

Technische Universität Dortmund
Fakultät für Chemie und Chemische Biologie
Arbeitsgruppe für Polymere Hybridsysteme

**Synthese und Charakterisierung von
Oberflächen-funktionalisierten polymeren
Nanopartikeln auf Poly(2-oxazolin)-Basis**

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

vorgelegt von
Nadine Engelhardt
aus Dortmund

Dortmund 2014

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2010 bis Mai 2014 unter der Leitung von Prof. Dr. Ralf Weberskirch an der Fakultät für Chemie und Chemische Biologie der Technischen Universität Dortmund angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Ralf Weberskirch

2. Gutachter: Prof. Dr. Heinz Rehage

Eingereicht am: 19. Mai 2014

Für meine Familie

***Der Optimist sieht in jeder Schwierigkeit
eine Gelegenheit. Der Pessimist sieht in
jeder Gelegenheit eine Schwierigkeit.***

Günter F. Gross

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Publikationen

Engelhardt, N., Ernst, A., Kampmann, L., Weberskirch, R., "Synthesis and characterization of surface functional polymer nanoparticles by a bottom-up approach from tailor-made amphiphilic blockcopolymers" *Macromol. Chem. Phys.* **2013**, 214(24), 2783-2791.

Poster

Engelhardt, N., Weberskirch, R., „Polymere Trägersysteme für die Mizellare Katalyse“, Tag der Chemie, Technische Universität Dortmund, Februar **2011**.

Engelhardt, N., Weberskirch, R., „Core/Shell functionalized nanoparticles“, Tag der Chemie, Technische Universität Dortmund, Februar **2013**.

Kampmann, L., **Engelhardt, N.**, Weberskirch, R., „Functional polymer nanoparticles“, Tag der Chemie, Technische Universität Dortmund, Februar **2014**.

Vorträge

Engelhardt, N., Weberskirch, R., „Kern/Schale-funktionalisierte Nanopartikel“, Tag der Chemie, Technische Universität Dortmund, Februar **2012**.

Danksagung

Da ich während der gesamten Arbeit stets Unterstützung erhalten habe, möchte ich mich an dieser Stelle bei einigen Personen bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. R. Weberskirch für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die Ermöglichung dieser Arbeit. Seine engagierte Betreuung und ständige Diskussionsbereitschaft trugen zum Gelingen dieser Arbeit bei. Auch möchte ich ihm für das mir entgegengebrachte Vertrauen danken. Dank seiner Fürsprache und Unterstützung war es mir möglich, an einem Austauschprogramm zwischen der Technischen Universität Dortmund und der Universität Stellenbosch in Südafrika teilzunehmen. Dadurch durfte ich neue analytische Methoden kennenlernen und unvergessliche Eindrücke sammeln.

Herrn Prof. Dr. H. Rehage möchte ich herzlich für die bereitwillige Übernahme des Koreferates und die Bereitstellung seiner analytischen Geräte danken.

Auch Herrn Dr. W. Hiller danke ich herzlich für die Ermöglichung der Teilnahme am Austauschprogramm. Hier möchte ich auch Herrn Prof. H. Pasch (Universität Stellenbosch) für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe sowie allen Mitgliedern danken. Vor allem Werner von Aswegen, Dr. M. Brand und alle weiteren dort gewonnenen Freunde trugen dazu bei viele neue Erfahrungen und Eindrücke sammeln zu können.

Den gesamten Mitgliedern des Arbeitskreises Weberskirch und vor allem meinen Laborkollegen, der „Oxazolin-Front“, danke ich für die hervorragende Arbeitsatmosphäre und der maßgeblichen Unterstützung bei der täglichen Arbeit.

Neben diesen gilt mein Dank den Mitgliedern der Arbeitskreise von Prof. Dr. H. Rehage sowie von Prof. Dr. J. C. Tiller für die Ermöglichung von Messungen, AFM- und TEM-Aufnahmen.

Der gesamten NMR-Abteilung mit Herrn Dr. Hiller, Dr. Hehn und Ben Kissel danke ich für das Messen meiner Proben.

Bei allen organisatorischen Angelegenheiten haben mich Silvia Lessing, Heidi Auer, und Andreas Hammer stets unterstützt. Dafür danke ich euch sehr!

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Andrea Ernst, Larissa Kampmann und Hannah Busch für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Natürlich bedanke ich mich auch bei allen Studenten, die mich während der ganzen Zeit begleitet und im Labor tatkräftig unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt aber vor allem Larissa Kampmann, die mich seit ihrer Bachelorarbeit begleitet und neben der erfolgreichen

Laborarbeit für gute Stimmung, Unterhaltung und auch außerhalb der Universität für viel Ablenkung gesorgt hat.

Zum Schluss möchte ich den mit Abstand wichtigsten Dank aber meiner Familie widmen, insbesondere meiner Mutter sowie all meinen Freunden, die mir während der gesamten Zeit uneingeschränkt zur Seite standen.

Kurzfassung

Im Rahmen dieser Dissertation erfolgte der systematische Aufbau funktionalisierter, polymerer Nanopartikel. Das verwendete Polymersystem beschränkte sich dabei auf den Einsatz von Poly(2-oxazolin)en, da sie sich als nicht toxisch und biokompatibel erwiesen haben und so beispielsweise für den Einsatz als Polymertherapeutika eignen. Zudem bieten sie hinsichtlich ihres systematischen Aufbaus hin zu definierten Größen und Strukturen einen besonderen Vorteil gegenüber den meist eingesetzten Systemen.

Über unterschiedlich polare Monomere wurden in einem „Bottom-up“-Ansatz, amphiphile Blockcopolymere aufgebaut, die in einem selektiven Lösemittel zu Kern-Schale-Partikeln aggregierten. Diese Partikel wurden zunächst hinsichtlich ihres Aggregationsverhaltens in Abhängigkeit von ihrer Struktur genauer untersucht.

Im Weiteren konnten, über eine gezielte Funktionalisierung der eingesetzten Monomere sowie über eine polymeranaloge Umsetzung, zusätzlich funktionelle Gruppen in das Polymergerüst eingebaut werden. Die Modifizierung des Polymersystems ermöglichte nach Aggregation zu Polymermizellen, über eine photochemische Vernetzung des Mizellkerns, die Stabilisierung der Partikel. Über eine weitere funktionelle Gruppe auf der Partikeloberfläche, wurde im Anschluss die Möglichkeit der nachträglichen Modifizierung untersucht. Neben UV-aktiven Verbindungen, wurden vor allem biomedizinisch relevante Moleküle wie Fluoreszenzfarbstoffe, Peptide und Rezeptormoleküle wie das Folat eingesetzt, da sie gerade in Hinblick auf den Einsatz als polymeres Wirkstofftransportsystem von Interesse sind.

Zusätzlich erfolgte über die Anbindung von Goldnanopartikeln der Aufbau von multifunktionalen Nanopartikeln, die therapeutische sowie diagnostische Anwendung in einem Partikel kombinieren könnten und gerade in Hinblick auf die Krebsforschung in den letzten Jahren von Interesse sind.

Im Anschluss erfolgten erste Untersuchungen zur Wirkstoffeinlagerung sowie Freisetzung mit dem Testwirkstoff Indomethacin.

Um neben der Größe und Struktur, Einfluss auf die Funktionalisierungsdichte nehmen zu können, wurde in einem neuen Ansatz die Kopplung von polymeren Nanopartikeln untersucht. Hierfür wurden zwei unterschiedliche Strategien verfolgt. Neben der Kopplung über komplementäre Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche, die anschließend spezifisch binden können, wurde der Einsatz eines bifunktionalen Linkers untersucht.

Abstract

In the scope of this thesis functional polymeric nanoparticles were synthesized. The polymer system was limited to the use of poly (2-oxazoline)s as they have proven to be non-toxic and biocompatible and are suitable for the use as polymer therapeutics. In addition, they offer a special advantage over the most frequently used systems in terms of their systematic composition to defined sizes and structures.

Different polar monomers were used in a “bottom-up” approach to build up amphiphilic blockcopolymers, which aggregate to core-shell-particles in a selective solvent. These particles were first examined in more detail with respect to their aggregation behavior as a function of their structure.

Additional functional groups were placed into the polymeric scaffold by use of targeted functionalization of the monomer system as well as a polymer analogous reaction. Upon micelle formation in aqueous media, UV-initiated radical polymerization was used to form core-crosslinked, stabilized nanoparticles. The dimensions and stability of the core-crosslinked nanoparticles are characterized by dynamic light scattering and fluorescence spectroscopy. A further functional group on the particle surface was used to couple UV active compounds and especially biomedically relevant molecules, such as fluorescent dyes, peptides, and receptor molecules.

Additionally the binding of gold nanoparticles was tested to build multifunctional nanoparticles of therapeutic and diagnostic interests.

Following initial studies were carried out for drug incorporation and release with the test drug Indomethacin.

In a new approach, the coupling of polymeric nanoparticles was tested to influence the size, structure and functionalization of the particles. For this purpose, two different strategies were used. The coupling of complementary functionalities on the particle surface and the use of a bifunctional linker was examined.

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG.....	5
1.1	Strategien zur Synthese polymerer Nanopartikel.....	8
1.1.1	Mizellen auf der Basis von amphiphilen Blockcopolymeren.....	9
1.1.2	Stabilisierung von Polymermizellen.....	13
1.2	Multifunktionale Nanopartikel.....	15
1.2.1	Verknüpfung von Partikeln.....	17
1.2.2	Multifunktionale Polymermizellen.....	18
1.3	Poly(2-oxazolin)e zur Herstellung amphiphiler Blockcopolymere.....	20
1.3.1	2-Oxazoline.....	21
1.3.2	Kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen.....	22
1.4	Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)en.....	24
1.4.1	Einsatz funktionalisierter Monomere.....	25
1.4.2	Endgruppenfunktionalisierung über Initiatoren.....	26
1.4.3	Endgruppenfunktionalisierung über Terminierungsreagenzien.....	26
2.	ZIEL DER ARBEIT.....	29
3.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	31
3.1	Amphiphile Poly(2-oxazolin)e.....	31
3.1.1	Synthese der 2-Alkyl-2-oxazoline.....	32
3.1.2	Synthese amphiphiler Poly(2-oxazolin)e.....	32
3.1.3	Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration.....	34

3.1.4	Bestimmung des hydrodynamischen Radius	37
3.1.5	Bestimmung der Glasübergangs- und Schmelztemperatur	43
3.1.6	Untersuchung des Aggregationsverhaltens mittels ¹ H-NMR-Spektroskopie.....	45
3.2	Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)en	52
3.2.1	Alkin-Funktionalisierung.....	53
3.2.3	Endgruppenfunktionalisierung.....	54
3.2.4	Polymeranalogue Funktionalisierung.....	57
3.3	Nanopartikelsynthese durch Kernvernetzung von Poly(2-oxazolin)en	64
3.4	Oberflächenfunktionalisierung der Nanopartikel	70
3.4.1	Funktionalisierung mit UV-aktiven Molekülen	70
3.4.2	Oberflächenfunktionalisierung mit biorelevanten Molekülen.....	74
3.5	Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung.....	101
3.5.1	Indomethacin.....	101
3.5.2	Wirkstoffeinlagerung	102
3.5.3	Bestimmung der Wirkstoffbeladungseffizienz	103
3.5.4	Wirkstofffreisetzung.....	104
3.6	Nanopartikel-Kopplung.....	107
3.6.1	Variation der Konzentration von Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche ..	108
3.6.2	Kopplung unterschiedlicher Nanopartikel über komplementäre Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche	114
3.6.3	Nanopartikel-Kopplung über einen bifunktionalen Linker.....	116
4.	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	123
5.	EXPERIMENTELLER TEIL.....	129
5.1	Geräte und Verfahren	129
5.2	Lösungsmittel und Reagenzien	132
5.3	Synthesen	133
5.3.1	Synthesen der Monomere.....	133
5.3.2	Synthesen der amphiphilen Blockcopolymere	136

5.3.3	Synthese von funktionalisierten Poly(2-Oxazolin)en.....	138
5.3.4	Kopplungsexperimente am Poly(2-Oxazolin).....	141
5.3.5	Nanopartikelsynthese.....	145
5.3.7	Synthese des Bismaleimid-Linkers.....	152
5.4	Wirkstoffuntersuchungen.....	156
5.4.1	Wirkstoffeinlagerung.....	156
5.4.2	Wirkstofffreisetzung.....	156
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....	157
7.	ANHANG.....	169
7.1	Abkürzungs- und Symbolverzeichnis.....	169
7.2	Abbildungsverzeichnis.....	173
7.3	Schemaverzeichnis.....	176
7.4	Tabellenverzeichnis.....	177
7.5	UV/vis-Spektren.....	178
7.6	NMR-Spektren.....	179

1. Einleitung

In den letzten Jahren ist vor allem die Suche nach neuen Materialien mit verbesserten Eigenschaften immer weiter in den Fokus von Forschungsarbeiten gerückt. Besonders die Nanotechnologie, die erstmals 1959 in einer von *Richard Feynman* beschriebenen Vision vorgestellt wurde, stellt hier ein vielversprechendes Gebiet und die Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts dar.^[Feynman, 1959] Sie beschäftigt sich mit der Synthese und Verarbeitung von Materialien im Größenbereich von 1-100 nm.^[Buzea, 2007] Wegen der strukturellen Ähnlichkeit mit atomaren Systemen dienen Nanopartikel als wichtiges Modellsystem für atomare Studien. Zu diesem Zweck wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, um die Größe, Form und Oberflächenbeschaffenheit dieser Partikel maßzuschneidern. Dabei fiel auf, dass die Nanostrukturierung der Materialien, deren physikalischen und chemischen Eigenschaften verändert und somit für eine Vielzahl von Anwendungen interessant macht.^[Wegner, 2004]

Neben den anorganischen Nanopartikeln, wie „Quantum-Dots“^[Zhang, 2012] oder Gold-^[Dreaden, 2012] und magnetische Eisenoxid-Nanopartikel,^[Lee, 2012] sind auch organische Systeme bekannt, die nach der Definition zu Nanopartikeln gezählt werden können. Die bekanntesten Vertreter sind Liposome^[Malam, 2009] und polymere Mizellen.^[Faraji, 2009] Die Anwendung der Partikel erstreckt sich dabei über ein breites Feld, u. a. werden sie in der Elektronik^[Hombberger, 2010] und Photonik,^[West, 2003] als Sensormaterialien^[Shipway, 2000] und in der Katalyse^[Astruc, 2005] eingesetzt. Auch in der Medizin, im Bereich der Diagnostik und des Wirkstofftransports, liefern sie vielversprechende Ergebnisse.^[Sanvicens, 2008; Pathak, 2007] Vor allem die Liposome und Polymermizellen kommen hier zum Einsatz, da sie bedingt durch ihre Größe und funktionelle Vielfalt neue Möglichkeiten eröffnen, die mit molekularen Arzneistoffen nicht zu erreichen sind. Ihr struktureller Aufbau ermöglicht den Einschluss hydrophober Verbindungen in ihrem Inneren, wodurch hydrophile Oberflächen simuliert und somit auch hydrophobe Wirkstoffe zum Einsatz kommen können. Dies stellt einen entscheidenden Vorteil dar, da schätzungsweise 40% der heutzutage neu entwickelten Wirkstoffe schlecht wasserlöslich sind und nach Verabreichung nicht ins Blut gelangen würden.^[www.mj.r.pharmajet.de, 2014] Der in der Krebstherapie derzeit noch bedeutendste Wirkstoff Doxorubicin (DOX) zählt zu den wasserlöslichen Wirkstoffen, besitzt jedoch eine

Vielzahl an Nebenwirkungen, wie z. B. dem Aussetzen der Blutbildung im Knochenmark (Myelosuppression)^[Gupta, 2013] sowie der Verringerung der Leukozytenzahl (Leukopenie).^[Sahm, 2003] Einzeln verabreicht wird das Medikament aufgrund der geringen Größe meist schnell wieder aus dem Körper ausgeschieden oder verteilt sich unkontrolliert, wodurch das kranke Gewebe nur in geringen Mengen erreicht wird und es im gesunden Gewebe zu unerwünschten Nebenreaktionen kommen kann. Diese auftretenden Nebenwirkungen des Wirkstoffes können durch den Einschluss in Nanopartikel deutlich herabgesetzt werden. Das auf dem Markt bekannteste Beispiel dafür ist das Präparat Caelyx®, das bereits zur Behandlung von Brustkrebs eingesetzt wird.^[www.ema.europa.eu, 2014] Es konnte gezeigt werden, dass die Zirkulationszeit im Blut 100 mal länger ist, als beim reinen Doxorubicin. Auch die Toxizität des Medikaments konnte deutlich herabgesetzt und um das siebenfache reduziert werden.^[Cheng, 2012] Der entscheidende Grund hierfür liegt in der Größe der Partikel, die gesundes Gewebe nicht passieren können, sondern überwiegend durch einen passiven Anreicherungsmechanismus ins Tumorgewebe gelangen. Dieses bereits 1986 von *Matsumura* und *Maeda* als EPR-Effekt (EPR = Enhanced Permeation and Retention) beschriebene Phänomen nutzt die physiologischen Unterschiede von Tumorgewebe zu gesundem Gewebe aus.^[Maeda, 2000 & 2001] Durch das sehr rasche Wachstum von Tumorgewebe kommt es bei den Blutgefäßen, die dieses Gewebe durchdringen und für die Nährstoffversorgung verantwortlich sind, zu einem fehlerhaften Aufbau (Angiogenese), wodurch ein lückenhaftes Endothel entsteht.^[Almog, 2010] Ihre Endothelzellen weisen 50-100 nm große Öffnungen in der Endothellage auf, durch die auch größere wirkstoffbeladene Transportmoleküle diffundieren können.^[Neha, 2013] Abbildung 1 veranschaulicht schematisch die physiologischen Unterschiede von gesundem Gewebe und Tumorgewebe.

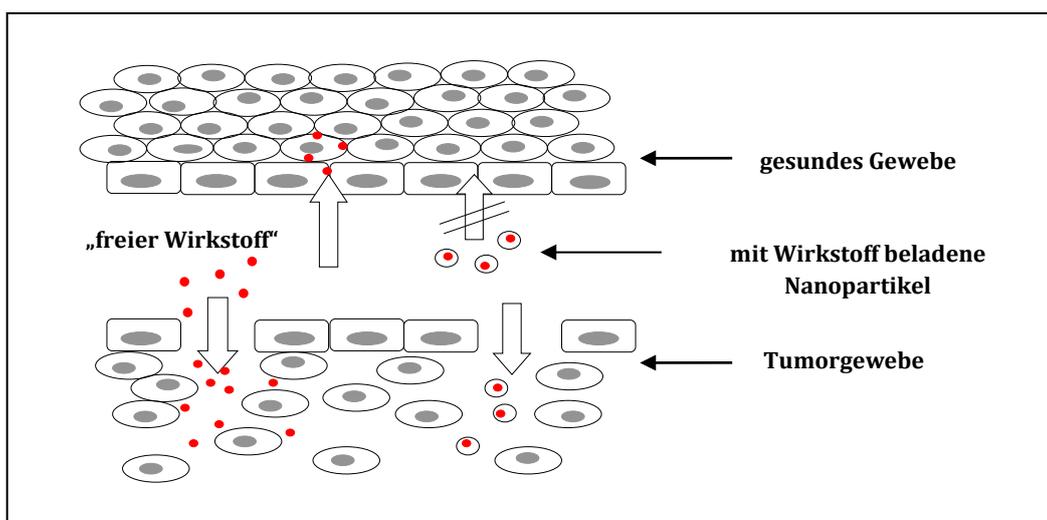


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Unterschiede von gesundem Gewebe und Tumorgewebe.

Trotz der Möglichkeit Arzneimittel in Transportmoleküle zu verpacken, zeigen sich auch weiterhin noch Probleme, Krankheiten wie Krebs gezielt zu behandeln. Damit die wirkstoffbeladenen Nanopartikel ihr Ziel auf der Zellebene erreichen, müssen sie Barrieren, wie Haut und Schleimhäute durchdringen, die meist aus vielen verschiedenen Schichten mit unterschiedlichen Strukturen und Dicken aufgebaut sind. Anschließend gelangen sie in die Blutbahn und von dort über das Endothel direkt ins Zielgewebe (Tumor) oder über die Blut-Hirn-Schranke^[Pardridge, 2005] ins Zentrale Nervensystem.^[Elsabagy, 2012] In einem von *Lahann et al.* veröffentlichten Übersichtsartikel wurde beschrieben, wie die Überwindung der Barrieren durch die Größe, Form sowie Oberflächenbeschaffenheit der Partikel beeinflusst werden kann.^[Mitragotri, 2009] Daneben liegt die wohl größte Herausforderung der Transportmoleküle darin, erkranktes Gewebe von körpereigenen Strukturen zu unterscheiden und selektiv zu erreichen.

Neue Forschungsansätze verfolgen daher den Aufbau sogenannter „multifunktionaler Nanopartikel“, die mehrere Materialeigenschaften und Funktionen in einem Partikel kombinieren.^[Torchilin, 2006; Jabr-Milane, 2008; de Dios, 2010] Ein Beispiel hierfür ist die Modifizierung der Partikeloberfläche mit Targeting-Molekülen, wie z. B. Antikörpern, Rezeptormolekülen oder Peptid-Sequenzen, die gezielt von Zellen aufgenommen werden können und eine zielgerichtet Anwendung erlauben. Ein Transportmolekül, das bereits in der klinischen Studie Phase 1 getestet wird, ist ein PEGyliertes Liposom, das neben dem Antitumorwirkstoff Doxorubicin, zusätzlich auf der Partikeloberfläche ein Antitumorgen trägt.^[Cheng, 2012] Auch wenn Verbindungen bereits in klinischen Studien getestet werden, gibt es hierfür aktuell noch kein Anwendungsbeispiel in der Medizin. Betrachtet man die aktuelle Entwicklung in diesem Bereich, dann gewinnt neben dem aktiven und passiven Targeting, die Diagnostik, d. h. das Auffinden und Quantifizieren von Biomarkern auf Tumorzellen, immer mehr an Bedeutung. Die Kombination aus Therapie und Diagnostik, die auch als „*Theranostik*“ bezeichnet wird, wird in der Zukunft eine entscheidende Rolle in der Krebstherapie spielen.^[Kelkar, 2011]

Diese oben genannten Beispiele verdeutlichen recht eindrucksvoll, wie wichtig ein maßgeschneiderter Aufbau der Partikel ist. Um die Anforderungen der jeweiligen Anwendung zu erfüllen, müssen Eigenschaften, wie Form, Größe und Struktur der Partikel, angepasst und optimiert werden. Zudem ist eine genau definierte und enge Partikelverteilung meist erforderlich. Die Herstellungsmethode nimmt dabei einen entscheidenden Einfluss auf die Eigenschaften der Partikel. Daher sollen nun die Möglichkeiten zur Synthese polymerer Nanopartikel genauer beschrieben werden.

1.1 Strategien zur Synthese polymerer Nanopartikel

Zahlreiche Methoden zur Darstellung polymerer Nanopartikel wurden in der Vergangenheit beschrieben. Dabei findet man in der Literatur große Unterschiede in der Definition polymerer Nanopartikel. Während einige Autoren Partikel mit Größen im Bereich von 1-1000 nm bereits als Nanopartikel definieren, bezeichnen andere erst stabilisierte Partikel, die im Partikelinneren kovalent vernetzt sind, als Nanopartikel.^[Christian, 2008; O'Reilly, 2005]

Die wichtigsten Methoden der Nanopartikelsynthese lassen sich dabei wie folgt unterteilen:

1. **Synthese nanostrukturierter Materialien durch Zerkleinerungsprozesse von Mikropartikeln** als klassischer „*Top-down-Ansatz*“^[Raab, 2008]
2. **Dispersion vorgeformter Polymere**, die nach i) Lösemittelverdampfen, ii) Aussalzen, iii) der Methode der Nanopräzipitation bzw. Koazervationsverfahren oder iv) der Dialyse polymere Nanopartikel ergeben^[Desgouilles, 2003; Ibrahim, 1992; Mao, 2001; Riess, 2003]
3. **Polymerisationsmethoden** wie i) die Emulsion, ii) die Miniemulsion und Mikroemulsion, iii) die Grenzflächenpolymerisation und iv) kontrollierte/lebende Polymerisationstechniken, die in der Lage sind polymere Nanopartikel zu erzeugen^[Kietzke, 2003; Qui, 2001; Gaudin, 2008; Matyjaszewski, 2001]
4. **Bildung polymerer Nanopartikel durch Selbstaggregation** amphiphiler Blockcopolymerer in Mizellen und anschließender Kern-bzw. Schale-Vernetzung der Partikel^[Shimomuraa, 2001]

Grundsätzlich werden in diesen Methoden zwei Strategien verfolgt. Neben der Herstellung nach dem „*Top-down*“-Prinzip, in der Mikropartikel durch Zerkleinerungsprozesse zu Nanopartikeln verarbeitet werden, verfolgt das „*Bottom-up*“-Prinzip den systematischen Aufbau komplexer Strukturen ausgehend von den Einzelbausteinen. Während die ersten genannten Methoden in einem Übersichtsartikel ausführlich beschrieben wurden,^[Prasad Rao, 2011] soll im weiteren Verlauf auf das vierte Verfahren genauer eingegangen werden.

Die Herstellung polymerer Nanopartikel ausgehend von amphiphilen Blockcopolymeren ist die vielfältigste Methode der Nanopartikelsynthese und ein klassischer „*Bottom-Up*“-Ansatz. Man

nutzt dabei die Eigenschaft amphiphiler Blockcopolymerer aus, in einem selektiven Lösemittel, oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (engl. critical micelle concentration, cmc), mizellare Aggregate ausbilden zu können. Der Vorteil dieser Variante liegt darin, dass über die Synthese der eingesetzten Blockcopolymerer, die Größe, Morphologie und Funktionalität der herzustellenden Nanopartikel gezielt beeinflusst werden kann.

Die Bildung der Mizellen kann dabei über zwei unterschiedliche Methoden erfolgen. In der ersten Methode wird das Blockcopolymer in ein Lösemittel gegeben, das beide Blöcke gleich gut löst. Anschließend wird die Temperatur des Systems verändert oder die Polymerlösung gegen ein selektives Lösemittel dialysiert. Als selektiv wird dabei ein Lösemittel bezeichnet, das nur einen der beiden vorliegenden Polymerblöcke löst. Der zweite Polymerblock liegt weitestgehend ungelöst vor.^[Tyrrella, 2010; Lebouille, 2013] Die Methode der Dialyse geht dabei auf *Tuzar* und *Kratochvil* zurück und ist die am häufigsten verwendete Methode, da sie die Bildung großer Aggregate unterdrückt und zu einer monodispersen Verteilung der Partikel führt.^[Tuzar, 1976]

In der zweiten Methode wird das amphiphile Blockcopolymer als Feststoff, direkt in einem selektiven Lösemittel gelöst. Durch die kovalente Verknüpfung der beiden Blöcke, die sich unterschiedlich gut in dem Lösemittel lösen, können die Blöcke makroskopisch nicht voneinander getrennt werden. Dies führt zur sogenannten „Mikrophasenseparation“, in der entmischte Mikrodomänen ausgebildet werden. Die Morphologie dieser Domänen wird dabei von Parametern, wie der Temperatur, dem Gesamtpolymerisationsgrad, dem Flory-Huggings-Parameter^[Meier, 1969] sowie dem Blocklängenverhältnis, bestimmt. Ein Gleichgewichtszustand kann in dieser Methode durch die Veränderung äußerer Einflüsse, wie z. B. der Temperatur, durch Aufheizen und Abkühlen der mizellaren Lösung oder dem Stehenlassen der Probe, erreicht werden.^[Riess, 2003] Aufgrund der Bildung polydisperser Partikelverteilungen wird diese Methode nur selten verwendet. Dennoch konnten *Jada et al.* zeigen, dass der Einsatz von Blockcopolymeren mit niedrigen Molmassen zu einer gleichmäßigen Partikelverteilung führt.^[Li, 2011]

Zum besseren Verständnis soll nun das Phänomen der Selbstaggregation amphiphiler Blockcopolymerer genauer beschrieben werden.

1.1.2 Mizellen auf der Basis von amphiphilen Blockcopolymeren

Bereits 1913 verwendete *Mc Bain* den Begriff „Mizelle“ und beschrieb damit kolloidale Aggregate, die sich spontan aus amphiphilen Molekülen in Lösung bilden und thermodynamisch

stabil sind.^[McBain, 1949] Dieses Phänomen wird in der Literatur auch als Selbstorganisation bezeichnet.^[Israelachvili, 1976a & 1976b] Die amphiphilen Moleküle bestehen dabei aus hydrophilen und hydrophoben Anteilen. Neben den niedermolekularen Verbindungen, die in der Literatur als Tenside bezeichnet werden, sind auch hochmolekulare amphiphile Verbindungen bekannt. Die dabei wichtigsten Vertreter sind die linearen AB-Blockcopolymere, die aus mindestens zwei unterschiedlich polaren Blöcken bestehen. Es können jedoch auch komplexere Strukturen, wie Tri-, Multi- oder Sternblockcopolymere, verwendet werden.^[Hadjichristidis, 2003; Narrainen, 2002; Yun, 2003]

Ähnlich zu den niedermolekularen Amphiphilen neigen diese Moleküle dazu, in einem für einen Block selektiven Lösemittel, oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration,^[Holmberg, 2002] Aggregate in Form von Mizellen auszubilden. Die kritische Mizellbildungskonzentration bezeichnet dabei die Konzentration, ab der die Mizellbildung einsetzt und ist eine charakteristische Größe amphiphiler Substanzen. Unterhalb der cmc befinden sich die amphiphilen Moleküle an der Wasser-Luft-Grenzfläche und sind molekular dispers in dem selektiven Lösemittel gelöst. Die Triebkraft der Selbstorganisation ist der „hydrophobe Effekt“.^[Southall, 2002] Er resultiert aus dem Entropiegewinn ΔS , der bei der Freisetzung von Wassermolekülen aus den lipophilen Teilen entsteht. Bedingt durch die Mizellbildung können die abstoßenden Wechselwirkungen zwischen den unterschiedlich polaren Blöcken und dem Lösemittel minimiert werden. Dabei bildet der ungelöste Molekülanteil den Mizellkern, wohingegen der lösliche Molekülanteil die Mizellschale ausbildet. Die Stärke der Abstoßung des hydrophilen und hydrophoben Molekülsegments kann allgemein durch den Flory-Huggings-Parameter beschrieben werden.^[Leibler, 1983] Da die Mizellbildung mit der charakteristischen Veränderung einiger physikalischer Eigenschaften, wie der Viskosität, Lichtstreuung, Oberflächenspannung und Leitfähigkeit, korreliert, kann die cmc über verschiedene Methoden ermittelt werden.

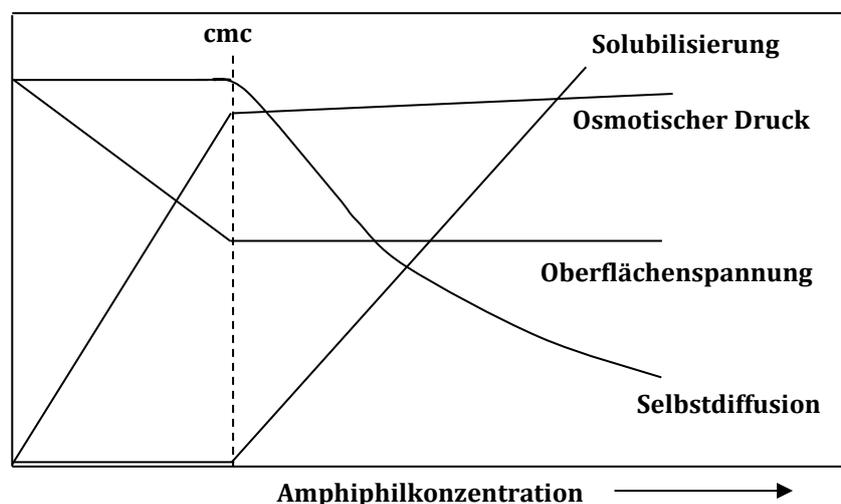


Abbildung 2: Auswahl physikalischer Eigenschaften, die sich bei Überschreitung der cmc ändern und zum analytischen Nachweis eignen.^[Holmberg, 2002]

Abbildung 2 zeigt eine Auswahl einiger physikalischer Eigenschaften, die sich beim Überschreiten der kritischen Mizellbildungskonzentration ändern und sich daher zu ihrer Bestimmung eignen. Im Gegensatz zu den niedermolekularen Tensiden können Blockcopolymeren, abhängig von der chemischen Natur ihrer einzelnen Blöcke, auch in organischen Lösemitteln aggregieren.^[Alexandridis, 1999] Die cmc amphiphiler Substanzen liegt in der Regel in der Größenordnung von 10^{-2} bis 10^{-6} mol/L, wobei die cmc amphiphiler Blockcopolymeren typischerweise bei den niedrigen Konzentrationen anzusiedeln ist. Entsprechende Untersuchungen zeigten, dass sich hierdurch Methoden, wie z. B. die Messung der Oberflächenspannung nur bedingt zur Bestimmung der cmc von diesem System nutzen lassen.^[Holmberg, 2002; Schönfelder, 2004]

Für niedermolekulare Tenside lässt sich nach *Israelachvili* die Form der gebildeten Aggregate mit Hilfe des Packungsparameters p voraussagen.

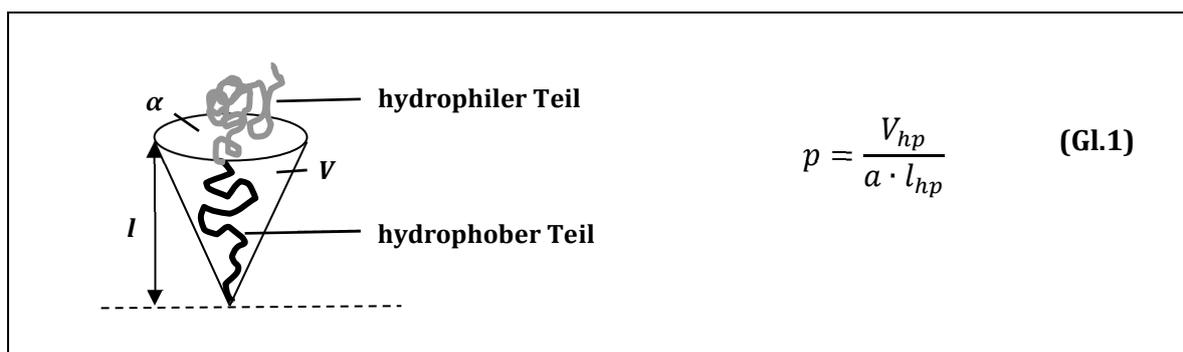


Abbildung 3: Packungsparameter nach Israelachvili.^[Israelachvili, 1976a]

Der Packungsparameter p ist eine dimensionslose Größe und definiert als das Verhältnis von Volumen V_{hp} des hydrophoben Teils des Tensids zu dem Produkt aus Kopfgruppenplatzbedarf a und der Länge l_{hp} des hydrophoben Teils des Tensids.^[Israelachvili, 1976a; Israelachvili, 1991]

Die aus dem Packungsparameter resultierenden Geometrien der Aggregate sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Neben den sphärischen Mizellen, können auch wurmartige Mizellen oder Vesikel gebildet werden. Diese drei Vertreter gehören zu den häufigsten Aggregationsformen und wurden in der Literatur bereits ausführlich untersucht.^[Blanazs, 2009; Nagarajana, 1989]

Tabelle 1: Aggregatstruktur in Abhängigkeit des Packungsparameters.

Packungsparameter, p	$p < 1/3$	$1/3 < p < 1/2$	$1/2 < p < 1$
Aggregationsstruktur	sphärische Mizelle	Wurmmizelle	Vesikel

Die allgemein für Tenside aufgestellte Theorie des Packungsparameters lässt sich auch auf Blockcopolymeren übertragen.^[Israelachvili, 1976b] Die Morphologie der Aggregate hängt dabei von unterschiedlichen Parametern, wie der chemischen Struktur des Blockcopolymeren, dem hydrophil/hydrophob-Verhältnis der Blöcke, der Konzentration, dem pH-Wert sowie der Temperatur, ab.^[Chu, 1996] Die sphärischen Mizellen stellen unter den Blockcopolymeren die häufigste Aggregationsform dar. So konnte gezeigt werden, dass vor allem durch einen größeren hydrophilen Anteil im Blockcopolymer die Bildung von Kugelmizellen begünstigt ist.^[Letchford, 2007]

Verglichen mit niedermolekularen Tensiden sind Polymermizellen thermodynamisch und kinetisch außerordentlich stabil und können so als kolloidale Reaktionsräume oder „Nanoreaktoren“ verwendet werden. Durch ihre besondere Fähigkeit hydrophobe Substanzen im Mizellinneren einzuschließen, können hydrophile Umgebungen simuliert und somit die Löslichkeit von hydrophoben Substanzen in Wasser erhöht werden. Diese als „Solubilisierung“ bezeichnete Eigenschaft wurde bereits in zahlreichen Anwendungen genutzt und in der Literatur ausführlich beschrieben.^[Rangel-Yagui, 2005] So konnten Katalysator geträgerte amphiphile Blockcopolymeren nach Aggregation in Wasser für mizellare Katalysereaktionen eingesetzt werden.^[Liu, 2011; Gall, 2008] Auch im Bereich der Medizin wird der Einsatz polymerer Mizellen als Wirkstofftransportsysteme immer häufiger beschrieben.^[Kwon, 1997; Kataoka, 2012] Hierbei spielt vor allem die Stabilität der Polymermizellen eine entscheidende Rolle. Die Selbstorganisation stellt einen dynamischen Prozess zwischen Unimern und Mizellaggregaten dar. Auch wenn Mizellen aus amphiphilen Blockcopolymeren im Vergleich zu den niedermolekularen Tensiden ein thermodynamisch und kinetisch stabileres System darstellen, kann dieser Zustand durch äußere Einflüsse, wie pH-Wert, Temperatur oder Amphiphil-Konzentration, verändert werden.^[Gaucher, 2005] Gerade im Bereich der Katalyse, in dem Reaktionen oftmals bei höheren Temperaturen erfolgen, werden stabilisierte Partikel benötigt. Auch im Bereich der Medizin können äußere Einflüsse im Körper, wie pH-Wert-Änderungen oder Verdünnungseffekte, zum Zerfall der Partikel führen. Auch die Proteine im Blutserum selbst können die Stabilität der Mizellen beeinträchtigen. So konnten *Savic et al.* zeigen, dass Polymermizellen aus Poly(ethylenglycol)-*block*-Poly(ϵ -caprolacton) instabil im Blut sind.^[Savic, 2006] *Xia et al.* konnten diese Befunde bestätigen und eine Wechselwirkung über Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen dem Poly(ethylenglycol) und Proteinen, wie Pepsin, α -Chymotrypsin oder Lysozym, nachweisen.^[Xia, 1993; Topchieva, 2000; Furness, 1998] In einem von *Kim et al.* veröffentlichten Übersichtsartikel wurden mögliche Mechanismen des Mizellzerfalls in Anwesenheit von Serumproteinen diskutiert.^[Kim, 2010] Diese sind in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

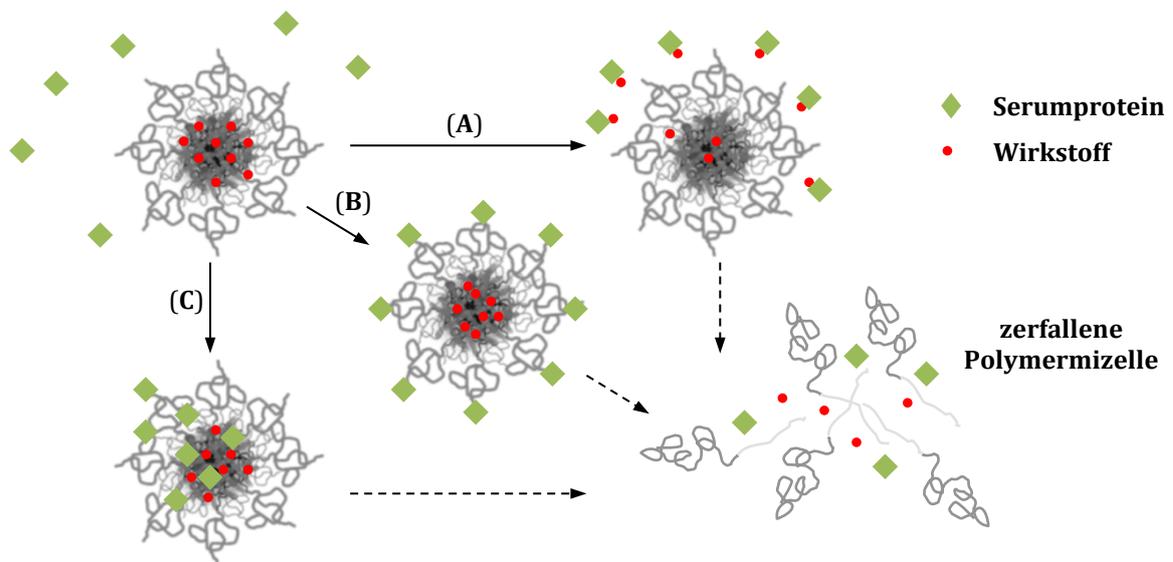


Abbildung 4: Mechanismen des Mizellzerfalls in Anwesenheit von Serumproteinen: (A) Wirkstoffextraktion, (B) Protein-Adsorption, (C) Protein-Penetration.^[Kim, 2010]

Neben der Wirkstoffextraktion (A) und der Protein-Adsorption auf der Mizelloberfläche (B), wurde die Protein-Penetration (C) als möglicher Einfluss beschrieben, der zur Auflösung der Mizelle führen kann. Daher ist für eine effiziente Anwendung als Transportsystem eine zusätzliche Stabilisierung der Partikel notwendig.

Im nächsten Abschnitt sollen nun einige Möglichkeiten der Partikelstabilisierung beschrieben werden.

1.1.3 Stabilisierung von Polymermizellen

Die Stabilisierung der Mizellen kann auf unterschiedliche Arten erfolgen. Neben der Verwendung eines hydrophoben Monomers, das zu einer hohen Glasübergangstemperatur T_g ^[Kwon, 1996] des Polymers führt, kann auch die Beimischung hydrophober Substanzen die Lebenszeit der Mizelle verlängern.^[Owena, 2012; Yokoyama, 1998] Eine weitere Möglichkeit der Stabilisierung stellt die Schale- und Kernvernetzung der Mizellen dar. Diese bilden dauerhaft stabile Partikel aus. Dabei bietet die kovalente Vernetzung den entscheidenden Vorteil, dass die Partikel durch Verdünnung nicht wieder in ihre Monomere zerfallen können.^[Kim, 2010; Kim, 2012]

Die Stabilisierung von Mizellen durch die Vernetzung der Mizellhülle wurde erstmals von den Gruppen *Wooley*^[Thurmond, 1997] und *Armes*^[Butun, 1998] beschrieben unter Verwendung von AB-Diblock- oder ABC-Triblockcopolymeren. Die resultierenden Nanopartikel wurden dabei insbesondere für den Wirkstofftransport untersucht und zeigten im Vergleich zu unvernetzten Mizellen deutliche Unterschiede. Neben der erhöhten Stabilität der Nanopartikel wurde häufig

eine verlangsamte Freisetzungskinetik von eingeschlossenen Wirkstoffen festgestellt.^[Rolland, 1992; Sun, 2008] Darüber hinaus ergaben in vivo Studien eine deutlich verlängerte Zirkulationsdauer im Blut, was die Wirkstoffeffizienz erhöhte.

Auch Methoden der Kernstabilisierung wurden in der Vergangenheit beschrieben, die auf den Einsatz von Blockcopolymeren zurückgehen, deren hydrophober Block eine zusätzliche Funktionalität für die Vernetzungsreaktion besitzt. Zu den Methoden der Kernvernetzung gehören die Photovernetzung^[Piog, 2011] bzw. freie radikalische Polymerisation^[Shuai, 2004] von Blockcopolymeren mit Doppel- oder Dreifachbindungen, die reversible Disulfidbildung,^[Lv, 2010] die Bildung von Harnstoffeinheiten durch Reaktion isocyanathaltiger Polymere mit Diaminen,^[Kim, 2011] die Amidierung von Carbonsäure enthaltenden Polymeren durch Umsetzung mit Diaminen^[Bontha, 2006] sowie die Huisgen 1,3-dipolare Cycloaddition ("Klick-Chemie").^[Withey, 2009]

So beschrieben *Schubert et al.* den Aufbau kernvernetzter Partikel über die Synthese eines amphiphilen Blockcopolymers, bestehend aus einem hydrophilen 2-Ethyl-2-oxazolin-Block und einem hydrophoben Block aus 2-Soja-Alkyl-2-oxazolin mit einem Fettsäurerest als Seitenkette.^[Hoogenboom, 2007a] Die ungesättigte Bindung der Fettsäureseitenkette konnte durch Photovernetzung zur Bildung kernvernetzter Mizellen genutzt werden.

Auch *Schlaad* und *Brummelhuis* beschrieben die Kernvernetzung von Poly(2-oxazolin)en über Alken- und Alkin-funktionalisierte Oxazoline durch radikalische Thiol-En und Thiol-In-Reaktionen. Die Generierung der Radikale erfolgte durch UV-Bestrahlung. Dabei untersuchten sie durch den Einsatz derivatisierter Thiole die Einführung unterschiedlicher Funktionalitäten in den Mizellkern. Es gelang ihnen Carboxylat- und Amingruppen ins Mizellinnere einzuführen. Des Weiteren zeigten sie, dass Alken-substituierte Oxazoline eine geringere Reaktivität mit Thiolen besaßen.^[Brummelhuis, 2011]

Neben dem maßgeschneiderten Partikelbau und der Verwendung verschiedener Methoden zur Partikelstabilisierung, geht der Trend dahin, immer komplexere Strukturen zu erzeugen. Diese sollen einen größeren Anwendungsbereich abdecken und noch leistungsfähiger in ihrem Einsatz werden. Daher sollen im nachfolgenden Kapitel die verschiedenen Ansätze zur Herstellung multifunktionaler Nanopartikel genauer erläutert werden.

1.2 Multifunktionale Nanopartikel

Nach dem Vorbild der Natur ist in den vergangenen Jahren die Weiterentwicklung, hin zu komplexeren Strukturen mit verbesserten Eigenschaften, immer mehr in den Mittelpunkt gerückt. So erkannte man, dass die Kompartimentierung in biologischen Zellen eine wichtige Rolle für Reaktionen und Transportprozesse spielt, die dadurch parallel durchgeführt werden können. Daraus wurden Ansätze abgeleitet, wie sich die Eigenschaften oder Funktionalitäten unterschiedlicher Materialien in einem Partikel miteinander kombinieren lassen.

Das einfachste Beispiel hierfür sind die vor rund 20 Jahren von *de Gennes* beschriebenen „Janus-Partikel“.^[de Gennes, 1992] Sie sind zentro-symmetrisch aufgebaut und besitzen meist zwei Regionen mit unterschiedlichen chemischen Funktionalitäten oder Polaritäten.^[Walther, 2008] Allgemein lassen sich Janus-Partikel nach ihrer Morphologie in unterschiedliche Klassen unterteilen. Neben i) sphärischen-, ii) scheiben- oder plättchenartigen Partikeln werden in der Literatur auch iii) stäbchenförmige Partikel beschrieben.^[Perro, 2005; Erhardt, 2001] Die Herstellung kann dabei mit unterschiedlichen Methoden erfolgen. Neben anorganischen Partikeln, die spontan in-situ hantelförmige Strukturen bilden,^[Lu, 2003] werden oftmals Maskierungstechniken^[Perro, 2005] oder die Methode der Mikrofluidik^[Nisisako, 2010] beschrieben, in der z. B. Polymerschmelzen in Düsen-systemen zusammengeführt und anschließend mit UV-Strahlung ausgehärtet werden. Neben diesen Methoden wird auch der systematische Aufbau von auf Dendrimeren basierenden Janus-Partikeln beschrieben.^[Percec, 2010] Die Methoden sind meist synthetisch sehr aufwendig und vergleichsweise teuer, was eine Nutzung im großen Maßstab verhindert.

Eine Erweiterung dieses Systems beschreibt den Aufbau nicht zentro-symmetrischer Partikel. Diese Partikel werden in der Literatur oft als „anisotrope Partikel“ bezeichnet. Dabei kann es sich um kolloidale Strukturen handeln, die im Kern aus mehreren zusammengesetzten aber phasenseparierten Domänen aufgebaut sind („multicompartment particles“), oder um Partikel, die auf ihrer Oberfläche lückenhafte Strukturen („patchy particles“) aufweisen.^[Du, 2011] Abbildung 5 zeigt schematisch die strukturellen Unterschiede der einzelnen Partikel.

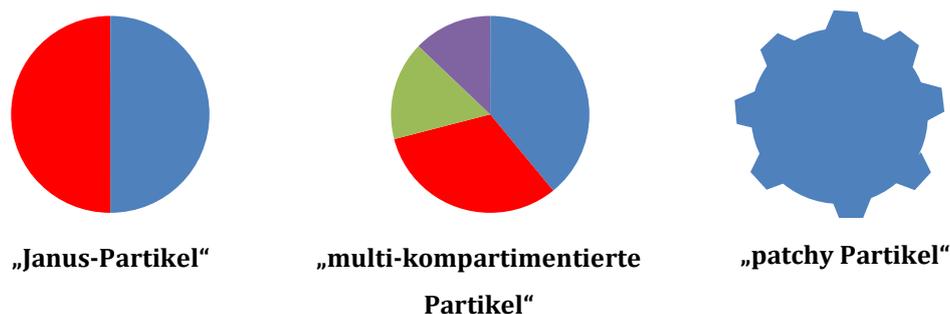


Abbildung 5: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Partikelstrukturen.^[Du, 2011]

Einen interessanten Ansatz zum Aufbau anisotroper Partikel stellten *Lahann et al.* vor. Sie nutzten sogenannte Co-Jetting-Prozesse, wie Elektrospraying und Elektrospinning, um polymere Nano-/Mikropartikel sowie Fasern herzustellen. Im Co-Elektrospinning wurden über ein spezielles Düsensystem zwei flüssige Polymerstufen, die nach Wunsch mit Liganden, Biomolekülen oder Fluoreszenzfarbstoffen modifiziert werden konnten, in Kontakt gebracht. Ein am Ende der Düse entstehender Tropfen wurde einem elektrischen Feld ausgesetzt, in dem sich dieser zum „Taylor-Kegel“ verformte. Nach Überwinden der Oberflächenspannung des Tropfens, trat ein Polymerjet aus, der zur Gegenelektrode beschleunigt wurde.^[Lahann, 2011] Abbildung 6 zeigt schematisch das Grundprinzip des Systems.

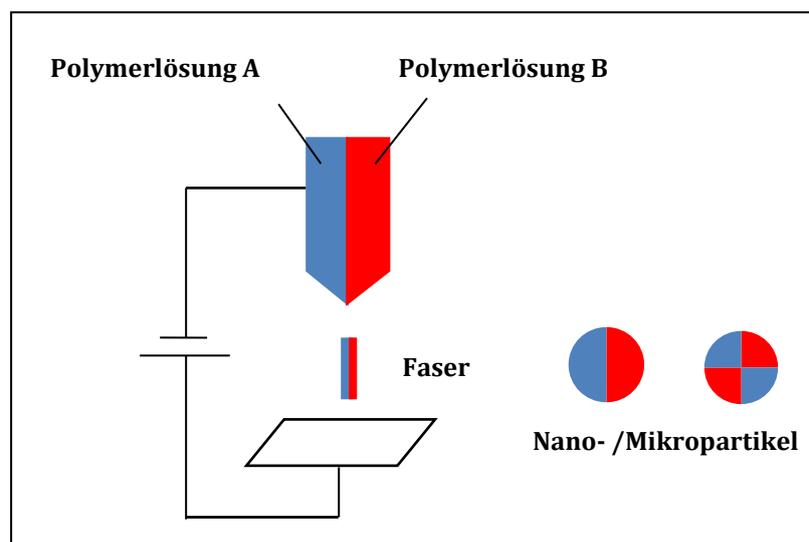


Abbildung 6: Prinzip des Co-Elektrospinnings nach *Lahann*.^[Lahann, 2011]

Auf diese Art war es *Lahann* möglich, unterschiedlichste Partikelstrukturen mit kombinierten Materialeigenschaften aufzubauen. Ein Vorteil dieses Verfahrens ist neben dem Einsatz wässriger Systeme unter Verwendung von Polymeren, wie Poly(acrylsäure-co-acrylamid)e und Poly(ethylenglycol)e, die Möglichkeit organische Lösemittel zu verwenden. Hier wurde Poly(milchsäure-co-glycolsäure) eingesetzt. Dabei wurden die besten Ergebnisse bei vergleichbaren Eigenschaften, wie Leitfähigkeit, Viskosität und Dichte, erzielt. Ein Nachteil dieser Methode ist, dass unter anderem Lösungs- wie Prozessparameter eingestellt werden müssen, um die gewünschte Struktur zu erhalten.^[Yoon, 2011] Außerdem erhielt man relativ breite Größenverteilungen der Produktpartikel, die zur Herstellung von monodispersen Partikelverteilungen einen zusätzlichen Trennungsschritt erforderlich machen würden.

1.2.1 Verknüpfung von Partikeln

Neben diesen Ansätzen beschreibt eine weitere Methode den Aufbau multifunktionaler Nanopartikel durch Verknüpfen einzelner Nanopartikel miteinander. Dabei werden unterschiedliche Ansätze verfolgt, die nun im Einzelnen vorgestellt werden sollen.

Direkte/komplementäre Bindung

Eine Möglichkeit der Partikelkopplung beschreibt die selektive Modifizierung der Kolloidoberfläche mit komplementären funktionellen Gruppen, wodurch eine ortsspezifische Bindung auftreten kann. Die funktionelle Oberflächenstelle wird dabei meist über Maskierungstechniken erzeugt.

Hofmann und *Graf* beschrieben hierüber die kontrollierte Bildung stabiler Goldnanopartikel-Dimere.^[Hofmann, 2011] Die Untersuchungen gingen auf Arbeiten von *Sardar et al.* zurück.^[Sardar, 2008] Diese koppelten Citrat-stabilisierte Goldnanopartikel über Ammoniumgruppen auf eine Silan-stabilisierte Glasplatte. Die adsorbierten Partikel konnten nun einseitig mit 11-Mercapto-1-undecanol funktionalisiert werden. Unter Ultraschall konnten die Partikel von der Glasoberfläche gelöst und von der anderen Seite mit Thiol funktionalisiert werden. Es war ihnen somit möglich Partikel mit komplementären Funktionalitäten aufzubauen und diese zu dimerisieren. Allerdings konnte gezeigt werden, dass dieses Verfahren nicht sehr reproduzierbar war und zu unkontrollierter Aggregation der Partikel führte. Grund hierfür war der Einsatz monovalenter Thiole, die zu einer unzureichenden Stabilisierung der Goldpartikel führten. *Hoffmann* und *Graf* bauten den Ansatz weiter aus, indem sie nach Anbindung der Goldpartikel auf der Glasoberfläche nicht monovalente sondern trivalente Thiole einsetzten. Dies führte zu einer Stabilisierung der Goldpartikel und ließ eine gezielte Dimerisierung zu.

DNS-gesteuerte Bindung

Einsträngige DNS-Oligomere lassen sich mit Hilfe der komplementären Basenpaarung gezielt dimerisieren.^[Alivisatos, 1996] Werden diese DNS-Oligomere auf der Oberfläche von kolloiden Partikeln angebracht, lässt sich über die komplementäre DNS-Hybridisierung eine Verknüpfung der Partikel erzielen. DNS-Oligomere stellen ein besonders beliebtes System dar, da bereits chemisch modifizierte Oligomere mit spezifischen Längen und Sequenzen kommerziell erhältlich sind, die sich leicht auf der Nanopartikeloberfläche anbinden lassen.^[Mirkin, 1996] Da die

Hybridisierung der DNS-Stränge ein thermoreversibles System darstellt, ist es möglich durch Variation der Temperatur eine Steuerung der Partikelkopplung zu erzielen. Ein in der Literatur beschriebenes Beispiel geht auf die Herstellung von Oligonukleotid-modifizierten Goldnanopartikeln zurück und wurde von *Yang et al.* beschrieben. Sie untersuchten dabei zwei Ansätze. In dem ersten Ansatz wurden zunächst Alkylthiol-Oligonukleotide auf Goldnanopartikeln immobilisiert und anschließend hybridisiert. In dem zweiten Ansatz fand zunächst die komplementäre Hybridisierung der Alkylthiol-Oligonukleotide statt und im Anschluss die Addition der Goldnanopartikel. Es konnte gezeigt werden, dass einzelne Goldnanopartikel sowie Oligonukleotid-funktionalisierte Goldpartikel aggregierten und zufällige, selbstorganisierte Dimere bildeten. Auch ein Kontrollexperiment mit nicht komplementären DNS-Goldpartikeln bestätigte diese Ergebnisse. Daher lieferte die zweite Variante bessere Ergebnisse und ließ eine gezieltere Dimerisierung zu.^[Yao, 2007]

Bindung über ein Linker-Molekül

Neben den vorgestellten Möglichkeiten ist auch die Verknüpfung einer einzelnen funktionalisierten Kolloidsorte durch ein Linker-Molekül möglich. Die Verknüpfung kann dabei über eine kovalente Bindung erfolgen, aber auch „Donor-Akzeptor“-Wechselwirkungen zwischen Halogenatomen wurden beschrieben.^[Shirman, 2010] Die Linker-Moleküle sind dabei nicht auf niedermolekulare Verbindungen beschränkt, auch Polymere können zum Einsatz kommen. So wurden sogenannte „Mörtel-Ziegel“-Strukturen^[Boal, 2000] zwischen Gold- und Polystyrol-Partikeln beschrieben, die sich über Wasserstoffbrücken-Bindungen zu Clustern zusammen lagerten.

1.2.2 Multifunktionale Polymermizellen

Abgesehen von den Methoden kompartmentierte Partikel zu erzeugen oder Partikel mit unterschiedlichen Funktionalitäten direkt miteinander zu koppeln, stellt auch die gezielte Synthese stabilisierter Polymermizellen die nachträglich auf der Oberfläche mit Targeting-Molekülen, Antikörpern oder Fluoreszenzfarbstoffen modifiziert werden, einen beliebten Weg dar, multifunktionale Nanopartikel aufzubauen.^[Sutton, 2007] Durch die Möglichkeit mehrere Targeting-Moleküle auf einem Partikel anzureichern, kann die Rezeptor-Interaktion, zwischen Transportmolekül und Zelle, erhöht werden.

Ein Beispiel aus der Literatur lieferten *Wooley et al.*, die den Aufbau eines amphiphilen multifunktionalisierten Nanopartikels beschrieben, das anschließend mit einer mRNA-inhibierenden Peptid-Nukleinsäure (PNS) modifiziert wurde. Sie untersuchten den potentiellen Nutzen bei der Erkennung und Hemmung von mRNA-Sequenzen für induzierbare Stickmonoxid-Synthasen, die an Entzündungsstellen, wie z. B. in Fällen von akuter Lungenverletzung überexprimiert werden. Die zusätzliche Modifizierung mit einem Fluoreszenzfarbstoff ermöglichte die Charakterisierung des Systems. Über den Chelatliganden DOTA war es ihnen möglich über radiokative Markierung mit ^{64}Cu , die Bindungsaffinität der Partikel an die mRNA-Sequenzen zu ermitteln. [Shrestha, 2012]

Neben diesem gibt es zahlreiche Beispiele in der Literatur, in denen die Anbindung von Targeting-Molekülen an Polymermizellen beschrieben wurde. [Bae, 2005; Wei, 2013; Nicolas, 2013] Dabei wird besonders die zielgerichtete Anreicherung („aktive Targeting“) eines Partikels am gewünschten Wirkungsort intensiv untersucht. [Vicent, 2006]

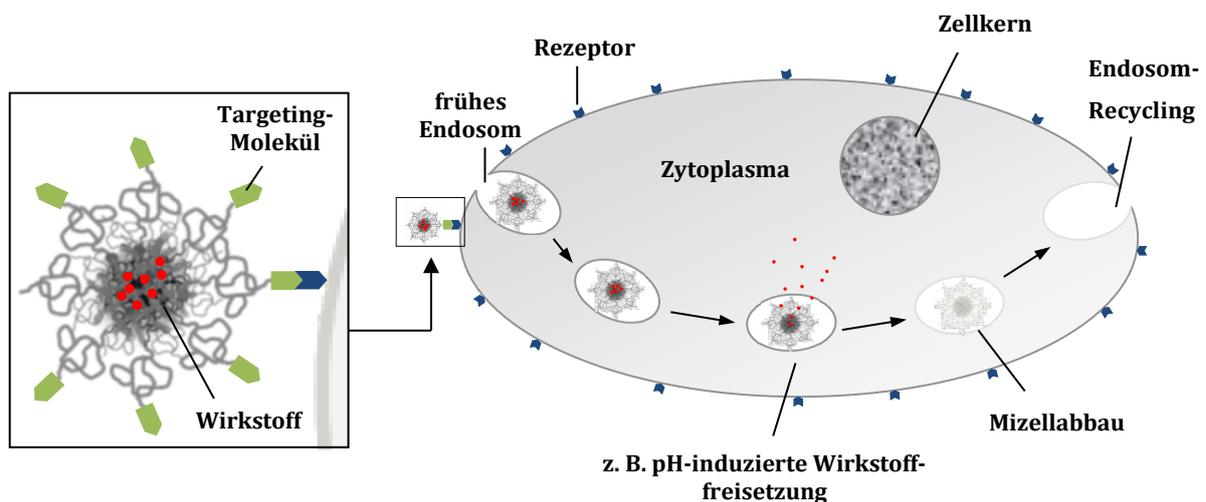


Abbildung 7: Multifunktionale Polymermizelle mit Targeting Molekül (A), Rezeptor-vermittelte Endocytose „aktives Targeting“ und intrazelluläre Wirkstoffabgabe (B).

Dies soll in Abbildung 7 schematisch verdeutlicht werden. Durch Targeting-Moleküle auf der Nanopartikeloberfläche können diese an Rezeptormoleküle der Zelle anbinden und so durch die Rezeptor-vermittelte Endozytose ins Zielgewebe aufgenommen werden. Dabei werden die Partikel nach Adsorption auf der Zelloberfläche, durch Einstülpung der Zellmembran, aufgenommen und durch eine anschließende Abschnürung ins Zellinnere transportiert.

Vor allem die Anbindung des Rezeptormoleküls Folat stellt einen interessanten Weg dar. Es spielt als C_1 -Überträger bei der Biosynthese der DNS sowie im Aminosäurestoffwechsel eine entscheidende Rolle. [Jaenike, 1961] Auch Tumorzellen benötigen aufgrund ihrer schnellen Wachstums- und Teilungsraten größere Folat-Mengen. Einige Tumorzellen wie z. B. die

Ovarialkrebszellen bilden daher hohe Konzentrationen an Folatrezeptoren auf ihrer Oberfläche aus.^[Markert, 2008] Einen interessanten Ansatz hierzu lieferte die Fa. *Endocyte*.^[www.endocyte.com, 2014] Sie entwickelte das Wirkstoff-Konjugat *Vintafolide*, das Folat mit dem krebshemmenden Desacetylvinblastinhydrazid (DAVLBH) verbindet. Dieses Krebsmedikament kann so gezielt in die Tumorzelle eingeschleust werden. Um die Folatrezeptor-exprimierenden Tumore zu identifizieren, soll den Patienten vorab das Folsäure-Konjugat *Etarfolide* als Begleitdiagnostikum verabreicht werden, das zusätzlich ein Kontrastmittel enthält. Zusammen mit der Fa. *Merck (US)* wird *Vitafolide* aktuell in einer klinischen Studie der Phase III für das platinresistente Ovarialkarzinom, und in einer Studie II für das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (NSCLC) in Kombination mit dem Begleitdiagnostikum geprüft.

Auch wenn das Konzept des Nanopartikel-Targetings seit mehr als 30 Jahren erforscht wird und bereits einige Partikel in klinischen Studien untersucht wurden, ist bis heute noch keine Verbindung klinisch genehmigt worden. Neben den vielversprechenden Eigenschaften der Partikel gilt es mögliche Herausforderungen, wie die Synthese und Reinheit der Systeme, zu überwinden. Des Weiteren zeigt die Nanopartikelfunktionalisierung mit bioaktiven Liganden nicht nur Vorteile. Durch die Kopplung an die Nanopartikel gehen, aufgrund von Konformationänderungen sowie unzureichender sterischer Freiheit und Orientierung, die Ligandeigenschaften oftmals verloren.^[Lallana, 2012] Auch die bereits beschriebene Wechselwirkung des meist eingesetzten Poly(ethylenglycol) mit Serumproteinen (Kapitel 1.1.2) stellt eine besondere Schwierigkeit dar. Daher ist die Suche nach geeigneten Materialien weiterhin Gegenstand der Forschung.

Im weiteren Verlauf soll nun ausführlich das in dieser Arbeit verwendete Polymersystem vorgestellt werden.

1.3 Poly(2-oxazolin)e zur Herstellung amphiphiler Blockcopolymere

Die in dieser Arbeit verwendeten Poly(2-oxazolin)e bieten ähnlich zum meist eingesetzten Poly(ethylenglycol) eine Reihe von Vorteilen. Bisherige Forschungsarbeiten zeigten, dass Poly(2-oxazolin)e eine hohe Biokompatibilität und geringe Toxizität besitzen.^[Adams, 2007] Zudem eröffnet die lebend-kationische Polymerisation die Möglichkeit definierte Polymerstrukturen mit niedrigen Polydispersitäten aufzubauen. Ein weiterer Vorteil ist der Einsatz funktionalisierter Initiatoren, Monomere sowie Terminierungsreagenzien, die eine gezielte und ortsspezifische Funktionalisierung innerhalb der Polymerkette erlauben.^[Reif, 2011] Neben der

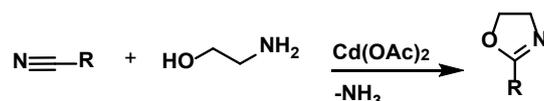
einfachen Synthese sind Poly(2-oxazolin)e bei Raumtemperatur und in wässriger Lösung stabil und besitzen eine geringe Viskosität.^[Binder, 2000]

Im Abschnitt 1.3.1 wird nun kurz das Monomersystem vorgestellt. Die Abschnitte 1.3.2 und 1.4 beschreiben den Mechanismus der Polymerisation sowie die Möglichkeiten zur Modifikation des Polymersystems.

1.3.1 2-Oxazoline

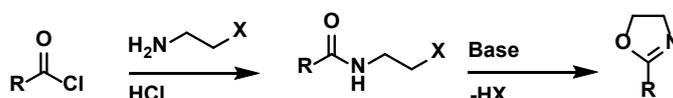
Die in dieser Arbeit eingesetzten 2-Oxazoline sind fünfgliedrige, heterozyklische Iminoether, die in der organischen Chemie als Schutzgruppenreagenzien für Carbonsäuren dienen.^[Meyers, 1976a & 1976b] Darüber hinaus werden sie aufgrund ihrer einfachen Synthese, als Monomerbausteine in der Polymerchemie eingesetzt, das bis heute das bedeutendste Anwendungsgebiet dieser Verbindung darstellt.^[Hoogenboom, 2009] Ein bedeutender Vorteil für den Einsatz der 2-Oxazoline ist die Möglichkeit der Modifizierung in 2-Position. Durch die Einstellung unterschiedlich langer Alkylketten können die Löslichkeitseigenschaften der Verbindung verändert werden. Methyl- sowie Ethylreste weisen hydrophile Eigenschaften auf, wohingegen 2-Oxazoline mit längeren Alkylketten ($n > 2$) hydrophob sind.

Die bekannteste Methode 2-Alkyl-2-oxazoline mit unterschiedlicher Alkylkettenlänge zu synthetisieren, ist die von *Witte* und *Seeliger* beschriebene Cadmium(II)acetat-katalysierte Reaktion aliphatischer Nitrile mit 2-Ethanolamin.^[Witte, 1974]



Schema 1: Darstellung von 2-Alkyl-2-oxazolin nach *Witte* und *Seeliger*.^[Witte, 1974]

Darüber hinaus ist eine Vielzahl an Syntheserouten bekannt, die es erlauben 2-Oxazoline mit unterschiedlichsten funktionellen Gruppen auszustatten. Die Dehydrohalogenierung von *N*-(2-Haloethyl)amiden unter Zuhilfenahme einer Base stellt eine weit verbreitete Methode dar.^[Aoi, 1996]



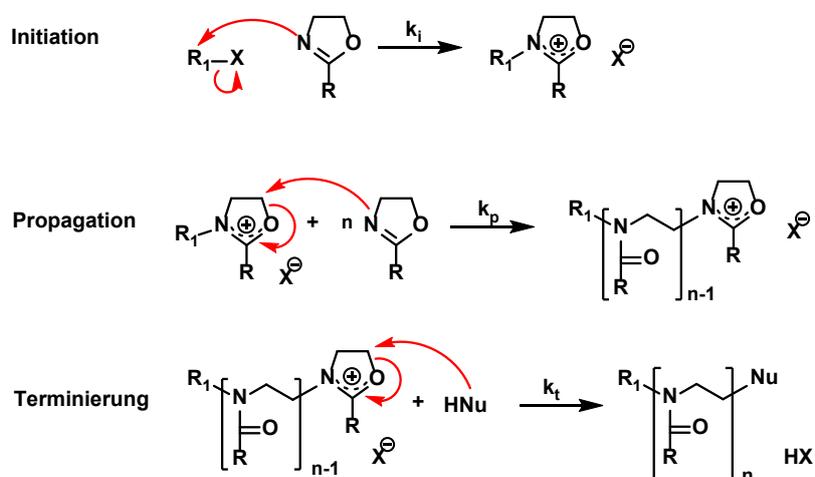
Schema 2: Darstellung von funktionalisierten 2-Oxazolinen.^[Aoi, 1996]

Der Einsatz von 2-Oxazolinen in der Polymerchemie ermöglicht somit den Aufbau hydrophiler sowie hydrophober Homopolymere. Des Weiteren lassen sich Blockcopolymere auf diese Weise erzeugen. Blockcopolymere aus hydrophoben und hydrophilen Blöcken führen zu amphiphilen Polymeren, die durch Selbstorganisation Mizellen bilden können. Dieses Verhalten wurde bereits in Kapitel 1.1.2 genauer erläutert. Es können aber auch gezielt funktionalisierte Polymere aufgebaut werden, die im Anschluss an die Polymerisation in polymeranalogen Reaktionen weiter effizient umgesetzt werden können. Dies wird in Kapitel 1.4 detailliert beschrieben.

1.3.2 Kationische Polymerisation von 2-Oxazolinen

Die kationische ringöffnende Polymerisation (CROP) von 2-Oxazolinen wurde erstmals 1966 von *Kagiya et al.*^[Kagiya, 1966] beschrieben. Den Arbeiten von *Saegusa* und *Kobayashi et al.*^[Saegusa, 1972; Kobayashi, 1986] in den 90er Jahren ist es zu verdanken, dass der Mechanismus der Polymerisation, der eine bimolekulare, nukleophile Substitutionsreaktion darstellt, heute gut verstanden ist. Dieser gliedert sich in drei grundlegende Schritte: die Initiation, gefolgt von meist mehreren Wachstumsschritten und der abschließenden Terminierung.^[Penczek, 1985]

In Schema 3 ist der allgemeine Mechanismus der ringöffnenden, kationischen Polymerisation dargestellt. Die Triebkraft dieser Reaktion ist dabei zum einen die Isomerisierung der Iminoetherverbindung zur thermodynamisch stabileren Amidverbindung und zum anderen der Abbau der Ringspannung des Fünfrings.^[Gross, 1996]

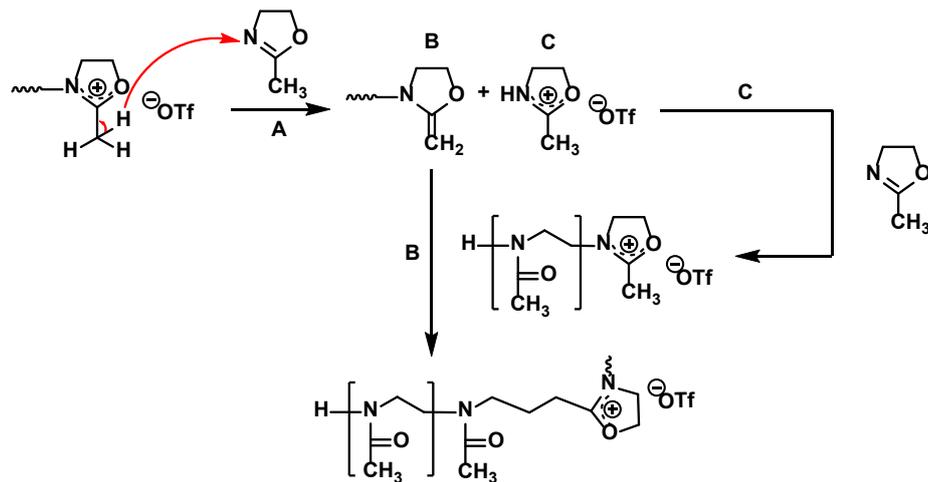


Schema 3: Mechanismus der lebend-kationischen, ringöffnenden Polymerisation von 2-Oxazolinen.

Eingeleitet wird die Polymerisation durch einen nukleophilen Angriff des Stickstoffatoms des Monomers an das elektrophile Zentrum eines Initiators. Als Initiatoren können Sulfonsäureester, Lewis-Säuren oder auch Brönsted-Säuren dienen. Es bildet sich eine zyklische, kationische Zwischenstufe aus, die während der Polymerisation erhalten bleibt. Die Initiierung verläuft dabei schnell und vollständig und führt zu einem gleichmäßigen Kettenwachstum, wodurch sich Polymere mit definierten Molmassen, Zusammensetzungen sowie enger Molmassenverteilung aufbauen lassen.^[Saegusa, 1972] Im Anschluss erfolgt das Kettenwachstum (Propagation) über nukleophile Angriffe der Stickstoffatome weiterer Monomere an die gebildeten, ionisch-zyklischen Zwischenstufen. Die kationischen, stabilen Kettenenden ermöglichen den Aufbau von Blockcopolymeren durch die sequentielle Zugabe verschiedener Monomere. Das Kettenwachstum wird solange fortgesetzt, bis alle Monomere aufgebraucht sind oder ein Terminierungsreagenz zugegeben wird. Als Terminierungsreagenzien eignen sich Nukleophile. Hierbei lässt sich vor allem mit zyklischen, sekundären Aminen, wie Piperidin oder Piperazin, ein sehr gutes Ergebnis erzielen.^[Chujo, 1993] Durch den Einsatz substituierter Amine ist auch eine direkte Endgruppenfunktionalisierung des Polymers möglich, worauf in Kapitel 1.4 näher eingegangen wird.

Neben dem gezeigten ionischen Mechanismus der ringöffnenden Polymerisation ist es möglich, dass dieser kovalent abläuft. Dabei steht die zyklische kationische Spezies im Gleichgewicht mit einer geöffneten kovalenten Spezies. Dieses Gleichgewicht ist abhängig von dem verwendeten Lösungsmittel, der Seitenkette des Monomers sowie der Nukleophilie des Gegenions. Es zeigte sich, dass bei einer geringen Nukleophilie des Gegenions, das Gleichgewicht zu Gunsten der zyklischen, kationischen Spezies verschoben werden kann.^[Kobayashi, 1984] Diese kann zusätzlich durch die Verwendung von Lösungsmitteln mit Donoreigenschaften stabilisiert werden.^[Saegusa, 1976] Acetonitril gilt an dieser Stelle als geeignetes Lösemittel und wurde auch im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt.

In den meisten Fällen verläuft die Polymerisation von 2-Oxazolinen kontrolliert und ohne Transferreaktionen. Experimentelle Befunde von *Litt* und *Levy*^[Litt, 1975] beschrieben jedoch schon 1968 das Auftreten von Kettenübertragungsreaktionen. Diese treten besonders bei hohen Temperaturen sowie beim Aufbau längerer Polymerketten auf. Auch *Hoogenboom* zeigte, dass Polymerisationen in der Mikrowelle temperaturabhängig zu Kettenübertragungs- und Abbruchsreaktionen führen können.^[Hoogenboom, 2007b]

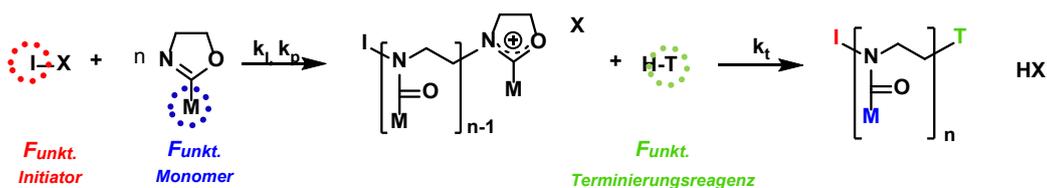


Schema 4: Mögliche Übertragungsreaktionen bei der Polymerisation von 2-Oxazolinen.^[Litt, 1975]

Schema 4 zeigt die Möglichkeiten von Übertragungsreaktionen in der Polymerisation von 2-Oxazolinen. Der mit **A** bezeichnete Weg zeigt einen Protonentransfer, wobei ein Proton des lebenden Polymerkettenendes unter Ausbildung einer Enamingruppe auf eine Monomereinheit übertragen wird. Dies führt letztendlich zur Terminierung der Kette. Voraussetzung für eine solche Abbruchsreaktion ist die Anwesenheit einer α -CH₂-Gruppe im Seitenkettensubstituenten. Des Weiteren kann eine Kettenkupplung eintreten, in der die Enaminfunktion mit dem lebenden Kettenende eines zweiten Polymers reagiert (**B**). Das entstandene Oxazolinium kann selbst auch als Initiator fungieren und eine neue Kette starten (**C**), wodurch kürzere Polymere aufgebaut werden.^[Litt, 1975]

1.4 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)en

Betrachtet man die Synthese der Poly(2-oxazolin)e aus Kapitel 1.3.2 sind mehrere Wege der Polymerfunktionalisierung denkbar. So können neben dem Einsatz funktionalisierter Initiatoren und Monomere auch funktionalisierte Terminierungsreagenzien eingesetzt werden.



Schema 5: Möglichkeiten der Polymerfunktionalisierung.

In diesem Abschnitt sollen die unterschiedlichen Modifizierungsmöglichkeiten von Poly(2-oxazolin)en ausführlich vorgestellt werden.

1.4.1 Einsatz funktionalisierter Monomere

Die bereits unter 1.3.1 beschriebene Methode der Dehydrohalogenierung von *N*-(2-Haloethyl)amiden ist eine weit verbreitete Variante funktionalisierte 2-Oxazolin-Monomere aufzubauen. Die so synthetisierten Monomere können direkt polymerisiert oder im Anschluss an die Polymerisation in einer polymeranalogen Reaktion weiter umgesetzt werden. Es lassen sich in der Literatur bereits viele Monomere finden. Abbildung 8 zeigt einige literaturbekannte Beispiele, die im Weiteren kurz vorgestellt werden sollen.

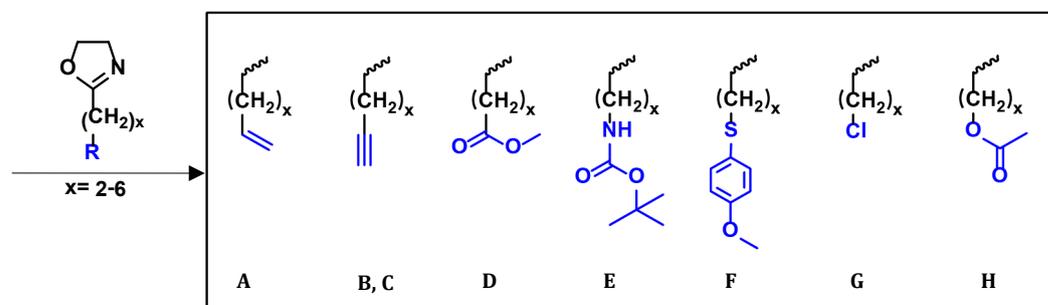


Abbildung 8: Literaturbekannte Beispiele für funktionalisierte 2-Oxazoline.

[A: Kempe, 2010; B: Gress, 2007; C: Luxenhofer, 2006; D: Zarka, 2003; E: Cesana, 2006; F: Cesana, 2007; G: Kim, 1989; Hsieh, 1985; H: Levy, 1968]

Der direkte Einsatz funktionalisierter Monomere bietet einige Vorteile. Die Synthese der Monomere ist in der Regel einfach und erfolgt über maximal vier Stufen in guten bis moderaten Ausbeuten.

Luxenhofer beschrieb die Synthese von 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin (**B**), welches er anschließend mit 2-Ethyl-2-oxazolin zum Blockcopolymer umsetzte. Mittels Klick-Chemie erfolgte danach unter Kupfer(I)-Katalyse die Verknüpfung eines Azid-funktionalisierten zyklischen RGDs.^[Luxenhofer, 2006]

Auch *Brummelhuis* verwendete in seiner Arbeit ein Alkin-funktionalisiertes Oxazolin, zur Synthese von Poly(2-oxazolin)en. Aus diesen bildete er Polymernizellen, die im Kern mit Hilfe von Thiolen photochemisch vernetzt wurden. Er beschrieb die Monomersynthese analog zu dem im Arbeitskreis von *Gress*^[Kempe, 2010] dargestellten 2-(But-3-ynyl)-2-oxazolin (**C**). Neben diesen

synthetisierte er auch 2-(But-3-enyl)-2-oxazolin (**A**). Er konnte zeigen, dass Alken-substituierte Oxazoline eine geringere Reaktivität mit Thiolen besaßen.^[Gress, 2007]

Des Weiteren wurden Amin-Oxazoline (**E**)^[Cesana, 2006] und Ester-Oxazoline (**D, H**)^[Zarka, 2003; Levy, 1968] zur Anbindung von Katalysatoren, DNS- und Peptid-Konjugaten synthetisiert und in Poly(2-oxazolin)e eingeführt.

Neben dem Einsatz substituierter 2-Oxazoline stellt auch die Endgruppenfunktionalisierung eine weitere Möglichkeit dar, Funktionalitäten gezielt in Poly(2-oxazolin)e einzubauen. Funktionelle Endgruppen können dabei sowohl über einen substituierten Initiator, als auch über das Terminationsreagenz eingeführt werden.

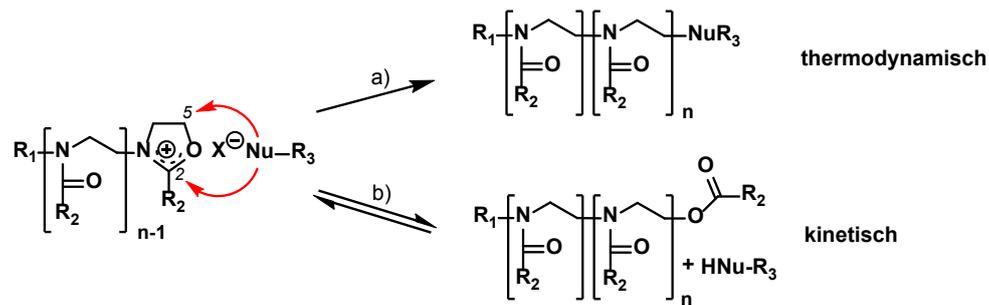
1.4.2 Endgruppenfunktionalisierung über Initiatoren

Die Art des Initiators ist von entscheidender Bedeutung, da die Initiierung für den Aufbau definierter Polymerstrukturen vollständig und schnell ablaufen sollte. Kinetische Studien zeigten, dass Triflate sich als besonders geeignet erwiesen, da sie schnell und vollständig initiieren und ein schwach nukleophiles, stabiles Gegenion bilden.^[Dubois, 2009] Auch Tosylate und Alkylhalogenide zeigten laut Literatur gute Ergebnisse.^[Luxenhofer, 2012]

Der Einsatz funktionalisierter Initiatoren bietet den Vorteil, dass jede Polymerkette eine Funktionalität als Endgruppe trägt. Dennoch erweist sich die Synthese der Initiatoren meist als schwierig, da auftretende Nebenreaktionen selten vermieden werden können. Durch die geringe Stabilität der Verbindungen ist die Aufarbeitung meist nicht möglich. Trotz der Lagerung unter inerten Bedingungen, zerfallen diese teilweise recht schnell und erschweren die reproduzierbare Synthese der Polymere.

1.4.3 Endgruppenfunktionalisierung über Terminierungsreagenzien

Auch die Terminierung bietet eine Möglichkeit, funktionelle Gruppen in das Polymer einzuführen. Ein bedeutender Vorteil hierbei ist vor allem der mögliche Einsatz zahlreicher, kommerzieller Reagenzien. Dabei ist zu beachten, dass die Terminierung thermodynamisch oder kinetisch ablaufen kann. In Schema 6 sind beide Reaktionswege schematisch dargestellt. Das Nukleophil kann mit dem ambidenten Oxazolinium-Kation in 2-Position als auch in 5-Position reagieren.^[Cai, 1992]



Schema 6: Mögliche Terminierungsreaktionen.^[Cai, 1992]

Der reversible Angriff in 2-Position (**b**) ist kinetisch kontrolliert. Das entstandene Produkt ist instabil und kann unter Abspaltung des Nucleophils leicht zum Esteramin hydrolysiert werden. Der Angriff in 5-Position ist irreversibel und läuft thermodynamisch (**a**) kontrolliert ab. *Nuyken et al.* untersuchten einige Nucleophile als Terminierungsreagenzien in der kationischen Polymerisation und kamen zu dem Ergebnis, dass sekundäre Amine besser terminieren als tertiäre, was unter anderem auf die unterschiedlichen pK_a-Werte zurückzuführen ist.^[Nuyken, 1996]

Dennoch zeigt die Endgruppenfunktionalisierung über eine Terminierung einen großen Nachteil. So können Terminierungen nicht immer quantitativ erfolgen. Für eine quantitative Terminierung muss ein hydrolysestabiles Produkt vorliegen und die Terminierung nach dem thermodynamisch günstigeren Reaktionsweg ablaufen. Um dies zu realisieren, spielen die Reaktionsbedingungen, wie Temperatur, eingesetztes Nucleophil, Reaktionszeit und Art des Lösungsmittels, eine entscheidende Rolle.

2. Ziel dieser Arbeit

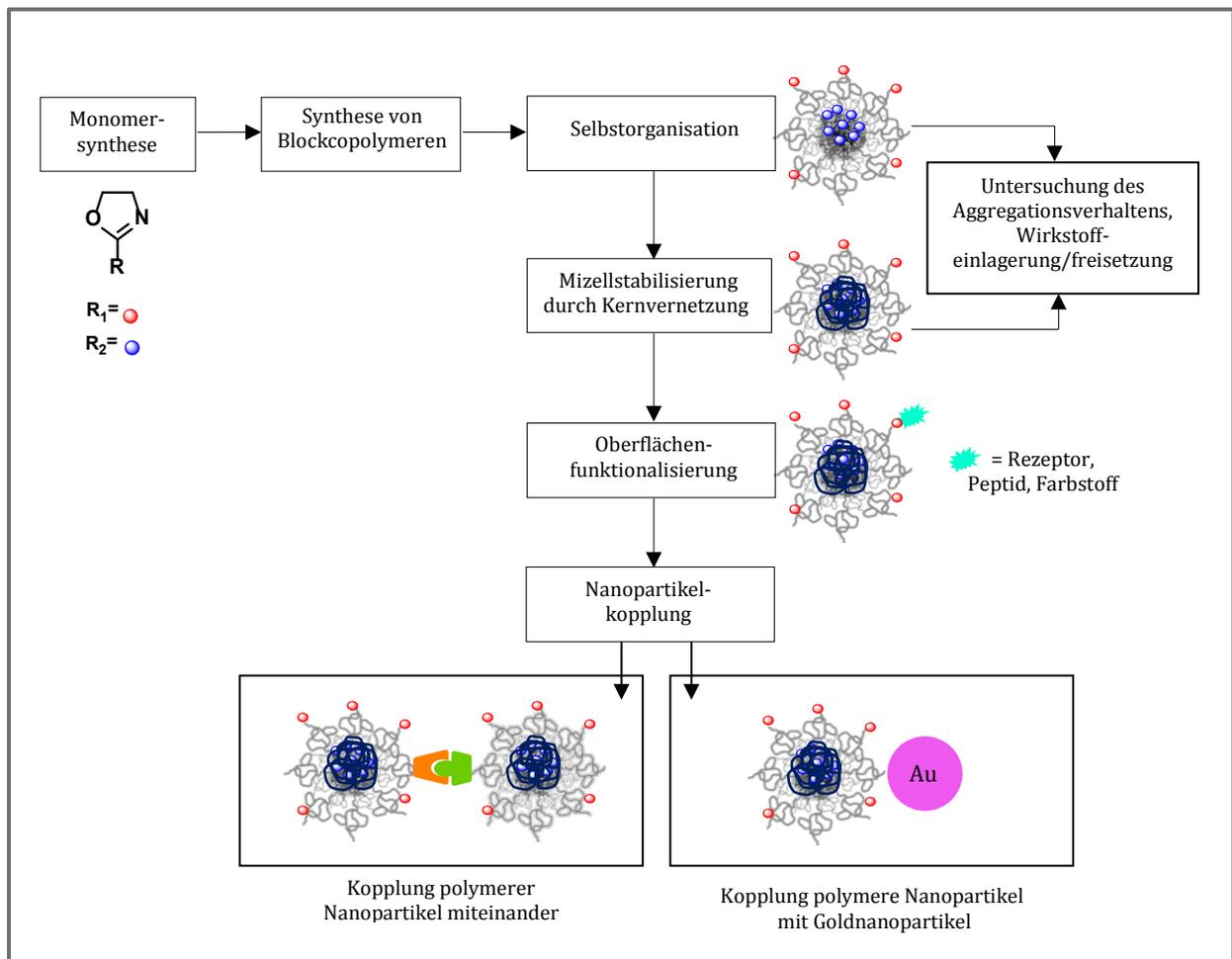
Wie bereits in der Einleitung verdeutlicht wurde, besitzen polymere Nanopartikel vor allem im Bereich des Wirkstofftransports und der Diagnostik großes Potential. Im Rahmen dieser Arbeit sollten daher zwei grundsätzliche Fragestellungen, die im Zusammenhang mit polymeren Nanopartikeln für den Medizineinsatz immer wieder diskutiert werden, bearbeitet werden. Die erste Frage befasste sich mit dem Problem der Stabilität von polymeren Nanopartikeln und wie sich diese verbessern lässt. Die zweite Fragestellung befasste sich mit dem Aspekt der Funktionalisierung von Nanopartikeln, d. h. wie sich gezielt z. B. auf der Oberfläche oder im Nanopartikelinneren zusätzliche Funktionalitäten erzeugen lassen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte daher ausgehend von amphiphilen Blockcopolymeren und deren Selbstorganisation in Wasser, der gezielte Aufbau von polymeren Nanopartikeln untersucht werden. Mit Hilfe der lebend-kationischen Polymerisation von 2-Oxazolinen sollten zunächst amphiphile Blockcopolymere mit unterschiedlicher Alkylseitenkettenlänge im hydrophoben Block (Pentyl-, Heptyl- und Nonylkettenlänge) aufgebaut und deren Mizellbildung mit Hilfe verschiedener Methoden charakterisiert werden.

Im Hinblick auf die Herstellung multifunktionaler Nanopartikel sollten im Anschluss daran verschiedene Methoden untersucht werden, die Polymermizellen einerseits chemisch zu stabilisieren und andererseits eine Funktionalisierung der Oberfläche zu gewährleisten. Dies sollte durch den Einsatz maßgeschneiderter Blockcopolymere mit einer Alkin-Seitengruppe im hydrophoben Block und einer Amin-Endgruppe im hydrophilen Block erreicht werden. Die Amin-Endgruppe sollte nach der erfolgten Mizellbildung und Nanopartikelherstellung zur weiteren Funktionalisierung der Oberfläche eingesetzt werden. Als Zielmoleküle sollten insbesondere biologisch relevante Moleküle, wie das GRGDSF-Peptid, Fluorescein oder die Folsäure, eingesetzt werden, die z. B. ein aktives Targeting dieser Nanopartikel erlauben würde. Neben organischen Molekülen sollte auch die Kopplung von Goldnanopartikeln untersucht werden, da diese in der Diagnostik von großem Interesse sind.

Ein alternativer Ansatz zur Herstellung multifunktionaler Nanopartikel sollte durch die kovalente Kopplung verschiedener Polymernanopartikel zu Multimeren erreicht werden. Hierzu sollten die Nanopartikel mit chemisch reaktiven Gruppen oberflächenfunktionalisiert und anschließend kovalent gekoppelt werden.

Die geplanten Arbeitsschritte sind in Schema 7 zusammengestellt.



Schema 7: Schematischer Ablauf der Arbeit.

3. Ergebnisse und Diskussion

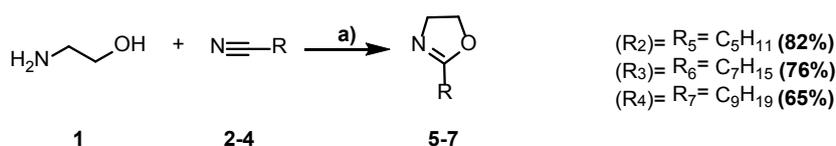
3.1 Amphiphile Poly(2-oxazolin)e

Neben der Synthese von Blockcopolymeren, die für den Einsatz biomedizinischer Anwendungen von Interesse sind, spielt deren Charakterisierung eine wichtige Rolle. Da der Aufbau Einfluss auf das Aggregationsverhalten nehmen kann, sollten im ersten Teil der Arbeit amphiphile Blockcopolymeren auf Basis von 2-Oxazolinen über eine kationische, ringöffnende Polymerisation aufgebaut werden. Der längere hydrophile Block wurde aus dem Monomer 2-Methyl-2-oxazolin gebildet, wohingegen der hydrophobe kürzere Block jeweils aus 2-Alkyl-2-oxazolin mit unterschiedlich langen Seitenketten gebildet wurde. Als hydrophobe Monomere kamen 2-Pentyl-2-oxazolin, 2-Heptyl-2-oxazolin und 2-Nonyl-2-oxazolin zum Einsatz. Im Anschluss an die Synthesen wurden die kritische Mizellbildungskonzentration sowie die hydrodynamischen Radien ermittelt. Darüber hinaus wurde das Aggregationsverhalten in Abhängigkeit ihres hydrophoben Blocks mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bei Temperaturen zwischen 25 °C und 80 °C untersucht. T_1 -Relaxationsmessungen sollten Aufschluss darüber geben, welchen Einfluss die Temperatur auf das Aggregationsverhalten und die Stabilität der Mizellen hat. Derartige Untersuchungen sind für die Anwendung von Mizellen in der Katalyse aber auch bei der Freisetzung von Wirkstoffen von Interesse.

Für die Synthese der Blockcopolymeren mussten zunächst die unterschiedlichen 2-Alkyl-2-oxazoline synthetisiert werden. Das hydrophile Monomer 2-Methyl-2-oxazolin sowie der Initiator Methyltriflat waren kommerziell erhältlich und wurden nach destillativer Aufreinigung und Trocknen über CaH_2 direkt eingesetzt.

3.1.1 Synthese der 2-Alkyl-2-oxazoline

Die Darstellung der 2-Alkyl-2-oxazoline aus aliphatischen Nitrilen erfolgte nach einer von *Witte* und *Seeliger*^[Witte, 1974] beschriebenen Syntheseroute. Durch eine Cadmium(II)acetat katalysierte Reaktion wurde das *n*-Alkylcyanid **2-4** mit 2-Ethanolamin **1** zum 2-Alkyl-2-oxazolin **5-7** umgesetzt. Der Zusatz von Cadmiumacetat als Lewis-Säure diente der Aktivierung des Nitrils sowie des intermediären *N*-(2-Hydroxyethyl)imidamids.^[Schubert, 2009]



Schema 8: Darstellung von 2-Alkyl-2-oxazolin;
 Reagenzien und Bedingungen: a) Cd(II)OAc₂, 30 h, Rückfluss.

Ein Überschuss an 2-Ethanolamin **1** und eine verlängerte Reaktionszeit gewährleisteten hierbei einen hohen Umsatz der Nitrilkomponente.^[Moaddel, 2005] Durch fraktionierte Destillation mit Hilfe einer K-Destille mit Vigreux-Kolonnen, konnten die Monomere 2-Pentyl-2-oxazolin **5**, 2-Heptyl-2-oxazolin **6** sowie das 2-Nonyl-2-oxazolin **7** in reiner Form und in moderaten bis guten Ausbeuten von 65-82% erhalten werden. Die Struktur und Reinheit der Verbindungen wurden mittels ¹H-, ¹³C-NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie (ESI-MS) untersucht und stimmten mit den Literaturwerten überein.

3.1.2 Synthese amphiphiler Poly(2-oxazoline)

Es wurden Polymere mit einem konstanten hydrophilen Block und einem variablen hydrophoben Block synthetisiert, um das Aggregationsverhalten amphiphiler Poly(2-oxazoline) in Abhängigkeit von ihrer Zusammensetzung zu untersuchen. Der hydrophile Block bildete dabei immer den längeren Block, um eine ausreichende Wasserlöslichkeit des Blockcopolymeren zu gewährleisten. Es wurde eine frei gewählte Zusammensetzung von 20 Einheiten 2-Methyl-2-oxazolin zu 5 Einheiten des hydrophoben 2-Alkyl-2-oxazolins festgelegt. Das Verhältnis der beiden Blöcke sollte dabei gleich gehalten werden, lediglich die Länge der Seitenkette der hydrophoben Komponente sollte variiert werden. Als 2-Alkyl-2-oxazoline wurden 2-Pentyl-2-oxazolin **5**, 2-Heptyl-2-oxazolin **6** sowie das 2-Nonyl-2-oxazolin **7** eingesetzt.

Die Polymerisation erfolgte dabei nach einer von *Roßbach*^[Roßbach, 2006] beschriebenen Synthesevorschrift mit Methyltriflat als Initiator, in der das hydrophile 2-Methyl-2-oxazolin 2 h bei 120 °C und im Anschluss das hydrophobe 2-Alkyl-2-oxazolin 4 h bei 110 °C polymerisiert wurden. Der Abbruch der Reaktion konnte mit dem Terminierungsreagenz Piperidin eingeleitet werden. Nach Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in Chloroform aufgenommen und das Polymer konnte durch Ausfällen in kaltem Diethylether in moderaten bis guten Ausbeuten von 74-83% erhalten werden.

Die Zusammensetzung der Polymere wurde mittels Endgruppenanalyse aus den ¹H-NMR-Spektren der Polymere bestimmt. Abbildung 9 zeigt beispielhaft das ¹H-NMR-Spektrum von Poly((MetOx)₁₇-*block*-(HepOx)₄)-Piperidin **P2**. Die chemischen Gruppen im Molekül wurden nummeriert und im ¹H-NMR-Spektrum den jeweiligen Signalen zugeordnet.

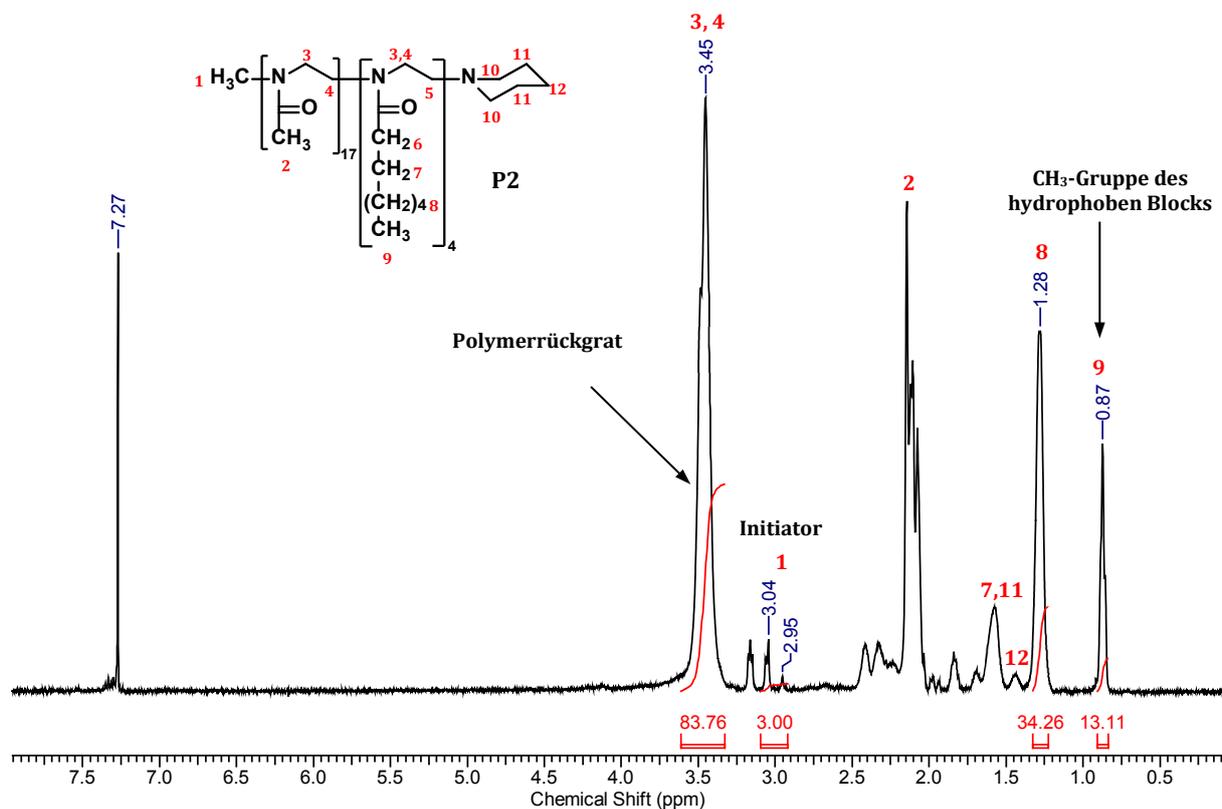


Abbildung 9: ¹H-NMR-Spektrum von Poly((MetOx)₁₇-*block*-(HepOx)₄)-Piperidin (**P2**).

Die Protonen des Initiators (2.95-3.04 ppm) dienen als Referenz für die Endgruppenanalyse. Über die Bestimmung des hydrophoben Blocks (0.87 ppm) und des Gesamtpolymerisationsgrades (3.45 ppm) konnte anschließend der Umsatz des 2-Methyl-2-oxazolin ermittelt werden. Über die Endgruppenanalyse aus dem ¹H-NMR-Spektrum konnte eine

zahlengemittelte Molmasse (\bar{M}_n) von 2220 g/mol sowie die Polymerzusammensetzung von 17 (MetOx): 4 (HepOx) ermittelt werden. Mittels Gelpermeationschromatographie (GPC) konnte ein Polydispersitätsindex von 1.08 bestimmt werden. Dieser liegt in einem für die kationische Polymerisation charakteristischen Bereich und deutet auf eine lebende Polymerisation hin.^[Thieke, 2005] Tabelle 2 fasst die ermittelten analytischen Daten der amphiphilen Blockcopolymeren **P1-P3** zusammen.

Tabelle 2: Analytische Daten der amphiphilen Blockcopolymeren **P1-P3**.

Abkürzung	Polymer	m_{exp} (kal.) ¹ H-NMR	n_{exp} (kal.) ¹ H-NMR	$m:n$	\bar{M}_n^a /g·mol ⁻¹	PDI ^b
P1	P((MetOx) _m -b-(PentOx) _n)	17 (20)	4 (5)	4.2	2110	1.17
P2	P((MetOx) _m -b-(HepOx) _n)	17 (20)	4 (5)	4.2	2220	1.08
P3	P((MetOx) _m -b-(NonOx) _n)	22 (20)	6 (5)	3.7	3160	1.10

^[a] bestimmt über ¹H-NMR-Spektroskopie basierte Endgruppenanalyse, ^[b] bestimmt mittels GPC in DMF/LiBr; Kalibrierung erfolgte über PS-Standards.

Die aus den ¹H-NMR-Spektren ermittelten Polymerzusammensetzungen weichen nur geringfügig von den theoretischen Zusammensetzungen ab. Bei der Auswertung der Spektren war zu beachten, dass diese bei einer hohen Frequenz aufgenommen wurden, da die Genauigkeit der bestimmten Polymerisationsgrade besonders von der Integration des Initiatorsignals abhing, das im Vergleich zum Polymer eine deutlich geringere Intensität lieferte. Über den zusätzlichen Vergleich der Integration der Piperidin-Protonen konnte dennoch eine relativ genaue Polymerzusammensetzung bestimmt werden. Die aus der GPC-Messung erhaltenen Polydispersitätsindices für **P1** und **P3** deuten mit Werten von 1.17 und 1.10 ebenfalls auf eine enge Molmassenverteilung hin und sprechen für den lebenden Polymerisationsmechanismus. Nachdem die Polymere mittels ¹H-NMR-Spektroskopie und Gelpermeationschromatographie (GPC) charakterisiert wurden, sollte im Anschluss die kritische Mizellbildungskonzentration (cmc) ermittelt werden.

3.1.3 Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration

Eine Eigenschaft von Mizellen ist ihre Fähigkeit hydrophobe Moleküle zu solubilisieren. Diese Moleküle, die oft eine sehr niedrige Löslichkeit in Wasser besitzen, werden im Inneren der Mizelle eingeschlossen.^[Moulik, 1996] Besitzen diese Moleküle eine signifikante Schwingungs-

feinstruktur, deren Intensitäten stark von der Polarität ihrer Umgebung abhängig ist, können sie als Sonden eingesetzt werden. Mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie ist es dann möglich zwischen Mizellaren und nicht Mizellaren Systemen zu unterscheiden. Eine bekannte Fluoreszenzsonde ist Pyren, da es sich aufgrund seiner photophysikalischen Eigenschaften als Modellsystem bewährt hat und in der Literatur ausführlich charakterisiert wurde.^[Kalyanasundaram, 1977; Nakajima, 1973]

Abbildung 10 zeigt das Fluoreszenzspektrum von Pyren in Wasser mit seinen fünf charakteristischen Schwingungsbanden zwischen 370 und 400 nm. *Nakajima* konnte zeigen, dass die I_1 -Bande bei einer Wellenlänge von 372 nm, die dem $(0 \leftarrow 0)$ Schwingungsübergang entspricht, eine Intensitätserhöhung in polaren Lösemitteln zeigt. Die I_3 -Bande bei einer Wellenlänge von 383 nm, die dem Schwingungsübergang $(0 \leftarrow 2)$ entspricht, ändert nur minimal ihre Intensität mit der Polarität des Lösemittels. Diese Erkenntnis ermöglichte es, das Verhältnis der Intensität der I_1/I_3 -Bande als Maß für die Mikropolarität der Pyrenumgebung zu nutzen und so zwischen Mizellaren und nicht-mizellaren Systemen unterscheiden zu können. Die Veränderung des Verhältnisses I_1/I_3 korreliert dabei mit dem Aggregationsverhalten des amphiphilen Blockcopolymer in Wasser. Ab dem Erreichen der cmc löst sich das hydrophobe Pyren nahezu vollständig im Mizellkern, was an der sprunghaften Änderung des Quotienten I_1/I_3 deutlich wird.^[Kalyanasundaram, 1977]

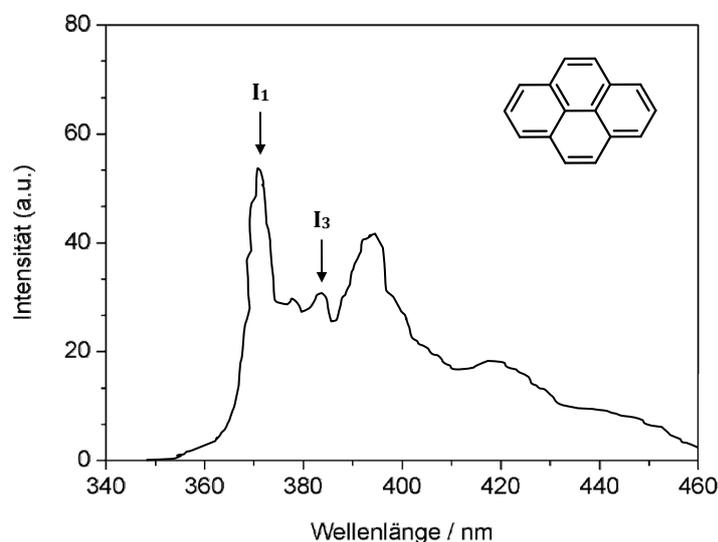


Abbildung 10: Fluoreszenzspektrum von Pyren in Wasser.

Auch im Rahmen dieser Arbeit wurde die Fluoreszenzsonden-Technik mit Pyren als Sondenmolekül eingesetzt. Zur Bestimmung der cmc wurde zunächst eine Konzentrationsreihe des Blockcopolymer in Wasser angesetzt. Jede angesetzte Konzentration wurde mit 10 μL einer

gesättigten Pyren-Lösung versetzt und 30 Minuten mit Argon entgast. Anschließend wurde für jede Konzentration ein Fluoreszenzspektrum mit der Anregungswellenlänge $\lambda_{ex} = 334$ nm aufgenommen. Die aus den Fluoreszenzspektren ermittelten Verhältnisse der Intensitätsbanden I_1/I_3 wurden gegen die Konzentrationen aufgetragen. Nach Anlegen einer sigmoidalen Kurve durch die Messpunkte konnte die cmc graphisch ermittelt werden.

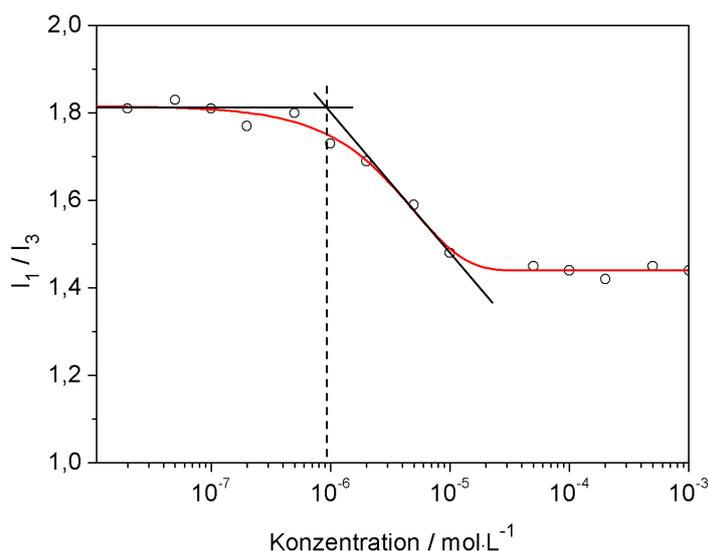


Abbildung 11: Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration durch Pyrensolubilisierung am Beispiel von P3.

In Tabelle 3 sind die graphisch ermittelten cmc-Werte der Blockcopolymeren **P1-P3** zusammengefasst. Diese liegen in einem für Blockcopolymeren charakteristischen Bereich und zeigen im Vergleich zu Tensiden, wie z. B. dem Natriumdodecylsulfat ($\text{cmc } 8.2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ bei $T = 298 \text{ K}$)^[Mukerjee, 1971; Dörfler, 2002, S.387] einen deutlich niedrigeren Wert.^[Förster, 1997]

Tabelle 3: Kritische Mizellbildungskonzentration der Blockcopolymeren **P1-P3**.

Abkürzung	Polymer	m_{exp} (kal.) ¹ H-NMR	n_{exp} (kal.) ¹ H-NMR	$m:n$	cmc^a / $10^{-6} \cdot \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
P1	P((MetOx) _m -b-(PentOx) _n)	17 (20)	4 (5)	4.2	40
P2	P((MetOx) _m -b-(HepOx) _n)	17 (20)	4 (5)	4.2	5
P3	P((MetOx) _m -b-(NonOx) _n)	22 (20)	6 (5)	3.7	1

^[a] bestimmt über Fluoreszenzspektroskopie mit Pyren als Sondenmolekül.

Für niedermolekulare Tenside konnte bereits gezeigt werden, dass die Länge und der chemische Aufbau des hydrophoben Restes einen entscheidenden Einfluss auf die Mizellbildung nehmen.^[Dörfler, 2002, S.384] Dieser Trend lässt sich auch bei den synthetisierten Blockcopolymeren

P1-P3 feststellen. Das Polymer **P1**, das im hydrophoben Block des Polymers die kürzeste Alkylkettenlänge besitzt, zeigt mit einer cmc von $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ den größten Wert. Allgemein nimmt die cmc von **P1** zu **P3** mit zunehmender Kettenlänge des hydrophoben Blocks kontinuierlich ab. **P3** besitzt, mit der Nonyl-Kette im hydrophoben Block und der damit längsten Alkylseitenkette, mit $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ die niedrigste cmc. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen voran gegangener Arbeiten aus der Literatur gut überein. Auch hier konnte gezeigt werden, dass das Einsetzen der Mizellbildung hauptsächlich durch die Art und die Länge des hydrophoben Blocks bestimmt wird, wohingegen der lösliche hydrophile Block nur einen geringen Einfluss auf die Mizellbildung zeigt.^[Astafieva, 1993; Gao, 1993]

3.1.4 Bestimmung des hydrodynamischen Radius

Die Partikelgröße der in Wasser aggregierenden Blockcopolymere wurde mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung (DLS) bestimmt. Dabei wird die Probe zunächst mit Laserlicht durchstrahlt. Die entstehende Streustrahlung wird anschließend in einem bestimmten Winkel zeitabhängig gemessen.^[Podzimek, 2011, S.59] Das Prinzip geht auf den Doppler-Effekt^[Pecora, 1985, S.724] zurück, welcher durch die freie Diffusion von Partikeln verursacht wird. In Lösung bewegen sich dispergierte Partikel aufgrund der *Brown'schen* Molekularbewegung zufällig mit unterschiedlicher Geschwindigkeit in alle drei Raumrichtungen, wobei die einzelnen Molekülgruppen rotieren und schwingen können. Je nach Viskosität der Flüssigkeit sowie Größe und Form der Teilchen, kann diese Bewegung schneller oder langsamer verlaufen. Trifft Laserlicht auf einen Partikel, so wirkt dieser als Streuzentrum. Aufgrund der Bewegung der Teilchen kommt es zu einer Frequenzverschiebung des gestreuten Lichtes.^[Podzimek, 2011] Folglich liegt ein Spektrum von verschobenen Frequenzen bezüglich der eingestrahlten Frequenz vor, das auch als „optisches Doppler-Shift-Spektrum“ bezeichnet wird. Da die Frequenzverschiebung im Vergleich zur Frequenz des eingestrahlten Lichtes nur sehr gering ist, betrachtet man nicht das Frequenzspektrum, sondern die durch Fourier-Transformation erhaltene Autokorrelationsfunktion $g^2(\tau)$, die aus den zeitabhängigen Intensitätsschwankungen mit Hilfe eines Korrelators bestimmt werden kann. Dies ist in Abbildung 12 veranschaulicht. Durch die rein statistische Bewegung der Partikel, die zeitabhängig ihre Position und ihren Impuls ändern, verändert sich die Intensität des Streulichts. Die Intensität der Streustrahlung $I(t)$ schwankt dabei zeitabhängig mit einer gewissen Fluktuationsperiode um einen mittleren Intensitätswert $\langle I \rangle$. Dabei besitzt $I(t)$ für die Zeitpunkte t und $(t+\tau)$ unterschiedliche Werte.^[Dörfler, 2002, S. 725]

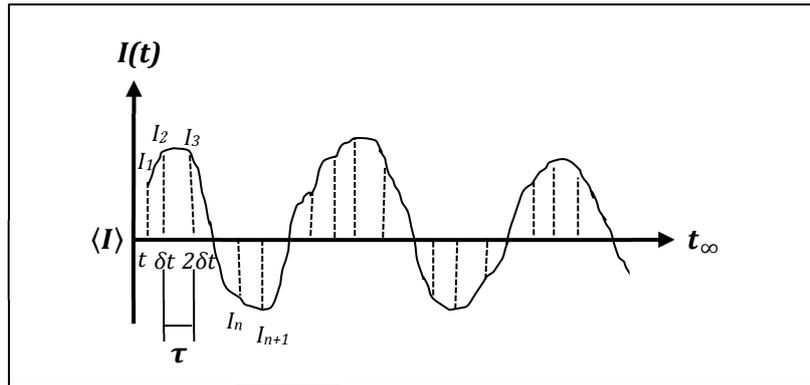


Abbildung 12: Intensitätsfluktuation der Streustrahlung $I(t)$ um den Mittelwert $\langle I \rangle$ resultierend aus der Brown'schen Molekularbewegung der einzelnen Partikel (τ stellt dabei die Verzögerungszeit dar).

[www.chemie.uni-regensburg.de/Physikalische_Chemie/Schmeer/PDF_Files/Lichtstreuung_n.pdf]

Dieses Verhalten kann über die Intensitäts-Zeit-Korrelationsfunktion beschrieben werden, die den Mittelwert aus dem Produkt $I(t)$ und $I(t+\tau)$, gemittelt über einen größeren Zeitraum, darstellt.[Dörfler, 2002, S. 726]

$$\langle I(t)I(t + \tau) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \left[\frac{1}{T} \int_{t=0}^T I(t)I(t + \tau) dt \right] \quad (\text{Gl. 2})$$

I_t = Intensität zur Zeit t ; $I(t+\tau)$ = Intensität zur Zeit t zu einer um τ Zeiteinheiten verschobenen Zeit, τ = Verzögerungszeit.

Dabei besitzt die Korrelationsfunktion einen typischen Verlauf, der durch monotonen Abfall gekennzeichnet ist und Informationen über die Größe der Partikel geben kann.

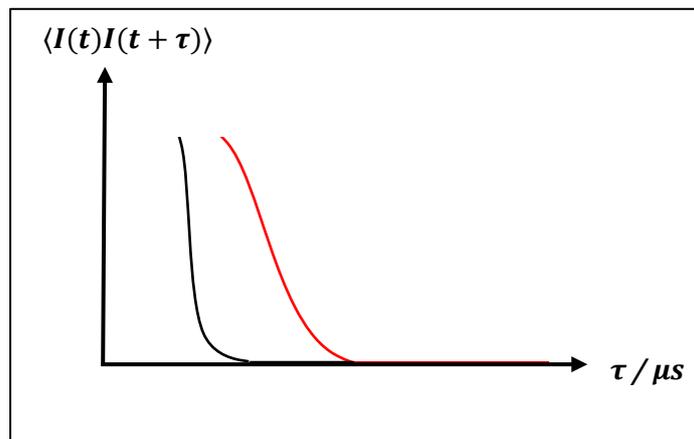


Abbildung 13: Typischer Verlauf der Intensitäts-Zeit-Autokorrelationsfunktion $\langle I(t)I(t + \tau) \rangle$ am Beispiel von großen (rot) und kleinen Partikeln (schwarz).

[www.malvern.com/de/pdf/secure/TN101104DynamicLightScatteringIntroduction.pdf]

Durch Division durch das mittlere Intensitätsquadrat $\langle I(t) \rangle^2$ ergibt sich die normierte Intensitäts-Zeit-Autokorrelationsfunktion $g^2(t)$. Für die eigentliche Auswertung dynamischer Lichtstreuexperimente wird jedoch die Feld-Zeit-Autokorrelationsfunktion $g^1(t)$ benötigt, da die am Detektor gemessenen Streuintensitäten $I(t)$ keine Phaseninformationen über die gestreuten Lichtstrahlen enthalten. Nach Normierung auf die Basislinie lässt sich aus der Intensitätsautokorrelationsfunktion $g^2(t)$ über die *Sigert*-Beziehung, die Autokorrelation des elektrischen Feldes $g^1(t)$ berechnen, die für den einfachsten, idealisierten Fall einer verdünnten Lösung monodisperser Partikel, einer monoexponentiell fallenden Funktion entspricht.

$$g^1(q, \tau) = e^{-\Gamma\tau} = e^{-q^2 D \tau} \quad (\text{Gl. 3})$$

D = Translationsdiffusionskoeffizient [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]; Γ = inverse Relaxationszeit, τ = Verzögerungszeit, q = Streuvektor.

Aus dieser kann dann der Diffusionskoeffizient bestimmt werden, der über die *Stokes-Einstein*-Beziehung (Gl. 4) bei konstanter Viskosität und Temperatur des Dispersionsmediums in direktem Zusammenhang mit dem hydrodynamischen Radius steht.^[Czeslik, 2009, S.31]

$$D = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_h} \quad (\text{Gl. 4})$$

D = Diffusionskoeffizient [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]; k = Boltzmann-Konstante [$\text{N} \cdot \text{m} \cdot \text{K}^{-1}$]; T = Temperatur [K];
 η = Dynamische Viskosität [$\text{n} \cdot \text{S} \cdot \text{m}^{-2}$]; r_h = Hydrodynamischer Radius [nm].^[Czeslik, 2009]

Hier muss beachtet werden, dass der hydrodynamische Radius der Partikel berechnet wird und somit nicht zwangsläufig eine Übereinstimmung mit dem tatsächlichen Partikelradius zeigt. Die Berechnung des hydrodynamischen Radius bezieht sich dabei auf sphärische Partikel.^[Jonasz, 2007] Für nicht sphärische Partikel wird ein Partikeldurchmesser erhalten, der dem einer Kugel mit gleichem Diffusionskoeffizienten entspricht.

In der Praxis müssen, je nach Breite der Partikelverteilung, Anpassungen an die gemessenen Korrelationsfunktionen durchgeführt werden, wobei die Kumulantenmethode die einfachste Art der Auswertung darstellt.

$$\ln(g^1(q, \tau)) = \sum_j K_j(\Gamma) \left(-\frac{t}{j!} \right) \quad (\text{Gl. 5})$$

Dabei wird die logarithmierte Autokorrelationsfunktion in einer Reihe von Kumulanten K_j entwickelt, wobei der erste Kumulant den mittleren Diffusionskoeffizienten liefert, aus dem anschließend der mittlere intensitätsgemittelte Partikeldurchmesser (z-Average) ermittelt werden kann. Der zweite Kumulant, entspricht dem Polydispersitätsindex (PI). Dieser gilt als Maß für die Breite der Verteilung der Partikel. Für eine enge Verteilung sollte der Polydispersitätsindex den Wert von 0.2 nicht überschreiten. Ein PI-Wert zwischen 0.2-0.5 zeigt eine breite Größenverteilung an. Die Größenverteilung gibt dabei zusätzlich Auskunft über die Qualität der Messung.^[Brar, 2011] Da die Intensität der Streustrahlung stark abhängig von der Größe der Partikel ist, sind die Messungen mit einem hohen PI nicht aussagekräftig und geben keine absolute Größe wieder.

$$I \sim d^6 \quad (\text{Gl. 6})$$

I = Intensität der Streustrahlung, d = Partikeldurchmesser [nm].

So ist in der Rayleigh-Debye-Näherung ($d \ll \lambda$) die Streuintensität I einer Kugel mit dem Durchmesser d proportional zu d^6 (Gl. 6).^[Goldburg, 1999] An großen Partikeln kann das einfallende Licht stärker gestreut werden, wodurch die Streustrahlung kleinerer Partikel überdeckt werden kann. Daher sind je nach Zusammensetzung der Probe mehr oder weniger komplizierte Anpassungen an die Korrelationsfunktion nötig, um verwertbare Ergebnisse aus den Messungen erzielen zu können.

Polydisperse Proben können nicht nach dem Kumulanten-Verfahren gelöst werden, da hier jede Partikelpopulation eine für sie typische Abklingkonstante besitzt. Die Lösung ist hier weit komplexer. Die am weitesten verbreitete Methode behandelt eine inverse Laplace-Transformation und wird nach ihrem Entwickler als CONTIN-Analyse bezeichnet. Die Beschreibung dieses Verfahrens soll an dieser Stelle nicht weiter besprochen werden.

Die in dieser Arbeit verwendete Software (Zetasizer Nano Z, Fa. *Malvern Instruments*) stellt standardmäßig die Kumulanten- wie auch die CONTIN-Methode als mögliche Auswerteverfahren zu Verfügung. Dabei kann neben dem mittleren intensitätsgewichteten Partikelradius auch der mittlere volumen- und anzahlgewichtete Partikelradius ermittelt werden.

Darstellung der eigenen Ergebnisse

Für die Bestimmung des hydrodynamischen Radius der Polymermizellen wurde das Polymer (**P1-P3**) oberhalb seiner cmc, direkt in dem selektiven Lösemittel Wasser gelöst, wodurch die Mizellbildung eingeleitet werden konnte. Nach dem Lösen des Polymers wurde der hydrodynamische Radius mittels DLS ermittelt. Dabei wurden zwei unterschiedliche Versuche getestet. In dem ersten Versuch wurde das Polymer direkt bei Raumtemperatur vermessen. In dem zweiten Versuch wurde die Polymerlösung zunächst auf 80 °C erhitzt und erst nach erneutem Abkühlen auf Raumtemperatur mittels dynamischer Lichtstreuung vermessen.

Lüdtke untersuchte bereits in ihrer Dissertation das Aggregationsverhalten von Blockcopolymeren auf Basis von Poly(2-oxazolin)en wobei der hydrophobe Block aus dem Monomer 2-Nonyl-2-oxazolin gebildet wurde.^[Lüdtke, 2005] Dabei stellte sie fest, dass diese bei Raumtemperatur spontan undefinierte, große Aggregate mit einem mittleren Durchmesser von ca. 110 nm bilden und damit etwa zehnmal so groß waren, wie die erwartete Mizellgröße von 10 ± 2 nm. Sie nahm an, dass es sich dabei um Strukturen im Nichtgleichgewichtszustand handelte. Durch das Lösen des festen Blockcopolymeren ist es möglich, dass Strukturen, die im Festkörper vorliegen, auch in Lösung erhalten bleiben. Dieses Verhalten wird vor allem bei Blockcopolymeren beobachtet, die einen Block mit hoher Glasübergangstemperatur (T_g) besitzen. Ein Gleichgewichtszustand kann durch Aufheizen der Lösung oder durch schrittweise Dialyse erreicht werden. Temperaturabhängige dynamische Lichtstremessungen zwischen 12-100 °C unterstützten diese Annahmen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte diese Beobachtung nicht bestätigt werden. Die Messungen der dynamischen Lichtstreuung zeigten nach dem Vermessen der Probe bei Raumtemperatur und nach dem Tempern bei 80 °C exakt die gleiche Partikelgröße für die jeweiligen Polymere **P1-P3**.

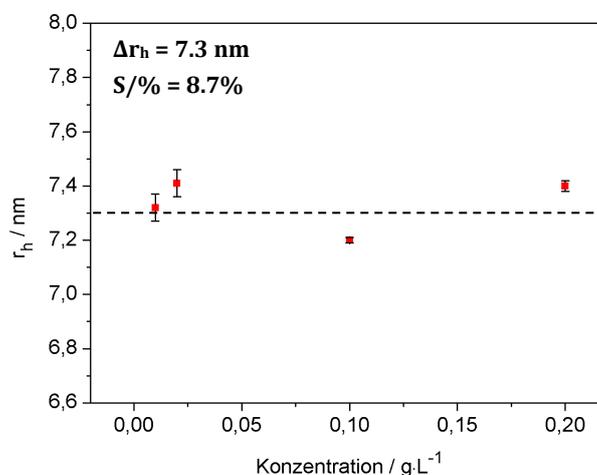


Abbildung 14: Mittlerer hydrodynamischer Radius von **P2** in Abhängigkeit von der Konzentration [g·L⁻¹]. Dargestellt ist der Mittelwert Δr_h aus fünf Einzelmessungen (gestrichelte Linie) mit der entsprechenden prozentualen Standardabweichung S/%.

Wie in Abbildung 14 am Beispiel von **P2** gezeigt ist, führte auch eine Variation der Konzentrationen über drei Zehnerpotenzen oberhalb dieser Grenze zu keiner signifikanten Größenänderung der Mizellen. Die Abbildung zeigt den jeweiligen Mittelwert des hydrodynamischen Radius mit der entsprechenden Standardabweichung aus fünf Einzelmessungen für verschiedene Polymerkonzentrationen (**P2**) oberhalb der cmc. Die Abweichung vom Mittelwert beträgt 0.25 nm mit einer prozentualen Standardabweichung von 8.7%. Es konnte somit keine konzentrationsabhängige Tendenz der Partikelgröße festgestellt werden.

Diese Beobachtung bestätigt die aus der Literatur bekannten Ergebnisse.^[Tanford, 1974] Lediglich eine geringe Verschlechterung der Partikelverteilung von **P2** und **P3** konnte beobachtet werden. *Munk* beschrieb bereits, dass durch das direkte Lösen des Polymers in einem selektiven Lösemittel, polydisperser Partikelverteilungen erhalten werden können.^[Munk, 1996] Trotz dieser Methode der Mizellbildung lagen die Partikelverteilungen im Rahmen dieser Arbeit in einem akzeptablen Bereich. So konnten für die Polymere **P1-P3** Polydispersitäten zwischen 0.1-0.2 ermittelt werden, die noch monodisperse Partikelverteilungen anzeigten. Ein möglicher Grund hierfür könnte in der geringen Molmasse des Polymers liegen. *Jada et al.* zeigten bereits, dass für Poly(styrol)-*block*-Poly(ethylenglycol) mit niedrigen Molmassen gleichmäßige mizellare Strukturen, nach direktem Lösen in Wasser, ausgebildet werden konnten.^[Li, 2011] Des Weiteren konnten in der Regel die DLS-Messungen nicht immer direkt erfolgen, sondern erst ein paar Stunden später. Das Stehenlassen der Probe könnte bereits für die Einstellung des Gleichgewichts ausgereicht haben.

Um die Messbedingungen im Rahmen dieser Arbeit immer konstant zu halten, wurde für die Bestimmung des hydrodynamischen Radius stets eine Lösung der Konzentration 1 mmol/L eingesetzt. Zu Beginn jeder Messung wurden die Proben durch einen 0.2 µm PTFE-Spritzenfilter (Fa. *VWR*) filtriert, um unlösliche Bestandteile, die zu einer Hintergrundstreuung führen könnten, von der Lösung abzutrennen. Zur Bestimmung des hydrodynamischen Radius wurde aus fünf Einzelmessungen über 10 Zyklen und jeweils 10 s Messdauer der Mittelwert gebildet.

Die Ergebnisse der dynamischen Lichtstreuung für die synthetisierten amphiphilen Blockcopolymer sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die Radien entsprechen dabei der numerisch gewichteten Verteilung.

Tabelle 4: Hydrodynamischer Radius der Blockcopolymere **P1-P3**.

Abkürzung	Polymer	r_h^a /nm	PI ^b
P1	P((MetOx) ₁₇ - <i>b</i> -(PentOx) ₄)	5.2 ± 0.1	0.1
P2	P((MetOx) ₁₇ - <i>b</i> -(HepOx) ₄)	7.7 ± 0.5	0.2
P3	P((MetOx) ₂₂ - <i>b</i> -(NonOx) ₅)	9.8 ± 0.4	0.2

^[a] Mittelwert aus 5 Einzelmessungen; ^[b] PI beschreibt die Polydispersität der DLS-Messungen¹.

Der Vergleich der Polymere **P1-P3** zeigt, dass der Radius mit wachsender Kettenlänge des Alkylrestes zunimmt. Während **P1** einen hydrodynamischen Radius von 5.2 ± 0.1 nm besitzt, weist **P3** mit 9.8 ± 0.4 nm einen nahezu doppelt so großen hydrodynamischen Radius auf. Diese Beobachtung bestätigt die aus der Literatur bekannten Ergebnisse.^[Li, 2011] So konnten *Booth* und *Attwood* zeigen, dass der hydrodynamische Radius von Poly(ethylenglycol)-*block*-Poly(phenylenoxid)-Mizellen in Abhängigkeit der hydrophoben Länge zunimmt.^[Attwood, 2007] *Kim et al.* zeigten an Mizellen aus Poly(ethylenglycol)-*block*-Poly(ϵ -caprolacton), dass auch mit steigender Molmasse des Blockcopolymeres der hydrodynamische Radius der Mizellen zunimmt.^[Lim, 2013]

3.1.5 Bestimmung der Glasübergangs- und Schmelztemperatur

Die Glasübergangs- (T_g) und Schmelztemperaturen (T_m) der Polymere **P1-P3** wurde mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (engl. Differential Scanning Calorimetry, DSC) ermittelt und mit den Literaturwerten für Poly(2-alkyl-2-oxazolin)-Homopolymere verglichen. Dabei wurde die Differenz der Wärmeströme zwischen einer Probe und einer Referenzprobe (Leertiegel) während eines kontrollierten Temperaturprogrammes aufgezeichnet. Die Messung erfolgte dabei mit der „heat-flux“-Variante, in der sich die Probe und die Referenz in einem Ofenraum befinden.

Abbildung 15 zeigt beispielhaft das Thermogramm der DSC-Messung von Polymer **P1** (A) und die Literaturwerte der Glasübergangs- und Schmelztemperaturen von Poly(2-alkyl-2-oxazolin)en mit unterschiedlich langen Alkylseitenketten zum Vergleich (B). Die Ergebnisse der Literatur zeigen, dass die Glasübergangstemperatur der Homopolymere mit zunehmender Alkylkette der Polymere abnimmt. Während dass Poly(2-methyl-2-oxazolin) einen T_g von ca. 80 °C aufweist, fällt diese für Poly(2-pentyl-2-oxazolin) auf einen Wert von 5 °C ab. Poly(2-alkyl-2-oxazolin)e mit längeren Alkylseitenketten besitzen dagegen keine Glasübergangstemperatur,

¹ Alle in dieser Arbeit angegebenen Radien entsprechen, sofern nicht anders gekennzeichnet, der numerisch gewichteten Verteilung. Der Polydispersitätsindex der DLS Messungen wurde mit PI abgekürzt um eine Verwechslung mit dem Polydispersitätsindex der Molmassenverteilung der Polymere (PDI), ermittelt aus den GPC Messungen, zu vermeiden.

sondern lediglich eine Schmelztemperatur zwischen 140-150 °C. Die beobachtete Schmelztemperatur ergibt sich dabei aus der Seitenketten-Kristallinität.^[Hoogenboom, 2005]

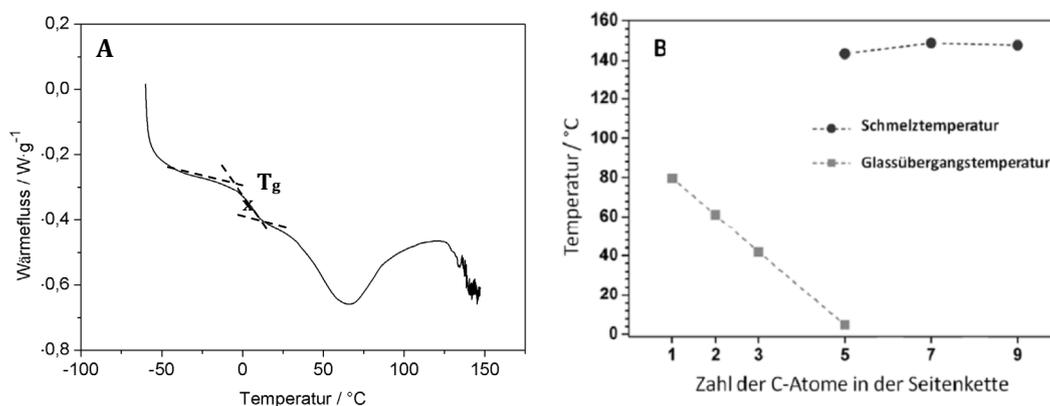


Abbildung 15 A-B: Thermogramm der DSC-Messung von Polymer **P1** (A); Literaturergebnisse der T_g- und T_m-Werte von Poly(2-alkyl-2-oxazolin)en mit unterschiedlich langen Alkylketten (B).^[Hoogenboom, 2005]

Mit Hilfe des Tangentenverfahrens konnten aus den entsprechenden Thermogrammen die Glasübergangs- und Schmelztemperaturen der Polymere ermittelt werden. Mit Glasübergangstemperaturen von 6,8 °C (**P1**), 33,7 °C (**P2**) und 27 °C (**P3**) zeigen die Polymere **P1-P3** ein etwas anderes thermisches Verhalten. Insbesondere die Werte von **P2** und **P3** sind typisch für kurzkettige Poly(2-methyl-2-oxazolin)e mit 20-35 Wiederholungseinheiten.^[Weberskirch, 2000] Der Wert für **P1** könnte dagegen von der Pentylseitenkette herrühren, die eine Glasübergangstemperatur von ca. 5 °C aufweist. Tabelle 5 fasst die ermittelten T_g und T_m-Werte der Polymere **P1-P3** zusammen.

Tabelle 5: Glasübergangstemperatur und Schmelzpunkt der Blockcopolymere **P1-P3**.

Probe	Polymer	T _g ^a	T _m ^a
P1	P((MetOx) ₁₇ -b-(PentOx) ₄)	6.8	96.8
P2	P((MetOx) ₁₇ -b-(HepOx) ₄)	33.7 (52.5)	91.9
P3	P((MetOx) ₂₂ -b-(NonOx) ₆)	27.0	65.0

^[a] ermittelt mittels DSC-Untersuchungen zwischen -60-150 °C

Mit dem Ziel ein besseres Verständnis darüber zu bekommen, welchen Einfluss die Seitenkettenlänge auf die Stabilität der mizellaren Aggregate hat, wurden zusammen mit *Dr. Wolf Hiller*, Leiter der NMR Abteilung der Fakultät für Chemie und Chemische Biologie, temperaturabhängige Untersuchungen an den mizellaren Aggregaten vorgenommen und

T_1 -Relaxationszeiten ermittelt. Alle Untersuchungen wurden dabei von *Dr. Wolf Hiller* durchgeführt.

3.1.6 Untersuchung des Aggregationsverhaltens mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie

Die Kernresonanzspektroskopie stellt eine sehr nützliche Methode zur Charakterisierung von Mizellen dar, da die chemische Verschiebung der Signale und auch deren Intensität direkt von der chemischen Umgebung abhängen. Darüber hinaus eröffnen die Bestimmungen der Spin-Gitter-Relaxationszeiten (T_1 -Zeiten) zusätzliche Möglichkeiten, Einblick in die lokale Beweglichkeit der Kettensegmente bzw. einzelner funktioneller Gruppen zu bekommen. Die wichtigste Ursache für Spin-Gitter Relaxationen sind molekulare Beweglichkeiten. Insbesondere die Translation bzw. Diffusion von Atomen, Ionen, Molekülen oder die Reorientierungsbewegungen von Molekülen oder Molekülgruppen um bestimmte Achsen bewirken eine Kernrelaxation, wenn das Frequenzspektrum der Bewegungen die Larmorfrequenzen der beteiligten Kerne enthält, und wenn Bewegung und Kernspins miteinander gekoppelt sind. Die dadurch entstehenden magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkungen sind zeitabhängig und erzeugen fluktuierende lokale Magnetfelder, die bei passenden Frequenzkomponenten Übergänge zwischen den *Zeeman*-Niveaus induzieren und somit Spin-Gitter-Relaxation erzeugen können. Mit „Gitter“ bezeichnet man dabei die molekulare Umgebung der Spins, in der diese Bewegungsprozesse und die hiermit verbundenen Fluktuationen des lokalen Magnetfeldes stattfinden. Ob die Frequenz eines fluktuierenden magnetischen Feldes in der Lage ist einen Beitrag zur Relaxation zu leisten, hängt insbesondere von der Größe der Moleküle ab und inwiefern die Korrelationszeit τ die Resonanzbedingungen $\omega_0 = 2\pi\nu_0$ des Übergangs der beiden Spinzustände erfüllt. Bei großen Molekülen ist $\tau \gg 1/\omega_0$, d. h. die Bewegung ist zu langsam für eine effektive Relaxation, während bei kleinen Molekülen mit $\tau \ll 1/\omega_0$, die Bewegungen zu schnell sind. Nur wenn die Resonanzbedingung $\tau \approx 1/\omega_0$ erfüllt ist, ist eine effiziente Relaxation möglich. Dieses charakteristische Verhalten für T_1 wird auch in Abbildung 16 gezeigt, wobei die Resonanzbedingung immer durch das Minimum von T_1 als Funktion der Korrelationszeit angezeigt wird.

Die Spin-Spin-Relaxationszeiten (T_2 -Zeiten) werden verwendet, um die Geschwindigkeit des Zerfalls der Magnetisierung innerhalb der *xy*-Ebene zu quantifizieren und stehen direkt mit der Linienbreite des NMR-Signals bei halber Höhe ($\Delta\nu = 1/2$) in Zusammenhang. Die Spin-Spin-Relaxation hängt dabei direkt von der Spin-Gitter-Relaxation ab, da ein Anstieg der Magnetisierung in *z*-Richtung nicht ohne eine Abnahme der Magnetisierung in *xy*-Richtung

möglich ist. Dabei gilt für die Spin-Spin-Relaxationszeit allgemein: $T_2 \leq T_1$ und im Festkörper: $T_2 \ll T_1$.

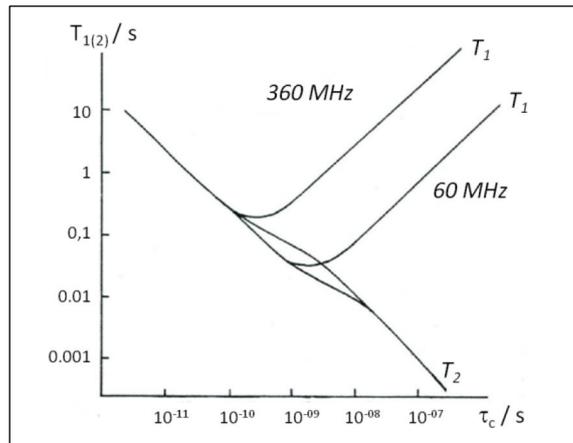


Abbildung 16: Schematische Darstellung des Verlaufs der Relaxationszeiten T_1 und T_2 als Funktion der Korrelationszeit τ_c . [Skrabal, 2008]

In der Vergangenheit wurden bereits zahlreiche NMR-Untersuchungen an Mizellen auf der Basis von Poly(ethylenoxid)- und Poly(propylenoxid)-Blockcopolymeren durchgeführt, die auch als Pluronic bezeichnet werden. [Godward, 1995; Cau, 1996; Ma 2007; Soderman, 1994; Aubrecht, 2005] Charakteristisch für diese Polymere ist deren LCST-Verhalten (LCST = lower critical solution temperature), d. h. unterhalb einer charakteristischen Temperatur sind die Polymere gut solvatisiert. Die Mizellbildung wird durch Erwärmen der wässrigen Polymerlösung oberhalb der LCST eingeleitet, wobei der Poly(propylenoxid)-Block den Mizellkern bildet und der Poly(ethylenoxid)-Block die hydrophile Mizellhülle. Die Untersuchung der T_1 - und T_2 -Zeiten der Systeme zeigten, dass diese für den Poly(ethylenoxid)-Block [Godward, 1995; Ma, 2007] linear mit der Temperatur ansteigen, während beim hydrophoben Poly(propylenoxid)-Block zuerst ein Anstieg mit der Temperatur beobachtet wird, der im Bereich der LCST dann plötzlich abfällt.

Kawchak et al. untersuchten die Kettenbeweglichkeit von Poly(methylmethacrylat)-*block*-(methacrylsäure)- und Poly(methylmethacrylat)-*block*-(acrylsäure)-Copolymeren und deren Mizellen. [Wilmes, 2011] Mit zunehmender Temperatur stiegen die T_2 -Werte des Poly(methylmethacrylat)-Blocks deutlich stärker an, als die des hydrophilen Poly(methacrylsäure) oder Poly(acrylsäure)-Blocks. Die T_1 -Daten waren jedoch nicht einfach zu interpretieren, da diese mit der Temperatur nicht streng monoton zunahmen. Als mögliche Gründe wurden hierfür die vielfältigen Dipol-Dipol-Wechselwirkungen genannt, die den größten Beitrag zu den Spin-Gitter-Relaxationen liefern und in einem solchen Polymersystem sehr komplex sein können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden erstmals Mizellare Aggregate auf der Basis der Polymere **P1-P3** mit Hilfe der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie in Abhängigkeit von der Temperatur untersucht. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand dabei die Charakterisierung der T_1 -Relaxationszeiten für unterschiedliche, chemische Gruppen der Blockcopolymere **P1-P3** als Funktion der Temperatur ($T = 25\text{-}80\text{ }^\circ\text{C}$). Des Weiteren wurden in diesem Temperaturbereich auch die Assoziationsgrade für die verschiedenen, chemischen Gruppen über deren NMR-Signalintensitäten bestimmt. Die Polymere unterschieden sich dabei in erster Linie durch die Alkylseitenkette des hydrophoben Monomers, von Pentyl-, (**P1**), Heptyl-, (**P2**) und Nonylresten (**P3**) (siehe auch Tabelle 2 für die Zusammenstellung der analytischen Daten der eingesetzten Polymere).

Zuerst wurden die Polymere **P1-P3** mit Hilfe der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie in deuteriertem Methanol untersucht und die chemischen Gruppen den jeweiligen Signalen zugeordnet. Dies ist in Abbildung 17 dargestellt. Methanol wurde dabei als Lösungsmittel gewählt, da vorherige Untersuchungen gezeigt hatten, dass dort keine Aggregation zu erwarten war, d. h. alle chemischen Gruppen solvatisiert sein sollten und eine maximale Signalintensität ergeben. Charakteristisch für die Polymere sind die Hauptkettenmethylenheiten **3** und **4**, mit einer chemischen Verschiebung von 3.3-3.5 ppm, die sowohl im hydrophilen als auch hydrophoben Block vorhanden sind. Weiterhin sind die direkt zur (C=O)-Carbonyleinheit benachbarten, hydrophilen Kettensegmente durch die Methylgruppe **2** bei 1.90 ppm gekennzeichnet.

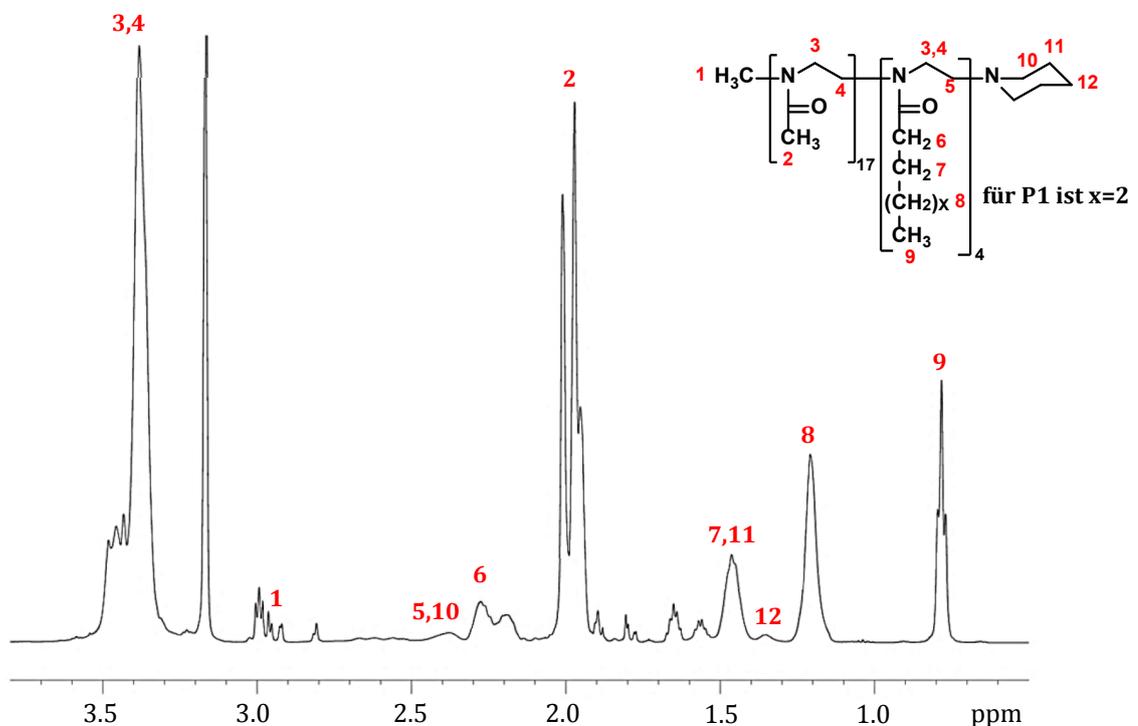


Abbildung 17: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von $\text{P}(\text{MetOx})_{17}\text{-block-(PentOx)}_4$ **P1** in deuteriertem Methanol.

Die Alkylseitenkette des hydrophoben Blocks wird durch vier Signale charakterisiert, durch die beiden Methylengruppen **6** und **7**, direkt benachbart zur Carbonylfunktion der Polymerhauptkette, während die $(\text{CH}_2)_x$ -Segmente **8** mit $x = 2$ (**P1**), 4 (**P2**) und 6 (**P3**) die Verbindung zur terminalen Methylgruppe **9** herstellen, die den größten Abstand zum Polymerrückgrat besitzt und ein Triplettssignal bei 0.78 ppm zeigt.

In den NMR-Experimenten sollte nun untersucht werden, wie sich die Spin-Gitter-Relaxation (T_1 -Zeiten) und der Assoziationsgrad in einer Polymermizelle für die oben genannten unterschiedlichen chemischen Gruppen als Funktion der Temperatur verhalten.

Abbildung 18 A-C zeigt die Ergebnisse der T_1 -Relaxationsmessungen für die Blockcopolymeren **P1** (A), **P2** (B) und **P3** (C) gegen die reziproke Temperatur ($1000/T$) in D_2O als Lösungsmittel.

Die Ergebnisse wurden, für unterschiedliche chemische Gruppen im Polymer untersucht und geben einen hervorragenden Einblick in die molekulare Beweglichkeit der Polymerhauptkette und den unterschiedlichen Methylengruppen sowie der terminalen Methylgruppe der Polymerseitenkette im hydrophoben Block.

T_1 -Relaxationsmessungen der Polymere **P1-P3**

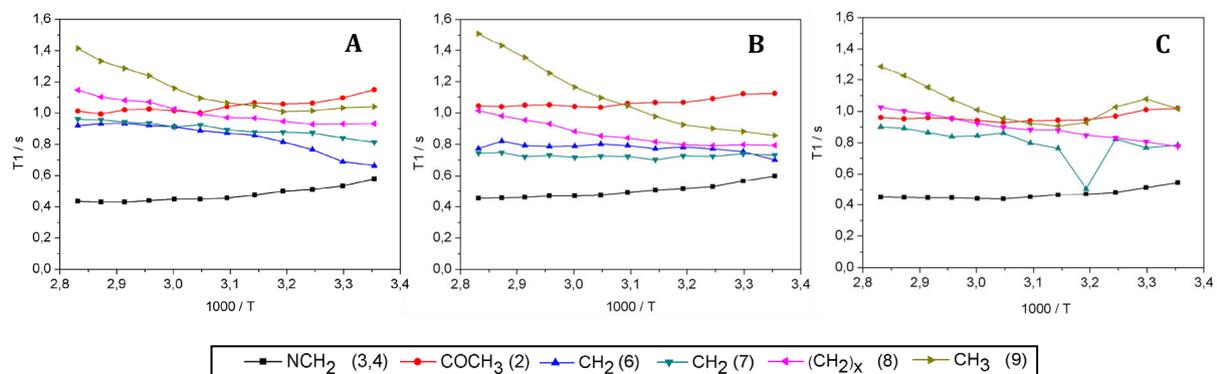


Abbildung 18 A-C: T_1 -Relaxationsmessungen gegen die reziproke Temperatur ($T = 25\text{-}80\text{ }^\circ\text{C}$) von **P1** (A), **P2** (B) und **P3** (C) in D_2O als Lösungsmittel mit der Resonanzfrequenz von 500 MHz.

Die T_1 -Werte für die Hauptkettenprotonen **3**, **4** und die Methylgruppe **2** des hydrophilen Blocks verlaufen für alle drei Polymere nahezu parallel zueinander und nehmen mit zunehmender Temperatur leicht ab, wobei die Methylseitengruppe des hydrophilen Blocks deutlich größere T_1 -Werte zeigt, als für die Protonen der Rückgratmethyleinheiten **3**, **4**. Die Beweglichkeit der Polymerhauptkette wird offensichtlich kaum durch die unterschiedlich langen Alkylseitenketten beeinflusst. Das lässt sich damit erklären, dass ca. 75-80 % der Poly(2-methyl-2-oxazolin)e in

allen drei Polymeren identisch und in der Mizellhülle solvatisiert sind und offenbar ähnliche Beweglichkeiten aufweisen. Im Vergleich dazu zeigen die Methylengruppen der hydrophoben Seitenkette ein ganz anderes Verhalten. Dabei lässt sich sehr schön am Verlauf der T_1 -Zeiten mit der Temperatur erkennen, dass diese für die Methylengruppen **6** und **7** benachbart zur Polymerhauptkette mit der Temperatur nur leicht zunehmen, dieser Effekt aber für die Methylengruppen **8** und die terminale Methylgruppe **9** wesentlich stärker wird. Die maximale Beweglichkeit wird dabei für die Methylgruppe von **P2** bei 80 °C mit einem T_1 -Wert von 1.51 s gefunden. Der Kurvenverlauf für die temperaturabhängige T_1 -Zeit der Methylgruppe **9** für **P1** und **P2** scheint dabei eindeutig aus dem Minimum zu kommen und nimmt mit zunehmender Temperatur zu. Dies passt dabei sehr gut zu dem erwarteten Kurvenverlauf für T_1 -Werte aus Abbildung 16. Für **P3** wird dieser Kurvenverlauf noch deutlicher. Nach einem kurzen Anstieg des T_1 -Wertes für die terminale Methylgruppe **9** bei $T = 25$ °C fallen diese Werte bis zu einem Minimum bei $T = 45$ °C, steigen danach mit zunehmender Temperatur wieder an und erreichen bei 80 °C den maximalen Wert vom 1.28 s. Für die anderen chemischen Gruppen **2, 3, 4, 6-8** liegt das T_1 -Minimum nicht mehr im untersuchten Temperaturbereich.

Da die Ergebnisse der T_1 -Messungen in direktem Zusammenhang mit der Glasübergangstemperatur bzw. Schmelztemperatur von Polymeren stehen, sollten diese mit den aus Kapitel 3.1.5 ermittelten Werten verglichen werden. Die ermittelten Glasübergangstemperaturen betragen 6.8 °C für **P1**, 33.7 °C für **P2** und 27 °C für **P3**. Es konnte gezeigt werden, dass die gefundenen Glasübergangstemperaturen der Polymere **P1-P3** offenbar keinen großen Einfluß auf die T_1 -Werte der untersuchten chemischen Gruppen haben, da sie außerhalb des Messbereichs liegen. Stattdessen lassen sich die Ergebnisse der T_1 -Untersuchungen ausschließlich darüber erklären, ob die untersuchte chemische Gruppe im hydrophilen Block liegt (**2-4**) bzw. welchen Abstand die chemische Gruppe von der Polymerhauptkette im hydrophoben Block hat (**6-9**).

Eine weitere interessante Größe, die die Eigenschaften von Mizellen bestimmt und über die NMR-Spektroskopie zugänglich ist, ist der Assoziationsgrad und wie sich dieser mit der Temperatur verhält. In der Vergangenheit wurde das temperaturabhängige Aggregationsverhalten von Poly(2-methyl-2-oxazolin)en, die mit Alkylketten und auch mit Fluorkohlenstoffketten modifiziert waren, intensiv untersucht. Die Ergebnisse der T_2 -Relaxationsuntersuchungen zeigten, dass diese in zwei Komponenten zerlegt werden müssen, eine schnelle Komponente, die dem Anteil der freien, nicht aggregierten Ketten entspricht und eine langsame Komponente, die dem Anteil der aggregierten Ketten entspricht. Bei $T = 95$ °C ist der Anteil der freien Ketten, unabhängig von der Konzentration des polymeren Amphiphils, nahezu 100%, d. h. die Ketten sind nicht mehr aggregiert.^[Weberskirch, 2000]

Eine weitere Möglichkeit etwas über den Assoziationsgrad der einzelnen Blockcopolymerbestandteile zu erfahren, wurde mit Hilfe der Charakterisierung der Signale einzelner chemischer Gruppen durchgeführt, deren Intensität davon abhängt. Dabei zeigten sich deutliche Unterschiede, je nachdem ob die untersuchte chemische Gruppe sich im hydrophilen oder hydrophoben Teil des Blockcopolymers befindet. Die Vorgehensweise für diese Untersuchungen ist in Abbildung 19 A-C gezeigt.

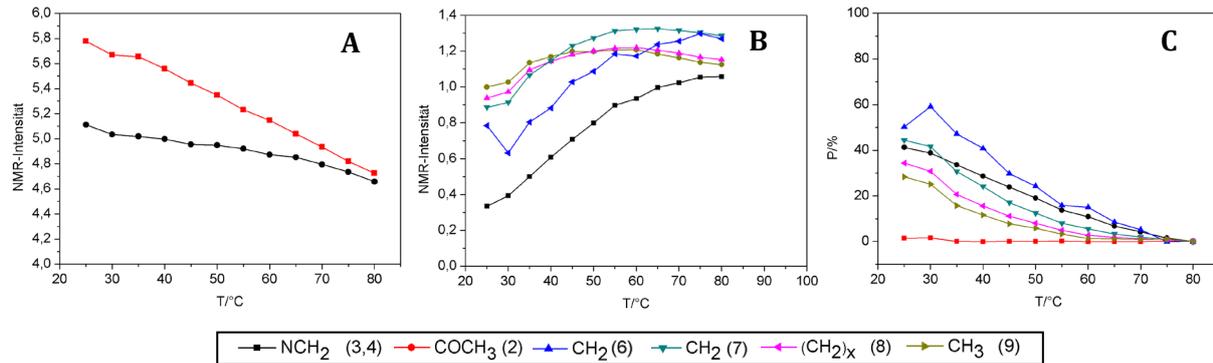


Abbildung 19 A-C: (A) NMR-Signalintensitäten der chemischen Gruppen COCH_3 und NCH_2 im hydrophilen Teil, (B) NMR-Signalintensitäten verschiedener chemischer Gruppen im hydrophoben Block und (C) Assoziationsgrad als Funktion der chemischen Gruppe und der Temperatur für **P1**.

Der Assoziationsgrad P als Funktion der Temperatur und der chemischen Gruppe wird dabei über die folgenden Formeln bestimmt:

$$P_i^{hp} = \frac{I_{0,i}^{hp} - I_i^{hp}}{I_{0,i}^{hp}} \quad (\text{Gl. 7})$$

$$P_i^{hl} = \frac{I_{0,i}^{hl} - I_i^{hl}}{I_{0,i}^{hl}} \quad (\text{Gl. 8})$$

hp = hydrophober Anteil; hl = hydrophiler Anteil; $I_{0,i}^{hp}, I_{0,i}^{hl}$ = nicht-assoziierte Intensität für die Temperatur i ;

I_i^{hp}, I_i^{hl} = assoziierte Intensität für die Temperatur i .

Die Intensitäten der hydrophoben Bestandteile als Funktion der Zeit I_i^{hp} in Gleichung 7 sind dabei experimentell zugänglich, wohingegen der Anteil der nicht-assoziierten Intensität $I_{0,i}^{hp}$ nur berechnet werden kann. Die Berechnung des hydrophilen Anteils nach Gleichung 8 gestaltet sich hingegen etwas einfacher, da die Signalintensitäten $I_{0,i}^{hl}$ durch lineare Extrapolation des auf ein Proton normierten COCH_3 -Signals von 80-25 °C ermittelt werden können und I_i^{hl} experimentell

zugänglich ist. $I_{0,i}^{hp}$ lässt sich schließlich über den nicht-assoziierten hydrophoben Molanteil in Gleichung 9 berechnen:

$$\chi_{0,i}^{hp,mol} = \frac{I_{0,i}^{hp}}{I_{0,i}^{hp} + I_{0,i}^{hl}} \quad (\text{Gl. 9})$$

Nach Umstellung der Gleichung 9 ergibt sich für $I_{0,i}^{hp}$ (Gleichung 10). Dieser Term kann nun in Gleichung 7 eingesetzt werden.

$$I_{0,i}^{hp} = \frac{I_{0,i}^{hl} \cdot \chi_{0,i}^{hp,mol}}{1 - \chi_{0,i}^{hp,mol}} \quad (\text{Gl. 10})$$

Interessant sind insbesondere die sich daraus ergebenden Assoziationsgrade für die jeweiligen chemischen Gruppen als Funktion der Temperatur. Während die Methylgruppe COCH_3 des hydrophilen Polymerblocks bei keiner Temperatur assoziiert vorliegt, zeigen die Methylengruppen der Alkylseitenketten im hydrophoben Block unterschiedlich starke Assoziationsgrade in Abhängigkeit von ihrer Position. Die Methylengruppen **6** und **7** sind bei 25 °C am stärksten assoziiert, während die terminale Methylgruppe den geringsten Grad der Assoziation aufweist. Die Ergebnisse zeigen, dass der Abstand der Methylengruppe zum Polymerrückgrad entscheidend für den Assoziationsgrad ist. In Abhängigkeit von der Position in der Alkylseitenkette nimmt die Assoziation mit zunehmender Temperatur linear ab. Bei 80 °C erscheint die Alkylseitenkette vollkommen dissoziiert. Das korreliert sehr gut mit den T_1 -Relaxationsmessungen, die ebenfalls die größten Beweglichkeiten für die Methylgruppe der hydrophoben Seitenkette ergaben.

Abbildung 20 A-C zeigt noch einmal alle Ergebnisse zum Assoziationsgrad der Polymere **P1-P3** als Funktion der chemischen Gruppe und der reziproken Temperatur.

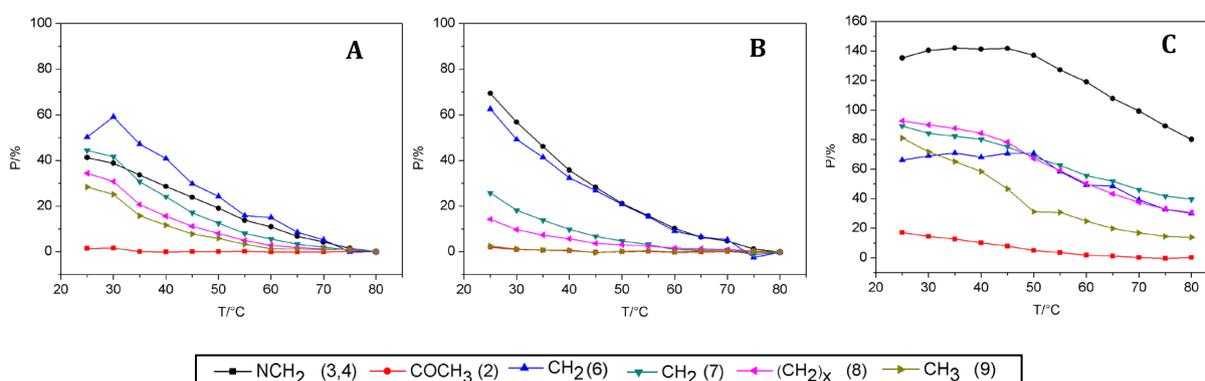


Abbildung 20 A-C: Bestimmung des temperaturabhängigen Assoziationsgrads für **P1** (A), **P2** (B) und **P3** (C) in D_2O .

Während die ermittelten Assoziationsgrade für **P1** und **P2** sehr ähnlich mit der Temperatur und der jeweiligen chemischen Gruppe verlaufen, zeigt **P3** ein deutlich abweichendes Verhalten und Assoziationsgrade von mehr als 140% für die Methylengruppen der Hauptkette an. Dem liegt allerdings ein experimentelles Problem zugrunde. Da bei **P3** die NMR-Signalintensitäten der chemischen Gruppe COCH₃ im hydrophilen Teil auch bei 80 °C teilweise noch assoziiert sind und nicht mit der Temperatur linear abnehmen, wie das für **P1** in Abbildung 19 A dargestellt wurde, konnten sie nicht über eine lineare Gleichung beschrieben werden.

Zusammenfassend gaben die NMR-spektroskopischen Untersuchungen einen hervorragenden Einblick in die Dynamik und den Assoziationsgrad der unterschiedlichen funktionellen Gruppen eines Poly(2-methyl-2-oxazolin)-*block*-Poly(2-alkyl-2-oxazolin)s in mizellaren Aggregaten. Es zeigten sich je nach Betrachtung der chemischen Gruppen aus dem hydrophilen oder dem hydrophoben Block sowie des Abstands zur Polymerhauptkette deutliche Unterschiede.

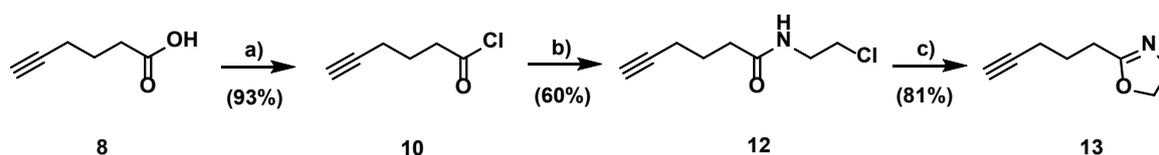
3.2 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)e

Der zweite Teil der Arbeit bestand darin, amphiphile Blockcopolymere auf Basis von 2-Oxazolinen herzustellen, die eine zusätzliche Funktionalität tragen. Über diese sollte nach Aggregation der Polymere in Wasser eine Stabilisierung erfolgen. Die Möglichkeiten der Mizellstabilisierung wurden in Kapitel 1.1.3 genauer beschrieben. Da diese stabilisierten Partikel gerade im Bereich des Wirkstofftransports von Interesse sind und Studien zeigten, dass die Freisetzungskinetik in kernvernetzten Partikeln im Vergleich zu unvernetzten Mizellen deutlich herabgesetzt werden konnte, sollte die Stabilisierung im Kern der Polymermizelle erfolgen.^[Binder, 2000] Des Weiteren sollte im Rahmen dieser Arbeit die Möglichkeit untersucht werden, Nanopartikel auf der Oberfläche zu funktionalisieren. Daher erschien auch hier für eine erhöhte Funktionalisierungsdichte auf der Partikeloberfläche, eine Kernstabilisierung vorteilhaft zu sein.

Schlaad und *Brummelhuis*^[Brummelhuis, 2011] zeigten bereits, dass eine Kernvernetzung von amphiphilen Poly(2-oxazolin)en mittels Alkin-Funktionalität möglich ist. In Anlehnung an dieses System sollte ein 2-Oxazolin-Monomer mit Alkin-Funktionalität synthetisiert werden.

3.2.1 Alkin-Funktionalisierung

Die Synthese des 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolins **13** erfolgte nach *Binder* und *Gruber*.^[Binder, 2000] Dabei wurde zunächst 1-Hexinsäure **8** über eine Additions-Eliminierungsreaktion mittels Thionylchlorid **9** in das entsprechende Säurechlorid überführt **10**. Dieses konnte danach mit Chlorethylamin Hydrochlorid **11**, unter Abspaltung von HCl, in die stabilere Amidverbindung **12** überführt werden. Der Ringschluss erfolgte anschließend in basischer, alkoholischer Lösung, unter erneuter HCl-Abspaltung. Das gewünschte Produkt **13** konnte über drei Stufen in moderaten bis guten Ausbeuten erhalten werden. Die Struktur und Reinheit der Verbindung wurden mittels ¹H-, ¹³C-NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie (ESI-MS) untersucht und stimmten mit den Literaturwerten überein.



Schema 9: Darstellung von 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin;
Reagenzien und Bedingungen: a) SOCl₂, 90 °C; b) ClCH₂CH₂NH₂·HCl, TEA, DCM, 0 °C → RT, 12 h;
c) MeOH/NaOH, 48 h, RT.

Nach erfolgreicher Monomersynthese erfolgte der Aufbau des Polymers in einer ringöffnenden, kationischen Polymerisation, mit Methyltriflat als Initiator. Es wurde eine frei gewählte Zusammensetzung von 3 Einheiten 2-Heptyl-2-oxazolin zu 3 Einheiten 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin zu 24 Einheiten 2-Methyl-2-oxazolin festgelegt. Die Synthese erfolgte analog zu den von *Roßbach*^[Roßbach, 2006] gewählten Reaktionsbedingungen in Acetonitril als Lösemittel. Zunächst wurde der hydrophobe Block, bestehend aus 2-Heptyl-2-oxazolin und 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin, 4 h bei 110 °C in Acetonitril polymerisiert. Der Einbau der Monomere sollte dabei rein statistisch erfolgen. Die Reaktion wurde unter Schutzgasatmosphäre mit getrockneten Edukten durchgeführt, um mögliche Nebenreaktionen zu vermeiden. Anschließend wurde das hydrophile Monomer 2-Methyl-2-oxazolin hinzugegeben und 2 h bei 120 °C polymerisiert. Danach konnte die Reaktion über Nacht mit einem Überschuss an Piperidin als Terminierungsreagenz abgebrochen werden. Durch mehrmaliges Ausfällen in kaltem Diethylether und anschließender Dialyse in Methanol wurde Polymer **P4** in einer guten Ausbeute von 86% erhalten.

Über die Endgruppenanalyse mit Hilfe der ¹H-NMR-Spektroskopie konnte eine Zusammensetzung von (HepOx)₄(PentynOx)₄(MetOx)₂₂ sowie eine zahlengemittelte Molmasse von 3200 g/mol ermittelt werden. Die Molmassenverteilung wurde mittels GPC kontrolliert. Die

GPC-Kurve zeigte dabei einen monomodalen Verlauf. Es wurde ein PDI von 1.07 bestimmt, der die "lebende" Polymerisation bestätigt. Anschließend wurde das Aggregationsverhalten des Polymers in Wasser untersucht. Tabelle 6 fasst die Ergebnisse der kritischen Mizellbildungskonzentration sowie des hydrodynamischen Radius von **P4** zusammen.

Tabelle 6: Charakterisierung des Polymers **P4**.

Abkürzung	Polymer	\bar{M}_n^a /g·mol ⁻¹	PDI ^b	cmc ^c /10 ⁻⁶ ·mol·L ⁻¹	r_h^d /nm	PI ^e
P4	P{(HepOx) ₄ (PentOx) ₄ } _{stat} -(MetOx) ₂₂	3200	1.07	4	6.7 ± 0.2	0.1

Bestimmt durch: ^[a] ¹H-NMR-Spektroskopie basierte Endgruppenanalyse, ^[b] GPC in DMF/LiBr mit PS als Standard, ^[c] Fluoreszenzspektroskopie mit Pyren als Sonde, ^[d] DLS in Wasser, ^[e] PI entspricht der Größenverteilung in der DLS.

Sowohl der mittlere hydrodynamische Radius mit einem Wert von 6.7 ± 0.2 nm sowie die cmc von 4 μmol·L⁻¹ sind mit den Werten von **P1-P3** vergleichbar und liegen in dem zu erwarteten Bereich.

3.2.3 Endgruppenfunktionalisierung

3.2.3.1 Terminierung mit Piperazin

Die Terminierung mit Piperazin stellte eine weitere Möglichkeit dar eine Endgruppenfunktionalität in das Polymer einzubauen.

Lüdtke et al. beschrieb bereits in ihrer Arbeit die Möglichkeit der Terminierung mit einem Überschuss an Piperazin. Sie nutzte dieses System um fluoreszenzmarkierte Poly(2-oxazolin)e herzustellen, die anschließend mit Einzelmolekülspektroskopie untersucht wurden.^[Bonné, 2004] Dieses System erschien interessant, da durch die Verwendung eines sekundären Amins eine vollständige Terminierung erfolgte. Des Weiteren ermöglicht die endständige freie Aminogruppe die polymeranaloge Funktionalisierung.

Für die Synthese des Polymers **P5** wurde zunächst der hydrophobe Block, bestehend aus 2-Heptyl-2-oxazolin und 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin, 4 h bei 110 °C in Acetonitril unter Schutzgasatmosphäre polymerisiert. Anschließend wurde das hydrophile Monomer 2-Methyl-2-oxazolin hinzugegeben und 2 h bei 120 °C polymerisiert. Die Terminierung konnte mit einem Überschuss an Piperazin (20 eq.) bei RT durchgeführt werden.^[Bonné, 2007]

Die Reinigung des Polymers erfolgte durch mehrmaliges Ausfällen in kaltem Diethylether und anschließender Dialyse in Wasser. Nach Entfernen des Lösemittels, wurde das Polymer in Chloroform aufgenommen und in Kaliumcarbonat gewaschen, um die Deprotonierung der Piperazin-Endgruppe zu erzielen. $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchungen zeigten, dass dieser Schritt entscheidend für die korrekte Bestimmung der Polymerzusammensetzung ist. Nach Abfiltrieren des Kaliumcarbonats, konnte Poly $\{((\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4)\text{-block-(MetOx)}_{20}\}$ -Piperazin durch erneutes Ausfällen in kaltem Diethylether in einer guten Ausbeute von 82% erhalten werden.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte über die 4 Protonen der am Stickstoff benachbarten CH_2 -Gruppen der Piperazin-Endgruppe (2.65 ppm) eine quantitative Terminierung festgestellt werden. Auch in Wiederholungsversuchen konnte dieses Ergebnis bestätigt werden. Die Molmassenverteilung, die mittels GPC kontrolliert wurde, zeigte einen monomodalen Kurvenverlauf. Ein PDI von 1.08 wurde bestimmt, der auf eine enge Verteilung der Molmassen hindeutete.

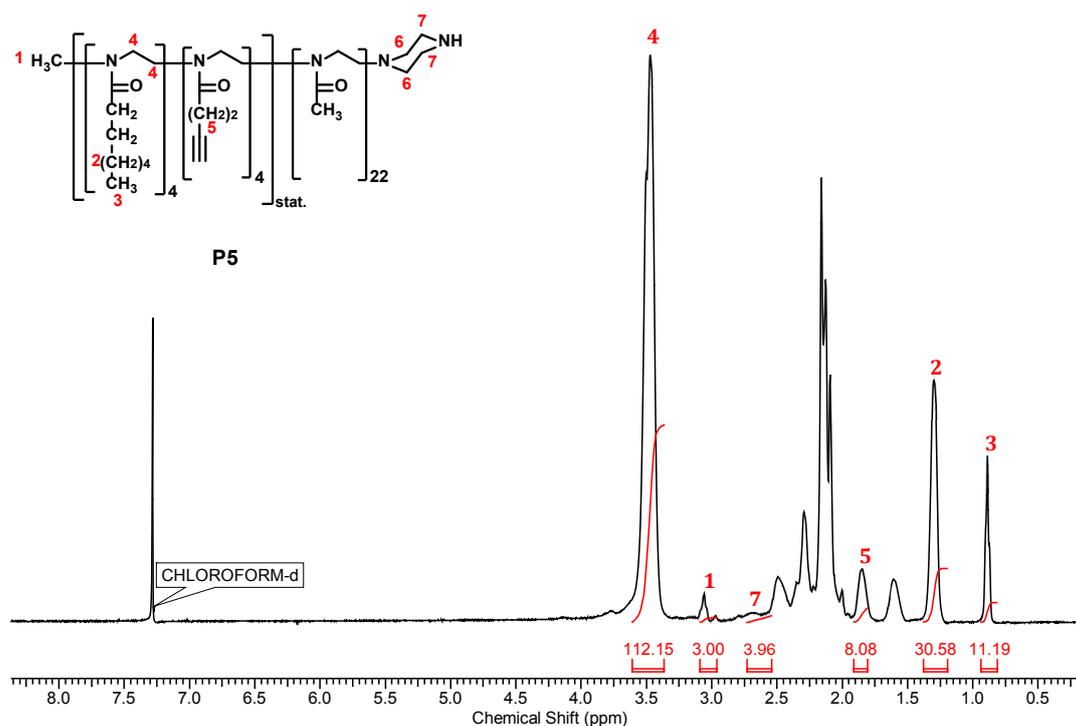


Abbildung 21: Endgruppenfunktionalisierung; P $\{((\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4)\text{-block-(MetOx)}_{20}\}$ -Piperazin **P5**.

3.2.3.2 Terminierung mit Ethylendiamin

Die Terminierung mit Ethylendiamin sollte eine Endgruppenfunktionalisierung zum primären Amin erzielen.^[Fik, 2012] Die Synthese des Polymers **P6** erfolgte analog zu 3.2.3.1. Die Terminierung mit Ethylendiamin wurde über Nacht bei 45 °C durchgeführt. Die Reinigung des Polymers

erfolgte durch mehrmaliges Ausfällen in kaltem Diethylether und anschließender Dialyse in Wasser. Nach Entfernen des Lösemittels, wurde das Polymer in Chloroform aufgenommen und in Kaliumcarbonat gewaschen. Nach Abfiltrieren des Kaliumcarbonats konnte das Polymer **P6** in einer moderaten Ausbeute von 68% erhalten werden.

Mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und Endgruppenanalyse konnten eine Zusammensetzung von Poly{(HepOx) $_5$ -co-(PentynOx) $_6$ }-block-(MetOx) $_{25}$ -Ethyldiamin mit einer zahlengemittelten Molmasse von 3780 g/mol ermittelt werden. Dennoch konnte im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum gezeigt werden, dass die Terminierung nicht quantitativ erfolgte, sondern nur 59% der Polymerketten mit Ethyldiamin terminiert wurden. Die Molmassenverteilung, die mittels GPC kontrolliert wurde, zeigte einen monomodalen Kurvenverlauf. Ein PDI von 1.12 wurde bestimmt, der auf eine enge Verteilung der Molmassen hindeutete.

Nuyken et al. untersuchten bereits einige Nukleophile als Terminierungsreagenzien in der kationischen Polymerisation von Poly(2-oxazolin)en, deren Mechanismus eine bimolekulare, nukleophile Substitutionsreaktion darstellt. Sie zeigten, dass der Einsatz von sekundären Aminen, mit einer nahezu quantitativen Terminierung, die besten Ergebnisse erzielte.^[Nuyken, 1996] Sekundäre Amine besitzen einen stärkeren basischen Charakter als primäre Amine. Da die Nukleophilie allgemein mit der Basizität einer Verbindung korreliert, stellen sie somit auch ein stärkeres Nukleophil dar, wodurch eine bessere Terminierung erzielt werden kann.

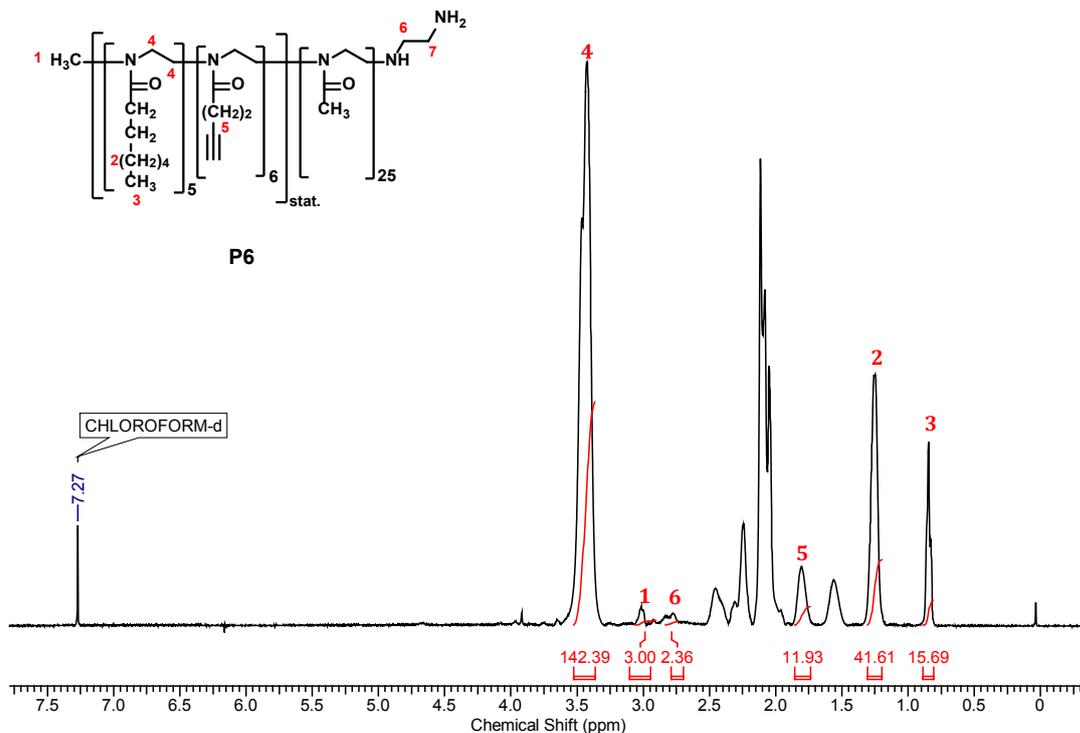


Abbildung 22: Endgruppenfunktionalisierung; P{(HepOx) $_5$ -co-(PentynOx) $_6$ }-block-(MetOx) $_{25}$ -Ethyldiamin **P6**.

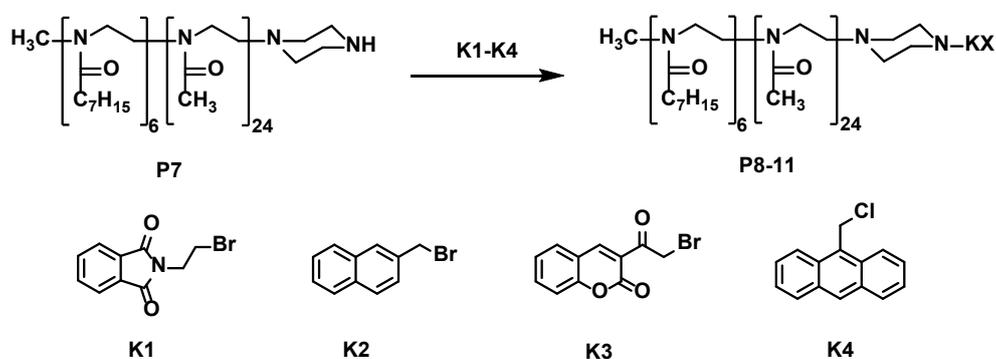
Da die Terminierung mit Ethylendiamin nicht quantitativ war, wurde im Rahmen dieser Arbeit weiterhin mit Piperazin terminiert.

3.2.4 Polymeranaloge Funktionalisierung

In diesem Abschnitt wird nun die polymeranaloge Funktionalisierung der Blockcopolymere über das zuvor über die Terminierung eingeführte endständige, sekundäre Amin beschrieben. Für die Untersuchung der polymeranalogen Funktionalisierung an der Piperazinendgruppe wurde, wie zuvor beschrieben, Poly(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄-Piperazin **P7** synthetisiert. Hierüber sollten mittels einer einfachen basenkatalysierten Substitutionsreaktion verschiedene Moleküle an das Polymer **P7** gekoppelt werden. In Schema 10 sind die Kopplungsreagenzien **K1-K4** dargestellt.

Für die Kopplungsexperimente wurde **P7** mit dem jeweiligen Kopplungsreagenz **K1-K4** und einer katalytischen Menge NaI versetzt und 24 h in Acetonitril refluxiert. Die Kopplung erfolgte dabei über eine nukleophile Substitution.

Die Funktionalisierung wurde mit UV-aktiven Testmolekülen durchgeführt, damit eine Quantifizierung der Moleküle am Polymer mittels UV/vis-Spektroskopie erfolgen konnte.



Schema 10: Polymerfunktionalisierung mit **K1-K4** an **P7**.
Reagenzien und Bedingungen: K₂CO₃, NaI, CH₃CN, 24 h, Rückfluss.

Für die Quantifizierung der Kopplungsreagenzien mittels UV/vis-Spektroskopie musste zunächst der Extinktionskoeffizient der jeweiligen Kopplungsreagenzien ermittelt werden. Dafür wurden verdünnte Lösungen bekannter Konzentrationen der jeweiligen Reagenzien in Acetonitril angesetzt. Von jeder Konzentration wurde anschließend ein Extinktionsspektrum aufgenommen.

Abbildung 23 zeigt beispielhaft das Extinktionsspektrum von 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** in Acetonitril (A) sowie die darüber entwickelte Kalibriergerade (B).

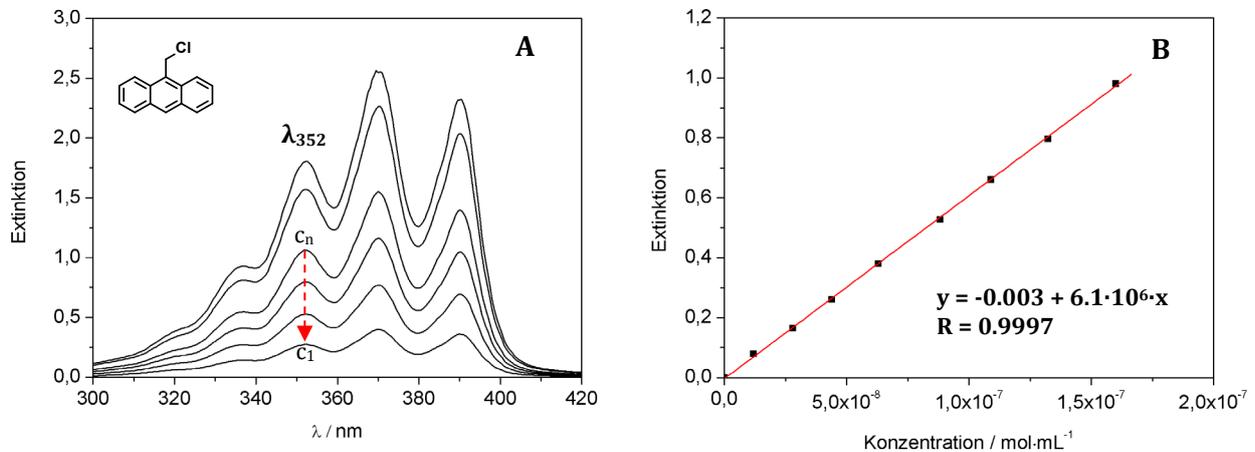


Abbildung 23 A-B: UV/vis-Spektrum von 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** bei unterschiedlichen Konzentrationen (A), Kalibriergerade von 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** (B).

Um die Kalibriergerade über möglichst viele Messpunkte zu erzeugen, wurden neben den oben angegebenen Konzentrationen bis zu einer Extinktion von 1 Zwischenkonzentrationen vermessen. Diese sind im obigen UV/vis-Spektrum aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt. Über die Auftragung der Extinktion gegen die Konzentrationen ließ sich eine Kalibriergerade (Abb. 23, B) entwickeln, über deren Steigung ein Extinktionskoeffizient von $6.1 \cdot 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ermittelt werden konnte.

Mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten konnte über das *Lambert-Beer'sche* Gesetz^[Kunze, 2002] die Quantifizierung der gekoppelten Moleküle erfolgen.

$$E = \lg \left(\frac{I_0}{I_1} \right) = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d \quad (\text{Gl. 11})$$

E = Extinktion; I₀=Intensität des transmittierten Lichtes [W·m⁻²]; I₁=Intensität des einfallenden Lichtes [W·m⁻²];
 ε_λ=molarer dekadischer Extinktionskoeffizient [L·mol⁻¹·cm⁻¹]; c=Stoffmengenkonzentration [mol·l⁻¹];
 d = Schichtdicke der Küvette[cm].^[Kunze, 2002]

Neben der Quantifizierung mittels UV/vis-Spektroskopie erfolgte diese zusätzlich über die Endgruppenanalyse mit Hilfe der ¹H-NMR-Spektroskopie.

Abbildung 24 zeigt beispielhaft das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Phthalimid-modifizierten Polymers **P8**.

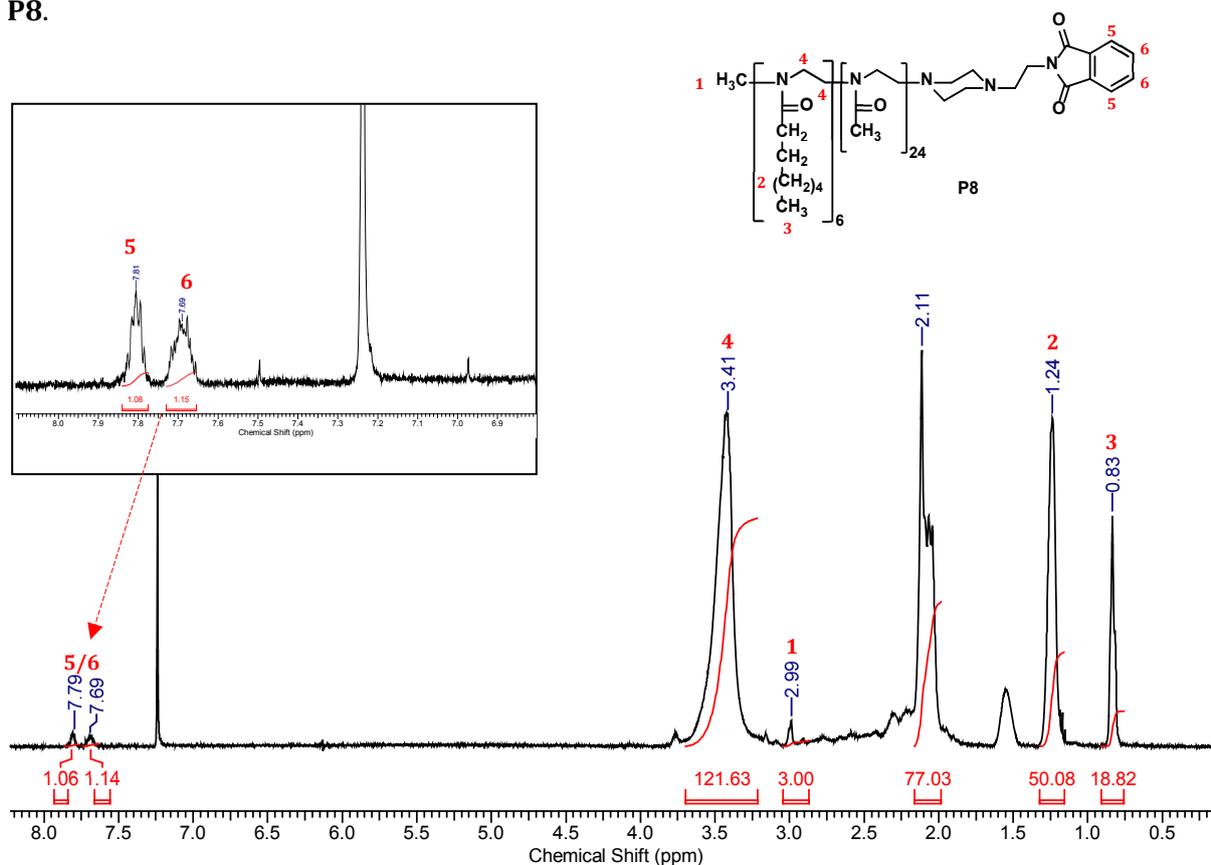


Abbildung 24: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Piperazinendgruppen-Funktionalisierung von **P8** mit **K1**.

Tabelle 7 fasst die ermittelten Extinktionskoeffizienten der Kopplungsreagenzien **K1-K4** und die daraus resultierenden Kopplungseffizienzen verglichen mit den Ergebnissen aus den $^1\text{H-NMR}$ -Daten zusammen.

Tabelle 7: Extinktionskoeffizienten und die daraus resultierenden Kopplungseffizienzen.

Probe	Kopplungsreagenz	$\lambda_{\text{max.}}$ /nm	$\epsilon_{\lambda}^{\text{a}}$ /L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹	Kopplungseffizienz		Kopplung ^d /mol·mL ⁻¹
				UV/vis /% ^b	$^1\text{H-NMR}$ /% ^c	
P8	K1	292	$1.84 \cdot 10^3$	57	58	$6.84 \cdot 10^{-6}$
P9	K2	276	$6.78 \cdot 10^3$	28	35	$3.36 \cdot 10^{-6}$
P10	K3	302	$1.35 \cdot 10^4$	17	13	$2.04 \cdot 10^{-6}$
P11	K4	352	$6.10 \cdot 10^3$	21	23	$2.50 \cdot 10^{-6}$

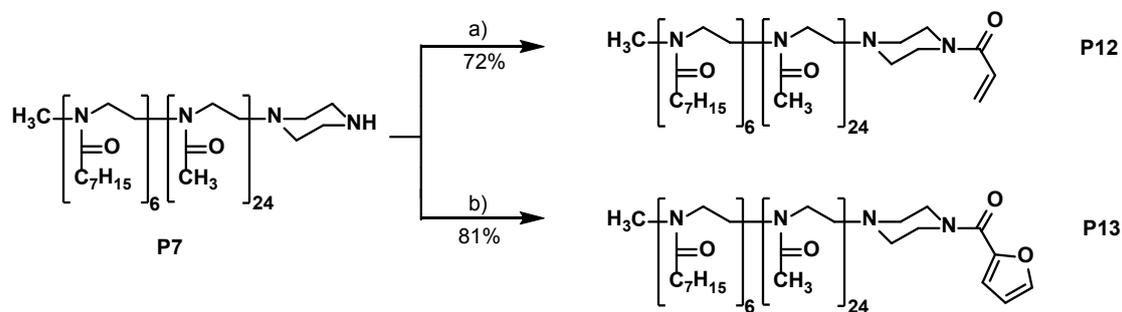
^[a] Extinktionskoeffizient ermittelt aus der Kalibriergeraden der Kopplungssubstanz, ^[b] bestimmt über UV/vis-Spektroskopie in ACN, ^[c] bestimmt über $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie basierte Endgruppenanalyse, ^[d] Konzentration der gekoppelten Komponente **K1-K4** auf der Nanopartikeloberfläche; die Ergebnisse beziehen sich auf die aus den UV/vis-Spektren erhaltenen Daten.

Zusätzlich ist in der Tabelle 7 die Konzentration der jeweiligen Kopplungsreagenzien, die am Nanopartikel errechnet werden konnte, dargestellt. Die Ergebnisse beziehen sich dabei auf die aus den UV/vis-Spektren ermittelten Daten.

Vergleicht man die Ergebnisse der unterschiedlichen Quantifizierungsmethoden, so lassen sich nur geringe Abweichungen feststellen. Die Abweichungen aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren resultieren aus der geringen Signalintensität der relevanten Protonen verglichen zum Polymersignal.

N-(2-Bromoethyl)phthalimid **K1** zeigte mit einer Kopplungseffizienz von 57% nach 24 h Reaktionszeit hierbei das beste Ergebnis. 2-(Bromomethyl)naphthalin **K2** setzte sich mit 28% nur halb so gut um. Ein Grund hierfür könnte der größere sterische Anspruch des Naphthalin-Ringes sein. 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** ließ sich zu 21% an die Piperazin-Endgruppe koppeln. Auch hier könnte der geringe Modifizierungsgrad mit dem sterischen Anspruch des Moleküls erklärt werden. Des Weiteren liefert das 9-(Chlormethyl)anthracen eine schlechtere Abgangsgruppe und ist somit weniger reaktiv als das 2-(Bromomethyl)naphthalin. Die geringste Modifizierung wurde dabei mit 3-(Bromoacetyl)coumarin **K3** mit einer Kopplungseffizienz von 17% erreicht. Es konnte festgestellt werden, dass trotz des Überschusses der jeweiligen Reagenzien **K1-K4** keine vollständige Kopplung erzielt werden konnte.

Neben den Reagenzien **K1-K4** sollte außerdem die Modifizierung mit Furoylsäure- und Acrylsäurechlorid untersucht werden. Die Modifizierung von **P7** mit den entsprechenden Säurechloriden erfolgte unter Zuhilfenahme der Basen Triethylamin bzw. Diisopropylethylamin. Nach Entfernen des Lösemittels konnten die Polymere in Chloroform aufgenommen und nach Ausfällen in kaltem Diethylether in guten Ausbeuten von 72-81% erhalten werden. Der Modifizierungsgrad wurde mit Hilfe der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ermittelt.



Schema 11: Polymerfunktionalisierung mit a) Acrylsäurechlorid, b) Furoylsäurechlorid an **P7**.

Reagenzien und Bedingungen: a) Acrylsäurechlorid, DIPEA, DCM, 0 °C-RT, 24 h,
b) Furoylsäurechlorid, TEA, DCM, 0 °C-RT, 24 h

Abbildung 25 zeigt das $^1\text{H-NMR}$ Spektrum des Acrylsäure-modifizierten Polymers **P12**. Mit Hilfe der Endgruppenanalyse aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte über die Protonen des Acrylsäurerestes bei 6.52, 6.28 und 5.68 ppm der Modifizierungsgrad ermittelt werden. Die Auswertung zeigte, dass 66% der Polymerketten erfolgreich mit Acrylsäure modifiziert werden konnten.

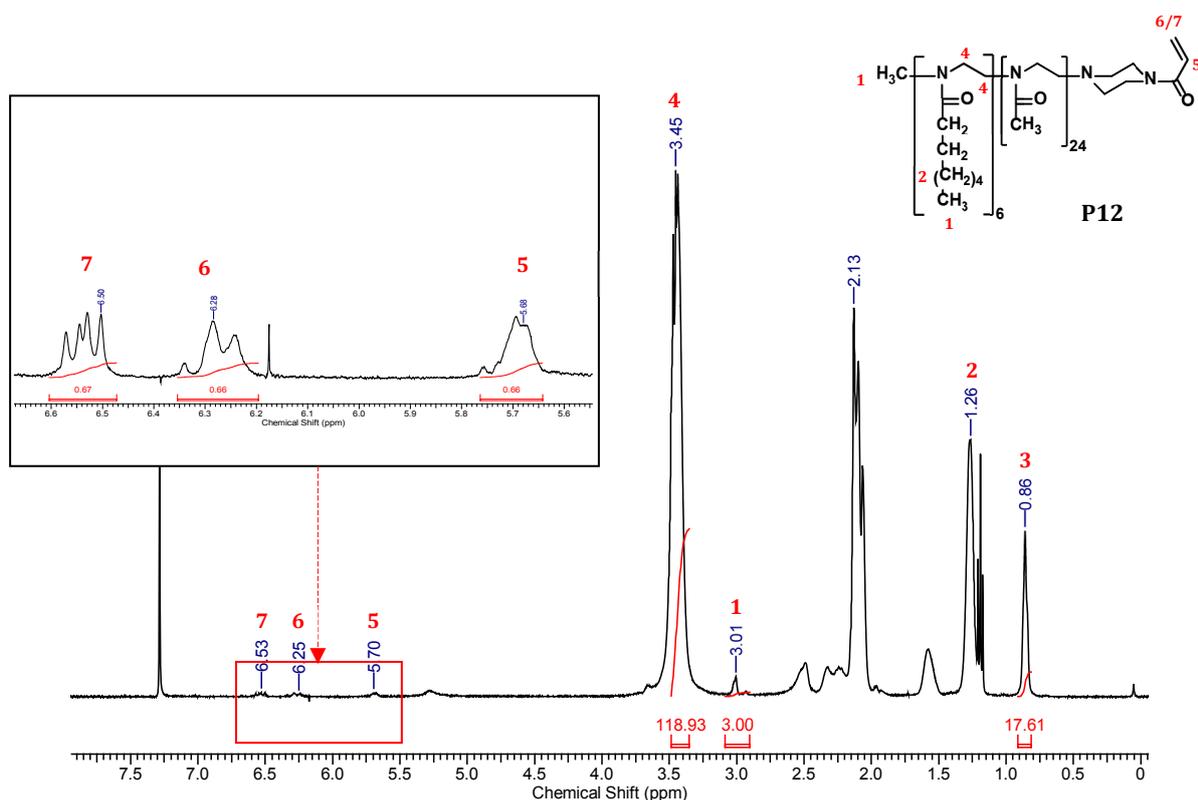


Abbildung 25: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **P12**.

Die Auswertung der Furoylsäurechlorid-Modifizierung erfolgte ebenfalls aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 26). Mit Hilfe der Endgruppenanalyse aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte über die Protonen des Furoylsäurechlorid-Restes bei 7.49, 7.05 und 6.49 ppm der Modifizierungsgrad ermittelt werden. Die Auswertung zeigte, dass die Modifizierung mit Furoylsäurechlorid zu **P13** nach 24 h quantitativ und somit etwas besser als die Kopplung mit Acrylsäurechlorid erfolgte.

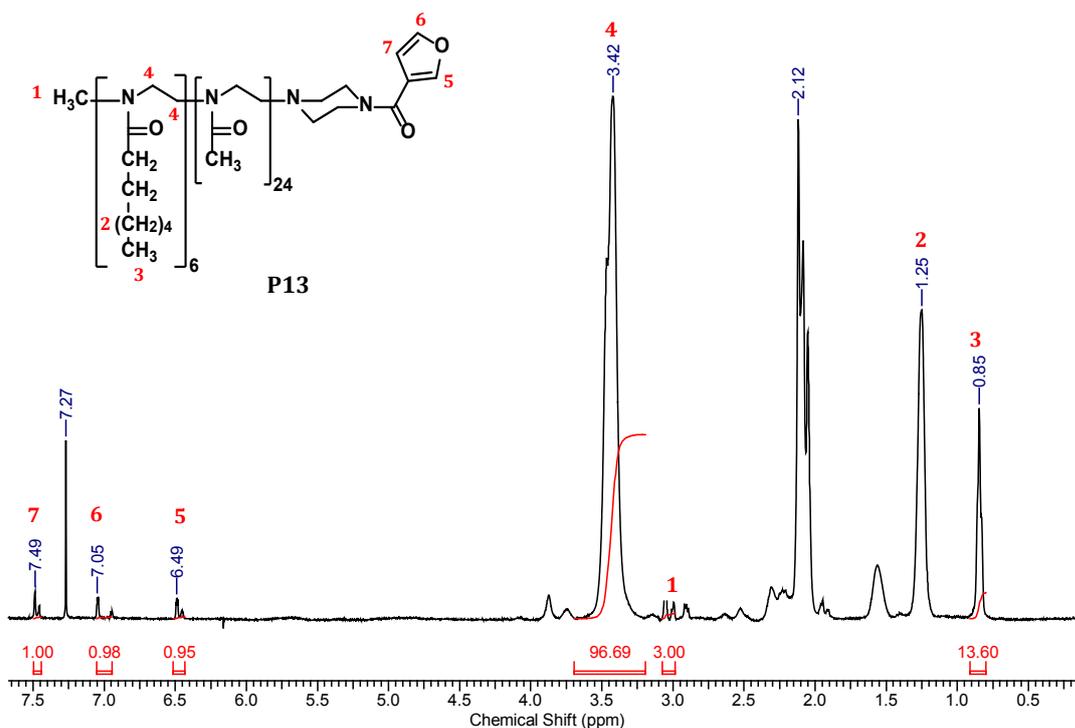


Abbildung 26: ¹H-NMR-Spektrum von P13.

Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass die Modifizierung über aktive Säurechloride wie erwartet bessere Ergebnisse lieferte. Während die Modifizierung mit **K1-K4** mit Kopplungseffizienten von 17-57% schlechte bis moderate Ergebnisse erzielte, ließen sich im Fall der Furoylsäurechlorid-Modifizierung mit einer quantitativen Umsetzung nach 24 h bereits sehr gute Ergebnisse erzielen.

Um die Kopplungseffizienzen von **K1-K4** zu erhöhen, sollten in den nächsten Versuchsansätzen die Reaktionszeiten auf 48 h und 72 h erhöht werden. In Abbildung 27 sind die Ergebnisse der kinetischen Studie graphisch dargestellt.

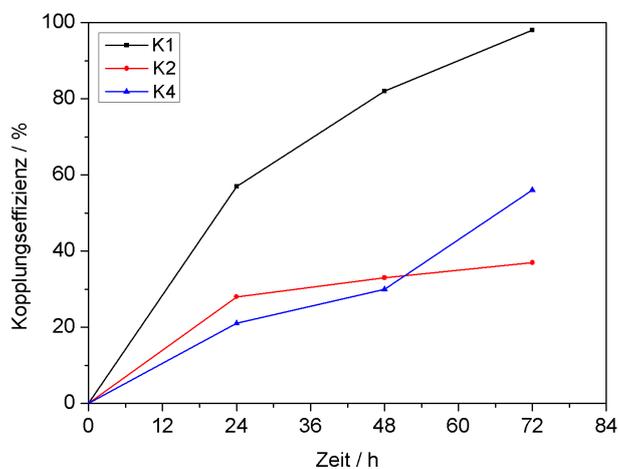
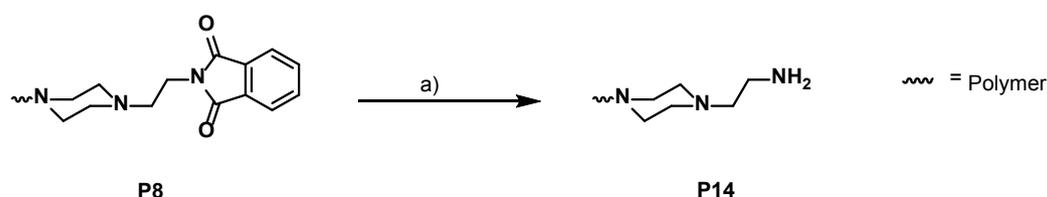


Abbildung 27: Zeitliche Kontrolle des Reaktionsverlaufs.

3-(Bromoacetyl)coumarin (**K3**) wurde dabei im weiteren Verlauf der Arbeit nicht mehr betrachtet. Es ließ sich feststellen, dass durch die Erhöhung der Reaktionszeit auf 72 h für die Kopplungsreagenzien **K1**, **K2** und **K4** eine Zunahme der Kopplungseffizienz zu verzeichnen war. Das beste Ergebnis konnte dabei mit *N*-(2-Bromoethyl)phthalimid **K1** erzielt werden. Die Kopplung betrug nach 24 h 57% und konnte nach 72 h auf einen quantitativen Umsatz gesteigert werden. Auch die Kopplungen der Reagenzien **K2** und **K4** ließen sich nach 72 h um 9% und 35% steigern.

Da eine weitere Erhöhung der Reaktionszeit wenig sinnvoll erschien, sollte in einem neuen Ansatz der Einsatz primärer Amine getestet werden. Diese sind sterisch weniger anspruchsvoll und könnten eine leichtere Kopplung ermöglichen, zudem sind mehrfach Substitutionen bis zur erschöpfenden Alkylierung^[Breitmaier, 2005] denkbar. Dafür wurde Polymer **P8**, das nach 72 h eine quantitative Umsetzung mit **K1** zeigte, in einer Gabriel Synthese^[Brückner, 1996] umgesetzt.



Schema 12: Umsetzung von **P8** zum primären Amin mittels Gabriel-Synthese.
Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{H}_2\text{N-NH}_2$, EtOH, 3 h, Rückfluss.

Das Polymer **P8** wurde dabei mit Hydrazin für 3 h in Ethanol refluxiert. Die *N*-Alkylphthalimid-Gruppe am Polymer spaltet sich dabei durch Hydrazin zum primären Amin und dem Phthalhydrazid. Die Aufreinigung erfolgte im Anschluss durch mehrmaliges Ausfällen in kaltem Diethylether und Dialyse über 24 h in Methanol. Das Polymer **P14** mit endständigem primärem Amin konnte in einer sehr guten Ausbeute von 98% erhalten werden.

An diesem Polymer wurden die Kopplungen mit **K1**, **K2** und **K4** wiederholt. Die Kopplungszeit betrug dabei maximal 72 h. Die Ergebnisse sind verglichen mit den ersten Kopplungsexperimenten am sekundären Amin zusammen in Abbildung 28 dargestellt.

Es zeigte sich, dass die Kopplung am primären Amin mit allen drei Reagenzien schneller verlief. So konnte das *N*-(2-Bromoethyl)phthalimid **K1** bereits nach 48 h quantitativ an das Polymer gekoppelt werden. Auch 2-(Bromomethyl)naphthalin **K2** konnte nach 72 h quantitativ an das Polymer gekoppelt werden.

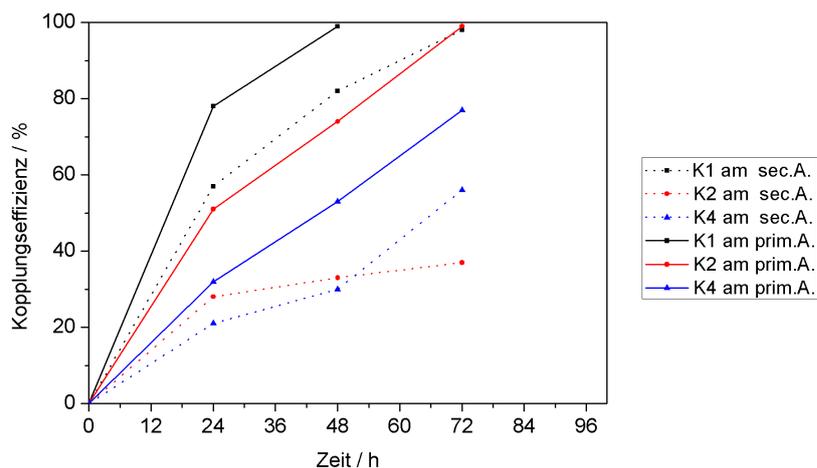


Abbildung 28: Kopplung am primären Amin (durchgezogene Linie) verglichen mit Kopplung am sekundären Amin (gestrichelte Linie).

Die Kopplung von 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** betrug nach 72 h 77% und zeigte somit einen prozentualen Zuwachs von 21% im Vergleich mit dem sekundären Amin. 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** konnte auch nach 72 h nicht quantitativ umgesetzt werden. Der sterische Anspruch des Moleküls sowie die schlechtere Abgangsgruppe sind die wahrscheinlichen Ursachen dafür. Dennoch konnte gezeigt werden, dass die Reaktion mit primären Aminen wesentlich bessere Ergebnisse liefert. Durch die weniger sterisch anspruchsvollen Amine ist die Kopplung erleichtert.

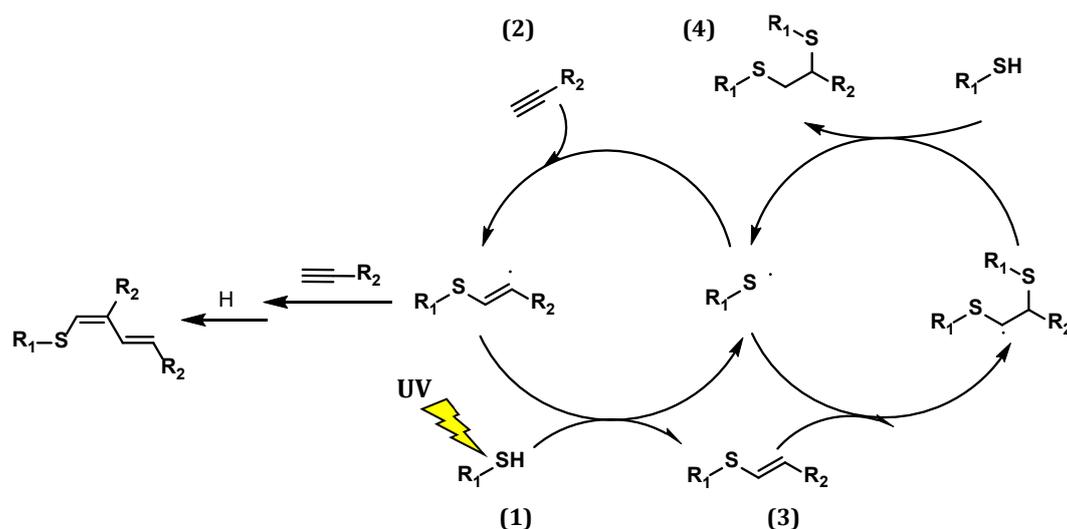
3.3 Nanopartikelsynthese durch Kernvernetzung von Poly(2-oxazolin)en

Bereits *Brummelhuis* konnte im Rahmen seiner Dissertation zeigen, dass die Vernetzung von Alkin-funktionalisierten Poly(2-oxazolin)en mit Hilfe von Thiolen eine gute Möglichkeit bietet die Polymermizellen erfolgreich zu stabilisieren. Durch den Einsatz von funktionalisierten Thiolen, wie z. B. 2-Aminoethanthiol, war es ihm möglich neben, einer erfolgreichen Kernvernetzung, eine simultane Funktionalisierung des stabilisierten Mizellkerns zu erzielen. Den Nachweis der Vernetzung sowie der Kern-Funktionalisierung erbrachte er über die Bestimmung des hydrodynamischen Radius aus DLS-Messungen in dem nicht selektiven Lösemittel THF und der Bestimmung des Zeta-Potentials. Er konnte zudem zeigen, dass in Abhängigkeit der Thiolmenge die Größe der Mizellen beeinflusst werden konnten. Im Rahmen seiner Arbeit untersuchte er Thiol-Äquivalente von 1-10 relativ zur vorhandenen Menge der Alkingruppen im

Polymer und zeigte, dass 10 Äquivalente Thiol zu einer erfolgreichen Vernetzung und größeren Partikeln führten. Die Polydispersität der Proben wurde nicht betrachtet.^[Brummelhuis, 2011]

Darstellung der eigenen Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Stabilisierung der Polymermizellen ebenfalls durch eine Kernvernetzung über die Thiol-Alkin-Chemie erfolgen.^[Hoogenboom, 2010] Schema 13 zeigt den möglichen Mechanismus der Reaktion.^[Fairbanks, 2009] Eingeleitet wird die Reaktion durch die UV-induzierte Bildung eines Thiol-Radikals **(1)**, welches anschließend an die C≡C-Dreifachbindung des 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolins **13** addieren kann **(2)**. Das nun entstandene Kohlenstoffradikal kann das Wasserstoffatom eines Thiols abstrahieren, wodurch ein Vinylsulfid **(3)** und ein neues Thiol-Radikal entstehen. In einem weiteren Schritt kann das gebildete Vinylsulfid erneut von einem Radikal angegriffen werden, wodurch ein Thioether **(4)** ausgebildet wird.



Schema 13: Schematische Darstellung des möglichen Mechanismus der Thiol-Alkin-Vernetzung.^[Fairbanks, 2009]

Die Vernetzungen erfolgten im Unterschied zu *Brummelhuis* mit 2-Propanthiol. Um die Mizellbildung einzuleiten, wurde das Blockcopolymer **P4** in Wasser, als selektives Lösemittel, oberhalb seiner cmc gelöst. Die Ausgangslösung besaß dabei eine Konzentration von 1 mmol/L. Anschließend wurde diese Lösung 30 Minuten mit Argon entgast. Danach erfolgte die Zugabe unterschiedlicher Konzentrationen an 2-Propanthiol. Nach 2.5 h UV-Bestrahlung unter Wasserkühlung wurden die Proben untersucht.

Die Untersuchung der Vernetzung sollte mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung erfolgen. Dafür sollte zunächst ein Lösemittel gefunden werden, in dem das unvernetzte Polymer **P4** keine Aggregate ausbildet. Lösemittel, die untersucht wurden, waren Chloroform, Acetonitril, Dimethylformiat und Dimethylacetamid, Tetrahydrofuran und Methanol. Methanol lieferte dabei das beste Ergebnis. Wie in Abbildung 29 gezeigt ist, führte Methanol zu keiner Aggregation des Polymers und wurde daher im weiteren Verlauf der Arbeit als nicht-selektives Lösemittel verwendet. Die Messungen in Methanol zeigten in der DLS Unimere bei ≤ 1 nm oder führten aufgrund des Messlimits des Gerätes zum Abbruch der Messung. Es konnte somit sichergestellt werden, dass das Polymer in unvernetzter Form in Methanol keine Aggregate bildet.

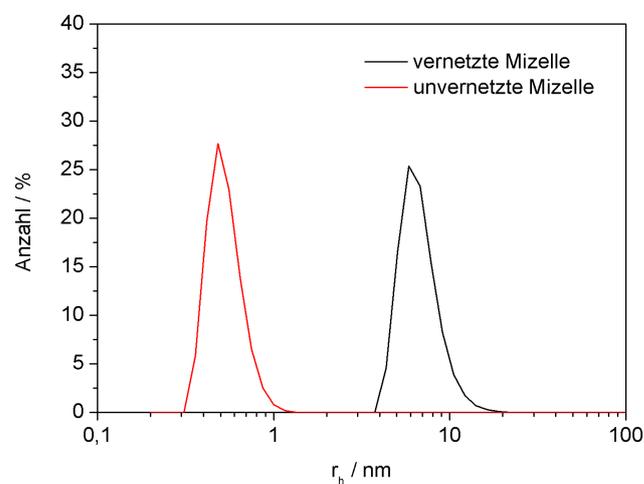


Abbildung 29: Ergebnis der DLS-Messung von **P4** in Methanol, (rot) vor der Vernetzung, (schwarz) nach der photochemisch induzierten Thiol-In Vernetzung des Mizellkerns.

Dies sollte nun als Überprüfung der Vernetzung dienen. Eine erfolgreiche Kernvernetzung der Mizellen sollte zu einer Stabilisierung der Partikel führen und daher in Methanol, als nicht-selektives Lösemittel, nachweisbar sein.

In Tabelle 8 sind die Ergebnisse der DLS-Messungen der einzelnen Vernetzungsversuche **V1-V7** zusammengefasst. Probe **V1** dient als Blindprobe. Hier lag das Polymer **P4** in unvernetzter Form vor. Die Ergebnisse der DLS zeigen, dass keine Aggregate ausgebildet werden konnten.

Tabelle 8: Bestimmung des hydrodynamischen Radius nach der Vernetzung von **P4** in wässriger Lösung in Gegenwart unterschiedlicher 2-Propanthiol-Konzentrationen.

Probenbezeichnung	P4 : Thiol /mol. %	r_h^a /nm	PI ^b
V1	100 : 0	≤ 1	0.1
V2	7 : 93	≤ 1	0.5
V3	14 : 86	≤ 1	0.4
V4	28 : 72	7.2 ± 2.5	0.4
V5	44 : 56	6.8 ± 1.1	0.2
V6	94 : 6	6.3 ± 0.6	0.1
V7	97 : 3	6.1 ± 0.5	0.1

^{a)} die in der Tabelle dargestellten r_h -Werte stellen den Mittelwert aus zehn Einzelmessungen dar; Konzentration von **P4** ($c = 1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) und entsprechen der numerisch gewichteten Verteilung; ^{b)} Polydispersität der Probe.

Auch die Proben **V2** und **V3** zeigten in der DLS keine erfolgreiche Kernvernetzung und Bildung stabiler Nanopartikel an. Ein Grund hierfür könnte die erhöhte Menge an 2-Propanthiol sein, die nach UV-Bestrahlung zu einer erhöhten Radikalbildung führt. Durch die hohe Radikalkonzentration werden Abbruchsreaktionen wahrscheinlicher. Die Proben **V4**, **V5**, **V6** und **V7** weisen auf eine erfolgreiche Vernetzung hin. Es ließ sich ein hydrodynamischer Radius zwischen 6.1–7.2 nm bestimmen. Die Polydispersität der Proben **V6** und **V7** deutet auf eine sehr monodisperse Verteilung hin. Dennoch ließ sich die Tendenz erkennen, dass sich die Polydispersität mit steigendem Anteil an Thiol verschlechterte. Vergleicht man die Ergebnisse nun mit den Arbeiten von *Brummelhuis* lässt sich feststellen, dass keine deutliche Zunahme der Mizellgröße mit zunehmender Thioldmenge zu beobachten war. Die Versuche mit einer hohen Konzentration an Thiol führten auch in Wiederholungsversuchen zu keiner erfolgreichen Vernetzung. Auch die Polydispersität der Probe verschlechterte sich deutlich mit zunehmender Thioldmenge.

Nachdem die Proben **V1-V7** mittels DLS charakterisiert wurden, sollte die Solubilisierung mit Pyren, wie in Kapitel 3.1.3 beschrieben, untersucht werden. Dafür wurde von den Proben **V2-V7** eine Konzentrationsreihe angesetzt, die anschließend mit 10 μL Pyrenlösung versetzt wurde. Nachdem die Proben für 30 Minuten mit Argon entgast wurden, konnten anschließend Fluoreszenzspektren der jeweiligen Probe aufgenommen werden.

Abbildung 30 zeigt das Verhältnis von I_1/I_3 in Abhängigkeit von der Konzentration jeder einzelnen Probe. Eine Veränderung des Kurvenverlaufs der vernetzten Proben im Vergleich zu dem des unvernetzten Polymers **V1** lässt sich deutlich erkennen.

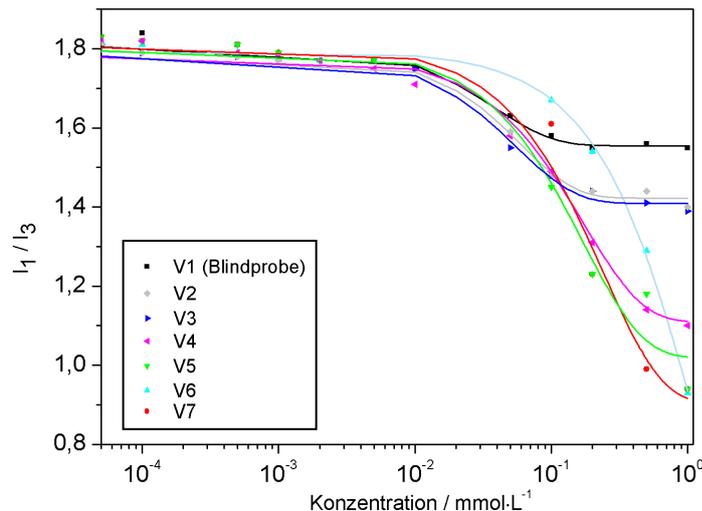


Abbildung 30: Pyren Solubilisierung.

Vor allem ein Unterschied in den Werten I_1/I_3 wird deutlich. Während die mizellaren Aggregate von **V1** ein I_1/I_3 -Verhältnis im Bereich von 1,5 oberhalb der cmc aufweisen, liegen die I_1/I_3 -Verhältnisse der vernetzten Proben im Bereich von 0,9-1,0, und somit deutlich niedriger. Bereits in der DLS konnte gezeigt werden, dass die Vernetzungen mit 3 und 6 Mol% 2-Propanthiol zu einer erfolgreichen Vernetzung geführt haben. Dieser Trend wird auch in den Solubilisierungsexperimenten noch einmal bestätigt.

Der Grund für die niedrigen Werte für I_1/I_3 kann durch die Bildung eines erweiterten Alkyl- und Alkenyl-Netzwerk erklärt werden, indem Pyren jetzt eingelagert wird und ganz offensichtlich eine deutlich hydrophobere Mikroumgebung erfährt als in den lose aggregierten mizellaren Aggregaten. *Thomas et al.* [Kalyanasundaram, 1977] beobachteten ähnliche Werte für Pyren in aromatischen Lösemitteln wie Xylol und Toluol. Die Ergebnisse aus den DLS-Untersuchungen und der Fluoreszenzspektroskopie mit Pyren weisen eindeutig auf eine erfolgreiche Kernvernetzung der Polymermizellen (**V5**, **V6** und **V7**) hin. Dies sollte mit AFM Messungen in Methanol erneut bestätigt werden. Für die AFM-Untersuchungen wurden die Proben auf eine frisch geschnittene Mica-Platte getropft und 30 s bei 4000 rpm gspin-coated. Untersucht wurden die Proben im sogenannten dynamischen Modus bei dem das Cantilever-Spitzen System nahe der Resonanzfrequenz angeregt wurde. Dabei wurden die Proben im tapping-mode untersucht, bei dem ein oszillierender Cantilever in die Nähe der Probenoberfläche gebracht wird, wodurch seine Schwingungsparameter verändert werden. Über das Signal der Phasenänderung können so physikalische Eigenschaften der Probe wie z. B. Härte oder Elastizität ermittelt werden. Ein besonderer Vorteil des tapping-mode ist, dass sowohl Topographie wie auch Phasenbilder simultan erzeugt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden

die AFM-Aufnahmen zur Bestimmung des hydrodynamischen Radius sowie der Betrachtung der Heterogenität der Partikel verwendet.

Abbildung 31 A-B zeigt die Ergebnisse der AFM-Aufnahmen. Zunächst wurde das unvernetzte Polymer **P4** in Methanol als Referenzprobe untersucht (A).

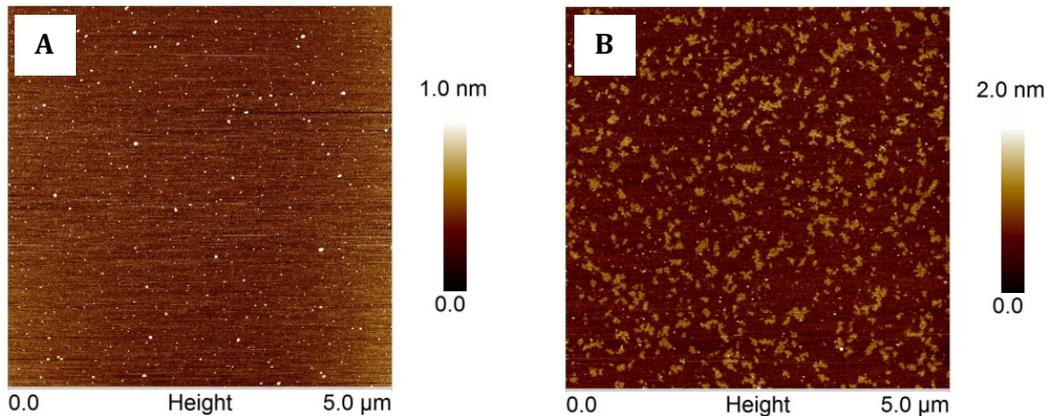


Abbildung 31 A-B: P4 in MeOH, Topographie (A), P4 in Wasser, Topographie (B).

Die AFM-Untersuchungen zeigten eindeutig, dass keine Mizellen in Methanol gebildet wurden und bestätigten die vorherigen DLS-Ergebnisse. Als Kontrolluntersuchung wurde die Probe in dem selektiven Lösemittel Wasser untersucht (B). Hier ließen sich Partikel beobachten, die allerdings aufgrund des Spin-Coater Prozesses nicht stabil blieben und auf dem Mica-Plättchen zerplatzten. Diese Beobachtung ließ sich mit den Proben **V1**, **V2** und **V3** wiederholen. Auch hier waren in Methanol keine Partikel sichtbar, womit die Ergebnisse der DLS bestätigt werden konnten. Untersuchungen der Proben **V4-V7** in Methanol zeigten eine sehr monodisperse Partikelverteilung.

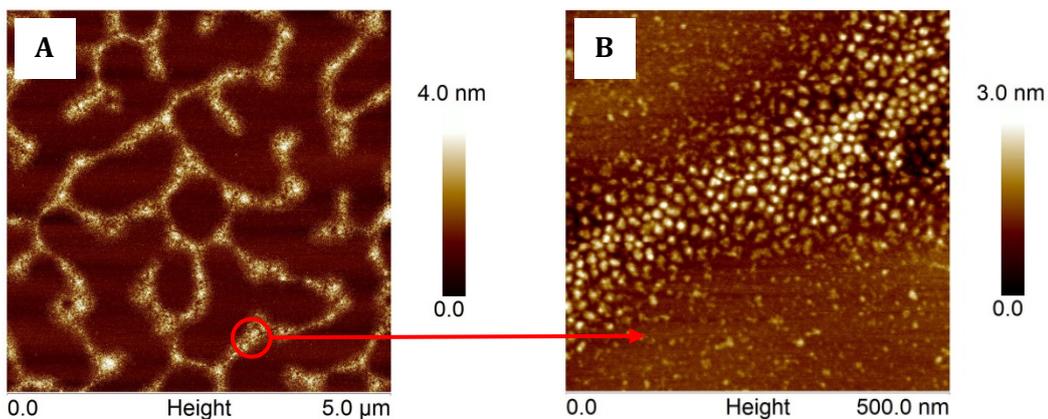


Abbildung 32 A-B: AFM-Aufnahmen (Topographie) der Probe **V6** in MeOH (A), Nahaufnahme der Probe **V6** (B).

Die Partikelgröße, die mittels AFM bestimmt werden konnte, lag zwischen 6-7 nm und bestätigte damit die Ergebnisse der DLS.

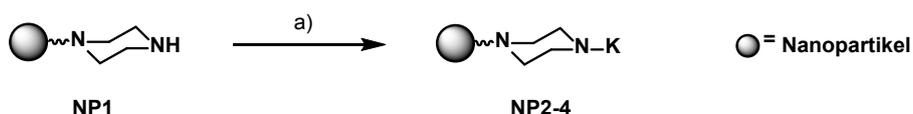
Für weitere Synthesen stabiler Nanopartikel wurde im Verlauf dieser Arbeit mit einem 2-Propanthiol-Anteil von 6 mol% gearbeitet, da hier jeweils monodisperse Partikelverteilungen erhalten werden konnten.

Die oben beschriebenen Vernetzungsexperimente wurden mit dem Piperazin-funktionalisierten Polymer **P5** wiederholt und führten zu exakt den gleichen Ergebnissen.^[Engelhardt, 2013] Es konnte gezeigt werden, dass die Piperazin-Endgruppe keinen störenden Einfluss auf die Aggregation sowie die Vernetzung nimmt. Diese Beobachtung bestätigt das Ergebnis von *Brummelhuis*, der in seiner Arbeit Amin-funktionalisierte Thiole einsetzte und ebenfalls Partikel erfolgreich vernetzen konnte.

3.4 Oberflächenfunktionalisierung der Nanopartikel

Mit dem Ziel, die Möglichkeit der Oberflächenfunktionalisierung der Nanopartikel zu untersuchen, sollten zuerst Kopplungsexperimente mit den Reagenzien **K1-K4** durchgeführt werden.

3.4.1 Funktionalisierung mit UV-aktiven Molekülen



Schema 14: Schale-Funktionalisierung von **NP1** mit **K1**, **K2** und **K4**.
 Reagenzien und Bedingungen: a) **K1** (**K2**, **K3**), CH₃CN, K₂CO₃, NaI, 24-72 h, Rückfluss.

Für die Oberflächenfunktionalisierungen wurden 5 mL der kernvernetzten wässrigen Nanopartikelprobe bis zur Trockene einrotiert. Der zusätzlich unter Vakuum getrocknete Nanopartikel wurde in 5 mL Acetonitril aufgenommen. Danach erfolgte die Zugabe des Kopplungsreagenz (**K1**, **K2**, **K3**), K₂CO₃ und einer katalytischen Menge an Natriumiodid. Das Reaktionsgemisch wurde 72 h unter Argon-Schutzgasatmosphäre refluxiert. Nach Abfiltrieren des Feststoffes wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde

in Chloroform aufgenommen und die Nanopartikel **NP2-NP4** durch Ausfällen in kaltem Ether und anschließender Dialyse in Wasser erhalten.

Die Ergebnisse der Oberflächenfunktionalisierung der Nanopartikel sind in Abbildung 33 dargestellt. Es konnte gezeigt werden, dass die Funktionalisierung am Nanopartikel deutlich schlechter verlief als am Blockcopolymer. Das am Polymer **P7** nach 72 h quantitativ umgesetzte *N*-(2-Bromoethyl)phthalimid **K1**, ließ sich am Nanopartikel nur zu 47% koppeln. Auch die Funktionalisierungen mit **K2** und **K4** verliefen mit 33% und 4% deutlich schlechter.

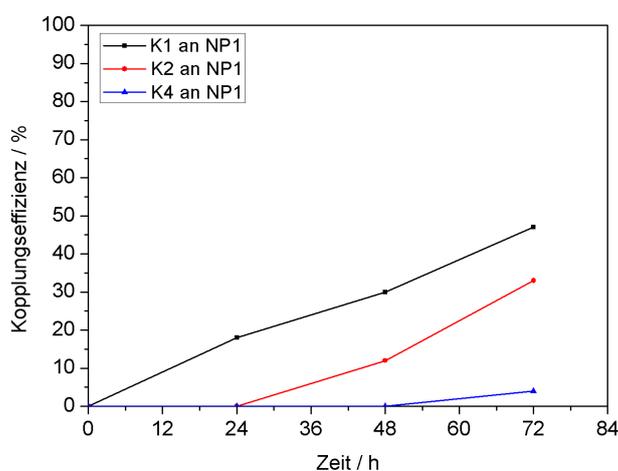
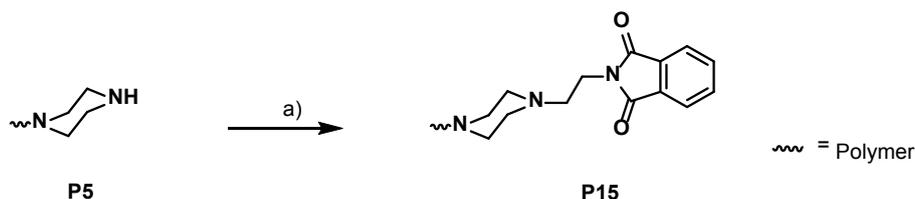


Abbildung 33: Schale-Funktionalisierung von **NP1** mit **K1**, **K2** und **K4** nach 72 h.

Daher sollten auch diese Kopplungsversuche an einem primären Amin wiederholt werden. Um Nanopartikel mit einem endständigen primären Amin aufzubauen sollte zunächst Polymer **P5** mit *N*-(2-Bromoethyl)phthalimid **K1** über 72 h umgesetzt werden.



Schema 15: Polymerfunktionalisierung von **P5** mit **K1**.

Nach Aufreinigung erhielt man Polymer **P15** in einer guten Ausbeute von 87%. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 34) zeigte eine quantitative Funktionalisierung der Piperazin-Endgruppe mit **K1**.

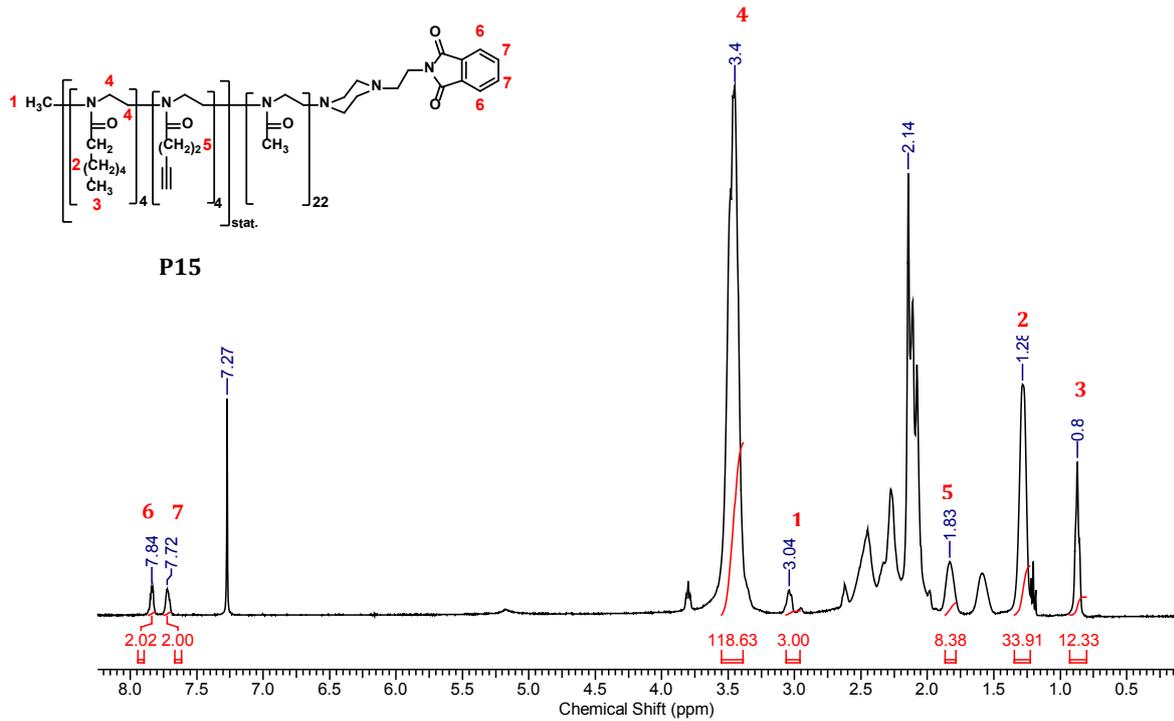
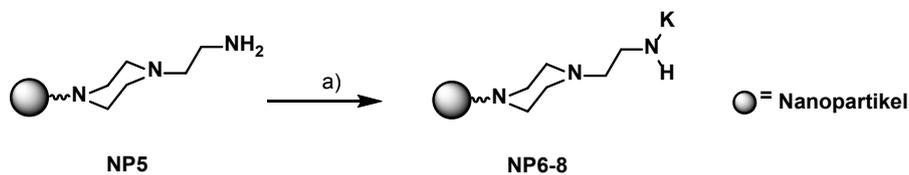


Abbildung 34: ¹H-NMR-Spektrum von Polymer P15.

Im Anschluss wurde das Polymer P15 mit Hydrazin zu P16 umgesetzt (analog zu Schema 12). Dafür wurde das Polymer P15 mit Hydrazin für 3 h in Ethanol refluxiert. Die *N*-Alkylphthalimid-Gruppe am Polymer spaltet sich dabei durch Hydrazin zum primären Amin und dem Phthalhydrazid. Die Aufreinigung erfolgte im Anschluss durch mehrmaliges Ausfällen in kaltem Diethylether und Dialyse in Methanol. Das Polymer P16 mit endständigem primärem Amin konnte in einer guten Ausbeute von 98% erhalten werden.

Aus P16 ließ sich nun wie in Kapitel 3.3 beschrieben das kernvernetzte Nanopartikel NP5 aufbauen. An diesem wurden die Kopplungsversuche mit K1, K2 und K4 wiederholt.



Schema 16: Schale-Funktionalisierung von NP5 mit K1, K2 und K4.

Reagenzien und Bedingungen: a) K1 (K2, K3), CH₃CN, K₂CO₃, NaI, 24-72 h, Rückfluss.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 35, verglichen mit der Nanopartikelfunktionalisierung an der Piperazin-Endgruppe, dargestellt.

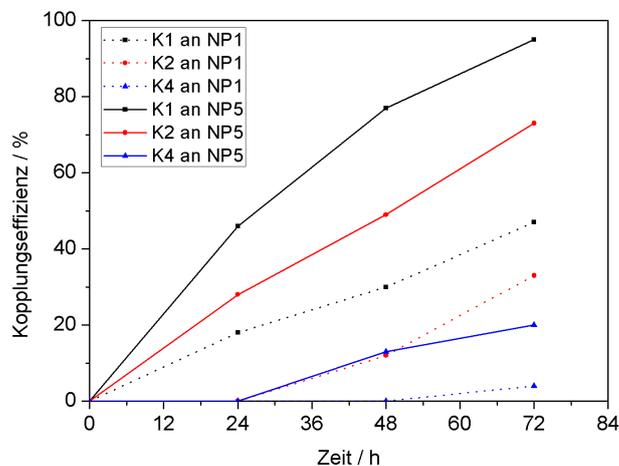


Abbildung 35: Nanopartikelfunktionalisierung am sekundären Amin (**NP1**) und primären Amin (**NP5**) nach 72 h.

Es konnte gezeigt werden, dass die Kopplung am primären Amin mit allen drei Kopplungsreagenzien deutlich besser verlief. Die Kopplung mit **K1** lieferte hierbei nach 72 h mit einem Umsatz von 97% das beste Ergebnis. Lag die Kopplung am sekundären Amin nach 72 h noch bei 47% konnte diese durch den Einsatz des primärenamins verdoppelt werden. Auch die Kopplung mit 2-(Bromomethyl)naphthalin **K2** zeigte mit 74% eine große Steigerung der Effizienz. Die Kopplung mit 9-(Chlormethyl)anthracen **K4** lieferte schon wie am sekundären Amin gezeigt werden konnte, den niedrigsten Umsatz, zeigte mit 17% jedoch auch hier eine deutliche Verbesserung der Ergebnisse und eine Steigerung um 13%.

Nach den erfolgreichen Kopplungsexperimenten, die nach 72 h reproduzierbare Ergebnisse lieferten und zeigten, dass die Kopplung durch den Einsatz einer primären Amin-Endgruppe noch einmal gesteigert werden konnte, sollten nun biomedizinisch relevante Moleküle eingesetzt werden.

3.4.2 Oberflächenfunktionalisierung mit biorelevanten Molekülen

3.4.2.1 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)-Nanopartikeln mit FITC

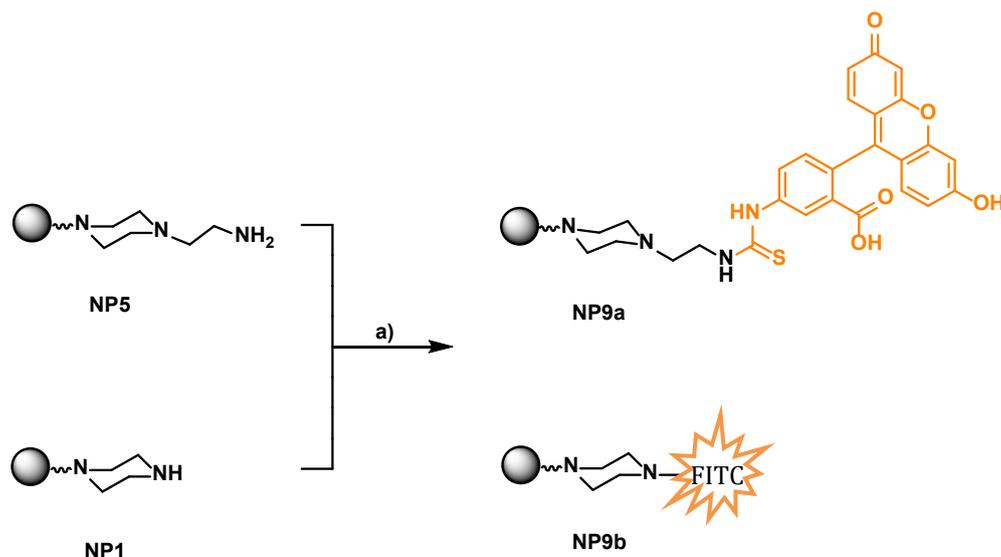
Das Anbinden von Fluoreszenzfarbstoffen spielt im Bereich der Diagnostik eine wichtige Rolle. Fluoreszenzmarkierte Biomoleküle werden unter anderem als Reagenzien für Immun-[Lottspeich, 1998] und in-situ-Hybridisierungsfärbung[De Long, 1999] verwendet. Auch das Anfärben lebender Zellen und die Färbung in Durchflusszytometriemethoden[Dittrich, 1968] sind möglich. Vor allem Derivate des Fluoreszenzfarbstoffes Fluorescein werden hierbei oft eingesetzt, da sie vielfältig modifiziert und kommerziell erhältlich sind.

Die Fluoreszenzmarkierung vernetzter Nanopartikel wurde in der Literatur bereits beschrieben. So stellten *Wooley et al.* amphiphile Poly(acrylsäure)-*block*-Poly(styrol) Blockcopolymer her, die sie nachträglich mit Aziden oder Alkinen modifizierten. Anschließend erfolgte über Diamine die Schale-Vernetzung der Partikel. Durch Alkin- und Azid-funktionalisierte Fluoresceine konnten die vernetzten Nanopartikel mit Hilfe der Klick-Chemie weiter modifiziert werden. Die Quantifizierung der Fluorescein-Anbindung erfolgte über UV/vis-Spektroskopie. In ihren Arbeiten beschrieben sie eine quantitative Anbindung des Fluoreszenzfarbstoffes.[Zhang, 2008]

Auch im Bereich der Poly(2-oxazolin)e wurden bereits fluoresceinmarkierte Polymermizellen synthetisiert. *Schubert et al.* beschrieben beispielsweise die Synthese von Fluoresceinmarkierten Polymermizellen auf Basis von Poly(2-oxazolin)en, die sie in ersten Untersuchungen zur Markierung von Fibroblasten nutzen. Ihre Polymermizellen wurden allerdings nicht kernvernetzt und waren mit 200-800 nm deutlich größer als die in dieser Arbeit synthetisierten Partikel.[Zhang, 2008]

Darstellung und Diskussion der eigenen Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Fluoreszenzmarkierung der Nanopartikel der kommerziell erhältliche Fluoreszenzfarbstoff Fluoresceinisothiocyanat (FITC) verwendet. Die Funktionalisierungen zu **NP9a** und **NP9b** erfolgten über die Reaktionen der primären und sekundären Amine der synthetisierten Nanopartikel mit der Isocyanatgruppe des FITC unter Ausbildung einer Thioharnstoffgruppe. In Schema 17 sind die Reaktionen schematisch dargestellt.



Schema 17: Nanopartikelfunktionalisierung mit FITC;

Reagenzien und Bedingungen: a) Fluorescein-5-isothiocyanat, Ethanol, 16 h, 45 °C, Lichtausschluss.

Für die Fluoreszenzmarkierung wurden die Nanopartikel **NP1** und **NP5** in trockenem Methanol gelöst und mit einem Überschuss Fluorescein-5-isothiocyanat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei 45 °C unter Lichtausschluss gerührt. Nach Abfiltrieren des überschüssigen Farbstoffes wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wenig Chloroform aufgenommen, in kaltem Diethylether gefällt und durch Dialyse in Wasser aufgereinigt. Die fluoreszenzmarkierten Partikel konnten als gelb-orange gefärbte Feststoffe in moderaten bis guten Ausbeuten von 72-86% erhalten werden.

Abbildung 36 zeigt die synthetisierten Nanopartikel in MeOH vor UV-Bestrahlung (A) und nach UV-Bestrahlung (B). Dieser Schnelltest gab erste Auskunft über eine erfolgreiche Fluoreszenzmarkierung der Partikel.

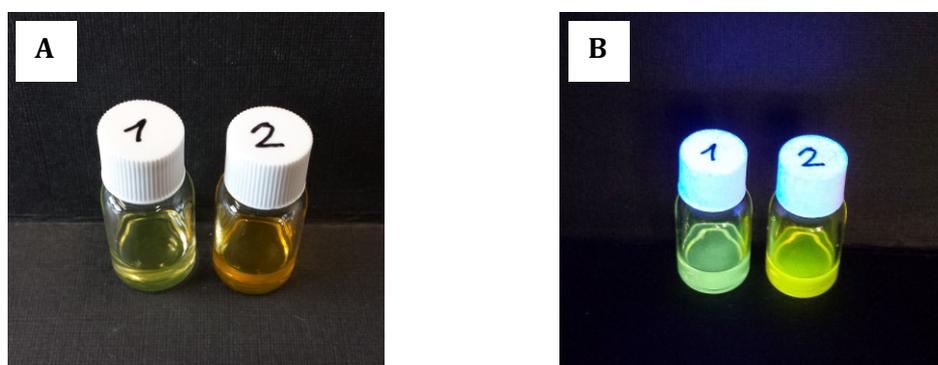


Abbildung 36 A-B: FITC-funktionalisierte Nanopartikel **NP9a** (1) und **NP9b** (2) im Tageslicht (A), unter UV-Bestrahlung (B).

Mit Hilfe der FT-IR-Spektroskopie wurde die Anbindung von FITC an den Partikel analysiert. Das FT-IR Spektrum zeigt beispielhaft das fluoreszenzmarkierte Nanopartikel **NP9a** im Vergleich zu dem nicht markierten Nanopartikel **NP5**. Als Referenzprobe ist das FT-IR-Spektrum von reinen FITC dargestellt.

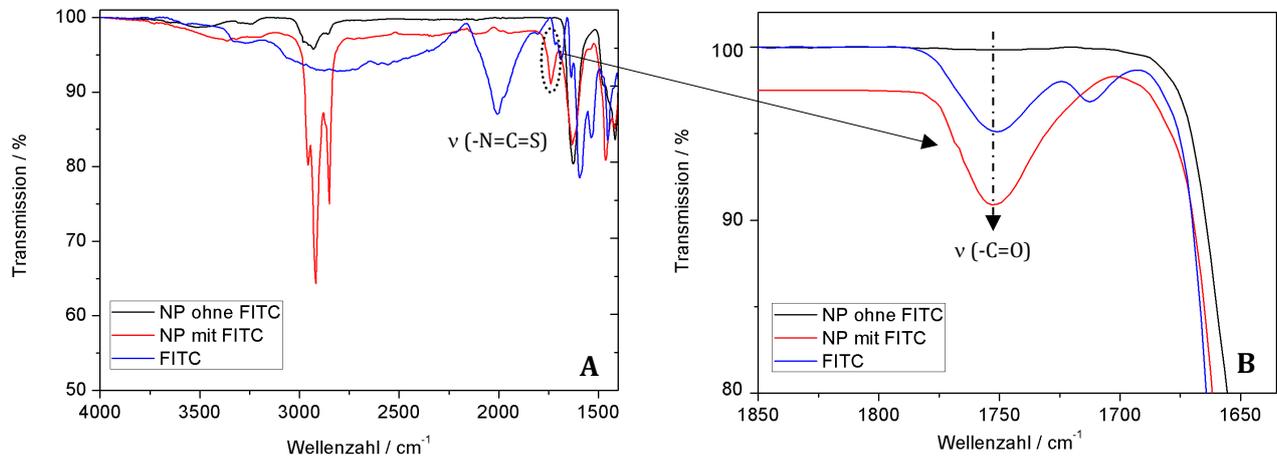


Abbildung 37 A-B: FT-IR-Spektren der Fluoreszenzmarkierung von **NP9a** (A); vergrößerter Ausschnitt (B).

Das IR-Spektrum zeigt die charakteristische Valenzschwingung $\nu(-C=O)$ von FITC im Bereich von 1750 cm⁻¹. Auch das modifizierte **NP9a (NP9b)** weist diese Bande auf. Für das nicht modifizierte Nanopartikel konnte diese Bande nicht zugeordnet werden. Die charakteristische Valenzschwingung $\nu(-N=C=S)$ der arylischen Thioisocyanatgruppe bei 2150 cm⁻¹ ist nach der Funktionalisierung in den Spektren der Nanopartikel nicht mehr zu beobachten.

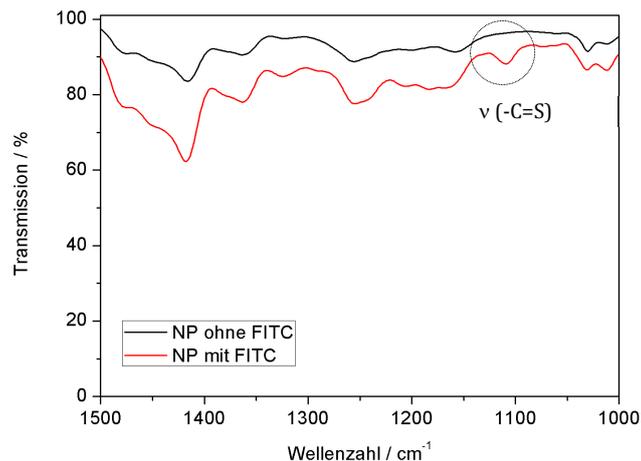


Abbildung 38: Vergleich FT-IR-Spektren von **NP5** und **NP9a**, vergrößerter Ausschnitt.

Die erfolgreiche Funktionalisierung der Nanopartikel **NP9a** und **NP9b** kann durch die Bildung eines Thioharnstoffs und der damit entstehenden symmetrischen $\nu(C=S)$ -Valenzschwingung, die

bei 1187 cm^{-1} einzuordnen ist, eindeutig nachgewiesen werden. Das nicht modifizierte **NP5** zeigt diese Bande nicht. Auch diese Ergebnisse konnten eine erfolgreiche Fluoreszenzmarkierung erneut bestätigen.

Der Farbstoffgehalt am Nanopartikel wurde über UV/vis-Spektroskopie quantifiziert. Bei einer Wellenlänge von 495 nm konnte zunächst konzentrationsabhängig die Absorption des reinen Farbstoffes ermittelt und darüber eine Kalibriergerade erstellt werden. Da das Absorptionsmaximum von FITC stark pH-abhängig ist, wurden die UV/vis-Messungen in wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Puffer ($\text{pH}=8$) durchgeführt.

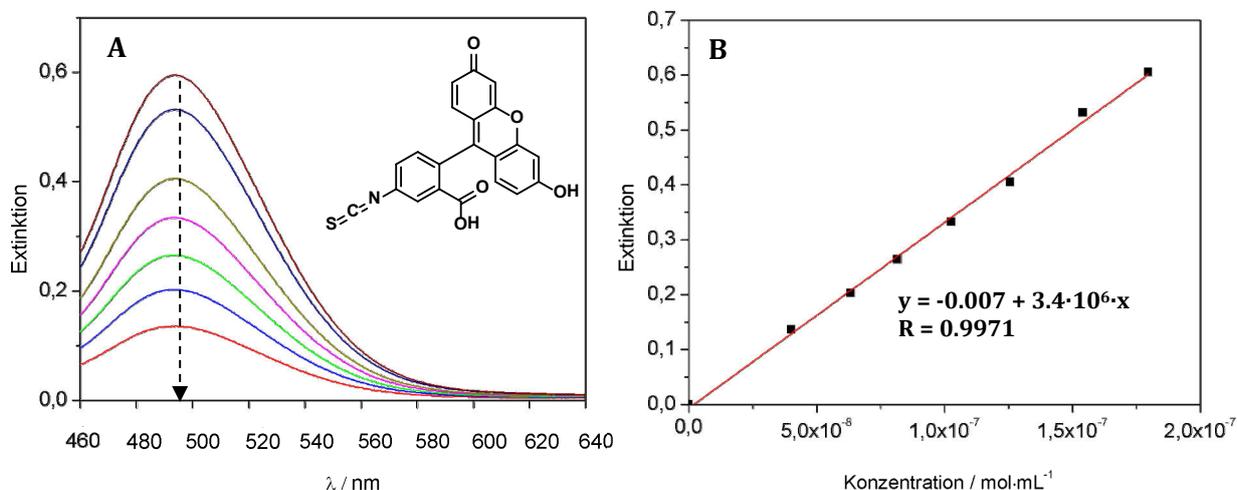


Abbildung 39 A-B: UV/vis-Spektrum von Fluoresceinisothiocyanat FITC (A), Kalibrierkurve (B).

Mit dem aus der Kalibriergeraden ermittelten Extinktionskoeffizienten konnte für **NP9a** eine FITC-Konzentration von $9.7 \cdot 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ berechnet werden, die mit der theoretischen Konzentration reaktiver Amin-Gruppen im Nanopartikel ($9.8 \cdot 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) korreliert und auf eine nahezu quantitative Kopplung schließen lässt.

Für **NP9b** konnte eine FITC-Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ermittelt werden. Die Quantifizierung zeigte, dass die FITC-Modifizierung am primären Amin deutlich besser verlief als am sekundären Amin. Dieses Ergebnis bestätigt die bereits beschriebenen Ergebnisse aus Kapitel 3.4, in denen gezeigt werden konnte, dass die Kopplung am primären Amin besser verläuft.

Vergleicht man die Ergebnisse mit denen von *Wooley et al.* lässt sich feststellen, dass in dieser Arbeit eine deutlich höhere Konzentration an Fluoreszenzfarbstoff auf dem Partikel angebunden werden konnte. In ihrer Arbeit stellte sie Schale-funktionalisierte Nanopartikel, mit einem Durchmesser von 37 nm her, die sie auf 25% der Oberfläche weiter modifizierte. Nach Anbinden

über Klick-Chemie beschrieb sie eine quantitative Kopplung mit einer Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ Fluoreszenzfarbstoff auf der Partikeloberfläche. Der restliche Anteil an funktionellen Gruppen diente der Schale-Vernetzung und der damit verbundenen Stabilisierung der Partikel.^[O'Reilly, 2005]

Trotz des Einsatzes kleinerer Partikel ($r_h = 6-7 \text{ nm}$) war es im Rahmen dieser Arbeit möglich, bessere Ergebnisse und eine höhere Funktionalisierung auf der Oberfläche zu erzielen. Da die Stabilisierung im Rahmen dieser Arbeit über die Kernvernetzung erfolgte, standen die funktionellen Gruppen auf der Partikeloberfläche, im Gegensatz zu den Arbeiten von *Wooley et al.*, zur vollständigen Modifizierung der Oberfläche zur Verfügung.

3.4.2.2 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)-Nanopartikeln mit Folsäure

Die Synthese und strukturelle Aufklärung der Folsäure erfolgte in den 40 er Jahren durch *Angier et al.*^[Stokstad, 1948]. Folsäure selbst hat im Organismus keine Funktion, kann aber durch Folsäure-Reduktase in Dihydrofolsäure (FH₂) und weiter durch Dihydrofolatreduktase zu 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (THF, FH₄) reduziert und so in den Metabolismus eingeschleust werden. Das Coenzym THF ist eine biologisch aktive Form der Folsäure und spielt als C₁-Überträger bei der Biosynthese der DNS- sowie im Aminosäurestoffwechsel eine entscheidende Rolle.^[Salazar, 2007] Auch Tumorzellen benötigen für ihr Wachstum Folsäure. Daher gibt es zahlreiche Forschungsansätze, Zytostatika an Folsäure-Moleküle anzubinden. Da Tumorzellen, wie zum Beispiel die Ovarialkrebszellen, Rezeptoren für die Folsäure auf ihrer Oberfläche überexprimieren, reichern sich Zytostatika-Folsäurekonjugate selektiv auf der Tumoroberfläche an und können gezielt Tumorzellen zerstören.

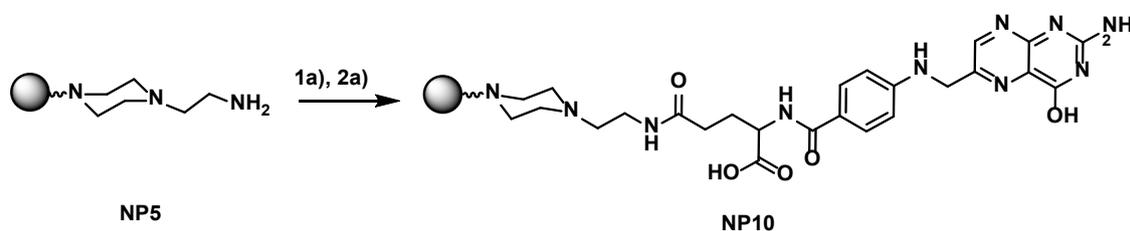
Über die auf Tumorzellen sitzenden Folsäure-Rezeptoren kann der Wirkstoff so gezielt in die Tumorzelle gelangen.^[Osada, 2009] Auch der Einsatz wirkstoffbeladener Nanopartikel stellt eine denkbare Möglichkeit dar und macht daher eine Folsäure-Funktionalisierung interessant.

Betrachtet man die Forschungsarbeiten aus der Literatur, lassen sich Beispiele für Folat-modifizierte Nanopartikel finden. Neben anorganischen Nanopartikeln, wie Gold, wurden auch kernvernetzte polymere Nanopartikel eingesetzt. So beschrieben *Li et al.* 2013 die Synthese von Poly(ethylenglycol)-*b*-Poly(*N*-(*N*'*N*'-diisopropylaminoethyl)glutamin), das sie polymeranalog mit Folsäure modifizierten und für ein aktives Targeting in Leberkrebszellen untersuchten. Der Grad der Modifizierung wurde in ihren Arbeiten nicht beschrieben, lediglich der Einfluss der Folsäure wurde in ihrer Arbeit betrachtet.^[Li, 2013]

Auch *Zhang et al.* beschrieben die Synthese Folat-modifizierter, Schale-vernetzter Nanopartikel aus Poly(acrylsäure)-*b*-Poly(styrol), die einen hydrodynamischen Radius von 7 ± 2 nm besaßen. Sie beschrieben in ihren Arbeiten die mögliche Modifizierung der Partikeloberfläche zu 1% und zeigten, dass so pro Nanopartikel 90 Folatgruppen eingebaut werden konnten.^[Rossin, 2005; Zhang, 2008] Ob die Kopplung dabei quantitativ erfolgte, wurde in der Arbeit nicht diskutiert.

Darstellung und Diskussion der eigenen Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die kommerziell erhältliche Folsäure eingesetzt. Die für die Kopplung notwendige Aktivierung der Folsäure sollte anhand unterschiedlicher Kopplungsreagenzien getestet werden.



Schema 18: Nanopartikelfunktionalisierung mit **Folsäure**;

Reagenzien und Bedingungen: 1a) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid, TEA, 20 h, -78 °C;
2a) Fluoro-*N,N,N',N'*-bis(tetramethylen)formamidiniumhexafluorophosphat, Folsäure, DIPEA, DCM, 2x 15 min.

Der erste Kopplungsversuch (**1a**) erfolgte mit Hilfe des Kopplungsreagenzes 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC·HCl) in Anwesenheit von Triethylamin als Base. Die zweite Kupplung (**2a**) der Folsäure sollte mit dem Kopplungsreagenz Fluoro-*N,N,N',N'*-bis(tetramethylen)formamidiniumhexafluorophosphat durchgeführt werden. Dies ermöglicht die rasche Synthese von Carbonsäurefluoriden, die als Intermediat weiter schnell und effektiv zu Amiden umgesetzt werden können.^[Carpino, 1995; El-Faham, 1998; Lippert, 2005] Durch Ausfällen in kaltem Diethylether und anschließender Dialyse in Wasser konnte in beiden Fällen **NP10** erhalten werden.

Die Quantifizierung der am Nanopartikel gekoppelten Folsäure erfolgte mit Hilfe der UV/vis-Spektroskopie in wässriger NaOH-Lösung ($c = 0.1$ mol/L). Über den Phenylring im Folsäuremolekül konnte bei einer Wellenlänge von 363 nm, konzentrationsabhängig die Absorption ermittelt und darüber eine Kalibriergerade erstellt werden.

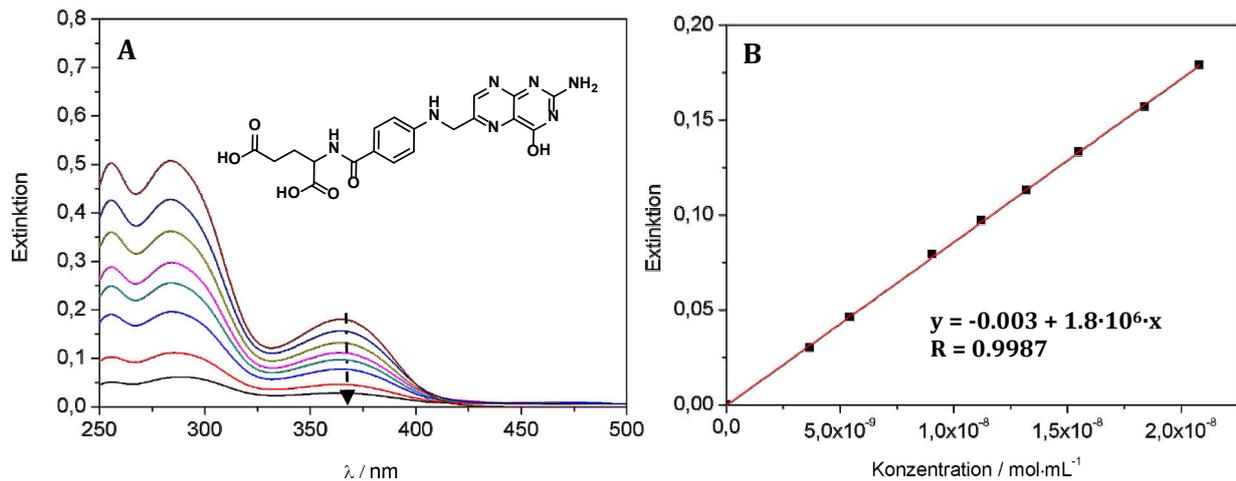


Abbildung 40 A-B: UV/vis-Spektrum der Folsäure in wässriger NaOH-Lösung ($c = 0.1 \text{ mol/L}$) (A); Kalibriergerade (B).

Abbildung 41 zeigt die Absorptionsspektren der Folsäure-Kopplung in Abhängigkeit der jeweiligen Kopplungsreagenzien. Mit Hilfe der ermittelten Kalibriergerade (Abb. 40 B) konnte eine Folsäure-Konzentration am Nanopartikel von $9.2 \cdot 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ berechnet werden. Daraus ergab sich für die Kopplung mittels EDC·HCl eine Kopplungseffizienz von 10%. Die Kopplung mittels BTFFH ergab eine Anbindung der Folsäure von 7% und lieferte ein fast identisches Ergebnis.

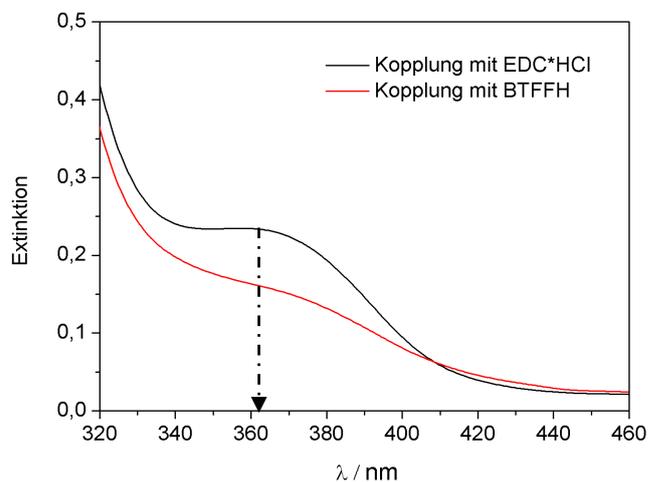


Abbildung 41: UV/vis-Spektren der Folsäure-Kopplung in Abhängigkeit von den Kopplungsreagenzien.

Die geringe Kopplungseffizienz könnte auf den sterischen Anspruch des Folsäuremoleküls und die geringe Größe des Nanopartikels zurückzuführen sein. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde aus praktischen Gründen die BTFFH-Kopplung weiter angewendet.

Vergleicht man die Ergebnisse mit denen von *Zhang et al.* lässt sich zeigen, dass die Partikel trotz vergleichbarer Größe von 6.3 ± 0.6 nm, prozentual einen höheren Anteil an Folsäure besitzen und die Modifizierung durchaus zufriedenstellende Ergebnisse lieferte.^[Rossin, 2005]

3.4.2.3 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)-Nanopartikeln mit Peptid

Die spezifische Wechselwirkung zwischen einzelnen Zellen und der sie umgebenden extrazellulären Matrix (EZM) ist eine der Grundvoraussetzungen für die Entstehung übergeordneter Strukturen im Körper. Dieser als Zelladhäsion bezeichnete Vorgang regelt dynamische Abläufe der Immunantwort und neuronalen Informationsverarbeitung, ist daneben aber auch ein wichtiger Bestandteil in der Differenzierung von Zellen und der Apoptose.^[Alberts, 2002; Juliano, 1993; Isacke, 2000] Verantwortlich hierfür sind membranständige Proteine, die aufgrund ihrer Struktur und ihres Adhäsionsmechanismus unterschieden werden. So stellen die Selektine, Cadherine, Immunglobuline und die Integrine die Hauptfamilien der Zelladhäsionsmoleküle dar. Es konnte gezeigt werden, dass Integrine eine typische Wechselwirkung mit extrazellulären Bestandteilen, wie Kollagen, Laminin oder Fibronectin zeigen und somit ein wichtiges Erkennungssystem für die Zelladhäsion darstellen.^[Ruoslahti, 1996; Pierschbacher, 1984a] *Pierschbacher* und *Ruoslahti* beschrieben bereits 1984, dass hierfür die spezifische Peptid-Sequenz aus Arginin-Glycin-Asparaginsäure (RGD) verantwortlich ist.^[Pierschbacher, 1984b]

Diese Ergebnisse sorgten dafür, dass die RGD-Sequenz als biologisch aktives Erkennungsmerkmal auch für polymere Wirkstofftransportsysteme in den Fokus von Forschungsarbeiten gerückt ist. Da das Gebiet seit Jahren erforscht wird, lassen sich in der Literatur bereits zahlreiche Beispiele für RGD-funktionalisierte polymere Nanopartikel finden. *Lavasanifar et al.* modifizierten Poly(ethylenoxid)-*block*-Poly(ϵ -caprolacton)-Mizellen mit RGD und untersuchten die Freisetzung von Doxorubicin in Tumorzellen. Sie konnten feststellen, dass durch den Einsatz dieser Mizellen eine verbesserte Arzneimittelabgabe an metastasierenden Tumorzellen erzielt werden konnte und das System eine deutlich verstärkte Toxizität gegen einige Krebszellen besitzt.^[Xiong, 2007]

Dennoch besitzt das Tripeptid-RGD nicht nur Vorteile. Durch die unspezifische Wechselwirkung mit fast allen Zellen ist ein selektives Targeting mit RGD nicht möglich. Eine Alternative wäre hier der Einsatz des zyklischen Pentapeptids c(RGDfK). Dieses besitzt eine 10-100 fach höhere Affinität gegenüber dem $\alpha_v\beta_3$ -Integrin im Vergleich zum $\alpha_5\beta_1$ - oder $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Integrin und könnte somit ein aktives Targeting ermöglichen, die das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin überexprimieren.^{[Dijkgraafa, 2013;}

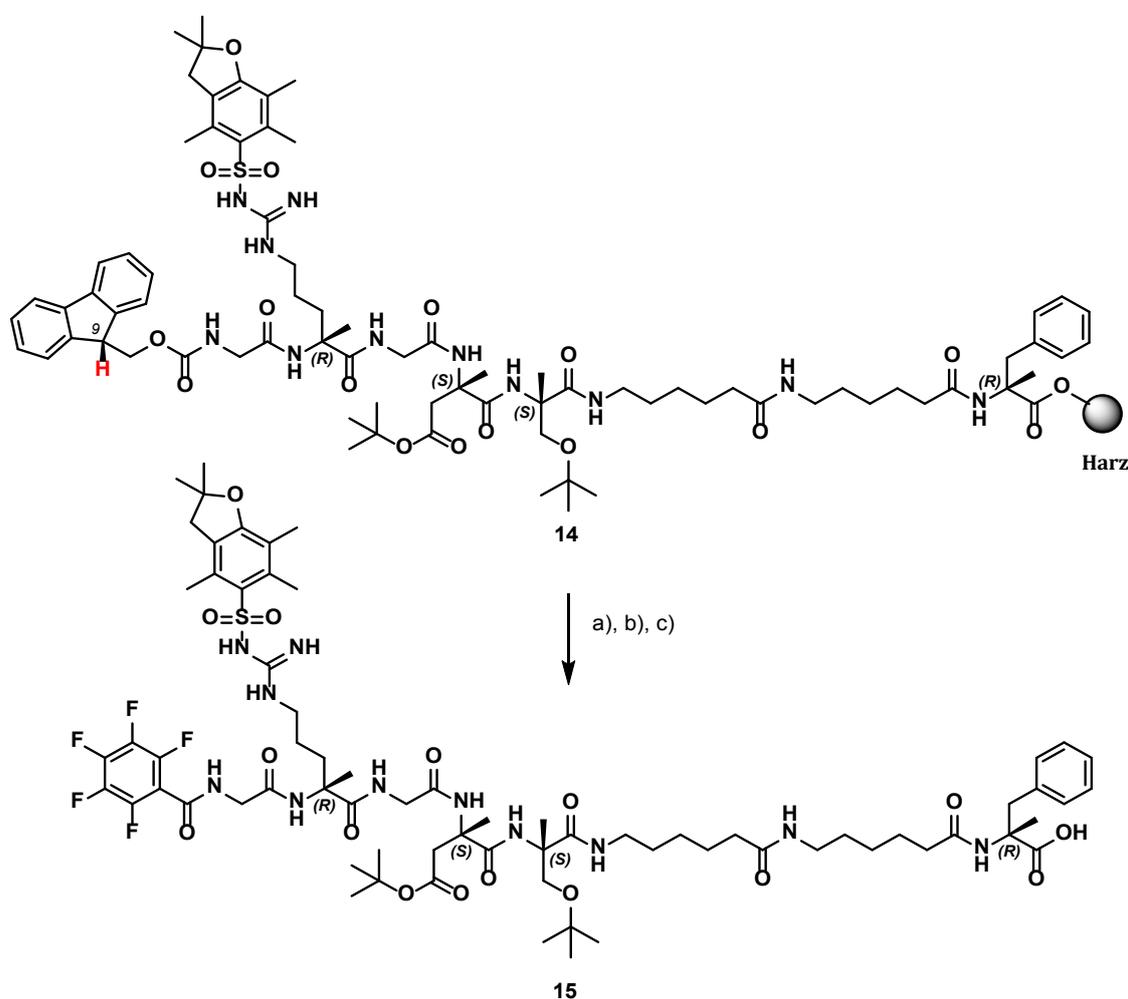
Mondal, 2013]

Darstellung und Diskussion der eigenen Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit diente die Untersuchung der Modifizierung polymerer Nanopartikel mit dem linearen RGD-Peptid daher als Modellsystem für Peptid-basierte Liganden.

Das noch am Harz gekoppelte und vollständig geschützte Peptid **GRGDS6Ahx6AhxF** wurde von meinem Kollegen *Muhammad Sallouh* mittels Festphasensynthese über die Fmoc-Strategie synthetisiert und zur Verfügung gestellt.

Da in der Literatur für eine bessere Wirksamkeit des Peptids oftmals der Einbau einer zusätzlichen Spacer-Gruppe beschrieben wird,^[Porta, 2011] wurden zwei zusätzliche Aminohexansäure-Gruppen an das Peptid gebunden. Die endständige Aminosäure Phenylalanin sollte mit ihrer Phenyl-Gruppe die Charakterisierung des Peptides erleichtern.



Schema 19: Peptid-Modifizierung mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid;
Reagenzien und Bedingungen: a) 40% Piperidin in DMF, 2x 15 min; b) 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid, DIPEA, 0 °C - RT, 12 h; c) 20% AcOH in DCM, 2 h.

Bevor das Peptid an den Nanopartikel gekoppelt wurde, sollten zunächst die Fmoc-Schutzgruppen abgespaltet werden, damit eine Modifizierung des Peptids mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid erfolgen konnte. Dies sollte die anschließende Charakterisierung erleichtern. Da die Nanopartikel aufgrund der Kernvernetzung im ^1H -NMR-Spektrum kein ausreichend starkes Signal lieferten, war die Charakterisierung über ^1H -NMR-Spektroskopie in der Regel nicht anwendbar. Daher sollte über das 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid mittels ^{19}F -NMR-Spektroskopie eine qualitative Aussage über die Kopplung erfolgen.

Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe

Die Abspaltung der Fmoc Schutzgruppen erfolgte unter basischen Bedingungen (Piperidin in DMF) nach einem $\text{E}_{1\text{cb}}$ -Mechanismus.^[Latscha, 2002] Dabei wurde zunächst das schwach C-H-acide Wasserstoffatom in 9-Stellung abstrahiert, wodurch ein Carbanion als Intermediat ausgebildet wurde. Das instabile Intermediat zerfiel unter β -Eliminierung in Dibenzofulven und einem Carbaminsäureanion. Das reaktive Dibenzofulven wurde anschließend durch einen nukleophilen Angriff des Piperidins in das unreaktive Dibenzofulven-Piperidin-Addukt überführt. Das Carbamat wurde decarboxyliert, wodurch unter Freisetzung von CO_2 die α -Aminogruppe erhalten werden konnte.^[Greene, 1999]

Im Anschluss erfolgte die Modifizierung mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid.

Modifizierung mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid

Ausgehend von dem reaktiven Säurechlorid konnte eine direkte Kopplung an die Aminogruppen des Peptids erfolgen. Das entstandene HCl wurde mit der Base DIPEA abgefangen.

Nach der Modifizierung mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid, erfolgte die Peptidabspaltung vom Harz. Dafür wurde das Peptid 2 h in 5 mL einer Mischung aus 20% Essigsäure in DCM gerührt.^[Caprino, 1987] Anschließend wurde die Lösung unter vermindertem Druck eingeeengt und das Peptid durch Ausfällen in kaltem Diethylether in moderaten Ausbeute von 53% erhalten.

Im ^{19}F -NMR-Spektrum konnte gezeigt werden, dass die Kopplung mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid erfolgreich verlief.

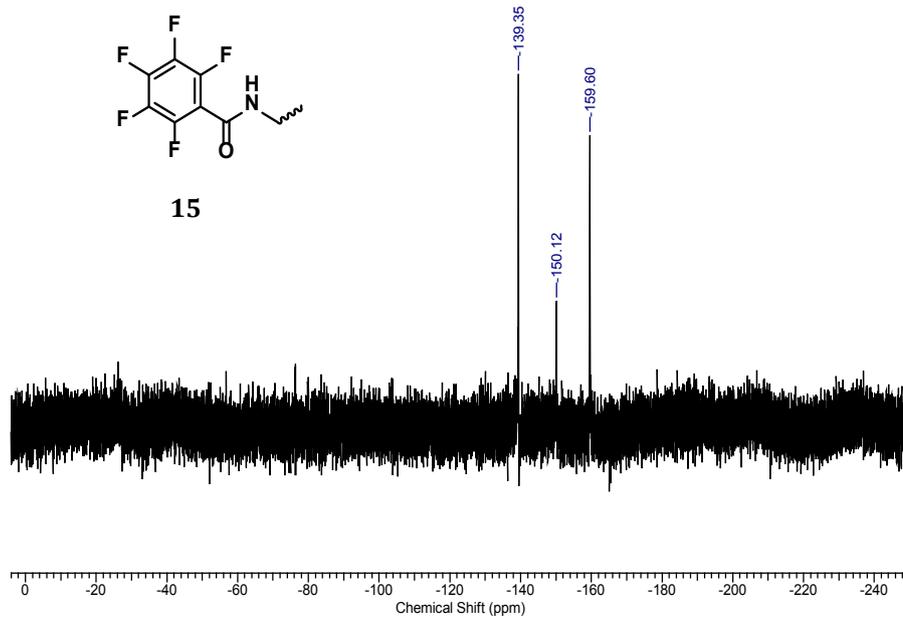


Abbildung 42: ^{19}F -NMR-Spektrum von 2,3,4,5,6-Pentafluoro-benzoyl-(GRGDS6Ahx6AhxF).

Mit Hilfe der hochaufgelösten Massenspektrometrie konnte die Masse $[\text{M}+\text{H}]^+$ des Peptids von 1422.64 g/mol ermittelt und damit die Reinheit des Peptids bestätigt werden.

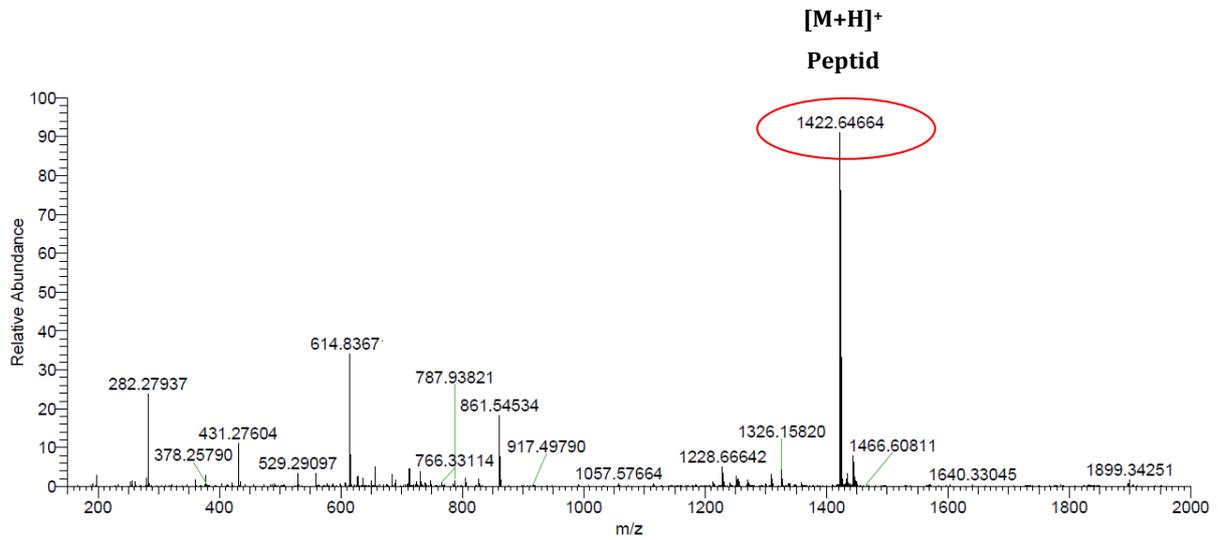
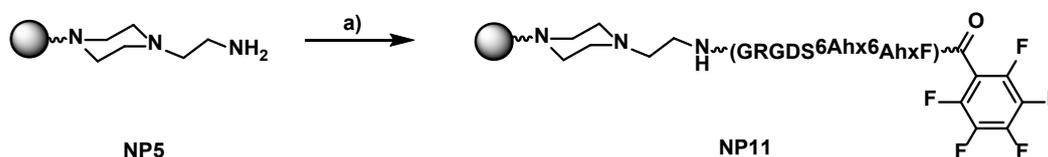


Abbildung 43: Hochaufgelöstes Massenspektrum von 2,3,4,5,6-Pentafluoro-benzoyl-(GRGDS6Ahx6AhxF).

Die Anbindung des nun freien Peptids erfolgte mit Hilfe des Kupplungsreagenzes BTFFH in Anwesenheit der Base *N,N*-Diisopropylethylamin. Das **NP11** konnte durch Ausfällen in kaltem Diethylether und anschließender Dialyse in Wasser erhalten und zusätzlich aufgereinigt werden.



Schema 20: Nanopartikelfunktionalisierung von **NP5** mit Peptid zu **NP11**;

Reagenzien und Bedingungen: Fluoro-*N,N,N',N'*-bis(tetramethylen)formamidiniumhexafluorophosphat, (GRGDS6Ahx6AhxF)-PF₆, DIPEA, DCM, 2x 15 min.

Die gewünschte Auswertung über ¹⁹F-NMR-Spektroskopie konnte jedoch nicht erfolgen, da im Spektrum keine Signale zu erkennen waren. Im ¹H-NMR-Spektrum konnte eine deutliche Veränderung der Signale beobachtet werden. Auch die aromatischen Protonen des Peptids konnten eindeutig zugeordnet werden, jedoch trat in den Spektren eine geringfügige Linienverbreiterung auf. Diese auftretende Linienverbreiterung kann durch anisotrope Wechselwirkungen zwischen den Atomkernen der Probe verursacht werden. Im Gegensatz zum Festkörper können sich in Lösungen diese anisotropen Wechselwirkungen durch Molekularbewegungen ausmitteln. Auch im untersuchten Partikel konnte der Kern, aufgrund der Vernetzung, als starrer Festkörper angesehen werden. Die Polymerketten der hydrophilen Nanopartikelhülle sollten dabei weiterhin frei beweglich in Lösung vorliegen. Dies erklärt wieso die Linienverbreiterung nicht sehr stark ausgeprägt war. Durch die geringe Signalintensität und der Überlagerung der einzelnen Signale war es jedoch nicht möglich eine genaue Quantifizierung der Probenmodifizierung vorzunehmen. Daher sollte eine weitere Untersuchung mit Hilfe der HR-MAS-NMR Technik (High-Resolution-Magic-Angle-Spinning) erfolgen.^[Alam, 2012] Dabei wird die Probe um den sogenannten „magischen Winkel“ von $\theta = 54.7^\circ$ relativ zum angelegten Magnetfeld gedreht. Dies führt dazu, dass alle dipolaren Wechselwirkungen gemittelt werden und aus dem Spektrum verschwinden. Die Linienverbreiterung kann somit verringert und die Signalintensität erhöht werden. Seit den späten 1990er Jahren wird die HR-MAS-NMR Technik erfolgreich in der kombinatorischen Chemie^[Shapiro, 2001] sowie zur untersuchungen von Zellen und Gewebe^[Lee, 2005; Chan 2008] eingesetzt. Zur Charakterisierung von Nanopartikeln wird diese Methode bisher allerdings kaum eingesetzt.^[Polito, 2008; Lina, 2013]

HR-MAS- und $^1\text{H-NMR}$ -Spektren kann allerdings von einer erfolgreichen Kopplung des Peptids ausgegangen werden.

Die Quantifizierung der Peptid-Funktionalisierung sollte daher über die UV/vis-Spektroskopie erfolgen. Über den Arylring der Aminosäure Phenylalanin (Abk. F) im Peptid konnte bei einer Wellenlänge von 254 nm konzentrationsabhängig die Absorption ermittelt und darüber eine Kalibriergerade erstellt werden.

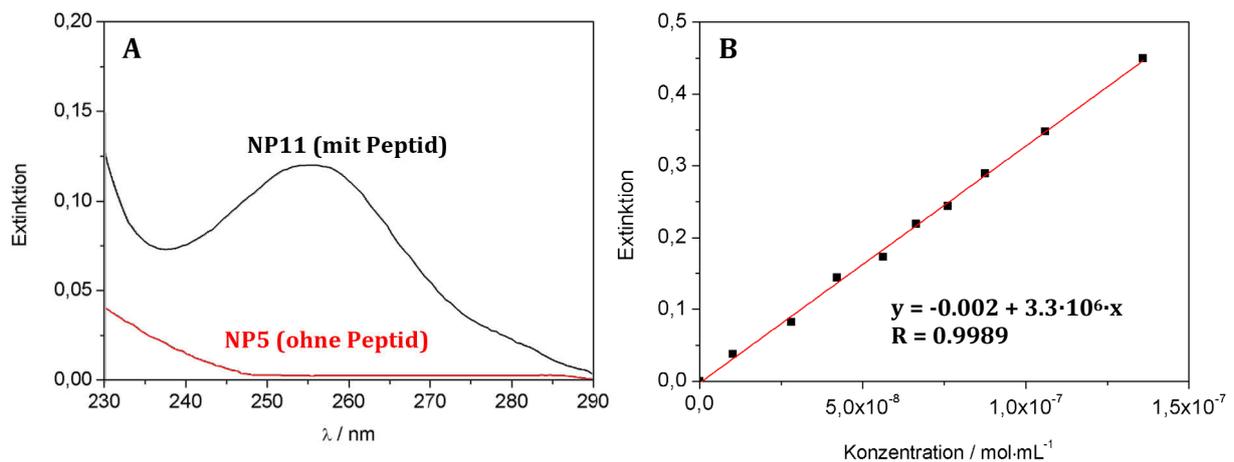


Abbildung 45 A-B: Extinktionsspektrum von NP5 und NP11 (A) in Wasser, Kalibriergerade (B).

Aus der ermittelten Kalibriergeraden konnte eine Peptid-Konzentration am Nanopartikel von $3,4 \cdot 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ bestimmt werden. Die Kupplung ergab eine Anbindung des Peptids von 23%. Das Ergebnis ist sehr gut, bedenkt man die Größe des eingesetzten Peptids mit einer Molmasse von 1421.63 g/mol.

Vergleicht man das Ergebnis der Peptid-Modifizierung mit denen aus der Literatur, lässt sich feststellen, dass bereits höhere Peptid-Anteile, bis hin zur quantitativen Modifizierung, an Nanopartikel angebunden werden konnten. Dennoch liegt man hier in einem guten Bereich für eine mögliche verbesserte biologische Wirksamkeit. An Hand von Durchflusszytometrie-Studien konnte bereits gezeigt werden, dass die Zellaufnahme der Transportpartikel mit zunehmender RGD-Dichte auf der Oberfläche zunimmt. So konnte mit einem Anteil von 5% RGD auf der Oberfläche eine dreifache Erhöhung der Zellaufnahme erzielt werden. Ein RGD-Anteil von 76% führte sogar zu einem 30-fach stärkeren Anstieg der Zellaufnahme.^[Oba, 2008]

3.4.2.4 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)-Nanopartikeln mit antimikrobieller-Funktion

Antimikrobielle Materialien können auf der Grundlage ihres bioziden Mechanismus in zwei Kategorien unterteilt werden: Freisetzungsbiozide und Kontaktbiozide.^[Shelton, 1946a, Shelton 1946b] Die Freisetzungsbiozide sind meist Substanzen mit niedrigem Molekulargewicht. Typische Beispiele sind Derivate der Isothazolone und Verbundwerkstoffe aus Silber. Trotz der überlegenden antimikrobiellen Fähigkeit dieser Materialien, zeigen sie ebenso Schwächen, wie die Bildung von Bakterienresistenzen, Zeitbegrenzung der antibakteriellen Aktivität sowie Umweltprobleme.^[Shelton, 1946c] Dem gegenüber stehen die Kontaktbiozide. Zu ihnen zählen neben den Phosphoniumsalzen und Rhodanin-Derivativen, die quartären Ammoniumverbindungen ^[Harris, 1951a; Harris, 1951b, Kelly, 2013]. Die Anbindung der Substanzen an die bakteriellen Oberflächen erfolgt durch die positive Ladung des Moleküls. Mit den meist negativ geladenen Bakterienoberflächen können diese durch elektrostatische Wechselwirkung in Kontakt treten. Diese polykationischen Substanzen haben den Vorteil, der langfristigen Haltbarkeit sowie der reduzierten bakteriellen Resistenz.^[Gilbert, 2005]

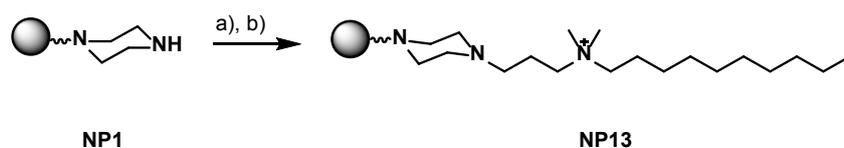
In der Literatur werden neben den vielseitig beschriebenen Silbernanopartikeln auch polymere Nanopartikel mit antimikrobieller Wirkung beschrieben. So konnte sich Poly-(2-(tertbutylaminoethyl)methacrylat) aufgrund seiner hohen antibakteriellen Aktivität und geringen Toxizität für menschliche Zellen auszeichnen. Das sperrige sekundäre Amin induziert, ohne weitere Quaternisierung, eine Phasentrennung der Lipide innerhalb des Bakteriums und leitet dadurch den Zelltod ein. *Jang et al.* beschrieben in ihren Arbeiten den Aufbau polymerer Silika-Kern-Schale-Partikel mit antimikrobieller Wirkung auf Basis von Poly-(2-(tertbutylaminoethyl)methacrylat).^[Song, 2009] Die Silika-Nanopartikel stellten sich dabei aufgrund ihrer abstimmbaren Oberflächenfunktionalität, geringen Zytotoxizität und steuerbaren Partikelgröße als ideales Transportsystem heraus. Neben diesen lassen sich in der Literatur nur wenige Beispiele polymerer Kern-Schale-Partikel mit antimikrobieller Wirkung finden.

Daher erschien die Anbindung einer antimikrobiellen Funktionalität auf der Nanopartikeloberfläche als eine weitere Modifizierungsvariante von Interesse.

Darstellung und Diskussion der eigenen Ergebnisse

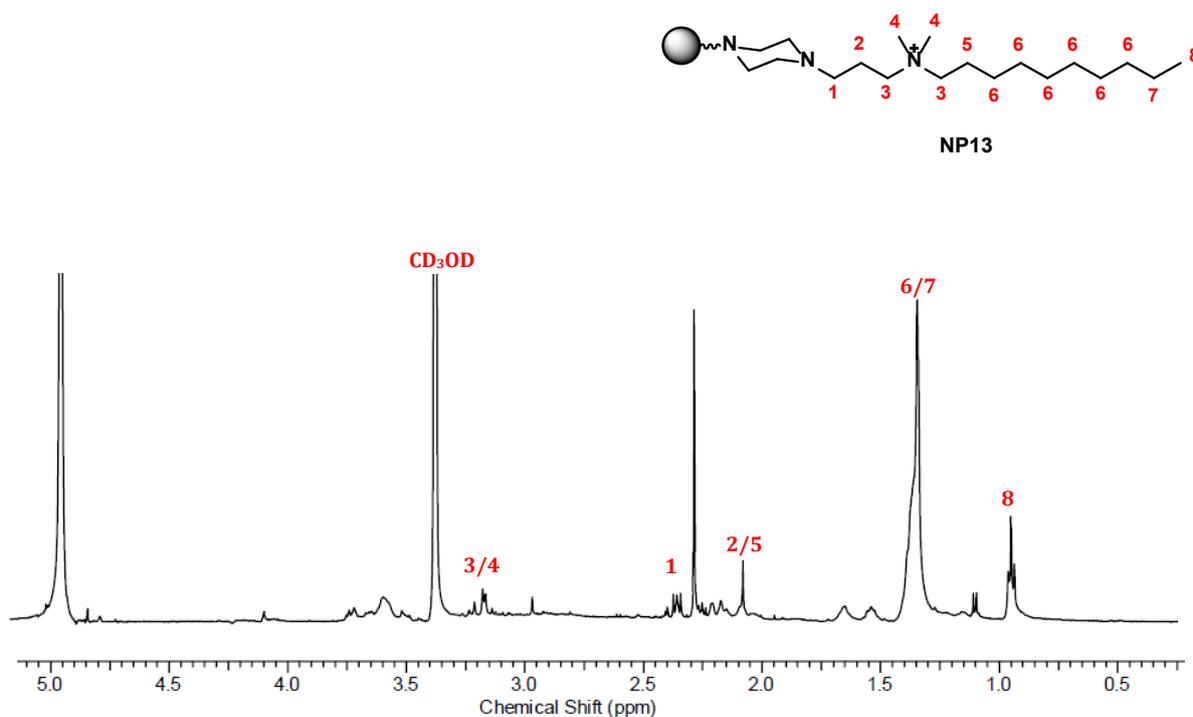
Als antimikrobielle Funktion sollte im Rahmen dieser Arbeit die Anbindung einer quartären Ammoniumverbindung getestet werden. Die Einführung der antimikrobiellen Gruppe an das Nanopartikel wurde in zwei Schritten durchgeführt. Zunächst erfolgte über eine nukleophile

Reaktion die Kopplung von Dibrompropan an das polymere Nanopartikel. Dabei wurde Dibrompropan in einem Überschuss eingesetzt, um eine mögliche Dimerisierung der Mizellen zu verhindern. Nach dem Aufreinigen über Dialyse in Wasser konnte Nanopartikel **NP12** erhalten werden. Im nächsten Schritt erfolgte durch Zugabe von 1-(Dimethylamino)dodecan die Ausbildung eines quartären Amins (**NP13**) und somit die Generierung einer positiven Ladung auf der Oberfläche des Nanopartikels. Der Einsatz von 1-(Dimethylamino)dodecan sollte dabei zur potentiellen antimikrobiellen Wirkung des Partikels führen.



Schema 21: Nanopartikelfunktionalisierung zur quartären Ammoniumverbindung;
Reagenzien und Bedingungen: a) Dibrompropan, Natriumacetat, DMF, 6 h, Rückfluss;
b) 1-(Dimethylamino)dodecan, Acetonitril, 48 h.

Der qualitative Nachweis der Kopplung erfolgte mit Hilfe der HR-MAS-NMR-Technik.



Wie schon in den Untersuchungen vorheriger Kopplungsexperimente verdeutlicht, konnte die Auflösung des resultierenden HR-MAS-NMR-Spektrums, verglichen mit den ^1H -NMR-Spektren, erheblich verbessert werden. Abbildung 46 zeigt die erfolgreiche Oberflächenmodifizierung von **NP1** mit 1-(Dimethylamino)dodecan. Vor allem die Zunahme der Intensität bei 0.83 ppm durch die endständige Methylgruppe wird deutlich. Auch die Intensitätszunahme bei 1.28 ppm, verursacht durch die Methylengruppen der Dodecan-Kette lässt sich klar erkennen. Eine Quantifizierung mittels HR-MAS-NMR-Technik konnte nicht erfolgen.

Die Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung des Partikels war nicht Gegenstand dieser Arbeit, könnte aber in zukünftigen Arbeiten mit Hilfe von MIC-Tests untersucht werden. Bei diesem Test wird die niedrigste inhibierende Konzentration eines antimikrobiellen Stoffes ermittelt, die sogenannte „Minimum Inhibitory Concentration“ (MIC).^[Andrews, 2001] Diese tötet 99.9% der Bakterien ab. Dabei spricht man ab einem ppm-Wert unter 256 von antimikrobiell wirksamen Stoffen, oberhalb dieser Grenze zeigen die Stoffe eine Wirksamkeit gegenüber Bakterien, aber die einzusetzende Konzentration ist zu groß.^[Davison, 2000]

3.4.2.5 Funktionalisierung von Poly(2-oxazolin)-Nanopartikeln mit Goldnanopartikel

Der Nachweis einzelner Medikamente oder biologisch aktiver Transportmoleküle stellt eine unverzichtbare Notwendigkeit in der Entwicklung neuer Arzneistoffe oder Transportsysteme dar. Neben den bereits beschriebenen fluoreszierenden Markern spielen auch metallische Nanopartikel eine zunehmend wichtige Rolle in diagnostischen Verfahren. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist der von der Fa. *Roche Diagnostics* entwickelte Schnelltest *CARDIAC*[®] der Goldnanopartikel einsetzt. Als diagnostisches Hilfsmittel dient dieser Test als Nachweis für Herzinfarkt und trägt zur Abschätzung der Ausdehnung des Infarkts sowie der Risikostratifizierung bei.^[www.roche-diagnostics.de, 2014] Vor allem der Einsatz von Goldnanopartikeln wird aufgrund ihrer intensiven photochemischen Eigenschaften in der Literatur seit vielen Jahren beschrieben.^[Dreaden, 2012; Giljohann, 2010; Dykmana, 2012; Huang, 2010] Durch die hohe Bindungsaffinität ihrer Oberfläche können sie leicht modifiziert und so z. B. als künstliche Antikörper eingesetzt werden.^[Ghosh, 2008] Neben dem weit verbreiteten Einsatz in der Diagnostik können Goldnanopartikel auch in der Therapie eingesetzt werden. Durch ihre Eigenschaft Licht in Wärme umzuwandeln, können sie die thermische Ablation von krankem Gewebe herbeiführen. So stellte *Dai et al.* 2012 die Entwicklung polymerer Mikrokapseln aus PLA und PVA vor, auf deren Oberfläche durch elektrostatische Adsorption Goldnanopartikel in Form von Samen

geimpft wurden, worauf die Bildung von Goldnanoschalen folgte. Diese Goldnanoschalen-Mikrokapseln stellen ein neuartiges Theranostika dar, das gleichzeitig als Kontrastmittel für die Ultraschall-Bildgebung und als Arzneimittel zur photothermischen Behandlung von Tumoren dient.^[Ke, 2011]

Einen interessanten Ansatz stellt die Kombination anorganischer Nanopartikel, wie Gold, mit polymeren Nanopartikeln dar. Durch die diagnostische Eigenschaft des Goldnanopartikels sowie der therapeutischen Eigenschaft eines polymeren Wirkstofftransportsystems, könnten beide Eigenschaften in einem Partikel kombiniert werden. Gerade in Hinblick auf die Krebsforschung ist eine schnelle Diagnose und Behandlung immer wichtiger geworden. Daher stellt dieses System einen vielversprechenden Ansatz dar.

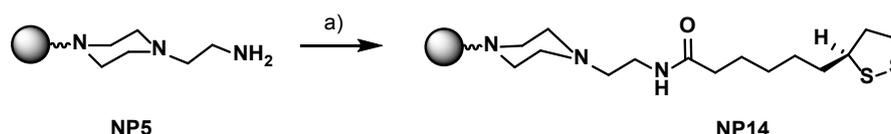
Darstellung und Diskussion der eigenen Ergebnisse

Damit die kernstabilisierten polymeren Nanopartikel **NP5** auf der Oberfläche mit Goldnanopartikeln gekoppelt werden konnten, sollte zunächst eine für Goldpartikel selektive Bindungsgruppe auf der Oberfläche der Partikel immobilisiert werden. Als besonders geeignet erschienen hier Thiole.

Funktionalisierung mit 1,2-Dithiolan-3-pentansäure

Die Funktionalisierung mit 1,2-Dithiolan-3-pentansäure sollte die anschließende Kopplung mit Goldnanopartikeln ermöglichen. Dithiolane besitzen zwei direkt benachbarte Schwefelatome, die beide auf einem Goldpartikel binden können. Dies ermöglicht eine stärkere Verankerung auf dem Goldpartikel.^[Brown, 2010; Hou, 2009]

Die Aktivierung der kommerziell erhältlichen 1,2-Dithiolan-3-pentansäure erfolgte durch Einsatz des Kupplungsreagenzes 1-Ethyl-3(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid in Anwesenheit von Triethylamin als Base.



Schema 22: Nanopartikelfunktionalisierung mit 1,2-Dithiolan-3-pentansäure;
Reagenzien und Bedingungen: a) 1-Ethyl-3(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid, TEA, 20 h, -78 °C.

Nach Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in wenig Chloroform aufgenommen. Durch Ausfällen in Diethylether und anschließender Dialyse in Wasser konnte Nanopartikel **NP14** erhalten werden.

Die Quantifizierung der am Nanopartikel gekoppelten 1,2-Dithiolan-3-pentansäure erfolgte über UV/vis-Spektroskopie in Acetonitril. Über das Dithiolan konnte bei einer Wellenlänge von 333 nm, konzentrationsabhängig die Absorption ermittelt und darüber eine Kalibriergerade erstellt werden. Aus der Kalibriergeraden konnte die Konzentration der 1,2-Dithiolan-3-pentansäure am Nanopartikel und die damit verbundene Kopplungseffizienz berechnet werden.

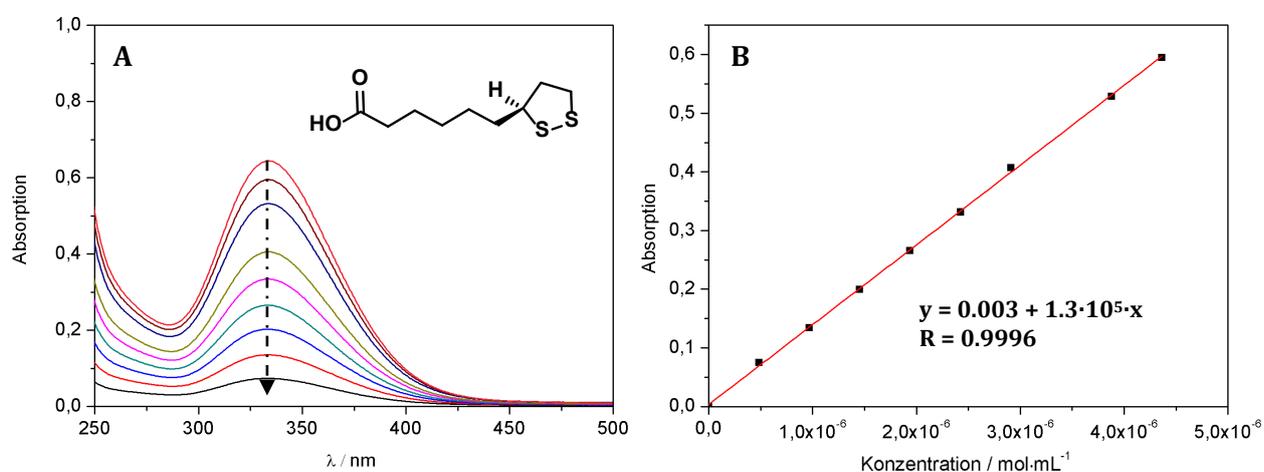


Abbildung 47 A-B: UV/vis-Spektrum der 1,2-Dithiolan-3-pentansäure in Acetonitril (A); Kalibriergerade (B).

Die UV-Auswertungen der Modifizierungsversuche zeigten eine Kopplungseffizienz der 1,2-Dithiolan-3-pentansäure von 8-10%. Dieses Ergebnis liegt im Bereich der anderen Kopplungen. Ein Grund für die geringe Kopplungseffizienz könnte neben dem sterischen Anspruch des Kopplungsmoleküls, der Einsatz eines Säure-Derivats und der damit zu verwendeten Kupplungschemie sein.

Das Dithiolan-modifizierte **NP14** diene im weiteren Verlauf der Arbeit der Kopplung von Goldnanopartikeln, die nachfolgend näher erläutert werden soll.

Funktionalisierung mit Goldnanopartikeln

Die Goldnanopartikel, die für die Kopplung verwendet wurden, stammten aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Rehage und wurden von Elena Zwar über die „Citrat-Methode“ nach Hauser und Lynn^[Hauser, 1940; Turkevich, 1951] synthetisiert und zur Verfügung gestellt. Die Herstellung der Goldnanopartikel erfolgte über das Bottom-up-Verfahren durch Reduktion des Goldsalzes HAuCl_4 in Gegenwart von Natriumcitrat als Stabilisator, wodurch die Partikel in fein dispergierter Form erhalten wurden. Die Bestimmung der Partikelgröße erfolgte mittels DLS. Es konnte ein Partikeldurchmesser von 10 ± 0.2 nm ermittelt werden. Der Polydispersitätsindex wies mit einem Wert von 0.2 auf eine monodisperse Verteilung der Partikel hin. Die über die DLS Messung ermittelten Größen konnten mit Hilfe von AFM- und TEM-Aufnahmen bestätigt werden.

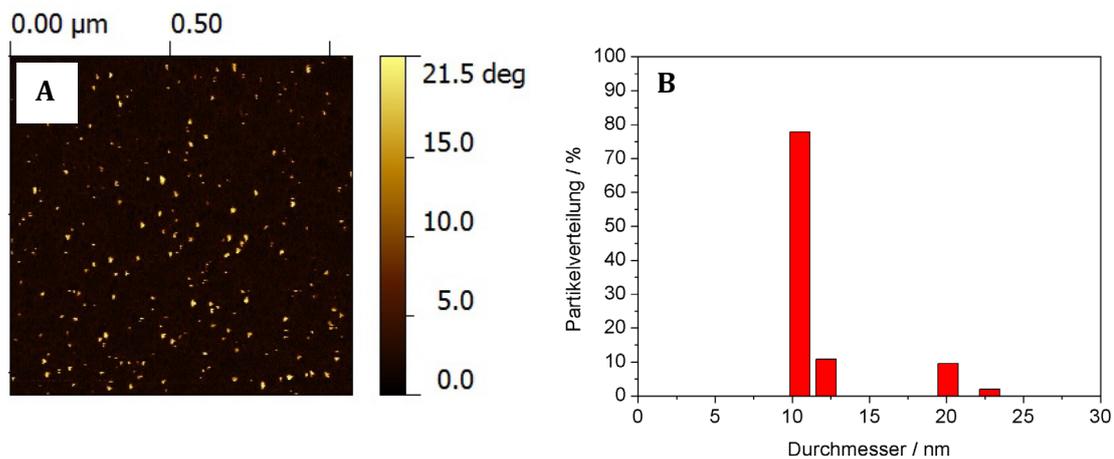


Abbildung 48 A-B: AFM-Phasenbild der Goldnanopartikel-Stammlösung (A), Histogramm der Partikelverteilung (B).

Abbildung 48 A zeigt das AFM-Phasenbild der einzelnen Goldnanopartikel. Über die AFM-Aufnahme konnte gezeigt werden, dass 77% der Partikel eine Größe von 10.2 nm besitzen. Die Aufnahmen zeigten eine relativ monodisperse Partikelverteilung. Die Größen von 20.1 nm, die zu 11% beobachtet wurden, könnten aus der Probenpräparation resultierende, zusammengelagerte Partikel sein. Auch in den TEM-Aufnahmen ließen sich Partikel mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 10 nm erkennen.

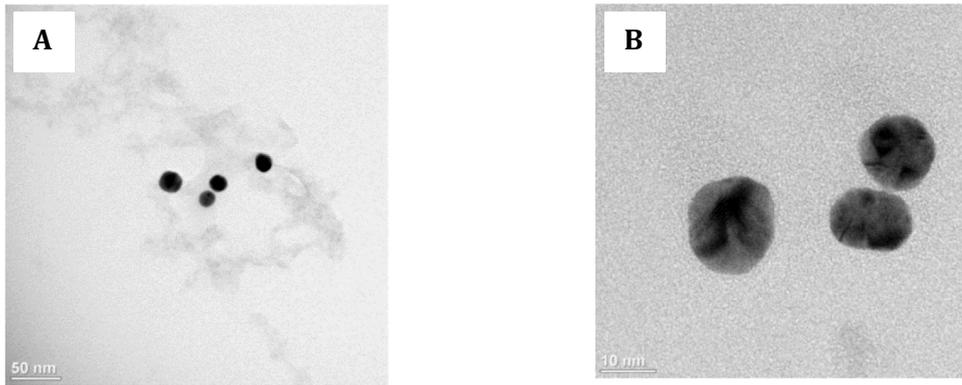


Abbildung 49 A-B: TEM-Aufnahmen der Goldnanopartikel in Wasser; A) Ausschnitt 50 nm; B) Ausschnitt 10 nm.

Diese Befunde decken sich mit den Ergebnissen der DLS-Messung, in der eine durchschnittliche Partikelgröße von 10 nm ermittelt werden konnte.

Der Goldgehalt der Lösung wurde mittels *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy*^[Hou, 2000] (ICP-OES) gemessen. Die Goldkonzentration der Lösung betrug 73 ppm (0.0073 Ma%).

Da das *Lambert-Beer'sche* Gesetz nur für verdünnte Lösungen gilt, musste die Goldnanopartikel-Lösung für die Kopplungsexperimente verdünnt werden ($c = 7.3$ ppm Gold). Abbildung 50 zeigt das Extinktionsspektrum der Goldnanopartikel in wässriger Lösung. Sie weisen ein Extinktionsmaximum von 522 nm auf, das damit in dem für die Partikelgröße typischen Bereich liegt.^[Gao, 2012]

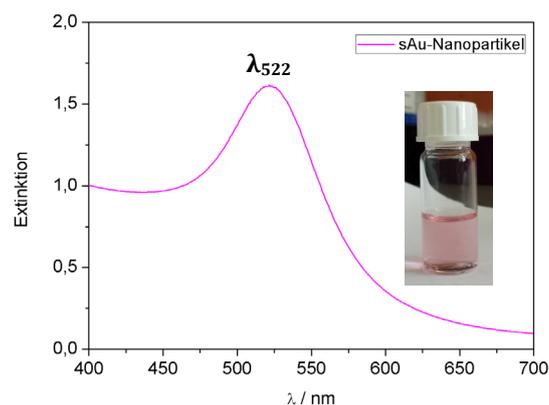
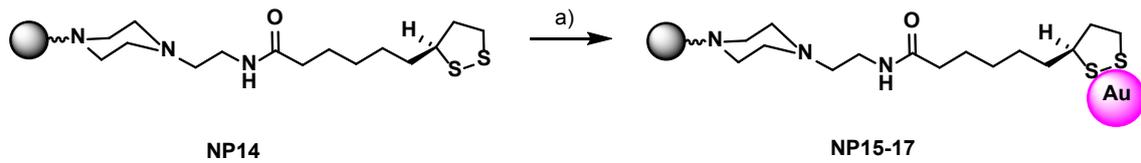


Abbildung 50: Extinktionsspektrum der Goldnanopartikel; (sAu = einzelne Goldnanopartikel).

Ein Ligandenaustausch auf der Oberfläche der Goldnanopartikel, durch einen Dithiolan-Liganden, sollte die Kopplung polymerer Nanopartikel mit Goldnanopartikeln ermöglichen.



Schema 23: Funktionalisierung polymerer Nanopartikel mit Goldnanopartikel;
 Reagenzien und Bedingungen: a) Gold-NP, DNP, RT, 0,5-20 h.

Die Kopplungsexperimente wurden nach einer Vorschrift von *Ren et al.*^[Tang, 2010] durchgeführt. Die verdünnte Goldnanopartikel-Lösung wurde dabei mit unterschiedlich konzentrierten Lösungen an Dithiolan-Nanopartikel-Lösung versetzt. Tabelle 9 zeigt die getesteten Ansätze. Auch die Kopplung in Tris-HCl Puffer wurde getestet.^[Li, 2012] Diese führte allerdings zu keinem erfolgreichen Ergebnis. Weder eine Verschiebung der UV-Absorption noch eine Veränderung der Größe konnte beobachtet werden.

Tabelle 9: Partikelmischungen für die Kopplungsexperimente.

Probe	Gold-NP n / mol	Dithiolan-NP n / mol	Verhältnis
NP15	$3.6 \cdot 10^{-8}$	$5.4 \cdot 10^{-9}$	1 : 0.15
NP16	$3.6 \cdot 10^{-8}$	$5.4 \cdot 10^{-11}$	1 : 0.0015
NP17	$3.6 \cdot 10^{-8}$	$5.3 \cdot 10^{-12}$	1 : 0.00015

Nach den Kopplungsexperimenten wurden UV/vis-Spektren der Versuche aufgenommen. In Abbildung 51 sind die UV/vis-Spektren der einzelnen Goldnanopartikel (sAu) sowie der Kopplungsversuche **NP15-NP17** dargestellt.

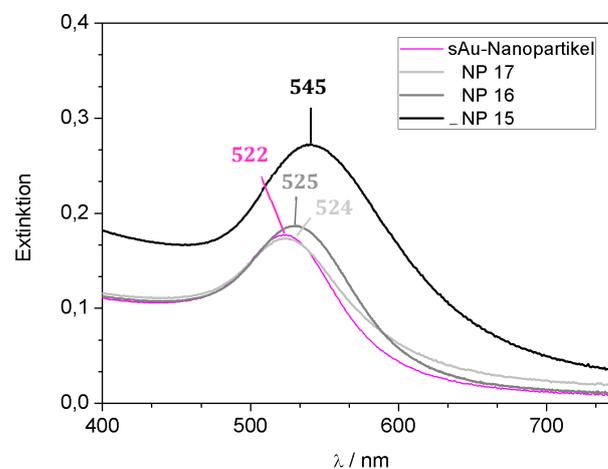


Abbildung 51: Extinktionsspektren der ungekoppelten Goldnanopartikel und der Kopplungsexperimente **NP15-NP17**.

Der Kopplungsversuch **NP15** zeigt eine deutlich erkennbare Verschiebung von $\Delta\lambda_{\max}$ um 25 nm. Die Verschiebung der Plasmonenbande kann auf eine Agglomeration der Partikel zurückgeführt werden.^[Marzan, 2006] Durch die Kopplung mit den Dithiolan-Nanopartikeln sind die Goldnanopartikel nicht mehr ausreichend stabilisiert. Ein weiteres Indiz für die Bildung größerer Aggregate lieferte die Abnahme der Extinktion über die Zeit. Um dies zu beobachten wurden über 20 h im Abstand von 30 min UV/vis-Messungen durchgeführt. Die erste Messung nach 30 min zeigte eine Absorption von 0,27. Nach 20 h konnte keine Absorption der Probe detektiert werden.

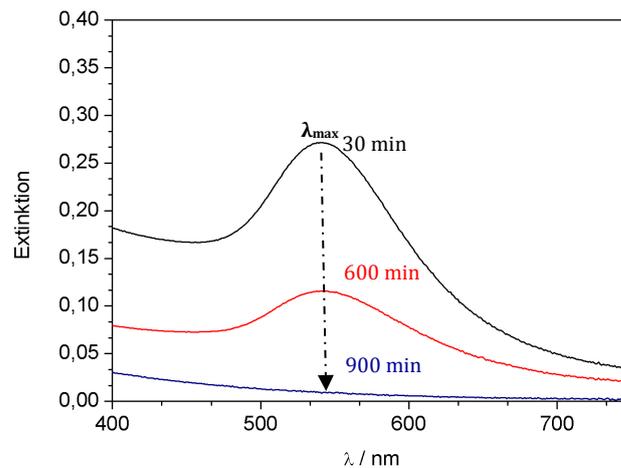


Abbildung 52: Extinktionsspektrum der Probe **NP15**, gemessen über 20 h.

Die Probe entfärbte sich stark und ein tieferer Bodensatz entstand. Es lag nun die Annahme nah, dass durch die erhöhte Menge an Dithiolan-Nanopartikeln eine Kopplung ans Goldnanopartikel sehr wahrscheinlich war und sehr große Aggregate entstanden sind, die sich im Laufe der Messungen aufgrund ihrer Größe am Küvettenboden absetzten.

Die Kopplungsversuche **NP16** und **NP17** zeigten diese deutliche Verschiebung nicht, jedoch war auch hier eine Verbreiterung der Bande zu verzeichnen. Diese kann auf die Abnahme des interpartikulären Abstandes zurückzuführen sein.^[Li, 2012; Zhong, 2004]

Die Beobachtungen aus der UV/vis-Spektroskopie konnten mit Hilfe der DLS bestätigt werden.

Tabelle 10: Hydrodynamische Radien nach den Kopplungsexperimenten von polymeren Nanopartikeln mit Goldnanopartikeln und Polydispersitäten der Proben.

t / min	NP 15 r _h / nm	PI	NP 16 r _h / nm	PI	NP 17 r _h / nm	PI
30	116.9	0.3	52.9	0.3	32.1	0.6
600	392.1	0.6	90.7	0.5	29.3	0.5
900	> 1000	0.8	61.1	0.3	29.2	0.5

Nach 15 h zeigte die Probe **NP15** in den DLS-Messungen Partikelgrößen > 1000 nm. Auch hier ließ sich, wie bereits in den UV/vis-Messungen gezeigt werden konnte, ein Absetzen der Probe am Küvettenboden beobachten. Es ließ sich feststellen, dass der hydrodynamische Radius kontinuierlich mit der Zeit zunahm. Die Probe **NP16** zeigte einen ähnlichen Trend und wies eine breite Partikelverteilung auf. Für die Probe **NP17** konnte über 15 h ein nahezu konstanter Partikelradius von 30.2 ± 1.7 nm, mit einer breiten Partikelverteilung, bestimmt werden.

Messungen des Zeta-Potentials^[Rechberger, 2003; Li, 2007] zeigten, dass dieses nach dem Mischen der Goldnanopartikel mit den Dithiolan-Nanopartikeln herabgesetzt wurde. Die Goldnanopartikel zeigten vor der Kopplung ein Zeta-Potential von -46.7 mV, das auf ausreichend stabilisierte Partikel schließen ließ.^[Jiang, 2009; Xu, 2008] Das Zeta-Potential der Dithiolan-Nanopartikel betrug +9.7 mV. Nach dem Mischen der Partikel konnte ein Zeta-Potential von -5.9 mV gemessen werden. Diese Werte lassen allerdings keine Aussage über eine erfolgreiche Kopplung zu, da eine Mischung aus ungekoppelten Partikeln sich in der Messung ebenso summieren würde.

Die Beobachtungen der DLS Messungen sollten daher im Rasterkraftmikroskop weiter untersucht werden. Nach dem Spin-coaten der Lösungen auf frisch geschnittene Mica-Platten wurden die Messungen im „tapping mode“ durchgeführt.

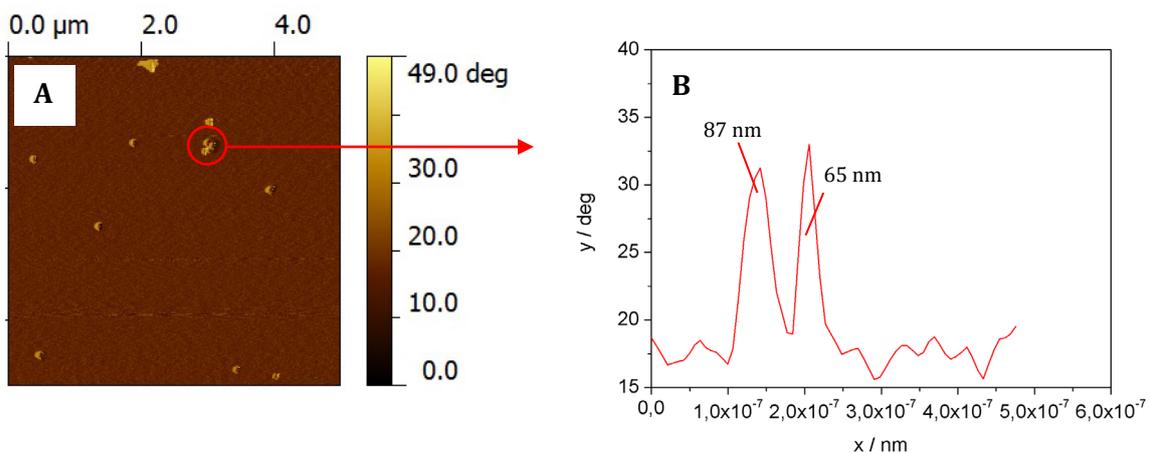


Abbildung 53 A-B: AFM-Phasenbild des Kopplungsexperiments **NP15** (A), Partikelquerschnitt zur Größenbestimmung (B).

Die AFM Aufnahmen zeigten verglichen zu den Einzelpartikeln eine deutlich größere Phasenverschiebung. In allen Aufnahmen ließen sich zusammengelagerte Partikel erkennen. Im Folgenden sollen nun die jeweiligen Kopplungsexperimente einzeln erläutert werden.

In den AFM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments **NP15** konnten Partikel zwischen 130 nm und 220 nm beobachtet werden. Partikelgrößen im Mikrometerbereich konnten nicht gefunden werden. Es lässt sich keine Aussage darüber treffen, ob es sich um gekoppelte Partikel oder aufgrund der Probenpräparation verursachte Zusammenlagerungen handelt.

Kopplungsexperiment **NP16** zeigte verglichen zu den Einzelpartikeln die größte Phasenverschiebung.

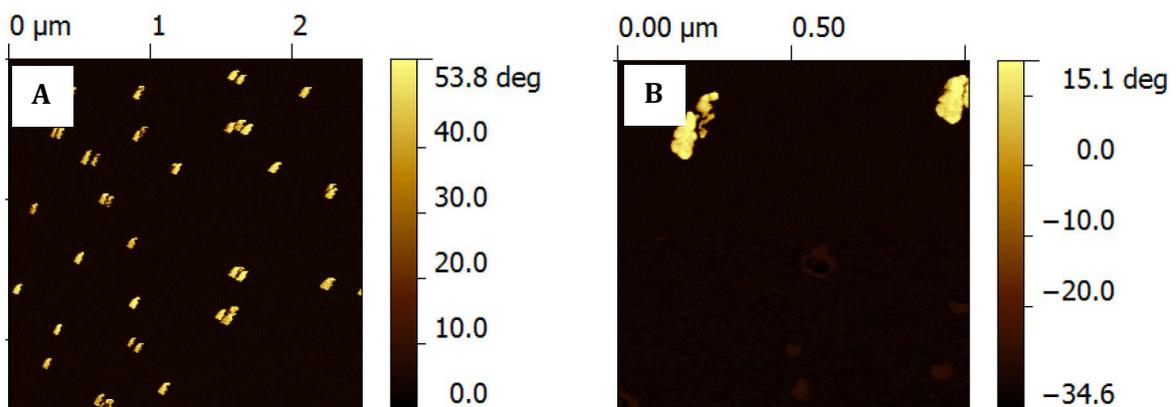


Abbildung 54 A-B: AFM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments **NP16** in Wasser; AFM-Phasenbild (A), Vergrößerung (B).

In den Aufnahmen ließen sich zusammengelagerte Partikel erkennen, allerdings ließ sich über die AFM-Aufnahmen keine eindeutige Aussage über die erfolgreiche Kopplung der Partikel treffen. Die TEM-Aufnahmen zeigten Partikelaggregate aus Goldnanopartikeln und polymeren Nanopartikeln.

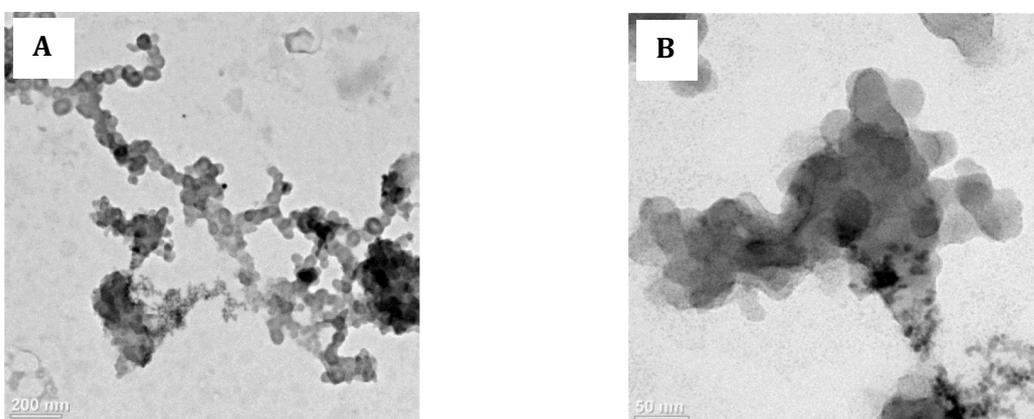


Abbildung 55 A-B: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments **NP16** in Wasser.

Für die TEM-Aufnahmen wurden die in Wasser gelösten Partikel direkt auf das Kupfer-Trägermaterial getropft. Wasser stellte sich im Rahmen der Arbeit als wenig geeignetes Lösemittel heraus, da die Partikel hier die größte Tendenz zur Aggregation zeigten. Der Versuch die Partikel einzudampfen und in Methanol aufzunehmen führte zu keinem Erfolg. Untersuchungen in Methanol ergaben in den UV/vis-Messungen kein Signal. Es schien als könnten die Partikel aufgrund der gekoppelten Goldnanopartikel nicht wieder in Methanol gelöst werden. Daher konnte für die Aufnahmen lediglich mit den Verdünnungen der Probe experimentiert werden.

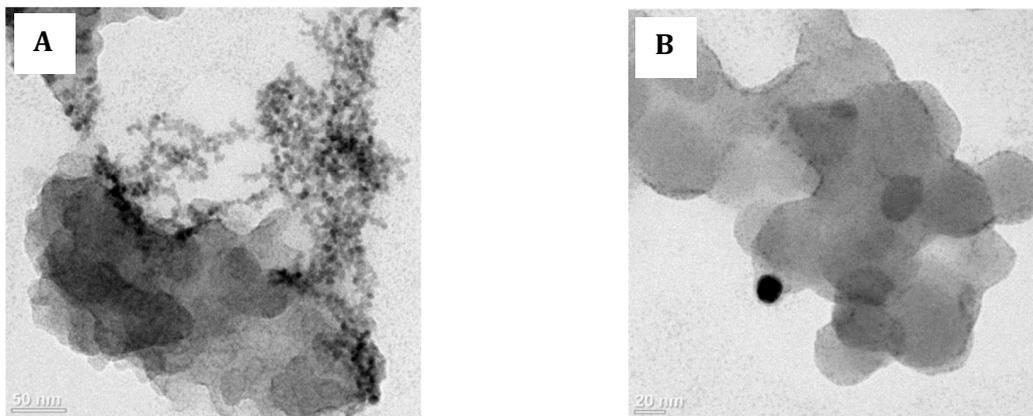


Abbildung 56 A-B: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments NP16 in Wasser.

Die AFM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments NP17 zeigen, wie schon in den DLS Messungen zu beobachten war, eine einheitlichere Partikelverteilung. Auf der Platte konnten zwei sich wiederholende Partikelgrößen bestimmt werden. Diese lagen bei einem durchschnittlichen Durchmesser von 60.6 nm und 87.3 nm. Diese Größen lagen in dem aus den DLS Ergebnissen ermittelten Größenbereichen.

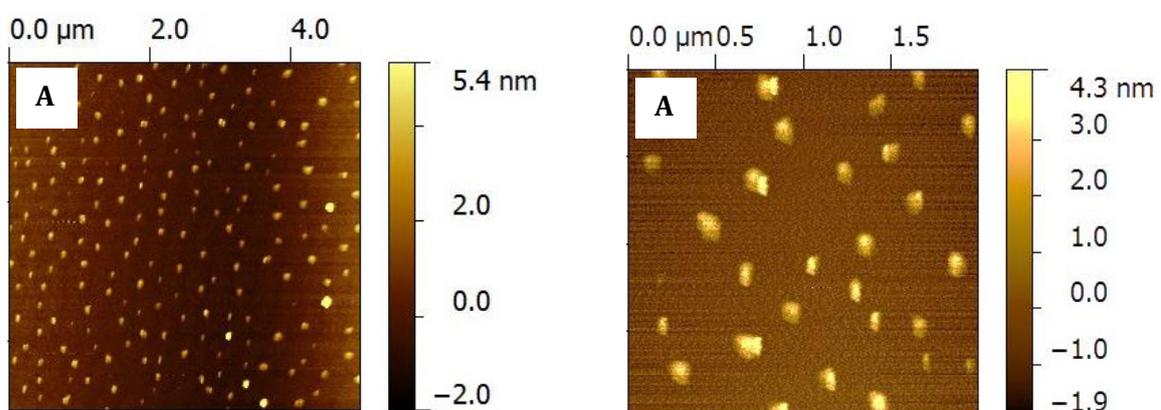


Abbildung 57 A-B: AFM-Topographie Aufnahme des Kopplungsexperiments NP17 (A), Vergrößerung (B).

Die TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments **NP17** zeigen ebenfalls zusammengelagerte Partikel. Trotz Verdünnung der Probe war auch hier keine eindeutige Aussage möglich.

Im Anschluss sollten TEM-Aufnahmen Auskunft über eine mögliche Kopplung der Partikel geben. Diese lieferten allerdings keine eindeutigen Ergebnisse. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass sich deutlich weniger große Aggregathaufen bildeten und neben linearen Strukturen relativ häufig Aggregatgebilde in Form eines Tetraeders zu beobachten waren. Diese besaßen eine durchschnittliche Länge von 60 nm, was ungefähr den Ergebnissen der DLS sowie den vorherigen Untersuchungen der AFM-Aufnahmen entspricht.

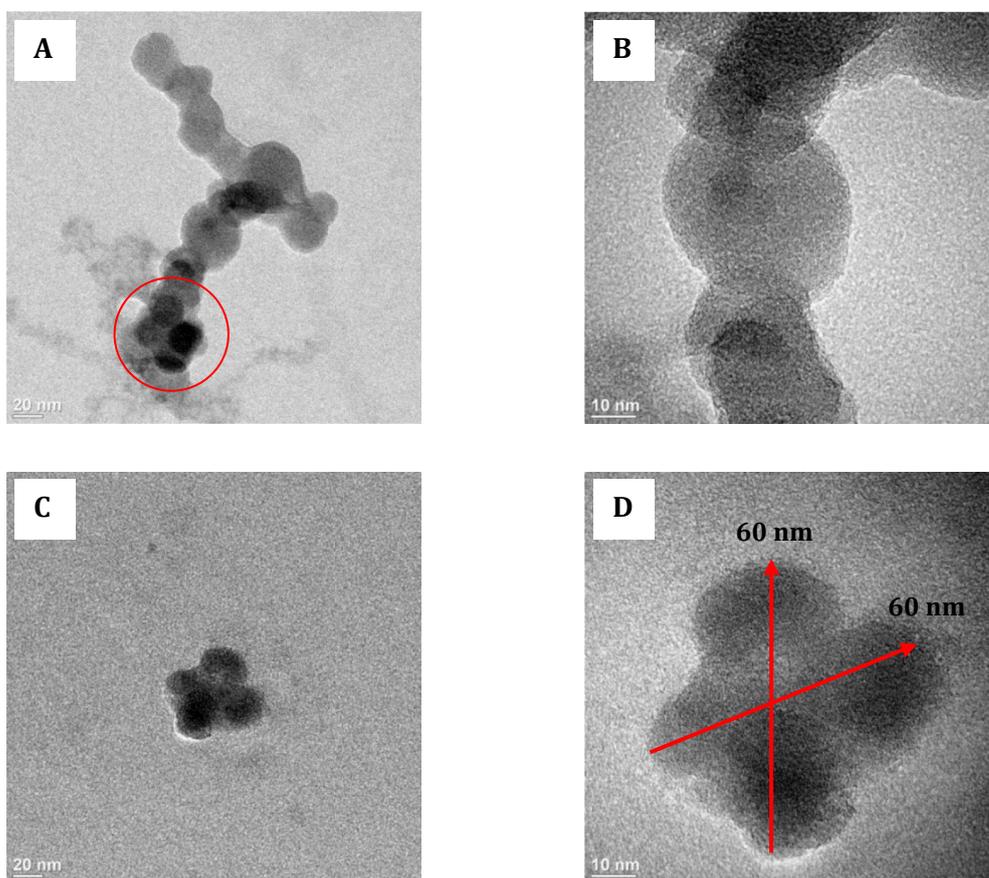


Abbildung 58 A-D: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments **NP17** in Wasser.

Die Kopplungsversuche zwischen den polymeren Nanopartikeln und Goldnanopartikeln zeigten erste interessante Ergebnisse. So konnte über die UV/vis-Spektroskopie eine Verschiebung der Wellenlänge der Plasmonenbande sowie eine Verbreiterung der Bande festgestellt werden. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Größenergebnissen der DLS. So konnte gezeigt werden, dass bei größeren, mittleren intensitätsgewichteten Partikeldurchmessern, die Verschiebung der Bande größer wurde. Die Verschiebung der Bande kann auf eine Agglomeration der Partikel

zurückgeführt werden. Durch die Kopplung mit den Dithiolan-Nanopartikeln sind die Goldnanopartikel nicht mehr ausreichend stabilisiert. Durch Variation der Konzentration der polymeren Nanopartikel sollte die Kopplung gesteuert werden. Es konnte gezeigt werden, dass durch die Abnahme der Konzentration an polymeren Nanopartikeln die Aggregatgröße verringert werden konnte. Die Untersuchungen in Wasser sind jedoch nicht geeignet zwischen Nanopartikelaggregaten oder der kovalenten Kopplung von Nanopartikeln zu unterscheiden. Untersuchungen in Methanol ergaben in den UV/vis-Messungen kein Signal. Es schien als könnten die Partikel aufgrund der gekoppelten Goldnanopartikel nicht wieder in Methanol gelöst werden. Daher musste im Rahmen der Arbeit die Konzentration der Proben variiert werden, um die Agglomeration der Partikel zu unterdrücken und so Aussagen über eine tatsächlich kovalente Knüpfung der Partikel treffen zu können. Im Rahmen der Experimente stellte sich die Größe der Partikel als problematisch heraus. So waren die AFM-Untersuchungen aufgrund der geringen Partikelgröße schwierig durchzuführen. In Zukunft müsste die Kopplung der Goldnanopartikel an größere polymere Nanopartikel erfolgen. Das könnte zumindest die Analytik der gekoppelten Systeme erleichtern.

3.5 Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung

3.5.1 Indomethacin

In dieser Arbeit wurde der kommerziell erhältliche Wirkstoff Indomethacin (IMC) als Testsubstanz verwendet. Hierbei handelt es sich um ein Indolesigsäurederivat, das genau wie seine bekannten Vertreter Acetylsalicylsäure, Diclofenac und Ibuprofen, zur Gruppe der nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR) gehört.^[Lourenco, 1996; Hans, 2002] Abbildung 59 zeigt die Struktur des eingesetzten Wirkstoffes.

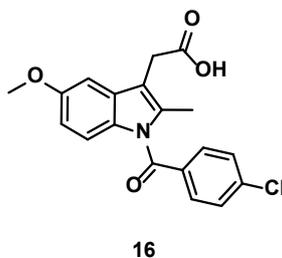


Abbildung 59: Eingesetzter Wirkstoff Indomethacin.

Neben seinem Einsatz zur symptomatischen Therapie bei rheumatischen Erkrankungen, wie Arthritis oder Morbus Bechterew, wurde es in den letzten Jahren vermehrt auf einen potentiellen positiven Einfluss in der Krebstherapie untersucht.^[Fröhlich, 2000] Eine zufällige Entdeckung im Jahre 1980, in dem einem Tumorpatienten aufgrund einer begleitenden Herzbeutelentzündung, Indomethacin verabreicht wurde, konnte den Rückgang des Tumors feststellen.^[Botting, 1974] In einer Reihe darauf folgender Studien konnte gezeigt werden, dass diese Anti-Tumorwirkung des Medikaments auf die Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase zurückzuführen ist, das die Prostaglandinsynthese katalysiert.^[Dannenberg, 2001] Dieses Enzym kommt in drei Isoformen vor (COX-1, COX-2 und COX-3), von denen das induzierbare COX-2 in vielen Zellen maligner Tumore zu finden ist. Durch die Inhibierung des programmierten Zelltods (Apoptose) und einer vermehrten Produktion des Signalmoleküls VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), das die Blutgefäßneubildung (Angiogenese) fördert, trägt COX-2 zur Unterstützung des Tumorwachstums bei.^[Howardell, 2006; Li, 2002] Weiterhin wird geprüft, ob der nicht selektive COX-Hemmer Indomethacin durch die Hemmung des COX-1, das wichtige physiologische Vorgänge reguliert, zu unerwünschten Nebenwirkungen führt. Auch die Untersuchung eines möglichen positiven Einflusses in der Krebstherapie ist Bestandteil aktueller Forschungsarbeiten.^[Francis, 2004]

Für die Wirkstoffuntersuchungen wurde der Wirkstoff Indomethacin in einfache Polymermizellen aus **P5** sowie in die aus **P5** synthetisierten vernetzten Nanopartikel **NP1** eingelagert. Über die Bestimmung der Beladungseffizienz variabler Wirkstoffmengen sowie der anschließenden Freisetzung über mehrere Tage sollte ein Vergleich der beiden Transportsysteme erfolgen.

3.5.2 Wirkstoffeinlagerung

Die Wirkstoffeinlagerung erfolgte nach dem Lösungsmittel-Verdampfungsverfahren.^[Timoshenko, 2006; Beharry, 2006] Zunächst wurden 8 mg Polymer **P5** in 5 mL Chloroform gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe variabler Mengen an Indomethacin (2 mg, 4 mg, 8 mg). Nach 10 Minuten Schütteln bei Raumtemperatur wurde die organische Lösung unter Ultraschall-Behandlung zu 15 mL Milli-Q Wasser getropft. Das organische Lösemittel wurde abgedampft und die Lösung am Rotationsverdampfer auf 5 mL aufkonzentriert. Um das überschüssige IMC sowie Polymeraggregate zu entfernen, wurde die Lösung mit einem PTFE-Filter (0.45 µm Porengröße) filtriert. Für die Bestimmung der Wirkstoffbeladung wurde die Mizell-Lösung anschließend gefriergetrocknet. Die Beladung der vernetzten Polymernanopartikel **NP1** erfolgte analog ausgehend von 8 mg Nanopartikel.

3.5.3 Bestimmung der Wirkstoffbeladungseffizienz

Die Beladungseffizienz eines Wirkstoffes (engl. drug loading efficiency, DLE) ist definiert als Gewichtsprozent des Wirkstoffes in den beladenen Partikeln.^[Huang, 2011] Die Bestimmung erfolgte durch gravimetrische Differenzwägung der beladenen Polymermizellen zu den nicht beladenen Polymermizellen. Durch Gleichung 12 konnte die Beladungseffizienz prozentual ausgedrückt werden.

$$DLE (\%, w/w) = \frac{IMC \text{ in Mizelle}}{IMC \text{ in Mizelle} + \text{Polymer}} \cdot 100 \quad (\text{Gl. 12})$$

Neben der Bestimmung der Beladungseffizienz in Abhängigkeit von der Wirkstoffmenge sollte die Größe (r_h) der Partikel mit Hilfe der DLS kontrolliert werden. Die Ergebnisse der DLE sowie die Partikelgrößen der einzelnen Beladungsversuche sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Es konnte gezeigt werden, dass durch die Erhöhung der eingesetzten Wirkstoffmenge die Beladungseffizienz der Polymermizellen erhöht werden kann. Dabei nimmt die Mizellgröße mit der Beladungseffizienz zu. Diese Ergebnisse stimmen mit denen aus der Literatur überein.^[Jeong, 2009; Ling, 2008]

Tabelle 11: Ergebnisse der Wirkstoffbeladung des Nanopartikels NP1 mit Indomethacin.

Probe	Massenverhältnis IMC : Partikel	DLE / %	r_h / nm
Polymer	0 : 1.00	0	6.1 ± 0.3
IP 25	0.25 : 1.00	20.0	6.2 ± 0.4
IP 50	0.50 : 1.00	32.8	8.5 ± 0.7
IP 100	1.00 : 1.00	50.6	9.7 ± 1.2
Nanopartikel	0 : 1.00	0	5.8 ± 0.3
INP 25	0.25 : 1.00	19.4	9.2 ± 0.6
INP 50	0.50 : 1.00	26.3	12.1 ± 1.7
INP 100	1.00 : 1.00	34.6	14.7 ± 2.5

Vergleicht man die Ergebnisse der Beladung der unvernetzten mit denen der vernetzten Polymermizellen stellt man fest, dass die unvernetzten Polymermizellen insgesamt mehr Wirkstoff aufnehmen können. Während bei einem IMC : Partikel-Verhältnis von 0.25 : 1.00 die

Beladung in beiden Fällen ungefähr gleich erfolgt, erkennt man bei einem IMC : Partikel-Verhältnis von 0.50 : 1.00 schon deutliche Unterschiede. Die Beladung der unvernetzten Polymermizellen liegt 6.5% höher im Vergleich zu den vernetzten Partikeln. Bei einem IMC : Partikel-Verhältnis von 1.00 : 1.00 liegt der Unterschied der Beladung bei 16%. Diese geringere Beladung ist auf die Vernetzung des Nanopartikels zurückzuführen, durch die der Mizellinnenraum deutlich verringert wird.

Betrachtet man die Größen der Partikel, erkennt man in beiden Fällen eine deutliche Zunahme mit steigendem Wirkstoffgehalt. *Kiessel et al.* beschrieben in ihren Arbeiten die Größenveränderung unvernetzter und vernetzter Polymermizellen in Abhängigkeit der eingelagerten Menge an Doxorubicin. Auch hier konnte in beiden Fällen gezeigt werden, dass die Größe der Partikel mit zunehmender Menge an eingelagertem Wirkstoff zunimmt.^[Wu, 2012]

Vergleicht man die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse mit denen von *Kiessel* so lässt sich ein ähnlicher Trend erkennen. In beiden Versuchsansätzen nehmen die Partikelgrößen in Abhängigkeit von der Wirkstoffmenge zu. Gerade bei den vernetzten Nanopartikeln ist eine deutliche Zunahme der Partikelgröße zu beobachten. Diese hohe Zunahme konnte in der Literatur so nicht gefunden werden, spiegelt jedoch die Ergebnisse von *Brummelhuis* wieder, der nach der Vernetzung mit Carboxy-Thiolen eine Zunahme der Partikel beschreibt und nicht wie erwartet einen Volumenschrumpf. So ist vorstellbar, dass der Wirkstoff in den Mizellen teilweise deprotoniert vorliegt und aufgrund der Ladungsabstoßung zu einer Vergrößerung der Partikel beiträgt.

3.5.4 Wirkstofffreisetzung

Die gefriergetrockneten Partikel wurden in 15 mL PBS-Puffer (pH 7.4, $c = 0.05 \text{ mol/L}$) aufgenommen und in einen Dialyseschlauch gefüllt. Anschließend erfolgte die Wirkstofffreisetzung durch Dialyse gegen PBS-Puffer. Die Freisetzungsuntersuchungen wurden mit einer konstanten Rührgeschwindigkeit von 200 rpm und einer Temperatur von $37 \pm 0.5 \text{ °C}$ durchgeführt. Um den freigesetzten Wirkstoff über die Zeit zu ermitteln, wurden stündlich 2 mL Lösung entnommen und gegen 2 mL frischen PBS-Puffer ersetzt. Die Konzentration des freigesetzten Wirkstoffes konnte über UV/vis-Spektroskopie bei einem Absorptionsmaximum von 319 nm und Korrelation mit der entsprechenden Kalibrierung des freien Wirkstoffes ermittelt werden. Um einen direkten Vergleich zum freien Wirkstoff herstellen zu können, wurde in Voruntersuchen die Freisetzung des freien Indomethacin bei Temperaturen von $23 \pm 2.0 \text{ °C}$ und $37 \pm 0.5 \text{ °C}$ untersucht (Abbildung 60 A-B). Es ließ sich feststellen, dass die Freisetzung bei 23 °C deutlich verlangsamt ablief. So konnte erst nach 6 Tagen der Wirkstoff

nahezu vollständig freigesetzt werden. Die Freisetzung bei 37 °C verlief aufgrund der erhöhten Diffusionsgeschwindigkeit deutlich schneller. Nach 2 Tagen wurde eine vollständige Freisetzung des Wirkstoffes beobachtet.

Diese Beobachtung korreliert mit den Ergebnissen aus der Literatur. So konnten *Kim et al.*^[Kim, 1998] bei gleichen Bedingungen eine vollständige Freisetzung von IMC nach 2 Tagen feststellen. Da die Labortemperatur sehr stark schwankte und die Freisetzung bei 37 °C für den potentiellen Einsatz als Transportsystem von Interesse ist, wurden die weiteren Untersuchungen nur bei einer Temperatur von 37 ± 0.5 °C durchgeführt.

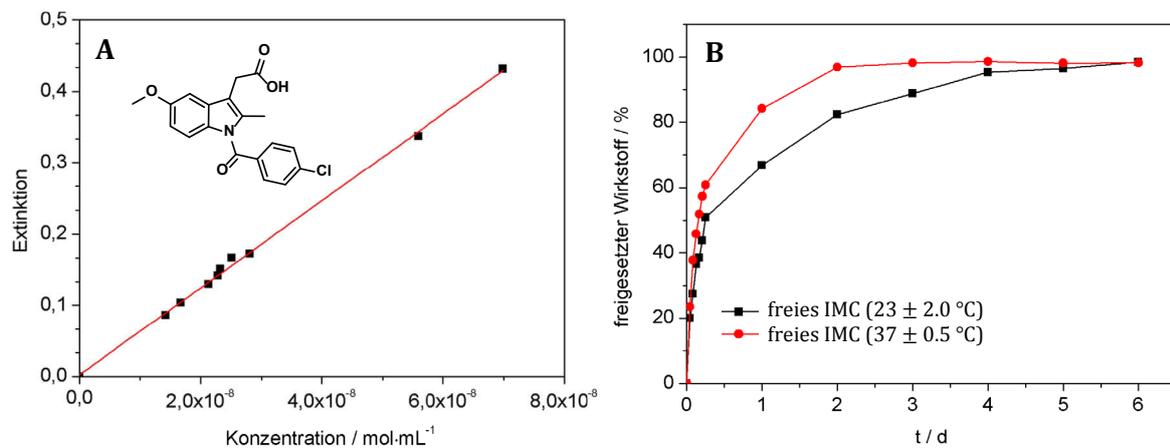


Abbildung 60 A-B: Kalibriergerade von Indomethacin (A), Freisetzungskinetik des freien Wirkstoffes **Indomethacin** (B).

In Abbildung 61 sind die Ergebnisse der Wirkstofffreisetzung aus den unvernetzten Polymeren (A) sowie den vernetzten Nanopartikeln (B) dargestellt.

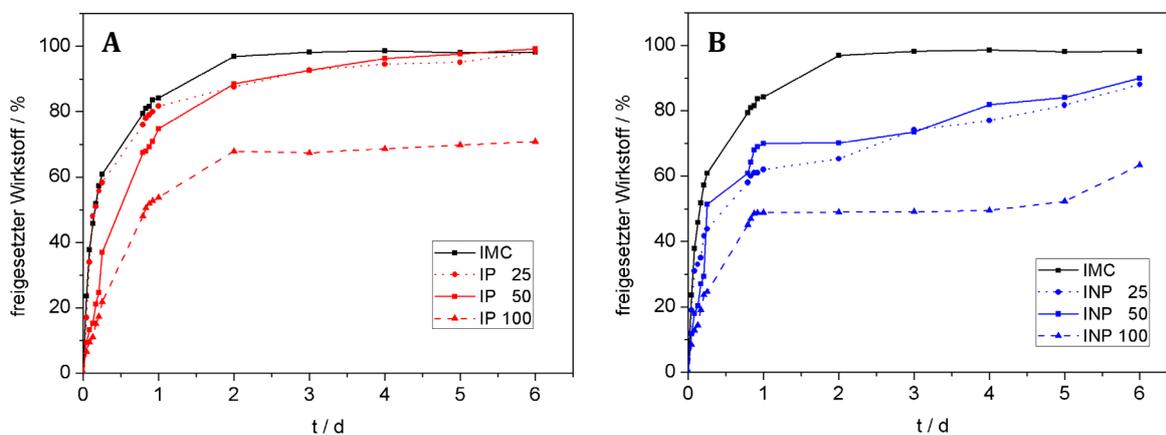


Abbildung 61 A-B: IMC-Freisetzungskinetik aus den unvernetzten Polymermizellen **P5** (A), IMC-Freisetzung aus den vernetzten Polymermizellen **NP5** (B).

Die Freisetzung wurde über 6 Tage bei einer Temperatur von 37 ± 0.5 °C betrachtet. Die freigesetzte Wirkstoffmenge bezieht sich prozentual auf die tatsächlich eingelagerte Wirkstoffmenge. Als Referenzwert ist zusätzlich die Freisetzungsgeschwindigkeit des freien Wirkstoffes in beiden Diagrammen dargestellt.

Betrachtet man die Freisetzung des Wirkstoffes aus dem Polymer, so lässt sich in allen drei Versuchen eine relativ schnelle Freisetzung zu Beginn der Untersuchung feststellen. Im Ansatz **IP 25** sind bereits nach 6 h 59% des kompletten Wirkstoffes freigesetzt. Die Freisetzung aus dem Polymer verläuft zunächst nahezu identisch zum freien Wirkstoff. Erst nach 24 h verlangsamt sich die Freisetzung im Vergleich zum freien Wirkstoff. Dieser konnte bereits nach 2 Tagen nahezu vollständig freigesetzt werden. Aus den Polymermizellen ließ sich erst nach 5 Tagen eine vollständige Freisetzung des Wirkstoffes beobachten. Betrachtet man die Freisetzung in Abhängigkeit von der Wirkstoffbeladung, so lässt sich zeigen, dass diese mit der Menge an beladenem Wirkstoff verlangsamt wird. Bei einem Polymer zu Wirkstoff-Verhältnis von 1:1 konnten nach 6 Tagen lediglich 63% Wirkstoff freigesetzt werden. Vergleicht man diese Freisetzungsprofile mit denen der vernetzten Nanopartikel lässt sich zeigen, dass aus den Nanopartikeln in allen drei Versuchen deutlich weniger Indomethacin freigesetzt werden konnte. Zu Beginn des Versuches lässt sich wie in den Versuchen zuvor eine relativ schnelle Freisetzung beobachten. Nach 6 h sind zwischen 25-44% Wirkstoff freigesetzt. Die Freisetzungsgeschwindigkeit wird auch in diesem Experiment in Abhängigkeit von der Wirkstoffmenge verlangsamt.

Diese erzielten Ergebnisse stimmen gut mit denen aus der Literatur überein. So zeigten *Hennink et al.*, dass durch die Vernetzung des Mizellkerns die Freisetzungskinetik deutlich herabgesetzt werden konnte.^[Tallei, 2010] Allgemein lässt sich festhalten, dass die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Nanopartikel den Trend der Literatur widerspiegeln. Dennoch lässt sich auch zeigen, dass die Freisetzungskinetiken der bereits bekannten Systeme langsamer verlaufen, als sie im Rahmen dieser Arbeit erzielt werden konnten. Diese Partikel sind in der Regel größer und besitzen ein deutlich höheres Molekulargewicht. So zeigten *Kim et al.* in ihren Untersuchungen, dass die Freisetzung von Indomethacin aus polymeren Mizellen mit zunehmendem Molekulargewicht des Transportsystems herabgesetzt werden konnte.^[Kim, 1998] Um diesen beschriebenen positiven Effekt zu erzielen, wäre in Zukunft der Aufbau von größeren Nanopartikeln wünschenswert.

3.6 Nanopartikel-Kopplung

Eine weitere Möglichkeit die Größe, Form oder Funktionalisierungsdichte auf einem Nanopartikel zu erhöhen, könnte durch die Kopplung mehrerer Partikel miteinander ermöglicht werden. Gerade in Hinblick auf den Aufbau multifunktionaler Nanopartikel stellt diese Variante eine vielversprechende Alternative dar. Zusätzlich könnte die transportierte Wirkstoffmenge trotz Kernvernetzung erhöht werden. Auch die Einlagerung unterschiedlicher Wirkstoffe ist vorstellbar.

Betrachtet man die publizierten Forschungsarbeiten, so lassen sich erste Ansätze mit anorganischen Nanopartikeln finden. *Yang et al.* beschrieben in ihrem Ansatz die Herstellung von Goldnanopartikeln, die sie mit Alkylthiol-Oligonukleotiden modifizierten und anschließend komplementär hybridisierten. Dabei stellte sich vor allem die gezielte Steuerung zu Dimeren und Trimeren als eine der größten Herausforderungen heraus.^[Yao, 2007]

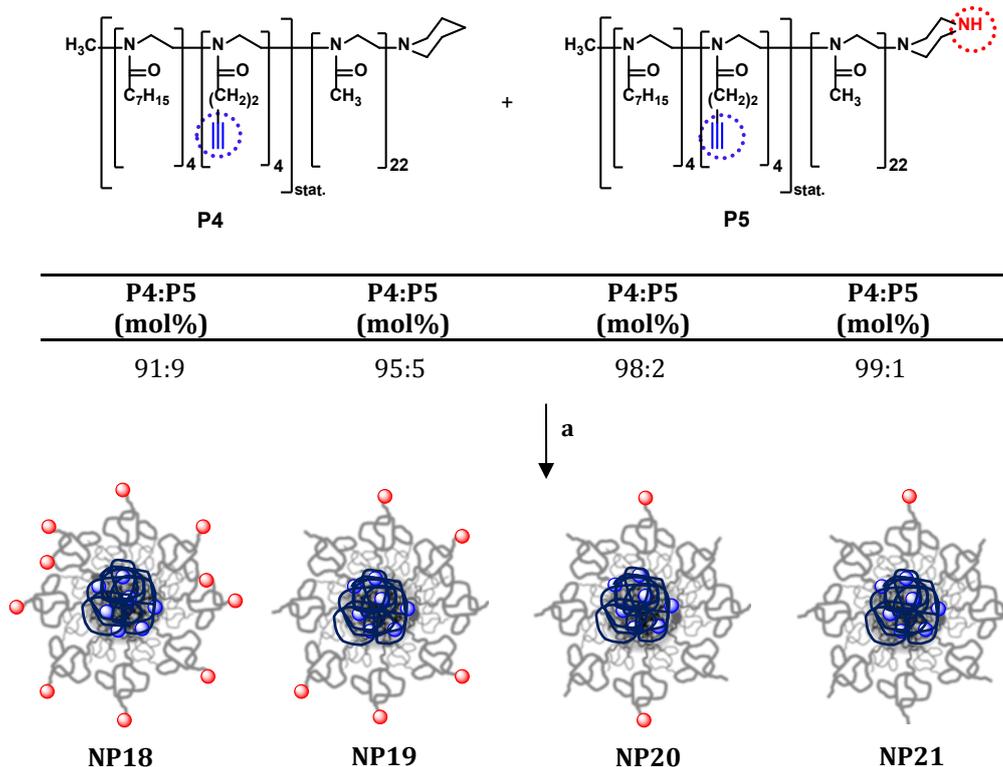
Auf der Basis von Poly(2-oxazolin)en gibt es auf diesem Gebiet bisher noch keine Forschungsergebnisse. Auch über die gezielte Kopplung von polymeren Partikeln wurde bisher kaum berichtet. *Wang et al.* beschrieben 2012 den Aufbau von kolloidalen Multimeren, aus amidinierten Polystyrol-Mikrosphären, die sie über eine Emulsions-Verdampfungsmethode zu unterschiedlichen Symmetrien und Formen gruppierten. Durch eine Biotin-Funktionalisierung der amidinierten Stellen auf dem Partikel konnte im Anschluss die Anbindung eines Streptavidin-DNS-Komplexes erfolgen. Der Aufbau gekoppelter Partikel, über die thermoreversible DNS-Hybridisierung, konnte anschließend durch Variation der Temperatur gesteuert werden.^[Wang, 2012]

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Kopplung der Nanopartikel über eine Diels-Alder-Reaktion^[Hendrickson, 1974] untersucht werden. Diese bot den Vorteil, dass sie bereits bei Raumtemperatur unter Normaldruck durchgeführt werden konnte. Die Verknüpfung der Partikel verlief dabei über eine kovalente Bindung, die zusätzlich thermoreversibel spaltbar war. Für die Verknüpfung wurden zwei unterschiedliche Methoden untersucht, auf die im weiteren Verlauf nun detailliert eingegangen wird.

3.6.1 Variation der Konzentration von Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche

Eine der größten Herausforderungen bei der kovalenten Kopplung der Nanopartikel ist die Kontrolle darüber, wie viele Nanopartikel zu Multimeren miteinander verknüpft werden. Eine Möglichkeit diese Verknüpfung zu kontrollieren besteht darin, die Nanopartikeloberfläche mit unterschiedlichen Konzentrationen an Funktionalitäten auszustatten, mit deren Hilfe im Anschluss die kovalente Verknüpfung durchgeführt werden kann. Dafür wurde das Piperidin-funktionalisierte Polymer **P4** mit dem Piperazin-funktionalisierten Polymer **P5** in unterschiedlichen Verhältnissen miteinander gemischt und vernetzt. Da die Polymere aus einem Versuchsansatz stammten und lediglich für die unterschiedliche Terminierung eine Teilung der Lösung vorgenommen wurde, konnte eine identische Zusammensetzung der Polymere gewährleistet werden (vgl. 3.2.3).

Schema 24 zeigt die eingesetzten prozentualen molaren Mischungsverhältnisse der Polymere **P4** und **P5**.



Schema 24: Schematische Darstellung zur Steuerung des Piperazin-Anteils auf der Nanopartikeloberfläche; Reagenzien und Bedingungen: a) 2-Propanthiol, $h\nu$, 2.5 h.

Die Vernetzung wurde, wie bereits in Kapitel 3.3 beschrieben, mit 6 mol% 2-Propanthiol als Vernetzer durchgeführt. Durch DLS-Messungen in dem nicht-selektiven Lösemittel Methanol konnte anschließend die Vernetzung der Partikelmischungen kontrolliert werden. Die Ergebnisse der DLS-Messungen sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Nanopartikel-Charakterisierung der Mischungen aus **P4** und **P5**.

Probe	P4 : P5^a /mol.%	r_h (Methanol) /nm	PI (Methanol)	r_h (Wasser) /nm	PI (Wasser)
NP18	91:9	6.1 ± 0.2	0.1	6.4 ± 0.2	0.2
NP19	95:5	5.8 ± 0.2	0.1	6.1 ± 0.3	0.2
NP20	98:2	6.3 ± 0.4	0.2	6.3 ± 0.3	0.3
NP21	99:1	5.4 ± 0.3	0.2	6.8 ± 0.6	0.4

^[a] **P4** = Piperidin-funktionalisiertes Polymer; **P5** = Piperazin-funktionalisiertes Polymer.

Es konnte gezeigt werden, dass die Vernetzung in allen Fällen erfolgreich durchgeführt wurde. Die Partikel **NP18-NP21** wiesen einen durchschnittlichen hydrodynamischen Radius von 5.9 ± 0.2 nm auf und deuteten mit Polydispersitäten zwischen 0.1-0.2 auf eine enge Verteilung der Partikel hin.

Zusätzlich wurden die Partikel **NP18-NP21** in Wasser untersucht. Mit einem mittleren hydrodynamischen Radius von 6.4 ± 0.4 nm konnte eine geringfügige Zunahme der Radien festgestellt werden. Die Polydispersitäten der Proben **NP18-21** verschlechterten sich dabei zunehmend und wiesen mit Werten zwischen 0.2-0.4 eine breitere Partikelverteilung auf. Eine mögliche Ursache für die Zunahme der Polydispersität in Wasser könnte in der abnehmenden Konzentration an Aminfunktionalität auf der Partikeloberfläche liegen. In einem kolloidalen System sind die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Partikeln für die Stabilität der Kolloide entscheidend. Neben sterischen und Fluktuationswechselwirkungen, nehmen auch van-der-Waals Kräfte, Solvatations- und Hydratations- aber auch elektrostatische Wechselwirkungen, bedingt durch Ladungen auf der Partikeloberfläche, Einfluss auf die Stabilität. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Konzentration an Piperazin auf der Partikeloberfläche von **NP18** zu **NP21** durch die unterschiedlichen Mischungsverhältnisse kontinuierlich abnimmt.

Über das Messen des Zeta-Potentials sollte das nach außen wirksame Potential der Partikel, das im direkten Zusammenhang mit der Stabilität der Partikel in Lösung steht, ermittelt werden. Die Bestimmung des Zeta-Potentials erfolgte nach der Methode der Laser-Doppler-Elektrophorese.

Die durch das äußere Feld induzierte Bewegung konnte dabei anschließend mit Hilfe der Lichtstreuung analysiert werden.

Die Ergebnisse des Zeta-Potentials für die Partikel **NP18-NP21** in wässriger Lösung sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Bestimmung des Zeta-Potentials der **NP18-21** in wässriger Lösung.

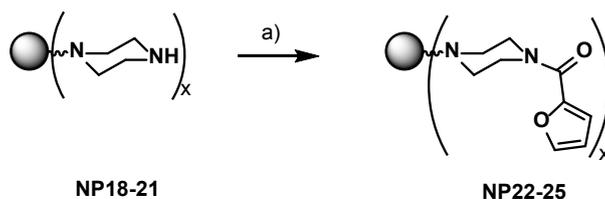
Probe	P4 : P5 ^a /mol. %	ζ-Potential /mV
NP18	91:9	+29.8
NP19	95:5	+24.2
NP20	98:2	+17.7
NP21	99:1	+14.1

^[a] P4 = Piperidin-funktionalisiertes Polymer; P5 = Piperazin-funktionalisiertes Polymer.

Die Messungen verdeutlichen, dass mit abnehmender Piperazin-Konzentration auf der Partikeloberfläche die Werte für das Zeta-Potential kontinuierlich abnehmen. Das Zeta-Potential von **NP18** erreichte dabei mit +29.8 mV den höchsten Wert und zeigte, dass die Partikel hier noch hinreichend elektrostatisch stabil sind. Die Zeta-Potentiale von **NP19-NP21** lagen zwischen 24.2 mV und 14.1 mV. Die Ergebnisse des Zeta-Potentials bestätigen somit die abnehmenden Amin-Konzentrationen auf der Partikeloberfläche und erklären folglich auch den leichten Anstieg der Polydispersitäten von **NP18** zu **NP21**.

3.6.1.1 Aufbau Kern-vernetzter Nanopartikel mit unterschiedlicher Furan-Konzentration auf der Partikeloberfläche

Nach erfolgreicher Synthese und Charakterisierung der Nanopartikel sollten diese weiter mit Furoylsäurechlorid modifiziert werden.



Schema 25: Nanopartikelfunktionalisierung mit Furoylsäurechlorid;
Reagenzien und Bedingungen: a) Furoylchlorid, TEA, DCM, RT.

Die Reaktion wurde in Dichlormethan unter Zugabe von TEA als Base bei Raumtemperatur durchgeführt. Um eine vollständige Funktionalisierung mit Furoylsäurechlorid zu gewährleisten, wurden die Partikel mit einem Überschuss an Furoylsäurechlorid umgesetzt. Nach Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in wenig Chloroform aufgenommen. Durch Ausfällen in Diethylether und anschließender Dialyse über 4 h in Methanol konnten die Nanopartikel **NP22-NP25** erhalten werden. Aufgrund der geringen Signalintensität und Linienverbreiterung in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren, war keine genaue Quantifizierung der Partikelmodifizierung möglich. Dennoch konnte davon ausgegangen werden, dass durch die Modifizierung der Partikeloberfläche, das Zeta-Potential der Partikel **NP22-NP25** abnehmen müsste. Die Abnahme des Zeta-Potentials sollte daher einen indirekten Nachweis für die erfolgreiche Modifizierung mit Furoylsäurechlorid liefern.

Tabelle 14 zeigt die ermittelten hydrodynamischen Radien der Partikel **NP22-NP25** sowie die ermittelten Zeta-Potentiale in wässriger Lösung, vor sowie nach der Modifizierung mit Furoylsäurechlorid.

Tabelle 14: Nanopartikel-Charakterisierung in wässriger Lösung, nach Modifizierung mit Furoylsäurechlorid.

Probe	P4 : P5 ^a /mol.%	r_h (nach) /nm	P1 ^b	ζ -Potential _(vor) /mV	ζ -Potential _(nach) /mV
NP18 → NP22	91 : 9	6.4 ± 0.1	0.3	+29.8	+3.7
NP19 → NP23	95 : 5	6.1 ± 0.1	0.3	+24.2	+5.1
NP20 → NP24	98 : 2	6.6 ± 0.2	0.4	+17.7	+2.4
NP21 → NP25	99 : 1	6.9 ± 0.1	0.5	+14.1	+1.7

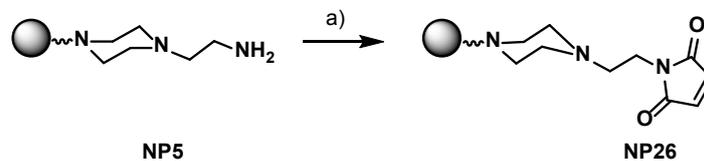
^(a) P4 = Piperidin funktionalisiertes Polymer, P5 = Piperazin funktionalisiertes Polymer; ^(b) Polydispersität ermittelt aus den DLS-Messungen.

Nach der Kopplung mit Furoylsäurechlorid konnte für die Partikel **NP22-NP25** eine deutliche Abnahme des Zeta-Potentials, auf Werte zwischen + 5.1 mV und + 1.7 mV, beobachtet werden. **NP25** zeigte dabei mit einem Zeta-Potential von + 1.7 mV den niedrigsten Wert. Betrachtet man die Werte aus Tabelle 14, fällt auf, dass auch hier die Polydispersität der Partikel mit dem Zeta-Potential korreliert und nach der Modifizierung mit Furoylsäurechlorid nochmals deutlich zunimmt. Für alle Partikel kann nach der Modifizierung keine enge Partikelverteilung mehr beobachtet werden. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Kopplungen aus Kapiteln 3.4, so wurde eine derartige Erhöhung der Polydispersität zuvor nicht beobachtet. Eine mögliche Ursache hierfür könnte sein, dass zuvor meist große, sterisch anspruchsvolle Moleküle, wie das RGD-Peptid, FITC oder Aromaten, an die Partikel gekoppelt wurden, die wahrscheinlich für eine sterische Stabilisierung der Partikel ausreichten.

Nach erfolgreicher Modifizierung mit Furoylsäurechlorid erfolgte die Synthese des vollständig Maleimid-funktionalisierten Nanopartikels, der im Anschluss mit den Nanopartikeln **NP22-25** umgesetzt werden sollte.

3.6.1.2 Aufbau eines Maleimid-modifizierten Nanopartikels

Ausgehend von dem vollständig Piperazin-funktionalisierten Nanopartikel **NP5** konnte, durch die Addition von Maleinsäureanhydrid an die Aminogruppe des Nanopartikels, zunächst ein Maleinsäuremonoamid gebildet werden. Dies konnte in Gegenwart von Essigsäureanhydrid und Natriumacetat unter dehydratisierender Cyclisierung weiter zum Imid **NP26** umgesetzt werden.



Schema 26: Nanopartikelfunktionalisierung mit Maleinsäureanhydrid;
 Reagenzien und Bedingungen: a) Maleinsäureanhydrid, Essigsäureanhydrid, Natriumacetat,
 DCM, 1 h bei 0 °C, 2 h → 24 h bei 40 °C.

Mit Hilfe der UV/vis-Spektroskopie konnte über das Auftreten der Absorptionsbande bei 278 nm, die erfolgreiche Maleimid-Modifizierung des Nanopartikels bewiesen und quantifiziert werden. Abbildung 62 A zeigt das UV/vis-Spektrum in Acetonitril vor und nach der Modifizierung mit Maleimid.

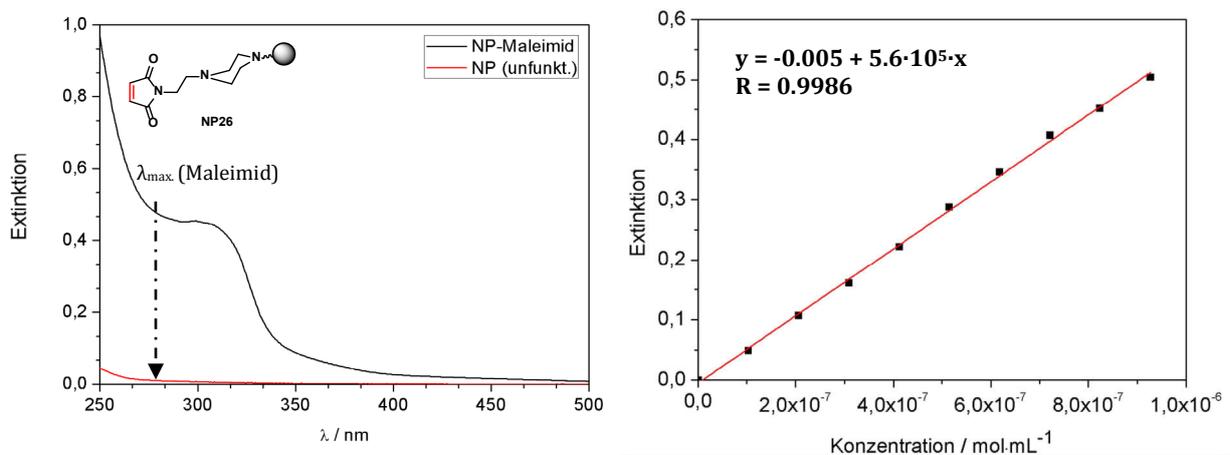


Abbildung 62 A-B: A) UV/Vis-Spektrum des unfunktionalisierten **NP5** (rot) im Vergleich zum Maleimid-funktionalisierten Nanopartikel **NP26** (schwarz) in Acetonitril. Die Quantifizierung erfolgte über die Absorptionsbande bei 278 nm. B) Kalibriergerade, aufgenommen in Acetonitril.

Mit Hilfe von Maleimid konnte bei einer Wellenlänge von 278 nm, konzentrationsabhängig die Absorption ermittelt und darüber eine Kalibriergerade erstellt werden, aus der anschließend die Maleimid-Konzentration am Nanopartikel und die damit verbundene Kopplungseffizienz berechnet werden konnte. Das Ergebnis zeigte, dass 81% der Nanopartikel mit Maleimid funktionalisiert wurden und damit vergleichbare Ergebnisse zu den vorherigen Kopplungsversuchen lieferte. Durch die Verlängerung der Reaktionszeit auf 24 h konnte in anschließenden Versuchen mit 97% eine nahezu quantitative Kopplung des Maleimids erzielt und die Kopplungseffizienz noch einmal verbessert werden.

Über die Bestimmung des Zeta-Potentials in wässriger Lösung sollte zusätzlich eine qualitative Aussage der Kopplung erfolgen.

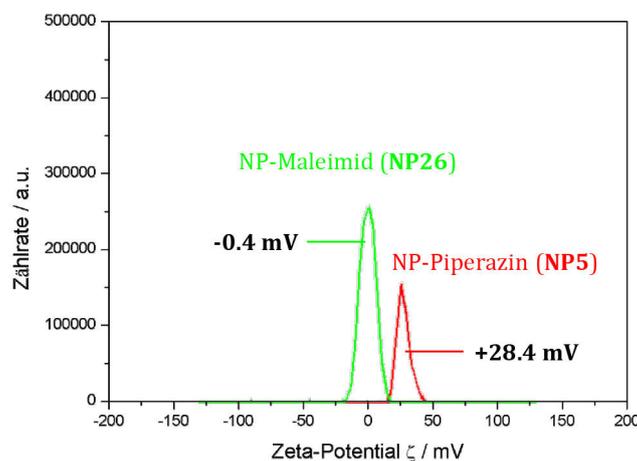
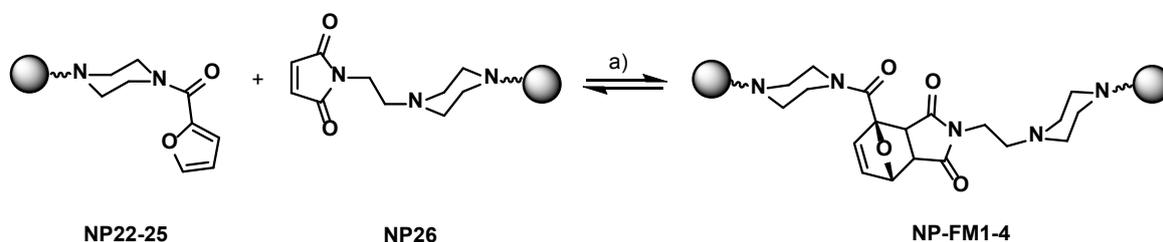


Abbildung 63: Zeta-Potential vor der Maleimid-Kopplung (NP5) und nach der Maleimid-Kopplung (NP26).

Die Ergebnisse zeigten, dass vor der Maleimid-Funktionalisierung, mit einem Zeta-Potential von +28.4 mV, ausreichend elektrostatisch stabilisierte Partikel vorlagen. Nach der Maleimid-Funktionalisierung sank das Zeta-Potential auf -0.4 mV deutlich ab und bestätigte erneut die erfolgreiche Modifizierung mit Maleimid.

3.6.2 Kopplung unterschiedlicher Nanopartikel über komplementäre Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche

Die Furan-funktionalisierten Nanopartikel **NP22-25** sollten anschließend mit dem Maleimid-funktionalisierten Nanopartikel **NP26** gekoppelt werden. Die kovalente Verknüpfung der Partikel sollte dabei in einer Diels-Alder Reaktion, über die komplementären Furan- und Maleimid-Gruppen, erfolgen. Für die Kopplung wurden die Partikel zu gleichen Äquivalenten in Ethylacetat aufgenommen und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Die getrockneten Partikel wurden danach in Methanol aufgenommen und der Erfolg der Kopplung mittels dynamischer Lichtstreuung überprüft.



Schema 27: Nanopartikel-Kopplung mittels Diels-Alder-Reaktion über zwei unterschiedliche Partikel mit komplementären Funktionalitäten; Reagenzien und Bedingungen: a) EtOAc, 24 h, RT.

Tabelle 15 fasst die Ergebnisse der DLS-Messungen mit den mittleren hydrodynamischen Radien sowie der berechneten prozentualen Standardabweichung zusammen.

Tabelle 15: Bestimmung des hydrodynamischen Radius nach der Nanopartikel-Kopplung über zwei unterschiedliche Partikel mit komplementären Funktionalitäten in Methanol als Lösemittel.

Messung	Maleimid-NP /nm	NP-FM1 /nm	NP-FM2 /nm	NP-FM3 /nm	NP-FM4 /nm
1	5.0	15.1	8.8	8.5	7.1
2	5.4	8.7	10.7	8.6	7.6
3	5.1	8.9	9.3	9.6	7.9
4	5.1	18.3	12.0	5.6	7.7
5	5.3	9.7	10.7	8.8	6.1
Δr_h^a	5.2 ± 0.2	12.1 ± 4.3	10.3 ± 1.3	8.2 ± 1.5	7.3 ± 0.7
$S/\%^b$	3.8	35.5	12.6	18.3	9.6
PI^c	0.1	1	0.9	0.5	0.3

^{a)} Mittelwert des hydrodynamischen Radius, ermittelt aus 5 Einzelmessungen; ^{b)} prozentuale Standardabweichung,

^{c)} Polydispersität, direkt ermittelt aus den DLS-Messungen.

Die DLS Ergebnisse zeigten für die Proben **NP-FM1-4** eine Zunahme der hydrodynamischen Radien, wobei **NP-FM1** mit einem mittleren hydrodynamischen Radius von 12.1 ± 0.2 nm die deutlichste Veränderung feststellen ließ. Die Breite der Partikelverteilung nahm dabei von **NP-FM1** zu **NP-FM4** kontinuierlich ab und lieferte für **NP-FM4** die engste Verteilung. Durch das Auftreten breit verteilter Partikelproben, deren Streuintensitäten durch Überlappung unterschiedlicher Einzelintensitäten zustande kommt, konnten keine absoluten Größen aus den DLS-Messungen ermittelt werden.^[Tomaszewska, 2013] Da die Messungen in Methanol durchgeführt wurden, konnte eine Agglomeration der Partikel jedoch ausgeschlossen werden und die Veränderung der hydrodynamischen Radien auf eine erfolgreiche Kopplung der Partikel zurückgeführt werden.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen wurden danach mit Hilfe von AFM-Aufnahmen in Methanol kontrolliert, um so eine genaue Aussage über die Größe der Partikel treffen zu können. Dafür wurden die Partikel **NP22-25** zunächst verdünnt ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) und aus ihrer Lösung mit Hilfe eines Spin-Coaters (Fa. *Laurell*) auf frisch geschnittene Mica-Platten aufgetragen.

Die AFM-Aufnahmen der Probe **NP-FM1** unterstrichen die Ergebnisse der DLS-Messungen und ließen eine breite Partikelverteilung der Probe erkennen. Vereinzelt konnten Partikel mit einem Radius von 15.5 ± 3.7 nm beobachtet werden (vgl. Abb 64). Diese Ergebnisse bestätigten die Ergebnisse der DLS-Messungen, die mit einem mittleren hydrodynamischen Radius von 12.1 ± 4.3 nm, einen ähnlichen Wert feststellen ließen. Aufgrund der DLS-Ergebnisse, die mit Hilfe von AFM-Aufnahmen bestätigt werden konnten, kann hier bereits von einer erfolgreichen Kopplung der Partikel ausgegangen werden.

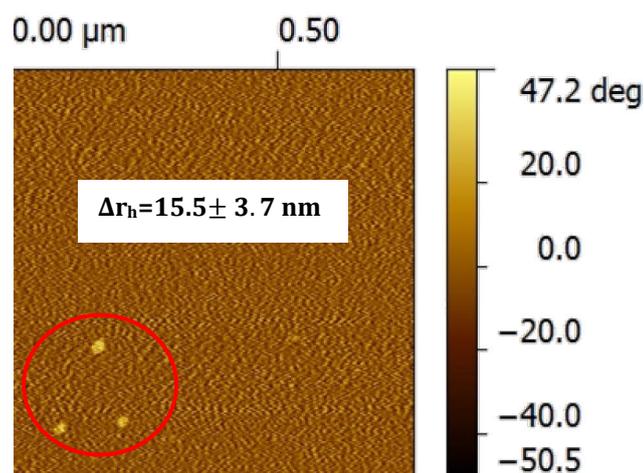


Abbildung 64: AFM Topographie von NP-FM1.

Die AFM-Ergebnisse der Probe **NP-FM2** ließen ebenfalls eine breite Partikelverteilung der Probe feststellen und zeigte einen mittleren hydrodynamischen Radius von 15.3 ± 1.7 nm.

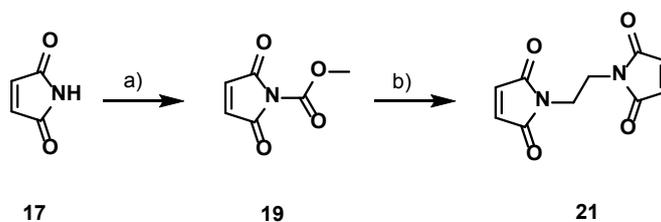
Die AFM-Aufnahmen der Proben **NP-FM3** und **NP-FM4** zeigten überwiegend einzelne Partikel mit einem durchschnittlichen Radius von 5.2 ± 0.5 nm. Dieser Wert entspricht der Größe der ungekoppelten Einzelpartikel. Bei der Betrachtung der Aufnahmen ließ sich eine geringere Breite der Partikelverteilung feststellen. Diese Ergebnisse korrelieren sehr gut mit den Ergebnissen der DLS-Messungen, in denen sich für die Proben **NP-FM3** und **NP-FM4** die niedrigste Partikelverteilung mit einem mittleren hydrodynamischen Radius von 7.3-8.2 nm feststellen ließen.

Neben den Einzelpartikeln konnten ebenfalls Zusammenlagerungen von Partikeln in den AFM-Aufnahmen beobachten werden. Durch eine größere Verdünnung der Proben war es möglich die Partikel weiter von einander zu separieren. Dennoch konnten auch eine unterschiedliche Probenpräparation sowie das Eindampfen der Partikel und die erneute Aufnahme in Methanol die Aggregation der Partikel nicht vollständig unterbinden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Kopplungsvariante über komplementäre Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche sowohl in den DLS-Messungen als auch in den AFM-Aufnahmen eine geringfügige Zunahme der Partikelradien zeigte. Gerade in den AFM-Aufnahmen blieb jedoch deutlich erkennbar, dass überwiegend ungekoppelte Einzelpartikel in den Proben vorlagen. Im Rahmen dieser Arbeit konnten keine Bilder aufgenommen werden, die eine eindeutige Aussage über die erfolgreiche Dimerisierung zuließen. Vor allem die Agglomeration der Partikel, die lediglich durch die Verdünnung der Probe minimiert werden konnte, stellt hier das größte Problem dar, da diese Verdünnung die Qualität der AFM-Aufnahmen beeinträchtigt. Dennoch zeigten vor allem die Proben **NP-FM1-2** mit einer Größe zwischen 14-18 nm vielversprechende Ergebnisse, die eine Multimerisierung von Partikeln erkennen ließen.

3.6.3 Nanopartikel-Kopplung über einen bifunktionalen Linker

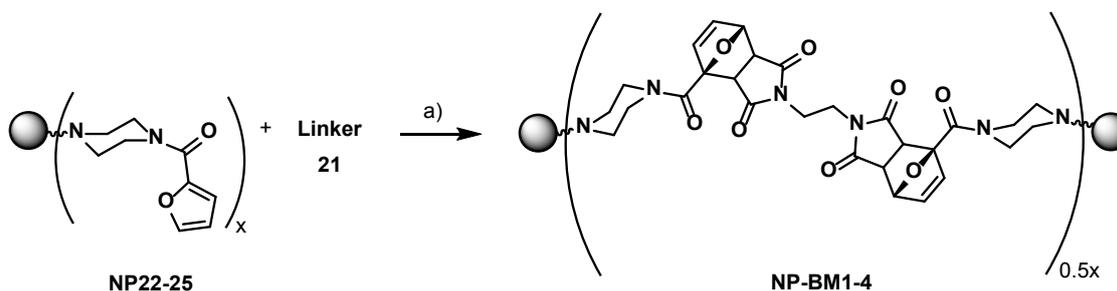
Die zweite Kopplung erfolgte über die Furan-funktionalisierten Nanopartikel **NP22-25**, die mit Hilfe eines bifunktionalen Linkers weiter umgesetzt wurden. Als Linker wurde 1,2-Bismaleimidoethan eingesetzt, der Verknüpfungen mit funktionellen Gruppen innerhalb einer einzelnen Polymermizelle, aufgrund seiner Kurzkettigkeit, minimieren sollte. Die Synthese des 1,2-Bismaleimidoethan **21** erfolgte dabei nach Schema 28.



Schema 28: Synthese von 1,2-Bismaleimidoethan;
 Reagenzien und Bedingungen: a) N-Methylmorpholin, Methylchlorformiat, EtOAc, 0 °C-RT, 1 h;
 b) Ethylendiamin, NaHCO₃/THF (1:1 v/v), 0 °C, 10 min → RT, 3 h.

Maleimid **17** wurde mit Methylchlorformiat **18** zum *N*-(Methoxycarbonyl)maleimid **19** umgesetzt. Das Produkt konnte in moderaten Ausbeuten von 59% erhalten werden. Mit Ethylendiamin **20** erfolgte die Umsetzung zum 1,2-Bismaleimidoethan **21** in einer Ausbeute von 37%. Die Struktur und Reinheit der Verbindungen **21** wurde mittels ¹H-,¹³C-NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie (ESI-MS) untersucht und stimmten mit den Literaturwerten überein.

Nach erfolgreicher Synthese des 1,2-Bismaleimidoethan-Linkers **21**, sollte über diesen die Kopplung der Nanopartikel erfolgen.



Schema 29: Nanopartikel-Kopplung mittels Diels-Alder-Reaktion über den bifunktionalen Linker **21**;
 Reagenzien und Bedingungen: a) EtOAc, 24 h, RT.

Dafür wurden die getrockneten Nanopartikel **NP22-25** in Ethylacetat aufgenommen, mit dem 1,2-Bismaleimidoethan-Linker **21** versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Die getrockneten Partikel wurden danach in Methanol aufgenommen und der Erfolg der Kopplung mittels dynamischer Lichtstreuung überprüft. Tabelle 16 zeigt die zusammengefassten Ergebnisse der DLS-Messungen mit den mittleren hydrodynamischen Radien sowie der berechneten prozentualen Standardabweichung.

Tabelle 16: Bestimmung des hydrodynamischen Radius in Methanol nach der Nanopartikel-Kopplung über den Linker **21**.

Messung	NP-BM1 /nm	NP-BM2 /nm	NP-BM3 /nm	NP-BM4 /nm
1	7.8	8.8	11.9	65.8
2	8.1	9.3	12.5	11.2
3	8.0	8.7	7.2	97.6
4	7.2	8.8	12.8	127.2
5	7.5	9.1	9.7	13.5
Δr_h^a	7.7 ± 0.4	8.9 ± 0.3	10.8 ± 2.4	63.1 ± 51.1
S/% ^b	5.2	3.4	22.2	81.0
PI ^c	0.5	0.4	0.9	1

^{a)} Mittelwert des hydrodynamischen Radius, ermittelt aus 5 Einzelmessungen;

^{b)} prozentuale Standardabweichung, ^{c)} Polydispersität, direkt ermittelt aus den DLS-Messungen.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen zeigten eine kontinuierliche Zunahme des durchschnittlichen hydrodynamischen Radius von **NP-BM1** zu **NP-BM4**. Zusätzlich ließ sich eine sehr breite Verteilung der Partikel feststellen. Während die Partikel **NP-BM1** und **NP-BM2** mit 20-26% bereits eine deutliche Größenzunahme im Vergleich zu den Einzelpartikeln aufwiesen, ließen die Ergebnisse für die Proben **NP-BM3** und **NP-BM4** keine einheitliche Größenzunahme erkennen. Aufgrund der breiten Partikelverteilung, deren Streuintensitäten durch Überlappung unterschiedlicher Einzelintensitäten zustande kommt, ließen sich keine absoluten Größen aus den DLS-Messungen ermitteln. Da die Messungen in Methanol durchgeführt wurden, konnte eine Agglomeration der Partikel jedoch ausgeschlossen werden und die Veränderung der hydrodynamischen Radien auf eine erfolgreiche Kopplung der Partikel zurückgeführt werden.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen wurden danach mit Hilfe von AFM-Aufnahmen in Methanol kontrolliert, um so eine genaue Aussage über die Größe der Partikel treffen zu können. Zunächst wurden die getrockneten Nanopartikel in Methanol aufgenommen, 20 μL der Nanopartikel-Lösung ($c = 0.001 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) auf eine frisch geschnittene Mica-Platte aufgetragen und anschließend 30 Sekunden bei 4000 rpm gespin-coatet.

Die Aufnahmen der Probe **NP-BM1** zeigten eine breite Partikelverteilung. Mit einem Durchmesser von 13.8-15.6 nm konnten überwiegend Einzelpartikel beobachtet werden, deren Größe mit den ermittelten Werten von 14.4-16.2 nm aus den DLS-Messungen übereinstimmte.

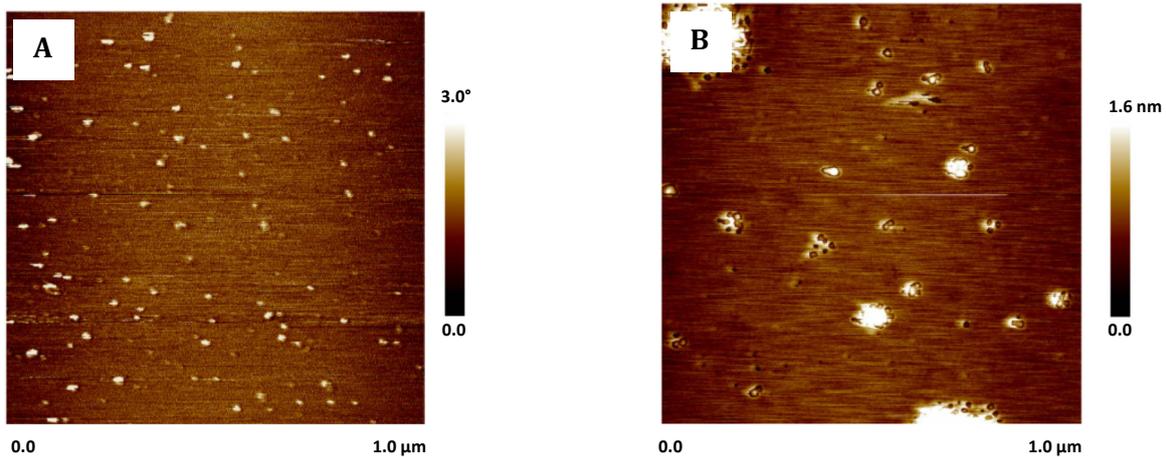


Abbildung 65 A-B: AFM-Aufnahmen von NP-BM1, Phasenkontrast (A), Topographie (B).

In vergrößerten Aufnahmen konnten vereinzelt zusammenliegende Partikel beobachtet werden. Dies ist in Abbildung 66 A noch einmal deutlich veranschaulicht.

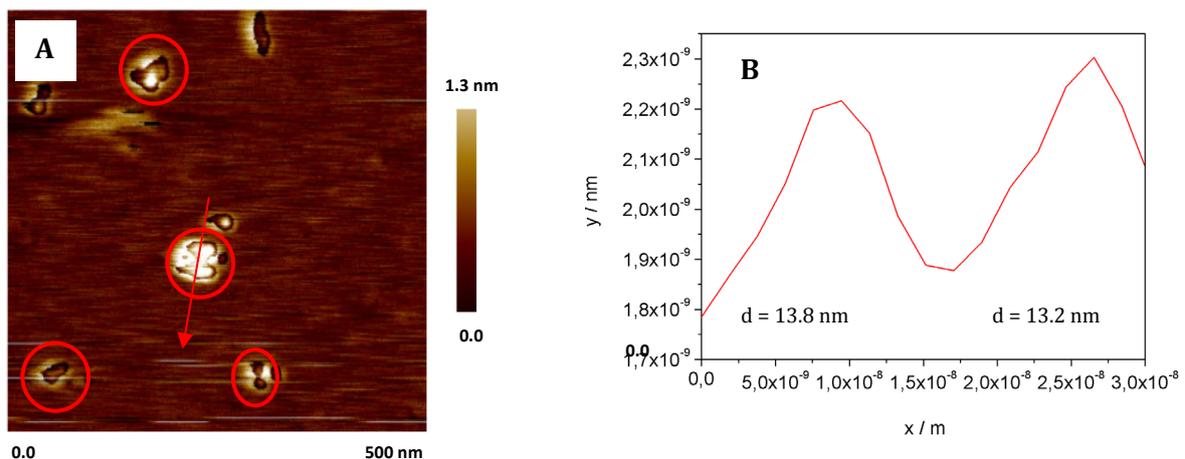


Abbildung 66 A-B: AFM-Aufnahme von NP-BM1, Topographie (A), Höhenprofil der Partikel-Dimere (B).

Da aus den Höhenprofilen der AFM-Aufnahmen nicht ersichtlich war, ob es sich dabei um kovalent verbundene Partikel handelte, oder die Zusammenlagerung durch die Probenpräparation induziert wurde, wurde die Probe sukzessive verdünnt, um so zufällig zusammengelagerte Partikel von einander zu separieren. Kovalent gebundene Partikel müssten auch nach einer Verdünnung der Probe weiterhin in den AFM-Aufnahmen zu sehen sein. Diese Annahme konnte bestätigt werden. Auch nach der Verdünnung der Probenlösung blieben weiterhin Partikeldimere sichtbar.

Die AFM Ergebnisse der Nanopartikel-Kopplungen NP-BM2-BM4 sind in Abbildung 67 A-F dargestellt.

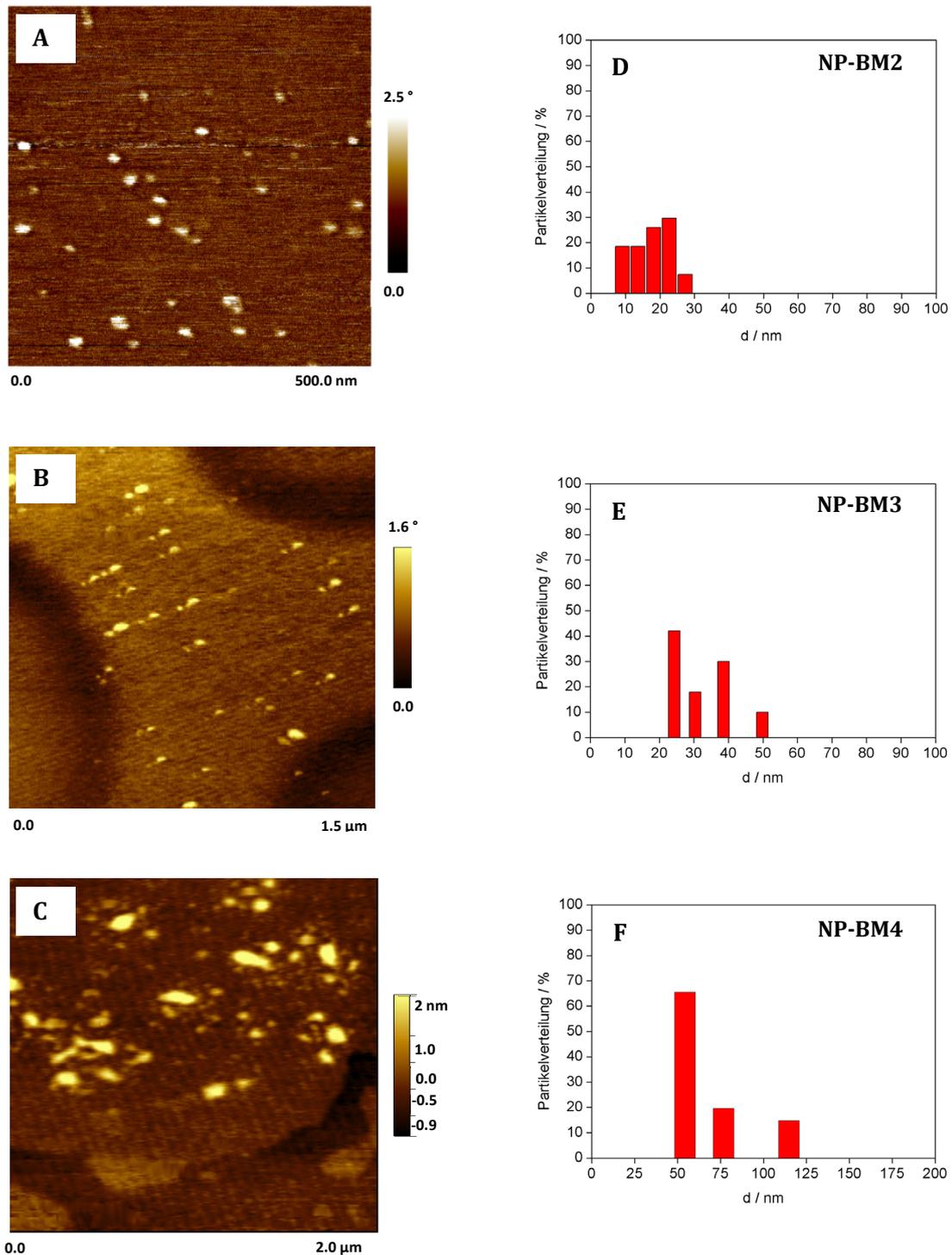


Abbildung 67 A-F: AFM Aufnahme der Kopplungsexperimente **NP-BM2-BM4** (A-C), Histogramm der Partikelverteilung: **NP-BM2** (D), **NP-BM3** (E), **NP-BM4**. (F).

Neben den AFM-Aufnahmen wurden die prozentualen Partikelverteilungen in Form von Histogrammen angegeben, die durch Auszählen der Partikel erhalten wurden. Aus den gefundenen Kernradien konnte im Anschluss ein mittlerer Kernradius berechnet werden. Neben dem visuellen Eindruck war hierüber zusätzlich die Aussage über die Polydispersität der Probe möglich.

Der Kopplungsversuch **NP-BM2** zeigte in den AFM-Aufnahmen Partikel zwischen 9-27 nm, wobei die Partikel mit einer Größe von 17-22 nm den prozentual größten Anteil bildeten.

Im Vergleich dazu konnte für die Probe **NP-BM3** eine deutlich breitere Partikelverteilung festgestellt werden. Die DLS Ergebnisse zeigten mit einem PI von 0.9 einen ähnlichen Trend. Dabei ließen sich Partikel mit einem Durchmesser von 24-49 nm beobachten, wobei die Partikel mit einem Durchmesser von 24 nm, mit 42%, den prozentual größten Anteil bildeten. Kleinere Partikel konnten in den AFM-Aufnahmen nicht beobachtet werden.

Der Kopplungsversuch **NP-BM4** zeigte in den AFM Bildern sehr große Partikel. Zusätzlich ließ sich eine breite Verteilung an Partikel beobachten. Die Partikel besaßen dabei eine Größe von 54 nm, 77 nm und 115 nm.

Vergleicht man die Ansätze miteinander, so konnte von **NP-BM1** zu **NP-BM4** eine kontinuierliche Zunahme der Breite der Partikelverteilung festgestellt werden. Kopplungsversuch **NP-BM1** zeigte insgesamt das beste Ergebnis. In den DLS Messungen sah man eine nur geringfügige Verschiebung der Größe des hydrodynamischen Radius. Die AFM-Aufnahmen zeigten, mit einer Größe von 6.6 ± 0.5 nm, überwiegend Einzelpartikel. Diese lagen sowohl einzeln verteilt als auch agglomeriert vor und konnten durch eine Verdünnung der Probe von einander separiert werden. Zusätzlich ließen sich zusammengelagerte Partikel erkennen, die trotz Verdünnung und spin-coaten nicht weiter voneinander getrennt werden konnten. Da sich die AFM-Untersuchungen aufgrund der geringen Probengröße sowie der geringen Konzentration als schwierig herausstellten, sollte exemplarisch die Probe **NP-BM1** mit Hilfe von TEM-Aufnahmen untersucht werden.

Die Proben wurden dabei auf unterschiedliche Wege behandelt und sowohl aus wässriger als auch aus alkoholischer Lösung (Methanol) hergestellt. Das Anfärben („staining“) der Probe erfolgte mit Uranylacetat und Rutheniumtetroxid. Dabei zeigte sich, dass die Untersuchungen aus Wasser keine guten Ergebnisse lieferten und trotz einer Verdünnung der Probe überwiegend agglomerierte Partikel zu beobachten waren. Auch Proben aus Methanol lieferten kein besseres Ergebnis. Es zeigte sich, dass Trocknungseffekte bei der Präparation der TEM-Proben, eine Partikelaggregation induzierten.

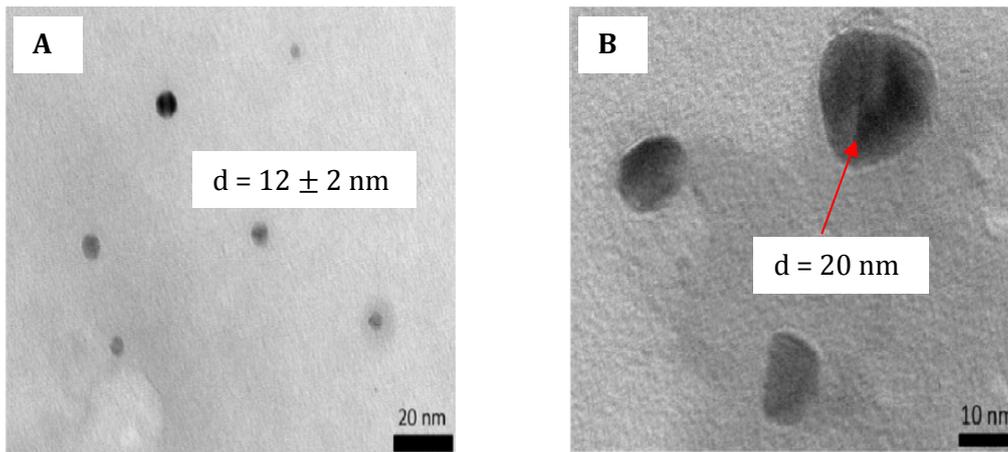


Abbildung 68 A-B: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiment **NP-BM1** in Methanol.

Die voneinander separierten Partikel, die nur selten in den TEM-Aufnahmen zu sehen waren, wiesen eine durchschnittliche Partikelgrößen von 12 nm auf (Abb. 68 A) und bestätigten die Ergebnisse der DLS-Messungen sowie AFM-Aufnahmen für die Einzelpartikel. Zusätzlich ließen sich Partikel mit einem Durchmesser von 20 nm in den TEM-Aufnahmen erkennen (Abb. 68 B).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Kopplung über einen bifunktionalen Linker sowohl in den DLS-Messungen, wie auch in den AFM-Aufnahmen eine deutliche Veränderung der hydrodynamischen Radien feststellen ließ und auf eine erfolgreiche Kopplung der Partikel zurückzuführen war. Vergleicht man die Ergebnisse mit denen von *Wang et al.*, die Multimere mit einer Größe von ≥ 500 nm synthetisierten, lässt sich zeigen, dass die im Rahmen dieser Arbeit erzeugten Multimere mit einer durchschnittlichen Größe von 27 nm deutlich kleiner sind.^[Wang, 2012] In wie fern diese Kopplung gezielt erfolgte, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden, da die Agglomeration der Partikel, die auf die Probenpräparation zurückzuführen war, ein großes Problem darstellte. Diese ließ sich durch eine Verdünnung der Probe minimieren, beeinträchtigte allerdings die Qualität der AFM-Aufnahmen deutlich. Für eine eindeutige Charakterisierung der Kopplungen müssten in zukünftigen Arbeiten Wege gefunden werden, Einzelpartikel und Multimere voneinander zu trennen.

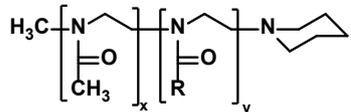
4. Zusammenfassung und Ausblick

Polymere Nanopartikel haben in den vergangenen Jahren eine immer größere Bedeutung als Wirkstoffträger in der Medizin erfahren. Ein wichtiges Verfahren zu deren Herstellung ist der „Bottom-up“-Ansatz ausgehend von amphiphilen Blockcopolymeren. Typische Vertreter sind Poly(ethylenglycol)-*block*-Poly(L-milchsäure) oder Poly(ethylenglycol)-*block*-Poly(ϵ -caprolacton), die in Wasser Mizellen bilden und hydrophobe Wirkstoffe solubilisieren können. Die heute eingesetzten Systeme basieren dabei häufig auf dem wasserlöslichen Poly(ethylenglycol), welches auch bei PEGylierten Wirkstoffen eine große Rolle spielt.

In den vergangenen Jahren konnten jedoch in klinischen Studien auch mögliche Nebenwirkungen und Komplikationen bei der Anwendung von Poly(ethylenglycol) festgestellt werden. So zeigten sich Wechselwirkungen mit dem Immunsystem, die eine Hypersensitivitätsreaktion zur Folge hatten und einen anaphylaktischen Schock auslösen konnten.^[Szebeni, 2005] Auch eine Veränderung der Pharmakokinetik^[Dams, 2000; Ishida, 2003] sowie die Bildung von toxischen Nebenprodukten^[Knop, 2010] wurden in verschiedenen Studien vermehrt festgestellt. Ob diese Nebenwirkungen tatsächlich in einem direkten Zusammenhang mit dem Einsatz von Poly(ethylenglycol) stehen oder durch andere Faktoren, wie z. B. Größe oder Oberflächenbeschaffenheit der Transportsysteme, ausgelöst werden, ist bis heute nicht geklärt. Auch wurde eine mögliche Anreicherung von Poly(ethylenglycol) im Körper in systematischen Langzeitstudien bisher nicht untersucht.^[Knop, 2010]

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher die Synthese polymerer Nanopartikel auf der Basis von Poly(2-oxazolin)en als Alternative zu den bekannten Poly(ethylenglycol)-Systemen. Die Poly(2-oxazolin)e wurden dabei durch eine ringöffnende, kationische Polymerisation aufgebaut und durch die Wahl geeigneter Initiatoren, Monomere und Terminierungsreagenzien gezielt funktionalisiert.

Im ersten Teil der Arbeit wurden drei amphiphile AB-Blockcopolymerer auf der Basis eines konstanten hydrophilen Poly(2-methyl-2-oxazolin)blocks und einem Poly(2-alkyl-2-oxazolin)block mit einem unterschiedlich langen Alkylrest hergestellt (siehe Abbildung 69).



P1-P3

Polymer	R	x	y	cmc / 10 ⁻⁶ · mol · L	r _h / nm
P1	-C ₅ H ₁₁	17	4	40	5.2 ± 0.1
P2	-C ₇ H ₁₅	17	4	5	7.7 ± 0.3
P3	-C ₉ H ₁₉	22	6	1	9.8 ± 0.4

Abbildung 69: Chemische Zusammensetzung der amphiphilen Blockcopolymerer **P1-P3** mit ausgewählten Analysedaten der Polymierzellen.

Untersuchungen zu deren Mizellbildungseigenschaften zeigten, dass die kritischen Mizellbildungskonzentrationen im Bereich von 1 - 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ lagen und mit zunehmender Länge der Alkylseitenkette abnahmen. Die Polymierzellen wiesen einen durchschnittlichen hydrodynamischen Radius von 5.2 ± 0.1 nm (**P1**) bis 9.8 ± 0.4 nm (**P3**) auf, wobei die Mizellgröße ebenfalls mit zunehmender Länge der Alkylseitenkette zunahm. Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen der T_1 -Relaxationszeiten der mizellaren Aggregate in Wasser erlaubten einen hervorragenden Einblick in die Dynamik der unterschiedlichen chemischen Gruppen im hydrophilen sowie im hydrophoben Polymerblock zwischen $T = 25\text{--}80$ °C. Während der hydrophile Polymerblock in diesem Temperaturbereich eine fast gleichbleibende Dynamik aufwies, zeigte der hydrophobe Polymerblock deutliche Unterschiede, je nachdem welche chemische Gruppe untersucht wurde. Die Beweglichkeit der Methylgruppen sowie der terminalen Methylgruppe der hydrophoben Seitenkette nahm mit größer werdendem Abstand zum Polymerrückgrat und mit steigender Temperatur zu. Über die Signalintensitäten konnten zudem Rückschlüsse über den Aggregationsgrad als Funktion der Temperatur gewonnen werden. Während die Methylgruppe des hydrophilen Polymerblocks bei keiner Temperatur assoziiert vorlag, zeigten die Methylgruppen der Alkylseitenketten im hydrophoben Block unterschiedlich starke Assoziationsgrade in Abhängigkeit von ihrer Position. Die Methylgruppe der hydrophoben Alkylseitenketten von **P2** wies bei $T = 25$ °C den höchsten Assoziationsgrad auf. Mit zunehmender Temperatur bis $T = 80$ °C ging diese Assoziation vollkommen verloren. Des Weiteren konnte für die Polymere **P1-P3** beobachtet werden, dass die Methylgruppe benachbart zum Polymerrückgrat den höchsten Assoziationsgrad aufwies. Mit zunehmender Temperatur nahm die Assoziation der Alkylseitenkette ab und lag bei 80 °C vollständig dissoziiert vor.

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit lag in der Synthese und Charakterisierung von funktionalisierten, amphiphilen Blockcopolymeren mit dem Ziel, Polymermizellen herzustellen, deren Oberfläche mit einer zusätzlichen Funktion ausgestattet werden kann. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Entwicklung von polymeren Nanopartikeln, die z. B. mit Hilfe spezifischer Oberflächenrezeptoren selektiv Tumorzellen erkennen können und an diese binden, während gesunde Zellen im Idealfall keine bis nur geringe Wechselwirkungen mit den wirkstoffbeladenen Mizellen bzw. Polymernanopartikeln zeigen (engl. „*active targeting*“). Hierzu wurden Blockcopolymeren durch Termination mit Diaminen, wie Ethylendiamin oder Piperazin, mit einer primären oder sekundären Amin-Endgruppe funktionalisiert. In der nachfolgenden polymeranalogen Reaktion der Amin-funktionalisierten Blockcopolymeren **P7** und **P14** mit verschiedenen aromatischen Modellverbindungen (**K1-K4**), wurde mit **K1** eine quantitative Polymermodifizierung erzielt, während **K2** und **K4** lediglich 40-60%ige Modifizierungsgrade mit **P7** ergaben. Wurde dagegen das Blockcopolymer **P14** mit einer primären Amin-Endgruppe eingesetzt, so konnte auch mit **K4** ein Modifizierungsgrad von 75 % erreicht werden.

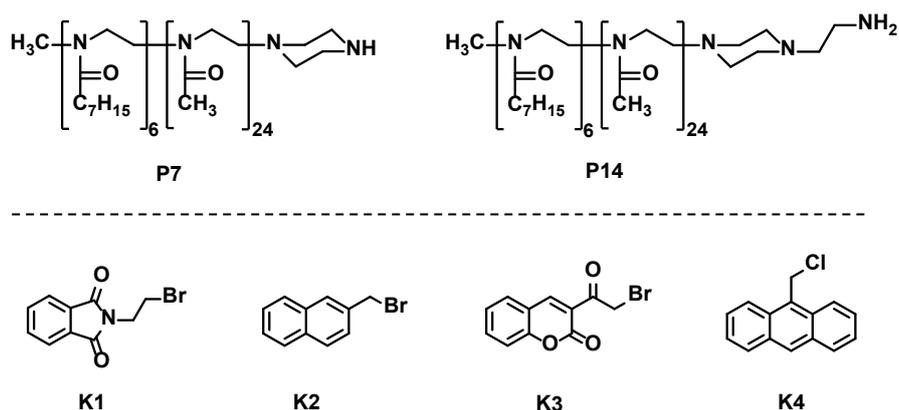
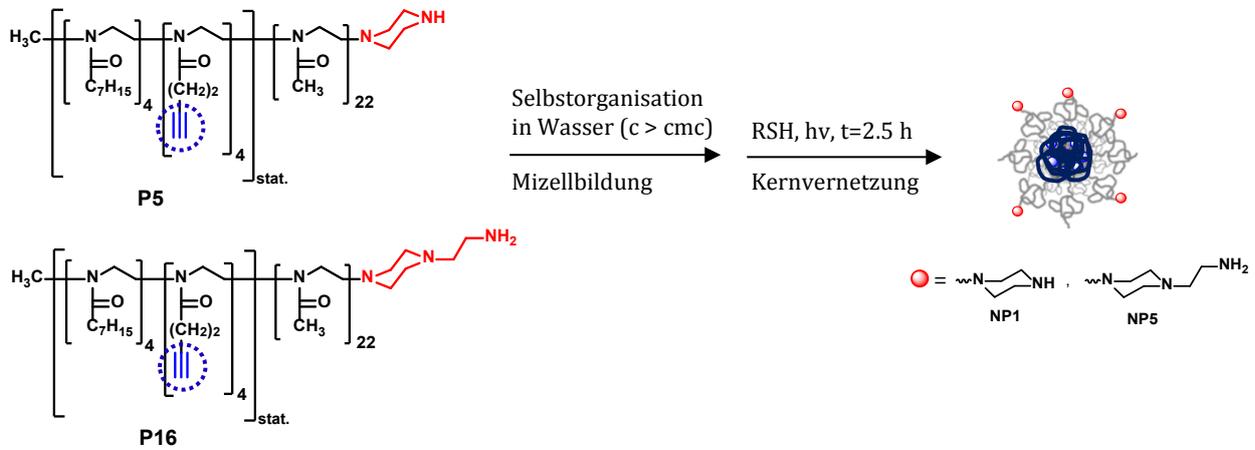


Abbildung 70: Amin-funktionalisierte Blockcopolymeren **P7** und **P14** mit den zu koppelnden aromatischen Modellverbindungen **K1-K4**.

Im Mittelpunkt des nächsten Kapitels standen Untersuchungen zur Stabilisierung der Polymermizellen. Hierzu wurde eine zusätzliche Alkinfunktionalität über ein geeignetes 2-Oxazolinmonomer in den hydrophoben Polymerblock einpolymerisiert. Die kovalente Vernetzung des Mizellkerns gelang mit Hilfe einer photochemisch initiierten, radikalischen Polymerisation in Gegenwart von 2-Propanthiol als Initiator. Die erfolgreiche Kernvernetzung und Stabilisierung der Polymermizellen konnten im nicht-selektiven Lösungsmittel Methanol mittels DLS- und AFM-Messungen nachgewiesen werden. Die Kernvernetzung der Polymermizellen führte jedoch nicht nur zu einer Stabilisierung, sondern hatte auch Auswirkungen auf die Freisetzungskinetik eingelagerter Wirkstoffe. Dies konnte am Beispiel des

Wirkstoffs Indomethacin gezeigt werden, wonach die Freisetzungskinetik in polymeren Nanopartikeln gegenüber Mizellen deutlich herabgesetzt wurde.



Schema 30: Schematische Darstellung der Nanopartikelsynthese mit vernetztem Kern und primärer oder sekundärer Aminfunktionalität auf der Oberfläche.

Anschließend wurde die Herstellung oberflächenfunktionalisierter Polymernanopartikel ausgehend von den aminfunktionalisierten Blockcopolymeren **P5** und **P16** untersucht. Hierzu wurden Blockcopolymerer mit einer zusätzlichen Alkinfunktionalität im hydrophoben Block hergestellt und schließlich mit Piperazin terminiert (**P5**) bzw. nach der Terminierung weiter mit **K1** umgesetzt. Nach Entschützung mit Hydrazin konnte so das Blockcopolymer **P16** mit primärer Aminfunktionalität erhalten werden. Nach Mizellbildung und Kernvernetzung in wässriger Lösung wurden Polymernanopartikel erhalten, die sekundäre (**NP1**) oder primäre Amine (**NP5**) auf der Oberfläche enthielten. Insbesondere die Nanopartikel **NP5** mit primären Aminfunktionalitäten wurden anschließend mit verschiedenen, biologisch relevanten Modellverbindungen weiter umgesetzt. Dazu gehörten (a) Fluorescein, (b) Folsäure, (c) das GRGDS-Peptid als Rezeptor für $\alpha_v\beta_3$ und $\alpha_5\beta_1$ Integrine, (d) tertiäre Amine und (e) Goldnanopartikel.

Die Nanopartikelfunktionalisierung mit den Molekülen (a-c) wurde mittels UV/vis-Spektroskopie quantifiziert und im Falle des FITC mit Hilfe der IR-Spektroskopie kontrolliert. Dabei ergaben sich Modifizierungsgrade zwischen 7-23%. Dies entsprach einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ mol·mL⁻¹ an funktionellem Molekül pro Nanopartikeloberfläche. Diese Werte liegen in den von der Literatur beschriebenen Konzentrationsbereichen und sollten auch für die Interaktion mit Zellen ausreichend sein. Die Kopplung von Goldnanopartikeln mit polymeren Partikeln konnte ebenfalls mit Hilfe der UV/vis-Spektroskopie als Funktion der Zeit untersucht werden. Die dabei festgestellte Verschiebung der Plasmonenbande deutete auf eine Bildung von

Aggregaten hin. Auch die Abnahme der Absorptionsbande nach 20 h zeigte durch die Sedimentation der Partikel, dass sich große Aggregate gebildet haben, was durch DLS-Messungen bestätigt wurde.

Mit dem Ziel Einfluss auf die Größe, Form und Funktionalitätsdichte der synthetisierten Partikel zu nehmen, die für eine mögliche Anwendung als Wirkstofftransportsystem entscheidend sind, wurde im letzten Teil der Arbeit die Kopplung von polymeren Nanopartikeln zu Nanopartikel-multimeren untersucht. Als aussichtsreiche Variante erwies sich dabei die Kopplung Furan-modifizierter Polymernanopartikel mit Hilfe eines bifunktionalen Maleimid-Linkers (siehe Abbildung 71). Die Charakterisierung der so erzeugten Nanopartikel-multimere im nicht-selektiven Lösungsmittel Methanol ergab Partikel mit hydrodynamischen Radien zwischen 8-63 nm verbunden mit einer deutlich höheren Polydispersität der Probe. TEM- und AFM-Untersuchungen bestätigten das Vorliegen von Nanopartikel-multimeren.

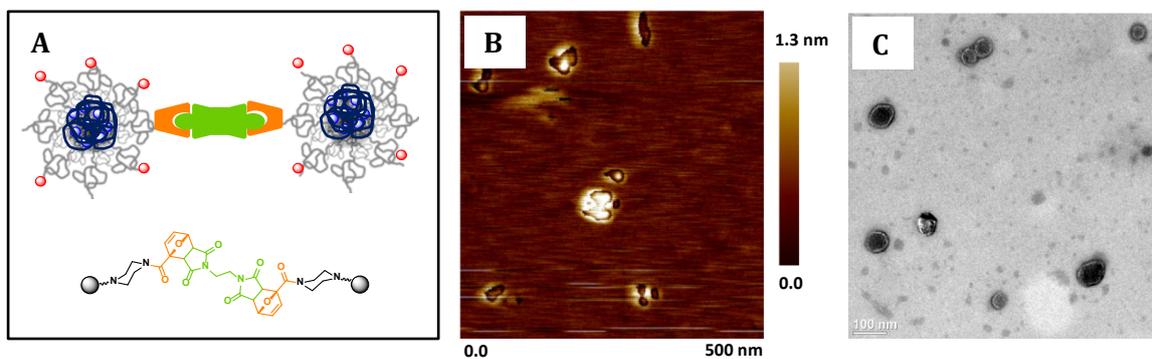


Abbildung 71 A-C: A: Nanopartikel-Kopplung über Furan-Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche und Einsatz eines bifunktionalen Maleimid-Linkers; B: AFM-Aufnahme gekoppelter Nanopartikel aus Methanol; C: TEM-Aufnahme gekoppelter Nanopartikel aus Methanol.

Ausgehend von den hier erzielten Ergebnissen sollte der Schwerpunkt zukünftiger Arbeiten die Entwicklung größerer Nanopartikel sein, z. B. durch Verwendung der Mini- oder Mikroemulsion. Interessant wären zudem weiterführende Untersuchungen der Nanopartikel mit relevanten Zelllinien, so dass auch eine zellbiologische Validierung des hier vorgestellten Konzepts der oberflächenfunktionalisierten Nanopartikel *in vitro* erfolgen könnte.

5. Experimenteller Teil

5.1 Geräte und Verfahren

ATR-FT-IR-Spektroskopie: Für die IR-Spektren wurde das ATR-FT-IR-Spektrometer Tensor 27 Platinum der Fa. *Bruker* verwendet. Für die IR-Spektren wurden die Polymere direkt als Feststoff oder die Nanopartikel in Lösung eingesetzt. Dabei wurde eine Scanzahl von 32 Scans gewählt. Die Spektren-Auswertung erfolgte mit der Software OPUS.

Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC): Die DSC-Messungen wurden mit dem Differenzkalorimeter Q100 der Fa. *TA Instruments* durchgeführt. Dabei wurde die Methode der Wärmestrom-Differenz-Scanning-Kalorimetrie verwendet. Es wurden jeweils 5-10 Milligramm des Probenmaterials in Aluminiumpfännchen eingewogen und mit dem zugehörigen Deckel verschlossen. Die Pfännchen wurden mit einer Heizrate von 5 K/min und einem Temperaturprogramm von -60 °C bis +150 °C vermessen. Als Referenz diente ein leeres Aluminiumpfännchen. Die Kühlung des Systems erfolgte mit Flüssigstickstoff. Die Auswertung erfolgte mit der Auswertungssoftware „Universal Analysis 2000“ (Fa. *TA Instruments*).

Dynamische Lichtstreuung (DLS): Die Messungen der Partikelgröße mittels Dynamischer Lichtstreuung wurden in der Physikalischen Chemie im Arbeitskreis von Prof. *Rehage* durchgeführt. Die Partikelgrößenbestimmung erfolgte mit dem Gerät Zetasizer Nano ZS der Fa. *Malvern Instruments*. Die Messungen wurden bei einer Temperatur von 25 °C durchgeführt. Der verwendete Laser emittierte Licht mit einer Wellenlänge von 633 nm und das gestreute Licht wurde in einem Winkel von 178° gemessen. Es wurden Lösungen der Polymere in Wasser und Methanol vermessen. Die Konzentration der Polymere betrug $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/L.

Dünnschichtchromatographie: Es wurden Kieselgel 60 F254 beschichtete Aluminium-DC-Folien der Fa. *Merck* verwendet. Neben UV-Detektion (254 nm) wurden die Verbindungen durch Anfärben mit Iod oder alkoholischer Anisaldehyd-Lösung und anschließendem Erhitzen sichtbar gemacht.

Fluoreszenz-Spektroskopie: Die Messungen am Fluoreszenzspektrometer wurden im Fachbereich der Physikalischen Chemie, in der Arbeitsgruppe von Prof. *Rehage*, durchgeführt. Verwendet wurde das Perkin-Elmer LS55 Fluoreszenz-Spektrometer bei einer Anregungswellenlänge von 334 nm. Als Fluoreszenzfarbstoff diente Pyren (0.01 mM Pyren-Lösung), wobei den Verdünnungsreihen 10 µL Pyren zugesetzt wurde. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm FL WinLab.

Gelpermeationschromatographie (GPC): Die chromatographischen Analysen wurden mit dem GPCMax der Fa. *Viscotek* durchgeführt. Als Laufmittel wurde Dimethylformamid mit 0.025Gew.-% Lithiumbromid verwendet. Als Säulen wurden eine Vorsäule (TSKgel HHR-H Guard Column, 6 mm x 4 cm) sowie zwei Trennsäulen (TSKgel GMHHR-M, 7.8 mm x 30 cm) der Fa. *TOSOH Bioscience* mit Poly(styrol-divinylbenzol)-Matrizes (Partikelgröße 5 µm) eingesetzt. Die Säulentemperatur betrug 60 °C, das Injektionsvolumen 100 µl und die Flussrate 0.70 mL/min. Der Brechungsindex des Eluates wurde bei einer Temperatur von 55 °C mit einem RI-Detektor der Fa. *Viscotek* gemessen. Die untersuchten Polymere wurden zuvor in Dimethylformamid ($c(\text{Polymere}) = 3 \text{ mg/mL}$) gelöst. Die Kalibrierung der Säulen erfolgte mittels Poly(styrol)-Standards (Fa. *Viscotec*). Vor jeder Messung wurden die Proben mit einem 0.2 µm Teflon Filter (Fa. *VWR*) filtriert.

Hochaufgelöste Massenchromatographie (HRMS): Die HRMAS erfolgte mit einem Accela-System, bestehend aus Accela Pumpe, Autosampler und Accela PDA-Detektor unter Verwendung einer HPLC- Säule des Typs Hypersil GOLD (Länge = 50 mm, Innendurchmesser = 1 mm, Partikelgröße = 1.9 µm), einem Eluentengradienten (A = 0.1% Ameisensäure, B = 0.1% Ameisensäure in Acetonitril, isokratischer Fluss 50% A: 50% B; Flussrate = 250 µL/min; Injektionsvolumen 5 µl, Scan im Wellenlängenbereich von 200 bis 600 nm. Die Elektronensprayionisationmassenspektren wurden mit einem LTQ Orbitrap Massenspektrometer (Quellspannung = 3.8 kV; Kapillarspannung = 41 V, Kapillartemperatur = 275 °C, Tubuslinsenspannung = 140 V, Auflösung = 60000) und unter Detektion von Massen im Bereich von 150 – 2000 m/z , aufgenommen. Beide Geräte sowie die HPLC-Säule stammen von der Fa. *Thermo Electron*.

Magnetische Kernresonanzspektroskopie (NMR): Die Charakterisierung der Verbindungen mittels ^1H - und ^{13}C -NMR- Spektroskopie wurde an FT-Geräten der Fa. *Bruker*, Typen DRX-400 (400 MHz) und DRX-500 (500 Hz), bei Raumtemperatur vorgenommen. Dabei dienten die Restprotonen der verwendeten deuterierten Lösemittel (CDCl_3 : $\delta_{\text{H}} = 7.26 \text{ ppm}$, $\delta_{\text{C}} = 77.0 \text{ ppm}$; D_2O $\delta_{\text{H}} = 4.67 \text{ ppm}$; CD_3OD : $\delta_{\text{H}} = 3.31 \text{ ppm}$, $\delta_{\text{C}} = 49.05 \text{ ppm}$; $\text{DMSO-}d_6$: $\delta_{\text{H}} = 2.50 \text{ ppm}$, $\delta_{\text{C}} = 39.5 \text{ ppm}$) als interner Standard. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgte in

ppm (parts per million), die der Kopplungskonstanten J in Hz (Hertz). Für die Angabe der Signalmultiplizitäten wurden die folgenden Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quin = Qunitett, dd = Dublett von Dublett, ddd = Dublett von Dublett von Dublett, dt = Dublett von Triplett, m = Multiplett, br = breit. ^{13}C -NMR Spektren wurden ^1H -Breitbandentkoppelt aufgenommen. Zur Prozessierung der Spektren wurde das Programm ACD/SpecManager 12.0 verwendet. Die ^1H -HR-MAS-Spektren wurden am Spektrometer DRX-500 (500 Hz), bei Raumtemperatur mit einer Rotationsfrequenz von 3 kHz aufgenommen. Für die Messungen wurde ein Zirkoniumoxid-Rotor mit einem Füllvolumen von ca. 40 μL eingesetzt. Alle ^1H -HR-MAS-Spektren wurden in *d*-MeOH aufgenommen.

Präparative Säulenchromatographie: Die säulenchromatographische Reinigung der Rohprodukte erfolgte in Glassäulen bei Normaldruck. Als stationäre Phase diente Kieselgel 60 M, der Fa. *Macherey-Nagel*. Als Eluenten dienten Gemische der Lösemittel Cyclohexan (cHex) und Ethylacetat (EtOAc). Die Mischungsverhältnisse und Retentionsfaktoren (R_f -Werte) werden an entsprechender Stelle jeweils angegeben.

Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy, AFM): Die AFM Messungen wurden am Gerät XE-Series der Fa. *Park Systems Corp.* bei Raumtemperatur durchgeführt und über die Software XEP Data Acquisition Program 1.7.70 ausgewertet. Für die Aufnahmen wurden jeweils 20 μL Probe in unterschiedlichen Konzentrationen ($c = 1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) auf die Mica-Scheiben (Fa. *science services*) getropft und 30 s mit 4000 rpm gespin-coatet. Bearbeitet wurden die Aufnahmen mit dem Programm Gwyddion 2.31.

Transmissionselektronenmikroskopie (TEM): Als Gerät wurde ein CM 200 der Fa. *Phillips/Fei* verwendet. Der Elektronenstrahl betrug 200 kV. Die Probe wurde dabei in unterschiedlichen Konzentrationen ($c = 1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L}$) auf das Kupfer-Trägermaterial (Grid) getropft und das Lösemittel vorsichtig abgetupft. Die Proben wurden dabei sowohl mit RuO_4 -Staining, wie auch ungestaint untersucht. Aufgenommen wurden die Bilder mit der Kamera Orius SC200 der Fa. *Gatan*.

UV-Vernetzung: Die Photoreaktionen wurden mit einem Quecksilberdampf-Hochdruckstrahler inklusive Tauch- und Kühlrohr, der Fa. *Heraeus*, durchgeführt. Beide Rohre bestanden aus Quarzglas und DURAN® 50, Typ TQ 150. Die eingestrahlte Wellenlänge betrug 254 nm. Die Konzentration der zu vernetzenden Polymer-Lösungen betrug $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

UV/Vis-Spektroskopie: Die UV/Vis-Spektroskopischen Untersuchungen wurden am Gerät Evolution 201 der Fa. *Thermo-Scientific* bei Raumtemperatur durchgeführt. Für die Erstellung der Kalibriergeraden wurden die zu koppelnden Substanzen in unterschiedlichen

Konzentrationen, sofern nicht anders im Text markiert, in spektralreinem Acetonitril untersucht.

5.2 Lösungsmittel und Reagenzien

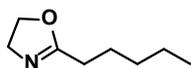
Die Lösungsmittel technischer Reinheit wurden durch Destillation unter vermindertem Druck gereinigt. Trockene, absolute Lösungsmittel (Dichlormethan, Dimethylformiat, Diethylether, Tetrahydrofuran) wurden einem Lösungsmitteltrockenschranksystem der Fa. *MBraun* des Typs SPS-800 entnommen. Dieses wird mit Argon als Inertgas, aktivierten Aluminiumoxid-Säulen und Lösungsmitteln der Fa. *Fischer Scientific* (HPLC Reinheit) betrieben.

Trockenes Acetonitril wurde von der Fa. *Acros* (99.9%) in Septumflaschen, über Molsieb gelagert, bezogen. Reaktionen, die unter Ausschluss von Feuchtigkeit durchgeführt werden mussten, wurden in ausgeheizten Glasapparaturen unter Argonatmosphäre durchgeführt. Die Zugabe der flüssigen Reaktanden, in die mit Septen verschlossenen Reaktionsgefäße, erfolgte unter Verwendung von Einmalspritzen. Alle weiteren Chemikalien wurden von den Fa. *ABCR*, *Acros*, *Alfa-Aesar*, *Sigma-Aldrich* oder *TCI* bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt.

5.3 Synthesen

5.3.1 Synthesen der Monomere

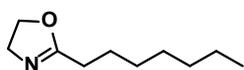
2-Pentyl-2-oxazolin, (5)



In einem Dreihalskolben werden *n*-Pentylcyanid (8.00 g, 82.3 mmol, 1.0 eq.) und 2-Ethanolamin (7.40 g, 124 mmol, 1.5 eq.) vorgelegt und mit Cadmium(II)acetat-dihydrat (0.44 g, 1.60 mmol, 0.02 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 20 h bei 130 °C refluxiert. Unter Feinvakuum wird das Rohprodukt mit Hilfe einer K-Destille mit Vigreux-Kolonnen, destilliert und das überschüssige 2-Ethanolamin abgetrennt. Das Trocknen des Produktes erfolgt durch Rühren über CaH₂. Durch anschließende Destillation wird das gewünschte Produkt als farblose Flüssigkeit erhalten (9.53 g, 67.5 mmol, 82%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.88-0.92 (m, 3H, CH₃), 1.31-1.34 (m, 6H, (CH₂)₃), 1.60-1.67 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 2.27 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, N-C-CH₂), 3.82 (t, *J* = 9.5 Hz, 2H, CH₂-O), 4.22 (t, *J* = 9.5 Hz, 2H, CH₂-N); **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 13.92 (1C, CH₃), 22.31 (1C, CH₂-CH₃), 25.66, 27.93 (4C, CH₂-CH₂-CH₂), 31.40 (1C, C-CH₂), 54.35 (1C, CH₂-N), 67.10 (1C, CH₂-O), 168.67 (1C, N-C-O); **HRMS** (ESI): *m/z* für C₈H₁₅NO [M+H]⁺, berechnet 142.1233 gefunden 142.1225.

2-Heptyl-2-oxazolin, (6)

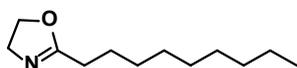


In einem Dreihalskolben werden *n*-Heptylcyanid (10.0 g, 79.4 mmol, 1.0 eq.) und 2-Ethanolamin (7.28 g, 188 mmol, 1.5 eq.) vorgelegt und mit Cadmium (II)acetat-dihydrat (0.43 g, 1.60 mmol, 0.02 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 20 h bei 130 °C refluxiert. Unter Feinvakuum wird das Rohprodukt mit Hilfe einer K-Destille mit Vigreux-Kolonnen, destilliert und das überschüssige 2-Ethanolamin abgetrennt. Das Trocknen des Produktes

erfolgt durch Rühren über CaH_2 . Durch anschließende Destillation wird das gewünschte Produkt als farblose Flüssigkeit erhalten (10.2 g, 60.3 mmol, 76%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.83-0.86 (m, 3H, CH_3), 1.25-1.30 (m, 8H, $(\text{CH}_2)_4$), 1.56-1.63 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 2.23 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, N-C- CH_2), 3.79 (t, $J = 9.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.18 (t, $J = 9.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$); **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 13.99 (1C, CH_3), 22.53 (1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 25.89, 27.89, 28.85, 29.11 (4C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 31.58 (1C, C- CH_2), 54.27 (1C, $\text{CH}_2\text{-N}$), 67.02 (1C, $\text{CH}_2\text{-O}$), 168.59 (1C, N-C-O); **HRMS** (ESI): m/z für $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, berechnet 170.1546 gefunden 170.1542.

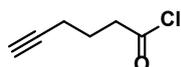
2-Nonyl-2-oxazolin, (7)



In einem Dreihalskolben werden *n*-Nonylcyanid (5.00 g, 32.6 mmol, 1.0 eq.) und 2-Ethanolamin (7.50 g, 48.9 mmol, 1.5 eq.) vorgelegt und mit Cadmium(II)acetat-dihydrat (0.17 g, 0.65 mmol, 0.02 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 20 h bei 130 °C refluxiert. Unter Feinvakuum wird das Rohprodukt mit Hilfe einer K-Destille mit Vigreux-Kolonnen, destilliert und das überschüssige 2-Ethanolamin abgetrennt. Das Trocknen des Produktes erfolgt durch Rühren über CaH_2 . Durch anschließende Destillation wird das gewünschte Produkt als farblose Flüssigkeit erhalten (4.18 g, 21.2 mmol, 65%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.83-0.86 (m, 3H, CH_3), 1.24-1.32 (m, 12H, $(\text{CH}_2)_6$), 1.56-1.63 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 2.23 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, N-C- CH_2), 3.79 (t, $J = 9.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.19 (t, $J = 9.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$); **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 14.00 (1C, CH_3), 22.58 (1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 25.90, 27.91, 29.16, 29.19, 29.34 (5C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 31.79 (1C, C- CH_2), 54.31 (1C, $\text{CH}_2\text{-N}$), 67.02 (1C, $\text{CH}_2\text{-O}$), 168.59 (1C, N-C-O); **HRMS** (ESI): m/z für $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, berechnet 198.1859 gefunden 198.1852.

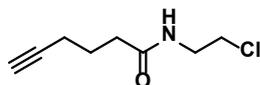
5-Hexynylchlorid, (10)



Unter Argon-Schutzgasatmosphäre werden 5-Hexinsäure (13.8 g, 111 mmol, 1.0 eq.) und Thionylchlorid (17.6 g, 148 mmol, 1.2 eq.) bei 90 °C refluxiert. Wenn keine Gasentwicklung mehr zu sehen ist und sich eine rot-braune Lösung gebildet hat, kann die Reaktion abgebrochen werden. Unter Feinvakuum wird das Rohprodukt destilliert und das gewünschte Produkt als farblose Flüssigkeit erhalten (15.3 g, 117 mmol, 93%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.89 (quin., J = 8 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 2.00 (t, J = 2 Hz, 1H, CH \equiv CH₂), 2.28 (td, J = 4 Hz, 2H, CH \equiv CH₂), 3.05 (t, J = 8 Hz, 2H, CH₂-CO). **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 17.2 (CH₂-CH₂-CH₂), 23.6 (CH₂-CH₂-CH₂), 45.5 (CH₂-CH₂-CH₂), 69.9 (CH \equiv C), 82.1 (CH \equiv C), 173.4 (C=O). **HRMS** (ESI): m/z für C₆H₇ClO [M+H]⁺, berechnet 131.0264 gefunden 131.0269.

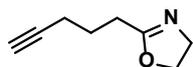
Hex-5-insäure-(2-chloroethyl)-amid, (12)



5-Hexynylchlorid (15.3 g, 117 mmol, 1.0 eq.) wird in 250 mL trockenem DCM gelöst. Unter Eiskühlung wird 2-Chloroethylamin Hydrochlorid (27.2 g, 235 mmol, 2.0 eq.) zugegeben. Danach wird innerhalb 1 h TEA hinzugegeben (29.2 g, 289 mmol, 2.5 eq.). Das Reaktionsgemisch wird 30 min bei 0 °C, und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Der entstandene Feststoff wird durch Zugabe von 10 mL Wasser gelöst. Die Lösung wird anschließend 3 Mal mit je 15 mL Wasser und 3 Mal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt. Das Produkt wird als gelbes Öl erhalten (12.2 g, 70.3 mmol, 60%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.86 (t, J = 6,8 Hz, 2H, CH \equiv C-CH₂-CH₂-CH₂), 1.95 (t, J = 3 Hz, 1H, CH \equiv C), 2.24 (m, 2H, CH \equiv C-CH₂-CH₂), 2.35 (t, J = 7.8 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CO), 3.61 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂), 5.89 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 17.81 (\equiv C-CH₂), 24.02 (CH₂-CH₂-CH₂), 34.92 (CH₂-CH₂-CO), 41.17 (NH-CH₂), 44.11 (CH₂-Cl), 69.27 (CH \equiv C-), 83.36 (CH \equiv C), 172.36 (C=O); **HRMS** (ESI): m/z für C₈H₁₂ClNO [M+H]⁺, berechnet 174.0686 gefunden 174.0680.

2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin, (13)



Hex-5-insäure-2-chloroethylamid (12.2 g, 70.3 mmol, 1.0 eq.) wird in 50 mL Methanol gelöst und anschließend mit NaOH (3.66 g, 91.4 mmol, 1.3 eq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 48 h bei RT gerührt. Nach Entfernen des Methanols unter verminderten Druck wird der Feststoff in 10 mL DCM gelöst und 3 Mal mit Wasser gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels entsteht eine hellgelbe Flüssigkeit, die über CaH₂ getrocknet wird. Durch Destillation wird das gewünschte Produkt als farblose Flüssigkeit erhalten (7.78 g, 56.7 mmol, 81%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.88 (ps-quin, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 1.95 (t, J = 2.7 Hz, 2H, CH \equiv C), 2.27 (td, J = 7.0 Hz, J = 2.7 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 2.39 (t, J = 2.7 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 3.80 (t, J = 9,3 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-N), 4.20 (t, J = 9,3 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-N). **¹³C-NMR** (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.17 (1C, C \equiv C-CH₂), 24.94 (1C, CH₂-CH₂-CH₂), 26.93 (1C, CH₂-CH₂-C-NO), 54.60 (1C, N-CH₂), 67.42 (1C, CH₂-O), 69.71 (1C, CH \equiv C), 83.65 (1C, CH \equiv C), 167.96 (1C, C=O); **HRMS** (ESI): m/z für C₈H₁₁NO [M+H]⁺, berechnet 138.0920 gefunden 138.0923.

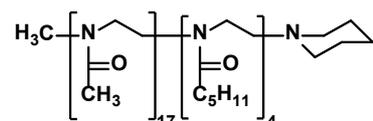
5.3.2 Synthesen der amphiphilen Blockcopolymere

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von Poly(2-oxazolin)e für die NMR-Spektroskopischen Untersuchungen

Die Polymerisationen werden in einem luftdicht verschlossenen Druckschlenkkolben, unter Inertgasatmosphäre durchgeführt. Unter Argongegenstrom und Eiskühlung wird zuerst das Methyltriflat in Acetonitril vorgelegt und dann 2-Methyl-2-oxazolin (20 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 2 h bei 120 °C gerührt, bevor 2-Alkyl-2-oxazolin (5.0 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) hinzugegeben wird. Das Reaktionsgemisch wird weitere 4 h bei 110 °C gerührt und anschließend bei Raumtemperatur durch die Zugabe von Piperidin (3.0 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) terminiert. Nach dem Rühren über Nacht wird das Lösemittel unter Vakuum vollständig entfernt, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit K₂CO₃ versetzt und 3 h bei

RT gerührt. Der Feststoff wird abfiltriert und das Polymer in kaltem Diethylether gefällt. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

Poly[(MetOx)₁₇-*block*-(PentOx)₄]-Piperidin, (P1)



Ausbeute: 83% (1.03 g).

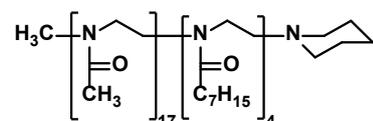
Polymerisationsgrad (Theor.): CH₃-(MetOx)₂₀-*block*-(PentOx)₅-Piperidin; $\bar{M}_n = 2507$ g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.89 (s, 12H, CH₃, PentOx), 1.26 (m, 16H, (CH₂, PentOx)₂), 2.05-2.12 (m, 51H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH_{3,1}), 3.43 (m, 85H, CH₂-CH₂, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., ¹H-NMR): CH₃-(MetOx)₁₇-*block*-(PentOx)₄-Piperidin;
 $\bar{M}_n = 2111$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 2980$ g/mol; **PDI** = 1.17.

Poly[(MetOx)₁₇-*block*-(HepOx)₄]-Piperidin, (P2)



Ausbeute: 75% (0.98 g)

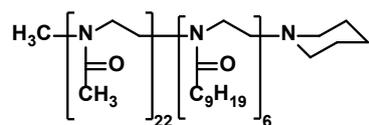
Polymerisationsgrad (Theor.): CH₃-(MetOx)₂₀-*block*-(HepOx)₅-Piperidin; $\bar{M}_n = 2647$ g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.87 (s, 13H, CH₃, HepOx), 1.28 (m, 32H, (CH₂, HepOx)₄), 2.05-2.12 (m, 51H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH_{3,1}), 3.45 (m, 85H, CH₂-CH₂, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., ¹H-NMR): CH₃-(MetOx)₁₇-*block*-(HepOx)₄-Piperidin;
 $\bar{M}_n = 2223$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 2840$ g/mol; **PDI** = 1.08.

Poly[(MetOx)₂₂-*block*-(NonOx)₆]-Piperidin, (P3)



Ausbeute: 74% (1.38 g).

Polymerisationsgrad (Theor.): CH₃-(MetOx)₂₀-*block*-(NonOx)₅-Piperidin; $\bar{M}_n = 2787$ g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.88 (s, 19H, CH₃, NonOx), 1.26 (m, 72H, (CH₂, NonOx)₆), 2.05-2.12 (m, 68H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃,₁), 3.43 (m, 112H, CH₂-CH₂, Rückgrat).

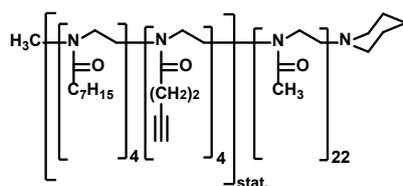
Polymerisationsgrad (Exp., ¹H-NMR): CH₃-(MetOx)₂₂-*block*-(NonOx)₆-Piperidin;
 $\bar{M}_n = 3155$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3450$ g/mol; **PDI** = 1.10.

5.3.3 Synthese von funktionalisierten Poly(2-Oxazolin)en

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von funktionalisierten Poly(2-oxazolin)en für die Kernvernetzung.

Die Polymerisationen werden in einem luftdicht verschlossenen Druckschlenkkolben, unter Inertgasatmosphäre durchgeführt. Unter Argongegenstrom und Eiskühlung wird zuerst Methyltriflat in Acetonitril vorgelegt und dann 2-Methyl-2-oxazolin (24 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 2 h bei 120 °C gerührt, bevor 2-Heptyl-2-oxazolin (3.0 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) und das jeweilige funktionalisierte 2-Oxazolin (3.0 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) hinzugegeben werden. Das Reaktionsgemisch wird weitere 4 h bei 110 °C gerührt und anschließend bei Raumtemperatur durch die Zugabe von Piperidin (3.0 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) terminiert. Nach dem Rühren über Nacht wird das Lösemittel unter Vakuum vollständig entfernt, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit K₂CO₃ versetzt und 3 h bei RT gerührt. Der Feststoff wird abfiltriert und das Polymer in kaltem Diethylether gefällt. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

Poly[$\{(\text{HeptOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Piperidin, (P4)}$


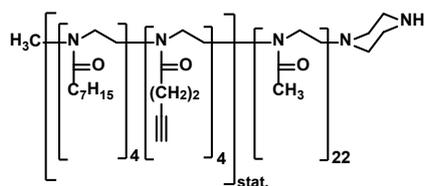
Ausbeute: 86% (2.69 g).

Polymerisationsgrad (Theor.): $\text{CH}_3\text{-}\{(\text{HepOx})_3\text{-co-(PentynOx)}_3\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{24}\text{-Piperidin}$;
 $\bar{M}_n = 3060 \text{ g/mol}$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.88 (s, 13H, CH_3 , HepOx), 1.29 (m, 35H, $(\text{CH}_2, \text{HepOx})_4$), 1.88 (ps-quin, 8H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.05-2.12 (m, 66H), 3.02/2.93 (m, 3H, CH_3 , i), 3.43 (m, 119H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., $^1\text{H-NMR}$): $\text{CH}_3\text{-}\{(\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Piperidin}$; $\bar{M}_n = 3196 \text{ g/mol}$.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3740 \text{ g/mol}$; **PDI** = 1.07.

Poly[$\{(\text{HeptOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Piperazin, (P5)}$


Ausbeute: 82% (2.57 g).

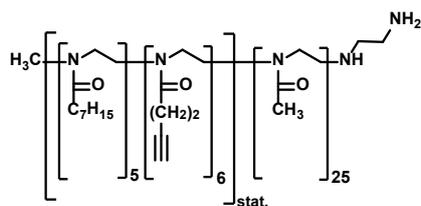
Polymerisationsgrad (Theor.): $\text{CH}_3\text{-}\{(\text{HepOx})_3\text{-co-(PentynOx)}_3\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{24}\text{-Piperazin}$;
 $\bar{M}_n = 3060 \text{ g/mol}$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.88 (s, 13H, CH_3 , HepOx), 1.29 (m, 35H, $(\text{CH}_2, \text{HepOx})_4$), 1.88 (ps-quin, 8H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.05-2.12 (m, 66H), 3.02/2.93 (m, 3H, CH_3 , i), 3.43 (m, 119H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., $^1\text{H-NMR}$): $\text{CH}_3\text{-}\{(\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Piperazin}$; $\bar{M}_n = 3197 \text{ g/mol}$.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3440 \text{ g/mol}$; **PDI** = 1.08.

Poly{[(HepOx)₅-co-(PentynOx)₆]_{stat}-block-(MetOx)₂₅}-Ethyldiamin, (P6)



Ausbeute: 68% (2.11 g).

Polymerisationsgrad (Theor.): CH₃-{(HepOx)₃-co-(PentynOx)₃]_{stat}-block-(MetOx)₂₄-Ethyldiamin; $\bar{M}_n = 3036$ g/mol.

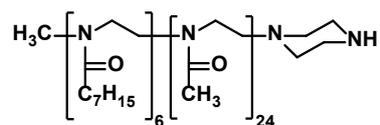
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.88 (s, 13H, CH₃, HepOx), 1.29 (m, 35H, (CH₂, HepOx)₄), 1.88 (ps-quin, 8H, CH₂-CH₂-CH₂), 2.05-2.12 (m, 66H), 3.02/2.93 (m, 3H, CH₃, i), 3.43 (m, 119H, CH₂-CH₂, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., ¹H-NMR): CH₃-{(HepOx)₅-co-(PentynOx)₆]_{stat}-block-(MetOx)₂₅-Ethyldiamin; $\bar{M}_n = 3780$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3340$ g/mol; **PDI** = 1.12.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von Poly(2-oxazolin)e für die Kopplungs-experimente

Die Polymerisation wird in einem luftdicht verschlossenen Druckschlenkkolben, unter Inertgasatmosphäre durchgeführt. Unter Argongegenstrom und Eiskühlung wird zuerst Methyltriflat in Acetonitril vorgelegt und dann 2-Heptyl-2-oxazolin (6.0 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 4h bei 110 °C gerührt, bevor 2-Methyl-2-oxazolin (24 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) hinzugegeben wird. Das Reaktionsgemisch wird weitere 2 h bei 120°C gerührt und anschließend bei Raumtemperatur durch die Zugabe von Piperazin (20 eq. bezogen auf die Stoffmenge des Initiators) terminiert. Nach dem Rühren über Nacht werden die Lösemittel unter Vakuum vollständig entfernt, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit K₂CO₃ versetzt und 3 h bei RT gerührt. Der Feststoff wird abfiltriert und das Polymer in kaltem Diethylether gefällt. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin, (P7)

Ausbeute: 82% (2.30 g).

Polymerisationsgrad (Theor.): CH₃-(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄-Piperazin; $\bar{M}_n = 3158$ g/mol.

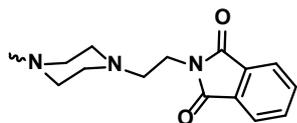
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.85 (s, 18H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 48H, (CH₂, HepOx)₄), 2.05-2.12 (m, 75H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃, I), 3.43 (m, 120H, CH₂-CH₂, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., ¹H-NMR): CH₃-(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄-Piperazin;
 $\bar{M}_n = 3158$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3920$ g/mol; **PDI** = 1.13.

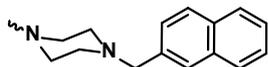
5.3.4 Kopplungsexperimente am Poly(2-Oxazolin)**Allgemeine Arbeitsvorschriften für die Kopplungsexperimente mit K1-K4**

Kopplung I. Eine Mischung des Polymers **P7** (0.20 g, 0.06 mmol), Kupplungsreagenz **K1-K4** (0.08 mmol), K₂CO₃ (0.02 g, 0.11 mmol) und einer katalytischen Menge an Natriumiodid in CH₃CN (5 mL) werden für 24-72 h unter Argon-Schutzgasatmosphäre refluxiert. Der Feststoff wird anschließend abfiltriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und das Polymer durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

P7~N-(2-Bromoethyl)phthalimid, (P8)

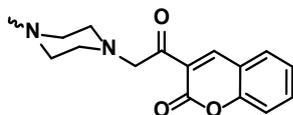
Ausbeute: 62% (0.13 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.83 (s, 19H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 50H, (CH₂, HepOx)₄), 1.55 (s, 12H), 2.05-2.12 (m, 77H), 2.59 (m, 1H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃, I), 3.42 (m, 122H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 3.77 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.79 (m, 1H).

P7~2-(Bromoethyl)naphthalen, (P9)

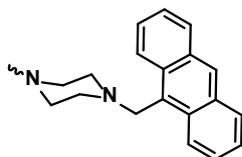
Ausbeute: 74% (0.16 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.88 (s, 19H, CH₃, HepOx), 1.28 (m, 51H, (CH₂, HepOx)₄), 1.60 (s, 13H), 2.05-2.12 (m, 91H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃, I), 3.45 (m, 124H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 7.53 (m, 2H), 7.86 (m, 2H).

P7~3-(Bromoacetyl)coumarin, (P10)

Ausbeute: 68% (0.15 g).

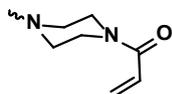
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.86 (s, 21H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 56H, (CH₂, HepOx)₄), 1.57 (s, 13H), 2.05-2.12 (m, 81H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃, I), 3.43 (m, 112H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 7.65 (m, 1H).

P7~9-(Chloromoethyl)anthracen, (P11)

Ausbeute: 62% (0.14 g).

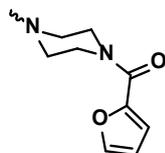
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.86 (s, 21H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 56H, (CH₂, HepOx)₄), 1.57 (s, 13H), 2.05-2.12 (m, 81H), 3.03/2.94 (m, 3H, CH₃, I), 3.43 (m, 112H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 7.38 (m, 4H), 7.89 (m, 2H), 7.96 (m, 2H), 8.15 (m, 1H).

Kopplung II. Polymer **P5** (0.20 g, 0.06 mmol) und Triethylamin (0.15 mmol) werden in DCM gelöst. Die Mischung wird auf 0 °C gekühlt, bevor das Kopplungsreagenz (0.08 mmol) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt wird. Anschließend wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform gelöst und das Polymer durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten. Das gefällte Polymer wird ab zentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet. Durch Dialysieren über 24 h gegen Wasser erhält man das saubere Endprodukt.

P7~Acrylsäurechlorid, (P12)

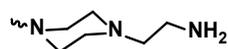
Ausbeute: 51% (0.18 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.86 (s, 21H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 56H, (CH₂, HepOx)₄), 1.57 (s, 13H), 2.05-2.12 (m, 81H), 3.03/2.94 (m, 3H, CH₃, I), 3.43 (m, 112H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 5.87 (m, 1H, CH₂=CH, Acrylsäure), 6.10 (m, 1H, CH₂=CH, Acrylsäure), 6.39 (m, 1H, CH₂=CH, Acrylsäure).

P7~Furoylchlorid, (P13)

Ausbeute: 87% (0.19 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.86 (s, 21H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 56H, (CH₂, HepOx)₄), 1.57 (s, 13H), 2.05-2.12 (m, 81H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃, I), 3.43 (m, 112H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 6.49 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 7.49 (d, 1H).

P8~Ethylenamin, (P14)

Eine Mischung des Polymers **P8** (0.10 g, 0.03 mmol) und Hydrazin (0.003 g, 0.09 mmol) werden für 3 h unter Argon-Schutzgasatmosphäre refluxiert. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert und mit kaltem Ethanol gewaschen. Anschließend wird die Lösung basisch eingestellt (pH=8) und das Lösemittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und das Polymer durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

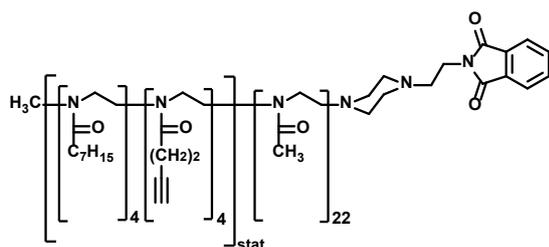
Ausbeute: 62% (0.13 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.83 (s, 19H, CH₃, HepOx), 1.26 (m, 50H, (CH₂, HepOx)₄), 1.55 (s, 12H), 2.05-2.12 (m, 77H), 2.59 (m, 1H), 3.01/2.92 (m, 3H, CH₃, I), 3.42 (m, 122H, CH₂-CH₂, Rückgrat), 3.77 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.79 (m, 1H).

5.3.5 Nanopartikelsynthese

Die Synthese der Piperazin-funktionalisierten Nanopartikel erfolgte ausgehend von Polymer **P5**. Für die Synthese des Nanopartikel mit primären Amin als Funktionalität (**NP2**) musste Polymer **P5** weiter modifiziert werden.

Poly[$\{(\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Phthalimid}$, (**P15**)



Eine Mischung des Polymers **P5** (0.20 g, 0.06 mmol, 1.0 eq.), *N*-(2-Bromoethyl)phthalimid (0.02 g, 0.08 mmol, 1.2 eq.), K_2CO_3 (0.02 g, 0.11 mmol, 1.9 eq.) und einer katalytischen Menge an Natriumiodid in CH_3CN (5 mL) werden für 72 h unter Argon-Schutzgasatmosphäre refluxiert. Der Feststoff wird anschließend abfiltriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und das Polymer durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

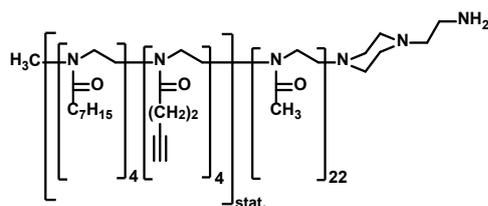
Ausbeute: 87% (0.18 g).

Polymerisationsgrad (Theor.): $\text{CH}_3\text{-}\{(\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Piperazin-Phthalimid}$; $\bar{M}_n = 3372$ g/mol.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.87 (s, 12H, CH_3 , HepOx), 1.28 (m, 32H, $(\text{CH}_2$, HepOx) $_4$), 1.88 (ps-quin, 8H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.05-2.12 (m, 65H), 3.02/2.93 (m, 3H, CH_3 , i), 3.43 (m, 118H, CH_2 , Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., $^1\text{H-NMR}$): $\text{CH}_3\text{-}\{(\text{HepOx})_4\text{-co-(PentynOx)}_4\}_{\text{stat}}\text{-block-(MetOx)}_{22}\text{-Piperazin-Phthalimid}$; $\bar{M}_n = 3372$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3680$ g/mol; **PDI** = 1.08.

Poly{[(HepOx)₄-co-(PentynOx)₄]_{stat}-block-(MeOx)₂₂-Ethylenamin, (P16)


Eine Mischung des Polymers **P15** (0.10 g, 0.03 mmol) und Hydrazin (0.003 g, 0.09 mmol) werden für 3 h unter Argon-Schutzgasatmosphäre refluxiert. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert und mit kaltem Ethanol gewaschen. Anschließend wird die Lösung basisch eingestellt (pH=8) und das Lösemittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und das Polymer durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten. Das gefällte Polymer wird abzentrifugiert, in wenig Chloroform gelöst und wiederum in Diethylether gefällt. Dieser Prozess wird einige Male wiederholt. Der erhaltene Feststoff wird abschließend unter Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 98% (0.09 g).

Polymerisationsgrad (Theor.): CH₃-{(HepOx)₄-co-(PentynOx)₄]_{stat}-block-(MetOx)₂₂-Piperazin-Ethylamin; $\bar{M}_n = 3104$ g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.87 (s, 12H, CH₃, HepOx), 1.27 (m, 33H, (CH₂, HepOx)₄), 1.83 (ps-quin, 8H, CH₂-CH₂-CH₂), 2.05-2.12 (m, 65H), 3.02/2.93 (m, 3H, CH₃, i), 3.45 (m, 120H, CH₂-CH₂, Rückgrat).

Polymerisationsgrad (Exp., ¹H-NMR): CH₃-{(HepOx)₄-co-(PentynOx)₄]_{stat}-block-(MetOx)₂₂-Piperazin-Ethylenamin; $\bar{M}_n = 3104$ g/mol.

GPC (DMF/LiBr): $\bar{M}_n = 3360$ g/mol; **PDI** = 1.08.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Kern-Stabilisierung durch Photovernetzung

Für die UV-Vernetzungen wird eine 1 mM-Lösung des zu vernetzenden Polymers **P5 (P16)** in Wasser (20 mL) hergestellt. Die Lösung wird anschließend 30 min entgast. Danach wird das Reaktionsgemisch mit 2-Propanthiol (12.5 eq., 6.2 eq., 2.5 eq., 1.3 eq., 0.1 eq., 0.06 eq., 0.03 eq., 0.02 eq.) versetzt und 2.5 h mit UV-Licht bei Raumtemperatur bestrahlt. Anschließend wird das Lösemittel unter verminderten Druck entfernt und die Partikel **NP1 (NP5)** erhalten.

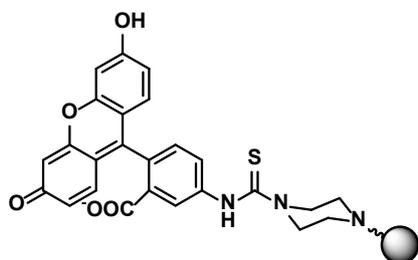
5.3.6 Kopplungsexperimente an kernstabilisierten Nanopartikeln

5.3.6.1 Funktionalisierung mit UV-aktiven Testmolekülen (K1-K3)

Allgemeine Arbeitsvorschrift. 5 mL der vernetzten Probe (0.005 mmol, 1 eq.) werden bis zur Trockene einrotiert und zusätzlich im Trockenschrank getrocknet. Anschließend wird das trockene Nanopartikel in CH₃CN (5 mL) aufgenommen. Danach erfolgt die Zugabe des Kopplungsreagenz (**K1-K3**) (0.007 mmol, 1.4 eq.), K₂CO₃ (0.01 mmol, 2.2 eq.) und einer katalytischen Menge an Natriumiodid. Das Reaktionsgemisch wird 72 h unter Argon-Schutzgasatmosphäre refluxiert. Der Feststoff wird anschließend abfiltriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und die Nanopartikel **NP2-4 (NP5-8)** durch Ausfällen in kaltem Diethylether und anschließender Dialyse, über 24 h in Wasser, erhalten.

5.3.6.2 Funktionalisierung mit biomedizinisch relevanten Molekülen

FITC-Funktionalisierung, (NP9a, NP9b)



NP1 (NP5) (17.5 mg, 0.005 mmol, 1.0 eq.) wird in 5 mL Ethanol gelöst und mit FITC (1.90 mg, 0.007 mmol, 1.3 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 16 h bei 45 °C unter Lichtausschluss

gerührt. Anschließend wird das Lösemittel unter vermindertem Druck destillativ entfernt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt. Die Aufreinigung erfolgt durch Dialyse über 24 h in Wasser.

Folsäure-Funktionalisierung, (NP10)

Vorschrift 1. NP5 (70.0 mg, 0.02 mmol, 1.0 eq.) wird in 5 mL trockenem DCM gelöst. Anschließend versetzt man die Lösung mit Folsäure (17.7 mg, 0.04 mmol, 2.0 eq.) und EDC-Hydrochlorid (8.00 mg, 0.04 mmol). Die Suspension wird unter Rühren auf -78 °C gekühlt. Anschließend wird langsam TEA (5.00 mg, 0.05 mmol) zu getropft. Die Reaktionsgemisch wird 20 h gerührt und taut während dieser Zeit langsam auf RT auf. Anschließend wird das Lösemittel unter vermindertem Druck destillativ entfernt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt. Die Aufreinigung erfolgt durch Dialyse über 24 h in Wasser.

Vorschrift 2. Folsäure (2.20 mg, 0.005 mmol, 1.0 eq.) wird unter Argonatmosphäre in 1 mL trockenem DMF gelöst. Anschließend werden BTFFH (1.90 mg, 0.006 mmol, 1.2 eq.) und DIPEA (1.3 mg, 0.01 mmol, 2.0 eq.) hinzugefügt. Nachdem das Reaktionsgemisch 15 min gerührt wurde, wird es mit einer mit Schutzgas gefüllten Spritze aufgezogen. Anschließend wird der Nanopartikel (17.5 mg, 0.005 mmol, 1.0 eq.) in 4 mL DMF gelöst und mit DIPEA (1.30 mg, 0.01 mmol, 2.0 eq.) versetzt. Die Lösung wird nun einige Minuten lang entgast bevor die mit der Folsäure gefüllte Spritze dazu gegeben wird. Das Reaktionsgemisch wird 30 min gerührt. Anschließend wird der Feststoff abfiltriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck destillativ entfernt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Peptid-Funktionalisierung

Bevor das Peptid **14** an das Nanopartikel gekoppelt wurde, erfolgten zunächst die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe (a), die Modifizierung mit Pentafluorbenzoylchlorid (b) und die anschließende Abspaltung des Peptids vom Harz (c).

Fmoc-Abspaltung

300 mg am Harz gekoppeltes Peptid werden 15 min lang in einer Lösung aus 40% Piperidin in trockenem DMF (5 mL) geschüttelt. Anschließend wird dieses 6 Mal mit DMF gewaschen und erneut 15 min lang in der Piperidin/DMF-Lösung geschüttelt bevor es abschließend wieder mit DMF gewaschen wird.

Modifizierung mit Pentafluorbenzoylchlorid

170 mg Peptid (0.15 mmol, 1 eq.) und DIPEA (0.08 g, 0.61 mmol, 4.0 eq.) werden in DMF gelöst. Die Mischung wird auf 0 °C gekühlt, bevor Pentafluorbenzoylchlorid (0.07 g, 0.31 mmol) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 12 h gerührt wird. Anschließend wird das am Harz gekoppelte Peptid 6 Mal mit DMF und im Anschluss 6 Mal mit DCM gewaschen bevor es dann unter Vakuum getrocknet wird.

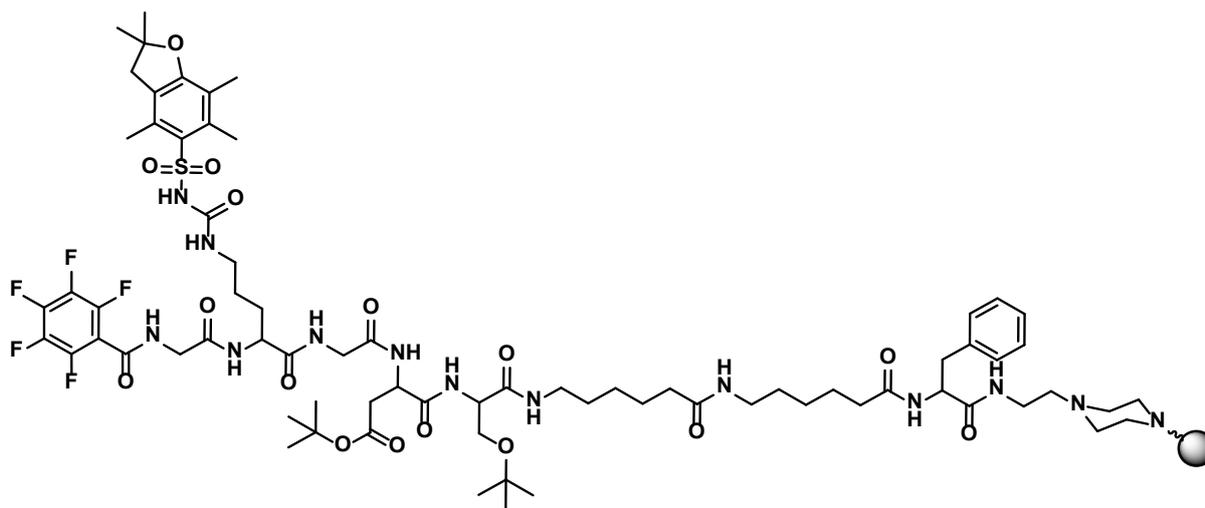
Abspaltung vom Harz, (15)

Das modifizierte Peptid wird 2 h in einer Lösung aus 20% Essigsäure in DCM geschüttelt. Die Lösung wird vom Harz abfiltriert und auf ein Volumen von 1 mL eingengt. Dieses wird im Anschluss in kalten Diethylether getropft und das Peptid fällt als leicht brauner Niederschlag aus. Der Feststoff wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und getrocknet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.19 (s, 9H, -CH₃), 1.28-1.29 (m, 4H, CH₂-CH₂), 1.38 (s, 9H, -CH₃), 1.46 (s, 6H, -CH₃), 1.52-1.55 (m, 6H, -CH₂-CH₂-), 1.79 (m, 2H, -CH₂-CH₂-), 2.05-2.10 (m, 4H, -CH₂-CO), 2.34 (m, 6H, -CH₃), 2.69 (m, 2H, -CH₂-CO), 2.89 (m, 2H, C-CH₂-C-), 3.10-3.20 (m, 4H, -CH₂-CH₂-), 3.33 (m, 2H, -CH₂-O-), 4.09 (s, 2H, -CH₂-NH-), 4.53 (m, 1H, -C-NH₂), 4.86-4.92 (m, 2H, -C-CO), 5.19 (m, 1H, -C-NH), 7.29 (m, 2H, -CH=CH-), 7.40 (m, 2H, -CH=CH-), 8.03 (br, 9H, -NH-).
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 28.41 (2C, -CH₃), 12.22 (1C, -CH₃), 18.64 (1C, -CH₃), 19.80

(1C, -CH₃), 23.45 (1C, -CH₂-CH₂-), 25.30 (2C, -CH₂-CH₂-), 25.75 (2C, -CH₂-CH₂-), 28.20 (3C, -CH₃), 28.40 (4H, -CH₃), 28.50 (1C, -CH₂-CH₂), 28.70 (3C, -CH₃), 29.32 (2C, -CH₂-CH₂), 36.10 (1C, -CH₂-CO-NH-), 36.50 (1C, -CH₂-CO-NH-), 37.41 (1C, -CH₂-C=C-), 39.2 (6C, -NH-CH₂-CH₂), 41.73 (1C, -CH₂-CO), 43.00 (1C, NH-CH₂-), 43.58 (1C, -CH₂-CO), 56.52 (-C-CO), 58.71 (1C, CH₂-C-CO) 61.70 (1C, -CH₂-O-), 81.43 (1C, -C-O-CH₂), 82.75 (1C, -C-O-CH₂), 94.84 (1C, CO), 113.02 (1C, -C=C-F), 119.05 (1C, -C=C-), 124.41 (1C, -C-CH₃), 125.94 (1C, -CH=CH-), 127.75 (1C, -CH=C), 128.63 (2C, -CH=CH-), 131.34 (1C, -C=C-), 135.05 (2C, -C-F), 136.62 (1C, CO-C-CH₂-), 138.70 (1C, -C-SO₂), 144.15 (2C, -C-F), 146.72 (1C, -C-F), 160.51 (1C, -C=C), 162.52 (1C, -CO), 167.80 (1C, -CO-NH), 170.74 (2C, -NH-CO), 171.72 (1C, -COOH), 172.56 (2C, -NH-CO), 173.98 (1C, -CO-NH). **¹⁹F-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 139.35, 150.12, 159.60; **HRMS** (ESI): *m/z* für C₆₆H₉₂F₅N₁₁O₁₆S [M+H]⁺, berechnet 1422.6466 gefunden 1422.6466.

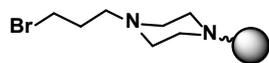
GRGDS6Ahx6AhxF-Funktionalisierung, (NP11)



Das vom Harz abgespaltene Peptid **15** (4.30 mg, 0.01 mmol, 1.0 eq.) wird unter Argonatmosphäre in 1 mL DMF gelöst. Anschließend wird BTFFH (1.90 mg, 0.01 mmol, 1.2 eq.) und DIPEA (1.3 mg, 0.01 mmol, 2.0 eq.) hinzugefügt. Nachdem das Reaktionsgemisch 15 min gerührt wurde, wird es mit einer mit Schutzgas gefüllten Spritze aufgezogen. Anschließend wird der Nanopartikel (17.5 mg, 0.01 mmol, 1.0 eq.) in 4 mL DMF gelöst und mit DIPEA (1.3 mg, 0.01 mmol, 2.0 eq.) versetzt. Die Lösung wird nun einige Minuten lang entgast bevor die mit dem Peptid gefüllte Spritze dazu gegeben wird. Das Reaktionsgemisch wird 30 min lang gerührt. Anschließend wird das Lösemittel unter vermindertem Druck destillativ entfernt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethyläther gefällt. Die Aufreinigung erfolgt durch Dialyse in Wasser.

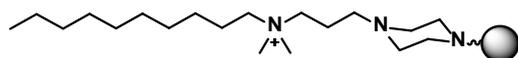
Funktionalisierung mit quartären Ammoniumverbindung

Funktionalisierung mit Dibrompropan, (NP12)



NP1 (0.002 mmol, 1.0 eq.) wird in 5 mL trockenem DMF gelöst und mit Dibrompropan (0.002 mmol, 1.0 eq.) und Natriumacetat (0.002 mmol, 1.0 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 8 h refluxiert. Anschließend wird die Lösung mit Na_2CO_3 basisch eingestellt. Der Feststoff wird abfiltriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt.

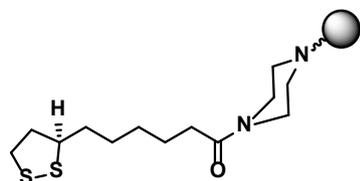
Funktionalisierung mit 1-(Dimethylamino)dodecan, (NP13)



NP12 (0.002 mmol, 1.0 eq.) wird in 5 mL trockenem CH_3CN gelöst und mit 1-(Dimethyl(amino)dodecan (0.002 mmol, 1.0 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 48 h gerührt. Nach Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck wird der Rückstand in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt.

5.3.6.3 Funktionalisierung mit Goldnanopartikel

1,2-Dithiolan-3-pentansäure-Funktionalisierung, (NP14)

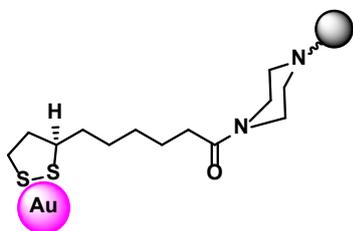


NP5 (70.0 mg, 0.02 mmol, 1.0 eq.) wird in 5 mL trockenem DCM gelöst. Anschließend versetzt man die Lösung mit 1,2-Dithiolan-3-pentansäure (8.30 mg, 0.04 mmol, 2.0 eq.) und EDC-Hydrochlorid (8.00 mg, 0.04 mmol). Die Suspension wird unter Rühren auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Anschließend wird langsam TEA (5.00 mg, 0.05 mmol) zu getropft. Das Reaktionsgemisch wird

20 h gerührt und taut während dieser Zeit langsam auf RT auf. Anschließend wird das Lösemittel unter vermindertem Druck destillativ entfernt. Der Rückstand wird in wenig Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt. Die Aufreinigung erfolgt durch Dialyse über 24 h in Wasser.

An das 1,2-Dithiolan-3-pentansäure-Nanopartikel **NP14** erfolgte anschließend eine Kopplung mit Gold-Nanopartikel. Diese wurden von *Elena Zwar* aus dem Arbeitskreis von *Prof. Rehage* zur Verfügung gestellt.

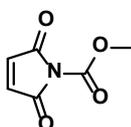
Goldnanopartikel-Kopplung, (NP15-17)



Zu 980 μL einer Goldnanopartikel-Lösung (0.00073 Ma%) wurden 20 μL Dithiolan-Nanopartikel-Lösung (**NP14**) zugegeben. Um die Kopplung zu steuern wurden unterschiedlich konzentrierte Dithiolan-Nanopartikel-Lösungen getestet ($1 \cdot 10^{-1}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ Ma%).

5.3.7 Synthese des Bismaleimid-Linkers

N-(Methoxycarbonyl)maleimid, (19)

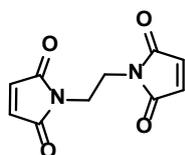


Eine Lösung aus Maleimid (2.00 g, 20.0 mmol, 1.0 eq.) und *N*-Methylmorpholin (1.85 g, 21.0 mmol, 1.1 eq.) in 60 mL Ethylacetat wird auf 0 °C gekühlt und über 10 min mit Methylchloroformiat (2.46 g, 20.0 mmol, 1.0 eq.) versetzt. Die Lösung wird 1 h gerührt und taut dabei auf RT auf. Anschließend wird die Lösung mit 100 mL Ethylacetat verdünnt, mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und im Anschluss mit NaCl -Lösung gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt, über MgSO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wird unter

vermindertem Druck entfernt und das Produkt in einer Ausbeute von 81% (2.6 g) als Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.88 (br t, 2H, -CH=CH-CO), 3.97 (s, 3H, COOCH₃).
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 165.5 (-CH=CH-C=O), 147.9 (-N-COOCH₃), 145.1 (-CH=CH-C=O), 54.1 (-NCOOCH₃). **HRMS** (ESI): m/z für C₆H₅NO₄ [M+H]⁺, berechnet 156.0298 gefunden 156.0231.

1,2-Bis(maleimido)ethan, (21)



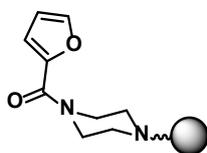
Eine Mischung aus gesättigter NaHCO₃-Lösung und THF (1:1, 10 mL) wird mit Ethylendiamin (0.10 g, 1.66 mmol, 1.0 eq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wird *N*-(Methoxycarbonyl)maleimid (0.52 g, 3.33 mmol, 2.0 eq.) dazu getropft und das Reaktionsgemisch 10 min gerührt. Danach werden weitere 10 mL der Mischung aus gesättigter NaHCO₃-Lösung und THF zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird weitere 3 h gerührt und durch Zugabe von NaHCO₃/THF über diese Zeit basisch gehalten. Anschließend wird mit Ethylacetat extrahiert und die organischen Phasen mit NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt in einer Ausbeute von 64% (0.23 g) als weißer Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.69 (br t, 4H, -CH=CH-CO), 3.74 (br t, 4H, -CH₂-CH₂).
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.8 (CH-NC=O), 134.5 (-CH=CH), 36.81 (-CH=CH-N).
HRMS (ESI): m/z für C₁₀H₈N₂O₄ [M+H]⁺, berechnet 221.0563 gefunden 221.0569.

5.3.8 Nanopartikel-Kopplung über Diels-Alder-Reaktion

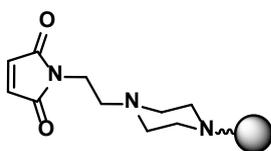
Für die Nanopartikel-Kopplung mussten zunächst Furan-funktionalisierte Nanopartikel hergestellt werden. Die Synthese der Furan-funktionalisierten Nanopartikel erfolgte ausgehend von den Polymeren **P4** und **P5**, die in unterschiedlichen Verhältnissen miteinander co-vernetzt wurden. Die synthetisierten Nanopartikel **NP18-21** wurden anschließend mit Furoylsäurechlorid weiter modifiziert.

Furan-Funktionalisierung, (NP22-25)



2 mL von **NP18-21** (0.002 mmol, 1.0 eq.) werden bis zur Trockene einrotiert und zusätzlich im Trockenschrank getrocknet. Anschließend werden das trockene Nanopartikel und Triethylamin (0.003 mmol, 1.5 eq.) in DCM gelöst. Die Mischung wird auf 0 °C gekühlt, bevor Furoylsäurechlorid (0.002 mmol, 1.2 eq.) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt wird. Anschließend wird das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform gelöst und das Nanopartikel durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten.

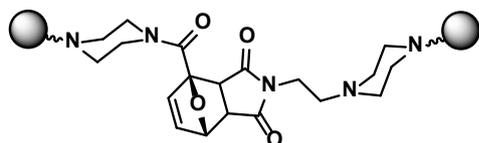
Maleimid-Funktionalisierung, (NP26)



5 mL von **NP5** (0.005 mmol, 1.0 eq.) werden bis zur Trockene einrotiert und zusätzlich im Trockenschrank getrocknet. Anschließend wird das trockene Nanopartikel in 6 mL DCM aufgenommen und auf 0 °C gekühlt, bevor Maleinsäureanhydrid (0.49 mg, 0.01 mmol, 1.0 eq.) hinzugegeben wird. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgt die Zugabe von Essigsäureanhydrid (1.0 mg, 0.01 mmol, 2.0 eq.) und einer katalytischen Menge Natriumacetat. Das Gemisch wird 2 h bei 40 °C gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter

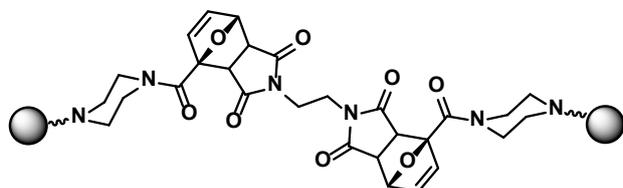
Vakuum entfernt, der Rückstand in Chloroform gelöst und **NP25** durch Ausfällen in kaltem Diethylether erhalten. Durch Dialysieren gegen MeOH, erhält man das saubere Endprodukt.

Kopplung über Furan-Nanopartikel mit Maleimid-Nanopartikel



Allgemeine Arbeitsvorschrift. Die Furan-funktionalisierten Nanopartikel **NP22-25** werden in 15 mL EtOAc gelöst, anschließend zu den Maleimid-funktionalisierten Nanopartikeln gegeben und 24 h bei RT gerührt. Danach wird das Lösemittel unter verminderten Druck entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt.

Kopplung über den 1,2-Bis(maleimido)ethan-Linker



Allgemeine Arbeitsvorschrift. Die Furan-funktionalisierten Nanopartikel **NP22-25** werden in 15 mL EtOAc gelöst und mit 1,2-Bis(maleimido)ethan (0.5 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird das Lösemittel unter verminderten Druck entfernt. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und in kaltem Diethylether gefällt.

5.4 Wirkstoffuntersuchungen

5.4.1 Wirkstoffeinlagerung

Polymer **P5** (8.0 mg, 0.003 mmol) wird in 5 mL Chloroform gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe variabler Mengen an Indomethacin (2.0 mg, 4.0 mg, 8.0 mg). Nach 10 Minuten schütteln bei Raumtemperatur wird die organische Lösung unter Ultraschall-Behandlung zu 15 mL Milli-Q Wasser getropft. Das organische Lösemittel wird abgedampft und die Lösung am Rotationsverdampfer auf 5 mL aufkonzentriert. Um das überschüssige Indomethacin sowie Polymeraggregate zu entfernen, wird die Lösung mit einem PTFE-Filter (0.45 µm Porengröße) filtriert.

Für die Bestimmung der Wirkstoffbeladung wird die Mizell-Lösung anschließend gefriergetrocknet.

Die Beladung der vernetzten Polymernanopartikel **NP1** erfolgt analog, ausgehend von 8 mg Nanopartikel.

5.4.2 Wirkstofffreisetzung

Die gefriergetrockneten Partikel werden in 15 mL PBS-Puffer (pH 7.4, 0.05 M) aufgenommen und in einen Dialyseschlauch gefüllt. Anschließend erfolgt die Freisetzung durch Dialyse gegen PBS-Puffer, mit konstanter Rührgeschwindigkeit von 200 rpm und Temperaturen von 37 ± 0.5 °C. Um den freigesetzten Wirkstoff über die Zeit zu ermitteln, werden stündlich 2 mL Lösung entnommen und mit Hilfe der UV/vis-Spektroskopie analysiert. Die entnommene Menge wird gegen 2 mL frischen PBS-Puffer ersetzt.

6. Literaturverzeichnis

- Adams, N., Schubert, U. S., *Adv. Drug Del. Rev.* **2007**, *59*, 1504-1520.
- Alam, T. M., Jenkins, J. E., *Advanced aspects of spectroscopy*, InTech, Kroatien, **2012**, Kapitel 10, Seite 279-301.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., *Molecular Biology of the Cell, 4th edition*, Garland Science, New York, **2002**.
- Alexandridis, P., Spontak, R. J., *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1999**, *4(2)*, 130-139.
- Alivisatos, A. P., Johnsson, K. P., Peng, X., Wilson, T. E., Loweth, C. J., Bruchez Jr., M. P., Schultz, P. G., *Nature* **1996**, *382*, 609
- Almog, N., *Cancer Lett.* **2010**, *294*, 139-146.
- Andrews, J. M., *Antimicrob J., Chemotherapy*, **2001**, *48(1)*, 5-16.
- Aoi, K., Okada, M., *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 151-208.
- Astafieva, I., Zhong, X. F., Eisenberg, A., *Macromolecules* **1993**, *26*, 7339-7352.
- Astruc, D., Lu, F., Aranzaes, J. R., *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 8062-8083.
- Attwood, D., Booth, C., Yeates, S. G., *Int. J. Pharm.* **2007**, *345*, 35-41.
- Aubrecht, K. B., Grubbs, R. B., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2005**, *43*:5156-5167.
- Bae, Y., Jang, W.-D., Nishiyama, N., Fukushima, S., Kataoka, K., *Mol. Biosyst.* **2005**, *1*, 242-250.
- Beharry, K. D. A., Houchang, D., Modanlou, D., Hasan, J., Gharraee, Z., Abad-Santos, P., Sills, J. H., Jan, A., Nageotte, S., Aranda, J. V., *IOVS* **2006**, *47(7)*, 3036-3043.
- Binder, W. H., Gruber, H., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 949-957.
- Blanazs, A., Armes, S. P., Ryan, A. J., *Macromol. Rapid. Commun.* **2009**, *30*, 267-277.
- Boal, A. K., Ilhan, F., DeRouchey, J. E., Thurn-Albrecht, T., Russell, T. P., Rotello, V. M., *Nature* **2000**, *404*, 746.
- Bonné, T. B., Lüdtke, K., Jordan, R., Papadakis, C. M., *Colloid Polym. Sci.* **2007**, *208*, 1402-1408.
- Bonné, T. B., Lüdtke, K., Jordan, R., Štěpánek, P., Papadakis, C. M., *Colloid Polym. Sci.* **2004**, *282*, 833-843.
- Bontha, S., Kabanov, A.V., Bronich, T. K., *J. Control. Release* **2006**, *114*, 163.
- Botting, J. H., Salzmann, R., *Br. J. Pharmacol.* **1974**, *50*, 119-124.

- Brar, S. K., Verma, M., *Trends Anal. Chem.* **2011**, *30*(1), 4-17.
- Breitmaier, E., Jung, G., *Organische Chemie*, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, **2005**, Kapitel 22, Seite 384.
- Brown, S. D., Nativo, P., Smith, J.-A., Stirling, D., Edwards, P. R., Venugopal, B., Flint, D. J., Plumb, J. A., Graham, D., Wheate, N. J., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4678-4684.
- Brückner, R., *Reaktionsmechanismen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1996**, Kapitel 6.4, Seite 219.
- Brummelhuis, N., Schlaad, H., *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1180.
- Butun, V., Billingham, N. C., Armes, S. P., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12135.
- Buzea, C., Pacheco, I., Robbie, K., *Biointerphases* **2007**, *2*(4), 17-71.
- Cai, G., Litt, M. H., *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1992**, *30*, 649.
- Caprino, L. A., *Acc. Chem. Res.* **1987**, *20*, 401-407.
- Carpino, L. A., El-Faham, A., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5401-5402.
- Cau, F., Lacelle S., *Macromolecules* **1996**, *29*, 170-178.
- Cesana, S., Auernheimer, J., Jordan, R., Kessler, H., Nuyken, O., *Macromol. Chem. Phys.* **2006**, *207*, 183-192.
- Cesana, S., Kurek, A., Baur, M. A., Auernheimer, J., Nuyken, O., *Macromol. Rapid. Commun.* **2007**, *28*, 608-615.
- Chan, E. C. Y., Koh, P. K., Mal, M., Cheah, P. Y., Eu, K. W., Backshall, A., Cavill, R., Nicholson, J. K., Keun, H. C., *J. Proteome Res.* **2009**, *8*, 352-361.
- Cheng, Z., Al Zaki, A., Hui, J. Z., Muzykantov, V. R., Tsourkas, A., *Science* **2012**, *338*, 903-910.
- Christian, P., von der Kammer, F., Baalousha, M., Hofmann, T., *Ecotoxicology* **2008**, *17*, 326-343.
- Chu, B., *Langmuir* **1996**, *11*, 414-421.
- Chujo, Y., Saegusa, T., *Ring-Opening Polymerisation*, Hanser, München, **1993**, 239.
- Czeslik, C., Seemann, H., Winter, R., *Basiswissen Physikalische Chemie*, 3. Auflage, Viewg + Teubner Verlag, Wiesbaden, **2009**.
- Dams, E. T. M., Laverman, P., Oyen, W. J. G., Stom, G., Scherphof, G. L., van der Meer, J. W. M., Corstens, F. H. M., Boerman, O. C., *Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, *292*, 1071-1079.
- Dannenberg, A. J., et al., *Cyclooxygenase-2: A pharmacological target for the prevention of cancer*, *The Lancet Oncology* **2001**, *2*, 544-551.
- Davison, H. C., Low, J. C., Woolhouse, M. E., *Trends Microbiol.* **2000**, *8*(12), 554-559.
- De Dios, A. S., Diaz-Garcia, M. E., *Anal. Chim. Acta* **2010**, 1-20.
- De Gennes, P.-G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1992**, *31*, 842.
- DeLong, E. F., Taylor, L. T., Marsh, T. L., Preston, C. M., *Appl. Environ. Microbiol.* **1999**, *65*, 5554-5563.
- Desgouilles, S., Vauthier, C., Bazile, D., Vacus, J., Grossiord, J.-L., Veillard, M., Couvreur, P., *Langmuir* **2003**, *19*, 9504-9510.

- Dijkgraafa, I., Terryb, S. Y. A., McBride, W. J., Goldenbergc, D. M., Lavermanb, P., Franssen, G. M., Oyenb, W. J. G., Boerman, O. C., *Contrast Media Mol. Imaging* **2013**, *8*, 238-245.
- Dittrich, W., Göhde, W., Patent DE1815352, "Flow-through camber for photometers to measure and count particles in a dispersion medium", angemeldet am 18. Dez. **1968**.
- Dörfler, H.-D., Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme, Springer-Verlag Berlin, **2002**.
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., El-Sayed, M. A., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2740-2779.
- Du, J., O'Reilly, R. K., *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2402-2416.
- Dubois, P., Coulembier, O., Raquez, J.-M., *Handbook of Ring-Opening Polymerization*, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, **2009**, Seite 147.
- Dykmana, L., Khlebtsov, N., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2256-2282.
- El-Faham, A., *Chem. Lett.* **1998**, 671-672.
- Elsabahy, M., Wooley, K. L., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2545-2561.
- Engelhardt, N., Ernst, A., Kampmann, L., Weberskirch, R., *Macromol. Chem. Phys.* **2013**, *214*, 2783-2791.
- Erhardt, R., Böker, A., Zettl, H., Kaya, H., Pyckhout-Hintzen, W., Krausch, G., Abetz, V., Müller, A. H. E., *Macromolecules* **2001**, *34*, 1069-1075.
- Fairbanks, B. D., Scott, T. F., Kloxin, C. J., Anseth, K. S., Bowman, C. N., *Macromolecules* **2009**, *42*, 211-217.
- Faraji, A. H., Wipf, P., *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2950-2962.
- Feynman, R. P., "Plenty of room at the bottom" **1959**, Courtesy of the Archives, California Institute of Technology, www.its.caltech.edu/~feynman/plenty.html.
- Fik, C. P., Krumm, C., Muennig, C., Baur, T. I., Salz, U., Bock, T., Tiller, J. C., *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 165-172.
- Förster, S., *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1997**, *101(11)*, 1671.
- Francis, M. F., Cristea, M., Winnik, F. M., *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 1321-1335.
- Fröhlich, J. C., *Praktische Arzneitherapie*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, **2000**.
- Furness E. L., Ross, A., Davis, T.P., King, G. C. A, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1361-1369.
- Gall, B., Bortenschlager, M., Nuyken, O., Weberskirch, R., *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 1152-1159.
- Gao, J., Huang, X., Liu, H., Zan, F., Ren, J., *Langmuir* **2012**, *28*, 4464-4471.
- Gao, Z., Eisenberg, A., *Macromolecules* **1993**, *26*, 7353-7360.
- Gaucher, G., Dufresne, M.-H., Sant, V. P., Kang, N., Maysinger, D., Leroux, J.-C., *J. Control. Release* **2005**, *109*, 169-188.
- Gaudin, F., Zydowicz, N. S., *Colloid Surf. A* **2008**, *331*, 133-142.
- Ghosh, P., Han, G., De, M., Kim, C. K., Rotello, V. M., *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 1307-1315.
- Gilbert, P., Moore, L. E., *J. Appl. Microbiol.* **2005**, *99*, 703.

- Giljohann, D. A., Seferos, D. S., Daniel, W. L., Massich, M. D., Patel, P. C., Mirkin, C., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3280-3294.
- Godward, J. F., Booth, H. C., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1995**, *91*, 1491-1496.
- Goldburg, W. I., *Am. J. Phys.* **1999**, *67(12)*, 1152-1160.
- Greene, T. W., Wuts, P. G. M., *Protective groups in organic synthesis*, John Wiley & Sons, Inc., New York . Chichester . Brisbane . Toronto . Singapore, 3. Auflage, **1999**.
- Gress, A., Völkel, A., Schlaad, H., *Macromolecules*, **2007**, *40*, 7928-7933.
- Gross, A., Maier, G., Nuyken, O., *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 2811.
- Gupta, V., Liu, Y.-Y., *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *2(3)*, 1-3.
- Hadjichristidis, N., Pispas, S., Floudas, G.A., "Block copolymers: synthesis, physical properties and applications" **2003**, John Wiley & Sons. Inc., Hoboken, New Jersey.
- Hans, M. L., Lowman, A. M., *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **2002**, *6*, 319-327.
- Harris, G. H., Shelton, R. S., Van Campen, M. G., Schumann, E. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1951b**, *73*, 3963-3965.
- Harris, G. H., Shelton, R. S., Van Campen, M.G., Schumann, E. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1951a**, *73*, 3959-3963.
- Hauser, E. A, Lynn, E. J, *Exper.Chem.* Mc Graw Hill **1940**.
- Hendrickson, J. B., *Angew.Chem.* **1974**, *86(2)*, 71-100.
- Hofmann, A., Schmiel, P., Stein, B., Graf, C., *Langmuir* **2011**, *27*, 15165-15175.
- Holmberg, K., Jönsson, B., Kronberg, B., Lindman, B., *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, John Wiley & Sons, Ltd. **2002**.
- Homberger, M., Simon, U., *Phil. Trans. R. Soc. A* **2010**, *368*, 1405-1453.
- Hoogenboom, R., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48(43)*, 7978-7994.
- Hoogenboom, R., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *122*, 3489-349.
- Hoogenboom, R., Fijten, M. W. M., Thijs, H. M. L., van Lankvelt, B. M., Schubert, U. S., *Des. Mon. Polym.* **2005**, *8(6)*, 659-671.
- Hoogenboom, R., *Macromol. Chem. Phys.* **2007b**, *208*, 18-25.
- Hoogenboom, R., Schubert, U. S., *Green Chem.* **2006**, *8*, 895-899.
- Hoogenboom, R., Thijs, H. M. L., Fijten, M. W. M., Schubert, U. S., *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2007a**, *45*, 5371-5379.
- Hou, W., Dasog, M., Scott, R. W. J., *Langmuir* **2009**, *25(22)*, 12954-12961.
- Hou, X., Jones, B. T., *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers (Ed.), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, **2000**, Seite 9468-9485.
- Howardell, M. J., *Cox-2 Inhibitor Research*, Nova Science Pub Inc., Auflage 1, **2006**.
- Hsieh, B. R., Litt, M. H., *Macromolecules* **1985**, *18*, 1388-1394.
- Huang, X., El-Sayed, M. A., *J. Adv. Res.* **2010**, *1*, 13-28.

- Huang, X., Xiao, Y., Lang, M., *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *364*, 92-99.
- Ibrahim, H., Bindschaedler, C., Doelker, E., Buri, P., Gurny, R., *Int. J. Pharm.* **1992**, *87*, 239-246.
- Isacke, C. M., Horton, M. A., "*The Adhesion Molecules Fact Book*", 2nd, Academic Press, London, **2000**.
- Ishida, T., Maeda, R., Ichihara, M., Irimura, K., Kiwada, H., *J. Contr. Rel.* **2003**, *88*, 35-42.
- Israelachvili, J. N., "*Intermolecular and Surface Forces*", Academic Press, London, **1991**.
- Israelachvili, J. N., Mitchell, D. J., Ninham, B. W., *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* **1976a**, *72*, 1525.
- Israelachvili, J. N., Mitchell, D. J., Ninham, B. W., *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* **1976b**, *72*, 1526-1568.
- Jabr-Milane, L., van Vlerken, L., Devalapally, H., Shenoy, D., Komareddy, S., Bhavsar, M., Amiji, M., *J. Control. Release* **2008**, *130*, 121-128.
- Jaenike, L., *Angew. Chem.* **1961**, *13*, 449-480.
- Jeong, Y., Nah, J., *J. Future Fusion Techn.* **2009**, *1*, 1-5.
- Jiang, J., Oberdörster, G., Biswas, P., *J. Nanopart. Res.* **2009**, *11(1)*, 77-89.
- Jonasz, M., Fournier, G. R., *Light scattering by particles in water*, Elsevier USA, **2007**.
- Juliano, R. L., Haskill, S., *J. Cell Biol.* **1993**, *120(3)*, 577-585.
- Kagiya, T., Narisawa, S., Maeda, T., Fukui, K., *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **1966**, *4*, 441.
- Kalyanasundaram, K., Thomas, J. K., *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99(7)*.
- Kataoka, K., Harada, A., Nagasaki, Y., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 37-48.
- Ke, H., Wang, J., Dai, Z., Jin, Y., Qu, E., Xing, Z., Guo, C., Yue, X., Lui, J., *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3073-3077.
- Kelkar, S. S., Reinecke, T. M., *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 1879-1903.
- Kelly, A. M., Kaltenhauser, V., Mühlbacher, I., Rametsteiner, K., Kren, H., Slugovc, C., Stelzer, F., Wiesbrock, F., *Macromol. Biosci.* **2013**, *13*, 116-125.
- Kempe, K., Vollrath, A., Schaefer, H., Poehlmann, T.G., Biskup, C., Hoogenboom, R., Hornig, S., Schubert, U.S., *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1869.
- Kietzke, T., Neher, D., Landfester, K., Montenegro, R., Guntner, R., Scherf, U., *Nature Mater.* **2003**, *2(6)*, 408.
- Kim, J., Litt, M. H., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1989**, *27*, 2711-2722.
- Kim, S. Y., Shin, I. G., Lee, Y. M., Cho, C. S., Sung, Y. K., *J. Control. Release* **1998**, *51*, 13-22.
- Kim, S., Shi, Y., Kim, J. Y., Park, K., Cheng, J.-X., *Expert Opin. Drug Deliv.* **2010**, *7(1)*, 49-62.
- Kim, Y., Pourgholami, M. H., Morris, D. L., Stenzel, M. H., *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 814-825.
- Kim, Y., Pourgholami, M. H., Morris, D. L., Stenzel, M. H., *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 12777.
- Knop, K., Hoogenboom, R., Fischer, D., Schubert, U. S., *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6430-6452.
- Kobayashi, S., Igarashi, T., Moriuchi, Y., Saegusa, T., *Macromolecules* **1986**, *19*, 535-541.

- Kobayashi, S., Saegusa, T., *Ring-Opening Polymerisation*, Elsevier Applied Science, Essex **1984**, 2, 761.
- Kunze, U. R., Schwedt, G., *Grundlagen der quantitativen Analyse*, Wiley-Verlag, Weinheim, **2002**, Kapitel 13, Seite 274.
- Kwon, G. S., Okano, T., *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, 21, 107-116.
- Kwon, G., Naito, M., Yokoyama, M., Okano, T., Sakurai, Y., Kataoka, K., *J. Control. Release* **1997**, 48, 195-201.
- Lahann, J., *Small* **2011**, 7(9), 1149-1156.
- Lallana, E., Sousa-Herves, A., Fernandez-Trillo, F., Riguera, R., Fernandez-Megia, E., *Pharm Res* **2012**, 29, 1-34.
- Latscha, H. P., Kazmaier, U., Klein, H. A., *Organische Chemie*, Springer Verlag, Heidelberg, **2002**, Kapitel 11, Seite 139.
- Lebouille, J. G. J. L. Vleugels, L. F. W., Dias, A. A., Leermakers, F. A. M., Tuinier, R., Stuart, M. A. C., *Eur. Phys. J. E* **2013**, 36(107), 1-12.
- Lee, D.-E., Koo, H., Sun, I.-C., Ryu, J. H., Kim, K., Kwon, I. C., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 2656-2672.
- Lee, R. E. B., Li, W., Chatterjee, D., Lee, R. E., *Glycobiology* **2005**, 139(15), 139-151.
- Leibler, L., Orland, H., Wheeler, J.C., *J. Chem. Phys.* **1983**, 79(1), 3550-3557.
- Letchford, K., Burt, H., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, 65, 259-269.
- Levy, A., Litt, M. H., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1968**, 6(7), 1883-1894.
- Li, G., Yang, T., Yan, J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, 299(5), 886-890.
- Li, M.-J., Liu, X., Nie, M.-J., Wu, Z.-Z., Yi, C.-Q., Chen, G.-N., Wing-Wah Yam, V., *Organometallics* **2012**, 31, 4459-4466.
- Li, T., Ren, C., Wang, M., Zhao, L., Wang, X., L. Fang, L., *Asian J. Pharm. Sci.* **2007**, 2(6), 249-259.
- Li, W., Nakayama, M., Akimoto, J., Okano, T., *Polymer* **2011**, 52, 3783-3790.
- Li, X., Li, H., Yi, W., Chen, J., Liang, B., *Int. J. Nanomedicine* **2013**, 8, 3019-3031.
- Lim, H. J., Lee, H., Kim, K. H., Huh, J., Ahn, C.-H., Kim, J. W., *Colloid Polym. Sci.* **2013**, 291(8), 1817-1827.
- Lina, P.-C., Lina, S., Wang, P. C., Sridhar, R., *Biotech. Adv.* **2013**, in press, online view.
- Ling, Y., Huang, Y., *IFMBE Proceedings* **2008**, 19, 514-517.
- Lippert, J. W., III, *Arkivoc.* **2005**, 87-95.
- Litt, M., Levy, A., Herz, J., *J. Macromol. Sci., Part A* **1975**, 9, 703-727.
- Liu, Y., Wang, Y., Wang, Y., Lu, J., Pinon, V., Weck, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 14260-14263.
- Lottspeich, F., Zorbas, H., *Bioanalytik.*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **1998**.
- Lourenco, C., Teixeira, M., Simoes, S., Gaspar, R., *Inter. J. Pharm.* **1996**, 138, 1-12.
- Lu, Y., Xiong, H., Jiang, X.C., Xia, Y. N., Prentiss, M., Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 12724-12725.

- Lüdtke, K., *Dissertation*, Technische Universität München, **2005**.
- Luxenhofer, R., Han, Y., Schulz, A., Tong, J., He, Z., Kabanov, A.V., Jordan, R., *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*(19), 1613-1631.
- Luxenhofer, R., Jordan, R., *Macromolecules* **2006**, *39*, 3509-3516.
- Ly, L.-P., Xu, J.-P., Liu, X.-S., Liu, G.-Y., Yang, X., Ji, J., *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, *211*, 2292.
- Ma, J., Guo, C., Tang, Y., Xiang, J., Chen, S., Wang, J., Liu, H., *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *312*, 390-396.
- Maeda, H., Sawa, T., Konno, T., *J. Control. Release* **2001**, *74*, 47-61.
- Maeda, H., Wu, J., Sawa, T., Matsumura, Y., Hori, K., *J. Control. Release* **2000**, *65*, 271-284.
- Malam, Y., Loizidou, M., Seifalian, A. M., *Trends Pharmacol. Sci.* **2009**, *30*(11), 592-599.
- Mao, H. Q., Roy, K., Troung-Le, V. L., Janes, K. A., Lin, K. Y., Wang, Y., August, J. T., Leong, K. W., *J. Contr. Rel.* **2001**, *70*(3), 399.
- Markert, S., Lassmann, S., Gabriel, B., Klar, M., Werner, M., Gitsch, G., Kratz, F., Hasenburger, A., *Anticancer Res.* **2008**, *28*, 3567-3572.
- Marzan, L. M., *Langmuir* **2006**, *22*(1), 32-41.
- Matyjaszewski, K., Xia, J., *J. Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2921-2990.
- McBain, J., Hoffman, O. A., *J. Phys. Chem.* **1949**, *53*(1), 39-55.
- Meier, D. J., *J. Polymer Sci., Part C* **1969**, *26*, 81-98.
- Meyers, A. I., Mihelich, E. D., *Angew. Chem.* **1976a**, *88*(10), 321-332.
- Meyers, A. I., Mihelich, E. D., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1976b**, *15*, 270.
- Mirkin, C. A., Letsinger, R. L., Mucic, R. C., Storhoff, J. J., *Nature* **1996**, *382*, 607-609.
- Mitragotri, S., Lahann, J., *Nature Mater.* **2009**, *8*, 15-23.
- Moaddel, H., Ameri, R., *Iranian Polym. J.* **2005**, *14*(10), 849-854.
- Mondal, G., Barui, S., Chaudhuri, A., *Biomaterials* **2013**, *34*, 6249-6260.
- Moulik, S. P., *Curr. Sci.* **1996**, *71*(5), 368-376.
- Mukerjee, P., Mysels, K.J., "Critical Micelle Concentration of Aqueous Surfactant Systems", NSRDS-NBS 36, US. Government Printing Office, Washington D.C., **1971**.
- Munk, P., "Solvents and self organization of polymer", NATO ASI series (E), Vol. 327, Kluwer Academic Publisher **1996**, Seite 19-32.
- Nagarajana, R., Ganesh, K., *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*(10), 5843-5856.
- Nakajima, A., *Chem. Phys. Lett.* **1973**, *21*, 200-204.
- Narrainen, A. P., Pascual, S., Haddleton, D. M., *J. Polym. Sci.* **2002**, *40*(4), 439-450.
- Neha M. D., Pranav, B. P., Anita, A. P., Vilasrao, J. K., *Chron. Young Sci.* **2013**, *4*(2), 94-101.
- Nicolas, J., Mura, S., Brambilla, D., Mackiewicz, N., Couvreur, P., *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1147-1235.
- Nisisako, T., Hatsuzawa, T., *Microfluid. Nanofluid.* **2010**, *9*, 427-437.

- Nuyken, O., Maier, G., Gross, A., Fischer, H., *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 83.
- O'Reilly, R. K., Joralemon, M. J., Wooley, K. L., Hawker, C. J., *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 5976-5988.
- Oba, M., Aoyagi, K., Miyata, K., Matsumoto, Y., Itaka, K., Nishiyama, N., Yamasaki, Y., Koyama, H., Kataoka, K., *Mol. Pharmacol.* **2008**, *5(6)*, 1080-1092.
- Osada, K., Christie, R. J., Kataoka, K., *J. R. Soc. Interface* **2009**, *6*, 325-339.
- Owena, S. C., Chana, D. P. Y., Shoichet, M. S., *Nano Today* **2012**, *7*, 53-65.
- Pardridge, W. M., *Mol. Biotechnol.* **2005**, *30*, 57-69.
- Pathak, P., Katiyar, V. K., *J. Nanotechnology* **2007**, *3*, 1-17.
- Pecora, R., "Dynamic light scattering: Application of photon-correlation spectroscopy", Springer Verlag, **1985**.
- Penczek, S., Kubisa, P., Matyjaszewski, K., *Adv. Polym. Sci.* **1985**, *1*, 68-69.
- Percec, V., Wilson, D.A., Leowanawat, P., Wilson, C. J., Hughes, A. D., Kaucher, M. S., Hammer, D. A., Levine, D. H., Kim, A. J., Bates, F.S., Davis, K. P., Lodge, T. P., Klein, M. L., DeVane, R. H., Aqad, E., Rosen, B. M., Argintaru, A. O., Sienkowska, M. J., Rissanen, K., Nummelin, S., Ropponen, J., *Science* **2010**, *328*, 1009-1014.
- Perro, A., Reculosa, S., Ravaine, S., Bourgeat-Lami, E., Duguet, E., *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 3745-3760.
- Pierschbacher, M. D., Ruoslahti, E., *Nature* **1984a**, *309*, 30-33.
- Pierschbacher, M. D., Ruoslahti, E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984b**, *81*, 5985-5988.
- Piog, S., Nesterenko, A., Brotons, G., Pascual, S., Fontaine, L., Gaillard, C., Nicol, E., *Macromolecules* **2011**, *44*, 594.
- Podzimek, S., *Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation*, John Wiley & Sons Verlag, New Jersey, **2011**, Seite 59.
- Polito, L., Colombo, M., Monti, D., Melato, S., Caneva, E., Prospero, D., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12712-12724.
- Porta, F., Lamers, G. E. M., Zink, J. I., Kros, A., *Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 9982-9985.
- Prasad Rao, J., Geckeler, K. E., *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 887-913.
- Qiu, J., Charleux, B., Matyjaszewski, K., *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 2083-2134.
- Raab, C., Simko, M., Fiedeler, U., Nentwich, N., Gazso, A., *nano trust dossiers*, Nr. 6, **2008**.
- Rangel-Yagui, C. O., Pessoa-Jr., A., Tavares, L. C., *J. Pharm. Pharma. Sci.* **2005**, *8(2)*, 147-163.
- Rechberger, W., Hohenau, A., Leitner, A., Krenn, J. R., Lamprecht, B., Aussenegg, F. R., *Optics Commun.* **2003**, *220*, 137-141.
- Reif, M., Jordan, R., *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 1815-1824.
- Riess, G., *Prog. Polym. Sci.* **2003**, *28*, 1107-1170.
- Rolland, A., O'Mullane, J., Goddard, P., Brookman, L., Petrak, K., *J. Appl. Polym. Sci.* **1992**, *44*, 1195.
- Roßbach, B. M., *Dissertation*, Technische Universität München, **2006**.

- Rossin, R., Pan, D., Qi, K., Turner, J. L., Sun, X., Wooley, K. L., Welch, M. J., *J. Nuclear Med.* **2005**, *46(7)*, 1211-1218.
- Ruoslahti, E., *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1996**, *12*, 697-715.
- Saegusa, T., Ikeda, H., Fujii, H., *Polym. J.* **1972**, *3*, 35.
- Saegusa, T., S. Kobayashi, S., *Enzycl. Polym. Sci. Techn.* Wiley&Sons, New York **1976**, *1*, 220.
- Sahm, S., Caspary, W., *Gastroenterologische Onkologie*, Schattauer, Stuttgart, **2003**, Seite 87.
- Salazar, M. D. A., Ratnam, M., *Cancer Metastasis Rev.* **2007**, *26*, 141-152.
- Sanvicens, N., Marco, M. P., *Trends Biotechnol.* **2008**, *26(8)*, 425-433.
- Sardar, R., Shumaker-Parry, J. S., *Nano Lett.* **2008**, *8*, 731-736.
- Savic, R., Azzam, T., Eisenberg, A., Maysinger, D., *Langmuir* **2006**, *22*, 3570-3578.
- Schönfelder, D., *Dissertation*, Technische Universität München, **2004**.
- Schubert, S., *J. Comb. Chem.* **2009**, *11*, 274-280.
- Shapiro, M. J., Gounarides, J. S., *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *71(2)*, 130-148.
- Shelton, R. S., Campen, M. G. V., Tilford, C. H., Lang, H. C., Nisonger, L., Bandelin, F. J., Rubenkoenig, H. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1946a**, *68*, 753-755.
- Shelton, R. S., Campen, M. G. V., Tilford, C. H., Lang, H. C., Nisonger, L., Bandelin, F. J., Rubenkoenig, H. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1946b**, *68*, 755-757.
- Shelton, R. S., Campen, M. G. V., Tilford, C. H., Lang, H. C., Nisonger, L., Bandelin, F. J., Rubenkoenig, H. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1946c**, *68*, 757-759.
- Shimomuraa, M., Sawadaishib, T., *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 11-16.
- Shipway, A. N., Katz, E., Wilner, I., *Chem. Phys. Chem.* **2000**, *1*, 18-52.
- Shirman, T., Arad, T., van der Boom, M. E., *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 938.
- Shrestha, R., Shen, Y., Pollack, K. A., Taylor, J.-S., Wooley, K. L., *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 574-585.
- Shuai, X., Merdan, T., Schaper, A. K., Xi, F., Kissel, T., *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 441.
- Skrabal, P. M., *Spektroskopie: Eine methodenübergreifende Darstellung vom UV- bis zum NMR-Bereich*, UTB Stuttgart, Auflage 1, **2008**.
- Soderman, O., Stilbes, P., *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1994**, *26*, 445-482.
- Song, J., Kong, H., Jang, J. *Chem. Commun.* **2009**, 5418-5420.
- Southall, N. T., Dill, K. A., Haymet, A. D. J., *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 521-533.
- Stokstad, E. L. R., Hutchings, B. L., Mowat, J. H., Boothe, J. H., Waller, C. W., Angier, R. B., Semb, J., SubbaRow, Y., *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70(5)*.
- Sun, G., Hagooley, A., Xu, J., Nyström, A. M., Li, Z., Rossin, R., Moore, D. A., Wooley, K. L., Welch, M. J., *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1997.
- Sutton, D., Nasongkla, N., Blanco, E., Gao, J., *Pharm. Res.* **2007**, *24(6)*, 1029-1046.
- Szebeni, J., *Toxicology* **2005**, *216*, 106-121.

- Talelli, M., Iman, M., Varkouhi, A. K., Rijcken, C.J.F., Schiffelers, R. M., Etrych, T., Ulbrich, K., van Nostrum, C. F., Lammers, T., Storm, G., Hennink, W. E., *Biomaterials* **2010**, *31*, 7797-7804.
- Tanford C., *J. Phys. Chem.* **1974**, *78*(24), 2469-2479.
- Tang, L., Dong, C., Ren, J., *Talanta* **2010**, *81*, 1560-1567.
- Thieke, B., *Makromolekulare Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**, Kapitel 2.4.5, Seite 169.
- Thurmond, K. B., Kowalewski, T., Wooley, K. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6656.
- Timoshenko, A. V., Chakraborty, C., Wagner, G. F., Lala, P. K., *Br. J. Canc.* **2006**, *94*(8), 1154-1163.
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M., Szmaja, W., Grobelny, J., *J. Nanomater.* **2013**, 1-10.
- Topchieva, I. N., Sorokina, E. M., Efremova, N. V., Ksenofontov, A. L., Kurganov, B. I., *Bioconjug Chem* **2000**, *11*, 22-29.
- Torchilin, V. P., *Adv. Drug Del. Rev.* **2006**, *58*, 1532-1555.
- Turkevich, J., Stevenson, P. C., Hillier, J., *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55-75.
- Tuzar, Z., Kratochvil, P., *Adv. Colloid Interface Sci.* **1976**, *6*, 201-232
- Tyrrella, Z. L., Shena, Y., Radosz, M., *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35*, 1128-1143.
- Vicent, M. J., Duncan, R., *Trends Biotechnol.* **2006**, *24*(1), 39-47.
- Walderhaug, H., Soderman, O., *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2009**, *14*, 171-177.
- Walther, A., Müller, A. H. E., *Soft Matter* **2008**, *4*, 663-668.
- Wang, Y., Wang, Y., Breed, D. R., Manoharan, V. N., Feng, L., Hollingsworth, A. D., Weck, M., Pine, D. J., *Nature* **2012**, *491*, 51-56.
- Weberskirch, R., Preuschen, J., Spiess, H. W., Nuyken, O., *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 995-1007.
- Wegner, K., Pratsinis, S. E., Köhler, M., *Nanomaterialien und Nanotechnologie* **2004**, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Wei, H., Zhuo, R.-Z., Zhang, X.-Z., *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 503-535.
- West, J. L., Hala, N. J., *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2003**, *5*, 285-292.
- Wilmes, G. M., Arnold, D. J., Kawchak, K. S., *J. Polym. Res* **2011**, *18*, 1787-1797.
- Withey, A. B. J., Chen, G., Nguyen, T. L. U., Stenzel, M. H., *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 3215.
- Witte, H., Seeliger, W., *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 996-1009.
- Wu, C., Ren, A. Y. S., *Colloid Polym. Sci.* **2012**, *294*(4), 827-834.
- Xia, J. L., Dubin, P. L., Kokufuta E., *Macromolecules* **1993**, *26*, 6688-6690.
- Xiong, X. B., Mahmud, A., Uludag, H., Lavasa avid nifar, A., *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 874-884.
- Xu, R., *Particuology* **2008**, *6*, 112-115.
- Yao, H., Ping, C., Tzang, C.-H., Zhu, J., Yang, M., *Nanotechnology* **2007**, *18*(1), 1-7.
- Yokoyama, M., Fukushima, S., Uehara, R., Okamoto, K., Kataoka, K., Sakurai, Y., Okano, T., *J. Control. Release* **1998**, *50*, 79-92.

- Yoon, J., Lee, K. J., Lahann, J., *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 8502-8510.
- Yun, J., Faust, R., Szilagyi, L.S., Keki, S., Zsuga, M., *Macromolecules* **2003**, *36*, 1717-1723.
- Zarka, M. T., Nuyken, O., Weberskirch, R., *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3228- 3234.
- Zhang, K., Rossin, R., Hagooly, A., Chen, Z., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 7578-7583.
- Zhang, Y., Wang, T.-H., *Theranostics* **2012**, *2(7)*, 631-654.
- Zhong, Z., Patskovskyy, S., Bouvrette, P., Luong, J. H. T., Gedanken, A., *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 4046-4052.
- www.chemie.uni-regensburg.de/Physikalische_Chemie/Schmeer/PDF_Files/Lichtstreuung_n.pdf, [Stand: 14.05.2014].
- www.ema.europa.eu/ema/, [Stand: 14.05.2014].
- www.endocyte.com, [Stand: 14.05.2014].
- www.malvern.com/de/pdf/secure/TN101104DynamicLightScatteringIntroduction.pdf, [Stand: 14.05.2014].
- www.mjr-pharmajet.de, [Stand: 14.05.2014].
- www.piercenet.com/instructions/2160649.pdf, [Stand: 14.05.2014].
- www.roche-diagnostics.de, [Stand: 14.05.2014]

7. Anhang

7.1 Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

Abkürzungen

abs.	absolut
Abb.	Abbildung
AcOH	Essigsäure
ACN	Acetonitril
AFM	Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy)
Au-NP	Goldnanopartikel
Boc	tert. Butoxycarbonyl
br	breites Singulett (NMR-Spektroskopie)
BTFFH	N,N,N',N'-Bis(tetramethylen)fluoroformamidiniumhexafluorophosphat
CDCl ₃	deutertes Chloroform
CHCl ₃	Chloroform
cmc	kritische Mizellbildungskonzentration
CHCl ₃	Chloroform
COX	Cyclooxygenase
CROP	kationische ringöffnende Polymerisation
DAVLBH	Desacetylvinblastinhydrazid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett von Dublett
DIPEA	Diisopropylethylamin
DLE	Beladungseffizienz des Wirkstoffs
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMF	N,N-Dimethylformiat

DNS	Desoxyribonukleinsäure
DOTA	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure
DOX	Doxorubicin
DSC	engl. differential scanning calorimetry
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EI	Elektronenstoß-Ionisation
engl.	englisch
EPR	engl. enhanced permeability and retention
eq.	Stoffmengenäquivalente (engl. equivalents)
ESI	Electrospray ionisation
Et	Ethyl-
et al.	und andere (lat. et alii)
Et ₂ O	Diethylether
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
exp.	experimentell bestimmt
EZM	extrazelluläre Matrix
Fa.	Firma
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
GPC	Gelpermeationschromatographie
IMC	Indomethacin
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MetOx	2-Methyl-2-oxazolin
Nu	beliebiges Nukleophil
HepOx	2-Heptyl-2-oxazolin
HPLC	engl. high pressure liquid chromatography
HRMAS	engl. high resolution mass spectrum
Hz	Hertz
IR	Infrarotspektroskopie
konz.	konzentriert
LCST	engl. lower critical solution temperature
mg	Miligramm
MIC	engl. minimum inhibitory concentration
min	Minuten
mL	Milliliter
mM	millimolar

MMA	Methylmethacrylat
mRNS	(engl. m=messenger) Ribonukleinsäure
MWCO	engl. molecular weight cut off
nm	Nanometer
NMR	nuclear magnetic resonance
NonOx	2-Nonyl-2-oxazolin
NP	Nanopartikel
NSCLC	nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (non-small cell lung cancer)
PBS	engl. phosphate buffered saline
PEG	Poly(ethylenglykol)
PDI	Polydispersitätsindex (GPC)
PLA	Poly(lactid)
PLGA	Poly(milchsäure-co-glycolsäure)
PI	Polydispersitätsindex (DLS)
Pip.	Piperidin
PNS	Peptid-Nukleinsäure
ppm	engl. parts per million
PS	Poly(styrol)
PTFE	Poly(tetrafluorethylen)
PVA	Poly(vinylalkohol)
quant.	quantitativ
R	beliebiger Rest
RT	Raumtemperatur
stat.	statistisch
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
Tf	Trifluormethansulfonat (Triflat)
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
theor.	theoretisch
Tos	Toluolsulfonsäureester (Tosylat)
UV	Ultraviolett
VEGF	engl. vascular endothelial growth factor
vis	sichtbar (engl. visible)
z. B.	zum Beispiel

Symbole

A	Absorption
c	Konzentration
cm	Zentimeter
°C	Grad Celsius
D	Diffusionskoeffizient
d	Schichtdicke
g	Gramm
h	Stunde
I	Intensität
J	Kopplungskonstante
k_i	Geschwindigkeitskonstante der Initiation
k_p	Geschwindigkeitskonstante der Propagation
k_t	Geschwindigkeitskonstante der Terminierung
L	Liter
m	milli, 10^{-3}
M	molar
\bar{M}_n	zahlengemittelte Molmasse
\bar{M}_w	gewichtgemittelte Molmasse
r_H	Hydrodynamischer Radius
s	Singulett
t	Zeit
T_g	Glasübergangstemperatur
T_m	Schmelztemperatur
δ	chemische Verschiebung
λ	Wellenlänge

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Unterschiede von gesundem Gewebe und Tumorgewebe.....	6
Abbildung 2: Auswahl physikalischer Eigenschaften, die sich bei Überschreitung der cmc ändern und zum analytischen Nachweis eignen.....	10
Abbildung 3: Packungsparameter nach Israelachvili.....	11
Abbildung 4: Mechanismen des Mizellzerfalls in Anwesenheit von Serumproteinen: (A) Wirkstoffextraktion, (B) Protein-Adsorption, (C) Protein-Penetration.....	13
Abbildung 5: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Partikelstrukturen.....	15
Abbildung 6: Prinzip des Co-Elektrospinnings nach <i>Lahann</i>	16
Abbildung 7: Multifunktionale Polymermizelle mit Targeting Molekül (A), Rezeptor-vermittelte Endocytose „aktives Targeting“ und intrazelluläre Wirkstoffabgabe (B).....	19
Abbildung 8: Literaturbekannte Beispiele für funktionalisierte 2-Oxazoline.....	25
Abbildung 9: ¹ H-NMR-Spektrum von Poly((MetOx) ₁₇ - <i>block</i> -(HepOx) ₄)-Piperidin (P2).....	33
Abbildung 10: Fluoreszenzspektrum von Pyren in Wasser.....	35
Abbildung 11: Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration.....	36
Abbildung 12: Intensitätsfluktuation der Streustrahlung $I(t)$ um den Mittelwert I resultierend aus der Brown'schen Molekularbewegung der einzelnen Partikel (τ stellt dabei die Verzögerungszeit dar).....	38
Abbildung 13: Typischer Verlauf der Intensitäts-Zeit-Autokorrelationsfunktion $I(t)(t + \tau)$ am Beispiel von großen (rot) und kleinen Partikeln (schwarz).....	38
Abbildung 14: Mittlerer hydrodynamischer Radius von P2 in Abhängigkeit von der Konzentration [$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$].....	41
Abbildung 15 A-B: Thermogramm der DSC-Messung von Polymer P1 (A); Literaturergebnisse der T_g - und T_m -Werte von Poly(2-alkyl-2-oxazolin)en mit unterschiedlich langen Alkylketten (B).....	44
Abbildung 16: Schematische Darstellung des Verlaufs der Relaxationszeiten T_1 und T_2 als Funktion der Korrelationszeit τ_c	46
Abbildung 17: ¹ H-NMR Spektrum von P(MetOx) ₁₇ - <i>block</i> -(PentOx) ₄ P1 in deuteriertem Methanol.....	47
Abbildung 18 A-C: T_1 - Relaxationsmessungen gegen die reziproke Temperatur ($T = 25\text{-}80\text{ }^\circ\text{C}$) von P1 (A), P2 (B) und P3 (C) in D ₂ O als Lösungsmittel mit der Resonanzfrequenz von 500 MHz.....	48
Abbildung 19 A-C: (A) NMR-Signalintensitäten der chemischen Gruppen COCH ₃ und NCH ₂ im hydrophilen Teil, (B) NMR-Signalintensitäten verschiedener chemischer Gruppen im hydrophoben Block und (C) Assoziationsgrad als Funktion der chemischen Gruppe und der Temperatur für P1	50
Abbildung 20 A-C: Bestimmung des temperaturabhängigen Assoziationsgrads.....	51
Abbildung 21: Endgruppenfunktionalisierung; P{(HepOx) ₄ - <i>co</i> -(PentynOx) ₄ }- <i>block</i> -(MetOx) ₂₀ -Piperazin P5	55

Abbildung 22: Endgruppenfunktionalisierung: P({(HepOx) ₅ -co-(PentynOx) ₆ }-block-(MetOx) ₂₅)-Ethylamin P6	56
Abbildung 23 A-B: UV/vis-Spektrum von 9-(Chlormethyl)anthracen K4 bei unterschiedlichen Konzentrationen (A), Kalibriergerade von 9-(Chlormethyl)anthracen K4 (B).....	58
Abbildung 24: ¹ H-NMR-Spektrum der Piperazinendgruppen-Funktionalisierung von P8 mit K1	59
Abbildung 25: ¹ H-NMR-Spektrum von P12	61
Abbildung 26: ¹ H-NMR-Spektrum von P13	62
Abbildung 27: Zeitliche Kontrolle des Reaktionsverlaufs.....	62
Abbildung 28: Kopplung am primären Amin (durchgezogene Linie) verglichen mit Kopplung am sekundären Amin (gestrichelte Linie).....	64
Abbildung 29: Ergebnis der DLS-Messung von P4 in Methanol, (rot) vor der Vernetzung, (schwarz) nach der photochemisch induzierten Thiol-In Vernetzung des Mizellkerns.....	66
Abbildung 30: Pyren Solubilisierung.....	68
Abbildung 31 A-B: P4 in MeOH, Topographie (A), P4 in Wasser, Topographie (B).....	69
Abbildung 32 A-B: AFM-Aufnahmen (Topographie) der Probe V6 in MeOH (A), Nahaufnahme der Probe V6 (B).....	69
Abbildung 33: Schale-Funktionalisierung von NP1 mit K1 , K2 und K4 nach 72 h.....	71
Abbildung 34: ¹ H-NMR-Spektrum von Polymer P15	72
Abbildung 35: Nanopartikelfunktionalisierung am sekundären Amin (NP1) und primären Amin (NP5) nach 72 h.....	73
Abbildung 36 A-B: FITC-funktionalisierte Nanopartikel NP9a und NP9b im Tageslicht (A), unter UV-Bestrahlung (B).....	75
Abbildung 37 A-B: FT-IR-Spektren der Fluoreszenzmarkierung von NP9a (A); vergrößerter Ausschnitt (B).....	76
Abbildung 38: Vergleich FT-IR-Spektren von NP5 und NP9a , vergrößerter Ausschnitt.....	76
Abbildung 39 A-B: UV/vis-Spektrum von Fluoresceinisothiocyanat FITC (A), Kalibrierkurve (B).....	77
Abbildung 40 A-B: UV/vis-Spektrum der Folsäure in wässriger NaOH-Lösung (c = 0.1 mol/L) (A); Kalibriergerade (B).....	80
Abbildung 41: UV/vis-Spektren der Folsäure-Kopplung in Abhängigkeit von den Kopplungsreagenzien.....	80
Abbildung 42: ¹⁹ F-NMR-Spektrum von 2,3,4,5,6-Pentafluoro-benzoyl-(GRGDS6Ahx6AhxF).....	84
Abbildung 43: Hochaufgelöstes Massenspektrum von 2,3,4,5,6-Pentafluoro-benzoyl-(GRGDS6Ahx6AhxF).....	84
Abbildung 44: A-C: ¹ H-NMR-Spektrum des unfunktionalisierten NP5 (A); ¹ H-NMR-Spektrum des Peptid-funktionalisierten NP11 (B); HR-MAS-NMR-Spektrum des Peptid-funktionalisierten NP11 (C).....	86
Abbildung 45 A-B: Extinktionsspektrum von NP5 und NP11 (A) in Wasser, Kalibriergerade (B).....	87
Abbildung 46: ¹ H-HR-MAS-NMR-Spektrum von NP13 in Methanol.....	89

Abbildung 47 A-B: UV/vis-Spektrum der 1,2-Dithiolan-3-pentansäure in Acetonitril (A); Kalibriergerade (B).....	92
Abbildung 48 A-B: AFM-Phasenbild der Goldnanopartikel-Stammlösung (A), Histogramm der Partikelverteilung (B).....	93
Abbildung 49 A-B: TEM-Aufnahmen der Goldnanopartikel in Wasser.....	94
Abbildung 50: Extinktionsspektrum der Goldnanopartikel; (sAu = einzelne Goldnanopartikel).	94
Abbildung 51: Extinktionsspektren der ungekoppelten Goldnanopartikel und der Kopplungsexperimente NP15-NP17	95
Abbildung 52: Extinktionsspektrum der Probe NP15 , gemessen über 20 h.....	96
Abbildung 53 A-B: AFM-Phasenbild des Kopplungsexperiments NP15 (A), Partikelquerschnitt zur Größenbestimmung (B).....	97
Abbildung 54 A-B: AFM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments NP16 in Wasser.....	98
Abbildung 55 A-B: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments NP16 in Wasser.....	98
Abbildung 56 A-B: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments NP16 in Wasser.....	99
Abbildung 57 A-B: AFM-Topographie Aufnahme des Kopplungsexperiments NP17 (A), Vergrößerung (B).	99
Abbildung 58 A-D: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiments NP17 in Wasser.	100
Abbildung 59: Eingesetzter Wirkstoff Indomethacin..	101
Abbildung 60 A-B: Kalibriergerade von Indomethacin (A), Freisetzungskinetik des freien Wirkstoffs Indomethacin (B).	105
Abbildung 61 A-B: IMC-Freisetzungskinetik aus den unvernetzten Polymermizellen P5 (A), IMC-Freisetzung aus den vernetzten Polymermizellen NP5 (B).	105
Abbildung 62 A-B: A) UV/Vis-Spektrum des unfunktionalisierten NP5 (rot) im Vergleich zum Maleimid-funktionalisierten Nanopartikel NP26 (schwarz) in Acetonitril. Die Quantifizierung erfolgte über die Absorptionsbande bei 278 nm. B) Kalibriergerade, aufgenommen in Acetonitril.....	112
Abbildung 63: Zeta-Potential vor der Maleimid-Kopplung (NP5) und nach der Maleimid-Kopplung (NP26).	113
Abbildung 64: AFM Topographie von NP-FM1	115
Abbildung 65 A-B: AFM-Aufnahmen von NP-BM1 , Phasenkontrast (A), Topographie (B).	119
Abbildung 66 A-B: AFM-Aufnahme von NP-BM1 , Topographie (A), Höhenprofil der Partikel-Dimere (B).	119
Abbildung 67 A-F: AFM Aufnahme der Kopplungsexperimente NP-BM2-BM4 (A-C), Histogramm der Partikelverteilung: NP-BM2 (D), NP-BM3 (E), NP-BM4 . (F)..	120
Abbildung 68 A-B: TEM-Aufnahmen des Kopplungsexperiment NP-BM1 in Methanol.	122
Abbildung 69: Chemische Zusammensetzung der amphiphilen Blockcopolymer P1-P3 mit ausgewählten Analysedaten der Polymermizellen.	124
Abbildung 70: Amin-funktionalisierte Blockcopolymer P7 und P14	125
Abbildung 71 A-C: A:Nanopartikel-Kopplung über Furan-Funktionalitäten auf der Partikeloberfläche und Einsatz eines bifunktionalen Maleimid-Linkers; B: AFM-Aufnahme gekoppelter Nanopartikel aus Methanol; C: TEM-Aufnahme gekoppelter Nanopartikel aus Methanol.	127

7.3 Schemaverzeichnis

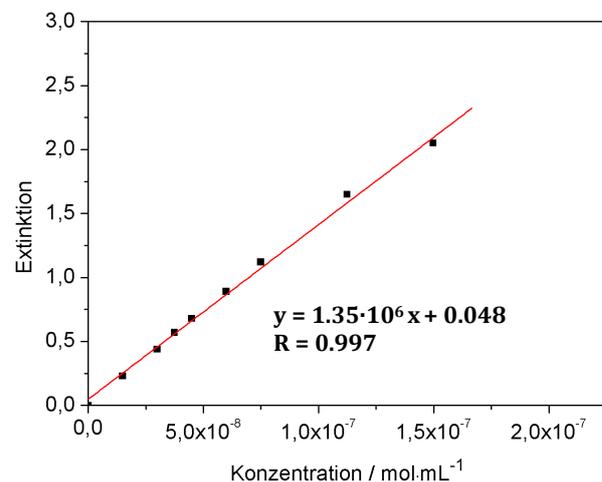
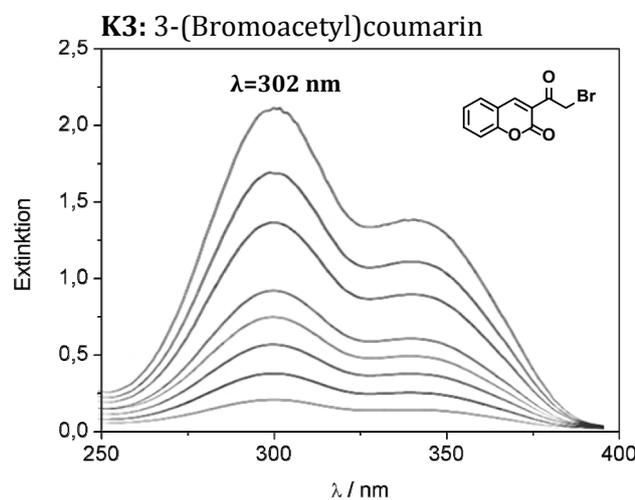
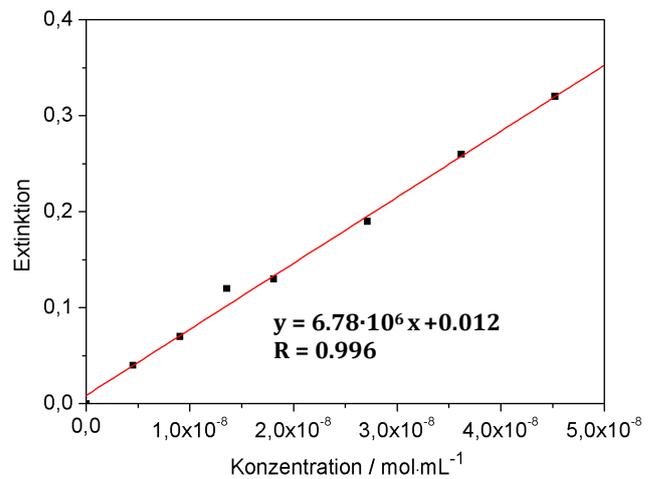
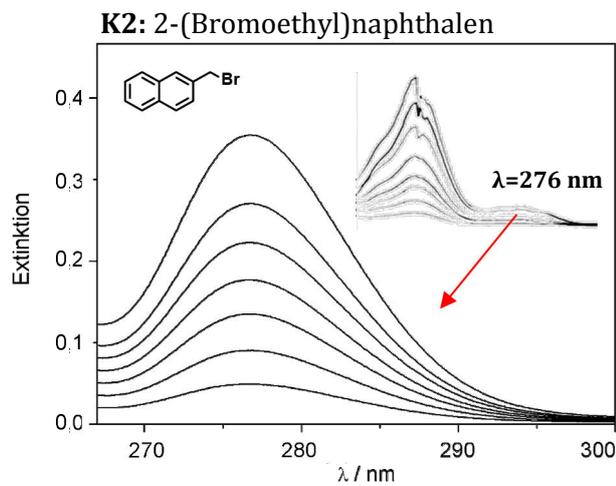
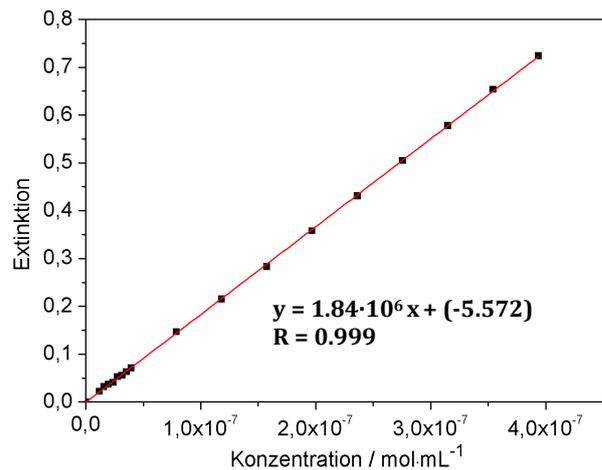
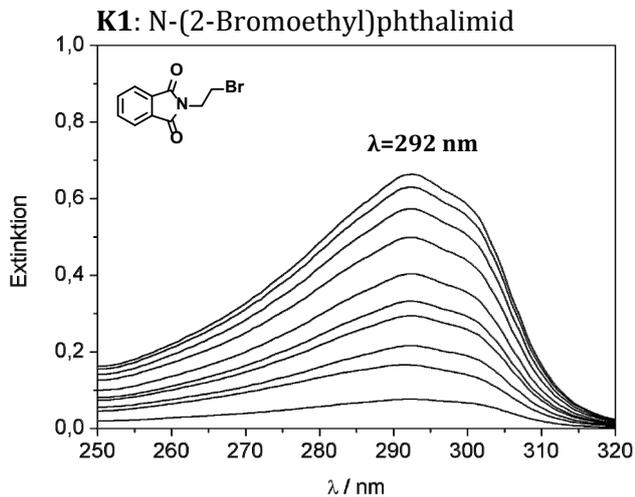
Schema 1: Darstellung von 2-Alkyl-2-oxazolin nach <i>Witte</i> und <i>Seeliger</i>	21
Schema 2: Darstellung von funktionalisierten 2-Oxazolin.....	21
Schema 3: Mechanismus der lebend-kationischen, ringöffnenden Polymerisation von 2-Oxazolin.....	22
Schema 4: Mögliche Übertragungsreaktionen bei der Polymerisation von 2-Oxazolin.....	24
Schema 5: Möglichkeiten der Polymerfunktionalisierung.....	24
Schema 6: Mögliche Terminierungsreaktionen.....	27
Schema 7: Schematischer Ablauf der Arbeit.....	30
Schema 8: Darstellung von 2-Alkyl-2-oxazolin;.....	32
Schema 9: Darstellung von 2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin;.....	53
Schema 10: Polymerfunktionalisierung mit K1-K4 an P7	57
Schema 11: Polymerfunktionalisierung mit a) Acrylsäurechlorid, b) Furoylsäurechlorid an P7	60
Schema 12: Umsetzung von P8 zum primären Amin mittels Gabriel-Synthese.....	63
Schema 13: Schematische Darstellung des möglichen Mechanismus der Thiol-Alkin-Vernetzung.....	65
Schema 14: Schale-Funktionalisierung von NP1 mit K1, K2 und K4	70
Schema 15: Polymerfunktionalisierung von P5 mit K1	71
Schema 16: Schale-Funktionalisierung von NP5 mit K1, K2 und K4	72
Schema 17: Nanopartikelfunktionalisierung mit FITC.....	75
Schema 18: Nanopartikelfunktionalisierung mit Folsäure.....	79
Schema 19: Peptid-Modifizierung mit 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzoylchlorid.....	82
Schema 20: Nanopartikelfunktionalisierung von NP5 mit Peptid zu NP11	85
Schema 21: Nanopartikelfunktionalisierung zur quartären Ammoniumverbindung.....	89
Schema 22: Nanopartikelfunktionalisierung mit 1,2-Dithiolan-3-pentansäure.....	91
Schema 23: Funktionalisierung polymerer Nanopartikel mit Goldnanopartikel.....	95
Schema 24: Schematische Darstellung zur Steuerung des Piperazin-Anteils auf der Nanopartikeloberfläche.....	108
Schema 25: Nanopartikelfunktionalisierung mit Furoylsäurechlorid.....	110
Schema 26: Nanopartikelfunktionalisierung mit Maleinsäureanhydrid.....	112
Schema 27: Nanopartikel-Kopplung mittels Diels-Alder-Reaktion über zwei unterschiedliche Partikel mit komplementären Funktionalitäten.....	114
Schema 28: Synthese von 1,2-Bismaleimidoethan.....	117
Schema 29: Nanopartikel-Kopplung mittels Diels-Alder-Reaktion über den bifunktionalen Linker 21	117
Schema 30: Schematische Darstellung der Nanopartikelsynthese mit vernetztem Kern und primärer oder sekundärer Aminfunktionalität auf der Oberfläche.....	126

7.4 Tabellenverzeichnis

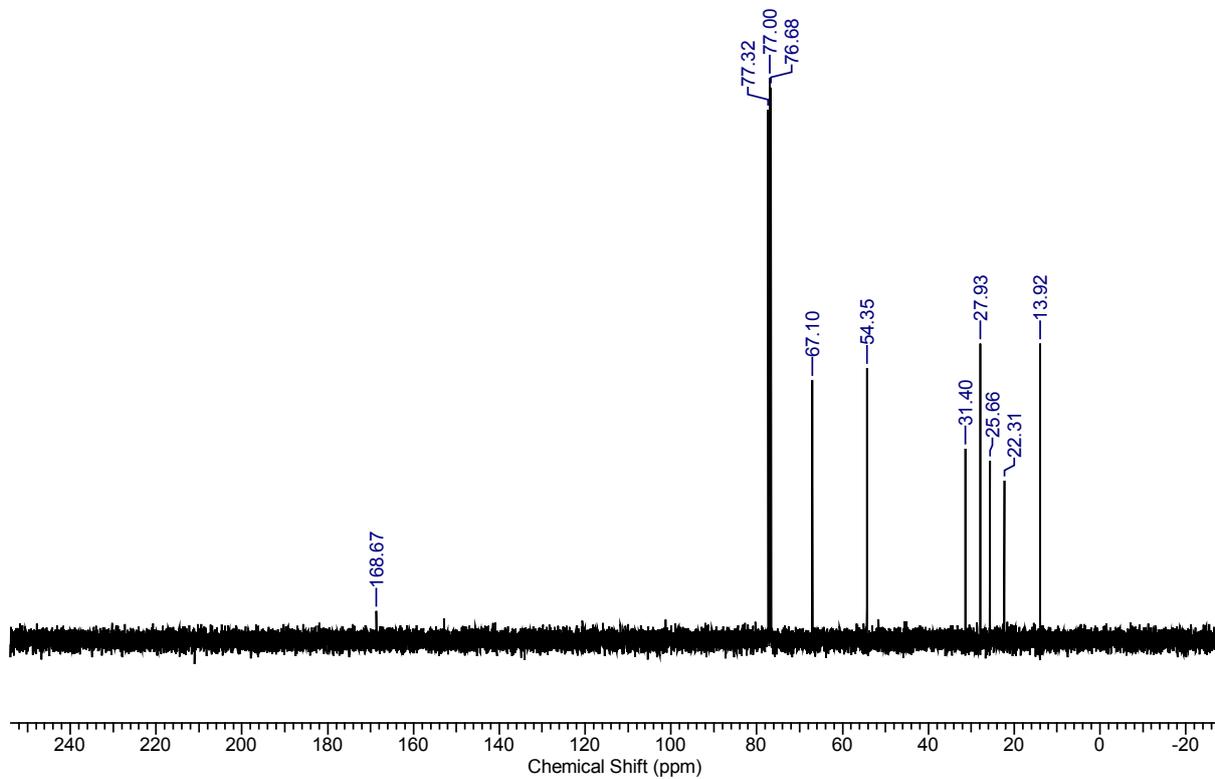
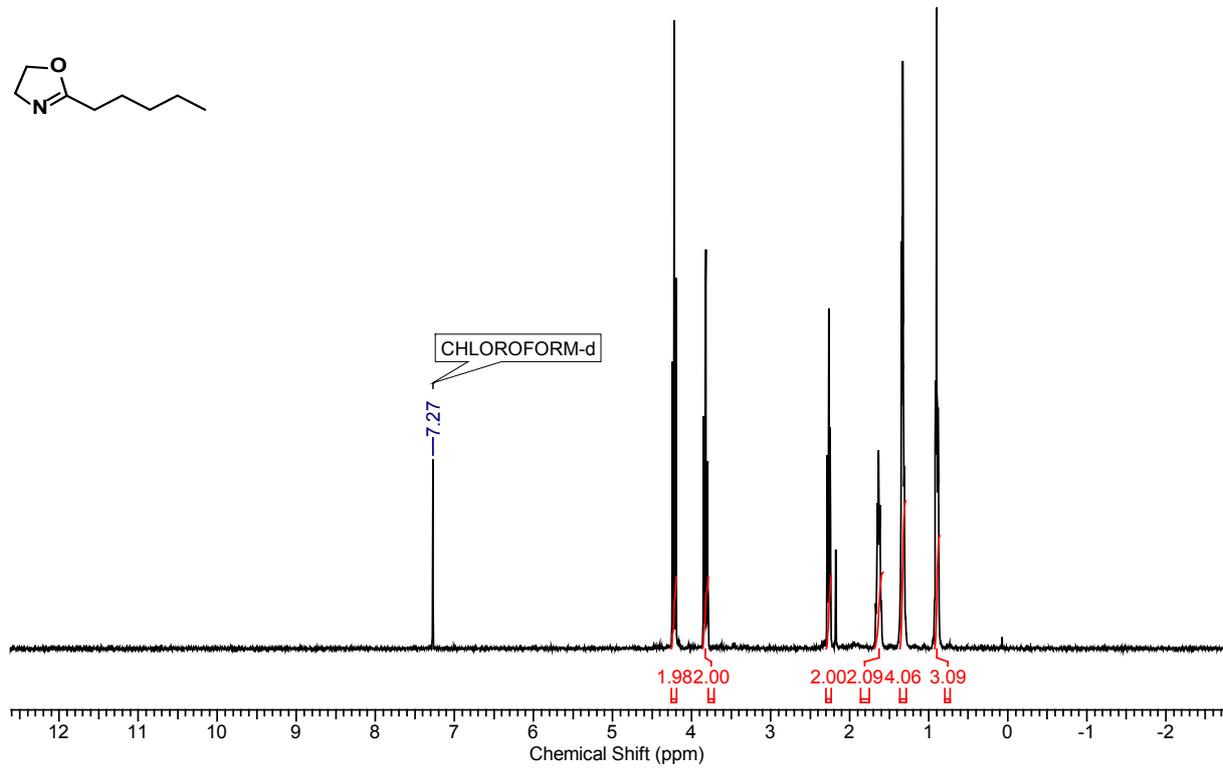
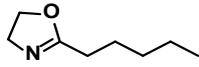
Tabelle 1: Aggregatstruktur in Abhängigkeit des Packungsparameters.....	11
Tabelle 2: Analytische Daten der amphiphilen Blockcopolymeren P1-P3	34
Tabelle 3: Kritische Mizellbildungskonzentration der Blockcopolymeren P1-P3	36
Tabelle 4: Hydrodynamischer Radius der Blockcopolymeren P1-P3	43
Tabelle 5: Glasübergangstemperatur und Schmelzpunkt der Blockcopolymeren P1-P3	44
Tabelle 6: Charakterisierung des Polymers P4	54
Tabelle 7: Extinktionskoeffizienten und die daraus resultierenden Kopplungseffizienzen.....	59
Tabelle 8: Bestimmung des hydrodynamischen Radius nach der Vernetzung von P4 in wässriger Lösung in Gegenwart unterschiedlicher 2-Propanthiol-Konzentrationen.....	67
Tabelle 9: Partikelmischungen für die Kopplungsexperimente.....	95
Tabelle 10: Hydrodynamische Radien nach den Kopplungsexperimenten von polymeren Nanopartikeln mit Goldnanopartikeln und Polydispersitäten der Proben.....	97
Tabelle 11: Ergebnisse der Wirkstoffbeladung des Nanopartikels NP1 mit Indomethacin.....	103
Tabelle 12: Nanopartikel-Charakterisierung der Mischungen aus P4 und P5	109
Tabelle 13: Bestimmung des Zeta-Potentials der NP18-21 in wässriger Lösung.....	110
Tabelle 14: Nanopartikel-Charakterisierung in wässriger Lösung, nach Modifizierung mit Furoylsäurechlorid.....	111
Tabelle 15: Bestimmung des hydrodynamischen Radius nach der Nanopartikel-Kopplung über zwei unterschiedliche Partikel mit komplementären Funktionalitäten in Methanol als Lösemittel.....	114
Tabelle 16: Bestimmung des hydrodynamischen Radius in Methanol nach der Nanopartikel-Kopplung über den Linker 21	118

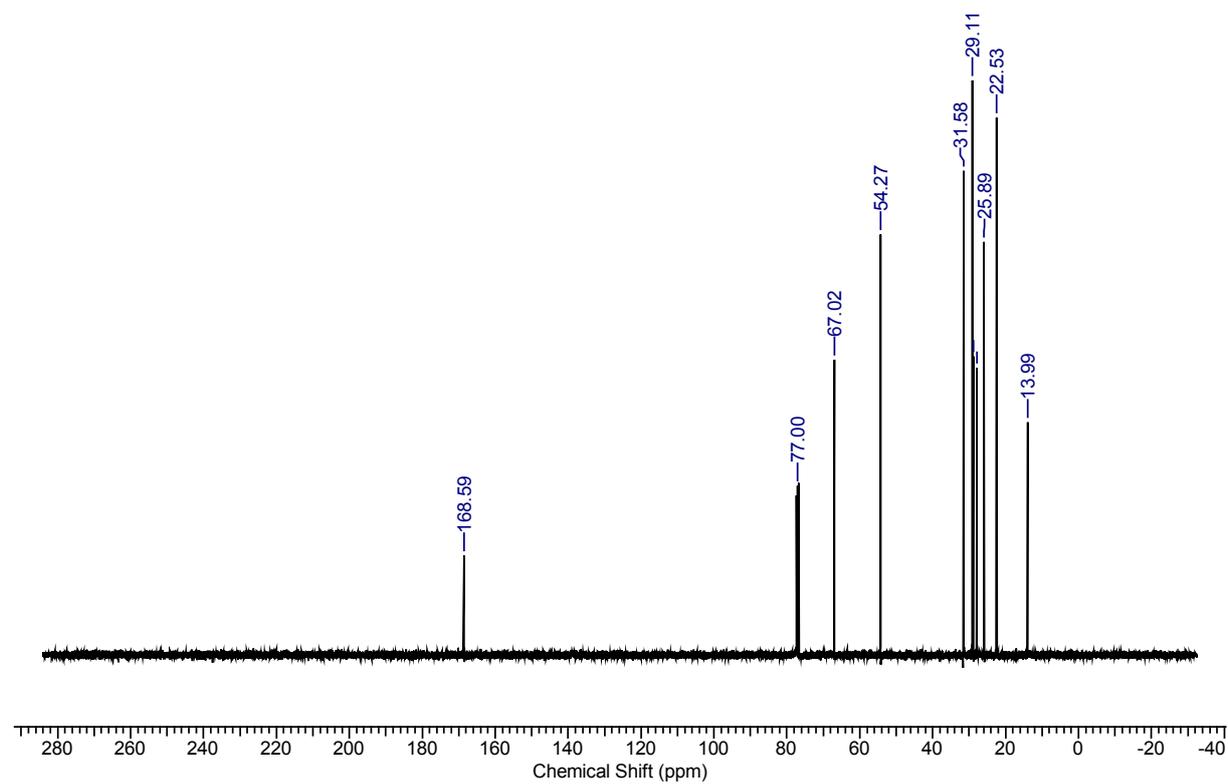
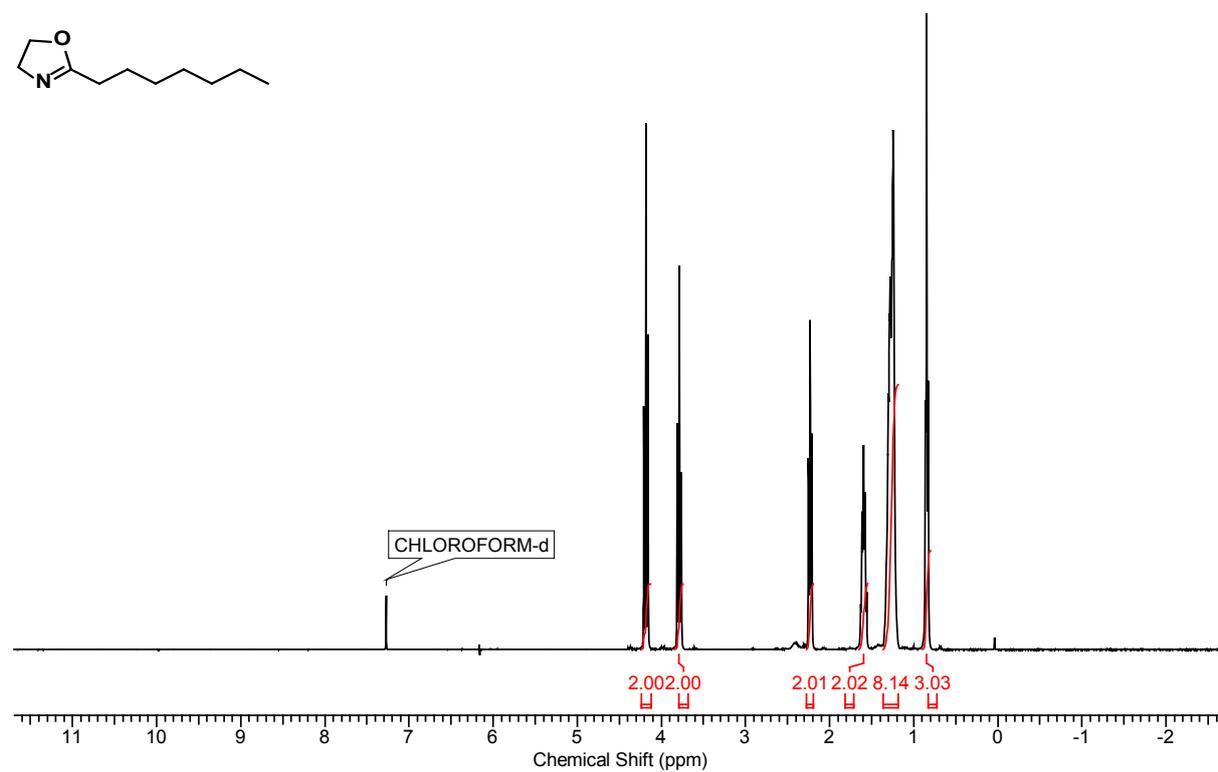
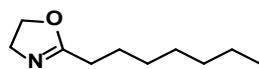
7.5 UV/vis-Spektren

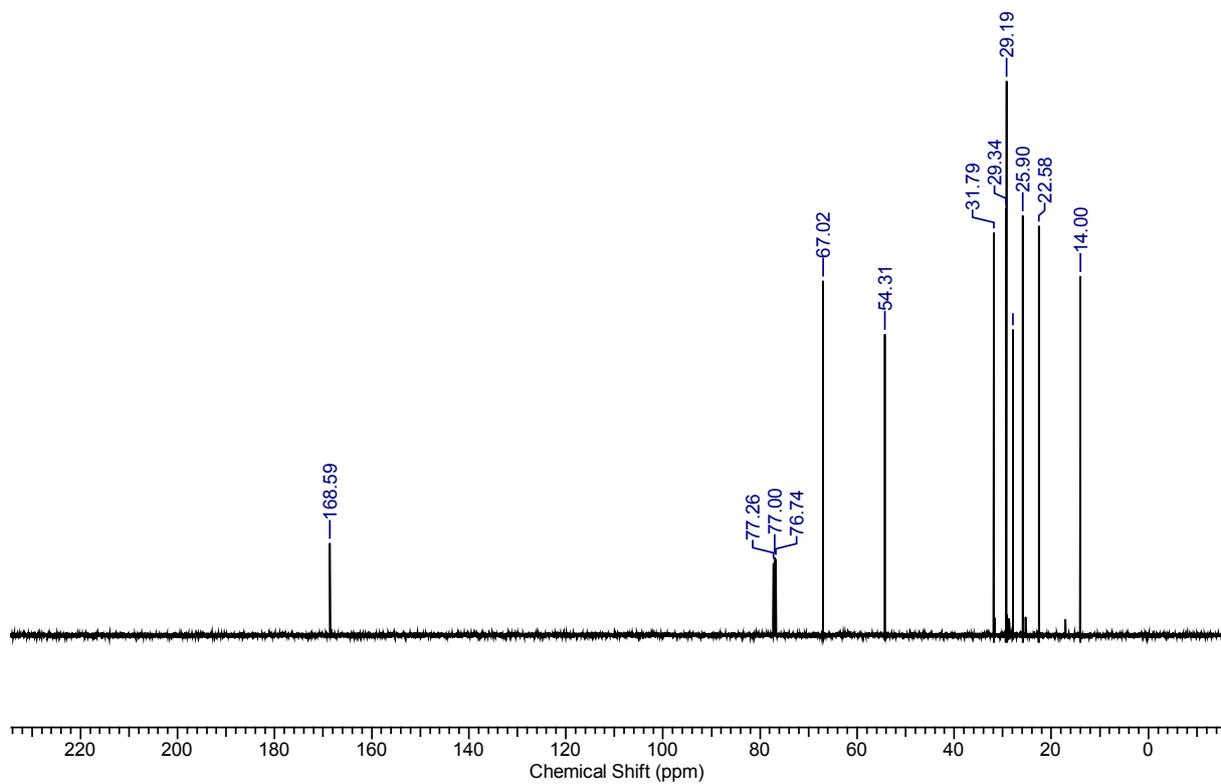
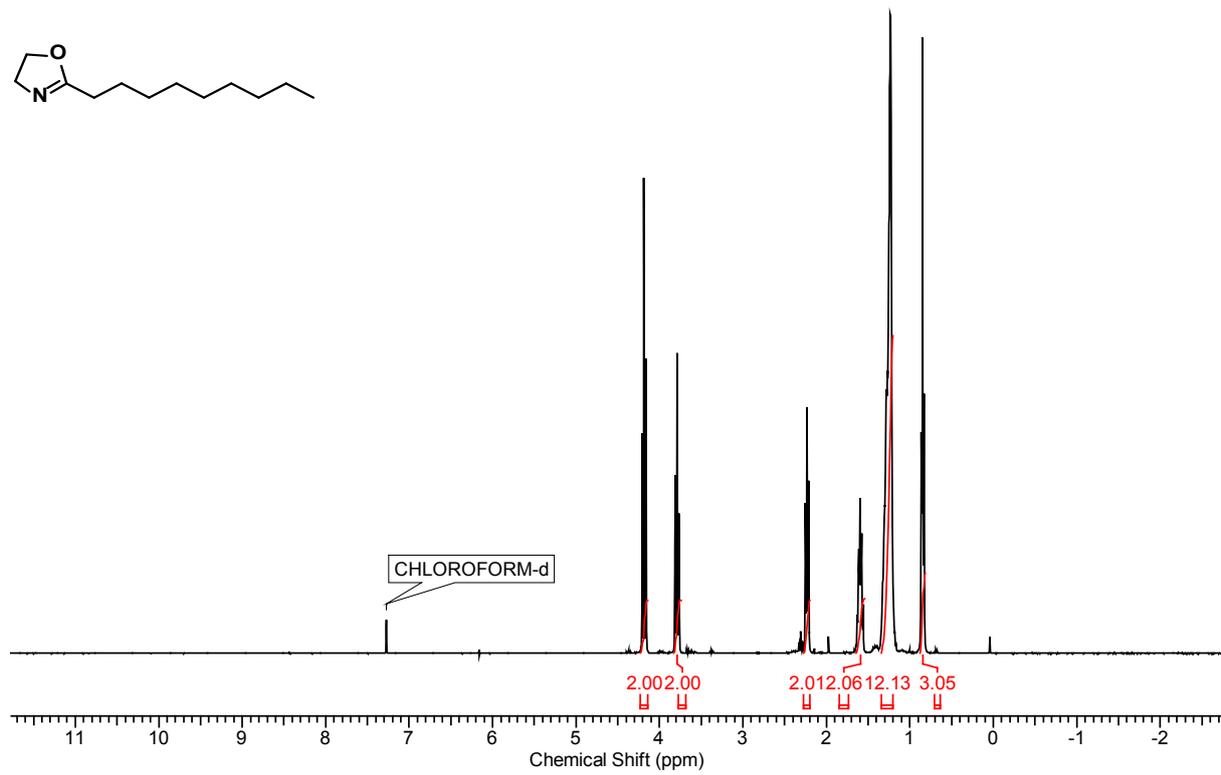
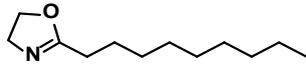
UV/vis-Spektren der aromatischen Verbindungen **K1-K3** und die sich daraus ergebenden Kalibriergeraden. Das UV/vis-Spektrum der Verbindung **K4** wurde bereits in der Arbeit dargestellt (siehe Seite 58). Alle UV/vis-Spektren wurden in Acetonitril aufgenommen.



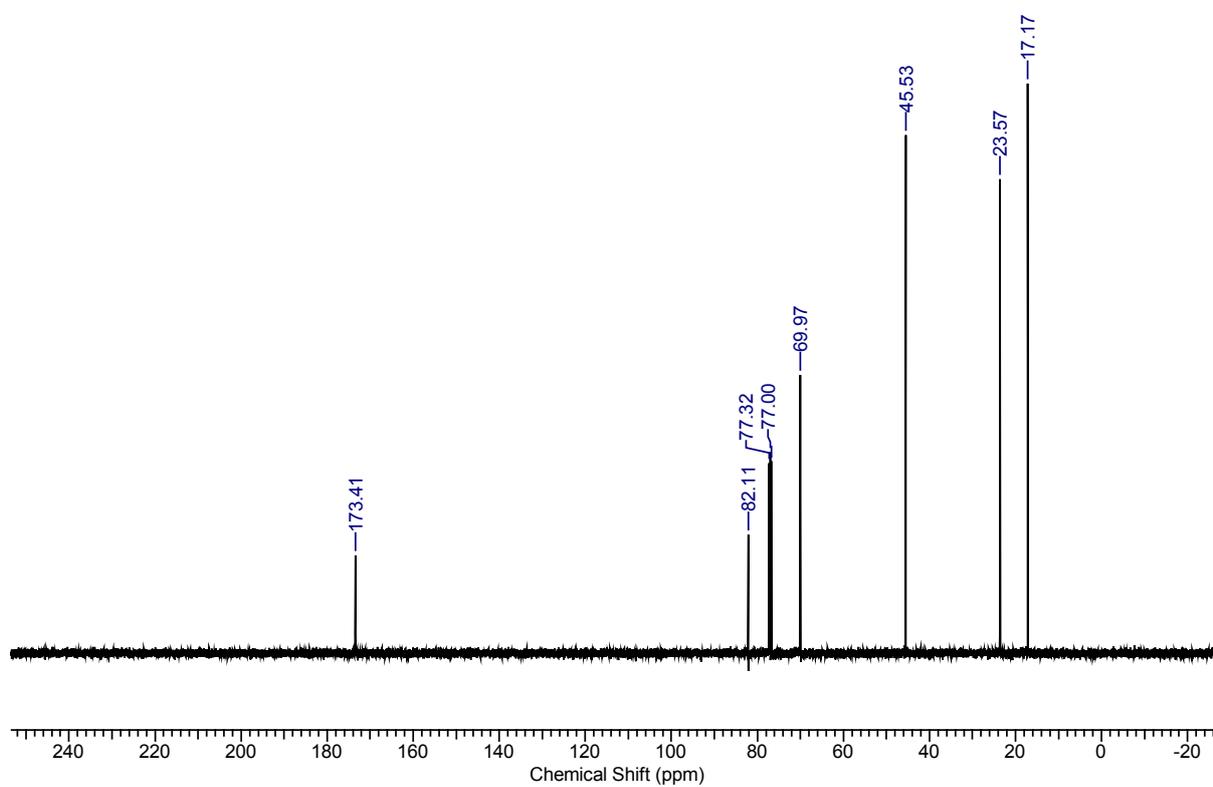
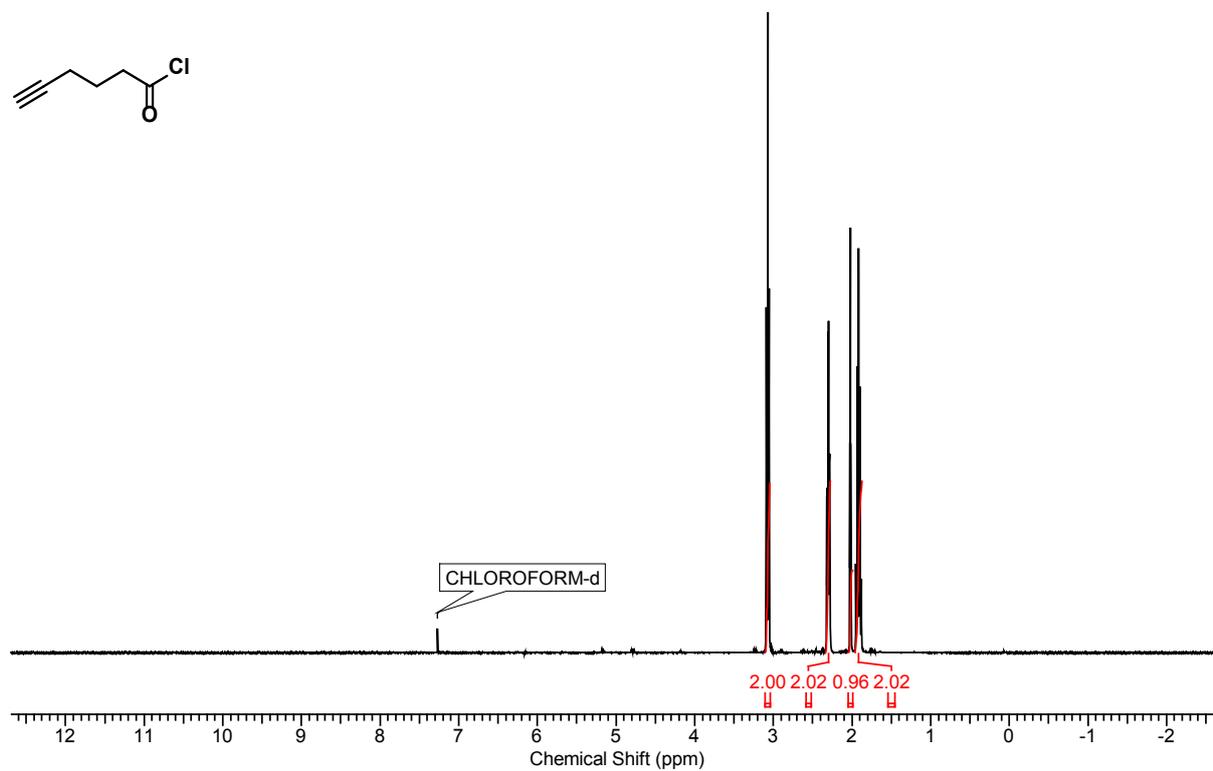
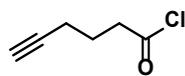
7.6 NMR-Spektren

2-Pentyl-2-oxazolin (5)

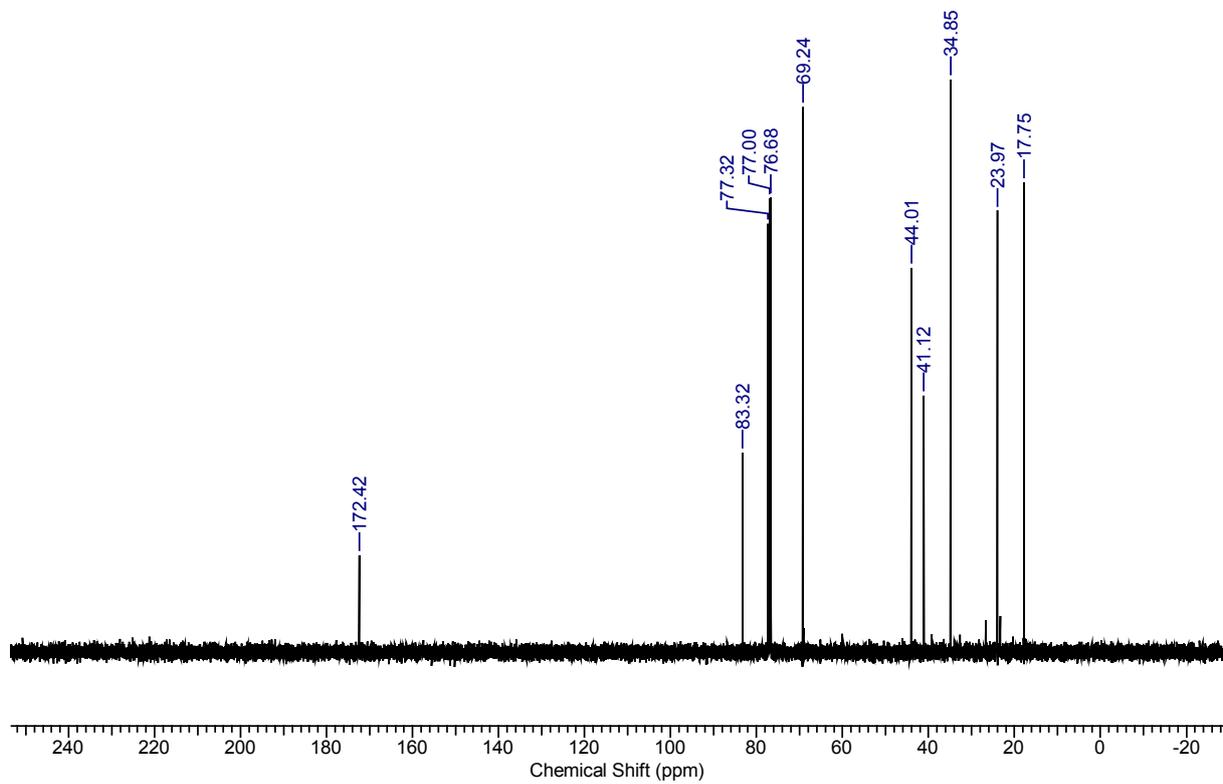
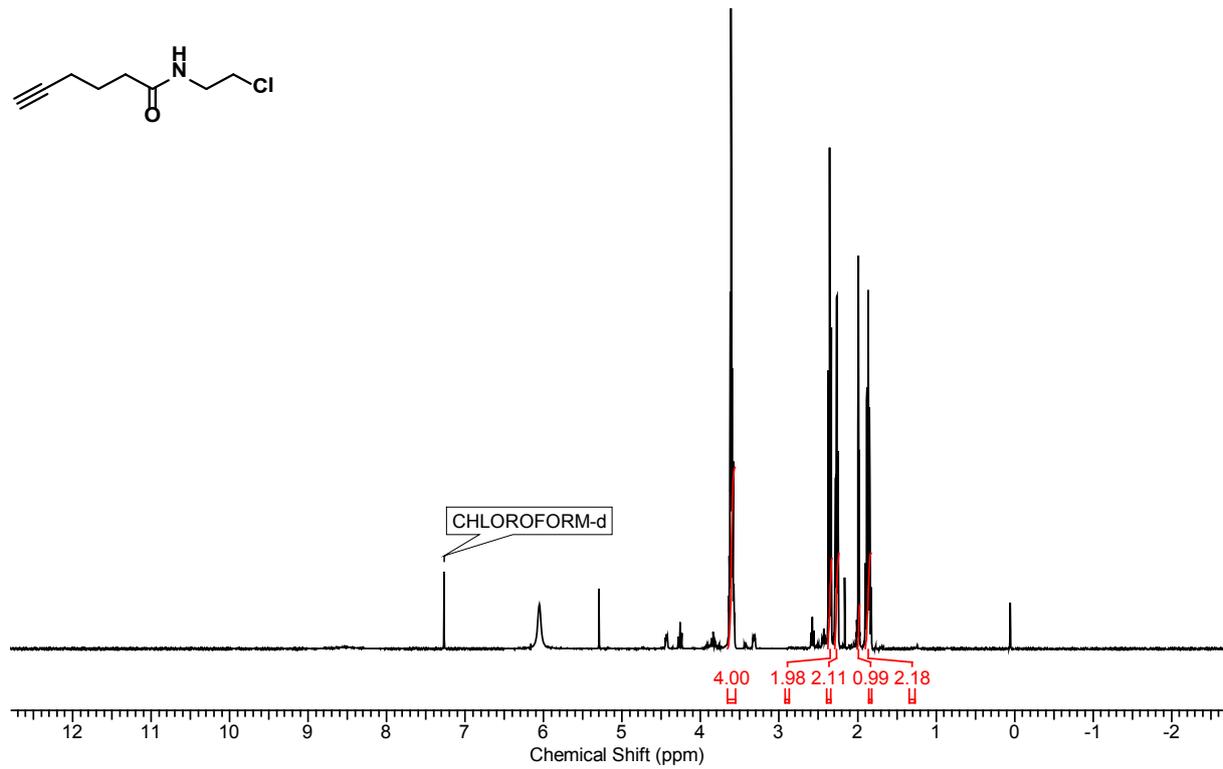
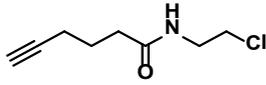
2-Heptyl-2-oxazolin (6)

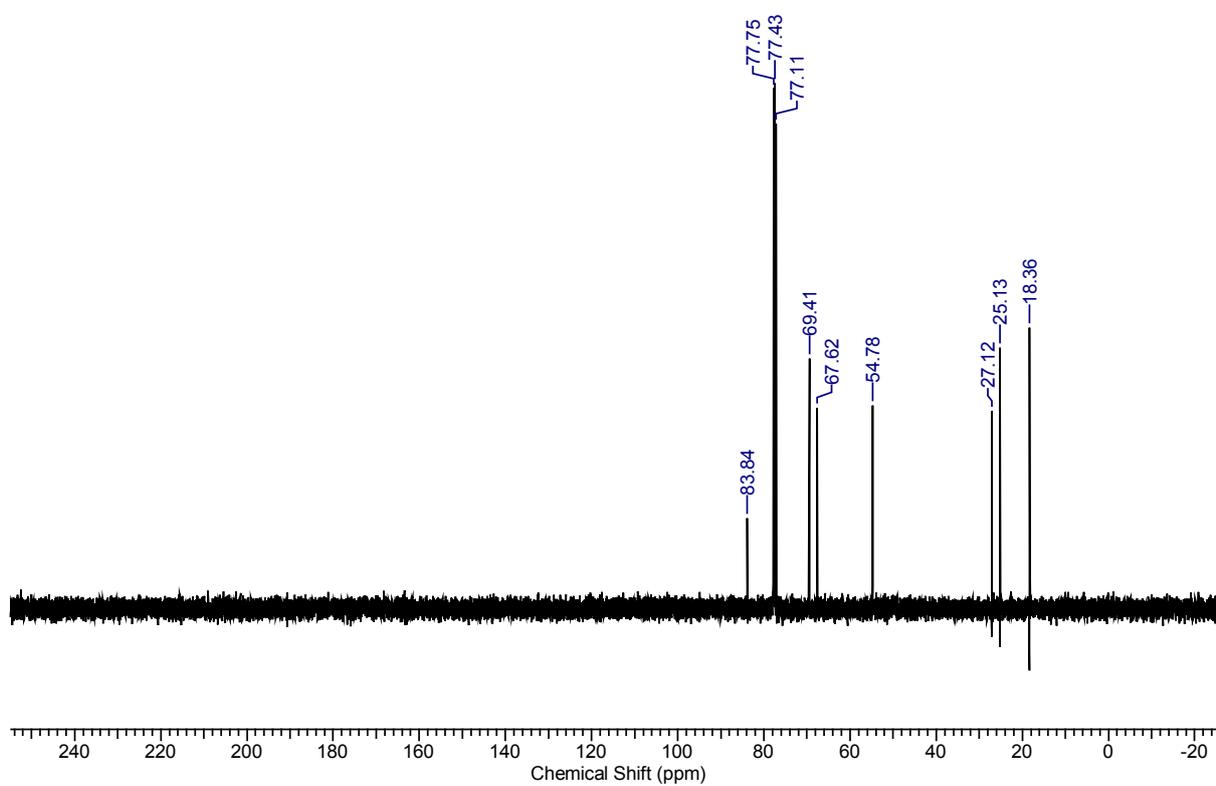
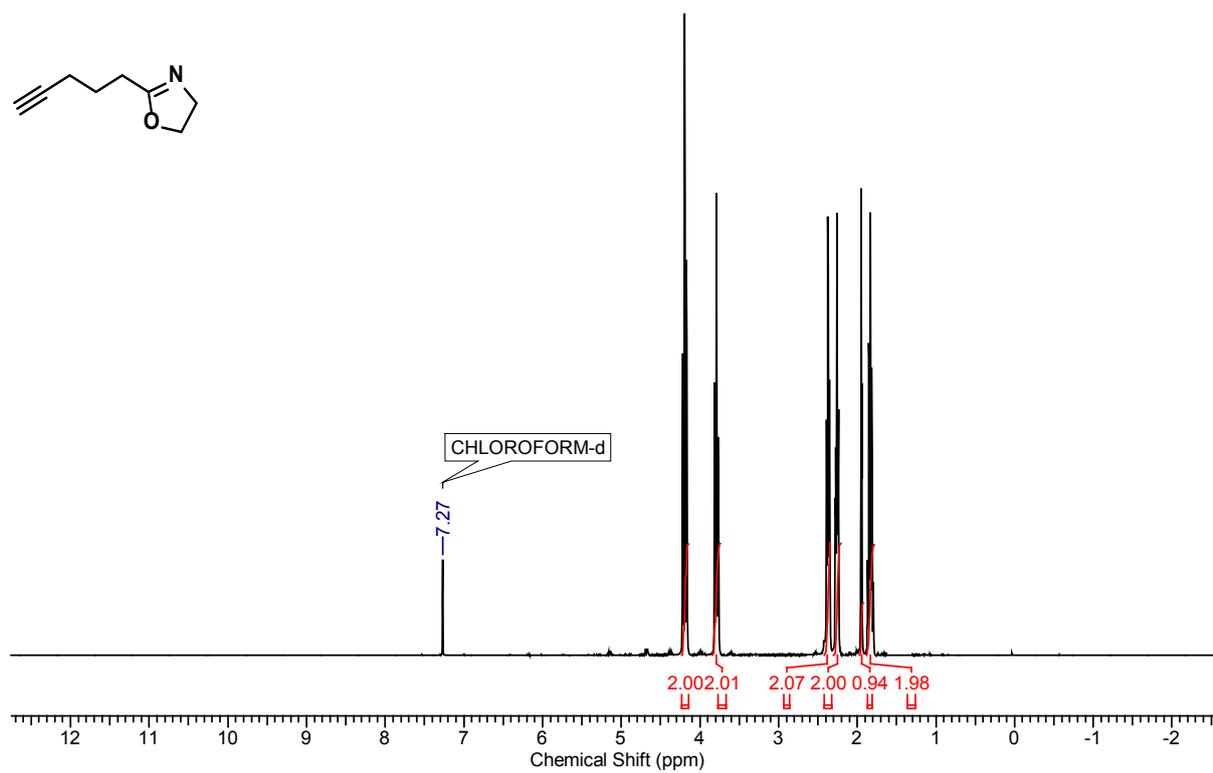
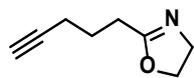
2-Nonyl-2-oxazolin (7)

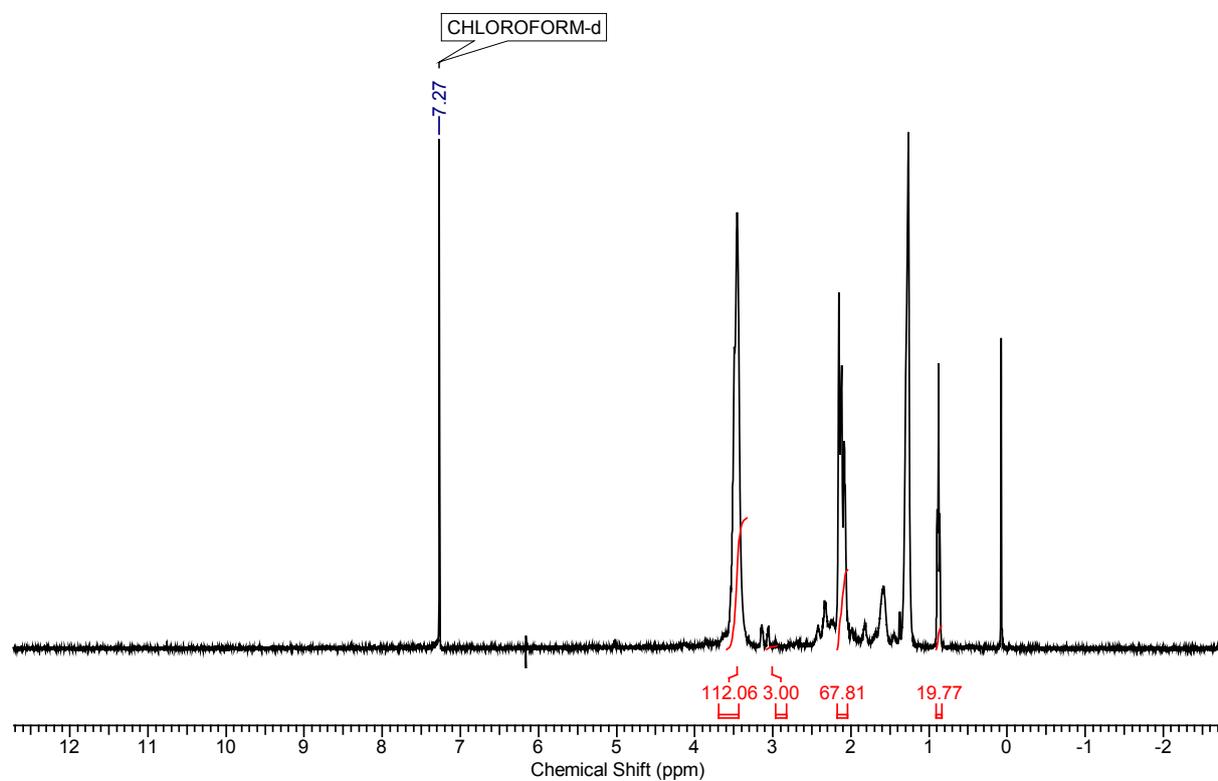
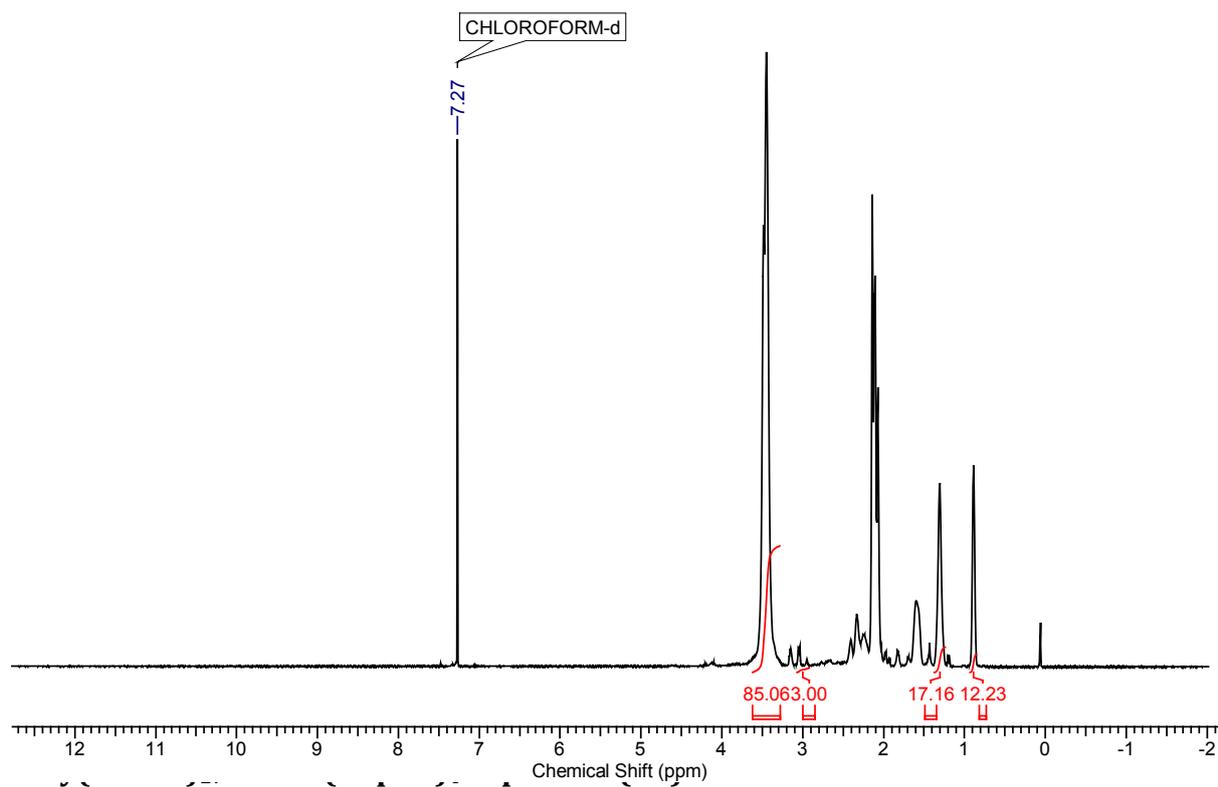
5-Hexynylchlorid (10)

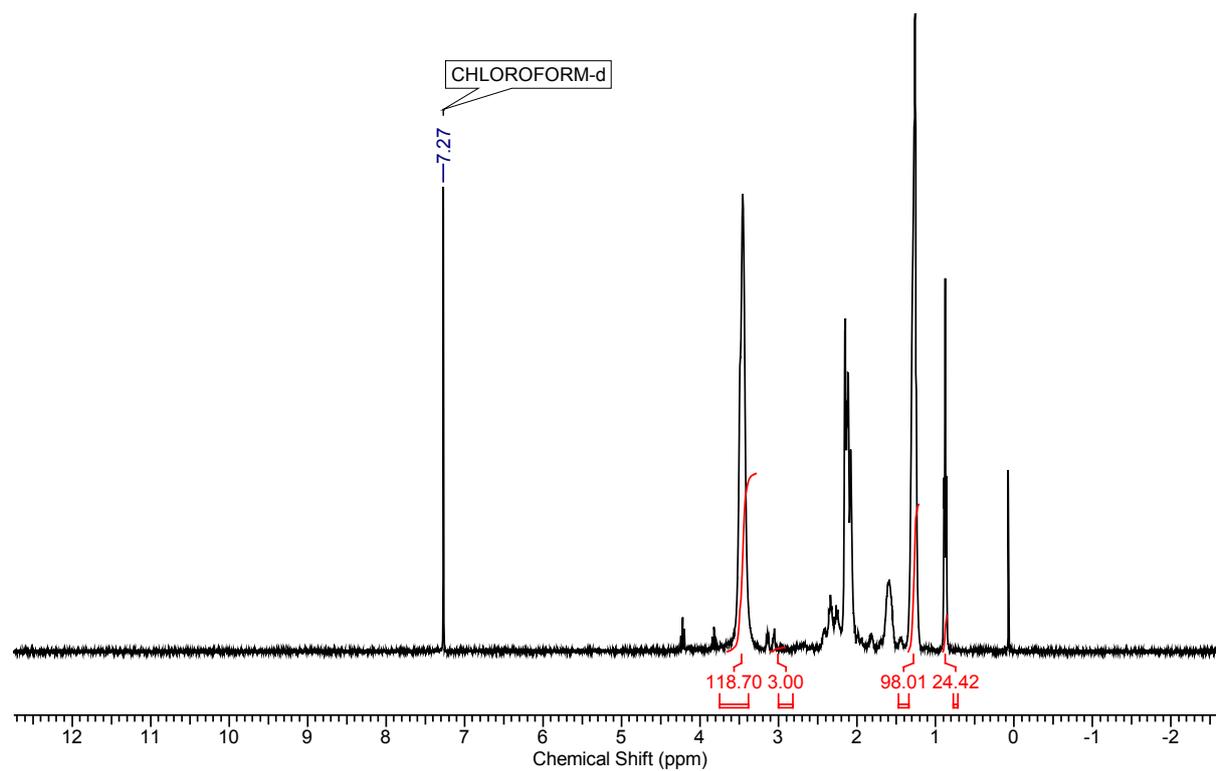
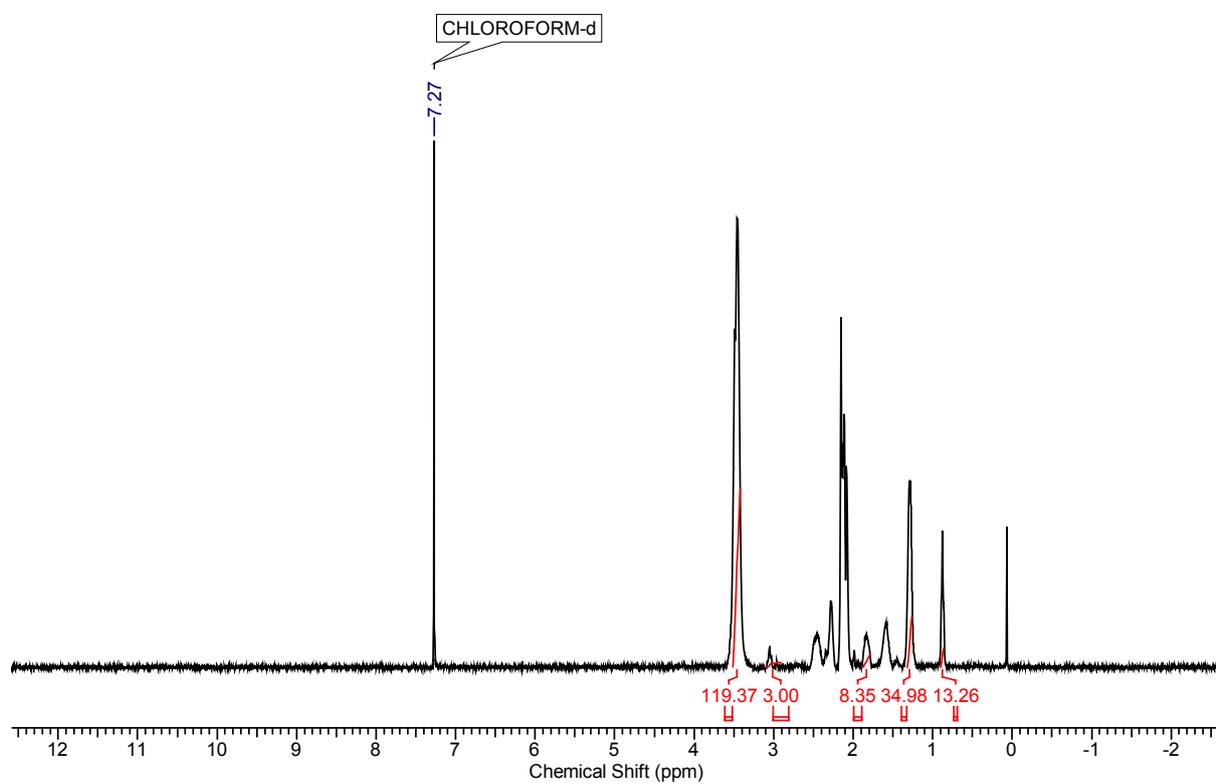


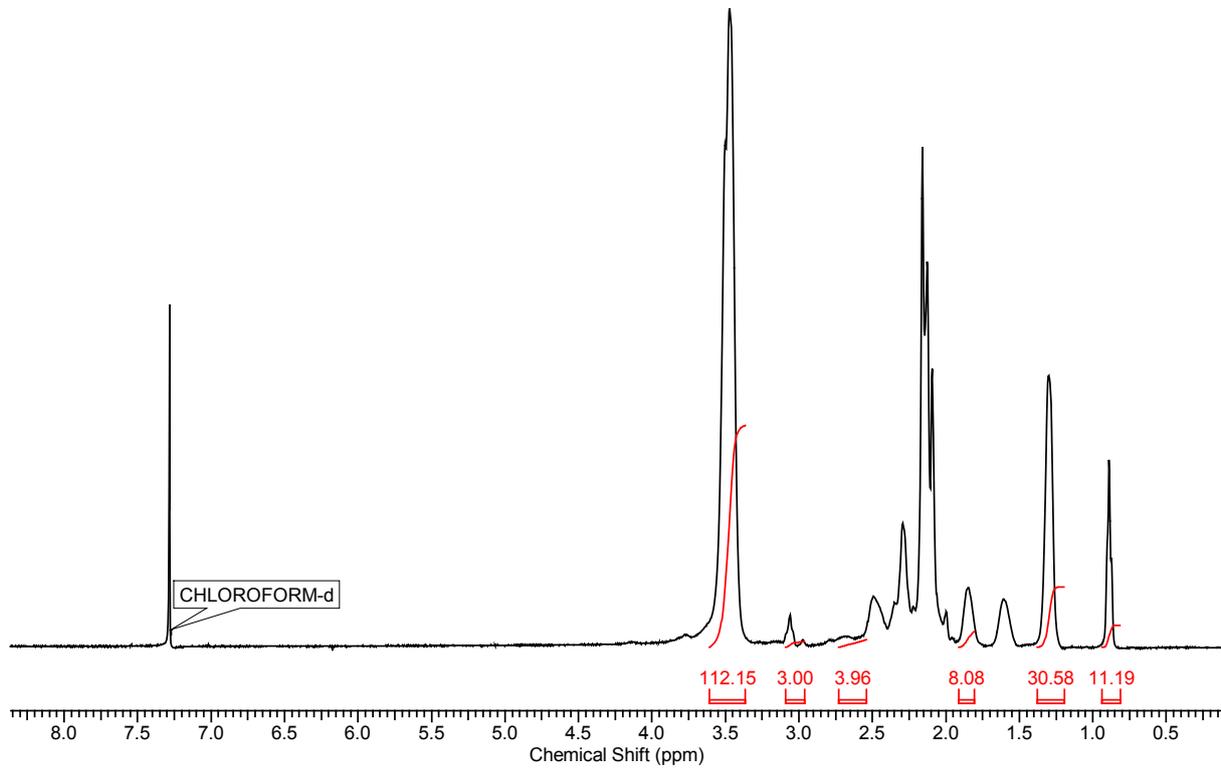
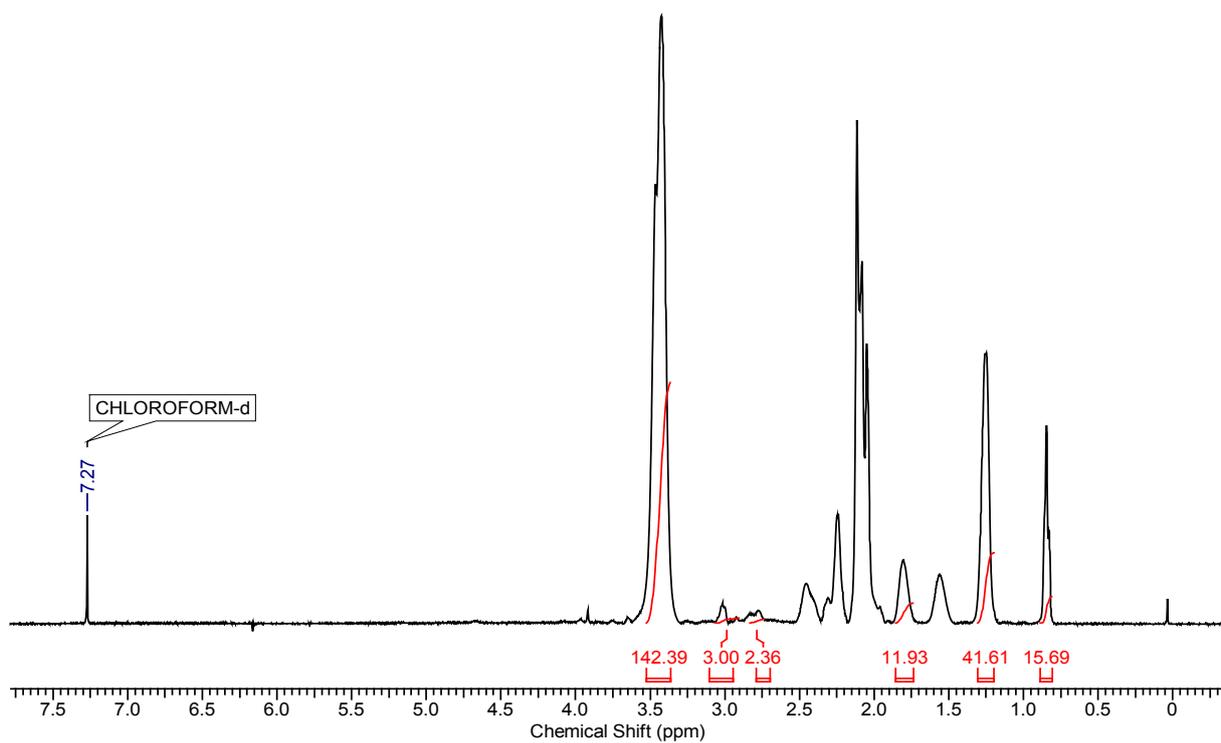
Hex-5-ensäure-(2-chloroethyl)-amid (12)

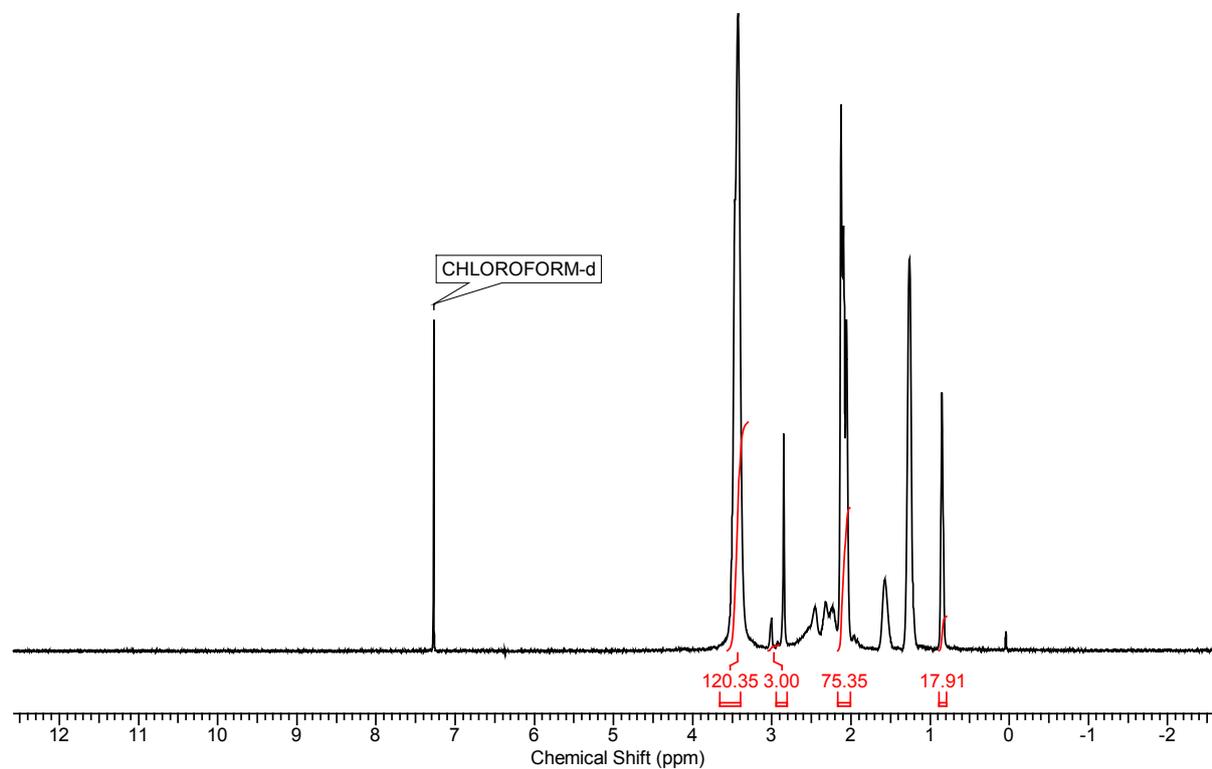
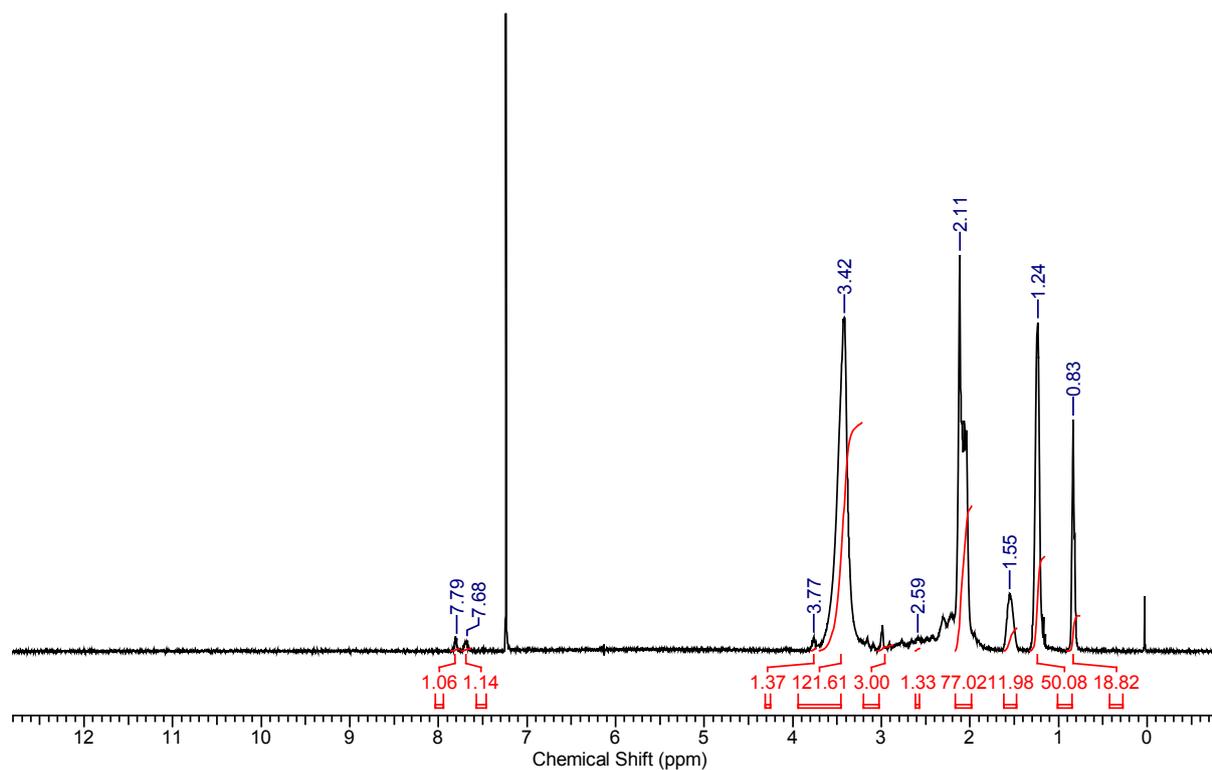


2-(Pent-4-ynyl)-2-oxazolin (13)

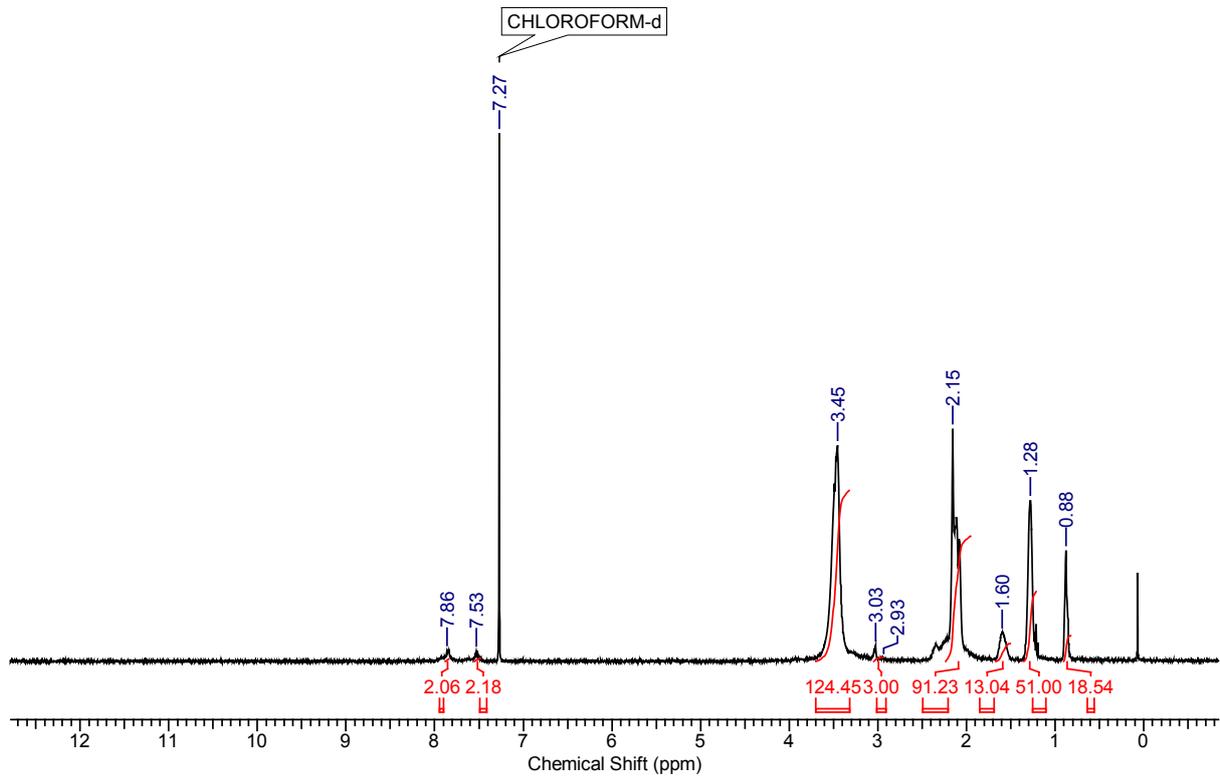
Poly(MetOx)₁₇-*block*-(PentOx)₄-Piperidin (P1)

Poly(MetOx)₂₂-block-(NonOx)₆-Piperidin (P3)**Poly((HepOx)₄-stat-(PentOx)₄)-block-(MetOx)₂₂-Piperidin (P4)**

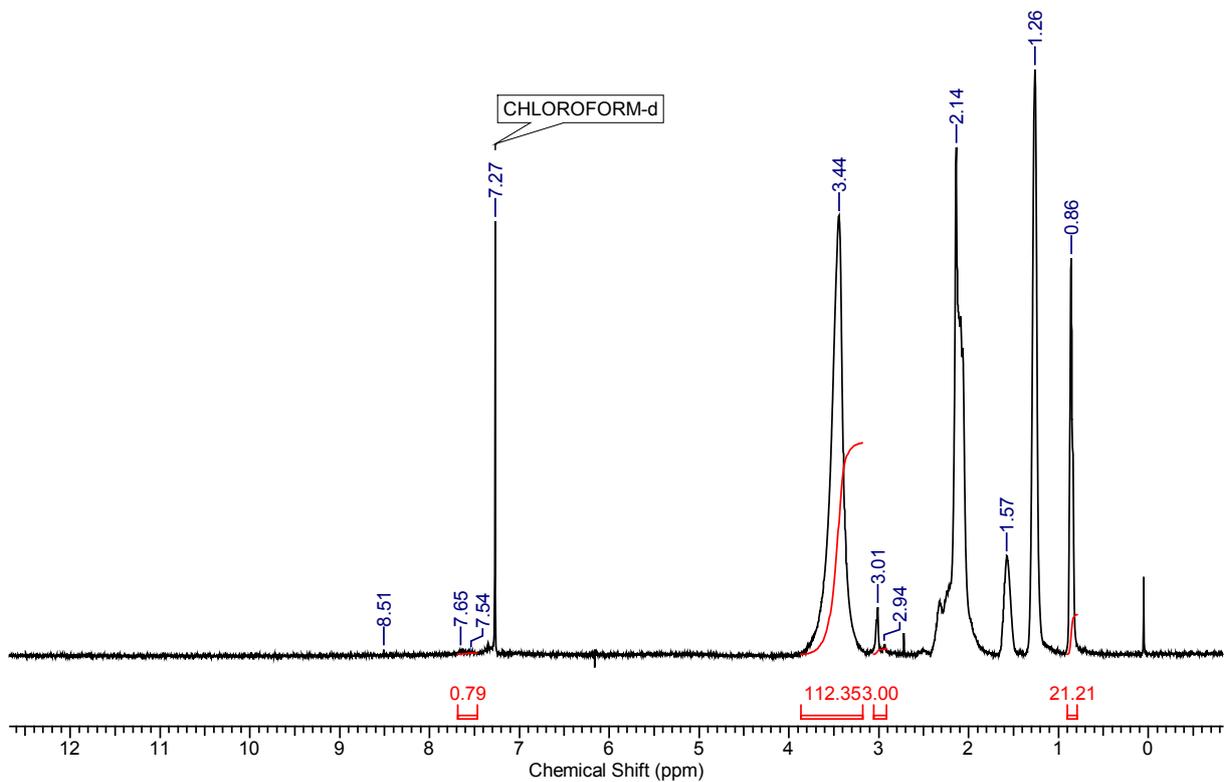
Poly({(HepOx)₄-stat-(PentOx)₄}-block-(MetOx)₂₂}-Piperazin (P5)**Poly({(HepOx)₅-stat-(PentOx)₆}-block-(MetOx)₂₅}-Ethylendiamin (P6)**

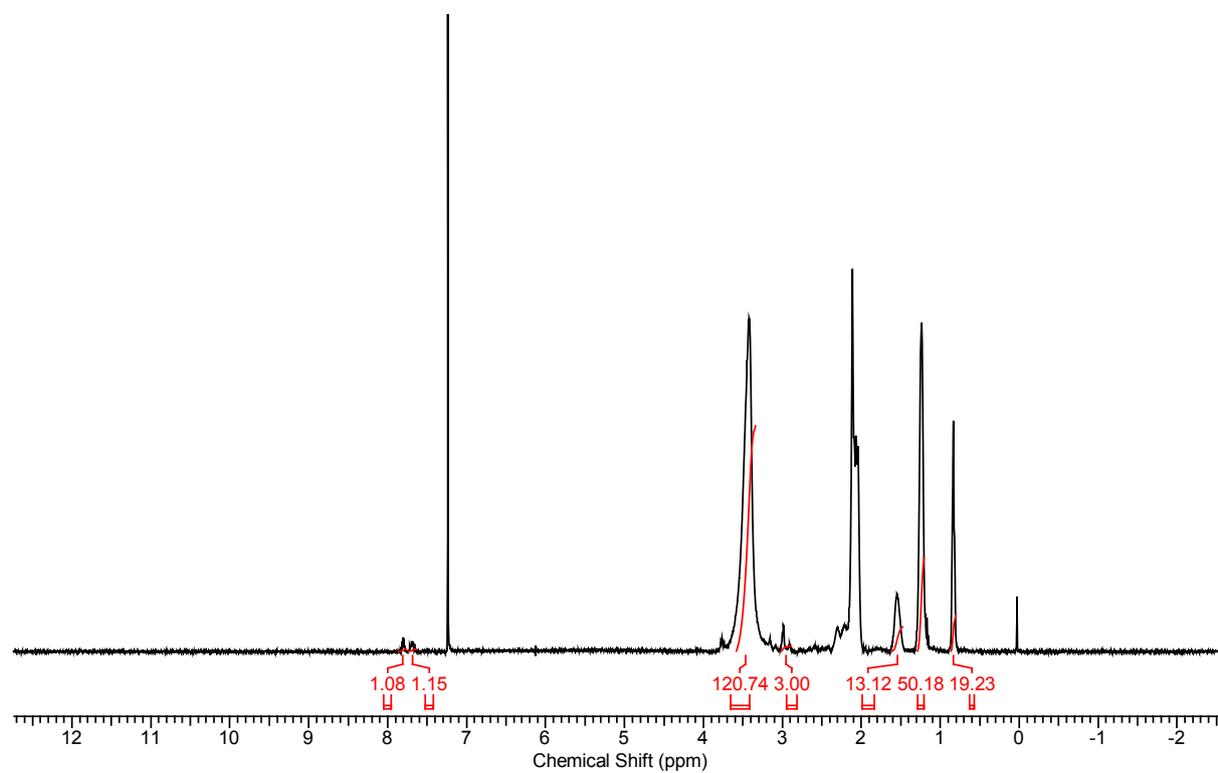
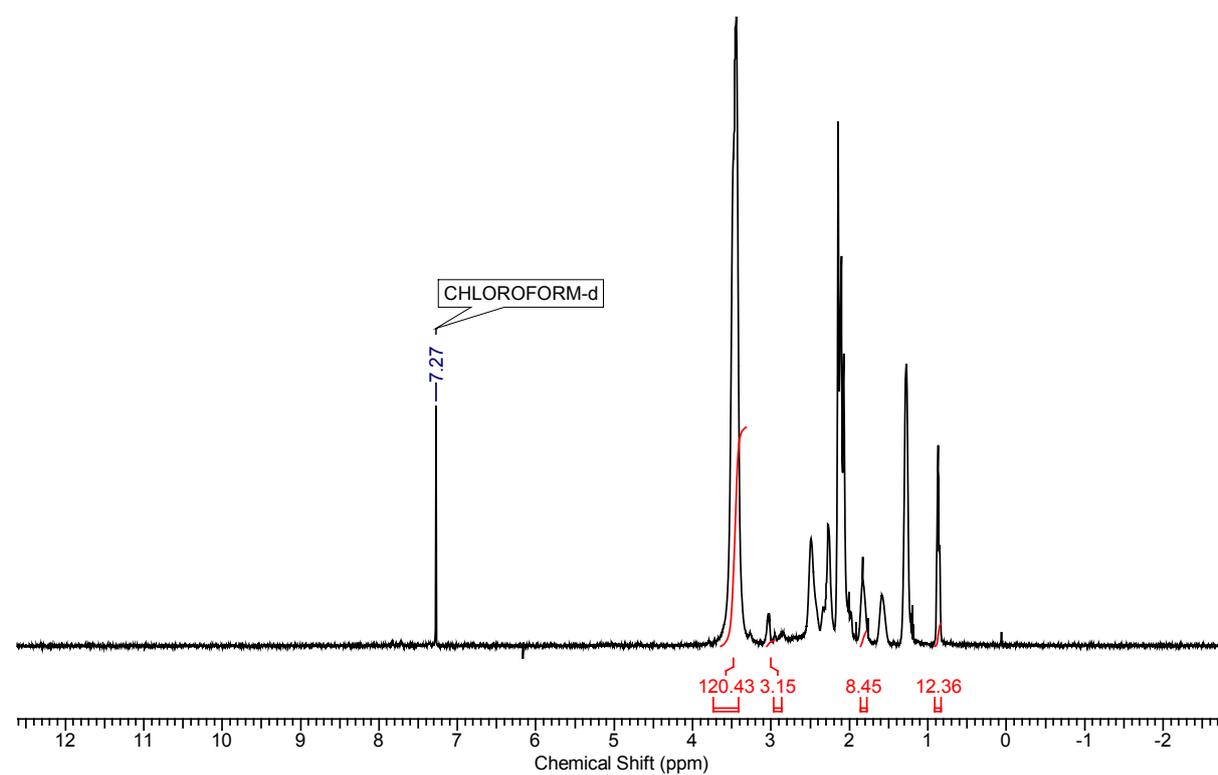
Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin (P7)**Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin-Phthalimid (P8)**

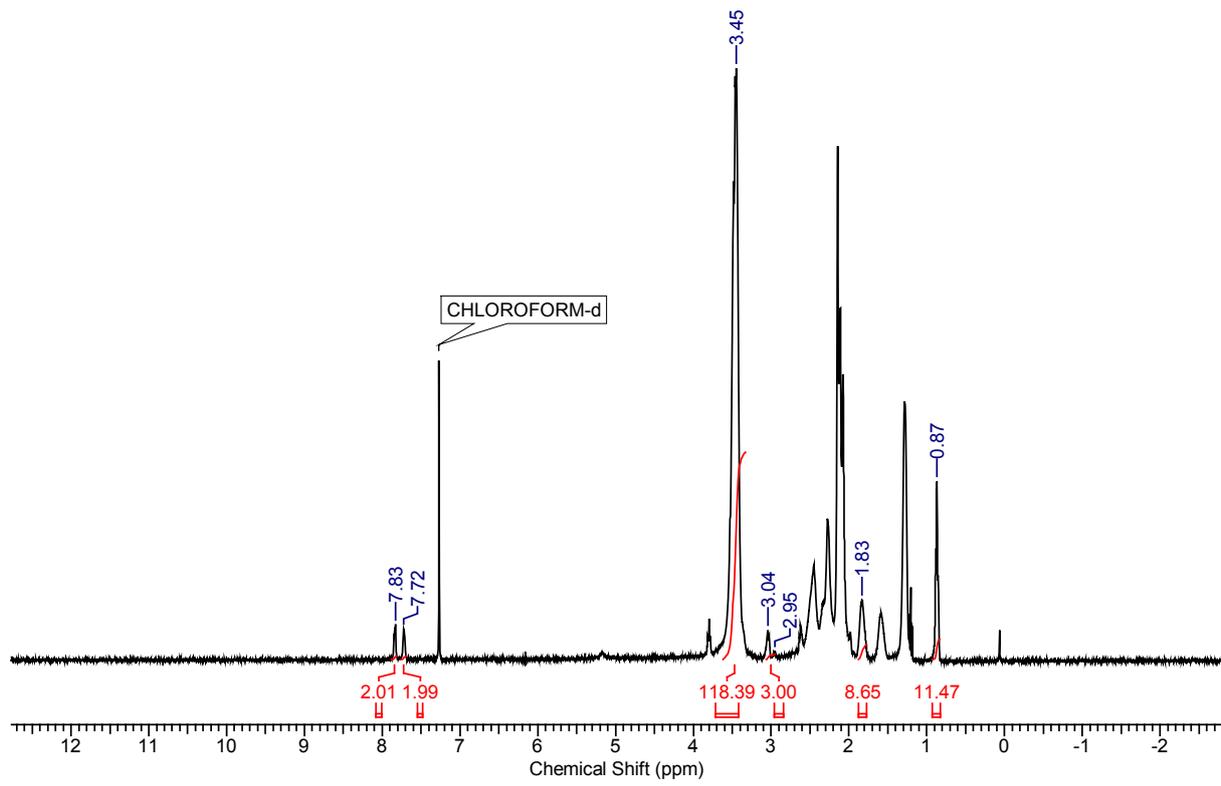
Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin-Naphthalin (P9)

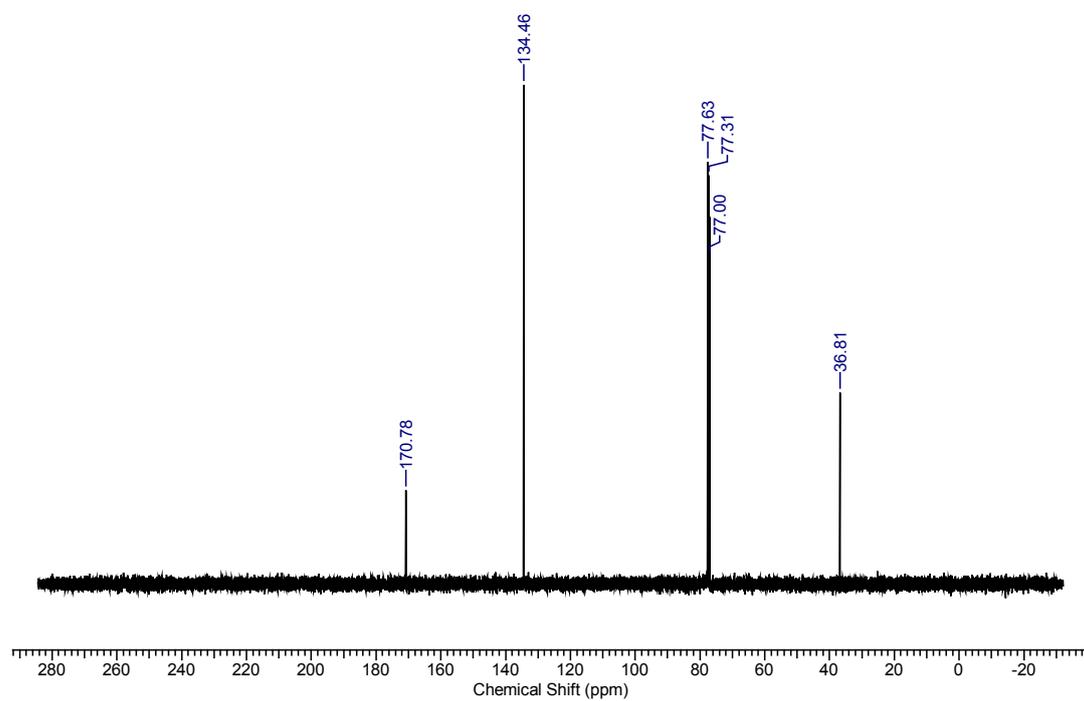
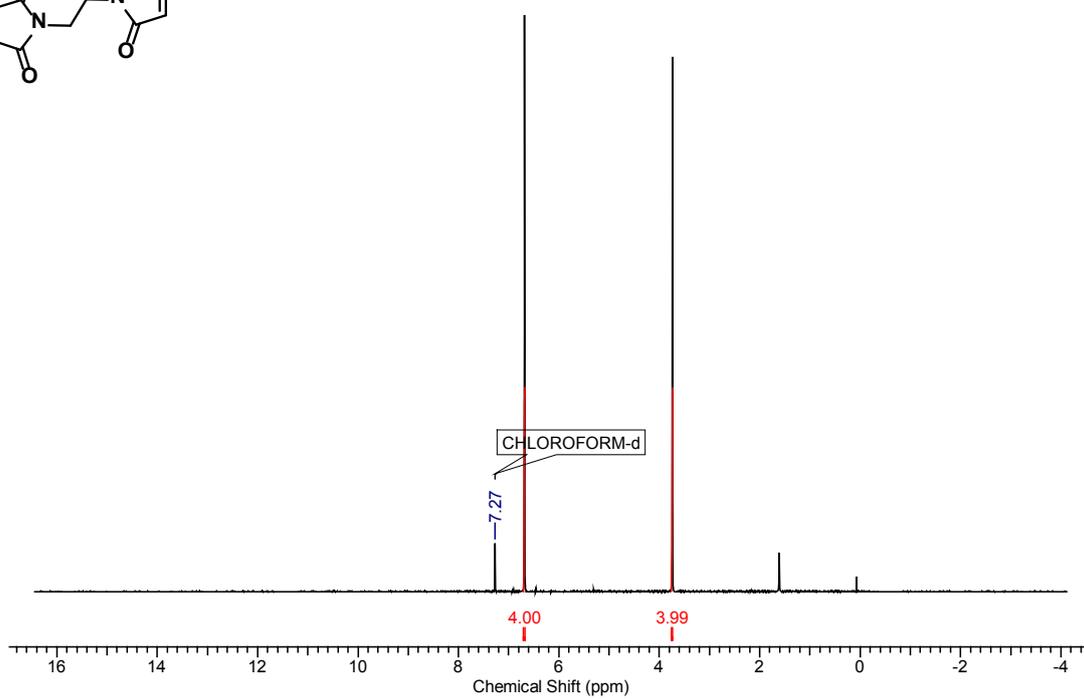
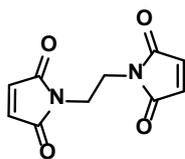


Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin-Coumarin (P10)



Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin-Anthracen (P11)**Poly[(HepOx)₆-*block*-(MetOx)₂₄]-Piperazin-C₂H₄-NH₂ (P14)**

Poly[$\{(\text{HepOx})_4\text{-stat-(Pentyn)}_4\}$ -*block*-(MetOx) $_{22}$]-Piperazin-Phthalimid (P15)

1,2-Bis(maleimido)ethan-Linker

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erbracht habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie wörtliche und sinngemäße Zitate kenntlich gemacht. Die Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegen.

Dortmund, 19.05.2014

Nadine Engelhardt