

10.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 Strukturformel von PEO.	11
Abbildung 2.2 Strukturformeln von L-Glutaminsäure (links) und L-Asparaginsäure (rechts).	13
Abbildung 2.3 Strukturformeln von Homopolymeren aus Glutaminsäure (grün) und Asparaginsäure (orange). A Poly-(glutaminsäure) und B Poly-(asparaginsäure) mit n-Butylamin (schwarz) als Initiator der Polymerisationsreaktion.....	13
Abbildung 2.4 Schematische Darstellung verschiedener Polymere. A Zwei Homopolymere aus unterschiedlichen Monomeren (grün und blau). B Diblockcopolymer mit der Struktur A-B. C Diblockcopolymer der Struktur A-B-A. D Triblockcopolymer der Struktur A-B-C. E Pfropfcopolymer (Graftcopolymer) mit 3 gepfropften Ketten (blau).	15
Abbildung 2.5 Kristallstruktur von Magnetit.....	17
Abbildung 2.6 Änderung der Oberflächenladung von Maghemit-Partikeln bei einer Veränderung des pH-Werts.	17
Abbildung 2.7 A. Ferromagnetisches Partikel, bestehend aus 5 Weißschen Bezirken. B. Fünf superparamagnetische Partikel.	18
Abbildung 2.8 Verhalten superparamagnetischer Partikel in einem Ferrofluid ohne Magnetfeld (A), in einem äußeren Magnetfeld (B) und nach Entfernung des Magnetfeldes (C).	19
Abbildung 2.9 Strukturformel von Diminazen.....	19
Abbildung 3.1 Zur Beschichtung verwendete Block- und Homopolymere aus Glutaminsäure: Blockcopolymer PEO- <i>b</i> -poly-(glutaminsäure) ₂₇ (PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇) (links) und Homopolymer n-Butylamin-poly-(glutaminsäure) ₂₇ (Glu ₂₇) (rechts).....	35
Abbildung 3.2 Zur Beschichtung verwendete Block- und Homopolymere aus Asparaginsäure: Blockcopolymer PEO- <i>b</i> -poly-(asparaginsäure) ₉ (PEO- <i>b</i> -Asp ₉) (links) und Homopolymer n-Butylamin-poly-(asparaginsäure) (Asp ₉) (rechts).	35
Abbildung 3.3 Strukturformel eines Pfropfcopolymers aus Poly-(glutaminsäure) mit aufgepfropften PEO-Blöcken und schematische Darstellung von n-Butylamin-poly-(glutaminsäure) ₃₀ - <i>graft</i> -PEO ₃ (Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₃) mit 3 Blöcken PEO (unten links) und n-Butylamin-poly-(glutaminsäure) ₃₀ - <i>graft</i> -PEO ₉ (Glu ₃₀ - <i>g</i> -PEO ₉) mit 9 Blöcken PEO (unten rechts).....	36
Abbildung 3.4 Hydrodynamischer Durchmesser (●) und Polydispersitätsindex (□) von unbeschichteten Maghemit-Partikeln in Wasser. Durchmesser und Polydispersitätsindex sind als Funktion des pH-Wertes angegeben.	38
Abbildung 3.5 Hydrodynamischer Durchmesser (●) und Polydispersitätsindex (□) von Maghemit-Partikeln in Wasser mit Zusatz von $2 \times 10^{-6} \text{ mol g}^{-1}$ PEO. Durchmesser und Polydispersitätsindex sind als Funktion des pH-Wertes angegeben.	38
Abbildung 3.6 Hydrodynamische Durchmesser D_H beschichteter Nanopartikel bei pH 3 in Wasser als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu ₂₇ (Δ) und PEO- <i>b</i> -Glu ₂₇ (○). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten	

- der Poly-(glutaminsäure). Zusätzlich ist als Vergleich die Größe der unbeschichteten Maghemit-Partikel angegeben (ausgefüllte Symbole)..... 40
- Abbildung 3.7 Hydrodynamische Durchmesser beschichteter Nanopartikel bei pH 3 in Wasser als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu₂₇ (◇), Glu₃₀-*g*-PEO₃ (Δ) und Glu₃₀-*g*-PEO₉ (○). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). Als Vergleich ist die Größe der Maghemit-Partikel ohne Polymere angegeben (ausgefüllte Symbole). 42
- Abbildung 3.8 Hydrodynamische Durchmesser beschichteter Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Asp₉ (□) und PEO-*b*-Asp₉ (■). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(asparaginsäure). Die Nanopartikel wurden bei pH 3 in Wasser vermessen. Als Vergleich ist die Größe der unbeschichteten Maghemit-Partikel angegeben (●). 43
- Abbildung 3.9 Hydrodynamischer Durchmesser D_H beschichteter Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu₂₇ (Δ) und PEO-*b*-Glu₂₇ (○). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). Die beschichteten Maghemit-Partikel wurden in Wasser bei pH 7.4 vermessen (offene Symbole) und in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 (gefüllte Symbole). 46
- Abbildung 3.10 Zetapotential ζ (▲) und hydrodynamischer Durchmesser D_H (●) mit Glu₂₇ (links) und PEO-*b*-Glu₂₇ (rechts) beschichteter Maghemit-Partikel bei pH 7.4 in Wasser. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). 46
- Abbildung 3.11 Hydrodynamische Durchmesser D_H der mit Poly(glutaminsäure) beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu₂₇ (◇), Glu₃₀-*g*-PEO₃ (Δ) und Glu₃₀-*g*-PEO₉ (○). Nanopartikel wurden gemessen bei pH 7.4 in Wasser (offene Symbole) und physiologischer Kochsalzlösung (gefüllte Symbole). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). 47
- Abbildung 3.12 Zetapotential der mit Poly(glutaminsäure) beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Glu₂₇ (◇), Glu₃₀-*g*-PEO₃ (Δ) und Glu₃₀-*g*-PEO₉ (○). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(glutaminsäure). 48
- Abbildung 3.13 Hydrodynamischer Durchmesser D_H beschichteter Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration der Polymere Asp₉ (□) und PEO-*b*-Asp₉ (○). Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly(asparaginsäure). Die Partikel wurden in Wasser bei pH 7.4 (offene Symbole) und in 0.154 molarer NaCl-Lösung bei pH 7.4 (gefüllte Symbole) vermessen. 49
- Abbildung 3.14 Zetapotential (▲) und D_H (●) der mit Asp₉ beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomer-Einheiten der Poly-(asparaginsäure). 50
- Abbildung 3.15 Zetapotential (▲) und D_H (●) der mit PEO-*b*-Asp₉ beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomer-Einheiten der Poly-(asparaginsäure). 50

- Abbildung 3.16 Zetapotential (\blacktriangle und \triangle) und D_H (\bullet und \circ) der mit Asp₉ (gefüllte Symbole) und Glu₂₇ (offene Symbole) beschichteten Nanopartikel als Funktion der Polymerkonzentration. Die Polymerkonzentration ist angegeben in Monomereinheiten der Poly-(aminosäure)..... 51
- Abbildung 3.17 Hydrodynamischer Durchmesser D_H der Maghemit-Partikel in Wasser bei pH 7.4 als Funktion der Konzentration an PEO für die Polymere Glu₃₀-g-PEO₃ (\blacksquare), Glu₃₀-g-PEO₉ (\bullet) und PEO-*b*-Glu₂₇ (\blacklozenge). 52
- Abbildung 3.18 Hydrodynamischer Durchmesser D_H von mit PEO-*b*-poly-(glutaminsäure) beschichteten Maghemit-Nanopartikeln. Die Partikel wurden vermessen am Tag ihrer Herstellung in Wasser bei pH 7.4 (\circ) und nach 55 Tagen (\square). Als Vergleich wurden die unbeschichteten Maghemit-Partikel (\bullet) vermessen. Zusätzlich wurde D_H für beschichtete Maghemit-Partikel berechnet, wenn der PEO-Block der PEO-*b*-poly-(glutaminsäure) in unterschiedlichen Konformationen vorliegt: Knäuel (\diamond) und Mäander (\blacklozenge). 54
- Abbildung 4.1 Möglicher Partikelbau eines mit der *layer-by-layer*-Technik beschichteten Nanopartikels und die chemische Struktur der verwendeten Polymere. 59
- Abbildung 4.2 Volumenverteilung der magnetischen Nanopartikel, bestimmt durch dynamische Lichtstreuung. Die Ziffern kennzeichnen die Nanopartikel nach den einzelnen Herstellungsschritten: (1) unbeschichteter Eisenoxid-Kern in Wasser pH 2, (2) nach Beschichtung mit PEI, (3) nach Beschichtung mit PEI und PEO-*b*-Glu₁₃ in Wasser pH 7.4, (4) nach Beschichtung mit PEI und PEO-*b*-Glu₁₃ in 0.154 molarer Natriumchlorid-Lösung pH-Wert 7.4. 60
- Abbildung 4.3 Verlauf des Zetapotentials und des hydrodynamischen Durchmessers D_H während der Herstellung beschichteter Partikel. Angegeben ist das Zetapotential (\blacktriangle) und D_H (\blacksquare) unbeschichteter Partikel in Wasser, nach Beschichtung mit PEI und nach Beschichtung mit PEI und PEO-*b*-Glu₁₃ in Wasser, pH-Wert 7.4..... 61
- Abbildung 4.4 Zetapotentiale mit PEI beschichteter Partikel (\blacksquare) und mit PEI-PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteter Partikel (\blacklozenge) in Wasser bei pH 7.4 als Funktion der PEI Konzentration. Die durchgezogenen Linien stellen die berechneten Regressionsgraden dar. Zusätzlich sind die Zetapotentiale von unbeschichteten Partikeln (\bullet) und nur mit PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteten Partikel (\blacktriangle) zu sehen. ... 62
- Abbildung 4.5 Hydrodynamischer Durchmesser D_H unbeschichteter Partikel (\bullet), mit PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteter Partikel (\blacktriangle) und mit PEI-PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteter Partikel (\blacklozenge) als Funktion der PEI-Konzentration in Wasser (pH-Wert 7.4) bei konstanter Konzentration an Glutaminsäure-Einheiten ($C_{\text{Glutaminsäure}} = 2 \times 10^{-7} \text{ mol g}^{-1}$). 63
- Abbildung 4.6 Hydrodynamischer Durchmesser (Maximum der Volumenverteilung) der unbeschichteten magnetischen Partikel in Wasser (\square) und der PEI-PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteten Partikel in Wasser (\blacktriangle , pH 7.4) und in 0.154 molarer Natriumchlorid-Lösung (\circ , $C_{\text{NaCl}} = 0.154 \text{ mol l}^{-1}$, pH 7.4) als Funktion der Lagerungszeit bei 25° C..... 65
- Abbildung 4.7 Mössbauer-Spektren für mit PEI-PEO-*b*-Glu₁₃ beschichtete Partikel bei 78 K (linke Abbildung) und 293 K (rechte Abbildung). Die Symbole (\circ) bezeichnen die gemessenen Daten, die durchgezogenen Linien (—) die daraus berechneten

- Kurvenverläufe. Das bei niedriger Temperatur aufgenommene Spektrum wurde an ein Sextett angepasst. Das bei Raumtemperatur gemessenen Spektrum wurde an zwei Dubletts (Kurve 1 und 2) und an ein Sextett (Kurve 3) angepasst. Kurve 4 stellt die daraus resultierende Summenkurve dar. 66
- Abbildung 4.8 Diagramm der Weitwinkel-Röntgenstreuung der unbeschichteten Partikeln (a), des Blockcopolymers PEO-*b*-Glu₁₃ (b) und der Maghemit-Nanopartikel stabilisiert mit PEI(PEO-PGA) (c). Die Größe der Maghemit-Kristalle beträgt 12.0 ± 0.5 nm in (a) und (c) (vor und nach Beschichtung). Die Positionen der zwei Indices (511 und 440), die für die Berechnung der Kristallgröße verwendet wurden, sind durch Pfeile gekennzeichnet. 69
- Abbildung 4.9 Raman-Spektren von unbeschichteten Nanopartikeln (a), PEO-*b*-Glu₁₃ (b) und beschichteten Partikeln (c) im Bereich von 270 cm^{-1} bis 1800 cm^{-1} . Die Pfeile in Kurve (a) bezeichnen die für Maghemit charakteristischen Banden von 350 cm^{-1} , 500 cm^{-1} und 700 cm^{-1} . Die Bande bei 1660 cm^{-1} in den Kurven (b) und (c) ist die C=O Streckschwingung der adsorbierten Carboxylat-Gruppen des PEO-*b*-Glu₁₃. 70
- Abbildung 4.10 MRT-Aufnahmen in der T2-gewichteten Sequenz von Ratten vor Applikation von PEI-PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteten Maghemit-Partikeln (A) und 10 Minuten nach intravenöser Applikation von PEI-PEO-*b*-Glu₁₃ beschichteten Maghemit-Partikeln (B). Als Vergleich wurde Resovist[®] verwendet und ebenfalls Aufnahmen vor (C) und 10 Minuten nach der Applikation (D) gemacht. Die Dosis an applizierten Partikeln entsprach dabei jeweils 0.6 mg Eisen/kg Körpergewicht. 72
- Abbildung 5.1 Komplexierung von PEO-*b*-Glu_n mit Diminazen über elektrostatische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken. 79
- Abbildung 5.2 UV-Spektren von PEO-*b*-Glu₁₆ (durchgezogene Linie) ($C_{\text{Glutaminsäure}} = 0.8\text{ mM}$) und Diminazen (gestrichelte Linie) ($C_{\text{Diminazen}} = 0.025\text{ mM}$) in 25 mM Tris-HCl (Referenz 25 mM Tris-HCl). 80
- Abbildung 5.3 UV-Differenz-Spektren der Komplexe aus Diminazen mit PEO-*b*-Glu₁₆. Es wurden unterschiedliche Verhältnisse von Glutaminsäure zu Diminazen vermessen. Die molaren Verhältnisse waren ($n_{\text{Glutaminsäure}}:n_{\text{Diminazen}}$) 8.0 (–), 2.0 (–·–), 1.0 (···) und 0.5 (---). Die Diminazen-Konzentration betrug 0.05 mM 81
- Abbildung 5.4 Konzentrationsabhängigkeit von Δ Absorption bei $\lambda = 426\text{ nm}$ in den UV-Differenz-Spektren der Komplexe aus Diminazen und PEO-*b*-Glu mit $n = 6$ (■), 10 (■), 16 (●), 20 (▲) und 25 (◆). Die Konzentration von Diminazen betrug 0.05 mM . Zusätzlich wurden für Kurven anhand Gleichung 5.9 unter der Annahme nur einer Bindungsstelle des Diminazens berechnet (durchgezogene Linien,). 85
- Abbildung 5.5 Anteil an komplexiertem Diminazen als Funktion der Anzahl der Glutaminsäure-Einheiten im Polymer. Das Verhältnis von Glutaminsäure zu Diminazen ($n_{\text{Glutaminsäure}}:n_{\text{Diminazen}}$) war $1:1$ (□) und $8:1$ (○). 86
- Abbildung 5.6 Die Komplexbildungskonstanten K (Δ) als Funktion der Anzahl der Glutaminsäure-Einheiten im Polymer PEO-*b*-Glu. 87
- Abbildung 5.7 CD-Spektren von PEO-*b*-Glu₂₅ bei unterschiedlichen pH-Werten. Die pH-Werte betragen 3.4 ; 5.1 ; 5.6 und 7.4 . Beim pH-Wert 3.4 zeigt das CD-Spektrum den

- Verlauf für eine α -Helix und am pH-Wert 7.4 den Verlauf für eine Knäuel-Konformation..... 88
- Abbildung 5.8 CD-Spektren des Komplexes von Diminazen mit PEO-*b*-Glu₂₅ bei unterschiedlichen pH-Werten. Die pH-Werte betragen 12.4; 11.5; 9.3 und 7.3. 89
- Abbildung 5.9 Molare Elliptizität θ_{222} von PEO-*b*-Glu₂₅ (\square) und des Diminazen-PEO-*b*-Glu₂₅-Komplexes (\bullet) als Funktion des pH-Wertes bei einer Wellenlänge von 222 nm. θ_{222} ist angegeben als die molare Elliptizität einer Glutaminsäure-Einheit. 89
- Abbildung 5.10 Änderung der Konformation des Blockcopolymers PEO-*b*-Glu₂₅ (\square) und des Komplexes Diminazen-PEO-*b*-Glu₂₅ (\bullet) in Abhängigkeit vom pH-Wert. Der Anteil an α -Helix (f_H) ist als Funktion des pH-Wertes angegeben. 90
- Abbildung 5.11 Hydrodynamischer Durchmesser D_H (\circ) und Polydispersitätsindex (PDI, \blacktriangle) des Diminazen-PEO-*b*-Glu₂₅-Komplexes als Funktion des pH-Wertes. 91
- Abbildung 5.12 CD-Spektren von Glu₂₆ bei pH 7.4 in 25 mM Tris HCl Puffer und als Komplex mit Diminazen. Diminazenzkonzentrationen: (1) ohne Diminazen; (2) 0.19 mM; (3) 0.29 mM; (4) 0.49 mM. Die Konzentration der Glutaminsäure-Monomere betrug 1.34 mM. 93
- Abbildung 5.13 CD-Spektren von PEO-*b*-Glu₂₅ bei pH 7.4 in 25 mM Tris HCl Puffer und als Komplex mit Diminazen. Diminazenzkonzentrationen: (1) ohne Diminazen; (2) 0.19 mM; (3) 0.29 mM; (4) 0.49 mM; (5) 0.97 mM. Die Konzentration der Glutaminsäure-Monomere betrug 1.34 mM. 93
- Abbildung 5.14 Molare Elliptizität θ_{222} der Komplexe von PEO-*b*-Glu₂₅ (Δ) und Glu₂₆ (\bullet) mit Diminazen als Funktion der Diminazen-Konzentration. Die Konzentration der Glutaminsäure-Monomere betrug 1.34 mM. θ_{222} ist angegeben als die molare Elliptizität einer Glutaminsäure-Einheit. 94
- Abbildung 6.1 Mechanismus der Polymerisation der N-Carboxyanhydride von α -Aminosäuren. Der Amin-Mechanismus (a) führt zu definierten Blockcopolymeren. Als unerwünschte Nebenreaktion kann der aktivierte Monomer-Mechanismus (b) auftreten. 99
- Abbildung 6.2 Mechanismus der NCA-Polymerisation initiiert durch PEO-NH₃⁺Cl⁻ (a) und durch PEO-NH₂ (b)..... 101
- Abbildung 6.3 Elugramme der Größenausschluss-Chromatographie für PEO-*b*-poly-(γ -BGlu). Die Polymerisation erfolgte mit PEO-NH₂ (a) und PEO-NH₃⁺Cl⁻ (b) als Makroinitiator (Tabelle 6.1, 1 und 3). 102
- Abbildung 6.4 ¹H-NMR-Spektrum von PEO-*b*-poly(γ -Benzylglutaminsäure) (Tabelle 6.1, 3). Die Initiierung der Polymerisation erfolgte durch PEO-NH₃⁺Cl⁻. Das Spektrum wurde in DMSO-*d*₆ bei 25 °C aufgenommen (X = DMSO-*d*₆, H₂O)..... 103
- Abbildung 9.1 ¹H-NMR des Blockcopolymers PEO-*b*-Glu₂₇ in D₂O. Der DP beträgt 27. 114
- Abbildung 9.2 Schema der Messanordnung der UV-Differenz-Messungen. 124

11. Publikationen

Preparation of well defined diblock copolymers with short polypeptide segments via polymerizations of N-carboxyanhydrides.

J. F. Lutz, D. Schütt, S. Kubowicz; *Macromolecular Rapid Communications* (2005), 26, 23-28

Complexes of poly (ethylene oxide)-*block*-poly(L-glutamate) and diminazene.

A. F. Thünemann, D. Schütt, R. Sachse, H. Schlaad, H. Möhwald; *Langmuir* (2006), 22, 2323-2328

Maghemite Nanoparticles protectively coated with poly (ethylene imine) and poly(ethylene oxide)-*block*-poly(glutamic acid).

A. F. Thünemann, D. Schütt, L. Kaufner, U. Pison, H. Möhwald; *Langmuir* (2006), 22, 2351-2357

12. Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. Möhwald möchte ich für die Möglichkeit danken, diese Arbeit in der Gruppe Nanotechnology for Life Science anzufertigen und für sein Interesse am Fortschritt des Themas.

Bei Herrn Prof. Dr. A. F. Thünemann möchte ich mich für seine gute Betreuung, seine Diskussionsbereitschaft und Unterstützung zu allen Aspekten der Durchführung und Anfertigung einer wissenschaftlichen Arbeit bedanken.

Dr. J. F. Lutz danke ich für die geduldige Beantwortung aller Fragen zu $^1\text{H-NMR}$ -Spektren.

Ein ganz besonderer Dank geht an die Arbeitsgruppe von Prof. U. Pison an der Charité Berlin für die MRT-Untersuchungen und an Dr. Regis Cartier für vielfältige Diskussionen.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Verena Jentzen für ihr unerschütterliches Engagement, ihre Begeisterung und ihren Sinn für unkonventionelle Problemlösungen und Humor bedanken, was zum Gelingen der Arbeit wesentlich beigetragen hat.

Vielen Dank auch an Frau Sabrina Stiller für ihre standhafte Unterstützung im Labor und in allen auftretenden Notlagen.

Frau Dr. N. Sieverling danke ich für das Nahebringen möglichst einfacher Synthese-Wege und für viele Diskussionen über einfach alles.

Herrn Dr. S. Bruzzano und Frau S. Stegmann danke ich für die Durchführung und Auswertung der GPC-Messungen.

Herrn Olaf Niemeyer danke ich für die Aufnahmen der NMR-Spektren.

Bei Herrn Dr. J. Bohrisch und Frau Dr. Antje Lieske möchte ich mich besonders herzlich für das geduldige und schnelle Korrigieren dieser Arbeit und inhaltliche Diskussionen bedanken.

Allen Kollegen vom FB 4 und der Arbeitsgruppe Nanotechnology for Life Science danke ich ganz herzlich für die Unterstützung in der täglichen Arbeit und die gute Arbeitsatmosphäre.

Ein ganz spezieller Dank geht an die Mädels der ersten Stunde, Nathalie Sieverling und Verena Jentzen, für sinnloses Lachen, Berge an Schokolade und Rumkugeln sowie die Einführung in die Geheimnisse der praktischen Durchführung einer organischen Synthese.