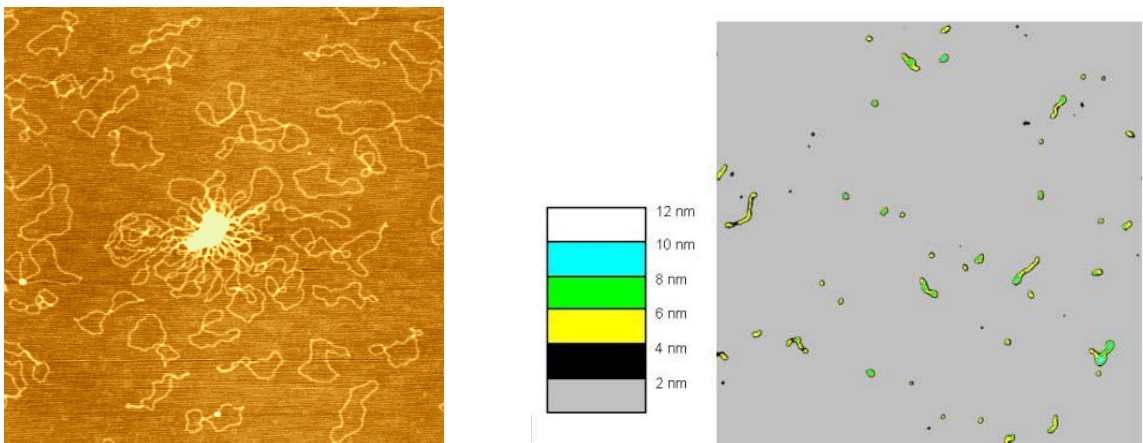
⁴in erster Näherung

Kinetisch kontrollierte Komplexbildung (Gr. I)

Thermodynamisch kontrollierte Komplexbildung (Gr. II)



Trägheitsradius der Komplexe als Funktion des Mischungsverhältnisses.



Topologie der Komplexe – AFM

Abbildung 5.1: Vergleich der experimentellen Daten zu Tabelle 5.1 am Beispiel der Systeme: *links*) Gr. I: PVP26-Bürste – pUC19-supercoiled-DNA in wässriger Lösung bei pH 7 aus Kapitel 3.2/3.3 und *rechts*) Gr. II – PSS-C12-Bürste – PEI-PEO-Bürste in DMF aus Kapitel 4.3.

5- Schlussfolgerungen und Ausblick

die Komplexbildung in allen untersuchten Fällen unter kinetischer Kontrolle verläuft und Nicht-Gleichgewichtsstrukturen gebildet werden. Die Verwendung semiflexibler zylindrischer Polymerbürsten mit unterschiedlichen Seitenketten und Ladungsdichten als Alternative zu flexiblen Ketten oder kugelförmigen Dendrimeren kann die Komplexbildung nicht maßgeblich beeinflussen. Auf Basis der durchgeführten Titrationsexperimente, bei denen die Komplexe aufgrund der tropfenweisen Zugabe sukzessive gebildet werden, können die in Kapitel 1.1 zusammengefassten Aussagen zu den Aussagen in Tabelle 5.1 erweitert werden. Für die DNA-Dendrimer-Komplexe wurde in Übereinstimmung mit Publikationen, die eine Größenbestimmung der resultierenden Komplexe durchgeführt haben [Tang97, Mitr04], gefunden, dass die Komplexbildung in wässriger Lösung kinetisch dominiert ist und zur Aggregation führt. Ein sehr überraschendes Ergebnis der in Kapitel 3 durchgeführten Experimente ist die Größe der gebildeten Komplexe: mit vorgelegter DNA wurden ungeachtet der verwendeten Polykationen, deren Molmassen um drei Zehnerpotenzen variieren und deren Topologien kugelförmig (Durchmesser: 6 nm) oder zylindrisch (mittlere Konturlänge der PVP26-Bürste: 200 nm) sind, Komplexe gebildet, die einen Radius von 30 bis 50 nm und eine kugelförmige Topologie aufweisen.

Die Ergebnisse von Kapitel 3 sind nur qualitativ mit den Ergebnissen von Gössl et al. [Göss02] in Einklang zu bringen. So wird übereinstimmend gefunden, dass einige der gebildeten Komplexe (Abbildung 1.4 c und d, Kapitel 1.3) mehr als ein DNA-Molekül enthalten und bei anderen Mischungsverhältnissen Aggregation beobachtet wird. Dies lässt auf Basis der hier gefundenen Zusammenhänge den Schluss zu, dass auch die in [Göss02] untersuchten Komplexe nicht unter thermodynamischer Kontrolle gebildet wurden. Dennoch konnten sie, wenn auch nur durch eine indirekte Beweisführung (siehe Einleitung), postulieren, dass sich die DNA helikal um die dendronisierten Polymere wickelt.

In zukünftigen Untersuchungen ist zu klären, ob bei ausreichend geringer Konzentration wie in Kapitel 3 postuliert Einzel-Ketten-Komplexe hergestellt werden können und ob diese Topologien in Analogie zu [Göss02] aufweisen. Alternative Strategien für die Komplexbildung in wässriger Lösung können das Ziel verfolgen, die Anzahl der Ladung pro Molekül stark zu erniedrigen (vgl. [DeRo06] und die Komplexbildung in DMF), ohne die Topologie der Moleküle zu verändern. So könnten beispielsweise zylindrische Bürstenpolymere mit ungeladenen, wasserlöslichen Seitenketten synthetisiert werden, in denen nur die Endgruppe in der Peripherie eine

Ladung trägt. Durch Copolymerisation mit Seitenketten ohne jegliche Ladungsträger kann in diesem Fall zusätzlich die Ladungsdichte pro Konturlänge variiert werden. Bei dieser Strategie ist jedoch zu beachten, dass beispielsweise Poly(ethylenoxide) wie eine Reihe weiterer neutraler und anionischer Polymere in der Lage ist, DNA zu kondensieren [Blo97]. Das Auffinden geeigneter wasserlöslicher Polymere, die nur eine Ladung tragen können und selbst keine Wechselwirkung mit DNA-Molekülen eingehen, ist somit essentiell für die Realisierung dieses Ansatzes.

Die vorgestellten Komplexe der PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-Dendrimern oder niedriggeladenem PEI-PEO in DMF zeigen gegenüber der Komplexbildung in wässriger Lösung ein grundlegend neues Komplexierungsverhalten (Kapitel 4 und Tabelle 5.1). Überraschend und bislang unverstanden ist, warum die untersuchten Polyamine in DMF exakt den „richtigen“ Protonierungsgrad aufweisen, um obiges Verhalten zu zeigen. Wurde hingegen das Polyamin durch Protonierung mit Salzsäure vor der Komplexierung in einen hochgeladenen Zustand überführt, so wird analog zu Kapitel 3 eine kinetisch dominierte Komplexbildung gefunden. Die obige Bezeichnung „richtiger“ Protonierungsgrad ist deshalb von essentieller Bedeutung, da die Anzahl der Ladungen niedrig genug sein muss, um nicht zu einer kinetisch kontrollierten Komplexbildung zu führen, aber dennoch ausreichend für die Bildung von Komplexen sein muss. Es konnte somit gezeigt werden, dass in DMF die Komplexbildung zweier „Polyelektrolyte“ zwischen den möglichen Grenzfällen von thermodynamischer oder kinetischer Kontrolle ablaufen kann, wenn als „Polykation“ ein Polyamin verwendet wird. Dies lässt in Verbindung mit weiteren Ergebnissen (siehe Einleitung Kapitel 4) vermuten, dass nicht allein die Reduzierung der effektiven Ladung durch Verwendung eines Lösungsmittels mit niedrigerer Dielektrizitätskonstante, sondern die zusätzliche Reduzierung der realen Anzahl wechselwirkender Ladungen entscheidend für das resultierende Verhalten ist.

Die Ergebnisse der AFM- und Lichtstreuungsmessungen an den mit niedriggeladenen Polyaminen gebildeten Komplexen legen nahe, dass die Polyamine in die Korona der PSS-C12-Bürste eingelagert werden (Beladung der PSS-C12-Bürste) und das Komplexwachstum ausschließlich senkrecht zur Hauptkette der PSS-C12-Bürste stattfindet, wodurch Komplexe zylindrischer Topologie gebildet werden (Templat-Effekt der PSS-C12-Bürste). Durch Erhöhung der Konzentration des Polyamins in der Lösung wird die Beladung erhöht, bis schließlich für unendliche Konzentrationen des Polyamins ein maximaler Beladungsgrad erreicht wird. Aufgrund der definierten Struktur und

5- Schlussfolgerungen und Ausblick

Topologie der Dendrimere konnte für deren Komplexe unter Berücksichtigung aller vorliegenden Ergebnissen postuliert werden, dass die Komplexbildung in dem Grenzfall maximaler Beladung ($w(\text{PAMAM}) \rightarrow 1$) zu zylindrischen Strukturen führt, die eine dichteste Kugelpackung von PAMAM-G5-Dendrimeren darstellen. In den Zwischenräumen der Kugelpackung befinden sich die PSS-C12-Bürsten, welche die Bildung der Struktur hervorrufen. Der Radius der zylindrischen Strukturen wächst dabei von ca. 10 nm (unkomplexierte PSS-C12-Bürste) auf ca. 16 nm (vollständige Beladung der PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-G5-Dendrimeren) an. Des Weiteren konnte für die Komplexe der Dendrimere berechnet werden, dass der Gewichtsbruch unkomplexierter PAMAM-Dendrimere für kein Mischungsverhältnis gleich null ist. Selbst in großem Überschuss von PSS-C12-Bürsten liegen nicht alle Dendrimere komplexiert vor. Ein vergleichbares Verhalten der Komplexe der niedriggeladenen PEI-PEO-Bürste kann aus den zeitabhängigen Untersuchungen und besonders aus dem Verhalten nach Ansäuern geschlossen werden. Dies legt nahe, dass die Komplexbildung von PSS-C12-Bürsten mit PAMAM-Dendrimeren oder niedriggeladenen PEI-PEO-Bürsten in DMF unter thermodynamischer Kontrolle verläuft und die gebildeten Komplexe Gleichgewichtsstrukturen darstellen.

Weiterführende Arbeiten können das in DMF beobachtete Komplexbildungsverhalten nutzen, den Einfluss der realen Anzahl wechselwirkender Ladungen auf das Komplexbildungsverhalten zu quantifizieren. So können beispielsweise Leitfähigkeitsmessungen klären, wie viele Ladungen die Polyamine tatsächlich tragen und welche Nettoladung die gebildeten Komplexe aufweisen. Die Untersuchung des Ladungszustands der gebildeten Komplexe kann in Verbindung mit einer detaillierten Strukturcharakterisierung dazu führen, die postulierten Strukturen zu bestätigen oder den Postulaten zu widersprechen. In diesem Zusammenhang ist auch die Rolle des DMF genau zu untersuchen, um Rückschlüsse auf die Übertragbarkeit auf andere Polymer-Lösungsmittel-Systeme ziehen zu können. Zudem wurde bisher nicht untersucht, welche Komplexe gebildet werden, wenn das Polyamin eine größere Konturlänge als das Polyanion aufweist oder flexible Ketten verwendet werden. Ein sehr entscheidender Punkt für die Anwendbarkeit der gebildeten Komplexe ist, ob diese durch geeignete Methoden in Wasser transferiert werden können. Sollte dies möglich sein und können DMF-lösliche DNA-Tensidkomplexe hergestellt werden, so ist eine Anwendung dieser Methode auf die definierte Komplexbildung von DNA-Molekülen für biologische Anwendungen möglich.

Anhang

Anhang A

Grundlagen der statischen und dynamischen Lichtstreuung an Homopolymeren und Homopolymermischungen

A.1 Statische Lichtstreuung [Krat87, Beer96, Stör03, Beno72]

Trifft Licht auf ein Atom oder Molekül, so regt es aufgrund seines Charakters als elektromagnetische Welle die Elektronen zum Schwingen an und erzeugt somit ein oszillierendes Dipolmoment. Ein solcher elektrischer Dipol ist Ausgangspunkt einer neuen elektromagnetischen Welle, der Streuwelle, die in Phase und Frequenz mit der einfallenden Welle übereinstimmt.

Statische Lichtstreuung an kleinen Homopolymeren:

Eine grundlegende Gleichung der Lichtstreuung ist auf Lord Rayleigh zurückzuführen und beschreibt verdünnte Gase. Durch Anwenden der von ihnen hergeleiteten Fluktuationstheorie konnten Smoluchowski und Einstein den Gültigkeitsbereich dieser Gleichung auf Flüssigkeiten und Lösungen kleiner Moleküle (der Durchmesser der Moleküle ist kleiner als ein Zwanzigstel der Wellenlänge) erweitern. Nach dieser Theorie tragen nur Volumenelemente zum Streulicht bei, deren Brechungsindizes sich von dem der Umgebung unterscheiden. Unterschiedliche Brechungsindizes innerhalb kleiner Volumenelemente werden in einer isotropen Lösung durch Konzentrations- und Dichteschwankungen hervorgerufen.

Für eine Lösung kleiner Moleküle gilt für die Rayleigh-Ratio:

$$R(\theta) = \frac{4\pi^2}{\lambda_0^4 N_L} \left[\rho n_0^2 \left(\frac{dn}{d\rho} \right)^2 RT\beta + \left(n_0 \frac{dn}{dc} \right)^2 RT \frac{M_0}{\rho_0} \frac{c}{\left(\frac{-d\Delta\mu}{dc} \right)} \right] \quad \text{Gl. A-1}$$

mit λ_0 : Wellenlänge des eingestrahnten Lichts
 N_L : Loschmidtsche Zahl

Anhang A

ρ, ρ_0 :	Dichte der Lösung, des Lösungsmittels
n, n_0 :	Brechungsindex der Lösung, des Lösungsmittels
R :	Gaskonstante
T :	absolute Temperatur (in Kelvin)
β :	isotherme Kompressibilität
M_0 :	Molmasse des Lösungsmittels
c :	Massenkonzentration gelöste Substanz
$\Delta\mu$:	Differenz der chemischen Potentiale von Lösung und Lösungsmittel
$\left(\frac{dn}{dc}\right)$:	Brechungsindexinkrement (nach der Konzentration)
$\left(\frac{dn}{d\rho}\right)$:	Brechungsindexinkrement (nach der Dichte)

Der erste Summand in Gleichung A-1 beschreibt den Anteil der Dichtefluktuationen des Lösungsmittels an der Gesamtstreuintensität, der zweite den Anteil der Konzentrationsschwankungen in der Lösung. Unter der Annahme, dass die Dichtefluktuationen des Lösungsmittels unabhängig von der gelösten Substanz sind, d.h. das Lösungsmittel liefert mit und ohne gelöste Substanz den gleichen Beitrag zur Gesamtstreuintensität, wird für den Teil der Gesamtstreuintensität, der allein auf die gelöste Substanz zurückzuführen ist, folgender Ausdruck erhalten:

$$R(\theta) = R(\theta)_{\text{Lösung}} - R(\theta)_{\text{Lösungsmittel}} = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_L} \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 \frac{R T M_0 c}{\rho_0 \left(\frac{-d\Delta\mu}{dc}\right)} \quad \text{Gl. A-2}$$

Die Ableitung der Änderung des chemischen Potentials nach der Konzentration kann mit Hilfe der Thermodynamik als Funktion des osmotischen Drucks ausgedrückt werden:

$$-\left(\frac{d\Delta\mu}{dc}\right) = \frac{M_0}{\rho_0} \left(\frac{d\Pi}{dc}\right) \quad \text{Gl. A-3}$$

mit Π : osmotischer Druck

Durch eine Taylor-Entwicklung um $c=0$ kann die Ableitung des osmotischen Drucks in eine Reihe entwickelt werden. Unter Vernachlässigung höherer Potenzen von c wird durch Einsetzen in Gl. A-2 ein Ausdruck erhalten, der die Streuintensität mit der Molmasse der Teilchen und dem zweiten Virialkoeffizienten des osmotischen Drucks in Beziehung setzt.

$$\frac{K c}{R(\theta)} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 = \frac{1}{M} + 2A_2 c \quad \text{Gl. A-4}$$

mit $K = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_L}$: optische Konstante

M : Molmasse der gelösten Substanz

Die Extrapolation auf $c=0$ liefert schließlich:

$$R(\theta) = K \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 c M \quad \text{Gl. A-5}$$

Diese Gleichung beschreibt eine verdünnte Lösung isotrop verteilter Moleküle, die klein im Vergleich zur Wellenlänge des eingestrahnten Lichts sind.

Sind die untersuchten Moleküle hinsichtlich ihrer Molmasse nicht einheitlich, so gilt unter der Annahme, dass die Moleküle ein identisches Brechungsindexinkrement besitzen:

$$R(\theta) = K \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \sum_i c_i M_i = K \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 c M_w \quad \text{Gl. A-6}$$

mit $i = 0, 1, \dots, N$:

N = Anzahl Moleküle

c_i :

Massenkonzentration des Moleküls i

M_i :

Molmasse des Moleküls i

$$M_w = \sum_i c_i M_i$$

Gewichtsmittel der Molmasse

Statische Lichtstreuung an großen Homopolymeren:

Werden hingegen große Partikel (der Durchmesser der Moleküle ist größer als ein Zwanzigstel der Wellenlänge) betrachtet, so ist eine winkelabhängige Streuintensität zu

Anhang A

beobachten. Dies ist damit zu begründen, dass ein solches Teilchen mehrere Streuzentren beinhaltet, die interferenzfähige Streuwellen aussenden. Der Gangunterschied der Streuwellen ergibt sich aus dem Abstand der Streuzentren, sowie Abstand und Winkel zwischen Primärstrahl und Detektor. Die Winkelabhängigkeit der Streustrahlung eines großen Teilchens wird durch die Einführung des Partikelformfaktors $P(q)$ (Gl. A-7) berücksichtigt.

$$\frac{K c}{R(\theta)} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 = \frac{1}{M P(q)} + 2A_2 c \quad \text{Gl. A-7}$$

mit
$$P(q) = \frac{1}{Z^2} \sum_{i=1}^Z \sum_{j=1}^Z \langle \exp(iq \mathbf{r}_{ij}^F) \rangle$$

$$q = |\mathbf{q}| = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) : \text{Betrag des Streuvektors}$$

$$\mathbf{r}_{ij}^F = \mathbf{r}_i^F - \mathbf{r}_j^F : \text{Abstandsvektor der Streuzentren } i \text{ und } j$$

$$Z : \text{Zahl intramolekularer Streuzentren}$$

Der Partikelformfaktor $P(q)$ beschreibt somit die Interferenz verschiedener Streuzentren innerhalb eines Moleküls. Dabei ist zu beachten, dass eine Winkelabhängigkeit der Streuintensität auch durch die Interferenz von Wellen, die von Streuzentren verschiedener Moleküle ausgesandt werden, hervorgerufen werden kann. Diese Beiträge werden durch den Strukturfaktor $S(q)$ berücksichtigt. In verdünnten Systemen kann dieser in der Regel vernachlässigt werden, da der Abstand zwischen den einzelnen Molekülen zu groß für das Auftreten von Interferenzerscheinungen ist.

$P(q)$ kann für kleine Werte von qr_{ij} in eine Taylor-Reihe um $q=0$ entwickelt werden. Mit Hilfe der Beziehung

$$\frac{1}{Z^2} \sum_{i=1}^Z \sum_{j=1}^Z \langle \mathbf{r}_{ij}^F \rangle = 2 \langle R_g^2 \rangle \quad \text{Gl. A-8}$$

mit $\langle R_g^2 \rangle$: Quadrat des Trägheitsradius des Moleküls

wird durch Abbruch nach dem zweiten Glied (dies ist gerechtfertigt, wenn $q^2 \langle R_g^2 \rangle \ll 1$ gilt) die Zimm-Gleichung erhalten:

$$\frac{Kc}{R(\theta)} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{3} \langle R_g^2 \rangle_z q^2 \right) + 2A_2c \quad \text{Gl. A-9}$$

mit $\langle R_g^2 \rangle_z = \frac{\sum_i N_i M_i^2 \langle R_{gi}^2 \rangle}{\sum_i N_i M_i^2}$ z-Mittel des Trägheitsradiusquadrats

Mit Hilfe dieser Gleichung können durch doppelte Extrapolation auf $c=0$ und $q=0$ das Gewichtsmittel der Molmasse, das z-Mittel des Trägheitsradiusquadrats und der zweite Virialkoeffizient des osmotischen Drucks bestimmt werden.

Statische Lichtstreuung an Homopolymermischungen

Bisher wurde davon ausgegangen, dass jede Einzelkette das gleiche Brechungsindexinkrement besitzt, so dass sich die einzelnen, in der Lösung vorliegenden Polymere ausschließlich hinsichtlich ihrer Molmasse unterscheiden. Bei Mischungen von polydispersen Homopolymeren liegt neben der Molmassenheterogenität der einzelnen Homopolymere eine zusätzliche, diskrete, Heterogenität bezüglich der Brechungsindexinkremente vor, die dazu führt, dass die gemessenen Molmassen und Trägheitsradien nur apparente Größen darstellen. Der Zusammenhang dieser apparenten Größen mit den realen Größen der einzelnen Homopolymerspezies ist Gegenstand dieses Abschnitts. Haben zwei unterschiedliche Homopolymere ein identisches Brechungsindexinkrement, so werden in deren Mischungen reale Mittelwerte der Molmassen bzw. Trägheitsradien gemessen und es gelten die bisherigen Gleichungen.

In den folgenden Beschreibungen beziehen sich Summationen über i grundsätzlich auf alle in der Lösung vorhandenen Moleküle. Der Index n wird für die Anzahl Spezies mit einheitlichem Brechungsindexinkrement verwendet (z.B. Homopolymermischung aus 2 polydispersen Homopolymeren: $n = 1, 2$).

Für die Beschreibung der Zusammensetzung einer Homopolymermischung wird der Massenbruch w_n der einzelnen (polydispersen) Homopolymere n verwendet:

Anhang A

$$w_n = \frac{c_n}{c} = \frac{c_n}{\sum_n c_n} \quad \text{Gl. A-10}$$

mit c : Gesamtkonzentration aller Polymere in Masse pro Einheitsvolumen
 c_n : Konzentration des Homopolymers n

Aufgrund der Additivität der Polarisierbarkeit gilt für das Brechungsindexinkrement einer Homopolymermischung:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}} = \sum_n w_n \left(\frac{dn}{dc}\right)_n \quad \text{Gl. A-11}$$

mit $\left(\frac{dn}{dc}\right)_n$: Brechungsindexinkrement des Homopolymers n in dem verwendeten Lösungsmittel

Es ist zu beachten, dass das Brechungsindexinkrement einer Homopolymermischung negativ, positiv, aber auch gleich null sein kann und nur von der Zusammensetzung der Mischung abhängt.

Die Untersuchung einer einheitlichen, hochverdünnten Polymerlösung mit statischer Lichtstreuung liefert für Homopolymere, Mischungen von Homopolymeren und auch Copolymere für die Extrapolation auf $c=0$ die allgemeine Beziehung:

$$R(\theta) = K \sum_i \left(\frac{dn}{dc}\right)_i^2 c_i M_i \quad \text{Gl. A-12}$$

mit $i=0,1,\dots,N$: Anzahl Moleküle
 c_i : Massenkonzentration des Polymers i
 M_i : Molmasse des Polymers i
 $\left(\frac{dn}{dc}\right)_i$: Brechungsindexinkrement des Polymers i

Im Falle großer Polymere ($d > \lambda/20$) muss aufgrund der Winkelabhängigkeit der Streuintensität für die folgenden Betrachtungen die auf $q=0$ extrapolierte Rayleigh Ratio

$R(\theta = 0)$ betrachtet werden. Analog der Herleitung für Homopolymerlösungen kann auch im Fall von Homopolymermischungen eine, in diesem jedoch apparente, Molmasse M^* der Polymerlösung definiert werden:

$$R(\theta) = K \sum_i c_i M_i \left(\frac{dn}{dc} \right)_i^2 = K \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{Mischung}}^2 c M^* \quad \text{Gl. A-13}$$

mit c : Gesamtkonzentration aller Homopolymere
 $\left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{Mischung}}^2$: Brechungsindexinkrement der Homopolymermischung
 M^* : apparente Molmasse

Bei der Herleitung dieser Gleichung (A-13) wurden keine Annahmen gemacht und sie ist daher allgemeingültig. Die Auswertung der statischen Lichtstreuung einer Homopolymermischung nach Gl. A-13 liefert somit, bei Verwendung der Gesamtkonzentration aller Homopolymere und des Brechungsindexinkrement der Homopolymermischung, eine apparente Molmasse M^* . Diese gemessene, apparente Molmasse M^* entspricht jedoch nicht der gewichtsgemittelten Molmasse der Mischung, sondern hängt vom Brechungsindexinkrement der einzelnen Homopolymere und dadurch vom gewählten Lösungsmittel ab. Aus Gleichung A-13 folgt:

$$M^* = \frac{1}{c \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{Mischung}}^2} \sum_i c_i M_i \left(\frac{dn}{dc} \right)_i^2 \quad \text{Gl. A-14}$$

Da alle Polymere einer Homopolymerspezies über identische Brechungsindexinkremente verfügen, kann die Summe über alle Polymere i in Teile jeder Homopolymerspezies n getrennt werden:

$$M^* = \frac{1}{\left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{Mischung}}^2} \sum_n w_n M_{w,n} \left(\frac{dn}{dc} \right)_n^2 \quad \text{Gl. A-15}$$

Für eine Mischung aus 2 Homopolymeren wird somit erhalten:

$$M^* = \frac{1}{(dn/dc)_{\text{Mischung}}^2} \left[w_1 M_{w,1} \left(\frac{dn}{dc} \right)_1^2 + w_2 M_{w,2} \left(\frac{dn}{dc} \right)_2^2 \right] \quad \text{Gl. A-16}$$

Die oben angesprochene Winkelabhängigkeit der Streuintensität einer Mischung großer Homopolymere kann analog zu der einer Homopolymerlösung beschrieben werden. Für die Extrapolation auf $c=0$ gilt:

$$R(\theta) = K \sum_i c_i M_i \left(\frac{dn}{dc} \right)_i^2 P_i(q) \quad \text{Gl. A-17}$$

Bei Trennung der Summe in die Anteile der jeweiligen Homopolymere n und Entwickeln des Formfaktors $P(\theta)$ für jedes Homopolymer in eine Reihe wird für den gemessenen, apparenten Trägheitsradius erhalten:

$$\langle R_g^2 \rangle_{z,app} = \frac{1}{M^* (dn/dc)_{\text{Mischung}}^2} \sum_n w_n \left(\frac{dn}{dc} \right)_n^2 M_{w,n} \langle R_g^2 \rangle_{z,n} \quad \text{Gl. A-18}$$

Das an einer Homopolymermischung gemessene, apparente Trägheitsradienquadrat entspricht somit der Summe der Trägheitsradienquadrate der einzelnen Homopolymerspezies, gewichtet mit dem Beitrag der jeweiligen Homopolymerspezies an der Absolutstreuintensität.

A.2 Dynamische Lichtstreuung [Peco85, Beer96, Stör03]

Die winkelabhängige Messung zeitlich gemittelter Streuintensitäten ist Gegenstand der statischen Lichtstreuung. Im Unterschied dazu wird in der dynamischen Lichtstreuung die zeitliche Fluktuation der Streuintensität ausgewertet. Diese Fluktuation rührt von der Brownsche Molekular-Bewegung der Teilchen aufgrund ihrer thermischen Energie und sich somit wechselnden Geschwindigkeiten in Bezug auf den Detektor. Als Konsequenz folgt eine Frequenzverbreiterung des detektierten Lichts. Die Bewegung der Teilchen ist jedoch zu langsam, um diese Linienverbreiterung im Frequenzraum experimentell aufzulösen. Da Frequenz und Zeit Fourier-Paare sind, kann die Diffusion der Teilchen als Funktion der Zeit gemessen werden (dieser Zusammenhang ist durch das *Wiener-Khintchine*-Theorem gegeben).

Experimentell bestimmt wird die Intensitätskorrelationsfunktion $g_2(q,t)$ des Streulichts, welche mit der Korrelationsfunktion der Streuamplituden $g_1(q,t)$ über die Siegert-Relation verknüpft ist. Bei gegebenem Streuvektor q gilt:

$$g_1(t) \equiv \frac{S(q,t)}{S(q)} = \sqrt{\frac{g_2(t) - A}{A}} \quad \text{Gl. A-19}$$

mit $S(q,t)$: dynamischer Strukturfaktor
 $S(q)$: statischer Strukturfaktor
 A : experimentell bestimmte Basislinie

Für kleine monodisperse Moleküle fällt $g_1(t)$ monoexponentiell ab (Herleitung dieser Gleichung siehe Literatur):

$$g_1(t) = \exp(-q^2 D_{app} t) \quad \text{Gl. A-20}$$

mit D_{app} : apparer Diffusionskoeffizient

Liegt hingegen eine Mischung von Molekülen vor, so entspricht der Beitrag jeder Komponente an der Intensitätskorrelationsfunktion dem Beitrag der Komponente an der Gesamtstreuintensität. Für kleine polydisperse Moleküle mit identischem Brechungsindexinkrement folgt:

$$g_1(t) = \frac{\sum_i c_i M_i \exp(-q^2 D_{i,app} t)}{\sum_i c_i M_i} \quad \text{Gl. A-21}$$

Die Berücksichtigung der Brechungsindexinkremente für eine Homopolymermischung kleiner Moleküle führt zu:

$$g_1(t) = \frac{\sum_i c_i M_i \left(\frac{dn}{dc} \right)_i^2 \exp(-q^2 D_{i,app} t)}{\sum_i c_i M_i \left(\frac{dn}{dc} \right)_i^2} \quad \text{Gl. A-22}$$

Durch Extrapolation auf $q = 0$ (bei großen Molekülen muss in den Gleichungen A20-A22 zusätzlich der Partikelformfaktor berücksichtigt werden) und $c = 0$ (bei höheren Konzentrationen tragen vermehrt Relativbewegungen zwischen den streuenden Molekülen zur Intensitätskorrelationsfunktion bei) wird für polydisperse Moleküle das z-Mittel des Selbstdiffusionskoeffizienten $D_{s,z}$ erhalten:

$$\langle D_s \rangle_z = \frac{\sum_i w_i M_{w,i} \langle D_s \rangle_i}{\sum_i w_i M_{w,i}} \quad \text{Gl. A-23}$$

Für eine Homopolymermischung folgt analog für den extrapolierten, apparenten Diffusionskoeffizienten:

$$\langle D \rangle_{z,app} = \frac{\sum_n w_n \left(\frac{dn}{dc} \right)_n^2 M_{w,n} \langle D_s \rangle_{z,n}}{\sum_n w_n \left(\frac{dn}{dc} \right)_n^2 M_{w,n}} \quad \text{Gl. A-24}$$

Der an einer Homopolymermischung gemessene, apparente Diffusionskoeffizient entspricht somit der Summe der Selbstdiffusionskoeffizienten der einzelnen Homopolymerspezies, gewichtet mit dem Beitrag der jeweiligen Homopolymerspezies an der Absolutstreuintensität (analog dem Trägheitsradienquadrat).

Unter Verwendung der Stokes-Einstein-Beziehung kann aus dem z-Mittel des Selbstdiffusionskoeffizienten das inverse z-Mittel des kugeläquivalenten hydrodynamischen Radius bestimmt werden:

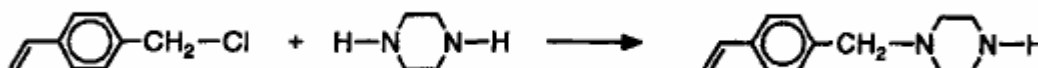
$$\frac{kT}{6\pi\eta_0 D_{s,z}} = \left\langle \frac{1}{R_h} \right\rangle_z^{-1} \quad \text{Gl. A-25}$$

η_0 : Viskosität des Lösungsmittels

Anhang B

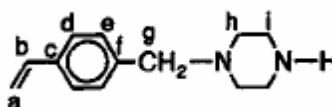
Beschreibung der Synthesen

Herstellung des Abbruchagens *N*-(4-vinylbenzyl)piperazin:



Die Reaktion wurde wie in [Groß96] beschrieben durchgeführt. Der Ansatz wurde um Faktor 2,5 erhöht, wodurch die Reaktion nicht beeinträchtigt wurde.

Die durchgeführten ^1H - und ^{13}C -NMR-Messungen liefern Ergebnisse entsprechend der Literatur [Groß96]:



^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3):

$\delta(\text{ppm}) = 1,85$ (s, 1H, NH), 2,48 (s, 4H, i), 2,93 (t, 4H, h), 3,53 (s, 2H, g), 5,28, 5,80, 6,78 (dd, 3H, a, b), 7,38 (dd, 4H, d, e)

^{13}C -NMR (100,6 MHz, CDCl_3):

$\delta(\text{ppm}) = 46,0$, 54,4 (h, i), 63,5 (g), 113,5 (a), 126,0 (e), 129,0 (d), 136,3 (c), 136,6 (b), 138,0 (f)

Herstellung des Makromonomers α -Methyl- ω -[*N*-(4-vinylbenzyl)piperazinyl]poly(*N*-benzoylthylenimin)

Die Reaktion wurde wie in [Groß96] beschrieben durchgeführt, wobei die benötigten Chemikalien wie vom Hersteller erhalten verwendet wurden und der Zielpolymerisationsgrad $n=24$ betrug. Hierzu wurden 1,58 g *p*-Toluolsulfonsäuremethylester (8,49 mmol) und 29,5 g

Anhang B

2-Phenyloxazolin (0,200 mol) in 60 mL Acetonitril kombiniert, für 86 Stunden bei ca. 70°C polymerisiert und schließlich 7,61 g N-(4-vinylbenzyl)piperazin (37,6 mmol) in 44 mL Chloroform zugeben und 2 Stunden gerührt. Nach dem Verdünnen mit Chloroform auf 300 mL wurde die Reaktionslösung gegen Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und aus ca. 1,6 L kaltem Diethylether gefällt.

Es wurden 26,5 g eines weißen Pulvers erhalten, das geringe gelbliche Verfärbung aufwies. Das erhaltene Produkt ist vollständig löslich in Chloroform, Dichlormethan, THF und Acetonitril sowie teilweise löslich in Benzol (siehe nächster Abschnitt) und unlöslich in Wasser, Diethylether und n-Pentan.

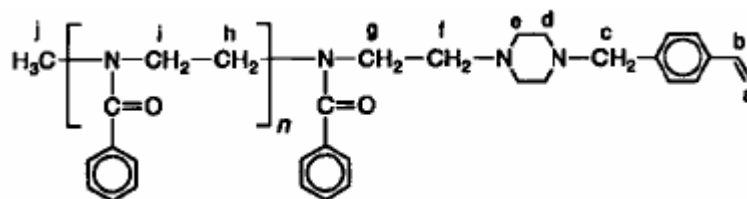
Aufreinigung der α -Methyl- ω -[N-(4-vinylbenzyl)piperazinyl]poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomere

Für die Aufreinigung des Makromonomers wurden 20 g in einen Kolben gegeben, 19 mL Benzol (destilliert über AIBN) zugegeben und mehrere Tage geschüttelt. Zu Beginn löst sich das Makromonomer vollständig in Benzol, nach kurzer Zeit bildet sich jedoch ein gelber Feststoff ((*Makromonomer**Benzol)-Addukt) bestehend aus dem Makromonomer und dem gesamten Benzol (es befindet sich keine Flüssigkeit mehr in dem Kolben).

Dieser Feststoff wurde daraufhin mit 350 mL THF überschichtet und ca. 10-20 Tage geschüttelt. Der Feststoff löst sich dabei nicht auf, sondern es entsteht ein fein verteilter Niederschlag. Zeitgleich ist eine zunehmend stärkere Gelbfärbung der überstehenden THF-Lösung zu beobachten. Durch Zentrifugation wird der Niederschlag von der THF-Lösung befreit und nach mehrmaligem Waschen mit frischem THF (bis keine Färbung der überstehenden THF-Lösung mehr zu beobachten ist) in Chloroform aufgenommen und aus destilliertem Diethylether gefällt.

Der erhaltene Feststoff wird wiederum in Chloroform aufgenommen (c=30 g/L), präparativ durch Millex-LG-Filter (0,2 mm, 25 mm) filtriert und aus destilliertem n-Pentan gefällt. Nach Gefriertrocknung aus destilliertem Benzol, umfällen aus THF/n-Pentan und nochmaliger Gefriertrocknung aus destilliertem Benzol werden 15,5 g aufgereinigtes Makromonomer erhalten.

Die Auswertung der $^1\text{H-NMR}$ -Messung liefert Ergebnisse entsprechend der Literatur [Groß96]:



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_2Cl_2)

$\delta(\text{ppm}) = 1,7\text{-}4,0$ (m, CH_3 , NCH_2CH_2 , $\text{Ar-CH}_2\text{N}$), 5,26, 5,74, 6,72 (dd, 3H, a, b), 6,9-7,6 (m, H_{Ar})

MALDI-TOF-MS

Probenpräparation: Je 20 μL einer Lösung von 1,8,9-Trihydroxyanthracene (25 mg/mL) und dem Makromonomer (6,5 mg/mL) in THF wurden kombiniert, 2 μL Lithiumtrifluoracetat in THF (2 mg/mL) zugegeben und nach dem Schütteln 1 μL der resultierenden Mischung auf dem Target aufgebracht.

Homopolymerisation der Poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomere zu Polymakromonomeren mit Poly(N-benzoylethylenimin)-Seitenketten in Benzol

In einem 25 mL Spitzkolben werden 1,20 g des aufgereinigten Makromonomers (entspricht 0,29 mmol Endgruppen) vorgelegt und an der Diffusionspumpe entgast. Von der Lösungsmittel-Initiator-Mischung bestehend aus 10 mL frisch destilliertem Benzol und 17,3 mg zweimal umkristallisiertem AIBN, die dreimal an der Diffusionspumpe entgast wurde, werden ca. 1,8 mL im Argongegenstrom auf das Makromonomer gegeben ($c_{\text{AIBN}}/c_{\text{M}} = 0,065$). Es wurde eine gelbe, viskose Lösung erhalten, die nach Schütteln erstarrte. Der erstarrte Ansatz reagierte 10 Tage im Ölbad bei 58 °C. Bedingt durch die Temperaturerhöhung entstanden in dem Spitzkolben 2 unterschiedliche Zonen: im unteren Teil des Kolbens bildete sich eine glasartige Zone mit freien Zwischenräumen (Blasen), die jedoch unbeweglich war. Der obere Teil des Kolbens wurde von der unverändert festen, erstarrten Masse eingenommen.

Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der gesamte Reaktionsansatz gefriergetrocknet, wodurch ein grobes, weißes Pulver mit gelblicher Verfärbung erhalten wurde.

Das Pulver ist vollständig löslich in Chloroform, Dichlormethan und N-Methylpyrrolidon. Nur teilweise löslich ist es hingegen in THF, Benzol, Benzotrifluorid,

Anhang B

Methanol, Ethanol, Isopropylalkohol, 2-Butanol und 1,2-Dichlorbenzol. Vollständig unlöslich ist es in Wasser, Diethylether und n-Pentan.

Homopolymerisation der Poly(N-benzoylethylenimin)-Makromonomere zu Polymakromonomeren mit Poly(N-benzoylethylenimin)-Seitenketten in N-Methylpyrrolidon

In einem 25 mL Spitzkolben werden 4,0 g des Makromonomers MM-PhOxA2 (entspricht 0,965 mmol Endgruppen) vorgelegt und an der Diffusionspumpe entgast. Von der Lösungsmittel-Initiator-Mischung bestehend aus 22,49 mL frisch destilliertem N-Methylpyrrolidon und 18,3 mg zweimal umkristallisiertem AIBN, die dreimal an der Diffusionspumpe entgast wurde, werden ca. 2 mL im Argongegenstrom auf das Makromonomer gegeben ($c_{\text{AIBN}}/c_{\text{MM}} = 0,01$). Es wurde ein gelbes, viskoses Öl erhalten, das noch nicht alles Makromonomer aufgenommen hatte. Mehrere Tage auf dem Schüttler verbesserten das Ergebnis nicht, so dass der Kolben an einen langsamen Schwenker für 1400 Schwenkvorgänge innerhalb von 6 Tagen gehängt wurde, was eine gelbe, hochviskose Masse ergab, die für 10 Tage im Ölbad bei 56-58 °C reagierte. Bedingt durch die Temperaturerhöhung wurde die Masse zunächst weniger viskos, nach einigen Tagen im Ölbad erstarrte sie jedoch.

Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden auf den erstarrten Reaktionsansatz 12 mL Chloroform gegeben, wodurch eine viskose Lösung erhalten wird. Diese wird auf 10 Gewichtsprozent Makromonomer/Polymakromonomer mit Chloroform verdünnt und aus ca. 1 L Diethylether gefällt, wodurch ein weißer Feststoff erhalten wird. Zur Abtrennung des Makromonomers wird der Feststoff in einen Spitzkolben gegeben, mit ca. 70 mL destilliertem THF überschichtet und 24 Stunden auf den Schüttler gestellt. Es wird dabei ein Gel mit überstehender hellgelber Lösung erhalten. Die THF-Lösung wird entnommen und der Extraktionsvorgang noch zweimal wiederholt. Durch Zugabe von ca. 20 mL Chloroform wird das Gel gelöst und die Lösung aus ca. 500 mL Diethylether gefällt. Nach dem Trocknen an der Luft werden 1,87 g eines weißen Pulvers erhalten.

$^1\text{H-MAS-NMR}$ (700 MHz, CDCl_3)

$\delta(\text{ppm}) = 2,4-4,4$ (m, CH_3 , NCH_2CH_2), 6,8-7,8 (m, H_{Ar})

Verseifung der Polymakromonomere mit Poly(N-benzoylethylenimin)-Seitenketten zu Polymakromonomeren mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten

In einer Apparatur bestehend aus 50 mL Rundkolben, Rückflusskühler und Hahn mit Olive werden 1,6683 g des zu verseifenden Polymakromonomers vorgelegt und entgast. Nach der Zugabe von 11 mL Wasser und 17 mL Salzsäure (37 %, $d = 1,18$) wird die erhaltene leicht gelbe Lösung mit weißem Feststoff dreimal entgast und anschließend unter Argonatmosphäre für 7 Tage bei 125°C Badtemperatur unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionsmischung gefriergetrocknet und der erhaltene Feststoff in 20 mL Wasser suspendiert, wobei sich eine gelbe Lösung und weißen Nadeln aus Benzoesäure bilden. Die weißen Nadeln werden abgesaugt und mit viel Wasser nachgewaschen. Die erhaltene wässrige Lösung des Produkts wird gefriergetrocknet, in 6,5 mL Wasser gelöst und anschließend in 150 mL konzentrierte, wässrige Ammoniaklösung unter Eiskühlung eingetroppt. Es wird dabei eine milchige Emulsion erhalten, die beim Stehen über Nacht bei Raumtemperatur in eine milchige und eine untere klare Phase phasensepariert. Die milchige Phase wird bei 5000 U/min für 30 Minuten zentrifugiert, wobei die klare Ammoniakphase dreimal ersetzt wird und schließlich eine weiße, glibberige Masse erhalten wird. Das Trocknen dieser Masse im Vakuumschrank für mehrere Tage ergibt einen tiefbraunen, harzartigen und sehr harten Feststoff. Aufgrund der basischen Aufarbeitung wird hierbei das Poly(ethylenimin) in der Form des freien Amins isoliert. Die Ausbeute an Feststoff betrug 821,1 mg (entspricht 150 % d. Th.).

Der Feststoff ist löslich in verdünnter Salzsäure, Methanol, Ethanol, 2-Propanol, 2-Butanol, Hexafluoroisopropanol und Formamid. Er ist unlöslich in: reinem Wasser, konzentrierter Salzsäure, Methylenchlorid, Chloroform, Acetonitril, THF und DMF.

^1H -MAS-NMR (700 MHz, D_2O)

$\delta(\text{ppm}) = 1,6$ (s, 1, NH), 2,8 (s, 4 CH_2)

Inductive Coupled Plasma Ionization Mass Spectrometry (ICP-MS):

5 mg des Feststoffs (inklusive gebundenen Wassers) werden in 5 mL verdünnter Salzsäure gelöst und um Faktor 117 mit Milli-Q-Wasser verdünnt. Mit Hilfe von ICP-MS wird die Konzentration folgender Elemente bestimmt:

Li7, Be9, Mg24, Al27, Si28, Ca44, Sc45, Ti48, V51, Cr52, Mn55, Fe56, Co59, Ni60, Cu63, Zn66, Ga69, Ge72, As75, Se82, Br79, Rb85, Sr88, Y89, Zr90, Zr91, Nb93, Mo95, Ru101, Rh103, Pd105, Ag107, Cd111, In115, Sn118, Sb121, Te125, I127, Cs133, Ba137, La139,

Anhang B

Ce140, Pr141, Nd146, Sm147, Eu153, Gd157, Tb159, Dy163, Ho165, Er166, Tm169, Yb172, Lu175, Hf178, Ta181, W182, Re185, Os189, Ir193, Pt195, Au197, Hg202, Tl205, Pb208, Bi209, Th232, U238.

Von den bestimmten Konzentrationen wird durch Subtraktion der Werte einer identisch hergestellten Blindprobe (5 mL verdünnte Salzsäure werden um Faktor 117 mit Milli-Q-Wasser verdünnt) die reale Konzentration der Elemente in dem PEI-Feststoff ermittelt.

Thermogravimetrische Analyse (TGA):

14,458 mg des Feststoffs durch TGA mit folgendem Temperaturprogramm untersucht: Temperieren für 7 min bei 30°C, Erwärmen von 30°C auf 100°C mit 10°C/min, Temperieren für 60 min bei 100°C und Erwärmen von 100°C auf 700°C mit 10°C/min.

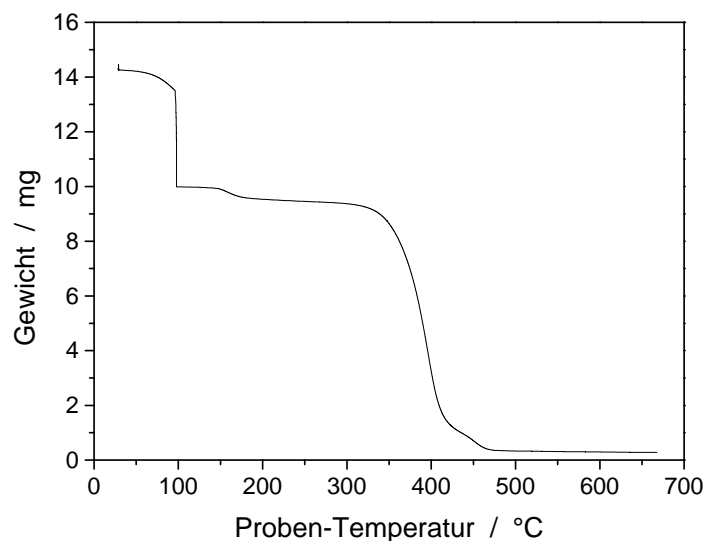


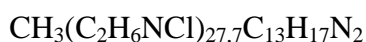
Abbildung 1: Gewicht der PEI-Bürste als Funktion der Temperatur, bestimmt durch TGA.

Abbildung 1 zeigt das Gewicht der Probe als Funktion der realen Proben-temperatur. Es zeigt sich, dass das Gewicht der Probe im Temperaturbereich 30°C-180°C von 14,458 mg auf 9,571 mg abnimmt (entspricht -33,8%). Aufgrund der wässrigen Aufarbeitung des Polymers ist davon auszugehen, dass der eingewogene Feststoff Wassermoleküle enthält, die durch das Erwärmen freigesetzt werden. Unter Berücksichtigung des Wasseranteils beträgt die Ausbeute obiger Hydrolyse 543,6 mg (entspricht 100% d. Th.).

Isolierung des Hydrochlorids der Polymakromomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten

135,2 mg des freien Amins (inklusive gebundenen Wassers) werden in ca. 10 %-iger Salzsäure gelöst, die Lösung mehrere Tage gerührt und schließlich gefriergetrocknet. Nach zweimaligem Wiederholen dieser Prozedur werden 154,5 mg eines weiß-braunen Pulvers erhalten. Dies entspricht unter der Annahme von 100%-iger Überführung in das Hydrochlorid und 33,8% Wassergehalt des freien Amins einer 100%-igen Ausbeute.

Elementaranalyse:



Berechnet C 34,1 H 7,7 N 17,3 Cl 40,9

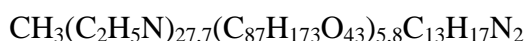
Gefunden C 33,5 H 7,7 N 16,4 Cl 40,1

Synthese von Polymakromomeren mit Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Seitenketten

105,2 mg der Polymakromomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten (freies Amin) werden in 7 mL Milli-Q-Wasser suspendiert und durch Zugabe von 0,5M Salzsäure (ca. 3 mL) bei pH 6 gelöst. Diese Lösung wird zu einer Lösung von 463,1 mg des NHS-Esters in 7 mL Milli-Q-Wasser gegeben. Die erhaltene Reaktionslösung wird durch Zugabe von ca. 1 mL 2 M Na-HEPES-Lösung in Milli-Q-Wasser auf pH 7,10 gebracht und anschließend für 2 Tage gerührt.

3 mL der Reaktionslösung werden 2 Wochen gegen reines Milli-Q-Wasser dialysiert (Membran: Spectra/Por RC, Regenerierte Zellulose, Float A Lyzer, MWCO 3500, Durchmesser 10 mm, Volumen 3 mL). Durch Gefriertrocknung werden 11,0 mg eines teils braunen, teils weißen Pulvers erhalten, welches in Wasser, Chloroform und DMF vollständig löslich ist.

Elementaranalyse:



Berechnet C 55,2 H 9,3 N 3,4 O 32,0

Gefunden C 53,1 H 7,5 N 3,3 O 35,7

Anhang B

Synthese von Polymakromonomeren mit Poly(ethylenimin-co-N-isopropylethylenimin)-Seitenketten

118,7 mg der Polymakromonomere mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten (freies Amin, entspricht 78,6 mg PEI und 1,544 mmol EI-Einheiten) werden in 10 mL wässrigem 10 mM Natriumphosphat-Puffer (pH = 7,1) gelöst. Unter starkem Rühren werden 277 mg Isobuttersäurechlorid (entspricht 2,6 mmol) in 5 mL Tetrachlorkohlenstoff zugegeben und für 2 Stunden stark gerührt. Die Zugabe wird 2 Mal wiederholt, wobei nach der dritten Zugabe der Ansatz über Nacht gerührt wird. Insgesamt wurden somit 7,8 mmol Isobuttersäurechlorid eingesetzt.

3 mL der Reaktionslösung wurden durch Ultrafiltration mit Milli-Q-Wasser von Verunreinigungen befreit und durch Gefriertrocknung wurden 22,7 mg eines feinen weißen Pulvers isoliert (entspricht 41% d. Th.). Das Pulver ist vollständig löslich in Chloroform und Wasser.

Anhang C

Eigenschaften und Charakterisierung der für die Komplexierungen verwendeten Homopolymere

C.1 pUC19-supercoiled-DNA

Bei der in dieser Arbeit verwendeten DNA handelt es sich um pUC19-supercoiled(sc)-DNA, die als Plasmid-DNA in *Escherichia coli* Bakterien vorliegt. Sie wurde von ElimBiopharmaceuticals bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Der Gehalt an supercoiled-Spezies in der erhaltenen Lösung beträgt mehr als 90% (durch den Hersteller mit Hilfe von Gelelektrophorese an der erhaltenen Lösung bestimmt, Ergebnisse der Gelelektrophorese lagen der Lieferung bei).

Die relevanten Eigenschaften der verwendeten pUC19-supercoiled-DNA sind in Tabelle C.1 zusammengefasst. Sie besitzt 2686 Basenpaare, ein Einzelstrang besteht aus 659 Adenin-, 684 Cytosin-, 677 Guanin- und 666 Thyminbasen. Unter Berücksichtigung der Basenpaarungen Adenin-Thymin und Guanin-Cytosin können die Molmasse des doppelsträngigen DNA-Moleküls (Gegenionen der DNA: Protonen) und die Molmasse pro Base bzw. pro Phosphordiester-Gruppe des DNA-Rückgrats berechnet werden. Die Konturlänge der pUC19-supercoiled-DNA wird unter der Annahme einer Konturlänge von 0,34 nm pro Basenpaar [Fish96] erhalten.

Verwendet wurde pUC19-supercoiled-DNA für folgende Komplexierungen:

- Komplexbildung von pUC19-sc-DNA in wässrigem 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 (Kapitel 3.2, 3.3 und 3.4)
- Komplexbildung von pUC19-sc-DNA in wässriger, 0,1 M Natronlauge (NaOH, pH 13) (Kapitel 3.5)

Die Charakterisierung der pUC19-supercoiled-DNA in wässriger Lösung ist in Tabelle 2 und Abbildung C.1-C.4 zusammengefasst. Für die Auswertung wurde ein Brechungsindexinkrement von 0,17 mL/g angenommen [Joll76, Fish96] und die Einwaagekonzentration auf Basis der DNA mit Protonen als Gegenionen verwendet. Da das

Anhang C

Brechungsindexinkrement der Gegenionen in erster Näherung gleich 0 ist, ist ein Gegenionenaustausch mit Natriumionen in der Lösung irrelevant für die gemessene Streuintensität (siehe Kapitel C.2). Das bedeutet, dass durch statische Lichtstreuung die Molmasse der vollständig protonierten DNA erhalten wird.

Die erhaltenen Molmassen der DNA (Tabelle 2) sind in erster Näherung konstant und entsprechen der theoretischen Molmasse. Die Radien der DNA zeigen eine starke Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung. Bei pH 13 sind die Radien besonders stark erniedrigt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Doppelhelix bei pH 13 zerstört wird und einzelsträngige DNA vorliegt. Da die pUC19-supercoiled-DNA jedoch ringförmig ist, entstehen bei Auflösung der doppelsträngigen DNA nicht zwei einzelne DNA-Polymere, sondern zwei ineinandergreifender Ringe aus DNA-Einzelsträngen. Aus diesem Grund bleibt die Molmasse konstant und entspricht der Molmasse der doppelsträngigen DNA.

Tabelle C.1: Eigenschaften der verwendeten pUC19-supercoiled-DNA

Anzahl Basenpaare	Molmasse	Molmasse pro Base	Konturlänge
2686	$1,66 \cdot 10^6$ g/mol	309,0 g/mol	913,2 nm

Tabelle C.2: Ergebnisse der Charakterisierung von pUC19-supercoiled-DNA in wässriger Lösung mit statischer und dynamischer Lichtstreuung

Salz	pH-Wert	M_w / g/mol	A_2 / mol mL/g ²	$\langle R_g^2 \rangle_z^{0,5}$ / nm	$\langle R_h^{-1} \rangle_z^{-1}$ / nm	$\langle R_g^2 \rangle_z^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_z^{-1}$
5 mM Natriumphosphatpuffer	7,0	$1,66 \cdot 10^6$	$6,7 \cdot 10^{-4}$	65,6	43,1	1,5
0,1 M NaOH	13,0	$1,76 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^{-4}$	33,1	26,8	1,2

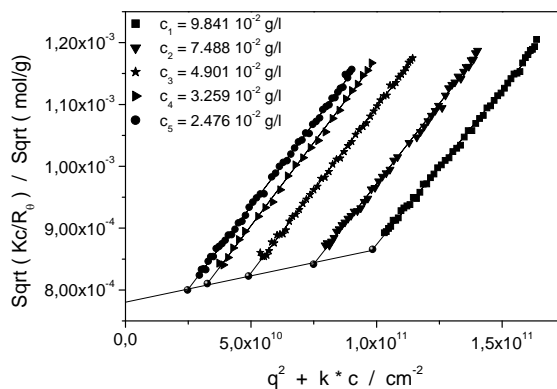


Abbildung C.1: Statischer Zimm-Plot in 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7

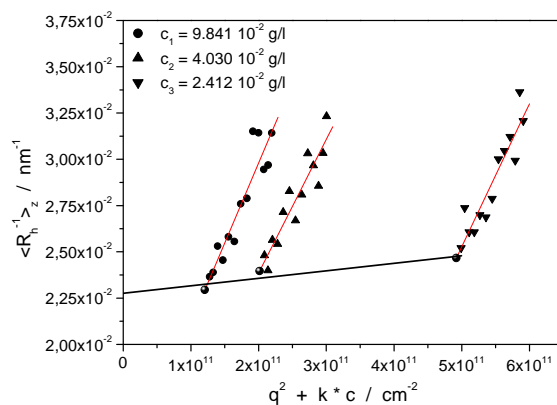


Abbildung C.2: Dynamischer Zimm-Plot in 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7

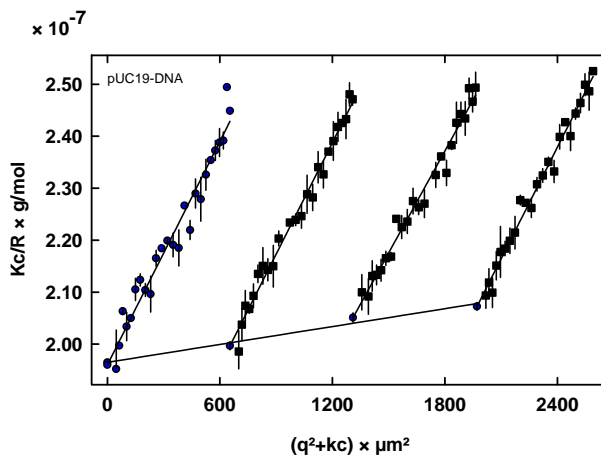


Abbildung C.3: Statischer Zimm-Plot in 0,1 M Natriumhydroxid (aq)

Anhang C

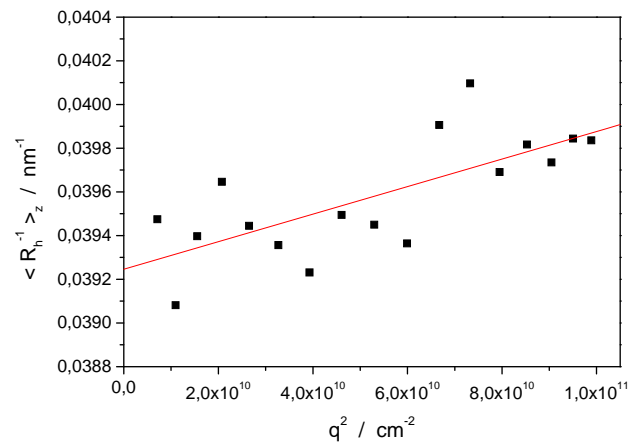


Abbildung C.4a: Extrapolation des inversen hydrodynamischen Radius auf $q = 0$ für $c = 3,27 \cdot 10^{-5} \text{ g/mL}$ in 0,1 M Natriumhydroxid (aq).

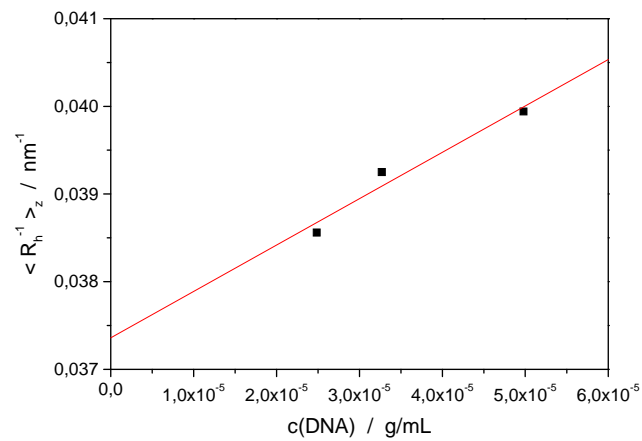


Abbildung C.4b: Extrapolation der inversen hydrodynamischen Radien in 0,1 M Natriumhydroxid (aq) auf $c = 0$.

C.2 Anmerkungen zur Bestimmung der Molmasse von Polykationen in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

Werden die Polykationen PEI, PVP26 und PVP47 in Natriumphosphat-Puffer gelöst, so entsprechen die im Feststoff gebundenen Gegenionen der Polykationen (Chlorid bzw. Bromid), nicht den im Lösungsmittel vorhandenen Anionen des niedermolekularen Salzes (Phosphat-Anionen). Aus diesem Grund findet beim Lösen der Polykationen im Puffer ein Gegenionenaustausch statt, in erster Näherung entsprechend der molaren Verhältnisse der konkurrierenden Anionen.

In einem großen Überschuss von Phosphat-Ionen ist ein vollständiger Gegenionenaustausch zugunsten der Phosphat-Gegenionen zu erwarten. Bei dem hier verwendeten pH-Wert von 7 liegen die Phosphat-Anionen des Natriumphosphat-Puffers in zwei Protonierungszuständen vor: als einwertiges Dihydrogenphosphat ($\text{H}_2\text{PO}_4^{1-}$) und als zweiwertiges Monohydrogenphosphat ($\text{H}_1\text{PO}_4^{2-}$). Das molare Verhältnis der beiden Phosphationen bei pH 7 beträgt 1:1. Für die in den folgenden Kapiteln durchgeführten Berechnungen wird deshalb für einen vollständigen Gegenionenaustausch im Natriumphosphat-Puffer angenommen, dass jeweils die Hälfte der Ladungen des Polykations von den beiden Phosphatspezies abgesättigt werden.

Im Fall der protonierten DNA führt das Lösen im Natriumphosphat-Puffer zum vollständigen Gegenionenaustausch der Protonen mit Natriumkationen. Dieser Gegenionenaustausch ist aber vernachlässigbar, da für beide Kationen in erster Näherung $dn/dc \sim 0$ angenommen werden kann. Die Absolutstreuintensität

$$R(\theta) = K \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 c M$$

ändert sich für diesen Gegenionenaustausch nicht, da sich der Brechungsindex der streuenden Spezies nicht verändert (die Molmasse und Massenkonzentration der streuenden Spezies ändern sich bei dem Gegenionenaustausch um den identischen Faktor):

$$\Delta R(\theta) = \Delta \left\{ \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 c M \right\} = \frac{\Delta n^2}{\Delta c^2} * \Delta c * \Delta M = \Delta n^2 = 0.$$

Aufgrund ihrer nicht zu vernachlässigenden Polarisierbarkeit tragen hingegen Anionen zum Brechungsindexinkrement und folglich zur gemessenen Absolutstreuintensität einer

streuenden Polymerspezies bei (siehe Abschätzung der Brechungsindexinkremente von Salzsäure und Phosphorsäure in Kapitel C.3). Unterscheiden sich die konkurrierenden Gegenionen hinsichtlich ihres Brechungsindex, so ändert sich die gemessene Absolutstreuintensität als Funktion des Gegenionenaustauschs nach obiger Formel.

Formal muss somit bei der Auswertung der Lichtstreuung und der Messung des Brechungsindexinkrements die reale Konzentration der streuenden Spezies verwendet werden, d.h. die Auswertung muss unter der Annahme durchgeführt werden, dass die Probe nach dem Gegenionenaustausch eingewogen wurde. Nur in diesem Fall wird die reale Molmasse der streuenden Spezies bestimmt.

C.3 Charakterisierung der Poly(ethylenimin)-Bürste

Die Bürste mit Poly(ethylenimin)-Seitenketten (PEI-Bürste), deren Synthese Gegenstand von Kapitel 2 ist, wurde für folgende Komplexierungsexperimente verwendet:

- Komplexbildung mit pUC19-sc-DNA in wässrigem 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 (Kapitel 3.2 und 3.3)

Gegenstand dieses Abschnitts sind die Beschreibung der für die Komplexierung relevanten Eigenschaften der PEI-Bürste und die Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer. Da für alle in Kapitel 3 durchgeführten Experimente das vollständige Hydrochlorid der PEI-Bürste eingewogen wurde, werden alle diskutierten Berechnungen auf dieser Basis durchgeführt. Die hierzu benötigten Ergebnisse der Synthese aus Kapitel 2 sind:

1. Synthese von Makromonomeren durch kationisch-ringöffnende Polymerisation von -Phenyloxazolin und Endgruppenfunktionalisierung mit N-(4-Vinylbenzyl)piperazin ($M_n = 4290$ g/mol, $P_n=27,7$, $PD=1,04$)
2. Polymerisation dieser Makromonomere ($M_w = 1,47 \cdot 10^6$ g/mol, $PD = 2,7$)
3. Verseifung zum Poly(ethylenimin) (Umsatz der Hydrolyse, bestimmt durch Elementaranalyse, NMR und Ausbeute: 100 %)

C.3.1 Berechnungen auf Basis der Makromonomere

Die hypothetischen, vollständig mit HCl protonierten Poly(ethylenimin)-Makromonomere dienen als Bezugssystem für die Berechnung der Molmasse als Funktion des Protonierungsgrads, der Masse pro Ladung und des Gegenionenaustausch in Natriumphosphat-Puffer (Tabelle C.3). Der Protonierungsgrad von Poly(ethylenimin) in Wasser ist abhängig vom pH-Wert, so dass, bedingt durch die Abspaltung bzw. Aufnahme von beispielsweise HCl, auch die Molmasse eine Funktion des pH-Werts darstellt. Für die Molmasse des hypothetischen Makromonomers als Funktion des Protonierungsgrad mit HCl gilt:

$$M = 1409,6 \text{ g/mol} + 27,7 \cdot p \cdot 36,46 \text{ g/mol}, \quad \text{mit } p: \text{Protonierungsgrad}$$

Unabhängig von der Polymertopologie und dem Polymerisationsgrad ist bei einem pH-Wert von 7 $p \sim 0,5$ und bei einem pH-Wert kleiner 1 $p=1$ [Smit93, Kope03, Bork97], woraus Molmassen der Makromonomere von 1915 g/mol ($p=0,5$) bzw. 2420 g/mol ($p=1$) folgen.

Der Gewichtsanteil Chlorid, bezogen auf die Molmassen der hypothetischen Makromonomere mit dem entsprechenden Protonierungsgrad, beträgt 0,406 ($p=1$) bzw. 0,256 ($p=0,5$). Durch Lösen in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) und vollständigen Gegenionenaustausch beträgt die Molmasse der Makromonomere mit Phosphat-Gegenionen 3446 g/mol ($p=1$) bzw. 2428 g/mol ($p=0,5$). Der Vergleich der Molmasse des vollständig mit HCl protonierten Makromonomers mit der des zu 50% protonierten und Phosphat-Gegenionen tragenden Makromonomers zeigt, dass beide Werte um 0,4% voneinander abweichen. Der Massenverlust durch HCl-Abspaltung wird durch den Gegenionenaustausch mit den schwereren Phosphationen gerade kompensiert. Die Molmasse und die durch Einwaage bestimmte Massenkonzentration der vollständig mit HCl protonierten PEI-Bürste

Tabelle C.3: Masse pro Ladung der PEI Bürste, Bezugssystem ist das hypothetische, vollständig mit HCl protonierte Makromonomer

pH-Wert	p	Molmasse des Bezugssystems	Anzahl protonierter Amin-Gruppen	Molmasse pro protonierter Amin-Gruppe
1	1	2420 g/mol	27,7	87,3 g/mol
7	0,5	2420 g/mol	13,9	174,5 g/mol

bleiben somit unverändert, wenn in 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 Deprotonierung und Gegenionenaustausch mit Phosphat-Ionen stattfinden.

C.3.2 Verwendete Brechungsindexinkremente – Literaturübersicht:

Brechungsindexinkrement von PEI in wässriger NaCl in der Literatur:

Für das Brechungsindexinkrement von linearem PEI in wässriger 1M NaCl haben Smits et al. [Smit93] einen Wert von $0,20 \pm 0,01$ mL/g ($\lambda=632,8$ nm) bestimmt. Park et al. [Park96] haben für verzweigtes PEI in 1M NaCl mit $0,195$ mL/g ($\lambda=632,8$ nm, $T=35^\circ\text{C}$) im Rahmen des Fehlers den gleichen Wert erhalten.

Brechungsindexinkrement von HCl in der Literatur:

Elsay et al. [Else23] bestimmten den Brechungsindex von HCl in Wasser bei 25°C und unter Verwendung von Natriumlicht. Aus den angegebenen Daten kann die in Abbildung C.5 gezeigte Auftragung erstellt werden. Der Anfangsbereich (bis 46 g HCl pro kg Lösung, entspricht 1,3 M HCl) kann wie gezeigt linear extrapoliert werden und es wird folgende Geradengleichung erhalten:

$$n_D = 1,3325 + c(\text{HCl}) * 0,203384 * 10^{-3} \text{ L / g}$$

Das dn/dc von HCl in Wasser beträgt somit $0,203$ mL/g und ist dem von PEI in wässriger NaCl identisch. Daraus folgt in erster Näherung, dass das Brechungsindexinkrement von PEI in wässriger NaCl unabhängig vom Protonierungsgrad mit HCl ist.

Brechungsindexinkrement von Phosphorsäure in der Literatur:

Die Abhängigkeit des Brechungsindex wässriger Phosphorsäure als Funktion des Gewichtsbruchs bei 25°C und $\lambda=546$ nm wird von Edwards et al. [Edwa64] durch folgende Reihenentwicklung beschrieben:

$$n_D = 1,333977 + w(\text{H}_3\text{PO}_4)^{0,5} * 0,001999 + w(\text{H}_3\text{PO}_4) * 0,07155 + w(\text{H}_3\text{PO}_4)^{1,5} * 0,0868841 \\ - w(\text{H}_3\text{PO}_4)^2 * 0,2375104 + w(\text{H}_3\text{PO}_4)^{2,5} * 0,3625678 - w(\text{H}_3\text{PO}_4)^3 * 0,166996$$

Mit Hilfe des Tabellenwerks „Lab Tools“ [LabT06] kann aus dem Gewichtsbruch direkt die Massenkonzentration berechnet und der Brechungsindex gegen c aufgetragen werden (Abb. C.6). Der Anfangsbereich (bis 0,5 mol/L) kann wie gezeigt linear extrapoliert werden und es wird folgende Geradengleichung erhalten:

$$n_D = 1,33409 + c(H_3PO_4) * 0,0873 * 10^{-3} \text{ L/g}$$

Das dn/dc von Phosphorsäure in Wasser im Bereich kleiner molarer Konzentrationen beträgt somit 0,09 mL/g.

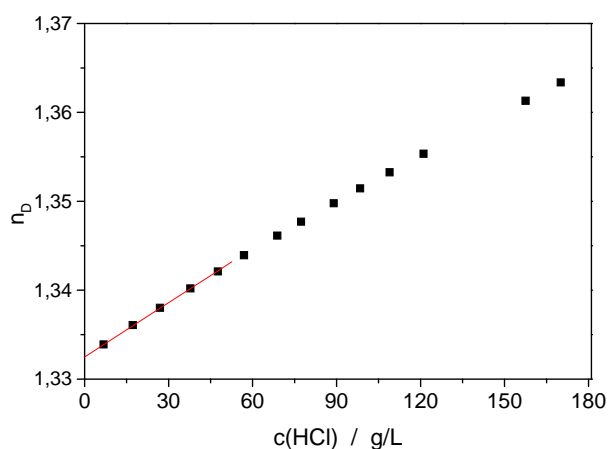


Abbildung C.5: Brechungsindex wässriger HCl bei 25°C als Funktion der HCl-Konzentration.

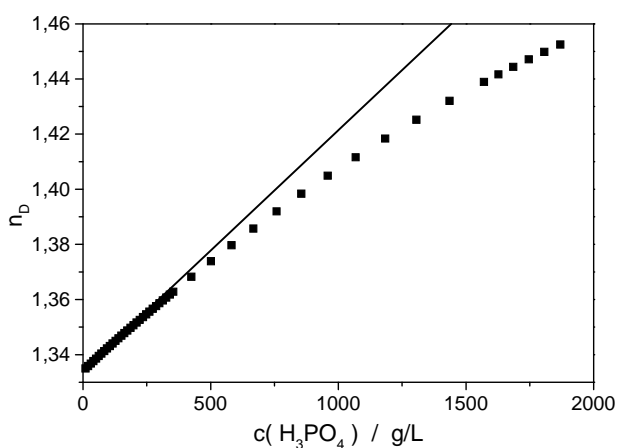


Abbildung C.6 : Brechungsindex wässriger H₃PO₄ bei 25°C als Funktion der Konzentration.

C.3.3 Charakterisierung in 0,1M HCl (siehe Kapitel 2):

Für die Bestimmung des Molekulargewichts wird die Lichtstreuung an der PEI-Bürste bei pH 1 durchgeführt, da unter diesen Bedingungen wie oben beschrieben der Protonierungsgrad gleich 1 ist und die Polymerkonzentration in Lösung der Einwaagekonzentration entspricht. Zudem ist für diese Bedingungen das Brechungsindexinkrement in der Literatur beschrieben [Smit93]. Die Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung sind in Abbildung C.7 und C.8 dargestellt und in Tabelle C.4 zusammengefasst.

Die zu $1,19 \cdot 10^6$ g/mol bestimmte Molmasse der Poly(ethylenimin)-Bürste ist um 40% höher als theoretisch erwartet. Berechnet man die Molmasse der vollständig hydrolysierten und mit HCl protonierten Poly(ethylenimin) Bürste aus der Molmasse der geschützten Vorstufe, so wird eine theoretische Molmasse von $8,28 \cdot 10^5$ g/mol erhalten. Im Vergleich zur geschützten Bürste nehmen zudem R_g von 26,7 nm auf 46,8 nm und R_h von 18,6 nm auf 26,5 nm zu. Beobachtet man die Molmasse und die Radien als Funktion der Zeit, so nehmen diese langsam und kontinuierlich ab. Dies bedeutet, dass die Poly(ethylenimin)-Bürsten in wässriger Lösung aggregieren. Dass diese Aggregation physikalischer Natur und reversibel ist, wird in Kapitel 2 diskutiert. Für die DNA-Komplexierung werden aus diesem Grund stets frisch angesetzte Lösungen der PEI-Bürsten verwendet, um einen einheitlichen Aggregationsgrad zu garantieren.

C.3.4 Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7):

Die Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) sind in Abbildung C.9 und C.10 dargestellt und in Tabelle C.4 zusammengefasst. Die Molmasse ist gegenüber der in 0,1M HCl bestimmten Molmasse signifikant erniedrigt. R_g und R_h zeigen jedoch keine signifikanten Änderungen, so dass in erster Näherung angenommen werden kann, dass der Aggregationsgrad in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) dem in 0,1M HCl entspricht (siehe Kapitel 2). Da die Molmasse und die Einwaagekonzentration wie oben gezeigt unverändert bleiben, kann die Änderung der Molmasse auf eine Änderung des Brechungsindexinkrements durch Gegenionenaustausch zurückgeführt werden. Mit einem Wert von 0,18 mL/g für die Poly(ethylenimin)-Bürsten mit Phosphat-Gegenionen in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) wird die in 0,1M HCl bestimmte Molmasse erhalten. Dass das Brechungsindexinkrement durch den Gegenionenaustausch von Chlorid zu Phosphat signifikant abnehmen muss, ergibt sich aus den in Abschnitt 3.2 errechneten Werten von

Salzsäure und Phosphorsäure, wie folgende Abschätzung des Brechungsindexinkrements zeigt:

$$dn/dc = \frac{1409,6}{2428} * 0,20 \text{ mL/g} + \frac{(2428 - 1409,6)}{2428} * 0,09 \text{ mL/g} = 0,154 \text{ mL/g}$$

Diese Abschätzung zeigt den richtigen Trend, weist jedoch eine Abweichung von 0,025 mL/g auf. Für die Streuexperimente an den Komplexlösungen in Kapitel 3 wird das zu 0,18 mL/g abgeschätzte Brechungsindexinkrement verwendet.

C.3.5 Bestimmung des Ladungsgrades in 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7

Da das Brechungsindexinkrement von PEI nicht vom Protonierungsgrad mit HCl abhängt, kann aus der gemessenen apparenten Molmasse (als Einwaagekonzentration und Bezugsmolmasse wird das vollständige Hydrochlorid verwendet) der Protonierungsgrad nach folgender Formel berechnet werden:

$$\frac{M_{w, \text{gemessen}}}{M_{w, 100\% \text{ HCl}}} = \left(\frac{1409,6 + 27,7 * p * 36,46}{2419,7} \right)^2$$

Zu diesem Zweck wurde durch Zugabe einer hochkonzentrierten NaCl-Lösung zu einer Lösung der PEI-Bürsten in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) der NaCl-Gehalt auf 1 mol/L eingestellt. Für die Referenzmessung wurde parallel in einer zweiten Küvette durch HCl-Zugabe der pH-Wert auf 1 eingestellt. Da die verwendeten Lösungen bereits zu einem frühen Zeitpunkt hergestellt wurden, stimmen die Molmassen nicht mit den oben beschriebenen Messungen überein, die an frisch hergestellten Lösungen durchgeführt wurden.

Die gemessenen Molmassen bei identischer Polymerkonzentration (auf konzentrationsabhängige Messungen wurde für diese Abschätzung verzichtet) sind in Tabelle C.5 zusammengefasst. Daraus ergibt sich ein Protonierungsgrad in dem verwendeten 5 mM Natriumphosphat-Puffer von 0,51, was dem anhand von Literaturdaten abgeschätzten Wert entspricht.

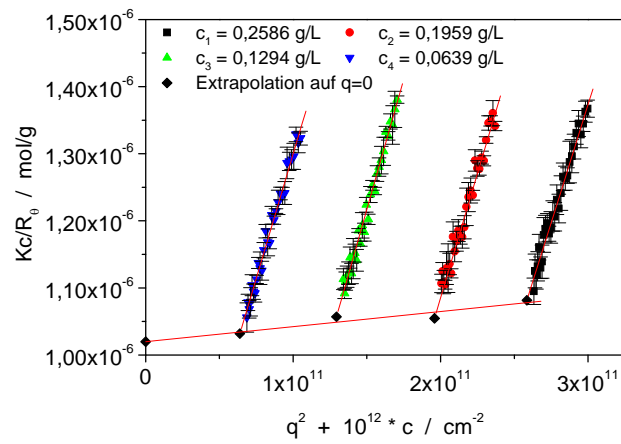


Abbildung C.7: Statischer Zimm-Plot in 0,1M HCl

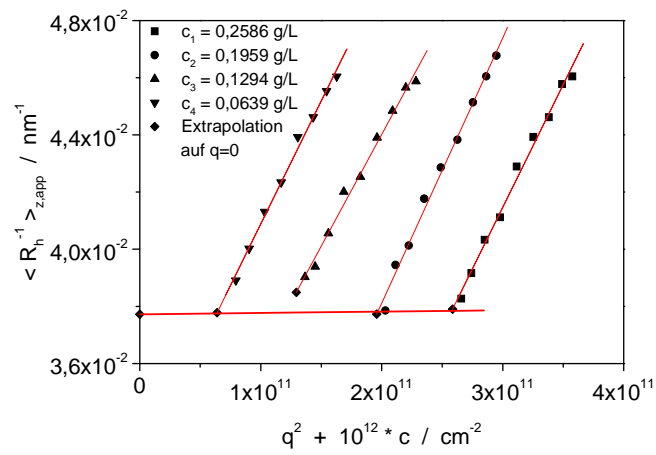


Abbildung C.8: Dynamischer Zimm-Plot in 0,1M HCl

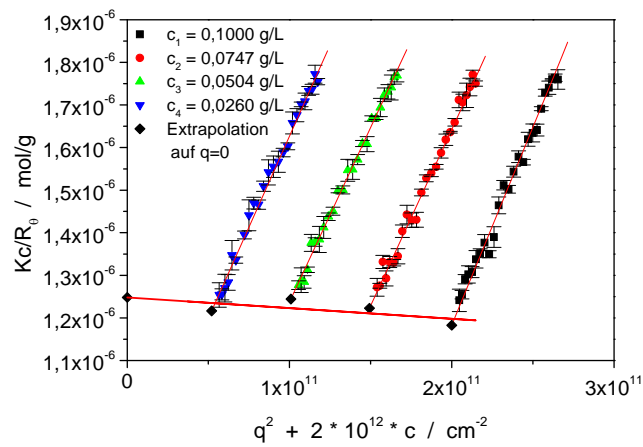


Abbildung C.9: Statischer Zimm-Plot in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

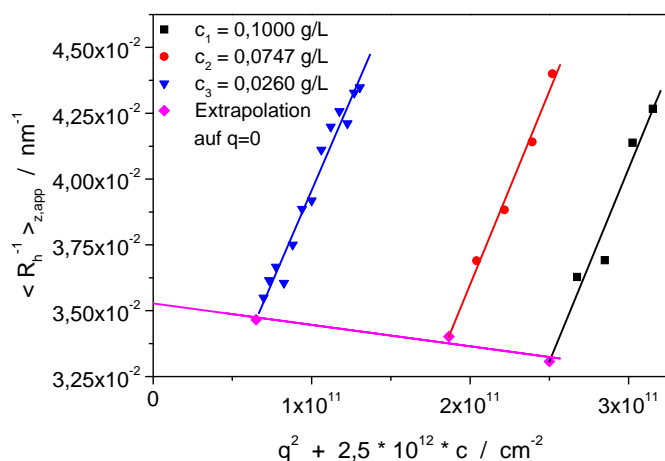


Abbildung C.10: Dynamischer Zimm-Plot in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

Tabelle C.4: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung in wässriger Lösung

Salz	dn/dc / mL/g	M_w / g/mol	A_2 / mol*mL/g ²	R_g / nm	R_h / nm	R_g/R_h
0,1 M HCl	0,20	$1,19 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	46,8	26,5	1,76
5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)	0,20	$9,69 \cdot 10^5$	$(-2,0 \pm 3,0) \cdot 10^{-4}$	46,0	28,8	1,60
	0,1807	$1,19 \cdot 10^6$	$(-1,7 \pm 3,0) \cdot 10^{-4}$			

Tabelle C.5: Abschätzung des Protonierungsgrads aus der statischen Lichtstreuung

Salz	M_w / g/mol	Protonierungsgrad
0,1 M HCl / 1M NaCl	$8,48 \cdot 10^5$	1
5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) / 1M NaCl	$5,35 \cdot 10^5$	0,51

C.4 Charakterisierung der PVP26-Bürste

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die PVP26-Bürste für folgende Komplexierungsexperimente verwendet:

- Komplexbildung mit pUC19-sc-DNA in wässrigem 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 (Kapitel 3.2, 3.3 und 3.4)
- Komplexbildung mit pUC19-sc-DNA in wässriger, 0,1M Natronlauge (NaOH, pH 13) (Kapitel 3.5)

Die Synthese PVP26-Bürste wurde von Tim-Stephan (Schritt 1 und 2) [Step02] und Sabrina Duschner (Schritt 3) [Dusc07] im Rahmen ihrer Doktorarbeiten durchgeführt:

1. Synthese von Makromonomeren durch anionische Polymerisation von 2-Vinylpyridin und Endgruppenfunktionalisierung mit MMA ($M_n = 2848$ g/mol, $P_n=25,5$, $PD=1,06$)
2. Polymerisation dieser Makromonomere ($PD = 5,3$)
3. Quaternisierung mit Ethylbromid (Quaternisierungsgrad durch EA: 47,4 %)

C.4.1 Charakterisierung in Wasser mit 10 mM Natriumbromid im Dialyse-Gleichgewicht

Zur Bestimmung der Absolutmolmasse der verwendeten PVP26-Bürste wurden Lichtstreuung und Bestimmung des Brechungsindexinkrements in Wasser mit 10 mM NaBr im Dialyse-Gleichgewicht durchgeführt. Hierzu wurde eine möglichst große Menge (~60 mg) der PVP26-Bürste in 10 mM NaBr Lösung (aq) gelöst. Ein Teil dieser Lösung wurde für eine UV-Kalibrierung zur Bestimmung der Konzentration nach Dialyse zurückbehalten, der Rest für mehrere Wochen gegen einen großen Überschuss Wasser mit 10 mM NaBr dialysiert.

Nach der Dialyse wurden an der dialysierten Polymerlösung das Brechungsindexinkrement sowie statische und dynamische Lichtstreuung gemessen, wobei die Verdünnung stets mit dem letzten Dialysat erfolgte. Die Konzentration aller Lösungen wurde nach der durchgeführten Messung mittels UV bestimmt.

Abbildung C.11 zeigt das Streuverhalten der PVP26-Bürste in 10mM NaBr. Aufgrund des großen Trägheitsradius wurden sowohl bei den statischen Streukurven als auch bei den Auftragungen des Diffusionskoeffizienten gegen q^2 die Anfangssteigungen ausgewertet. Für die Extrapolationen des Trägheitsradius und des hydrodynamischen Radius auf $c=0$ wurden

zusätzlich Lösungen geringerer Konzentration als die in Abbildung C.11 gezeigten verwendet. Da die Konzentration bei derart geringen Werten nicht mehr durch UV bestimmt werden kann, wurde in diesen Fällen aus der absoluten Streuintensität die Konzentration zurückgerechnet. Die Ergebnisse der durchgeführten Messungen sind in Tabelle C.6 zusammengefasst.

Tabelle C.6: Ergebnisse der Charakterisierung der PVP26-Bürste in Wasser mit 10 mM Natriumbromid im Dialyse-Gleichgewicht

dn/dc / mL/g	M_w / 10^6 g/mol	A_2 / mol*mL/g ²	R_g / nm	R_h / nm	R_g/R_h
0,1776	10,1	0	87,2	48,2	1,81

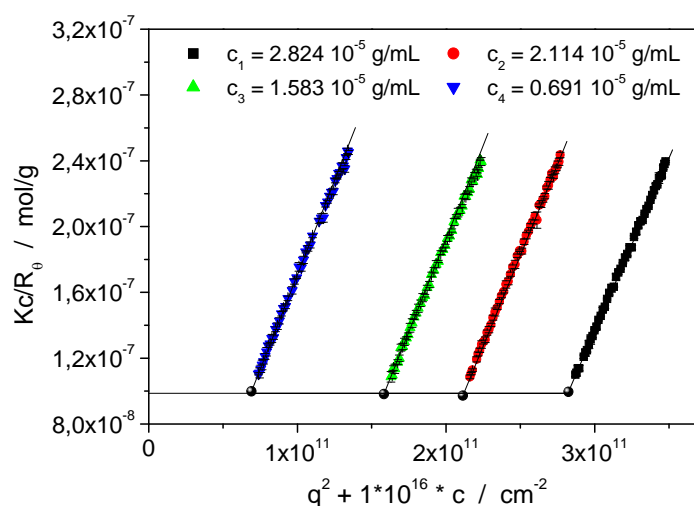


Abbildung C.11: SLS an PVP26 in 10mM NaBr (aq) im Dialyse-Gleichgewicht

C.4.2 Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

C.4.2.1 Berechnungen auf Basis des Makromonomers

Die Makromonomere dienen als Bezugssystem für die Berechnung der Masse pro Ladung und dem Einfluss von Gegenionenaustausch in Natriumphosphat-Puffer. Die Masse pro Ladung der Bürste wird mit Bromid-Gegenionen bestimmt, da diese der Einwaage entsprechen und somit die Stöchiometrie der DNA-Komplexe in Kapitel 3 bestimmen.

Anhang C

Zur Berechnung der Masse pro Ladung dient als Bezugssystem das hypothetische Makromonomer, welches mit Ethylbromid zu 47,4 % quaternisiert wurde. Es resultieren daraus die in Tabelle C.7 zusammengefassten Daten.

Der Gewichtsanteil Bromid in den hypothetischen Makromonomeren beträgt 0,232. Durch Lösen in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) und vollständigen Gegenionenaustausch beträgt die Molmasse des Makromonomers mit Phosphat-Gegenionen somit 4076 g/mol, woraus eine vernachlässigbare Molmassenänderung im Vergleich zum Makromonomer mit Bromid-Gegenionen von 2% folgt. Dies zeigt, dass die Molmasse der Bürste und die durch Einwaage der Bürste mit Bromid-Gegenionen bestimmte Massenkonzentration unverändert sind, wenn bei pH 7 ein Gegenionenaustausch mit Phosphat-Ionen stattfindet.

Tabelle C.7: Berechnung der Masse pro Ladung der PVP26-Bürste auf Basis der mit Ethylbromid quaternisierten Makromonomere

Molmasse vor Quaternisierung	Molmasse nach Quaternisierung	Anzahl quaternisierter 2-Vinylpyridingruppen	Molmasse pro quaternisierter 2-Vinylpyridingruppen
2848 g/mol	4164 g/mol	12,1	344,8 g/mol

C.4.2.2 Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

Das Streuverhalten der PVP26- Bürste in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) ist in Tabelle C.8 und Abbildung C.12 zusammengefasst, wobei wiederum die Anfangssteigungen ausgewertet wurden. Sowohl der Trägheitsradius als auch der hydrodynamische Radius sind in dem Puffer leicht erhöht, was durch die geringere Ionenstärke hervorgerufen werden kann. Eine Aggregation ist aufgrund der geringen Zunahme und des positiven A_2 auszuschließen. Die Auswertung der Molmasse zeigt, dass bei Verwendung des in 10mM NaBr-Lösung gemessenen Brechungsindexinkrements eine erhöhte Molmasse erhalten wird. Dies kann durch den oben beschriebenen Gegenionenaustausch im Natriumphosphat-Puffer hervorgerufen werden. Im Konzentrationsbereich der Lichtstreuung ($<0,1$ g/L) ist die molare Konzentration der Phosphat-Gegenionen bereits 10-fach höher als die der Bromid-Gegenionen, so dass in erster Näherung bereits für die höchste Polymerkonzentration von einem vollständigen Gegenionenaustausch ausgegangen werden kann.

Bei der Verwendung eines Brechungsindexinkrement von 0,1879 mL/g wird durch statische Lichtstreuung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) die identische Molmasse

erhalten wie in 10 mM NaBr-Lösung. Dieser Wert entspricht im Rahmen des Fehlers dem an PVP47 in 5 mM Natriumphosphat gemessenen Brechungsindexinkrement von 0,183 mL/g [Stör03], was die durchgeführte Abschätzung bestätigt.

Tabelle C.8: Ergebnisse der Charakterisierung der PVP26-Bürste in 5 mM Natriumphosphat-Puffer

dn/dc / mL/g	M_w / 10^6 g/mol	A_2 / mol*mL/g ²	R_g / nm	R_h / nm	R_g/R_h
0,1776	11,3	$1,5 * 10^{-5}$	94,7	51,5	1,84
0,1879	10,1	$1,7 * 10^{-5}$			

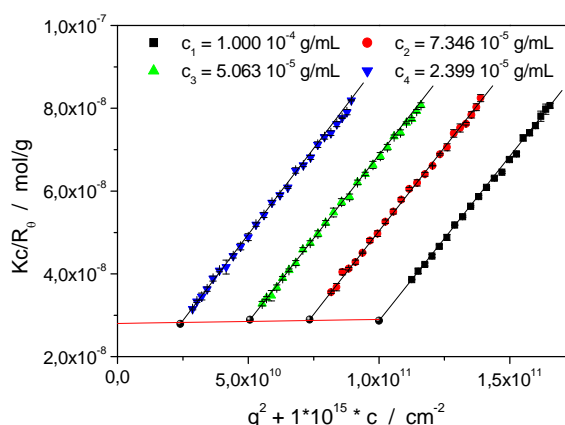


Abbildung C.12: SLS an PVP26 in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7). (dn/dc bei dieser Auftragung: 0,1 mL/g)

C.4.3 Charakterisierung in 0,1 M NaOH (pH 13)

Das Streuverhalten der PVP26-Bürste in 0,1 M NaOH (pH 13) ist in Tabelle C.9 und den Abbildung C.13 und C.14 zusammengefasst. Der 2. Virialkoeffizient ist in diesem Lösungsmittelsystem stark negativ, wie statische und dynamische Lichtstreuung übereinstimmend zeigen. Zudem ist die Molmasse stark erniedrigt: unter Verwendung des in 10 mM NaBr gemessenen Brechungsindexinkrements von 0,1776 mL/g wird in 0,1 M NaOH eine Molmasse von $M_w = 4,41 * 10^6$ g/mol erhalten, woraus eine Abnahme von 60 % gegenüber der Bürste bei neutralem pH-Wert resultiert. Dies geht einher mit einer starken Abnahme des Trägheitsradius und des hydrodynamischen Radius um übereinstimmend 30 %.

Die Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung legen nahe, dass ein Teil der Methacrylat-Endgruppen, die die Seitenketten mit dem Rückgrat der Bürste verbinden, durch die stark basischen Bedingungen gespalten wurden. Da das dn/dc nicht

Anhang C

experimentell bestimmt wurde, ist eine Quantifizierung dieser Seitenkettenabspaltung nicht möglich.

Tabelle C.9: Ergebnisse der Charakterisierung der PVP26-Bürste in 0,1 M NaOH

$M_w (dn/dc)^2 /$ $mL^2/(g \cdot mol)$	A_2	$R_g /$ nm	$R_h /$ nm	R_g/R_h
$1,39 \cdot 10^5$	< 0	61,6	32,8	1,88

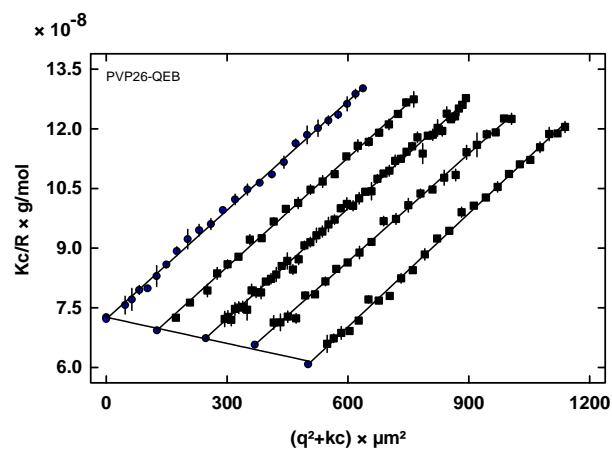


Abbildung C.13: SLS an PVP26 in 0,1 M NaOH.
(dn/dc bei dieser Auftragung: 0,1 mL/g).

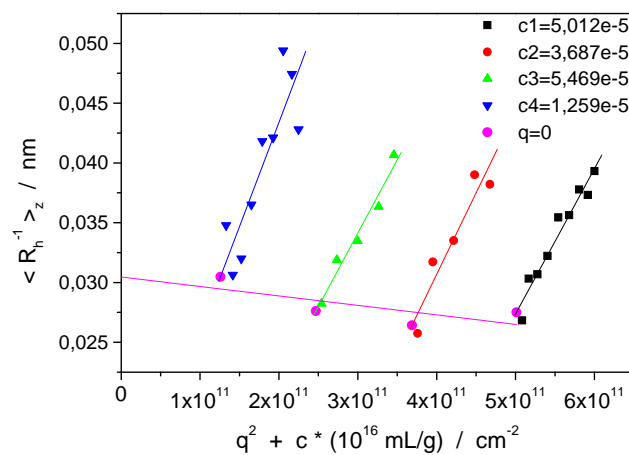


Abbildung C.14: DLS an PVP26 in 0,1 M NaOH.

C.5 Charakterisierung der PVP47-Bürste

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die PVP47-Bürste für folgende Komplexierungsexperimente verwendet:

- Komplexbildung mit pUC19-sc-DNA in wässrigem 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 (Kapitel 3.2 und 3.3)

Die PVP47-Bürste unterscheidet sich von der zuvor beschriebenen PVP26-Bürste hinsichtlich der Polymerisationsgrade von Haupt- und Seitenkette und dem Quaternisierungsgrad. Sie wurde von Tim Stephan [Step02] im Rahmen seiner Doktorarbeit synthetisiert:

1. Synthese von Makromonomeren durch anionische Polymerisation von 2-Vinylpyridin und Endgruppenfunktionalisierung mit MMA ($M_n = 5078$ g/mol, $P_n=46,7$, $PD=1,04$)
2. Polymerisation dieser Makromonomere ($PD = 3,9$)
3. Quaternisierung mit Ethylbromid (Quaternisierungsgrad durch EA: 56,1 %)

C.5.1 Berechnungen auf Basis der Makromonomere

Zur Berechnung der Masse pro Ladung dient als Bezugssystem das hypothetische Makromonomer, welches mit Ethylbromid zu 56,1 % quaternisiert wurde. Es resultieren daraus die in Tabelle C.10 zusammengefassten Daten. Der Gewichtsanteil Bromid in den hypothetischen Makromonomeren beträgt 0,264. Durch Lösen in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) und vollständigen Gegenionenaustausch beträgt die Molmasse des Makromonomers mit Phosphat-Gegenionen 7739 g/mol, woraus eine vernachlässigbare Molmassenänderung im Vergleich zum Makromonomer mit Bromid-Gegenionen von 3% folgt. Dies zeigt, dass die Molmasse der Bürste und die durch Einwaage der Bürste mit Bromid-Gegenionen bestimmte Massenkonzentration unverändert sind, wenn bei pH 7 ein Gegenionenaustausch mit Phosphat-Ionen stattfindet.

Tabelle C.10: Berechnung der Masse pro Ladung der PVP47-Bürste auf Basis der mit Ethylbromid quaternisierten Makromonomere

Molmasse vor Quaternisierung	Molmasse nach Quaternisierung	Anzahl quaternisierter 2-Vinylpyridingruppen	Molmasse pro quaternisierter 2-Vinylpyridingruppen
5078 g/mol	7933 g/mol	26,2	302,8 g/mol

C.5.2 Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

Das Streuverhalten der PVP47-Bürste in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) ist in Tabelle C.11 und den Abbildungen C.15 und C.16 zusammengefasst. Für die Auswertung wurde das an der PVP26-Bürste in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) abgeschätzte Brechungsindexinkrement von 0,188 mL/g verwendet. Dieser Wert entspricht im Rahmen des Fehlers dem an diesem System gemessenem Brechungsindexinkrement von 0,183 mL/g [Stör03]. Da der Unterschied zwischen beiden Werten vernachlässigbar ist, wurde vereinfachend für die Auswertung in Kapitel 3 ein einheitliches Brechungsindexinkrement beider PVP-Bürsten von 0,188 mL/g verwendet.

Tabelle C.11: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

dn/dc / mL/g	M_w / 10^6 g/mol	A_2 / mol*mL/g ²	R_g / nm	R_h / nm	R_g/R_h
0,1879	3,31	$1,3 \cdot 10^{-5}$	45,8	33,1	1,38

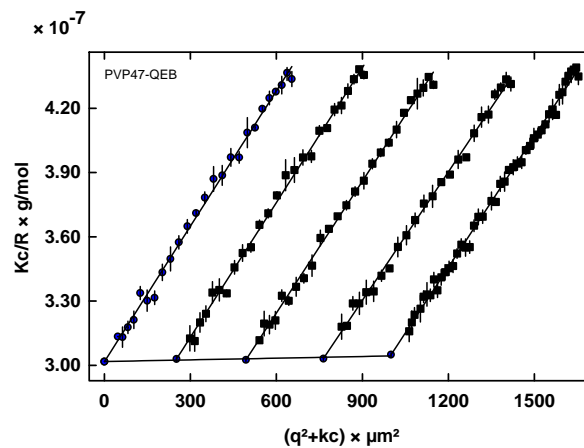


Abbildung C.15: SLS an PVP47 in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

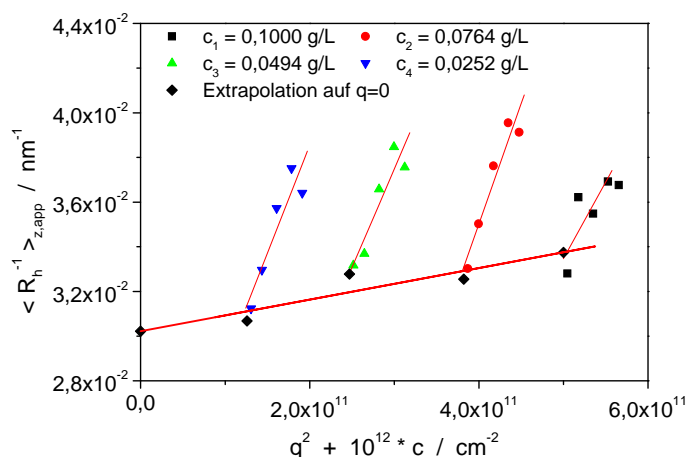


Abbildung C.16: DLS an PVP47 in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

C. 6 Charakterisierung der PAMAM-G5-Dendrimere

PAMAM-G5-Dendrimere wurden für folgende Komplexierungsexperimente verwendet:

- Komplexbildung mit pUC19-sc-DNA in wässrigem 5 mM Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 (Kapitel 3.2 und 3.3)
- Komplexbildung mit PSS-C12 (Kapitel 4.2)

Sie wurden von Dendritech (Midland, MI) hergestellt und über Sigma-Aldrich als ca. 5 %-ige Lösung in Methanol bezogen. Aufgrund der großen benötigten Menge an PAMAM-G5-Dendrimern mussten zwei Versandeinheiten bestellt werden, wobei zwei verschiedene Chargen (11430 TD und 13707 LD) erhalten wurden, die laut Zertifikat identisch sind.

C.6.1 Vergleich der beiden Chargen

Die Eigenschaften der beiden verwendeten Chargen wurden mit Hilfe von GPC-Messungen, durchgeführt wie in [Isla05] beschrieben, verglichen. Die experimentellen Parameter lauteten:

- Laufmittel:
0,1M Citronensäure + 0,025% Natriumazid in Wasser, mit 1M NaOH auf pH 2,74 eingestellt.

Anhang C

- Setup:
TosoHaas TSK-Säulen, Fluss 1mL/min, Temperatur 50°C, Injektion von 20 μ L.
- Proben:
methanolische Stammlösung mit Laufmittel verdünnt (13707 LD: 0,08669 c_0 , 11430 TD: 0,08145 c_0). Resultierende Konzentration ca. 4 mg/mL.

Die Eluogramme beider Chargen zeigen einen einzigen Peak, wobei keine Unterschiede zwischen den beiden Chargen festzustellen sind. Ein typisches Eluogram zeigt Abb. C.17, der direkte Vergleich der beiden Chargen ist in Abb. C.18 gezeigt und Tabelle C.12 zusammengefasst.

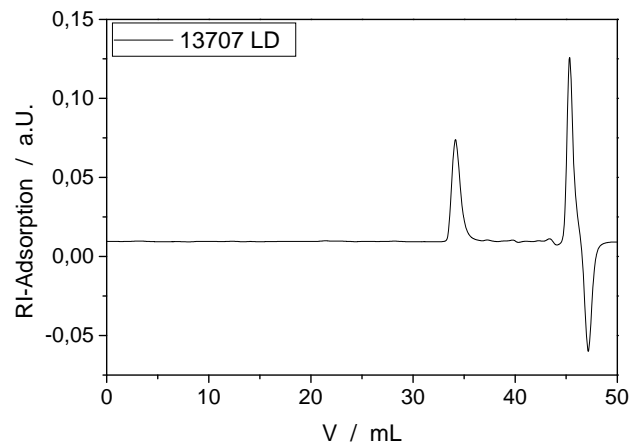


Abbildung C.17: Eluogram von Charge 13707 LD

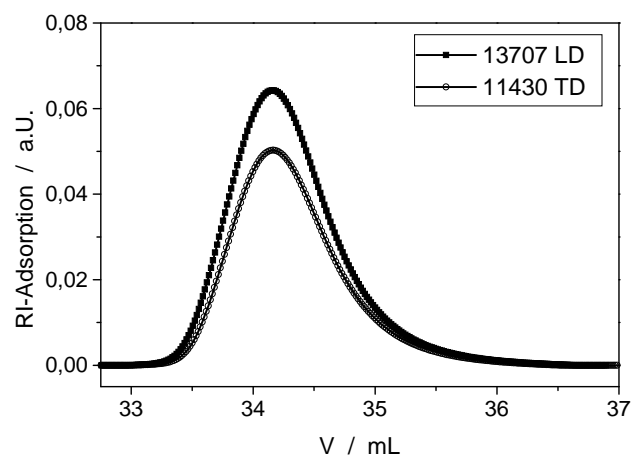


Abbildung C.18: Vergleich beider Chargen

Tabelle C.13: Statistische Auswertung der Peaks von jeweils 3 Einzelmessungen der beiden Chargen.

Probe	Area	Peak	Width	Height
11430 TD – 1	0,04536	34,1771	0,863	0,04586
11430 TD – 2	0,05475	34,1505	0,9129	0,05402
11430 TD – 3	0,05079	34,1636	0,9132	0,05028
Mittelwert	0,05030 +/- 0,00471	34,1637 +/- 0,0133	0,8964 +/- 0,0289	0,05005 +/- 0,00408
13707 LD – 1	0,06555	34,1606	0,896	0,06468
13707 LD – 2	0,06343	34,1424	0,9129	0,06264
13707 LD – 3	0,06555	34,1528	0,9137	0,06425
Mittelwert	0,06484 +/- 0,00122	34,1519 +/- 0,0091	0,9075 +/- 0,0100	0,06386 +/- 0,00108

Es zeigt sich, dass sowohl die Lagen der Peakmaxima als auch die Halbwertsbreiten beider Chargen identisch sind. Das heißt, dass beide Proben identische Molmassen und Polydispersitäten besitzen. Aus dem Vergleich der Peakflächen kann die relative Konzentration der beiden Stammlösungen bestimmt werden:

$$c(13707) / c(11430) = (1,21 \pm 0,12).$$

Für eine genaue Bestimmung der Massenkonzentration der erhaltenen Lösungen wurden die methanolischen Lösungen (200-500 mg) um das 40 bis 50 Fache mit reinem Milli-Q-Wasser verdünnt, gefriergetrocknet und anschließend im Exsikator über pulverisierter KOH und im Hochvakuum für mehrere Tage getrocknet. Dabei zeigte sich, dass bereits nach der Gefrierdrying kein Wasser mehr in den Proben enthalten war. Für die Berechnung der realen Massenkonzentration in Tabelle C.14 wurde berücksichtigt, dass das Dendrimer bei pH 7 zu 50% geladen ist und somit Wassermoleküle anlagert, auch wenn dieser Einfluss auf das Gesamtergebnis geringer als 10% ist.

Es zeigt sich, dass die Konzentration der erhaltenen Lösungen größer ist als vom Hersteller angegeben und zwischen den Proben variiert. Das Verhältnis der beiden Massenkonzentrationen beträgt $c(13707)/c(11430) = (1,13 \pm 0,11)$. Der Vergleich mit dem durch GPC zu $c(13707)/c(11430) = (1,21 \pm 0,12)$ ermittelten Konzentrationsverhältnis zeigt, dass im Rahmen des Fehlers identische Werte erhalten werden.

Tabelle C14: Konzentrationsbestimmung der Stammlösungen durch Gefriertrocknung

Method	Charge 13707 LD (02/06)	Charge 11430 TD (08/06)
Herstellerangabe	4,41 Gew.-%	4,41 Gew.-%
Gefriertrocknung aus reinem Wasser	(5,6 +/- 0,5) Gew.-%	(4,9 +/- 0,2) Gew.-%

C.6.2 Charakterisierung in Methanol

Für eine Absolutmolmassenbestimmung der verwendeten PAMAM-G5-Dendrimere wurde die Charge 11430 TD verwendet und dem Methanol 10 mM Lithiumbromid zugesetzt, um ein Polyelektrolytverhalten zu verhindern. Die durch Messung des Brechungsindexinkrements und durch Lichtstreuung erhaltenen Größen sind in Tabelle C.15 und Abbildung C.19-C.21 zusammengefasst. Die Korrelationsfunktionen aus der dynamischen Lichtstreuung wurden mit Hilfe eines Kumulaten-Fits ausgewertet.

Tabelle C.15: Zusammenfassung der Ergebnisse der Lichtstreuung in Methanol mit 10 mM LiBr.

dn/dc	M_w	A_2	$\langle R_h \rangle_z$	μ_2
0,2297 mL/g	28'000 g/mol	$5 \cdot 10^{-4} \text{ mol mL/g}^2$	3,37 nm	0,07

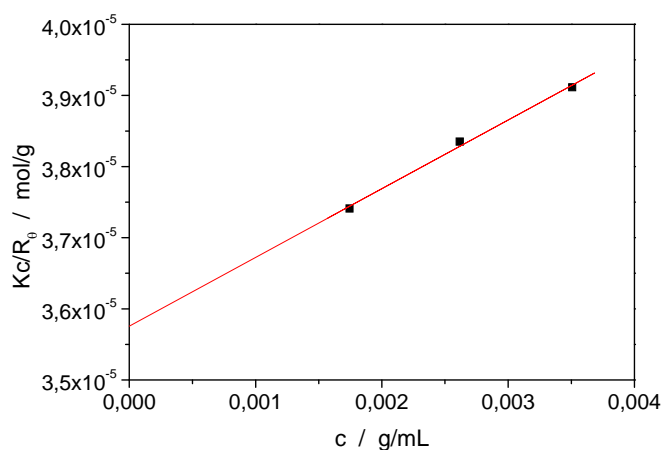


Abbildung C.19: SLS an PAMAM-G5-Dendrimeren in Methanol mit 10 mM LiBr.

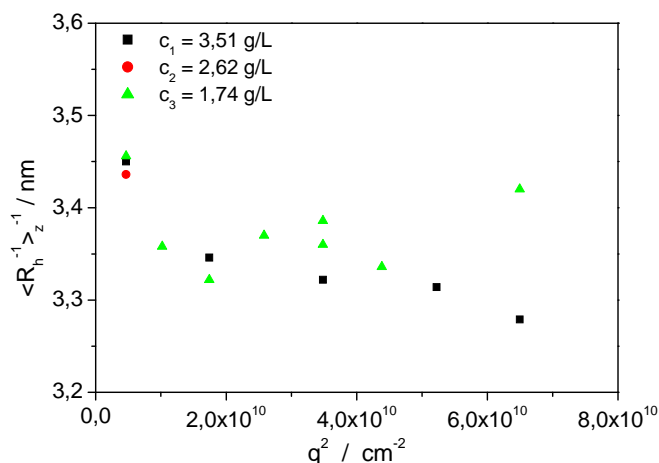


Abbildung C.20: DLS an PAMAM-G5-Dendrimern in Methanol mit 10 mM LiBr.

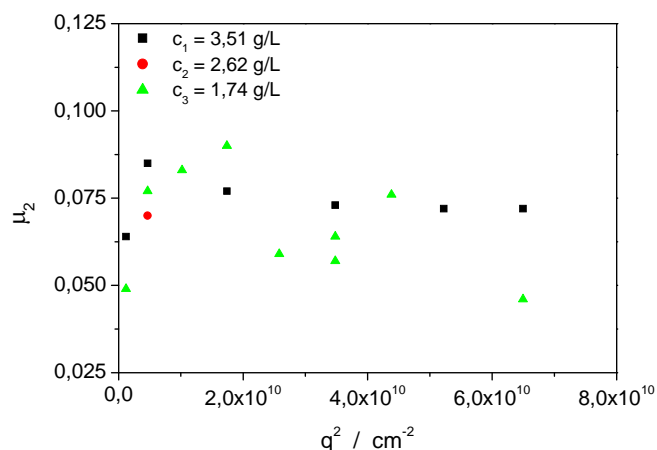


Abbildung C.21: Winkelabhängigkeit des 2. Kumulanten aus der DLS an PAMAM-G5-Dendrimern in Methanol mit 10 mM LiBr.

Die durch statische Lichtstreuung bestimmte Molmasse ist um 3% geringer als die theoretische Molmasse von 28824 g/mol und entspricht dieser somit innerhalb der Fehlergrenzen. Der gemessene hydrodynamische Radius beträgt 3,37 nm und ist somit gegenüber Literaturdaten [Topp99, Mait04] geringfügig erhöht. Die Bildung signifikanter Mengen Dimere kann aufgrund der Molmasse ausgeschlossen werden. Es ist vielmehr davon auszugehen, dass Verunreinigungen den erhöhten hydrodynamischen Radius hervorrufen.

C.6.3 Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7)

C.6.3.1. Berechnungen auf Basis des theoretischen Dendrimers

Als Bezugssystem für die folgenden Berechnungen dienen perfekte Dendrimere, die als freie Polyamine vorliegen. Dies wurde so gewählt, da die Konzentration des freienamins als Einwaagekonzentration für die Komplexierungsversuche in Kapitel 3 verwendet wurde. Die verwendeten PAMAM-G5-Dendrimere besitzen 128 primäre Amingruppen, welche synthesebedingt die Endgruppen auf der Kugelschale darstellen, und 126 tertiäre Amingruppen im Inneren bei einer theoretischen Molmasse von 28824 g/mol. Der Protonierungsgrad der Dendrimere in Wasser ist analog dem PEI vom pH-Wert abhängig und entspricht bei pH 7 ca. 50% [Mait05, Lee02]. PAMAM-G5-Dendrimere tragen folglich bei pH 7 127 protonierte Amin-Gruppen, weshalb die Molmasse pro protonierter Amin-Gruppe 227 g/mol beträgt (Tabelle C.16). Dient 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) als Lösungsmittel, so fungieren Phosphat-Ionen als Gegenionen und die theoretische Molmasse beträgt 38200 g/mol. Dies entspricht dem 1,33-fachen des ungeladenen Polyamins.

Tabelle C.16: Masse pro Ladung der PAMAM-Dendrimere, Bezugssystem ist freie Polyamin.

pH-Wert	p	Molmasse des Bezugssystems	Anzahl protonierter Amin-Gruppen	Molmasse pro protonierter Amin-Gruppe
7	0,5	28824 g/mol	127	227,0 g/mol

C.6.3.2 Statische und Dynamische Lichtstreuung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer(pH7)

Für die Charakterisierung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer wurde, wie auch für die Komplexierungen in Kapitel 3, die Charge 13707 LD verwendet. Da Wasser und Methanol isorefraktiv sind, kann in erster Näherung das in Methanol/LiBr gemessene Brechungsindexinkrement für wässrige Lösungen verwendet werden. Die durch Lichtstreuung erhaltenen Größen sind in Tabelle C.17 und Abbildung C.22-C.24 zusammengefasst.

Tabelle C.17: Zusammenfassung der Ergebnisse der Lichtstreuung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7).

angen. dn/dc	M_w	A_2	$\langle R_h \rangle_z$	μ_2
0,2297 mL/g	34'200 g/mol	$5 \cdot 10^{-3} \text{ mol mL/g}^2$	3,42 nm	0,12

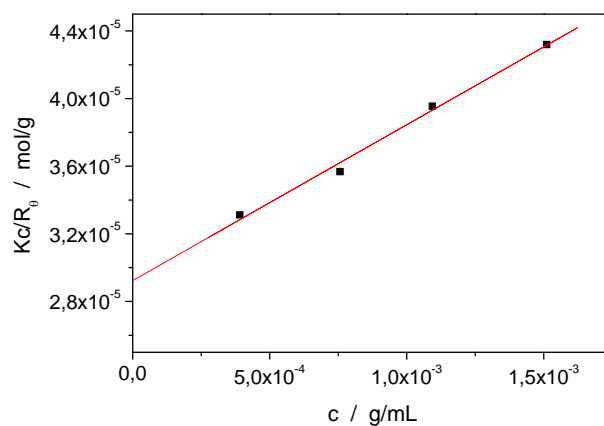


Abbildung C.22: SLS an PAMAM-G5-Dendrimeren in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7).

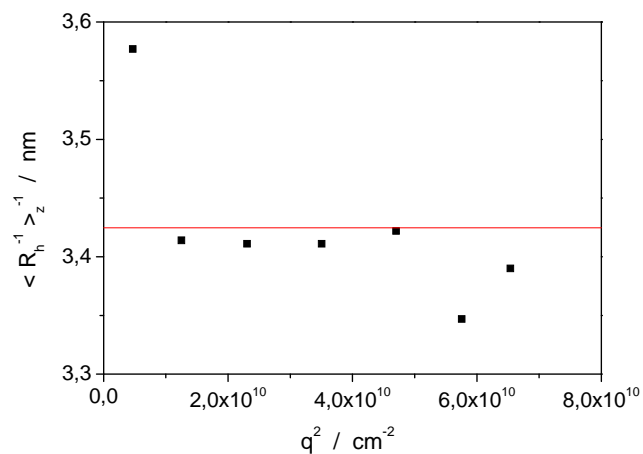


Abbildung C.23: DLS an PAMAM-G5-Dendrimeren in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7).

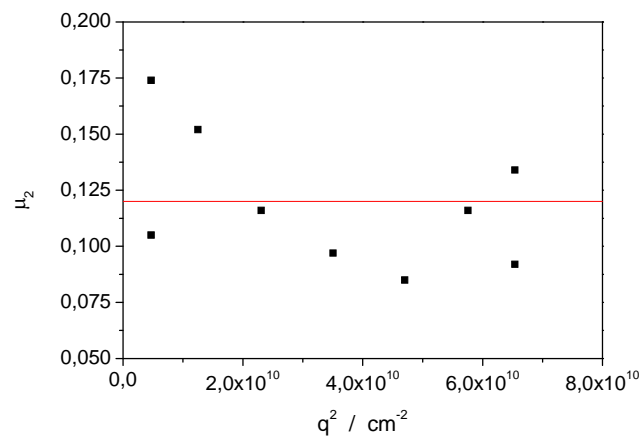


Abbildung C.24: Winkelabhängigkeit des 2. Kumulanten aus der DLS an PAMAM-G5-Dendrimern in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7).

Die gemessene Molmasse ist um Faktor 1,22 höher als der in Methanol ermittelte Wert, während der hydrodynamische Radius dem in Methanol entspricht, was eine signifikante Erhöhung der Molmasse durch Aggregation ausschließt.

Die Erhöhung der Molmasse in 5 mM Natriumphosphat-Puffer gegenüber Methanol kann damit erklärt werden, dass das PAMAM im Puffer zu 50% protoniert wird und Phosphat-Gegenionen trägt. Unter Berücksichtigung der um Faktor 1,33 erhöhten Konzentration des PAMAM mit Phosphat-Gegenionen verringert sich die Molmasse auf 25800 g/mol. Die noch bestehende Abweichung in Vergleich zur in Methanol ermittelten Molmasse ist darauf zurückzuführen, dass sich durch die Assoziation von Phosphat-Ionen das Brechungsindexinkrement des PAMAM verändert. Durch Vergleich der beiden Molmassen kann somit ein neues dn/dc für PAMAM in Phosphat-Puffer bestimmt werden:

$$dn/dc_{\text{experimentell}} = \sqrt{\frac{25800}{37100}} * 0,2297 = 0,192 \text{ ml/g}$$

Das dn/dc von Phosphorsäure beträgt wie in Kapitel C.3 gezeigt ca. 0,09 mL/g. Unter der Annahme additiver Brechungsindexinkremente beträgt das theoretische dn/dc für das zu 50% protonierte PAMAM mit Phosphat-Gegenionen:

$$dn/dc(\text{theoret.}) = \frac{38200 - 28824}{38200} * 0,09 + \frac{28824}{38200} * 0,2297 = 0,195 \text{ ml/g}$$

Es zeigt sich, dass beide Werte sehr gut übereinstimmen. Das Streuverhalten der PAMAM-G5-Dendrimer in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH7) kann somit verstanden werden, wenn es wie folgt ausgewertet wird:

- Das PAMAM liegt zu 50% protoniert vor.
- Als Gegenionen trägt das protonierte PAMAM H_2PO_4^- und HPO_4^{2-} Ionen im Verhältnis 1:1.
- Für die Auswertung wird die Massenkonzentration des protonierten PAMAM inklusive Gegenionen verwendet.

C.6.4 Charakterisierung in DMF

Nach Entfernen des Methanol im Rotationsverdampfer werden die Dendrimere bei 60°C in DMF gelöst, wodurch auch nach Abkühlen auf Raumtemperatur eine stabile Lösung des Dendrimers in DMF erhalten wird. Die Charakterisierung der PAMAM-G5-Dendrimere mit statischer und dynamischer Lichtstreuung bei 20°C in DMF/LiBr ist in Tabelle C.18 und Abbildung C.25-C.28 zusammengefasst. Der hydrodynamische Radius der Dendrimere in DMF entspricht den in Wasser und Methanol ermittelten Werten, so dass davon ausgegangen werden kann, dass das Dendrimer auch in DMF in Form von Einzelmolekülen vorliegt.

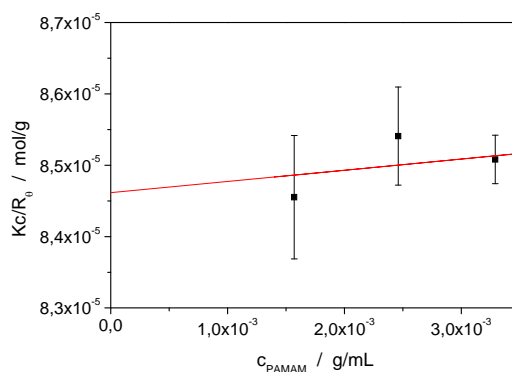


Abbildung C.25 : SLS an PAMAM-G5-Dendrimeren in DMF/LiBr.

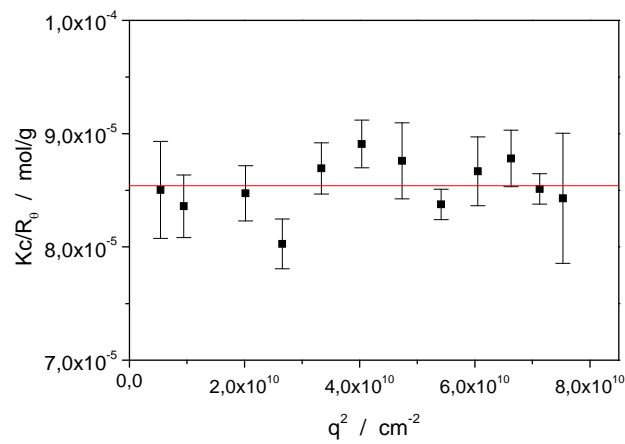


Abbildung C.26 : Winkelabhängigkeit der SLS an PAMAM-G5-Dendrimern in DMF/LiBr bei $c_3 = 1,57 \text{ g/L}$.

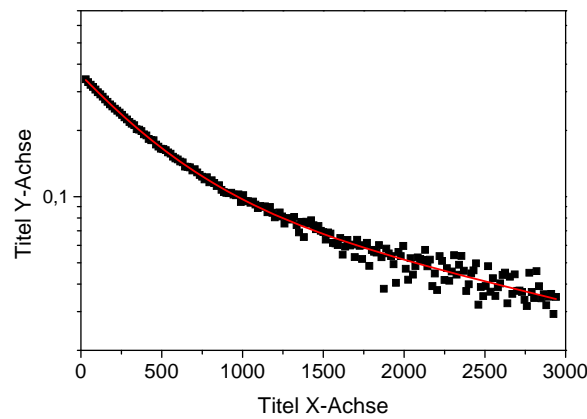


Abbildung C.27 : Korrelationsfunktion der PAMAM-G5-Dendrimere in DMF/LiBr bei einem Streuwinkel von 20° und $c_1 = 3,29 \text{ g/L}$; rote Linie: Biexponentieller Fit.

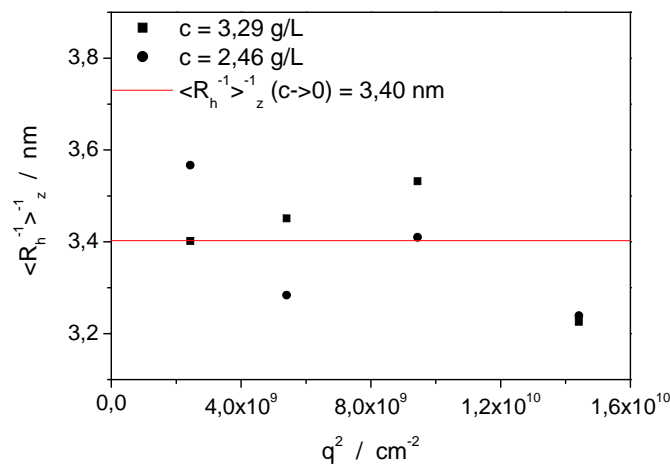


Abbildung C.28: Winkel- und Konzentrationsabhängigkeit des hydrodynamischen Radius von PAMAM-G5-Dendrimern in DMF/LiBr.

Tabelle C.18: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung in DMF/LiBr

$M_{w,app} * (dn/dc)^2 / mL^2/(g * mol)$	Rh / nm
1,18 10 ²	3,40

C.7 Poly(styrolsulfonat)-Bürsten mit Dodecyltrimethylammoniumbromid-Gegenionen (PSS-C12)

Für die Komplexierungen in Dimethylformamid (DMF) wurden zwei unterschiedliche Poly(styrolsulfonat)-Bürsten mit Dodecyltrimethylammoniumbromid-Gegenionen (PSS-C12) verwendet, deren Charakterisierung der Dissertation von Sabrina Duschner [Dusc07] entnommen wurde.

C.7.1 In den Kapiteln 4.1 und 4.3 – 4.5 verwendete PSS-C12-Bürsten

Die verwendeten PSS-C12-Bürsten wurden von Sabrina Duschner [Dusc07] hergestellt. Durch Polymerisation von methacrylatterminierten Poly(styrol)-Makromonomeren wurden Poly(styrol)-Bürsten erhalten, welche nach Sulfonierung (100% Sulfonierungsgrad, Elementaranalyse) und Gegenionenaustausch mit Dodecyltrimethylammoniumbromid (100% Gegenionenaustausch, Elementaranalyse) die verwendeten PSS-C12-Bürsten ergaben. Die Charakterisierung der in den Kapiteln 4.1 und 4.3 – 4.5 verwendeten PSS-C12-Bürste in DMF/2mM LiBr mit Hilfe von statischer und dynamischer Lichtstreuung ist in Tabelle C.19 zusammengefasst.

Tabelle C.19: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung an der in den Kapiteln 4.1 und 4.3 – 4.5 verwendeten PSS-C12-Bürste, aus [Dusc07].

Homopolymer	$M_{w,app} * (dn/dc)^2 / mL^2/(g * mol)$	Rg / nm	Rh / nm	Rg / Rh
PSS-C12 *	3,32 e4	40,9	24,2	1,7

* Verwendet in den Kapiteln 4.1 und 4.3 – 4.5

C.7.2 In Kapitel 4.2 verwendete PSS-C12-Bürsten

Die in Kapitel 4.2 verwendeten PSS-C12-Bürsten wurden von Adrian Strack (Synthese durch Makromonomermethode und Fraktionierung der Poly(styrol)-Bürsten) und Sabrina Duschner [Dusc07] (Sulfonierung der Poly(styrol)-Bürsten und Gegenionenaustausch mit Dodecyltrimethylammoniumbromid) im Rahmen ihrer Dissertationen hergestellt. Die Poly(styrol)-Makromonomere besitzen eine Styrolendgruppe und weisen eine Molmasse von $M_n = 4450$ g/mol (MALDI-TOF-MS, $P_n = 43$) auf. Durch Polymerisation der Makromonomere und anschließende Fraktionierung werden Poly(styrol)-Bürsten mit einer Molmasse von $M_w = 4,12 \cdot 10^6$ g/mol (SLS in THF, $dn/dc = 0,193$ mL/g [Diet74]), detaillierte Beschreibung der Charakterisierung siehe [Dusc07]) erhalten. Die anschließende Sulfonierungsreaktion liefert Poly(styrolsulfonat)-Bürsten mit Natrium-Gegenionen und 100 % Sulfonierungsgrad (Elementaranalyse). Nach Gegenionenaustausch mit Dodecyltrimethylammoniumbromid (C12-Tensid), der ebenfalls vollständigen Umsatz lieferte (Elementaranalyse), werden die hier verwendeten PSS-C12-Bürsten erhalten, deren Charakterisierung mit statischer und dynamischer Lichtstreuung in Tabelle C.20 zusammengefasst ist.

Tabelle C.20: Ergebnisse der statischen und dynamischen Lichtstreuung an der in Kapitel 4.2 verwendeten PSS-C12-Bürste, aus [Dusc07].

Homopolymer	$M_{w,app} * (dn/dc)^2 /$ $mL^2/(g*mol)$	Rg / nm	Rh / nm	Rg / Rh
PSS-C12 *	8,59 e4	55,6	30	1,85

* Verwendet in Kapitel 4.2

C.8 Bürsten mit Poly(ethylenimin-g-ethylenoxid)-Seitenketten (PEI-PEO-Bürste)

Die Synthese und Charakterisierung der in Kapitel 4 für die Komplexierungen in DMF verwendeten PEI-PEO-Bürste ist Gegenstand von Kapitel 2 dieser Arbeit. Für die Herstellung der in Kapitel 4.1 verwendeten, hochgeladenen PEI-PEO-Bürste wurde zu einer Lösung der PEI-PEO-Bürste in DMF (1 g/L) ein 15-facher molarer Überschuss (pro Ethylenimin-Einheit) an konzentrierter Salzsäure gegeben (entspricht 0,2 Volumen-% konzentrierte HCl(aq) in der resultierenden DMF-Lösung).

Anhang D

Zusammenfassung der Ergebnisse an PVP47 – pUC18-supercoiled-DNA – Komplexen [Stör03]

Die im Rahmen meiner Diplomarbeit [Stör03] untersuchten Komplexe wurden aus pUC18-supercoiled-DNA und der auch in dieser Arbeit verwendeten PVP47-Bürste gebildet. pUC18-supercoiled-DNA unterscheidet sich von der in Kapitel 3 verwendeten pUC19-supercoiled-DNA nur in der Reihenfolge der Basenpaare einer kurzen Sequenz und nicht in der Anzahl oder relativen Häufigkeit der Basenpaare (die Orientierung des Polylinkers ist invers). Alle physiko-chemischen Moleküleigenschaften wie Molmasse, Anzahl Basenpaare, Ladung pro DNA-Molekül etc. sind somit identisch.

Hergestellt wurden die Komplexe ebenfalls durch tropfenweise Zugabe der DNA-Lösung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) zu einer in Lichtstreuküvetten vorgelegten PVP47-Lösung in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7). Im Unterschied zu den in Kapitel 3.3 untersuchten Komplexen betrug die Konzentration der PVP47-Bürste ca. 77 mg/L und die der zugetropften DNA-Lösung ca. 25 mg/L, so dass die erhaltenen Ergebnisse nicht quantitativ vergleichbar sind (siehe Kapitel 3.4 – Variation der Konzentration). Für die Charakterisierung der gebildeten Komplexe wurde eine Kombination aus statischer und dynamischer Lichtstreuung, Rasterkraftmikroskopie (AFM, Atomic Force Microscopy) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) in Verbindung mit energiedispersiver Röntgenanalyse (EDX) verwendet, deren Ergebnisse im folgenden zusammengefasst werden.

Die aus der statischen Lichtstreuung bestimmte apparente Molmasse der Komplexlösungen zeigt im Bereich geringer Mengen zugegebener DNA einen linearen Anstieg mit dem Gewichtsbruch DNA und schließlich eine Zunahme um ca. Faktor 3 bei einem Gewichtsbruch DNA von 0,33 (Abbildung D.1, der Einfluss weiterer DNA-Zugaben wurde im Rahmen der Diplomarbeit nicht untersucht). Sowohl die apparenten Trägheitsradien als auch die apparenten hydrodynamischen Radien der Komplexlösungen sind im Anfangsbereich in erster Näherung konstant und steigen signifikant erst bei der letzten Zugabe, was mit einer monotonen Abnahme des Quotienten R_g/R_h der Komplexlösungen relativ zur Ausgangsbürste von 1,47 auf 1,15 einher geht.

Anhang D

Die mikroskopischen Untersuchungen an den Komplexlösungen mit AFM und TEM zeigen übereinstimmend das Vorliegen freier Bürstenpolymere neben Komplexen, wobei die Komplexe eine kugelförmige Topologie aufweisen (Abbildung D.2 und D.3). Dass die gebildeten PVP47-DNA-Komplexe ausschließlich kugelförmige Strukturen darstellen, wurde mit Hilfe von TEM-EDX durch den Nachweis von Phosphor in diesen bewiesen. Eine quantitative Auswertung der AFM-Bilder durch Bestimmung der relativen Anzahl beider Komponenten (Anzahl unkomplexierte PVP47-Bürsten pro Komplex) liefert, dass bei einem Gewichtsbruch DNA von $0,33 \pm 0,06$ keine unkomplexierten PVP47-Bürstenpolymere mehr in der Lösung vorliegen (Abbildung D.4).

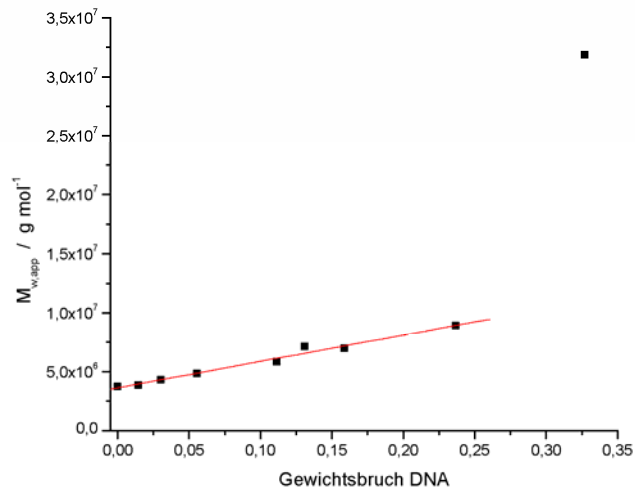


Abbildung D.1: Apparente Molmasse der Komplexlösungen aus PVP47-Bürstenpolymeren und pUC18-supercoiled-DNA, PVP47 vorgelegt. Quelle: [Stör03].

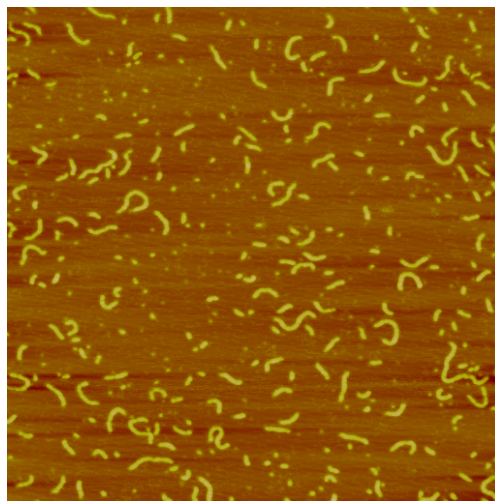


Abbildung D.2: AFM-Bild ($1,5 \times 1,5 \mu\text{m}$) der PVP47-Bürstenpolymere. Quelle: [Stör03].

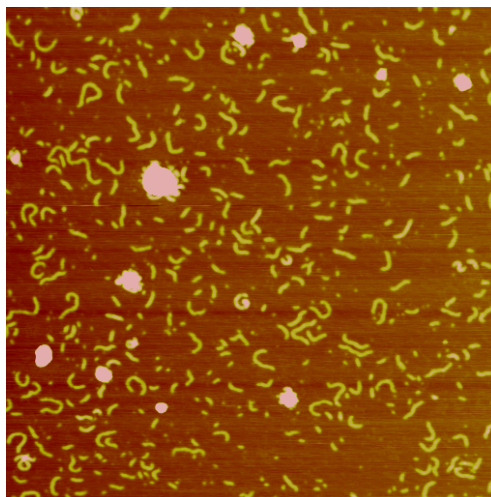


Abbildung D.3: AFM-Bild ($2 \times 2 \mu\text{m}$) der Komplexe aus PVP47-Bürstenpolymeren und pUC18-sc-DNA bei $w(\text{DNA,ges}) = 0,22$, PVP47 vorgelegt. Quelle: [Stör03].

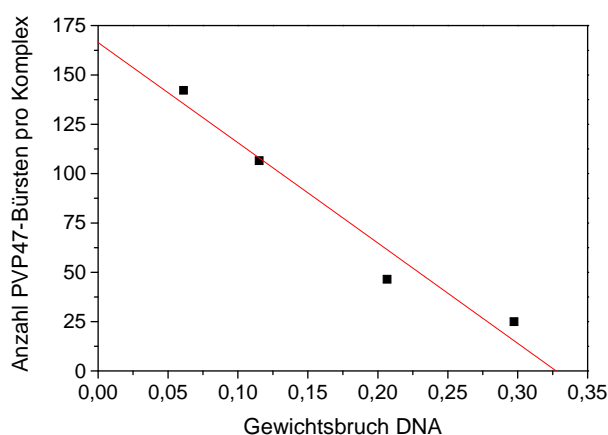


Abbildung D.4: Auftragung der Anzahl unkomplexierter PVP47-Bürsten pro sphärischem Komplex. Quelle der verwendeten Daten: [Stör03].

Nicht Gegenstand der Diplomarbeit sind im Anschluss durchgeführte GPC-Messungen in 5 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7) an ausgewählten Komplexlösungen mit hohem DNA-Anteil, die im Folgenden diskutiert werden. Für eine ausreichende Signalstärke bei der UV-Detektion mussten die bei niedriger (s.o.) Konzentration in den Lichtstreu Küvetten hergestellten Komplexe zunächst durch Vakuumzentrifugation (bei Raumtemperatur) aufkonzentriert werden. Der Vergleich der Eluogramme (nach Normierung auf identische PVP47-Gesamtkonzentrationen in den Lösungen) der unkomplexierten PVP47-Bürste und der Komplexlösungen zeigt, dass die Intensität des Peaks der PVP47-Bürste (Elutionsvolumen ca. 25 mL) mit dem Gewichtsbruch DNA in der Lösung abnimmt (Abbildung D.5 und Tabelle D.1). Die Komplexlösungen zeigen neben der freien PVP47-Bürste einen Doppelpeak bei

Anhang D

größeren Elutionsvolumina (35-38 mL), dessen Intensität mit dem Gewichtsbruch DNA skaliert. Warum die Komplexe eine längere Verweilzeit auf der Säule aufweisen sollten, kann nicht verstanden werden. Zudem ist die Intensität dieser Doppelpeaks zu gering, da die Gesamtmenge PVP47 in den drei Eluogrammen von Abbildung D.5 identisch ist und somit die Gesamtintensität unabhängig vom Gewichtsbruch DNA sein müsste (unter Vernachlässigung zusätzlicher DNA-Adsorption). Dies zeigt, dass die Komplexe nicht vollständig eluieren und die Elutionsweise nicht erklärbar ist.

Aus dem Signal der unkomplexierten PVP47-Bürste in den Komplexlösungen können jedoch einige Schlussfolgerungen gezogen werden: sowohl die Peakform und als auch die Peakbreite der unkomplexierten PVP47-Bürste sind unabhängig vom Gewichtsbruch DNA, wie die auf 1 normierten UV-Signale in Abbildung D.6 illustrieren. Dies zeigt, dass bei der Komplexbildung keine Fraktionierung der polydispersen PVP47-Bürste nach der Molmasse auftritt.

Die Höhe des Peaks wie auch das Integral nehmen mit dem Gewichtsbruch DNA in der Lösung ab (Abbildung D.6 und Tabelle D.1). Durch Extrapolation des Integrals oder der Peakhöhe auf $c(\text{PVP47, unkomplexiert}) = 0$ wird übereinstimmend erhalten, dass bei einem Gewichtsbruch DNA von $0,33 \pm 0,04$ keine unkomplexierte PVP47-Bürste mehr in der Lösung vorhanden ist, was den Ergebnissen der AFM-Experimenten entspricht.

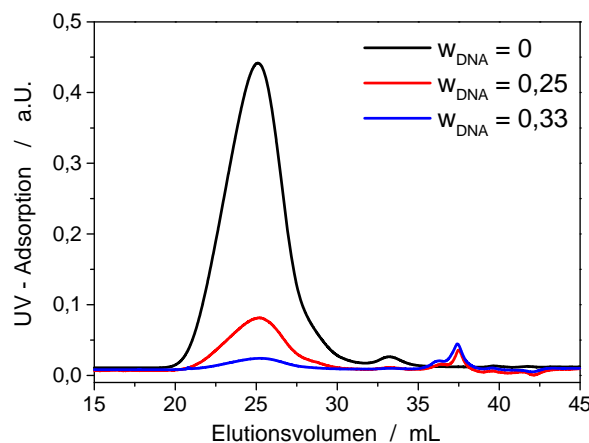


Abbildung D.5: Vergleich der Eluogramme der GPC in 5 mM Natriumphosphat-Puffer von Lösungen der unkomplexierten PVP47-Bürste und zwei Komplexlösungen (Normiert auf identische PVP47-Gesamtkonzentrationen).

Tabelle D.1: Auswertung des UV-Signals der unkomplexierten PVP47-Bürste in den Komplexlösungen (nach Normierung auf identische PVP47-Gesamtkonzentration in den Lösungen).

Gewichtsbruch DNA	Elutionsvolumen des Peakmaximums	Höhe des Peaks	Breite des Peaks	Integral des Peaks
0	25,1 mL	0,430	4,01 mL	1,88
0,25	25,1 mL	0,0736	3,98 mL	0,318
0,33	25,2 mL	0,0156	3,96 mL	0,0669

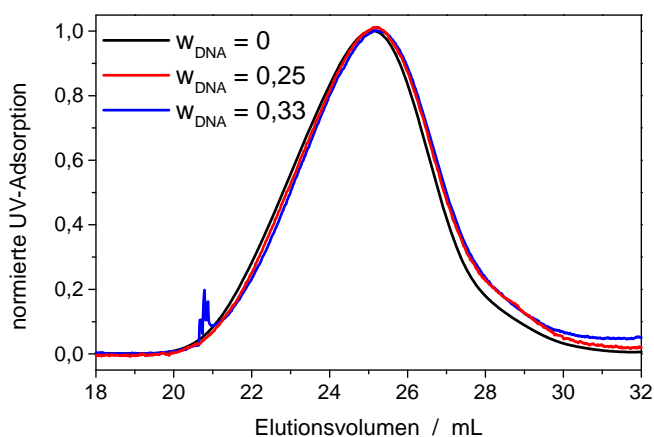


Abbildung D.6: Auf 1 normiertes UV-Signal des Peaks der unkomplexierten PVP47-Bürste / Bürstenfraktion in Abbildung D.5.

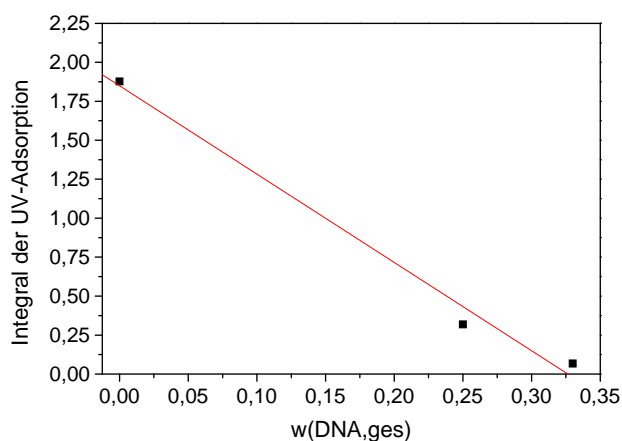


Abbildung D.7: Integral des UV-Signals der unkomplexierten PVP47-Bürste in den Komplexlösungen bei identischer PVP47-Gesamtkonzentration als Funktion der Zusammensetzung der Komplexlösungen.

Anhang E

Auswertung der Bilder der Gelelektrophorese an den Komplexlösungen von Kapitel 3.2

In Kapitel 3.2 werden die Komplexlösungen aus pUC19-supercoiled-DNA und den vier verschiedenen Polykationen mit Hilfe von Gelelektrophorese untersucht. Die digitalen Bilder der Gele wurden mit Hilfe der PC-Software Scion Image (Scion Corporation, Frederick, MD, USA) ausgewertet, wodurch die Intensität jeder einzelnen Bande erhalten wurde.

Das Vorgehen, wie aus den Intensitäten der einzelnen Banden die Konzentration freier DNA in den Komplexlösungen bestimmt und daraus die Auftragungen von $w(\text{DNA, frei})$ gegen $w(\text{DNA, ges})$ erstellt wurden, soll im Folgenden am Beispiel der Komplexlösungen der PEI-DNA-Komplexe detailliert beschrieben werden. Im zweiten Teil dieses Abschnitts werden die erhaltenen Auftragungen der verschiedenen DNA-Polykation-Systeme diskutiert.

E.1 Detaillierte Beschreibung der Auswertung der Gel-Bilder am Beispiel von DNA PEI-Komplexen

Die Laufrichtung der Gelelektrophorese in dem gezeigten Bild ist von unten nach oben, die angegebene Nummerierung ist somit zwischen Start- und Endpunkt der Probenwanderung im Gel platziert (hier befinden sich keine Signale von Proben!). Das gezeigte Gel enthält zwei horizontale Linien mit Auftragetaschen für die zu untersuchenden Lösungen. In den Taschen der unteren Linie (Proben 13-24, Taschen am untersten Bildrand, entlang der Taschen wurde das Gel für die Erstellung des Bilds auf dem UV-Tisch zerschnitten) wurden die DNA-Lösungen verschiedener Konzentration für die Kalibrierung aufgetragen (Proben No. 13-24, DNA-Linie). Die Komplexlösungen verschiedener Mischungsverhältnisse wurden auf der oberen Linie, lokalisiert in der Mitte des Gel-Bildes, aufgetragen (Proben No. 1-12, Komplex-Linie). Die Belegung der einzelnen Taschen in den beiden Auftragelinien ist in Tabelle E.1 zusammengefasst.



Abbildung E.1: Bild der Gelelektrophorese an DNA-PEI-Komplexen. Das Gel enthält zwei horizontale Linien mit Auftrageschen, die Laufrichtung im Bild ist von unten nach oben.

Tabelle E.1: Belegung des Gels von Abbildung E.1

Komplex-Linie			DNA-Linie		
Probe No.	Probe	w(DNA,ges) in der Komplexlösung	Probe No.	Probe	c(DNA) / ng/(mg Auftrageslösung)
1	ST (Standard)	1	13	ST	0,8406
2	K8	0,61	14	D8	0,1700
3	K6	0,70	15	D6	0,4097
4	K4	0,80	16	D4	0,5829
5	ST	1	17	ST	0,8406
6	K2	0,90	18	D2	0,7344
7	K1	0,95	19	D1	0,9899
8	ST	1	20	ST	0,8406
9	K3	0,85	21	D3	0,6539
10	K5	0,75	22	D5	0,4886
11	K7	0,65	23	D7	0,3396
12	ST	1	24	ST	0,8406

E.1.1 Erstellung der Kalibrierung mit Hilfe der DNA-Linie

Die Konzentrationen der aufgetragenen DNA-Lösungen der DNA-Linie und die mit Scion Image aus Abbildung E.1 bestimmten Intensitäten sind in Tabelle E.2

Anhang E

zusammengefasst. Für die Auswertung wird zunächst die Intensität des Standards gegen die Banden-Nummer (Nummerierung der Banden einer Linie von links (Bande 1) nach rechts (Bande 12) in Abbildung E.1) aufgetragen und mit einem Polynom 2. Grades gefittet (Abbildung E.2). Durch diese Prozedur wird die unterschiedliche Helligkeitsauflösung der Kamera von der Bildmitte zu den Rändern korrigiert, aufgrund derer am Bildrand lokalisierte Banden weniger Intensität liefern. Die Gleichung des Polynoms für dieses Bild lautet:

$$Intensität(ST) = 1,4599 \cdot 10^6 + 8,2657 \cdot 10^4 \cdot Nummer_{Bande} - 7,4198 \cdot 10^3 \cdot (Nummer_{Bande})^2$$

Die bestimmte Intensität jeder Bande wird nun durch dieses Polynom geteilt, wodurch eine auf die Intensität des Standards normierte Intensität erhalten wird. Diese normierten Intensitäten werden gegen die DNA-Konzentration in der aufgetragenen Lösung aufgetragen (Abbildung E.3). Dabei zeigt sich, dass zwischen der DNA-Konzentration in der aufgetragenen Lösung und der normierten, mit Scion Image bestimmten Intensität ein linearer Zusammenhang besteht, der durch folgende Gleichung beschrieben wird:

$$I_N = (-0,03267 \pm 0,04372) + c(DNA) \cdot (1,19506 \pm 0,06186)$$

Tabelle E.2: Aufgetragene Proben und bestimmte Intensitäten der DNA-Linie (in Klammern angegebener Wert wurde nicht für die lineare Regression verwendet)

Probe No.	Probe	Bande No.	c(DNA) / ng/ (mg Auftragelösung)	bestimmte Intensität / a.U.	relative Intensität I_N
13	ST	1	0,8406	15,35	0,9999
14	D8	2	0,1700	3,333	0,2089
15	D6	3	0,4097	11,69	(0,7123)
16	D4	4	0,5829	9,291	0,5557
17	ST	5	0,8406	16,88	1,000
18	D2	6	0,7344	14,54	0,8608
19	D1	7	0,9899	19,04	1,137
20	ST	8	0,8406	16,46	0,9997
21	D3	9	0,6539	11,03	0,6884
22	D5	10	0,4886	8,301	0,5374
23	D7	11	0,3396	5,916	0,4021
24	ST	12	0,8406	13,83	1,000

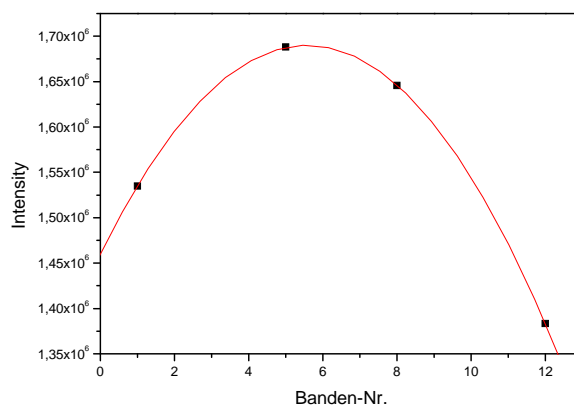


Abbildung E.2: Kamerakalibrierung der DNA-Linie

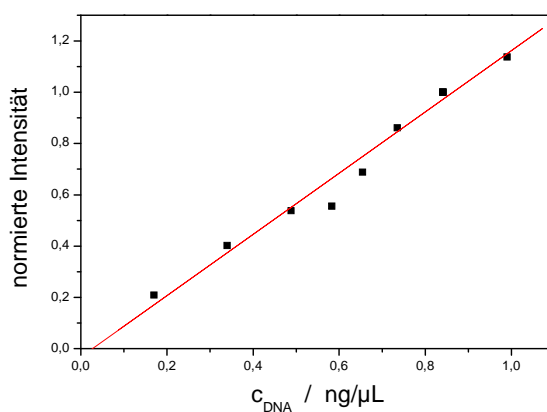


Abbildung E.3: Auftragung der normierten Intensität gegen die DNA-Konzentration

E.1.2 Bestimmung der Konzentration freier DNA in den Komplexlösungen

Die mit Scion Image an den Banden der aufgetragenen Komplexlösungen bestimmten Intensitäten sowie die des Standards in der Komplex-Linie sind in Tabelle E.3 zusammengefasst. Für die Kamera-Korrektur (Abbildung E.4) der Komplex-Linie gilt:

$$\text{Intensität}(ST) = 1,1762 \cdot 10^6 + 7,0431 \cdot 10^4 \cdot \text{Nummer}_{\text{Bande}} - 6,8986 \cdot 10^3 \cdot (\text{Nummer}_{\text{Bande}})^2$$

Die mit Scion Image bestimmten Intensitäten der Komplex-Banden werden mit Hilfe dieses Polynoms in die relative Intensität I_N überführt, d.h. die Intensität der Komplexlösungen wird auf die des Standards in der Komplex-Linie normiert. So ist es möglich, unter Verwendung der Kalibrationsgerade der DNA-Linie (normierte Intensität als Funktion der DNA-Konzentration in der Auftragslösung) die Konzentration unkomplexierter

Anhang E

DNA in den Auftrigelösungen für die Komplexlösungen zu bestimmen (c(DNA) in ng/(mg Auftrigelösung)).

Unter der Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors beim Mischen der Komplexlösungen mit dem Auftragepuffer wird die reale Konzentration unkomplexierter DNA in den Komplexlösung erhalten (Tabelle E.3, c(DNA,frei) in ng/(μ L Komplexlösung)).

Tabelle E.3: Aufgetragene Proben und bestimmte Intensitäten der Komplex-Linie

Probe No.	Probe	Bande No.	bestimmte Intensität / a.U.	relative Intensität I_N	c(DNA) / ng/(mg Auftrigelösung)	c(DNA,frei) / ng/(μ L Komplexlösung)
1	ST	1	12,31	0,9927	0,8580	1,277
2	K8	2	0	0	0,02734	0,04130
3	K6	3	3,163	0,2386	0,2270	0,3418
4	K4	4	6,007	0,4457	0,4003	0,8831
5	ST	5	13,89	1,025	0,8847	1,317
6	K2	6	8,266	0,6121	0,5395	1,732
7	K1	7	11,23	0,8435	0,7332	2,240
8	ST	8	12,65	0,9743	0,8426	1,254
9	K3	9	6,547	0,5232	0,4651	1,420
10	K5	10	3,809	0,3199	0,2950	0,6513
11	K7	11	0	0	0,02734	0,04150
12	ST	12	10,37	1,009	0,8715	1,297

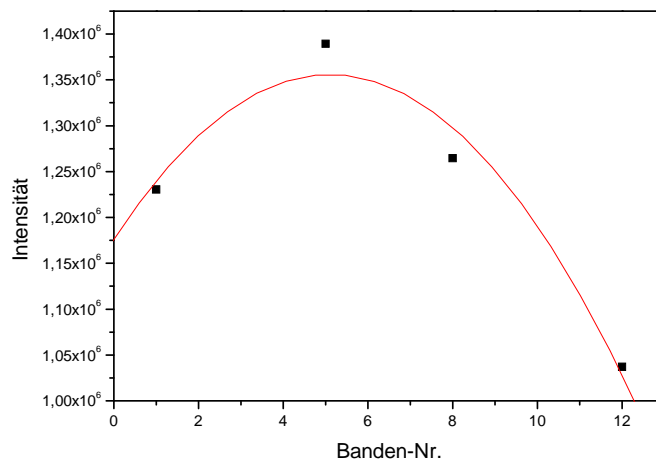


Abbildung E.4: Kamerakalibrierung von Linie 1

E.1.3 Bestimmung des Gewichtsbruchs freier DNA in den Komplex-Lösungen

Aus den bestimmten Konzentrationen an freier DNA und der Gesamtkonzentration in der Komplexlösung wird der Gewichtsbruch freier DNA in den Lösungen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle E.4 zusammengefasst, wobei die 4 Proben des Standards gemittelt wurden.

Die Auftragung von $w(\text{DNA, frei})$ gegen $w(\text{DNA, ges})$ liefert dabei folgenden linearen Zusammenhang (Abb.)::

$$w(\text{DNA, frei}) = (-2,07738 \pm 0,10651) + w(\text{DNA, ges}) \cdot (3,10186 \pm 0,12427)$$

Aus der linearen Regression können folgende Werte bestimmt werden:

w(DNA, frei)	berechnetes w(DNA, ges)	Fehler
1	0,99	0,053
0	0,67	0,044

Tabelle E.4: Bestimmung des Gewichtsbruchs freier DNA in den Komplexlösungen

Probe	w(DNA, ges)	c(DNA, frei) / ng/(μL Komplexlösung)	c(DNA, ges)	c(ges) = c(PEI)+c(DNA)	w(DNA, frei)
ST	1,00	1,286	1,251	1,251	1,028
K1	0,95	2,240	2,368	2,492	0,8988
K2	0,90	1,732	2,247	2,493	0,6948
K3	0,85	1,420	2,120	2,493	0,5695
K4	0,80	0,8831	1,997	2,494	0,3542
K5	0,75	0,6513	1,876	2,494	0,2611
K6	0,70	0,3418	1,756	2,494	0,1370
K7	0,65	0,04150	1,631	2,495	0,01663
K8	0,61	0,04130	1,524	2,495	0,01655

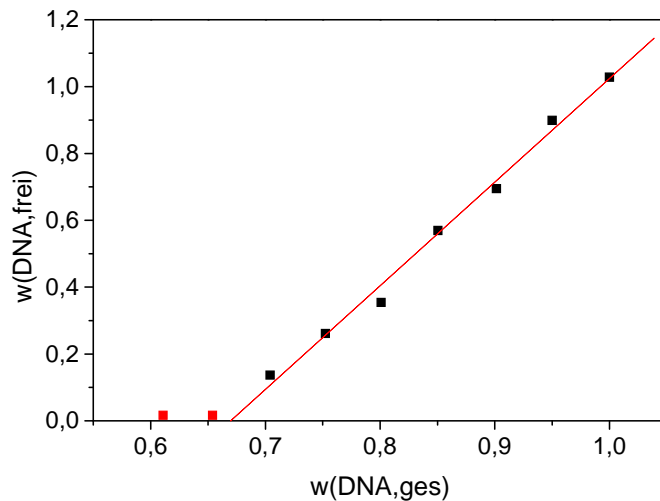


Abbildung E.5: Auftragung von $w(\text{DNA, frei})$ gegen $w(\text{DNA, ges})$ in den DNA-PEI-Komplexlösungen.

E.2 Zusammenfassung der Ergebnisse der Auswertung aller durchgeführten Gelelektrophoresen

Die Bilder der Gelelektrophorese zeigen die Abbildungen E.6a bis E.9a. Mit Hilfe der in Kapitel E.1 gezeigten Auswertung wurden die Werte für $w(\text{DNA, frei})$ in den Komplexlösungen (Tabelle E.5) berechnet und in den Abbildungen E.6b bis E.9b gegen $w(\text{DNA, ges})$ in den Komplexlösungen aufgetragen.

Hierbei zeigt sich, dass zwischen der Menge freier DNA und der Gesamtmenge DNA in Lösung für alle untersuchten Systeme ein linearer Zusammenhang besteht. Die Ergebnisse der linearen Regressionen sind in Tabelle E.6 zusammengefasst. Dabei zeigt sich, dass für $w(\text{DNA, ges}) = 1$ die Regressionsgeraden im Rahmen des Fehler $w(\text{DNA, frei}) = 1$ liefern (Tabelle E.7), was die Verlässlichkeit der beschriebenen Methode beweist.

Die aus den linearen Regressionen bestimmten Zusammensetzungen der Komplexlösungen, bei denen keine freie DNA mehr in der Lösung vorhanden ist, sind in Tabellen E.7 zusammengefasst. Dieser durch lineare Regression bestimmte Schnittpunkt mit der x-Achse entspricht im Rahmen des Fehlers der Komplexlösung, für die im Bild des Gels keine Intensität (d.h. keine Bande) mehr detektierbar war.

Tabelle E.5: Ergebnisse der Auswertung der durchgeführten Gelelektrophoresen nach der Methode von Kapitel E.1. Eingeklammerte Werte wurden für die lineare Regression nicht berücksichtigt.

PVP26		PVP47		PEI		PAMAM	
W _{DNA,ges}	W _{DNA,frei}	W _{DNA,ges}	W _{DNA,frei}	W _{DNA,ges}	W _{DNA,frei}	W _{DNA,ges}	W _{DNA,frei}
1,00	1,00	1,00	0,957	1,00	1,03	1,00	1,00
0,95	(1,12)	0,95	0,857	0,95	0,899	0,95	(0,612)
0,90	0,808	0,90	0,811	0,90	0,695	0,91	0,650
0,85	0,694	0,85	0,676	0,85	0,569	0,86	0,515
0,80	0,612	0,80	0,572	0,80	0,354	0,81	0,379
0,75	0,443	0,75	0,466	0,75	0,261	0,76	0,344
0,70	0,331	0,70	0,366	0,70	0,137	0,71	0,189
0,65	0,257	0,65	0,265	0,65	(0,017)	0,67	0
0,60	0,164	0,60	0,193	0,61	(0,017)	0,62	(0)
		0,50	(0,038)			0,52	(0)
		0,39	(0)			0,41	(0)

Tabelle E.6: Ergebnisse der linearen Regressionen für die Auftragungen $w(\text{DNA}, \text{frei})$ gegen $w(\text{DNA}, \text{ges})$: $w(\text{DNA}, \text{frei}) = A + w(\text{DNA}, \text{ges}) \cdot B$

Polykation	A	ΔA	B	ΔB
PVP26	-1,167	0,0535	2,183	0,0676
PVP47	-1,036	0,0477	2,009	0,0573
PEI	-2,077	0,107	3,102	0,124
PAMAM	-1,822	0,146	2,775	0,177

Tabelle E.7: Berechnung der Zusammensetzung der Komplexlösungen für $w(\text{DNA}, \text{frei})=0$ und $w(\text{DNA}, \text{frei})=1$ aus den linearen Regressionen

Polykation	w(DNA,ges) für w(DNA,frei)=0	Δ [w(DNA,ges) für w(DNA,frei)=0]	w(DNA,ges) für w(DNA,frei)=1	Δ [w(DNA,ges) für w(DNA,frei)=1]
PVP26	0,53	0,03	0,99	0,04
PVP47	0,52	0,03	1,01	0,04
PEI	0,67	0,04	0,99	0,05
PAMAM	0,66	0,07	1,02	0,08



Abbildung E.6a: Bild der Gelelektrophorese an DNA-PVP26-Komplexen. Das Gel enthält zwei horizontale Linien mit Auftragetaschen, die Laufrichtung im Bild ist von unten nach oben.
 Belegung der Banden: i.) Standard: No. 1, 5, 8, 12, 13, 17, 20, 24; ii.) unkomplezierte DNA in verschiedenen Konzentrationen: No. 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 23; iii.) Komplexlösungen (in Klammern ist $w(\text{DNA,ges})$ in den Komplexlösungen angegeben): No. 2 (0,65), 3 (0,75), 4 (0,85), 6 (0,95), 7 (0,90), 9 (0,80), 10 (0,70), 11 (0,60).

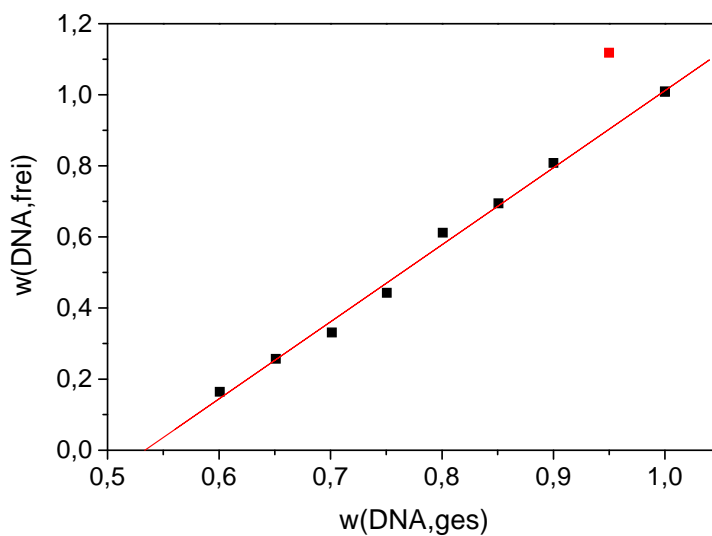


Abbildung E.6b: Auswertung des Gel-Bildes von Abbildung E.6a.

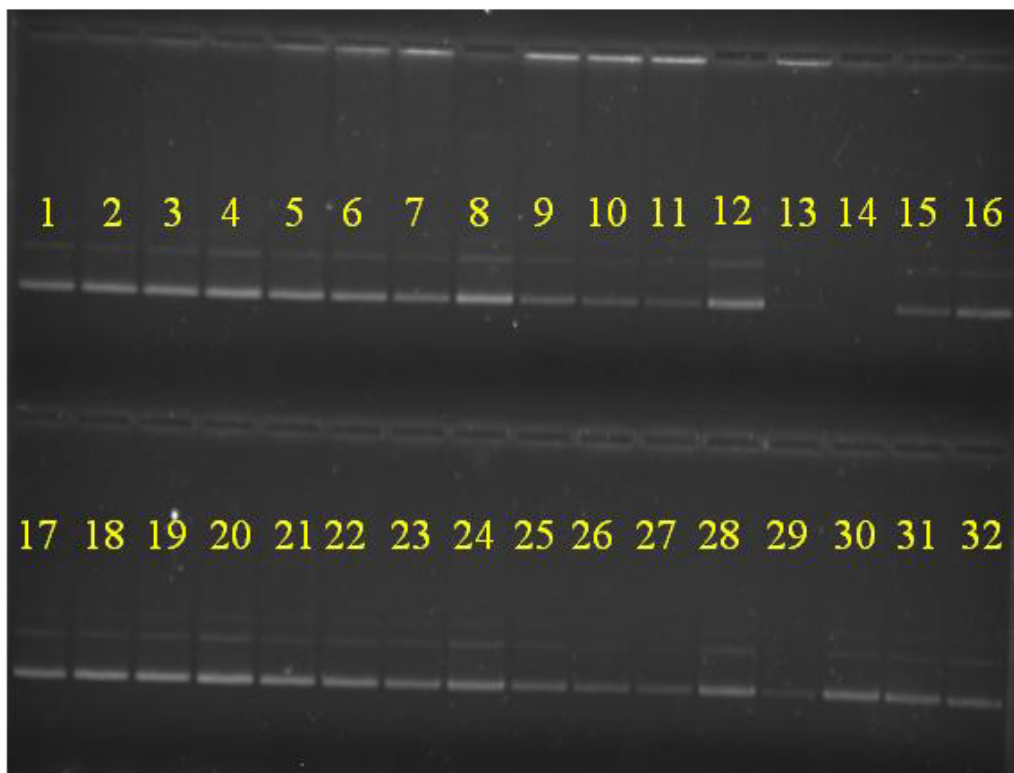


Abbildung E.7a: Bild der Gelelektrophorese an DNA-PVP47-Komplexen. Das Gel enthält zwei horizontale Linien mit Auftrageetaschen, die Laufrichtung im Bild ist von oben nach unten.

Belegung der Banden: i.) Standard: No. 1, 4, 8, 12, 16, 17, 20, 24, 28, 32; ii.) unkomplezierte DNA in verschiedenen Konzentrationen: No. 15, 18, 19, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 29, 30, 31; iii.) Komplezlösungen (in Klammern ist $w(\text{DNA, ges})$ in den Komplezlösungen angegeben): No. 2 (0,95), 3 (0,90), 5 (0,85), 6 (0,80), 7 (0,75), 9 (0,70), 10 (0,65), 11 (0,60), 13 (0,50), 14 (0,39).

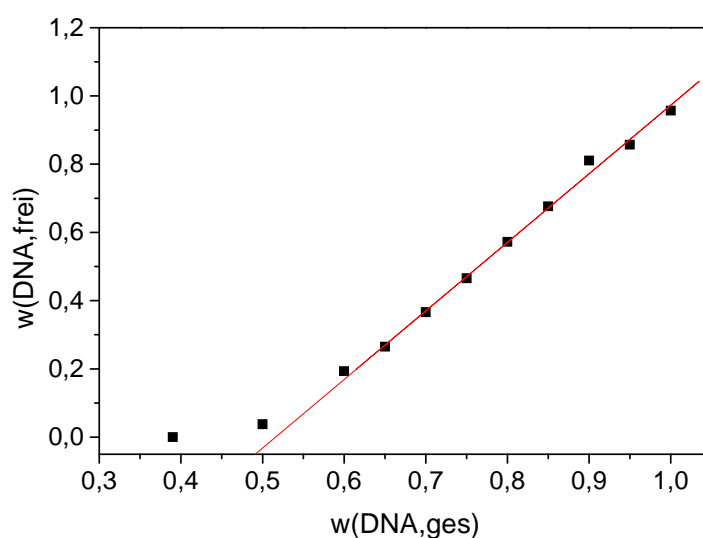


Abbildung E.7b: Auswertung des Gel-Bildes von Abbildung E.7a.



Abbildung E.8a: Bild der Gelelektrophorese an DNA-PEI-Komplexen. Das Gel enthält zwei horizontale Linien mit Auftrageschalen, die Laufrichtung im Bild ist von unten nach oben.

Belegung der Banden: i.) Standard: No. 1, 5, 8, 12, 13, 17, 20, 24; ii.) unkomplexierte DNA in verschiedenen Konzentrationen: No. 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 23; iii.) Komplexlösungen (in Klammern ist $w(\text{DNA, ges})$ in den Komplexlösungen angegeben): No. 2 (0,60), 3 (0,70), 4 (0,80), 6 (0,90), 7 (0,95), 9 (0,85), 10 (0,75), 11 (0,65).

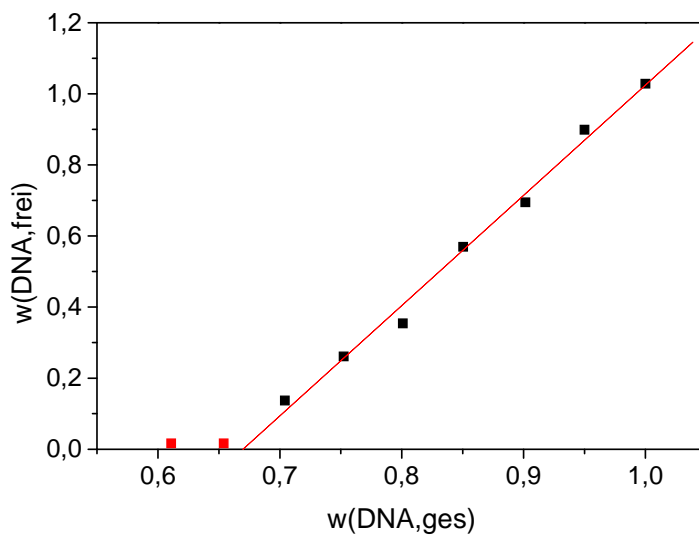


Abbildung E.8b: Auswertung des Gel-Bildes von Abbildung E.8a.



Abbildung E.9a: Bild der Gelelektrophorese an DNA-PAMAM-Komplexen. Die Laufrichtung im Bild ist von oben nach unten.

Belegung der Banden: i.) unkomplezierte DNA in verschiedenen Konzentrationen: No. 1, 3, 6, 9, 13, 16; ii.) Komplexlösungen (in Klammern ist $w(\text{DNA,ges})$ in den Komplexlösungen angegeben): No. 2 (0,41), 4 (0,52), 5 (0,62), 7 (0,67), 8 (0,71), 10 (0,76), 11 (0,81), 12 (0,86), 14 (0,91), 15 (0,95).

Die Kamera-Korrektur wurde in diesem Bild mit allen DNA-Konzentrationen durchgeführt.

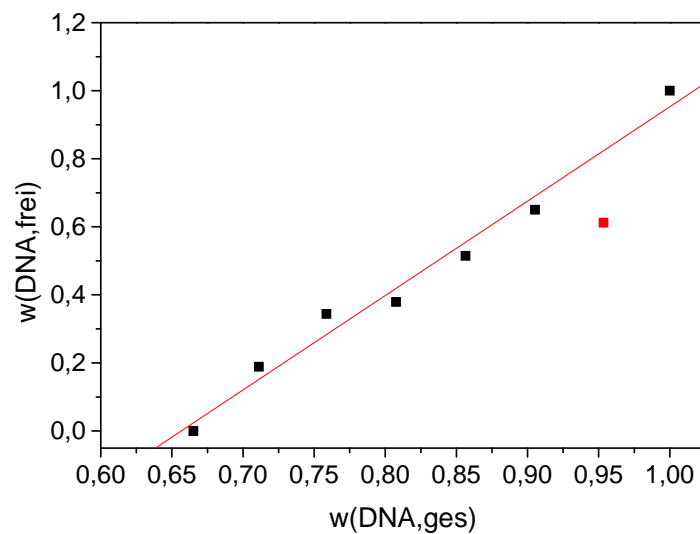


Abbildung E.9b: Auswertung des Gel-Bildes von Abbildung E.9a.

Anhang F**Auswertung der Lichtstreuung von Kapitel 3****F.1 Detaillierte Beschreibung der Auswertung der Lichtstreuung am Beispiel der DNA-PVP26-Komplexe (Kapitel 3.2, DNA vorgelegt)****F.1.1 Streuung an den Komplexlösungen**

Für die Auswertung der Streuung an den Komplexlösungen wird zunächst angenommen, dass das PVP26 bei der Komplexierung keine Phosphat-Gegenionen freisetzt. Auf den Einfluss der Gegenionenfreisetzung wird in Abschnitt F.1.3 eingegangen.

Das Streuverhalten ausgewählter Komplexlösungen der DNA-PVP26-Komplexe, aufgetragen nach Berry, zeigt Abbildung F.1. Die aus den Streuexperimenten an den Komplexlösungen erhaltenen Werte für die apparenten Molmassen, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien sind in Tabelle F.1 zusammengefasst.

Tabelle F.1: Auswertung der statischen und dynamischen Lichtstreuung an den Komplexlösungen von pUC19-sc-DNA und PVP26 mit DNA-vorgelegt

Zugabe No.	w_{DNA,ges}	(dn/dc)_{Mischung} / mL/g	M_{w,app,Mischung} / 10⁶ g/mol	R_{g,app,Mischung} / nm	R_{h,app,Mischung} / nm
1	0,9538	0,17083	4,793	48,2	40,9
2	0,9120	0,17158	6,890	44,5	41,1
3	0,8741	0,17225	9,224	44,0	39,9
4	0,8395	0,17287	11,53	42,7	40,6
5	0,8079	0,17344	12,97	41,5	38,0
6	0,7796	0,17394	15,58	43,2	43,1
7	0,7361	0,17472	21,08	43,8	44,9
8	0,6937	0,17548	27,88	46,0	47,4
9	0,6443	0,17637	37,63	47,3	48,9
10	0,5981	0,17719	57,82	53,7	52,1
11	0,5365	0,17830	132,3	70,4	67,3
12	0,4023	0,18070	1154	148	123

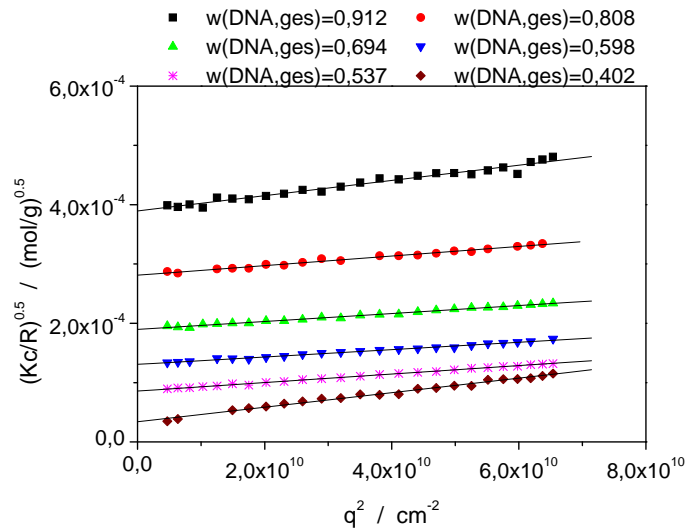


Abbildung F.1: Streuverhalten ausgewählter Komplexlösungen

Das verwendete Brechungsindexinkrement wird wie folgt erhalten:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}} = w_{DNA, ges} \cdot \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} + w_{PVP26} \cdot \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PVP26} =$$

$$w_{DNA, ges} \cdot 0,170 \frac{mL}{g} + (1 - w_{DNA, ges}) \cdot 0,188 \frac{mL}{g}$$

Um unterscheiden zu können, ob für ein untersuchtes System eine Homopolymermischung vorliegt, ist es zweckmäßig, das Produkt aus apparer Molmasse und Quadrat des Brechungsindexinkrements gegen die Zusammensetzung aufzutragen (Abb. F.2). In dieser Auftragung muss der Verlauf einer Homopolymermischung der Verbindungslinie zwischen den Messwerten beider Homopolymere entsprechen, da die Streuintensitäten in erster Näherung additiv sind. Im vorliegenden Fall wird der Verlauf der hypothetischen Homopolymermischung durch folgende Gleichung beschrieben (blaue Linie in Abb. F.2):

$$M_{w, app, Mischung} \cdot \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}}^2 = w_{DNA, ges} \cdot \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA}^2 \cdot M_{w, DNA} + (1 - w_{DNA, ges}) \cdot \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PVP26}^2 \cdot M_{w, PVP26}$$

$$\text{mit } \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \quad \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 \cdot 10^6 \frac{g}{mol}, \quad M_{w,PVP26} = 10,1 \cdot 10^6 \frac{g}{mol}$$

Abbildung F.2 zeigt, dass bei der Zugabe von PVP26 zu der DNA-Lösung Komplexierung stattfindet. Eine vergleichbare Abweichung vom Verlauf der hypothetischen Homopolymermischung zeigen alle in Kapitel 3 untersuchten Komplexlösungen. Die Bildung von Komplexen wird somit für alle Systeme bewiesen.

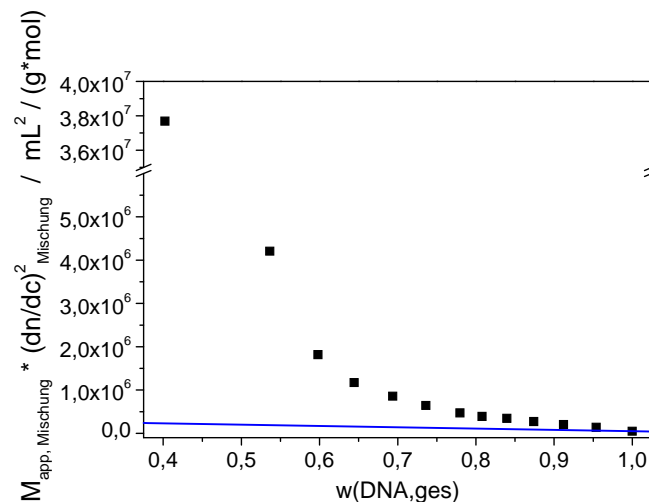


Abbildung F.2: Auftragung des Produktes $M_{app,Mischung} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{Mischung}^2$ gegen die Zusammensetzung. Die blaue Linie entspricht dem Verlauf einer hypothetischen Homopolymermischung.

F.1.2 Subtraktion des Streuteils freier DNA von der Streuung an den Komplexlösungen

Für die in Kapitel 3.2 untersuchten Systeme wurde mit Hilfe von Gelelektrophorese bestimmt (siehe auch Kapitel E), dass der Gewichtsbruch unkomplexierter DNA ($w_{DNA,frei}$) linear von $w_{DNA,ges}$ abhängt. Aus der linearen Regression wird die Zusammensetzung der Komplexlösung $w_{DNA,ges}(w_{DNA,frei}=0)$ bestimmt, bei der keine freie DNA mehr vorliegt.

Im Fall der in Kapitel 3.3 und 3.4 untersuchten Systeme wurde diese Zusammensetzung der Komplexlösungen nicht experimentell ermittelt. Aus diesem Grund wurde diese „kritische Zusammensetzung“ (w_{krit}) aus den Lichtstreuendaten nach dem in den Kapiteln beschriebenen Verfahren abgeschätzt. Unter der Annahme einer linearen Abnahme des Gewichtsbruchs unkomplexierter Überschusskomponente mit dem Gewichtsbruch der gesamten Überschusskomponente (komplexiert + unkomplexiert) kann somit aus w_{krit} für

jedes beliebige Mischungsverhältnis die Zusammensetzung der Komplexlösungen bestimmt werden:

$$w_{\text{frei}} = -\frac{w_{\text{krit}}}{1 - w_{\text{krit}}} + \frac{1}{1 - w_{\text{krit}}} * w_{\text{ges}}$$

Für das hier untersuchte System DNA-PVP26, bei dem die DNA vorgelegt wurde und die Komplexlösungen somit eine Polymermischung aus unkomplexierter DNA und DNA-PVP26-Komplexen darstellen, folgt aus dem durch Gelelektrophorese bestimmten Wert von $w_{\text{DNA,ges}}(w_{\text{DNA,frei}}=0) = w_{\text{krit}} = 0,53 \pm 0,03$ die Gleichung:

$$w_{\text{DNA,frei}} = 2,15 * w_{\text{DNA,ges}} - 1,15$$

Bei den im Folgenden durchgeführten Berechnungen wird nur der Fehler von $w_{\text{DNA,ges}}(w_{\text{DNA,frei}}=0)$ bzw. w_{krit} berücksichtigt. Dessen Fehlerfortpflanzung nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate [x] ergibt die in den folgenden Tabellen und den Tabellen von Kapitel F.2 angegebenen Werte für den Fehler der bestimmten Größe.

Unter Verwendung der folgenden Gleichungen, die für eine Polymermischung aus unkomplexierter DNA und Komplexen gelten, werden die Molmassen, Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien der Komplexe aus der Streuung an den Komplexlösungen erhalten:

$$w_{\text{DNA,frei}} + w_{\text{Komplexe}} = w_{\text{DNA,ges}} + w_{\text{PVP26}} = 1$$

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}} = w_{\text{DNA,ges}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{DNA}} + w_{\text{PVP26}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{PVP26}} = w_{\text{DNA,frei}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{DNA}} + w_{\text{Komplexe}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Komplexe}}$$

$$M_{w,\text{Komplexe}} = \frac{\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}}^2 * M_{w,\text{app,Mischung}} - w_{\text{DNA,frei}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{DNA}}^2 * M_{w,\text{DNA}}}{w_{\text{Komplexe}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Komplexe}}^2}$$

$$\left\langle R_g^2 \right\rangle_{z,\text{Komplexe}} = \frac{\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}}^2 * M_{w,\text{app,Mischung}} * \left\langle R_g^2 \right\rangle_{z,\text{app,Mischung}} - w_{\text{DNA,frei}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{DNA}}^2 * M_{w,\text{DNA}} * \left\langle R_g^2 \right\rangle_{z,\text{DNA}}}{w_{\text{Komplexe}} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Komplexe}}^2 * M_{w,\text{Komplexe}}}$$

Anhang F

$$\left\langle R_h^{-1} \right\rangle_{z, \text{Komplexe}} = \frac{\left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{Mischung}}^2 * M_{w, \text{app}, \text{Mischung}} * \left\langle R_h^{-1} \right\rangle_{z, \text{app}, \text{Mischung}} - w_{\text{DNA}, \text{frei}} * \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{DNA}}^2 * M_{w, \text{DNA}} * \left\langle R_h^{-1} \right\rangle_{z, \text{DNA}}}{w_{\text{Komplexe}} * \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{Komplexe}}^2 * M_{w, \text{Komplexe}}}$$

mit $\left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{DNA}} = 0,170 \frac{\text{mL}}{\text{g}}$, $\left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{PVP26}} = 0,188 \frac{\text{mL}}{\text{g}}$,

$$M_{w, \text{DNA}} = 1,66 * 10^6 \frac{\text{g}}{\text{mol}}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{DNA}}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{DNA}}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Einsetzen der Streuergebnisse für die Komplexlösungen von Tabelle F.1 liefert die in Tabelle F.2 zusammengefassten Werte.

Tabelle F.2: Berechnung der Komplexgrößen durch Subtraktion des Streubeitrags der freien DNA.

Zugabe No.	$w_{\text{DNA}, \text{frei}}$		$M_{w, \text{Komplexe}} / 10^6 \text{ g/mol}$		$\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \text{nm}$		$\langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1} / \text{nm}$	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,90	0,01	30,9	0,0985	38,1	0,403	40,0	0,0462
2	0,81	0,01	27,5	0,172	37,9	0,406	40,7	0,0329
3	0,73	0,02	28,0	0,260	39,9	0,338	39,5	0,0405
4	0,66	0,02	28,8	0,353	39,7	0,300	40,4	0,0261
5	0,59	0,03	27,8	0,420	39,0	0,285	37,7	0,0443
6	0,53	0,03	29,9	0,536	41,6	0,218	43,1	0
7	0,44	0,04	34,8	0,791	42,9	0,154	45,0	0,0109
8	0,35	0,04	40,6	1,13	45,5	0,0990	47,5	0,0200
9	0,24	0,05	48,1	1,67	47,1	0,0640	49,0	0,0196
10	0,14	0,05	66,4	2,82	53,7	0,0236	52,1	0,0198
11	0,014	0,06	134	7,31	70,4	0,00347	67,3	0,0272
12	-0,27	0,08	931	85,9	148	0,00368	123	0,0141

Aus den berechneten Größen können nun eine Reihe von Eigenschaften der Komplexe berechnet werden. So beträgt die gewichtsgemittelte Anzahl Ketten beider Polymere pro Komplex (Tabelle F.3):

$$N_w(DNA) = \frac{w_{DNA,Komplexe} * M_{w,Komplexe}}{M_{n,DNA}}$$

$$N_w(PVP26) = \frac{w_{PVP26,Komplexe} * M_{w,Komplexe}}{M_{n,PVP26}}$$

mit $w_{DNA,Komplexe} = w_{DNA,ges} (w_{DNA,frei} = 0) = 1 - w_{PVP26,Komplexe}$ (Gelelektrophorese)

$M_{n,DNA} = M_{w,DNA}$ (verwendete DNA ist in erster Näherung monodispers)

$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}}$ (PD aus der GPC)

$$w_{DNA,ges} (w_{DNA,frei} = 0) = 0,53, \quad M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol},$$

$$M_{w,PVP26} = 10,1 * 10^6 \frac{g}{mol}, \quad PD_{PVP26} = 5,3$$

Tabelle F.3: Anzahl Ketten pro Komplex

Zugabe No.	Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(DNA)$		Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex $N_w(PVP26)$	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	9,85	0,559	8,58	0,487
2	8,77	0,500	7,64	0,435
3	8,93	0,512	7,78	0,446
4	9,19	0,532	8,01	0,464
5	8,88	0,520	7,73	0,453
6	9,54	0,566	8,31	0,493
7	11,1	0,678	9,68	0,591
8	13,0	0,818	11,3	0,712
9	15,4	1,02	13,4	0,889
10	21,2	1,50	18,5	1,31
11	42,8	3,36	37,3	2,93
12	297	32,2	259	28,0

Die Dichte der Komplexe kann aus der Lichtstreuung auf Basis des Trägheitsradius oder auf Basis des hydrodynamischen Radius berechnet werden:

$$\rho_{\text{Komplexe}} = \frac{M_{w,\text{Komplexe}}}{6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} * \left(\frac{4 \pi (R_{\text{Komplexe}})^3}{3} \right)$$

Die Ergebnisse für Dichte der Komplexe und die Quotienten aus Trägheitsradius und hydrodynamischem Radius sind in Tabelle F.4 zusammengefasst.

Tabelle F.4: Dichte und Quotienten aus Trägheitsradius und hydrodynamischem Radius der Komplexe

Zugabe No.	Dichte auf der Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}} (R_g) / \text{g/cm}^3$		Dichte auf der Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}} (R_h) / \text{g/cm}^3$		$\langle R_g^2 \rangle_{z,\text{Komplexe}}^{0,5} /$ $\langle R_h^{-1} \rangle_{z,\text{Komplexe}}^{-1}$	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,222	0,00709	0,191	9,02E-4	0,952	0,0101
2	0,201	0,00658	0,162	0,00109	0,931	0,0100
3	0,175	0,00472	0,180	0,00176	1,01	0,00862
4	0,182	0,00471	0,173	0,00215	0,983	0,00747
5	0,186	0,00495	0,206	0,00320	1,04	0,00768
6	0,165	0,00393	0,148	0,00265	0,965	0,00505
7	0,175	0,00440	0,152	0,00345	0,954	0,00344
8	0,170	0,00489	0,150	0,00420	0,959	0,00212
9	0,183	0,00640	0,162	0,00566	0,962	0,00136
10	0,171	0,00723	0,186	0,00788	1,03	5,98E-4
11	0,152	0,00830	0,174	0,00950	1,05	4,25E-4
12	0,114	0,0105	0,199	0,0183	1,20	1,42E-4

F.1.3 Berücksichtigung der Gegenionenfreisetzung

Bei der Berechnung der Molmasse wurde bisher vereinfachend angenommen, dass bei der Komplexbildung keine Gegenionen freigesetzt werden. Findet bei der Komplexbildung jedoch Gegenionenfreisetzung statt, so gilt für das gemessene Produkt aus Molmasse und Brechungsindexinkrement:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{Mischung}}^2 * M_{w,app,Mischung} = w_{DNA,unkomplexiert} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA}^2 * M_{w,DNA} + w_{Komplexe} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{Komplexe}^2 * M_{w,Komplexe} + w_{freigesetzte\ Gegenionen} * \left(\frac{dn}{dc}\right)_{freigesetzte\ Gegenionen}^2 * M_{w,freigesetzte\ Gegenionen}$$

mit $w_{DNA,unkomplexiert} + w_{Komplexe} + w_{freigesetzte\ Gegenionen} = 1$

Die in Kapitel F.1.2 verwendete Gleichung wird somit um den Term für die freigesetzten Gegenionen erweitert, dessen Wert aber vernachlässigbar gering ist:

$$M_{w,freigesetzte\ Gegenionen} \lll M_{w,DNA} < M_{w,Komplexe}$$

Die Absolutstreuintensität ist somit erwartungsgemäß nicht von der Gegenionenfreisetzung beeinflusst, da die Molmasse der Gegenionen und somit deren Beitrag zur Gesamtstreuintensität irrelevant ist.

Einen entscheidenden Einfluss hat die Gegenionenfreisetzung aber auf das Brechungsindexinkrement der Komplexe und die Massenkonzentration der Komplexe in den Komplexlösungen, da der Gewichtsbruch der Komplexe in der Komplexlösung direkt von dem Gewichtsbruch freigesetzter Gegenionen abhängt:

$$\left\{w_{Komplexe}\right\}_{\text{Vernachlässigung der Gegenionenfreisetzung}} = \left\{w_{Komplexe}\right\}_{\text{Berücksichtigung der Gegenionenfreisetzung}} + w_{freigesetzte\ Gegenionen}$$

Auf die berechneten Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien der Komplexe hat eine eventuelle Gegenionenfreisetzung keinen Einfluss. Bei einer Mischung entsprechen die gemessenen Radien einer Summe der Radien der Einzelkomponenten, gewichtet mit dem Produkt (das Produkt entspricht dem Anteil jeder Komponente an der gesamten Absolutstreuintensität der Mischung):

$$w * \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 * M_w$$

Dieses Produkt ist für die freigesetzten Gegenionen über mehrere Zehnerpotenzen geringer als die entsprechenden Produkte der freien DNA und der Komplexe und somit

Anhang F

vernachlässigbar. Die Produkte der freien DNA und der Komplexe bleiben somit konstant, auch wenn Gegenionenfreisetzung stattfindet. Aus diesem Grund hat eine eventuelle Gegenionenfreisetzung keinen Einfluss auf die in Kapitel F.1.2 berechneten Trägheitsradien und hydrodynamischen Radien der Komplexe.

Um den Einfluss einer eventuellen Gegenionenfreisetzung auf die zu bestimmende Molmasse der Komplexe abzuschätzen, können wie in Kapitel 3.2 detailliert beschrieben folgende Grenzfälle untersucht werden:

1. Bei der Komplexbildung werden keine Gegenionen freigesetzt (entspricht der Beschreibung in den beiden vorangegangenen Abschnitten).
2. Bei der Komplexbildung werden alle Gegenionen freigesetzt.

Dabei muss für alle in Kapitel 3.2 – 3.4 untersuchten Systeme nur der Einfluss der Freisetzung von Phosphat-Gegenionen des jeweiligen Polykations untersucht werden, da im Fall der DNA nur Protonen freigesetzt werden, deren Einfluss auf die DNA-Konzentration weniger als 0,3% ist und deren $dn/dc \sim 0$ ist (Bei der DNA bezieht sich die verwendete Einwaagekonzentration auf Protonen als Gegenionen und nicht auf mögliche Natriumgegenionen, bedingt durch einen Gegenionenaustausch im Puffer. Dies ist deshalb zulässig, da das dn/dc beider möglichen Gegenionen übereinstimmend ~ 0 ist).

Für die beiden Polykationen PEI und PAMAM sind die Brechungsindexinkremente der Polykationen ohne Gegenionen in erster Näherung bekannt (siehe Kapitel 3.2). Im Fall der PVP-Polykationen hingegen muss für den 2.Grenzfall abermals unterschieden werden zwischen:

- 2a. Das Brechungsindexinkrement der Gegenionen besitzt einen Wert von 0,188 mL/g, entsprechend dem PVP-Homopolymer (Gegenionen und Polymer ohne Gegenionen sind isorefraktiv).
- 2b. Das Brechungsindexinkrement der Gegenionen ist gleich 0 (Die Gegenionen tragen nicht zum Brechungsindexinkrement der PVP-Homopolymere bei).

Werden Gegenionen freigesetzt, so ändern sich zusammenfassend folgende Eigenschaften der Komplexe, die für die Berechnung der Molmasse der Komplexe benötigt werden:

- Massenkonzentration der Komplexe in den Komplexlösungen
- Brechungsindexinkrement der Komplexe

Im Fall der hier beispielhaft untersuchten DNA-PVP26-Komplexe beträgt der Gewichtsbruch der Gegenionen in den PVP26-Bürsten 0,23 (bezogen auf die Einwaagekonzentration, entspricht in diesem Fall auch dem Gewichtsbruch Phosphat-Gegenionen in PVP26-QE-Phosphat nach Gegenionenaustausch im Puffer). Unter Verwendung dieses Gewichtsbruch werden die in Tabelle F.5 zusammengefassten Werte erhalten.

Bei der Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex ist zu beachten, dass sich durch die Gegenionenfreisetzung die Massenstöchiometrie beider Komponenten im Komplex verändert. Die Kettenstöchiometrie hingegen muss erhalten bleiben, so dass in Tabelle F.5 nur die Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex angegeben ist. Zudem ist die Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex nur für den Grenzfall 2a angegeben, da diese für den Grenzfall 2b dem Grenzfall 1 (keine Gegenionenfreisetzung) entspricht.

Tabelle F.5: Einfluss der Gegenionenfreisetzung.

Zugabe No.	Grenzfall 2a: $M_{w,Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$		Grenzfall 2b: $M_{w,Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$		Grenzfall 2a: Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	35,1	0,131	27,5	0,391	12,6	0,591
2	31,2	0,205	24,5	0,372	11,2	0,53
3	31,8	0,301	24,9	0,416	11,4	0,545
4	32,7	0,406	25,6	0,475	11,7	0,568
5	31,6	0,481	24,8	0,508	11,3	0,558
6	34	0,613	26,6	0,603	12,2	0,611
7	39,6	0,903	31	0,826	14,2	0,739
8	46,1	1,29	36,1	1,13	16,5	0,902
9	54,7	1,91	42,9	1,61	19,6	1,14
10	75,6	3,21	59,2	2,64	27,1	1,71
11	152	8,31	119	6,72	54,6	3,93
12	1060	97,7	830	77,4	380	39,3

F.2 Tabellen der Auswertung

Übersicht über die folgenden Tabellen:

Zu Kapitel 3.2 – Kompaktierung von DNA:

- Tabelle 1: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 2: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP47 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 3: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PEI (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 4: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PAMAM (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zu Kapitel 3.3 – Verkapselung von DNA:

- Tabelle 5: PVP26 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 6: PVP47 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 7: PEI (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 8: PAMAM (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zu Kapitel 3.4 – Konzentrationsabhängigkeit der Komplexbildung (zusätzlich zu Tabelle 1 und Tabelle 5):

- Tabelle 9: DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 10: DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 11: PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7
- Tabelle 12: PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Tabelle 1: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,53 \pm 0,03, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,DNA}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,DNA}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}} = \frac{10,1 * 10^6 \text{ g/mol}}{5,3} = 1,91 * 10^6 \text{ g/mol}$$

Für den maximalen Einfluss der Gegenionenfreisetzung verwendete Größe:

$$w_{Gegenionen \text{ in PVP26}} = 0,23$$

Tabelle 1 – Teil 1/3: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	$w_{DNA,ges}$	$(dn/dc)_{\text{Mischung}} / \text{mL/g}$	$M_{w,app,Mischung} / 10^6 \text{ g/mol}$	$R_{g,app,Mischung} / \text{nm}$	$R_{h,app,Mischung} / \text{nm}$
1	0,95	0,171	4,79	48,2	40,9
2	0,91	0,172	6,89	44,5	41,1
3	0,87	0,172	9,22	44,0	39,9
4	0,84	0,173	11,5	42,7	40,6
5	0,81	0,173	13,0	41,5	38,0
6	0,78	0,174	15,6	43,2	43,1
7	0,74	0,175	21,1	43,8	44,9
8	0,69	0,176	27,9	46,0	47,4
9	0,64	0,176	37,6	47,3	48,9
10	0,60	0,177	57,8	53,7	52,1
11	0,54	0,178	132	70,4	67,3
12	0,40	0,181	1,15 10^3	148	123

Anhang F

Tabelle 1- Teil 2/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{DNA, frei}$

Col .II : $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \text{nm}$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$

Col. VI : Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{PVP26})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,90	0,01	30,9	0,0985	38,1	0,403	40,0	0,0462	9,85	0,559	8,58	0,487
2	0,81	0,01	27,5	0,172	37,9	0,406	40,7	0,0329	8,77	0,500	7,64	0,435
3	0,73	0,02	28,0	0,260	39,9	0,338	39,5	0,0405	8,93	0,512	7,78	0,446
4	0,66	0,02	28,8	0,353	39,7	0,300	40,4	0,0261	9,19	0,532	8,01	0,464
5	0,59	0,03	27,8	0,420	39,0	0,285	37,7	0,0443	8,88	0,520	7,73	0,453
6	0,53	0,03	29,9	0,536	41,6	0,218	43,1	0	9,54	0,566	8,31	0,493
7	0,44	0,04	34,8	0,791	42,9	0,154	45,0	0,0109	11,1	0,678	9,68	0,591
8	0,35	0,04	40,6	1,13	45,5	0,0990	47,5	0,0200	13,0	0,818	11,3	0,712
9	0,24	0,05	48,1	1,67	47,1	0,0640	49,0	0,0196	15,4	1,02	13,4	0,889
10	0,14	0,05	66,4	2,82	53,7	0,0236	52,1	0,0198	21,2	1,50	18,5	1,31
11	0,014	0,06	134	7,31	70,4	0,00347	67,3	0,0272	42,8	3,36	37,3	2,93
12	-0,27	0,08	931	85,9	148	0,00368	123	0,0141	297	32,2	259	28,0

Tabelle 1- Teil 3/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{Komplexe}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col .II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{Komplexe}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1}$

Col. IV : Grenzfall 2a: $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. V : Grenzfall 2b: $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. VI : Grenzfall 2a: $N_w(\text{DNA})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,222	0,00709	0,191	9,02E-4	0,952	0,0101	35,1	0,131	27,5	0,391	12,6	0,591
2	0,201	0,00658	0,162	0,00109	0,931	0,0100	31,2	0,205	24,5	0,372	11,2	0,53
3	0,175	0,00472	0,180	0,00176	1,01	0,00862	31,8	0,301	24,9	0,416	11,4	0,545
4	0,182	0,00471	0,173	0,00215	0,983	0,00747	32,7	0,406	25,6	0,475	11,7	0,568
5	0,186	0,00495	0,206	0,00320	1,04	0,00768	31,6	0,481	24,8	0,508	11,3	0,558
6	0,165	0,00393	0,148	0,00265	0,965	0,00505	34	0,613	26,6	0,603	12,2	0,611
7	0,175	0,00440	0,152	0,00345	0,954	0,00344	39,6	0,903	31	0,826	14,2	0,739

8	0,170	0,00489	0,150	0,00420	0,959	0,00212	46,1	1,29	36,1	1,13	16,5	0,902
9	0,183	0,00640	0,162	0,00566	0,962	0,00136	54,7	1,91	42,9	1,61	19,6	1,14
10	0,171	0,00723	0,186	0,00788	1,03	5,98E-4	75,6	3,21	59,2	2,64	27,1	1,71
11	0,152	0,00830	0,174	0,00950	1,05	4,25E-4	152	8,31	119	6,72	54,6	3,93
12	0,114	0,0105	0,199	0,0183	1,20	1,42E-4	1060	97,7	830	77,4	380	39,3

Tabelle 2: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP47 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,52 \pm 0,03, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PVP47} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,DNA}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,DNA}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP47} = \frac{M_{w,PVP47}}{PD_{PVP47}} = \frac{3,31 * 10^6 \text{ g/mol}}{3,9} = 8,49 * 10^5 \text{ g/mol}$$

Für den maximalen Einfluss der Gegenionenfreisetzung verwendete Größe:

$$w_{Gegenionen \text{ in PVP47}} = 0,264$$

Tabelle 2 - Teil 1/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP47 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	$w_{DNA,ges}$	(dn/dc)Mischung / mL/g	$M_{w,app,Mischung}$ / 10^6 g/mol	$R_{g,app,Mischung}$ / nm	$R_{h,app,Mischung}$ / nm
1	0,95	0,171	3,31	48,3	38,3
2	0,90	0,172	4,78	40,7	33,0
3	0,86	0,173	6,19	37,2	35,7
4	0,82	0,173	7,72	37,3	32,6
5	0,79	0,174	9,48	38,1	34,9
6	0,73	0,175	12,4	36,8	32,8
7	0,68	0,176	16,6	39,0	36,9

Anhang F

8	0,60	0,177	26,4	40,7	39,5
9	0,51	0,179	72,7	56,9	51,3
10	0,45	0,180	1,91E3	246	279

Tabelle 2 - Teil 2/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP47 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{DNA, frei}$

Col. II : $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \text{nm}$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$

Col. VI : Anzahl PVP47-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{PVP47})$

ugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,891	0,00681	15,5	0,0522	27,8	0,483	35,2	0,120	4,86	0,281	8,78	0,549
2	0,793	0,0129	15,6	0,104	26,1	0,624	30,4	0,188	4,88	0,284	8,81	0,554
3	0,705	0,0185	16,0	0,158	27,0	0,634	34,4	0,120	5,00	0,293	9,02	0,571
4	0,625	0,0234	16,9	0,222	31,0	0,545	31,5	0,130	5,28	0,312	9,53	0,609
5	0,553	0,0279	18,2	0,299	34,1	0,446	34,2	0,0881	5,72	0,343	10,3	0,667
6	0,441	0,0349	20,1	0,440	34,3	0,372	32,3	0,0786	6,28	0,388	11,3	0,751
7	0,329	0,0419	23,2	0,660	37,8	0,246	36,7	0,0380	7,26	0,467	13,1	0,901
8	0,170	0,0519	31,0	1,24	40,4	0,133	39,5	0,0136	9,72	0,681	17,5	1,30
9	-0,018	0,0636	71,5	4,17	56,9	0,0121	51,3	0,0127	22,4	1,84	40,4	3,46
10	-0,143	0,0715	1,69E3	127	246	0,00497	279	0,0665	531	50,2	958	93,5

Tabelle 2- Teil 3/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PVP47 (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{Komplexe}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{Komplexe}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1}$

Col. IV : Grenzfall 2a: $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. V : Grenzfall 2b: $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. VI : Grenzfall 2a: $N_w(\text{DNA})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,287	0,0150	0,141	0,00152	0,790	0,0140	18	0,0837	13,6	0,21	6,47	0,295
2	0,349	0,0252	0,221	0,00435	0,858	0,0212	18,1	0,134	13,6	0,225	6,5	0,298
3	0,322	0,0229	0,156	0,00224	0,785	0,0187	18,6	0,193	13,9	0,252	6,65	0,309
4	0,225	0,0122	0,215	0,00388	0,984	0,0178	19,6	0,265	14,7	0,295	7,03	0,333
5	0,183	0,00779	0,180	0,00326	0,995	0,0133	21,2	0,354	15,9	0,355	7,61	0,368

6	0,196	0,00768	0,235	0,00543	1,06	0,0118	23,3	0,517	17,5	0,466	8,36	0,422
7	0,170	0,00585	0,185	0,00531	1,03	0,00679	27	0,773	20,3	0,653	9,67	0,519
8	0,187	0,00766	0,200	0,00797	1,02	0,00338	36,1	1,44	27,1	1,15	12,9	0,782
9	0,154	0,00896	0,210	0,0122	1,11	3,62E-4	83,1	4,85	62,4	3,76	29,8	2,2
10	0,0451	0,00338	0,0310	0,00232	0,882	2,11E-4	1970	148	1480	113	707	61,9

Tabelle 3: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PEI (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,67 \pm 0,04, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PEI} = 0,181 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,DNA}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,DNA}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PEI} = \frac{M_{w,PEI}}{PD_{PEI}} = \frac{8,28 * 10^5 \text{ g/mol}}{2,7} = 3,07 * 10^5 \text{ g/mol}$$

Für den maximalen Einfluss der Gegenionenfreisetzung verwendete Größen:

$$w_{Gegenionen \text{ in } PEI} = 0,406, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PEI \text{ ohne Phosphat-Gegenionen}} = 0,200 \frac{mL}{g}$$

Tabelle 3 - Teil 1/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PEI (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA,ges}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,95	0,171	3,71	44,7	36,3
2	0,90	0,171	5,84	41,3	34,0
3	0,86	0,172	7,59	39,0	32,0
4	0,82	0,172	9,42	36,3	36,2
5	0,78	0,172	11,9	38,5	35,9
6	0,73	0,173	16,8	39,5	37,7

Anhang F

7	0,68	0,173	23,8	42,2	38,2
8	0,60	0,174	618	165	78,6

Tabelle 3 - Teil 2/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PEI (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{DNA, frei}$

Col. II : $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \text{nm}$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(DNA)$

Col. VI : Anzahl PEI-Moleküle pro Komplex $N_w(PEI)$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,841	0,0193	14,1	0,0865	24,9	0,638	33,2	0,162	5,69	0,342	15,2	1,84
2	0,697	0,0367	15,0	0,186	32,8	0,559	32,3	0,141	6,07	0,370	16,2	1,97
3	0,567	0,0524	15,0	0,277	33,7	0,503	30,9	0,126	6,07	0,379	16,2	1,99
4	0,453	0,0663	15,6	0,379	32,6	0,470	35,7	0,0699	6,29	0,406	16,8	2,07
5	0,346	0,0792	17,1	0,523	36,7	0,333	35,6	0,0561	6,92	0,464	18,4	2,30
6	0,182	0,0991	20,0	0,828	38,9	0,218	37,6	0,0299	8,08	0,587	21,5	2,76
7	0,0233	0,118	24,3	1,31	42,2	0,126	38,2	0,0183	9,81	0,789	26,2	3,47
8	-0,207	0,146	516	40,9	165	0,0100	78,6	0,00934	208	20,7	555	80,5

Tabelle 3- Teil 3/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PEI (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{Komplexe}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{Komplexe}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1}$

Col. IV : Grenzfall 2a: $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. V : Grenzfall 2b: $M_{w, Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. VI : Grenzfall 2a: $N_w(DNA)$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,360	0,0278	0,153	0,00243	0,752	0,0196	15,7	0,158	7,31	0,206	0,360	0,0278
2	0,170	0,00893	0,176	0,00317	1,01	0,0178	16,7	0,246	7,8	0,237	0,170	0,00893
3	0,156	0,00756	0,202	0,00447	1,09	0,0169	16,7	0,336	7,8	0,262	0,156	0,00756
4	0,178	0,00882	0,136	0,00339	0,914	0,0133	17,3	0,444	8,08	0,303	0,178	0,00882
5	0,138	0,00565	0,150	0,00465	1,03	0,00949	19,1	0,602	8,89	0,375	0,138	0,00565
6	0,135	0,00603	0,149	0,00618	1,03	0,00585	22,3	0,939	10,4	0,534	0,135	0,00603
7	0,129	0,00701	0,173	0,00930	1,10	0,00333	27,1	1,47	12,6	0,792	0,129	0,00701
8	0,0456	0,00361	0,422	0,0335	2,10	2,8E-4	574	45,8	268	23,5	0,0456	0,00361

Tabelle 4: DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PAMAM (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

In diesem Fall sind alle Größen der Komplexlösungen (Konzentrationen, Brechungsindexinkremente, Molmassen der Komplexlösungen) und die folgenden Berechnungen auf Basis des freien PAMAM angegeben, da dieses eingewogen wurde. Dies bedeutet, dass bei der Auswertung von einer vollständigen Gegenionenfreisetzung der PAMAM-Gegenionen ausgegangen wurde. Die Molmasse der Komplexe der Komplexe ohne jegliche Gegenionenfreisetzung (Grenzfall 1) und die daraus ermittelte Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex sind am Ende der Tabelle angegeben.

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,66 \pm 0,07, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PAMAM} = 0,230 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,DNA}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,DNA}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA}, M_{n,PAMAM} = M_{w,PAMAM} = 2,80 * 10^4 \text{ g/mol}$$

Für den maximalen Einfluss der Gegenionenfreisetzung (d.h. in diesem Fall maximaler Einfluss, wenn keine Phosphat-Gegenionen der PAMAM-Dendrimere bei der Komplexbildung freigesetzt werden) verwendete Größen:

$$\frac{w_{PAMAM + Phosphat-Gegenionen}}{w_{PAMAM ohne Gegenionen}} = 1,33, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PAMAM + Phosphat-Gegenionen} = 0,192 \frac{mL}{g},$$

$$M_{n,PAMAM} = M_{w,PAMAM} = 1,33 * 2,80 * 10^4 \text{ g/mol} = 3,71 * 10^4 \text{ g/mol}$$

Tabelle 4 - Teil 1/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PAMAM (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	$w_{DNA,ges}$	$(dn/dc)_{Mischung} / mL/g$	$M_{w,app,Mischung} / 10^6 \text{ g/mol}$	$R_{g,app,Mischung} / nm$	$R_{h,app,Mischung} / nm$
1	0,94	0,173	6,79	39,6	36,2
2	0,89	0,176	13,3	35,6	36,1
3	0,85	0,179	21,4	36,9	36,8
4	0,81	0,182	31,8	39,7	39,2
5	0,77	0,184	42,0	41,5	41,4

Anhang F

6	0,72	0,187	76,8	49,3	48,6
7	0,66	0,190	283	249	119

Tabelle 4 - Teil 2/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PAMAM (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{DNA, frei}$

Col. II : $M_w, Komplexe / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \text{nm}$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(DNA)$

Col. VI : Anzahl PAMAM-Moleküle pro Komplex $N_w(PAMAM)$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,835	0,0340	27,4	0,380	30,0	0,971	34,8	0,181	10,9	1,16	332	68,6
2	0,688	0,0643	33,7	0,912	31,7	0,668	35,6	0,0977	13,4	1,47	409	84,9
3	0,551	0,0923	40,7	1,63	35,3	0,394	36,6	0,0547	16,2	1,83	494	104
4	0,431	0,117	49,8	2,62	39,0	0,225	39,1	0,0235	19,8	2,34	605	129
5	0,320	0,140	57,0	3,68	41,2	0,149	41,4	0,00787	22,7	2,81	693	149
6	0,174	0,170	89,2	7,31	49,2	0,0472	48,6	0,0154	35,5	4,76	1080	240
7	0,00324	0,205	284	29,8	249	0,0722	119	0,130	113	16,8	3450	797

Tabelle 4- Teil 3/3 : DNA (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und PAMAM(c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{Komplexe}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{Komplexe}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1}$

Col. IV : Molmasse KEINE Gegenionen freigesetzt –Fall I

Col. V : Molmasse KEINE Gegenionen freigesetzt –Fall II

Zugabe No.	I		II		III		IV		V	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,402	0,0394	0,257	0,00537	0,861	0,0282	27,9	0,380	9,99	1,16
2	0,419	0,0288	0,296	0,00838	0,890	0,0189	34,3	0,912	12,3	1,47
3	0,367	0,0192	0,329	0,0133	0,964	0,0109	41,4	1,63	14,8	1,83
4	0,333	0,0184	0,330	0,0173	0,997	0,00578	50,8	2,62	18,2	2,34
5	0,324	0,0212	0,319	0,0206	0,995	0,00361	58,2	3,68	20,8	2,81
6	0,296	0,0243	0,308	0,0252	1,01	0,00102	91,0	7,31	32,6	4,76
7	0,00729	7,65E-4	0,0668	0,00701	2,09	0,00237	289	29,8	104	16,8

Tabelle 5: PVP26 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter PVP26-Bürsten verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,23 \pm 0,05, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,PVP26} = 10,1 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,PVP26}} = 94,7 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,PVP26}^{-1} = 51,5 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}} = \frac{10,1 * 10^6 \text{ g/mol}}{5,3} = 1,91 * 10^6 \text{ g/mol}$$

Tabelle 5 - Teil 1/3 : PVP26 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,09	0,186	14,0	74,0	57,0
2	0,16	0,185	21,0	64,9	57,0
3	0,23	0,184	51,9	87,1	69,5
4	0,28	0,183	609	212	147

Tabelle 5 - Teil 2/3 : PVP26 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : w_{PVP26,frei}

Col. II : M_{w,Komplexe} / 10⁶ g/mol

Col. III : <R_g²>_{z,Komplexe}^{0,5} / nm

Col. IV : <R_h⁻¹>_{z,Komplexe}⁻¹ / nm

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex N_w(DNA)

Zugabe No.	I		II		III		IV		V	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,609	0,0851	20,3	2,32	51,5	6,91	62,4	1,49	2,82	0,692
2	0,304	0,151	26,0	3,61	58,0	4,27	58,1	0,658	3,60	0,929
3	0	0,217	51,9	9,50	87,1	0,351	69,5	1,07	7,19	2,04
4	-0,217	0,265	497	111	212	0,391	146	1,24	68,9	21,4

Tabelle 5 - Teil 3/3 : PVP26 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex N_w(PVP26)

Anhang F

Col. II : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_g) / \text{g/cm}^3$
 Col. III : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_h) / \text{g/cm}^3$
 Col. IV : $\langle R_g^2 \rangle_{z,\text{Komplexe}}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z,\text{Komplexe}}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III		IV	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	8,22	1,08	0,0589	0,0246	0,0332	0,00448	0,826	0,113
2	10,5	1,61	0,0527	0,0137	0,0525	0,00750	0,999	0,0743
3	21,0	4,07	0,0311	0,00571	0,0613	0,0116	1,25	0,0200
4	201	46,6	0,0208	0,00463	0,0634	0,0142	1,45	0,0126

Tabelle 6: PVP47 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter PVP47-Bürsten verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,30 \pm 0,05, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PVP47} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,PVP47} = 3,31 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,PVP47}} = 45,8 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,PVP47}^{-1} = 33,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP47} = \frac{M_{w,PVP47}}{PD_{PVP47}} = \frac{3,31 * 10^6 \text{ g/mol}}{3,9} = 8,49 * 10^5 \text{ g/mol}$$

Tabelle 6- Teil 1/3 : PVP47 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,08	0,187	6,08	44,7	36,4
2	0,15	0,185	8,65	47,2	41,4
3	0,21	0,184	12,0	46,5	44,9
4	0,26	0,183	49,3	82,3	66,8
5	0,30	0,183	99,5	118	82,5

Tabelle 6 - Teil 2/3 : PVP47 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : w_{PVP47, frei}
 Col. II : M_{w, Komplexe} / 10⁶ g/mol

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \text{nm}$ Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1} / \text{nm}$ Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,733	0,0444	14,2	1,91	43,9	0,0787	39,1	0,290	2,56	0,549
2	0,500	0,0833	14,3	1,94	47,5	0,0697	44,1	0,600	2,59	0,556
3	0,300	0,117	15,9	2,23	46,6	0,0278	46,5	0,688	2,88	0,627
4	0,133	0,144	56,8	9,44	82,6	0,294	67,5	0,721	10,3	2,42
5	0	0,167	99,5	17,0	118	0,295	82,5	0,724	18,0	4,29

Tabelle 6 - Teil 3/3 : PVP47 (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Anzahl PVP47-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{PVP47})$ Col. II : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_g) / \text{g/cm}^3$ Col. III : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_h) / \text{g/cm}^3$ Col. IV : $\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III		IV	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	11,7	1,78	0,0661	0,00895	0,0942	0,0129	1,12	0,00860
2	11,8	1,81	0,0528	0,00716	0,0661	0,00936	1,08	0,0147
3	13,2	2,07	0,0626	0,00875	0,0630	0,00925	1,00	0,0149
4	46,8	8,47	0,0400	0,00666	0,0733	0,0124	1,22	0,0138
5	82,1	15,2	0,0240	0,00410	0,0702	0,0121	1,43	0,0130

Tabelle 7: PEI (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter PEI-Bürsten verwendete Größen (für die Subtraktion des Beitrags unkomplexierter PEI-Bürsten müssen die gemessenen Werte der aggregierten PEI-Bürste in Natriumphosphat-Puffer bei pH 7 verwendet werden):

$$w_{\text{DNA, ges. krit}} = 0,24 \pm 0,05, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{DNA}} = 0,170 \frac{\text{mL}}{\text{g}}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{\text{PEI}} = 0,181 \frac{\text{mL}}{\text{g}},$$

$$M_{w, \text{PEI}} = 1,19 * 10^6 \frac{\text{g}}{\text{mol}}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{PEI}}} = 46,0 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{PEI}}^{-1} = 28,8 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen (für die Bestimmung der Anzahl PEI-Ketten pro Komplex wird die theoretische Molmasse der PEI-Bürsten):

Anhang F

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA}$$

$$M_{n,PEI} = \frac{M_{w,PEI}}{PD_{PEI}} = \frac{8,28 \cdot 10^5 \text{ g/mol}}{2,7} = 3,07 \cdot 10^5 \text{ g/mol}$$

Tabelle 7- Teil 1/3 : PEI (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w_{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	$M_{w,app,Mischung}$ / 10^6 g/mol	$R_{g,app,Mischung}$ / nm	$R_{h,app,Mischung}$ / nm
1	0,07	0,180	4,98	38,8	37,0
2	0,13	0,180	9,31	40,5	37,2
3	0,19	0,179	15,2	42,0	40,3
4	0,24	0,178	27,3	51,4	46,8
5	0,28	0,178	2,92E3	155	82,1

Tabelle 7 - Teil 2/3 : PEI(c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{PEI, frei}$

Col. II : $M_{w,Komplexe} / 10^6$ g/mol

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z,Komplexe}^{0,5} / \text{nm}$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z,Komplexe}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,708	0,0608	14,5	2,85	37,1	0,175	39,3	0,253	2,09	0,599
2	0,458	0,113	16,4	3,26	40,1	0,0982	37,9	0,187	2,37	0,682
3	0,208	0,165	19,0	3,82	41,9	0,0574	40,6	0,223	2,75	0,795
4	0	0,208	27,3	5,60	51,4	0,0478	46,8	0,274	3,95	1,15
5	-0,167	0,243	2,49E3	534	155	0,00724	82,1	0,0156	360	108

Tabelle 7 - Teil 3/3 : PEI (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Anzahl PEI-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{PEI})$

Col. II : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{Komplexe}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. III : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{Komplexe}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. IV : $\langle R_g^2 \rangle_{z,Komplexe}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z,Komplexe}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III		IV	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	35,8	7,44	0,112	0,0221	0,0944	0,0187	0,945	0,00754
2	40,6	8,51	0,101	0,0200	0,119	0,0238	1,06	0,00582

3	47,1	9,96	0,102	0,0205	0,113	0,0227	1,03	0,00585
4	67,7	14,6	0,0797	0,0164	0,106	0,0217	1,10	0,00650
5	6,17E3	1,38E3	0,265	0,0568	1,78	0,383	1,89	3,69E-4

Tabelle 8: PAMAM (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

In diesem Fall sind alle Größen der Komplexlösungen (Konzentrationen, Brechungsindexinkremente, Molmassen der Komplexlösungen) und die folgenden Berechnungen auf Basis des freien PAMAM angegeben, da dieses eingewogen wurde. Dies bedeutet, dass bei der Auswertung von einer vollständigen Gegenionenfreisetzung der PAMAM-Gegenionen ausgegangen wurde. Bei Überschuss Polykation ist dies theoretisch ausgeschlossen.

Dieses Vorgehen hat jedoch auf die ausschließlich beeinflussten Größen „Molmasse der Komplexe der Komplexe“ und „Anzahl Ketten pro Komplex“ im Rahmen des Fehlers keinen Einfluss, wie für die Berechnungen ohne jegliche Gegenionenfreisetzung (Grenzfall 1) und die daraus ermittelte Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex am Ende der Tabelle gezeigt.

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,32 \pm 0,06, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PAMAM} = 0,230 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,PAMAM} = 3,42 * 10^4 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,PAMAM}} = 0; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,PAMAM}^{-1} = 3,42 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA}, M_{n,PAMAM} = M_{w,PAMAM} = 2,80 * 10^4 \text{ g/mol}$$

Für den maximalen Einfluss der Gegenionenfreisetzung (d.h. in diesem Fall maximaler Einfluss, wenn keine Phosphat-Gegenionen der PAMAM-Dendrimere bei der Komplexbildung freigesetzt werden) verwendete Größen:

$$\frac{w_{PAMAM + Phosphat-Gegenionen}}{w_{PAMAM \text{ ohne Gegenionen}}} = 1,33, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PAMAM + Phosphat-Gegenionen} = 0,192 \frac{mL}{g},$$

$$M_{n,PAMAM} = M_{w,PAMAM} = 1,33 * 2,80 * 10^4 \text{ g/mol} = 3,71 * 10^4 \text{ g/mol}$$

Anhang F

Tabelle 8- Teil 1/3 : PAMAM (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w_{DNA}	$(dn/dc)_{Mischung} / mL/g$	$M_{w,app,Mischung} / 10^6 g/mol$	$R_{g,app,Mischung} / nm$	$R_{h,app,Mischung} / nm$
1	0,07	0,226	3,76	39,7	33,7
2	0,12	0,223	12,1	54,8	38,2
3	0,17	0,220	33,4	70,4	47,9
4	0,22	0,217	57,4	85,5	55,7
5	0,26	0,214	99,8	95,1	66,0
6	0,32	0,211	206	120	79,3

Tabelle 8 - Teil 2/3 : PAMAM (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{PAMAM, frei}$

Col. II : $M_{w, Komplexe} / 10^6 g/mol$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / nm$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1} / nm$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(DNA)$

Col. VI : Anzahl PAMAM-Moleküle pro Komplex $N_w(PAMAM)$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,781	0,0410	19,6	4,33	39,8	0,00777	36,1	0,134	3,77	1,09	475	113
2	0,625	0,0703	36,0	7,97	54,9	0,00582	38,9	0,0858	6,94	2,01	874	208
3	0,469	0,0996	68,3	15,1	70,4	0,00393	48,2	0,0706	13,2	3,82	1660	396
4	0,313	0,129	88,3	19,6	85,5	0,00370	55,9	0,0741	17,0	4,94	2140	511
5	0,188	0,152	127	28,2	95,1	0,00286	66,1	0,0728	24,5	7,11	3090	736
6	0	0,188	206	45,7	120	0,00222	79,3	0,0652	39,7	11,5	5000	1190

Tabelle 8- Teil 3/3 : PAMAM (c = 2,5 mg/L) vorgelegt und DNA(c = 2,5 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{Komplexe}(R_g) / g/cm^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{Komplexe}(R_h) / g/cm^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, Komplexe}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, Komplexe}^{-1}$

Col. IV : Molmasse KEINE Gegenionen freigesetzt –Fall I

Col. V : Molmasse KEINE Gegenionen freigesetzt –Fall II

Zugabe No.	I		II		III		IV		V	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,123	0,0271	0,165	0,0366	1,10	0,00412	20,5	4,33	3,24	1,09
2	0,0864	0,0191	0,241	0,0535	1,41	0,00311	37,7	7,97	5,96	2,01
3	0,0775	0,0172	0,241	0,0535	1,46	0,00214	71,7	15,1	11,3	3,82

4	0,0560	0,0124	0,201	0,0445	1,53	0,00203	92,6	19,6	14,6	4,94
5	0,0585	0,0130	0,174	0,0387	1,44	0,00158	133	28,2	21	7,11
6	0,0473	0,0105	0,164	0,0363	1,51	0,00124	216	45,7	34,1	11,5

Tabelle 9: DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,53 \pm 0,05, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,DNA}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,DNA}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}} = \frac{10,1 * 10^6 \text{ g/mol}}{5,3} = 1,91 * 10^6 \text{ g/mol}$$

Tabelle 9- Teil 1/3 : DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,93	0,171	19,5	71,1	65,1
2	0,87	0,172	33,3	70,3	64,8
3	0,82	0,173	50,8	71,3	71,7
4	0,78	0,174	63,5	71,6	69,3
5	0,73	0,175	79,0	74,9	70,0
6	0,70	0,175	99,5	83,6	73,6
7	0,65	0,176	130	88,9	76,6
8	0,59	0,177	187	96,9	82,9
9	0,53	0,178	304	106	94,1
10	0,48	0,179	806	146	149

Tabelle 9 - Teil 2/3 : DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : w_{DNA,frei}

Col .II : M_{w,Komplexe} / 10⁶ g/mol

Col. III : <R_g²>_{z,Komplexe}^{0,5} / nm

Anhang F

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$

Col. VI : Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{PVP26})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,851	0,0158	112	0,959	71,5	0,0684	67,8	0,389	35,7	3,39	27,6	2,95
2	0,723	0,0294	108	1,82	70,5	0,0343	66,0	0,229	34,6	3,31	26,7	2,88
3	0,617	0,0407	123	3,00	71,4	0,0261	72,7	0,214	39,1	3,81	30,2	3,30
4	0,532	0,0498	127	3,96	71,7	0,0210	69,9	0,147	40,6	4,03	31,4	3,48
5	0,426	0,0611	131	5,30	75,0	0,0239	70,4	0,116	41,8	4,29	32,3	3,67
6	0,362	0,0679	150	6,99	83,7	0,0334	73,9	0,106	47,8	5,03	36,9	4,29
7	0,255	0,0792	170	9,87	89,0	0,0300	76,8	0,0871	54,2	6,01	41,9	5,08
8	0,128	0,0928	212	15,7	96,9	0,0245	83,0	0,0711	67,5	8,11	52,2	6,77
9	0	0,106	304	28,5	106	0,0169	94,1	0,0574	97,1	12,9	75,0	10,6
10	-0,106	0,118	736	83,8	146	0,0103	149	0,0645	235	34,7	182	28,3

Tabelle 9- Teil 3/3 : DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,121	0,00110	0,143	0,00274	1,06	0,00614
2	0,123	0,00207	0,149	0,00295	1,07	0,00374
3	0,133	0,00326	0,127	0,00329	0,983	0,00292
4	0,137	0,00427	0,148	0,00470	1,03	0,00218
5	0,123	0,00498	0,149	0,00607	1,07	0,00179
6	0,101	0,00473	0,147	0,00689	1,13	0,00169
7	0,0956	0,00556	0,149	0,00866	1,16	0,00137
8	0,0921	0,00684	0,147	0,0109	1,17	0,00104
9	0,101	0,00949	0,145	0,0136	1,13	7,1E-4
10	0,0938	0,0107	0,0883	0,0101	0,980	4,3E-4

Tabelle 10: DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter DNA verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,56 \pm 0,10, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,DNA} = 1,66 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,DNA}} = 65,6 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,DNA}^{-1} = 43,1 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}} = \frac{10,1 * 10^6 \text{ g/mol}}{5,3} = 1,91 * 10^6 \text{ g/mol}$$

Tabelle 10- Teil 1/3 : DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,92	0,171	91,6	128	120
2	0,85	0,173	154	130	119
3	0,79	0,174	154	145	118
4	0,74	0,175	141	129	107
5	0,66	0,176	238	134	112
6	0,56	0,178	489	154	131

Tabelle 10 - Teil 2/3 : DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : w_{DNA,frei}

Col. II : M_{w,Komplexe} / 10⁶ g/mol

Col. III : <R_g²>_{z,Komplexe}^{0,5} / nm

Col. IV : <R_h⁻¹>_{z,Komplexe}⁻¹ / nm

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex N_w(DNA)

Col. VI : Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex N_w(PVP26)

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,818	0,0413	461	9,78	129	0,247	123	1,07	156	28,0	106	24,3
2	0,659	0,0775	423	17,9	130	0,141	120	0,594	143	26,2	97,6	22,6
3	0,523	0,108	306	19,3	145	0,156	119	0,544	103	19,6	70,7	16,7
4	0,409	0,134	229	18,8	129	0,132	108	0,433	77,2	15,2	52,9	12,8

Anhang F

5	0,227	0,176	301	35,8	134	0,0748	112	0,261	102	21,8	69,6	17,8
6	0	0,227	489	87,0	154	0,0383	131	0,162	165	41,6	113	32,6

Tabelle 10- Teil 3/3 : DNA (c = 25 mg/L) vorgelegt und PVP26 (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z,\text{Komplexe}}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z,\text{Komplexe}}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,0857	0,00188	0,0976	0,00327	1,04	0,00927
2	0,0757	0,00322	0,0958	0,00430	1,08	0,00546
3	0,0396	0,00249	0,0718	0,00463	1,22	0,00572
4	0,0421	0,00346	0,0726	0,00603	1,20	0,00497
5	0,0496	0,00589	0,0844	0,0101	1,19	0,00286
6	0,0531	0,00944	0,0862	0,0154	1,18	0,00148

Tabelle 11: PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter PVP26 verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,26 \pm 0,05, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,PVP26} = 10,1 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,PVP26}} = 94,7 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,PVP26}^{-1} = 51,5 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}} = \frac{10,1 * 10^6 \text{ g/mol}}{5,3} = 1,91 * 10^6 \text{ g/mol}$$

Tabelle 11- Teil 1/3 : PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,06	0,187	29,7	96,2	69,0
2	0,11	0,186	65,3	110	80,3

3	0,15	0,185	102	117	88,0
4	0,19	0,185	143	123	---
5	0,23	0,184	217	141	104
6	0,26	0,183	282	153	117
7	0,31	0,182	1,08E3	209	197

Tabelle 11 - Teil 2/3 : PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : $w_{\text{PVP26, frei}}$

Col. II : $M_w, \text{Komplexe} / 10^6 \text{ g/mol}$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \text{nm}$

Col. IV : $\langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1} / \text{nm}$

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{DNA})$

Col. VI : Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex $N_w(\text{PVP26})$

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,769	0,0444	98,4	17,8	96,7	0,0418	78,6	0,859	15,4	4,07	38,2	7,40
2	0,577	0,0814	144	27,2	111	0,219	85,1	0,784	22,6	6,08	56,1	11,2
3	0,423	0,111	173	32,9	118	0,247	90,9	0,822	27,1	7,32	67,1	13,6
4	0,269	0,141	194	37,3	124	0,267	---	---	30,5	8,27	75,5	15,3
5	0,115	0,170	245	47,6	141	0,323	105	0,898	38,4	10,5	95,3	19,6
6	0	0,192	282	55,0	153	0,342	117	1,08	44,2	12,1	110	22,6
7	-0,192	0,229	899	180	209	0,189	196	1,25	141	39,0	349	73,6

Tabelle 11- Teil 3/3 : PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 25 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,0431	0,00781	0,0803	0,0148	1,23	0,0135
2	0,0414	0,00778	0,0930	0,0177	1,31	0,0123
3	0,0418	0,00796	0,0912	0,0175	1,30	0,0120
4	0,0409	0,00785	--	--	--	--
5	0,0345	0,00670	0,0850	0,0166	1,35	0,0120
6	0,0312	0,00609	0,0698	0,0137	1,31	0,0124
7	0,0391	0,00782	0,0473	0,00951	1,07	0,00686

Tabelle 12: PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Für die Auswertung der Streuung der Mischung und die Subtraktion des Streubeitrags unkomplexierter PVP26 verwendete Größen:

$$w_{DNA,ges,krit} = 0,29 \pm 0,06, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{DNA} = 0,170 \frac{mL}{g}, \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PVP26} = 0,188 \frac{mL}{g},$$

$$M_{w,PVP26} = 10,1 * 10^6 \frac{g}{mol}; \sqrt{\langle R_g^2 \rangle_{z,PVP26}} = 94,7 \text{ nm}; \langle R_h^{-1} \rangle_{z,PVP26}^{-1} = 51,5 \text{ nm}$$

Für die Berechnung der Anzahl Ketten pro Komplex verwendete Größen:

$$w_{DNA,Komplexe} = w_{krit}, M_{n,DNA} = M_{w,DNA},$$

$$M_{n,PVP26} = \frac{M_{w,PVP26}}{PD_{PVP26}} = \frac{10,1 * 10^6 \text{ g/mol}}{5,3} = 1,91 * 10^6 \text{ g/mol}$$

Tabelle 12- Teil 1/3 : PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Zugabe No.	w _{DNA}	(dn/dc) _{Mischung} / mL/g	M _{w,app,Mischung} / 10 ⁶ g/mol	R _{g,app,Mischung} / nm	R _{h,app,Mischung} / nm
1	0,09	0,186	84,9	126	117
2	0,17	0,185	185	147	131
3	0,23	0,184	326	161	145
4	0,29	0,183	536	181	158
5	0,35	0,182	1330	245	225
6	0,44	0,180	2800	277	231

Tabelle 12 - Teil 2/3 : PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : w_{PVP26,frei}

Col .II : M_{w,Komplexe} / 10⁶ g/mol

Col. III : <R_g²>_{z,Komplexe}^{0,5} / nm

Col. IV : <R_h⁻¹>_{z,Komplexe}⁻¹ / nm

Col. V : Anzahl DNA-Moleküle pro Komplex N_w(DNA)

Col. VI : Anzahl PVP26-Moleküle pro Komplex N_w(PVP26)

Zugabe No.	I		II		III		IV		V		VI	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,690	0,0642	261	54,8	128	0,249	132	1,76	45,5	13,4	97,1	22,0
2	0,414	0,121	316	66,8	148	0,306	136	1,56	55,1	16,3	118	26,8
3	0,207	0,164	413	88,1	161	0,283	147	1,45	72,2	21,4	154	35,3
4	0	0,207	536	115	181	0,271	158	1,35	93,6	27,9	200	46,1

5	-0,207	0,250	1090	236	245	0,211	224	1,52	191	57,1	406	94,5
6	-0,517	0,314	1790	390	277	0,150	229	0,976	314	94,1	669	156

Tabelle 12- Teil 3/3 : PVP26 (c = 25 mg/L) vorgelegt und DNA (c = 100 mg/L) zugetropft – bei pH 7

Col. I : Dichte auf Basis des Trägheitsradius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_g) / \text{g/cm}^3$

Col. II : Dichte auf Basis des hydrodyn. Radius $\rho_{\text{Komplexe}}(R_h) / \text{g/cm}^3$

Col. III : $\langle R_g^2 \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{0,5} / \langle R_h^{-1} \rangle_{z, \text{Komplexe}}^{-1}$

Zugabe No.	I		II		III	
	Wert	Fehler	Wert	Fehler	Wert	Fehler
1	0,0487	0,0102	0,0446	0,00954	0,971	0,0131
2	0,0386	0,00817	0,0497	0,0107	1,09	0,0127
3	0,0390	0,00832	0,0518	0,0112	1,10	0,0111
4	0,0358	0,00769	0,0539	0,0116	1,15	0,00992
5	0,0295	0,00638	0,0386	0,00840	1,09	0,00748
6	0,0336	0,00730	0,0590	0,0128	1,21	0,00517

Anhang G

Verwendete Chemikalien und Geräte

G.1 Verwendete Chemikalien

Sofern nicht anders angegeben wurden alle verwendeten Chemikalien von den Herstellern Sigma-Aldrich, Merck und Fischer Scientific in der Qualität „zur Analyse“ oder „reinst“ bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Abweichend wurden für die Polymerisation des Makromonomers (Kapitel 2, Anhang B) Acetonitril der Qualität „für die DNA-Synthese, 99,9% (GC)“ (Sigma-Aldrich) und für die Komplexierungen in DMF (Kapitel 4) Lithiumbromid der Qualität „wasserfrei, 99,9999%“ (Sigma-Aldrich, Kat.-No. 429465) verwendet.

Alle in dieser Arbeit verwendeten, wässrigen Lösungen wurden mit Milli-Q Wasser als Lösungsmittel hergestellt. Dieses wurde aus Leitungswasser mit Hilfe eines Elix[®] 10 Wasseraufbereitungssystem und eines daran angeschlossenes Milli-Q[®] Filtersystems, arbeitend auf dem Umkehr-Osmose-Prinzip und ausgestattet mit vier Patronen (1 Super-C Aktivkohlepatrone, 2 Ion-Ex Patronen und 1 Organex-Q Patrone), alles von der Firma Millipore, Schwalbach, gewonnen.

G.2 Verwendete Geräte und Probenpräparation

Die **statischen Lichtstremessungen** wurden an einer Anlage durchgeführt, die mit einem Helium-Neon-Laser (JDS Uniphase 1145p-3083, Wellenlänge 632,8 nm, Leistung 25 mW) betrieben wird. Die Detektionseinheit besteht aus einem Goniometer ALV-SP-86, einem ALV/High QEAPD Avalanche-Photodioden / Faseroptikdetektionssystem und dem Digital Korrelator / Strukturator ALV-3000, alles von der Firma ALV, Langen. Für die **dynamischen Lichtstremessungen** wurde neben der beschriebenen Anlage eine weitere Anlage verwendet. Diese bestand aus einem Goniometer SP-125 mit ALV/SO-SIPD Single Photon Detector (Lichtwellenleiter-Optik), einem ALV-5000 / EPP / 60X0 Multitau Realtime Digital Correlator, alles von der Firma ALV, Langen, und wurde mit einem Argon-Ionen-Laser (SpectraPhysics Stabilité 2060-4S, Wellenlänge 514,5 nm, Leistung 500 mW) betrieben.

Vermessen wurden die Lösungen in Küvetten aus Quarzglas der Firma Hellma, Müllheim, bei einer Messtemperatur von 20°C. Bevor die filtrierte Polymerprobe in die Küvetten gegeben wurde, wurden diese mit Aceton staubfrei gespült. Wiesen die Küvetten Rückstände früher vermessener Proben auf (Prüfverfahren: Messungen der Korrelationsfunktion von reinem Wasser bei einem Streuwinkel von 15° für einige Minuten), so wurde über Nacht eine Lösung von konzentrierter Schwefelsäure / Wasserstoffperoxid (aq, 35%-ig) im Volumenverhältnis von ca. 2:1 in die Küvetten gegeben.

Für die Probenpräparation wurden die Homopolymer-Lösungen, wenn nicht anders angegeben, mit Filtern des Typs Millex-LG (Porengröße 0,20 µm, Material der Membran: hydrophilisiertes Teflon, Durchmesser der Membran 4, 13 oder 25 mm) oder des Typs Millex-LCR (Porengröße 0,45 µm, identische Membran wie Millex-LG, Durchmesser der Membran 25 mm) der Firma Millipore, Schwalbach, in einer staubfreien Flow-Box filtriert.

Für die Bestimmung des **Brechungsindexinkrements** wurde ein in diesem Arbeitskreis nach [Beck95] konstruiertes Gerät verwendet, welches nach dem interferometrischen Prinzip bei einer Wellenlänge von 632,8 nm arbeitet. Vermessen wurden mindestens 5 Lösungen unterschiedlicher Konzentration.

Die **AFM**-Aufnahmen wurden mit einem MultiModeTM Scanning Probe Microscope, ausgestattet mit einem Nanoscope IIIa-Controller, der Firma Digital Instruments, Santa Barbara, USA, im tappingTM-Modus erhalten. Die verwendeten Cantilever (Resonanzfrequenz ungefähr 300 kHz, Spitzenmaterial Silicium) wurden von der Firma Nanosensors, Wetzlar-Blankenfeld, bezogen. Als Substrat diente frisch gespaltenes Mica, zugeschnitten auf eine Größe von ca. 1 cm².

Die in Kapitel 2 untersuchten Homopolymere wurden mit Hilfe von Spincoating auf dem Substrat aufgebracht, wobei 15 µL der jeweiligen Lösung mit einer Konzentration von ca. 10 µg/mL bei 4000 bis 5000 Umdrehungen pro Minute aufgetragen wurden.

Die in Kapitel 3 untersuchten Komplexlösungen mit DNA-Überschuss wurden durch Adsorption der Lösung erhalten. Hierzu wurden 5 µL der Komplexlösung ($c(\text{ges}) = 2,5 \text{ mg/L}$) mit 5 µL 10 mM MgCl₂ (aq) gemischt, mehrmals durch Aufziehen mit der Pipette durchmischt und davon 7 µL möglichst gleichmäßig auf das Substrat aufgebracht. Nach 5 Minuten Einwirkzeit wurde die Oberfläche mehrmals mit reinem Milli-Q-Wasser abgespült, bevor sie im Stickstoffstrom getrocknet wurde.

Anhang G

Für die Durchführung der **Agarose-Gelelektrophorese** wurde das System PerfectBlue™ Horizontal Maxi Electrophoresis System, Model Maxi M und E-Box-1000/20M-gel imaging system (peqlab, Erlangen, Germany) verwendet. Die erhaltenen Bilder der Gele wurden mit der PC-Software Scion image (Scion Corporation, Frederick, MD) ausgewertet.

Nach dem Mischen der DNA- oder Komplexlösung (35 µL) mit 15 µL des Ladepuffers (0,1 M Dinatrium-EDTA and 40 w.-% Sucrose) – die exakten Volumina wurden gravimetrisch bestimmt – wurde die gesamte Lösung auf das Agarose-Gel (0,7 – 1,0 w.-%) aufgetragen und die Elektrophorese für ca. 1,5 Stunden bei 100mA durchgeführt.

Die **MALDI-TOF-MS**-Spektren wurden an einem TofSpec E der Firma Micromass im Reflectron-Mode mit einem Multi-Channel Plate Detector und eingeschalteter Matrix-Unterdrückung aufgenommen (Probenpräparation: siehe Anhang B).

GPC-Messungen wurden mit Hilfe von Säulensätzen auf Basis von Polystyrol-Gelen (Oligomer-Setup in THF: 100 Å, 500Å, 10³Å und Polymer-Setup in THF oder Chloroform: 10³Å, 10⁴Å, 10⁵Å, 10⁶Å) durchgeführt.

Zur Durchführung der **IR-Spektroskopie** wurde ein Vector33 FT-IR-Spektrometer der Firma Boker mit ATR-Einheit der Firma Harrick verwendet.

Die **Elementaranalysen** wurden von der Firma Mikroanalytisches Labor Pascher, Remagen-Bandorf durchgeführt.

Für die weiteren in Auftrag gegebene Analysen wurden folgende Geräte verwendet:

TGA-Messung (Thermogravimetrische Analyse): Pyris 6 TGA (Perkin Elmer).

¹H-NMR (400 MHz) und **¹³C-NMR (100 MHz)**: AM 400 Spektrometer (Bruker).

¹H-MAS-NMR (700 MHz): DRX-700 Spektrometer (Bruker).

ICP-MS: Element 2 (Thermo Finnigan MAT GmbH).

Literaturverzeichnis

- [Aoi96] K. Aoi, M. Okada, *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 151.
- [Beck95] A. Becker, W. Köhler, B. Müller, *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 600.
- [Beer96] M. Beer, *Dissertation*, Universität Bayreuth **1996**.
- [Beno72] H. Benoît, D. Froelich, in M. B. Huglin (Ed.) *Light Scattering from Polymer Solutions* Academic Press: London, **1972**.
- [Bloo97] V. A. Bloomfield, *Biopolymers* **1997**, *44*, 269.
- [Bloo96] V. A. Bloomfield, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 334.
- [Bloo91] V. A. Bloomfield, *Biopolymers* **1991**, *31*, 1471.
- [Boec04] S. Boeckle, K. von Gersdorff, S. van der Piepen, C. Culmsee, E. Wagner, M. Ogris, *J. Gene Med.* **2004**, *6*, 1102.
- [Börn01] H. G. Börner, K. Beers, K. Matyjaszewski, S. S. Sheiko, M. Möller, *Macromolecules* **2001**, *34*, 4375.
- [Bork97] M. Borkovec, G. J. M. Koper, *Macromolecules* **1997**, *30*, 2151.
- [Clam03] J.P. Clamme, J. Azoulay, Y. Mély, *Biophysical J.* **2003**, *84*, 1960.
- [Culb02] B. M. Culbertson, *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 579.
- [Daut00] H. Dautzenberg, *Macromol. Symp.* **2000**, *162*, 1.
- [Daut03] H. Dautzenberg, J. Kriz, *Langmuir* **2003**, *19*, 5204.
- [Deff99] A. Deffieux, M. Schappacher, *Macromolecules* **2000**, *33*, 7371.
- [DeRo06] J. DeRouchey, G. F. Walker, E. Wagner, J. O. Rädler, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 4548.
- [Diab04] C. Diab, Y. Akiyama, K. Kataoka, F. M. Winnik, *Macromolecules* **2004**, *37*, 2556.
- [Diet74] W. Dietrich, A. Basch, *Angew. Makromol. Chem.* **1974**, *40/41*, 159.
- [Dusc03] S. Duschner, *Diplomarbeit*, Universität Mainz **2003**.
- [Dusc07] S. Duschner, *laufende Dissertation*, Universität Mainz.
- [Dzie97] P. Dziezok, S. S. Sheiko, K. Fischer, M. Schmidt, M. Möller, *Ang. Chem.* **1997**, *109*, 2894.
- [Edwa64] O.W. Edwards, R.L. Dunn, J.D. Hatfield, *J. Chem. Eng. Data* **1964**, *9*, 508.
- [Else23] H.M. Elsey, G.L. Lynn, *J. Phys. Chem.* **1923**, *27*, 342.

Literaturverzeichnis

- [Fish96] D. Fishman, G. Patterson, *Biopolymers* **1996**, 38, 535.
- [Godb01] W. T. Godbey, A. G. Mikos, *J. Control. Release* **2001**, 72, 115.
- [Göss02a] I. Gössl, L. Shu, A. D. Schlüter, J. P. Rabe, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6860.
- [Göss02b] I. Gössl, L. Shu, A. D. Schlüter, J. P. Rabe, *Single Molecules* **2002**, 3, 315.
- [Groß96] A. Groß, G. Maier, O. Nuyken, *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, 197, 2811.
- [Haag06] R. Haag, F. Kratz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1198.
- [Hud97] N. V. Hud, K. H. Downing, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, 98, 14925.
- [Isla05] M. T. Islam, X. Shi, L. Balogh, J. R. Baker, Jr., *Anal. Chem.* **2005**, 77, 2063.
- [Ito98] K. Ito, *Prog. Polym. Sci.* **1998**, 23, 581.
- [Joll76] D. Jolly, H. Eisenberg, *Biopolymers* **1976**, 15, 61.
- [Kari97] N. Karibyants, H. Dautzenberg, H. Cölfen, *Macromolecules* **1997**, 30, 7803.
- [Koba87] S. Kobayashi, K. Hiroishi, M. Tokunoh, T. Saegusa, *Macromolecules* **1987**, 20, 1496.
- [Koba89] S. Kobayashi, E. Masuda, S. Shoda, Y. Shimano, *Macromolecules* **1989**, 22, 2878.
- [Koba90] S. Kobayashi, *Prog. Polym. Sci.* **1990**, 15, 751.
- [Koch93] C. Koch-Brandt, *Gentransfer* Georg Thieme Verlag: Stuttgart, **1993**.
- [Kope03] G. J. M. Koper, R. C. van Duijvenbode, D. D. P. W. Stam, U. Steuerle, M. Borkovec, *Macromolecules* **2003**, 36, 2500.
- [Krat87] P. Kratochvil, *Classical Light Scattering from Polymer Solutions* Elsevier: Amsterdam, **1987**.
- [Kroh07] K. Krohne, *laufende Diplomarbeit*, Universität Mainz.
- [LabT06] Lab Tools – Tabellen für das Labor, Merck KGaA, 23. Oktober **2006**.
- [Lee02] I. Lee, B. D. Athey, A. W. Wetzell, W. Meixner, J. R. Baker, Jr., *Macromolecules* **2002**, 35, 4510.
- [Luge97] K. Luger, A. W. Mäder, R. K. Richmond, D. F. Sargent, T. J. Richmond, *Nature* **1997**, 389, 251.
- [Luo00] D. Luo, W. M. Saltzman, *Nat. Biotech.* **2000**, 18, 33.
- [Mait04] P. K. Maiti, T. Cagin, G. Wang, W. A. Goddard, III, *Macromolecules* **2004**, 37, 6236.
- [Mait05] P. K. Maiti, T. Cagin, S.T. Lin, W. A. Goddard, III, *Macromolecules* **2005**, 38, 979.
- [Mitr04] A. Mitra, T. Imae, *Biomacromolecules* **2004**, 5, 69.
- [Muhl06] F. Muhlbacher, H. Schiessel, C. Holm, *Phys. Rev. E* **2006**, 74, Art. No. 031919.

- [Neug03] D. Neugebauer, Y. Zhang, T. Pakula, S. S. Sheiko, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2003**, *36*, 1843.
- [Ou06] Z. Ou, M. Muthukumar, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 154902.
- [Park96] I.H. Park, E. Choi, *Polymer* **1996**, *37*, 313.
- [Park06] T. G. Park, J. H. Jeong, S. W. Kim, *Adv. Drug. Del. Rev.* **2006**, *58*, 467.
- [Peco85] R. Pecora, *Dynamic Light Scattering* Plenum Press: New York, **1985**.
- [Ried90] E. Riedel, *Anorganische Chemie* Walter de Gruyter: Berlin, New York, **1990**.
- [Riva92] B. L. Rivas, K. E. Geckeler, *Adv. Polym. Sci.* **1992**, *102*, 171.
- [Saeg75] T. Saegusa, S. Kobayashi, A. Yamada, *Macromolecules* **1975**, *8*, 390.
- [Schi03] H. Schiessel, *J. Phys.: Condens. Matter* **2003**, *15*, R699.
- [Schw87] E. Schwarzenbeck, *Dissertation*, Universität Mainz **1987**.
- [Schl00] A. D. Schlüter, J. P. Rabe, *Ang. Chem.* **2000**, *112*, 860.
- [Smit93] R. G. Smits, G. J. M. Koper, M. Mandel, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 5745.
- [Step02] T. Stephan, *Dissertation*, Universität Mainz **2002**.
- [Stör03] D. Störkle, *Diplomarbeit*, Universität Mainz **2003**.
- [Tana83] R. Tanaka, I. Ueoka, Y. Takaki, K. Kataoka, S. Saito, *Macromolecules* **1983**, *16*, 849.
- [Tang97] M. X. Tang, F. C. Szoka, *Gene Therapy* **1997**, *4*, 823.
- [Thün04] A. F. Thünemann, M. Müller, H. Dautzenberg, J. F. Joanny, H. Löwen, *Adv. Polym. Sci.* **2004**, *166*, 113.
- [Topp99] A. Topp, B. J. Bauer, D. A. Tomalia, E. J. Amis, *Macromolecules* **1999**, *32*, 7237.
- [Vija02] V. Vijayanathan, T. Thomas, T. J. Thomas, *Biochemistry* **2002**, *41*, 14085.
- [Wahn06] C. Wahnes, *Dissertation*, Universität Mainz **2006**.
- [Wint94] M. Wintermantel, M. Schmidt, Y. Tsukahara, K. Kajiwara, S. Kohjiya, *Macromol. Rapid Commun.* **1994**, *15*, 279.
- [Wint96] M. Wintermantel, M. Gerle, K. Fischer, M. Schmidt, I. Wataoka, H. Urakawa, K. Kajiwara, Y. Tsukahara, *Macromolecules* **1996**, *29*, 978.
- [Zhan03] M. Zhang, T. Breiner, H. Mori, A. H. E. Müller, *Polymer* **2003**, *44*, 1449.
- [Zhan04] B. Zhang, *Dissertation*, Universität Mainz **2004**.
- [Zhan06] B. Zhang, F. Gröhn, J. S. Pedersen, K. Fischer, M. Schmidt, *Macromolecules* **2006**, *39*, 8440.
- [Zinc06] A.A. Zinchenko, N. Chen, *J. Phys.: Condens. Matter* **2006**, *18*, R453