

Entwicklung und Charakterisierung nanopartikulärer Systeme auf Basis biokompatibler Copolymere zur Anwendung in der Medizin

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades
des Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht am
Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dagmar Schütt
aus Berlin

April 2006

1. Gutachter: Prof. Dr. Roland Bodmeier
2. Gutachter: Prof. Dr. Andreas Thünemann

Disputation am 04. September 2006

1. Einleitung und Zielstellung	5
2. Grundlagen	11
2.1. Poly-(ethylenoxid).....	11
2.2. Peptide	12
2.3. Poly-(glutaminsäure) und Poly-(asparaginsäure).....	13
2.4. Blockcopolymer aus Poly-(ethylenoxid), Poly-(glutaminsäure) und Poly-(asparaginsäure)	14
2.5. Eisenoxid-Nanopartikel	16
2.6. Diminazen.....	19
2.7. Charakterisierungsmethoden	20
2.7.1. <i>Dynamische Lichtstreuung</i>	20
2.7.2. <i>¹H-NMR</i>	21
2.7.3. <i>Röntgendiffraktometrie</i>	22
2.7.4. <i>Mössbauer-Spektroskopie</i>	22
2.7.5. <i>Circulardichroismus-Spektroskopie</i>	23
2.7.6. <i>Zetapotential</i>	25
2.7.7. <i>Größenausschlusschromatographie</i>	26
2.7.8. <i>UV-VIS-Spektroskopie</i>	27
2.7.9. <i>Raman-Spektroskopie</i>	28
3. Einfluss der Molekülarchitektur von Polymeren auf die Stabilisierung von Eisenoxid-Partikeln.....	33
3.1. Einleitung.....	33
3.2. Ergebnisse und Diskussion	35
3.2.1. <i>Maghemit-Nanopartikel mit und ohne PEO</i>	37
3.2.2. <i>Stabilität bei pH 3 in Wasser</i>	39
3.2.2.1. Homopolymer Glu ₂₇ und Blockcopolymer PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇	40
3.2.2.2. Homopolymer Glu ₂₇ , Pfropfcopolymere Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₃ und Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₉	42
3.2.2.3. Homopolymer Asp ₉ und Blockcopolymer PEO- <i>b</i> -Asp ₉	43
3.2.3. <i>Stabilität bei pH 7.4 in Wasser und in physiologischer Natriumchlorid-Lösung</i>	44
3.2.3.1. Homopolymer Glu ₂₇ und Blockcopolymer PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇	45
3.2.3.2. Homopolymer Glu ₂₇ , Pfropfcopolymere Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₃ und Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₉	47
3.2.3.3. Homopolymer Asp ₉ und Blockcopolymer PEO- <i>b</i> -Asp ₉	49
3.2.4. <i>Einfluss von PEO-<i>b</i>-poly-(glutaminsäure) mit unterschiedlichen Blocklängen</i>	52
3.3. Zusammenfassung	55

4. Stabilisierung von Maghemit-Nanopartikeln mit Poly-(ethylenimin) und Poly-(ethylenoxid)-<i>block</i>-poly-(glutaminsäure)	58
4.1. Einleitung	58
4.2. Ergebnisse und Diskussion	59
4.2.1. <i>Partikelgröße und Stabilität</i>	59
4.2.2. <i>Bestimmung der magnetischen Phase</i>	65
4.2.3. <i>MRT-Kontrastgebung der Partikel in vivo</i>	70
4.3. Zusammenfassung	72
5. Komplexe aus Diminazen und Poly-(ethylenoxid)-<i>block</i>-poly-(glutaminsäure)	77
5.1. Einleitung	77
5.2. Ergebnisse und Diskussion	79
5.2.1. <i>Komplexbildung mit PEO-<i>block</i>-poly-(glutaminsäure)</i>	79
5.2.2. <i>Bindungs-Konstante</i>	81
5.2.2.1. <i>Eine Bindungsstelle (n = 1)</i>	82
5.2.2.2. <i>Zwei Bindungsstellen (n = 2)</i>	83
5.2.3. <i>Bestimmung der Bindungsstellen</i>	84
5.2.4. <i>Stabilisierung der Sekundärstruktur</i>	87
5.2.5. <i>Größe und Struktur der Nanopartikel</i>	90
5.3. Zusammenfassung	95
6. Synthese von Blockcopolymeren durch Polymerisation von N-Carboxyanhydriden (NCA)	98
6.1. Einleitung	98
6.2. Ergebnisse und Diskussion	100
6.3. Zusammenfassung	104
7. Zusammenfassung	106
8. Summary	110
9. Materialien und Methoden	113
9.1. Einfluss der Molekülarchitektur von Polymeren auf die Stabilisierung von Eisenoxid-Partikeln	113
9.1.1. <i>Materialien</i>	113
9.1.2. <i>Synthese</i>	113
9.1.2.1. <i>Synthese der N-Carboxyanhydride (NCA) der Benzyl-aminosäuren</i>	113
9.1.2.2. <i>Synthese der Blockcopolymeren PEO-<i>b</i>-Glu₂₇ und PEO-<i>b</i>-Asp₉</i>	114
9.1.2.3. <i>Synthese der Homopolymere</i>	115
9.1.2.4. <i>Synthese der Pfropfcopolymeren</i>	116

9.1.2.5. Synthese der Eisenoxid-Nanopartikel.....	116
9.1.3. Methoden.....	116
9.1.3.1. ¹ H-NMR	116
9.1.3.2. Größenausschlusschromatographie.....	117
9.1.3.3. Dynamische Lichtstreuung	117
9.1.3.4. Zetapotential.....	117
9.1.4. Herstellung der Proben	117
9.1.4.1. Unbeschichtete Maghemit-Nanopartikel.....	118
9.1.4.2. Maghemit-Nanopartikel mit PEO	118
9.1.4.3. Maghemit-Nanopartikel mit Copolymeren	118
9.1.4.4. Maghemit-Nanopartikel mit PEO- <i>b</i> -poly-(glutaminsäure) mit unterschiedlicher Anzahl Glutaminsäure-Einheiten.....	119
9.2. Stabilisierung von Maghemit-Nanopartikeln mit Poly-(ethylenimin) und Poly-(ethylenoxid)-block-poly-(glutaminsäure)	119
9.2.1. Materialien.....	119
9.2.2. Synthese.....	120
9.2.3. Charakterisierungsmethoden	121
9.2.3.1. Dynamische Lichtstreuung	121
9.2.3.2. Zetapotential.....	122
9.2.3.3. Röntgendiffraktometrie	122
9.2.3.4. Mössbauer-Spektroskopie.....	122
9.2.3.5. Raman-Spektroskopie	122
9.2.3.6. Magnet-Resonanz-Tomographie.....	122
9.3. Komplexe aus Diminazen und Poly-(ethylenoxid)-poly-(glutaminsäure)	123
9.3.1. Materialien.....	123
9.3.2. Methoden.....	124
9.3.2.1. UV-VIS-Differenz-Spektren	124
9.3.2.2. Circular dichroismus.....	125
9.3.2.3. Dynamische Lichtstreuung	125
9.3.2.4. Komplexierung.....	125
9.4. Synthese von Blockcopolymeren durch Polymerisation von N-Carboxyanhydriden ...	126
9.4.1. Materialien.....	126
9.4.2. Methoden.....	126
9.4.2.1. NCA-Polymerisation	126
9.4.2.2. Größenausschluss-Chromatographie.....	126
9.4.2.3. ¹ H-NMR-Spektroskopie.....	127

10. Anhang	128
10.1. Abkürzungsverzeichnis	128
10.2. Abbildungsverzeichnis.....	129
11. Publikationen	134
12. Danksagung	135
13. Lebenslauf	136

10. Anhang

10.1. Abkürzungsverzeichnis

η	dynamische Viskosität
Asp	Asparaginsäure
BAsp	β -Benzyl-L-Asparaginsäure
BGlu	β -Benzyl-L-Glutaminsäure
CD	Circulardichroismus
D	Diffusionskonstante
D_H	Hydrodynamischer Durchmesser
DLS	dynamische Lichtstreuung
DMF	Dimethylformamid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DP	Degree of polymerization (Polymerisationsgrad)
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid
Glu	Glutaminsäure
GPC	Gelpermeationschromatographie
k	Boltzmann-Konstante
K	Komplexbildungskonstante
M_n	Molmasse (Zahlenmittel)
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
M_w	Massenmittel der Molmasse
NCA	N-Carboxyanhydrid
NHS	N-Hydroxysuccinimid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
PAsp	Poly-(L-asparaginsäure)
PDI	Polydispersitätsindex
PEI	Poly-(ethylenimin)
PEO	Polyethylenoxid
PGlu	Poly-(L-Glutaminsäure)
PLA	Polymilchsäure
r	Partikelradius
RES	Retikuloendotheliales System
RNS	Ribonukleinsäure
SEC	size exclusion chromatographie (Größenausschlusschromatographie)
SPIO	superparamagnetic iron oxid
USPIO	ultra small superparamagnetic iron oxid
ζ	Zetapotential