

Appendices

Iterative method calculation of degree of functionalization

$$DF_1 = \frac{\int (3.00 - 2.15) ppm \times n_{H(PEI)}}{\int (1.35 - 1.25) ppm \times 4 \times n_{-NH_2(T)}}$$

$$DF_2 = \frac{\int (3.00 - 2.15) ppm \times (n_{H(PEI)} - 2 \times DF_1 \times n_{-NH_2(T)})}{\int (1.35 - 1.25) ppm \times 4 \times n_{-NH_2(T)}}$$

$$DF_3 = \frac{\int (3.00 - 2.15) ppm \times (n_{H(PEI)} - 2 \times DF_2 \times n_{-NH_2(T)})}{\int (1.35 - 1.25) ppm \times 4 \times n_{-NH_2(T)}}$$

$$DF_4 = \frac{\int (3.00 - 2.15) ppm \times (n_{H(PEI)} - 2 \times DF_3 \times n_{-NH_2(T)})}{\int (1.35 - 1.25) ppm \times 4 \times n_{-NH_2(T)}}$$

$$DF = \frac{\int (3.00 - 2.15) ppm \times (n_{H(PEI)} - 2 \times DF_4 \times n_{-NH_2(T)})}{\int (1.35 - 1.25) ppm \times 4 \times n_{-NH_2(T)}}$$

where: $n_{H(PEI)}$ = total number of protons from the PEI backbone (336 for PEI₃₆₀₀, 976 for PEI₁₀₅₀₀) and $n_{-NH_2(T)}$ = total number of primary amine groups (-NH₂) in the polymer (31 for PEI₃₆₀₀, 76 for PEI₁₀₅₀₀)

Publikationen

- [1] B. A. Grzybowski, M. Radowski, Ch. J. Campbell, J. N. Lee, G. M. Whitesides; *Appl. Phys. Lett.*; **2004**, 84 (10), 1798-1800; "Self-assembling fluidic machines"
- [2] J. A. Wiles, M. Fialkowski, M. R. Radowski, G. M. Whitesides, B. A. Grzybowski; *J. Phys. Chem. B*; **2004**, 108, 20296-20302; "Effects of Surface Modification and Moisture on the Rates of Charge Transfer between Metals and Organic Materials"
- [3] R. Andruszkiewicz, M. Radowski, Z. Czajgucki; *Synth. Comm.*; **2005**, 35, 1085-1094; "Efficient synthesis of orthogonally protected spermidine and norspermidine derivatives."
- [4] R. Haag, M. Radowski; Patentanmeldung DE 10 2004 039 875 A1; **2004**; "Nanotransportsystem mit dendritischer Architektur"
- [5] M. R. Radowski, A. Shukla, H. v. Berlepsch, C. Böttcher, G. Pickaert, H. Rehage, R. Haag, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 1287-1292; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 1265-1270. "Supramolecular Aggregates of Dendritic Multishell Architectures as Universal Nanocarriers"
- [6] M. Krämer, M. Radowski, U. Landau, R. Haag; Patentanmeldung; **2007**; "Antibacterial nanotransporters"
- [7] C. Treiber, M. A. Quadir, M. R. Radowski, S. Xu, P. Voigt, T. A. Bayer, S. M., R. Haag, G. Multhaupt; *Submitted* **2007**. "Core shell-based nanocarrier systems are able to encapsulate Cu and to transport across cell membranes"
- [8] J. Keilitz, M. R. Radowski, J.-D. Marty, R. Haag, F. Gauffre, C. Mingotaud; *Submitted* **2007**. "Dendritic Polymers with a Core-Shell Architecture: an Universal Stabilizer for Nanoparticles?"

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine effiziente dreistufige Synthese zur Herstellung neuer Kern-Schale-Architekturen mit einem hochverzweigten polymeren Kern, entwickelt. Als Vorläufer dieser Architekturen dienten kommerziell erhältliche Bausteine.

Die sogenannten Multischalennanotransporter können nicht nur polare (Kongorot, Vitamin B₆, Bengalrosa), unpolare (Nimodipin, β -Carotin, Nilrot) und ionische Gastmoleküle einschließen, sondern sich auch an verschiedenste Polaritäten der Umgebung anpassen. Ihre gute Löslichkeit in einer Vielzahl organischer Lösungsmittel erlaubt den Transport eingeschlossener Gastmoleküle in sehr unterschiedliche Umgebungen, einschließlich unpolaren und polaren organischen Lösungsmitteln, so wie wässrigen Lösungsmitteln. Im Unterschied zu bereits existierenden micellaren Systemen können diese Systeme entweder unpolare Moleküle in wässrige Umgebung, oder polare Moleküle in eine hydrophobe Umgebung transportieren. Basierend auf diesen universellen Transporteigenschaften verhalten sie sich wie „chemische Chamäleons“.

Um die Rolle jeder einzelnen Domäne (Kern, innere Schale, äußere Schale) zu verstehen, wurden diese im Rahmen dieser Arbeit unabhängig voneinander variiert. Als Kernmoleküle wurden sowohl hochverzweigte Poly(ethylenimine) unterschiedlicher Molekulargewichte ($M_n = 3600 \text{ g mol}^{-1}$, PD = 1.4; $M_n = 10500 \text{ g mol}^{-1}$, PD = 2.0), als auch hochverzweigte Polyglycerole ($M_n = 10000 \text{ g mol}^{-1}$, PD = 1.7) und PAMAM [G5] gewählt. Diese hochverzweigten Kerne wurden in unterschiedlichen Funktionalisierungsgraden mit linearen amphiphilen Bausteinen aus Dicarbonsäuren (C₀, C₆, C₁₂ oder C₁₈), verbunden mit Poly(ethylenglycol)monomethylethern (mPEGs mit durchschnittlich 6, 10 oder 14 Glycoleinheiten) miteinander verknüpft. Durch geeignete Experimente wurde gezeigt, dass die Transportkapazität der Polymere durch die Änderung einzelner Domänen beeinflusst wird. Während die Größe der inneren und äußeren Schale nur einen geringen Einfluss auf die Transportkapazität haben, haben die Größe des polaren Kerns und die Kettenlänge der unpolaren inneren Schale einen signifikanten Einfluss auf den Transport hydrophiler und hydrophober Gastmoleküle. Dieser Einfluss wurde eindrucksvoll sowohl für unpolare, als auch für polare Moleküle nachgewiesen. Der Einschluss von Kongorot wird zum Beispiel durch die Einführung einer aliphatischen C₁₈- Kette um den Faktor 77 erhöht.

Des Weiteren wurde der Einfluss nichtstruktureller Faktoren, wie die Konzentrationen des Polymers und des Gastmoleküls, die Einschlusszeit und die Transportkapazität untersucht. Außerdem wurde die Abhängigkeit des Transportverhaltens von der Konzentration untersucht. Experimente konnten bestätigen, dass nur dann ein Transport stattfindet, wenn eine Konzentrationsschwelle von 0.05 bis 0.20 g l⁻¹ (abhängig von der jeweiligen Masse des Multischalenpolymers) überschritten wird. Dann kommt es zunächst zu einem sprunghaften

Anstieg der Transportkapazität bis zu einem entsprechenden Maximalwert, der jedoch nach Überschreiten der jeweiligen Konzentration wieder sinkt und sich schließlich langsam stabilisiert. Dieses Verhalten konnte für alle synthetisierten Multischalenarchitekturen experimentell bestätigt werden und zeigt, dass sie sich wie amphiphile Verbindungen verhalten.

Um die Prinzipien dieses universellen Transportverhaltens besser zu verstehen, wurden die Aggregationseigenschaften der Nanotransporter mit drei unabhängigen experimentellen Methoden untersucht: Messung der Oberflächenspannung, dynamische Lichtstreuung (DLS) und CryoTEM. Diese Ergebnisse wurden im zweiten Teil der Arbeit genauer beschrieben. Die Messungen zur Oberflächenspannung verdeutlichen, dass sich die Nanotransporter wie amphiphile Verbindungen verhalten. Es zeigte sich, dass die Oberflächenspannung linear mit dem Logarithmus der Polymerkonzentration abfällt und oberhalb einer charakteristischen Konzentration von 0.1 g l^{-1} in einen Sättigungsbereich mündet. Neben der Oberflächenaktivität wurde eine kritische Aggregationskonzentration (CAC) aus dem Schnittpunkt beider Geraden bestimmt. In Analogie zur kritischen Micellenbildungskonzentration (CMC, critical micelle concentration) von Tensidlösungen können wir schlussfolgern, dass in der Lösung eine Aggregation von individuellen dendritischen Multischalenarchitekturen („Unimeren“) stattfindet. Der extrem kleine CAC-Wert lässt auf eine hohe Stabilität der supramolekularen Aggregate schließen. Das steht im Gegensatz zum klassischen Bild von dendritischen Kern-Schale-Architekturen, die als unimolekulare Transporter wirken.

Diese Hypothese wurde durch DLS-Experimente und durch CryoTEM-Aufnahmen bestätigt. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass in Wasser zwei coexistierende Arten von Objekten oberhalb der CAC existieren: zum einen kleine Partikel mit einem Durchmesser von 4 bis 6 nm (Unimere), die sehr gut der berechneten Größe eines normalen unimolekularen Nanotransporters entsprechen, und zum anderen größere sphärische Aggregate mit Durchmessern im Bereich von 30 bis 50 nm. Der Einschluss der Gastmoleküle in den Nanotransporter ändert die Größe des Aggregates drastisch. Bei Einschluss eines linearen Moleküls verändert sich der Durchmesser des Aggregats um näherungsweise 120 – 150 nm unabhängig vom verwendeten Lösungsmittel. Im Gegensatz dazu ändert sich der Durchmesser bei Einschluss eines kugelförmigen Moleküls nur um 20 – 30 nm. Interessanterweise zeigen die Aufnahmen eine erkennbare körnige Feinstruktur und einen hohen Kontrast für die größeren Aggregate. Die ultrastrukturellen Merkmale weichen grundlegend von den CryoTEM-Aufnahmen von Liposomen und Micellen ab, was vermuten lässt, dass die Aggregate tatsächlich aus einer großen Zahl (bis zu 20000) von „elementaren“ unimolekularen Spezies bestehen.

Es wird angenommen, dass der Einschluss der Gastmoleküle in den Nanotransporter in zwei Schritten erfolgt. Im ersten Schritt wird der Farbstoff in die intermolekularen Hohlräume aufgenommen, welche durch das monomethylierte PEG-Kettennetzwerk auf der Oberfläche und an der Grenzfläche zwischen den Polymeren erzeugt wird. Der intermolekulare Einschluss erfolgt schon nach wenigen Minuten was durch das Fortschreiten der Reaktion beobachtet werden kann. Im zweiten Schritt wird die Aufnahme weiter fortgesetzt und bereits eingeschlossene Moleküle wandern langsam von den Zwischenräumen in die Hohlräume, die im Inneren des Polymers lokalisiert sind.

Diese Hohlräume sind zunächst nicht direkt zugänglich, von daher ist die Aufnahme der Gastmoleküle in die Zwischenräume besonders wichtig.

Im letzten Abschnitt der vorliegenden Arbeit wurden die antibakteriellen und fungiziden Eigenschaften der Multischalenarchitekturen untersucht, in die zuvor Silber(I)-Ionen eingeschlossen wurden.

Die Versuche wurden an *E. coli* Zellkulturen durchgeführt und führten zu folgendem Ergebnis: Die antibakterielle Aktivität der Nanotransporter mit eingeschlossenen die Silber(I)-Ionen ist bis zu 100 Mal größer, als die antibakterielle Aktivität der reinen Silbernitrat-Lösung mit gleicher Konzentration von Silber(I)-Ionen. Die wässrigen Lösungen der Polymere mit einer Konzentration von 5×10^{-7} M mit 15 eingeschlossenen Silber(I)-Ionen pro Gastmolekül zerstören innerhalb von nur 10 min. sämtliche Bakterien auf einer Testplatte. Nach 1 min. sind bereits 90 % der vorhandenen Bakterien zerstört. Die fungiziden Eigenschaften wurden mithilfe von *A. niger* Zellkulturen überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass das Pilzwachstum an dem Polymer/Silber(I)-Komplex bei einer Konzentration von 5×10^{-7} M erfolgreich verhindert werden konnte. Teilweise wurde das Wachstum schon bei einer Konzentration von $10^{-7} - 10^{-6}$ M verhindert. Die hier vorgestellten supramolekularen Multischalenarchitekturen unterscheiden sich strukturell und bezüglich ihres Transportverhaltens grundlegend von bisher bekannten einfachen Tensidmicellen und unimolekularen Transportsystemen. Diese neuen universellen Nanotransportsysteme können vielseitig für den Transport von Gastmolekülen wie Wirkstoffen, Farbstoffen, toxischen Verbindungen, Stabilisatoren, Metallnanopartikeln und Fluoreszenzmarkern eingesetzt werden und sind deshalb interessant für eine Vielzahl von biomedizinischen und technologischen Anwendungen.